

비타민 E 보강식이가 당뇨 KK 마우스의 췌장에서 지질과산화물과 항산화 효소 활성에 미치는 영향

장연수 · 안현숙 · 김해리

서울대학교 생활과학대학 식품영양학과

Effects of Vitamin E Supplementation on the Lipid Peroxides and Activities of Antioxidative Enzymes in the Pancreas of Diabetic KK Mice

Chang, Youn-Soo · Ahn, Hyun-Sook · Kim, Harriet

Department of Food and Nutrition, Seoul National University, Seoul, Korea

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the effect of vitamin E supplementation on the lipid peroxidation and activities of antioxidative enzymes in the pancreas of diabetic KK mice. KK mice were fed high fat diet containing 20% corn oil(wt/wt), and sacrificed at 2 months of diabetes. A high vitamin E diet consisted of the high fat diet supplemented with an excessive amount of dl- α -tocopheryl acetate(2080IU/kg diet). The incidence of diabetes mellitus was 61% when mice were fed the high fat diet, but was 44% when mice were fed the high vitamin E diet. Vitamin E supplementation thus seems to have the effect of decreasing the onset of diabetes. In the diabetic group, we found increases of MDA(malondialdehyde) and antioxidative enzyme activities. Treatment with vitamin E did not modify the level of fasting blood glucose. However, MDA and antioxidative enzyme activities in diabetic mice were decreased by the high vitamin E diet. Increased levels of lipid peroxidation products suggests the occurrence of oxidative damage in the pancreas of diabetic mice. The increased level of antioxidative enzyme activities could be due to an adaptive response to conditions of increased peroxidative stress. Significant normalization in catalase activity was noted in vitamin E supplemented animals. (Korean J Nutrition 31(2) : 153-158, 1998)

KEY WORDS : vitamin E supplementation · diabetes mellitus · lipid peroxidation · antioxidative enzymes · KK mice.

서 론

유리라디칼에 의한 지질 과산화는 여러 질환에 관련이 깊다고 보여지는데 각 기관의 산화적 스트레스 정도와 이에 대응하는 항산화 능력 간의 불균형에 의해서 영향을 받는다. 유리라디칼의 손상으로부터 신체를 보호해 주는 항산화제에는 superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT) 및 glutathione peroxidase(GPX), glu-

채택일 : 1998년 1월 12일

tathione reductase(GR)와 같은 효소와 비타민 E, C 및 베타 카로틴 같은 미네랄, glutathione, selenium 등이 있다¹⁾²⁾

잘 조절되지 못한 당뇨에서 산화적 스트레스가 증가된다고 보고되는데 SOD와 catalase 활성 변화, glutathione 대사와 비타민 E 수준의 변화, 지질과산화물의 증가가 관찰되었다. Alloxan이나 STZ으로 유도한 당뇨시에 catalase 활성을 간, 신장, 적혈구에서 증가되고 췌장에서 감소되었다고 보고되었다³⁾. GPX의 활성은 제 2형 당뇨 환자의 적혈구에서 감소한다고 보고

되었으며⁴⁾, 적혈구 SOD가 감소되어 있고 혈청 지질과 산화가 증가되어 있으며 혈청과 적혈구의 GSSG-GSH 비가 증가되어 있다고 보고되었다⁵⁾⁶⁾.

Asayama 등은 간, 심장, 근육 조직보다 췌장에서의 항산화효소들의 활성도가 유의적으로 낮다고 보고 하였고⁷⁾, 또 BB 쥐에서 연구된 11개의 조직중 췌장이 가장 비타민 E 농도가 낮다고 보고 되었다⁸⁾. 이 연구들은 췌장이 유리 라디칼에 대한 방어 능력이 부족한 편이고 이로 인해, 산화적 스트레스를 받기 쉽다는 것을 제시해준다.

따라서 제 2형 당뇨 모델인 KK마우스에서 항산화제인 비타민 E의 보강이 산화적 스트레스를 받기 쉽다고 알려진 췌장조직에서 지질과산화물과 항산화효소계의 변화를 유도할 수 있는가를 알아보고자 본 실험을 계획하였다.

NIDDM 환자에게 비타민 E를 장기간 투여하였을 경우, 인슐린의 기능이 향상되고⁹⁾, 유의적으로 혈당, 중성 지방, 유리 지방산, 총 cholesterol 등이 감소되었으며¹⁰⁾, 혈소판의 응집도 감소되었다¹¹⁾는 보고도 있는바 당뇨병성 만성합병증을 예방하는 데 있어서 다른 항산화제보다 비타민 E의 이용이 더 유용할 것으로 사료된다. KK 마우스는 일본에서 처음 개발된 Japanese KK 마우스와 이를 C57BL/6 종과 교잡시킨 Toronto-KK(T-KK) 잡종 마우스, 이외의 몇 가지 종으로 나누어진다. T-KK 마우스의 경우 체중이 증가되면 고혈당이 나타나나, Japanese KK 마우스의 경우 당뇨병을 발현시키기 위하여서는 고칼로리 식이의 투여가 필요하다. KK 마우스의 고혈당 증세는 그다지 극심하지는 않으며, 생후 약 4개월에서 1년 사이에만 나타나는 것으로 보고되어 있다¹²⁾.

본 실험은 KK 마우스에 고지방 식이를 섭취시켜 당뇨를 유발하고, 당뇨 유발후 2개월에 췌장의 항산화계 효소의 활성도 및 MDA의 변화를 확인하고, 당뇨병에 의한 변화가 4개월간 고비타민 E 식이섭취로 억제되는지 관찰하고자 계획되었다.

실험재료 및 방법

1. 실험 동물의 사육

생후 4주째인 KK 마우스 140마리를 서울대학교 실험 동물 사육장으로부터 공급받아 1개월간 일반 고형사료(삼양사)를 먹이면서 사육하였다. 그 후 각각 70마리씩 고지방, 저비타민 E 식이군(이하 고지방 식이군)과 고지방, 고비타민 E 식이군(이하 고비타민 E 식이군)으로 나누어 8주간 사육하고 혈당을 측정하여 정상군과 당뇨군으로 나누고 계속 사육하면서 6개월(당뇨 2개

Table 1. Composition of experimental diet

Ingredient	(g/kg diet)
Corn starch	544
Casein	150
Corn oil	200
α -Cellulose	50
Mineral mixture ¹⁾	40
Vitamin mixture ²⁾	10
DL-Methionine	5
Choline chloride	1

1) Composition of mineral mixture/kg mixture)

CaHPO₄ 500g, NaCl 74g, K₂SO₄ 52g, potassium citrate monohydrate 220g, manganous carbonate 3.5g, ferric citrate 6.0g, zinc carbonate 1.6g, cupric carbonate 0.3g, KIO₃ 0.01g, KCr(SO₄)₂ · 2H₂O 0.55g, Na₂SeO₃ · 5H₂O 0.01g, sucrose, finely powdered 118.9g

2) Vitamin E free mixture, ICN Biochemicals(Cleveland, Ohio)/kg mixture)

Vitamin A acetate(500,000IU/g) 1.8g, vitamin D₂(850,000IU/g) 0.125g, ascorbic acid 45g, inositol 5g, choline chloride 75g, menadione 2.25g, p-aminobenzoic acid 5.00g, niacin 4.25g, riboflavine 1.00g, pyridoxine hydrochloride 1.0g, thiamine 1.00g, calcium pantothenate 3.00g, biotin 0.02g, folic acid 0.09g, vitamin B₁₂ 0.00135g, sucrose, finely powdered to 1kg

월)에 희생시켰다.

고지방 식이(fat 20% wt/wt, 39% cal/cal)의 조성은 Table 1과 같다. 이 고지방 식이의 비타민 E 수준은 51IU/kg diet이다. 이는 옥수수 기름에 들어 있는 α -tocopheryl acetate 양으로부터 기인된 것이며, 비타민 E free 비타민 혼합물은 ICN(ICN Biochemicals, USA)으로부터 구입하여 사용하였다. 또 고비타민 E 식이에는 dl- α -tocopheryl acetate(Sigma Chemical, USA)를 첨가하여 비타민 E의 수준은 2080IU/kg diet로 하였다.

실험 기간 동안 사육 환경은 온도 20~25℃를 유지하였으며 습도는 60%로, 명암주기는 12시간 간격으로 유지하였다.

2. 당뇨 판정

고지방 식이로 사육한지 1개월후부터 혈당을 측정하기 시작하였다. 월 2회 아침 9:00~10:00 사이에 꼬리 정맥에서 혈당을 측정하여 200mg/dl 이상이면 당뇨병으로 판정하였다¹³⁾. 혈당은 혈당 감지기(Blood glucose sensor, Medisense, Inc., Waltham, MA, U.S.A.)로 측정하였는데, 식이를 섭취시킨지 2개월이 경과된 생후4개월에 정상군과 당뇨군으로 나누어서 각각 6개월까지 사육하였다. 4개월에는 정상이었다가 실험 기간 도중 당뇨가 발생된 것은 정상군에서 제외시켰고,

4개월에 당뇨가 발생된 것만 당뇨군으로 분류 후 실험에 이용하였으므로 당뇨군 6개월은 당뇨 발생 후 2개월이 된다.

3. 분석 시료의 전처리

실험동물은 희생시키기 전 18시간동안 금식을 시켰다. 실험동물은 decapitation 방법으로 희생하였고, 체장 조직을 적출하여 차가운 생리 식염수에 세척한 후, 흡수지로 물기를 제거하고 액체질소로 급속냉동시킨 후 냉동 보관했다가 분석에 사용하였다.

4. MDA 함량 측정

Wills¹⁴의 thiobarbituric acid(TBA)방법을 변형하여 췌장의 균질액에서 TEARS(Thiobarbituric acid reacting substances)의 양을 측정하였다. 단백질 농도가 2mg/ml정도가 되도록 시료를 10mM potassium phosphate buffer(pH 7.4)로 희석한 후 screw-capped tube에 2ml를 넣고 37°C 항온 수조에서 60분간 진탕 가온하였다. 여기에 10%(W/V) trichloroacetic acid(TCA) 2ml과 0.67% thiobarbituric acid 2ml을 가한 뒤 30초 동안 격렬하게 혼합하여 끓는 물에 마개를 닫고 15분간 증탕하였다. 증탕 후 냉수에 급히 냉각시키고 1,000×g에서 10분간 원심 분리하여 그 상층액으로 535nm에서 흡광도를 측정하였다(UV spectrophotometer, Hitachi, Japan). 이 때, 표준용액으로 tetraethoxypropane(TEP)를 methanol에 녹여서 사용하였다.

5. Glutathione peroxidase(GPX), Glutathione reductase(GR), Catalase(CAT)의 활성도 측정

췌장을 잘게 다진 후 homogenizing media(154mM KCl, 50mM Tris-HCl, 1mM EDTA buffer, pH 7.4)를 넣고 4°C에서 균질화한 다음, 4°C, 1,000×g에서 10분간 원심분리하였다. 상층액을 모아 4°C, 10,000×g에서 20분간 원심분리하여, pellet(mitochondrial fraction)은 10mM potassium phosphate buffer(pH 7.4)로 재부유시켜 액체질소로 급속냉동 후 냉동보관하였다. 상층액은 모아서 4°C, 100,000×g에서 60분간 다시 원심분리하여 cytosol층(상층액)과 microsome층(pellet)으로 분리하였고 cytosol층을 액체질소로 급속냉동한 다음 냉동보관하였다.

Cytosol의 GPX의 활성도는 Tappel¹⁵의 방법을 이용하여 측정하였다. 기질로 cumene-hydroperoxide 첨가 시 glutathione peroxidase 작용에 의해 생성된 산화형 glutathione이 과량의 glutathione reductase와 일정량의 NADPH의 존재하에 다시 환원되는 속도를 측정하였다. Cytosol의 GR 활성도는 Carlberg와 Manne-

rvick¹⁶의 방법으로, mitochondrial fraction의 catalase활성은 Aebi¹⁷의 방법으로 측정하였다. 시료의 단백질 정량은 Smith 등¹⁸의 방법에 준하여 하고, 표준품으로는 bovine serum albumin을 사용하였다.

6. 통계처리

실험 결과는 각 실험군마다 평균과 표준편차를 계산하였고, p<0.05 수준에서 ANOVA test 후 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군간의 유의차를 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 비타민 E 보강에 의한 당뇨발병율의 변화

생후 2개월된 마우스에게 고지방 식이를 8주간 주었을 때 당뇨의 발병율은 61%로 나타났다. 이 때의 비당뇨쥐들에게 8주간 더 고지방 식이를 주었을 때 당뇨의 발병율은 30%로서 8주간 발병율의 49% 수준으로 감소됨을 보였다. 이는 KK 마우스에서 생후 4개월에 식이 섭취가 유의적으로 증가하며 당내용성이 감소된다는 보고¹⁹와 일치하는 것으로 보인다. 또 생후 2개월된 KK 마우스에게 고비타민 E 식이를 8주간 준 결과 당뇨발병율이 44%여서 비타민 E 보강이 당뇨의 발병을 고지방 식이에 비해 72% 수준으로 낮춘 것으로 보인다. 이 때 비당뇨쥐에게 비타민 E 보강식이를 8주간 더 공급했을 때 45%의 쥐에게 당뇨가 발병되었다. 비타민 E 보강식이와 고지방 식이간에 이러한 발병율의 차이를 보이는 것은 당뇨 발병전 비타민 E의 보강이 당뇨의 발병을 낮출 수 있음을 시사한다고 하겠다.

고비타민 E 식이군에서 당뇨발병율이 감소한 사실에 대해서는 명확한 이유를 알 수 없다. 제 2형 당뇨병의 발생기전에 대해서는 췌장에서 인슐린의 분비 장애가 일차적 원인이 될 것이라고 생각하는 사람과 말초조직 또는 간에 대한 인슐린 작용의 저하를 주장하는 사람들 사이에 논란이 많다. Paolisso 등²⁰에 의하면 NIDDM환자에게 매일 900mg의 비타민 E를 4개월간 투여하였을 때 당뇨에 의해서 증가되었던 plasma oxygen production, 공복시 혈당, HbA_{1c}, GSSG/GSH ratio, membrane microviscosity 등이 감소되었다고 하였다. 따라서, 비타민 E 투여로 인해서 plasma GSH가 증가되므로 plasma membrane의 physical state를 향상시켜 주어서 glucose transport를 촉진시킴에 의해 인슐린의 작용을 돕는다고 하였다. 또 비타민 E결핍은 쥐에서 STZ에 의한 당뇨 속도를 증가 시켰으며, 반면에 비타민 E 보충은 그 반대 효과를 나타냈다는 보고가 있다.

²⁰⁾ 또한 비타민 E가 결핍된 쥐는 적은 용량의 STZ으로도 당뇨를 유도할 수 있었고 이 쥐들은 당인내성이 손상되었음이 보고되었다고 한다⁷⁾. 고비타민 E 식이가 당뇨 발병을 감소시킨 기작에 관한 좀 더 체계적인 연구가 필요하다고 생각된다.

2. 체중과 공복시 혈당의 변화

고지방 식이 섭취 시 당뇨군은 비당뇨군보다 유의적으로 체중이 증가 되었다(28.3±2.5 vs 23.1±3.2, p <0.05) 고비타민 E식이에의해서 체중에 유의적인 차이는 발견되지 않았다. 그리고, 고지방식이 섭취시 공복시 평균 혈당은 비당뇨군은 86.2mg/100ml 이었고, 당뇨군은 156.25mg/100ml 이었다. 고비타민 E식이에 의해 공복시 혈당에 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

3. 지질 과산화물의 변화

Table 2는 체장 균질액에서 비타민 E 보강에 따른 당뇨군과 비당뇨군의 지질과산화 정도를 측정 한 결과이다. 고지방식이 섭취시 당뇨군이 비당뇨군에 비해 MDA 함량이 3배로 증가되었으며 고비타민 E 식이를 섭취한 경우 당뇨군에서의 MDA 값이 정상군과 같은 수준으로 낮아졌다. 따라서 2080 IU/kg diet의 비타민 E 수준으로 16주간 보강해 주었을 때 당뇨로 인한 MDA의 증가를 감소시킨 것을 관찰 하였다. 이는 alloxan으로 당뇨를 유도한 쥐의 체장에서 MDA 함량이 증가함을 보인 보고²¹⁾와, 비타민 E 보강에 의해 TBARS 함량이 낮아진다는 보고²²⁾와 일치하였다.

고지방 식이의 비타민 E는 51 I.U. vitamin E/kg diet인데 이 식이로 당뇨가 유발되면 체장에서 3배의 지질 과산화물이 축적되는 것으로 나타났다. 따라서 계속 당뇨가 진행되면 지질 과산화물의 축적이 당뇨 합병증 발생을 증가 시킬 것으로 사료된다. 당뇨군에서 지질과산화값이 현저하게 증가되는 것은 생체막 지질에서 PLA₂의 활성증가로 arachidonic acid 함량이 증가

Table 2. Effects of vitamin E supplementation on pancreatic MDA in normal and diabetic KK mice

MDA(nmole/mg protein)		
Low VE	Normal	0.60±0.07 ^b
	Diabetic	1.82±0.12 ^a
High VE	Normal	0.69±0.09 ^b
	Diabetic	0.97±0.11 ^b

Low VE : High fat, low VE diet(corn oil 20%, 51IU VE/kg diet)
 High VE : High fat, high VE diet(corn oil 20%, 2080IU VE/kgdiet)
 Means with the same alphabets are not significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test
 Values are mean±SD, n=5-9

되고 따라서 lipooxygenase와 cyclooxygenase system이 항진되어 자유 라디칼 생성이 증가된 것²³⁾에 기인한다고 사료된다. 고비타민 E 식이 섭취에 의해 지질 과산화값이 현저하게 감소된 것은 비타민 E가 arachidonate 대사가 항진되는 것을 제어하여 lipooxygenase와 cyclooxygenase의 활성을 감소시켜 자유 라디칼의 생성을 억제시킴과 동시에 chain-breaking antioxidant역할을 한 것에 기인된 것이라고²⁴⁾ 보인다.

4. 항산화 효소 활성도의 변화

체장의 cytosol에서 총 GPX 활성도를 측정 한 결과를 Table 3에 나타내었다. 고지방 식이 섭취 시 체장에서 당뇨군의 GPX 활성은 비당뇨군에 비해 유의적으로 증가되어 비당뇨군의 1.2배의 활성도를 나타내었다 16주간 비타민 E의 보강에 의해서는 당뇨군에서 유의적으로 감소되었고 이는 비타민 E 보강시 GPX 활성이 감소했다는 Chow 등²⁵⁾의 보고와 일치했다. 비타민 E가 조직의 과산화적 손상을 막아 주므로, 높은 수준의 비타민 E 보강 식이는 조직내 지질 과산화물의 농도를 낮추어서 산화적 스트레스를 감소시키고, 지질 과산화물의 분해자인 GPX에 대한 요구가 감소되어 활성이

Table 3. Effects of vitamin E supplementation on pancreatic GPX activities in normal and diabetic KK mice

GPX(nmole NADPH/min/mg protein)		
Low VE	Normal	79.33±8.17 ^b
	Diabetic	95.14±14.32 ^a
High VE	Normal	67.70±6.65 ^b
	Diabetic	68.69±12.76 ^b

Low VE : High fat, low VE diet(corn oil 20%, 51IU VE/kg diet)
 High VE : High fat, high VE diet(corn oil 20%, 2080IU VE/kg diet)
 Means with the same alphabets are not significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test
 Values are mean±SD, n=5-9

Table 4. Effects of vitamin E supplementation on pancreatic GR activities in normal and diabetic KK mice

GR(nmole NADPH/min/mg protein)		
Low VE	Normal	34.22±3.12 ^b
	Diabetic	61.28±7.59 ^a
High VE	Normal	37.39±6.28 ^b
	Diabetic	46.28±6.72 ^{ab}

Low VE : High fat, low VE diet(corn oil 20%, 51IU VE/kg diet)
 High VE : High fat, high VE diet(corn oil 20%, 2080IU VE/kgdiet)
 Means with the same alphabets are not significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test
 Values are mean±SD, n=5-9

Table 5. Effects of vitamin E supplementation on pancreatic CAT activities in normal and diabetic KK mice

CAT(nmole NADPH/min/mg protein)		
Low VE	Normal	14.65 ± 2.45 ^e
	Diabetic	79.11 ± 10.76 ^a
High VE	Normal	22.31 ± 3.49 ^f
	Diabetic	47.97 ± 6.11 ^b

Low VE : High fat, low VE diet(corn oil 20%, 51IU VE/kg diet)

High VE : High fat, high VE diet(corn oil 20%, 2080IU VE/kg diet)

Means with the same alphabets are not significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test

Values are mean ± SD, n=5-9

감소된 것으로 사료된다.

GR은 직접 과산화물 제거에 참여하지는 않으나 H₂O₂나 유기 과산화물의 환원시 사용되는 GSH를 재생산하는 역할을 한다. 췌장의 cytosol에서 GR의 활성도를 측정된 결과를 Table 4에 나타내었다. 고지방 식이 섭취시 당뇨병군의 GR 활성도는 비당뇨군의 1.7배로 증가되었다. 그러나 고 비타민 E 식이를 섭취한 당뇨병군에서는 유의적으로 GR의 활성도가 감소되었다.

췌장의 mitochondrial fraction에서 CAT의 활성도를 측정된 결과를 Table 5에 나타내었다. 고지방 식이 섭취시 당뇨병군의 CAT 활성도는 비당뇨군에 비해 5.4배 증가되었다. 고비타민 E 식이 섭취시 당뇨병군의 CAT 활성도가 감소되어서 고지방 식이를 섭취한 당뇨병군의 60% 수준까지 감소되었다. 이는 alloxan과 STZ으로 당뇨를 유도한 쥐의 췌장에서 CAT의 활성도가 증가 되었다는 보고²⁶⁾²⁷⁾와 같은 결과이다.

간조직³⁾²⁶⁾에서와 달리 췌장에서는 당뇨병인해 항산화 효소들의 활성도가 증가되었는데 이는, 비교적 항산화 효소 활성이 낮은 췌장에서 산화적 스트레스를 감소시키기 위한 적응 기작으로 사료된다. 또한 췌장의 항산화 효소중 CAT의 활성도 증가가 가장 크게 관찰되었으며 고비타민 E 식이는 당뇨에 의해 증가된 지질 과산화물을 감소시켰고, 항산화효소들의 활성도를 정상화 시켰다. 따라서, 비타민 E는 당뇨병으로 인한 조직의 과산화적 손상을 완화 시키는데 기여함을 알 수 있었다.

요약 및 결론

본 연구는 2080IU/kg diet 의 비타민 E를 보강해 주었을 때 마우스의 췌장 조직에서 지질 과산화물인 MDA의 함량과 항산화 효소중 GPX, GR, CAT의 활성도에 미치는 효과를 알아보려고 하였으며 KK마우스를

1개월간 pellet diet로 적응시킨후 고지방 식이(corn oil 20%, wt/wt)를 먹여 당뇨를 유도하였다. 비타민 E보강은 2080IU/kg diet 수준으로 하였으며, 생후 6개월(당뇨 2개월)에 희생시켰다. 당뇨 발병율이 가장 높은 생후 4개월의 당뇨 발병율을 비교해보면, 고비타민 E 식이를 8주간 주었을 때는 당뇨의 발병율이 고지방 식이섭취군의 72% 수준으로 감소되었다.

고지방 식이 섭취시 당뇨병에서 MDA는 정상군에 비해 3배가 증가되었고, 비타민 E를 보강시킨 경우 당뇨병군에서 MDA가 감소되어 고지방 식이를 섭취한 정상군의 MDA와 같은 수준이 되었다. GPX의 활성도는 고지방 식이 섭취시 당뇨병군에서 정상군에 비해 1.2배가 증가되었고, 비타민 E를 보강시킨 경우 당뇨병군에서 활성도가 감소되어 고지방 식이를 섭취한 정상군의 활성도와 같은 수준이 되었다. GR의 활성도는 고지방 식이 섭취시 당뇨병군에서 정상군에 비해 1.7배가 증가되었고, 비타민 E를 보강시킨 경우 당뇨병군에서 활성도가 감소되어 고지방 식이를 섭취한 정상군의 활성도의 1.2 배가 되었다. CAT의 활성도는 고지방 식이 섭취시 당뇨병군에서 정상군에 비해 5.4배가 증가되었고, 비타민 E를 보강시킨 경우 당뇨병군에서 활성도가 감소되어 고지방 식이를 섭취한 정상군의 활성도의 3.2배 수준이 되었다.

이상의 결과 당뇨 KK마우스의 췌장에서 MDA 및 항산화효소 활성도의 증가를 관찰하였고, 고비타민 E식이 이 변화를 억제하여 주었음을 확인하였다.

Literature cited

- 1) Wefers H, Sies H. The protection by ascorbate and glutathione against microsomal lipid peroxidation is dependent on vitamin E. *Eur J Biochem* 174 : 353-357, 1988
- 2) Halevy O, Sklan D. Inhibition of arachidonic acid oxidation by beta-carotene retinol and alpha tocopherol. *Biochem Biophys Acta* 918 : 304-307, 1987
- 3) Matkovic B, Barage SI, Szabo L, Witas H. The effect of diabetes on the activities of the peroxide metabolizing enzymes. *Horm Met Res* 14 : 77-79, 1982
- 4) Uzel N, Sivas A, Uysal M, Oz H. Erythrocyte lipid peroxidation and glutathione peroxidase activities in patients with diabetes mellitus. *Horm Metabol Res* 19 : 89, 1987
- 5) Collier A, Rumley A, Paterson JR, Leach JP, Lowe GD, Small ML. Free radical activity and hemostatic factors in NIDDM patients. *Diabetes* 41(8) : 909-913, 1992
- 6) Costagliola C. Oxidative state of glutathione in red blood cells and plasma of diabetic patients in vivo and in vitro study. *Clin Physiol Biochem* 8 : 204-210, 1990
- 7) Asayama K, Kooy NW, Burr IM. Effect of vitamin E de-

- iciency and selenium deficiency on insulin secretory reserve and free radical scavenging systems in islets : Decrease of islet manganosuperoxide dismutase. *J Lab Clin Med* 207 : 459-464, 1986
- 8) Behrens WA, Madere R. Vitamin C and vitamin E status in the spontaneously diabetic BB rat before the onset of diabetes. *Metabolism* 40(1) : 72-76, 1991
 - 9) Paolisso G, D'Amore A. Pharmacological doses of vitamin E improve insulin action in healthy subjects and non-insulin-dependent diabetic patients. *Am J Clin Nutr* 57 : 650-656, 1993
 - 10) Prichard KA, Patel ST, Karper CW, Newman HAI, Panganamala RV. Triglyceride lowering effects of dietary vitamin E in streptozotocin-induced diabetic rats. Increased lipoprotein lipase activity in livers of diabetic rats fed high dietary vitamin E. *Diabetes* 35 : 278-281, 1986
 - 11) Wu HP, Tai TY, Chuang LM, Lin BJ, Wang JD, Teng CM. Effect of tocopherol on platelet aggregation in non-insulin -dependent diabetes mellitus in vivo and in vitro studies. *J Formos Med Assoc* 91(3) : 270-275, 1992
 - 12) Dulin WE, Wyse BM. Diabetes in the KK mouse. *Diabetologia* 6 : 317-323, 1970
 - 13) Kui Nyung Yi, Chong Soon Rhee. Clinical Pathology File pp.90-91, Euihak Munha Sa Seoul. 1990
 - 14) Wills ED. Mechanisms of lipid peroxide formation in animal tissues. *Biochem J* 99 : 667-676, 1966
 - 15) Tappel AL. Glutathione peroxidase and hyperoxides. *Methods Enzy* 52 : 506-513, 1978
 - 16) Carlberg I, Mannervick B. Glutathione reductase. *Methods Enzy* 113 : 484-499, 1985
 - 17) Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzy* 10 : 121-126, 1988
 - 18) Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, Mallia AK, Gartner FH, Drovenzano MD, Fujimoto EK, Goeke NM, Olson BJ, Klenk DC. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal Biochem* 150 : 76-85, 1985
 - 19) Dillard CJ, Kunert KJ, Tappel AL. Effects of vitamin E, ascorbic acid and mannitol on alloxan-induced lipid peroxidation in rats. *Arch Biochem Biophys* 216(1) : 204-212, 1982
 - 20) Slonim AE, Surber ML, Page DL, Sharp RA, Burr IM. Modification of chemically induced diabetes in rats by vitamin E. *J Clin Invest* 71 : 1282-1288, 1983
 - 21) Iritany N, Kitamura Y. Effects of corn oil feeding on lipid peroxidation in rats. *J Nutr* 110 : 924-930, 1980
 - 22) Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 71(4) : 952-958, 1976
 - 23) Panganamala RV, Cornwell DG. The effect of vitamin E on arachidonic acid metabolism. *Ann N Y Acad Sci* 393 : 376-393, 1982
 - 24) Higuchi Y. Lipid peroxides and α -tocopherol in rat with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Acta Med Okayama* 36(3) : 165-175, 1982
 - 25) Chow CK, Reddy K, Tappel AL. Effect of dietary vitamin E on the activities of the glutathione peroxidase system in rat tissues. *J Nutr* 103 : 618-624, 1973
 - 26) Wohaieb SA, Godin DV. Alterations in free radical tissue-defense mechanisms in streptozotocin-induced diabetics in rat. *Diabetes* 36 : 1014-1018, 1987
 - 27) Thomson KH, Lee M. Effects of manganese and vitamin E deficiencies on antioxidant enzymes in streptozotocin-diabetic rats. *J Nutr Biochem* 4 : 476-481, 1993