

포도씨열수추출물이 고지방식으로 유도한 비만마우스의 지질대사와 적혈구 항산화 방어계에 미치는 영향

조영숙¹ · 장은미² · 장선미² · 천미선² · 손미예³ · 김명주⁴ · 이미경^{1*}

¹순천대학교 식품과학부 식품영양학전공, ²교육대학원 영양교육전공
³경상대학교 식품영양학과, ⁴대구산업정보대학 식품영양과

Effect of Grape Seed Water Extract on Lipid Metabolism and Erythrocyte Antioxidant Defense System in High-Fat Diet-Induced Obese C57BL/6 Mice

Young-Sook Cho¹, Eun-Mi Jang², Sun-Mi Jang², Mi-Sun Chun²,
Mi-Yae Shon³, Myung-Joo Kim⁴, and Mi-Kyung Lee^{1*}

¹Dept. of Food and Nutrition, Suncheon National University, and ²Dept. of Nutrition Education, Graduate School of Education, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

³Dept. of Food Science and Nutrition, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

⁴Dept. of Food Science and Nutrition, Daegu Polytechnic College, Daegu 706-022, Korea

Abstract

This study was investigate the effect of grape seed water extract (GSW) on lipid profiles, lipid metabolism and erythrocyte antioxidant defense system in high-fat diet-induced obese mice. Three groups of male C57BL/6 mice were fed different diets for 6 weeks: normal diet (Normal), high-fat diet (HF control; 37% calorie from fat) and high-fat diet supplemented with GSW (HF-GSW; 1% wt/wt). Supplementation of GSW did not affect the body weight, food intake, daily energy intake, white adipose tissue weights and plasma leptin level in high-fat fed mice. Plasma and hepatic cholesterol and triglyceride contents were significantly higher in the HF control group than in the Normal group; however, GSW supplement significantly lowered plasma triglyceride and hepatic cholesterol concentrations compared to the HF control group. GSW supplement significantly increased fecal excretion of triglyceride in high-fat fed mice. Hepatic carnitine palmitoyl transferase activity was significantly higher in the HF-GSW group than in the HF control group, while fatty acid β -oxidation tended to be lowered by GSW supplement. Erythrocyte superoxide dismutase activity was also significantly higher in the HF-GSW group than in the HF control group and glutathione peroxidase activity tended to be lowered in HF-GSW group. The GSW supplement significantly lowered erythrocyte lipid peroxidation level compared to the HF control group. Accordingly, these results suggest that GSW can be considered as a lipid-lowering agent and as being effective for enhancing erythrocyte antioxidant defense system in high-fat diet-induced obese mice.

Key words: grape seed, lipid profile, lipid metabolism, antioxidant defense system

서 론

포도(*Vitis vinifera*)가 심혈관질환, 암, 고혈압 등의 질병을 예방하거나 개선하는 것으로 알려지면서 포도씨유, 포도주스, 포도주 등 포도를 이용한 가공식품의 선호도가 증가 추세이다. 특히, 가공과정에서 폐기되는 포도씨는 단백질뿐만 아니라 올레산, 리놀렌산 등 불포화지방산과 항산화성 페놀성분들이 다량 함유되어 있어 새로운 기능성 식품소재로 각광받고 있다(1). 포도씨에 다량 함유되어 있는 (+)-catechin, (-)-epicatechin, (-)-epicatechin-3-O-gallate, pro-

cyanidin 등의 페놀성 화합물은 효과적으로 수소를 공여하고 비전자쌍을 비편재화(delocalization)하여 라디칼을 안정화하기 때문에 항산화력이 매우 강한 것으로 알려져 있다(2). 특히, 포도씨의 catechin류는 혈중 콜레스테롤 저하, 항고혈압, 항염증 등 다양한 생리적 기능이 있는 것으로 보고되고 있다(3,4).

최근 포도씨에서 추출된 procyanidin이 streptozotocin으로 유도한 제1형 당뇨병동물의 혈당을 개선하였는데, 이는 인슐린 민감성 세포주(L6E9 myotubes와 3T3-L1 adipocytes)를 이용하여 분석한 결과 procyanidin이 인슐린 유사체로

*Corresponding author. E-mail: leemk@sunchon.ac.kr
Phone: 82-61-750-3656, Fax: 82-61-752-3657

작용하는 것으로 보고되었다(5). Bagchi 등(6)은 포도씨의 proanthocyanidin들이 자유라디칼로 인한 지질과산화물 생성을 억제하고 DNA 손상을 보호하는 효과가 천연항산화제인 비타민 C, E와 β -carotene보다 강하다고 보고하였다. 또한 Yamakoshi 등(7)은 포도씨의 열수추출물(1% proanthocyanin 함유)이 식이 1% 콜레스테롤을 급여한 토끼의 죽상동맥경화를 억제하는 것으로 보고하였다. 이와 같이 포도씨의 생체효능에 관한 연구들이 진행되고 있으나 비만과 관련된 포도씨열수추출물의 *in vivo* 효능 및 그 기전연구는 미비하다.

따라서 본 연구에서는 고지방식으로 비만이 유도되는 C57BL/6 마우스에게 포도씨열수추출물을 급여한 후 지질 함량, 지질대사, 적혈구의 항산화효소 활성도 및 지질과산화물 함량변화를 살펴보았다.

재료 및 방법

포도씨열수추출물 제조

포도씨(태평양, 한국)를 균질기로 파쇄하여 포도씨분말 100 g을 둥근플라스크에 넣고 10배량의 증류수를 가하여 4시간 동안 가열추출하고 그 여액을 회전증발농축기로 감압농축하여 동결건조한 후 사용하였다. 포도씨열수추출물의 수율은 4%이었다.

포도씨열수추출물의 일반성분과 총 페놀성 화합물의 함량

Table 1에 나타난 포도씨열수추출물의 일반성분은 AOAC(8)에 준하여 회분은 회화법, 조지방은 Soxhlet 추출법, 조단백질은 단백질 자동분석기(Buchi-342), 조섬유소는 Henneberg-Stohmann 개량법을 사용하여 측정하였다.

총 페놀성 화합물 함량은 Folin-Denis법에 준하여(9) 측정하였으며 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 구하였다.

실험동물 사육

실험동물은 4주령의 수컷 C57BL/6 마우스 24마리를 바이오제노믹스(Biogenomics, 한국)로부터 구입하였다. 마우스는 1주간 고형식으로 적응시킨 후 난괴법에 의하여 정상군(Normal), 고지방대조군(HF control), 고지방-포도씨열수추출물(HF-GSW)으로 나누어 6주간 사육하였다. 동물 사육실의 환경은 항온($20 \pm 2^\circ\text{C}$), 항습($50 \pm 4\%$), 12시간 간격(08:00~20:00)의 광주기로 일정한 조건을 유지하고 동물들은 polycarbonate cage에 두 마리씩 분리하여 사육하였다.

본 실험에 사용한 기본식은 AIN-76(10)의 식이조성에 준하였으며 단백질 급원으로는 카제인(Murray, UK)을 공급하고, 탄수화물 급원은 옥수수 전분(신동방), 지방 급원으로는 옥수수기름(제일제당)을 사용하였다. 고지방 식이군들은 총 열량의 37%가 되도록 우지(Wako, 일본)를 공급하였다. 포도씨열수추출물은 식이의 1% 수준으로 첨가하였으며, 포도씨열수추출의 일반성분(Table 1) 함유량을 고려하여 동일한 열량, 질소량 및 섬유소량이 함유되도록 조제(Table 2)하여 급여하였다. 식이와 식수는 자유롭게 섭취(*ad libitum*)하도록 하였고, 모든 실험식은 사육기간 동안 냉장 보관하였다. 식이 100 g당 에너지는 열량계(Parr-1351, USA)를 사용하여 측정하였다. 사육기간 마지막 5일 동안 분변을 수집하여 건조시킨 후 지질측정에 사용하였다.

체중은 매주 1회 일정시각에 측정하였으며 식이섭취량은 매일 일정시각에 측정된 후 급여량에서 잔량을 감하여 계산하였다.

혈장 및 장기 채취

사육이 끝난 실험동물은 희생 전 12시간 동안 절식시킨 후 에테르를 흡입시켜 마취시킨 다음 복부 하대정맥(inferior vena cava)으로부터 공복혈액을 채취하였다. 헤파린 처리된 혈액은 $600 \text{ g}(4^\circ\text{C})$ 에서 15분간 원심분리하여 혈장을 분리하였다. 실험동물의 장기조직은 혈액 채취 후 즉시 적출하여 PBS(phosphate buffered saline)용액으로 수차례 헹군 후 표면의 수분을 제거하여 칭량하였으며 즉시 액체질소로 급냉시켜 -70°C 에 보관하였다.

Table 2. Composition of the experimental diet (g/kg diet)

Ingredients	Groups		
	Normal	HF control	HF-GSW ³⁾
Casein	200.0	200.0	198.7
Corn starch	500.0	340.0	323.7
Sucrose	150.0	150.0	150.0
Cellulose	50.0	50.0	49.98
Corn oil	50.0	-	-
Beef tallow	-	210.0	209.3
AIN-mineral mixture ¹⁾	35.0	35.0	33.9
AIN-vitamin mixture ²⁾	10.0	10.0	10.0
DL-Methionine	3.0	3.0	3.0
Choline bitartrate	2.0	2.0	2.0
GSW	-	-	10.0
kcal/100 g diet	421.07	508.97	506.14
Calorie from fat (%)	10.6	37.1	37.3

¹⁾Mineral mixture (g/kg) according to AIN-76.

²⁾Vitamin mixture (g/kg) according to AIN-76.

³⁾High fat-grape seed water extract.

Table 1. The general composition and total phenolic contents of GSW

Component	Carbohydrate (g/100 g)	Crude protein (g/100 g)	Crude fat (g/100 g)	Crude fiber (g/100 g)	Crude ash (g/100 g)	Total phenolics (mg/g)
GSW ¹⁾	63.38	12.92	7.04	0.16	11.20	117.5

¹⁾GSW: grape seed water extract.

혈장 중의 leptin 함량 측정

혈장 leptin 농도는 radioimmunoassay을 이용한 murine leptin RIA kit(Linco Research)로 측정하였다.

혈장, 간조직 및 변 중의 지질 함량 측정

혈장 중의 중성지질 함량은 Muller의 방법(11)으로 조제된 kit 시약(아산제약, 한국)을 사용하여 측정하였다. 총 콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤 함량은 Richmond의 방법(12)으로 조제된 kit(아산제약, 한국) 시약을 사용하였다.

간조직과 변 중의 지질 함량은 Folch 등의 방법(13)에 준하여 클로로포름:메탄올(2:1, v/v) 혼합액으로 지질을 추출한 후 혈액과 동일한 방법으로 측정하여 농도를 구하였다.

적혈구와 간조직 중의 효소원 분리

혈액으로부터 혈장과 buffy coat를 완전히 제거한 후 McCord와 Fridovich의 방법(14)에 준하여 적혈구를 분리하였다. 즉 분리한 적혈구는 0.9% 생리식염수로 3회 세척한 후 증류수로 lysis한 다음 효소원으로 사용하였다. 적혈구의 효소활성도는 kit(아산제약) 시약으로 측정된 헤모글로빈 g 당의 고유활성도로 나타내었다.

간조직은 4배량의 0.25 M sucrose(pH 7.4) 완충용액을 가하여 균질기(IKA, Rw20.7, USA)로 마쇄하여 얻은 균질액을 600 g(4°C)에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄 부분을 제거한 후 상층액을 얻었다. 이를 10,000 g(4°C)에서 20분간 원심분리하여 미토콘드리아 분획을 취했으며, 분리된 상층액을 100,000 g(4°C)에서 1시간 초원심분리하여 시토졸 분획을 얻었다. 미토콘드리아 침전물은 사용된 완충용액에 녹인 후 효소원으로 사용하였다. 미토콘드리아 분획은 fatty acid β -oxidation(β -oxidation)과 carnitine palmitoyl transferase(CPT) 활성도 측정에 사용하였고 시토졸 분획은 fatty acid synthase(FAS)활성도 측정에 사용하였다. 조직의 효소활성도는 Bradford의 방법(15)을 사용하여 측정된 단백질 mg당의 고유활성도로 나타내었다.

간조직 중의 지질대사 관련 효소 활성도 측정

FAS 활성도는 Carl 등(16)이 실시한 방법을 수정·보완하여 측정하였다. β -Oxidation은 Lazarow 방법(17)을 수정·보완하여 NAD^+ 가 $NADH$ 로 환원되는 정도를 340 nm에서 측정하였다. CPT 활성도는 Bieber 등의 방법(18)으로 carnitine이 palmitoyl-CoA를 기질로 생성된 총 CoASH 생성률을 412 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다.

적혈구 중의 항산화 효소 활성도 측정

Superoxide dismutase(SOD) 활성은 Marklund와 Marklund의 방법(19)에 준하여 효소액을 넣지 않고 반응시킨 0.5 mM pyrogallol 용액의 자동산화율 50% 억제하는 정도를 나타내었다. Catalase(CAT) 활성은 Aebi의 방법(20)에 준하여 1분간 1 g의 헤모글로빈에 의해 소실되는 과산화수소 양을 나타내었다. Glutathione peroxidase(GSH-Px)

활성은 Paglia와 Valentine의 방법(21)에 준하여 헤모글로빈 1 g당 1분 동안 산화되는 NADPH 정도를 나타내었다.

적혈구 중의 지질과산화물 함량 측정

적혈구 중의 지질과산화물 함량은 Tarladgis 등의 방법(22)에 준하여 측정하였다. 지질과산화물의 지표물질인 malondialdehyde(MDA) 함량은 tetramethoxypropane 표준 검량선에 준하여 나타내었다.

통계처리

실험결과는 SPSS package 프로그램을 이용하여 실험군당 평균 \pm 표준오차로 표시하였고, 각 군간의 평균치의 통계적 유의성 검정은 one-way ANOVA를 실시하고 다군간의 차이는 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple test로 사후 검정하였다.

결과 및 고찰

체중,식이섭취량 및 장기무게에 미치는 영향

실험기간 동안의 체중변화, 식이섭취량과 장기무게는 각각 Fig. 1과 Table 3에 나타내었다.

실험식이 급여전 실험군간의 체중은 차이가 없었으나 실험기간 2주 후부터 고지방식이군들의 체중이 정상식을 급여한 정상군에 비하여 유의적으로 증가하기 시작하였으며, 6주 후에는 고지방대조군의 체중이 정상군의 체중보다 1.6배 증가됨으로써 열량의 37%를 지방으로 급여하는 고지방식이로 인한 비만유도를 확인할 수 있었다. 그러나 포도씨열수추출물은 고지방식이 유도 비만마우스의 체중에는 영향을 미치지 않았다.

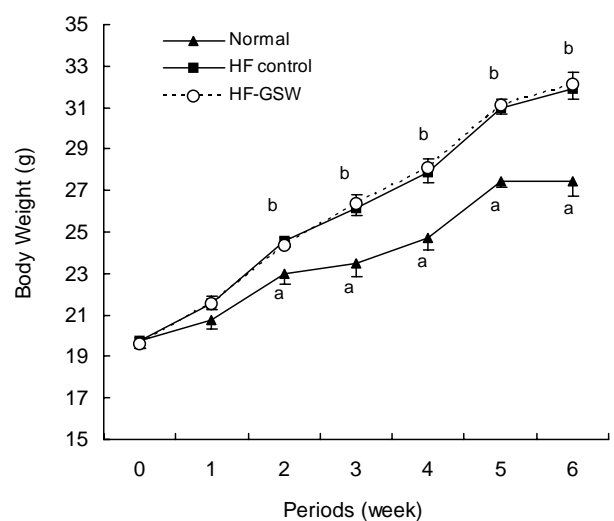


Fig. 1. Effects of grape seed water extract on body weight changes in high-fat fed C57BL/6 mice.

HF-GSW: High fat-grape seed water extract. Mean \pm SE (n=8). Means not sharing a common letter are significantly different among groups ($p < 0.05$).

Table 3. Effects of grape seed water extract on food intake, energy intake and organ weights in high-fat fed C57BL/6 mice

	Normal	HF control	HF-GSW ²⁾
Food intake (g/day)	3.55±0.08 ^a	3.13±0.03 ^b	3.21±0.04 ^b
Energy intake (kcal/day)	14.95±0.36 ^a	15.78±0.20 ^b	16.25±0.45 ^b
Organ weight (g)			
Liver	0.99±0.02 ^a	1.26±0.03 ^b	1.30±0.09 ^b
Epididymal WAT ¹⁾	0.86±0.07 ^a	1.43±0.07 ^b	1.47±0.09 ^b
Perirenal WAT	0.46±0.04 ^a	0.65±0.02 ^b	0.68±0.04 ^b

Mean±SE (n=8).

Means in the same row not sharing a common letter are significantly different among groups (p<0.05).

¹⁾WAT: white adipose tissue.

²⁾HF-GSW: High fat-grape seed water extract.

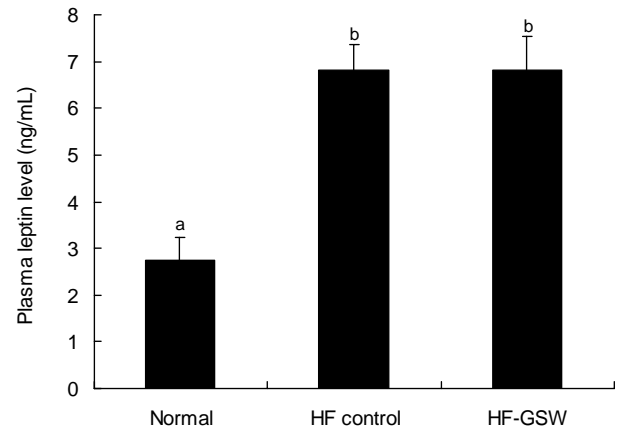
식이섭취량은 고지방대조군(HF control)이 정상군(Normal)보다 유의적으로 낮았으나 일일 열량 섭취량은 고지방대조군이 정상군에 비하여 높았다. 이는 식이지방이 gastric emptying을 지연시켜 식이섭취량을 감소시키고(23), 열량 밀도가 높을수록 식이섭취량이 감소(24)되기 때문이다. 고지방식을 급여한 C57BL/6 마우스에게 포도씨열수추출물 급여에 따른 식이섭취량과 일일 열량섭취량 변화는 관찰되지 않았다.

또한 간조직, 부고환 백색지방조직 및 신장주변 백색지방조직 무게는 고지방대조군이 정상군에 비하여 유의적으로 높았으며, 포도씨열수추출물 급여는 간조직과 백색지방조직 무게에 영향을 미치지 않았다.

혈장 중의 leptin 함량에 미치는 영향

혈장 중의 leptin 함량은 Fig. 2에 나타내었다.

혈장 leptin 함량은 고지방대조군(6.82±0.55 ng/mL)이 정상군(2.74±0.50 ng/mL)에 비하여 약 2.5배 유의적으로 높게 나타났다. Leptin은 지방세포로부터 분비되는 호르몬으로 혈 중 leptin 농도는 체지방량에 비례하여 증가하며, 에너지 대사를 증가시키고 식이섭취량을 감소시켜 체중을 조절하는 것으로 알려져 있다(25). 본 실험에서도 고지방식이로 인하여 혈장 leptin 농도가 유의적으로 증가되는 것을 확인하였다. 포도씨열수추출물은 혈장 leptin 함량에 영향을 미

**Fig. 2. Effects of grape seed water extract on plasma leptin level in high-fat fed C57BL/6 mice.**

HF-GSW: High fat-grape seed water extract. Mean±SE (n=8). Means not sharing a common letter are significantly different among groups (p<0.05).

치지 않는 것으로 나타났는데, 이는 포도씨열수추출물이 체중, 식이섭취량 및 체지방 변화에 영향을 미치지 않는 것을 반영한다.

혈장, 간조직 및 변 중의 지질 함량에 미치는 영향

포도씨열수추출물을 6주간 급여한 후 혈장, 간조직 및 변 중의 지질 함량을 측정된 결과는 Table 4와 같다.

혈장 중의 총 콜레스테롤과 중성지질 함량은 정상식을 급여한 정상군에 비하여 고지방대조군에서 유의적으로 높았다. 고지방식이 유도 비만마우스에게 포도씨열수추출물 급여는 혈장의 총 콜레스테롤 함량 변화에는 영향을 미치지 않았으나, 중성지질 함량은 고지방대조군에 비하여 27.5%의 현저한 저하를 보였다. 한편, 혈장 HDL-콜레스테롤 함량은 정상군에 비하여 고지방식이군들에서 유의적으로 높았는데 이는 고지방식이로 인한 혈장의 총 콜레스테롤 함량 증가에 기인된 것으로 사료된다. 그러나 총 콜레스테롤 함량에 대한 HDL-콜레스테롤 함량비(HTR)는 고지방대조군이 정상군에 비하여 유의적으로 낮았으며, 포도씨열수추출물 급여는 유의적이지는 않으나 고지방대조군에 비하여 HTR

Table 4. Effects of grape seed water extract on plasma, hepatic and fecal lipid levels in high-fat fed C57BL/6 mice

	Normal	HF control	HF-GSW ¹⁾
Plasma			
Triglyceride (mg/dL)	108.94±7.98 ^a	128.76±2.46 ^b	93.30±9.98 ^a
Total cholesterol (mg/dL)	122.48±6.23 ^a	178.60±4.57 ^b	164.41±9.57 ^b
HDL-C (mg/dL)	65.96±3.51 ^a	86.51±5.15 ^b	86.30±4.48 ^b
HTR (%)	53.85±1.34 ^a	47.86±1.74 ^b	52.49±3.12 ^{ab}
Liver			
Triglyceride (mg/g)	29.37±0.93 ^a	37.06±1.25 ^b	32.77±1.74 ^{ab}
Cholesterol (mg/g)	2.51±0.09 ^a	3.57±0.20 ^c	2.98±0.13 ^b
Feces			
Triglyceride (mg/g)	22.85±1.65 ^a	94.90±3.23 ^b	112.01±6.90 ^c

¹⁾HF-GSW: High fat-grape seed water extract.

Mean±SE (n=8). Means in the same row not sharing a common letter are significantly different among groups (p<0.05).

Table 5. Effects of grape seed water extract on hepatic lipid regulating enzyme activities in high-fat fed C57BL/6 mice

	Normal	HF control	HF-GSW ²⁾
FAS ¹⁾ (nmol/min/mg protein)	0.68±0.06 ^a	0.40±0.03 ^b	0.45±0.05 ^b
β-oxidation (nmol/min/mg protein)	31.27±0.88 ^a	25.65±1.17 ^b	29.19±1.91 ^{ab}
CPT (nmol/min/mg protein)	5.29±0.62 ^a	3.41±0.34 ^b	17.94±1.06 ^c

Mean±SE (n=8). Means in the same row not sharing a common letter are significantly different among groups (p<0.05).

¹⁾FAS, fatty acid synthase; β-oxidation, fatty acid β-oxidation; CPT, carnitine palmitoyl transferase.

²⁾HF-GSW: High fat-grape seed water extract.

Table 6. Effects of grape seed water extract on erythrocyte antioxidant enzyme activities in high-fat fed C57BL/6 mice

	Normal	HF control	HF-GSW ²⁾
SOD ¹⁾ (unit/g Hb)	253.83±8.34 ^a	290.29±6.72 ^b	326.98±7.10 ^c
CAT (mol/min/g Hb)	4.56±0.05	4.57±0.04	4.58±0.04
GSH-Px (nmol/min/g Hb)	8.80±0.28 ^a	7.91±0.22 ^b	8.36±0.14 ^{ab}

Mean±SE (n=8). Means in the same row not sharing a common letter are significantly different among groups (p<0.05).

¹⁾SOD, superoxide dismutase; CAT, catalase; GSH-Px, glutathione peroxidase.

²⁾HF-GSW: High fat-grape seed water extract.

을 증가시키는 경향이였다.

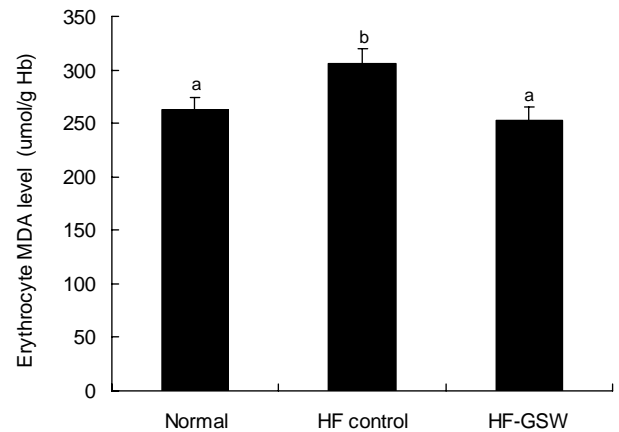
간조직 중의 콜레스테롤과 중성지질 함량은 고지방대조군이 정상군에 비하여 각각 142%와 126% 유의적으로 높았다. 혈장과 달리 간조직 중의 콜레스테롤 함량은 포도씨열수추출물군에서 16.5% 유의적으로 감소되었으며 중성지질 함량은 11.6%의 감소경향을 보였다.

변 중의 중성지질 함량 변화를 살펴보면 고지방대조군이 정상군에 비하여 중성지질 함량이 약 4배 유의적으로 증가하였으나 포도씨열수추출물 급여는 고지방대조군에 비하여 변으로의 중성지질 배설을 약 1.2배 증가시키는 것으로 나타났다. 이는 포도씨열수추출물이 변으로의 중성지질 배설을 촉진시킴으로써 식이지방의 흡수를 억제하는데 효과적으로 것으로 평가되며 이 결과는 혈 중의 중성지질 함량이 포도씨열수추출물 급여에 의하여 유의적으로 감소된 결과와 일치한다.

간조직의 지질대사 관련 효소 활성도에 미치는 영향

포도씨열수추출물이 고지방을 급여한 C57BL/6 마우스의 간조직 중 지질대사에 미치는 영향을 Table 5에 나타내었다.

간조직 중 FAS, β-oxidation과 CPT 활성은 정상군에 비해 고지방 대조군에서 유의적으로 낮았다. 포도씨열수추출물은 간조직의 FAS 활성에는 영향을 미치지 않았으나 CPT 활성은 고지방대조군에 비하여 5.2배 현저하게 높이는 것으로 나타났다. 지방조직으로부터 유리되는 지방산 일부는 간세포의 미토콘드리아에서 산화하는데 CPT는 지방산의 β-oxidation을 위한 미토콘드리아 수송을 조절하는 속도제한 효소이다. 본 실험결과 포도씨열수추출물은 고지방식이를 급여한 마우스의 간조직 중 CPT활성을 촉진하는 것으로 나타났다. 한편, 간조직의 β-oxidation 활성 역시 포도씨열수추출물 급여군에서 유의적이지는 않으나 고지방대조군에 비하여 증가하는 경향을 보였다. 비록 포도씨열수추출물이 고지방식이로 유도 비만마우스에서 CPT 활성을 증가시키는

**Fig. 3. Effects of grape seed water extract on erythrocyte lipid peroxidation level in high-fat fed C57BL/6 mice.**

HF-GSW: High fat-grape seed water extract. Mean±SE (n=8). Means not sharing a common letter are significantly different among groups (p<0.05).

만큼 지방산 산화를 유도하지는 않았지만 포도씨열수추출물은 간조직에서 지방산 산화를 증가시킴으로써 에너지 소비를 유도할 것으로 사료된다. 다른 선행연구에서도 식이성 폐놀성 화합물들이 CPT 유전자 발현을 증가시키는 것으로 보고되어 있다(26).

적혈구 중의 항산화효소 활성도와 지질과산화물 함량에 미치는 영향

적혈구의 항산화효소 활성도와 지질과산화물 함량은 각각 Table 6과 Fig. 3에 나타내었다.

적혈구 중의 SOD 활성은 정상군에 비하여 고지방대조군에서 유의적으로 증가한 반면, GSH-Px 활성은 유의적으로 감소되었으며 CAT 활성은 고지방식이로 인한 변화가 관찰되지 않았다. 포도씨열수추출물 급여는 적혈구의 SOD 활성을 고지방대조군에 비하여 유의적으로 증가시켰으며,

GSH-Px 활성 역시 유의적이지는 않으나 증가시키는 경향이 있었다. 체내에서 항산화 작용을 방어하는 시스템으로 SOD, CAT, GSH-Px 효소 등이 알려져 있다(27,28). 항산화 효소는 세포막의 지질과산화 손상, sulfhydryl-함유효소의 불활성화 및 구성 단백질의 교차결합 등을 일으키는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)을 불화성화 시키거나 제거함으로써 항산화 작용을 한다. 특히, SOD는 세포내 호흡작용의 부산물로서 생성되는 superoxide anion에 작용하는 첫 번째 효소로서 과산화수소로 전환시켜 세포내 superoxide anion 제거에 관여한다(29). 비만한 사람의 혈중 SOD 활성이 유의적으로 낮다는 보고(30)와는 달리 본 실험에서는 적혈구의 SOD 활성이 정상군에 비하여 고지방대조군에서 높아진 것은 고지방으로 인한 자유라디칼 소거를 위한 적응현상으로 사료된다. 또한 포도씨열수추출물은 이러한 SOD 활성을 더욱 활성화함으로써 superoxide anion 제거를 증가시키는 것으로 생각된다. 또한 이러한 과정에서 생성된 과산화수소는 CAT나 GSH-Px에 의하여 무독화되는데 고지방대조군의 GSH-Px 활성은 정상군보다 유의적으로 낮아졌으나 포도씨열수추출물군 급여는 GSH-Px 활성이 고지방대조군에 비하여 증가하는 경향을 보임으로써 적혈구의 항산화방어계가 활성화됨을 알 수 있다.

산화적 스트레스의 주요 지표인 지질과산화물은 생성되는 MDA 함량을 측정하였다. 적혈구의 지질과산화물 함량은 정상군에 비하여 고지방대조군에서 유의적으로 높았으나 포도씨열수추출물 급여시 정상수준으로 감소되었다. 이는 포도씨열수추출물이 고지방식으로 인한 지질과산화물 생성을 효과적으로 낮추므로써 항산화제의 기능을 제시하고 있다. 포도씨의 페놀성 화합물들은 산화적 스트레스에 의해 야기되는 여러 질병을 예방 또는 치료할 수 있는 것으로 보고(31)되고 있는데, 본 실험에 사용된 포도씨열수추출물 중의 총 페놀성 화합물 함량은 117.5 mg/g로 높았다.

이와 같이 포도씨열수추출물은 고지방식으로 유도한 비만 마우스의 체중에는 영향을 미치지 않았으나, 변으로의 중성지질 배설 증가와 간조직에서의 지질대사 및 적혈구의 항산화 방어계 활성을 통하여 지질저하 및 지질과산화물 생성을 억제하는 것으로 나타났다.

요 약

본 연구에서는 포도씨열수추출물을 이용하여 고지방식으로 비만을 유도한 마우스의 지질대사 및 적혈구의 항산화방어계에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다. 4주령의 C57BL/6 마우스(n=24)를 1주일간 적응시킨 후 정상식이를 급여한 정상군, 고지방(열량의 37%를 지방으로 대체)을 급여한 고지방대조군과 고지방-포도씨열수추출물군으로 나누어 6주간 사육하였다. 포도씨열수추출물은 1%수준으로 식이에 첨가하였으며 동일한 열량, 질소량 및 섬유소가 함유되도록 조제하여

급여하였다. 고지방식은 정상식에 비하여 체중, 일일 열량섭취량, 백색지방 무게, 혈장과 간조직의 지질함량 및 혈장 leptin 함량을 유의적으로 증가시켰다. 본 실험에서 첨가된 식이 1%의 포도씨열수추출물 보충은 고지방을 급여한 마우스의 체중과 장기무게에는 영향을 미치지 않았으나, 혈장의 중성지질과 간조직의 콜레스테롤 함량을 현저히 저하는 것으로 나타났다. 특히, 혈장 중의 중성지질은 포도씨열수추출물군에서 정상수준으로 개선되었으며, 포도씨열수추출물은 변으로 중성지질 배설을 고지방대조군에 비하여 유의적으로 높였다. 간조직의 지질대사 효소인 FAS, β -oxidation, CPT 활성은 고지방대조군에서 정상군에 비하여 유의적으로 낮았으나 포도씨열수추출물군의 CPT 활성은 고지방대조군에 비하여 유의적으로 높았고, β -oxidation 활성도 증가경향을 보였다. 또한 적혈구의 SOD와 GSH-Px 활성이 포도씨열수추출물 급여시 활성화될 뿐만 아니라 고지방식으로 유도한 비만마우스의 적혈구내 지질과산화물 함량이 유의적으로 낮아졌다. 이와 같이 포도씨열수추출물은 고지방 섭취시 혈 중 지질개선 및 항산화제로서의 가능성을 제시하였다.

문 헌

1. Teissedre PL, Frankel EN, Waterhouse AI, Peleg H, German JG. 1996. Inhibition of in vitro human LDL oxidation by phenolic antioxidants from grape and wines. *J Sci Food Agric* 70: 55-61.
2. Pekkarinen SS, Heinonen IM, Hopia AI. 1999. Flavonoids quercetin, myricetin, kaemferol and (+)-catechin as anti-oxidants in methyl lionleate. *J Sci Food Agric* 79: 499-506.
3. Van Jaarsveld H, Kuyl JM, Schulenburg DH, Wiid NM. 1996. Effect of flavonoids on the outcome of myocardial mitochondrial ischemia/reperfusion injury. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 91: 65-75.
4. Caillet S, Salmieri S, Lacroix M. 2006. Evaluation of free radical-scavenging properties of commercial grape phenol extracts by a fast colorimetric method. *Food Chem* 95: 1-8.
5. Pinent M, Blay M, Blade MC, Salvado MJ, Arola L, Ardevol A. 2004. Grape seed-derived procyanidins have an anti-hyperglycemic effect in streptozotocin-induced diabetic rats and insulinomimetic activity in insulin-sensitive cell lines. *Endocrinology* 145: 4985-4990.
6. Bagchi D, Garg A, Krohn R, Bagchi M, Tran M, Stohs S. 1997. Oxygen free radical scavenging abilities of vitamin C and E, and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 95: 179-190.
7. Yamakoshi J, Kataoka S, Koga T, Ariga T. 1999. Proanthocyanidin-rich extract from grape seed attenuates the development of aortic atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis* 142: 139-149.
8. AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC.
9. Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oils. *J Am Oil Chem Soc* 58: 966-968.
10. American Institute of nutrition. 1977. Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc committee on

- standards for nutritional studies. *J Nutr* 107: 1340-1348.
11. Muller PH. 1977. A fully enzymatic triglyceride determination. *J Clin Chem Clin Biochem* 15: 457-464.
 12. Richmond V. 1976. Use of cholesterol oxidase for assay of total and free cholesterol in serum continuous flow analysis. *Clin Chem* 22: 1579-1588.
 13. Folch J, Mee L, Stanley GSH. 1975. A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-509.
 14. McCord JM, Fridovich I. 1969. Superoxide dismutase: An enzymatic function for erythrocyte (Hemocuprein). *J Biol Chem* 244: 6049-6055.
 15. Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-254.
 16. Carl MN, Lakshmana MR, Porter JW. 1975. Fatty acid synthase from rat liver. *Methods in Enzymology* 35: 37-44.
 17. Lazarow PB. 1981. Assay of peroxisomal β -oxidation of fatty acids. *Methods in Enzymology* 72: 315-319.
 18. Bieber LL, Abraham T, Helmuth T. 1972. A rapid spectrophotometric assay for carnitine palmitoyltransferase. *Anal Biochem* 50: 509-518.
 19. Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol & a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 469-474.
 20. Aebi H. 1988. Catalase in vitro. *Method Enzymol* 105: 121-126.
 21. Paglia ED, Valentine WN. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 70: 158-169.
 22. Tarladgis BG, Pearson AM, Dugan LR. 1964. Chemistry of the 2-thiobarbituric acid test for determination of oxidative rancidity in foods. *J Sci Food Agri* 15: 602-607.
 23. Dodge JA. 1994. Dietary fat and gastrointestinal function. *Eur J Clin Nutr* 48: S8-S16.
 24. Katan MB, Zock PL, Mensink RP. 1994. Effects of fats and fatty acids on blood lipids in humans: an overview. *Am J Clin Nutr* 60: 1017S-1022S.
 25. Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Seeley RJ, Baskin DG. 2000. Central nervous system control of food intake. *Nature* 404: 661-667.
 26. Shimoda H, Seki E, Aitani M. 2006. Inhibitory effect of green coffee bean extract on fat accumulation and body weight gain in mice. *BMC Complement Altern Med* 6: 9-17.
 27. Sies H. 1991. Oxidative stress: From basic research to clinical application. *Am J Med* 91: 353-359.
 28. Krinsky NI. 1992. Mechanism of action of biological antioxidants. *Proc Soc Exp Biol Med* 200: 248-254.
 29. Fridovich I. 1989. Superoxide dismutase. *J Biol Chem* 264: 7761-7764.
 30. Zhu YG, Zhang SM, Wang JY, Xiao WQ, Wang XY, Zhou JF. 2006. Overweight and obesity-induced oxidative stress in children. *Biomed Environ Sci* 19: 353-359.
 31. El-ALfy AT, Ahmed AE, Fatani AJ. 2005. Protective effect of red grape seeds proanthocyanidins against induction of diabetes by alloxan in rats. *Pharmacol Res* 52: 264-270.

(2007년 9월 6일 접수; 2007년 12월 12일 채택)