

참마 H₂O 분획물과 Selenium 보충이 당뇨 흰쥐의 지질과산화에 미치는 영향

김 명 화
덕성여자대학교 자연과학대학 식품영양학과

Effects of H₂O-fraction of *Dioscorea japonica* Thunb and selenium on lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats

Myung Wha Kim
Department of Foods and Nutrition, College of Natural Sciences,
Duksung Women's University

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effect of H₂O fraction of *Dioscorea japonica* Thunb(DJT) and selenium(Se) on the lipid peroxidation in streptozotocin(STZ)-induced diabetic rats.

Male Sprague-Dawley rats weighing 180~220 g were divided into 5 groups: One normal rat group and 4 diabetic rat groups(the STZ-Control group, the DJT group, the DJT-Se group and the Se group). Diabetes was induced in the male rats by injection of STZ into tail vein at a dose of 45 mg/kg. The H₂O-fraction of DJT(500 mg/kg) was administered orally for 14 days. The supplementation was achieved with the AIN-76 recommendation diet by adding 2 mg/kg diet of selenium as Na₂SeO₃ which was prepared freshly everyday. The levels of glycogen in liver and muscle and protein in kidney, liver and muscle were measured. The liver concentrations of cholesterol and triglyceride were analyzed. Also, the malondialdehyde(MDA) levels in kidney, liver and lung were determined.

The glycogen levels of liver and muscle in diabetic groups were not significantly different from the normal group. The protein concentrations of kidney, liver and muscle were not significantly different either, but the level of muscle protein was higher than STZ-Control group. The levels of liver cholesterol were significantly different between normal and STZ-Control groups and decreased in all diabetic experimental groups fed on H₂O-fraction of DJT and Se supplementation compared with the STZ-Control group. The levels of liver triglyceride were higher in the DJT-Se group than the STZ-Control group. The concentrations of MDA in lung decreased greatly by the administration of Se among all and the concentration of liver MDA was significantly reduced and that of DJT-Se group was the lowest.

In conclusion, the results indicated that the administration of H₂O-fraction of DJT with selenium supplementation has a synergistic antioxidative effect by influencing on lipid metabolites and peroxidation especially in liver.

Key words: streptozotocin diabetic rats, *Dioscorea japonica* Thunb, selenium, malondialdehyde, antioxidative effect

1. 서 론

당뇨병은 만성대사성질환으로 당뇨시 생리적 대사조절기능 이상은 조직의 과산화적 손상을 쉽게 초래하여 합병증을 동반하므로 산화적 스트레스에

대한 감수성이 높아 유리기(free radical) 생성계가 정상인에 비해 더욱 촉진되어 유리기 제거계의 작용이 더욱 불안정하여 생체는 손상을 받게 된다¹⁾.

유리기의 생성에 대항하는 제거계로서 세포내에 항산화에 관여하는 superoxide dismutase(SOD)는 산소라디칼의 양이 증가하면 합성 양이 증가하여 산소라디칼에 의한 세포파괴현상을 방지하며, 산화환경에 노출되어 받은 손상으로부터 세포를 보호하는데 중요한 역할을 하는 glutathione peroxidase(GPx) 등의 항산화효소들의 효소적방어계와 비타민 C, E,

Corresponding author: Myung Wha Kim, Duksung Women's University, 419, Ssangmun-dong, Dobong-gu, Seoul, 132-714, Korea
Tel: 02-901-8598
Fax: 02-901-8442/8372
E-mail: kmw7@center.duksung.ac.kr

selenium(Se), glutathione, 함황 아미노산인 methionine 과 cysteine 등은 정상적인 대사과정에서 생성되는 활성산소를 제거하는 생체내의 비효소적인 지질과산화 방어기구체계가 있다²⁻⁴. 반응성 산소대사물인 활성산소는 세포손상을 야기하는 직접적인 인자이며 인간에게서 당뇨병과 같은 여러 가지 질병을 일으키는 요인물질로 알려져 있다. 잘 조절되지 못한 당뇨병에서는 산화적 스트레스가 증가되어 인슐린저항성과 혈중 인슐린의 농도를 변화시켜 혈중 포도당 농도의 β -cell의 성장을 조절하는데도 매우 중요하다^{5, 6}. 당뇨인 경우는 비타민 E 결핍시 malondialdehyde (MDA) 함량이 높은 것으로 나타났다. 최근에는 이러한 조직의 과산화적인 손상을 방지하기 위해 비타민 C, E 및 carotene 등의 항산화물질을 대상으로 한 연구가 이루어지고 있고, Se는 metalloenzyme으로 glutathione peroxidase enzyme을 구성하여 hydroperoxides와 H₂O₂ 수준을 조절하는데 매우 중요하며 인슐린과 같은 성질이 연구되고 있다⁷⁻¹⁰. Streptozotocin(STZ)으로 유도된 당뇨 쥐에서는 oxygen free radical에 의해 민감도는 더욱 높아지는데 Se 첨가는 고혈당이 완화되고 손상된 췌장 β -cell의 기능과 형태를 회복시킨다고 한다. Se 결핍은 면역제에도 변화를 주어 질병저항에 관여하며 암예방에도 중요한 영양소로 부각되고 있다^{11, 12}. 당뇨시 항산화제보충은 당뇨시 나타나는 병변들을 지연시키는 효과를 주는데 Se은 당뇨가 유발된 쥐에서 초기의 사구체병변을 지연시킨다고 한다¹³.

본 연구에서 실험재료로 이용한 마는 백합목(Liliales)의 마과(Dioscoreaceae)에 속하는 덩굴성 다년생 초본으로 전 세계에 10속 650여종이 주로 열대와 아열대 지역, 동아시아, 지중해 연안과 미주지역에 분포하고 있다. 마는 라틴명으로는 *Dioscorea opposita* Thunb, 처방명으로는 Radix Dioscorea, 중국명으로는 추산약, 한국명으로는 보통마라고 하며 산약, 서여 등의 별명을 가지고 있다¹⁴. 한국산 마속의 분류학적 연구¹⁵⁻¹⁷에 의하면 한국산 마과 마屬에 속하는 식물 중에서 2절 6종 즉 마질(Enantiophyllum)에 속하는 참마와 마, 부채마질(Stenophora)에 속하는 부채마, 단풍마, 각시마와 도로꼬마로 구별된다. 참마의 길이는 2-3m 가량되며 개체내와 개체간에서 다양한 변이를 나타내는 잎은 대생과 호생이 불규칙하게 나타난다.

마는 일반적으로 가식부의 뿌리가 원주상인 비대한 생근 형태로 내부는 유백색이나 황갈색을 띠며 끈끈한 mannan이라는 점질다당류를 다량 함유하며

점질다당류의 구성성분은 대부분이 식이섬유이며 수용성이다. 마의 주성분은 전분질로 mucin질이 있어 점성이 높고 마의 전분은 pH 7일 때 고유 점도가 0.290 dl/g으로 최대 값을 나타내었다¹⁸. 마의 지방산은 주로 linoleic과 palmitic acid이며 여러 소화효소가 함유되어 있어 익혀 먹지 않아도 소화가 잘 되는 식품으로 서류 중 마에 함유된 단백질은 glycoprotein으로 생물가가 우수하다. 마는 비타민 C와 B₁ 등을 함유하며 참마의 부위별로 무기질 함유량이 다르지만 일반적으로 Na, K 및 Fe를 다량 가지고 있으며 Zn의 함량도 높아서 고혈압환자의 치료에 이용된다고 한다¹⁹⁻²¹. 조선약용식물지²²에 의하면 마는 맛이 달고 성질은 따뜻하며 독이 없고 장기중 비경, 위경, 폐경 및 신경에 작용하며 빈뇨와 당뇨를 치료하는데 효과적이다. 마는 몸의 저항성을 높이며 콜레스테롤도 낮춘다고 하였다. 하루에 10-20g을 달임약, 등근알약 및 가루로 하여 약용하였고 껍질이 염증제거를 위해 환부에 찌어서 바르기도 하였다. 마의 괴경을 마쇄하여 음식에 혼합하거나 즙을 내어 식용하며 전, 구이 및 찜 등에 이용하는 마는 보신건위기능이 있어 자양작용이 뛰어나며 식이요법에 우수한 식품으로 마의 물리학적성질은 제빵산업에서도 이용된다.

마에 대한 연구는 polyphenol oxidase의 특성과 효소갈변생성물의 항돌연변이효과, 항변이원성, 항보체활성 및 면역증강효과^{23, 24} 등이 있으며 마의 점질물이 혈압의 상승억제에 관여하는 angiotensin converting enzyme 저해활성과 증금속 제거효과²⁵와 참마의 flavonoid계 물질을 분석한 결과 주된 성분인 flavone과 flavonol이 연구되었다²⁶.

근래에 와서는 식용식물을 이용하여 인슐린 분비 기능 개선을 위한 연구^{27, 28}, 천연물에 대한 항산화비타민 함량분석, 추출물에 의한 항산화효과와 과산화물에 미치는 영향 및 항암효과검색 등에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 민간에서 약제로 쓰이던 지황, 노근, 백도근, 당살초, 왕취뽕나무, 우슬 및 잠사 등이 혈당강하에 효과를 보이는 식물²⁹로 나타나고 있다. 당뇨치료는 대부분 약물 치료와 식이요법에 의존하고 있으며 약물복용에 따른 독성문제와 환자의 내성문제로 이러한 화학약제의 부작용을 극복하기 위해 전통적으로 사용되어 온 일상적으로 접할 수 있는 천연의 식품으로서 식용식물치료요법인 자연치유법에 대해 새롭게 그 가능성을 접근하고 있다.

본 연구에서는 당뇨병의 예방과 치료책 일환으로

항당뇨치료로 이용해오던 우리나라 식용식물의 하나인 참마(*Dioscorea japonica* Thunb : DJT)를 일차적으로 검색한 후³⁰⁾ methanol로 추출하여 당화과정을 통해 생긴 자유라디칼의 산화적 손상에 대한 효과가 있는지의 여부를 알아 보기 위해 분획한 참마의 H₂O 분획물을 흰쥐에게 경구투여하였다. 항산화 효과를 주는 영양소인 Se는 기본 실험식이인 AIN-76 조제식이³¹⁾에 첨가하여 먹였으며 당뇨는 흰쥐에게 STZ으로 유발시켜 14일간 실험한 후 혈당의 수준을 보았고 동물 희생 후 주요 장기와 근육을 적출한 후 실험에 이용하였다. 당뇨로 인한 대사물의 변화에 미치는 영향을 알아보기로 간장, 근육 및 신장 중의 단백질 함량, 간장과 근육 중의 glycogen 함량과 간장 중의 cholesterol 및 중성지방 함량과 간장, 신장 및 폐 중에 함유되어 있는 지질과산화물(MDA)의 수준을 측정하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험동물 사육 및 식이의 제조

삼육실험동물로부터 공급받은 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐(180-220g) 50마리를 환경에 적응시키기 위해 고형사료(삼양사료)로 일주일간 예비사육한 후 난괴법에 의해 5개군으로 나누어 한마리씩 분리하여 stainless steel cage에서 사육하였다.

실험동물은 정상군(Normal)과 실험군으로 나누었으며 실험군은 모두 STZ 당뇨군으로 당뇨대조군(STZ-Control), 참마분획물군(DJT), 참마분획물에 Se를 병용 첨가한 군(DJT-Se)과 Se만 첨가한 군(Se)으로 하여 실험하였다.

실험동물의 당뇨유발은 16시간 절식시킨 후 STZ(45 mg/kg/0.01 M citrate buffer, pH 4.5)을 꼬리 정맥에 주사하여 유발시켰다. 당뇨발생 확인여부는 안구정맥총에서 24시간 후에 혈액을 취하여 원심분리한 후 혈당을 측정하여 혈장 중의 포도당 농도가 300 mg/dl 이상인 것을 당뇨가 유발된 것으로 간주하여 실험에 사용하였다.

본 실험에 사용된 참마는 경동시장에서 건조된 사료를 구입하여 분말로 만든 후 methanol로 5시간 동안 수욕상에서 환류냉각장치를 부착하여 추출한 후 온시여과하였고 같은 방법으로 4회 반복 추출하여 모든 여액을 합하고 감압농축하여 methanol 추출물을 얻었다. Methanol 추출물은 hexane, chloroform, butanol 및 H₂O의 순서로 분획하여 얻은 분획물을 실험한 결과 혈당강화에 효과가 높은 H₂O 분획물을

실험에 이용하였다. 모든 실험군은 AIN-76 조제식사와 물을 ad libitum으로 섭취시켰으며 정상군과 당뇨대조군은 1% Tween 80용액을, 당뇨실험군은 참마의 H₂O 분획물을 500mg/kg B.W로 1일 1회 14일간 일정한 시간에 경구투여하였고 Se(Na₂SeO₃ : BDH Laboratory, England)는 식이를 급여하기 직전에 기본식이인 AIN-76 조제식이에 2 mg/kg diet로 보충하여 동물에 공급시켰다.

2. 생화학적 분석

실험기간 중 매 4일 간격으로 실험동물의 안구정맥총에서 채혈하여 3,000 rpm에서 원심분리한 후 혈장을 취해 혈당을 측정하였다. 실험 마지막날에는 실험동물을 ether로 마취시켜서 단두로 희생시키고 혈액을 채취하였고 즉시 실험동물을 해부하여 간장, 신장, 심장, 비장, 췌장 및 폐를 적출하여 -70 °C에 저장하여 실험에 사용하였다.

당뇨로 인한 각각의 에너지대사물의 농도 변화를 보기 위해 간장과 근육의 glycogen 함량을 Hassid와 Abraham의 방법³²⁾에 의해 비색법으로 분석하였고, 단백질의 함량은 Lowry 등의 방법³³⁾에 의해 흡광도를 측정하여 정량하였다. 간장 중의 중성지방은 Trinder법³⁵⁾, cholesterol은 효소법³⁴⁾에 의해 kit를 사용하여 측정하였다. 간장, 신장 및 폐 중에 함유되어 있는 지질과산화물(MDA)의 수준은 Uchiyama 등³⁶⁾의 방법을 이용하여 분석하였다.

3. 통계처리

본 연구의 모든 실험결과는 SAS(statistical analysis system) 통계모델을 이용하여 각 실험군 별로 평균과 표준편차로 표시하였고 실험군 간의 비교는 ANOVA로 분석 후 Tukey's studentized range(HSD) test를 행하여 $\alpha=0.05$ 수준에서 통계적 유의성을 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. Glycogen 수준과 혈당에 미치는 영향

간장과 근육 중의 glycogen 함량은 정상군보다 당뇨대조군에서 높은 수준이었으나 정상군과 당뇨대조군 사이에 유의성을 보이지 않았으며 당뇨실험군 간에도 차이를 보이지 않았다(Table 1).

골격근은 세포의 기능 유지를 위한 에너지원으로 순환중인 당질과 저장된 glycogen을 이용하며 골격근에서 당질의 이용은 인슐린에 의존한다. Ghosh 등⁸⁾

Table 1. Effects of H₂O fraction of *Dioscorea japonica* Thunb with selenium on muscle and liver glycogen levels in diabetic rats after 14 days¹⁾²⁾

Groups(n)	(mg/g)	
	Liver glycogen	Muscle glycogen
Normal(5)	22.9±10.2	0.7±0.3
STZ-Control(6)	27.3±11.3	1.4±0.5
DJT(7)	21.4± 6.0	1.3±0.7
DJT-Se(6)	22.0± 9.1	1.4±0.9
Se(8)	23.1± 8.0	1.4±0.6

1) Values are mean ± S. D., n= no. of rats, n= no. of rats, Normal group was not treated with STZ, STZ-Control group was treated with STZ, DJT group was treated with STZ and extracts of *Dioscorea japonica* Thunb(DJT), DJT-Se group was treated with STZ, DJT and Na₂SeO₃, Se group was treated with STZ and Na₂SeO₃

2) NS : not significant at p< 0.05

의 연구에 의하면 당뇨시 당뇨의 원인이 되는 고혈당이 2.5배 증가하였고, 간장의 glycogen 수준은 4.5 배 감소하였으며, glucose-6-phosphatase 활성이 4배나 감소하였고, 혈장 인슐린 수준과 protein kinase 활성이 유의적으로 감소하였다. Se 투여시 당뇨된 마우스의 경우에 Se은 인슐린과 같은 역할을 하는데 Lizuka 등³⁷⁾의 연구에서도 Se은 당뇨시 높아진 혈당의 수준을 낮춘다고 하였다. 간장, 지방조직 및 근육조직에서는 인슐린이 부적절하게 방출되면 인슐린작용에 민감하게 작용하지 못하게 되는데 인슐린의 부족은 catalase 활성이 증가되며 골격근 성장에 방해를 주어 체중증가에 영향을 미칠 뿐 아니라 당질 이용이 감소되어 지방산과 케톤의 이용이 증가된다. Hydrogen peroxide(·OOH)는 당뇨조직에서 산화적 스트레스에 의해 내피조직의 기능에 손상을 주었는지의 여부를 보는 주요 간파물질로서 결과적으로 고혈당이 되는 직접적인 원인이 된다. 전보³⁸⁾에 STZ으로 당뇨 유발한 흰쥐에게 참마분획물과 Se을 14일간 섭취시킨 후 4일 간격으로 채혈하여 혈장의 포도당과 인슐린 함량 미치는 영향을 실험한 결과 혈장 중의 포도당 수준은 실험 기간 동안 정상군에 비해 당뇨대조군에서 유의적으로 높은 수준을 보였고 당뇨대조군과 당뇨실험군 간의 비교시 DJT-Se군에서는 혈당의 유의적인 감소를 보였다. 혈장 인슐린의 함량도 정상군(8.8±5.2 μIU/ml)에 비해 모든 실험군에서 모두 낮게 나타났으며 실험군 중 DJT군(2.5±0.8 μIU/ml), Se군(3.0±0.8 μIU/ml), DJT-Se군(3.2±0.2 μIU/ml)과 당뇨대조군(2.9±0.8 μIU/ml) 사이에 유의적인 차이를 보이지 않았으나 인슐린

수준과 유사하게 DJT-Se군에서 다른 실험군에 비해 혈장의 포도당수준이 낮아지는 결과를 보였다. 당뇨가 유발되면 인슐린 저항은 골격근보다 간에서 빠르게 나타나며 골격근에서는 STZ 주입후 14일이 지나도 그 영향이 완전히 나타나지 않았다. 간과 골격의 glycogen synthase는 인슐린에 의해 자극된 protein phosphatase에 의해 활성화되어 glycogen 합성을 촉진하는데 STZ에 의해 당뇨가 유발된 쥐에서는 간장의 protein phosphatase 활성이 감소된다고 하였다³⁹⁾. 당뇨시 췌장의 β-cell의 파괴에 의한 인슐린 부족으로 glycogen phosphorylase가 활성화되어 glycogen의 분해가 증대되어 간의 glycogen 함량이 감소된다고 하나 본 연구에서는 다소 다른 차이를 보였다.

2. 단백질 수준의 변화

당뇨실험군 중 DJT-Se군에서 참마와 Se 단독 투여보다는 유의적인 차이는 아니었지만 간장, 신장 및 근육에서 단백질 수준이 높은 경향을 보였으며 간장, 신장 및 근육 중의 단백질 함량은 정상군과 당뇨대조군 사이에 유의적인 차이를 보이지 않았다 (Table 2).

잘 치료되지 않은 당뇨시에는 branched chain keto acid(BCKA) 아미노산 농도가 증가되어진다⁴⁰⁾. 골격은 BCKA 아미노산의 산화를 받는 주요한 부분으로 단백질의 이화작용의 증가 및 BCKA 효소의 증가가 일어나며 이 효소의 활성 증가는 초기 단백질 소모가 골격근에서 당뇨를 잘 치료하지 못했을 때 나타나는 현상이다. 단백질 소모는 당뇨가 오래 가면 더 명확하게 나타날 수 있는데 본 실험은 14일간의 단

Table 2. Effects of H₂O fraction of *Dioscorea japonica* Thunb with selenium on kidney, liver and muscle protein levels in diabetic rats after 14 days¹⁾²⁾

Groups(n)	Kidney protein	Liver protein	Muscle protein
	(mg/ml)	(mg/g)	(mg/g)
Normal(5)	33.8±2.2	0.314±0.058	0.567±0.624
STZ-Control(6)	32.7±5.4	0.417±0.099	0.201±0.098
DJT(7)	27.5±4.0	0.308±0.052	0.247±0.058
DJT-Se(6)	30.1±4.2	0.417±0.099	0.288±0.034
Se(8)	28.4±4.5	0.315±0.037	0.259±0.048

1) Values are group was not treated with STZ, STZ-Control group was treated with STZ, DJT group was treated with STZ and extracts of *Dioscorea japonica* Thunb(DJT), DJT-Se group was treated with STZ, DJT and Na₂SeO₃, Se group was treated with STZ and Na₂SeO₃

2) NS : not significant at p< 0.05

기간의 투여였기 때문에 당뇨 실험군간에 차이를 보이지 않은 것으로 사료된다.

전보³⁸⁾에 의한 혈장 중의 단백질 수준은 정상군(7.5±0.2 g/dl)에 비해 당뇨대조군(7.2±0.3 g/dl)에서 다소 낮은 수준으로 당뇨실험군 모두에서 당뇨대조군보다 높은 수준이었으며 당뇨실험군 중 Se군(8.4±0.6 g/dl)에서는 정상군과 당뇨대조군보다 다소 높게 나타났다. 본 연구결과 신장기능의 회복은 14일 정도의 짧은 기간으로 큰 영향을 기대하기는 어려우나 당뇨시 단백질 이화작용이 증가되어 열량급원으로 쓰이게 되는데 glycogen 수준과 단백질의 수준과 유사한 경향을 보였으나 DJT-Se군에서 유의적이지는 않지만 당뇨대조군에 비해 다소 높은 단백질 수준을 보였으며 아직은 근육단백질의 소모까지는 나타나지 않았으므로 참마투여물과 Se 보충이 어느 정도는 작용효과가 있는 것으로 보여진다.

3. 간장 중의 cholesterol과 중성지방 수준에 미치는 영향

당뇨시 지질 대사에 영향을 미치는 cholesterol과 중성지방 수준(Fig. 1)을 보면 실험기간 14일 후 간장 중의 cholesterol 함량은 정상군(4.9±0.5 mg/g)에 비해 당뇨대조군(7.1±0.8 mg/g)에서 유의적으로 높은 수준이었고 당뇨실험군 간에는 차이를 보이지 않았으나 DJT군(6.4±1.2 mg/g), DJT-Se군(6.6±0.8 mg/g) 및 Se군(6.5±1.6 mg/g) 모든 당뇨실험군에서

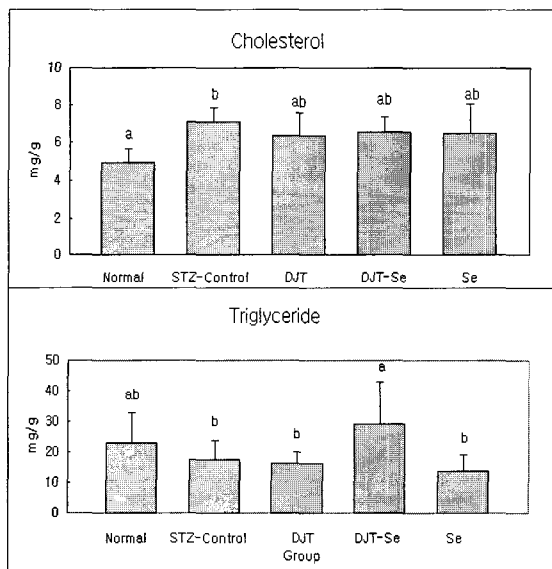


Fig. 1. Effect of H₂O fraction of *Dioscorea japonica* Thunb with selenium on liver cholesterol and triglyceride levels in diabetic rats after 14 days

당뇨대조군보다 낮은 수준이었다.

간장 중의 중성지방 수준은 정상군(22.8±10.0 mg/g)이 당뇨대조군(17.4±6.5 mg/g)보다 높은 수준이었으나 유의적인 차이가 아니었다. 당뇨실험군들의 중성지방 수준은 Se군(13.9±5.1 mg/g)에서 가장 낮게, DJT군(16.4±3.4 mg/g)과 DJT-Se군(29.1±13.8 mg/g)순으로 당뇨대조군과 비교할 때 DJT-Se군에서만 유의적인 차이를 보이며 증가하였다.

간장은 인슐린에 의존적인 조직으로 지방대사와 혈장 지단백의 분비, 인지질과 콜레스테롤의 합성에 관여한다. 인슐린이 부적절하게 방출되면 간장, 지방조직 및 근육조직이 인슐린작용에 민감하게 작용하지 못하는데⁴¹⁾ Se이 부족한 식이에서는 간장의 glutathione 활성이 감소되는데 이것은 항산화 방어능력의 감소를 의미한다. 또한 Se이 결핍된 식이에서는 간장의 HMG-CoA reductase 증가로 혈장의 콜레스테롤 수준이 증가한다. 인슐린이 부족하면 지방조직으로부터 유리지방산 방출이 증가되는데 이것은 간장에서의 중성지방합성을 위한 기질을 증가시키기 위함으로 중성지방은 혈관합병증 발생을 더욱 증대시키는 인자로 당뇨시 중성지방이 증가된다⁴²⁾. Roman-Ropez의 연구⁴³⁾에 의하면 당뇨시 간장내 lipogenesis의 감소로 중성지방의 함량이 감소하였다고 보고하였다. 당뇨시 중성지방수준이 당뇨대조군과 당뇨실험군에서 DJT-Se군을 제외하고는 비슷한 경향을 보였다. DJT-Se군에서는 유의적인 차이는 아니지만 정상군보다 높은 간장의 중성지방 수준으로 본 연구결과 간장내의 대사기능에 참마와 Se를 병행 투여하였을 때 중성지방의 수준을 변화시키는 상승효과가 기대되며 참마추출물과 Se 처리는 당뇨시 높아지는 콜레스테롤 수준을 낮추는데 크게 영향을 미치지 않았지만 높아지게 하지는 않았으므로 어느정도 안정화작용이 있는 것으로 생각된다.

4. 지질과산화에 미치는 영향

당뇨시 자유라디칼의 생성이 많고 MDA 같은 지질과산화물이 증가한다. 지질과산화 반응은 유리기들에 의해 막지질의 불포화지방산들이 산화적 분해를 일으키는 것으로 지질과산화의 지표로 널리 사용되고 있는 MDA를 신장, 간장 및 폐의 장기에서 측정된 결과는 Fig. 2와 같다.

신장의 MDA 수준은 정상군(1.87±1.81 nmol/mg protein)과 당뇨대조군(1.78±0.46 nmol/mg protein) 사이에 유의적인 차이가 없었으며 Se군(1.42±0.26

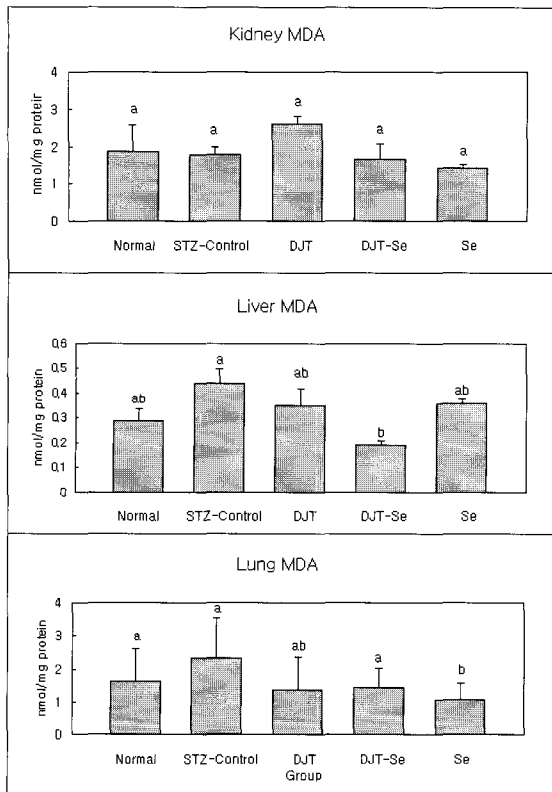


Fig. 2. Effect of H₂O fraction of *Dioscorea japonica* Thunb with selenium on MDA levels in kidney, liver and lung in diabetic rats after 14 days

nmol/mg protein)에서 가장 낮은 수준이었으나 당뇨대조군에 비해 유의적인 차이를 보이지 않았다. 간장에서도 MDA 수준은 정상군과 당뇨대조군과는 유의적인 차이는 아니었으며 당뇨대조군과 당뇨실험군 사이에도 유의적인 차이를 보이지 않았으나 당뇨대조군의 MDA 수준은 0.44 ± 0.11 nmol/mg protein으로 모든 실험군에 비해 높은 수준이었으며 DJT-Se군(0.18 ± 0.05 nmol/mg protein)에서는 당뇨대조군에 비해 유의적으로 낮았고 정상군의 0.29 ± 0.11 nmol/mg protein 보다 낮은 수준이었다. 폐의 MDA 수준은 정상군(1.61 ± 0.65 nmol/mg protein)에 비해 당뇨대조군(2.33 ± 0.74 nmol/mg protein)에서 높게 나타났으나 유의적인 차이를 보이지 않았으며 당뇨대조군에 비해 당뇨실험군 모두에서 낮은 MDA 수준을 보였으며 Se군(1.07 ± 0.29 nmol/mg)에서는 유의적으로 낮은 차이를 보였다. 항산화제의 활성이 강하게 나타나는 기관은 심장과 췌장보다 간장과 신장이다. 신장은 생체내의 대사과정에서 생성된 노폐물을 여과시키는 과정에서 혈액속에 들어 있는 독성물질에 노출될 기회가 많기 때문에 체내에

서 지질과산화물을 생성하는데 좋은 환경을 제공됨으로서 항산화계가 저하되어 과산화물이 축적되기 쉬운 조직이다⁴¹⁾. 신장은 약재추출물에 의한 부작용을 쉽게 받을 수 있는 기관으로 추출물 성분에 의한 반응이 민감하여 신장에서 MDA 수준이 다른 장기보다 높은 것으로 보여진다.

Tatsuki 등⁴⁴⁾의 연구에 의하면 2주동안 STZ으로 처리된 쥐에서는 지방과산화물은 감소되고 catalase 활성은 증가되었으며 간장에서는 지방과산화물과 catalase 활성에 변화가 없었으며 STZ 투여후 7주째 catalase 활성이 증가되었다. 쥐장에서 산화적인 스트레스에 대한 방어체계는 STZ으로 당뇨를 유발한 초기에 방어체계가 형성되는데 Papaccio 등⁴⁵⁾의 연구에 의하면 당뇨가 유발된 흰쥐의 간장 및 신장에서 MDA 수준이 높게 나타났으며 STZ으로 인한 손상시 지방의 과산화현상이 췌장, 신장과 두뇌조직에 증가되어 생화학적 손상을 가져오게 된다. 당뇨 쥐에서는 MDA 등 변형된 단백질 생성을 막기 위해 현저히 자가항체수준이 높아지는데 이것은 산화적 스트레스가 높음을 의미한다. Mukherjee 등⁴⁶⁾의 연구에 의하면 당뇨시 간장에서 glutathione 수준이 79%가 감소하였고, MDA 수준은 89% 증가하였는데 이 연구에서 Se은 산화적인 손상을 낮추는 효과가 있었다. 8일 동안의 STZ 처리된 급성 당뇨실험에서 심근에서의 MDA 수준이 현저히 높았다. Alloxan 유도시 MDA수준이 간장과 신장에서는 증가했으나 심장에서는 감소, glutathione 수준은 심장과 간장에서 감소하였으나 간장에서는 장기간의 당뇨인 경우는 간장에서의 glutathione 수준이 올라갔다. 자유기에 의한 고혈당은 Se, Cu, Mn 및 Zn과 같은 무기질이 결핍되면 glucose intolerance가 진전이 되고 비타민 E는 당뇨된 쥐의 신사구체에서 근위세뇨관의 산화적 손상과 생리기능 장애를 감소시킨다. Naziroglu 등⁴⁷⁾에 의하면 MDA 수준은 비타민 E와 C 그리고 복합적인 투여시 현저히 낮았고, Gpx활성은 비타민 E와 C 그리고 Se 투여시 현저히 높았는데 비타민 C가 비타민 E와 Se보다 산화적인 손상에 더 큰 영향을 준다고 하였다. Naidoo와 Lux의 연구⁴⁸⁾에 의하면 비타민 C와 E를 같이 보충했을 때 혈장속의 MDA 수준이 감소하였다. 비타민 E는 간장, 심장 및 비장을 보호하는 작용이 있고 Se는 신장 보호에 효과적이다⁴⁶⁾. 당뇨시 간장의 MDA 수준은 높게 나타나는데 비타민 E같은 항산화제 투여시 낮아지는 경향을 보이는데 본 실험에서는 참마나 Se 단독투여보다 병행하여 투여하였을 때 낮은 MDA 함량을 보임으로써 간장에서 참마와 Se의 상승

작용을 나타낸 것으로 추정된다.

최근에는 지질대사에 영향을 주는 고지혈증 등의 지질작용 저하를 가진 생리활성물질에 대한 연구가 천연식물대상으로 이루어지고 있다. 뽕나무추출물은 간장에서 콜레스테롤 합성에 관여하는 HMG-CoA reductase 활성이 억제되며 신장에서 과산화 지질 생성을 감소시키는 작용이 있었다⁴¹⁾. Free radical scavenger와 항산화제는 wheat와 alfalfa 추출물보다 Ginkgo biloba 추출물이 함유하는 flavonoids 속에 지방과산화물을 감소시키는 항산화 능력이 있는데 ascorbic acid, glutathione, uric acid 같은 수용성 항산화제보다 강한 항산화 능력을 보였다고 하였다^{48, 49)}. 문 등⁵⁰⁾의 연구에 의하면 산초메탄올 추출물을 투여시 사염화탄소로 처리한 마우스실험에서 간의 지질과산화물의 생성을 억제하였다. S-allyl cysteine sulfoxide 마늘성분은 항산화제역할 및 저지혈증제제로 사용되며 유리기의 방출을 저해시키며 지방과산화물의 산화를 방해한다⁵¹⁾.

본 실험 결과 STZ 당뇨 쥐에서 다른 장기의 MDA 수준보다 간장에서 MDA 수준이 가장 높았으며 장기 중 Se의 단독 투여시 제일 큰 영향을 받는 장기는 폐였고 다음이 신장이었다. 간장의 MDA의 경우 DJT-Se 병용 투여시 크게 낮추는 영향을 주었다. 참마도 천연식물로서 flavone 및 polyphenol계 화합물 등의 생리적인 활성물질을 함유하며 항산화성질을 지니고 있으므로 지질과산화에 영향을 미칠 것으로 생각된다.

IV. 요약

본 연구에서는 streptozotocin으로 당뇨를 유발시킨 흰쥐에게 methanol로 추출하여 분획한 참마의 H₂O 분획물을 경구투여하고 selenium(Se)은 식이로 보충하여 당뇨시 14일간 에너지대사물 수준과 지질과산화에 미치는 영향을 실험하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

간장과 근육의 glycogen 함량의 변화는 정상군과 당뇨대조군 사이에 유의적인 차이를 보이지 않았으며 당뇨실험군 사이에도 유의적인 차이를 보이지 않았다. 간장, 신장 및 근육의 단백질 수준도 정상군과 당뇨대조군에서 유의적이 아니었으나 근육단백질 수준이 당뇨대조군보다 DJT-Se 병용 투여군에서 높았다. 간장의 콜레스테롤 수준은 정상군과 당뇨대조군 사이에 유의적이었으며 당뇨대조군에 비해 당뇨실험군 모두에서 콜레스테롤 수준이 낮았으

나 유의성은 보이지 않았다. 간장의 중성지방 수준은 당뇨대조군에 비해 DJT-Se군에서 유의적으로 높아 참마와 Se 처리의 상승작용을 보였다. 지질과산화에 영향을 주는 MDA 수준은 간장의 경우 정상군과 당뇨대조군 사이에 유의적이 아니었고 폐의 MDA 수준은 실험군과 당뇨군 모두에서 가장 낮은 수준으로 당뇨대조군에 비해 Se군에서 유의적으로 낮았다. 간장의 MDA 수준은 유의적인 차이는 아니었지만 정상군에 비해 당뇨대조군에서 높은 수준이었고 DJT-Se 병용투여군에서 모든 실험군 중 유의적으로 가장 낮은 수준이었다.

본 연구 결과 STZ 당뇨 쥐에서 참마의 H₂O 분획물과 Se 투여시 지질과산화에 미치는 영향은 간장에서 MDA 수준이 가장 높았다. Se 단독 투여시 제일 큰 영향을 받는 장기는 폐였으며 다음이 신장으로 간장의 MDA 수준을 낮추는데는 DJT-Se 병용투여시 가장 효과적이었다. 참마의 H₂O 분획물투여와 Se 보충은 전보의 연구 결과와 유사하게 참마나 Se를 독립적으로 섭취하는 것보다는 병용하여 보충하는 것이 지방대사물과 지질과산화에 작용하여 항산화효과에 상승작용을 보였으며 참마는 항산화에 영향을 주는 생리활성성분을 함유하는 식품으로 당뇨식이 처방에 유용하리라 생각된다.

감사의 글

본 연구는 2000년도 덕성여자대학교 교내 자연과학연구소 연구비지원에 의하여 수행된 연구내용이며 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- Halli, W. B. and Gutteridge, J. M. C. : Free radicals, antioxidants, and human disease : Where are we now?. J. Lab. Clin. Med., 119:598, 1992
- Bompart, G. J., Prevot, D. S. and Bascands, J. L. : Rapid automated analysis of glutathione reductase, peroxidase and S-transferase activity : Application to cisplatin-induced toxicity, Clin. Biochem., 23:501, 1990
- Adams, J. D., Lauerburg, B. H. and Mitchell J. R. : Plasma glutathione and glutathione disulfide in the rat : Regulation and reponse to oxidative stress. J. Pharmacol. Exp. Ther., 227:749, 1983
- Patil, G. S. and Comwell, D. G. : Intergradial oxidation of α -tocopherol and the surface properties of its oxidation products. J. Lipid Res., 19:416, 1978
- Matschinsky, F. M. : Glucokinase as glucose sensor and metabolic signal generator in pancreatic β -cells and

- hepatocytes. *Diabetes*, 39:647, 1990
6. Kim, J. W. : Mechanisms of insulin resistance in noninsulin-dependent diabetes mellitus(NIDDM). *J. of Kor. Diabetes Association*, 20:203, 1996
 7. Burk, R. F. : Recent developments in trace element metabolism and function : newer roles of selenium in nutrition. *J. Nutr.*, 119:1051, 1989
 8. Ghosh, R., Mukherjee, B., and Chatterjee, M. : A novel effect of selenium on streptozocin-induced diabetic mice. *Diabetes Res.*, 25(4):165, 1994
 9. McNeill, J. H., Delgatty, H. L. and Battell, M. L. : Insulin like effects of sodium selenate in streptozocin-induced diabetic rats. *Diabetes*, 40(12):1675, 1991
 10. Asayama, K., Kooy, N. W. and Burr, I. M. : Effect of vitamin E deficiency and selenium deficiency on insulin secretory reserve and free radical scavenging systems in islets: Decrease of islet manganosuperoxide dismutase. *J. Lab. Clin. Med.*, 107:459, 1986
 11. Beck, M. A. : The influence of antioxidant nutrients on viral infection. *Nutr. Rev.*, 56:140, 1998
 12. Hathcock, J. N. : Vitamins and minerals : efficacy and safety. *Am. J. Clin. Nutr.*, 66:427, 1997
 13. Douillet, C., Tabib, A., Bost, M., Accominotti, M., Borson-Chagot, F. and Ciavatti, M. : A selenium supplement associated or not with vitamin E delays early renal lesions in experimental diabetes in rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 211:323, 1996
 14. 진재인 : 도설한방의학대사전. 동도문화사, 1984
 15. 오영자, 장진성, 이경아 : 한국산 자생 마속(*Dioscorea*) 식물 식별형질에 대한 다변량 분석. *식물분류학회지*, 26(2):125, 1996.
 16. 강정현, 이창숙, 오영자 : 한국산 마과 마속의 *Enantiophyllum*절과 *Stenophora*절 식물의 계통분류학적 연구. *식물분류학회지*, 22(4):255, 1992.
 17. 오영자, 이창숙, 이희정 : 한국산 마속 마절과 부채마절 식물의 분류학적연구 : 미세구조 및 화학적 접근. *식물분류학회지*, 25(1):25, 1995.
 18. 최일숙, 이임선, 구성자 : 마(*Dioscorea batatas* Decaisne) 전분의 rheology 및 열적특성에 관한 연구. *한국조리과학지*, 8(1):57, 1992
 19. Muzac-tucker, I., Asemota, H. N. and Ahmad, M. H. : Biochemical composition and storage of Jamaican yams(*Dioscorea spp.*). *J. Sci. Food Agric.*, 62:219, 1993
 20. Bonire, J. J., Jail, N. S. N. and Lori, J. A. : Iron, nickel, copper, zinc and cadmium content of two cultivars of white yam(*Dioscorea rotundata*) and their source soils. *J. Sci. Food Agric.*, 57:431, 1991
 21. Bonire, J. J., Jail, N. S. N. and Lori, J. A. : Sodium and potassium content of two cultivars of white yam(*Dioscorea rotundata*) and their source soils. *J. Sci. Food Agric.*, 53:271, 1990
 22. 임록재 : 조선약용식물지-전통의약약용식물편, 한국문화사, 1999
 23. 박성희, 조성지, 이인선, 이정욱, 이인자, 김종원 : 수종의 한국산 야생식물에서의 항암효과 검색. *생약학회지*, 27(4):383, 1996
 24. 송지영, 양현옥, 표석능, 박신영, 김기환, 손은화, 강남성, 윤연숙 : 천연물로부터 항암면역증강물질 탐색연구. *약학회지*, 42(2):132, 1998
 25. 하영득, 이삼빈, 광연길 : 마 점질물의 증금속 제거능과 ACE 저해효과. *한국식품영양과학회지*, 27(4):751, 1998
 26. 이미순, 최향숙 : 참마의 휘발성 풍미성분. *한국식품과학회지*, 26(1):68, 1994
 27. Bailey, C. J. and Day, C. : Traditional plant medicines as treatments for diabetes. *Diabetes Care*, 12:553, 1989
 28. Lee, T. B. : Symposium of medicinal plants. *Kor. J. Pharmacogn.*, 11(1):24, 1980
 29. 오창현, 이인아, 이민석, 신희관, 심준오, 예영민, 최정임, 황명옥, 박미경 : Streptozotocin 유발 고혈당 흰쥐에 미치는 생약 exts의 치료효과. *중앙대약학회보*, 33:77, 1989.
 30. Lim, S. J. and Kim M. W. : Hypoglycemic effects of Korean wild vegetables. *Korean J. Nutr.*, 25:511, 1992
 31. American institute of nutrition report of the American institute of nutrition. Ad Hoc committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.*, 107:1340, 1977
 32. Hassid, W. Z. and Abraham, X. : Chemical procedures for analysis of polysaccharides. In : *Methods in enzymology* 3, Academic Press, 34-50, 1957
 33. Raabo, E. and Terkildsen, T. C. : On the enzymatic determination of blood glucose. *Scand. J. Lab. Invest.*, 12:402, 1960
 34. Richmond, W. and Paul, C. F. : Enzymatic determination of total serum cholesterol. *J. Clin. Chem.*, 20:470, 1974
 35. Finley, P. R., Schifman, R. B., Williams, R. J. and Lucht, D. A. : Cholesterol in high-density lipoprotein-Use of Mg²⁺/dextran sulfate in its measurement. *Clin. Chem.*, 24:931, 1973
 36. Uchiyama, M. and Mihara, M. : Determination of malondialdehyde precursor in tissue by thiobarbituric acid test. *Anal. Biochem.*, 86:271, 1978
 37. Lizuka, Y., Sakurai, E. and Hikichi, N. : Effects of selenium on the serum glucose and insulin levels in diabetic rats. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 100(2):151, 1992
 38. 김명화 : 당뇨 흰쥐에서의 참마 H₂O 분획물과 selenium 보충시 혈당 및 지질대사에 미치는 영향. *한국영양학회지*, 31(9):1377, 1998
 39. Dombrowski, L., Roy, D. and Marette, A. : Selective impairment in GLUT4 translocation to transverse tubules in skeletal muscle of streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes* 47:5, 1998
 40. Lombardo, Y. B., Serdikoff, C., Thamocharan, M., Paul, H. S. and Adibi, S. : Inverse alterations of BCKA dehydrogenase activity in cardiac and skeletal muscles of diabetic rats. *Am. J. Physiol.*, 40:685, 1999
 41. 차재영, 조영수 : 뽕나무와 꾸지 뽕나무의 수피 수용성 추출물이 콜레스테롤 함유식이 투여 흰쥐의 지질농도 및 과산화 지질 농도에 미치는 영향. *한국식품과학회지*, 33(1):128, 2001
 42. Chan, K. M., Chao, J., Proctor, G. B., Garrett, J. R., Shori, D. K. and Anderson, L. C. : Tissue kallikrein and tonin levels in submandibular glands of STZ-induced diabetic rats and the effects of insulin. *Diabetes*, 42:113, 1993
 43. Roman-Ropez, C. R. and Allred, J. B. : Acute alloxan diabetes alters the activity but not the total quality of

- acetyl Co A carboxylase in rat liver. *J. Nutr.*, 6:117, 1976
44. Tatsuki, R., Satoh, K., Yamamoto, A., Hoshi, K. and Lchiyara, K. : Lipid peroxidation in pancreas and other organs in streptozotocin diabetic rats. *Jpn. J. Pharmacol.*, 75(3):267, 1997
 45. Papaccio, G., Baccari, G. C., Frascatore, S., Sellitti, S. and Pisanti, F. A. : The vitamin E derivative U-83836-E in the low dose STZ treatment mouse-Effects on diabetes development. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 30(3):163, 1995
 46. Mukherjee, B., Anbazhagan, S., Roy, A., Ghosh, R. and Chatterjee, M. : Novel implications of the potential role of selenium on antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic mice. *Biomed. Pharmacother.*, 52(2):89, 1998
 47. Naziroglu, M., Dilsiz, N. and Cay, M. : Protective role of intraperitoneally administered vitamin C and E and selenium on levels of lipid peroxidation in the lens of rats made diabetic with streptozotocin. *Biol. Trace Elem. Res.*, 70(3):223, 1999
 48. Naidoo, D. and Lux, O. : The effect of vitamin C and E supplementation on lipid and urate oxidation products in plasma. *Nutr. Res.*, 18(6):953, 1998
 49. Temple, N. J. : Antioxidants and disease : More questions than answers. *Nutr. Res.*, 20(3):449, 2000
 50. 문숙임, 류홍수, 최재수 : 산초 및 그 활성성분이 사염화탄소를 투여한 mouse에 있어서 지질과산화 및 간손상억제에 미치는 영향. *한국식품영양과학회지*, 26(5):943, 1997
 51. Augusti, K. T. and Sheela, C. G. : Antiperoxide effect of S-allyl cysteine sulfoxide, an insulin secretagogue, in diabetic rats. *Experientia*, 52:115, 1996

(2001년 5월 24일 접수)