

## 백당 투여의 자연발증당뇨병 랫드 (GK rat)에 대한 알카리 이온수의 영향

김진만\*\*\* · Yokoyama Kazuhito\*\*

선경인더스트리 중앙연구소 생명과학연구실\*

동경대학 의학부 공중위생학교실\*\*

(1997년 12월 13일 접수)

## Effects of Alkaline Ionized Water on Spontaneously diabetic GK-rats fed Sucrose

Jin-Man Kim\*\*\* and Kazuhito Yokoyama\*\*

Division of Life Science, R & D center, Sunkyong Industries\*

Department of Public Health, Faculty of Medicine, The University of Tokyo\*\*

**ABSTRACT :** This study was carried out to evaluate the effects of alkaline ionized water (AIW) on spontaneously diabetic GK-rats fed sucrose for aggravation of diabetes mellitus. One half of the 32 GK-rats was given AIW and the other was given tap water (TW) *ad lib*. These two groups were further divided into two subgroups by fed with or without 30% sucrose solution (8 in each group). In blood glucose level, sucrose fed TW group was significantly higher than the other groups. Sucrose fed both AIW and TW groups were significantly increased in body weight as compared to TW group. In serum malondialdehyde (MDA), a marker of lipid peroxide, sucrose fed TW group was significantly higher than AIW and TW groups. It is suggested that AIW supplementation may inhibit the increase of blood glucose and lipid peroxide levels in diabetes mellitus.

**Key words :** GK-rat, spontaneously diabetic rat, alkaline ionized water, sucrose, lipid peroxide.

### 서 론

G-K rat는 내당능을 지표로 선택교배를 반복하여 작성한 자연발증 당뇨병 랫드로서 다인자 유전에 의한 내당능의 이상을 일으켜 당뇨병 발증의 계통을 갖는다.<sup>1)</sup> 병태생리학적으로는 인슐린의 분비부전을 보여 포도당에 대해서 인슐린 분비반응의 저하를 나타내는 한편, 인슐린 저항성을 갖고 있어 혈중 인슐린이 상승할 때에도 혈당치가 높아지는 반응을 나타낸다.<sup>2,3)</sup> 간장에서는 당대사 조절인자인 fructose-2, 6-biphosphate(F2, 6P2)의 함량 저하<sup>4)</sup>와 췌 B세포에서 당수송담체(GLUT2)의 저하<sup>5)</sup>를 보이며 미세혈관장애<sup>6)</sup> 등도 관찰된다. G-K rat는 비교적 경증으로 고혈당 상태가 유지되고 있으나 당을 장기간 섭취할 경우에는 인슐린의 충분한 역할이 이루어지지 않는 반면 당의 혈중 방출은 지속되어 고혈당의 정도가 심화될 가능성이 높다.<sup>6,9)</sup>

알카리 이온수는 전자기에 의해 전기분해된 처리수중 알카리 성을 띠는 환원수이며 생체내에서 일어나는 free radical의 축적

및 반응을 억제와 환원시킴으로써 병적 현상의 예방 또는 치료가 가능할 것으로 시사되고 있다.<sup>10-14)</sup> Free radical을 주요 원인으로 하는 위점막 손상실험에서 알카리 이온수가 과산화지질의 증가를 억제하는 경향이 있다고 보고<sup>14)</sup>되었으며 Watanabe *et al*<sup>15)</sup>은 알카리 이온수를 수유기의 어미 랫드에 투여하여 신생아의 체중증가와 형태학적 발육성장을 가속화시키는 효과와 함께 또 다른 연구에서는 당분해효소중의 하나인 hexokinase activity를 유의하게 증가시킨다는 보고<sup>16)</sup>를 하였다.

본 연구는 자연발증당뇨병 G-K rat에 고혈당 상태를 심화시키고자 장기간 sucrose를 투여하여 체중과 혈당 및 혈중 과산화지질 수준의 변화양상을 관찰하고 이에 대한 알카리 이온수의 영향을 조사하고자 실시되었다.

### 재료 및 방법

**실험동물 :** G-K rat 수컷 7주령 32마리를 일본 중의제약 중앙연구소로부터 도입하여 1주일간 순화기간을 거친 후, 실험동

물로 사용하였다. 동물실의 사육조건은 온도  $21 \pm 1.5^\circ\text{C}$ , 상대습도  $56 \pm 5\%$ , 환기횟수 12~15회/시간, 소음 50db 이하, 조도 200~300Lux, 12시간 자동조명의 환경이었으며 실험동물은 철망 깔판의 투명 plastic cage에 2마리씩을 수용하여 실험에 사용하였다. 사료는 실험동물용 펠릿사료인 SE-2(일본쿠레아, 일본)를 자유급식시켰고, 음수는 실험목적에 따라 pH 7.4~7.6인 상수도수(Tap water, TA)와 의료용 전해질수 생성기인 Water therapy(大洋Engineering, 일본)를 이용하여 상수도수를 활성탄으로 여과한 후 전기분해 처리한 pH 9.6~9.8인 알카리 이온수(Alkaline ionized water, AIW)를 각각 자유급여시켰다. pH는 Accumet pH meter (Fisher Scientific, U.S.A.)를 사용하여 측정하였다.

**실험설계** : 장기간 당 투여에 의한 고혈당 유도여부를 관찰하고자 실험군을 30% sucrose 용액투여군과 무투여군으로 나누었고 각각을 다시 2분류하여 상수도수 및 알카리 이온수를 투여하였다. 전체적으로 4군으로 분류하고 각 군당 실험동물 8마리씩을 배치하여 상수도수 투여군, 알카리 이온수 투여군, sucrose + 상수도수 투여군 및 sucrose + 알카리 이온수 투여군으로 공시하였다.

**체중 및 혈당 측정** : 모든 군에 있어서 8주령에서 28주령까지의 20주간을 2주 간격으로 체중과 혈당을 동시에 측정하였다. 측정은 공복 및 섭식 직후를 피한 시간대인 오후 3~5시에 실시하였으며 체중은 rat-용 animal valance(Sartorius)를 사용하였고, 혈당은 랫트의 미정맥에서 채혈하여 GOD-PON법<sup>17)</sup>을 이용한 Onetouch II glucose meter(영연화화학사, 일본)를 사용하여 측정하였다.

**과산화지질 측정** : 실험 10주째와 최종 20주째에서 혈중 과산화지질을 정량하기 위해 thiobarbituric acid(TBA) 반응물질인

Malondialdehyde(MDA, nmol/ml) 량을 측정하였다. 랫트의 미정맥에서 0.05ml의 혈액을 취하여 0.9% NaCl 1ml 용액에 교반한 후, 원심분리(3,000rpm, 10분)하여 상층액 0.5ml를 취하여 Yagi<sup>18)</sup>의 방법에 의하여 실험을 실시하였다.

**통계처리** : 모든 자료는 Sigmapstat(Jandel Co., Version 2.0)를 이용한 ANOVA를 실시하여 F값이 유의성 있는 항목에 대하여 Tukey test에 의한 각 군의 유의성을 검정하였다.

결 과

Fig 1에 나타난 바와 같이 혈당수준은 sucrose+상수도수 투여군에서만 경시적인 증가를 보여 상수도수 투여군을 비롯한 다른 군에 비해 실험 후반부(18주, 20주)에 유의성( $p < 0.05$ )을 나타내었다. Sucrose+알카리 이온수 투여군의 혈당수준은 실험 전 기간 증가하지 않았으며, 알카리 이온수 투여군은 감소하는 경향까지 보였으나 상수도수 투여군과는 유의성이 관찰되지 않았다.

체중에 있어서는 상수도수 투여군에 비해 실험중반부(6주~12주)에는 sucrose를 투여한 양군이 유의한 증가( $p < 0.05$ )를 보였고, 실험후반부(18주, 20주)는 sucrose + 알카리 이온수 투여군과 알카리 이온수 투여군이 유의한 증가( $p < 0.05$ )를 나타내었다(Fig 2). 한편 sucrose + 알카리 이온수 투여군은 실험 후반부에 sucrose + 상수도수 투여군과도 유의성( $p < 0.05$ )을 보였다.

혈중 과산화지질은 다른 군에 비해 가장 높은 수준을 보인 sucrose + 상수도수 투여군이 실험중반(10주)에 상수도수 투여군과 알카리 이온수 투여군에 비해 유의한 증가( $p < 0.05$ )를 보였으며 실험후반(20주)에서는 알카리 이온수 투여군과 유의성( $p < 0.05$ )을 나타내었다(Fig 3).

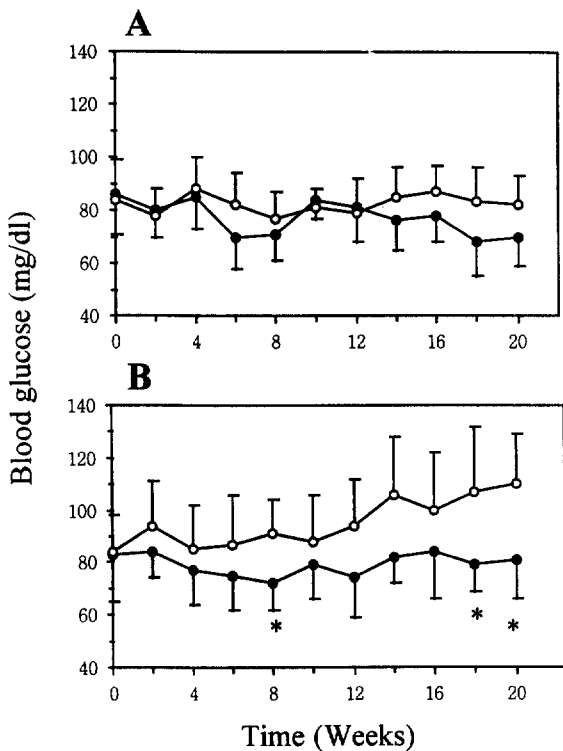


Fig 1. Blood glucose levels of GK-rats were given TW(○) and AIW(●) fed without sucrose (A); TW(○) and AIW(●) fed with sucrose (B). (\*,  $p < 0.05$ ).

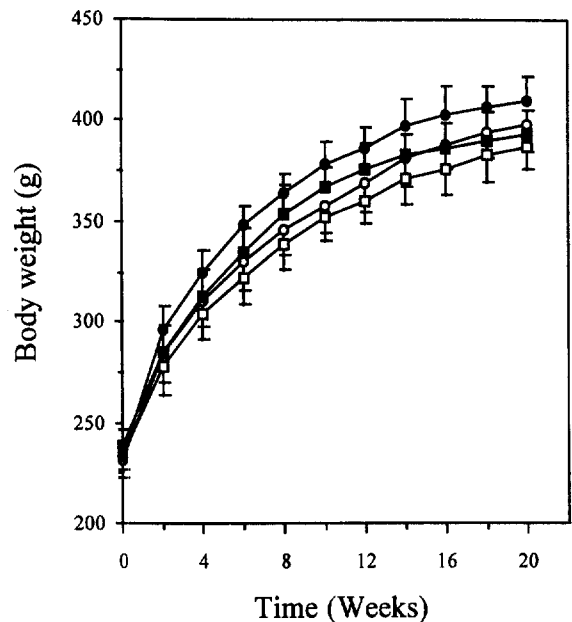


Fig 2. Body weights of GK-rats treated with TW(□), AIW(○), sucrose+TW(■), and sucrose+AIW(●).

고 찰

G-K rat는 정상 rat에 비하여 비교적 낮은 체중증가와 혈장

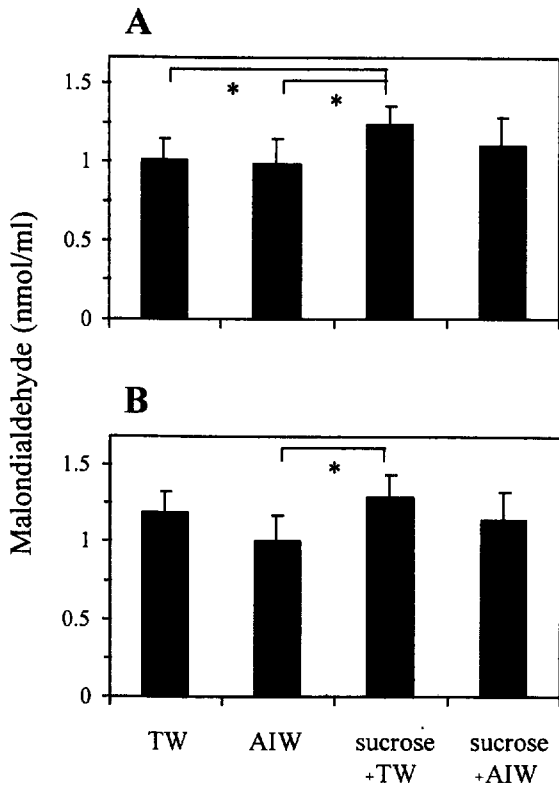


Fig 3. Serum lipid peroxide levels of GK-rats treated with TW, AIW, sucrose+TW, and sucrose+AIW. At 10 week(A) and 20 week(B) of experiment(\*, p < 0.05).

인슐린의 저하 및 낮은 고혈당 상태를 유지하여 비비만형 인슐린비의존성 당뇨병 증상을 나타낸다고 보고<sup>1,2)</sup>되었고, 본 실험에서의 G-K rat도 정도의 고혈당과 함께 낮은 상태의 체중증가를 보였다. Sucrose의 고혈당 유도작용 여부에 대해서는 동물의 유전적 소인의 차이에 따라 반응차가 있을 수 있다.<sup>7,8,19,20</sup> 체내 분비기능이 저하되어 있는 G-K rat의 경우에 sucrose가 투여되면 장에서 분해, 흡수된 glucose에 대한 체세포의 반응성의 저하 및 fructose에 대한 인슐린의 간에서 당방출억제작용 저하와 함께 당의 혈중 방출이 지속되어 고혈당의 장애가 증폭될 가능성이 높다.<sup>2,3,6,21</sup> 본 실험에서도 G-K rat에 sucrose를 장기간 투여하여 고혈당 수준의 상승 유도와 함께 체중증가의 상승 결과를 얻었으며 혈중 과산화지질이 증가한 변화를 보였다. 당뇨병에서 혈중 과산화지질의 증가는 지질과산화반응과 함께 free radical을 다량 발생시키므로서 당뇨병 자체의 정도를 심화시키거나 합병증의 유발을 일으킨다.<sup>11-14,22</sup>

한편, 알카리이온수는 G-K rat에 있어서 sucrose 투여에 의해 상승되는 혈당의 수준을 억제하는 결과를 보였다. 이에 대한 작용기전을 본 실험에서는 알 수 없었으나 알카리이온수가 hexokinase activity를 증강시킨다는 연구 결과<sup>16)</sup>에 비추어 볼 때, 당분해 효소의 작용조절에 관여하는 것이 혈당강하의 주요인중의 하나로 고려된다. 한편 sucrose 투여에 의해 증가되는 혈중 과산화지질의 수준에 대해서는 직접적인 영향을 보이지 않았으나 알카리이온수 투여군의 혈중 과산화지질의 수준이 가장 낮은 경향을 볼 때, 과산화반응에 대한 알카리이온수의 환원작용이 혈중 과산화지질의 증가를 억제하는 것<sup>19)</sup>이 아닌가 생각

된다. 체중증가를 가속화시킨 점에 대해서는 알카리이온수가 sucrose 투여에 의해 심화되는 당뇨병의 상태를 억제시키므로서 실험결과에는 언급되지 않았으나 거의 정상적인 사료섭취와 함께 sucrose의 과칼로리에 의한 체지방조직의 축적에 기인하는 것<sup>6,8)</sup>으로 고려된다. 알카리이온수에 대한 공중보건학적인 연구는 아직 미흡한 수준이나 본 연구에서 관찰된 당부하에 의해 심화된 당뇨병에 대한 알카리이온수의 억제효과 및 작용기전에 관해서는 앞으로 여러 각도에서 보다 심도있는 연구가 필요하다고 생각한다.

참고 문헌

1. Suzuki K and Goto Y(1994) : Diabetic pathophysiology and complications of GK rats; Spontaneously diabetic model produced by selective breeding. Pathophysiology, Japan, 13(1) : 34-46.
2. Porthra B, Serradas P, Balibe D, et al.(1991) : B-cell insensitivity to glucose in the GK rat, a spontaneous nonobese model for type II diabetes. Diabetes, 40 : 486-491.
3. Ostenson CG, Khan A, Abdel-Halim SM, et al.(1993): Abnormal insulin secretion and glucose metabolism in pancreatic islets from the spontaneously diabetic GK rat. Diabetologia, 36 : 3-8.
4. Ohneda M, Johnson JH, Inman LR, et al.(1993) : GLUT 2 expression and function in B-cells of GK rats with NIDDM; dissociation between reductions in glucose transport and glucose-stimulated insulin secretion. Diabetes, 42 : 1065-1072.
5. 後藤由夫(1986) : 糖尿病 動脈硬化. 動脈硬化, 14 : 247-258.
6. 小高裕支, 高見健治, 志野晟生, 彩山泰雄, 松尾隆夫, 鈴木研一, 後藤由夫(1989) : ショ糖溶液攝取の自然發症糖尿病GKラットにおける糖尿病の重症化. 糖尿病動物, 3 : 84-90.
7. Laube HH, et al.(1976) : Insulin secretion and biosynthesis in sucrose fed rats. Diabetologia, 12 : 441-446.
8. Hallfrisch J, et al.(1979) : Insulin and glucose responses in rats fed sucrose or starch. Am J Clin Nutr, 32 : 787-793.
9. Tamaki S, Yokoyama K, Kim JM, Tanigawa T, Araki S, Suzuki K and Goto Y (1994) : Effect of function water on predisposing factors of diabetes mellitus studies on spontaneous NIDDM rats. 日本機能水研究振興財團 平成6年研究報告書 : 6-11.
10. 浦田純一(1994) : 新しい水の可能性について-機能水の公衆衛生への應用とその将来展望. 公衆衛生, 58(11) : 755-758.
11. Yoshikawa T, Naito Y, Kishi A, et al.(1993) : Role of active oxygen, lipid peroxidation, and antioxidants in the pathogenesis of gastric mucosal injury induced by indomethacin in rats. GUT, 34 : 732-737.
12. Armstrong AM, Chestnutt JE, Gormley MJ and Young IS(1996) : The effect of dietary treatment on lipid peroxidation and antioxidant status in newly diagnosed noninsulin dependent diabetes. Free Radic Biol Med, 21(5) : 719-726.
13. Peuchant E, Delmas-Beauvieux MC, Dubourg L, Thomas MJ, et al. (1997) : Short-term insulin therapy and normoglycemia. Effects on erythrocyte lipid peroxidation in NIDDM patients. Diabetes Care, 20(2) : 202-207.
14. Yoshikawa T, Arai M, Naito Y, Yagi N, Matsuyama K, Nishimura S and Kondo M (1994) : Effects of function water on gastric mucosal injury in rats. 日本機能水研究振興財團 平成6年研究報告書 : 104-110.
15. Watanabe T(1995) : Effect of alkaline ionized water on reproduction in gestational and lactational rats. J Toxicol Sci, 20(2) : 135-142.
16. Watanabe T, Kishikawa Y and Shirai W(1997) : Influence of alkaline

- ionized water on rat erythrocyte hexokinase activity and myocardium. *J Toxicol Sci*, 22(2) : 141-152.
17. Werner W, *et al.* (1970) : Uber die Eigenschaften eines neuen Chromogens fur die Blutzuckerbestimmung nach der GOD/POD-Methode. *Z Anal Chem*, 252 : 224-228.
  18. Yagi K (1984) : Assay for blood plasma or serum. pp.328-331 : *Methods Enzymol*, 105. Academic Press, New York.
  19. Lin W and Anderson JW (1977) : Effects of high sucrose or starch bran diets on glucose and lipid metabolism of normal and diabetic rats. *J Nutr*, 107 : 584-595.
  20. Portha B, *et al.* (1982) : Effects of diet on glucose tolerance and insulin response in chemically diabetic rats. *Metabolism*, 21 : 1194-1199.
  21. Tobey TA, *et al.* (1982) : Mechanism of insulin resistance in fructose-fed rats. *Metabolism*, 31 : 608-612.
  22. Griesmacher A, Kindhauser M, Andert SE, Schreiner W, *et al.* (1995) : Enhanced serum levels of thiobarbituric-acid-reactive substances in diabetes mellitus. *Am J Med*, 98(5) : 469-475.
-