

당뇨환자용 식사대용식이 Streptozotocin으로 유발된 당뇨쥐의 혈당 및 항산화 효소 활성에 미치는 영향

배한호^{1,2,#}, 송시원^{1,2}, 남태홍^{1,2}, 조충식^{3*}

1: 다움한의원, 2: 참다움바이오텍, 3: 대전대학교 한의과대학 신계내과학교실

Effects of Uncooked Korean Food on Blood Glucose and Antioxidant Enzyme Activities of Streptozotocin-induced Diabetic Rats

Han Ho Bae^{1,2,#}, See Won Song^{1,2}, Tae Heung Nam^{1,2}, Chung-sik Cho^{3*}

1: Dawoom Oriental Medical Clinic, 2: CharmDawoom Bio-Tec,
3: Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Daejeon University

ABSTRACT

Objectives : This study has been carried out to understand the effect of Uncooked Korean Food(F-DM) on blood glucose and antioxidant enzyme activities in streptozotocin-induced Diabetic Rats.

Methods : SD rats were separated into four groups(each with 20 rats). Except normal two group, the other two groups were injected into intra-peritoneal with streptozotocin 60 mg/kg. Experimental group was eated Feed with 25% F-DM for 4 weeks.

The change of plasma glucose level, body weight were observed. After 4 weeks, liver and kidney weight, antioxidant enzyme activities, survival rate were observed with histological changes on liver, kidney and pancreas.

Results : In experimental group, body weight and survival rate increased, plasma glucose level were decreased significantly. Liver and kidney weight, XOD activity were decreased in experimental group compared to control group. GSH-px and CAT activities, insulin- immunoreactive granules in β -cells were increased significantly in experimental group compared to control group.

Conclusions : This study shows that the F-DM might be effective for treatment of diabetes and its complications, as well as reduction of the oxidative stress.

Key Words : Diabetes mellitus, Uncooked Korean Food(F-DM), streptozotocin, oxidative stress, insulin-immunoreactive granules

*교신저자 : 조충식, 충남 천안시 두정동 621번지 대전대학교 부속천안한방병원 신계내과
· Tel : 041-521-7531 · Fax : 041-521-7007 · E-mail : choo1o2@chol.com
#제1저자 : 배한호, 충남 천안시 신부동 461-13 로얄빌딩 5층 다움한의원
· Tel : 041-556-3223 · Fax : 041-556-3228 · E-mail : hanhobae@naver.com
· 접수 : 2008년 2월 11일 · 수정 : 2008년 3월 12일 · 채택 : 2008년 3월 17일

서론

당뇨병은 고혈당 상태를 나타내는 여러 질환을 말하는 것으로, 병태생리는 매우 다양하지만 일반적으로 인슐린분비의 절대적 또는 상대적 부족이나 인슐린 표적세포에서 인슐린의 생물학적 효과감소로 인하여 발생되는 고혈당 및 이에 수반되는 대사 장애가 장기간 지속되는 상태로 특징지워지는 질환이다^{1,2)}.

지난 30년간 우리나라는 경제발전과 식생활의 서구화에 따른 환경적 변화 등이 복합적으로 작용하여 빠른 속도로 당뇨병 유병률이 증가하고 있으며, 이로 인한 다양한 당뇨병성 혈관 합병증의 발생 역시 증가하고 있다. 특히 우리나라의 당뇨병의 특징은 서구에 비해 베타세포의 분비능력이 낮은 것으로 보고되고 있으며 제1형 당뇨병의 유병률은 매우 낮은 반면, 제1형과 제2형 당뇨병의 구분이 어려운 비전형적 당뇨병의 빈도가 높다는 것이다³⁾. 이는 서구와는 다른 환경적, 식이적 인자의 원인이 작용한 것이라는 추측을 가능하게 하며, 따라서 식생활 개선에 대한 연구의 필요성이 대두된다.

당뇨병에서 나타나는 대사이상은 여러 장기들에 이차적 병태생리적인 변화를 유발하며, 이러한 변화에 관여하는 대표적인 인자 중의 하나인 oxidative stress는 oxygen free radical에 의한 반응으로 나타난다⁴⁻⁶⁾. Oxygen free radical은 반응성이 강하고 친핵성이 뛰어나 혈관내피 세포에 손상을 주어 각종 혈관성 합병증을 유발하는 등 조직이나 세포에 치명적 영향을 주게 되고^{7,8)}, 췌장의 β -cell 파괴 과정에도 영향을 주는 것으로 알려져 있다⁴⁻⁶⁾.

당뇨병의 증상을 기준으로 당뇨를 虛損證으로도 보는데, 虛損證은 元氣가 毀損되고 臟腑가 受傷한 所致로 虛損이 累積되어 점차 衰弱하여지는 慢性疾患으로 그 範圍가 廣範하다고 하였고, 그 治療에 있어 形不足에는 氣로써 溫養하고 精不足에는 味로써 補해야한다고 하여, 穀肉, 果菜 등을 이용한 식이요법의 중요성을 설명하였다⁹⁾. 그러나 최근 한의계 당뇨 연구에서 식이요법을 이용한 연구는 찾아보기 힘들었다.

이에 저자는 현미잡곡밥 등의 곡류, 채소류, 버섯류, 연근채류, 해조류, 한약류 등으로 구성되어 동결건조된 식사대용식이 당뇨병에 미치는 영향을 규명하기 위해 streptozotocin으로 유발된 당뇨쥐에 식사대용식을 투여한 후 체중의 변화 및 간, 신장의 중

량변화, 혈당, 항산화 효소 활성도를 측정하고, 면역조직화학적 검사를 하여 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

실험

1. 재료

1) 실험용 식사대용식

본 실험에 사용한 식사대용식(제품명 ; 내 몸에 맞는 정식 이하, F-DM)의 구성은 다음과 같으며, (주)참다움바이오텍과 다음한의원으로부터 공급받아 사용하였다(Table 1).

Table 1. Prescription of Uncooked Korean Food(F-DM)

Class	Food
Cereal	brown rice, barley, glutinous rice brown rice, wheat, rice bran, adlay, african millet, glutinous millet
Legume	white soybean, black indian bean, green perilla, black sesame, black soybean
Vegetable & Fruit	pumpkin, kale, potato, radish, carrot, sweet potato, burdock, lotus root, onion, barley sprout, Angelica Makino, cabbage, radish tops, wild parsley, stone crop, korean leek, wormwood, mulberry leaves, pine needles, chinese bellflower, garlic, ginger, citron, cactus, apyogo mushroom, ganoderma lucidum, coriolus versicolor
Sea weed	laver, brown seaweed, sea tangle
Green weed	chlorella, spirulina
Herb	Acanthopanax senticosus, silkworm, chinese matrimony vine, vegetative wasp, yam, Angelica gigas, Eucommia ulmoides, schisandra chinensis, arrowroot
etc	mixing lactobacillus, parched salt, royal jelli, kimchi extract, glucan 30, yeast

2) 동물

실험에 사용된 동물은 코야텍(주)에서 220g 내외의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 80마리를 구입하였다. 1주일 동안 실험실 환경에 적응시키며, 일반 증상이 없는 것을 확인한 후, 임의로 20마리씩 4군으로 나누어 총 4주 동안 각 군별로 실험 식이를 투여하여 사용하였다. 검역, 순화, 사육기간 및 시험 기간 중 동물은 온도 20±2°C, 상대습도 50±5%, 환기횟수 10-12회/hr, 조명시간은 오전 7시부터 오후 7시까지, 조도는 150-200 Lux로 조정하여 사육하였다.

3) 시약 및 기기

본 실험에 사용된 xanthine sodium salt, xanthine

oxidase, ammonium m-olybdate, bovine serum albumin, EDTA sodium salt, streptozotocin, gluco-se-6- phosphate, malate anhydride, nicotinamide adenine dinucleotide(NAD), nicotinamide adenine dinucleotide phosphate(NADP), trichloroacetic acid, triethanolamide, N-1-methylnicotinamide (NMN), p-methylaminophenol sulfate, trisma base, hexadecyltrimethyl ammonum bromide, 5-dithiobis (2-nitrobenzoic acid), citrate, cytochrome C, poly-lysine 등의 시약은 sigma(USA)사에서, guinea pig anti swine insulin Antibody, Envision kit, diaminobenzidine 등의 시약은 DAKO(Denmark)에서 구입하였고, 기타 시약은 시중에서 구입한 일급 내지는 특급품을 사용하였으며, 기기는 Accu-Chek Active(Roche. Co, Germany), BÜCHI rotavapor R-200, BÜCHI heating bath B-490(Flawil, Switzerland), BECKMAN COULTER Allegra X-12R, BECKMAN COULTER OPTIMA L-100XP(Beckman Coulter INC, USA), TECAN SUNRISE (Tecan, Austria), Leica SM2400 sledge microtome (Leica, Germany), Leica SP1600 saw microtome (Leica, Germany), BX51-P(Olympus, Japan), Envision kit 등을 사용하였다.

2. 방법

1) 실험용 사료조제

기존 사료 중 25%를 F-DM으로 섞어서 Corn starch의 비율을 65%에서 40%로 낮추었다.

2) 당뇨 유도

당뇨 유발은 췌장의 β-세포를 선택적으로 파괴시킨다고 알려진 streptozotocin¹⁰⁾을 신선한 0.01 M citrate buffer (pH 4.5)에 용해시켜 60 mg/kg을 복강 내로 주사하였으며, 정상군은 0.01M citrate buffer를 당뇨 유발군과 같은 방법으로 주사하였다. 당뇨병 발생은 streptozotocin 투여 24시간 후 미정맥으로부터 채취한 혈액을 혈당측정키트로 측정하여 혈당이 300 mg/dl 이상인 것을 당뇨가 유발된 것으로 확인하였다.

3) F-DM을 섞은 사료 공급

실험동물은 정상군(NC, 정상사료를 섭취하는 군), 대조군(NDC, 당뇨유발군), 실험군(DSE, 정상사료에 25% F-DM을 섞은 사료를 섭취하는 당뇨유발군)으로 분류하였다. F-DM의 정상군에 대한 반응을 보기 위해 정상대조군(NSE, 정상사료에 25% F-DM을 섞은 사료를 섭취하는 정상군)을 추가로 설정하였다.

실험 식이의 구성은 Table 2와 같으며, 모든 실험동물에 대하여 음용수는 자유롭게 섭취할 수 있도록 공급하였다.

Table 2. Composition of Experimental Diets(%)

Ingredient	NC	NDC	NSE	DSE
Corn starch	65	65	40	40
Sucrose	-	-	-	-
Casein	20	20	20	20
Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3
Mineral mixture	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamine mixture	1	1	1	1
Cellulose	5	5	5	5
Choline chloride	0.2	0.2	0.2	0.2
Corn oil	5	5	5	5
F-DM			25	25

NC : non-treated.

NDC : treated with streptozotocin(60mg/kg i.p.).

NSE : NC cated feed within 25% F-DM.

DSE : NDC cated feed within 25% F-DM.

4) 체중 및 혈당의 측정

체중은 매일 오전 11-12시에 순서대로 체중계로 측정하여 총체중 증가량, 평균체중 등을 구하였으며, 혈당은 1주 간격으로 4주간 오전 10-11시에 미정맥에서 채혈하여 혈당측정키트로 측정하여 혈당변화를 관찰하였다.

5) 간, 신장의 중량 및 생존율 측정

실험동물은 18시간 절식한 후 체중을 측정하고, 1% ketamin hydrochloride를 0.02 ml/kg으로 복강 주사하여 마취하였으며, 복부정중선을 따라 개복하여 간과 신장을 적출하였다. 이어서 적출한 장기의 지방을 제거하고, 냉장 식염수로 3회 세척하여 이물질과 물기를 제거하였으며, 이후 중량을 측정하고, -70℃에서 보관하였다.

생존율은 4주 후 그룹별 생존개체수를 실험 시작 당시 개체수와 비교하여 구하였다.

6) 시료채취 및 효소원의 조제

채취한 간조직 1g당 4배의 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5, KP buffer)를 첨가하여 얼음수조에서 glass teflon homogenizer로 마쇄하였으며, 이렇게 분쇄한 균질액을 효소 측정의 재료로 사용하기 위하여 600×G에서 10분간 원심분리하여 상층액을 회수하였다. 이 상층액을 다시 10,000×G에서

20분 동안 원심분리하여 미토콘드리아 분획을 회수하였고, 상청액을 105,000×G에서 1시간동안 초원심분리하여 세포질 분획을 각각 회수하였다. 미토콘드리아 분획은 catalase 활성측정에 사용하였고 세포질 분획은 xanthine oxidase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, superoxide dismutase 활성 측정의 효소원으로 사용하였다.

7) Xanthine oxidase(XOD) 활성도 측정

Xanthine을 기질로 하여 생성된 uric acid를 측정하는 bergmeyer 등의 방법¹¹⁾을 적용하여 3.0 ml의 혼합용액(33 mM potassium phosphate, 0.05 mM xanthine, 0.02 unit xanthine oxidase)을 cuvette에 넣은 후 cytosol을 첨가하여 25°C, 290 nm에서 흡광도 증가속도를 측정하였다.

8) Glutathione-peroxidase(GSH-px)활성도 측정

Lawrench와 Burk의 방법¹²⁾에 따라 cumene hydroperoxide와 H₂O₂를 기질로 하여 사용하였다. GSH가 cumene hydroperoxide 또는 H₂O₂와 반응하여 산화형 glutathione(GSSG)이 형성되고 GSSG가 NADPH를 산화시키면서 GSH로 환원되므로 340 nm에서 NADPH 환원량을 측정하였다. 즉 0.5M potassium phosphate buffer(pH 7.0) 중에 효소액을 가하여 25°C 340nm에서 흡광도 변화를 측정하여 계산하였다. 효소(GSH-px) 1 unit는 효소원 1 ml당 1분 동안 산화된 NADPH의 양을 nmole로 나타내었다.

9) Glutathione reductase(GR) 활성도 측정

ADPH를 이용하여 GSH를 환원시킬 때 NADPH가 NADP+로 산화되는 정도를 340nm에서 측정하여 활성을 산정하였다¹³⁾. 효소(GR) 1 unit는 효소원 1 ml당 1분 동안 산화시킨 NADPH의 양을 nmole로 나타내었다.

10) Catalase(CAT)의 활성도 측정

Aebi 등의 방법¹⁴⁾에 따라 50 mM 인산칼륨 buffer (pH 7.0) 2.89 ml에 기질인 30mM H₂O₂ 100 μl을 넣어 25°C에서 5분간 반응시킨 반응액에 효소원을 10l 첨가하여 25°C에서 5분 동안의 흡광도 변화를 240 nm에서 측정하여 효소활성도를 측정하여 H₂O₂의 흡광도 변화와 H₂O₂의 몰흡광계수로 H₂O₂의 농도를 구하여 효소활성도를 계산하였다.

11) Superoxide dismutase(SOD) 활성도 측정

알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund와 Marklund의 방법¹⁵⁾을 사용하여 10mM EDTA-50 mM, Tris-HCL buffer (pH 8.6) 1.5 ml에 효소원 100 μl와 15 mM pyrogallol을 첨가하여 25°C에서 4분간 반응시킨 후 50 μl의 1N HCl로 반응을 종결시킨 다음 420nm에서 흡광도를 측정하여, pyrogallol의 자동산화를 50% 억제하는데 필요한 효소의 양을 1 unit로 환산하였다.

12) 면역조직화학적 검사

부검한 조직은 10% 중성 포르말린에 48시간 이상 고정 후, 일반적인 조직 병리 처리 절차를 실시하여 파라핀에 포매하였다. 해당 파라핀 블록은 2 μm 간격으로 절편을 만들어, poly-lysine처리된 코팅 슬라이드에 부착하였고, xylene과 단계별 ethanol을 이용하여 투명화 및 함수 과정을 실시하였으며, 해당 조직은 3% H₂O₂용액에 실온에서 10분간 처리하였다. 해당 조직을 guinea pig anti swine insulin antibody와 1 : 100으로 희석농도에서 30분간 반응시켰고, HRP가 결합된 dextran polymer을 30분간 처리하였다. Tris buffer with 0.5% tween 20(pH 7.6)을 이용하여, 매 과정 수세를 실시하였다. 마지막으로 diaminobenzidine으로 발색을 실시하고, 헤마톡실린 및 0.3% 암모니아수를 이용하여 배경염색을 실시하였다.

13) 통계처리

본 연구의 모든 실험 결과 수치는 Mean±SD로 표시하였고, one way ANOVA에 의해 p<0.05 수준에서 유의성 여부를 검증하였으며, 유의성이 나타날 경우 Duncan's multiple range test로 검증하였다.

성 적

1. 체중 변화

정상군에서 64% 증가하였고, 대조군에서는 20% 감소하였으며, 실험군에서는 26% 증가하였다. 4주 후 실험군의 체중은 289.08±11.16 g으로 정상군의 374.13±5.71g에 비하여 감소되었고, 대조군의 179.25±3.40g에 비하여서는 유의성 있게 증가되었다(Fig. 1, Table 3).

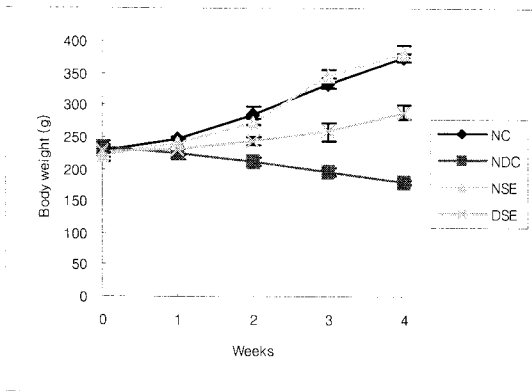


Fig. 1. Effects of F-DM on the body weightes in streptozotocin-induced diabetic rats

The results are expressed the mean.

NC : non-treated.

NDC : treated with streptozotocin (60 mg/kg i.p).

NSE : NC eated feed with 25% F-DM.

DSE : NDC eated feed with 25% F-DM.

Statistically significant value compared with control group by ANOVA test and Duncan's method(* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001 vs NDC).

Table 3. Effects of F-DM on Body Weightes & Body Weight Gains in Streptozotocin-induced Diabetic Rats for 4 Weeks

Characters	Experimental diets			
	NC	NDC	NSE	DSE
Body weight (g)	374.13±5.71	179.25±3.40	380.67±13.3	289.08±11.16***
Body weight gain(g)	146.51±16.01	-43.99±10.69	138.68±17.3	60.9±8.77

The results are expressed the mean±S.D.

NC : non-treated.

NDC : treated with streptozotocin (60 mg/kg i.p).

NSE : NC eated feed with 25% F-DM.

DSE : NDC eated feed with 25% F-DM.

Statistically significant value compared with control group by ANOVA test and Duncan's method(***: p<0.001 vs NDC).

2. 간, 신장의 중량변화 및 생존율

대조군은 정상군에 비하여 장기의 중량이 증가하였고, 실험군은 대조군에 비하여 간과 신장의 중량이 감소하였다(Table 4).

정상군은 모든 쥐가 끝까지 생존하였고, 대조군은 55%, 실험군은 70%의 생존율을 보여 실험군이 대조군보다 높은 생존율을 나타내었다(Table 4).

3. 혈당의 변화

정상군에서는 체중의 증가에 따라 약간의 혈당 증

Table 4. Effects of F-DM on Liver & Kidney Weightes, Survival Rates in Streptozotocin-induced Diabetic Rats for 4 Weeks

Characters	Experimental diets			
	NC	NDC	NSE	DSE
Liver weight(g)	13.5±0.46	14.2±0.96	13.4± 0.72	13.1± 0.62
Kidney weight(g)	3.22±0.72	4.12±0.47	3.41± 0.79	3.31± 0.36
Survival rate(%)	100	55	100	70

The results are expressed the mean±S.D.

NC : non-treated.

NDC : treated with streptozotocin (60 mg/kg i.p).

NSE : NC eated feed with 25% F-DM.

DSE : NDC eated feed with 25% F-DM.

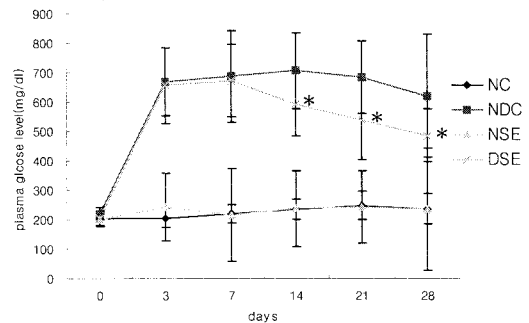


Fig 2. Effect of F-DM on plasma glucose levels in streptozotocin-induced diabetic rats

The results are expressed the mean±S.D.

NC : non-treated.

NDC : treated with streptozotocin(60mg/kg i.p).

NSE : NC eated feed within 25% F-DM.

DSE : NDC eated feed within 25% F-DM.

Statistically significant value compared with control group by ANOVA test and Duncan's method(* : p<0.05 vs NDC).

Table 5. Effect of F-DM on Plasma Glucose Levels in Streptozotocin-induced Diabetic Rats for 4 Weeks

Group	0 days	3 days	7 days	14 days	21 days	28 days
NC (mg/dl)	202.3±25.3	205.6±32.6	219.2±29.4	234.9±34.3	247.5±48.3	236.4±52.5
NDC (mg/dl)	219.8±21.5	669.4±115.3	687.1±156.8	706.4±128.4	683.2±122.6	621.1±208.2
NSE (mg/dl)	198.5±36.6	242.6±68.7	214.7±31.8	237.8±43.1	242.2±29.6	235.6±48.25
DSE (mg/dl)	205.2±24.3	656.3±128.2	674.2±122.4	592.6±106.6 ^a	538.5±135.6 ^b	485.8±89.33 ^c

The results are expressed the mean±S.D.

NC : non-treated.

NDC : treated with streptozotocin(60mg/kg i.p).

NSE : NC eated feed within 25% F-DM.

DSE : NDC eated feed within 25% F-DM.

Statistically significant value compared with control group by ANOVA test and Duncan's method(* : p<0.05 vs NDC).

가가 관찰되었으나, 일정 수준 이내에 있었고, 대조군은 지속적으로 고혈당이 유지되었다. 실험군의 혈당은 7일째까지 상승하였으나, 14일째부터는 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다(Fig 2, Table V).

4. 항산화 효소 활성도에 미치는 영향

1) Xanthine oxidase(XOD)의 활성에 미치는 영향

간 조직중의 XOD 활성은 정상군의 12.4±2.1 unit/min/mg protein에 비하여 대조군에서 19.3±4.6 unit/min/mg protein으로 증가되었고, 실험군에서는 17.5±4.1 unit/min/mg protein으로 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 3).

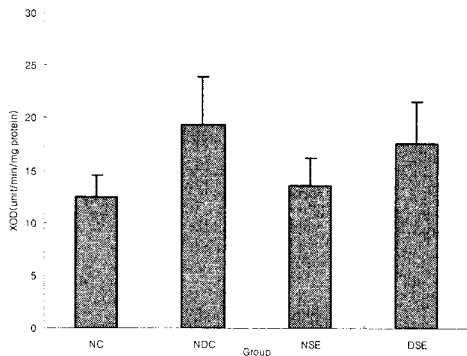


Fig. 3. Effect of F-DM on XOD activity in hepatic cells of streptozotocin-induced diabetic rats(unit/min/mg protein)

The results are expressed the mean±S.D.

NC : non-treated.

NDC : treated with streptozotocin(60mg/kg i.p).

NSE : NC eated feed with 25% F-DM.

DSE : NDC eated feed with 25% F-DM.

2) Glutathione peroxidase(GSH-px)의 활성에 미치는 영향

대조군은 1.18±0.16nmole NADPH oxidized/min/mg protein으로 정상군의 1.58±0.21nmole NADPH oxidized/min/mg protein에 비하여 활성이 감소되었고, 실험군에서는 1.43±0.27nmole NADPH oxidized/min/mg protein으로 대조군에 비하여 유의성 있게 증가되었다(Fig. 4).

3) Glutathione reductase(GR)의 활성에 미치는 영향

대조군에서 GR 활성은 1.23±0.12 unit/min/mg protein으로 정상군의 2.1±0.14 unit/min/mg protein에 비하여 감소되었으며, 실험군에서는 1.62±0.17unit/min/mg protein로 대조군에 비하여 활성이 증가되었으나, 유의성은 없었다(Fig. 5).

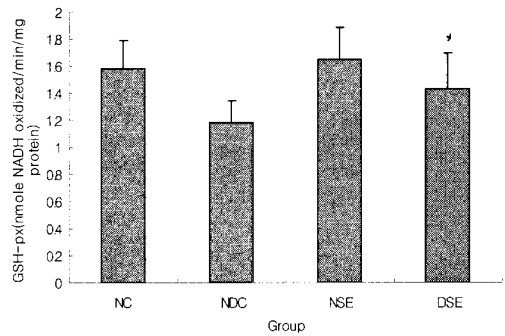


Fig. 4. Effect of F-DM on GSH-px activity in hepatic cells of streptozotocin-induced diabetic rats(oxidized/min/mg protein)

The results are expressed the mean±S.D.

NC : non-treated.

NDC : treated with streptozotocin(60mg/kg i.p).

NSE : NC eated feed within 25% F-DM.

DSE : NDC eated feed within 25% F-DM.

Statistically significant value compared with control group by ANOVA test and Duncan's method(*: p<0.05 vs NDC).

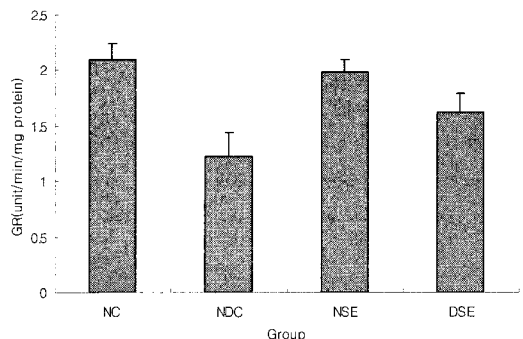


Fig. 5. Effects of F-DM on GR activity in hepatic cells of streptozotocin-induced diabetic rats(unit/min/mg protein)

The results are expressed the mean±S.D.

NC : non-treated.

NDC : treated with streptozotocin(60mg/kg i.p).

NSE : NC eated feed with 25% F-DM.

DSE : NDC eated feed with 25% F-DM.

4) Catalase(CAT)의 활성에 미치는 영향

대조군은 0.91±0.18 nmole/min/mg protein으로 정상군의 1.83±0.23 nmole/min/mg protein에 비하여 CAT 활성이 감소되었으며, 실험군에서는 1.59±0.22 nmole/min/mg protein으로 대조군에 비하여 유의성 있게 증가되었다(Fig. 6).

5) Superoxide dismutase(SOD)의 활성에 미치는 영향

대조군의 SOD 활성은 1.18±0.18 units/mg protein으로 정상군의 1.72±0.11 units/mg protein에 비하여

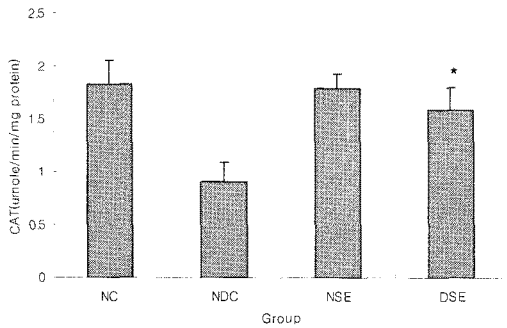


Fig. 6. Effect of F-DM on CAT activity in hepatic cells of streptozotocin-induced diabetic rats(nmole/min/mg protein)

The results are expressed the mean±S.D.

NC : non-treated.

NDC : treated with streptozotocin(60mg/kg i.p).

NSE : NC eated feed with 25% F-DM.

DSE : NDC eated feed with 25% F-DM.

Statistically significant value compared with control group by ANOVA test and Duncan's method(* : p<0.05 vs NDC).

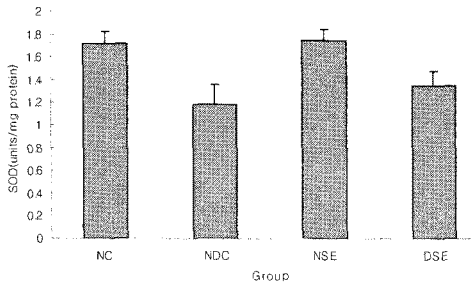


Fig. 7. Effect of F-DM on SOD activity in hepatic cells of streptozotocin-induced diabetic rats(units/mg protein)

The results are expressed the mean±S.D.

NC : non-treated.

NDC : treated with streptozotocin(60mg/kg i.p).

NSE : NC eated feed with 25% F-DM.

DSE : NDC eated feed with 25% F-DM.

감소되었고, 실험군은 1.35±0.13 units/mg protein으로 대조군에 비하여 증가되었으나, 유의성은 없었다 (Fig. 7).

5. 면역조직화학적 검사 소견

정상군은 랑게르한섬의 β-cell에서 강한 면역 반응을 나타내었고, 대조군에서는 insulin 면역 반응이 대부분 나타나지 않았으며, 실험군에서는 대조군에 비하여 β-cell내 많은 수의 과립들에서 insulin 면역 반응이 유의성 있게(P<0.05) 증가한 것이 관찰되었다(Fig. 8).

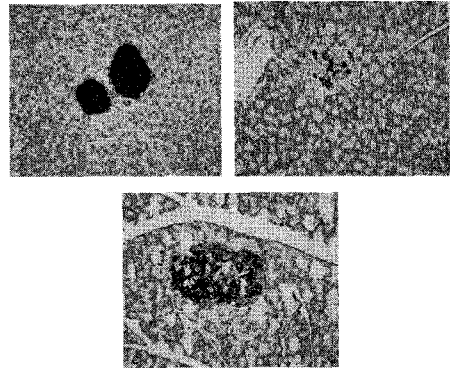


Fig. 8. Islets of Langerhans of β-cells(Isulin Immunohistochemistry; Magnification: ×200)

A : NC treated none.

B : NDC treated with Streptozotocin(60mg/kg i.p).

C : NDC eated feed within 25% F-DM.

고 찰

지난 30년간 우리나라는 경제발전과 식생활의 서구화에 따른 환경적 변화 등이 복합적으로 작용하여 빠른 속도로 당뇨병 유병율이 증가하고 있으며, 이로 인한 다양한 당뇨병성 혈관 합병증의 발생 역시 증가하고 있다. 특히 우리나라의 당뇨병의 특징은 서구에 비해 베타세포의 분비능력이 낮은 것으로 보고되고 있으며 제1형 당뇨병의 유병율은 매우 낮은 반면, 제1형과 제2형 당뇨병의 구분이 어려운 비전형적 당뇨병의 빈도가 높다는 것이다³⁾. 이는 서구와는 다른 환경적, 식이적 인자의 원인이 작용할 것이라는 추측을 가능하게 하며 따라서 식생활 개선에 대한 연구의 필요성이 대두된다.

당뇨병에서 나타나는 고혈당은 포도당 자가산화, 최종당화 산물의 생성과 polyol pathway의 활성화 등 여러 가지 기전을 통해 oxidative stress를 유발한다¹⁶⁾. Oxidative stress는 oxygen free radical에 의한 반응으로 oxygen free radical은 당뇨병에서 비효소적 단백질 당화, 단백질의 자가산화, 대사성 스트레스, sorbitol 경로 활성도의 변화, 신경 허혈 재관류, 외적 요인에 의한 세포 손상, 항산화 기전의 약화에 의해 증가하며, 췌장의 β-cell 파괴 과정에 밀접한 영향을 주는 것으로 보고되었고^{4-6,17)}, 이에 oxygen free radical을 소거시키는 약물이 당뇨병 치료에 필요하다고 하였다¹⁸⁻²⁰⁾. 또한 oxygen free radical의 지질과산화 반응은 한의학에서 瘀血의 병리와 밀접한 관련이 있다고 하여, 당뇨병 및 당뇨병 합병증에

活血化瘀의 효과가 있는 약물을 활용하고 있으며, 活血化瘀의 방법은 혈당 및 혈중 지질의 조절, 체중 감소의 억제, 사망률 감소, 합병증의 예방 등에 효과가 있다고 하였다²¹⁻²⁵⁾. 이는 당뇨병 치료에 있어 어혈병태의 개선이 중요함을 알려줌과 동시에 당뇨병에 효과가 있는 약물은 반대로 어혈제거에 유용함을 반증한다 하겠다.

당뇨병의 증상을 기준으로 虛損證의 범주에 포함되는데, 虛損證은 元氣가 毀損되고 臟腑가 受傷한 所致로 虛損이 累積되어 점차 衰弱하여지는 慢性疾患으로 그 範圍가 廣範하다고 하였고 그 治療에 있어 形不足에는 氣로서 溫養하고, 精不足에는 味로써 補해야한다고 하여 穀肉, 果菜 등의 식이 요법의 중요성을 설명하였고, 또한 虛損證에 溫補하는 한약과 뜸을 사용하게 되면 火를 더욱 熾盛케하고 水를 더욱 枯渴시킨다고 하여 한약의 무분별한 濫用을 경계하였다⁹⁾.

최근 식이요법에 관한 연구²⁶⁻³⁰⁾에서 현미잡곡 등의 식사대용식은 체중 체지방 및 허리둘레가 유의적으로 감소되어 복부비만의 위험률을 낮춘다고 하였고, HDL-Chol을 제외한 혈청지질농도는 모두 유의적인 감소를 보인다고 하였고, 지방간을 개선시키고 혈중 콜레스테롤과 중성지방의 농도를 모두 낮추는 유용성을 나타낸다고 하였다. 특히 황³¹⁾은 현미가 모든 생식제품에 공통적으로 포함되어 있는 대표적인 곡류원료이며, 현미의 여러 부분 가운데에서도 특히 외피의 bran 부분에 대부분의 생리활성 성분이 포함되어 있다. 미강에는 ferulic acid, γ -oryzanol, myo-inositol, IP₆, β -sitosterol로 대표되는 phytosterol류, tocopherol, tocotrienol 등의 생리활성 phytochemicals와 면역활성 다당류인 arabinoxylan이 다량 함유되어 있다. 우리의 주식으로서 매일 일정량을 섭취하는 쌀에 유효 생리 활성 성분과 면역활성 다당류 성분이 다량 포함되어 있다는 것은 매우 흥미로운 사실이라고 하여 현미잡곡 등의 식사대용식이 다양한 생리활성작용이 있음을 설명하였다.

양³²⁾은 생식은 가공중의 영양소나 미네랄이 파괴되는 화식과 달리 인체의 신진대사에 중요한 성분인 비타민, 미네랄 등의 각종 영양소와 효소, 엽록소, 섬유질이 자연 그대로 남아있어 인체의 자연성을 회복하는 방법 중의 하나이다. 이러한 생식의 효능과 함께 한약제재들의 약효과 용화될 경우 그 효과가 훨씬 상승될 것이다. 생식급여로 인한 모세혈관벽의 지단백 분해효소를 활성화하여 중성지질의 주요 운반체인 키로미크론과 VLDL의 분해를 촉진한 것으로

사료된다고 하였다.

허손증인 당뇨에 한약보다는 식이요법을 우선시하여 인체의 생리활성기능을 개선시킨 후 한약을 복용케 하는 것이 보다 효과적이라면, 당뇨환자에 적합한 식사대용식개발은 필수적이며 생리활성물질이 그대로 살아있는 현미잡곡의 곡류와 유기농채소류, 연근채류, 해조류, 버섯류, 효소류 등을 한국식식단으로 배합한 식사대용식에 당뇨의 어혈병태를 제거하는 데 효과적인 약용한약을 소량 가미한다면, 세계적으로도 특이성을 지닌 한국형당뇨에 보다 적합한 치료법을 찾을 수 있을 것으로 생각된다.

이에 저자는 곡류, 채소류, 연근채류, 버섯류, 해조류, 한약류 등의 60가지 재료를 배합한 재료를 진공 동결건조방식으로 제조하여 손쉽게 물에 타먹는 방식의 식사대용식을 개발하였고, 저자의 한의원에서 임상적인 효능을 1년간 검토한 “제품명: 내몸에 맞는 정식”의 실험적 효능을 검토하고자 하였다.

동결건조한 식사대용식이 당뇨병에 미치는 영향을 규명하기 위해 streptozotocin으로 유발된 당뇨쥐에 25% F-DM을 혼합한 사료를 먹게 한 후 체중의 변화 및 간, 신장의 중량변화, 혈당, 항산화 효소 활성도를 측정하고, 면역조직화학적 검사를 관찰하였다.

F-DM을 사료에 25% 비율로 섞어 섭취하도록 한 것은 다음한의원에서 당뇨환자에게 하루 세 끼 중 한 끼를 F-DM으로 섭취하도록 한 조건과 유사하도록 설정한 것이다. 하루 세 끼 중 한 끼만을 식사대용식으로 섭취하더라도 당뇨조절에 유의하다면, 모든 당뇨환자를 대상으로 해서 하루 한 끼를 식사대용식으로 섭취하게 하면 이는 복잡한 식단을 지켜야하는 당뇨환자들과 이를 지도해야하는 의료진 양자 간에 많은 수고로움을 덜 수 있는 방안이 될 것이다.

실험방법은 β -cell만을 선택적으로 파괴하여 insulin의 분비를 저하시켜 혈당을 상승시키는 작용을 하는 것으로 알려진 streptozotocin을 사용하여 당뇨병을 유발하였으며^{10,33)}, 항산화 효소 활성도는 간내 유해활성산소의 제거 효소들인 XOD, GSH-px, GR, CAT 및 SOD의 활성을 측정하였다.

실험 후 4주째 체중변화에서 실험군은 대조군에 비하여 유의성 있는 체중증가가 관찰되었다. 정상군에서 64% 증가하였고, 대조군에서는 20% 감소하였으며, 실험군에서는 26% 증가하였다. 4주 후 실험군의 체중은 289.08±11.16g으로 정상군의 374.13±5.71g에 비하여 감소되었고, 대조군의 179.25±3.40g에 비하여서는 유의성 있게 증가되었다(Fig. 1, Table 3). 당뇨병에서 체중의 감소는 대개 인슐린 부족이나 기능장

에로 glucose가 지방조직으로 흡수되지 못하여 지방조직이 분해되기 때문에 나타나는 것으로, streptozotocin으로 유발된 당뇨쥐에서 점차 체중이 감소하나 인슐린 투여의 경우 정상에 가깝게 회복한다는 보고³⁴⁾로 볼 때, F-DM 혼합사료는 streptozotocin에 의해 유발된 당뇨쥐의 인슐린 분비를 촉진하여 체중감소를 억제한 것으로 사료된다.

혈당은 7일째까지 대조군과 실험군 사이에서 유의성 있는 차이가 관찰되지 않았으나, 14일째부터 대조군에 비하여 실험군에서 혈당이 유의성 있게 감소하였다. 이러한 혈당의 강하현상은 F-DM 혼합사료가 췌장의 β -cell을 자극하여 인슐린 분비량을 증가시키거나 세포내로 들어가지 못하는 혈관내 포도당을 세포내로 이동시켜 소모시키기 때문에 나타난 것으로 생각된다.

간과 신장의 중량변화에서, 대조군은 정상군에 비하여 장기의 중량이 증가하였고, 실험군은 대조군에 비하여 간과 신장의 중량이 감소하였으나 유의성은 관찰되지 않았다. 당뇨병을 유발시킨 흰쥐에서 간의 비대현상은 streptozotocin에 의한 체내 인슐린 농도의 저하로 당질대사가 정상적으로 일어나지 않고, acetyl-CoA에서의 지질 대사 체계가 형성되기 때문에, 간에서 중성 지질이 합성되고, 축적되어 나타나는 것으로 알려져 있다³⁵⁾. 또한 신장의 비대현상은 혈장내의 포도당 농도의 증가로 세포막의 비대를 유발하는 UDP-galactose 또는 glycogen으로 대사되어 사구체내의 mesangial cell로 축적되어 유발되거나, 혈장내의 높아진 포도당 농도가 pentose phosphate 경로를 거쳐 phosphoribosyl pyrophosphate를 공급하여 RNA 및 DNA의 합성이 증가되는 결과 신장의 세포분열이 촉진되어 신장조직의 비대가 유발되는 것으로 알려져 있다³⁶⁻³⁸⁾. 실험군에서 간과 신장의 장기 비대가 나타나지 않은 것은 이러한 반응의 일부 과정을 F-DM 혼합사료가 억제한 것으로 사료되며 이는 F-DM 혼합사료가 streptozotocin에 인한 산화적 손상을 피해 생존한 β -cell의 인슐린 생성을 촉진하거나 생리활성의 토대를 제공하는 것으로 사료된다. 또한 당뇨병성 간병증과 신병증에서 간과 신장의 중량은 현저하게 상승되어 간과 신장의 중량 변화가 치료 약물의 효과 평가시 가장 기본적인 지표가 된다는 보고³⁹⁻⁴¹⁾로 볼 때, 본 실험의 당뇨 유발군에서는 실험기간 내 당뇨병성 간병증과 신병증까지 진행되지 않은 것으로 판단된다.

생존율 결과는 정상군의 흰쥐는 100%의 생존율을 보였으며, 대조군과 실험군에서는 각각 55%와 70%의

생존율을 보였다. 당뇨병에서는 고혈당으로 인한 급성 및 만성 합병증으로 사망률은 높아지게 되는데²⁾, F-DM 혼합사료가 당뇨병의 병태생리적인 변화로 나타나는 급만성 합병증으로의 이환을 억제하며 당뇨쥐의 생존율을 증가시킨 것으로 사료된다.

항산화효소 활성도에 미치는 영향의 결과에서, XOD의 활성은 정상군의 12.4 ± 2.1 unit/min/mg protein에 비하여 대조군에서 19.3 ± 4.6 unit/min/mg protein으로 증가되었고, 실험군에서는 17.5 ± 4.1 unit/min/mg protein으로 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 3). XOD는 생체내 유리기 생성계의 하나로 purine, pyrimidine, pteridine, aldehyde류 및 heterocyclic 화합물 등의 대사에 관여하는 비특이적 효소이며, 생체내에는 주로 purine 체의 대사산물인 hypoxanthine을 xanthine으로, xanthine을 다시 산화시켜 요산을 생성하는 반응의 촉매로 작용하는 과정 과정에서 유리기를 생성한다고 알려져 있다⁴²⁾.

GSH-px의 활성에서, 대조군은 1.18 ± 0.16 nmole NADPH oxidized/min/mg protein으로 정상군의 1.58 ± 0.21 nmole NADPH oxidized/min/mg protein에 비하여 활성이 감소되었고, 실험군에서는 1.43 ± 0.27 nmole NADPH oxidized/min/mg protein으로 대조군에 비하여 유의성 있게 증가되었다(Fig. 4). GSH-px는 주로 세포질과 미토콘드리아에 존재하며, glutathione을 산화시키는 과정에서 hydrogen peroxidase나 lipid peroxidase등을 제거하는 효소이다⁴³⁾.

CAT의 활성에서 대조군은 0.91 ± 0.18 nmole/min/mg protein으로 정상군의 1.83 ± 0.23 nmole/min/mg protein에 비하여 CAT 활성이 감소되었으며, 실험군에서는 1.59 ± 0.22 nmole/min/mg protein으로 대조군에 비하여 유의성 있게 증가되었다(Fig. 6). CAT는 지방의 자동산화와 유기물의 산화 및 SOD에 의해 생성된 과산화수소를 GSH-px와 함께 산소와 물로 분해시켜서 유리기로부터 조직의 손상을 방어하는 효소이다⁴⁴⁾.

GR의 활성에서, 대조군에서 GR 활성은 1.23 ± 0.12 unit/min/mg protein으로 정상군의 2.1 ± 0.14 unit/min/mg protein에 비하여 감소되었으며, 실험군에서는 1.62 ± 0.17 unit/min/mg protein로 대조군에 비하여 활성이 증가되었으나, 유의성은 없었다(Fig. 5). GR은 과산화수소를 분해하며 과산화지질을 분해하여 해독하는 역할을 하는 glutathione을 환원시키는 효소이다.

SOD의 활성에서, 대조군의 SOD 활성은 1.18 ± 0.18 units/mg protein으로 정상군의 1.72 ± 0.11 units/mg protein에 비하여 감소되었고, 실험군은 1.35 ± 0.13

units/mg protein으로 대조군에 비하여 증가되었으나, 유의성은 없었다(Fig. 7). SOD는 산화적 스트레스에 대한 세포의 방어에 일차적으로 관여하는 효소로서 superoxide anion을 과산화수소로 전환시키는데 관여한다^{43,45}).

본 실험의 대조군에서 XOD 활성은 증가하고, CAT, GSH-px, SOD 활성이 감소한 것은, 당뇨병에서 항산화 효소들의 활성 변화로 인해 항산화 방어체계가 손상된다는 보고¹⁹)와 상당한 연관이 있는 것으로 사료되며, 실험군에서 항산화 효소활성이 증가되는 현상은 F-DM 혼합사료가 streptozotocin에 의해 유발된 당뇨쥐의 인슐린 분비를 촉진하여 혈관내 고혈당을 감소시키고, oxidative stress의 생성과 소거과정에 영향을 주어 당뇨의 기본 병태생리인 어혈을 제거하여 피를 맑게 하기 때문인 것으로 생각된다.

췌장의 면역조직화학적 결과에서, 실험군이 대조군에 비하여 β -cell내 많은 수의 과립에서 insulin 면역 반응이 나타남으로써, F-DM 혼합사료가 streptozotocin으로 유발된 당뇨쥐의 β -cell에서 인슐린 분비를 촉진하거나 관련 생리활성물질을 활성화하는 것으로 사료된다. SOD가 streptozotocin 유발 당뇨병을 생체에서 완화시키고, 인슐린방출에 대한 streptozotocin의 의한 억제 효과를 감소시킨다는 보고^{46,47})로 볼 때, 이와 같은 결과는 F-DM 혼합사료가 당뇨쥐의 항산화 효소 활성 및 β -cell의 활성을 증가시킴으로써 나타난 것으로 생각된다.

결론적으로 F-DM 혼합사료는 streptozotocin으로 유발된 당뇨쥐의 β -cell 활성에 영향을 미치고, oxygen free radical의 생성과 소거에 관여하는 효소들을 조절하여 oxidative stress를 감소시키는데 영향을 미침으로써, 어혈을 제거하여 피를 맑게 하고 나아가 당뇨병 및 당뇨병합병증의 예방과 치료에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

결 론

Streptozotocin으로 유발된 당뇨쥐에 F-DM 혼합사료를 먹인 후 체중과 혈당의 변화, 간과 신장의 중량 변화, 생존율, 항산화 효소 활성 및 면역조직화학적 영향을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 식사대용식(제품명 ; 내 몸에 맞는 정식) 섭취군은 대조군에 비하여 체중이 유의성 있게 증가하였다.

2. 식사대용식(제품명 ; 내 몸에 맞는 정식) 섭취군은 대조군에 비하여 생존율이 높았다.

3. 식사대용식(제품명 ; 내 몸에 맞는 정식) 섭취군은 대조군에 비하여 GSH-px 및 CAT활성이 유의성 있게 증가되었다.

4. 식사대용식(제품명 ; 내 몸에 맞는 정식) 섭취군의 대조군에 비하여 β -cell의 면역반응이 유의성 있게 증가되었다.

이상의 결과로 식사대용식(제품명 ; 내 몸에 맞는 정식)은 췌장의 β -cell 활성 및 항산화효소활성에 작용하여, 인체의 어혈을 제거하고 피를 맑게 하여 고혈당과 고혈당으로 발생하는 증상의 회복 및 예방에 유의한 효과가 있을 것으로 사료되며, 향후 추가적 연구가 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 서울대학교 의학대학 내과학교실. 내과학. 서울 : 군자출판사. 1996 : 788.
2. Kasper, Braunwald, Fauci, Hauser, Longo, Jameson 외. 해리슨내과학 16th. 서울: MIP. 2006 : 2351-82.
3. 김응진, 민현기, 최영길, 이태희, 허갑범, 신순현. 당뇨병학. 서울: 고려의학. 1998 : 1, 493-5, 498.
4. Wolff SP. The potential role of oxidative stress in diabetes and its complications : Novel implication for theory and therapy in diabetic complications. Scientific and Clinical Aspects. Crabbe MJC. ed. NY : Churchill Livingstone. 1987 : 167-220.
5. Oberley LW. Free radicals and diabetes. Free Radic Biol Med. 1988 ; 5(2) : 113-24.
6. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. Diabetes. 1991 ; 40(4) : 405-12.
7. Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. Diabetes Care. 1996 ; 19(3) : 257-67.
8. Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases. the role of oxidant stress. Cir. Res. 2000 ; 87(10) : 840-4.
9. 전국한외과대학 계계내과학교실. 동의계계내과학. 서울 : 한문회사. 211-221

10. 이태희. 당뇨병 유발약물의 작용기전. 당뇨병. 1993 ; 17(1) : 1-15.
11. Bergmeyer HU, Gawehn K, Grassl M. In methods of enzymatic analysis. 2nd ed. Vol 1. New York: Academic Press Inc. 1974 : 521-2.
12. Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. Biochem Biophys Res Commun. 1976 ; 71(4) : 952-8.
13. Mize CE, Langdon RG. Hepatic glutathione reductase. I. Purification and general kinetic properties. J Biol Chem. 1962 ; 237 : 1589-95.
14. Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzymol. 1984 ; 105 : 121-6.
15. Maklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem. 1974 ; 47(3) : 467-74.
16. 김보현, 손석만. 산화스트레스에 의한 당뇨병성 혈관합병증의 발생기전. 대한내분비학회지. 2006 ; 21(6) : 448-59.
17. 유형준. 당뇨병합병증 발생에서 자유라디칼의 역할. 대한당뇨병학회 21차 추계학술대회. 1994 ; 22-8.
18. Wolff SP, Jiang ZY, Hunt JV. Protein glycation and oxidative stress in diabetes mellitus and ageing. Free Radic Biol Med. 1991 ; 10(5) : 339-52.
19. McLennan SV, Heffernan S, Wright L, Rae C, Fisher E, Yue DK et al. Changes in hepatic glutathione metabolism in diabetes. Diabetes. 1991 ; 40(3) : 344-8.
20. 王作成. 中醫中藥對糖尿病自由基代謝的影響. 天津中醫. 1995 ; 12(5) : 43-4.
21. 金鳴. 活血化癥與抗自由基損傷. 中草藥. 1993 ; 24(5) : 269.
22. 張德蘊 主編. 糖尿病綜合治療與康復. 北京 : 中國中醫藥出版社. 1996 : 114-5.
23. 黃泰康 主編. 內分泌代謝病中醫治療學. 北京 : 中國醫藥科技出版社. 2002 : 459.
24. 陳端生. 活血化癥為主治療糖尿病28例臨床觀察. 福建中醫藥. 1995 ; 26(5) : 10.
25. 李振中. 血瘀與消渴芻議. 遼寧中醫雜誌. 1990 ; 7 : 11.
26. 박진영, 양미자, 전혜승, 이진희, 배희경, 박태선. 현미 및 울무 함유 생식이 영양불균형이 유도된 흰쥐의 체내 지질농도, 항산화체계 및 면역기능에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지. 2003 ; 32(2) : 197-206.
27. 한종현, 박성혜. 규칙적인 생식섭취가 고지혈증 환자의 영양소 섭취상태, 체지방 및 혈청의 지질조성에 미치는 영향. 한국영양학회지. 2003 ; 36(6) : 589-602.
28. 송미경, 홍성길, 황성주, 박옥진, 박미현. 생식 섭취가 지방간 개선 및 지질 대사에 미치는 영향. 한국영양학회지. 2003 ; 36(8) : 834-840.
29. 박성혜, 한종현. 생식 제품의 섭취가 건강한 성인 여성의 영양섭취상태, 식행동, 혈청지질농도 및 건강지표에 미치는 영향. 한국영양학회지. 2003 ; 36(1) : 49-63.
30. 윤옥현. 생식의 유용성과 건강. 식품산업과 영양. 2002 ; 7(3) : 4-10.
31. 황재관. 생식의 기능성. 식품산업과 영양. 2002 ; 7(3) : 16-19.
32. 양병근, 정상철, 박준보, 조성필, 최영선, 임상규, 송치현. 생식이 고지혈증 흰쥐에 미치는 영향. 생명과학회지. 2001 ; 11(4) : 298-303.
33. Rakieten N, Rakieten ML, Nadkarni MV. Studies on the diabetogenic actions of streptozotocin. Cancer Chemother Rep. 1963 ; 29 : 91-8.
34. Rasch R, Dorup J. Quantitative morphology of the rat kidney during diabetes mellitus and insulin treatment. Diabetologia. 1997 ; 40(7) : 802-9.
35. Stansbie D, Brownsey RW, Crettaz M, Denton RM. Acute effects in vivo of anti-insulin serum on rates of fatty acid synthesis and activities of acetyl-coenzyme A carboxylase and pyruvate dehydrogenase in liver and epididymal adipose tissue of fed rats. Biochem J. 1976 ; 160(2) : 413-6.
36. Steer KA, Sochor M, McLean P. Renal hypertrophy in experimental diabetes. Changes in pentose phosphate pathway activity. Diabetes. 1985 ; 34(5) : 485-90.
37. Fagin JA, Melmed S. Relative increase in insulin-like growth factor I messenger ribonucleic acid levels in compensatory renal hypertrophy. Endocrinology. 1987 ; 120 : 718-24.
38. Sochor M, Kunjara S, Baquer NZ, McLean P. Regulation of glucose metabolism in livers and kidneys of NOD mice. Diabetes. 1991 ; 40(11) : 1467-71.
39. Kordowiak AM, Goc A, Dorzdowska E, Turyna B, Dabros. Sodium orthovanadate exerts influence on liver Golgi complexes from control and streptozotocin-diabetic rats. J Inorg Biochem.

2005 ; 99(5) : 1083-9.

40. Saad SY, Najjar TA. Effects of STZ- induced diabetes and its treatment with vanadyl sulphate on cyclosporine A-induced nephro-oxicity in rats. *Archives of Toxicology*. 2005 ; 79(9) ; 493-9.

41. Kalender B, Ozturk M, Tuncdemir M, Uysal O, Dagistanli FK, Itir Yegenaga I et al. Renoprotective effects of valsartan and enalapril in STZ-induced diabetes in rats. *Acta Histochemica*. 2002 ; 104(2) : 123-30.

42. Duke EJ, Joyce P, Ryan JP. Characterization of alternative molecular forms of xanthine oxidase in the mouse. *Biochem J*. 1973 ; 131(2) : 187-190.

43. Sakamoto Y, Higashi T. Glutathione. Japan:

Scientific societies. 1989 : 5.

44. Deisseroth A, Dounce AL. Catalase: physical and chemical properties, mechanism of catalysis and physiological role. *Physiol Rev*. 1970 ; 50(3) : 319-75.

45. 손장락. 활성산소와 항산화제. 서울: 바이오메디컬. 2004 : 66.

46. Robbins MJ, Sharp RA, Slonim AE, Burr I M. Protection against streptozotocin-induced diabetes by superoxide dismutase. *Diabetologia*. 1980 ; 18(1) : 55-58.

47. Gandy SE, Buse MG, Crouch RK. Protective role of superoxide dismutase against diabetogenic drugs. *J Clin Invest*. 1982 ; 70(3) : 650-8.