Korean J. Ginseng Sci.
Vol. 21, No. 3, 153~159(1997)

인슐린비 의존성 당뇨병 환자에서 홍삼이 적혈구의 지질과산화 및 항산화효소 슈퍼옥시드 디스뮤타제에 미치는 영향

최경묵 · 이은종 · 김용현 · 백세현 · 김영기* · 최동섭

고려대학교 내과, *고려대학교 임상병리과

(1997년 7월 27일 접수)

Effects of Red Ginseng on the Lipid Peroxidation of Erythrocyte and Antioxidant Superoxide Dismutase (SOD) Activity in NIDDM Patients

Kyung Mook Choi, Eun Jong Lee, Yong Hyun Kim, Sei Hyun Baik, Yung Ki Kim* and Dong Seop Choi

Department of Internal Medicine, Clinical Pathology Medical college, Korea university*

(Received July 27, 1997)

Abstract : Living organisms have antioxidant enzymes, such as superoxide dismutase, catalase & glutathione peroxidase, that protect themselves from the toxic effect of superoxide free radicals. Some report says that intracellular oxidation stress is involved in pathogenesis of chronic complications of diabetes mellitus. This study was performed to evaluate the effect of red ginseng on lipid peroxidation of red blood cell and antioxidant SOD activity of serum in NIDDM patients. As a result, there were trends for decrease of lipid peroxidases of RBC and increase of SOD activity of serum in ginseng group but that were not statistically significant. Therefore, we suggest long term and large sized control study is necessary to confirm the protective effects of red ginseng on oxidative damage in NIDDM patients.

Key words : NIDDM, Superoxide dismutase (SOD), Lipid peroxidase, Red ginseng.

서 론

지구상에 생명체가 존재하게 된 이후 산소를 이용하는 생물체는 산화에 의한 조직 손상의 가능성에 항상 노출되어 있다고 볼 수 있다. 특히 산소의 부분적인 환원 상태인 superoxide(O_2^-), hydrogen peroxide(H_2O_2) 및 hydroxyl radical(OH)등은 생체 내에 발생되어 산화에 의한 조직 손상을 유발시킨다. 따라서 자연계에 존재하며 산소에 노출된 모든 생명체는 피할 수 없는 산화에 의한 조직 손상으로부터 스스로를 보호하기 위한 방어계를 발전시키게 되었고 이러한 기능을 담당하는 효소들로서 superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT), glutathione peroxidase(GSHPX) 등이 있고 항산화물질로서 비타민 E, ascorbate, glutathione 등이 있어 이러한 유해요소로부터 자신을 보호하게 되었다.

이러한 세포내의 산화성 스트레스 항진이 관여하여 당뇨병의 만성 합병증을 유발할 것이라는 보고가 있으며[1] 특히 인슐린비의존성 당뇨병은 가속성 동맥경화증을 특징으로 하며 이에 의한 대혈관 합병증으로 뇌졸중 및 심근 경색증이 당뇨병의 주요한 사망원인이 된다.[2] 이러한 동맥 경화증의 병인에는 일반 조직의 가령화, 동맥 내막세포의 증식과 섬유화, 손상된 혈관 내피세포 부위의 재발성 혈소판 응집 및 동

맥벽에 지단백 축적과 포말(Foam) 세포 형성 등의 여러 요인이 관여한다.

조직의 산화에 의한 손상시에 발생하는 지질의 과산화 과정에서 malonyldialdehyde(MDA)가 유리되고 MDA는 혈관벽 내막에서 저밀도지단백(LDL)을 화학적으로 변형시키며 변형된 LDL은 대식 세포내에서 콜레스테롤을 새로이 합성하여 콜레스테롤 에스터가 침착되어 포말 세포를 형성하게 되고 이러한 과정을 거쳐 형성된 포말 세포가 동맥 경화증의 병인에 관계한다고 한다.[3,4,5]

이러한 당뇨병의 만성 합병증에서 노화에서와 유사한 조직 단백질의 변성이 흔히 관찰되며 일부에서는 당뇨병을 노화의 가속화로 보는 견해도 있다. 최근 Bayness는 산화성 스트레스가 다양한 당뇨병 합병증을 일으키는 공통된 기전이라는 가설을 제시한 바 있으며[6] 당뇨병에서 정상인에 비해 혈중 항산화제의 농도가 감소한다고 보고되어 있다. 따라서 당뇨병에서도 노화에서와 마찬가지로 세포내의 산화성 스트레스가 증가하여 세포질에 단백질의 산화성 손상이 축적될 가능성이 있고 국내에서는 장 등[7]이 당뇨병 유발 백서에서 간세포질내 단백질의 산화성 손상이 증가되어 있다고 보고한 바 있다.

한편 인삼은 생체의 산화성 스트레스에 대한 정상화 작용과 함께 유리 라디칼 손상에 대한 슈퍼옥시드 디스뮤타제(SOD), 카탈라제 및 글루타치온 퍼옥시다제 등의 제거 효소(scavenger enzyme)의 활성을 증가시킨다고 하며 최는 "노화과정의 조절과 인삼의 효과"라는 논문에서 인삼 성분이 효과적으로 성인병을 예방하고 노화 과정을 지연시킨다고 보고 하였다.[8]

본 연구는 인슐린비의존성 당뇨병 환자에서 홍삼 투여가 적혈구막의 지질과산화와 혈중 항산화효소에 미치는 영향을 알아 봄으로써 당뇨병의 만성 합병증을 예방할 수 있는 치료 보조제로서의 홍삼의 유용성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

1994년 6월 부터 고려대학교 병원에 내원하여 측정한 공복 혈당이 140 mg/dl 이상이고 표준 체중이거나 과체중인 인슐린비의존성 당뇨병 환자 중에서 나이가 40세 이상이고 정상 혈압을 보이며 당뇨병의 진단을 처음 받았거나 3개월이상 치료를 받지 않은 환자를 대상으로 하였다.

환자들은 모두 식사요법과 운동, 경구 혈당강하제나 인슐린 등의 혈당 조절을 위한 치료를 계속하면서 무작위로 두 군으로 분류하여 홍삼군에는 하루 2.7 g의 홍삼을 매일 투여하였고 대조군에는 홍삼이나 위약을 투여하지 않으면서 6개월간 추적 관찰하였다. 양 군에 있어 모두 고지혈증 치료제나 비타민 E 등 항산화제는 투여하지 않았다.

모든 환자는 처음 내원하였을 때 치료를 하지 않은 상태에서 공복 혈당(FBS), 식후 2시간 혈당(PP2hr-BG), 당화혈색소, 총 콜레스테롤, 중성 지방, HDL 콜레스테롤, 적혈구의 지질과산화와 혈청내 SOD활성도를 측정하였으며 이후 혈당 조절을 하면서 처음 검사일을 기준으로 2주, 2개월, 4개월 및 6개월에 각각 FBS, PP2hrBG, 지질과산화, SOD를 반복 측정하여 각각 대상군에서 홍삼군과 대조군사이의 차이를 관찰하였다.

적혈구막 지질과산화는 다음과 같은 방법으로 측정하였다. 먼저 EDTA가 들어있는 병에 채혈한 전혈에서 즉시 적혈구를 분리하여 phosphate buffer solution, butyrated hydroxytoluene, trichloroacetic acid를 첨가한 후에 와동하였다. 그 후 얼음에 2시간 동안 세워둔 뒤 2500 rpm에서 15분간 원심분리하여 구한 상층액에 EDTA와 thiobarbituric acid를 첨가한 뒤 15분간 끓는 물에 넣었다가 spectrophotometer로 532 nm와 600 nm에서 흡광도를 측정하였다. 지질과산화정도는 농축 적혈구의 MDA(malonyldialdehyde) reactivity(nmol/ml packed RBC)로 표시하였다. Malonyldialdehyde-thiobarbituric acid 복합체의 532 nm에서의 extinction coefficient는 $1.56 \times 105\ cm^{-1}M^{-1}$이다.[9]

슈퍼옥시드 디스뮤타제 활성도는 xanthine-xanthine oxidase계에 의해 O_2를 공급해 주는 상태에서 cytochrome c의 환원형이 생성되는 것을 억제하는 정도가 50% 감소하는데 필요한 슈퍼옥시드 디스뮤타제의 활성도를 1 unit로 정의하여 측정하는 cytochrome c법을 이용하였다. 측정하기 전에 아래와 같이 용액 1, 2, 3, 4, 5를 각각 만든다.

용액 1은 75 mM potassium phosphate buffer로 pH 7.8이었고 용액 2는 xanthine solution, 0.75 mM in 4 mM NaOH이었으며 용액 3은 cytochrome c solution, 0.15 mM in DW, 용액 4는 EDTA solution,

1.5 mM in DW, 용액 5는 xanthine oxidase, 10 μU XOD in 990 μl PBS로 구성된다.

먼저 1용액 22.0 ml에 2, 3 및 4 용액을 각각 2 ml씩 넣어서 반응액을 만든 후에 반응액 3 ml에 완충액 10 μl를 넣어 blank로, SOD 용액 10 μl를 넣어 표준곡선을 구한 다음 측정시 까지 -20℃에 보관시킨 혈청을 녹여서 검체 혈청 10 μl, 반응액 3 ml와 5용액 20 μl를 큐벳에 가하여 혼합한 후 time-based scanning spectrophotometry를 이용하여 550 nm에서 1분간 흡광도의 변화를 읽은 후 SOD 활성도는

$$(\frac{A_{blank}}{A_{test}}-1)\times\frac{3,030}{10}$$ 공식으로 구하였다.

통계 처리는 SAS 프로그램을 이용하였고 두 군 사이의 비교는 t-test를 시행하였다. 통계학적인 유의수준은 p-value 0.05이하로 하였다.

결 과

1. 대상 환자군의 비교(Table 1)

1994년 6월부터 외래 내원한 환자 중에서 상기한 기준에 적합한 환자 45명을 대상으로 하였으나 6개월동안 추적 관찰이 가능한 환자는 홍삼군이 14명, 대조군이 17명이었다.

양군에 있어서 내원 당시 연령, 남녀 성비, 신장과 체중은 Table 1과 같으며 이 때 측정한 공복 혈당과 식후 2시간 혈당, 당화 혈색소, 총 콜레스테롤, 중성지방, HDL 콜레스테롤 등은 양 군간의 유의한 차이를 보이지 않았다.

Table 2. Comparison of blood glucose and HbAlc between ginseng and control group after 6 month therapy (Mean±S. D)

	FBS	PP2	HbAlc
Control	158.1±53.1	187.2±75.7	6.9±1.4
Ginseng	133.0±25.7	214.3±83.6	6.5±1.2
P	0.22	0.48	0.46

* FBS : fasting blood glucose (mg/dl)
PP2 : PP2hr blood glucose (mg/dl)
HbA1c (%)

2. 치료 후 두 군의 혈당차(Table 2)

치료 후 6개월의 공복 및 식후 2시간 혈당과 평균 혈당 조절 지표를 나타내는 당화 혈색소는 두 군 모두에서 감소되었으나 두 군간의 유의한 차이는 없었다.

3. 치료 후의 두 군의 혈중 지질의 차(Table 3)

동맥경화증의 위험 인자로 알려져 있는 총 콜레스테롤, 중성 지방과 방어 인자로 알려진 HDL 콜레스테롤을 치료 후 두 군에서 비교한 결과 두 군간에 통계학적으로 유의한 차이는 없었다.

Table 3. Comparison of lipid profiles between ginseng and control group after 6 month therapy (Mean±S. D)

	TC	TG	HDLc
Control	189.1±44.2	214.0±138.8	43.7±14.2
Ginseng	193.2±45.07	234.4±112.2	39.4±8.0
P	0.82	0.70	0.42

* TC : Total cholesterol (mg/dl)
TG : Triglyceride (mg/dl)
HDLc : HDL cholesterol (mg/dl)

Table 1. Baseline clinical characteristics of ginseng and control groups (Mean±S. D)

	Ginseng	Control	P
Number	14	17	
Sex (M:F)	6:8	9:8	
Age	51.6±10.9	50.4±7.5	0.71
Weight (Kg)	63.7±10.7	62.5±9.5	0.74
Height (Cm)	159.2±9.6	161.5±8.1	0.47
FBS (mg/dl)	196.8±55.0	237.9±78.4	0.11
PP2hrBG (mg/dl)	325.0±120.0	383.8±143.1	0.25
HbAlc (%)	9.0±1.8	10.1±2.6	0.22
Total cholesterol (mg/dl)	222.4±42.8	202.5±59.1	0.30
Triglyceride (mg/dl)	232.2±145.0	226.9±187.8	0.93
HDL cholesterol (mg/dl)	39.1±6.0	41.6±11.6	0.51

Table 4. Comparison of changes of lipid peroxidation (nmol/ml packed RBC) between ginseng and control group (Mean±S. D)

	Basal	2 weeks	2 months	4 months	6 months
Control	1.11±0.45	0.93±0.30	0.86±0.28	0.92±0.23	1.02±0.26
Ginseng	1.06±0.26	0.97±0.29	0.95±0.29	0.89±0.22	0.68±0.25
P	0.71	0.69	0.49	0.84	0.11

Table 5. Comparison of changes of serum SOD activity(unit) between ginseng and control group (Mean±S. D)

	Basal	2 weeks	2 months	4 months
Control	18.4±13.0	27.30±25.8	17.1±12.3	19.9±11.7
Ginseng	20.5±14.0	23.1±17.5	18.2±11.9	26.3±20.4
P	0.69	0.63	0.84	0.46

4. 적혈구 지질과산화의 변화(Table 4)

관찰 기간동안 혈당이 조절됨에 따라 대조군에 비해 홍삼군에서 적혈구의 지질과산화가 감소하는 경향을 볼 수 있었으나 양군간에 통계학적으로 유의한 차이는 없었다.

5. 혈중 superoxide dismutase 활성도의 변화 (Table 5)

대조군에 비해 홍삼군에서 SOD 활성도가 증가하는 경향을 보였으나 양 군간에 유의한 차이는 없었다. 그리고 홍삼군에서 마지막 6개월째의 SOD 활성도는 일부 환자에서만 측정되어 대조군과 비교할 수가 없었다. 처음 내원시 측정한 기저 SOD 활성도와 비교한 홍삼 투여 후의 SOD 활성도는 홍삼군에서 증가하는 추세를 보였으나 통계학적으로 유의하지 않았다.

고 찰

생체내에는 지질과산화 반응을 촉진하는 인자로서 가장 중요한 유리 라디칼(free radical)이라고 하는 활성 산소종(reactive oxygen species : ROS)이 존재한다. 이러한 유리 라디칼은 오존이나 질산염 등의 오염 물질, 끽연, 합성 의약품, 여러 가지 염증, 중금속의 흡입, 각종 스트레스등이 원인이 되어 생기게 되며 생성된 유리 라디칼은 세포막의 지질 성분에 작용하여 과산화지질을 생성하고, DNA의 손상을 일으켜 변이를 촉진하며, 단백질 손상을 초래하므로써 심혈관계의 성인병을 유발시키고 암 등의 악성 신생물과 노화에 영향을 미치는 것으로 생각된다.[10,11] 그리고, 조직에서의 산화성 스트레스는 혈관내피의 기능에 영향을 미쳐 혈관확장의 장애, 혈액관류의 저해, 부분적 저산소증, 대사성 장애 및 세포독성을 야기하며 이것은 장기간에 걸친 당뇨병의 합병증 발생에도 관여하는 것으로 보인다.[12] 따라서 생물체는 이러한 활성산소를 제거하여 자신을 보호하기 위하여 superoxide dismutase, catalase 및 glutathione peroxidase등의 항산화 효소를 가지고 있다.

Superoxide dismutase는 비교적 생체내에 널리 분포된 효소로서 현재 4종류의 SOD가 알려져 있다. 포유류에서는 3종류의 SOD만이 발견되는데 4번째 SOD인 Fe-SOD는 구조가 Mn-SOD와 유사하며 박테리아에서만 발견된다. Cu, Zn-SOD와 EC(extracellular) SOD는 각기 세포질과 세포외액에 존재하는 반면 Mn-SOD는 주로 사립체(mitochondria)에 위치한다.[13,14,15]

Mn-SOD는 발암 기전 및 노화 과정에 일부 역할을 하고 있는 것으로 믿어지며[16,17] 암세포나 변형된 세포에서의 Mn-SOD 활성이 정상 세포나 젊은 세포에서보다 감소되거나 소실되어 있다고 한다.[18,19]

근래들어 copper-zinc SOD가 비교적 높은 농도로 췌장 베타세포에 포함되어 있다는 것이 알려졌고[20] 또 비록 alloxan에서만 확인되기는 하였지만 당뇨 유발 약제의 췌장 베타세포에의 작용이 superoxide의 생성으로 매개된다고 보고되었다.[21] 이러한 SOD의 활성은 alloxan, streptozotocin 등의 당뇨병 유발 약제에 의해 부분적으로 저해된다고 하며[22] Robbins 등은 streptozotocin으로 유발되는 당뇨병에서 SOD를 정맥 투여로 미리 처치할 경우 당뇨병의 발현을 억제한다고 보고하였다.[23] 따라서 주요한 유리 라디칼 제거 효소인 SOD치의 증가는 생물체로 하여금 산화 스트레스로 인한 당뇨병의 발생에 대해 저항성을 갖게 한다고 생각된다.[24]

SOD의 작용은 당뇨병의 병인뿐 아니라 당뇨병의

합병증과도 관련성이 인정되고 있는데 SOD의 당화는 당뇨병 합병증의 병인에도 중요한 요인으로 작용한다고 한다.[25]

Cu, Zn-SOD는 비효소성 당화(nonenzymatic glycation)가 되는데 lysine 잔기 122와 128의 당화가 일어나 단백질을 비활성화 시키게 된다. Cu, Zn-SOD의 연구는 당뇨병에서 당화된 효소의 비율이 증가됨을 밝혀낸 바 있다. 아마도 이러한 당화는 당뇨병 환자의 적혈구에 존재하는 고혈당 상태에서 유발되는 것으로 생각된다. Oda 등은 추출된 Cu, Zn-SOD에서 체외 실험 결과 배양 기간과 당의 농도에 비례하여 비효소적 당화가 증가됨과 이러한 당화와 효소의 활성도 사이에는 역비례 관계가 있음을 보고한 바 있다.[26]

Cu, Zn-SOD는 lens 상피(epithelium)에 상당량 분포하고 있으며[27] 일반적으로 당화된 Cu, Zn-SOD의 측정치는 당화혈색소치와 비례하는데 당뇨병성 백내장이 합병된 환자에 있어서는 이러한 연관 관계가 뚜렷하지 않고 합병증이 없는 환자에 비해 당화된 Cu, Zn-SOD 활성도가 높은 것으로 되어 있다. 따라서 Stevens 등은 SOD의 당화가 lens의 노화 및 노년성 또는 당뇨병성 백내장의 발생에 중요한 역할을 하는 것으로 제시한 바 있다.[28] 한편 이러한 당화된 Cu, Zn-SOD는 streptozotocin으로 유발시킨 백서에서도 적혈구와 렌즈에서 높은 측정치를 나타내었으며 당화된 SOD의 대부분은 활성이 없다.[29]

한편 당뇨병 환자및 실험 동물에서 지질과산화가 증가되는 것이 관찰된 바 있는데 실험견에서 alloxan에 의해 당뇨병이 유발되어 혈당이 증가됨에 따라 지질과산화의 지표로서 적혈구의 malonyldialdehyde (MDA)의 농도가 상승되어 나타났다.[30] 또 Balashova 등은 당뇨병 환자와 건강한 대조군으로 나누어 인슐린을 투여하여 혈당을 조절하면서 MDA를 측정한 결과 합병증이 있는 환자와 없는 환자 모두 인슐린 투여가 적혈구 MDA를 감소시킨다고 보고하였다.[31]

저자들은 가속성 동맥경화증과 노화 현상을 특징으로하는 당뇨병 환자에서 홍삼이 산화성 스트레스를 감소시켜 적혈구막의 지질과산화를 억제하는지 알아보기위해 지질과산화 정도를 MDA(malonyldialdehyde)를 측정하여 비교하였으며 당뇨병의 병인 및 합병증과 관계가 있는 것으로 알려진 항산화효소 슈퍼옥시드 디스뮤타제의 활성을 홍삼이 증가시키는지 알아보기 위하여 혈청에서 그 활성을 측정하여 대조군과 비교하였다.

연구 기간인 6개월동안 홍삼군과 대조군 모두에서 지질과산화가 감소되는 추세를 볼 수 있었으나 양군간에 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

또한 슈퍼옥시드 디스뮤타제에 미치는 효과를 관찰한 바 홍삼 투여군에서 대조군에 비해 SOD활성이 증가되는 경향을 볼 수 있었으나 두 군 간의 통계적 유의성이 관찰되지는 않았다.

본 연구가 환자를 대상으로 임상적 관찰이라는 점에서 대상 환자들이 꾸준히 약을 복용하지 않았을 가능성과 대조군 당뇨병 환자에서도 다른 항산화제를 복용했을 가능성을 배제할 수 없어 앞으로 이러한 점에 유의하여 더 많은 환자를 대상으로 보다 장기간의 관찰을 통해 홍삼이 적혈구 지질과산화와 혈중 SOD활성도에 미치는 효과에 대한 판정이 필요하다고 생각된다.

요 약

인슐린비의존성 당뇨병 환자 총 45명 중에서 6개월간 추적 관찰이 가능하였던 홍삼군 14명과 대조군 17명을 대상으로 혈당 조절 및 홍삼 투여 후에 총 콜레스테롤, 중성 지방, HDL 콜레스테롤, 당화혈색소를 측정하여 비교하였고 내원 당시 적혈구 지질과산화 및 혈중 superoxide dismutase 활성도와 2주, 2개월, 4개월, 6개월 후에 측정하여 홍삼군과 대조군 사이의 차이를 관찰하였다.

1. 두 군 모두에서 치료 전후 공복 및 식후 2시간 혈당 및 당화혈색소는 감소를 보였으나 두 군간에 통계학적으로 유의한 차이는 없었다.

2. 2주, 2개월, 4개월, 6개월에 측정한 적혈구의 지질과산화 값을 처음 내원시 기저치와 비교한 결과 홍삼군에서 감소하는 경향을 보였으나 통계적으로 유의한 변화는 아니었다.

3. 처음 내원시 측정한 기저치와 2주, 2개월, 4개월, 6개월에 측정한 superoxide dismutase 값을 비교한 결과 홍삼군에서 증가하는 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다.

결론적으로 인슐린비의존성 당뇨병 환자에서 6개월간의 홍삼 투여 후 통계적으로 유의한 차이를 보이지는 않았으나 적혈구의 지질과산화는 감소되는 추세를 보였고 혈청내 superoxide dismutase는 증가되는 경향을 보여 당뇨병환자에서 홍삼이 항산화제로

작용하여 만성 합병증 발생을 감소시킬 수 있는지는 좀 더 많은 당뇨병 환자를 대상으로 장기간의 임상적 관찰이 필요할 것으로 사료된다.

인 용 문 헌

1. Wolff S. P, Jiang Z. Y, Hunt J. V : Protein glycation and oxidative stress in diabetes mellitus and aging. *Free Rad. Biol. Med.* **10**, 330-352 (1991).
2. Doerr W : Arteriosclerosis without end. Principles of pathogenesis and an attempt at a nosological classification. *Virchows Arch. A* **380**, 91, (1978).
3. Fogelman A. M, Schechter I, Sager J, Hokom M, Child J. S, Edward P. A : Malonyldialdehyde alteration of low density lipoproteins lead to cholesterol ester accumulation in human monocyte-macrophages. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **77**, 2214 (1980).
4. Smith J. B, Ingerman C. M, Silver M. J : Malonylaldehyde formation as an indicator of prostaglandin production in human platelets. *J. Lab. Clin. Med.* **88**, 167 (1976).
5. Jain S. K, Mcvie R, Duett J, Herbst J. J : Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes. *Diabetes* **38**, 1539, (1989).
6. Bayness J. W : Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* **40**, 405-412 (1991).
7. 장연진, 이재담, 박형섭 : 당뇨병 유발 백서에서의 간 세포질 단백질의 산화성 손상. 당뇨병 **17(2)** 175-182 (1993).
8. 최진호 : 노화 과정의 조절과 인삼의 효과. 제4회 생명과학 심포지움 인삼과 노화. 한국 인삼연초 연구원 141-173 (1993).
9. Slater T. F : Overview of methods used for detecting lipid peroxidation. *Method enzymol.* **105**, 283-293 (1984).
10. Nagai R, Chiu C, Yamaoki K, Ohuchi Y : Evaluation of methods for estimating infart size by myosin LC2 : comparison with cardiac enzymes. *Am. J. Physiol.* **245**, H413-H419 (1983).
11. Nakamura Y, Gindhart T. D, Winterstein D : Early superoxide dismutase-sensitive event promotes neoplastic transformation in mouse epidermal JB6 cells. *Carcinogenesis* **9**, 203-207 (1988).
12. Baynes J. W, Thorpe S. R : The role of oxidative stress in diabetic complications. *Current Opinion in Endocrinology* **3**, 277-284 (1996).
13. Fridovich : Superoxide dismutases. *Annu. Rev. Biochem.* **44**, 147-159 (1975).
14. Marklund SL : Human copper-containing superoxide dismutase of high molecular weight. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **79**, 7634-7638 (1982).
15. Slot J. W, Geuze H. J, Freeman B. A, Crapo J. D : Intracellular localization of the copper-zinc and manganese superoxide dismutases in rat liver parenchymal cells. *Lab. Invest.* **55**, 363-371 (1986).
16. Dovrat A, Gershon D : Rat lens superoxide dismutase and glucose-6-phosphatase dehydrogenase : Studies on the catalytic activity and fate of enzyme antigen as a function of age. *Exp. Eye Res.* **33**, 651-661 (1981).
17. Oberley L. W, Buettner G. R : Role of superoxide dismutase in cancer : A review. *Cancer Res.* **39**, 1141-1149 (1979).
18. Danh H. C, Benedetti M. S, Dostert P : Differential changes in superoxide dismutase activity in brain and liver of old rates and mice. *J. Neurochem.* **40**, 1003-1007 (1974).
19. Nakada T, Akiya T, Koike H, Katayama T : Superoxide dismutase activity in renal cell carcinoma. *Eur. Ruol.* **14**, 50-55 (1988).
20. Crouch R. K, S. E Gandy, G Kimsey, R. A Galbratih, G. M Galbaraith, and MG Buse : The inhibition of islet superoxide dismutase by diabetogenic drugs. *Diabetes* **30**, 235-241 (1981).
21. Cohen G, R. E. Heikkila : The generation of hydrogen peroxide, superoxide radical and hydroxyl radical by 6-hydroxy-dopamine, dialuric acid, and related cytotoxic agent. *J. Biol. Chem.* **44**, 147-159 (1975).
22. Crouch R, G Kimsey, D. G Priest, A Sarda, M. G Buse : Effect of streptozotocin on erythrocyte and retinal superoxide dismutase. *N. Engl. J. Med.* **304**, 1547-1548 (1989).
23. Kubisch H. M, Wang J, Luche R, Calson E : Transgenic copper/zinc superoxide modulates susceptibility to type I diabetes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**(21), 9956-9 (1994).
24. Cerami A, Stevens V. J, Monnier U. M : Role

of nonenzymatic glycosylation in the development of sequelae of diabetes. *Metab. Clin. Exp* **28**, 431-437 (1979).
25. Oda A, Bannai C, Yamaoka T, Matsushima T : Inactivation of Cu, Zn-superoxide dismutase by in vitro glycosylation and in erythrocytes of diabetic patients. *Horm. Metab. Res.* **26**(1), 1-4 (1994).
26. Bhuyan K. C, Bhuyan D. K : Superoxide dismutase of the eye : Relative functions of superoxide dismutase and catalase in protecting the ocular lens from oxidative damage. *Biochem. Biophys. Acta.* **542**, 28-38 (1978).
27. Stevens V. J, Rouzer C. A, Monnier V. M, Cerami A : Diabetic cataract formation. Potential role of glycosylation of lens crystallins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **75**, 2918-2922 (1978).
28. Kinoshita N, Tada Y, Arai K, Matsuda Y : Glycated Cu, Zn-superoxide dismutase in streptozotocin-induced diabetic rates. Proceeding of 4th Biennial general meeting of the Society for free radical research. 719-722 (1989).
29. Vajdovich P, Gaal T, Szilgayi A : Changes of lipid peroxidation parameters in dogs with alloxan diabetes. *Acta. Physiol. Hung.* **81**(4), 317-326 (1993).
30. Balashova T. S, Golega E. N, Balabolkin M. I : Effect of biosynthetic insulin on lipid peroxidation in erythrocyte membranes in patients with type I diabetes mellitus, *Probl. Endokrinol. Mosk.* **40**(3), 12-5 (1994).