

당뇨병성 합병증에 대한 항산화제 효과

김진영 · 이병한 · 정병현¹

건국대학교 수의과대학 내과학교실

Effects of the Antioxidants on the Diabetic Complications

Jin-young Kim, Byeong-han Lee and Byung-hyun Chung¹

College of Veterinary Medicine, Konkuk University, Seoul, 142-701, Korea

Abstract : These studies were performed to investigate the effect of antioxidants, melatonin (MLT) and ascorbic acid (AA), on the diabetic complications. In the experiment, twenty-four Sprague Dawley rats were divided into four groups; Group 1: no treatment (control) (n = 6), Group 2: Streptozotocin (STZ; 65 mg/kg b.w. ip) treatment (n = 6), Group 3: MLT (10 mg/kg b.w. ip) treatment (n = 6), Group 4: ascorbic acid (AA: 40 mg/kg b.w. ip) treatment (n = 6). Rats were sacrificed and collected designated samples (blood, kidney, pancreas) at the 21 days after antioxidant treatment (the 8th week after STZ injection). There was no significant change of body weight during the experiment period in the all groups. The concentration of blood glucose was decreased below 200 mg/dl in MLT. The concentration of HbA_{1c} level was decreased significantly in MLT (7.3 ± 0.66%) compared with STZ (15.1 ± 1.58%) (p<0.01). No significant change of SOD activity in the RBC and kidney was found in the all groups. In the pancreas, MLT (1.42 ± 0.17 U/ml) and AA (1.65 ± 0.16 U/ml) decreased SOD activity compared with STZ (4.10 ± 0.27 U/ml). However, there was no significant difference among MLT and AA. The level of malondialdehyde (MDA) as an indicator of lipid peroxydation was decreased in MLT compared with STZ in the plasma, kidney and pancreas (p<0.01). These findings suggest that melatonin could prevent the complications of diabetes mellitus.

Key words : streptozotocin, melatonin, ascorbic acid, superoxide dismutase (SOD), lipid peroxidation (MDA)

서 론

원자구조상 하나 혹은 그 이상의 '짝없는' 전자를 가지고 있는 원자 혹은 분자를 자유기(free radical) 또는 활성산소(superoxide, O₂⁻)라 일컫는데, Fridrich³는 이러한 생체 효소계의 활성산소발생을 확인한 후 이것이 살균에 관여한다는 점에 처음 주목하였다^{11,26}. 그 후 McCord¹²가 활성산소를 특이적으로 제거하는 효소로 superoxide dismutase(SOD)를 동정하였고, 그 후 활성산소로부터 생성되는 hydroxyl radical과 H₂O₂를 H₂O와 O₂로 분해하는 catalase(CAT)와 glutathione peroxidase(GPX)등의 효소가 발견되었다³⁰. 자유기들은 체내에서 정상적인 대사의 생산물로서 만들어지며 방사선이나 몇몇 공해물질의 노출에 의해 생성되며 이러한 자유기들은 높은 반응력 때문에 세포조직의 구성물에 손상을 주고 여러 질병에서 합병증을 유발하기도 하는 사실도 밝혀졌다⁶.

당뇨병의 발생 원인과 합병증의 발생에 활성 산소 및 여러 가지 자유기들이 관여되어 있음을 증명하는 연구결과가 보고되었다^{1,10,28}. 특히 고혈당에 의한 당대사 이상이 나타나는 당뇨병에서 췌장 β-cell의 손상과 합병증에 의한 조직 손상의 양쪽 모두에 자유기들이 관여한다고 朝山光²⁹은 발표하였다. 또한 근래에는 이러한 연구 결과를 바탕으로 효소계 (SOD, CAT, GPX) 및 비효소계(albumin, transferrin, tocopherol,

ascorbic acid, 단백SH기, 요산, 베타 카로틴)의 여러 가지 항산화제들이 당뇨병에 의한 합병증의 치료 혹은 개선에 응용되고 있다^{2,9,27}.

이와 관련해서 당뇨병은 혈관, 망막, 신장에 합병증을 유발하며 항산화 방어체제중 특히 ascorbic acid 대사가 결핍되어 있다는 사실도 입증되었다¹³. 그러나 이러한 연구 결과들이 연구자에 따라 조금씩 상반되는 경우도 많아 확실히 정립된 내용이 적은 실정이다. Reiter 등^{22,23,24}은 melatonin이 hydroxyl structure를 가지고 있는 자유기를 잡아먹는(trap) 작용이 있다고 보고하였고, Pierrefiche 등²⁰은 melatonin이 생쥐에서 당뇨병유발 인자인 alloxan에 의한 당뇨병유발 효과를 방지하였다고 보고하였다.

이에 본 연구는 당뇨병을 실험적으로 유발시켜 당뇨병 상태를 일정기간 유지시킨 쥐에 항산화제로 잘 알려져 있는 melatonin과 ascorbic acid를 각각 단용투여하여 당뇨병성 합병증에 대한 예방 및 치료제로서의 효능을 비교하였다.

재료 및 방법

공시동물

본 연구에 공시된 동물은 임상적으로 건강하다고 인정되는 평균체중 235.4 ± 4.3 g의 8주령 수컷 Sprague Dawley종 rat 24두이며 플라스틱 케이지(27×33×23 cm)에 3~4두씩 넣어 1주 동안 적응 사육한 후 실험에 사용하였다.

사육환경은 실내온도가 20 ± 0.5°C가 유지되도록 하였고

¹Corresponding author.

E-mail : chungbh@kkucc.konkuk.ac.kr

병·암 주기는 12시간씩 되도록 조절하였다. 사료와 음수는 쥐용 전용사료(삼양사료)와 수도물을 급여하였고 당뇨병 유발제인 streptozotocin(STZ) 투약 전날과 실험종료 전날을 제외하고는 자유롭게 섭취하도록 하였다.

실험동물은 정상대조군(n=6)과 실험군(n=18)으로 분류한 다음 실험군에 대해 당뇨병을 유발시킨 후 4주 동안 사육한 후, 5주째부터 실험군에 대하여 무처리 당뇨병 대조군(무처리당뇨군)과 melatonin(MLT) 투여군, 그리고 ascorbic acid (AA) 투여군으로 분류하였으며 각 군에 6두씩을 배치하였다.

시 약

쥐에 당뇨를 유발하기 위하여 streptozotocin mixed anomers(Sigma, USA)를 0.1 M citric acid anhydrous (pH 4.5)(Sigma, USA)에 용해시킨 후 즉시 사용하였다. Melatonin(Sigma, USA)은 ethanol (99.9%)에 용해시킨 후 normal saline으로 희석하여 최종 alcohol 농도가 1~5%가 되도록 제조하여 투여하였다. 조직의 균질화에는 0.25 mM sucrose(pH = 4.5)와 Tris-HCl buffer(pH = 7.4)를 사용하였고 superoxide dismutase(SOD) 활성의 분석을 위해서는 Bioxyteck SOD-525 kit(Oxis Inter, Inc, USA)를, 그리고 lipid peroxidation의 분석을 위해서는 Bioxyteck LPO-525 kit(Oxis Inter, Inc, USA)를 사용하였다.

분석기기

분석을 위해 본 연구에 사용된 기기는 Hitachi 7150 (Hitachi, Japan), Cellac Auto Merk-81184(Nihon kohen, Japan), KONE microlyte ion selective analyzer(Finland), Cobra Integra(Roch, USA)이며 SOD 활성과 lipid peroxidation 측정을 위해서 Specronic 601(Millitol Roy, USA)를 사용하였다.

당뇨의 유도

실험동물을 12-18시간 동안 절식시킨 후 STZ를 복강내에 투여하여 당뇨를 유도하였다. STZ은 65 mg/kg 용량으로 citrate buffer(0.1 M, pH = 4.5)에 용해시켜 즉시 복강내로 1회 주사하였고, 정상대조군(n=6)에게는 citrate buffer를 주사하였다. STZ을 투여한 실험군에게는 일시적인 저혈당을 방지하기 위하여 10~15시간 동안 5% dextrose를 섭취할 수 있게 하였다.

STZ을 주사한 후 3일과 7일째에 미정맥에서 전혈을 채취하여 자동혈당분석기(Glucocard II, KDK, Japan)를 이용하여 혈당을 측정한다. 다음, 당뇨 유발을 확인하고 실험에 공여하였다.

실험군에 대한 처치

STZ을 투여하여 당뇨가 유발된 것을 확인한 후 5주째부터 3주간 각군에 대하여 melatonin 10 mg/kg^{17,19}을 1일 1회 복강내에 투여하였고, ascorbic acid는 40 mg/kg을 1일 1회 복강내 투여하였다. 약물의 투여는 매일 오전 09:00-10:30의

일정한 시간에 실시하였다.

채혈 및 검체의 처리

실험종료시에 thiopental sodium 50 mg/kg을 복강내에 투여하여 쥐를 마취시킨 후 개복하여 heparin이 처리된 tube를 사용하여 복대동맥에서 채혈하였다. 채혈 후 경정맥을 통해 0.16 mg/kg heparin이 포함된 0.9% NaCl을 관류시키고 신장과 췌장을 적출한 다음 SOD 활성 분석용은 즉시 전처리한 후 분석에 사용하였다.

Superoxide dismutase(SOD) 활성과 lipid peroxidation 측정

적혈구, 혈장, 조직(신장, 췌장)에 대하여 SOD 활성의 전처리 및 측정은 Nebot 등¹⁵의 방법을 사용하였고 lipid peroxidation의 전처리 및 측정은 Esterbauer와 Cheeseman⁴의 방법을 사용하였다.

SOD 활성의 측정을 위해, 전처리한 검체에 900 µl의 buffer(37°C)를 첨가하고 40 µl의 검체 혹은 40 µl의 증류수를 첨가하여 대조군으로 사용하였다. 다시 R2(1,4,6-trimethyl-2-vinylpyridinium trifluoromethanesulfonate) 30 µl를 첨가하고 37°C에서 1분간 반응시킨 후 다시 R1(5,6,6a,11b-tetrahydro-3,9,10-trihydroxy-benzo[c]fluorene) 30 µl를 첨가하고 3-4초 동안 잘 혼합한 후에 얻어진 시료를 cuvette에 옮겨 525 nm에서 1분간 흡광도를 측정하였다.

Lipid peroxidation의 측정을 위해, 200 µl의 시료를 유리 tube에 담고 60°C에서 80분간 반응시켰다. 얼음을 이용해 시료를 식히고 650 µl의 R1(10.3 mM N-methyl-2-phenylindole, in acetate)을 첨가하고 다시 150 µl의 HCl 37%를 첨가하여 잘 섞은 다음 45°C에서 60분간 반응시켰다. 이 시료를 얼음으로 다시 식히고 eppendorf tube에 옮겨서 15,000 g으로 15분간 원심분리하였다. 이렇게 처리된 시료를 586 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계처리

본 연구에서 얻어진 자료에 대한 각 군간의 통계학적 유의성은 SAS package의 General Linear Model(GLM) procedure (SAS ver 6.12, SAS Institute)를 이용하여 Duncan's multiple range test에 의하여 검정하였으며, p<0.05 이하의 유의성만을 통계학적 차이로 인정하였다.

결과 및 고찰

Body weight

Table 1과 같이 정상대조군의 체중은 투약 개시일에 355.2 ± 26.9 g이었으나 3주 후의 실험종료일에는 423.3 ± 25.9 g으로 약 68.1 g이 증가를 하였다. 무처리당뇨군은 반대로 개시일과 종료일에 각각 217.7 ± 6.2 g, 202.7 ± 1.3 g으로 약 15 g이 감소되었다. MLT투여군은 20 g의 체중 증가가 있었으나, AA투여군은 실험개시 1주차의 체중감소 외에는 실험개시일

Table 1. Changes in body weight during the treatment periods of antioxidants after 4 weeks for diabetics-induced period by streptozotocin injection

Groups	Base(0 wk)	Treatment periods of antioxidants			
		Start(5 wk)	1st wk(6 wk)	2nd wk(7 wk)	3rd wk(8 wk)
CONT		355.2±26.9	395.2±28.1	409.6±27.8	423.3±25.9
STZONLY	235.4±4.3	217.7±6.2	216.8±7.5	213.8±4.7	202.7±1.3
MLT		217.4±12.5	221.4±13.1	225.9±14.3	237.2±15.2
AA		229.1±14.0	207.6±15.5	230.8±16.4	229.3±22.8

CONT: control group, STZONLY: streptozotocin only injected group, MLT: melatonin treated group, AA: ascorbic acid treated group. Values are expressed as MEAN ± SE (gram)(n = 6).

과 종료일 사이에 체중의 변화는 없었다. 각 처치군에서 약간의 체중의 변화는 있었으나 통계학적인 유의차는 인정되지 않았다. 이것은 당뇨병경과에 따른 체중의 변화가 항산화제에 의해 직접적으로 영향을 받는 것으로 생각되나 항산화제의 투여기간이 비교적 단기간이었기 때문에 그 미치는 영향이 충분하지 않았을 것이라고 생각된다.

Glucose

실험종료시의 혈당치는 Fig 1과 같이 정상대조군, 무처치당뇨군, MLT투여군, AA투여군이 각각 121.5±3.6, 495±25.3, 189.8±9.3, 405±22.1 mg/dl로 나타났다. MLT투여군은 정상대조군에 근접한 혈당치를 나타내었으나 AA투여군은 무처치당뇨군에 비해 경미한 혈당치의 감소를 나타냈다. MLT투여군은 유의성있는 혈당 감소를 나타냈으나(p<0.01), AA투여군에서는 혈당의 감소가 MLT투여군에 비하여 상대적으로 낮았다.

Ascorbic acid와 같은 항산화제는 *in vitro*상에서 당의 자가산화와 혈청단백에 대한 공유결합을 감소시키고, *in vivo*에서 혈청단백의 glycation을 억제한다¹³. 그리고 Shima 등²⁵은 melatonin이 과혈당증을 억제한다고 보고하였다.

또한 위의 결과는 당뇨병 환자에 ascorbic acid를 투여하여도 혈당 조절에는 영향을 주지는 못하나 당화혈색소(glycosylated hemoglobin, HbA_{1c})가 혈청중의 당화단백의 수준을 저하시킨다¹³는 보고를 다시 한번 입증하는 결과라고 사료된다.

Glycosylated hemoglobin(HbA_{1c})

실험종료시의 당화 혈색소(HbA_{1c})는 Fig 2와 같이 정상대조군, 무처치당뇨군, MLT투여군, AA투여군이 각각 2.9±0.36, 15.1±1.58, 7.3±0.66, 9.6±0.38%를 나타냈다. MLT투여군의 경우에는 정상대조군 수준에는 근접하지 못했지만 무처치당뇨군에 비해서는 유의성 있게 낮은 당화혈색소 수준을 나타냈다(p<0.01). AA투여군은 무처치당뇨군에 비해서는 감소되어 있었으나 MLT투여군에는 못 미치는 당화혈색소 수준을 나타냈다.

당뇨병의 합병증 발생에 중요한 작용을 하는 당화작용(glycosylation)은 효소촉매성 당화작용(enzymic glycosylation)과 비효소성 당화작용(nonenzymic glycosylation)로 대별된다⁸.

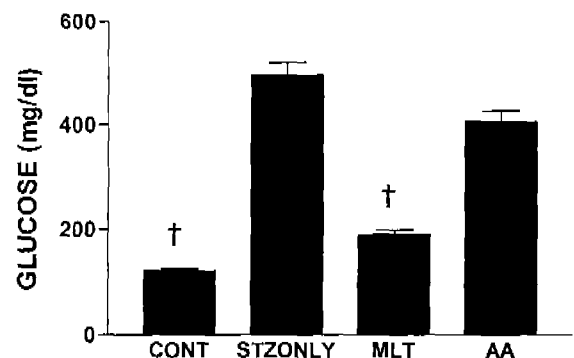


Fig 1. Glucose concentration in 4 groups at the 21 days after antioxidant treatment (the 8th week after STZ injection). Values are expressed as MEAN ± SE (n = 6). †Significant difference from STZONLY: p<0.01. Other abbreviation as in Table 1.

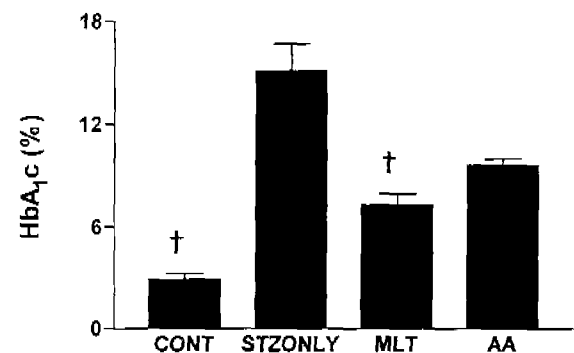


Fig 2. Glycosylated hemoglobin (HbA_{1c}) in 4 groups at the 21 days after antioxidant treatment (the 8th week after STZ injection). Values are expressed as MEAN ± SE (n = 6). †Significant difference from STZONLY: p<0.01. Other abbreviation as in Table 1.

당화혈색소는 이러한 비효소성 매개성 당화혈색소의 한 분획이기 때문에 혈당농도와 깊은 연관이 있다. 따라서 HbA_{1c}의 측정으로 과거 1~3개월의 평균혈당치를 추정할 수 있기 때문에 당뇨병을 장기간 관찰하는데 지표로 사용된다. 본 연구에서도 당화혈색소는 혈당치의 변화와 비슷한 경향을 나타냈다. 특히 MLT투여군의 경우에는 당화혈색소의 감소가 현

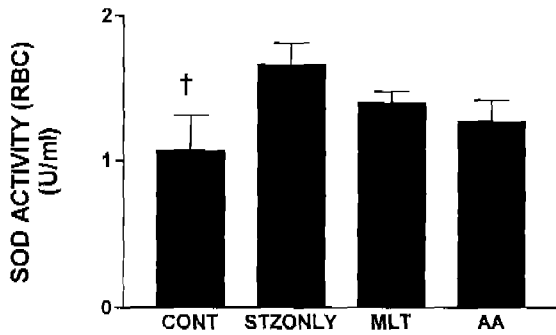


Fig 3. Total SOD activity of erythrocyte in 4 groups at the 21 days after antioxidant treatment (the 8th week after STZ injection). Values are expressed as MEAN±SE (n = 6). †Significant difference from STZONLY: p<0.01. Other abbreviation as in Table 1.

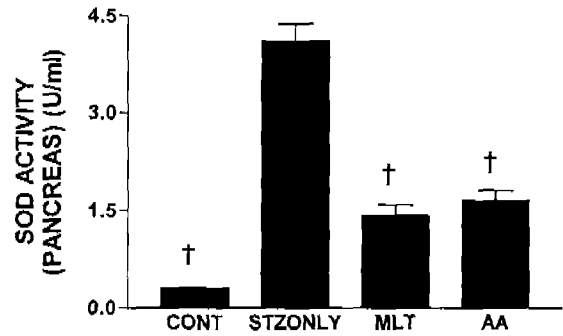


Fig 5. Total SOD activity of pancreas in 4 groups at the 21 days after antioxidant treatment (the 8th week after STZ injection). Values are expressed as MEAN±SE (n = 6). †Significant difference from STZONLY: p<0.01. Other abbreviation as in Table 1.

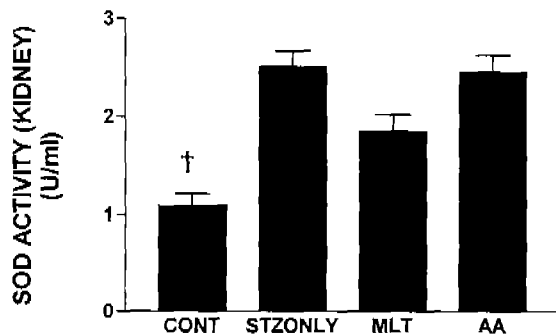


Fig 4. Total SOD activity of kidney in 4 groups at the 21 days after antioxidant treatment (the 8th week after STZ injection). Values are expressed as MEAN±SE (n = 6). †Significant difference from STZONLY: p<0.01. Other abbreviation as in Table 1.

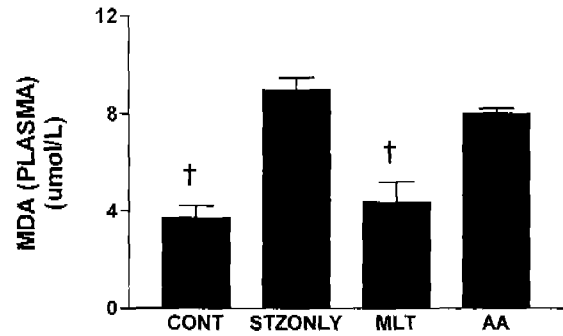


Fig 6. Lipid peroxidation (MDA) of plasma in 4 groups at the 21 days after antioxidant treatment (the 8th week after STZ injection). Values are expressed as MEAN±SE (n = 6). †Significant difference from STZONLY: p<0.01. Other abbreviation as in Table 1.

저하였는데(p<0.01), 이것은 전술한 바와 같이 혈당 억제효과⁷와 단백질에 대한 항산화작용²⁴에 의한 효과라고 사료된다.

Superoxide dismutase(SOD) 활성

적혈구: 적혈구에서의 SOD 활성은 Fig 3과 같이 정상대조군, 무처치당뇨군, MLT투여군, AA투여군이 각각 1.07±0.24, 1.66±0.15, 1.40±0.08, 1.27±0.15 U/ml를 나타냈다. 적혈구에서의 SOD 활성은 MLT와 AA투여군에서 무처치당뇨군에 비해서는 낮은 수준을 나타내었으나 정상대조군보다는 높은 수준을 나타냈다.

당뇨병에서 과혈당증에 의한 단백당화가 항진됨으로써 그 반응으로부터 활성산소가 발생한다²⁹. 이렇게 발생한 활성산소의 제거를 위하여 맨 처음 SOD가 활성화된다³⁰. Reiter 등²⁴에 의하면 melatonin은 몇몇의 중요한 생체의 항산화 효소들, 예를 들어 SOD, GPX, glutathion reductase를 자극한다. 또한 melatonin은 활성산소를 직접 scavenging 함으로써 제거한다는 연구보고도 있다. 본 연구에서는 처치군간의 차이는 인정되지 않았다.

신장: 신장에서의 SOD 활성은 Fig 4와 같이 정상대조군, 무처치당뇨군, MLT투여군, AA투여군이 각각 1.09±0.12, 2.51±0.15, 1.85±0.17, 2.45±0.17 U/ml를 나타냈다. MLT투여군의 SOD는 통계학적으로 유의성 있게 낮지 않았으나 무처치당뇨군과 AA투여군보다 낮은 경향을 나타냈다.

췌장: 췌장에서의 SOD 활성은 Fig 5와 같이 정상대조군, 무처치당뇨군, MLT투여군, AA투여군이 각각 0.30±0.01, 4.10±0.27, 1.42±0.17, 1.65±0.16 U/ml를 나타냈다. 췌장에서의 SOD 활성은 실험군 모두에서 무처치당뇨군에 비해 현저히 낮은 SOD 활성수준을 나타냈으나(p<0.01), 정상대조군의 SOD 활성에는 못 미치는 수준이었다. MLT투여군과 AA투여군 사이에 통계학적 유의차는 없었으나, 전자가 후자보다 낮은 경향을 나타냈다.

Lipid peroxidation(MDA)

Lipid peroxidation을 알아보기 위하여 그 대사산물인 malondialdehyde(MDA)를 측정된 결과는 다음과 같다.

혈장: 실험종료시의 혈장에서의 MDA는 Fig 6과 같이 정

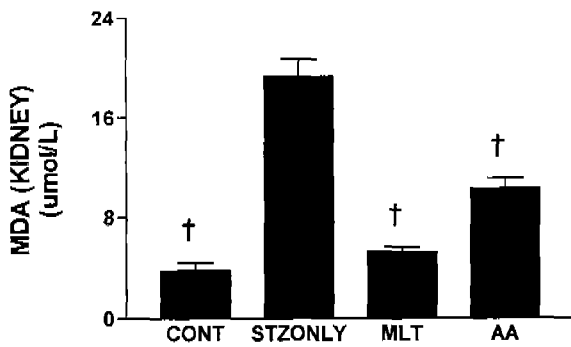


Fig 7. Lipid peroxidation (MDA) of kidney in 4 groups at the 21 days after antioxidant treatment (the 8th week after STZ injection). Values are expressed as MEAN±SE (n = 6). †Significant difference from STZONLY: $p < 0.01$. Other abbreviation as in Table 1.



Fig 8. Lipid peroxidation (MDA) of pancreas in 4 groups at the 21 days after antioxidant treatment (the 8th week after STZ injection). Values are expressed as MEAN±SE (n = 6). †Significant difference from STZONLY: $p < 0.01$. Other abbreviation as in Table 1.

상대조군, 무처치당뇨군, MLT투여군, AA투여군이 각각 3.72 ± 0.50 , 8.98 ± 0.49 , 4.37 ± 0.83 , $8.01 \pm 0.20 \mu\text{mol/L}$ 를 나타냈다. MLT투여군은 무처치당뇨군과 AA투여군 보다 현저하게 낮은 MDA 수준을 나타냈다($p < 0.01$).

신장: 신장에서의 MDA는 Fig 7과 같이 정상대조군, 무처치당뇨군, MLT투여군, AA투여군이 각각 3.79 ± 0.64 , 19.30 ± 1.38 , 5.27 ± 0.37 , $10.30 \pm 0.83 \mu\text{mol/L}$ 를 나타냈다. 실험군 모두가 무처치당뇨군보다 현저하게 낮은 MDA 수준을 보였다($p < 0.01$). MLT투여군은 정상대조군의 수준에 가까운 낮은 MDA 수준을 나타냈다.

췌장: 췌장에서의 MDA는 Fig 8과 같이 정상대조군, 무처치당뇨군, MLT투여군, AA투여군이 각각 3.83 ± 0.56 , 11.29 ± 0.72 , 6.78 ± 0.33 , $9.97 \pm 0.27 \mu\text{mol/L}$ 를 나타냈다. MLT투여군은 AA투여군 보다 무처치당뇨군과 비교하여 낮은 MDA 수준을 나타냈다.

일반적인 지질과산화의 주원인인 peroxy radical을 melatonin이 scavenging하는 능력에 대한 연구는 많이 이루어

어져 왔다^{7,14,16}. Peieri 등¹⁶은 melatonin, tocopherol, ascorbic acid 그리고 reduced glutathione(GSH)을 대상으로 peroxy radical을 제거하는 능력의 차이를 비교한 결과 melatonin, GSH, ascorbic acid, tocopherol 순으로 효과가 큰 것으로 나타났다. 췌장에 대한 실험결과에서 보는 바와 같이, MDA의 농도는 비록 유의차는 없었으나 MLT투여군, AA투여군의 순서로 peroxy radical을 제거하는 능력이 감소된 것으로 나타나 당뇨병 유발쥐를 대상으로 한 본 연구에서도 Peieri 등¹⁶이 보고한 melatonin의 효과를 확인할 수 있었다.

Rasmussen 등²¹은 melatonin이 일부 포유류에서 지방대사를 조절하며 사람과 쥐에 있어서는 노화의 진행과 복강내 지방축적이 비례관계가 있는데 이것은 노화와 관련된 melatonin의 분비감소 때문인 것으로 추측되어, 당뇨병과 관련된 증가된 복강내 지방은 melatonin의 투여로 예방 또는 치료될 수 있다고 보고하였다. 또한 Conti와 Maestroni³은 nonobese diabetic mice(NOD)를 이용한 melatonin의 효과를 조사한 결과 melatonin이 자발성 자가면역원성 당뇨병의 발달을 막아준다고 보고하였다. 이상과 같은 결과를 종합해 볼 때 항산화제 특히 melatonin을 당뇨병성 합병증의 예방 및 치료를 위해 사용하면 합병증의 진행을 억제하거나 경감시키는 효과가 있다고 사료된다.

결론

본 연구에서는 항산화제인 melatonin과 ascorbic acid를 실험적으로 당뇨병을 유발시켜 일정기간 유지시킨 쥐에 각각 단용투여하여 당뇨병성 합병증의 예방과 치료에 대한 효능을 비교하였으며, 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 실험기간내의 체중의 변화는 유의차가 인정되지 않았다. 다만 MLT투여군에서 약간의 증가 경향을 나타내었다.
2. HbA_{1c}는 glucose의 변화와 비슷한 경향을 나타내었는데 무처치당뇨군($15.1 \pm 1.58\%$)에 비하여 MLT투여군($7.3 \pm 0.66\%$)은 유의성 있게 감소하였다($p < 0.01$).
3. 췌장에서의 SOD 활성은 MLT투여군이 $1.42 \pm 0.17 \text{ U/ml}$, 그리고 AA투여군이 $1.65 \pm 0.16 \text{ U/ml}$ 로 무처치당뇨군의 $4.10 \pm 0.27 \text{ U/ml}$ 에 비하여 현저히 감소하였다 ($p < 0.01$). 그러나 적혈구의 SOD 활성은 처치군간의 차이가 인정되지 않았다.
4. Lipid peroxidation은 MDA를 분석하여 비교한 결과 혈장, 신장, 췌장 모두에서 MLT투여군에서 현저한 감소를 보였다($p < 0.01$).

위의 결과를 종합해 볼 때 항산화제 특히 melatonin을 당뇨병성 합병증의 예방 및 치료에 사용하면 합병증의 진행을 억제하거나 경감시키는 효과가 있다고 사료된다.

참고 문헌

1. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991; 40: 405-412.

2. Ceriello A, Giugliano D, Quatraro A et al. Vitamine E reduction of protein glycosylation in diabetes. *Diabetes Care* 1991; 14: 68-72.
3. Conti A, Maestroni GJM. Melatonin rhythms in mice: role in autoimmune and lymphoproliferative diseases. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 840: 395-410.
4. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol* 1990; 186: 407-421.
5. Fridrich R. On postoperative irradiation of breast cancer with roentgen-telecobalt. *Radiol Austriaca* 1964; 15: 219-24.
6. Giugliano D, Ceriello A, Paoulliso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetic care* 1996; 19: 257-267.
7. Guardiola, Lemaître B. Toxicology of melatonin. *J Biol Rhythms* 1997; 12: 697-706.
8. Iberg N, Fluckiger R. Nenzymatic glycation of albumin in vivo (identification of multiple glycosylated site). *J Biol Chem* 1986; 261: 13542-13545.
9. Jennings PE, Chirico S, Jones AF, Lunec J, Barnett AH. Vitamin C metabolites and microangiopathy in diabetes mellitus. *Diabetes Res* 1987; 6: 151-154.
10. Jones AF, Winkles JW, Jennings PE, Florkowski CM, Lunec J, Barnett AH. Serum antioxidant activity in diabetes mellitus. *Diabetes Res* 1988; 7: 89-92.
11. Kubisch HM, Wang J, Bray TM, Phillips JP. Targeted overexpression of Cu/Zn superoxide dismutase protects pancreatic β -cells against oxidative stress. *Diabetes* 1997; 46: 1563-1566.
12. McCord JM, Fridovich I. Super oxide dismutase. An enzymatic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem* 1969; 244: 6049-55.
13. Maxwell SRJ. Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs* 1995; 49: 345-361.
14. Melchiorri D, Reiter RJ, Chen LD, Sewerynek E, Nistico G. Melatonin affords protection against Kainate-induced in vitro lipid peroxidation in brain. *Eur J Phamacol* 1996; 305: 239-242.
15. Nebot C, Moutet M, Huet P, Xu JZ, Yadan JC, Chaudiere J. Spectrophotometric assay of superoxide dismutase activity based on the activated autoxidation of a tetracyclic catechol. *Anal Biochem* 1993; 214: 442-451.
16. Lung CC, Pinnas JL, Yahaya MD, Meinke GC, Mooradian AD. Malondialdehyde modified protein and their antibodies in the plasma of control and streptozotocin induced diabetic rats. *Life Sciences* 1992; 52: 329-337.
17. Pablos MI, Reiter RJ, Chuang JI, Ortiz GG, Guerrero JM, Sewerynek E, Agapito MT, Melchiorri D, Lawrence R, Dneke SM. Acute administered melatonin reduces oxidative damage in lung and brain induced by hyperbaric oxygen. *J Appl. Physiol* 1997; 83: 354-358.
18. Peieri C, Marra M, Moroni F, Recchioni R, Marcheselli F. Melatonin: a peroxyl radical scavenger more effective than vitamin E. *Life Sci* 1994; 55: PL271-276.
19. Petent GN. Protective effect of melatonin on in vivo paraquat-induced oxidative damage in rats. *Life Sciences* 1995; 56: 83-89.
20. Pierretich G, Topall G, Courboin G, henriet I., Laborit H. Antioxidant activity of melatonin in mice. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1993; 80: 211-223.
21. Rasmussen DD, Boldt BM, Wilkinson CW, Yellon SM, Matsumoto AM. Daily melatonin administration at middle age suppresses male rat visceral fat, plasma leptin, and plasma insulin to youthful levels. *Endocrinology* 1999; 140: 1009-1012.
22. Reiter RJ, Tan DX, Poeggeler B, Menendez-Pelaez A, Chen LD, Saarela S. Melatonin as a free radical scavenger: implications for aging and age-related diseases. *Ann NY Acad Sci* 1994; 719: 1-12.
23. Reiter RJ. Functional pleiotropy of the neurohormone melatonin: antioxidant protection and neuroendocrine regulation. *Frontiers in Neuroendocrinol* 1995; 16: 383-415.
24. Reiter RJ, Melchiorri D, Sewerynek E, Poeggeler B, Barlow-Walden L, Chuang J, Ortiz GG, Acuna-Castroviejo D. A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *J Pineal Res* 1995; 18: 1-11.
25. Shima T, Chun SJ, Nijima A, Bizot-Espiard JG, Guardiola-Lemaître B, Hosokawa M, Nagai K. Melatonin suppresses hyperglycemia caused by intracerebroventricular injection of 2-deoxy-D-glucose in rats. *Neurosci Lett* 1997; 226: 119-122.
26. Turk J, Corbett JA, Rhamadham S, Bohrer A, McDaniel ML. Biochemical evidence for nitric oxide formation from streptozotocin in isolated pancreatic islets. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 197: 1458-64.
27. Urano S, Hoshi-Hashizume M, Tochigi N, Matsuo M, Shiraki M, Ito H. Vitamine E and the susceptibility of erythrocytes and reconstituted liposomes to oxidative stress in aged diabetics. *Lipid* 1991; 26: 58-61.
28. Wohaieb SA, Godin DV. Alterations in free radical tissue-defense mechanisms in streptozotocin-induced diabetes in rat. Effects of insulin treatment. *Diabetes* 1987; 36(9): 1014-1018.
29. 朝山光太郎. 糖尿病 フリ-ラジカルと抗酸化機構の變動. *臨床病理* 1996; 40: 176-180.
30. 片山善章. 活性酸素とSOD. *臨床病理* 1996; 40: 123-124.