

당뇨환자에 있어서 녹용추출물의 섭취가 혈압, 혈당 및 임파구 DNA 손상에 미치는 영향

김혜영* · 전은재* · 박유경** · 강명희*§

한남대학교 이과대학 식품영양학과,* 경희대학교 동서의학대학원 의학영양학과**

Effect of Deer Antler Drink Supplementation on Blood Pressure, Blood Glucose and Lymphocyte DNA Damage in Type 2 Diabetic Patients

Kim, Hye-Young* · Jeon, Eun-Jae* · Park, Yoo Kyoung** · Kang, Myung-Hee*§

Department of Food and Nutrition,* Hannam University, Daejeon 306-791, Korea

Department of Medical Nutrition,** Graduate School of East-West Medical Science, Kyung Hee University,
Seoul 130-701, Korea

ABSTRACT

Deer Antler has been known for its traditional oriental medicinal properties and has been widely used to promote growth, boost immune function, treat blood loss and chronic joint pain. Recent study showed imported (New Zealand) Deer Antler was beneficial in reducing the side effects of cancer treatments. However, there was no intervention study conducted on the effect of Korean Deer Antler on reducing the oxidative stress to patients with diabetes. One of the sensitive ways to measure endogenous oxidative stress is by measuring cellular DNA damage using single cell gel electrophoresis (COMET assay). This study was conducted to investigate the possible beneficial effect of commercial Deer Antler drink (provided by Chung-yang Deer Farm) on lymphocyte DNA damage and blood glucose of diabetic patients. Ten patients (4 men, 6 women) participated in the study and consumed 2 pouches of Deer Antler drink every day for 20 days. Blood was collected on the morning before and after the intervention for lymphocyte isolation and blood glucose analysis. Both systolic and diastolic blood pressure showed a tendency to decrease but did not reach statistical significance after the trial. Blood glucose level was not affected by the supplementation. After the intervention, over 50% reduction were noted in the cellular DNA damage, expressed as tail length (TL) and tail moment (TM: tail length \times percent tail DNA). Although we did not obtain beneficial effect on lowering blood glucose levels in the patients, this results suggest that Deer Antler may initially act in protecting endogenous DNA damage in short-term experiment. (*Korean J Nutrition* 37(9): 794~800, 2004)

KEY WORDS : deer antler drink, type 2 diabetes, oxidative DNA damage, tail length, DNA in tail, tail moment.

서 론

당뇨병은 현대인에게 가장 많이 발생하는 비전염성 만성 질환으로써 신체의 거의 모든 조직의 기능에 영향을 줄 수 있으므로 다양한 합병증이 발생하게 되며 이의 공통된 원인으로서 산화스트레스와 같은 기본적인 기전을 고려해 볼 수 있다.¹⁾ 고혈당과 관련된 많은 생화학적 경로들 (포도당의 자가 산화, 단백질의 당화 등)에 의해 자유라디칼의 생성이 증

가됨이 알려졌고,²⁾ 그밖에도 당뇨병에서는 에너지 대사의 변화로부터 오는 대사 스트레스, 염증성 증개물질수준의 변화와 체내 항산화 방어기전의 저하로 조직의 산화적 손상 및 산화 스트레스가 증가될 수 있다.³⁾ 지금까지 산화 스트레스에 관한 연구는 주로 혈청이나 적혈구의 과산화지질 또는 항산화 효소의 활성도를 측정한 연구들이 수행되어 왔으며, 일부 생체 외 연구에서는 고혈당으로 인해 지질산화도가 증가되었거나 또는 항산화효소의 활성도가 저하됨이 관찰되었고^{4,5)} 임상연구나 동물 실험을 통해서도 당뇨환자군이 대조군에 비해 높은 산화 스트레스를 받고 있음이 보고되었다.^{6,7)}

산화 스트레스로 인해 체내에서 Reactive oxygen sp-

접수일 : 2004년 9월 17일

채택일 : 2004년 10월 25일

§To whom correspondence should be addressed.

ecies (ROS) 형성이 증가하면 이들은 세포에 DNA 손상을 일으킬 수 있다.⁸⁾ DNA 손상을 측정하기 위한 많은 연구방법들이 개발되어 왔는데 이제까지 사용되었던 방법들보다 쉽고 민감한 방법으로 최근 소개되고 있는 것이 comet assay 혹은 단세포 전기영동법 (single cell gel electrophoresis) 이다. 이 방법은 처음 Ostling and Johanson⁹⁾에 의해 각각의 세포수준에서의 DNA 손상을 직접 확인하기 위하여 도입된 micro gel electrophoresis 방법으로 Singh 등¹⁰⁾에 의해 보다 민감하게 DNA 손상을 감지해 낼 수 있는 방법으로 발전되었다. 이 방법은 인체의 어떤 조직에서도 DNA 손상정도를 측정할 수 있으며 분석 시 소량의 시료만을 필요로 하고 실험과정이 간단할 뿐 아니라 시료 채취 후 몇 시간 내에 결과를 얻을 수 있는 등 많은 장점을 가지고 있다. 인체 임파구는 oxidative stress를 잘 반영하는 세포로서 저 농도의 hydrogen peroxide에도 임파구 DNA가 손상을 받는다고 알려져 있다. 이 방법은 알칼리 환경 하에서 break를 가진 DNA 고리는 supercoiling을 잃게 되고 나선구조가 풀려 전기영동 시에 핵으로부터 떨어진 DNA 조각은 comet tail을 형성하게 되며, 그 손상정도가 클수록 핵으로부터 떨어진 거리가 멀어지게 되는 것을 기본 원리로 한다.¹¹⁾

당뇨병 환자를 대상으로 한 선행 연구들을 살펴보면, DNA의 산화적 손상 생성물인 urinary 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG) 수준이 정상인보다 증가되어 있음이 나타났고,¹²⁾ comet assay로 측정된 당뇨병 환자의 임파구의 DNA 손상 정도가 정상인 보다 유의하게 높다는 연구결과가 보고되었다.^{13,14)} 한편, vitamin C 보충제를 12주 동안 매일 900 mg씩 공급받은 당뇨병자군에서 DNA 손상이 감소되었다는 연구보고도 있다.¹⁵⁾ 그러나 우리나라에서 당뇨병 환자의 oxidative DNA 손상 정도를 측정하여 건강한 사람과 비교한 연구는 아직까지 보고된 바 없다.

녹용은 예로부터 원기회복, 조혈기능, 간 기능 개선, 면역기능 강화, 동맥경화 방지, 골다공증 억제, 그리고 당뇨치료에 효과적이라고 알려져 있으나 녹용의 생리 활성 및 생리 효능에 관한 과학적인 실험 및 연구결과는 거의 없으며 그러한 효과를 입증할 만한 임상적인 실험결과도 부족한 실정이다. 다만 녹용의 주성분으로 지질, 단백질, 탄수화물, 무기질 등이 보고되어 있으며, 이런 성분들이 녹용의 다양한 생물활성을 가능하게 하는 것으로 생각된다.¹⁶⁻¹⁸⁾ 녹용 물 추출액의 효능에 관한 연구결과로는 성장촉진,^{19,20)} 혈청 중 cholesterol의 저하,²¹⁾ 간세포 및 간기능의 촉진,^{22,23)} 조혈작용에 대한 보고^{24,25)}가 있으며, 녹용은 면역기능의 증가,²⁶⁾ 항 stress 효과,²⁷⁾ 및 갑상선 기능 회복²⁸⁾에도 효과가 있음이 보고되었다.

이에 본 연구에서는 인체 임파구 세포를 이용한 *in vitro* 실험을 통해 녹용 추출물이 H₂O₂를 처리한 임파구 세포의 DNA 손상을 감소시키는 효과가 있었다는 선행연구²⁹⁾를 기초로 하여 녹용추출물을 당뇨병자 및 대조군에게 일정기간 보충하였을 때 혈압, 혈당 및 인체 임파구의 DNA 손상정도가 어떻게 변화하는지를 알아보려는 목적으로 시도되었다.

연구방법

1. 조사대상자 및 녹용추출물

본 연구는 대전시에 거주하는 제 2형 당뇨병자 (NIDDM) 중 본 실험에 자발적으로 참여한 성인 남녀 11명을 대상으로 3주일간 수행되었다. 이들에게는 반 재 분량에 해당되는 녹용 37.5 g에 당귀 25 g, 생강 10 g, 대추 65 g을 혼합하여 만든 녹용 추출물을 2002년 7월 9일부터 2002년 7월 29일까지 하루 200 ml씩 20일 동안 매일 섭취하도록 하였다. 당뇨병자의 평균 당뇨병력은 4년이었으며, 이 중 다섯 명이 당뇨약을 약 4년 3개월 동안 섭취하고 있었다. 개인적인 사정으로 2차 채혈에 응하지 못한 당뇨병자군 한 명을 제외한 10명이 끝까지 연구를 수행하였다.

2. 조사내용 및 방법

1) 일반사항조사, 혈압 측정 및 신체계측 조사

대상자의 일반적인 사항은 설문지를 사용하여 조사하였으며, 나이, 성별, 흡연여부, 영양제 복용 여부 등을 조사하였다. 신장과 체중은 신장계 (수동식신장계, 삼화, KOREA)와 체중계 (디지털체중계, CAS 150A, KOREA)를 이용하여 소수점 첫째자리까지 측정하였으며 이로부터 체질량지수(BMI, body mass index, 체중 (kg) / 신장 (m²))를 산출하였다. 혈압계 (sphygmomanometer, HICO, JAPAN)를 이용하여 대상자들의 혈압을 측정하였으며 줄자를 이용하여 허리와 엉덩이둘레를 측정 후 허리와 엉덩이 둘레비 (WHR, Waist / Hip circumference ratio)를 산출하였다.

2) 식이섭취 조사

식이섭취 조사는 녹용 추출물 섭취를 시작하기 전과 3주간의 섭취 후에 24시간 회상법을 이용하여 1대 1면담법으로 실시하였다. 면담은 사전에 훈련받은 조사원들에 의해 실시되었으며, 대상자들의 분량을 회상하는데 도움을 주기위해 food model 및 사진으로 보는 음식의 눈 대증량³⁰⁾ 제시하여 섭취한 모든 음식의 종류와 섭취량이 가능한 정확하게 조사하도록 하였다. 조사 결과는 한국영양학회 부설 영

양정보센터에서 제작한 CAN program 2.0 version을 이용하여 1일 영양소 섭취량으로 환산하였다.

3) 재 혈

녹용 추출물 섭취 전과 섭취 후 2번에 걸쳐서 채혈하였다. 공복에 실험 대상자로부터 채혈한 혈액은 10 ml heparinated sterile tube (Vacutainer Becton Dickinson Co.)에 전혈 (whole blood)을 담아 실험실에 가져온 후, Comet 분석용 전혈은 따로 담고, 나머지는 1,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 상층의 PRP (platelet-rich plasma)를 취한 뒤 다시 3,000 rpm에서 30분간 원심 분리하여 상층의 PDP (platelet-deficient plasma)를 모아 혈장과 혈구를 분리하였다. 혈장은 분주 후 분석 전 까지 -80°C 냉동고에 보관하였다.

4) 혈당 측정

혈당은 비색법 (hexokinase)을 이용하여 chemistry autoanalyzer (ADVIA 1650, Japan)로 측정하였다.

5) 임파구 DNA 손상을 위한 comet assay

임파구 DNA 손상 측정을 위한 comet assay는 Singh의 방법¹⁰⁾을 수정, 보완하여 실시하였다. 신선한 전혈 70 μl 을 900 μl PBS에 섞은 후 100 μl Histopaque 1077를 사용해 임파구만을 분리하였다. 처리 과정을 마친 임파구 20 μl 를 채취하여 75 μl 의 0.7% low melting agarose gel (LMA)과 섞은 후, frosted slide 위로 임파구와 LMA의 현탁액이 골고루 분산되게 한 후 cover glass로 덮어 4°C 냉장고에 보관하였다. Gel이 굳으면 cover glass를 벗기고 그 위에 다시 0.7% LMA 용액 75 μl 로 한 겹 더 덮었다. 세포 용해를 위해 미리 준비해 둔 차가운 alkali lysis buffer (2.5 M NaCl, 100 mM Na₂EDTA, 10 mM Tris)에 사용 직전 1% Triton X-100와 10% Dimethyl sulfoxide를 섞은 후 slide를 담가 저온, 암실에서 1시간 동안 침지 시켜 DNA의 double strand를 풀어주었다. 용해가 끝난 slide를 electrophoresis tank에 배열하고 냉장 보관하였던 전기영동 buffer (300 mM NaOH, 1 mM Na₂EDTA, pH > 13)를 채워 40분 동안 unwinding시켜 DNA의 알칼리에 취약한 부위가 드러나게 한 후 25 V/300 \pm 3 mA의 전압을 걸어 20분간 전기영동을 실시하였다. 전기영동이 끝난 후 0.4 M Tris 완충용액 (pH 7.4)에 10분씩 담가 세척하는 과정을 3회 반복하여 slide를 건조시켰다. 20 $\mu\text{g/ml}$ 의 ethidium bromide로 핵을 형광 염색하고 cover glass로 덮은 뒤 형광현미경 (Leica, Germany) 상에서 관찰하였다. CCD camera (Nikon, Japan)를 통해 보내진 각각의 세포핵 im-

age는 comet image analyzing system (Kinetic Imaging, UK)이 설치된 컴퓨터 상에서 분석하였다. 임파구의 DNA 손상 정도는 핵으로부터 이동한 DNA 파편의 거리 (tail length, TL), tail내 함유된 DNA in tail (%) 및 tail length에 DNA%를 곱해준 tail moment (TM) 값을 측정하여 나타내었으며 각 대상자 당 2개의 slide를 만들어 각각 50개씩 총 100개의 임파구에서 DNA 손상 정도를 측정하였다. 이 모든 실험과정 및 슬라이드 관찰과정은 blind로 진행되었으며, 어느 대상자로부터 온 슬라이드인지 실험자가 모르도록 별도의 번호를 붙여 수행하였다.

3. 자료의 처리

모든 자료는 SPSS-PC+ 통계 package (version 10.0)를 사용하여 처리하였다. 녹용 추출물 섭취 결과에서는 각 항목에 따라 백분율과 평균치 \pm 평균오차 (SE)를 구하였고 녹용 음료 전 후의 비교는 Paired t-test를 통해 그 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 조사대상자의 일반 신체적 특성

대상자의 연령, 신장, 체중, BMI 및 WHR을 Table 1에 나타내었다. 당뇨병환자의 평균 연령은 49.6 ± 3.6 세, 신장 및 체중은 각각 159.7 ± 2.8 cm, 64.4 ± 3.4 kg이었으며 이로부터 계산한 BMI는 25.7 ± 1.3 , 그리고 WHR은 0.89 ± 0.02 로 모두 정상범위에 있었다.

2. 영양소 섭취 변화

녹용 추출물을 투여하기 전과 후의 당뇨병환자의 1일 평균 영양소 섭취량을 24시간 회상법으로 조사하여 분석한 결과는 Table 2과 같다. 대상자에게 3주 동안의 실험기간을 통하여 실험 시작 전의 일상적인 식이 패턴을 유지하게 지도한 결과, 녹용추출물 투여실험 기간 동안 당뇨병환자의 영양소 섭취량 및 항산화 비타민 섭취량에 차이가 나타나지 않았다.

Table 1. Anthropometric indices of the subjects

Variables	NIDDM ¹⁾ (n = 10)
Age (years)	$49.6 \pm 3.6^{2)}$
Height (cm)	159.7 ± 2.8
Weight (kg)	64.4 ± 3.4
BMI (kg/m ²)	25.7 ± 1.3
Waist-hip ratio (WHR)	0.89 ± 0.02

1) NIDDM: Non-insuline-dependent diabetes mellitus

2) Mean \pm SE

3. 녹용추출물 섭취 후 혈압의 변화

당뇨가 되면 혈관벽이 약해져서 혈액순환의 장애가 일어나 혈압을 상승시킬 수 있으며 고혈압으로 이어질 수 있다. 본 실험 결과, 녹용 추출물 섭취 전 당뇨 대상자들의 수축기 및 이완기 혈압은 132.5 ± 4.8 와 89.5 ± 4.3 로써 수축기와 이완기 혈압이 모두 높은 편이었다 (Table 3). 이와 같은 결과는 Fuller 등³¹⁾이 당뇨환자의 혈압이 정상인보다 높았다고 보고한 것과 일치하는 결과였다. 대상자에게 녹용추출물을 섭취시키기 전 (0 week)과 후 (3 weeks)의 수축기와 확장기 혈압의 변화를 본 결과, 3주 동안의 녹용추출물 섭취로 인한 혈압의 변화는 유의적으로 나타나지 않았다 (Table 2).

4. 녹용추출물 섭취 후 혈당 수준의 변화

본 연구에서 녹용 추출물을 보충 섭취시킨 후, 혈당이 개선

되었는지 살펴본 결과는 Table 3과 같다. 녹용 추출물 섭취 전 당뇨환자의 baseline 혈당 수치는 156.6 ± 14.3 mg/dl 이었는데 녹용 추출물 섭취 후 148.9 ± 14.1 mg/dl로 다소 감소하는 경향은 보였으나 통계적으로 유의적인 차이는 아니었다.

식품의 어떤 성분이나 추출물, 혹은 기능성 식품을 사용하여 당뇨병환자의 혈당 강하 효과를 보는 연구는 그 동안 주로 땅두릅, 누에분말, 메밀식이 등을 대상으로 연구되어 왔다. 최 등³²⁾은 제 2 형 당뇨환자에게 땅두릅을 투여한 결과 혈당 감소효과를 볼 수 있었다고 하였으며 조 등³³⁾은 누에분말을 제 2 형 당뇨환자에게 공급하였지만 혈당변화가 유의적인 감소를 나타내지 않았다고 보고하였다. Upritchard 등³⁴⁾은 제 2 형 당뇨환자를 세 그룹으로 나누어 비타민 E (800 IU/day), 비타민 C (500 mg/day), 그리고 당이 첨가되지 않은 토마토 주스 (250 ml)를 각각 4주간 보충시킨 후에 이들에게서 혈당의 감소 여부를 관찰하였으나 감소효과가 나타나지 않았다고 하였다. 반면에 제 2 형 당뇨환자에게 비타민 E (900 mg/day)를 장기간 투여한 선행연구에서 혈당의 감소효과가 나타났으며,³⁵⁾ 박과 윤³⁶⁾은 Aloe vera Linne 정제를 복용한지 1주일만에 당뇨환자의 혈당이 유의하게 저하되었다고 보고하였다. 본 실험 결과, 단순히 혈당수치만을 측정하였을 때 녹용추출물에는 제 2 형 당뇨환자의 혈당을 낮추는 효과가 없는 것으로 나타났다. 앞으로 녹용 추출물의 혈당 저하 효과에 대해서는 공복 혈당을 측정하는 것 외에 당화 헤모글로빈 (glycosylated Hb) 등 더 다양한 지표를 가지고 장기적인 연구를 해 보아야 하리라고 본다.

5. 녹용 추출물의 DNA 손상 억제 효과

당뇨병 환자는 고혈당 상태에서 포도당이 비효소적으로 단백질에 결합하는 당화 과정이 진행되어 구조적으로 대사적 이상이 일어나며,³⁷⁾ 이러한 당화 과정에서 많은 유리기가 형성되므로 지질의 과산화를 촉진시키는 등 체내 산화 스트레스가 증가하게 되며 이에 따라 DNA 손상 정도도 높아질 수 있다.

본 연구에서는 당뇨환자의 높아진 DNA 손상이 녹용의 섭취로 인해 감소될 수 있을 것이라는 가정을 가지고 3주간의 녹용 추출물 섭취 전후 당뇨환자의 임파구 DNA 손상 정도의 변화를 DNA 손상 지표인 DNA in tail, tail length (TL) 및 tail moment (TM)로 살펴본 결과, 녹용 추출물 섭취 후 당뇨환자의 DNA 손상이 유의적으로 감소된 것으로 나타났다 (Table 4). 당뇨환자군의 평균 TL 값은 녹용 추출물 섭취 전 91.3 ± 2.72 μ m에서 녹용 추출물 섭취

Table 2. Mean dietary nutrient intake of the NIDDM patients after deer antler drink supplementation

Nutrients	NIDDM (n = 10)	
	0 week	3 weeks
Energy (kcal)	1676 \pm 134 ¹⁾	1539 \pm 172 ^{NS2)}
Carbohydrate (g)	285 \pm 24.7	257 \pm 27.5 ^{NS}
Fat (g)	38 \pm 6.5	37 \pm 7.1 ^{NS}
Protein (g)	75 \pm 6.6	64 \pm 7.1 ^{NS}
Fiber (g)	6.0 \pm 1.0	5.9 \pm 1.2 ^{NS}
Calcium (mg)	494 \pm 55.9	555 \pm 77.8 ^{NS}
Iron (g)	7.3 \pm 0.7	7.9 \pm 0.6 ^{NS}
Sodium (g)	2.9 \pm 0.3	2.7 \pm 0.4 ^{NS}
Potassium (g)	2.2 \pm 0.2	2.3 \pm 0.3 ^{NS}
Vitamin A		
Retinol (μ g R.E.)	95.6 \pm 25.9	109.9 \pm 37.2 ^{NS}
β -carotene (mg)	3.1 \pm 0.6	3.8 \pm 0.7 ^{NS}
Vitamin C (mg)	82.4 \pm 9.3	87.4 \pm 20.1 ^{NS}
Vitamin E (mg)	8.9 \pm 3.0	9.6 \pm 0.7 ^{NS}
Folate (μ g)	185 \pm 32.2	196 \pm 35.8 ^{NS}
Cholesterol (mg)	213 \pm 64	181 \pm 35 ^{NS}

1) Mean \pm SE

2) Not significant after 3 weeks supplementation by Student t-test

Table 3. Mean changes of blood pressure and glucose of the subjects after deer antler drink supplementation

Variables	NIDDM (n = 10)	
	0 week	3 weeks
SBP ¹⁾ (mmHg)	132.5 \pm 4.8 ³⁾	128.5 \pm 4.7 ^{NS4)}
DBP ²⁾ (mmHg)	89.5 \pm 4.3	87.0 \pm 3.6 ^{NS}
Glucose (mg/dl)	156.6 \pm 14.3	148.9 \pm 14.1 ^{NS}

1) SBP: systolic blood pressure

2) DBP: diastolic blood pressure

3) Mean \pm SE

4) Not significant after 3 weeks supplementation by Student t-test

후 $42.1 \pm 2.09 \mu\text{m}$ 로 54% 감소하였고, 평균 DNA in tail (%)은 녹용 추출물 섭취 전 37.61 ± 1.18 에서 섭취 후 30.58 ± 2.68 로 19% 감소하였으며, 평균 TM 값은 녹용 추출물 섭취 전 35.98 ± 2.02 에서 녹용 추출물 섭취 후 27.59 ± 2.11 로 23% 감소하였다. 녹용 추출물 섭취 후 세 가지 지표로 살펴본 DNA 손상의 변화를 평균값이 아닌 각 개인의 값으로 표현한 결과는 Figs. 1-3과 같다. 먼저 DNA 손상정도를 TL 값으로 본 경우, 녹용 추출물 섭취 후 감소하는 것으로 나타났다 (Fig. 1). 그러나 DNA in tail (%) 값과 TM 값의 경우, 10명의 대상자 중에서 3명정도가 녹용추출물 섭취 후에도 섭취 전의 값을 유지하는 경향을 보였다 (Figs. 2, 3). 이로써 본 연구에서 사용한 DNA 손상 지표 중에서 TL 값이 가장 민감한 것을 알 수 있었으며 이와 같은 결과는 저자들의 선행연구³⁸⁾에서도 관찰된 바 있다. Comet assay법에 의한 DNA 손상정도를 관찰할 때, 당뇨병환자의 baseline을 살펴보는 여러 연구들^{13,14,39)}에서 DNA

손상의 지표 중 주로 DNA in tail (%)를 사용한 것들이 많이 보고되고 있는 반면, DNA 손상 회복을 위한 인체 영양 중재 연구들⁴⁰⁻⁴²⁾에서는 DNA 손상 지표로 TM과 DNA in tail (%)를 이용한 것을 볼 수 있었다. 당뇨병환자의 DNA 손상 회복을 위해 녹용 추출물을 투여하는 영양중재연구인 본 연구에서는 Comet assay에 의한 DNA 손상의 지표 중 TL이 가장 민감하게 나타난 것은 흥미 있는 결과라고 생각된다.

Table 4. Mean changes of lymphocyte DNA damages of the subjects after deer antler drink supplementation

Variables	NIDDM (n=10)	
	0 week	3 weeks
Tail length (μm)	$91.30 \pm 2.72^{1)}$	$42.10 \pm 2.09^{***1)}$
DNA in tail (%)	37.61 ± 1.18	$30.58 \pm 2.68^*$
Tail moment	35.98 ± 2.02	$27.59 \pm 2.11^*$

1) Mean \pm SE

2) *: $p < 0.05$, ***: $p < 0.000$ vs. 0 week baseline by paired t-test

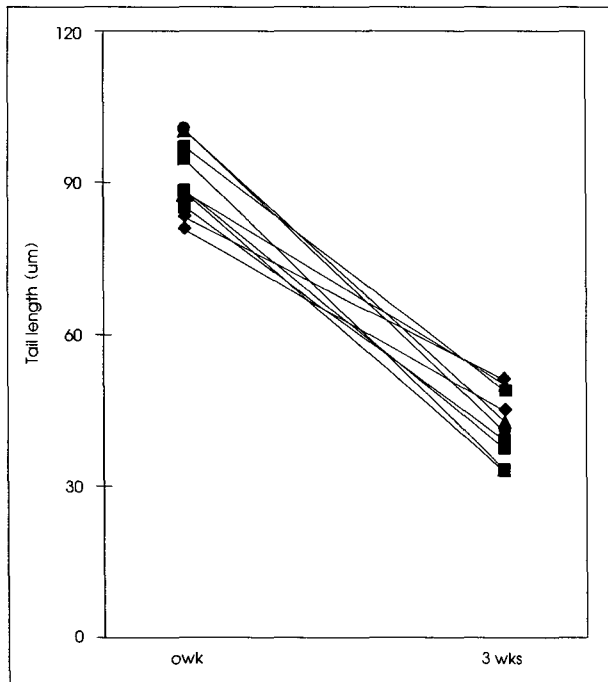


Fig. 1. Individual changes of DNA damage expressed by TL (tail length) of the subjects after deer antler drink supplementation.

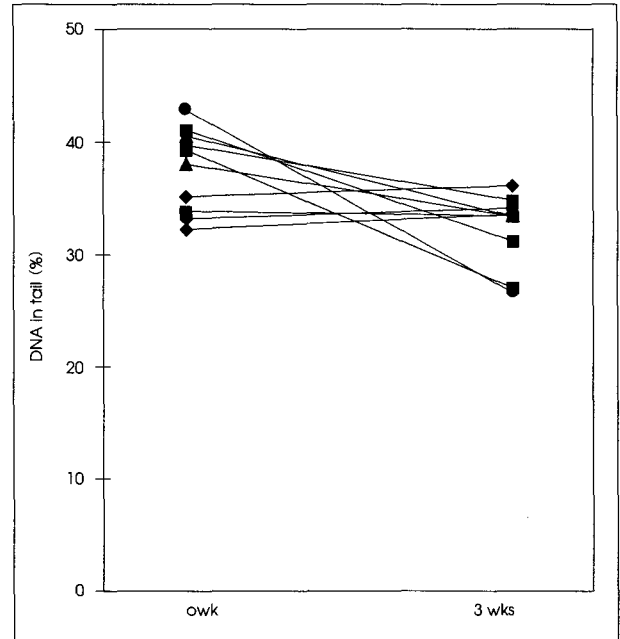


Fig. 2. Individual changes of DNA damage expressed by DNA in tail (%) of the subjects after deer antler drink supplementation.

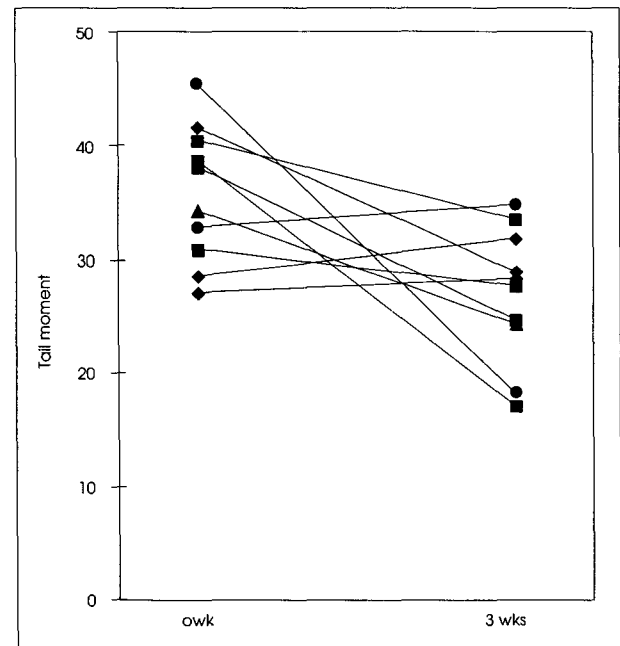


Fig. 3. Individual changes of DNA damage expressed by TM (tail moment) of subjects after deer antler drink supplementation.

앞으로 각 지표간의 민감성에 대한 더 깊은 연구가 이루어질 필요가 있을 것이다.

Lean 등⁴⁰⁾은 제 2 형 당뇨병자에게 flavonoids가 풍부한 식품을 보충한 결과 DNA in tail (%)로 본 DNA 손상이 유의하게 감소되었다고 보고하였고, vitamin E 보충제를 12주 동안 매일 900 mg씩 공급받은 당뇨병자군에서 DNA 손상이 감소되었다는 연구도 있으나,¹⁵⁾ 당뇨병자군에게 α -tocopherol을 보충한 다른 선행연구^{41,42)}에서는 보충 후에 DNA 손상 감소가 나타나지 않았다.

본 연구에서 녹용 추출물의 섭취 후에 당뇨병자의 DNA 손상도가 감소하였는데 이것은 녹용에 함유되어 있는 여러 가지 약리작용 물질의 작용에 의한 것으로 생각된다. 그러나 본 연구에서는 녹용의 추출물을 사용한 것이므로 녹용의 어떤 성분이 DNA 손상 감소효과를 보이는지는 알 수 없었다. 앞으로는 녹용의 여러 가지 성분을 분리하여 어떤 물질이 DNA 손상 감소효과를 보이는지에 대한 연구 및 그 기전에 관한 연구가 더 수행되어야 하리라고 생각된다. 나아가서 현재 우리나라 한방에서 널리 이용되는 녹용의 각종 생리활성 효과에 대한 과학적인 기능성 규명 연구가 부족하므로 녹용의 각 성분별 생리활성효과를 규명하는 연구가 다각도로 이루어져야 하겠다. 이와 함께 본 연구의 제한점으로 당뇨병자 대상자의 숫자가 너무 적은 것을 들 수 있으며 이는 앞으로 계속 보완되어야 하리라고 본다. 앞으로 녹용 추출물 및 분리 정제된 성분을 사용하여 충분한 수의 환자를 대상으로 하는 장기적이고 체계적인 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

요약 및 결론

녹용 추출물 보충이 DNA 손상정도와 혈당수치 등에 미치는 영향을 알아보기 위하여 평균 연령이 49.6세인 제 2 형 당뇨병자 10명을 대상으로 영양중재 연구를 수행하였다. 대상자에게 매일 200 ml씩 20일 동안 녹용 추출물을 보충한 결과, 녹용 추출물 섭취로 인한 대상자의 수축기 및 이완기 혈압 감소효과는 볼 수 없었다. 또 녹용 추출물 섭취 후 대상자의 혈당 강하효과도 나타나지 않았다. 그러나 녹용 추출물 섭취 후 당뇨병자의 DNA 손상정도에는 바람직한 결과를 얻었다. Comet assay로 본 DNA 손상정도를 살펴보면 당뇨병자의 TL은 녹용 추출물 섭취 전 보다 녹용 추출물 섭취 후 54% 감소하였고, DNA in tail (%)은 19% 감소하였으며, TM은 23% 감소하였다. 이와 같은 결과는 녹용 추출물이 산화 스트레스 영향으로 높아진 당뇨병자의 DNA 손상을 감소시키는데 좋은 효과를 나타낸다는 것을

시사한다. 앞으로 당뇨병자의 DNA 손상 억제효과의 기전 또는 녹용 추출물 중 어떤 물질이 이런 효과를 나타내는지 에 대한 연구가 더 진행되어야 하리라고 본다.

Literature cited

- 1) Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 19: 257-267, 1996
- 2) Wolff SP. Diabetes mellitus and free radicals. *Br Med Bull* 49: 642-652, 1993
- 3) Alan JS. Free radical mechanisms and vascular complications of diabetes mellitus. *Diabetes Rev* 2: 7-10, 1993
- 4) Kasai H. Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis. *Mutat Res* 387: 147-163, 1997
- 5) Ceriello A, Russo P D, Amstad P, Cerutti P. High glucose induces antioxidant enzymes in human endothelial cells in culture. *Diabetes* 45: 471-477, 1996
- 6) Cho HC, Kim MJ, Suh JC, Cho YH, An KW, Jung CH, Park CK, Lee SI, Bae HY, Lee BL. The Activity of Erythrocyte Antioxidant Enzymes According to Glucose Concentration in Non Insulin Dependent. Diabetes Mellitus. *Diabetes* 18: 337-343, 1994
- 7) Janjic D, Andereggen E, Deng S. Improved insulin secretion of cryopreserved human islet by antioxidant treatment. *Pancreas* 13: 166-172, 1996
- 8) Cameron NE, Cotter MA, Maxfield EK. Antioxidant treatment prevents the development of peripheral nerve dysfunction in streptozotocindabetic rats. *Diabetologia* 36: 299-304, 1993
- 9) Ostling O, Johanson KJ. Microgel electrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochem Biophys Res Commun* 123: 291-298, 1984
- 10) Singh PN, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 175: 184-191, 1988
- 11) Sun SJ, Chung HW, Han JH. Smoking related DNA damage in human lymphocytes assessed by the comet assay. *Environmental Mutagens & Carcinogens* 22(2): 83-89, 2002
- 12) Leinonen J, Lehtimäki T, Toyokuni S, Okada K, Tanaka T, Hiai H, Ochi H, Laippala P, Rantalaiho V, Wirta O, Pasternack A, Alho H. New biomarker evidence of oxidative DNA damage in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *FEBS Lett* 417: 150-152, 1997
- 13) Dincer Y, Akcay T, Alademir Z, Ilkova H. Assessment of DNA base oxidation and glutathione level in patients with type 2 diabetes. *Mutat Res* 505: 75-81, 2002
- 14) Hannon-Fletcher MPA, O'Kane MJ, Moles KW, Weatherup C, Barnett CR, Barnett YA. Levels of peripheral blood cell DNA damage in insulin dependent diabetes mellitus human subjects. *Mutat Res* 460: 53-60, 2000
- 15) Sardas S, Yilmaz M, Oztok U, Cakir N, Karakaya AE. Assessment of DNA strand breakage by comet assay in diabetic patients and the role of antioxidant supplementation. *Mutat Res* 490: 123-129, 2001
- 16) Pathak NN, Pattanaik AK, Patra RC, Arora BM. Mineral com-

- position of antlers of three deer species reared in captivity. *Small Ruminant Res* 42: 61-65, 2001
- 17) Sunwoo HH, Nakano T, Hudson RJ and Sim JS. Chemical Composition of Antlers from wapiti (*Cervus elaphus*). *J Agric Food Chem* 43 : 2846-2849, 1995
 - 18) Shin KH, Lim SS, Chung HS, Baek IB. Analysis of the Composition of Biochemical Component in Unossified Antlers. *Kor J Pharmacogn* 30: 314-319, 1999
 - 19) How K, Choi SH, Lee HB, Chung KC, Ko DR. Studies on Deer Horn: 2. The Effect of Deer Horn on the growth in Experimental Rats. *J Korean Pharm Sci* 5(1) : 10, 1990
 - 20) Bae DS. Studies on the Effects of Velvet on Growth of Animals: 3. Effects of velvet on the growth of internal organs and blood picture of chicken. *Chungbuk Univ J* 10: 209-216, 1972
 - 21) Yong JI. Effect of Deer Horn on Serum Cholesterol Level in Cholesterol fed Rabbits. *J Korean Pharm Sci* 5(6) : 6-9, 1960
 - 22) Yong JI. Studies on Deer Horn: The Effect of Deer Horn on the Liver and Other Organs of Cholesterol Administered Rabbits. *J Korean Pharm Sci* 8(1) : 12-29, 1964
 - 23) Choi DY, Shin MK, Lee SI, Lee HI, Kim WH. The Effect of Deer Horn on the Experimental Liver damage in Rats. *Kyunghee Univ Oriental Med J* 2: 43-51, 1979
 - 24) Shin MK, Lee SI, Kim WH, Ahn BK, Lee HI. Effect of Deer Horn on the Bone Marrow Iron of Experimental Anemia Rats. *Kyunghee Univ Oriental Med J* 2: 69-72, 1979
 - 25) Kim KH, Park SW. A Study on the Hemopoietic Action of Deer Horn Extract. *JBMB* 15(2) : 151-157, 1982
 - 26) Kim NJ. Effect of Deer Horn Extract to *Escherichia coli* Antibody Production. *Korean Journal of Oriental Medicine* 6: 119-132, 1985
 - 27) Han SH. The Effect of Deer Horn on stressed (Starve, Thermal, Cold condition) Rats: enterochromaffin-like cell. *Catholic Univ Oriental Med J* 19: 157-166, 1970
 - 28) Lee TH, Lee HI. Histological Study on the effect of Deer Horn to Starved-Rat Thyroid Glands. *Kyunghee Univ Oriental Med J* 7: 249-259, 1984
 - 29) Jeon EJ, Park YK, Kang MH. The Effect of Deer Antler Mixtures on the oxidative DNA damage in Human lymphocyte cell. *Annual Spring Convention of the Korean Nutrition Society*, 2002
 - 30) Photo Collection of Estimated Food Weight. *Korean Dietetic Assoc*, 1999
 - 31) Fuller JH, Stevens LK. Epidemiology of hypertension in diabetic patients and implications for treatment. *Diabetes Care* 14: 8-12, 1991
 - 32) Choi MS, Do DH, Choi DJ. The Effect of Mixing Beverage with *Aralia continentalis* Kitagawa Root on Blood Pressure and Blood Constituents of the Diabetic and Hypertensive Elderly. *Korean J. Food & Nutr* 15(2) : 165-172, 2002
 - 33) Cho MR, Choue RW, Chung SH, Ryu JW. Effects of Silkworm Powder on Blood Glucose and Lipid Levels in NIDDM (Type II) Patients. *Korean J Nutr* 31(7) : 1139-1150, 1998
 - 34) Jane E, Wayne HF, Jim J. Effect of supplementation with tomato juice, vitamin E, and vitamin C on LDL oxidation and products of inflammatory activity in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 23: 733-738, 2000
 - 35) Paolisso G, D'Amore A, Galzerano D, Balbi V, Giugliano D, Varricchio M, D'Onofrio F. Daily Vitamin E supplements improve metabolic control but insulin secretion in elderly type II diabetic patients. *Diabetes Care* 16(11) : 1433-1437, 1993
 - 36) Park WY, Yun YP. Effect of Aloe vera Treatment on Blood Glucose Level and Clinical Chemistry in Diabetic Patients. *J Fd Hyg Safety* 10(1) : 13-17, 1995
 - 37) Reaven P. Dietary and pharmacologic regimens to reduce lipid peroxidation in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr* 62(6) : 1483-1489, 1995
 - 38) Park YK, Park EJ, Kim JS, Kang MH. Daily grape juice consumption reduces oxidative DNA damage and plasma free radical levels in healthy Koreans. *Mutat Res* 529: 77-86, 2003
 - 39) Pitozzi V, Giovannelli L, Bardini G, Rotella CM, Dolara P. Oxidative DNA Damage in peripheral blood cells in type 2 diabetes mellitus: higher vulnerability of polymorphonuclear leukocytes. *Mutat Res* 529: 129-133, 2003
 - 40) Lean ME, Noroozi M, Kelly I, Burns J, Talwar D, Sattar N, Crozier A. Dietary Flavonols Protect Diabetic Human Lymphocytes Against Oxidative Damage to DNA. *Diabetes* 48: 176-181, 1999
 - 41) Astley S, Langrish-Smith A, Southon S, Sampson M. Vitamin E supplementation and oxidative damage to DNA and plasma LDL in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 22(10) : 1626-1631, 1999
 - 42) Sampson MJ, Astley S, Richardson T, Willis G, Davies IR, Hughes DA, Southon S. Increased DNA oxidative susceptibility without increased plasma LDL oxidizability in Type II diabetes: effects of alpha-tocopherol supplementation. *Clin Sci* 101(3) : 235-241, 2001