

# 감마선 조사전 홍삼 추출물의 투여가 생쥐 간에서의 Superoxide dismutase의 활성과 지질 과산화에 미치는 영향

군산실업전문대학 방사선과, 군산대학교 자연과학대학 화학과

박영순·김동윤·장재철·김동조·전철

## Abstract

Radioprotective effects of a red ginseng extracts on antioxidant enzymes(Superoxide dismutase, catalase and peroxidase) activities relationship to lipid peroxidation were studied in the cytosol fraction of mice liver. The experiments were carried out on irradiated (5.5 Gy, <sup>60</sup>Co) and non-irradiated ICR mice after treatment of red ginseng extracts(5.5mg /mouse;ip).

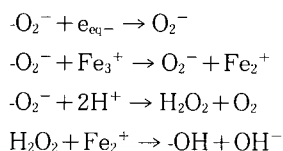
In wholebody irradiated mice, irradiation caused a decrease in the activity of all these enzymes(on Day 21). The activities of SOD, Catalase and Peroxidase of red ginseng extracts treated mice were enhanced by 35.4%, 20.2% and 20.1%, compared with non-treated mice. The red ginseng extracts led to inhibited increase of malondialdehyde product by ionizing radiation.

The enhanced activity of enzymes that removed free radicals generated by radiation and thereby indicate that ginseng probably plays on important role in radioprotective effect.

## I. 서 론

생체에 전리방사선이 조사되면 신체적, 유전적 장애가 발생되며 이와 같은 전리방사선에 의한 생물학적 장애의 발생기전은 일반적으로 생체 조직이 방사선 에너지를 흡수하면 생체조직

의 구성 원자 및 분자(주로 물분자)등과의 상호작용(여기, 전리작용)결과, Hydrated Electrons ( $e_{aq}^-$ ), Hydrogen atoms(-H) 그리고 hydroxyl radical(-OH)등의 유리기가 생성되며<sup>1,2)</sup> 이러한 유리기들은 용해된 산소의 존재하에<sup>3)</sup> 이차적으로 다음과 같은 일련의 반응(Fanton's reaction, Haber and Weiss's reaction)<sup>4)</sup>에 의하여 superoxide radical( $O_2^-$ ), hydrogen Peroxide( $H_2O_2$ ) 그리고 hydroxyl radical등이 생성되는데,



특히 -OH는 세포내 표적 분자(DNA, 단백질, 세포막 지질등)들과 반응하여 세포나 조직에 구조적, 물리적 손상을 주며 효소의 불활성화 및 교차를 촉진시키고 세포막 지질들과의 연쇄반응을 통하여 세포의 지질과산화를 촉진시킴으로서 여러 방사선 장애를 야기시키는데 이러한 -OH의 형성에 결정적 역할을 하는 것은  $O_2^-$ 인 것으로 알려져 있다.<sup>4,5)</sup> 생체에 유독한 이러한 유리기들로부터 생체를 보호하는 항산화 물질로서 superoxide dismutase(EC 1.15.1.1., 이하 SOD라 함), catalase, glutathione peroxidase 그리고 peroxidase(POD)등의 효소가 알려져 있으며<sup>6)</sup> SOD는 세포내 생성된  $O_2^-$ 를  $H_2O_2$ 로 전환( $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ )시키는 효소로서 현재까지, 세포질에 많이 존재하는 Cu, Zn-SOD, 미토콘드리아에 존재하는 Mn-SOD 그리고 E-coli의 원형

질막 외강에서 분비되는 Fe-SOD등 세 종류로 밝혀져 있다.<sup>2,7,8)</sup> catalase, peroxidase 및 glutathione peroxidase등은 과산화수소를 제거하는 기능을 갖고 있는 효소들이다.<sup>6)</sup>

지질과산화는 NADPH가 관여하는 효소 반응에 의한 경우와 superoxide radical등의 활성화된 산소들에 의한 비 효소적 반응이<sup>9)</sup> 있는 것으로 알려져 있는데 생체에 방사선 조사<sup>10,11)</sup>등의 외적 자극<sup>12,13,14)</sup>에 의해 생성된 유리기들이 세포막의 불포화 지방산을 포함하는 지질에 작용하면 여러 연쇄반응을 통하여 지질의 과산화반응이 촉진되고 지질과산화의 최종산물인 malondialdehyde(MDA)의 함량이 증가되어 세포막 구성 물질들의 절단과 중합을 야기시킴으로서 본래의 세포학적 특성이 변화되어 돌연변이와 유전병 및 암 유발 등 여러 질병의 발생빈도가 증가되며 생체의 노화도 촉진되는 것으로 밝혀지고 있다.<sup>15,16,17)</sup> 이러한 지질과산화의 생체 내 수준은 SOD 활성과 밀접한 관계가 있는 것으로 보고<sup>16,18,19)</sup> 되고 있는데 이는 생체에 전리방사선이 조사되면  $O_2^-$ 의 생성이 증가되며 이것을 제거하기 위한 SOD의 작용과 방사선 조사로 인한 직접적 작용에 의하여 생성된  $H_2O_2$ 를 제거하기 위하여 catalase, POD 그리고 Glutathione peroxidase등의 활성이 변화되어 지질과산화의 함량도 변화됨을 보여주는 것이라 하겠다.

Krizala 등<sup>20)</sup>은 흰쥐에 반 치사량의 감마선을 조사시켰을 때 간이나 골수에서의 SOD 활성은 장기간 현저하게 감소하였으나 골수 세포당 SOD 활성은 증가한다고 보고하였으며, Yamaoka 등<sup>21)</sup>은 흰쥐에 0.5 Gy의 X선을 전신 1회 조사하였을 때 간이나 뇌에서의 SOD 활성은 초기에 대조군에 비하여 50% 이상 증가하였고 지질과산화 함량은 30% 정도 감소하였으며 SOD 활성의 증가는 장기간 계속되었다고 보고하였다. 이러한 SOD 활성의 증가는 방사선 조사로 인하여 생성이 촉진된  $O_2^-$ 를 제거하기 위한 신체 방어 기전에 의한 결과라 할수 있다. 또한 Penka 등<sup>22)</sup>은 흰쥐에 구리를 일정 기간 결핍시킨 결과, 간 조직에서의 Cu, Zn-SOD 활성도가 30% 이상 감

소되었고, Catalase나 Glutathione Peroxidase의 활성은 저하되었으나 지질과산화 수준은 증가됨을 관찰하여 이는 간 조직에서의 구리결핍으로 인하여 구리 의존성 효소인 Cu, Zn-SOD 활성이 저하되어 세포내  $O_2^-$ 와  $H_2O_2$ 의 양이 증가되고 이로 인하여 산화 스트레스가 야기됨으로서 지질 과산화 반응이 촉진된 것이라고 주장하였다.

한편, Patt 등<sup>23)</sup>에 의하여 Cystamine이 방사선 방호 효과가 있음이 밝혀진 후 황을 함유한 방사선 방호제는 많은 생리적, 생화학적 반응에 영향을 주는 것으로 알려져 있으며 최근에는 인삼 등 생약의 방사선 방호 효과에 대한 연구가 진행되고 있다.

인삼은 그 주된 생리작용이 생체가 유해한 환경에 대한 적응 또는 저항할 수 있는 비 특이적 능력을 증가시켜주며 그 작용의 주된 성분은 사포닌이라고 밝혀진후 인삼의 외적 유해인자들에 대한 방호 효과에 관한 연구가 많이 진행되어 왔다.<sup>24)</sup> 인삼 추출물이 방사선 방호 효과가 있다는 보고서들로서는 X선 조사로 인하여 상승되는 사망율과 조혈기능의 저하에 대하여 회복 작용이 뚜렷하였다는 보고,<sup>25)</sup> 조직 손상에 대한 방호 효과가 있음을 관찰한 보고<sup>26)</sup>등이 있으며 백 등<sup>27)</sup>은 인삼성분이 광산화 반응에 의하여 생성된 Superoxide radical등에 의한 지질과산화 반응을 억제하는 효과가 있음을 보고하였다.

이에 본 연구에서는 생쥐를 실험 동물로 하여 홍삼 추출물을 투여한 후 감마선을 전신 조사함으로써 손상을 받은 생쥐 간 조직에서 SOD, catalase, POD의 활성도 및 지질과산화 함량의 변화를 관찰하여 이들의 상호 관련성과 인삼이 방사선 방호작용에 미치는 영향을 검토하였다.

## II. 재료 및 방법

### 실험재료

### 시 약

Superoxide dismutase, sodium deoxycholate,

peroxidase, thiobarbituric acid, sodium deoxyl sulfate, 1,1,3,3-tetramethoxypropane, potassium cyanide, sucrose, ABTS(2,2-azino-di-(3-ethyl-benzothiazoline-(6)-sulphonic acid)), potassium phosphate monobasic potassium phosphate dibasic, ethylenediamine tetraacetic acid(EDTA), xanthine, xanthine oxidase, cytochrome-c, bivine serum albumine 등은 Sigma사 제품을 사용하였으며 그 외의 일반시약들은 특급 또는 1급을 사용하였다.

### 실험동물

실험동물은 녹십자(주) 지정 사육소에서 분양 받은 ICR계의 수컷 생쥐를 실험동물용 사료로 일주일간 적응시킨 후 각 실험군으로 분류하여 실온이 20-26°C로 유지되는 사육실에서 물과 식이를 자의로 먹게하여 사육한 것중 체중이 20-25 g의 생쥐만을 사용하였다.

### 실험방법

#### 실험동물처리

실험군은 표1과 같이 생리적 식염수 투여군을 대조군으로 하여 홍삼추출 투여군, 생리적 식염수 투여후 방사선 조사군 그리고 홍삼추출물 투여후 방사선 조사군 등 네가지로 분류하였으며 홍삼추출물 투여는 한국전매공사에서 제조 시판하는 고려홍삼정을 구입하여 생리적 식염수에 녹인후 5.5mg/0.1ml씩 복강내로 주사하였다. 투여 24시간 후에 <sup>60</sup>Co gamma 선원을 이용하여 6.5Gy(1.10Gy/min)의 선량을 1회 전신조사 하였다.

이와같이 감마선 조사후 1일, 3일, 7일, 14일 그리고 21일째에 실험군당 5마리씩 16시간 절식시킨 생쥐를 경추탈구로 희생시켜 간을 적출하여 무게를 잰 다음 Sucrose/EDTA(0.25M/1mM) 냉용액을 넣어 세절하고 세번 수세하여 혈액을 제거하였으며 상기 용액내에서 마쇄기로 분쇄(10,000rpm, 3분)하여 10% 균질액을 만들어 원심분리(1,000xg, 5분)하여 얻어진 상등액을 취하여 효소 활성 및 지질과산화 함량의 측정

시료로 사용하였으며 이상의 모든 조작은 4°C에서 실시하였다.

Table 1. Experimental design

Experimental group*	Ginseng Extract injection	Irradiation
	mg/mouse	Gy/mouse
Control	0	0
Ginseng	5.5	0
SAL+RAD	0	6.5
GIN+RAD	5.5	6.5

\* Control : Saline(0.1 ml) was intraperitoneally (i,p) injected.

Ginseng : Red ginseng extract(0.1ml) was only i,p injected.

SAL+RAD : Saline(0.1ml) was i,p injected at 24 hr before irradiation.

GIN+RAD : Red ginseng extract(0.1ml) was i,p injected at 24 hr before irradiation

#### 효소활성도 측정

SOD 활성도는 Crapo등<sup>28)</sup>의 방법에 의하여 측정하였다. 즉 0.1mM EDTA를 함유한 0.05M phosphate buffer 용액(pH 7.8) 2.3ml에 0.5mM xanthine용액 0.3ml, 0.1mM cytochrome c 0.3ml를 넣은후 반응액에 존재하는 미립자를 용해하기 위해 Sodium deoxycholate를 0.1ml를 추가로 사용하였으며 이 혼합액에 측정 시료 일정량과 0.1ml의 Xanthine oxidase(550nm에서 흡광도의 증가가 분당 0.020이 되도록 조절한 것)를 가한 후 25°C에서 550nm에서의 흡광도 증가속도를 측정하였으며, Cu, Zn-SOD의 활성도는 반응액의 KCN 최종농도가 50 μM, Mn-SOD의 활성도는 2.0mM이 되도록 조절하여 측정하였다.<sup>29)</sup>

SOD의 활성단위는 cytochrome c의 환원속도를 50% 억제하는 효소의 양을 1 unit로 표시하였다.

Catalase 활성도 측정은 Aebi<sup>30)</sup> 방법에 따라, 50mM 인산 완충액(pH 7.0)으로 희석시킨 측정 시료 2.0ml에 30mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 용액 1.0ml를 넣은 후 20°C에서 파장 240nm에서의 흡광도 변화를 측

정하였다. 효소의 활성도는 1분 동안에  $1\mu\text{mol}$ 의  $\text{H}_2\text{O}_2$ 를 분해시키는 효소의 양을 1 unit로 표시하였다.

Peroxidase의 활성도는 Pütter and Becker<sup>31)</sup> 방법으로 측정하였다. 즉, 20mM ABTS 용액 0.2ml와 10mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  0.2ml를 혼합시킨 반응액에 67mM 인산 완충액(pH 6.0)으로 희석시킨 측정 시료 2.0ml를 넣은 후 파장 405nm에서 5분동안 흡광도 변화를 측정하였다. 효소의 활성도는 1분 동안에  $1\mu\text{mol}$ 의 ABTS가 변화되는 것을 1 unit로 하였다.

측정 시료의 단백질 농도는 bovine serum albumine을 표준 단백질로 하여 Lowry<sup>32)</sup> 법에 의하여 측정하였다.

### 지질과산화 수준의 측정

측정 시료의 과산화 지질의 정량은 Ohkawa<sup>33)</sup> 방법을 사용하여 thiobabutaric acid 반응물질을 측정하였다. 간 조직의 10% 균질액 0.1ml, 8.1% sodium deoxyl sulfate 용액 0.2ml, 20% acetic acid 용액(NaOH로 pH 3.5로 조절 한 것) 1.5ml, 0.8% thiobabutaric acid 용액 1.5ml를 혼합한 다음 95°C의 진탕수조에서 60분간 반응시킨 후 n-butanol과 pyridine 혼합용액(15:1, v/v)을 가하여 흔든 다음 원심분리(4000rpm, 10분)하여 얻은 상등액(유기층)의 흡광도를 파장 532nm에서 측정하였으며 표준 검량선을 얻기 위하여 1, 1,3,3-tetramethoxypropane을 표준품으로 사용하였다.

본 실험의 모든 결과는 각 실험군의 평균과 표준편차를 계산하여 studentt-test에 의하여 실험군 간의 유의성을 검증하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 효소 활성도 변화

1939년 Mann and Keilin이 소의 적혈구 및 간에서 구리를 함유한 단백질을 처음으로 분리한

후, 1976년 Misra and Fridovich등<sup>34)</sup>은 이러한 단백질이 효소 기능을 가지고 있음을 밝히고 superoxide dismutase라 명명한 이래 SOD의 기능과 활성에 관한 연구는 진핵세포와 원핵 세포에서 폭넓게 연구되었으며, 특히 적혈구에서 SOD의 기능은 Hemoglobin의 자동 산화에 의해 생성된 oxygen radical의 방어 효과에 관한 보고가 있다.

Scott<sup>35)</sup>는 동물체에서 이완화 방사선은 반응성이 강한 활성화된 산소종( $\text{O}_2^-$ , OH,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , singlet oxygenemd)의 생성원인이 되며 항산화 효소들은 이산화 방사선에 대한 생체의 저항성을 결정하는데 중요할 것이라고 주장하였다. 생체에 방사선이 조사되면 superoxide radical의 생성이 증가하며 이러한  $\text{O}_2^-$ 을 제거하는 SOD활성도와 방사선 조사로 인한 직접 작용이나 SOD 작용에 의하여 생성된  $\text{H}_2\text{O}_2$ 를 제거하는 catalase, peroxidase 그리고 glutathione peroxidase와 같은 항산화 효소의 활성이 변화되는 것으로 알려져 있으며, cystein이나 cystamine과 같은 sufhydryl compounds는 방사선 장해에 대하여 방호 효과가 있음이 밝혀졌는데<sup>23)</sup>, 이러한 방호 작용의 기전은 방사선에 의한 free radicals의 작용을 억제 하거나 free radicals에 의한 장해 회복을 촉진시키는 것으로 알려져 있다.

Krizala등<sup>37)</sup>은 회쥐에 8.0Gy의 감마선을 조사 후 cystamine을 투여하였을 때 골수내 SOD 활성이 cystamine을 투여하지 않은 군보다 상당히 빠르게 증가되었으며 이러한 효과는 직접적인 방사선 방호 작용과 방사선 장해를 받는 기관들의 회복능력의 강화 때문이라고 주장하였다. 한편, 인삼은 외적 유해 인자들에 대한 방호 효과가 있으며, 비정상적인 신체 기능을 정상화 시켜주는 효과가 있는 것으로 보고<sup>20)</sup>되어 왔다. Takeda등<sup>25)</sup>은 생쥐에 X선을 조사 후 인삼 추출물을 투여했을 때 인삼 추출물은 방사선 장해로 인한 사망을 증가와 백혈구수나 혈소판수의 저하 그리고 비장의 무게 및 DNA함량 저하에 대하여 뚜렷한 회복 효과를 관찰하여 인삼은 방사선 방호 효과와 방사선에 의한 손상으로부터의

회복 작용을 강화시키는 효과가 있다고 주장하였다.

본 실험에서 생쥐에 홍삼 추출물을 투여하고 24시간 후에 감마선을 조사하여 간 조직에서 항산화 효소인 SOD, catalase와 POD 활성도를 측정된 결과 감마선을 조사하지 않은 생쥐에서 홍삼 추출물 투여는 POD를 제외하고 모두 대조군에 비하여 초기에 그 활성이 약간 감소한 후 점차 증가하여 1주일 후에는 SOD, catalase 그리고 POD 모두 대조군보다 높은 활성도를 나타냈으나 유의한 차이는 없었으며, 홍삼 추출물 투여로 인하여 초기에 그 활성이 감소되는 이유는 확실치 않으나 대부분의 방사선 방호제들은 SOD를 포함한 대부분의 효소 활성에 대하여 직접적인 저해 효과가 있다는 보고를 고려하여 볼 때 홍삼 추출물의 투여는 초기에는 SOD 작용을 저해한 것으로 보이며 항산화 효소들의 활성이 빠르게 회복되는 것으로 보아 효소가 비활성화된 것은 아니라고 생각된다.

감마선을 조사받은 생쥐에서 Cu, Zn-SOD 활성은 생리적 식염수 투여군과 홍삼 추출물 투여군 모두 1일부터 감소하여 생리적 식염수 투여군은 21일에 대조군의 58.0%로 최저치를 보였으나 홍삼 추출물 투여군은 7일에 최저치(70.0%)를 보임으로서 생리적 식염수 투여군보다 그 감소폭이 적었으며 이후 점차 회복되는 경향을 보여 21일에는 생리적 식염수 투여군보다 40.7%의 높은 활성 증가를 나타냈다(표2). Mn-SOD의 활성은 표3과 같이 Cu, Zn-SOD의 활성도 변화와 유사한 경향을 보였으나 Cu, Zn-SOD보다는 방사선 조사로 인한 영향을 적게 받는 것으로 나타났다.

**Table 2. CuZnSOD activity of mice liver**

Days	Enzyme Activity(U/mg protein)		
	Ginseng	SAL+RAD	GIN+RAD
1	5.25±0.25	5.43±0.18	5.24±0.35
3	5.13±0.16	4.97±0.19 <sup>0</sup>	4.81±0.24 <sup>0</sup>
7	6.08±0.20	4.25±0.30 <sup>0</sup>	4.05±0.52 <sup>0</sup>
14	6.42±0.27	3.97±0.21 <sup>0</sup>	4.10±0.21 <sup>0</sup>

21	6.35±0.24 <sup>0</sup>	3.37±0.48 <sup>0</sup>
Control	5.82±0.27	4.72±0.32 <sup>0+</sup>

<sup>0</sup> Statistical significance against control group : p<0.05.

\* Statistical significance against of non-ginseng extract-treated, irradiated mice : p<0.05.

**Table 3. MnSOD activity of mice liver**

Days	Enzyme Activity(U/mg protein)		
	Ginseng	SAL+RAD	GIN+RAD
1	3.10±0.23	3.11±0.18	2.95±0.23
3	3.40±0.24	2.94±0.13	2.75±0.13 <sup>+</sup>
7	3.25±0.25	2.75±0.22	2.40±0.16 <sup>0</sup>
14	3.51±0.31	2.35±0.14 <sup>0</sup>	2.65±0.24 <sup>0</sup>
21	3.60±0.19	2.05±0.12 <sup>0</sup>	2.60±0.21 <sup>0+</sup>
Control		3.20±0.35	

Catalase나 POD의 활성 변화는 방사선 조사 전 생리적 식염수 투여군은 모두 초기부터 그 활성이 감소하여 21일에 대조군에 대하여 Catalase는 67.2%, POD는 67.7%로 최저치를 보인 반면에, 방사선 조사전 홍삼 투여군에서는 catalase나 POD 모두 대조군에 비하여 초기에는 그 활성이 감소하여 catalase는 14일(78.9%), POD는 7일(74.7%)로 최저치를 보인 후 회복하는 경향을 보여 21일에 생리적 식염수 투여군보다 모두 20% 정도의 활성 증가를 보였다(표4, 표5).

**Table 4. Penoxidase activity of mice liver**

Days	Enzyme Activity(U/min,mg protein)		
	Ginseng	SAL+RAD	GIN+RAD
1	16.43±1.51	13.20±1.78	14.52±2.06
3	15.15±1.28	12.82±1.74	12.50±1.67
7	15.83±1.76	10.51±1.49 <sup>0</sup>	11.43±1.21 <sup>0</sup>
14	16.25±2.08	10.84±1.80 <sup>0</sup>	12.20±1.49
21	15.67±2.06	10.35±1.44 <sup>0</sup>	12.43±1.38
Control		15.30±2.64	

**Table 5. Catalase activity of mice liver**

Days	Enzyme Activity(U/min, mg protein)		
	Ginseng	SAL+RAD	GIN+RAD
1	145.50±14.63	159.37±17.62	143.53±15.33
3	158.40±15.46	140.76±14.35	138.83±20.35
7	165.47±15.60	125.40±14.59	120.53±23.99
14	150.56±14.88	110.80±15.39 <sup>o</sup>	118.39±15.27
21	156.53±17.45	100.84±17.78 <sup>o</sup>	120.46±16.12
Control	150.10±20.81		

위와 같은 결과로 볼 때 급성 방사선 장애로 인한 항산화 효소의 활성 감소는 장기간 계속되는 것으로 보이며 이는 방사선 조사로 인하여 간의 기간 세포들이 파괴 됨으로서 간 세포의 수가 감소 되었기 때문이라 생각된다. 또한 생리적 식염수 투여군보다 홍삼 추출물 투여군에서 효소 활성의 감소폭이 적은 것은 방사선 조사로 생성이 증가된 superoxide radical를 인삼 성분이 제거하며, 생리적 식염수 투여군보다 빠르게 회복되는 것은 인삼성분이 방사선에 손상된 기관들의 회복 능력을 강화 시켜주었기 때문이라 생각되나 인삼의 어떤 성분이 회복 효과에 영향을 주는지는 알 수가 없다.

**지질 과산화 수준과 항산화 효소 활성 변화와의 관계**

본 실험에서 지질 과산화의 함량 변화는 표 6과 같이 방사선을 조사하지 않은 생쥐에서 홍삼추출물의 투여로 인하여 간 조직에서의 지질 과산화 수준은 1일에 대조군에 비하여 증가한 후 점차 감소하여 대조군보다 낮은 수준을 보였으나 유의한 차이는 관찰할 수 없었다.

방사선을 조사한 생쥐에서의 지질 과산화 수준 변화는 생리적 식염수 투여군과 홍삼추출물 투여군 모두 1일부터 증가하여 대조군에 대하여 생리적 식염수 투여군은 21일에 최고치(178.2%)을 보인 반면, 홍삼추출물 투여군은 7일에 최고치(156.6%)를 보인 후 점차 회복되는 경향을 보여 21일에는 생리적 식염수 투여군의 70.5%로 감소되었다.

**Table 6. The level of lipid peroxidation in mice liver**

Days	Malondialdehyde(nmol/ g of liver)		
	Ginseng	SAL+RAD	GIN+RAD
1	84.21± 8.97	97.14± 9.30	83.69± 9.25
3	79.14±10.21	99.42±10.73 <sup>o</sup>	100.61±13.60 <sup>o</sup>
7	75.42±10.33	118.22±16.50 <sup>o</sup>	125.33±14.68 <sup>o</sup>
14	71.88±10.47	138.16±15.44 <sup>o</sup>	121.63±14.85 <sup>o</sup>
21	70.38± 8.80	142.62±15.12 <sup>o</sup>	100.59±11.18 <sup>o+</sup>
Control	80.07± 5.47		

생체에서의 지질과산화 함량은 항산화 효소의 활성변화와 밀접한 관계가 있는 것으로 보고 되고 있는데, Penka등<sup>22)</sup>은 간조직에서 SOD나 Catalase와 같은 항산화 효소의 활성 저하는 산화 스트레스를 야기시킴으로써 지질과산화 수준이 증가했다고 보고하였으며 Yamaoka등<sup>10)</sup>은 저 선량의 X선을 흰쥐에 조사 시켰을 때 간 조직에서의 SOD 활성은 증가되었으나 지질 과산화 함량은 감소함을 관찰하여 이는 방사선 조사로 인하여 O<sub>2</sub><sup>-</sup>의 생성이 촉진되며 이를 제거하기 위한 신체 방어기전에 의해 SOD 활성이 증가되었기 때문이라 주장하였다. 또한 백등<sup>27)</sup>은 사람의 erythrocyte ghost를 사용하여 지질 과산화 반응에 미치는 인삼추출물의 영향에 대하여 연구한 결과 인삼추출물의 투여는 지질 과산화 반응을 억제하였으며 SOD나 Catalase를 투여하였을 때에도 같은 효과가 있었고 이는 인삼 성분이 과산화 반응에 의해 생성된 O<sub>2</sub><sup>-</sup>가 SOD에 의해 소멸되어 지질 과산화 반응을 억제시키며 광 조사후에 생성된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 Catalase가 분해하며, 이때 인삼 추출물을 투여하면 Catalase 활성이 증가되어 지질 과산화 반응은 억제된다고 주장하였다.

본 실험에서도 방사선 조사로 산화 스트레스가 증강되어 생쥐 간 조직에서의 SOD, Catalase와 POD의 활성 감소로 인하여 free radical의 비효소적 반응에 의하여 야기되는 세포막의 지질과산화를 촉진시키는 것으로 나타났다.

Fig. 1과 같이 방사선 조사로 인하여 SOD 활

성도가 최저로 저하되었으며 지질 과산화의 수준은 최고로 증가되었다. 반면에 홍삼추출물 투여후 방사선을 조사한 생쥐에서는 SOD 활성이 회복됨에 따라 MDA의 함량도 감소됨을 보임으로써 방사선 조사전 인삼의 투여는 지질과산화 반응을 억제하는 효과가 있는 것으로 나타났다.

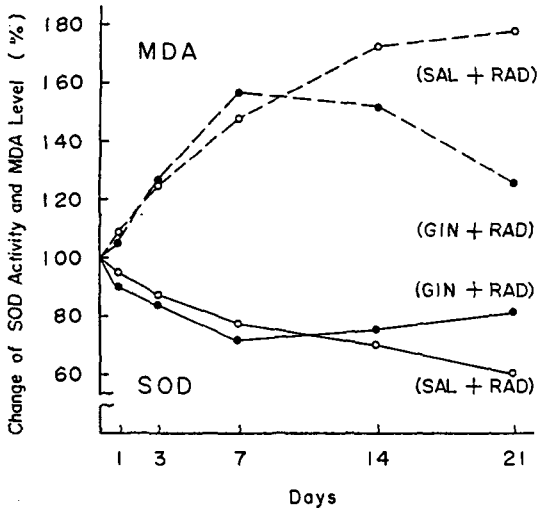


Fig.1 Correlation between malondialdehyde product and superoxide dismutase activity of mice liver.

또한 Fig.2와 Fig.3과 같이 Catalase나 POD 활성도 변화에 따르는 MDA 함량 변화는 SOD 활성 변화와 비슷한 경향을 보였는데, 방사선 조사후에 MDA 함량이 증가된 것은 항산화 효소의 활성이 저하된 것으로 볼 때 방사선 조사로 생성이 촉진된  $O_2^-$ 의 직접 작용이라기보다는 방사선 조사와 SOD의 작용에 의하여 생성된  $H_2O_2$ 와 생체내 상호반응으로 생성된 hydroxyl radical에 의한 것이라고 생각된다. 이는 항산화 효소의 활성 감소는 산화 스트레스를 유발시킴으로써 지질 과산화를 촉진시킨다는 주장과 일치하는 것이다. 또한 홍삼추출물 투여는 방사선 조사로 인한 항산화 효소의 활성 저하와 MDA의 함량 증가를 억제시키는 것으로 나타났는데 이것은 인삼성분이 간 세포수의 회복을 강화시키며, SOD 활성을 증가시키는  $O_2^-$ 의 생성을 억제시키거나 SOD 활성을 증가시키는 작용

을 한 것으로 생각되며 Catalase나 POD의 활성이 증가된 것은 방사선 조사와 SOD의 작용에 의하여 생성된  $H_2O_2$ 를 분해하기 위한 체내 방어기전의 결과이며 이때 인삼성분이 이런 방어기전을 강화시킴으로서  $H_2O_2$ 나 OH의 생성이 억제된 결과라고 생각된다.

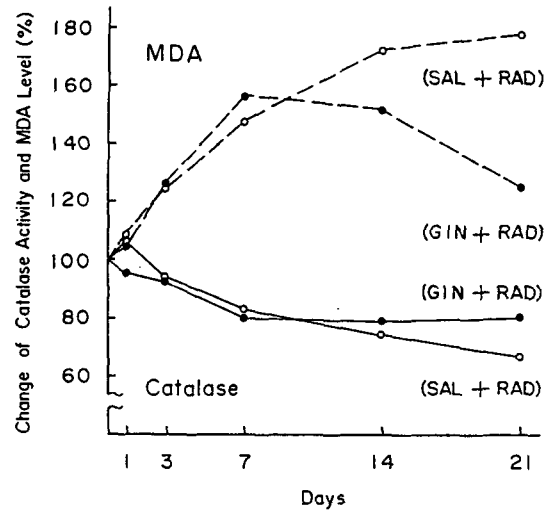


Fig.2 Correlation between malondialdehyde product and Catalase activity of mice liver.

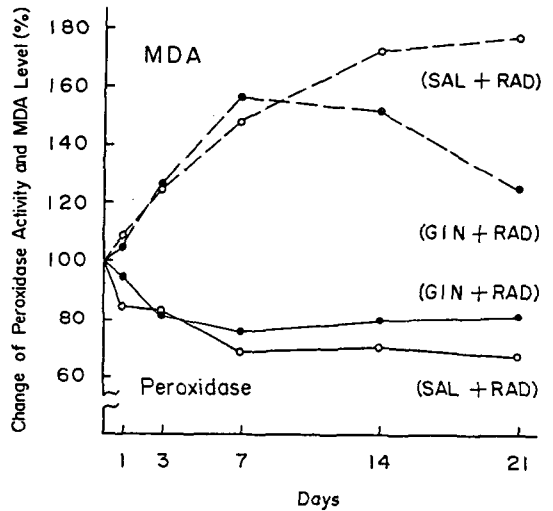


Fig.3 Correlation between malondialdehyde product and Peroxidase activity of mice liver.

이상의 실험 결과, 반 치사 선량 정도의 감마선 조사는 생쥐간의 SOD, Catalase 그리고 POD 활성을 감소시킴으로써 지질 과산화 수준

의 증가를 유발시키는 작용을 하였으나 홍삼 추출물은 이러한 방사선 장애에 대하여 방호 효과가 있음을 관찰하였다. 그러나 이러한 효과는 인삼 성분이  $O_2^-$  생성을 억제시키는 작용에 의한 것인지 또는 방사선 조사로 손상된 기관들의 회복 능력을 강화시키는 작용에 의한 것인지, 또한 인삼의 어떤 성분이 이러한 작용에 영향을 주는지에 대하여 확실히 알 수 없기 때문에 앞으로 저 선량의 방사선 조사에 대한 홍삼 추출물의 효과와 인삼성분의 생화학적 대사 작용에 관하여 연구되어야 할 것으로 생각된다.

#### IV. 요약

생쥐에 5.5mg의 홍삼추출물을 투여한 후 6.5Gy의 감마선을 전신 조사하여 생쥐 간에서의 항산화 효소들(Superoxide dismutase, Catalase, Peroxidase)의 활성도와 지질 과산화 수준의 변화를 측정 비교하여 이들의 상호 관련성과 인삼이 방사선 장애에 미치는 영향을 검토하였다. 방사선 조사로 인하여 SOD, Catalase 그리고 Peroxidase의 활성은 계속적으로 감소하였으나 홍삼추출물 투여군은 방사선 조사 후 21일에 생리적 식염수 투여군보다 Cu, Zn-SOD(40.7%), Mn SOD(26.9%), Catalase(20.0%) 그리고 Peroxidase(20.1%)의 활성이 증가되었으며, 또한 방사선 조사로 인하여 상승되는 지질 과산화의 함량이 억제되었다(70.5%). 이러한 결과는 인삼 성분이 방사선 조사로 인하여 생성이 촉진된 free radicals를 제거시킴으로서 지질 과산화물의 생성을 억제시켰거나 방사선에 의하여 손상된 기관들의 회복능력을 강화시킨 결과로 보이며 이는 인삼이 방사선 장애에 대하여 회복 또는 방호효과가 있음을 보여 주는 것이라 생각된다.

#### REFERENCES

1. Brunori, M., and G. Rotillo. Biochemistry of oxygen radical species. *Methods Enzymol.*, 105:

- 22-35. 1984.
2. McCord, J.M., and I. Fridovich. Superoxide dismutase. An enzymatic function for erythrocyte(hemocuprein). *J. Biol. Chem.*, 244:60-49. 1969.
3. Tubiana, M., J. Dutreix, and A. Wambersie. In, *Radiobiologie*. Ed. Hermann. Paris. 1986.
4. Haber, F., and J. Weiss. The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. *Proc. Roy. Soc. London Ser. A.* 147:332-351. 1934.
5. Brawn, K., and I. Fridovich. DNA strand-scission by enzymatically generated oxygen radicals. *Arch. Biochem. Biophys.*, 206:414-419. 1981.
6. Fridovich, I. : Superoxide dismutases. *Adv. Enzymol.*, 58:61-97. 1986.
7. Bannister, J. V., and G. Rotilio. Aspects of the structure, function, and applications of superoxide dismutase. *CRC.*, 22:111-180.14. 1987.
8. Briton, L., and I. Fridovich. Intracellular localization of the superoxide dismutase of *Escherichia coli* : Intracellular localization and function. *J. Bacteriol.*, 131:815-820. 1977.
9. Haber, F., and R. Willstter. Unpaarigkeit und radikal-ketten in reaktions mechanismus organischer und enzymatischer Vorganges. *Ber. Dt. Chem. Ges.*, 64:2844-2856. 1931.
10. Yamaoka, K., R. Edamatsu, and A. Mori. Increased SOD activities and decreased lipid peroxide levels induced by low dose X-irradiation in rat organs. *Free. Radic. Biol. Med.*, 11:299-306. 1991.
11. Matsunaga, K., and R.F. Furchgott. Responses of rabbit aorta to nitric oxide and superoxide generated by ultraviolet irradiation of solutions containing inorganic nitrite. *J. Pharmacol. Exp. ther.*, 259:1140-1146. 1991.
12. Davies K.J.A., J.H. Doroshov, and P.



- Hochstein. Mitochondrial NADH hydrogenase catalyzed oxygen radical production by adriamycin, and the relative inactivity of iminodaurubicin. *FEBS Lett.*, 153:227-230. 1983.
13. Moody, C.S, and H.M.Hassan. Anaerobic biosynthesis of the manganese-containing superoxide dismutase in *Escherichia coli*. *J. Bilo. Chem.*, 259:12821. 1982.
  14. Hassan, H.M, and I. Fridovich. Enzymatic defenses against the toxicity of oxygen and of streptonigrin in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, 129:1574. 1977.
  15. Muscaris. C., C.M. Caldarera, C. Guarnieri. Age dependent production of mitochondrial hydrogen peroxide, lipid peroxides and fluorescent pigments in the rat heart. *Basic. Res. Cardiol.*, 85:172-178. 1990.
  16. Bartoli, G.M., BG. Giannattasio, P.Palozza, and A. Cittadin. Superoxide dismutase depletion and lipid peroxidation in rat liver microsomal membranes : Correlation with liver carcinogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta.*, 966:214-221. 1988.
  17. Cornwell, D.G. and N.Morisaki. Fatty acid paradoxed in the control of cell proliferation In : Pryor, W.A(ed) Free radicals in biology Academic Press. New York. p 95-148. 1984.
  18. Balevska, P.S., E.M. Russavanov and T.A. Kassabanova. Studies on lipid peroxidation in rat liver by copper deficiency. *J. Biochem.*, 13:489-493. 1981.
  19. Simonyan, M.A., D.M. Gevorkyan, and V.G. Mknitryan. The influence of SOD on the endogeneous SOD and lipid peroxidation level in the rat liver in hypoglycemia. *ZH EKSP. KLIM MED.*, 27:24-227. 1989.
  20. Krizala, J., Kovarova, V. Kratochvilova and M. Ledvina. Importance of superoxide dismutase for the acute radiation syndrome. In biological and clinical aspects of superoxide and superoxide dismutase(W.H. Bannister and J.V. Bannister, Eds.), 327-334. Elsevier /NorthHolland. New York/Amsterdam/Oxford. 1980
  21. Yamaoka, K., Eadmatsu, R., Mori, A. Increased SOD activities and decreased lipid peroxide levels induced by low dose X irradiation in rat organs, *Free Radic Biol Med.*, 11 (3):299-306. 1991.
  22. Penka, S. Balevka., Elevter, M. Russanov, and Todorika, A. Kassabova. Institute of Physiolgy. Bulgariand Academy of Sciences. 1113 Sofla. Bulgaria.
  23. H.M. Patt, E.B. Tyree, R.L. Straube and D.E. Smith. *science.*, 110, 213. 1949.
  24. V.K. Singh, S.S. Agurwal and B.M. Gupta : Immunomodulatory activity of Panax ginseng extract. Pro. 4th INTL ginseng symposim., 225. 1984.
  25. Takeda, A., Yonizawa. M, and N. Katoh. 1981. Restoration of radiation injury by ginseng. 1. Response of X-irradiated mouse to ginseng extract. *J. Radiat. Res.*, 22:323-335.
  26. Bergmeyer, Method of Enzymatic Analysis, 2th, 3. 1982.
  27. 백채홍, 천현자, 강병수, Erythrocyte Ghost의 광산화 반응에 미치는 인삼 추출물의 영향, 고려 인삼학회지. 14(1), 30-35. 1990.
  28. Crapo, J.D., McCord, J.M and Fridovich, I., in Fleischer and Lester, P.(ed.), Methods in Enzymology, Vol. LIII, Academic Press, New York, pp.382-393, 1978.
  29. Saline, M.L., and S.M. Bridges. Localization of superoxide dismutase in chloroplasts from *Brassica campestris*. *Z. Pflanzenphysiol.*, 99: 37. 1980.
  30. Aebi, H.E. in H.U.(ed) Bergmeyer, Method of enzymatic Analysis, Third edition. Vol 3. Verlag Chemi. Weinheim, P 273-286. 1982.

31. Putter, J., and R. Becker. In H.U.(ed) Bergmeyer, Method of enzymatic Analysis, Third edition. Vol. 3. Verlag Chemi. Weinheim, p 286-293. 1982.
32. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biolchem*, 193:265. 1951.
33. Okawa, H., H. Ohishi and K. Yagi. Assays for lipid peroxides in animal tissues by thiobabaturic acid reaction. *Analytical Bichem*, 95:351358. 1979.
34. Misra, H., and I. Fridovich. Superoxide dismutase and the oxygen enhancement of radiation lethality. *Arch Biochem Biophys.*, 176:577-581. 1976.
35. Scott, M.D., Meshnick, S.R. and Eaton, J.W. Superoxide dismutase amplified organismal sensitivity to ioniziog radiation, *J. Biochem.*, 264:2498-2501. 1989.
36. Czpaski, G. Radiation chemistry of oxygenated aquaeous solutions. *Annu. Rev. Phys. Chys. Chem.*, 22:171-208. 1971.
37. Krizala, J., A. Stockasova, H. Kovarova, and M. Ledvina. The effect of irradiation and cystamine on cystamine on supeoxide dismutase activity in the bone marrow and erythrocytes of rats. *Radiat Res.*, 91:507-517. 1982.