

다시마 추출물의 급여가 당뇨쥐의 중성스테로이드와 담즙산 배설에 미치는 영향

장민아 · 이경순 · 서정숙[†] · 최영선*

영남대학교 식품영양학과
*대구대학교 식품영양학과

Effects of Dietary Supplementation of Sea Tangle Extracts on the Excretion of Neutral Steroids and Bile Acid in Diabetic Rats

Min-A Jang, Kyeong-Soon Lee, Jung-Sook Seo[†] and Young-Sun Choi*

Dept. of Food and Nutrition, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea

*Dept. of Food and Nutrition, Daegu University, Gyeongsan 712-714, Korea

Abstract

The present study was conducted to investigate the effect of dietary supplementation of sea tangle extracts on the excretion of neutral steroids and bile acid in diabetic rats. Sprague-Dawley rats were fed on AIN-76 based experimental diets containing methanol extracts (2%, w/w) or water extracts (4%, w/w) of sea tangle for 4 weeks. And then they were induced to be diabetic by receiving streptozotocin (45 mg/kg BW) intramuscularly. The dried fecal weight was increased significantly in water extracts group compared with control group. The fecal content of cholesterol was higher in extracts groups of sea tangle than in control group. But there was no significant difference in fecal excretion of cholesterol between methanol and water extracts groups. The fecal excretion of coprostanol was increased significantly in water extracts group compared with the control group. The fecal excretion of bile acid was increased significantly in sea tangle extracts groups compared to the control group. These data suggest that dietary supplementation of sea tangle extracts might reduce the incidence of atherosclerosis through increasing the excretion of neutral steroids.

Key words: sea tangle, neutral steroids, bile acid, diabetic rats

서 론

당뇨병은 만성적인 대사성 질환으로서 생체가 당을 이용하는 능력이 감퇴되어 혈액을 통해 공급되는 당을 말초조직 세포가 충분히 활용하지 못하기 때문에 혈중에 과잉의 당이 존재한다. 이러한 당뇨병 상태에서 유도되는 산화스트레스로 인한 조직의 손상이 당뇨병의 만성합병증 유발을 초래하는 것으로 알려져 있다(1).

당뇨병에서는 지질대사의 특징적인 대사이상이 지적되고 있다. 비정상적인 지질대사의 발생빈도나 정도는 당뇨병의 형태, 당뇨조절 정도, 영양상태, 연령에 따라 다양하지만 일반적으로 당뇨병 환자들은 정상인에 비해 지질대사의 변화와 관련된 혈관계질환의 위험이 높은 것으로 보고되었다(2). Han 등(3)은 당뇨를 유발한 쥐에서 심장의 지질대사 이상에 기인한 기능장애가 유발되었다고 보고하였다. 당뇨병 환자에서는 중성지방의 증가와 함께 HDL-콜레스테롤의 감소를 자주 관찰할 수 있으며, 이는 VLDL 이화작용의 손상과 lipoprotein lipase의 활성 감소에 기인하는 것으로 보고되었다(4).

당뇨병에서 관찰되는 고콜레스테롤혈증은 주로 콜레스테롤의 합성 증가에 기인하는 것으로 알려져 있다(5). 당뇨병 환자를 대상으로 한 임상연구에서도 인슐린 의존성, 비의존성 당뇨병 환자 모두에게서 지질대사가 현저하게 변화되었으며, 특히 콜레스테롤 함량의 증가, 항산화계 효소의 활성 감소를 통하여 체내 지질과산화물과 VLDL산물이 증가되었다고 하였다(6). 이러한 결과는 당뇨병의 혈관계 합병증의 발생과 밀접하게 관련되는 것으로 여겨지고 있다.

당뇨병에서는식이성분이 혈당의 조절에 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, 이와 관련하여식이섬유의 섭취가 효과적이라는 연구가 증가되고 있다. 식이섬유는 장내에서 콜레스테롤 및 담즙산을 흡착하여 대변으로 배설시키고 지단백대사에 변화를 주어 혈청 콜레스테롤과 중성지방의 수준을 저하시키는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 즉, 식이섬유는 콜레스테롤의 체내 흡수나 재흡수를 방해하거나 장관에서 담즙산과 직접 결합하여 대변으로 배설되는 양을 증가시킴으로써 체내 콜레스테롤이 담즙산 합성에 많이 사용되도록 해서 체내 각 조직에 존재하는 전체 콜레스테롤의 함량을 감소시키

[†]Corresponding author. E-mail: jsseo@yu.ac.kr
Phone: 82-53-810-2875. Fax: 82-53-813-3813

는 효과를 나타낸다(7). 따라서 식이섬유는 혈당과 콜레스테롤 수준을 저하시키는 효과가 있으며, 이는 소화생리와 밀접한 관계가 있다고 보고되었다(8).

미역과 다시마에 많이 함유된 수용성 식이섬유는 불용성 식이섬유에 비해 보수력이 커서 겔 형성으로 점도가 높아지므로 포만감을 주고 영양소의 소화, 흡수를 지연시켜 당뇨병 환자에게 당내성을 증진시키는 효과가 있는 것으로 보고되었다(9, 10). 다시마는 주로 우리나라와 일본 등지에서만 섭취하는 특이한 식품으로 alginic acid, carotenoids, xanthophyll류, mannitol 및 기타 미지의 생리활성 물질을 다량 함유하는 것으로 알려져 있다.

따라서 본 연구에서는 흰쥐에게 당뇨를 유도하여, 다시마 추출물을 첨가한 식이를 당뇨쥐에게 섭취시킨 후 체내 지질대사와 관련성이 큰 중성스테로이드와 담즙산 배설에 미치는 다시마 추출물의 급여 효과를 조사하고자 하였다

재료 및 방법

실험동물 및 식이

본 연구에 사용한 실험동물은 대전화학연구소에서 분양받은 Sprague-Dawley종 숫쥐로서 일반 고형사료(진양사료)와 물을 공급하면서 3일간 환경에 적응시킨 후 난과법에 따라 10 마리씩 3군으로 나누어 stainless steel-bottomed cage에 한 마리씩 분리·사육하였다. 실험동물 사육에 필요한 도구는 실험 시작 전에 0.4% EDTA 용액으로 세척하고 탈 이온수로 헹군 다음 건조시켜 사용하였으며, 사육실의 온도, 습도 및 채광은 각각 $20 \pm 2^\circ\text{C}$, $55 \pm 5\%$ 와 8:00~20:00의 명암주기로 조절하였다.

실험식은 AIN-76A 식이(11)를 기본으로 하되, 다시마의 추출효율을 고려하여 메탄올추출물 2%(w/w)를 급여한 군(ME군), 물추출물 4%(w/w)를 급여한 군(WE군)과 다시마추출물을 급여하지 않은 대조군(C군)을 설정하였다. 각 실험군에게 지방의 급여는 지방 섭취량의 증가 추세를 감안하여 corn oil과 lard를 1:2의 비율로 하여 식이에 15%(w/w)로 첨가하여 공급하였다(Table 1).

다시마 추출물의 조제는 메탄올추출물의 경우 500 g의 다시마 분말을 1.5 L의 메탄올과 혼합한 후 70°C 에서 5시간 동안 회류시킨 다음 가아제 두 층으로 여과한 후 다시 여과지에 여과하였다. 그런 다음 감압건조기로 증발 건조시켜 분말화하여 사용하였다. 물추출물은 메탄올 추출 잔분을 유리병에 담은 후 약 2배 부피의 증류수를 붓고 실온에서 24시간 동안 침출하였다. 침출되어 나온 용액을 여과한 후 감압건조하여 동결건조시킨 다음 분말화하여 사용하였다.

실험동물은 위와 같이 조제한 실험식으로 4주간 사육한 후 평균체중이 230~250 g 정도가 되었을 때 대퇴부 근육에 streptozotocin(Sigma, USA)을 신선한 0.1 M citrate buffer(pH 4.3)에 용해시켜 체중 kg당 45 mg을 1회 주사하여 당뇨를 유도하

Table 1. Composition of experimental diet (%)

Ingredient	Group		
	Control	ME ³⁾	WE ⁴⁾
Corn starch	18.1	16.1	14.1
Casein	20	20	20
Sucrose	40	40	40
Corn oil	5	5	5
Lard	10	10	10
α -Cellulose	2	2	2
MeOH extracts of sea tangle	0	2	0
Water extracts of sea tangle	0	0	4
Mineral mix ¹⁾	3.5	3.5	3.5
Vitamin mix ²⁾	1	1	1
Choline bitartrate	0.1	0.1	0.1
DL-Methione	0.3	0.3	0.3

¹⁾Vitamin mixture according to AIN-76 (Teklad, USA).

²⁾Mineral mixture according to AIN-76 (Teklad, USA).

³⁾ME: diets containing methanol extract of sea tangle (2%).

⁴⁾WE: diets containing water extract of sea tangle (4%).

였다. 당뇨유도 48시간 후 요당시험용 strip(Glucotest, Germany)을 이용해서 요당이 300 mg/dL 이상인 쥐만을 선별하여 다시 1주간 실험식으로 사육하였으며 식이와 물은 자유롭게 섭취시켰다.

시료 조제

실험식으로 5주간 사육한 흰쥐를 12시간 절식시킨 후, 희생시키기 직전에 체중을 측정하였고, 에테르로 가볍게 마취시켜 개복한 즉시 헤파린으로 처리된 주사기로 복부 대동맥에서 채혈하였다. 혈액은 3,000 rpm에서 냉장·원심분리하여 혈장을 분리한 후 일정량씩 나누어 분석할 때까지 -70°C 에서 보관하였다.

간조직은 1.15% KCl 완충용액으로 관류시켜 적출한 후 여러 번 세척하고 여과지로 수분을 완전히 제거시킨 다음, 간조직 무게를 측정하였다.

실험동물을 희생시키기 전 24시간 동안의 분변을 수집하여 -70°C 에서 냉동 저장한 후 -50°C 에서 항량에 도달할 때까지 동결건조시킨 뒤 중성스테로이드 및 담즙산 분석에 사용하였다.

실험방법

혈당 측정: 혈장 중 포도당 함량은 glucose oxidase법에 의한 혈당 측정용 kit 시약(Embiel Co, 한국)을 이용하여 500 nm에서 흡광도를 측정하여 혈당을 계산하였다.

혈장 중 지질 함량 측정: 혈장의 중성지질 함량은 효소법에 의한 중성지질 측정용 kit(Embiel Co, 한국)시약을 사용하여 측정하였고, 인지질 함량은 폴리브덴 색소법에 의한 kit(Embiel Co, 한국)시약을 사용하여 측정하였다. 혈장내 총 콜레스테롤 함량은 효소법에 의한 콜레스테롤 측정용 kit(Embiel Co, 한국)시약을 사용하여 측정하였다. 혈장 0.02 mL에 효소시약 3.0 mL를 넣고 혼합하여 37°C 에서 5분간 반응시킨 후 500 nm에서 흡광도를 측정해서 일정한 계산법에 의해 총 콜레스테롤 함량을 산출하였다. 혈장내 HDL 콜레스테롤 함량은 맥스트린 황산나트륨-효소법에 의한 kit(Embiel Co, 한국)시약을 사용하여 분

석하였다.

분변 중량 및 수분 함량 측정 : 각 군별로 24시간 배설되는 분변을 수집하여 wet weight를 칭량한 후 -70°C에서 냉동시켰다가 -50°C에서 항량이 달할 때까지 동결 건조시킨 뒤 건조 중량을 칭량하여 수분함량을 측정하였다. 측정된 wet weight와 dry weight간의 차를 계산하여 수분함량을 계산하였다.

변 중 중성스테로이드 함량 측정 : 변 중 중성스테로이드인 콜레스테롤과 coprostanol의 함량은 Crowell과 Macdonald의 방법(12)에 의하여 분석하였다. 즉 -50°C에서 동결건조한 변 중 0.2 g을 취하여 glycerol 100 mL에 KOH 4 g을 녹인 용액을 1 mL 첨가하여 잘 혼합하고 3시간 동안 autoclave 시킨 다음 ethyl ether 20 mL를 넣고 잘 혼합한 후 2회 반복해서 추출하였다. 이 추출액을 rotary evaporator로 감압건조하고 N₂ gas로 최종 건조시킨 다음 chloroform에 녹여서 시료로 사용하였다. 이를 TLC plate(Silica gel, 60 F, Merck, Germany)에 점적하여 ethyl ether와 heptane 혼합용액(55 : 45)에 전개시킨 후 건조하여 iodine 증기 chamber에 넣어 발색시켰다. 콜레스테롤과 coprostanol 각각의 band에 internal standard로 5 α -cholestane을 도포한 다음 band를 긁어 모았다. 각각의 band에 ethyl ether 4 mL를 넣고 잘 혼합한 후 2,000 rpm에서 10분 동안 원심 분리하여 3회 반복해서 추출하여 상층액을 취한 후 N₂ gas하에서 건조시켰다. 건조시킨 스테로이드 추출물에 표준물질인 콜레스테롤과 coprostanol을 각각 GC용 chloroform 50 μ L로 녹인 용액을 혼합한 후 gas chromatography(HP 5890, USA)에 주입하여 측정하였다. Column은 Supelco SACTM-5 capillary column을 사용하였으며 oven 온도 200°C에서 5분, 250°C에서 5분, 300°C에서 분당 2°C씩 가온하였으며, detector는 FID를 이용하여 300°C를 유지하였다. 스테로이드 양은 각각의 분획에서 얻은 GC peak 면적을 internal standard인 5 α -cholestane의 peak 면적과 비교함으로써 계산하였다.

변 중 담즙산 함량 측정 : 변 중 담즙산 함량은 Crowell과 Macdonald(12)의 방법에 의하여 추출한 후 담즙산 분석용 효소시약(Sigma, USA)으로 측정하였다. 중성 스테로이드 추출 단계 중 원심분리하여 얻어진 물층에 HCl 0.2 mL를 첨가하여 잘 혼합하여 산성화한 다음 ethyl ether 20 mL씩을 사용하여 6회 반복 추출하였다. 그런 다음 rotary evaporator용 flask에 시료를 옮겨 감압건조하고 N₂ gas로 최종적으로 건조시킨 다음 MeOH와 H₂O 혼합액(5 : 1) 1 mL를 넣은 후 희석하여 시료로 사용하였다. 이 중 50 μ L를 취하여 효소시약 500 μ L와 혼합하여 37°C에서 7분간 방치하고 triton X-100 20 μ L를 혼합한 후 즉시 530 nm에서 흡광도를 측정하는 다음 표준물질을 사용하여 계산하였다.

통계처리

모든 실험결과는 SAS 통계 package를 이용하여 평균치와 표준편차를 산출하였고, Duncan's multiple range test를 사용하여 각 실험군 평균치 간의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

실험동물의 성장상태

실험기간 동안 실험동물의 체중변화, 식이섭취량과 식이효율은 Fig. 1과 Table 2에서와 같다. 체중증가량은 streptozotocin(STZ)을 투여한 후에 당뇨 유발로 인한 체중감소가 현저하였다. 실험군간의 체중감소량을 비교해 보면 식이에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았지만 메탄올추출물 급여군보다 물추출물 급여군에서 당뇨에 의한 체중감소가 적은 것으로 나타났다. 그러나 식이에 따른 식이효율의 차이는 나타나지 않았다. 당뇨 유발 후의 체중감소 현상은 STZ를 투여한 당뇨병 상태에서 세포의 포도당 이용이 저하되어 체중이 감소한 여러 실험 결과들과 같은 경향이었다(5).

식이섭취량은 물추출물 급여군이 대조군에 비하여 유의적으로 낮은 경향이었다. 수용성 식이섬유는 식사 후 반복감 및 에너지 섭취량에 영향을 주어 체중감소의 효과가 있다는 보고와 관련이 있다고 생각된다(13,14). 식이섬유는 소화관 내에서 각종 영양소의 흡수를 저해하는 것으로 알려져 있다. 특히 점성 다당류는 장 내용물의 점성을 증가시킴으로써 장 내용물에 효소의 확산을 감소시키는 한편, 점막 표면에서 이들의 효과적인 상호작용을 방해하는 것으로 보고되므로(13,14) 다시마추출물 중의 식이섬유 성분이 이러한 역할을 한 것으로 여겨진다.

혈당치의 변화

다시마추출물 급여에 의한 혈당 변화를 관찰하고자 실험동

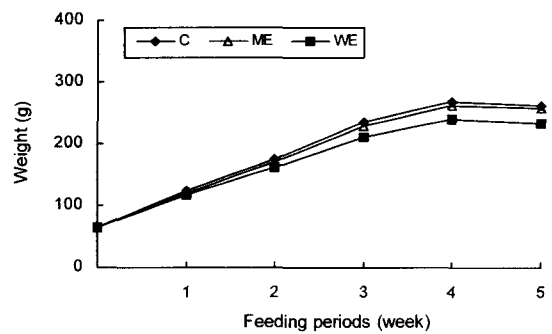


Fig. 1. Effect of dietary supplementation of sea tangle extracts on the change of body weight in diabetic rats. Abbreviations are the same as Table 1.

Table 2. Effect of dietary supplementation of sea tangle extracts on the body weight gains, food intakes and FER in diabetic rats

Group ¹⁾	Weight gain g/day	Food intake g/day	FER ⁴⁾
C	-0.29 ± 4.02 ^{2)NS5)}	18.1 ± 0.68 ³⁾	-0.03 ± 0.20 ^{NS}
ME	-11.97 ± 10.21	16.3 ± 0.74 ^{ab}	-0.84 ± 0.61
WE	-5.00 ± 2.62	15.6 ± 0.41 ^a	-0.3 ± 0.16

¹⁾Refer the legend to Table 1.

²⁾Means ± SE.

³⁾Values with the same superscript letter within the column are not significantly different (p<0.05).

⁴⁾FER: Food efficiency ratio.

⁵⁾NS: Not significant.

물을 희생시키기 전 12시간 절식시키고 혈당량을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 혈당 변화는 당뇨를 유도하고 다시마추출물을 급여하지 않은 대조군에 비해 다시마추출물 급여군에서 유의적으로 감소하였으나 추출물의 종류에 따른 차이는 나타나지 않았다.

혈장의 지질 함량

혈장의 지질 함량은 Table 3에서와 같다. 당뇨병 환자에게서 가장 빈번하게 관찰되는 지질대사의 이상은 혈중 중성지방과 콜레스테롤의 증가, HDL-콜레스테롤의 감소를 들 수 있는데(15,16), 본 실험 결과에서는 중성지방의 함량이 유사한 경향을 나타내고 있다.

중성지방 함량은 대조군에 비해 다시마추출물을 급여한 군에서 중성지질 함량이 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었으나 추출물 간의 차이는 관찰되지 않았다. 인지질 함량은 다시마추출물 급여군에 비해 대조군에서 약간 높았으나 메탄올추출물과 물추출물간의 차이는 관찰되지 않았다. 다시마추출물 급여군에서 혈중 지질 함량의 감소는 다시마추출물이 체내 중성지방의 배설을 증가시킴으로써 체내 지질 농도를 낮추는 것으로 사료된다.

혈장에서의 총 콜레스테롤 함량은 실험군간의 차이를 보이지 않았다. HDL-콜레스테롤 함량은 실험군간의 유의적인 차

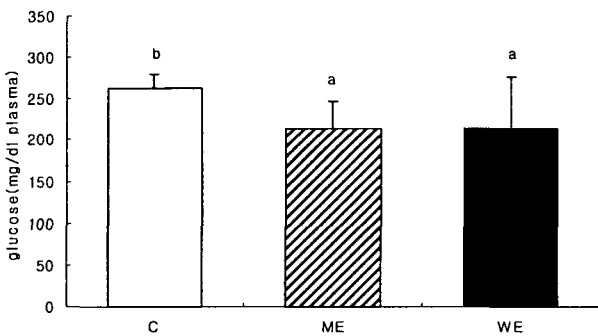


Fig. 2. Effect of dietary supplementation of sea tangle extracts on plasma glucose in diabetes rats.

¹⁾Refer the legend to Table 1.

²⁾Means ± SE.

³⁾Values with the same superscript letter are not significantly different (p<0.05).

Table 3. Effect of sea tangle extracts and hypoglycemic agent on plasma levels of triglyceride, phospholipid and cholesterol in diabetic rats

Group ¹⁾	Triglyceride	Phospholipid	Total cholesterol	HDL-C
C	106.3 ± 19.9 ²⁾³⁾	10.4 ± 2.0 ^b	81.8 ± 20.1 ^{NS4)}	40.3 ± 7.8 ^{NS}
ME	69.2 ± 14.9 ^a	10.0 ± 1.0 ^{ab}	73.6 ± 16.0	39.4 ± 12.2
WE	73.2 ± 13.3 ^{ab}	9.9 ± 1.9 ^{ab}	77.0 ± 20.9	48.8 ± 15.7

¹⁾Refer the legend to Table 1.

²⁾Means ± SD.

³⁾Values with the same superscript letter within the column are not significantly different (p<0.05).

⁴⁾NS: Not significant.

이는 없으나 대조군과 메탄올추출물 급여군에 비해 물추출물 급여군에서 그 함량이 높았다. 식이에 섬유질을 첨가시 HDL-콜레스테롤이 증가하는 것은 Park과 Lee(17)의 연구결과와 일치하였다. 또, 식이섬유 중 cellulose보다는 pectin을 섭취한 경우에 혈장 콜레스테롤, LDL-, VLDL-콜레스테롤 농도가 유의적으로 낮아졌다고 한다(18). Wang과 Yang(19)은 고콜레스테롤혈증을 유도한 흰쥐에게 5% sodium alginate를 급여한 결과, 혈액과 간조직 중의 총콜레스테롤 등 지질함량이 감소되었다고 보고하였으며, 이는 다시마추출물 중의 중요한 성분인 알긴산이 본 실험에서도 지질 저하 효과를 나타낸 것과 관련이 있으리라 생각된다.

분변 중량 및 수분 함량

실험동물의 분변을 수집하여 변 무게와 수분 함량을 측정된 결과는 Table 4와 같다. 분변의 건조중량은 다시마 물추출물 급여군에서 유의적으로 증가하였다.

분변 중의 수분 함량은 유의적이지는 않지만 대조군이나 메탄올추출물 급여군보다는 물추출물 급여군에서 증가하는 경향이였다. Son 등(20)은 식이섬유의 종류에 따라 변의 중량에 차이가 있으며, 해조류 섭취의 결과로 변의 무게가 증가되었다고 보고하였다. 또한 본 연구의 결과는 다시마의 수용성 식이섬유가 수분 보유력이 커서 물분자가 식이섬유의 표면에 흡착하거나 식이섬유의 사이에 침입하여 식이섬유의 용적을 증가시키고 그로 인해 변의 부피와 무게가 증가하였다는 보고(10)와 일치하였다. 그리고 정상적인 생리상태의 쥐에서 분변의 수분 함량이 약 28% 정도인 것에 비하여(21) 본 실험의 당뇨 유도 쥐에서 48%~55% 정도의 수분 함량을 나타낸 것은 당뇨병 상태에서 당뇨, 다갈로 인해 수분의 섭취량이 증가되었기 때문인 것으로 사료된다.

변 중 중성스테로이드 및 담즙산 함량

변으로 배설되는 콜레스테롤 함량은 Table 5와 같다. 하루에 변으로 배설되는 콜레스테롤의 함량은 대조군에서 42.3 ± 6.2 nmol/day, 메탄올추출물 급여군에서는 69.1 ± 8.8 nmol/day 이었고, 물추출물 급여군에서는 69.3 ± 5.4 nmol/day로 메탄올과 물에서 추출한 각각의 다시마 추출물 급여군들에서 변으로 배설되는 콜레스테롤 함량이 유의적으로 증가하였다.

Table 4. Effect of dietary supplementation of sea tangle extracts on dry fecal weights and fecal moisture contents in diabetic rats

Group ¹⁾	Dry fecal weight	Fecal moisture
	g/day	%
C	1.22 ± 0.09 ²⁾³⁾	51.9 ± 2.4 ^{NS4)}
ME	1.17 ± 0.12 ^a	47.8 ± 7.2
WE	1.53 ± 0.08 ^b	54.6 ± 1.7

¹⁾Refer the legend to Table 1.

²⁾Means ± SE.

³⁾Values with the same superscript letter within the column are not significantly different (p<0.05).

⁴⁾NS: Not significant.

Table 5. Effect of dietary supplementation of sea tangle extracts on fecal excretion of neutral steroids and bile acids in diabetic rats

Group ¹⁾	Cholesterol	Coprostanol	Bile acid	Total steroids
	nmol/day			
C	42.3±6.2 ^{2)a}	101.2±8.0 ^{a3)}	5.2±0.4 ^a	148.7±15.1 ^a
ME	69.1±8.8 ^b	89.5±9.3 ^a	10.4±2.3 ^b	169.0±20.4 ^{ab}
WE	69.3±5.4 ^b	132.8±8.0 ^b	10.5±1.2 ^b	212.6±14.6 ^b

¹⁾Refer the legend to Table 1.

²⁾Means ± SE.

³⁾Values with the same superscript letter within the column are not significantly different (p<0.05).

하루에 번으로 배설되는 coprostanol의 함량은 대조군에서 101.2±8.0 nmol/day, 메탄올추출물 급여군에서는 89.5±9.3 nmol/day이었고, 물추출물 급여군에서는 132.8±8.0 nmol/day으로 분변으로 배설되는 coprostanol의 함량은 물추출물 급여군에서 유의적으로 증가되었다(Table 5).

번으로 배설되는 담즙산의 함량은 Table 5와 같이 대조군에서는 5.2±0.4 nmol/day, 메탄올추출물 급여군에서는 10.4±2.3 nmol/day이었고, 물추출물 급여군에서는 10.5±1.2 nmol/day로서 분변으로 배설되는 담즙산 함량은 다시마추출물 급여군에서 대조군에 비해 유의적으로 높게 나타났다. 즉 흰쥐에게 다시마 추출물을 급여함으로써 번으로 배설되는 콜레스테롤과 담즙산량이 유의적으로 증가되었다.

건강한 성인 남자에게 다시마, 미역, 김 등 해조류가 다량 첨가된 식이를 제공하였을 때 혈중 콜레스테롤과 중성지질의 농도가 현저히 감소하여 지질대사를 개선시켰다는 보고(20)가 있다. Innami 등(22)은 Jew's Mellow 잎에서 수용성 점액물질을 추출하여 급여하였을 때 혈청과 간에서의 콜레스테롤 함량이 뚜렷히 감소하였고, 번으로 담즙산과 중성스테로이드의 배설이 유의적으로 증가함을 관찰하였다. 그들은 Jew's Mellow 잎이 혈액과 간의 지질함량을 저하시킨 것은 수용성 식이섬유가 이들의 배설을 유도한 효과 때문이라고 설명하고 있다. 이는 본 연구에서 다시마추출물의 급여로 번으로 담즙산과 중성스테로이드의 배설이 증가된 것과 유사한 결과로 여겨진다.

Lee(23)는 흰쥐에게 당뇨를 유도한 후 다시마 급여효과를 관찰한 결과, 대조군인 cellulose 급여군에 비해 다시마 급여군에서 혈장 총 콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤 수준이 감소되었다고 보고하였다. 이는 다시마 급여가 당뇨상태에서 지질대사의 이상을 개선하는데 유용함을 시사하고 있다.

만성적인 당뇨병에서는 고지혈증이 주로 나타나는데, 특히 LDL-콜레스테롤의 증가가 당뇨병의 합병증인 동맥경화증의 유발에 매우 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 즉 당뇨병이나 고콜레스테롤혈증 환자에서 LDL이 산화되어 동맥혈관벽의 내피세포를 손상시키고, 여기에 혈소판 등이 부착되어 동맥경화증을 유발시킨다는 지질과산화에 의한 조직의 상해설과 관련되기 때문이다(24). 따라서 정상인의 경우보다 당뇨환자에게서 심혈관계 질환의 발병률이 높은 것으로 보고되었다(25).

이와 같이 당뇨병의 경우에 LDL의 산화는 합병증인 동맥경화 유발의 위험인자이며, LDL의 산화는 자유라디칼이 관여하는 지질과산화의 과정으로 여겨진다(26). 본 연구에서 다시마 추출물의 섭취로 콜레스테롤의 체외 배설이 증가됨으로써 생체 내 LDL의 산화에 의한 손상이 저하될 것으로 생각된다.

Moundras 등(27)은 수용성 식이섬유인 guar gum을 섭취함에 따라 혈장의 콜레스테롤과 중성지방이 유의적으로 감소하였는데, 이는 번으로 담즙산과 스테로이드의 배설이 증가되었기 때문이라고 하였다. 수용성 식이섬유에 의한 콜레스테롤 저하 효과는 수용성 식이섬유가 장내에서 콜레스테롤이나 담즙산과 결합하여 담즙산의 장관내 순환을 억제함으로써 콜레스테롤의 재흡수를 저해하기 때문으로 사료된다. 또한 gel을 형성하는 식이섬유의 성질이 장관에서 콜레스테롤 및 중성지방과 직접 결합하여 이들의 배설을 증가시킴으로써 흡수를 억제하는 것으로 보고되고 있다(8). Sandberg 등(28)은 sodium alginate를 급여한 결과, 지방의 배설이 140% 정도 증가되었는데 이는 alginate가 지방산과 결합하여 배설되었기 때문이라 하였다. 본 연구에서 다시마 물추출물군에서 중성스테로이드의 배설이 증가된 것도 다시마의 수용성 식이섬유 성분인 sodium alginate의 작용과 관련이 있으리라 여겨진다.

또한 식이섬유를 섭취하면 장내 세균에 의해 발효되어 생성된 단쇄지방산이 3-hydroxy-3-methyl glutaryl CoA reductase(HMG-CoA reductase)의 활성을 억제하여 콜레스테롤의 합성을 저해시킨다고 알려지고 있다(29). 이러한 콜레스테롤 pool의 감소가 혈액과 간장 중의 콜레스테롤 turnover 속도를 증가시키는 것으로 생각되고 있다. 식이섬유에 의한 콜레스테롤 농도의 저하는 전적으로 담즙산 재흡수의 저하에 의한 것만은 아니며, 중성지방과 콜레스테롤 외에 다른 성분의 흡수 저하가 복합적으로 작용한다는 보고도 있다(30).

담즙산은 콜레스테롤로부터 합성되는 물질로서 번의 담즙산 함량과 대장암의 발생기전 간에는 상관관계가 있으며, 이에 담즙산은 결장암의 촉진인자로 주목되고 있어(31) 다시마 급여로 인해 번으로 담즙산이 많이 배설되면 대장암의 위험도 낮춘다고 할 수 있다.

따라서 다시마의 추출물, 특히 다시마의 수용성 식이섬유 성분은 담즙산과 직접 결합하여 이들의 배설을 증가시킴으로써 담즙산과 중성스테로이드로의 체내 콜레스테롤 전환을 촉진시켜 혈장의 콜레스테롤을 저하시키는데 효과적인 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 메탄올과 물에서 각각 추출한 다시마 추출물을 급여한 흰쥐에게 당뇨를 유도하고 다시마 추출물의 섭취가 당뇨병의 혈관계 합병증의 유발과 관련되는 체내 지질대사의 변화에 미치는 영향을 조사하고자 하였다. 흰쥐에게 다시마의 메탄올추출물(2%, w/w)과 물추출물(4%, w/w)을 식이에 첨가

하여 4주간 급여하고, streptozotocin(STZ, 45 mg/kg BW)으로 당뇨를 유도한 후 혈당, 혈중 콜레스테롤과 중성지방, 변의 수분 함량과 중량, 변의 스테로이드 및 담즙산 함량을 측정하였다. 당뇨 유발로 인해 흰쥐의 체중 감소가 현저하였으며 식이에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았지만 메탄올추출물 급여군보다 물추출물 급여군에서 당뇨에 의한 체중감소가 적은 것으로 나타났다. 식이에 따른 식이효율의 차이는 나타나지 않았으나 식이섭취량은 물추출물 급여군이 유의적으로 낮은 경향이였다. 혈당 변화는 당뇨를 유도하고 다시마추출물을 급여하지 않은 대조군에 비해 다시마추출물 급여군에서 유의적으로 감소하였으나 추출물의 종류에 따른 차이는 나타나지 않았다. 중성지방 함량은 대조군에 비해 다시마추출물을 급여한 군에서 중성지방 함량이 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었으나 추출물 간의 차이는 관찰되지 않았다. 인지질 함량은 다시마추출물 급여군에 비해 대조군에서 약간 높았으나 메탄올추출물과 물추출물간의 차이는 관찰되지 않았다. 혈장에서의 총 콜레스테롤 함량은 실험군간의 차이를 보이지 않았다. HDL-콜레스테롤 함량은 실험군간의 유의적인 차이는 없으나 대조군과 메탄올추출물 급여군에 비해 물추출물 급여군에서 그 함량이 높았다. 분변의 건조중량은 다시마의 물추출물 급여군에서 유의적으로 증가하였다. 분변 중의 수분 함량은 유의적이지는 않지만 대조군이나 메탄올추출물 급여군보다 물추출물 급여군에서 증가하는 경향이였다. 변으로 배설되는 콜레스테롤 함량은 메탄올과 물에서 각각 추출한 다시마 추출물 급여군이 대조군에 비해 유의적으로 높았으며, 특히 물추출물 급여군에서 가장 많이 배설되었다. 하루에 변으로 배설되는 coprostanol 함량은 다시마의 물추출물 급여군에서 유의적으로 증가되었다. 변으로 배설되는 담즙산의 함량은 메탄올과 물추출물 급여군에서 대조군에 비해 유의적으로 높았다. 이상과 같은 결과를 통해서 볼 때 다시마 추출물 섭취는 콜레스테롤과 같은 중성스테로이드의 배설을 촉진시킴으로써 당뇨로 인해 발생하기 쉬운 합병증인 동맥경화증의 예방적 효과에 기여할 수 있으리라 사료된다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단의 특징기초연구사업(과제번호: 96-0402-0901-3)의 연구비 지원으로 수행된 연구 결과의 일부이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

문헌

- Baynes JW. 1991. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 40: 405-412.
- Strachan WJ, Deary IJ. 1997. Is type II diabetes associated with an increased risk of cognitive dysfunction? *Diabetes Care* 20: 438-445.
- Han XL, Abendschein DR, Kelley JG, Gross RW. 2000. Diabetes-induced changes in specific lipid molecular species in rat myocardium. *Biochem J* 352: 79-89.
- Ginsberg H. 1991. Lipoprotein physiology in non-diabetic and diabetic states: relationship to atherogenesis. *Diabetes Care* 14: 839-855.
- Best JD, O'Neal DN. 2000. Diabetic dyslipidaemia-Current treatment recommendations. *Drugs* 59: 1101-1111.
- Gibbons GY. 1996. Hyperlipidemia of diabetes. *Clin Sci* 71: 477-486.
- Jonnalagadda SS, Thye FW, Robertson JL. 1993. Plasma total and lipoprotein cholesterol, liver cholesterol and fecal cholesterol excretion in hamsters fed fiber diets. *J Nutr* 123: 1377-1382.
- Song YS, Yang JL, Suh MJ. 1996. Effects of sodium alginate and cellulose on gastrointestinal physiology in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 551-559.
- Torsdottir I, Alpsten M, Holm G, Sandberg AS, Tolli J. 1991. A small dose of soluble alginate-fiber affects postprandial glycemia and gastric emptying in humans with diabetes. *J Nutr* 121: 795-799.
- Wursh P, Pi-Sunyer FX. 1997. The role of viscous soluble fiber in the metabolic control of diabetes. *Diabetes Care* 20: 1774-1780.
- AIN standard for nutrition studies report. 1997. *J Nutr* 107: 1340-1348.
- Crowell MJ, Macdonald IA. 1980. Enzymic determination of 3 α -, 7 α -, and 12 α -hydroxyl groups of fecal bile salts. *Clin Chem* 26: 1298-1300.
- Bennett WG, Cerda JJ. 1996. Benefits of dietary fiber. *Postgraduate Medicine* 99: 153-175.
- Broderick GA, Walgenbach RP, Sterrenburg E. 2000. Performance of lactating dairy cows fed alfalfa or red clover silage as the sole forage. *J Dairy Sci Assoc* 83: 1543-1551.
- Boden G. 1997. Role of fatty acid in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM. *Diabetes* 46: 3-10.
- Reaven KM. 1987. Abnormal lipoprotein metabolism in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Am J Med* 83: 31-40.
- Park EY, Lee SS. 1996. Effect of dietary fiber on the serum lipid level and bowel function in aged rats. *Kor J Nutr* 29: 934-942.
- Park HS, Kim KH, Yoon HS. 1997. Comparison on the mechanism of hypocholesterolemic effect of dietary fats and fibers in DMH-treated rats. *Kor J Lipidology* 7: 141-153.
- Wang C, Yang G. 1997. Comparison of effects of two kinds of soluble algae polysaccharide on blood lipid, liver lipid, platelet aggregation and growth in rats. *NCBI* 31: 342-345.
- Son HS, Kim HS, Ju JS. 1992. Effect of seaweed intake on the absorption of sodium, calcium, potassium and hypolipidemic mechanism in healthy male subjects. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 471-477.
- Lee HS, Choi MS, Lee YK, Park SH, Kim YJ. 1996. A study on the development of high-fiber supplements for the diabetic patients (I) - Effect of seaweed supplementation on the gastrointestinal function and diabetic symptom control in streptozotocin-induced diabetic rats - *Korean J Nutr* 29: 286-295.
- Innami S, Nakamura K, Tabata K, Wada M, Takita T. 1995. Water-soluble viscous substance of Jew's Mallow leaves lowers serum and liver cholesterol concentrations and increases fecal steroid excretion in rats fed a high cholesterol diet. *J Nutr Sci Vitaminol* 41: 464-475.
- Lee KS. 1998. Effect of sea tangle and hypoglycemic agent on nutrient status and intestinal ultrastructure in diabetic rat. *PhD Dissertation*. Yeungnam University.
- Haffner SM. 1998. Management of dyslipidemia in adults with diabetes. *Diabetes Care* 21: 160-178.
- Palmer AM, Thomas CR, Gopaul N, Dhir S, Anggard EE, Poston L, Tribe RM. 1998. Dietary antioxidant supplement-

- tation reduces lipid peroxidation but impairs vascular function in small mesenteric arteries of the streptozotocin diabetic rat. *Diabetologia* 41: 148-156.
26. Freitas JP, Filipe PM, Rodrigo FG. 1997. Lipid peroxidation in type 2 normolipidemic diabetic patients. *Diabetes Res Clin Prac* 36: 71-71.
27. Moundras C, Behr SR, Remesy C, Demigne C. 1997. Fecal Losses of sterols and bile acids induced by feeding rats guar gum are due to greater pool size and liver bile acid secretion. *J Nutr* 127: 1068-1076.
28. Sandberg AS, Andersson H, Bosoeus I, Carlsson NG, Hasselblad K. 1994. Alginate, small bowel sterol excretion, and absorption of nutrients in ileostomy subjects. *Am J Nutr* 60: 751-756.
29. Nyman M, Schweizer TF, Tyren S, Reimann S, Asp NG. 1990. Fermentation of vegetable fiber in the intestinal tract of rats and effects on fecal bulking and bile acid excretion. *J Nutr* 120: 459-466.
30. Jenkins DJA, Spadafora PJ, Jenkins AL, Rainey-Macdonald CG. 1992. Fiber in the treatment of hyperlipidemia. In *CRC Handbook of dietary fiber in human nutrition*. 2nd ed. Spiller GA, ed. CRC Press, USA. p 419-438.
31. Ikegami S, Tsuchihashi F, Harada H, Tsuchihashi N, Nishide E, Innami S. 1990. Effect of viscous indigestible polysaccharides on pancreatic-biliary secretion and digestive organs in rats. *J Nutr* 120: 353-360.

(2002년 7월 22일 접수; 2002년 10월 10일 채택)