

Streptozotocin으로 유발된 당뇨쥐에서 청국장 분말의 항당뇨 및 항산화 효과

김 혜 정, 김 영 철*

계명대학교 공중보건학과

Antidiabetic and Antioxidant Effects of Chunggugjang Powder in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Hye Jong Kim and Youngchul Kim

Department of Public Health, Keimyung University, Daegu 702-701, Korea

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the effects of dietary chunggugjang powder on blood glucose level and hepatic activities of antioxidant enzymes in normal and streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. Sprague-Dawley male rats (200~220 g) of six groups including normal group fed normal diet (N), diabetic group fed normal diet (C), diabetic groups fed chunggugjang powder diet (DC-1%, DC-5%, DC-10%, DC-20%) were used for the experiments. Diabetes was induced by single intraperitoneal injection of streptozotocin as a dose of 70 mg/kg body weight. After 3 weeks the animals were sacrificed and hepatic activities of antioxidant enzymes, serum level of glucose and organ weight were evaluated. Food and water intakes were higher in diabetic groups than normal group. Body weight gain and food efficiency ratio were lower in diabetic groups. However, they were higher in chunggugjang diet groups (DC) than normal diet group (C). The serum glucose levels were significantly lower ($p < 0.05$) in the diabetic groups fed chunggugjang diet (DC-10%, DC-20%) than diabetic group fed normal diet (C). Hepatic activities of superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and glutathione S-transferase were lower in diabetic groups than normal group and they were significantly lower in diabetic groups fed chunggugjang diet (DC-20%) compared to diabetic rats fed normal diet ($p < 0.05$). In conclusion, these results indicated that chunggugjang powder would have antidiabetic and antioxidant effects in STZ-induced diabetic rats.

Key words : Chunggugjang, streptozotocin, diabetic rats, antidiabetic effects

서 론

현대과학의 큰 발전에도 불구하고 당뇨병의 발

병률은 증가하고 있으며 그 예방과 치료에 대한 관심이 집중되고 있다. 당뇨병은 췌장에 있는 Langerhans 섬의 β -cell에서 분비되는 insulin의 생리작용이 저조하거나 insulin receptor의 수가 적어 insulin의 생리적 기능이 불충분 할 때 나타나는 혈당 증이다(Rayfield and Ishimura, 1987). 인슐린 의존

※ To whom correspondence should be addressed.
Tel: +82-53-580-5931, Fax: +82-53-588-5233
E-mail: yckim@kmu.ac.kr

형 당뇨병(type I diabetes)은 당뇨병 환자의 약 10%가 이 경우에 속하며 주로 췌장의 이상으로 인슐린이 생성되지 않아 발병한다. 인슐린 비의존형 당뇨병(type II diabetes)은 식사 후 췌장에서 인슐린의 분비가 적고 분비속도가 늦거나, 신체조직 세포에서 인슐린 작용에 대한 저항성이 증대되어 고혈당을 초래하여 발병한다.

당뇨병의 주요 대사적 특징은 혈당 농도의 상승과 지질 대사의 비정상성(Coulston and Hollenbeck, 1988)으로써 혈중 지단백과 유리지방산의 농도 상승으로 고지혈증을 초래하여 주요 합병증인 관상동맥질환(West *et al.*, 1983)을 일으키며 망막증, 고혈압 등 만성 당뇨 합병증을 일으키기도 하는데 최근에는 이러한 당뇨의 합병증에 산화적 스트레스가 관여한다는 보고(Baynes, 1991)가 있다. 인체는 정상적인 생리 상태에서는 자유 라디칼(free radical)의 생산과 항산화 방어체계(antioxidant defense system)의 활성이 균형을 이루고 있으며 체내에서 자유라디칼이 과다 생성되거나 혹은 항산화 방어계의 기능이 감소되어 균형이 깨지면서 산화적 스트레스가 일어난다(Lawrence *et al.*, 2001). 당뇨병 환자에서 산화적 스트레스가 증가하는 주요 원인은 비효소적 당화반응과 자동 산화적 당화반응의 증가와 항산화 방어 체계의 손상 등으로 추측하고 있다(Lee *et al.*, 2001)

이러한 당뇨병의 치료 및 합병증 예방을 위해 최근에는 다양한 생리 활성을 갖고 있는 기능성 식품을 이용한 연구가 시도되고 있다. 뽕잎은 항산화 물질인 rutin, quercetin, isoquercetin 같은 플라보노이드, GABA (γ -aminobutyric acid) 등의 기능성 물질이 함유되어 있어 혈당저하작용이나 혈액중의 중성지방과 콜레스테롤 저하작용, 동맥경화증 및 고지혈증 등의 치료에 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Chae *et al.*, 2003). 콩은 식물성 단백질로 콜레스테롤, 중성지방 저하 효과가 현저하며, 식이섬유, 비타민E, 이소플라본, 페놀, 사포닌, 트립신 저해제, 피틴산 등이 함유되어 있고 혈당지수를 낮추어(Friedbwald and Ruhrah, 1990) 당뇨의 예방 및 치료에 효과가 있는 것으로 보고되었다(Kim *et al.*, 2001).

콩을 이용한 우리나라 전통 발효 식품의 하나인 청국장에는 단백질의 소화 흡수가 용이하고 특유의 점질성 조직감과 구수한 풍미를 지니고 있으면서

정장작용과 함께 간장을 보호해 주는 작용이 있다고 알려지고 있다(정태석 등, 1959). 이에 이 연구에서는 뽕나무로 우려낸 물에 콩을 삶아 발효시켜 만든 뽕 청국장을 이용하여 streptozotocin으로 유발된 당뇨병 랫드의 혈당 변화와 항산화계에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물은 Sprague-Dawley 랫드(200~220g) 수컷을 (주)효창 사이언스로부터 분양 받아 1주일 적응 시킨 후 난괴법에 의해 6군(정상식이군, 당뇨정상식이군, 당뇨청국장1%군, 당뇨청국장5%군, 당뇨청국장10%군, 당뇨청국장20%군)으로 나누어 각 군당 4마리씩 3주간 사육하여 실험하였다. 사료섭취량과 물은 매일, 체중은 주 1회, 혈당은 매주 아침 9:00~10:00시에 측정하였다.

2. 당뇨 유발

인슐린 의존성 당뇨병과 유사한 실험동물을 만들기 위하여 streptozotocin (STZ, Sigma사, USA)을 0.4 M citrate buffer 용액에 용해시켜 70 mg/kg body weight 용량(0.5 mL/100 g body weight)으로 복강내 주사하였다. 당뇨 유발 확인은 STZ 주사 72시간 후 측미 정맥에서 채혈하여 혈당량이 300 mg/dL 이상이면 당뇨병이 유발된 것으로 간주하였다.

3. 실험식이 조성

청국장 분말의 일반성분 함량을 분석(조단백 34.6%, 조지방 25.1%, 조섬유 0.5%, 회분 4.7%, 당질 26.3%, 수분 8.8%)하여 AIN-76 diet를 기본으로 대조군과 실험군의 식이조성을 조정하였다(Table 1).

식이제조에 사용한 casein은 Fonterra사(New Zealand)제품을 사용하였으며 DL-Methionine, choline bitartrate 및 cellulose는 Sigma사(USA) 제품을 사용하였고 AIN-76 vitamin mixture와 AIN-76 mineral mixture는 Dyets사(USA) 제품을 사용하였으며 corn starch, sucrose, corn oil, 청국장은 각각 삼양 제넥스, 삼양사, 제일제당, 흥성립(Korea) 제품

Table 1. Composition of experimental diets

(%)

	Normal diet	Chunggugjang-1%	Chunggugjang-5%	Chunggugjang-10%	Chunggugjang-20%
Casein	20.00	19.65	18.27	16.55	13.09
DL-Methionine	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
Choline bitartrate	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Corn starch	15.00	14.94	14.70	14.39	13.79
Sucrose	50.00	49.71	48.54	47.08	44.15
Cellulose	5.00	5.00	4.98	4.95	4.91
Mineral mix	3.50	3.45	3.27	3.03	2.56
Vitamin mix	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Corn oil	5.00	4.75	3.75	2.49	-
Chunggugjang	-	1.00	5.00	10.00	20.00
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

을 사용하였다.

4. 혈당 측정

실험기간 동안 매주 동일시간에 측미 정맥에서 혈액을 채취하여 혈당계 Gluco Dr super sensor (Allmedicus사, Korea)로 혈당을 측정하였으며 분리한 혈청의 glucose 농도는 에이겐사의 시약을 사용하여 Hitachi 7170 (Hitachi사, Japan)으로 측정하였고 insulin농도는 ELISA kit (Mercodai사, USA)를 이용하여 microplate reader (Molecular devices사, USA)로 측정하였다.

5. 실험동물 처치

실험 사육한 랫드를 14시간 동안 절식 시킨 후 21일째 날에 ether 마취 하에 복부대동맥에서 혈액을 채취하여 실온에서 30분 방치한 후 3,000 rpm에서 30분간 원심 분리하여 혈청을 분리한 후 glucose와 insulin 농도 측정에 사용하였다.

장기는 채혈 후 즉시 적출하여 생리식염수로 씻어내고 수분을 여과지로 제거한 후 무게를 칭량하였다. 간조직은 생리식염수로 관류시켜 조직 내 혈액을 제거하고 일정량을 칭량한 후 4배량의 0.25 M sucrose 용액을 넣고 glass teflon homogenizer를 이용하여 20% (w/v) 마쇄 균질액을 만들었다. 이 균질액을 600 × g에서 10분간 원심 분리하여 핵 및 미마쇄 부분을 제거한 상층액을 10,000 × g에서 20분간 원심분리한 후 효소활성 측정 시료로 사용하였다.

6. 간조직의 효소 활성도 측정

1) Superoxide dismutase (SOD)

SOD의 활성도는 hematoxylin 자동산화의 억제 정도를 관찰하는 Martin 등(1987)의 방법에 따라 0.1 mM EDTA가 함유된 50 mM 인산 완충액(pH 7.5)에 10 μM hematoxylin 및 효소액을 가해 25°C에서 반응시켜 생성된 hematein을 560 nm에서 측정하여 효소의 활성도를 산정하였다. 활성도 단위는 효소액을 넣지 않은 반응액 중의 hematoxylin 자동산화를 50% 억제하는 정도를 1 unit로 하여 단백질 1 mg이 1분 동안 반응한 unit로 표시하였다.

2) Catalase (CAT)

CAT 활성도는 hydrogen peroxide를 기질로 하여 환원되는 정도를 파장 240 nm에서 흡광도를 읽고 분자흡광계수($E=0.04 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)를 이용하여 활성을 산출하는 Aebi (1974)의 방법에 준하였다. 활성도 단위는 간조직 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 감소되는 hydrogen peroxide의 양을 nmole로 표시하였다.

3) Glutathione peroxidase (GPX)

GPX의 활성도는 Paglia와 Valentine (1967)의 방법에 따라 측정하였다. Glutathione 기질과 조효소인 NADPH를 시료와 함께 25°C에서 5분간 반응시켜 340 nm에서 NADPH의 산화로 인한 흡광도 감소를 측정하였다. 활성도 단위는 효소 반응액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분간 산화시킨 NADPH의 양을 nmole로 표시하였다.

Table 2. Water intake, food intake, body weight gain and food efficiency ratio of STZ-induced diabetic rats

Items	Diabetic groups					
	N	C	DC-1	DC-5	DC-10	DC-20
Water intake (mL/day)	29.2 ± 1.41	273.50 ± 12.48 ^{##}	272.00 ± 8.52 ^{##}	269.50 ± 4.93 ^{##}	269.00 ± 1.63 ^{##}	268.00 ± 4.97 ^{##}
Food intake (g/day)	19.20 ± 0.63	34.93 ± 2.34 ^{##}	34.58 ± 1.42 ^{##}	34.43 ± 1.77 ^{##}	38.49 ± 0.78 ^{##*}	37.53 ± 0.49 ^{##}
Body weight gain (g)	93.50 ± 3.54	-17.00 ± 14.21 ^{##}	-18.25 ± 13.65 ^{##}	-14.25 ± 25.02 ^{##}	-0.75 ± 6.34 ^{##}	-3.25 ± 11.0 ^{##}
Food efficiency ratio ²⁾ (%)	4.68 ± 0.34	-0.48 ± 0.37 ^{##}	-0.52 ± 0.37 ^{##}	-0.44 ± 0.78 ^{##}	-0.02 ± 0.16 ^{##}	-0.09 ± 0.29 ^{##}

¹⁾N : Normal-Normal diet, C : Diabetes-Normal diet, DC-1: Diabetes-Chunggugjang 1% diet, DC-5: Diabetes-Chunggugjang 5% diet, DC-10: Diabetes-Chunggugjang 10% diet, DC-20: Diabetes-Chunggugjang 20% diet. ²⁾Food efficiency ratio: body weight gain/food intake, Values are mean ± SD of 4 rats.

^{##}Significantly different from the normal group by t-test (p < 0.01).

*Significantly different from the diabetes-normal group by t-test (p < 0.05).

4) Glutathione S-transferase (GST)

GST의 활성도는 Habig 등(1974)의 방법에 따라 측정하였다. 1-chloro-2, 4-dinitrobenzene과 glutathione을 기질로 하여 25°C에서 10분간 반응시켜 생성된 2, 4-dinitrobenzene-glutathione conjugate 양을 340 nm에서 측정하였다. 활성도 단위는 효소 반응액 중에 함유된 단백질 1mg이 1분간 반응하여 생성시킨 conjugate의 양을 nmole로 나타내었다.

5) 간 조직의 단백질 함량 측정

간 조직 중 단백질 함량은 Lowry 등(1951)의 방법에 따라 bovine serum albumin을 표준품으로 사용하여 측정하였다.

7. 자료 분석

SPSS (v12.0) 통계프로그램을 이용하여 정상군, 당뇨정상식이군, 당뇨청국장식이군 간의 분석 자료의 비교를 위하여 t-test로 분석하였다. 통계적 유의수준은 0.05로 하였다.

결과 및 고찰

1. 물, 식이 섭취량 및 식이효율

실험식이로 3주간 사육한 당뇨쥐의 물 섭취량, 식이섭취량 및 식이효율을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 음수량은 당뇨군이 정상군에 비해 현저하

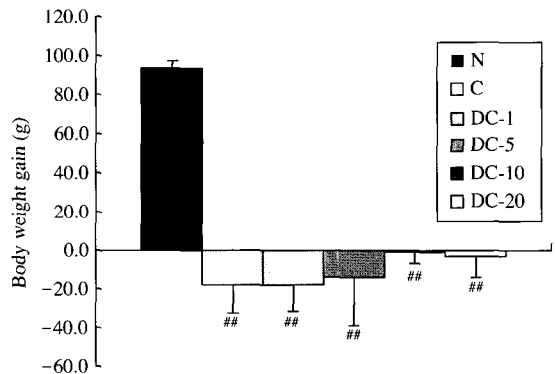


Fig. 1. Body weight gain of diabetic rats fed the experimental diets for 3 weeks. Values are mean ± SD of 4 rats. ^{##}Significantly different from the normal group by t-test (p < 0.01).

게 높았으며(약 9배), 식이섭취량은 당뇨군이 정상군에 비해 약 2배 높았다. Park 등(1994)도 streptozotocin (STZ)에 의해 유발된 당뇨쥐는 정상쥐에 비해 식이섭취량이 1.5~2배 되는 다식증상이 있다고 보고한 바 있다.

체중은 정상군은 지속적인 증가 추세를 보인 반면 당뇨대조군은 감소하는 현상을 보였으며(Fig. 1), STZ에 의해 췌장의 β-cell이 파괴되어 당 대사의 불균형을 초래한 당뇨쥐는 체중이 쉽게 회복되지 않는 것으로 알려져 있다(Lee et al., 1994). 당뇨대조군에 비해 청국장 10%와 20%식이군은 체중

Table 3. Changes in blood glucose of diabetic rats fed the experimental diets for 3 weeks

Weeks	N	Diabetic groups				
		C	DC-1	DC-5	DC-10	DC-20
0	122.00 ± 5.67	794.33 ± 97.11 ^{##}	795.67 ± 103.03 ^{##}	812.25 ± 120.97 ^{##}	795.50 ± 151.43 ^{##}	785.00 ± 182.98 [#]
1	103.50 ± 2.12	1050.33 ± 419.32 [#]	771.67 ± 117.19 ^{##}	1089.00 ± 301.92 [#]	889.25 ± 53.04 ^{##}	837.67 ± 36.69 ^{##}
2	107.00 ± 11.31	971.67 ± 340.21 [#]	1262.67 ± 164.61 ^{##}	1126.50 ± 364.56 [#]	1114.50 ± 416.23 [#]	922.33 ± 257.83 [#]
3	71.50 ± 2.12	732.33 ± 58.71 ^{##}	716.67 ± 73.71 ^{##}	614.75 ± 38.13 ^{##}	675.00 ± 35.36 ^{##}	675.67 ± 119.97 ^{##}

Values are mean ± SD of 4 rats, Unit: mg/dL

The value with a sharp-note is significantly different from the normal group by t-test ([#]: p < 0.05, ^{##}: p < 0.01).

Table 4. Serum glucose and insulin levels of diabetic rats fed the experimental diets for 3 weeks

Items	N	Diabetic groups				
		C	DC-1	DC-5	DC-10	DC-20
Glucose (mg/dL)	151.50 ± 3.54	814.75 ± 57.71 ^{##}	716.33 ± 65.55 ^{##}	755.00 ± 81.06 ^{##}	723.75 ± 28.27 ^{##*}	711.00 ± 42.79 ^{##*}
Insulin (pmol/L)	132.59 ± 0.54	56.25 ± 0.49 ^{##}	54.61 ± 2.40 ^{##}	54.52 ± 1.38 ^{##}	57.36 ± 3.04 ^{##}	55.65 ± 2.41 ^{##}

Values are mean ± SD of 4 rats.

^{##}Significantly different from the normal group by t-test (p < 0.01).

^{*}Significantly different from the diabetes-normal group by t-test (p < 0.05).

감소율이 낮았으며, 식이효율 또한 유사한 경향을 나타내었다. 이는 기능성 식품을 당뇨동물에 급여 함으로써 체중 감소를 방지하는 효과도 얻을 수 있음을 (Ko *et al.*, 2002) 시사해 준다.

2. 혈당, 혈청 포도당 및 인슐린 농도

혈중 포도당 농도 변화는 Table 3과 같다. 정상군에 비해 당뇨대조군의 초기 혈당 농도는 약 6.5배 높았으며 실험 3주 후 당뇨정상식이군(C)은 초기 혈당에 비해 7.8% 감소 한 반면 청국장 1%식이군(DC-1)은 9.9%, 청국장 5%식이군(DC-5)은 24.3%, 청국장 10%식이군(DC-10)은 15.2%, 청국장 20%식이군(DC-20)은 13.9%로 혈당강하 효과가 있었으나 통계적으로 유의하지는 않았다. STZ로 유도된 당뇨쥐에서 STZ투여가 췌장 Langerhans 섬의 β-cell을 파괴하여 인슐린 분비가 감소되며 이로 인해 당질 대사가 비정상적으로 되어 당 이용률은 줄어드는 반면 당 신생을 촉진시켜 고혈당이 초래되는 것으로 보고(Goldberg, 1981)되고 있다. Kahn (1985)은 고혈당은 vascular oxidation 대사에 이상을 초래하여 유리기를 생성하고 생성된 유리기는 β-cell의 자동면역기능을 파괴함으로써 고혈당이 정상화 되지 못하고 그 상태로 유지된다고 하였다.

혈청 포도당 농도와 인슐린 농도는 Table 4와 같다. 당뇨군에서 정상식이군(C)에 비해 청국장 10%식이군(DC-10)과 청국장 20%식이군(DC-20)은 유의하게 혈당 강하 효과를 나타내었다(p < 0.05). 이와 같은 결과와 STZ로 유발된 당뇨쥐에 콩류를 투여한 결과 혈당 강하 효과가 나타났다는 선행 연구 결과(고진복, 1996; 김영숙, 2002)를 고려해 볼 때 뽕청국장도 혈당 강하 및 항 당뇨에 효과가 있는 것으로 사료된다.

혈청 인슐린 농도는 정상군에 비해 당뇨대조군이 약 42.4%로 낮았으며 당뇨군 내에서 정상식이군과 청국장식이군 사이에는 유의한 차이가 없었다.

3. 장기 무게

간과 신장의 무게를 측정된 결과는 Table 5와 같다. 간과 신장이 체중에서 차지하는 상대적 무게는 정상군에 비해 당뇨군이 유의하게 증가 하였으며 (p < 0.01), 당뇨군 내에서는 정상식이군에 비해 청국장식이군에서 낮게 나타나는 경향이 있었으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

당뇨 유발 시 면역기능의 저하를 보이면서 인슐린 분비가 저하되어 당대사가 정상적으로 진행되지 않아 간 내에 지질이 축적됨으로써 간이 비대

Table 5. Organ weights in diabetic rats fed the experimental diets for 3 weeks

Organs	N	Diabetic groups				
		C	DC-1	DC-5	DC-10	DC-20
Liver	9.815 ± 0.09 ¹⁾	9.215 ± 0.69	9.138 ± 0.34	9.895 ± 0.52	10.318 ± 1.09	9.728 ± 0.40
	3.095 ± 0.01 ²⁾	5.105 ± 0.26 ^{##}	4.965 ± 0.41 ^{##}	5.556 ± 1.23	4.980 ± 0.38 ^{##}	4.970 ± 0.23 ^{##}
Kidney	2.410 ± 0.01 ¹⁾	2.755 ± 0.20	2.745 ± 0.20	2.715 ± 0.24	3.018 ± 0.42	2.843 ± 0.26
	0.759 ± 0.01 ²⁾	1.530 ± 0.14 ^{##}	1.489 ± 0.13 ^{##}	1.502 ± 0.15 ^{##}	1.451 ± 0.09 ^{##}	1.450 ± 0.09 ^{##}

¹⁾Absolute organ weight: g. ²⁾Relative organ weight: g/100 g body weight.

Values are mean ± SD of 4 rats.

^{##}Significantly different from the normal group by t-test (p < 0.01).

Table 6. Effect of Chunggugjang on hepatic SOD, CAT, GPX and GST activities in STZ-induced diabetic rats

Items	N	Diabetic groups				
		C	DC-1	DC-5	DC-10	DC-20
SOD ¹⁾	125.96 ± 51.86	36.39 ± 2.08 [#]	35.68 ± 7.84 [#]	25.11 ± 11.20 [#]	30.48 ± 8.27 [#]	18.24 ± 2.79 ^{##**}
CAT ²⁾	16.09 ± 2.81	12.32 ± 2.70	10.90 ± 3.25	7.68 ± 1.35 ^{##*}	8.76 ± 0.65 ^{##*}	6.61 ± 1.52 ^{##*}
GPX ³⁾	8.24 ± 0.74	8.87 ± 1.34	8.29 ± 0.37	6.72 ± 0.65 [*]	7.33 ± 0.73	6.02 ± 0.58 ^{##**}
GST ⁴⁾	480.50 ± 37.69	391.69 ± 41.08	391.35 ± 35.15 [#]	374.04 ± 47.37	345.89 ± 69.81	332.65 ± 9.44 ^{##*}

¹⁾Unit: U(50% inhibition of autoxidation of hematoxylin) mg protein/min., ²⁾Unit: H₂O₂ nmole reduced/mg protein/min., ³⁾Unit: nmole NADPH oxidized/mg protein/min., ⁴⁾Unit: nmole 2,4-dinitrobenzene-glutathione conjugate/mg protein/min.

Values are mean ± SD of 4 rats.

The value with a sharp-note is significantly different from the normal group by t-test ([#]: p < 0.05, ^{##}: p < 0.01).

The value with an asterisk is significantly different from the diabetes-normal group by t-test (^{*}: p < 0.05, ^{**}: p < 0.01).

해지는 것으로 보고 되어져 있으며 (Grey *et al.*, 1975; Dai *et al.*, 1994), 이 연구에서도 당뇨병이 정상군에 비해 간의 상대적 무게가 약 65% 증가 하였다.

당뇨쥐의 신장은 pentose phosphate 경로에서 포도당의 유출과 RNA 및 DNA의 합성을 증가시킴으로써 신장의 세포분열을 촉진시켜 신장이 비대해지고 (Dai *et al.*, 1994), 사구체 여과율의 증가와 함께 크기와 용적이 증가한다는 선행 연구 결과 (Gallaher *et al.*, 1993; 최승필 등, 2004)가 있는데 이 연구에서도 당뇨병이 정상군에 비해 신장의 상대적 무게가 약 102% 정도 증가 하였다.

4. 간조직의 항산화 효소 활성 변동

당뇨병 상태에서 생긴 산화적 스트레스는 생체 대사 과정 중에 oxygen free radical을 생성하여 세포에 상해를 주며 특히 세포막의 다가불포화 지방산에 작용하여 지질과산화물을 끊임없이 생성하고 이로 인해 세포의 기능 손상을 초래한다 (Morel

and Chisolm, 1989). 이러한 oxygen free radical은 SOD에 의해 hydrogen peroxide (H₂O₂)로 전환되며 이것은 다시 CAT 및 GPX에 의해서 물로 전환되어 해독화 (Deisseroth and Dounce, 1970)되고 GST도 유해산소 해독에 관여하는 것으로 알려져 있다.

유해산소 해독계 효소인 SOD, CAT, GPX와 GST를 측정된 결과는 Table 6과 같다. SOD 활성은 정상군과 비교하여 당뇨병대조군은 유의한 감소 (p < 0.05)를 나타내었으며 당뇨병군내에서는 정상식이군에 비해 청국장 20%식이군에서 유의하게 낮게 나타났다 (p < 0.01). CAT 활성은 정상군에 비해 당뇨병대조군이 23.4% 감소하였으며 당뇨병군 내에서는 정상식이군에 비해 청국장 5%, 10%, 20%식이군에서 유의하게 낮았다 (p < 0.05). GPX 활성은 당뇨병군 내에서는 정상식이군에 비해 청국장 5%식이군 (p < 0.05)과 청국장 20%식이군 (p < 0.01)이 유의하게 낮았다. GST 활성은 정상군에 비해 당뇨병대조군이 18.5% 감소하였으며 당뇨병군 내에서 정상식이군에 비해 청국장 20%식이군이 유의하게 낮았다 (p <

0.05).

SOD, CAT, GST 활성이 정상군(N)에 비해 당뇨대조군(C)이 낮게 나타났는데 이와 같은 결과는 STZ로 유도된 당뇨쥐 간조직 중 SOD, CAT, GSH 활성의 감소(Saleh and David, 1987)와 간과 신장 조직 중 SOD, CAT 활성의 감소(Saleh and David, 1987; Kesavulu *et al.*, 2000)를 보고한 선행 연구결과와 일치하며 이는 STZ로 유도된 당뇨쥐에서 지질과산화물의 증가로 산화적 손상이 가속화되고 이를 방어하기 위해 생체내 유해산소 해독계 효소들의 활성이 저하하는 것으로 해석된다. GPX 활성은 I형 당뇨모델의 경우 정상군과 당뇨군에서 유의적인 차이는 없었다고 보고(Lim and Kim, 1995)된 바 있으며 이 연구에서도 정상군(N)과 비교하여 당뇨대조군(C)에서 약간 높았으나 유의적인 차이는 없었다.

당뇨군내에서는 뽕청국장을 많이 첨가할수록 유해산소 해독계 효소들의 활성이 더 낮게 나타나는 추이를 보였는데 이는 뽕청국장이 STZ 투여로 생성된 oxygen free radical 등을 포함한 유해 대사산물의 빠른 제거를 위해 유해산소 해독계 효소인 SOD, CAT, GPX와 GST를 활발하게 소모한 결과로 해석된다. 이 연구결과를 종합해 볼 때 뽕청국장이 활성산소나 유해대사 산물을 제거 하는데 상당한 역할을 하는 것으로 사료되며 향후 실험기간을 연장하여 시간에 따른 효소활성의 변동을 추가적으로 규명해보는 것이 필요하리라 생각한다.

결 론

뽕청국장이 streptozotocin (70 mg/kg B.W., i.p.)으로 유발된 당뇨쥐에서 혈당과 항산화계에 미치는 영향을 알아보려고 청국장 분말 함량(1%, 5%, 10%, 20%)을 달리하여 SD 랫드(200~220g) 수컷에 3주간 실험 식이를 급여한 실험에서 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 식이 섭취량은 정상군에 비해 당뇨군이 약 2배 높았으며, 음수량은 약 9배 높았다. 식이 효율은 당뇨대조군에서 낮은 수치를 나타내었으나 청국장 10%와 20%식이군의 경우 당뇨대조군에 비해 현저히 높았다.
2. 혈중 포도당 농도는 당뇨군에서 정상식이군은

7.8% 감소한 반면 청국장식이군은 함량(1%, 5%, 10%, 20%)에 따라 각각 9.9%, 24.3%, 15.2%, 13.9% 감소하는 혈당강하 효과를 보였다.

3. 혈청 포도당 농도는 당뇨군 내에서 정상식이군에 비해 청국장 10%식이군과 청국장 20%식이군에서 유의한 혈당 강하 효과를 보였다($p < 0.05$).

4. 장기의 상대적인 중량비교에서 간과 신장의 경우 정상군에 비해 당뇨군이 유의하게 증가하였다($p < 0.01$).

5. 항산화계 효소인 SOD 활성은 정상군과 비교하여 당뇨대조군은 유의한 감소($p < 0.05$)를 나타내었으며 당뇨군 내에서는 정상식이군에 비해 청국장 20%식이군에서 유의하게 낮았다($p < 0.01$). CAT 활성은 정상군에 비해 당뇨대조군이 23.4% 감소하였으며 당뇨군 내에서는 정상식이군에 비해 청국장 5%, 10%, 20%식이군에서 유의하게 낮았다($p < 0.05$). GPX 활성은 당뇨군 내에서는 정상식이군에 비해 청국장 5%식이군($p < 0.05$)과 청국장 20%식이군($p < 0.01$)이 유의하게 낮았다. GST 활성은 정상군에 비해 당뇨대조군이 18.5% 감소하였으며 당뇨군 내에서 정상식이군에 비해 청국장 20%식이군이 유의하게 낮았다($p < 0.05$).

이상의 실험 결과를 통해 뽕청국장은 당뇨로 인한 체중 저하를 방지하고 혈당 강하 효과를 보여 당대사를 개선할 뿐 아니라 항산화계에도 영향을 미침으로써 당뇨 합병증인 산화적 스트레스를 억제하는 효과가 있는 것으로 사료된다

감사의 글

본 연구는 계명대학교 대학원학생 학술연구 장학금 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- 고진복. 대두와 magnesium 급여가 당뇨쥐의 혈당 및 지질 대사에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지 1996; 25: 963.
- 김영숙. 청국장이 당뇨쥐의 혈당 및 지질농도에 미치는 영향. 순천대학교 대학원 석사학위논문 2002; 34p.
- 정태석, 계상렬, 윤두식. Natto 및 가열 대두의 영양학적 고

- 찰, 과학연회보 1959; 4: 41.
- 최승필, 최형택, 이효진, 문선영, 김수현, 이범구, 이득식, 함승시. Streptozotocin 유발 당뇨쥐에 있어서 발효콩을 주원료로 한 기능성 식품의 혈당강하 효과, 한국식품영양과학회지 2004; 33(7): 1126-1132.
- Aebi H. Methods of Enzymatic Analysis, New York Academic Press, Vol. 2, 1974.
- Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes, Diabetes 1991; 40: 405-412.
- Chae JY, See JY, Hoang IS, Whangbo D, Choi PW, Lee WC, Kim JW, Kim SY, Choi SW and Rhee SJ. Analysis of functional components of leaf of different mulberry cultivars, J Korean Soc Food Sci Nutr 2003; 32: 15-21.
- Coulston AM and Hollenbeck CB. Source and amount of dietary carbohydrate in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus, Top Clin Nutr 1988; 3: 17-24.
- Dai S, Thompson K and McNeill JH. One-year treatment of streptozotocin-induced diabetic rats with vanadyl sulphate, Pharmacol Toxicol 1994; 74: 99-107.
- Deisseroth A and Dounce AL. Catalase physical and chemical properties, mechanism of catalysis and physiological role, Physiol Rev 1970; 50: 3-24.
- Friedbwald J and Ruhrah J. The use of the soybean as a food in diabetics, Am J Med Sci 1990; 140: 793-799.
- Gallaher DD, Casallany AS, Shoeman DW and Olson JM. Diabetes increase excretion of urinary malonaldehyde conjugates in rats, Lipids 1993; 28: 663-666.
- Goldberg RB. Lipid disorders in diabetes, Diabetes Care 1981; 4: 561-572.
- Grey NJ, Karls I and Kipnis DM. Physiological mechanism in the development of starvation ketosis in man, Diabetes 1975; 24: 10-14.
- Habig WH, Pabst MJ and Jakoby WB. Glutathione S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid and formation, J Biol Chem 1974; 249(22): 7130-7139.
- Kahn CR. The molecular mechanism of insulin action, Ann Rev Med 1985; 36: 429-451.
- Kesavulu MM, Giri R, Kameswara Rao B and Apparao C. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in type 2 diabetics with microvascular complications, Diabetes Metab 2000; 26(5): 387-392.
- Kim MH, Kim HY, Kim WK, Kim JY and Kim SH. Effects of soy oligosaccharides on blood glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats, J Korean Nutr Soc 2001; 34: 3-13.
- Ko SK, Kim JS, Choi YE, Lee SJ, Park KS and Chung SH. Anti-diabetic effects of mixed water extract from ginseng radix rubra, acanthopanacis cortex and cordyceps, Kor J Pharmacogn 2002; 33: 337-342.
- Lawrence JC, Jill SG, Eric PD, Joyce AD, Donald DL and Mark AY. Effect of antioxidant treatment of streptozotocin-induced diabetic rats on endoneurial blood flow, motor nerve conduction velocity and vascular reactivity of epineurial arterioles of the sciatic nerve, Diabetes 2001; 50(8): 1927-1937.
- Lee JS, Son HS, Maeng YS, Chang YK and Ju JS. Effects of buckwheat on organ weight, glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats, Korean J Nutrition 1994; 27: 819-827.
- Lee SZ, Park SH and Lee HS. Change in in vivo lipid peroxidation and antioxidant defense system in streptozotocin-induced diabetic rats: a time course study, The Korean Nutrition Society 2001; 34(3): 253-264.
- Lim EY and Kim H. Effect of taurine supplement on the lipid peroxide formation and the liver and the activity of glutathione dependent enzyme in liver and Islet of diabetic model mice, J Korean Soc Food Nutr 1995; 24(2): 195-201.
- Lowry OH, Rosenbrough NJ, Far AL and Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent, The Journal of Biological Chemistry 1951; 193: 265-275.
- Martin JP, Dailey M and Sugarman E. Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autoxidation, Archives of Biochemistry and Biophysics 1987; 255: 329-336.
- Morel DW and Chisolm GM. Antioxidative treatment of diabetic rats inhibits lipoprotein oxidation and cytotoxicity, J Lipid Res 1989; 30: 1827-1834.
- Paglia DE and Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase, The Journal of Laboratory and Clinical Medicine 1967; 70: 158-169.
- Park SH, Lee YK and Lee HS. The effects of dietary fiber feeding on gastrointestinal functional and lipid and glucose metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats, Korean J Nutr 1994; 27: 311-322.
- Rayfield EJ and Ishimura K. Environmental factors and insulin-dependent diabetes mellitus, Diabetes Metab Rev 1987; 3: 925-931.
- Saleh AW and David VG. Alteration in free radical tissue defense mechanism in streptozotocin-induced diabetic rats, Diabetes 1987; 36: 1014-1018.
- West KM, Ahuja MS and Bennett PH. The role of circulating glucose and triglyceride concentrations and their interaction with other "risk factors" as determinants of arterial disease in nine diabetic population samples from the WHO multi-national study, Diabetes Care 1983; 6: 361-369.