

Antidiabetic, Antioxidative and Renoprotective Effects of *Rehmanniae Radix preparata* Extract in Streptozotocin-induced Diabetic Rats

Hye-Jeong Kim¹, In-Sook Yoon² and Young-Chul Kim^{1,*}

¹Department of Public Health, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea.

²Department of Clinical Pathology, Daegu Health College, Daegu 702-722, Korea

This study investigated the effect of *Rehmanniae Radix preparata* extract on the antioxidant enzymes of kidney and renal function in streptozotocin-induced diabetic rats. Male Sprague-Dawley rats were divided into three groups including normal control (NC), diabetic control (DC), and diabetic treatment with *Rehmanniae Radix preparata* (DRR). Over a 4-week study period, *Rehmanniae Radix preparata* aqueous extract was administered orally at 1124 mg/kg BW/day. The serum glucose level in the DRR group was significantly lower ($P<0.05$) than the DC group. The serum blood urea nitrogen in diabetic groups was significantly higher ($P<0.001$) than the NC group. The urinary total protein level in the DRR group was significantly lower ($P<0.05$) than the DC group. The renal xanthine oxidase activity in the DRR group was significantly lower ($P<0.01$) than the DC group. The renal catalase activity in the DC group was significantly lower ($P<0.05$) compared to the NC group and that was significantly higher ($P<0.05$) in the DRR group than the DC group. In conclusion, these results indicated that *Rehmanniae Radix preparata* can prevent or retard the development of diabetic nephropathy via its beneficial effects for correcting the hyperglycemia and favorable effects on antioxidant enzyme system.

Key Words: *Rehmanniae Radix preparata*, Streptozotocin, Diabetic rat, Antioxidant effect, Renoprotective effect

서 론

현대과학의 큰 발전에도 불구하고 당뇨병의 발병률은 증가하고 있으며 그 예방과 치료에 대한 관심이 집중되고 있다. 당뇨병은 췌장에 있는 Langerhans 섬의 β -cell에서 분비되는 insulin의 생리작용이 저조하거나 insulin receptor의 수가 적어 insulin의 생리적 기능이 불충분할 때 나타나는 혈당증이다 (Rayfield and Ishimura, 1987; Nepom, 1990). 당뇨병은 만성 퇴행성 질환으로 신증, 신경변증 망막증의 미세혈관 합병증과 동맥경화, 고혈압, 심근경색 등의 대혈관 합병증 (West et al., 1983)과 같은 여러 합병증을 유발한다.

당뇨합병증의 유발 요인은 고혈당의 지속화와 만성화로 여러 가지 자유라디칼 (free radical)의 생산이 증가되

고, 반응성이 높은 이들에 의해 세포막 인지질의 산화에 의한 조직의 과산화적 손상으로 혈관 내피세포가 손상되면서 각종 혈관성 합병증이 발생된다고 보고 (Hammers et al., 1991)되고 있다. 인체는 정상적인 생리 상태에서는 자유라디칼의 생산과 항산화 방어체계 (antioxidant defense system)의 활성이 균형을 이루고 있으며 체내에서 자유라디칼이 과다 생성되거나 혹은 항산화 방어체계의 기능이 감소되어 균형이 깨지면서 산화적 스트레스가 일어난다 (Lawrence et al., 2001).

고혈당은 신장조직에 산화스트레스를 크게 유발시키게 되는데 이는 신장에서 고혈당으로 인해 촉진되는 단백질과 지질의 비효소적 당화로 유리기가 과다하게 생성되기 때문이다 (Mohamed et al., 1999). 당뇨병 환자에서 신증의 합병증 발생률은 인슐린의존형 당뇨병 환자의 경우는 30% 정도이며 인슐린비의존형 당뇨병 환자의 경우는 15~60%로 알려져 있다 (Krolewski et al., 1985). 당뇨병성 신장병변은 말기신부전의 주요한 원인으로 신장의 사구체 여과계를 손상시켜 과여과가 발생하며 (Jensen et al., 1981) 과여과는 사구체 상피세포의 변화를 일으켜 단백뇨와 신 피질 간질에 단백질 침착을 유도하고 간질의

*논문 접수: 2008년 2월 15일

수정재접수: 2008년 3월 15일

†교신저자: 김영철, (우) 704-701, 대구광역시 달서구 신당동 1000, 계명대학교 자연과학대학 공중보건학과

Tel: +82-53-580-5931, Fax: +82-53-588-5233

e-mail: yckim@kmu.ac.kr

비대, 사구체 경화 등으로 진행되어 간다 (O'Donnell et al., 1988).

고혈당을 조절함과 더불어 과산화적 스트레스를 억제시키는 것이 당뇨 및 합병증을 예방하기 위해서 필수적이며 현대의학에서 인슐린에 의한 당뇨병 치료는 부작용이 수반되기 때문에 최근에는 천연물이나 한약재로부터 당뇨병의 예방과 억제를 위한 생리활성 물질을 찾으려는 연구들이 시도되고 있다. 한약에서 보약으로 알려진 지황 (*Rehmannia glutinosa*)은 현삼과에 속하는 다년초로서 그 뿌리를 약으로 사용한다. 채취 후 파지에 저장한 생지황, 외피를 죽도로 벗겨서 양건한 건지황, 생지황을 구증구폭한 숙지황 (*Rehmanniae Radix preparata*) 등이 있으며 그 중 약재로는 숙지황이 가장 잘 알려져 있으며 효능도 높은 것으로 나타나 있다. 숙지황은 補腎長壽, 生精血, 補血 등에 효과가 있을 뿐만 아니라 신 혈관 확장과 강심작용 및 이뇨작용이 있으며 장기 투여 시 혈압 하강에 효과가 있다고 보고되었다 (Lee et al., 1981). 또한 숙지황이 독성약물에 의해 손상당한 신장세포의 시험관 내 실험에서 항산화 효과가 있다고 보고되었으며 (Cho, 2003), STZ로 유도한 당뇨쥐의 신장조직에서 지질과산화물 (TBARS) 함량을 낮춘 연구보고 (Yokozawa et al., 2004)는 있었으나 신장조직에서의 유해산소 해독계 효소의 활성과 신 기능에 대한 보고는 없었다.

이 연구에서는 streptozotocin (STZ)을 투여한 인슐린 의존성 당뇨병 실험모델 동물에 숙지황 추출물을 투여하여 식이효율, 혈당, 신장기능 및 신장조직의 항산화 효소의 변화를 관찰함으로써 숙지황의 당뇨병 개선 및 신장 보호 효과에 대한 과학적인 근거 자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시약 및 기기

혈청의 glucose, BUN, creatinine, urinary creatinine는 commercial kit (EIKEN, Japan)를 이용하여 Konelab 20XT Analysis System (Thermo, Finland)으로 측정하였고 insulin 농도는 ELISA kit (Mercodai, USA)를 이용하여 microplate reader (Molecular devices, USA)로 측정하였다. 뇨 중 total protein은 commercial kit (Auto kit Micro TP, Wako Pure Chemicals, Japan)를 이용하여 ADVIA 1650 Analysis System (BAYER, USA)으로 측정하였다.

실험기기는 UV spectrophotometer (UV-1601, Shimadzu,

Japan), refrigerated centrifuge (Beckman Coulter, Beckman, USA), glass teflon homogenizer (T25 basic, Ultra Turrax, Japan), 혈당계 SUPERGLUCOCARD™ II (ARKRAY, Japan)를 사용하였다.

2. 시료의 추출 및 투여

전북 군산에서 유기농 재배된 숙지황 500 g을 구입하여 3차 증류수 6 l를 가하여 초고속 진공 저온 추출기 (COSMOS-660, 경서기계산업, 인천)로 100℃의 온도에서 2시간 30분 열수 추출하였다. 열수추출물을 진공농축용기에 담아 110℃ 온도에서 1.5 l로 농축하고 1일 투여할 용량씩 파우치 처리하여 냉장 보관하여 실험에 사용하였다. 수율은 동결건조로 측정한 결과 33.7%였다. 추출물의 경구 투여는 위 존대를 사용하여 10 ml/kg BW/day (1,124 mg/kg BW/day)로 주 6일 4주간 투여하였고 대조군은 동량의 증류수를 투여하였다.

3. 실험동물

실험동물은 6주령 Sprague-Dawley 웅성 SPF 랫드를 (주)바이오코리아로부터 구입하여 사육실 (온도 22±1℃, 상대습도 50±5%)에서 고형 사료를 먹여 1주일 적응시킨 후 난괴법에 의해 정상군 (Normal Control; NC), 당뇨병대조군 (Diabetic Control; DC), 당뇨병숙지황군 (Diabetic *Rehmanniae Radix preparata*; DRR)으로 나누어 각 군당 7마리씩 4주간 사육하여 실험하였다. 사료 및 물 섭취량, 체중은 주 1회, 혈당은 주 1회 아침 9:00~10:00시에 측정하였다.

4. 당뇨 유발

인슐린 의존성 당뇨병과 유사한 실험동물을 만들기 위하여 streptozotocin (STZ, Sigma Co., USA)을 0.4 M citrate buffer (pH 4.5) 용액에 용해시켜 70 mg/kg (0.5 ml/100 g BW)으로 복강 내 주사하였다. 당뇨 유발 확인은 STZ 주사 72시간 후 측미정맥에서 채혈하여 혈당량이 300 mg/dl 이상이면 당뇨병이 유발된 것으로 간주하였다.

5. 시료 채취 및 실험동물 처치

실험추출물 투여 전 안와정맥에서 채혈하여 혈청 분리 후 glucose 측정에 사용하였고 실험추출물 투여 26일 후 실험쥐를 대사케이지로 옮겨 24시간 동안 뇨를 수집하여 total volume, total protein과 urine creatinine 측정에 사용하였다. 실험추출물 투여 28일째 날에 실험 사육한 랫드를

14시간 동안 절식시킨 후 ether 마취하에 복부대동맥에서 혈액을 채취하여 3000 rpm에서 30분간 원심분리하여 혈청을 분리한 후 glucose, BUN, creatinine, insulin 측정에 사용하였다.

장기는 채혈 후 즉시 적출하여 생리식염수로 씻어내고 수분을 여과지로 제거한 후 무게를 칭량하였다. 적출한 신장조직을 칭량한 후 4배 량의 0.25M sucrose 용액을 넣고 glass teflon homogenizer를 이용하여 20% (w/v) 마쇄 균질액을 만들었다. 이 균질액을 600×g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 마쇄 부분을 제거한 상층액을 10,000×g에서 20분간 원심분리한 후 pellet인 mitochondria 분획과 그 상층액인 post-mitochondria 분획을 얻어 효소활성 측정 시료로 사용하였다.

6. 신장조직의 효소 활성도 측정

1) Xanthine Oxidase (XO)

XO의 활성도는 xanthine을 기질로 사용하여 30°C에서 20분간 반응시켜 생성된 요산을 292 nm에서 흡광도를 측정하는 Stripe와 Della (1969)의 방법에 준하여 측정하였다. 활성도 단위는 효소액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 기질인 xanthine으로부터 생성된 uric acid의 양을 nmole로 표시하였다.

2) Superoxide dismutase (SOD)

SOD의 활성도는 hematoxylin 자동산화의 억제 정도를 관찰하는 Martin 등 (1987)의 방법에 따라 0.1 mM EDTA가 함유된 50 mM 인산 완충액 (pH 7.5)에 10 μM hematoxylin 및 효소액을 가해 25°C에서 반응시켜 생성된 hematein을 560 nm에서 측정하여 효소의 활성도를 산정하였다. 활성도 단위는 효소액을 넣지 않은 반응액 중의 hematoxylin 자동산화를 50% 억제하는 정도를 1 unit로 하여 단백질 1 mg이 1분 동안 반응한 unit로 표시하였다.

3) Catalase (CAT)

CAT 활성도는 hydrogen peroxide를 기질로 하여 환원되는 정도를 파장 240 nm에서 흡광도를 읽고 분자흡광계수 ($E=0.04 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$)를 이용하여 활성을 산출하는 Aebi (1974)의 방법에 준하였다. 활성도 단위는 간 조직 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 감소되는 hydrogen peroxide의 양을 nmole로 표시하였다.

4) Glutathione S-transferase (GST)

GST의 활성도는 Habig 등 (1974)의 방법에 따라 측정하였다. 1-chloro-2,4-dinitrobenzene과 glutathione을 기질로 하여 25°C에서 10분간 반응시켜 생성된 2,4-dinitrobenzene-

glutathione conjugate 양을 340 nm에서 측정하였다. 활성도 단위는 효소 반응액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분간 반응하여 생성시킨 conjugate의 양을 nmole로 나타내었다.

5) 신장조직의 단백질 함량 측정

신장조직 중 단백질 함량은 Lowry 등 (1951)의 방법에 따라 bovine serum albumin을 표준품으로 사용하여 측정하였다.

7. 자료 분석

SPSSWIN (v12.0) 통계프로그램을 이용하여 NC군, DC군, DRR군 간의 분석 자료의 비교를 위하여 t-test로 분석하였다. 통계적 유의수준은 0.05이하로 하였다.

결 과

1. 물, 식이섭취량 및 식이효율

음수량은 NC군에 비해 DC군이 약 6배 유의하게 ($P<0.001$) 높았고 식이섭취량은 약 2배 유의하게 ($P<0.001$) 높았으며 음수량은 DRR군이 DC군에 비해 유의하게 ($P<0.01$) 낮았고 식이섭취량은 DRR군과 DC군 간에 유의한 차이가 없었다. 일일 체중 변동량은 NC군이 증가 추세를 보였고 DC군이 감소하는 현상을 보였으나 DRR군은 NC군에 비해 증가폭은 적었으나 증가 추세를 보였으며 DC군에 비해 230% 유의하게 ($P<0.05$) 높게 나타났다. 식이효율 또한 NC군에 비해 DC군이 유의하게 ($P<0.001$) 낮았으나 DC군에 비해 DRR군은 230% 유의하게 높게 나타났다 ($P<0.05$) (Table 1).

2. 혈당 및 혈청 glucose, insulin, BUN, creatinine 농도

혈중 포도당 농도 변화는 Fig. 1과 같다. 혈당치는 전 실험기간 동안 NC군에 비하여 DC 및 DRR군은 5~6배 현저하게 높았으며, 실험 4주 후 DC군에 비하여 DRR군은 14% 유의하게 낮았다 ($P<0.05$).

혈청 중 glucose 농도는 당뇨군의 경우 초기 혈당치에 비하여 유의하게 증가 하였으며 DC군에 비하여 DRR군은 20% 유의하게 낮았다 ($P<0.05$) (Fig. 2). Insulin 농도는 NC군에 비하여 DC군이 88% 유의하게 ($P<0.001$) 낮았으며 DC군에 비하여 DRR군은 30% 높았으나 통계적으로 유의하지 않았다. BUN 농도는 NC군에 비하여 DC군이 135% 유의하게 ($P<0.001$) 높았으며 DC군에 비하여 DRR군은 다소 감소하는 경향을 보였다. Creatinine 농도

Table 1. Water intake, food intake, body weight gain and food efficiency ratio of normal and diabetic rats fed with *Rehmannia Radix preparata* extract for 4 weeks

Items	Groups ^{a)}		
	NC	DC	DRR
Water intake (ml/day)	49.40±3.85 ^{c)}	294.29±20.64 ^{####}	260.71±16.63 ^{####**}
Food intake (g/day)	27.40±2.30	51.00±3.65 ^{####}	50.71±1.60 ^{####}
Body weight gain (g/day)	3.15±0.29	-0.34±0.29 ^{###}	0.45±0.52 ^{####*}
Food efficiency ratio ^{b)} (%)	11.56±1.49	-0.67±0.61 ^{###}	0.89±1.04 ^{####*}

^{a)} NC: Normal control, DC: Diabetic control, DRR: Diabetic *Rehmannia Radix preparata*. ^{b)} Food efficiency ratio=(body weight gain/food intake) × 100. ^{c)} Values are mean ± SD of 7 rats. The value with a sharp-note is significantly different from NC group by t-test (####; P<0.001). The value with an asterisk is significantly different from DC group by t-test (*; P<0.05, **; P<0.01).

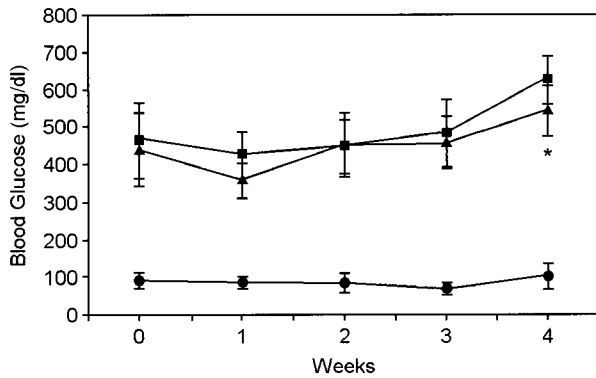


Fig. 1. Change in blood glucose of diabetic rats fed with *Rehmannia Radix preparata* extract for 4 weeks. Values are mean ± SD of 7 rats. The value with an asterisk is significantly different from DC group by t-test (*; P<0.05). ●, NC; ■, DC; ▲, DRR.

는 각 군 간에 별다른 차이를 보이지 않았다 (Table 2).

3. 뇨량 및 뇨 중 total protein, creatinine clearance

24시간 뇨량은 NC군에 비하여 DC군이 약 13배 유의하게 (P<0.001) 높았으며 DRR군과 DC군 간에는 별다른 차이를 보이지 않았다. 뇨 중 total protein은 NC군에 비하여 DC군은 150% 유의하게 (P<0.01) 높았으나 DC군에 비하여 DRR군은 24% 유의하게 낮았다 (P<0.05). Creatinine clearance는 NC군에 비하여 DC군이 15% 낮았으며 DC군에 비하여 DRR군은 17% 높았으나 통계적으로 유의하지 않았다 (Table 3).

4. 장기 무게

간과 신장의 상대적 무게는 NC군에 비하여 DC군이 1.5~2배 유의하게 (P<0.001) 높았으며 DC군과 DRR군 간에는 유의한 차이가 없었다. 비장 (P<0.001)과 심장 (P<0.01)의 절대 무게는 NC군에 비하여 DC군이 유의하게 낮았으며 상대 무게에서 비장은 유의한 차이가 없었으나 심장은 DC군이 NC군에 비해 유의하게 높았다

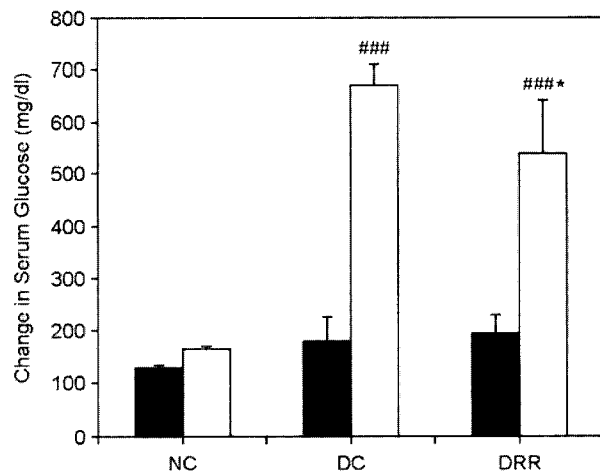


Fig. 2. Change in serum glucose of normal and diabetic rats fed with *Rehmannia Radix preparata* extract for 4 weeks. Values are mean ± SD of 7 rats. The value with a sharp-note is significantly different from NC group by t-test (####; P<0.001). The value with an asterisk is significantly different from DC group by t-test (*; P<0.05). ■, 0 week; □, 4 weeks.

Table 2. Change in serum glucose, insulin, BUN, creatinine of normal and diabetic rats fed with *Rehmannia Radix preparata* extract for 4 weeks

Weeks	Groups		
	NC	DC	DRR
Glucose	167.00±7.04	668.40±41.29 ^{####}	538.00±103.78 ^{####*}
Insulin	156.41±80.80	18.14±1.24 ^{###}	23.49±7.93 ^{###}
BUN	17.98±2.20	42.25±8.14 ^{###}	40.51±11.69 [#]
Creatinine	0.58±0.08	0.55±0.08	0.53±0.05

Unit: mg/dl, BUN: Blood Urea Nitrogen. Values are mean ± SD of 7 rats. The value with a sharp-note is significantly different from NC group by t-test (###; P<0.01, ####; P<0.001). The value with an asterisk is significantly different from DC group by t-test (*; P<0.05).

(P<0.05) (Table 4).

5. 신장조직의 유해산소 대사효소 활성도 변동

XO 활성은 NC군에 비하여 DC군이 27% 높았으며 DC

Table 3. Urine volume, urine protein and creatinine clearance of normal and diabetic rats fed with *Rehmannia Radix preparata* extract for 4 weeks

Items	Groups		
	NC	DC	DRR
Urine volume (ml/kg/day)	64.13±12.76	815.52±75.17 ^{###}	859.30±90.83 ^{###}
Urine total protein (mg/day)	16.04±3.88	40.35±5.38 ^{##}	30.54±3.72 ^{##*}
Creatinine clearance ^{a)} (ml/min)	3.00±0.80	2.54±0.75	2.98±0.30

^{a)} Creatinine clearance: (urine creatinine/serum creatinine) × (total volume/24h×60 min). Values are mean ± SD of 7 rats. The value with a sharp-note is significantly different from NC group by t-test (^{##}, P<0.01, ^{###}, P<0.001). The value with an asterisk is significantly different from DC group by t-test (^{*}; P<0.05).

Table 4. Organ weight of normal and diabetic rats fed with *Rehmannia Radix preparata* extract for 4 weeks

Organs	Groups		
	NC	DC	DRR
Liver	10.796±1.118 ^{a)}	9.267±0.955 [#]	9.883±1.400
	2.999±0.228 ^{b)}	4.463±0.341 ^{###}	4.491±0.377 ^{###}
Spleen	0.722±0.073	0.424±0.108 ^{###}	0.496±0.152 [#]
	0.201±0.015	0.201±0.027	0.223±0.051
Kidney (right)	1.206±0.105	1.310±0.131	1.396±0.156 [#]
	0.336±0.033	0.631±0.052 ^{###}	0.637±0.055 ^{###}
Kidney (left)	1.210±0.106	1.387±0.121 [#]	1.424±0.140 [#]
	0.337±0.032	0.668±0.042 ^{###}	0.650±0.049 ^{###}
Heart	1.094±0.145	0.726±0.126 ^{##}	0.761±0.091 ^{###}
	0.304±0.036	0.347±0.031 [#]	0.346±0.021 [#]

^{a)} Absolute organ weight, Unit: g. ^{b)} Relative organ weight, Unit: g/100 g body weight. Values are mean ± SD of 7 rats. The value with a sharp-note is significantly different from NC group by t-test ([#]; P<0.05, ^{##}; P<0.01, ^{###}; P<0.001).

군에 비하여 DRR군은 33% 유의하게 낮았다 (P<0.01). SOD 활성은 NC군에 비하여 DC군이 200% 유의하게 (P<0.001) 높았으며 DC군과 DRR군 간에는 유의한 차이가 없었다. CAT 활성은 NC군에 비하여 DC군이 27% 유의하게 (P<0.05) 낮았으며 DC군에 비하여 DRR군은 48% 유의하게 높았다 (P<0.05). GST 활성은 NC군에 비하여 DC군이 28% 유의하게 (P<0.05) 높았으며 DC군과 DRR군 간에는 유의한 차이가 없었다 (Table 5).

고 찰

생명과학의 큰 발전에도 불구하고 당뇨병의 발병율과 당뇨합병증으로 인한 사망률이 증가함에 따라 그 예방과 치료에 대한 관심이 집중되고 있으나 현대의학에서도 아직 근원적인 치료법이 개발되지 못한 실정이다. 다만 혈당 유지를 위하여 약물요법, 운동요법, 식사조절방법 등이 주로 시행되어지고 있다 (Koivisto, 1993). 주된 치료법

Table 5. Effect of *Rehmannia Radix preparata* on kidney SOD, CAT, XO, GST activities in STZ-induced diabetic rats

Enzymes	Groups		
	NC	DC	DRR
XO ^{a)}	1.64±0.35	2.08±0.52	1.39±0.17 ^{**}
SOD ^{b)}	2.18±1.34	6.59±0.49 ^{###}	6.48±1.54 ^{##}
CAT ^{c)}	4.21±0.59	3.08±0.90 [#]	4.55±1.40 [*]
GST ^{d)}	21.48±3.52	27.55±3.72 [#]	27.90±1.89 [#]

^{a)} Unit: nmole uric acid formed/mg protein/min.

^{b)} Unit: U (50% inhibition of autoxidation of hematoxylin)/mg protein/min.

^{c)} Unit: nmole H₂O₂ reduced/mg protein/min.

^{d)} Unit: nmole 2,4-dinitrobenzene-glutathione conjugate/mg protein/min.

Values are mean ± SD of 7 rats. The value with a sharp-note is significantly different from NC group by t-test ([#]; P<0.05, ^{##}; P<0.01, ^{###}; P<0.001). The value with an asterisk is significantly different from DC group by t-test (^{*}; P<0.05, ^{**}; P<0.01).

인 인슐린 투여는 근원적으로 당뇨를 치료하는데 한계가 있고 부작용의 위험도 수반하고 있어 최근에는 전통적인 천연물인 한약재나 천연기능성 식품을 이용한 연구가 활발히 진행되고 있다. 이러한 연구 동향에 맞추어 이 연구에서는 신을 보하고 소갈 치료처방에 주로 사용되는 한약재 숙지황을 열수 추출하여 STZ (70 mg/kg BW, i.p.) 로 유발된 당뇨쥐에서 혈당과 신 기능계에 미치는 영향을 살펴보고자 SD랫드 (6주령) 수컷을 7마리씩 3군 (NC, DC, DRR)으로 나누어 추출물을 1124 mg/kg BW/day 용량으로 4주간 경구 투여하였다.

4주간의 실험을 통하여 얻어진 연구결과에서 음수량, 식이섭취량이 정상군에 비해 당뇨군에서 현저하게 높게 나타났으며 숙지황 추출물로 인한 음수량과 식이섭취량 변화는 관찰되지 않았다. 혈당이 올라가면 소변으로 걸러진 포도당의 일부는 재흡수가 일어나지 않으며 이렇게 빠져 나온 포도당은 체내 수분을 같이 끌고 체외로 배출되기 때문에 당뇨에서는 다뇨와 다갈의 증상이 나타나게 된다. 식이효율과 체중증가율은 정상군에 비하여 당뇨군에서 현저하게 감소하였으나 당뇨대조군에 비해

숙지황 투여군에서 유의하게 높게 나타났다 ($P<0.05$). 당뇨병에서 식이섭취량이 많음에도 불구하고 지속적인 체중 감소가 나타났는데 이는 당뇨병에 의한 체내 대사의 퇴행적인 변화 때문인 것으로 보여지며 STZ에 의해 췌장의 β -cell이 파괴되어 당대사의 불균형을 초래한 당뇨병 쥐는 체중이 쉽게 회복되지 않는다는 연구보고 (Lee et al., 1994)가 이를 뒷받침 해준다. 당뇨병대조군에 비해 숙지황 투여군에서 유의하게 식이효율과 체중이 증가를 보여 숙지황이 당뇨병으로 인한 체중 감소를 개선하는 효과가 있음을 시사해 준다.

현재 인슐린 의존성 당뇨병의 연구에 사용되는 streptozotocin (STZ) 약물은 췌장 Langerhans' islet의 β -cell만을 선택적으로 파괴하여 인슐린 결핍을 초래함으로써 포도당에 대한 β -cell의 예민도를 저하시켜 고혈당을 초래하는 것으로 알려져 있다 (Matkovic et al., 1998). 이 연구에서 혈중 포도당 농도를 측정된 결과 STZ로 유도된 당뇨병군은 정상군에 비하여 5~6배 유의한 증가를 보였으며 실험 4주 후 당뇨병대조군에 비하여 숙지황 투여군은 20% 유의하게 감소를 보였다 ($P<0.05$). 혈청 중 glucose 농도 또한 숙지황 투여군에서 당뇨병대조군에 비하여 24% 유의하게 감소한 것으로 나타나 ($P<0.05$) 숙지황이 혈당 강하 효과가 있는 것으로 관찰된다. 혈청 인슐린 농도를 측정된 결과 STZ로 유도된 당뇨병군은 정상군에 비하여 유의한 감소를 보였으며 숙지황 투여군에서 다소 증가를 보였으나 유의한 차이는 없었다.

혈중 creatinine은 사구체 여과율과 creatinine 배설률 즉 creatinine clearance와 직접적인 상관관계를 가지고 있으며 신 피질 간질의 섬유화에 비례하여 높아진다. BUN (Blood urea nitrogen)은 단백질 대사의 주된 최종산물이며 간에서 암모니아로부터 합성되어 신장으로 배설되므로 단백질의 섭취와 신장의 배설능력을 반영하는 것으로 creatinine과 BUN은 신장기능 지표로 사용된다 (Grover et al., 2003). 고혈당으로 인한 사구체 상피세포의 손상과 밀도의 변화는 여과기능의 장애를 초래하며 선택적 투과성이 없어서 당뇨병성 신증의 진행과 단백뇨를 증가 시킨다 (Dalla Vestra et al., 2003). 이 연구에서 정상군에 비하여 당뇨병군의 혈 중 BUN 농도는 135% ($P<0.001$), 24시간 urine volume은 약 13배 ($P<0.001$), urine total protein은 150% ($P<0.01$) 각각 유의하게 증가하여 신장에 문제가 있음을 시사하였다. BUN과 creatinine은 당뇨병대조군에 비하여 숙지황 투여군에서 다소 감소를 보였으나 유의한 차이는 없었다. 1일 소변으로 배출된 total protein 량은

당뇨대조군에 비하여 숙지황 투여군에서 24% 유의하게 감소하였으며 creatinine clearance는 유의하지는 않았으나 당뇨병대조군에 비하여 17% 증가하여 숙지황이 신 기능을 개선시킬 것으로 기대된다.

장기의 상대적 중량비교에서 간과 신장의 경우 정상군에 비해 당뇨병군이 유의하게 ($P<0.001$) 증가하였으며 당뇨병대조군과 숙지황 투여군 간에는 유의한 차이가 없었다. 당뇨병에서 간 무게 증가는 체내 인슐린 저하로 인해 당대사가 정상적으로 진행되지 않아 간 내에 지질이 축적됨으로써 간이 비대해지는 것으로 보고되어져 있다 (Dai et al., 1994). 신장 무게의 증가는 고혈당으로 인해 RNA 및 DAN의 합성을 증가시킴으로써 신장의 세포분열을 촉진시켜 신장이 비대해진다고 보고 (Dai et al., 1994)되어져 있으며 사구체 여과율의 증가와 함께 크기와 용적이 증가하기 때문이라는 연구보고도 있다 (Gallaher et al., 1993).

당뇨병 상태에서 생긴 산화적 스트레스는 생체대사 과정 중에 oxygen free radical을 생성하여 세포에 상해를 주며 특히 세포막의 다가불포화 지방산에 작용하여 지질과산화물을 끊임없이 생성하고 이로 인해 세포의 기능 손상을 초래한다 (Morel and Chisolm, 1989). XO는 생체조직에 존재하면서 산소자유라디칼 (oxygen free radical) 생성계 효소로 알려져 있으며 이 효소에 의해 생성된 oxygen free radical 중 세포 내 호흡 부산물로 생성되는 superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$)은 세포상해의 직접적인 원인으로 작용하는 것으로 알려져 있다. Superoxide anion radical은 SOD에 의해 hydrogen peroxide (H_2O_2)로 전환되며 이것은 다시 CAT 및 GPX에 의해서 H_2O 로 전환되어 무독화 되고 (Deisseroth and Dounce, 1970), GST도 유해산소 해독에 관여하는 것으로 알려져 있다. 신장조직의 XO, SOD, GST 활성이 정상군에 비해 당뇨병대조군에서 높게 나타난 이 연구결과는 STZ로 유도된 당뇨병쥐에서 oxygen free radical의 생성이 증가하여 이로 인한 지질과산화물의 증가로 산화적 손상이 가속화되고 이를 방어하기 위해 생체 내 유해산소 해독계 효소들의 활성이 높아진 것으로 해석된다. 숙지황 투여군에서 당뇨병대조군에 비하여 XO 활성이 유의하게 ($P<0.01$) 낮게 나타남으로써 숙지황이 oxygen free radical 생성을 낮추었음을 가늠케 한다. CAT 활성이 정상군에 비하여 당뇨병대조군에서 유의하게 ($P<0.05$) 감소한 연구결과는 당뇨병으로 인한 oxygen free radical과 지질과산화물 제거를 위해 SOD의 활성이 높아지고 세포소기관들의 산화적 손상이 가속화되어 유해대사 산물의 제거하기 위해 CAT 효소가 소모된 결과로 해석된다. 숙지황

투여군에서 당뇨대조군에 비하여 CAT 활성이 유의하게 ($P<0.05$) 높게 나타남으로써 숙지황이 산소자유라디칼 생성을 낮추고 이로 인해 해독계 방어 효소의 활성도가 높게 나타난 것으로 보인다. 정확한 기전 규명을 위해서는 시간 경과에 따른 추가적인 실험이 필요하리라 생각된다.

이상의 실험결과를 통해 숙지황은 혈당강하 효과를 보여 당대사를 개선할 뿐 아니라 당뇨로 인한 체중 감소를 방지하고 신장의 항산화계에 긍정적인 영향을 미침으로써 단백뇨를 감소시켜 당뇨병 개선 및 신장 보호효과에 유용성이 있을 것으로 기대된다.

REFERENCES

- Aebi H. Methods of Enzymatic Analysis. 1974. Vol 2. Academic Press. New York, USA.
- Cho SI. Anti-oxidative Effects of RADIX REHMANNIAE PREPARATA on Toxic Agent Induced Kidney Cell Injury. Kor J Herbol. 2003. 18: 119-126.
- Dai S, Thompson K, Mcneill JH. One-year treatment of streptozotocin-induced diabetic rats with vanadyl sulphate. Pharmacol Toxicol. 1994. 74: 99-107.
- Dalla Vestra M, Masiero A, Roiter AM, Saller A, Crepaldi G, Fioretto P. Is podocyte injury relevant in diabetic nephropathy? Studies in patients with type 2 diabetes. Diabetes 2003. 52: 1031-1035.
- Deisseroth A, Dounce A L. Catalase physical and chemical properties, mechanism of catalysis and physiological role. Physiol Rev. 1970. 50: 3-24.
- Gallaher DD, Casallany AS, Shoeman DW, Olson JM. Diabetes increase excretion of urinary malonaldehyde conjugates in rats. Lipids 1993. 28: 663-666.
- Grover JK, Yadav SP, Vats V. Effect of feeding Murraya koeingii and Brassica juncea diet kidney functions and glucose levels in streptozotocin diabetic mice. J Ethnopharmacol. 2003. 85: 1-5.
- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferase: The first enzymatic step in mercapturic acid and formation. J Biol Chem. 1974. 249: 7130-7139.
- Hammers HP, Martin S, Federlin K, Geisen K, Brownlee M. Aminoguanidine treatment inhibits the development of experimental diabetic retinopathy. Proc Nat Acad Sci. USA. 1991. 88: 11555-11558.
- Jensen PK, Christiansen JS, Steven K, Parving HH. Renal function in streptozotocin-diabetic rats. Diabetologia 1981. 21: 409-414.
- Koivisto VA. Insulin therapy in type II diabetes. Diabetes Care 1993. 16: 29-39.
- Krolewski AS, Warram JH, Christlieb AR, Busick EJ, Kahn CR. The changing natural history of nephropathy in type I diabetes. Am J Med. 1985. 78: 758-794.
- Lawrence JC, Jill SG, Eric PD, Joyce AD, Donald DL, Mark AY. Effect of antioxidant treatment of streptozotocin-induced diabetic rats on endoneurial blood flow, motor nerve conduction velocity and vascular reactivity of epineurial arterioles of the sciatic nerve. Diabetes 2001. 50: 1927-1937.
- Lee JS, Son HS, Maeng YS, Chang YK, Ju JS. Effects of buckwheat on organ weight, glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. Korean J Nutrition. 1994. 27: 819-827.
- Lee HS, Km ST, Cho KC. Effects of *Rhemanniae Radix* water extract on the renal function and renin secretion rate in unanesthetized rabbits. Am J Chin Med. 1981. 21: 179-186.
- Lowry OH, Rosenbrough NJ, Far AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951. 193: 265-275.
- Martin JP, Dailey M, Sugarman E. Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autoxidation. Arch Biochem Biophys. 1987. 255: 329-336.
- Matkovic B, Kotorman M, Varga IS, Hai DQ, Varga C. Oxidative stress in experimental diabetes induced by streptozotocin. Acta physiol Hung. 1998. 85: 29-38.
- Mohamed AK, Bierhaus A, Schiekofer S, Tritschler H, Ziegler R, Nawroth PP. The role of oxidative stress and NF-kappaB activation in late diabetic complications. Biofactors 1999. 10: 157-167.
- Morel DW, Chisolm GM. Antioxidative treatment of diabetic rats inhibits lipoprotein oxidation and cytotoxicity. J Lipid Res. 1989. 30: 1827-1834.
- Nepom GT. A unified hypothesis for the complex genetics of HLA association with IDDM. Diabetes 1990. 39: 1153-1157.
- O'Donnell MP, Kasiske BL, Keane WF. Glomerular hemodynamic and structural alterations in experimental diabetes mellitus. FASEB J. 1988. 2: 2339-2347.
- Rayfield EJ, Ishimura K. Environmental factors and insulin-dependent diabetes mellitus. Diabetes Metab Rev. 1987. 3: 925-931.
- Stirpe F, Della CE. The regulation of rat liver xanthine oxidase: Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydro-

- genase (typeD) oxidase (type O). J Biol Chem. 1969. 244: 3855-3863.
- Yokozawa T, Kim HY, Yamabe N. Amelioration of diabetic nephropathy by dried Rehmanniae Radix (Di Huang) extract. Am J Chin Med. 2004. 32: 829-839.
- West KM, Ahuja MS, Bennett PH. The role of circulating glucose and triglyceride concentrations and their interaction with other "risk factors" as determinants of arterial disease in nine diabetic population samples from the WHO multi-national study. Diabetes Care 1983. 6: 361-369.
-