

## 여주열매 첨가식이가 당뇨 흰쥐의 지질과 항산화효소 수준에 미치는 영향

김 명 화

덕성여자대학교 식품영양학과

### Effect of Dietary Supplementation with Bitter Melon on Lipids and Hepatic Enzyme Levels in Streptozotocin Induced Diabetic Rats

Myung-Wha Kim

Dept. of Food and Nutrition, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

#### ABSTRACT

This study examined the effect of *Momordica charantia* L. (bitter melon: BM) on lipid and hepatic antioxidative enzyme levels in diabetic rats. Diabetes mellitus was induced in male Sprague-Dawley rats by injection of streptozotocin (STZ), and rats were fed for 4 weeks with experimental groups divided into four groups: a normal control group, STZ-control and STZ-BM 5% & STZ-BM 10% treated groups. Levels of free fatty acids (FFA), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-cholesterol), triglycerides (TG) in plasma and malondialdehyde (MDA) & protein in liver, catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione-S-transferase (GST), and xanthine oxidase (XOD) were measured in liver cytosol. Level of HDL-cholesterol significantly increased in the STZ-BM 5% diabetic group. TG & FFA levels were significantly higher in all diabetic groups compared to the control group. MDA and protein levels were significantly higher in the STZ-BM 5% group compared to all other experimental groups. CAT level was higher in the supplementary group with BM compared to the STZ-control group, although the difference was not significantly different. SOD level was not significant in any experimental groups. GST level was significantly higher in the BM-treated groups compared to the STZ-control group. XOD level was significantly lower in the BM 5% group and significantly decreased in all experimental groups. These results show that supplementation of BM fruit powder may have beneficial effects on diabetic complications and damage caused by oxidative stress.

**Key words:** Bitter melon, STZ diabetic rats, lipid levels, hepatic enzyme levels

#### 서 론

당뇨병은 고혈당을 특징으로 하는 대사성 질환으로 췌장  $\beta$ -세포의 파괴로 인해 인슐린이 결핍되거나 비정상적으로 분비되어 말초 조직에서 인슐린 저항성을 나타내는 질환이다. 당뇨병은 전 세계적으로 빠르게 증가하고 있어 2030년에는 당뇨병 인구가 4억 3천 9백만 명에 이를 것으로 추정하고 있다(Williams *et al* 2013).

우리나라는 성인 10명 중 1명이 당뇨병 환자이고, 10명중 2명은 당뇨병 전단계인 잠재적인 공복혈당 장애를 갖고 있으며, 국민 10명중 3명이 고혈당으로 위협을 받고 있다. 2050년의 예상 당뇨병 환자수는 약 600만 명으로 현재 대비 약 2배 수준으로 증가할 것으로 예측된다(Lee & Kim 2013; Park SA 2013). 당뇨병 인구 증가로 막대한 사회비용 증가가 예상되며, 당뇨병은 진료비 2위를 차지할 만큼(National Health In-

urance Corporation 2010) 우리나라의 건강관리에 문제가 되며, 이전 세대보다 연장된 수명과 더 좋은 삶의 질을 유지하기 위해 당뇨병과 같은 만성질환의 관리 및 예방이 현대인에게 중요한 과제이다. 우리나라는 고령화시대로 변해 가면서 노인들이 당뇨병 유병률이 가장 높은 집단으로, 2011년도 한국 건강영양조사에 기초한 통계에 의하면 65세 이상 노인의 당뇨병 유병률은 23.2%로, 30세 이상 일반 성인에서 12.4%인 것에 비해 월등히 더 높다(Korean Diabetes Association 2013).

당뇨병은 식생활의 불균형과 활동량의 감소 등으로 인하여 이환율과 사망률을 증가시킨다. 당뇨병은 완치되는 병이 아니고, 효과적인 관리가 필수적인 병으로 당뇨병 치료의 목표는 고혈당에 따른 증상과 당뇨병성 만성 합병증을 예방하고, 그 악화를 지연시키는데 있다(Yoo JW 2013).

당뇨병 치료에서는 합병증의 조기진단과 철저한 관리를 위해 철저한 혈당 및 콜레스테롤 등의 조절이 매우 중요하다(Jang JH 2012). 당뇨병의 합병증 발생 및 진행을 늦추기 위해서는 많은 환자들의 치료적인 혈당관리뿐 아니라, 식품선택에 의한 영양 및 식이관리 또한 필요하다. 당뇨병의 치료

† Corresponding author : Myung-Wha Kim, Tel : +82-2-901-8598, Fax : +82-2-901-8372, E-mail : kmw7@duksung.ac.kr

형태는 당뇨 환자의 대부분이 경구혈당강하제를 이용하고 있으며, 현재 당뇨병이 있는지 모르는 경우를 포함하면 37.9%의 환자가 당뇨병 치료를 받지 않고 있는 실정이다(Meena *et al* 2009). 당뇨환자의 80%는 대체요법을 이용하고 있으며, 늘어나는 당뇨인구를 위해서는 식사요법이 강조되고 있다(Mee-na *et al* 2009).

당뇨 시 산화적인 스트레스는 활성산소종(reactive oxygen species: ROS)의 부적절한 체내 작용으로 인하여 인체에 유해한 결과를 가져다주며, 질병 유발 및 합병증으로 건강에 위협요인이 된다(Jeong *et al* 2010). 당뇨병의 유발시 염증반응은 활성산소 생성계와 제거계 사이의 불균형을 초래하여 과잉의 활성산소 생성으로 조직이 손상되며, 산화적인 스트레스가 더욱 촉진된다(Youn & Kim 2012). 최근에는 항산화 성분의 섭취나 항산화 효소 활성 증가 등으로 체내의 활성산소종을 제거하여 항산화 기전을 보호하고, 항산화 효능을 증진시키는 phytochemical의 생리활성물질에 관한 항산화성 연구가 증가하는 추세이다(Hunt *et al* 1998; Lee *et al* 2012).

본 실험에서 시료로 사용된 여주(bitter melon: BM)는 학명이 *Momordica charantia* L.로 박과식물(Cucurbitaceae)에 속하며, 쓴맛 성분을 지니고 있어서 당뇨병에 효과적인 식품이다(Cha *et al* 2011). 여주는 당뇨환자의 30%가 자연 대체요법을 쓰고 있는 대체 식품(Joseph & Jini 2013) 중의 하나로 우리나라에서는 여주를 이용하여 마시는 차 등의 건강식품의 형태로 개발하여 인터넷상에서 판매하고 있어서, 여주의 영양생화학적 및 생리활성 특성에 관한 연구 자료가 필요한 실정이다.

여주의 생리활성 효능에 관한 연구에서는 여주를 추출물로 하여 항산화 활성과 유리기를 낮추어 혈액의 순환을 좋게 하며, 당뇨 등의 질병상태를 완화해 주는 식품뿐 아니라(Wu & Ng 2008; Joseph & Jini 2013; Cefalu *et al* 2008), 천연항산화제 개발 가능성을 위해 여주의 항산화에 관한 연구(Park *et al* 2007)가 이루어지고 있다.

본 연구에서는 당뇨 시 식사요법에서 식재료로 활용하기 위해 streptozotocin(STZ) 당뇨 유발 흰쥐에게 여주열매를 식이에 분말로 첨가하여 혈당의 지질대사물 수준과 간 조직의 시토크롬에서 항산화효소 수준에 대한 자료를 제시하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 재료

본 실험에서 시료로 사용한 여주는 서울시 동대문구 제기 2동에 있는 용성건재(사업자등록번호: 204-92-77858)로부터 구입한 것으로, 우리나라 충청남도에서 야생 재배하여 2012

년 10월에 수확한 것을 자연 건조시켜 씨를 뺀 뒤 분쇄(분쇄기 HMF-3450S, Seoul, Korea)하여 열매만 분말로 만들어 냉장 보관하여 실험 식이에 시료로 사용하였다.

### 2. 실험동물 사육 및 실험식이

실험동물은 체중 220 g 내외로 7주령인 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 샘타코(NTacSam: SD, Samtako BioKorea, Osansi, Korea)로부터 구입하여 환경에 적응시키기 위해 고휘사료(Feedlap, Gurisi, Korea)로 1주일간 예비 사육하였다. 본 동물 실험은 덕성여대 동물실험 윤리위원회의 승인(승인번호 2011-002)을 받은 후 실험동물 관리 및 이용에 관한 지침에 맞추어 실시하였다. 동물실험군은 1주일간 예비사육 후 체중에 따라 난괴법에 의해 4개 군으로 나누어 온도 22±3℃에서 스테인리스 스틸 케이지에 한 마리씩 넣고 실험에 사용하였다. 실험군은 정상 대조군(Control) 1개 군과 당뇨 실험군 3개 군으로 정상 대조군은 여주열매를 첨가하지 않고 당뇨를 유발하지 않았다. 당뇨 실험군은 모두 STZ로 당뇨를 유발하였으며, 여주열매를 첨가하지 않은 당뇨 대조군(STZ-control)과 여주열매를 각각 5%(BM-5%)와 10%(BM-10%)를 식이에 첨가하여 당뇨 실험을 하였다. 정상 대조군과 당뇨 실험군은 AIN-93 조제식이(Reeves PG 1997)로 공급하였다. USDA nutrient database(accessed on 06. 11. 2014)에 의하면 여주 100 g 당 탄수화물 4.32 g, sugars 1.95 g, 식이섬유소 2.0 g, 지방 0.18 g, 단백질 0.84 g, 칼슘 9 mg, 철 0.38 mg, 마그네슘 16 mg, 인 36 mg, 칼륨 319 mg, 나트륨 6 mg, 아연 0.77 mg, 수분 93.95 g이 함유되어 있으므로, 옥수수 전분, 분당, 섬유소, 카제인, 대두유 및 무기질의 실험 식이를 변형하였다. 실험군의 식이는 AIN-93 조제食이를 변형하여 실험동물에게 분말화한 실험재료인 여주열매(w/w)를 각각 5%와 10%씩 첨가정도를 달리하여 각각의 해당식으로 4주간 공급하였고, 실험 식이와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다(Table 1).

### 3. 당뇨유발

당뇨유발은 실험동물을 16시간 절식시킨 후 췌장의 β-세포에만 특이적으로 작용하여 다른 기관에 영향을 미치지 않는다고 알려진(Junco *et al* 1967, Wilson GL 1984) STZ(Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, USA)을 pH 4.5의 0.01 M citrate buffer에 45 mg/kg bw 농도로 녹여 꼬리정맥에 주사하였다. 정상 대조군은 0.01 M citrate buffer 용액을 동량으로 하여 당뇨 실험군과 같은 방법으로 주사하였다. 당뇨유발의 확인은 24시간 후 안구정맥총에서 채혈하여 원심분리한 후 상등액을 취하여 혈장 중의 포도당 농도가 300 mg/dL 이상인 동물을 당뇨가 유발된 것으로 확인하여 당뇨 실험에 사용하였다.

**Table 1. Composition of control and experimental diets**  
(g/kg diet)

Components	Control diet <sup>1)</sup>	Experimental diet <sup>2)</sup>	
		5%	10%
Corn starch	465.692	450.342	434.992
Casein	140.0	134.55	129.1
Dextrinized corn starch	155.0	155.0	155.0
Sucrose	100.0	87.4	74.8
Soybean oil	40.0	38.85	37.7
Fiber	50.0	37.05	24.1
Mineral mix <sup>3)</sup>	35.0	32.5	30.0
Vitamin mix <sup>4)</sup>	10.0	10.0	10.0
L-Cystine	1.8	1.8	1.8
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5
Tert-Butylhydroquinone	0.008	0.008	0.008
Bitter melon powder	-	50.0	100.0

<sup>1)</sup> Control diet : AIN-93 diet.

<sup>2)</sup> Experimental diet : control diet+bitter melon (BM) powder.

<sup>3)</sup> AIN-93 mineral mixture.

<sup>4)</sup> AIN-93 vitamin mixture.

#### 4. 생화학적 분석

실험 4주 후 공복 시키지 않고 마지막 날에 실험동물을 에테르로 마취시켜서 단두로 희생시킨 후, 채혈 후에는 헤파린으로 처리된 시험관에 혈액을 모아 3,000 rpm에서 15분간 원심분리(HA 300, Hanil Centrifuge Co. Ltd, Seoul, Korea)한 후 혈장을 취해 지방대사물의 수준을 측정하였다. 채혈 후에는 즉시 개봉하여 간장을 적출하여 장기의 무게를 측정 후  $-70^{\circ}\text{C}$ 에 냉동 보관하여 효소 수준을 측정하였다.

혈장 중의 유리지방산(free fatty acid: FFA)은 SICDIA-NEFAZYME 효소법(Kanai & Kanai 1983)에 의해 NEFAZYME kit(Shinyang Chemical Co. Ltd. Seoul. Korea)로 분석하였다. HDL-콜레스테롤(high density lipoprotein cholesterol: HDL-chol)은 텍스트란 황산나트륨 효소(Finely *et al* 1978)법으로 kit (Bio Clinical System Co. Anyang City Gyeonggi-do. Korea)를 사용하여 측정하였다. 중성지방(triglyceride: TG)은 흡광도 550 nm에서 효소비색(Giegel *et al* 1975)법을 이용한 kit (EMBIEL Co. Gunposi Gyeonggi-do. Korea)로 수준을 측정하였다.

간 조직 중에 함유되어 있는 지질과산화물(malondialdehyde: MDA)의 수준은 Mihara & Uchiyama(1978)의 방법을 이용하여 분석하였다. 간 조직에서 MDA 생성량을 계산하고, Lowry

*et al*(1951)의 방법에 단백 수준을 정량한 후 이를 nmol/mg protein으로 나타내었다.

간 조직 중의 항산화효소의 분리는 간 조직에 phosphate buffered saline(PBS)으로 혈액 등을 제거한 후 3배 용량의 Tris KCl buffer(0.1 M Tris acetate, 0.1 M KCl, 0.1 mM EDTA, pH 7.4)를 가하고, 균질기로 마쇄하여 얻은 균질액을  $8,000\times\text{g}$ 에서 30분간 원심분리(model RC 5C, DuPont sorvall instrument, Wilmington, DE, USA)한 후 그 상등액을 다시  $10,000\times\text{g}$ 에서 30분간 원심분리 하였다. 그 다음은 원심분리한 상등액을 취하여  $105,000\times\text{g}$ 에서 90분간 초원심분리(L-80, Beckman Co. Ltd, Setauket-East Setauket, NY, USA)시켜 시토졸 분획을 얻었다. 모든 실험조건은  $4^{\circ}\text{C}$ 를 유지하면서 행하였고, 시토졸은 사용 전까지  $-70^{\circ}\text{C}$ 에 보관하여 항산화효소 수준을 측정하였다.

Catalase(CAT)의 수준은 Aebi H(1984)의 방법에 따라 67 mM sodium phosphate buffer(pH 7.0) 1.0 mL에 기질인 30% hydrogen peroxide( $\text{H}_2\text{O}_2$ )를 2  $\mu\text{L}$ 를 넣어  $25^{\circ}\text{C}$  290 nm에서 5분간 흡광도를 측정하였다.  $\text{H}_2\text{O}_2$ 의 흡광도 변화와  $\text{H}_2\text{O}_2$ 의 몰 흡광계수로  $\text{H}_2\text{O}_2$ 의 농도를 구하여 효소수준을 계산하였다. Superoxide dismutase(SOD) 수준은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Maklund & Marklund (1974)의 방법을 사용하여 5분 동안 pyrogallol의 auto oxidation 억제 정도를 325 nm에서 흡광도를 측정하였다. Glutathione-S-transferase(GST)의 수준은 Habig *et al*(1974)의 방법에 준해 0.1 M phosphate 완충액(pH 6.5) 일정량에 시토졸과 1-chloro-2,4-dinitrobenzene(CDNB) 및 glutathione을 혼합하여  $25^{\circ}\text{C}$ 에서 반응시킨 다음, 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. Xanthine oxidase(XOD) 수준은 xanthine을 기질로 하여 생성된 uric acid를 측정하는 Bergmeyer *et al*(1974)의 방법으로 3.0 mL의 혼합용액(33 mM potassium phosphate, 0.05 mM xanthine, 0.02 unit xanthine oxidase)을 cuvette에 넣은 후 시토졸을 첨가하여  $25^{\circ}\text{C}$ , 290 nm에서 흡광도 증가속도를 측정하였다.

#### 5. 통계처리

본 연구의 통계학적 분석은 SPSS program(Ver. 18, SPSS Inc. Chicago, IL, USA)을 이용하여 실시하였고, 분석수치는 평균과 표준편차(standard deviation: SD)로 표시하였다. 실험군 간의 차이는 one way ANOVA를 실행하여 검증하였고,  $p < 0.05$  수준에서 유의성이 관찰된 경우, 각 실험군 간의 평균값의 차이에 대한 유의성은 Duncan's multiple range test를 이용하여  $p < 0.05$  수준에서 평가하였다.

### 결과 및 고찰

### 1. 혈장 중의 지질 수준

여주열매 분말 첨가에 따른 실험 4주 후의 혈장 중의 유리지방산, HDL-콜레스테롤과 중성지방의 수준은 Table 2에 나타내었다. 유리지방산 수준은 정상 대조군( $578.2 \pm 23.5 \mu\text{Eq/L}$ )에 비해 당뇨 대조군( $786.3 \pm 59.9 \mu\text{Eq/L}$ )에서 유의적으로 높은 수준이었으나, 당뇨 대조군에 비해 당뇨 실험군에서는 유의적인 차이는 보이지 않았다. 당뇨 실험군 간에는 BM 5%와 10% 간에 유의적으로 차이를 보였다. HDL-콜레스테롤 수준은 정상 대조군( $21.3 \pm 2.8 \text{ mg/dL}$ )과 당뇨 대조군( $23.7 \pm 5.5 \text{ mg/dL}$ )에서는 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 당뇨 대조군에 비해 BM-5%군( $33.3 \pm 5.4 \text{ mg/dL}$ )에서는 유의적으로 높은 수준으로 정상 대조군보다 높은 수준이었다. 중성지방 수준은 정상 대조군( $68.5 \pm 10.1 \text{ mg/dL}$ )에 비해 당뇨 대조군( $166.0 \pm 51.5 \text{ mg/dL}$ )에서 높게 유의적인 차이를 보였으나, 당뇨 대조군에 비해 당뇨 실험군에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다.

STZ에 의한 당뇨유발 시 혈장의 중성지방 등의 수준이 높아지는데, 이것은 인슐린에 민감하게 작용하는 리파제 작용이 증가되어 지방분해가 활발히 이루어진 것으로 보여진다(Tripathi & Chandra 2009). 중성지방 이동 속도에 관한 kinetics 연구에서도 당뇨병의 경우 혈장 내 지방이 중성지방으로 전환되는 속도가 증가하여 혈중 중성지방 수준이 높아진다고 보고하고 있다(Nikkila & Kekki 1973). 당뇨로 인한  $\beta$ -세포의 기능 저하는 인슐린 분비 반응 기전의 민감성의 둔화로 중성지방과 유리지방산의 수준이 높아지게 된다. 당뇨유발로 인해 세포들의 에너지를 지방에서 얻게 되므로 유리지방산의 재에스테르화가 일어나지 못하여 혈중 유리지방산의 증가가 나타나게 되고, 또한 당뇨 시 인슐린 부족으로 인해

호르몬에 민감한 지방분해효소가 활성화되어 저장지방으로부터 유리지방산이 증가된다(Tomita *et al* 1998, Choi *et al* 1991). 높은 유리지방산 수준은 인슐린 저항을 생기게 할 수 있으며, 포도당 산화로 포도당 수송 능력을 감소시킨 것으로 보인다(Griffin *et al* 1999).

일반적으로 당뇨 쥐는 지질분해효소(LPL) 활성이 저하되어 중성지방이 풍부한 지단백 분해를 감소시켜 HDL-콜레스테롤 생성을 억제한다고 알려져 있다(Betteridge J 2001). Durrington & Stephens(1980)의 연구에 의하면 STZ에 의해 유발된 당뇨 실험군과 정상군 사이에 혈장 HDL-콜레스테롤 수준에는 차이가 없었으나, 인슐린으로 처리 시 혈당 수준이 낮은 군에서는 HDL-콜레스테롤이 높게 유의적인 차이를 보였는데, 본 연구에서도 HDL-콜레스테롤 수준은 당뇨 시 BM-5%군에서 유의적으로 높았다.

본 연구 결과에서도 당뇨 시 중성지방 및 유리지방산은 정상 시보다 수준이 증가하는 차이를 보였으나, HDL-콜레스테롤 수준은 당뇨 시 감소한다는 것과 다르게 차이가 없었다.

2013 한국인의 Diabetes Fact Sheet에 의하면 당뇨환자의 79.6%가 이상지질혈증을 가지고 있어서, 혈당 수준과 더불어 지질 수준의 개선이 중요하다(Korean Diabetes Association 2013).

당뇨 시 이상지질혈증은 혈관 내피조직에 손상을 주어 LPL 활성이 감소되어 중성지방수준 증가, HDL-콜레스테롤 수준 감소가 일어나며, 당뇨 시 중성지방 수준보다 HDL-콜레스테롤 수준이 심혈관계 등의 합병증 위험도를 높이는데 더 크게 영향을 주므로(Hirano T 2014, Silva *et al* 2014, Vijayaraghavan K 2010), 여주분말 섭취에 따른 HDL-콜레스테롤 수준 변화에 대한 연구가 필요하다고 사료된다.

**Table 2. Effect of bitter melon on plasma FFA, HDL-Chol and TG levels in normal and diabetic rats**

Group <sup>1)</sup>	FFA ( $\mu\text{Eq/L}$ )	HDL-Chol ( $\text{mg/dL}$ )	TG ( $\text{mg/dL}$ )
Control <sup>2)</sup>	$578.2 \pm 23.5^{a3)}$	$21.3 \pm 2.8^a$	$68.5 \pm 10.1^a$
STZ-control	$786.3 \pm 59.9^{bc}$	$23.7 \pm 5.5^a$	$166.0 \pm 51.5^b$
STZ-BM 5%	$818.3 \pm 31.8^c$	$33.3 \pm 5.4^b$	$182.2 \pm 33.2^b$
STZ-BM 10%	$754.1 \pm 81.6^b$	$21.5 \pm 8.8^a$	$170.1 \pm 72.3^b$

<sup>1)</sup> Values are mean $\pm$ SD., (n=8).

<sup>2)</sup> Control : normal control group, STZ-control : diabetic control group, BM-5% : diabetic fed with BM 5% treated group, BM 10% : diabetic fed with BM 10% treated group.

<sup>3)</sup> Values with different superscripts within the same column are significantly different at the  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

### 2. 간 Malondialdehyde(MDA)와 단백질 수준

여주 분말의 첨가에 따른 간장의 MDA 수준은 정상 대조군( $0.80 \pm 0.08 \text{ nmol/mg protein}$ )과 당뇨 대조군 사이에는 유의적인 수준 차이를 보이지 않았으나, 모든 실험군 중 BM-10%군( $0.95 \pm 0.08 \text{ nmol/mg protein}$ )에서 MDA 수준이 유의적으로 높은 수준이었다. 간 조직의 단백질은 정상 대조군( $173.8 \pm 9.5 \text{ mg/g}$ )과 당뇨 대조군( $217.5 \pm 14.4 \text{ mg/g}$ )에서 유의적인 수준 차이를 보였고, 모든 실험군 중 BM-10%군( $240.0 \pm 13.5 \text{ mg/g}$ )에서 간 조직의 단백질 수준이 유의적으로 높게 나타났다(Table 3).

MDA는 ROS에 의해 다가불포화지방산의 과산화를 촉진하여 만들어지는 물질로 만성적인 염증과 고혈압 등의 위험 인자로 작용하며, 내당능(glucose tolerance)에 손상을 주어 일반적으로 당뇨가 진전되면 MDA 수준이 높아져 당뇨증상을 악화시킨다(Suryakumar & Gupta 2011). 예전의 MDA 연구

**Table 3. Effect of bitter melon on liver malondialdehyde (MDA) and protein levels in normal and diabetic rats**

Group <sup>1)</sup>	MDA (nmol/mg protein)	Protein (mg/g)
Control	0.80±0.08 <sup>a2)</sup>	173.8± 9.5 <sup>a</sup>
STZ-control	0.83±0.04 <sup>a</sup>	217.5±14.4 <sup>b</sup>
STZ-BM 5%	0.84±0.11 <sup>a</sup>	225.7±17.3 <sup>b</sup>
STZ-BM 10%	0.95±0.08 <sup>b</sup>	240.0±13.5 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup> Values are mean±SD., (n=8).

<sup>2)</sup> Values with different superscripts within the same column are significantly different at the  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test.

는 직접적인 혹은 일반적인 독성에 대한 연구가 대부분이었으나, 최근의 MDA와 인슐린 분비에 대한 연구를 살펴보면 MDA 수준에 따라 glucose-stimulated insulin secretion(GSIS)의 수준에 영향을 주어 MDA가 높으면 GSIS의 작용을 저해할 뿐 아니라, 단백질의 수준에도 영향을 준다.

비타민나무 잎을 식이로 당뇨병 유발쥐에게 섭취 시 간 MDA 수준에 뚜렷한 영향을 미치지 않았는데(Kim MW 2013), 본 연구에서도 당뇨병 시 간 MDA 수준이 여주 첨가 시 낮아지지 않았다. 인슐린 요법에 의한 MDA 수준 연구(Kaefer *et al* 2012)에서 뇨의 알부민과 지속적인 고혈당으로 인해 인슐린 요법을 적용한 당뇨병환자에서 인슐린 요법을 사용하지 않은 환자보다 MDA 수준이 높아지는 결과였다. 여주 첨가 시 혈당이 낮아지는 수준(Kim MW 2013)이었으나, 본 실험에서는 STZ에 의한 다른 지방 대사물의 수준에서는 영향을 보이지 않았다. 또한 유사 인슐린 작용을 하는 여주(Joseph & Jini 2013)는 여주의 섭취량이 많음에도 불구하고, 당뇨병 시 체중증가도 보이지 않은 것(Malik *et al* 2013, Kim MW 2013)으로 보아 STZ에 의한 포도당의 과부하에 의해 주로 과산화물이 증가되는데, MDA 수준 증가와도 관련성이 있는 것으로 생각되어진다.

당뇨 시 총 단백질 수준의 감소는 단백질 본래의 기능보다는 단백질 이화작용이 증가되어 단백질은 포도당 신생작용 혹은 열량 급원으로 쓰이게 된다(Chan *et al* 1993).

본 연구에서는 당뇨병 시 간 조직의 단백질 수준이 높아진 결과로 간 단백질의 이용 전단계인지, 인슐린에 크게 영향을 받지 않는 것인지 그 기전에 대한 연구가 필요하다고 생각된다.

### 3. 간의 시토플라스마에서의 항산화효소 수준

#### 1) Catalase(CAT) 수준

간 조직의 시토플라스마에서 CAT 수준은 정상 대조군(18.5±4.1 unit/min/mg protein)과 당뇨병 대조군(22.4±5.0 unit/min/mg protein)에서는 유의적이었으나, 당뇨병 실험군에서는 유의적 차이는 아니었다(Table 4).

CAT는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 H<sub>2</sub>O로 되는 것을 감소시켜 활성산소를 중화시키는데 촉매역할을 하여 유해산소를 신속히 처리하며, 면역체계의 손상을 막아주고, 세포를 보호하여 세포의 항상성을 유지하게 한다. 간장이 손상을 받았을 때는 CAT가 높게 나타났으며(Saggu & Kumar 2008), 본 실험에서 당뇨병 시 CAT의 수준 증가는 지질과산화로 인한 방어 작용으로 보여진다.

#### 2) Superoxide Dismutase(SOD) 수준

간 조직의 SOD 수준은 정상 대조군(1.15±0.16 unit/min/mg protein)과 당뇨병 대조군(1.14±0.12 unit/min/mg protein) 사이에 유의적인 차이를 보이지 않았고, 여주 첨가 시 당뇨병 실험군 간에도 유의적인 차이를 보이지 않았다.

항산화효소 중 SOD는 O<sub>2</sub><sup>-</sup>를 제거하여 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 전환시키는 촉매효소이다(Bowler *et al* 1992). 당뇨병 시 SOD 수준이 감소(Malik *et al* 2013)되는데, 본 연구에서는 정상과 당뇨병 시 유의성이 검증되지 않았다. 또한 함초 첨가식이 연구 결과(Kim MW 2008)와 유사하게 본 연구에서도 SOD 활성에 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 여주는 ROS 생성을 저해하는 효소적 항산화 활성을 보이는 식품으로 여주는 대표적인 생화학적 활성 성분인 페놀성분과 높은 효소적인 SOD 활성에 의해 유리기인 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 생성을 저해한다(Kubola & Siriamornpun 2008). Hamissou *et al*(2013)의 연구에서는 여주는 높은 SOD 활성을 보이는 식품이나, 본 연구에

**Table 4. Effect of bitter melon on hepatic enzyme levels in cytosol of normal and diabetic rats**

Group <sup>1)</sup>	CAT <sup>2)</sup>	SOD	GST	XOD
	(unit/min/mg protein)			
Control	18.5±4.1 <sup>a3)</sup>	1.15±0.16 <sup>NS4)</sup>	318.2±24.6 <sup>c</sup>	225.3±65.7 <sup>b</sup>
STZ-control	22.4±5.0 <sup>b</sup>	1.14±0.12	266.2±16.7 <sup>a</sup>	234.2±43.5 <sup>b</sup>
STZ-BM 5%	24.8±6.8 <sup>b</sup>	1.08±0.14	298.0±17.6 <sup>b</sup>	151.5±77.5 <sup>a</sup>
STZ-BM 10%	24.6±6.8 <sup>b</sup>	1.13±0.13	334.2±17.7 <sup>d</sup>	209.3±16.4 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup> Values are mean±SD., (n=8).

<sup>2)</sup> CAT : catalase, SOD : superoxide dismutase, GST : glutathione-S-transferase, XOD : xanthine oxidase.

<sup>3)</sup> Values with different superscripts within the same column are significantly different at the  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test.

<sup>4)</sup> NS not significantly different among groups.

서는 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 본 실험에서는 SOD 수준에 유의성이 검증되지 않은 것으로 생각되며, SOD 활성이 없거나 부족한 경우에는 산소에 의해 매개되는 손상에 대해 어떤 다른 형태의 방어기작을 선택하리라고 추정된다.

당뇨 시 여주 첨가는 SOD의 활성에 의한 ROS의 생성과 발생을 줄이는데, 이것은 super oxide anion radical( $O_2^-$ )을 줄이는 작용으로 CAT와 비슷한 작용으로 보인다(Wilcox CS 2010). CAT와 SOD는 간에서 공생적인 방어기능을 할 수 있는 효소로, 본 실험에서는 SOD 활성에서 뚜렷한 수준 차이를 보이지 않았고, CAT 수준에도 유의적인 차이가 없는 것으로 여주 첨가 시에는 과산화물의 분해가 CAT와 SOD의 수준에 의해서 영향을 미치지 못한 것으로 추정된다.

### 3) Glutathione-S-Transferase(GST) 수준

간 조직의 시토플에서 GST 수준을 측정된 결과, 정상 대조군( $318.2 \pm 24.6$  unit/min/mg protein)보다 당뇨 대조군( $266.2 \pm 16.7$  unit/min/mg protein)의 수준이 유의적으로 낮았다. 당뇨 실험군에서는 당뇨 대조군에 비해 BM-5%( $298.0 \pm 17.6$  unit/min/mg protein)와 10%( $334.2 \pm 17.7$  unit/min/mg protein)군 모두에서 높은 수준으로 유의적인 차이를 보였고, BM-10%군에서 높게 나타나(Table 4) 여주 첨가 정도에 따른 수준의 차이를 보였다(Singh *et al* 1998). 당뇨 시 항산화방어체계 감소로 인하여 활성산소 유리가 증가되는데(Tripathi & Chandra 2009), GST는 산화에 의해 생성되는 생체 이물질들을 제거하는 해독작용으로 산화스트레스를 억제하여 DNA 손상과 세포의 지방 분자를 보호한다(Farber JL 1994). 본 실험에서는 여주로 처리시 GST 수준이 높아졌는데, 여주의 추출물 실험(Tripathi & Chandra 2009)에서도 GST 수준이 당뇨 시 보다 높아졌다.

본 연구에서는 GST 수준이 높아져 항산화방어가 이루어지는 과정으로 생각되며, 여주 첨가는 산화적인 손상에 독성작용을 감소시키려는 방어 작용에 반응에 관여한 것으로 보인다(Rashidi *et al* 2009).

### 4) Xanthine Oxidase(XOD) 수준

간 조직의 XOD의 수준을 측정된 결과, 정상 대조군( $225.3 \pm 65.7$  unit/min/mg protein)과 당뇨 대조군( $234.2 \pm 43.5$  unit/min/mg protein)에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 당뇨 실험군에서는 당뇨 대조군보다 BM-10%군( $209.3 \pm 16.4$  unit/min/mg protein)에서는 수치상 낮아졌으나, BM-5%군( $151.5 \pm 77.5$  unit/min/mg protein)에서만 유의적인 차이를 보였다(Table 4).

STZ 당뇨유발 시 간에서 XOD는 하이포크산틴(hypoxanthine)의 산화를 촉진시키는 촉매 효소로 크산틴(xanthine)의 산화가 증가되어 XOD의 수준이 증가되면  $O_2^-$  과  $H_2O_2$ 의 생

성으로 당뇨 시 염증반응과 췌사 등의 원인이 되어 DNA에 변형이 일어난다(Saggu & Kumar 2008).

당뇨 시 근세포에서의 ROS 생성이 증가되어 NADPH oxidase, XOD 작용이 늘어나게 되며, 과잉의 ROS는 유리지방산과 작용하여 MDA 생성도 늘어나게 된다. 더 많은 양의 ATP 발생을 위해 유리지방산과 중성지방이 근세포 내에 축적되어, 당뇨로 인하여 문제가 되는 심장 합병증이 발생하게 된다. 산화적인 스트레스로 생성된 ROS 등의 유리기 제거에 여주는 scavenger의 작용을 보여준다(Moore *et al* 2013). 본 연구 결과, SOD 수준에는 변화를 보이지 않았으나, XOD 수준은 낮아지는 경향을 보였고, BM-5%군에서는 뚜렷하게 낮아져 여주 첨가량에 따른 양적인 차이를 나타내었다.

## 요 약

본 연구에서는 여주의 항당뇨 효과를 검색하기 위한 연구로 실험군은 정상 대조군과 당뇨 실험군으로 나누어, 당뇨 실험군은 당뇨 대조군과 여주매배 분말을 5%와 10%를 각각 식이에 첨가하여 4개군으로 실험하였다. 실험동물은 Sprague-Dawley계 수컷으로 STZ으로 당뇨를 유발한 흰쥐에게 4 주간의 해당식이를 공급하여 혈장의 유리지방산, HDL-콜레스테롤 및 중성지방, 간의 MDA와 단백질, 간의 시토플에서 CAT, SOD, GST 및 XOD의 항산화효소 수준을 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

혈장 유리지방산 수준은 정상 대조군에 비해 당뇨 대조군에서 유의적으로 높은 수준이었으나, 당뇨 실험군 간에는 유의적인 차이는 아니었다. HDL-콜레스테롤 수준은 정상 대조군과 당뇨 대조군에서는 유의적인 차이를 보이지 않았으나, BM-5%군에서는 정상 대조군보다 유의적으로 높은 수준이었다. 중성지방 수준은 정상 대조군에 비해 당뇨 대조군에서 높게 유의적인 차이를 보였으나, 당뇨 실험군 간에는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 간의 MDA 수준은 정상 대조군에 비해 당뇨 대조군 사이에는 유의적인 수준 차이를 보이지 않았으나, BM-10%군에서는 MDA 수준이 유의적으로 높은 수준이었다. 단백질 수준은 정상 대조군과 당뇨 대조군 사이에 유의적인 차이를 보였고, 당뇨 대조군에 비해 BM-5%군에서는 유의적인 차이는 아니었으나, BM-10%군에서 유의적으로 높은 수준이었다.

CAT 수준은 정상 대조군과 당뇨 대조군에서 유의적이었으나, 당뇨 실험군 사이에는 유의적 차이를 보이지 않았다. SOD 수준은 정상 대조군과 당뇨 대조군 사이에 유의적인 차이를 보이지 않았고, 여주 첨가 시 당뇨 실험군 간에도 유의적인 차이를 보이지 않았다.

GST 수준은 정상 대조군보다 당뇨 대조군 수준이 유의적

으로 낮았고, 당뇨 대조군에 비해 BM-5%와 BM-10%군 모두에서 높은 수준으로 유의적인 차이를 보였다.

XOD의 수준은 정상 대조군과 당뇨 대조군 사이에는 유의적인 차이를 보이지 않았고, BM-10%군에서는 수치상 낮아지는 수준이었으나, BM-5%군에서만 유의적으로 낮은 수준이었다.

이상의 연구결과, 여주열매 분말을 식이로 첨가하였을 때 당뇨 시 혈장 중성지방과 유리지방산 수준에는 차이를 보이지 않았고, 간 조직의 단백질과 MDA 수준은 높아지는 경향이 있었다. BM-5%군에서는 HDL-콜레스테롤과 GST 수준이 높아졌고, XOD 수준이 가장 낮아져 여주 첨가에 따른 양적인 차이를 보였다. 여주는 당뇨로 인한 산화적 스트레스를 줄이며, 당뇨 예방 및 치료를 위한 식이요법에 효과적인 식품으로 사료된다.

### 감사의 글

2013년도 덕성여자대학교 교내 연구비 지원을 받아 수행된 연구 결과로 이에 감사드립니다.

### REFERENCES

- Aebi H (1984) Catalase *in vitro*. *Methods Enzymol* 105: 121-126.
- Bergmeyer HU, Gawehn K, Grassl M (1974) In the Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer HU ed.). 2<sup>nd</sup> ed. Vol. 1. Academic Press Inc., New York. p 521-522.
- Betteridge J (2001) Dyslipidaemia and diabetes. *Prac Diabetes Intern* 18: 201-207.
- Bowler C, Montagu MV, Inze D (1992) Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 43: 83-116.
- Cefalu WT, Ye J, Wang ZQ (2008) Efficacy of dietary supplementation with botanicals on carbohydrate metabolism in humans. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 8: 78-81.
- Cha JY, Jin JS, Cho YS (2011) Biological activity of methanolic extract from *Ganoderma lucidum*, *Momordica charantia*, *Fagopyrum taticum*, and their mixtures. *J Life Science* 21: 1016-1024.
- Chan KM, Chao J, Proctor GB, Garrett JR, Shori DK, Anderson LC (1993) Tissue kallikrein and tonin levels in submandibular glands of STZ-induced diabetic rats and the effects of insulin. *Diabetes* 42: 113-117.
- Choi JW, Sohn KH, Kim SH (1991) Effects of nicotinamide on the serum lipid composition in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Nutr* 20: 306-311.
- Durrington PN, Stephens WP (1980) The effects of treatment with insulin on serum high-density-lipoprotein cholesterol in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Clinical Science* 59: 71-74.
- Farber JL (1994) Mechanisms of cell injury by activated oxygen species. *Environ Health Perspect* 102(Suppl 10): 7-24.
- Finely PR, Schiffman RB, Williams RJ, Luchti DA (1978) Cholesterol in high-density lipoprotein: Use of Mg<sup>2+</sup>/dextran sulfate in its measurement. *J Clin Chem* 24: 931-933.
- Giegel JL, Ham AB, Clema W (1975) Serum triglyceride determined colorimetry with and enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem* 21: 1575-1581.
- Griffin ME, Marcucci MJ, Cline GW, Bell K, Barucci N, Lee D, Goodyear LJ, Kraegen EW, White MF, Shulman GI (1999) Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C theta and alterations in the insulin signaling cascade. *Diabetes* 48: 1270-1274.
- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB (1974) Glutathione-transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 249: 7130-7139.
- Hamissou M, Smith AC, Carter Jr JE, Triplett II JK (2013) Antioxidative properties of bitter melon (*Momordica charantia*) and zucchini (*Cucurbita pepo*). *Emir J Food Agric* 25: 641-647.
- Hirano T (2014) Abnormal lipoprotein metabolism in diabetic nephropathy. *Clin Exp Nephrol* 18: 206-209.
- Hunt JV, Dean RT, Wolff SP (1998) Hydroxyl radical production and autoxidative glycosylation. *J Biochem* 256: 205-212.
- Jang JH (2012) Social service information for dementia patients. *J Korean Diabetes* 13: 157-161.
- Jeong JH, Lee JW, Kim KS, Kim JS, Han SN, Yu CY, Lee JK, Kwon YS, Lim MJ (2010) Antioxidant and antimicrobial activities of extracts from a medicinal plant, sea buckthorn. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 53: 33-38.
- Joseph B, Jini D (2013) Antidiabetic effects of *Momordia charantia* (bitter melon) and its medicinal potency. *Asian Pac J Trop Dis* 3: 93-102.
- Junod A, Lambert AE, Orci L, Picet R, Gonet AE, Renold AE (1967) Studies of the diabetogenic action of streptozotocin. *Proc Soc Exp Biol Med* 126: 201-205.

- Kaefer M, De Carvalho JA, Piva SJ, da Silva DB, Becker AM, Sangoi MB, Almeida TC, Hermes CL, Coelho AC, Tonello R, Moreira AP, Garcia SC, Moretto MB, Moresco RN (2012) Plasma malondialdehyde levels and risk factors for the development of chronic complications in type 2 diabetic patients on insulin therapy. *Clin Lab* 58: 973-978.
- Kanai I, Kanai M (1983) Compendium of the Clinical Inspection. 29<sup>th</sup> ed. Komoonsa, Seoul. p 467.
- Kim MW (2008) Effects of *Salicornia herbacea* L. supplementation on antioxidative enzyme activities in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Nutr* 41: 583-593.
- Kim MW (2013) Effect of bitter melon on plasma blood glucose and cholesterol levels in streptozotocin induced diabetic rats. *J East Asian Soc Dietary Life* 23: 704-712.
- Kim MW (2013) Effect of sea buckthorn leaves on hepatic enzyme levels in streptozotocin induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 40-45.
- Korean diabetes association (2013) Diabetes fact sheet in Korea 2013. [http://www.diabetes.or.kr/temp/diabetes\\_factsheet\\_2013111.pdf](http://www.diabetes.or.kr/temp/diabetes_factsheet_2013111.pdf)
- Kubola J, Siriamornpun S (2008) Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts *in vitro*. *Food Chemistry* 110: 881-890.
- Lee ES, Kum JY, Hwang YO, Tu OJ, Jo HB, Kim JH, Chae YZ (2012) Comparative study on antioxidant capacities and polyphenolic contents of commercially available cocoa-containing products. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1356-1362.
- Lee YH, Kim DJ (2013) Diabetes risk score for Korean adults. *J Korean Diabetes* 14: 6-10.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
- Maklund S, Marklund G (1974) Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 467-474.
- Malik ZA, Tabassum N, Sharma PL (2013) Attenuation of experimentally induced diabetic neuropathy in association with reduced oxidative-nitrosative stress by chronic administration of *Momordica charantia*. *Advances Bioscience & Biotechnology* 4: 356-363.
- Meena AK, Bansal P, Kumar S (2009) Plants-herbal wealth as a potential source of ayurvedic drugs. *Asian Pac J Trop Med* 4: 152-170.
- Mihara M, Uchiyama M (1978) Determination of malondialdehyde precursor in issue by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 86: 271-278.
- Moore CJ, Shao CH, Nagai R, Kutty S, Singh J, Bidasee KR (2013) Malondialdehyde and 4-hydroxynonenal adducts are not formed on cardiac ryanodine receptor (RyR2) and sarco (endo) plasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase (SERCA2) in diabetes. *Mol Cell Biochem* 376: 121-135.
- National Health Insurance Corporation (2010) Health Insurance Statistics Yearbook. Seoul: National Health Insurance Corporation, 2010. <http://www.nhic.or.kr/> Accessed Jul. 15, 2012.
- Nikkila EA, Kekki M (1973) Plasma triglyceride transport kinetics in diabetes mellitus. *Metabolism* 22: 1-22.
- Park SA (2013) Social welfare approach for the patient with diabetic nephropathy. 14: 42-45.
- Park Y, Boo HO, Park YL, Cho DH, lee HH (2007) Antioxidant activity of *Momordica charantia* L. extracts. *Korean J Medicinal Crop Sci* 15: 56-61.
- Rashidi A, Kirkwood TB, Shanley DP (2009) Metabolic evolution suggests an explanation for the weakness of antioxidant defences in beta-cells. *Mech Ageing Dev* 130: 216-221.
- Reeves PG (1997) Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. *J Nutr* 127: 838-841.
- Saggu S, Kumar R (2008) Effect of sea buckthorn leaf extracts on circulating energy fuel, lipid peroxidation and antioxidant parameters in rats during exposure to cold, hypoxia and restraint(C-H-R) stress and post stress recovery. *Phytomedicine* 15: 437-446.
- Silva VM, Vinagre CG, Dallan LA, Chacra AP, Maranhao RC (2014) Plasma lipids, lipoprotein metabolism and HDL lipid transfers are equally altered in metabolic syndrome and in type 2 diabetes. *Lipids* 49: 677-684.
- Singh A, Singh SP, Bamezai R (1998) *Momordica charantia* (bitter gourd) peel, pulp, seed and whole fruit extract inhibits mouse skin papillomagenesis. *Toxicology Letters* 94: 37-46.
- Suryakumar G, Gupta A (2011) Medicinal and therapeutic potential of sea buckthorn(*Hippophae rhamnoides* L.). *J Ethnopharmacol* 138: 268-278.
- Tomita T, Yamasaki Y, Kubota M, Tohdo R, Katsura M, Ikeda M, Nakahara I, Shiba Y, Matsuhisa M, Hori M (1998) High plasma free fatty acids decrease splanchnic glucose uptake



- in patients with non-insulin-diabetes mellitus. *Endocr J* 45: 165-173.
- Tripathi UN, Chandra D (2009) The plant extracts of *Momordica charantia* and *Trigonella foenum graecum* have anti-oxidant and anti-hyperglycemic properties for cardiac tissue during diabetes mellitus. *Oxid Med Cell Longev* 2: 290-296.
- USDA(Agricultural Research Service United States Department of Agriculture (2014) National Nutrient Database for Standard Reference Release 27. <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2867?fg=&man=&lfacet=&format=&count=&max=25&offset=&sort=&qlookup=bitter>
- Vijayaraghavan K (2010) Treatment of dyslipidemia in patients with type 2 diabetes. *Lipids Health Dis* 9: 144.
- Wilcox CS (2010) Effects of tempol and redox-cycling nitroxides in models of oxidative stress. *Pharmacol Ther* 126: 119-145.
- Williams ED, Magliano DJ, Tapp RJ, Oldenburg BF, Shaw JE (2013) Psychosocial stress predicts abnormal glucose metabolism: The Australian diabetes, obesity and lifestyle (AusDiab) study. *Annals of Behavioral Medicine* 46: 62-72.
- Wilson GL (1984) Mechanism of streptozotocin-induced and alloxan-induced damage in rat  $\beta$ -cells. *Diabetologia* 27: 587-591.
- Wu SJ, Ng LT (2008) Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) in Taiwan. *LWT* 41: 323-330.
- Yoo JW (2013) What is needed for early detection of diabetes complications? *J Korean Diabetes* 14: 32-35.
- Youn KS, Kim JW (2012) Antioxidant and angiotensin converting enzyme I inhibitory activities of extracts from mulberry (*Cudrania tricuspidata*) fruit subjected to different drying methods. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1388-1394.

---

Date Received Nov. 24, 2014  
 Date Revised Dec. 13, 2014  
 Date Accepted Dec. 20, 2014