한국영양학회지(*Korean J Nutr*) 2008; 41(7): 583~593

함초 첨가식이가 당뇨유발 흰쥐의 항산화효소 활성에 미치는 영향*

김 명 화§

덕성여자대학교 식품영양학과

Effects of *Salicornia Herbacea* L. Supplementation on Antioxidative Enzyme Activities in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats*

Kim, Myung Wha§

Department of Food and Nutrition, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

ABSTRACT

This study was designed to examine the effects of *Salicornia herbacea* L. (glasswort: GW) on hepatic antioxidative enzyme activities in diabetic rats. Diabetes mellitus was induced in male Sprague-Dawley rats weighing 200-220g by an injection of streptozotocin (STZ) dissolved in a citrate buffer into the tail vein at a dose of 45 mg/kg of body weight. Sprague-Dawley rats were fed an AIN-93 recommended diet and the experimental groups were fed a modified diet containing 10% and 20% of glasswort powder for 4 weeks. The experimental groups were divided into 6 groups which consisted of normal (N)-control group, N-GW 10% and N-GW 20% treated groups, STZ-control, STZ-GW 10% and STZ-GW 20% treated groups. The activities of Xanthine oxidase (XOD), glutathione- S-transferase (GST), glutathione peroxidase (GPX), glutathione reductase (GR), superoxide dismutase (SOD) and CAT (CAT) were measured in the homogenates of liver. The activity of CAT was lower in the supplementary group with glasswort compare to the STZ-control group but it was not significantly different. The activity of SOD was not significant in all of experimental groups. The activity of GR was significantly increased in the normal supplementary group with glasswort, and GPX activity was significantly increased in STZ-GW 10% group compare to the STZ-control group. The activity of XOD was significantly decreased in the all of supplementary groups with glasswort. The activity of GST was significantly increased in the N-GW 20% group and it was significantly decreased in the STZ-GW 20% group. These results show that the supplementation of glasswort may have favorable influence on antioxidative status in diabetic rats and it may be useful for the diabetic complications as functional food. (*Korean J Nutr* 2008; 41(7): 583~593)

KEY WORDS: *salicornia herbacea* L. (glasswort), diabetes mellitus, streptozotocin, antioxidative enzyme activities.

서 론

최근 인구의 고령화와 더불어 식생활과 생활패턴의 변화로 당뇨환자가 급증세를 보이고 있다. 1990년 초 세계보건기구의 조사 통계자료에 의하면 2000년을 기준으로 하였을 때 전 세계에 약 1억 5,100만의 당뇨병 환자들이 있으며, 2010년에는 46%나 증가되어 2억 2,100만 명이나 될 것이라고 예측하였다.[1)]

우리나라도 당뇨병이 주요한 이환과 사망의 원인이 되는 성인병으로 1970년대 이후 유병률이 급격히 증가하고 있으며, 최근에는 암 및 순환기계 질환과 더불어 3대 질환의 하나로 지목되고 있다. 당뇨병으로 인한 사망률도 2003년 통계청의 보고[2)]에 따르면 암, 뇌혈관질환 및 심장질환에 이어 최근에는 당뇨병이 사망원인 4위까지 상승하여 우리나라의 대표 국민병으로 당뇨병의 예방과 관리가 매우 중요하게 인식되어 지고 있다.[3)]

당뇨병은 만성적인 관리를 필요로 하는 질환으로 당뇨시 산화적 스트레스는[4)] 고혈당 증상이 지속되고 만성화되면 여러 유리기 (free radical)의 생성을 증가시킨다. 생체 내 정상적인 세포대사 과정에서 생성되는 유리기는 일반적으로 불안정하고 매우 반응성이 큰 물질로 세포 손상을 초래하여 세포막 혹은 미토콘드리아나 리소좀 등 미세구조막의 구조를 변형시켜 물질이동이나 기능 등이 손상을 입게 된다.[5)] 당뇨 발병 후에도 포도당의 자가산화, 폴리올 경로

접수일 : 2008년 9월 22일 / 수정일 : 2008년 10월 8일
채택일 : 2008년 10월 17일
*This research was supported by Duksung Women's University research grants 2007.
§To whom correspondence should be addressed.
E-mail : kmw7@duksung.ac.kr

© 2008 The Korean Nutrition Society

및 단백질 당화 등 고혈당과 관련된 생화학적 경로들에 의해 유리기의 생성이 증가되어 산화성 스트레스는 방어기전을 위한 항산화 효소의 양과 활성을 불충분하게 하며 그들 효소간의 균형을 잃기 때문에 동맥경화를 비롯한 각종 혈관성 합병증에 대한 중요한 병인으로 작용한다.[6,7] 당뇨병으로 인한 합병증 예방으로는 당뇨시 엄격한 혈당조절과 반응성 산소유리기 등의 산화적 스트레스를 감소시키고 조직의 항산화 방어체계를 강화하여 당뇨병성 미세혈관 등의 합병증의 위험을 감소시키는 것이 중요하다. 당뇨같은 퇴행성 질환들의 중요한 원인이 되는 활성산소종 (reactive oxygen species)은 호기성대사의 결과로서 정상적인 상태에서 항상 생성된다. 활성산소종은 superoxide anion (O_2^-), hydroxyl radical (・OH) 및 hydrogen peroxide radical (・OOH) 등이 있는데 이들은 높은 화학적 반응성 때문에 일시적으로만 존재하며 유해한 방식으로 DNA, 단백질, 탄수화물 및 지질 등과 반응할 수 있다. 세포는 활성산소종에 대항하기 위한 다양한 항산화체계를 갖고 있으나 활성산소종이 보호 체계를 압도하여 산화환원 항상성을 변화시키게 될 때 결과적으로 산화적 스트레스를 입게 된다.[4-6]

생체는 정상적인 세포대사 과정에서 생성되는 유리기로부터 보호하기 위한 항산화방어체계를 갖추고 있는데 항산화작용을 하는 것으로는 glutathione peroxidase (GPX), superoxide dismutase (SOD) 및 catalase (CAT)와 같이 체내에서 생성되는 효소 등이 있다. 이 항산화효소계는 활성산소나 과산화물과 직접 반응하여 세포를 산화적 손상으로부터 보호하는 역할을 한다. 생체는 정상적인 상태에서는 유리기의 생성과 항산화방어계의 활성이 균형을 이루고 있으나 과다한 유리기가 생성되거나 항산화방어기전의 활성이 감소하는 경우 이들 간의 균형이 깨어져 산화적인 스트레스가 증가되고 조직은 지질과산화로 인해 조직손상을 초래할 수 있다.[7]

당뇨쥐에서 지질과산화물의 증가는 체내 산화스트레스가 높아져 고혈당 상태에서 포도당의 자가산화촉진 및 비효소적 당화과정을 통하여 유리기 형성을 증가시키고, 활성산소종을 증가시키는 요인이 된다. 당뇨상태는 과산화수소를 생성하는 xanthine oxidase (XOD) 활성을 증가시키는 것으로 알려졌으며 NOS의 발현을 증가시켜 NO 생성을 높인다. 이는 체내에서 산화력이 강한 peroxynitrite를 생성하여 지질과산화 및 LDL 산화를 증가시키며,[8] 이러한 지질과산화물의 증가는 생체막의 구조와 기능의 변형 및 파괴 등을 통하여 당뇨합병증의 발생과 관련이 있다.

당뇨는 치료를 위한 비용뿐 아니라 치료시 발생하는 내성문제로 인해 당뇨관리에 식이치료는 매우 중요한 요인이다. 식이치료를 위한 자연식용식물은 영양학적 및 생리활성 측면에서 높은 가치가 인식되어지고 있으나, 당뇨치료를 위해서 당뇨환자들은 쉽게 혈당을 조절할 수 있다는 생각으로 당뇨에 좋다고 선전되고 있는 민간요법 소재들을 충분한 과학적인 검토가 이루어 지지 않았음에도 불구하고 일반적으로 상용화하고 있는 실정이다. 당뇨환자들을 위한 건강기능성식품에 대한 효과가 아직 확실히 입증되지 않은 상태에서 식품의 무분별한 이용은 당뇨를 악화시키고, 당뇨 합병증을 증가시키는 부작용을 초래할 수 있으므로 건강식품의 오용과 남용을 막을 수 있는 과학적 근거를 토대로 한 바람직한 건강식품의 정보제공이 매우 중요하리라 생각된다.

본 연구에서는 구전이나 민간요법으로 이용되어 온 자연식품의 효과적인 검색과 과학적인 근거자료를 확립하기 위한 일환으로 함초를 사용하였다. 함초 (*Salicornia herbacea* L.)는 명아주과 (Chenopodiaceae)에 속하는 일년생 초본식물로 라틴명으로는 *Salicornia europea*, 영식으로는 Jointed glasswort, 우리말로는 퉁퉁하고 마디마다 튀어나온 풀이라 하여 '퉁퉁마디'라고 부른다. 일본, 프랑스 및 지중해에서는 함초를 샐러드로 먹거나 식재료로 이용하였고[9] 멕시코, 이집트 및 아랍에미리트연방에서는 식용이나 채종류와 같은 기름으로, 혹은 가축의 먹이로 사용하였다.[10] 우리나라에서는 바닷가에 사는 사람들이 드물게 나물로 무쳐 먹고 봄철 몸이 나른하고 밥맛이 없을 때 함초나물을 먹으면 눈이 맑아지고 밥맛이 좋아진다는 얘기가 전해지며, 황해도 지방에서는 함초를 소화불량, 위장병, 간염, 및 신장병 등의 약으로 사용하였다.[11]

함초에 관한 연구로는 함초의 뿌리, 잎 및 줄기마디의 성분함량,[12] 생리활성기능 탐색[13] 및 고콜레스테롤식이에서 항산화방어계에 미치는 영향,[14] 항산화효과[15]에 관한 연구가 보고되었다. 또한 함초가루의 혼합비율 최적화 연구를 통한 식품개발,[16] 함초추출물 발효액의 기능성에 관한 연구,[17] 간독성 개선,[18] 심혈관계질환 예방효능[19] 및 함초의 약리효과에 관한 연구[11]가 이루어졌고, 최근에는 함초의 면역증강제로의 활용가능성에 관한 연구[20] 등이 보고되었다.

함초는 칼륨과 마그네슘 등의 무기질이 풍부하고 필수지방산인 리놀레산을 약 50% 이상 함유하며 또한 필수아미노산이 풍부한 염생식품으로,[21] 함초에 함유되어 있는 식이성섬유소, 항산화성 flavol과 폴리페놀성 아글리콘화합물 등은 항산화성이 있는 것으로 알려져 있다.[15] 식물체에 함유되어 있는 페놀성 화합물들은 항산화 작용 등의 다양한 항산화 생리활성 기능을 가지고 있는데 이것은 분자내 phenolic hydroxyl기가 효소 단백질과 같은 거대 분자들

과 결합하는 성질이 있고, 페놀성물질의 hydroxyl group은 유리기 수용체로서 유지산패 초기단계에 생성된 유리기들이 안정된 화합물을 형성하도록 하여 산화억제 작용을 한다.[22]

당뇨시 산화적 스트레스의 억제와 파괴를 개선하는 것이 중요한데 이들의 활성을 변화시킬 수 있는 생리활성에 관한 연구[8]는 대부분 추출물의 형태로 연구되어져 당뇨예방 및 식사요법에 식품으로서의 가치를 평가할 수 있는 자료가 부족하여 실증적인 연구가 필요하다. 항당뇨예방을 위한 식품으로서의 이용 가치를 연구하기 위해 전보[23,24]에서 함초분말 첨가시 당뇨유발된 흰쥐의 혈당수준과 malondialdehyde (MDA) 지질과산화에 수준을 낮추는데 효과적이었다. 이에 본 연구에서는 당뇨시 산화적 스트레스 증가로 인한 항산화방어효소계의 효과를 연구하기 위해 streptozotocin (STZ)으로 당뇨유발된 흰쥐에게 함초분말을 식이에 첨가하여 간장의 cytosol에서 항산화효소 활성에 미치는 영향을 연구하였다.

연구방법

실험재료

본 실험에서 시료로 사용한 함초 (glasswort: GW)는 경상북도 청도군에서 수확하여 자연건조시킨 것을 구입하여 분말화하였다. 함초의 분말시료는 냉장보관하여 실험에 첨가식이로 사용하였다.

실험동물 사육 및 당뇨유발

실험동물은 샘타코 (Sam: TacN(SD)BR, 경기도 오산시)로 부터 공급받은 7주령의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 환경에 적응시키기 위해 고형사료 [(주)삼육실험동물실험연구소]로 예비사육하였다. 본 실험에서는 체중 220 g 내외의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 stainless steel cage에 한 마리씩 넣고 온도 22 ± 2℃에서 고형사료 (주식회사 샘타코)로 1주일간 예비사육한 후 난괴법에 의해 6개 군으로 나누어 사용하였다. 실험군은 정상실험군 3개군과 당뇨실험군 3개군으로 나누어 정상실험군에는 함초를 첨가하지 않은 정상대조군 (Normal)과 정상대조군에 함초를 각각 10% (Normal-GW 10%)와 20% (Normal-GW 20%)를 AIN-93 기본식이[25]에 첨가하여 실험하였고, 당뇨실험군에는 함초를 첨가하지 않은 당뇨대조군 (STZ-control)과 당뇨대조군에 함초를 각각 10% (STZ-GW 10%)와 20% (STZ-GW 20%)를 AIN-93 기본식이에 첨가하여 실험하였다. 정상대조군과 당뇨대조군 모두 AIN-93 기본식이로 공급하였고 함초 첨가 실험군의 식이는 AIN-93 기본식이를 변형하여 실험동물에게 분말화한 함초를 각각 10%와 20%씩 첨가정도를 달리하여[26] 각각의 해당식이로 4주간 공급하였고 실험식이와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다 (Table 1).

Table 1. Compostion of control and experimental diets (g/kg diet)

Components	Control diet[1]	Experimental diet[2]	
		10%	20%
Cornstarch	465.692	404.792	343.892
Casein	140.0	129.4	118.8
Dextrinized cornstarch	155.0	155.0	155.0
Sucrose	100.0	100.0	100.0
Soybean oil	40.0	36.5	33.0
Fiber	50.0	25.0	0.0
Mineral mix[3]	35.0	35.0	35.0
Vitamin mix[4]	10.0	10.0	10.0
L-Cystine	1.8	1.8	1.8
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5
Tert-butylhydroquinone	0.008	0.008	0.008
Glasswort	–	100.0	200.0

1) Control diet: AIN-93 diet
2) Experimental diet: control diet + glasswort powder
3) AIN-93 Mineral mixture (g/kg): Calcium carbohante anhydrous 357.0, Potassium phosphate monobasic 250.0, Potassium citrate (tripotassium monohydrate) 28.0, sodium chloride 74.0, Potassium sulfate 46.6, Magnesium oxide 24.0, Ferric citrate 6.06, Zinc carbonate 1.65, Sodium meta-silicate · 9 H_2O 1.45, Manganous carbonate 0.63, Cupric carbonate 0.30, Chromium potassium sulfate · 12 H_2O 0.275, Boric acid (mg) 81.5, Sodium fluoride (mg) 63.5, Nickel carbonate (mg) 31.8, Lithium chloride (mg) 17.4, Sodium selenate anhydrous (mg) 10.25, Potassium iodate (mg) 10.0, Ammonium paramolybdate · 4 H_2O 7.95, Ammonium vanadate (mg) 6.6, Powdered sucrose 209.806
4) AIN-93 Vitamin mixture (g/kg): Nicotinic acid 3.0, Ca pantothenate 1.6, Pyridoxine-HCl 0.7, Thiamin-HCl 0.6, Riboflavin 0.6, Folic acid 0.2, Biotin 0.02, Vitamin B_{12} (cyanocobalamin) 2.5, Vitamin E (all-*rac*-α-tocopheryl acetate) 15.0, Vitamin A (all-*trans*-retinyl palmitate) 0.8, Vitamin D_3 (cholecalciferol) 0.25, Vitamin K_1 (phylloquinone) 0.075, Powdered sucrose 974.655

당뇨유발은 실험동물을 16시간 절식시킨 후 췌장의 β-세포에만 특이적으로 작용하여 다른 기관에 영향을 미치지 않는다고 알려진[27~30] streptozotocin (STZ, Sigma Chemical Co.)을 pH 4.5의 0.01 M citrate buffer에 45 mg/kg B.W. 농도로 녹여 꼬리정맥에 주사하였다. 당뇨병의 유발 확인은 24시간 후 안구정맥총에서 채혈하여 혈장 중의 포도당 농도가 300 mg/dL 이상인 것을 당뇨가 유발된 것으로 확인하였다. 정상실험군에는 0.01 M citrate buffer를 당뇨실험군과 같은 방법으로 주사하였다. 실험 4주 후 실험동물을 에테르로 마취하고 단두로 희생시킨 후 개복하여 간장을 적출하여 −70℃에 냉동보관하여 생화학적 분석을 하였다.

생화학적 분석

간조직 중의 항산화효소원의 분리는 간조직에 phosphate buffered saline (PBS)으로 혈액 등을 제거한 후 3배 용량의 Tris KCl buffer (0.1 M Tris acetate, 0.1 M KCl, 0.1 mM EDTA, pH 7.4)를 가하고 균질기로 마쇄하여 얻은 균질액을 8,000 × g에서 30분간 원심분리 (DupPont Sorvall Instrument, Model RC 5C)한 후 그 상층액을 다시 10,000 × g에서 30분간 원심분리하였다. 그 다음은 원심분리한 상층액을 취하여 105,000 × g에서 90분간 초원심분리 (Beckman Co. Ltd L-80)시켜 cytosol 분획을 얻었다. 모든 실험조건은 4℃를 유지하면서 행하였고 cytosol은 사용전까지 −70℃에 보관하였다.

Xanthine oxidase (XOD) 활성도는 xanthine을 기질로 하여 생성된 uric acid를 측정하는 Bergmeyer 등[31]의 방법을 이용하였다. 3.0 mL의 혼합용액 (33 mM potassium phosphate, 0.05 mM xanthine, 0.02 unit xanthine oxidase)을 cuvette에 넣은 후 cytosol을 첨가하여 25℃ 290 nm에서 흡광도 증가속도를 측정하였다. Glutathione-S-transferase (GST)의 활성도는 Habig 등[32]의 방법에 준해 0.1 M phosphate 완충액 (pH 6.5) 일정량에 cytosol과 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) 및 glutathione을 혼합하여 25℃에서 반응시킨 다음 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. Glutathione-peroxidase (GPX)의 활성도는 Lawerence와 Burk[33]의 방법에 따라 cumene hydroperoxide와 H_2O_2를 기질로 하여 각각 시행하였다. Glutathione이 cumene hydroperoxide 혹은 H_2O_2와 반응하여 산화형 glutathione (GSSG)이 형성되고 GSSG가 NADPH를 산화시키면서 glutathione으로 환원되므로 340 nm에서 NADPH 환원량을 측정하여 계산하였다. 즉 0.5 M potassium phosphate buffer (pH 7.0) 중에 효소액을 가하여 25℃ 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. Glutathione reductase (GR)의 활성도는 NADPH를 이용하여 glutathione을 환원시킬 때 NADPH가 $NADP^+$로 산화되는 정도를 340 nm에서 NADPH의 분자흡광도 계수 6.22 $mM^{-1}cm^{-1}$을 이용하여 측정하였다.[34] Superoxide dismutase (SOD)활성도는 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund와 Marklund[6]의 방법을 사용하여 5분 동안 pyrogallol의 auto oxidation 억제정도를 325 nm에서 흡광도를 측정하였다. Catalase (CAT)의 활성도는 Aebi[35]의 방법에 따라 67 mM sodium phosphate buffer (pH 7.0) 1.0 mL에 기질인 30% H_2O_2를 2 μL를 넣어 25℃ 290 nm에서 5분간 흡광도를 측정하였다. H_2O_2의 흡광도 변화와 H_2O_2의 몰흡광계수로 H_2O_2의 농도를 구하여 효소활성도를 계산하였다. 간장의 cytosol에서 단백질 함량은 Lowry 등[36]의 방법으로 측정하였다.

통계처리

모든 자료의 통계분석은 SAS (statistical analysis system) package를 사용하여 실시하였고 분석수치는 평균과 표준편차 (standard deviation, SD)로 표시하였다. 실험군간의 차이는 one way analysis of variance (ANOVA)를 실시하여 검증하였고 $p < 0.05$ 수준에서 유의성이 관찰된 경우 각 실험군 간의 평균값의 차이에 대한 유의성은 Duncan's multiple range test를 이용하여 평가하였다.

결 과

Xanthine oxidase (XOD) 활성도

간장의 cytosol에서 XOD의 활성도를 측정한 결과 정상군대조군과 당뇨대조군 사이에는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 정상시에는 정상대조군 (20.88 ± 4.16)에 비해 함초 첨가시 XOD 효소 활성이 유의적으로 낮았으며 함초 10% 첨가군 보다는 20% 첨가군 (8.31 ± 0.94)에서 낮은 수준이었다. 당뇨시에는 당뇨대조군 (19.33 ± 6.53)에 비해 함초 첨가군에서 유의적인 차이를 보여 함초 10% 첨가군 (8.84 ± 1.34)에서 20% 첨가군 (10.93 ± 0.62)

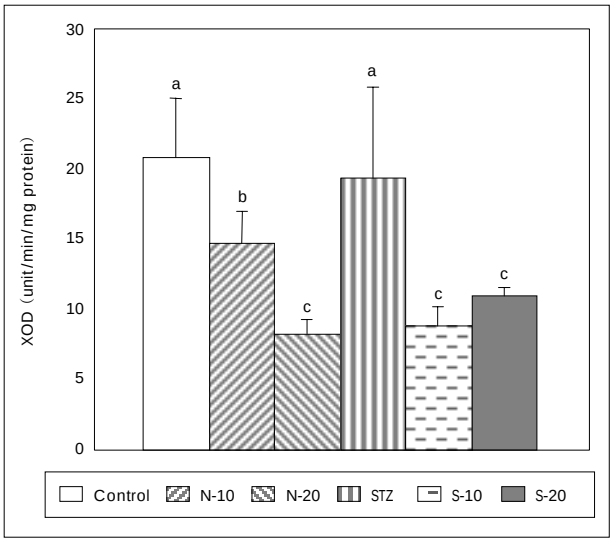

Fig. 1. Effects of glasswort on xanthine oxidase (XOD) activity in liver cytosol of normal and diabetic rats (unit/min/mg protein). Values are mean ± S.D.. Values with different alphabets are significantly different in the groups by Duncan's multiple range test. Normal (n = 10): normal control, N-GW 10% (n = 10): normal-glasswort 10%, N-GW 20% (n = 9): normal-glasswort 20%, STZ-control (n = 9): diabetic control, STZ-GW 10% (n = 12): diabetic-glasswort 10%, STZ-GW 20% (n = 14): diabetic-glasswort 20%.

보다 낮은 수준이었다 (Fig. 1).

Glutathione-S-transferase (GST) 활성도

간장의 cytosol에서 GST 활성도를 측정한 결과 정상대조군 활성도가 당뇨대조군 보다 유의적으로 높았고 정상실험군에 비해 모든 당뇨실험군에서 GST 활성도는 유의적으로 낮게 나타났다. 정상군에서는 함초분말 첨가비율이 높을수록 정상대조군에 비해 GST 활성도가 높은 수준으로 함초 20% 첨가군 (323.75 ± 24.37)에서는 뚜렷하게 정상대조군에 비해 유의적으로 높은 수준으로 보충 비율에 따라 다른 결과를 보였다. 당뇨시 함초 10% 첨가군에서는 당뇨대조군 보다 약간 높은 수준으로 증가하는 경향을 보일 뿐 유의적인 차이는 아니었으나 당뇨시 함초 20% 첨가군 (184.40 ± 15.10)에서는 당뇨대조군보다 유의적으로 낮은 수준으로 전 실험군에서 제일 낮은 활성도를 보였다 (Fig. 2).

Glutathione peroxidase (GPX) 활성도

간장의 cytosol에서 GPX 활성도를 측정한 결과 (Fig. 3)를 보면 H_2O_2를 기질로 실험한 경우 정상군대조과 당뇨대조군 사이에 유의적인 차이를 보이지 않았으나 정상시에는 함초분말 첨가시 정상대조군에 비해 유의적인 차이를 보여 함초 10% 첨가군 보다는 20% 첨가군 (3.80 ± 0.42)에서 활성도가 유의적으로 증가하여 함초 첨가비율에 따라 높은 활성도를 보였다. 당뇨시에는 당뇨대조군에 비해 함초첨가시 유의적인 차이를 보여 함초 10% 첨가군에서는 당뇨대조군 보다 높게, 함초 20% 첨가군 (2.04 ± 0.31)에서는 제일 낮은 수준의 활성도 차이를 보였다.

Glutathione reductase (GR) 활성도

간장의 GR 활성도에서는 정상대조군에 비해 당뇨대조군에서 수치상 증가하였으나 유의적인 차이는 아니었고 정상시에는 정상대조군에 비해 함초 10%와 20% 첨가군에서 활성도가 높았으며 함초분말 10% 보다는 20% 첨가시 (1.05 ± 0.19) 유의적으로 높은 수준이었다. 당뇨시에는 함초분말 첨가시 GR 활성도가 증가하는 수준이었으나 당뇨대조군에 비해 함초 20% 첨가군 보다 10% 첨가군에서 유의적으로 높은 수준으로 정상시의 함초 20% 첨가군 수준과 비슷한 경향이였다 (Fig. 4). 함초분말 첨가 효과는 당뇨시 보다는 정상시에 유의적인 변화를 보였다.

Superoxide dismutase (SOD) 활성도

간장의 SOD 활성은 모든 실험군들 간에 유의적이 차이는 없었으나 정상시에는 정상대조군에 비해 함초 10% 첨가군 보다는 20% 첨가군에서 낮은 경향을 보였고 함초 20% 첨가군에서는 다른 실험군에 비해 낮은 수준이였으나 유의적인 차이는 아니였다. 당뇨시에도 함초 10% 첨가군에서 SOD 활성이 당뇨대조군 보다 다소 증가하는 수준이였으나 유의적인 차이를 보이지 않았다 (Fig. 5).

Catalase (CAT) 활성도

간장의 cytosol에서 CAT 활성도는 정상시에는 함초 10% 첨가군에서 정상대조군에 비해 낮은 수준이었으나 유의적인 차이는 보이지 않았으며 함초 20% 첨가군에서는 정상

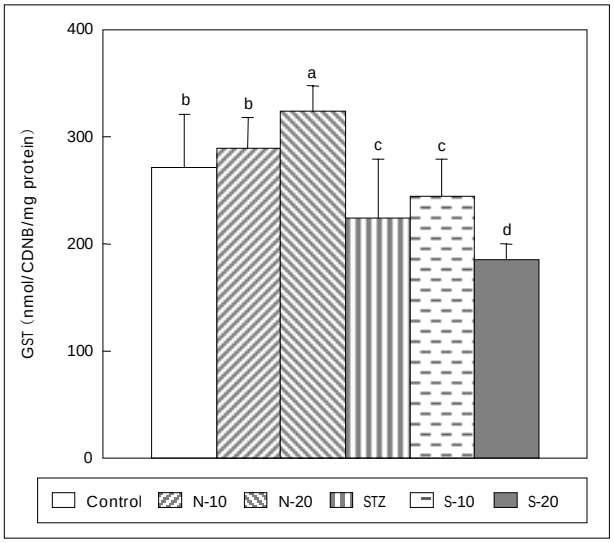

Fig. 2. Effects of glasswort on glutathione-S transferase (GST) activity in liver cytosol of normal and diabetic rats (nmol/CDNB/mg protein). Values are mean ± S.D.. Values with different alphabets are significantly different in the groups by Duncan's multiple range test.

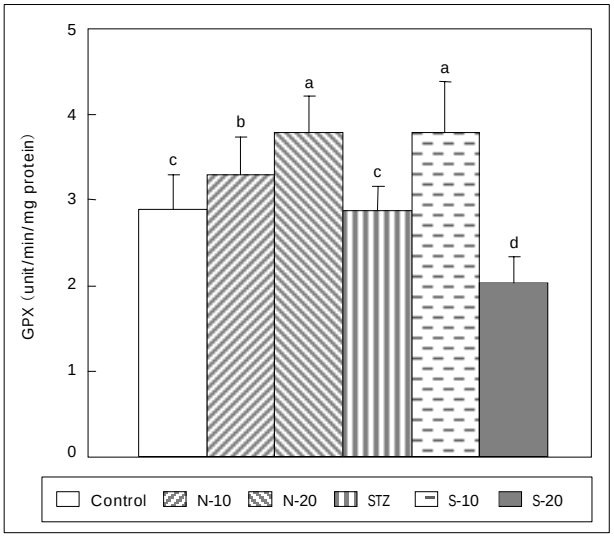

Fig. 3. Effects of glasswort on glutathione peroxidase (GPX) activity in liver cytosol of normal and diabetic rats (unit/min/mg protein). Values are mean ± S.D.. Values with different alphabets are significantly different in the groups by Duncan's multiple range test.

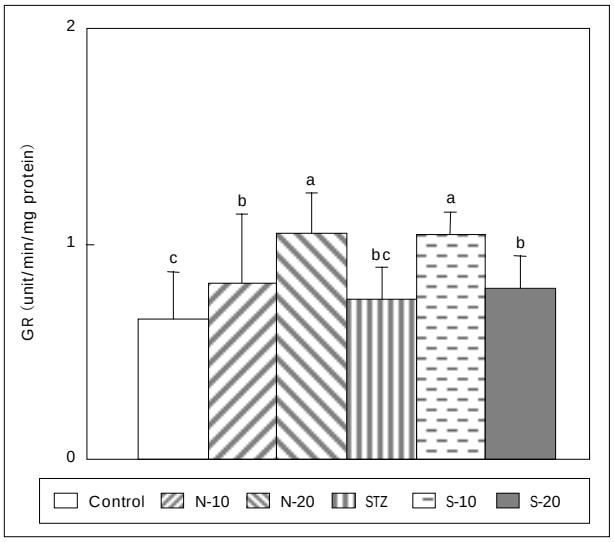

Fig. 4. Effects of glasswort on glutathione reductase (GR) activity in liver cytosol of normal and diabetic rats (unit/min/mg protein). Values are mean ± S.D.. Values with different alphabets are significantly different in the groups by Duncan's multiple range test.

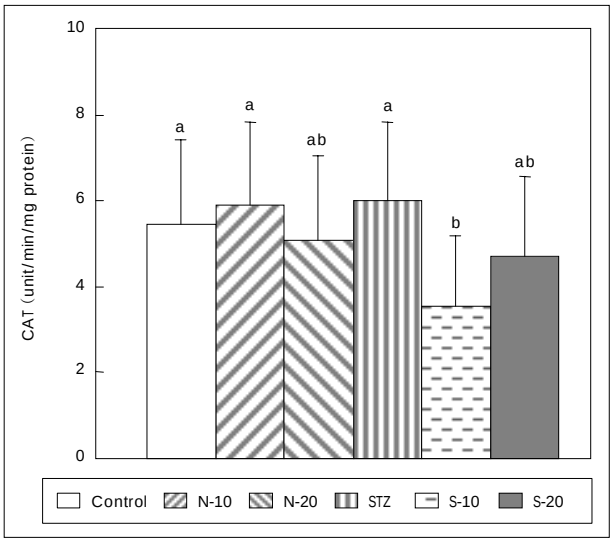

Fig. 6. Effects of glasswort on catalase (CAT) activity in liver cytosol of normal and diabetic rats (unit/min/mg protein). Values are mean ± S.D.. Values with different alphabets are significantly different in the groups by Duncan's multiple range test.

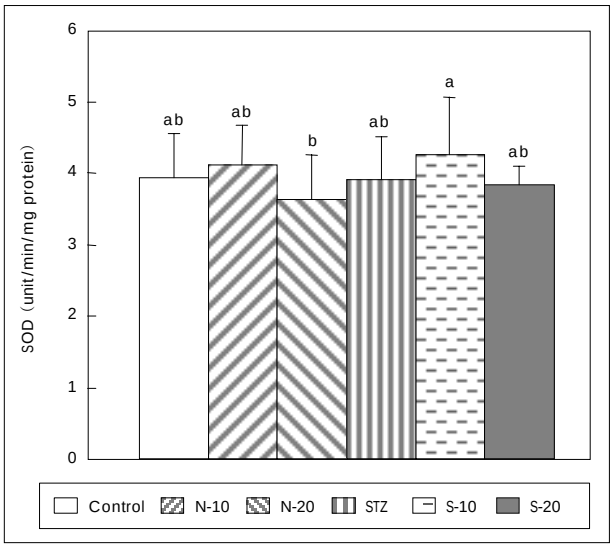

Fig. 5. Effects of glasswort on superoxide dismutase (SOD) activity in liver cytosol of normal and diabetic rats (unit/min/mg protein). Values are mean ± S.D.. Values with different alphabets are significantly different in the groups by Duncan's multiple range test.

대조군에 비해 유의적으로 높은 수준이였다. 당뇨 실험군에서는 당뇨대조군에 비해 함초 20% 첨가군에서 CAT 활성도가 낮게 나타났으나 유의적인 차이는 아니었다. 본 실험에서는 STZ에 의한 당뇨유발로 당뇨에 의한 CAT 활성도가 높은 수준으로 간조직의 CAT 활성도가 당뇨시와 정상시에는 유의적인 차이를 보이지 않았다 (Fig. 6). 당뇨시에 함초 첨가비율에 따라 다른 활성도를 보였는데 함초 20% 첨가군에서 CAT 활성 수준이 낮아져 감소하는 경향을 보였다.

고 찰

생체내 유리기 생성계의 하나인 Xanthine oxidase (XOD) 활성도는 purine, pyrimidine, pteridine, aldehyde류 및 heterocyclic 화합물 등의 대사에 관여하는 비특이적 효소로서 생체 내에는 주로 purine체의 대사산물인 hypoxanthine을 xanthine으로 xanthine을 다시 산화시켜 요산을 생성하는 반응의 촉매로 작용하며 이 과정에서 유리기를 생성한다고 알려져 있다.[37]

당뇨병의 병적 상태에서는 유리기의 생성계인 XOD나 mixed function oxidase system이 활성화되며[38,39] Duke 등[37]의 연구에 의하면 STZ 유발 당뇨병 간장에서 xanthine의 산화가 증가되어 XOD 활성도가 증가한다.

당뇨상태는 과산화수소를 생성하는 XOD 활성을 증가시키는데[40] 본 연구에서는 함초첨가시 XOD 활성도 증가를 억제하여 활성 수준이 낮아져서 당뇨시 STZ 투여로 인한 체내 유해 활성산소 대사계의 비정상적 활성변화를 완화시킬 수 있을 것으로 생각되며 정상시에도 함초첨가는 활성산소종의 증가를 억제시키데 작용하리라 보여진다. 함초의 식이섬유소는 혈당개선 뿐 아니라 peroxynitrite의 소거효과[41]를 보여 함초는 항산화활성을 증가시키는 것으로 사료된다. 이같은 이유로 오래전부터 우리 선조들이 함초를 나물로써 식용하였고, 현대에 와서는 다양한 조리의 형태로 우리 식이에 함초가 사용되는 것은 현대인의 항산화로 인

한 스트레스를 줄이며 또한 당내성을 증진시키는데 효과적인 식품으로 생각된다.

Bang 등[42]의 연구에서는 당뇨시 GST의 활성도가 함초 섭취시에는 유의적인 차이가 없었고 측정 장기별로도 다른 연구 결과를 보였다. 본 연구에는 간장의 cytosol에서 GST 활성도를 측정한 결과 정상대조군 GST 활성도가 당뇨대조군 보다 높게 유의적인 수준 차이를 보였으며 정상 실험군에서는 함초 20% 첨가군에서 뚜렷하게 정상대조군에 비해 높은 유의적인 수준이었고 함초첨가 비율이 높을수록 GST 활성도가 높았다. 당뇨시 함초 20% 첨가시 간장에서는 GST 활성도가 낮은 수준으로 첨가 비율에 따라 다른 결과를 보였다. 유리기를 제거해 주는 효소적 방어계인 GST는 내인성 독소 중에서 친전자성 물질 등에 환원형 GSH를 포함시켜 glutathione thioester를 형성하는 반응에 촉매 역할을 한다.[43] 본 연구에서는 정상 실험군에 비해 모든 당뇨실험군에서 GST 활성도는 유의적으로 낮게 나타났고 당뇨시 함초 첨가 20%군에서 GST의 활성도가 낮아져 함초의 식이효과를 볼 수 있었다.

당뇨병에서는 고혈당과 혈당에 대한 산화적 반응으로 신장 GST의 단백질과 mRNA 발현이 증가하며,[44] STZ 유도 당뇨쥐 소장의 GST 활성이 증가하는데[45] 전보[23,24]로 부터 당뇨시 낮은 MDA 수준과 혈당 수준을 낮추는데 효과를 보여 본 연구결과 함초분말 식이 섭취는 당뇨시 고혈당과 혈당에 대한 산화적 반응을 저하시켰음을 유추할 수 있다.

STZ로 유발된 당뇨쥐에서 정상쥐에 비하여 간조직의 GPX가 증가하며[46,47] 조직에서 유리기를 제거하는 등의 항산화계의 작용이 당뇨쥐에서 감소되며 조직손상을 일으킨다.[48] 본 연구에서는 간장의 cytosol에서 GPX 활성도를 측정한 결과를 보면 (Fig. 3) 정상시에는 함초분말 첨가 10%보다는 20% 첨가시에 활성도가 유의적으로 증가하였고, 당뇨시에는 함초 비율이 높을수록 활성도가 낮아져 함초 첨가시 조직 손상정도가 감소되었을 것으로 생각된다.

당뇨시 GPX 활성도 증가는 손상된 신장조직에 대한 보상반응이며 이는 당뇨에 의해 손상되는 신장의 조직을 방어하기 위한 작용으로 보여지고, STZ으로 유발된 당뇨쥐에서는 간장의 손상으로 인한 신장의 비대가 보여지는데 함초분말 첨가시에는 신장의 무게가 감소하였고, 지질과산화 수준을 저하시킨 전보[23,24]로 부터의 결과와 본 실험결과에서 당뇨시 함초 20% 첨가군에서는 GPX 활성도 증가수준이 뚜렷하게 감소하여 함초를 식이로 첨가하였을 때 함초는 지질과산화의 분해를 촉매하여 손상된 세포막을 보호하는데 작용할 것으로 추정된다.

Lim[49]의 연구에서 기질 cumene hydroperoxide를 사용하여 GPX 활성도를 측정한 결과 정상군과 모든 당뇨군에서 유의적인 차이를 보이지 않았고, Kakkar 등[50]의 보고에서도 당뇨쥐의 간장 중의 GPX 활성도가 당뇨군에서 정상군에 비하여 유의성은 없었다. 본 연구에서도 정상대조군과 당뇨대조군 사이에는 유의적인 차이를 보이지 않았다.

만성당뇨 상태나 또는 나이가 증가할수록 GPX의 활성도가 감소하였고,[51] 당뇨발생 초기 72시간에는 GPX는 변화가 없이 SOD가 증가하였다. 만성당뇨 시에는 SOD의 변화 없이 GPX 활성도가 감소한다는 연구보고[52]가 있고, alloxan 유도 당뇨쥐에서 GPX 활성도의 감소는 혈당증가와 높은 상관관계를 보인다는 연구결과[53]가 있고, 당뇨유도물질인 STZ과 alloxan으로 당뇨유발한 당뇨실험에서는 GPX 활성도가 증가하였다.[54] 당뇨시 활성산소가 현저히 증가하는데 Yoo와 Rhee[46]의 연구와 같이 유리기 제거계인 GPX 활성도의 증가는 함초를 첨가하였을 때 정상시와 당뇨시에서 지질과산화물의 생성을 억제하고, 당뇨의 간조직에서 superoxide radical 생성을 억제하고 과산화적 손상정도를 나타내는 리포푸신 등의 생성을 억제하므로 산화적 스트레스를 감소시킨다. 이는 SOD와 GPX와 같은 산화적 방어체계 작용으로 세포의 상해를 막아주며 세포의 기능 손상을 방지한다. Cho 등[55]의 연구에서 표고버섯 분말 섭취시 GPX의 증가정도를 유의적으로 완화시켰다는 보고가 있는데 본 연구에서도 당뇨시 함초첨가 10% 보다는 20%에서 GPX 활성도가 감소되었다.

전보[23,24]의 연구결과에 의하면 당뇨시 함초 20% 첨가군에서 혈당의 감소가 당뇨실험군 중 가장 낮았고, MDA 수준에도 낮아지는데 영향을 주었다. 본 연구에서는 SOD의 활성에 뚜렷한 변화 없이 당뇨쥐에서 GPX 활성도의 감소로 혈당과의 상관관계가 보여진다. GPX는 혈청에서 항산화 무기질의 농도가 낮으면 항산화 효소의 활성도가 낮아진다. 함초에는 Na 성분뿐 아니라 Ca, Mg, Fe 및 Zn 성분들이 고농도 수준으로 함유되어 있어서 항산화체계에 긍정적인 영향을 주어 당뇨로 인한 스트레스를 줄이고,[42,56] 당뇨시 간장 내의 뚜렷한 Cr 함량[23]은 포도당의 이용률을 증가시켜 포도당대사에 효과적이며 함초분말을 식이로 첨가시 무기질의 농도 차이는 항산화효소 활성도에도 상관성이 있으리라 추정된다.

GR은 모든 포유동물의 조직에서 발견되는 flavoprotein으로 cytosol에 존재하고 있고, GPX에 의해 생성된 GSSG를 NADPH로 소모하면서 glutathione으로 환원시키는 역할을 수행한다. GR은 이 산화환원반응을 통해 세포내 glutathione pool을 환원상태로 유지함으로써 간접적으로 세포 보호 및 항상성 유지에 기여한다. GR은 직접적으로 과

산화물을 소거하지는 않으나 과산화수소나 유기과산화물 환원에 사용되는 glutathione의 재생산에 관여하는 것으로 알려져 있다.[57] 본 연구결과 간의 GR 활성도는 정상대조군에 비해 당뇨대조군에서 수치상 증가하였으나 유의적인 차이는 아니었고, 정상시 함초 20% 첨가군과 당뇨시 함초 10% 첨가군에서 유의적으로 GR 활성도가 증가하는 수준으로 정상시에는 함초분말 첨가 비율이 높을수록 활성도가 증가하였다.

Atalay 등[58]의 연구에서는 당뇨환자에서 낮은 Zn-SOD와 CAT 활성을 나타냈으며, GR의 활성은 높게 나타났고, Lim[49]의 연구에 의하면, 간의 GR 활성도는 정상군에 비해 당뇨대조군이 유의적으로 증가하였다고 보고하였으며, Bang 등[42]의 연구에서는 함초 보충시 간장의 GR 활성도가 증가하였고 신장에서는 GR 활성도가 감소하였다고 보고하여 장기별로 다른 차이를 볼 수 있다. 본 연구에서는 당뇨시 함초 식이첨가에 따라 간장의 GR의 활성도는 다소 높아지는 경향을 보였다.

STZ으로 당뇨 유발시 산소유리기의 대표적인 superoxide radical (O_2^-) 생성을 측정한 결과 정상군에 비해 116% 정도 증가하였고, STZ으로 당뇨유발 시 SOD 활성은 다소 상승하는 경향이 있으나 후반부에서는 정상적으로 나타난다고 보고되었다.[59] Song과 Chyun[60]의 연구에 의하면 비타민 A 전구체인 베타 카로틴 항산화영양소 보충섭취시 SOD 활성은 증가되고 CAT 활성을 감소시킨다고 보고하였다.

만성당뇨시에는 SOD의 변화없이 GPX 활성도가 감소하였는데[40] 본 연구에서는 당뇨시 SOD 활성이 함초 10% 첨가군에서는 증가하는 경향이 있었으나 당뇨대조군에 비해 유의적인 차이는 보이지 않았고 GPX 활성도는 함초 20% 첨가군에서 유의적으로 활성도가 감소하였다. 당뇨시 함초 20% 첨가군에서 당뇨대조군 보다 SOD 활성이 증가하는 경향이 있고, CAT 활성은 감소하여 함초분말을 식이 첨가시 항산화활성에 영향을 주는 함초가 함유하는 기능성물질의 항산화작용으로 추정된다.

SOD 활성도는 혈액 알부민 농도가 높을수록 높았고, 헤모글로빈 농도가 높을 수록 SOD와 CAT 활성이 높았다.[61] 전보[23,24]에 의하면 당뇨시 간장단백질의 수준은 당뇨대조군보다 함초 10%와 20% 첨가시 수준이 높았고, 혈장의 단백질 수준은 함초 10% 첨가군에서 높았는데 SOD 활성에는 큰 차이가 검색되지 않았다. 헤모글로빈 농도의 30% 정도 수준에 해당되는 헤마토크릿치는 당뇨시 함초 10% 첨가군에서 당뇨대조군보다 유의적으로 높은 수준으로 SOD 활성은 높은 정도였으나 당뇨대조군에 비해 뚜렷하게 유의성이 검색되지 않았다.

호기적대사를 하는 생물체는 산소 유리기의 일종인 superoxide를 제거하는 효소인 SOD를 갖고 있어 산소 유리기 반응에 의한 손상에 대하여 어느 정도의 방어력을 유지하고 있으며,[62] 비정상적으로 증가하는 산소 유리기의 제거를 위해 그 활성도가 높아지는 것으로 알려져 있다.[6] 즉, 반응성 산소 radical을 제거하는 효소인 SOD는 superoxide radical을 환원시켜 H_2O_2로 바꾸며 생성된 H_2O_2와 유기과산화물은 GPX와 CAT의 작용에 의해 H_2O로 배설됨으로써 산소독으로 부터 생체를 보호하는 효소이다.[63] 이처럼, 부산물로 생성되는 superoxide radical은 SOD 반응에 의해 제거됨으로서 세포를 보호한다.[64] Kim 등[41]의 실험에서는 STZ만을 투여한 당뇨대조군에서 정상군에 비하여 SOD 활성도가 증가되었다고 보고하였는데 본 실험에서는 간장의 SOD 활성은 정상시 함초 20% 첨가군에서 정상대조군보다 낮은 수준으로 전 실험군에서 가장 낮은 수준이었으나 유의적인 차이는 아니었다. 당뇨시에도 함초 10% 첨가시 SOD 활성이 당뇨대조군 보다 다소 증가하는 수준이였으나 (Fig. 5). 정상과 당뇨시 SOD의 활성도에는 유의적인 차이를 보이지 않았고, 모든 실험군들 간에도 차이가 없어서 SOD 활성 증가 또한 뚜렷하지는 않았다. 당뇨시 함초분말의 식이첨가는 현저한 활성산소 생성 증가에 대하여 뚜렷한 제거작용보다는 산소 유리기 반응에 의한 손상에 대하여 방어작용은 있을 것으로 생각된다. 이는 당뇨유발로 인해 증가된 활성산소를 소거하려는 생리적 적응현상으로 보여진다. 당뇨병의 경우 고혈당증에 의한 단백당화가 항진됨으로써 그 반응으로부터 활성산소 생성이 현저하게 증가되는데[65]이 활성산소의 제거를 위하여 SOD가 활성화된 것으로 사료된다.

지질과산화가 촉진되는 상태에서는 방어작용으로 적혈구 내의 SOD나 CAT의 활성이 증가하는데[61,66] Chang 등[67]의 연구에서는 제 2형 당뇨 환자의 CAT 활성이 낮은 결과를 보였고, Kang과 Kim[68]의 연구에서도 적혈구의 CAT 활성이 항산화 비타민제의 섭취시 유의적으로 감소하였는데, 이는 항산화제 섭취시 과산화물의 분해 요구가 낮아져 효소의 활성이 감소하고 지질과산화가 촉진된 상태에서는 방어작용으로 적혈구 내의 SOD나 CAT 활성이 증가하기 때문이다. 본 연구에서는 당뇨시 함초 첨가군에서 당뇨대조군에 비해서 활성도가 낮아져 감소하는 경향을 보였으나 유의성은 검토되지 않았다. 당뇨시 함초분말을 식이에 첨가하였을 때 유리기 생성계는 약화시키고 제거계인 항산화효소의 활성은 산화적 손상에 대해 방어력을 유도할 수 있고 조직의 산화적 손상을 감소시킬 수 있을 것으로 추정할 수 있으나 뚜렷하게 유의적인 활성도 차이를 보이지 않았

다. 이와같이 당뇨 상태에서의 항산화 방어계에 대한 연구 결과들은 당뇨의 형태나 조직, 다양한 항산화식품 보충정도, 혹은 실험기간 등의 실험조건에 따라서 다른 결과를 나타내므로 이에 대한 많은 연구가 필요하다고 사료된다.

요약 및 결론

본 연구에서는 함초의 항당뇨효과를 검색하기 위한 연구로 실험군은 정상실험군과 당뇨실험군으로 나누어 정상대조군 (Normal)과 당뇨대조군 (STZ-control)에 각각 함초분말 (Glasswort: GW)을 10%와 20%를 식이에 첨가하여 6개군으로 실험하였다. 실험동물은 체중 220 g 내외의 Sprague-Dawley계 수컷으로 STZ으로 당뇨를 유발한 흰쥐에게 4주간 각각의 해당식이를 공급하여 간장의 cytosol에서 항산화 방어체계에 미치는 항산화효소 활성도를 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 간장의 cytosol에서 생체내 유리기 생성계의 하나인 XOD 활성도가 정상과 당뇨시 각각의 실험대조군에 비해 함초 첨가시 유의적으로 낮은 활성도를 보였다.

2) 생체내 유리기를 제거해 주는 효소적 방어계인 GST 활성도는 정상시에서 함초첨가 비율이 높을수록 증가하였고, 특히 함초 20% 첨가군에서 유의적으로 높은 수준이었다. 당뇨시에는 함초 20% 첨가군에서 유의적으로 낮은 수준이었다.

3) GPX 활성은 정상시에는 함초 첨가 비율이 높을수록 활성도가 높았으며 당뇨시에는 함초 20% 첨가시 유의적으로 낮은 수준이었고 정상대조군과 당뇨대조군 사이에는 유의적인 차이를 보이지 않았다.

4) 당뇨쥐에서 glutathione 의존성 효소계인 GR 활성은 각각의 실험대조군에 비해 다소 증가하는 경향이 보였으며, 정상시에는 함초 20% 첨가군에서, 당뇨시에는 함초 10% 첨가군에서 활성 수준이 유의적으로 높게 나타났다.

5) SOD 활성도는 정상대조군에 비해 함초 20% 첨가시 낮은 수준이었으나 유의적인 차이는 아니었고 당뇨시에도 실험군 간에 유의적인 차이는 보이지 않았다.

6) CAT 활성도는 정상시에는 정상대조군에 비해 함초분말 첨가시 유의성이 검증되지 않았고, 당뇨시에는 당뇨대조군에 비해 함초 첨가시 활성도가 낮아졌으나 유의적인 차이는 보이지 않았다.

이상의 연구결과 STZ 유발 당뇨 흰쥐에게 함초 분말을 식이로 하였을 때, CAT의 활성도는 증가를 억제하는 수준이었고, XOD 활성은 낮아졌고, GST의 활성도를 효과적으로 낮추었으므로, 함초 분말 식이 첨가는 당뇨로 인한 산화적 스트레스를 줄이고 항산화방어체계 개선에 효과가 있다는 결론을 얻었다. 따라서 함초는 식사요법시 당뇨로 인한 스트레스 감소와 당뇨 예방 및 치료를 위해서 효과적인 기능성식품으로 생각된다.

Literature cited

1) Zimmet P, Alberti KG, Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature* 2001; 414(6865): 782-787
2) Korea statistical information system, Korea statistical year book, Seoul; 2005
3) Park SW, Kim DJ, Min KW, Baik SH, Choi KM, Park JB, etc. Current status of diabetes management in Korea using national health insurance database. *J Korean Diabetes Assoc* 2007; 31(4): 362-367
4) Baynes JW. Role of oxidative stress in the development of complication in diabetes. *Diabetes* 1991; 40(4): 405-421
5) Hammers HD. Aminoguanidine treatment inhibits the development of edible and medicinal diabetic retinopathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88(63): 11555-11558
6) Maklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 1974; 47(3): 467-474
7) Videla LA, Fernandez V. Biochemical aspects of cellular oxidative stress. *Arch Biol Med Exp* 1988; 21(1): 85-92
8) Kwon EH, Jang HS, Kim SW, Choi SW, Rhee SJ, Cho SH. Effects of mulberry juice and cake powders on blood glucose and lipid lowering and erythrocytic antioxidative enzyme activities in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Diabetes Assoc* 2007; 40(3): 199-210
9) El SN, Karakaya S. Radical scavenging and iron-chelating activities of some greens used as traditional dishes in Mediterranean diet. *Int J Food Sci Nutr* 2004; 55(1): 67-74
10) Shay G. Saline agriculture: salt-tolerant plants for developing countries. Washington: National academy press; 1990. p.143
11) Jo YC, Ahn JH, Chon SM, Lee KS, Bae TJ, Kang SK. Studies of pharmacological effects of glasswort (*Salicornia herbacea* L.). *Korean J Medicinal Crop Sci* 2002; 10(2): 93-99
12) Min JG, Lee DS, Kim TJ, Park JH. Chemical composition of *Salicornia herbacea* L. *J Food Sci Nutr* 2002; 7(1): 105-107
13) Lee JT, An BJ. Detection of physical activity of *salicornia herbacea* L. *Kor J Herbology* 2002; 17(2): 61-69
14) Kim KR, Choi JH, Lee SK, Woo MH, Choi SW. Effect of enzymatic hydrolysate of Hamcho (*Salosornia herbacea* L.) on antioxidative defense system in rats fed high cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2006; 35(10): 1356-1362
15) Han SK, Kim SM. Antioxidative effect of *salicornia herbacea* L. grown in closed sea beach. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2003; 32(2): 207-210
16) Jang MS, Park JE. Optimization of ingredient mixing ratio for preparation of sulgidduk with saltwort (*Salicornia herbacea* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2006; 35(5): 641-648
17) Song TC, Lee CH, Kim YE, Kim IH, Han DS, Yang DH. The functionality of the saltwort (*Salicornia herbacea* L.) extract fer-

mented juice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2007; 36(4): 395-399
18) Kim SK, Kim YC. The effect of repeated betaine treatment on hepatotoxicity and cytochrome P-450 dependent drug metabolism enzyme system. *Yakhak Hoeji* 1996; 40(4): 449-455
19) Lee CH, Kim IH, Kim YE, Oh SW, Lee HJ. Determination of betaine from *Salicornia herbacea* L.. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2004; 33(9): 1584-1587
20) Im JS, Lee SK, Chang IY, Ha HC, Lim Y, Kim HY, Park KH, Yoon SP. Activation of macrophage by polysaccharide isolated from *salicornia herbacea* L.. *Korean J Phys Anthropol* 2006; 19(2): 117-124
21) Shin KS, Boo HO, Jean MW. Chemical components of native plant, *Salicorinia herbacea* L.. *Korean J Plant Res* 2002; 15(3): 216-220
22) Kwon YJ, Rhee SJ, Chu JW, Choi SW. Comparison of radical scavenging activity of extracts of mellberry juice and cake prepared from mulberry (morus spp.) fruit. *Korean J Nutr* 2005; 10(2): 111-117
23) Kim MW. Effects of *salicornia herbacea* L. supplementation on lipid peroxidation and mineral levels in streptosotocin-induced diabetic rats. *Korean J Nutr* 2007; 40(5): 403-412
24) Kim MW. Effects of *salicornia herbacea* L. supplementation on blood glucose and lipid metabolites in streptosotocin-induced diabetic rats. *Korean J Nutr* 2007; 40(1): 5-13
25) Reeves PG. Component of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. *J Nutr* 1997 ; 127(5 Suppl): 838S-841S
26) Choi JK. A edible Korean mdicinal herbs. *J Korean Soc Plants People & Environ* 2002; 5(1): 7-19
27) Junod A, Lambert AE, Stauffacher W, Renold AE. Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. *J Clin Invest* 1969; 48(11): 2129-2139
28) Junod A, Lambert AE, Orci L, Pictet R, Gonet AE, Renold AE. Studies of the diabetogenic action of streptozotocin. *Proc Soc Exp Biol Med* 1967; 126(1): 201-205
29) Samson M, Fehlmann M, Dolais-Kitabgi J, Freychet P. Amino acid transport in isolated hepatocytes from streptozotocin diabetic rats. *Diabetes* 1980; 29(2): 996-1000
30) Wilson GL. Mechanism of streptozotocin-induced and alloxan-induced damage in rat β-cells. *Diabetologia* 1984; 27(6): 587-591
31) Bergmeyer HU, Gawehn K, Grassl M. In methods of enzymatic analysis (Bergmeter. HU Ed.). 2nd ed. Vol 1. Academic Press Inc. New York; 1974
32) Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione-S-transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 1974; 249(22): 7130-7139
33) Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Comm* 1976; 71(4): 952-958
34) Mavis RD, Stellwagen E. Purification and subunit structure of glutathione reductase from baker's yeast. *J Biological Chemistry* 1968; 243(3): 809-814
35) Aebi H. Catalase in vitro. *Meth Enzymol* 1984; 105: 121-126
36) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AJ, Randall RR. Protein measurement with the foline phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193(1): 265-273
37) Duke EJ, Joyce P, Ryan JP. Characterization of alternative molecular forms of xanthine oxidase in the mouse. *J Biochem* 1973; 131(2): 187-190
38) Park GY, Lee SJ, Kim JG. Effects of green tea catechin on cytochrome p450, xanthine oxidase activities in liver and liver damage in streptozotocin induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 1997; 26(5): 901-907
39) Park YR, Rhee SJ, Lin S, Joo GJ. Effects of dietary vitamin E on the microsomal mixed function oxidase system of liver and lung in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 1996; 25(6): 969-975
40) Rhee SJ, Choe WK, Cha BK, Yang JA, Kim KY. Effect of vitamin E and selenium on the antioxidative defense system in stretozocin-induced diabetic rats. *Korean J Nutr* 1996; 29(1): 22-31
41) Kim MJ, Cho SY, Lee MK, Shin KH. Effects of *Aralia elata* water extracts on activities of hepatic oxygen free radical generating and scavenging enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2004; 33(4): 653-658
42) Bang MA, Kim HA, Cho YJ. Hypoglycemic and antioxidant effect of dietary hamcho powder in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2002; 31(5): 840-846
43) Borrpart GJ, Prevot DS, Bascands JL. Rapid automated analysis of glutathione reductase, peroxidase and S-transferase activity: application to cisplatin-induced toxicity. *Clin Biochem* 1990; 23(6): 501-504
44) Fujita H, Haseyama T, Kayo T, Nosaki J, Wada Y, Ito S, Koizumi A. Increased expression of glutathione s-transferase in renal proximal tubules in the early stage of diabetes: a study of type 2 diabetes in the akita mouse model. *Exp Nephrol* 2001; 9(6): 380-386
45) Kedziora-Kornatowska K, Luciak M. Effect of arninoguandine on lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in the diabetics. *Biochem Mol Biol Int* 1889; 46(3): 557-583
46) Yoo SK, Rhee SJ. Effects of YK-209 mulberry leaves on antioxidative defense system of liver in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2002; 31(6): 1065-1070
47) Lee YR, Kang MY, Nam SH. Effect of giant embryonic rice supplementation on the lipid peroxide levels and antioxidative enzyme activities in the plasma and liver of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 2005; 48(4): 358-363
48) Kwag OC, Yang JA, Rhee SJ. Effects of vitamin E on the antioxidative defense system of kidney in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 1997; 28(3): 651-662
49) Lim SJ. Effect of fractions of *benincasa hispida* on antioxidative status in streptozotocin induced diabetic rats. *Korea J Nutr* 2007; 40(4): 295-302
50) Kakkar R, Kalra J, Mantha SV, Prasod K. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rats. *Mol Cell Biochem* 1995; 151(2): 113-119
51) Kinalski M, Seledziewski A, Telejko B, Zarzycki W, Kinalska I. Lipid peroxidation and scavenging enzyme activity in streptozotocin-induced diabetes. *Acta Diabetol* 2000; 37(4): 179-183
52) Ramanathan M, Jaiswal AK, Bhattacharya SK. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in the brain of streptozotocin induced diabetic rat. *Indian J Exp Biol* 1999;

37(2): 182-183
53) Wobaieb SA, Godin DV. Alterations in tissue antioxidant systems in the spontaneously diabetic (BB Wistar) rat. *Can J Physiol Pharmacol* 1987; 65(11): 2191-2195
54) Hermenegildo C, Raya A, Roma J, Romero FJ. Decrease glutathione peroxidase activity in sciatic nerve of alloxan-induced diabetic mice and its correlation with blood glucose levels. *Neurochem Res* 1993; 18(8): 893-896
55) Cho YJ, Kim HA, Bang MA, Kim EH. Effects of dietary mushroom polysaccharides on blood glucose levels and energy metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Nutr* 2002; 35(2): 183-191
56) Lee YS, Lee HS, Shin KH, Kim BK, Lee SH. Constituents of the halophyte *salicornia herbacea* L.. *Arch Pham Res* 2004; 27(10): 1034-1036
57) Jang YS, Ahn HS, Kim HR. Effects of vitamin E supplementation on the lipid peroxides and activities of antioxidative enzymes in the pancreas of diabetic KK mice. *Korean J Nutr* 1998; 31(2): 153-158
58) Atalay M, Laaksonen DE, Niskanen L, Uusiyupa M, Hanninen O, Sen CK. Altered antioxidant enzyme defence in insulin-dependent diabetic men with increased resting and exercise induced oxidative stress. *Acta Phsiologica Scandinavica* 1997; 161(2): 195-201
59) Sungpil Ryu, Yoon JT. Effects of green-tea polyphenol ingestion before exercise on antioxidative defense system in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Exercise Nutr* 2002; 6(3): 271-276
60) Song YO, Chyun JH. Effect of β-carotene supplementation on lipid peroxides and antioxidative enzyme activities in hyperlipidemic rats. *J Korean Nutr* 2004; 39(9): 771-779
61) Lee HS, Kim MH, Lee DH, Sung CJ. Relationship between some blood parameters and antioxidant enzyme activity in Korean postmenopausal women. *J Korean Nutr* 2006; 39(5): 476-484.
62) Chow CK. Nutritional influence on cellular antioxidant defense system. *J Biol Chem* 1969; 244(15): 6049-6055
63) Fridovich I. The biology of oxygen radicals, the superoxide radical is an agent of oxygen toxicity: superoxide dismutase provide an important defense. *Science* 1978; 201(4359): 875-882
64) Halliwell B, Gutteridge MC. Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press. Oxford; 1985. p.166-170
65) Wolff SP, Jiang ZY, Hung JV. Protein glycation and oxidative stress in diabetes mellitus and aging. *Free Radical Biol Med* 1991; 10(5): 339-352
66) Tapan KB, Norman JT, Manohar LG. Antioxidants in human health and disease. CAB International, London, UK; 1999
67) Chang JH, Kim MS, Kim JY, Choi WH, Lee SS. Effect of mushroom supplementation on blood glucose concentration, lipid profile, and antioxidant enzyme activities in patient with type 2 diabetes mellitus. *Korean J Nutr* 2007; 40(4): 327-333
68) Kang NE, Kim WK. Effects of antioxidant vitamins supplementation on antioxidative status and plasma lipid profiles in Korean NIDDM patients. *Korean J Nutr* 1999; 32(7): 775-780