

## 과혈당증 및 저혈당증이 마우스 뇌내 Catecholamine 함량에 미치는 영향\*

계명대학교 의과대학 애리학교실

이 성 룡·김 수 경

### 서 론

Insulin의 존형 당뇨병 환자나 실험적으로 당뇨를 유발시킨 동물의 뇌조직에서 신경 전달체 함량의 변동에 관한 많은 보고들<sup>1-10)</sup>이 있으며, 저혈당증시에도 뇌조직에서 신경 전달체의 함량 변동과 대사의 변화에 대한 보고들<sup>2,11,12)</sup>이 있다.

Insulin의 존형 당뇨병에서 감정 및 정서변화<sup>13,14)</sup>, 정동장애<sup>15)</sup>, 행동변화<sup>16)</sup> 및 내분비 변화<sup>17-19)</sup>를 관찰할 수 있으며 또 이러한 변화는 insulin 투여에 의해 영향을 받는다는 보고<sup>19)</sup>가 있으며 반면 insulin 투여에 의해 영향을 받지 않는다는 상반된 보고<sup>20)</sup>도 있다. 신경전달체의 변화에는 Trulson 등<sup>8)</sup>이 실험적으로 유발시킨 당뇨백서에서 뇌내의 serotonin 함성이 저하된다고 보고하였고 Glanville와 Anderson<sup>3)</sup>은 당뇨 유발 백서의 뇌하수체에서 탄수화물 음식 섭취에 의해 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol(MHPG)의 축적이 감소되고 tyrosine을 함유한 단백질 음식물 섭취에 의해 MHPG의 축적이 증가한다고 하였다.

한편, Sauter 등<sup>12)</sup>은 insulin을 투여하여 저혈당증이 유발된 백서에서 뇌하수체내 norepinephrine(NE), epinephrine(E) 및 dopamine(DA)의 분비가 증가됨을 보고하였다.

정동장애가 catecholamine과 밀접한 연관이 있는 것<sup>21)</sup>은 주지의 사실로서 특히 NE의 관련성이 강조되고 있고, DA은 정신질환, 행동변화 및 상동성 운동<sup>22)</sup> 등과 밀접한 관련성이 있는 것으로 알려져 있다. 운동기능의 항진은 뇌내의 NE에 의해 기인되고 특히, 상동성 운동은 DA계에 의한다고 한다. Shimomura 등<sup>10)</sup>은 혈당변화와 운동기능 변화와의 관계에 있어서 DA이 관련됨을 보고하였다.

Thornburg와 Moore<sup>23)</sup>는 apomorphine에 의한 운동변화를 본 실험에서 운동증가는 DA성 뿐만 아니라

noradrenaline 성 신경계가 관련된다고 주장하였다. 소뇌-뇌하수체간의 신경전달체계 연구에서 소뇌의 신경계가 정동장애와 관계가 있다고 하는 보고<sup>24)</sup>도 있다.

Insulin의 존형 당뇨병은 성인기에 비하여 아동기에 비교적 호발하는 질환이고 소아에서 발생시에 정동장애를 비교적 자주 관찰할 수 있다고 한다.

본 실험에서는 당뇨병과 저혈당시의 혈당량의 변화와 신경전달체의 함량의 변화와의 관계를 관찰하여 당뇨병에서 보고된 여러 정서, 행동 장애 발생의 기전 설명에 신경전달체의 관련 여부와 아울러 저혈당 상태에서 신경전달체의 함량의 변동을 알아보기로 하였다. 실험동물에서의 당뇨병 유도는 streptozotocin<sup>25-29)</sup>을 사용하였으며, 저혈당증은 regular insulin을 주사하여 유도하였다. 마우스의 전뇌(whole brain) 및 세부분으로 나눈, 즉 뇌교/연수와 소뇌, 및 뇌교/연수와 소뇌를 제외한 나머지인 잔여 뇌(대뇌와 청합) 조직에서 catecholamine 함량(NE, DA)과 그의 주요 대사물(MHPG, HVA=homovanillic acid)을 측정하여 혈당량 변화와 뇌내 catecholamine 변화를 관찰하여 흥미있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

### 재료 및 방법

실험동물은 일정한 사료로 4주 이상 동일 장소에서 사육한 20g 내외의 ICR종 마우스를 암, 수 구분 없이 사용하였으며 실험군은 각 군당 평균 10마리를 사용하였고, 실험군은 다음과 같이 구분하였다.

대조군 : pH 4.5의 0.05M citrate buffer를 약물 투여량과 동량을 투여한 군

당뇨유도군 : Streptozotocin을 복강내에 200mg/kg를 주사하여 당뇨증상을 유도한 군

Nicotinamide 전처치군 : Streptozotocin 주사 10분 전에 nicotinamide 500mg/kg를 복강내 투여한 군

\* 이 논문은 이성룡의 석사학위 논문임

**저혈당 유도군:** Regular insulin 2 IU/kg를 피하주사한 군

**Insulin 치료군:** Streptozotocin에 의한 당뇨 유도군에 1일 2회 10일간 protamine zinc insulin 2 IU/kg를 피하주사한 군

동물 뇌조직은 두경부를 절단하여 즉시 적출하였으며, 그 시기는 오전 10시경으로, 당뇨 유도군은 당뇨가 유도된 후 10일째, 저혈당 유도군은 regular insulin 투여 2시간후, insulin 치료를 실시한 군은 마지막 insulin 투여 12시간후에 시행하였으며 대조군은 citrate buffer를 약물투영량과 동량 투여한 후 10일째 시행하였다.

혈당 측정은 Somogyi-Nelson법<sup>30)</sup>으로 하였고 혈장 insulin 측정은 혈장 분리후 -70°C 냉동 보관한 다음 RIA-kit를 사용하여  $\gamma$ -counter로 측정하였다.

뇌조직내 NE 및 DA 함량의 측정은 마우스 경부를 오전 10시 전·후에 절단하여 충분히 실혈시킨 후, 즉시 절개하여 뇌를 적출하여 0.1M perchloric acid와 2.7mM EDTA 용액으로 4°C에서 균등마세한 후 4°C 25,000g로 10분간 원심분리후, 상층액 200 $\mu$ l를 튜브에 떫기고 GSH(0.2mol/l)와 EDTA(0.2mol/l)를 각각 50  $\mu$ l씩 첨가하고 30mg의 활성화된 alumina를 넣고 1분간 잘 섞은 다음 tris buffer (1M, pH 8.6) 200 $\mu$ l를 첨가하고 15분간 잘 혼든 후 3mM EDTA-용액으로 3번 세척한 후, 0.1M perchloric acid와 running buffer를 첨가해서 진탕한 후 원심분리시켜 상층액 100  $\mu$ l을 주입하여 측정하였다.

뇌조직내 MHPG 및 HVA 함량 측정은 마우스 경부를 오전 10시 경에 절단한 후 충분히 실혈시킨 후 뇌조직을 적출하여 0.1M citric acid-0.2M sodium dihydrogen phosphate buffer(pH 3.0)에서 균등마세 시킨 후 5분간 8,000g로 원심분리하여 그의 상층액 200  $\mu$ l를 취한 후 ethyl acetate 2.0ml로 두번 추출하여 질소 가스하, 37°C에서 ethyl acetate를 증발시킨 후 200 $\mu$ l의 running buffer로 가검물을 재구성한 다음 100 $\mu$ l를 취하여 측정하였다.

NE와 DA 및 그의 주요대사물의 측정은 Gilson사의 isocratic high performance liquid chromatograph (HPLC)로 측정하였으며, 컬럼은 NE 및 DA의 측정을 위해서는 Gilson ODS (4.6mm id×25cm)를 사용하였고 그의 대사물 측정을 위해서는 ERC ODS 1161 (4.6mm id×15cm)를 사용하였다. 측정은 electrochemical detector(Gilson 141)로 하였으며 이때 전압은 0.75V, 예민도는 NE 및 DA 측정시는 2nA/V이고 그의

대사물 측정시에는 1nA/V이였다. 이동상의 유속은 분당 1.2ml이였고 이동상의 조성은 NE 및 DA 측정시는 0.05M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>와 0.02mM EDTA의 용액을 만든 후 이 용액에 ion pairing reagent인 sodium octane sulfonate를 0.5mM되게 첨가하고 perchloric acid로 pH 3.7에 산도를 맞추었으며 이를 사용하기 직전에 HPLC급 methanol과 94 : 6(v/v)으로 혼합한 다음 Nylon-66 filter(0.2 $\mu$ m-pore)로 강압하에 여과-탈기하였으며, 대사물 측정시는 0.1M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 용액을 만든 후 HPLC급 methanol를 8% 되게 첨가하고 perchloric acid로 pH 4.0에 산도를 맞추었다.

본 실험에 사용된 약물은 Streptozotocin(Sigma사), Nicotinamide(Sigma사), Regular Insulin(녹십자(주))과 Protamine Zinc Insulin(녹십자(주))이며, 실험성적은 chromatogram의 높이를 기준하여 internal standard를 만들어 얻은 회수율을 환산하였으며 통계처리는 Student's t-test로 하였다.

## 성 적

### 혈당치와 혈장 Insulin치의 변동

당뇨유도군의 혈당치는  $451.42 \pm 11.83\text{mg\%}$ 로서 대조군 ( $118.06 \pm 5.19\text{mg\%}$ )에 비하여 유의하게 ( $p < 0.01$ ) 증가하였고 nicotinamide 전처치군의 혈당치는  $129.00 \pm 4.58\text{mg\%}$ 로서 대조군과 유사하였으며 저혈당유도군에서는  $46.00 \pm 2.28\text{mg\%}$ 로써 대조군에 비해

Table 1. Changes of blood glucose(mg%) and plasma insulin (μIU/ml) level by streptozotocin, insulin and nicotinamide in mice

Treatment	Blood glucose	Plasma insulin	n
Control	$118.06 \pm 5.29$	$90.14 \pm 4.41$	16
STZ	$451.42 \pm 11.83^{**}$	$35.18 \pm 3.15^{**}$	20
N+S	$129.00 \pm 4.58$	$84.26 \pm 7.84$	20
Insulin	$46.00 \pm 2.28^{**}$	ND	20
IRT	$137.63 \pm 9.28$	ND	20

The value represents mean  $\pm$  S.E. n = number of animals

\*\*:  $p < 0.01$ : significance vs. control

Control: citrate buffer administration group

STZ: streptozotocin(200mg/kg) administration group

N+S: nicotinamide(500mg/kg) pretreated group

Insulin: regular insulin (2IU/kg) administration group

IRT: insulin replacement therapied group

ND: not determined

유의하게 ( $p<0.01$ ) 감소하였으며, insulin 치료군에서는  $137.63 \pm 9.28$  mg%로써 대조군과 별 차이가 없었다. 혈장 insulin치는 당뇨 유발군이  $35.10 \pm 3.15$   $\mu$ IU/ml로 대조군( $90.14 \pm 4.41$   $\mu$ IU/ml)에 비해 유의하게 ( $p<0.01$ ) 감소하였고 nicotinamide 전처치군의 insulin치는  $84.26 \pm 7.84$   $\mu$ IU/ml로써 대조군과 별 차이가 없었다

(Table 1).

전뇌(whole brain) 조직내의 NE, DA, MHPG 및 HVA의 함량변동

당뇨 유도군의 NE함량은  $219.19 \pm 12.46$  ng/g으로써 대조군 ( $212.19 \pm 12.46$  ng/g)에 비해 다소 증가하였으

Table 2. Changes of concentration(ng/g) of norepinephrine(NE), dopamine(DA), 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol(MHPG) and homovanillic acid(HVA) by streptozotocin, insulin and nicotinamide in mouse whole brain

Treatment	NE	DA	MHPG	HVA
Control	$202.96 \pm 7.11$	$621.54 \pm 20.22$	$124.24 \pm 7.96$	$87.99 \pm 4.03$
STZ	$212.19 \pm 12.46$	$763.35 \pm 24.25^{**}$	$115.75 \pm 23.41$	$74.44 \pm 2.82^*$
N + S	$203.74 \pm 7.43$	$619.14 \pm 18.64$	$132.10 \pm 4.62$	$87.30 \pm 9.98$
Insulin	$194.90 \pm 8.75$	$603.76 \pm 20.77$	$134.01 \pm 3.53$	$92.58 \pm 3.88$
IRT	$204.33 \pm 7.20$	$621.76 \pm 20.77$	$130.82 \pm 4.44$	$86.44 \pm 5.75$

The value represents mean  $\pm$  S.E.

\*:  $p<0.05$ : significance vs. control

\*\*:  $p<0.01$ : significance vs. control

See table 1 for abbreviation.

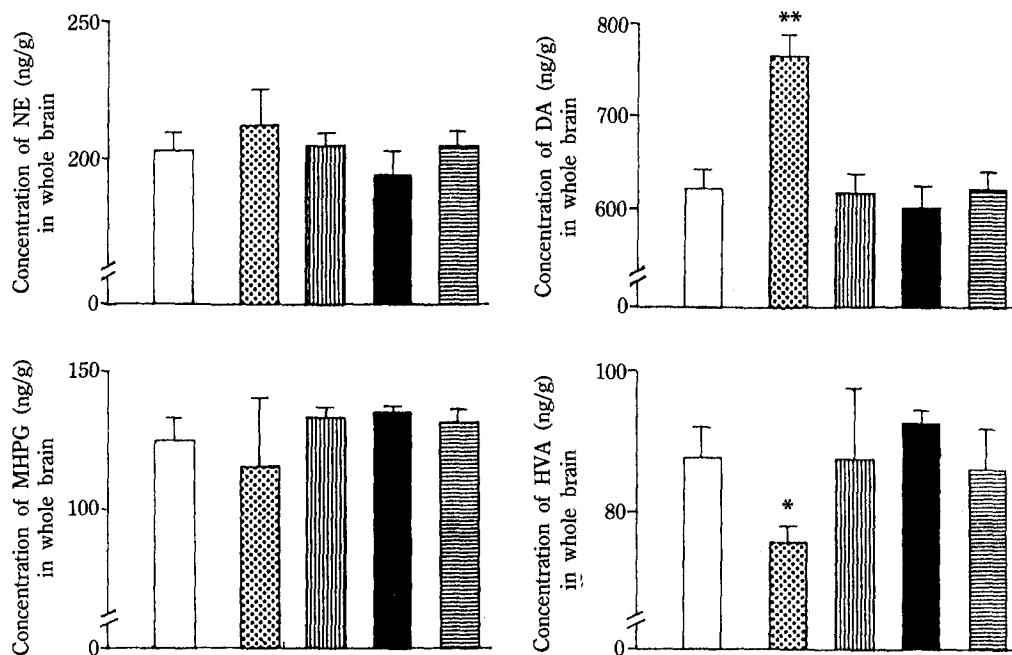


Fig 1. Changes of norepinephrine(NE), dopamine(DA), 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol(MHPG) and homovanillic acid(HVA) level by streptozotocin, insulin and nicotinamide in mouse whole brain.

{\*:  $p<0.05$  \*\*:  $p<0.01$ : significance vs. control  
 □: control    ■: streptozotocin administration group  
 ▒: regular insulin administration group    ┏: insulin replacement therapied group  
 └: nicotinamide pretreated group

나 유의하지는 않았다. Nicotinamide 전처치군, 저혈당 유도군 및 insulin 치료군에서의 NE 함량변동은 모두 대조군에 비하여 유의한 차이는 없었다. DA 함량은 당뇨 유도군이  $763.35 \pm 24.25$  ng/g로써 대조군 ( $621.54 \pm 20.22$  ng/g)에 비하여 유의하게( $p < 0.01$ ) 증가하였고, nicotinamide 전처치군, 저혈당 유도군 및 insulin 치료군에서는 모두 대조군에 비하여 유의한 차이를 보이지 않았다. MHPG 함량은 유의한 차이를 보이는 군이 없었고 HVA 함량은 당뇨 유도군이  $74.44 \pm 2.82$  ng/g로 대조군( $87.99 \pm 4.03$  ng/g)에 비하여 유의하게( $p < 0.05$ ) 감소하였으며 나머지 군에서는 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 2, Fig 1).

#### 뇌교/연수, 소뇌와 대뇌 조직내의 NE와 DA의 함량변동

뇌교/연수 : 당뇨 유도군의 NE 함량은  $236.57 \pm 7.79$  ng/g이며 nicotinamide 전처치군, 저혈당유도군 및 insulin 치료군의 NE 함량은 각각  $226.86 \pm 20.01$ ,  $224.91 \pm 18.38$  및  $222.67 \pm 9.45$  ng/g으로써 모두 대조군 ( $225.95 \pm 3.49$  ng/g)에 비해 유의한 차이를 보이지 않았다. DA 함량은 당뇨 유도군에서  $45.19 \pm 9.85$  ng/g이고 nicotinamide 전처치군, 저혈당 유도군 및 insulin 치료군에서는 각각  $39.74 \pm 3.39$ ,  $38.36 \pm 5.09$  및  $37.18 \pm 3.39$  ng/g으로써 모두 대조군 ( $39.99 \pm 4.44$  ng/g)에 비하여 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 3, Fig 2).

소뇌 : 당뇨유도군의 NE 함량은  $120.75 \pm 3.97$  ng/g으

Table 3. Changes of concentration (ng/g) of norepinephrine (NE) and dopamine (DA) by streptozotocin, insulin and nicotinamide in mouse pons/medulla, cerebellum and cerebrum

Treatment	Pons/medulla		Cerebellum		Cerebrum	
	NE	DA	NE	DA	NE	DA
Control	$225.95 \pm 3.49$	$39.99 \pm 4.44$	$107.22 \pm 2.87$	$27.87 \pm 30.5$	$177.61 \pm 3.74$	$1006.25 \pm 19.18$
STZ	$236.57 \pm 7.79$	$45.19 \pm 9.85$	$120.75 \pm 3.97^*$	$32.69 \pm 3.00$	$200.61 \pm 2.24^*$	$1137.65 \pm 35.86^*$
N + S	$226.86 \pm 20.01$	$39.74 \pm 3.39$	$97.98 \pm 15.62$	$25.38 \pm 1.54$	$170.54 \pm 12.42$	$1026.29 \pm 21.98$
Insulin	$224.91 \pm 18.38$	$38.46 \pm 5.09$	$108.45 \pm 2.40$	$27.87 \pm 1.23$	$156.39 \pm 14.28$	$954.96 \pm 23.08$
IRT	$222.67 \pm 9.45$	$37.18 \pm 3.39$	$102.95 \pm 5.50$	$26.92 \pm 3.85$	$164.51 \pm 4.29$	$990.43 \pm 19.38$

The value represents mean  $\pm$  S. E.

\*:  $p < 0.05$ : significance vs. control

\*\*:  $p < 0.01$ : significance vs. control

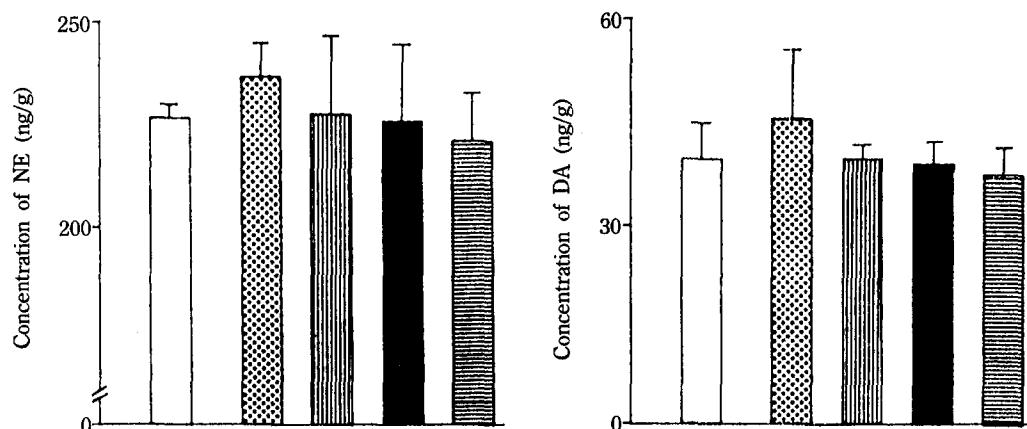


Fig 2. Changes of norepinephrine(NE), and dopamine(DA) level by streptozotocin, insulin and nicotinamide in mouse pons/medulla oblongata.

{  : control    : streptozotocin administration group  
 : regular insulin administration group    : insulin replacement therapy group  
 : nicotinamide pretreated group

Table 4. Changes of concentration (ng/g) of 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol(MHPG) and homovanillic acid(HVA) by streptozotocin, insulin and nicotinamide in mouse cerebellum and cerebrum

Treatment	Cerebellum		Cerebrum	
	MHPG	HVA	MHPG	HVA
Control	62.84±3.39	12.55±1.72	106.77±14.43	154.53±8.40
STZ	57.72±3.85	11.94±1.32	92.34±8.89	126.11±6.75*
N+S	65.41±5.88	12.24±0.84	105.81±21.16	156.22±21.46
Insulin	67.33±5.77	12.52±1.39	111.58±19.24	168.46±6.69
IRT	63.49±1.93	12.66±1.83	109.66±17.32	154.48±17.76

The value represents mean±S.E.  
\*: p<0.05: significance vs. control

로써 대조군 ( $107.22\pm2.87$ ng/g)에 비해 유의하게 ( $p<0.05$ ) 증가하였고, nicotinamide 전처치군, 저혈당 유도군, insulin 치료군의 NE함량은 각각  $97.98\pm15.62$ ,  $108.45\pm2.4$ ,  $102.95\pm5.5$ ng/g으로써 유의한 차이는 볼 수 없었다. DA함량은 당뇨 유도군에서  $32.69\pm3.00$  ng/g으로 대조군( $27.87\pm3.05$ ng/g)에 비해 다소 증가하였으나 유의하지 않았으며 나머지 군에서도 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 3, Fig 2).

대뇌 : 당뇨 유도군의 NE함량은  $200.61\pm2.24$ ng/g으로써 대조군( $177.61\pm3.74$ ng/g)에 비해 유의하게 ( $p<0.01$ ) 증가하였고 nicotinamide 전처치군, 저혈당 군 및 insulin 치료군에서는 각각  $170.54\pm12.42$ ng/g,  $156.39\pm14.28$ ng/g 및  $164.41\pm4.29$ ng/g으로써 대조군에 비하여 유의한 차이를 보이지 않았다.

DA함량은 당뇨유도군에서  $1,137.65\pm35.86$ ng/g으로써 대조군( $1,006.25\pm19.18$ ng/g)에 비하여 유의하게 ( $p<0.01$ ) 증가하였고, nicotinamide 전처치군, 저혈당 군 및 insulin 치료군에서는 각각  $1026.29\pm21.98$ ,  $965.96\pm23.08$  및  $990.43\pm19.38$ ng/g으로써 대조군에 비해 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 3, Fig 2).

#### 소뇌와 대뇌 조직내의 MHPG와 HVA의 함량 변동

소뇌 : 당뇨 유도군의 MHPG함량은  $57.72\pm3.85$ ng/g으로써 대조군( $62.84\pm3.39$ ng/g)에 비해 다소 감소하였으나 유의하지 않았고, nicotinamide 전처치군, 저혈당군, insulin 치료군의 함량은 각각  $65.41\pm5.88$ ,  $67.33\pm5.77$ ,  $63.49\pm1.93$ ng/g으로 유의한 차이는 보이지 않았다. HVA함량은 당뇨 유도군, nicotinamide 전처치군, 저혈당 유도군 및 insulin 치료군에서 각각  $11.94\pm1.32$ ,  $12.24\pm0.84$ ,  $12.52\pm1.39$  및  $12.66\pm1.83$

ng/g으로써 대조군( $12.55\pm1.72$ ng/g)에 비해 별 차이가 없었다(Table 4).

대뇌 : 당뇨 유도군의 MHPG함량은  $92.34\pm8.89$ ng/g으로 대조군( $106.77\pm14.44$ ng/g)에 비해 유의한 차이를 보이지 않았으며 nicotinamide 전처치군, 저혈당유도군 및 insulin치료군은 각각  $105.81\pm21.16$ ,  $111.58\pm19.24$ ,  $109.66\pm17.32$ ng/g으로 대조군에 비하여 유의한 차이는 없었다. HVA함량은 당뇨 유도군에서  $126.11\pm6.75$ ng/g로 대조군 ( $154.53\pm8.40$ ng/g)에 비해 유의하게 ( $p<0.05$ ) 감소하였으며 nicotinamide전처치군, 저혈당유도군 및 insulin치료군에서의 HVA함량은 각각  $156.22\pm21.46$ ,  $168.46\pm6.69$ ,  $154.48\pm17.76$ ng/g으로써 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 4).

#### 전뇌(whole brain), 소뇌 및 대뇌 조직내의 MHPG/NE비의 변동

전뇌(whole brain) : 당뇨 유도군은  $0.54\pm0.07$ 로 대조군 ( $0.64\pm0.02$ )에 비해 다소 감소하였으나 유의

Table 5. Changes of MHPG/NE ratio by streptozotocin, insulin and nicotinamide in mouse whole brain, cerebellum and cerebrum

Treatment	MHPG/NE ratio		
	Whole brain	Cerebellum	Cerebrum
Control	0.64±0.02	0.58±0.01	0.60±0.01
STZ	0.54±0.07	0.48±0.01**	0.46±0.002**
N+S	0.64±0.01	0.67±0.07	0.62±0.01
Insulin	0.69±0.02	0.62±0.03	0.71±0.12
IRT	0.64±0.01	0.62±0.02	0.66±0.05

The value represents mean±S.E.

\*\*: p<0.01: significance vs. control

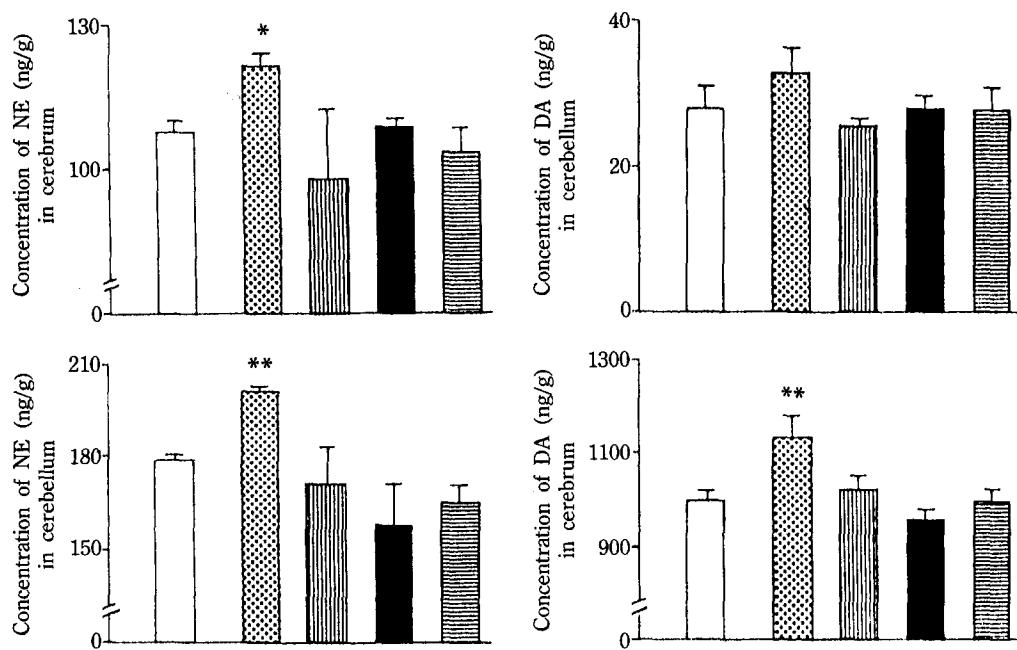


Fig 3. Changes of norepinephrine(NE), dopamine(DA) level by streptozotocin, insulin and nicotinamide in mouse cerebellum and cerebrum.

{   
 ━━━━: control ━━: streptozotocin administration group ━━: regular insulin administration group  
 ━━: insulin replacement theraped group ━━: nicotinamide pretreated group  
 \*:  $p < 0.05$ : significance vs. control  
 \*\*:  $p < 0.01$ : significance vs. control

하지 않았고, nicotinamide 전처치군, 저혈당 유도군, insulin치료군은 각각  $0.64 \pm 0.01$ ,  $0.69 \pm 0.02$ ,  $0.64 \pm 0.01$ 으로써 유의한 차이는 보이지 않았다 (Table 5, Fig 3).

소뇌 : 당뇨 유도군은  $0.48 \pm 0.01$ 로 대조군 ( $0.58 \pm 0.01$ )에 비해 유의하게 ( $p < 0.01$ ) 감소하였고, nicotinamide 전처치군, 저혈당군 및 insulin 치료군의 비는 각각  $0.67 \pm 0.07$ ,  $0.62 \pm 0.03$ ,  $0.62 \pm 0.02$ 으로써 유의한 차이를 보이지 않았다 (Table 5, Fig 3).

대뇌 : 당뇨 유도군은  $0.46 \pm 0.002$ 로 대조군 ( $0.06 \pm 0.01$ )에 비해서 유의하게 ( $p < 0.01$ ) 감소하였고, nicotinamide 전처치군, 저혈당 유도군 및 insulin치료군은 각각  $0.62 \pm 0.01$ ,  $0.71 \pm 0.21$ ,  $0.66 \pm 0.05$ 으로써 유의한 차이를 보이지 않았다 (Table 5, Fig 3).

전뇌 (whole brain), 소뇌 및 대뇌 조직내의 HVA/DA비의 변동

전뇌 (whole brain) : 당뇨 유도군은  $0.10 \pm 0.001$ 으로써 대조군 ( $0.14 \pm 0.01$ )에 비해 유의하게 ( $p < 0.01$ )

감소하였고 nicotinamide 전처치군, 저혈당유도군 및 insulin 치료군의 비는 각각  $0.14 \pm 0.01$ ,  $0.15 \pm 0.001$ ,  $0.14 \pm 0.001$ 으로써 유의한 차이를 보이지 않았다 (Table 6, Fig 4).

소뇌 : 당뇨 유도군은  $0.37 \pm 0.03$ 으로써 대조군 ( $0.45 \pm 0.05$ )에 비해 다소 감소하였으나 유의하지는 않

Table 6. Changes of HVA/DA ratio by streptozotocin, insulin and nicotinamide in mouse whole brain, cerebellum and cerebrum

Treatment	HVA/DA ratio		
	Whole brain	Cerebellum	Cerebrum
Control	$0.14 \pm 0.01$	$0.45 \pm 0.05$	$0.15 \pm 0.01$
STZ	$0.10 \pm 0.001^{**}$	$0.37 \pm 0.03$	$0.11 \pm 0.004^{**}$
N+S	$0.14 \pm 0.01$	$0.48 \pm 0.01$	$0.13 \pm 0.003$
Insulin	$0.15 \pm 0.001$	$0.45 \pm 0.004$	$0.17 \pm 0.01$
IRT	$0.14 \pm 0.001$	$0.47 \pm 0.001$	$0.16 \pm 0.01$

The value represents mean  $\pm$  S.E.

\*\*:  $p < 0.01$ : significance vs. control

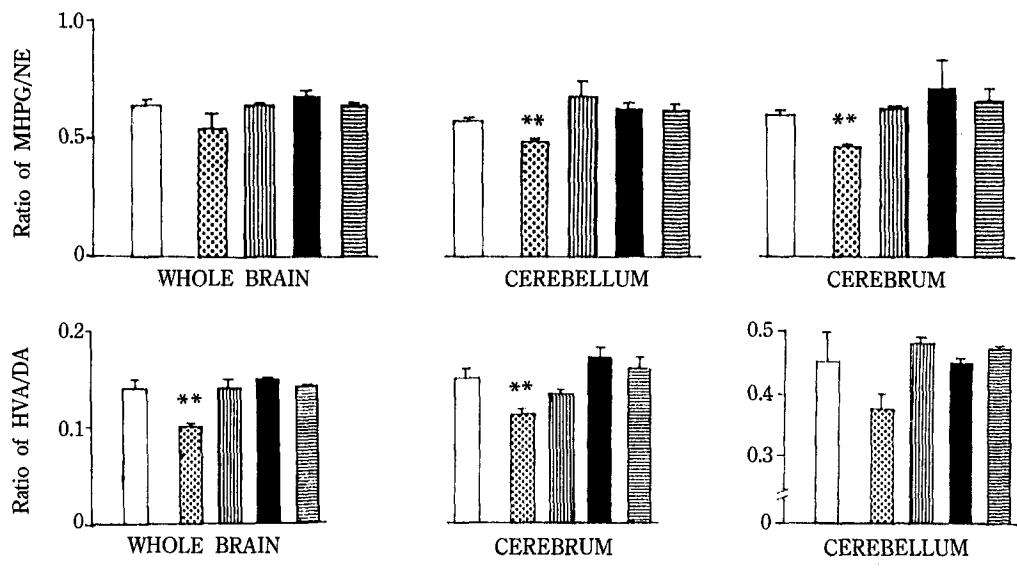


Fig 4. Changes of MHPG/NE and HVA/DA ratio by streptozotocin, insulin and nicotinamide in mouse cerebellum, cerebrum and whole brain.

{ \*\*:  $p < 0.01$ : significance vs. control  
 ━━: control ━━: streptozotocin administration group ━━: regular insulin administration group  
 ━━: nicotinamide pretreated group

았으며 nicotinamide 전처치군, 저혈당유도군 및 insulin치료군의 비는 각각  $0.48 \pm 0.01$ ,  $0.45 \pm 0.004$ ,  $0.47 \pm 0.001$ 로써 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 6, Fig 4).

대뇌: 당뇨 유도군은  $0.11 \pm 0.004$ 로써 대조군 ( $0.15 \pm 0.01$ )에 비해 유의하게 ( $p < 0.01$ ) 감소하였으며 nicotinamide 전처치군, 저혈당 유도군 및 insulin치료군의 비는  $0.18 \pm 0.003$ ,  $0.17 \pm 0.01$ ,  $0.16 \pm 0.01$ 으로써 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 6, Fig 4).

## 고 찰

제1형 즉, insulin의 존형 당뇨병환자에서 정동장애나 행동장애등 여러 정신과적 문제가 수반되며 hormone의 장애 즉 growth hormone, luteinizing hormone, thyroid-stimulating hormone의 분비가 감소된다고 하며, Gonzalez<sup>31)</sup> 등은 이때 pituitary gland의 진행성 위축현상을 보고하기도 하였다. 그러나 이러한 hormone분비의 변화를 비롯하여 중추신경계의 장애에 대한 원인으로는 신경성 위축, glycogen의 축적, DA수용체의 감수성 증가, NE함성의 증가 등이 있으나, 아직 확실한 기전은 정립되어 있지 않다. 뇌의 신경전달체는 hormone분비와 정서장애 및 행동변화

등과 관련이 있는 것으로 알려져 있으므로, 본 실험에서는 streptozotocin으로 insulin의 존형 당뇨병을 유발시켜 NE, DA 및 그의 주요대사를 MHPG, HVA를 측정하여 정상, 저혈당군 및 당뇨 치료군과 비교하여 당뇨증시에 monoamine대사의 변화를 관찰해 보고자 하였다. Streptozotocin은 *Streptomyces achromogenes*에서 분리된 물질<sup>32)</sup>로 광범위 항생제일 뿐만 아니라 항백혈병 효과가 있는 제제<sup>33)</sup>로서 streptozotocin은 pancreatic islet의  $\beta$ -cell만을 선택적으로 파괴시키므로 실험적으로 insulin의 존형 당뇨병을 유발시킬 목적으로 널리 쓰이는 약제<sup>25-29)</sup>이다.

본 실험의 결과에서 streptozotocin에 의해 유발된 insulin의 존형 당뇨유발 상태에서 NE함량이 전뇌 (whole brain)에서 다소 증가하였으며 부분적으로는 소뇌와 대뇌 조직에서 NE함량만이 유의하게 증가하였다. 이러한 NE변화는 혈당량의 증가시 뇌내 catecholamine함량이 증가되며, 따라서 정동변화가 초래된다고 Shildkraut<sup>34)</sup>의 보고와 일치되었다.

행동변화는 mesolimbic계에서의 DA의 기능 변화가 여러 정신질환과 더불어 관련이 있다는 보고가 있고, Hoffman과 Beniger<sup>35)</sup>은 당뇨가 유발된 동물에서 운동성의 감소가 DA성 신경계의 활성도와 밀접한 연관이 있다고 보고하였으며 당뇨증시에는 DA성 시

냅스의 활성도가 감소되며 그 대신 수용체의 감수성이 증가된다고 하였다. 또 glucose를 뇌강에 직접 투여하여 본 실험에서는 “dopamine cell firing”이 억제<sup>36)</sup>되며 DA의 분비가 감소되었다고 하는 보고<sup>37)</sup>도 있다. 또, Saller<sup>4)</sup>, Trulson과 Himmel<sup>38)</sup>등은 장기간 당뇨상태에 노출된 뇌조직에서의 DA의 함량과 대사물의 감소를 보고하였다. 그러나 본 실험에서는 당뇨 유발군에서의 전체 뇌조직과 부분뇌중, 대뇌부분에서 DA함량이 유의하게 증가하였고 그의 대사물인 HVA함량이 유의하게 감소되었다.

Insulin투여로 인한 저혈당 상태에서 신경전달체의 변화를 본 결과 전뇌와 부분 뇌중 대뇌에서 NE과 DA이 다소 감소하였고, 그의 대사물인 MHPG, HVA이 다소 증가하였으나 통계학적인 유의성은 없었다.

Trulson과 Himmel<sup>2)</sup>은 insulin투여로 인한 저혈당 상태에서 NE의 감소와 주요대사물인 MHPG의 증가를 보고하였는데, 본 실험에서 저혈당 유도시에 catecholamine과 대사물의 변화가 유의하지 않았음은 아마도 유의한 변화가 보고<sup>11)</sup>된 만큼의 충분한 저혈당증이 유발되지 않았기 때문이 아닌가 생각되며 경련등과 같은 증상이 보일 정도의 저혈당증을 유도하였을시에는 monoamine의 현저한 변화가 관찰되리라고 추측된다. 본 실험에서 nicotinamide 500 mg/kg를 streptozotocin투여 10분전에 전처치해서 streptozotocin의 당뇨유발 작용을 억제하기 위해 사용하였던 바 nicotinamide는 간과 혀장에서 pro-insulin생합성시에 필요한 nicotinamide adenine dinucleotide가 streptozotocin처치로 감소되는 것을 억제하는 효과<sup>25,39)</sup>를 가지고 있어서 nicotinamide전처치군에서 streptozotocin에 의한 당뇨 유발 효과가 잘 억제되었으며(Table 1), nicotinamide 전처치군에서는 당뇨 유도군에서 보인 전뇌에서 DA증가, HVA감소 그리고 부분 뇌중 소뇌에서 NE증가, 대뇌에서 NE와 DA의 증가, HVA감소와 같은 함량변동이 없었으며 이는 적어도 streptozotocin의 투여로 인한 catecholamine함량의 변화가 streptozotocin의 당뇨유발 효과에 의한 것이며, 약물의 부작용에 의한것이 아님을 시사한다고 볼 수 있다.

그리고 이와 비슷하게 당뇨유도군에 10일간 protamine zinc insulin으로 insulin 치료를 시행하였을때, 당뇨 유도시에 보인 신경전달체의 변화가 보이지 않았으며 오히려 대조군의 결과와 유사하여 이 역시 신경전달체의 함량변화가 streptozotocin의 당뇨유발 작용에 의한 것임을 알 수 있었다.

본 실험결과로 보아 당뇨상태에서 NE과 DA의 증가가 제1형 당뇨증 시에 정서, 행동장애를 일으킬 수 있는 요인이 될 수 있으리라 사료된다. 그러나 그 현상에 대한 명확한 기전을 결론지을 수는 없지만 “시냅스전 분비”의 억제, 그리고 “재흡수”의 증가가 이들을 축적시킬 가능성 및 그의 대사물인 MHPG와 HVA의 감소로 비추어 보아서 전반적 대사의 저하 및 “turn-over”속도 감소 등의 가능성을 생각할 수 있다. 또한 이들 NE, DA의 증가나 MHPG와 HVA의 저하가 insulin치의 저하때문인지, 아니면 단순한 과혈당 상태의 영향 때문인지 혹은 다른 대사상태의 변화에 의한 것인지를 규명해야 겠으며, 현재 정서변화와 행동변화가 NE성 및 DA성 신경계와의 관계가 강조됨은 주지의 사실이어서 당뇨상태에서 신경화학적 물질변화가 정서장애나 행동장애를 일으킬 수 있는 원인이 된다고 생각되며, 앞으로, NE성 신경이 풍부한 부분인 locus ceruleus 및 DA성 신경계로써 중요한 corpus striatum 및 행동에 관한 연구에 중요한 뇌하수체나 전뇌(fore brain) 등과 같은 세부적인 중추신경계 부분에서의 신경화학물질의 연구가 필요하며, 보행운동이나 상동성운동을 검토하여 행동변화에 대한 연구를 추구함이 필요하리라 사료된다.

## 요 약

Insulin의존형 당뇨병이나 저혈당시에 여러가지 정서 변화와 hormone분비 이상이 보고되어 있으며 이러한 변화와 뇌내 신경전달 물질 변동이 관련이 있으므로 이의 발생기전을 알아보고자 뇌내 신경전달체 함량의 변화를 관찰하였다. Streptozotocin을 투여하여 실험적으로 유도된 당뇨증, insulin으로 유도된 저혈당 상태, streptozotocin의 길항제인 nicotinamide를 전처치한 상태, 당뇨 유발후 insulin치료를 실시한 상태의 마우스에서 뇌내 NE 및 DA과 그의 주 대사물 함량을 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

당뇨유도군에서는 전뇌(whole brain)에서의 NE함량은 다소 증가하였고 DA함량은 유의하게 증가하였으며 부위별로는 소뇌에서는 NE함량이 유의하게 증가하였고 대뇌 부분에서는 NE함량과 DA함량이 유의하게 증가하였다.

HVA함량은 뇌전체에서 유의하게 감소하였고 대뇌부분에서의 MHPG와 HVA가 모두 유의하게 감소되었다.

Nicotinamide전처치군과 insulin 치료군에서는 대

조금과 별차이를 보이지 않았다.

Insulin주사로 유도된 저혈당군에서는 NE, DA, MHPG 및 HVA함량에서 모두 유의한 차이를 보이지 않았다.

이상의 결과를 보아 과혈당시에 NE과 DA함량은 증가하고 그의 주대사를 함량은 감소되어 당뇨시에 NE 및 DA함량변동이 정서반응에 어떤 영향을 주는 요인인 될 수도 있는 것으로 사료된다.

### 참 고 문 헌

- Wesselmann U, Konkol RJ, Roerig DL, et al: Early effects of experimental diabetes on central catecholamine concentrations. *Brain Res Bull* 1988; 20: 651-654.
- Trulson ME, Himmel CD: Effects of insulin and streptozotocin-induced diabetes on brain norepinephrine metabolism in rats. *J Neurochem* 1985; 44: 1873-1876.
- Glanville NT, Anderson GH: Hypothalamic catecholamine metabolism in diabetic rats: The effect of insulin deficiency and meal ingestion. *J Neurochem* 1986; 46: 753-759.
- Seller CF: Dopaminergic activity is reduced in diabetic rats. *Neurosci Letters* 1984; 49: 301-306.
- Trulson ME, Himmel CD: Decreased brain dopamine synthesis rate and increased (<sup>3</sup>H) spiroperidol binding in streptozotocin-diabetic rats. *J Neurochem* 1983; 40: 1456-1459.
- Bitar M, Koulu M, Rapoport SI, et al: Diabetes induced alteration in brain monoamine metabolism in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1986; 236: 432-437.
- Crandall EA, Gillis MA, Fernstrom JD: Reduction in brain serotonin synthesis rate in streptozotocin-diabetic rats. *Endocrinology* 1981; 109: 310-312.
- Trulson ME, Jacoby JH, Mackenzie RG: Streptozotocin-induced diabetes reduces brain serotonin synthesis in rats. *J Neurochem* 1986; 46: 1068-1072.
- Sadler E, Weiner M, Buterbaugh GG: Effect of streptozotocin-induced diabetes on tryptophan oxygenase activity and brain tryptophan levels in rats. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1983; 42: 37-50.
- Shimomura Y, Shimizu H, Takahashi M, et al: Changes in ambulation activity dopamine turnover in streptozotocin-induced diabetic rats. *Endocrinology* 1988; 123: 2621-2625.
- Agardh CD, Carlsson A, Lindquist M, et al: The effect of pronounced hypoglycemia on monoamine metabolism in rat brain. *Diabetes* 1979; 28: 804-809.
- Sauter A, Goldstein M, Engel J, et al: Effect of insulin on central catecholamines. *Brain Res* 1983; 260: 330-333.
- Kaplan HI, Sadock BJ: *Modern Synopsis of Comprehensive Textbook of Psychiatry/VI*. Baltimore, William & Wilkins, 1985, pp 840-842.
- Rodin GM: Psychosocial aspects of diabetes mellitus. *Can J Psychiatry* 1983; 28: 219-223.
- Kaplan HI, Sadock BJ: *Modern Synopsis of Comprehensive Textbook of Psychiatry/VI*. Baltimore, William & Wilkins, 1985, pp 524-525.
- Rowland N, Joyce JN, Bellush LL: Stereotyped behavior and diabetes mellitus in rats: reduced behavioral effects of amphetamine and apomorphine and reduced in vivo brain binding of (<sup>3</sup>H) spiroperidol. *Behav Neurosci* 1985; 99(5): 831-841.
- Katayama S, Brownscheidle CM, Wootten U, et al: Absent or delayed preovulatory luteinizing hormone surge in experimental diabetes mellitus. *Diabetes* 1984; 33: 324-327.
- Diaz JP, Benitez A, Galaz CF: Effect of streptozotocin diabetes on the pituitary-testicular axis in the rat. *Horm Metab Res* 1982; 14: 479-482.
- Gonzalez C, Jolin T: Effect of streptozotocin diabetes and insulin replacement on growth hormone in rats. *J Endocrinol Invest* 1985; 8: 7-11.
- Murawski BJ, Chizan BI, Balodimos MC, et al: Personality patterns in patients with diabetes mellitus of long duration. *Diabetes* 1970; 19: 259-263.
- Bunney WE, Jr, Garland BL: A reevaluation of the catecholamine hypothesis in affective disorders. *Catecholamines: Neuropharmacology and CNS-Therapeutic Aspects*. New York, Alan R Liss, Inc, 1984, pp 3-9.
- Snyder SH: The dopamine hypothesis of schizophrenia focus on the dopamine receptor. *Am J Psychiatry* 1976; 133: 197-202.
- Thornburg JE, Moore KE: The relative importance of dopaminergic and noradrenergic neuronal systems for the stimulation of locomotor activity

- induced by amphetamine and other drugs. *Neuropharmacology* 1973; 12: 853-866.
24. Haines DE, Dietricus E, Sowa TE: Hypothalamo-cerebellar and cerebello-hypothalamic pathways: A review and hypothesis concerning cerebellar circuits which may influence autonomic centers and affective behavior. *Brain Behav Evol* 1984; 24: 198-220.
25. Rerup CC: Drugs producing diabetes through damage of the insulin secreting cells. *Pharm Rev* 1970; 22: 485-518.
26. Like AA, Appel MC, Williams RM et al: Streptozotocin-induced pancreatic insulitis in mice. *Lab Invest* 1978; 38: 470-486.
27. Gilman AG, Goodman LS, Rall TW, et al: *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, ed 7. New York, Macmillan, 1985, pp 1243-1262.
28. Rakieten N, Rakieten ML, Nadkarni ML: Studies on the diabetogenic action of streptozotocin. *Cancer Chemother Rep* 1963; 29: 91-98.
29. Rerup C, Tarding F: Streptozotocin and alloxan diabetes in mice. *Eur J Pharmacol* 1969; 7: 89-96.
30. Somogyi M: Determination of blood sugar. *J Biol Chem* 1945; 160: 69-73.
31. Gonzalez C, Montoya E, Jolin T: Effect of streptozotocin diabetes on the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in the rat. *Endocrinology* 1980; 107: 2099-2103.
32. Herr RR, Eble TE, Bergy ME, et al: Isolation and characterization of streptozotocin. *Antibiot Annu* 1959-1960, pp 236-240.
33. Evans JS, Gerritsen GC, Mann KM, et al: Antitumor and hyperglycemic activity of streptozotocin and its cofactor. *Cancer Chemother Rep* 1965; 48: 1-6.
34. Schildkraut JJ: Current status of catecholamine hypothesis of affective disorders. *Psychopharmacology*. New York, Raven Press, 1978, pp 1223-1234.
35. Hoffman DC, Beniger RJ: The D1 dopamine receptor antagonist SCH 23390 reduces locomotor activity and rearing in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1985; 22: 341-342.
36. Saller CF, Chiodo LA: Glucose suppresses basal the firing rate of central dopaminergic neurons. *Science* 1980; 210: 1269-1271.
37. McCaleb ML, Myers RD: Striatal dopamine release is altered by glucose and insulin during push-pull perfusion of the rat's caudate nucleus. *Brain Res Bull* 1979; 4: 651-656.
38. Trulson ME, Himmel CD: Decreased brain dopamine synthesis rate and increased ( $^3\text{H}$ ) spiroperidol binding in streptozotocin-diabetic rats. *J Neurochem* 1983; 40: 1456-1459.
39. Schein PS, Cooney DA, McMenamin MG, et al: Streptozotocin diabetes-further studies on the mechanism dinucleotide concentration in mouse pancreatic islets and liver. *Biochem Pharmacol* 1973; 23: 2625-2631.

=Abstract=

## Influences of Hyperglycemia and Hypoglycemia on the Changes of Brain Catecholamine Content in Mice

Seong Ryong Lee, MD; Soo Kyung Kim, MD

*Department of Pharmacology, Keimyung University  
School of Medicine, Taegu, Korea*

Insulin dependent-diabetes mellitus has been reported to be accompanied by number of behavioral and hormonal abnormalities. And also there many reports that brain neurotransmitters are associated with behavior, affect and hormonal release.

This study was designed to examine the effect of hyperglycemia (streptozotocin induced diabetes) and hypoglycemia (regular insulin induced hypoglycemia) on the changes of norepinephrine(NE), its major metabolite, 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol(MHPG), dopamine (DA) and its metabolite, homovanillic acid(HVA) contents in mouse several brain regions (cerebellum, pons/medulla oblongata and cerebral region and whole brain).

The NE and DA contents were increased and HVA content region was decreased by streptozotocin in whole brain and remaining cerebral region.

There were no significant changes of NE, DA, MHPG and HVA contents in regular insulin induced hypoglycemia, nicotinamide pretreated group and insulin replacement theraped group.

In summary, it could be said that the alterations of neurotransmitters (NE and DA) are important in explanation of the mechanisms of occurrences of various psychiatric problems in insulin-dependent diabetes mellitus.

**Key Words:** Brain catecholamine, Hyperglycemia, Hypoglycemia