

YK-209 뽕잎이 Streptozotocin 유발 당뇨쥐 간조직의 항산화계에 미치는 영향

유수경 · 이순재[†]

대구가톨릭대학교 식품영양학과

Effects of YK-209 Mulberry Leaves on Antioxidative Defense System of Liver in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Su-Kyung Yoo and Soon-Jae Rhee[†]

Dept. of Food Science and Nutrition, Catholic University of Daegu, Gyongsan 712-702, Korea

Abstract

The purpose of this study was investigated the effects of YK-209 mulberry leaves on antioxidative defense system of liver in diabetic rats induced with streptozotocin (STZ). Male Sprague-Dawley rats weighing 100 ± 10 g were randomly assigned to one normal and four STZ-induced diabetic groups; YK-209 mulberry leaves free diet (DM group), 0.1% YK-209 mulberry leaves diet (DM-0.1Y group), 0.2% YK-209 mulberry leaves diet (DM-0.2Y group) and 0.4% YK-209 mulberry leaves diet (DM-0.4Y group). Diabetes was induced by intravenous injection of 55 mg/kg body weight of STZ in sodium citrate buffer (pH 4.3) via tail vein after 4 weeks feeding of experimental diets. Rats were sacrificed at the 9th day of diabetic states. Liver weight in all four diabetic groups were higher than normal group, but YK-209 mulberry supplementation groups were lower than DM group. Hepatic superoxide dismutase (SOD) activity was significantly decreased in all diabetic groups, compared with normal group. Hepatic glutathione peroxidase (GSHpx) activity was 7.3% decreased in DM group, compared with normal group, but those of DM-0.1Y and DM-0.2Y groups were maintained the normal level. The hepatic thiobarbituric acid reactive substances was markedly increased by 144% in DM group, compared with normal group, but those of DM-0.1Y, DM-0.2Y groups were maintained the normal level. The contents of lipofuscin in liver were increased by 100% in DM group, compared with normal group, but those of DM-0.1Y, DM-0.2Y and DM-0.4Y groups were decreased to 42%, 43% and 44%, respectively, compared with DM group. The hepatic superoxide radical ($O_2^{\cdot -}$) contents in DM group were increased to 81%, compared with normal group, but those of DM-0.1Y and DM-0.4Y groups were similar to those of normal group. The present result indicate that YK-209 mulberry leaves regarded to suppress lipid peroxidation as a free radical scavenger system by the inhibition of oxidative stress.

Key words: YK-209 mulberry leaves, diabetes antioxidative system

서 론

당뇨병에서는 고혈압, 동맥경화, 심근경색, 뇌질환, 신장질환, 백내장 등의 대혈관성 혹은 미세혈관성 합병증 발생률이 높고 이러한 합병증의 발생은 산화적 스트레스와 밀접한 관련이 있는 것으로 최근 알려지고 있다(1,2). 산화적 스트레스는 유리기 생성량과 체내 항산화 방어력 사이의 불균형에서 초래된다. 당뇨병 환자에서 심혈관질환 합병증 발생의 중요한 위험인자 중의 하나가 혈장과 조직내의 산화적 스트레스의 증가로 인한 지질과산화물의 증가와 그로 인한 혈관조직의 손상에서부터 시발된다고 한다(3-5). Sato 등(6)이 당뇨병 환자의 혈장에서 지질과산화물이 증가되어 있음을 처음 발견한 이래 당뇨병에서 지질과산화가 증가된다는 것이 여러 연구(6-8)에서 밝혀져 이를 뒷받침하고 있다. 당뇨병에서의 지질과산화의 증가 정도는 당화 혈색소 및 혈당의 조절정도, 유병 기간, 연령, 혈관

합병증의 유무 등과 상관관계가 있으며, 이러한 지질과산화의 증가는 생체막의 구조와 기능의 변화 등을 통하여 당뇨 합병증 발생과 연관되는 것으로 증명되었다(9). 따라서 이러한 당뇨병으로 인한 합병증 예방을 위하여 산화적 스트레스에 대한 방어 능력을 향상시키는 것이 당뇨 합병증 예방을 위한 하나의 수단으로 알려지면서 최근 천연의 기능성 물질을 이용한 연구들이 많이 진행되고 있다.

뽕잎의 생리활성에 대한 여러 연구중에서 뽕잎에는 항산화 물질인 rutin(10,11), quercetin(12), isoquercetin(13,14) 같은 플라보노이드, GABA(γ -aminobutyric acid), DNJ(1-deoxy-nojirimycin) 등의 기능성 물질이 함유되어 있어서 혈당저하작용이나 혈액중의 중성지방과 콜레스테롤 저하작용, 동맥경화증 및 고지혈증 등의 치료에 효과가 있는 것으로 알려지고 있어 뽕잎의 이용에 대한 관심이 증가되고 있다(15). 이러한 배경에서 최근에는 뽕잎 중에서 누에 사육이 목적이 아니라 잎을 이용

[†]Corresponding author. E-mail: sjrhee@cataegu.ac.kr
Phone: 82-53-850-3523, Fax: 82-53-850-3504

하기에 적합하도록 1989년도에 농촌 진흥청 잠사곤충부에서 YK-209 뽕이라는 새로운 품종을 개발하였다. YK-209 뽕잎은 잎 수량이 많은 품종을 육성하기 위하여 용천뽕(Y)과 잎 수량이 많은 개량뽕(K)을 교배하여 얻은 것으로 내한성이 강하고 잎이 넓고 수량이 많아서 잎 이용에 좋은 품종이다.

따라서 본 연구에서는 잎 이용에 좋은 품종일 뿐만 아니라 기능성 성분면에서도 타 품종에 비해 우수한 것으로 알려진 (16) YK-209 뽕잎의 당뇨상태에서 항산화 효과를 규명하기 위하여 streptozotocin으로 유발된 당뇨동물모델에서 YK-209 뽕잎가루를 농도별로 공급했을 경우 간조직 중의 활성산소 생성 및 이의 제거효소계를 관찰하였다.

재료 및 방법

뽕잎 시료 제조

본 실험에 사용한 뽕잎은 YK-209 품종으로 영천 양잠농업 협동조합에서 재배한 것을 5월에 채취하여 흐르는 물에 3번 정도 수세한 후 열풍 건조기로 수분 함량이 5~7%까지 건조하여 200 mesh 정도로 분말화하여 이용하였다.

동물 사육 및 식이

실험동물은 체중 100 g 내외의 Sprague-Dawley종 수컷을 환경에 적응시키기 위해 일반 배합사료(삼양 Co.)로 일주일간 예비 사육한 후, 난괴법(randomized complete block design)에 의해 정상군과 당뇨군으로 나눈 후 당뇨군을 다시 Table 1과 같이 식이내에 조제한 뽕잎의 농도별로 나누어 각 군마다 10마

리씩 5군으로 나누어 4주간 사육하였다. 기본 실험 식이조성은 Table 1과 같다. 실험기간중 식이는 4°C에서 보관하였고 매일 일정 시간에 공급하여 자유로이 섭취하게 하였다. 이때 사육실의 온도는 $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 였고, 습도는 $50 \pm 10\%$ 이었다. 당뇨 유발은 실험동물에 streptozotocin 55 mg/kg b.w를 신선한 0.1 M sodium citrate buffer(pH 4.3)에 녹여서 꼬리 정맥을 통하여 주사하여 유발시켰으며 당뇨유발후 9일째에 혈당농도가 300 mg/dL이상인 동물만 희생하여 본 실험에 사용하였다.

장기채취

실험 종료 후 실험동물을 가벼운 ether 마취하고 간장은 생리 식염수로 씻어내고 무게를 측정된 후 액체 질소로 급속 동결시켜 -80°C 에 보관하였다.

분석 시료의 전 처리

간장을 각 간엽에서 고르게 일정량을 취하여 Potter-Elvehjem homogenizer를 사용하여 0.25 M sucrose / 0.5 mM ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA) / 5 mM N-2-hydroxyethyl-piperazine N-2-ethane sulfonic acid(HEPES)용액으로써 10%(w/v) 마쇄액을 만들었다. 마쇄액의 일부를 8,000 × g에서 20분간 원심분리하여 그 상층액을 과산화지질 정량에 사용하였고, 나머지는 10,000 × g에서 30분간 원심분리하여 그 상층액 일정량을 취해 0.4배량의 ethanol : chloroform 냉혼합액(5 : 3)을 가하고 2분간 진탕한 다음 10,000 × g로 원심분리한 후 상층액의 일부는 다시 105,000 × g에서 30분간 원심분리하여 얻은 상층액(cytosol)에서 glutathione peroxidase, su-

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredients	Diabetic groups ⁹⁾				
	Normal	DM	DM-0.1Y	DM-0.2Y	DM-0.4Y
Starch ¹⁾	698	698	697	696	694
Casein ²⁾	150	150	150	150	150
DL-methionine ³⁾	2	2	2	2	2
Salt mixture ⁴⁾	40	40	40	40	40
Vitamin mixture ⁵⁾	10	10	10	10	10
Corn oil ⁶⁾	50	50	50	50	50
Cellulose ⁷⁾	50	50	50	50	50
Mulberry leaves ⁸⁾	-	-	1	2	4
Total (g)	1000	1000	1000	1000	1000

¹⁾Pung Jin Chem. Co., Seoul, Korea.

²⁾Lactic Casein, 30 mesh, New Zealand Dairy Board, Wellington, NZ.

³⁾Sigma Chem. Co., St. Louis, Missouri, USA.

⁴⁾AIN-76 salt mixture (g/kg mixture): CaHPO₄ · 2H₂O 500, NaCl 74, K₃C₆H₅O₇ · H₂O 220, K₂SO₄ 52, MgO 24, MgCO₃ (45~48% Mn) 3.5, Fe citrate (16~17% Fe) 6, Zn carbonate (70% Zn) 1.6, Cu carbonate (53~55% Cu) 0.3, KIO₃ 0.01, Na₂SeO₃ · 5H₂O 0.01, CrK(SO₄)₂ · 12H₂O 0.55; filled up to 1,000 with sucrose.

⁵⁾AIN-76 vitamin mixture (mg/kg mixture): Thiamin · HCl 600, riboflavin 600, pyridoxin · HCl 700, nicotinic acid (nicotinamide in equivalent) 3,000, calcium pantothenate 1,600, folic acid 200, biotin 20, cyanocobalamin 1, retinyl palmitate or acetate 400,000 IU, DL- α -tocopheryl acetate, 5,000 IU, cholecalciferol (100,000 IU) 2.5, menaquinone 5, filled up to 1,000 with sucrose.

⁶⁾Dong Bang Oil Co., Seoul, Korea.

⁷⁾Sigma Chem. Co. CMC (sodium carboxyl methyl cellulose, non-nutritive fiber), St. Louis, Missouri, USA.

⁸⁾YK-209 mulberry leaves powder.

⁹⁾DM group: injection of streptozotocin+0% YK-209 mulberry leaves.

DM-0.1Y group: injection of streptozotocin+0.1% YK-209 mulberry leaves.

DM-0.2Y group: injection of streptozotocin+0.2% YK-209 mulberry leaves.

DM-0.4Y group: injection of streptozotocin+0.4% YK-209 mulberry leaves.

peroxide dismutase 등의 활성도를 측정하였다. 모든 실험 조건은 4°C를 유지하면서 행하였다.

Superoxide dismutase(SOD) 및 glutathione peroxidase(GSHpx) 활성 측정

SOD 활성은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund와 Marklund(17)의 방법에 따라 측정하였다. 즉 tris-HCl buffer(50 mM Tris / 10 mM EDTA, pH 8.5) 1.5 mL에 효소용액 0.1 mL를 넣고 7.2 mM pyrogallol 0.1 mL를 가함으로서 반응을 시작시킨 다음 25°C에서 정확히 10분간 반응시킨 후 1 N-HCl 0.05 mL를 가해 반응을 정지시켜 산화된 pyrogallol의 흡광도를 420 nm에서 측정하였다. 그리고 효소활성의 1 unit는 반응액 중의 pyrogallol의 산화를 50% 억제하는 효소의 양으로 정하였다.

GSHpx 활성은 Lawrence와 Burk의 방법(18)에 따라 측정하였다. 즉 1 mM의 EDTA를 함유하는 pH 7.0의 0.1 M potassium phosphate buffer 1.72 mL에 효소용액 0.05 mL와 0.2 mM NADPH 0.3 mL, glutathion reductase 100 unit, 1 mM sodium azide 0.3 mL 및 1 mM 환원형 glutathion(GSH)용액 0.3 mL를 넣고 0.25 mM H₂O₂용액 0.3 mL를 가함으로서 25°C에서 반응을 시작시켜 340 nm에서 측정하였다. 그리고 효소활성의 1단위를 1분간 1 μmol의 산화형 NADPH를 생성하는 효소의 양으로 나타내었다.

Thiobarbituric acid reactive substance(TBARS) 함량 과산화지질의 정량은 thiobarbituric acid(TBA)와 반응하는 물질(TBARS)을 측정하는 Satoh법(19)을 이용하였다.

lipofuscin 함량

생체내에서 말론디알데히드(malondialdehyde: MDA)와 단백질 성분이 결합하여 생성되는 것으로 알려진 소모성 노화색소인 리포푸신(lipofuscin)의 측정은 Fletcher 등(20)의 방법에 따라 측정하였다.

Lipofuscin(μg/mg protein) =

$$\frac{\text{Sample 형광도}}{\text{Standard 형광도}} \times \text{표준용액 농도}(\mu\text{g/mL})$$

간조직의 superoxide radical(O₂⁻)의 시료 전처리

간조직의 mitochondria 분획은 Haper 등의 변형된 방법(21)에 따라 완충용액(1.15% KCl / 10 mM phosphate buffer / 5 mM EDTA, pH 7.4)을 사용하여 균질화한 다음 700×g에서 10분간 원심분리하여 얻은 상층액을 다시 9,000×g에서 15분간 원심분리하여 mitochondria 분획을 분리하였다. 이때 생긴 pellet층에 완충용액을 2 mL 부유시킨 후 1 mL씩 나누어서 80°C에 보관하였다가 실험에 사용하였다.

Superoxide radical 생성량 측정

Superoxide radical 함량 측정은 Azzi 등(22)의 방법에 준해 50 mM K.P. buffer(pH 7.5) 일정량에 기질인 90 mM succinate, 150 mM KCl, 30 mM KCN, 0.3 mM cytochrome c 및 mito-

chondria 효소원을 첨가하여 최종 반응액이 3.0 mL가 되게 하였다. 이 반응액을 37°C에서 2분간 반응시키면서 550nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 superoxide radical의 함량을 산정하였다. Superoxide radical 함량은 1mg의 단백질이 1분간 생성시킨 reduced cytochrome c의 양을 nmole로 나타내었다.

단백질 정량

각 시료의 단백질량은 표준품으로 bovine serum albumin을 사용하였고 각 효소의 단백질 정량은 Lowry 등(23)의 방법을 이용하여 정량하였다.

통계처리

모든 실험결과에 대한 통계처리는 SAS program을 이용하였다. 각 실험군별로 표준 차이가 있는가를 검증하기 위해 분산 분석을 수행하였으며 분산분석결과 유의성이 발견된 경우 군간의 유의도는 Tukey's HSD test에 의해 분석하였다.

결 과

간장의 무게 변화

간장의 무게는(Table 2) 정상군에 비해 DM군에서 126.6% 유의적으로 증가되었으며 뽕잎 공급군인 DM-0.1Y, DM-0.2Y 및 DM-0.4Y군은 DM군에 비해 각각 8.88%, 8.44% 및 6.96% 감소되었다. 간장의 단위 체중당 무게는 정상군에 비해 뽕잎 비공급 당뇨병군인 DM군은 31% 증가되었다. YK-209 뽕잎공급군은 DM군에 비해 감소되었으며 뽕잎 공급군간에서는 유의적인 차이가 관찰되지 않았다.

Superoxide dismutase(SOD) 및 glutathione peroxidase(GSHpx) 활성

생체내 항산화 방어기구 중 효소적 방어계의 하나로서 superoxide radical을 환원시켜 H₂O₂로 환원시키므로써 산소독으로부터 생체를 보호하는 SOD 활성을 간조직에서 측정한다. 결과는 Table 3과 같다. 정상군에 비해 당뇨병 유발 실험군에서 유의적으로 감소되었으며 뽕잎 공급군은 뽕잎 비공급군에 비해 다소 높게 나타났으나 유의적인 수준은 아니었다.

Selenium을 함유하는 항산화 효소로써 체내에서 H₂O₂를

Table 2. Effect of YK-209 mulberry leaves on body weight, liver weight and liver index in streptozotocin induced diabetic rats

Groups	Body weight (g)	Liver weight (g)	Liver Index (g/100 g body wt)
Normal	287.5 ± 12.90 ^{1a(2)}	10.67 ± 0.12 ^a	3.26 ± 0.01 ^a
DM	253.0 ± 13.25 ^b	13.51 ± 0.14 ^b	4.28 ± 0.07 ^b
DM-0.1Y	259.5 ± 8.05 ^b	12.31 ± 0.10 ^c	3.90 ± 0.10 ^c
DM 0.2Y	246.0 ± 12.58 ^b	12.37 ± 0.17 ^{cd}	3.92 ± 0.15 ^c
DM-0.4Y	248.0 ± 12.03 ^b	12.57 ± 0.10 ^d	3.98 ± 0.07 ^c

¹⁾All values are mean ± SE (n=10).

²⁾Values within a column with different superscripts are significantly different at p<0.05 by Tukey's-HSD test.

Experimental conditions were same as give in Table 1.

H₂O₂로 무독화시킴으로써 과산화적 손상을 방지하는 GSHpx 활성 변동을 간조직에서 관찰한 결과 정상군에 비해 DM군에서 유의적으로 감소되었으며, DM군에 비해 DM-0.1Y, DM-0.2Y군은 정상군 수준이었다.

Superoxide radical(O₂⁻) 함량

간조직 중의 superoxide radical (O₂⁻) 함량은 Fig. 1에서와 같이 당뇨유발군인 DM군에서 정상군에 비해 81%나 증가되었다. 그러나 YK-209 뿌잎 공급군에서의 O₂⁻ 생성수준은 DM군에 비해 현저하게 감소되어 정상군 수준과 유사하였다.

TBARS 및 lipofuscin 함량 변화

조직의 산화적 손상의 지표가 되는 간조직 중의 지질과산화물 축적에 미치는 YK-209 뿌잎 공급에 따른 영향은 Fig. 2와 같다. 식이내 뿌잎을 공급하지 않은 DM군은 TBARS 함량이 정상군에 비해 126% 높았다. 그러나 식이내의 YK-209 뿌잎을 보강한 DM-0.1Y, DM-0.2Y 및 DM-0.4Y군은 DM군에 비해서 각각 56%, 49% 및 31%씩 감소되었다.

생체 노화의 중요한 지표로 사용되고 있는 리포푸신의 생성에 미치는 YK-209 뿌잎 효과를 관찰한 결과는 Fig. 2와 같다. 정상군에 비해 당뇨유발 실험군인 DM군은 100% 증가되었다.

Table 3. Effects of YK-209 mulberry leaves on hepatic superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSHpx) activities in STZ-induced diabetic rats

Groups	SOD (unit/min/ mg protein)	GSHpx (nmol NADPH/min/ mg protein)
Normal	4.50 ± 0.42 ¹⁾²⁾	160.44 ± 1.37 ^a
DM	3.56 ± 0.24 ^b	148.72 ± 2.11 ^b
DM-0.1Y	3.75 ± 0.10 ^b	158.43 ± 7.76 ^{ab}
DM-0.2Y	3.72 ± 0.15 ^b	160.89 ± 3.95 ^a
DM-0.4Y	3.72 ± 0.10 ^b	148.51 ± 4.53 ^b

¹⁾All values are mean ± SE (n=10).

²⁾Values within a column with different superscripts are significantly different each groups at p<0.05 by Tukey's test. Experimental conditions were same as Table 1.

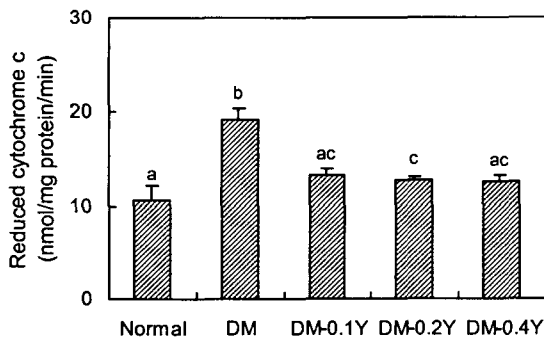


Fig. 1. Effects of YK-209 mulberry leaves on superoxide radical content in liver of STZ-induced diabetic rats. All values are mean ± SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at p<0.05 by Tukey's-HSD test. Experimental conditions were same as Table 1.

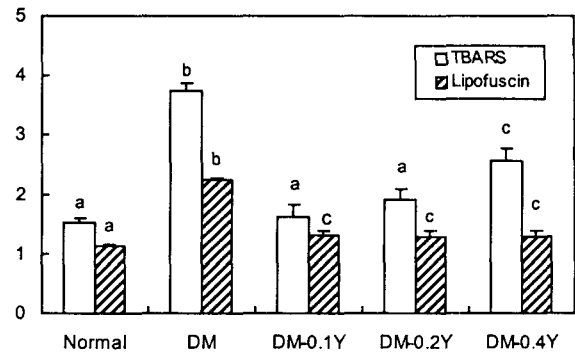


Fig. 2. Effects of YK-209 mulberry leaves on thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) and lipofuscin contents of liver tissue in STZ-induced diabetic rats.

All values are mean ± SE (n=10). Bars with different letters are significantly different at p<0.05 by Tukey's-HSD test. Experimental conditions were same as Table 1.

DM군에 비해서 DM-0.1Y군, DM-0.2Y군 및 DM-0.4Y군에서는 42%, 43% 및 44%씩 각각 감소되었으며 뿌잎 군간에는 차이가 없었다.

고 찰

본 연구는 당뇨쥐의 산화적스트레스에 미치는 뿌잎의 영향을 규명하고자 뿌잎가루를 농도별로 첨가된 식이로 사육한 후 STZ로 유발된 당뇨쥐 간조직에서 free radical 제거 효소인 항산화제 효소의 활성변화, superoxide radical(O₂⁻), 지질과산화물 및 lipofuscin 함량을 관찰하였다.

본 실험에서 단위 체중당 간의 무게는 정상군에 비해 뿌잎 비공급 당뇨군인 DM군은 31% 증가되었으나 YK-209 뿌잎공급군은 DM군에 비해 감소되었으며 뿌잎 공급군간에서는 유의적인 차이가 관찰되지 않았다.

당뇨병 상태에서 산화적 스트레스 증가는 비효소적 당화 (nonenzymatic glycosylation)와 자동산화적 당화(autooxidative glycosylation)의 증가, 항산화방어계(antioxidative defense system)의 변화 등으로 인하여 일어난다고 Griesmacher 등(24)은 보고하였다. 이러한 산화 스트레스로 인하여 생체대사 과정에서 free radical이나 지질과산화물이 끊임없이 생성되는데 생체에는 이들의 축적을 방지하기 위해 가동되는 SOD, GSH-px와 같은 산화적 방어 체계가 있어서 이들을 제거하지만 질병상태에서와 같이 과도한 산화적 스트레스 상태에서는 방어 체계가 깨뜨러지므로 free radical생성이 증가된다. 생성된 superoxide radical(O₂⁻), hydroxyradical(·OH) 및 singlet oxygen(O₂¹) 등 세포에 상해를 주며 특히 세포막의 다불포화지방산에 작용하여 지질과산화물을 생성하고 이로 인해 세포의 기능을 손상시키는 것은 이미 알려져 있다(25).

SOD는 superoxide radical을 환원시켜 H₂O₂로 전환시키며 이때 생성된 H₂O₂ 등은 GSHpx, catalase 등의 작용에 의해 H₂O로 무독화됨으로서 산소독으로부터 생체를 보호하게 되는 것

이다. 본 실험 결과 SOD 활성은 정상군에 비해 당뇨유발군에서 감소하였으며 빵잎공급 유무에 의한 유의적인 차이는 없었다.

GSHpx는 생체내에서 H_2O_2 와 환원형 glutathione(GSH)으로부터 산화형 glutathione(GSSG)과 H_2O 를 생성하는 반응과 기타 과산화물(ROOH)로부터 alcohol (ROH) 및 H_2O 를 생성하는 반응을 촉매한다(26,27). 본 실험에서 GSHpx 활성도는 정상군에 비해 DM군은 유의적으로 감소되었으나, YK-209빵잎 투여군인 DM-0.1Y, DM-0.2Y군은 정상군 수준으로 다소 회복되었다. 이와같이 STZ 유발 당뇨군에서 SOD 활성과 GSHpx 활성이 감소된 현상은 당뇨쥐에서 불포화지방산 함량이 높은 생체막이 산화적 스트레스에 민감하여 지질과산화가 촉진되므로서 세포 소기관들의 산화적 손상이 가속화되어 효소활성이 저하된 것으로 본다(28). 그러나 YK-209 빵잎을 투여한 DM-0.1Y, DM-0.2Y군에서는 GSH-px의 활성이 증가하여 정상군 수준이었다. 이러한 항산화적 기능은 주로 flavonoids의 superoxide anions의 제거로 통해 이루어진다(29)는 보고에서 볼 수 있듯이 빵잎에 함유되어있는 여러 flavonoids 성분에 의한 것으로 추정된다.

본 실험에서 대표적인 자유 라디칼 superoxide radical($O_2^{\cdot-}$) 생성을 측정된 결과 정상군에 비해 당뇨 유발군에서 증가하였으며, 이러한 결과는 당뇨병 상태의 경우 활성산소 생성이 현저하게 증가한다는 보고(30)와 일치하였다. 그러나 YK-209 빵잎 투여군은 비투여 DM군에 비해 유의적인 감소를 보였는데 이는 빵잎 투여로 free radical 제거제인 GSHpx 활성이 증가되었기 때문으로 본다.

생체내 지질과산화물은 DNA를 손상하며 발암, 돌연변이, 유전자의 손실 및 노화의 기전으로 알려져 있다. 이러한 조직의 과산화적 손상의 지표가 되는 간조직의 과산화물(TBARS)함량은 정상군에 비해 YK-209 빵잎을 공급하지 않은 DM군에서 유의적으로 증가되었으며 YK-209 빵잎을 첨가한 DM-0.1Y, DM-0.2Y군에서는 정상군과 유의적인 차이는 없었다.

노화의 정도를 평가하고 조직세포에 독성작용으로 성인병을 유발하고 노화를 촉진하는 소모성 노화 색소인 리포푸신의 생성을 보면 당뇨유발군은 정상군에 비해서 100% 증가함을 알 수 있었고 YK-209 빵잎 가루를 공급한 군을 당뇨군과 비교했을 때 유의적으로 감소한 것을 보면 YK-209 빵잎가루가 리포푸신의 생성 억제효과가 있음을 알 수 있었다. 이러한 결과는 YK-209 빵잎이 free radical 제거제인 GSHpx 활성을 증가시킴으로서 free radical 생성과 lipofuscin 합성주원료인 지질과산화물의 생성을 억제시키는데 기인한다고 볼 수 있다.

이상과 같이 당뇨 유발군에서 식이 중에 YK-209 빵잎을 공급함에 따라 간조직의 free radical 제거제인 항산화 방어 효소계의 활성을 증가시킴으로써 산화적 스트레스에 대해 방어력을 유도할 수 있었다. 따라서 빵잎은 당뇨쥐 간조직에서 superoxide radical 생성을 억제하고 나아가 과산화적 손상정도를 나타내는 리포푸신 등의 생성을 억제하므로서 산화적 스트

레스를 감소시킬 수 있음을 볼 수 있었다.

이상의 결과들을 종합해보면 YK-209 빵잎을 당뇨환자에서 동반되는 과산화적 손상을 방지할 수 있는 우수한 기능성식품으로 이용될 수 있을 것으로 보여지며 앞으로 더 구체적이고 기전적인 측면의 많은 연구를 추구할 필요가 있다고 사료된다.

요 약

YK-209 빵잎이 STZ 유발 당뇨쥐 간조직의 항산화계에 미치는 영향을 관찰코저 하였다. Sprague-Dawley 흰쥐 수컷을 정상군(normal group)과 STZ 유발 당뇨군으로 나누고 당뇨군은 다시 식이내 YK-209 빵잎 함량에 따라 각각 YK-209 빵잎을 공급하지 않은 당뇨대조군(DM group), 0.1% 빵잎 공급군(DM-0.1Y group), 0.2% 빵잎 공급군(DM-0.2Y group) 및 0.4% 빵잎 공급군(DM-0.4Y group)으로 나누어 자유섭식시켰다. 3주후 STZ으로 당뇨를 유발한 후 9일째에 희생하였다. 단위체중당 간 무게는 정상군에 비해 당뇨군 모두 유의적으로 증가되었으나 빵잎 비공급 당뇨군(DM group)에 비해 빵잎공급군들은 감소되었다. 간조직중의 SOD 활성은 정상군에 비해 당뇨유발군에서 유의적으로 감소하였으며 빵잎공급으로 인한 차이는 없었다. GSHpx 활성은 정상군에 비해 DM군은 7.3% 저하되었으나, DM-0.1Y, DM-0.2Y군은 정상군 수준이었다. 간조직 중의 지질과산화물은 정상군에 비해 DM군은 144% 증가되었으나 DM-0.1Y, DM-0.2Y군은 정상군 수준이었다. 리포푸신 함량은 정상군에 비해 DM군에서 100% 증가되었으나 YK-209 빵잎 공급군은 DM군에 비해 유의적으로 감소되었다. 간조직 중의 superoxide radical($O_2^{\cdot-}$) 함량은 정상군에 비해 DM군에서는 81% 증가되었으나 DM-0.1Y군과 DM-0.4Y군은 정상군과 유의적인 차이가 없었다. 이상의 결과에서 YK-209 빵잎은 항산화계를 강화시켜 조직의 산화적 손상을 감소시키므로서 산화적 스트레스 억제 효과가 있었다.

문 헌

1. Baynes JW. 1991. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 40: 405-412.
2. West IC. 2000. Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabet Med* 17: 171-180.
3. Obrosova IG, Fathallah L, Green DA. 2000. Early changes in lipid peroxidation and antioxidant defense in diabetic rat retina: effect of DL-alpha-lipoic acid. *Eur J Pharmacol* 398: 139-146.
4. Jain SK, McVie R, Jaramillo JJ, Palme M, Smith T, Meachum ZD, Little RL. 1996. The effect of modest vitamin E supplementation on lipid peroxidation products and other cardiovascular risk factors in diabetic patients. *Lipids* 31: S87-S90.
5. Maytin M, Leopold J, Leopold J, Lascalzo J. 1999. Oxidant stress in the vasculature. *Curr Atheroscler Rep* 1: 156-164.
6. Sato Y, Hotta N, Sakamoto N, Matsuoka S, Ohishi N, Yagi K. 1979. Lipid peroxide level in plasma of diabetic patients. *Biochem Med* 21: 104-107.
7. Kwag OG, Yang JA, Rhee SJ. 1999. Effects of vitamin E on

- the antioxidative defense system of kidney in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 654-662.
8. Chai YM, Park MR, Rhee SJ. 1998. Effects of green tea catechins on the antioxidative defense system and lipofuscin levels heart in streptozotocin-induced diabetic rats. *Kor J Gerontol* 8: 96-103.
 9. Lalla E, Lamster IB, Drury S, Fu C, Schmidt AM. 2000. Hyperglycemia, glycooxidation and receptor for advanced glycation endproducts: potential mechanisms underlying diabetic complications, including diabetes-associated periodontitis. *Periodontol* 23: 50-62.
 10. Naitoh K. 1968. Studies on the micro constituent in mulberry leaves part 2. Isolation of rutin and quercetin from mulberry leaves. *Nippon Nogei Kagaku Kaishi* 42: 422-425.
 11. Shin KH, Young HS, Lee TW, Choi JS. 1995. Studies on the chemical component and antioxidative effects of solanum lyratum. *Kor J Pharmacogn* 26: 130-138.
 12. Kim JS, Kang SS, Lee MW, Kim OK. 1995. Isolation of flavonoids from the leaves of *Aralia continentalis*. *Kor J Pharmacogn* 26: 239-243.
 13. Onogi A, Osawa K, Yasuda H, Sakai A, Morita H, Tokawa H. 1993. Flavonol glycosides from the leaves of *Morus alba*. *Shoyakugaku Zasshi* 47: 423-425.
 14. Kang SS, Woo WS. 1984. Flavonol glycosides from the leaves of *Zizyphus jujuba*. *Kor J Pharmacogn* 15: 170-178.
 15. Kim SY, Lee WC, Kim HB, Kim SK. 1998. Antihyperlipidemic effects of methanol extracts from mulberry leaves in cholesterol induced hyperlipidemia in rats. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 27: 1217-1222.
 16. Kim SY, GA JJ, Lee WC, Ryu KS, Lee KR, Kim YC. 1999. Antioxidative flavonoids from the leaves of *Morus alba*. *Arch Pharm Res* 22: 81-85.
 17. Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the antioxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 469-474.
 18. Lawrence RA, Burk RF. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 71: 952-958.
 19. Satoh K. 1978. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clin Chim Acta* 90: 37-43.
 20. Fletcher BL, Dillard CJ, Tappel AL. 1973. Measurement of fluorescent lipid peroxidation products in biological systems and tissues. *Anal Biochem* 52: 1-9.
 21. Haper MJK, Catherine J, Norris WE. 1981. Friedrichs and A Moreno Poiy I Caccelerates ovum transport in the rabbit by a prostaglandin-mediated mechanism. *J Reprod Fert* 63: 81-89.
 22. Azzi A, Montecucco C, Richter C. 1975. The use of acetylated ferricytochrome c for the detection of superoxide radicals produced in biological membranes. *Biochem Biophys Res Commun* 65: 597-603.
 23. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
 24. Griesmacher A, Kindhauser M, Andert SE, Schreiner W, Toma C, Knoebl P, Pietschmann P, Prager R, Schnack C, Schemthaler G. 1995. Enhanced serum levels of thiobarbituric acid-reactive substances in diabetes mellitus. *Am J Med* 98: 469-475.
 25. Bus JS, Aust SD, Gibson JE. 1975. Lipid peroxidation: a possible mechanism for paraquat toxicity. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 11: 31-38.
 26. Bompert GJ, Prevot DS, Bascands JL. 1990. Rapid automated analysis of glutathione reductase, peroxidase and S-transferase activity: application to cisplatin-induced toxicity. *Clin Biochem* 23: 501-504.
 27. Awasthi YC, Beutler E, Srivastava SK. 1975. Purification and properties of human erythrocyte glutathione peroxidase. *J Biol Chem* 250: 5144-5149.
 28. Chance B, Sies H, Boveris A. 1979. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 59: 527-605.
 29. Robak J, Gryglewski RI. 1988. Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochem Pharmacol* 37: 837-841.
 30. Wolff SP, Jiang ZY, Hunt JV. 1991. Protein glycation and oxidative stress in diabetes mellitus and aging. *Free Radic Biol Med* 10: 339-352.

(2002년 9월 14일 접수; 2002년 12월 9일 채택)