

## 비타민나무잎 식이보충과 당뇨흰쥐 간장의 항산화효소 수준에 미치는 영향

김 명 화

덕성여자대학교 식품영양학과

### Effect of Sea Buckthorn Leaves on Hepatic Enzyme Levels in Streptozotocin Induced Diabetic Rats

Myung-Wha Kim

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

#### Abstract

This study was designed to examine the effect of sea buckthorn (SBT) leaves on hepatic antioxidative enzyme levels in diabetic rats. Diabetes mellitus was induced in male Sprague-Dawley rats by an injection of streptozotocin (STZ). Sprague-Dawley rats were then fed for four weeks, with experimental groups receiving a modified diet containing 10% or 20% powder derived from SBT leaves. The experimental groups were divided into six groups: a normal (N)-control group, N-SBT 10% and N-SBT 20% treated groups, STZ-control, STZ-SBT 10% and STZ-SBT 20% treated groups. Malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX), glutathione reductase (GR), glutathione-S-transferase (GST) and xanthine oxidase (XOD) levels were measured in liver cytosol. The results showed that the level of SOD was significantly increased in the N-SBT 20% group but not statistically different in the diabetic group. The level of CAT was significantly higher in the N-SBT 20% group compared to the control group. The level of GPX was significantly increased in the N-SBT 20% group and the diabetic supplementary group. In contrast, the level of XOD was significantly decreased in the diabetic group supplemented with SBT leaves.

**Key words:** sea buckthorn, STZ diabetic rats, hepatic enzyme levels

#### 서 론

당뇨는 췌장 베타세포에서 분비되는 인슐린의 분비장애와 말초조직에 대한 인슐린 저항으로 야기되는 고혈당이 특징적인 대사성질환이다(1,2). 전 세계적으로 당뇨병자의 유병률이 늘고 있으며 현재 우리나라 인구의 약 8%가 당뇨병자로 추정된다(3). 요즘의 현대인은 식생활과 생활습관의 변화와 더불어 현대의학의 발전으로 평균수명이 길어지면서 노화로 인한 질병 및 합병증은 사회적으로 질병치료와 건강 체계에 미래 문제로 제시되고 있다. 2026년에는 초고령사회로 진입하게 되며 우리나라 65세 이상 노인들 중 최소 20% 이상이 당뇨병을 가질 것으로 예측된다(4).

혈당조절은 당뇨관리에 중요한 조절 인자로 고혈당은 산화적 스트레스 등을 증가시킨다. 당뇨 시 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)의 부적절한 체내 작용으로 유도된 지방산의 산화는 인체에 유해한 결과를 가져다주며 질병 유발 및 합병증으로 건강에 위협요인이 된다(5). 활성산소종은 호기성대사 시의 결과로서 정상적인 상태에서 항상 생성되며 super oxide anion( $O_2^-$ ), hydroxyl radical( $\cdot OH$ ), hy-

drogen peroxide( $H_2O_2$ ), hydrogen peroxide radical( $\cdot OOH$ ) 등이 있는데 세포는 활성산소종에 대항하여 산화적 스트레스를 입게 된다(6).

당뇨병 예방을 위해서는 식품 및 건강기능식품에 대한 과학적인 지식정보제공이 필요하다. 당뇨병은 식이성분이 혈당조절에 매우 중요한 역할을 하므로 산화적 스트레스의 억제나 지질대사 개선 등에 중요한 항산화성을 지니는 자연식품으로 지속적이고 경제적인 혈당상승을 억제할 수 있는 항당뇨 치료제의 개발이 중요하다. 혈당조절과 합병증 발생을 조절하고 합병증의 진행속도를 늦추기 위해 항산화에 효과적인 식품과 생리활성이 높은 다양한 천연식품은 21세기 수명증가와 더불어 질병을 예방하고 관리하는데 필요하다고 생각된다.

본 연구에 이용한 비타민나무(sea buckthorn, SBT)는 아시아 유럽등지에서 많이 이용되는 보리수과(*Hippophae rhamnoides* L.)의 식물이다. SBT는 각종 질환에 대한 예방 및 치료에 효과적인 비타민, 아미노산 및 무기질 등의 높은 영양소를 포함하여 190종 이상의 다양한 성분을 가지고 있어서 항당뇨, 항산화활성 및 항균효과 등에 효과적이고 생리

활성이 높은 식물로 알려져 있다(7). SBT는 정상적인 세포 대사과정에서 생성되는 유리기로부터 보호하기 위한 항산화 방어체계를 갖추고 있는 항산화제로 SBT 잎은 비타민 C, 카로티노이드, 플라보노이드 및 페놀화합물을 다량 함유하여 항산화능에 효과적이다. SBT는 플라보노이드가 풍부한 식물로 페놀성분 중 카테킨과 퀘세틴 풍부하고 한국산 비타민나무잎에는 페놀성분이 몽골산보다 5배 많으며, 녹차 잎에서와 같은 항산화 성분인 카테킨이 높게 함유, 항고혈압 성분인 퀘르세틴, 항고혈압성분인 루틴이 비타민나무잎에 함유되어 있다(8). 최근에 SBT는 강력한 항산화 활성과 면역조절 능력이 우수하여 주목받는 신소재로 활용하기 위해 연구가 이루어지고 있으나 당뇨에 관한 연구는 미흡한 실정이다.

이에 비타민나무잎 분말을 식이에 첨가하여 전보에서는 streptozotocin(STZ)으로 당뇨유발된 흰쥐에서 혈당수준(9)에 관해 실험하였고, 본 연구에서는 간장의 cytosol에서 항산화효소 수준을 분석하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에서 시료로 사용한 비타민나무(sea buckthorn, SBT)잎은 우리나라에서 처음으로 종자를 받아시켜 재배하여 2009년에 수확된 것으로 강원도 화천군 간동면에 있는 비타민나무농장(사업자등록번호 221-90-67706)으로부터 자연 건조시킨 것을 구입하여 분쇄시켰고 비타민나무잎은 냉장 보관하여 실험식이에 각각 10%와 20%가 되도록 첨가하여 분말시료로 사용하였다.

### 실험동물 사육 및 당뇨유발

실험동물은 샘타코(TacN(SD)BR, Sam Biokorea, Osan-si, Korea)로부터 공급받은 7주령인 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 환경에 적응시키기 위해 고형사료(Feedlab, Gurisi, Korea)로 1주일간 예비사육 하였다. 본 실험에서는 체중 220 g 내외의 흰쥐를 stainless steel cage에 한 마리씩 넣고 온도  $22 \pm 3^\circ\text{C}$ 에서 난피법에 의해 6개 군으로 나누어 실험동물로 사용하였다. 실험군은 정상실험군 3개 군과 당뇨실험군 3개 군으로 나누어 정상실험군에는 비타민나무잎을 첨가하지 않은 정상대조군(Normal, N)과 정상대조군에 비타민나무잎을 각각 10%(Normal-SBT 10%)와 20%(Normal-SBT 20%)를 첨가하였고, 당뇨실험군에는 비타민나무잎을 첨가하지 않은 당뇨대조군(STZ-control)과 당뇨대조군에 비타민나무잎을 각각 10%(STZ-SBT 10%)와 20%(STZ-SBT 20%)를 첨가하여 실험하였다. 정상실험군과 당뇨실험군은 AIN-93 조제식이로(10) 공급하였고 비타민나무잎 첨가실험군의 식이는 AIN-93 조제식이를 변형하여 실험동물에게 분말화한 비타민나무잎을 각각 10%와 20%씩 첨가 정도를 달리하여 각각의 해당식으로 4주간 공급하였고 실험식이와

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

Components	Control diet <sup>1)</sup>	Experimental diet <sup>2)</sup>	
		10%	20%
Corn starch	465.692	389.932	314.172
Casein	140.0	127.02	114.04
Dextrinized corn starch	155.0	155.0	155.0
Sucrose	100.0	100.0	100.0
Soybean oil	40.0	37.21	35.02
Fiber	50.0	41.23	32.46
Mineral mix <sup>3)</sup>	35.0	35.0	35.0
Vitamin mix <sup>4)</sup>	10.0	10.0	10.0
L-Cystine	1.8	1.8	1.8
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5
<i>Tert</i> -butylhydroquinone	0.008	0.008	0.008
Sea buckthorn powder	—	100.0	200.0

<sup>1)</sup>Control diet: AIN-93 diet.

<sup>2)</sup>Experimental diet: control diet + sea buckthorn leaves powder.

<sup>3)</sup>AIN-93 mineral mixture.

<sup>4)</sup>AIN-93 vitamin mixture.

물은 자유롭게 섭취하도록 하였다(Table 1).

당뇨유발은 실험동물을 16시간 절식시킨 후 체중의 베타 세포에만 특이적으로 작용하여 다른 기관에 영향을 미치지 않는다고 알려진(11,12) streptozotocin(STZ, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 pH 4.5의 0.01 M citrate buffer에 45 mg/kg BW 농도로 녹여 꼬리정맥에 1회 주사하였다. 당뇨병의 유발 확인은 24시간 후 안구정맥총에서 채혈하여 비공복 시 혈장 중의 포도당 농도가 300 mg/dL 이상인 것을 당뇨가 유발된 것으로 확인하였다. 정상실험군은 0.01 M citrate buffer 용액을 당뇨유발군과 같은 방법으로 주사하였다.

### 생화학적 분석

실험 4주 후 공복 시키지 않고 마지막 날에 실험동물을 ether로 마취시켜서 단두로 희생시킨 후 채혈 후에는 즉시 개복하여 간장을 적출하고 장기의 무게를 측정 후  $-70^\circ\text{C}$ 에 냉동 보관하여 생화학적 분석을 하여 효소 수준을 측정하였다.

간장 중에 함유되어 있는 지질과산화물(malondialdehyde, MDA)의 수준은 Mihara와 Uchiyama(13)의 방법을 이용하여 분석하였다. 간장에서 MDA 생성량을 계산하고 Lowry 등(14)의 방법에 단백 수준을 정량한 후 이를 nmol/mg protein으로 나타내었다. 간 조직 중의 항산화효소원의 분리는 간 조직에 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  $8,000 \times g$ 에서 30분간 원심분리(model RC 5C, DuPont sorvall instrument, Wilmington, DE, USA)한 후 그 상등액을 다시  $10,000 \times g$ 에서 30분간 원심분리 하였다. 그 다음은 원심분리 한 상등액을 취하여  $105,000 \times g$ 에서 90분간 초원심분리(L-80, Beckman Co. Ltd., Setauket-East Setauket, NY, USA)시켜 cytosol 분획을 얻었다. 모든 실험조건은  $4^\circ\text{C}$ 를 유지하면서 행하였고 cytosol

은 사용 전까지  $-70^{\circ}\text{C}$ 에 보관하였다. Superoxide dismutase (SOD) 수준은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund와 Marklund(15)의 방법을 사용하여 5분 동안 pyrogallol의 auto oxidation 억제정도를 325 nm에서 흡광도를 측정하였다. Catalase(CAT)의 수준은 Aebi의 방법(16)에 따라 67 mM sodium phosphate buffer(pH 7.0) 1.0 mL에 기질인 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ 를 2  $\mu\text{L}$ 를 넣어  $25^{\circ}\text{C}$ , 290 nm에서 5분간 흡광도를 측정하였다.  $\text{H}_2\text{O}_2$ 의 흡광도 변화와  $\text{H}_2\text{O}_2$ 의 몰흡광계수로  $\text{H}_2\text{O}_2$ 의 농도를 구하여 효소수준을 계산하였다. Glutathione peroxidase(GPX)의 수준은 Lawrence와 Burk(17)의 방법에 따라 cumene hydroperoxide와  $\text{H}_2\text{O}_2$ 를 기질로 하여 각각 시행하였다. Glutathione이 cumene hydroperoxide 혹은  $\text{H}_2\text{O}_2$ 와 반응하여 산화형 glutathione(GSSG)이 형성되고 GSSG가 NADPH를 산화시키면서 glutathione로 환원되므로 340 nm에서 NADPH 환원량을 측정하여 계산하였다. 즉 0.5 M potassium phosphate buffer(pH 7.0) 중에 효소액을 가하여  $25^{\circ}\text{C}$ , 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. Glutathione reductase(GR)의 수준은 NADPH를 이용하여 glutathione을 환원시킬 때 NADPH가  $\text{NADP}^+$ 로 산화되는 정도를 340 nm에서 NADPH의 분자흡광도 계수  $6.22 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 을 이용하여 측정하였다(18). Glutathione-S-transferase(GST)의 수준은 Habig 등(19)의 방법에 준해 0.1 M phosphate 완충액(pH 6.5) 일정량에 cytosol과 1-chloro-2,4-dinitrobenzene(CDNB) 및 glutathione을 혼합하여  $25^{\circ}\text{C}$ 에서 반응시킨 다음 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. Xanthine oxidase(XOD) 수준은 xanthine을 기질로 하여 생성된 uric acid를 측정하는 Bergmeyer 등(20)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  $25^{\circ}\text{C}$ , 290 nm에서 흡광도 증가속도를 측정하였다. 간장의 cytosol에서 단백질 수준은 Lowry 등(14)의 방법으로 측정하였다.

### 통계처리

본 연구의 통계학적 분석은 SPSS program(ver. 18, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 실시하였고 분석수치는 평균과 표준편차(standard deviation, SD)로 표시하였다. 실험군 간의 차이는 one way ANOVA를 실행하여 검증하였고  $p < 0.05$  수준에서 유의성이 관찰된 경우 각 실험군 간의 평균값의 차이에 대한 유의성은 Duncan's multiple range test를 이용하여  $p < 0.05$  수준에서 평가하였다.

## 결과 및 고찰

### 간장의 지질과산화물 수준

간장의 MDA 수준은 정상실험군에서는 정상대조군( $0.70 \pm 0.35$ )에 비해 비타민나무잎 10% 첨가군( $0.40 \pm 0.05$ )에서

**Table 2. Effect of sea buckthorn leaves on liver malondialdehyde (MDA) level in normal and diabetic rats<sup>1,2)</sup>**

Group <sup>3)</sup>	MDA (nmol/mg protein)
Normal	$0.73 \pm 0.37^c$
N-SBT 10%	$0.40 \pm 0.03^a$
N-SBT 20%	$0.64 \pm 0.20^{bc}$
STZ-control	$0.55 \pm 0.15^{abc}$
STZ-SBT 10%	$0.45 \pm 0.05^{ab}$
STZ-SBT 20%	$0.58 \pm 0.07^{abc}$

<sup>1)</sup>Values are mean  $\pm$  SD.

<sup>2)</sup>Values with different superscripts within the same column are significantly different at the  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

<sup>3)</sup>Normal, normal control (n=8); N-SBT 10%, normal-sea buckthorn 10% (n=9); N-SBT 20%, normal-sea buckthorn 20% (n=9); STZ-control, diabetic control (n=9); STZ-SBT 10%, diabetic-sea buckthorn 10% (n=9); STZ-SBT 20%, diabetic-sea buckthorn 20% (n=9).

유의적으로 낮은 수준이었다.

당뇨실험군에서도 당뇨대조군( $0.57 \pm 0.20$ )에 비해 비타민나무잎 10% 첨가군( $0.44 \pm 0.88$ )에서 낮은 수준이었으나 당뇨실험군 간에는 뚜렷한 유의적인 차이를 보이지 않았다(Table 2). 당뇨 시 지속적인 고혈당으로 지방의 과산화가 촉진되면 MDA 수준이 증가된다. MDA는 다불포화지방산의 산화 시 주요하게 작용하는 알데하이드로 과량의 유리기를 형성하여 항산화방어체계의 작용이 억제된다(21).

본 연구에서 간장의 MDA 수준은 정상 시에는 비타민나무잎 10% 첨가 시 유의적으로 낮아지는 수준이었으나 당뇨 시에는 비타민나무잎 10% 첨가 시 낮아졌으나 뚜렷하게 유의적인 차이는 보이지 않았다. Kim(22)의 연구에서도 당뇨 시 동과인의 섭취가 간장 MDA 수준에 영향을 미치지 않았다고 보고하였다.

### Superoxide dismutase(SOD) 수준

간장의 SOD 수준은 정상실험군에서는 정상대조군( $0.22 \pm 0.04$ )에 비해 비타민나무잎 20% 첨가군( $0.34 \pm 0.11$ )에서 유의적으로 높은 수준으로 모든 실험군에서 가장 높은 수준을 보였다(Table 3). 당뇨 시에는 당뇨대조군( $0.19 \pm 0.03$ )에 비해 비타민나무잎 10%( $0.23 \pm 0.10$ )와 20% 첨가군( $0.24 \pm 0.10$ )에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다.

본 연구에서는 당뇨 시 SOD의 수준은 비타민나무잎 첨가 시 수치상 증가하는 경향을 보였으나 당뇨실험군 간에는 유의적인 차이를 보이지 않았다. Maheshwari 등(23)의 연구에서는 SOD 수준이 높아지는 경향을 보였고 SOD 수준은 항산화영양 보충 시 SOD 수준이 유의적으로 증가하였는데(24), Kim 등(25)의 연구에 의하면 비타민나무잎 추출물은 SOD 유사 수준을 지니는데, 본 실험에서는 강한 산화력을 지니는 비타민나무잎이 고혈당에 의한 단백당화의 작용보다는 활성산소 생성 증가를 억제시키는 경향이 높은 것(26)으로 보인다.

Table 3. Effect of sea buckthorn leaves on hepatic enzyme levels in cytosol of normal and diabetic rats<sup>1,2)</sup>

Group <sup>3)</sup>	SOD <sup>4)</sup>	CAT	GPX	GR	GST	XOD
	(unit/min/mg protein)					
Normal	0.22±0.04 <sup>a</sup>	4.39±1.33 <sup>b</sup>	2.41±0.07 <sup>a</sup>	0.58±0.05 <sup>b</sup>	259.4±19.4 <sup>bc</sup>	78.2±5.3 <sup>c</sup>
N-SBT 10%	0.18±0.04 <sup>a</sup>	5.46±1.17 <sup>c</sup>	2.47±0.10 <sup>ab</sup>	0.53±0.06 <sup>a</sup>	256.0±10.2 <sup>b</sup>	77.8±3.2 <sup>c</sup>
N-SBT 20%	0.34±0.11 <sup>b</sup>	3.58±1.15 <sup>a</sup>	2.97±0.09 <sup>c</sup>	0.56±0.05 <sup>ab</sup>	195.6±18.8 <sup>a</sup>	84.2±5.0 <sup>d</sup>
STZ-control	0.19±0.03 <sup>a</sup>	5.04±1.05 <sup>bc</sup>	2.58±0.13 <sup>b</sup>	0.55±0.03 <sup>ab</sup>	315.5±28.8 <sup>d</sup>	76.9±4.2 <sup>c</sup>
STZ-SBT 10%	0.23±0.10 <sup>a</sup>	3.38±1.06 <sup>a</sup>	3.60±0.12 <sup>d</sup>	0.55±0.02 <sup>ab</sup>	272.4±27.0 <sup>c</sup>	67.2±1.8 <sup>b</sup>
STZ-SBT 20%	0.24±0.10 <sup>a</sup>	4.68±1.40 <sup>bc</sup>	3.57±0.55 <sup>d</sup>	0.56±0.04 <sup>ab</sup>	271.0±19.5 <sup>c</sup>	63.6±3.0 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Values are mean±SD.<sup>2)</sup>Values with different superscripts within the same column are significantly different at the p<0.05 by Duncan's multiple range test.<sup>3)</sup>Groups are the same as in Table 2.<sup>4)</sup>SOD, superoxide dismutase; CAT, catalase; GPX, glutathione peroxidase; GR, glutathione reductase; GST, glutathione-S-transferase; XOD, xanthine oxidase.

### Catalase(CAT) 수준

간장의 cytosol에서 CAT 수준은 정상대조군(4.39±1.33)과 당뇨대조군(5.04±1.05) 사이에는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 정상실험군에서는 정상대조군에 비해 비타민나무잎 10% 첨가군(5.46±1.17)에서 높은 수준으로 유의적인 차이를 보였고 비타민나무잎 20% 첨가군(3.58±1.15)에서는 유의적으로 낮은 수준이었다. 당뇨실험군에서는 당뇨대조군에 비해 비타민나무잎 10% 첨가군(3.38±1.06)에서 CAT 수준이 유의적으로 낮았다(Table 3).

CAT는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 H<sub>2</sub>O로 되는 것을 감소시켜 활성산소를 중화시키는데 촉매역할을 하며 면역체계의 손상을 막아주고 세포의 항상성을 유지하게 한다. 간장이 손상을 받았을 때는 CAT가 높게 나타났으며(27), 본 실험에서는 당뇨대조군보다 정상대조군에서 높은 수준이었으나 유의적인 차이는 아니었다. 본 실험에서 CAT 수준은 정상 시에는 비타민나무잎 10%로 첨가군에서 높게, 당뇨 시에는 비타민나무잎 10% 첨가군에서 낮은 수준으로 비타민나무잎 보충정도에 따른 수준의 차이를 보였다. SBT와 같은 항산화활성을 지니는 식물 섭취 시에는 과산화물의 분해요구가 낮아져 효소의 수준이 감소되고 CAT나 SOD 수준 증가는 지질과산화로 인한 방어작용으로 보인다.

### Glutathione peroxidase(GPX) 수준

간장의 cytosol에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 기질로 실험하여 GPX 수준을 측정한 결과(Table 3)를 보면 정상대조군(2.41±0.07)과 당뇨대조군(2.58±0.13) 사이에 유의적인 차이를 보였으며 정상실험군에서는 정상대조군에 비해 비타민나무잎 10% 첨가군(2.47±0.10)보다는 첨가비율이 높은 20% 첨가군(2.97±0.09)에서 유의적인 수준 증가를 보였다. 당뇨실험군에서는 당뇨대조군에 비해 비타민나무잎 10%(3.60±0.12)와 20% 첨가군(3.57±0.55) 모두에서 유의적으로 높은 수준을 보였다. GPX는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 환원시 촉매 역할을 하며 간장에서 제노바이오틱스(xenobiotics)의 독성을 해독하는데 관여한다(28). 본 실험에서도 정상 시에는 비타민나무잎 20% 첨가 시 수준이 유의적으로 증가하였고 당뇨 시에는 비타민나무잎 첨가 시 GPX와 SOD 수준이 높아지는 경향을 보였다.

본 실험에서는 당뇨 시 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 효소의 불활성화로 인한 산화적 스트레스에서 비타민나무잎 첨가로 인하여 대사이상을 완화(26)할 수 있을 것으로 사료된다.

### Glutathione reductase(GR) 수준

간장의 GR 수준은 정상대조군(0.58±0.05)과 당뇨대조군(0.55±0.03) 간에는 유의적인 차이는 아니었다. 정상실험군에서는 정상대조군에 비해 비타민나무잎 10% 첨가군(0.53±0.06)에서 낮은 수준이었으나 정상실험군 간에는 유의적인 수준 차이를 보이지 않았다. 당뇨실험군에서는 당뇨대조군에 비해 비타민나무잎 10%(0.55±0.02)와 20% 첨가군(0.56±0.04) 모두에서 유의적인 차이를 보이지 않았으며 비타민나무잎 첨가에 따른 뚜렷한 변화를 보이지 않았다(Table 3). GR은 산화환원(glutathione redox) 상태를 유지하는데 우선적으로 작용하는 효소로 GPX와의 산화환원 반응을 통해 직접적으로 과산화물을 소거하지 않으나 글루타티온(glutathione)의 재생산에 관여하고 세포내 glutathione pool을 유지하여 세포의 항상성 유지에 도움을 준다(29). GR의 수준은 Atalay 등(30)의 연구에 의하면 높게, Park 등(31)의 연구에서는 GR의 뚜렷한 수준 차이가 없었는데 본 연구에서도 뚜렷한 차이를 보이지 않았다.

### Glutathione-S-transferase(GST) 수준

간장의 cytosol에서 GST 수준을 측정한 결과 정상대조군(259.4±19.4)보다 당뇨대조군(315.5±28.8) 수준이 유의적으로 높았다. 정상실험군에서는 정상대조군에 비해 비타민나무잎 20% 첨가군(195.6±18.8)이 유의적으로 낮은 수준이었고 모든 실험군에서 GST 수준이 가장 낮은 결과를 보였다. 당뇨실험군에서는 당뇨대조군에 비해 비타민나무잎 10%(272.4±27.0)와 20% 첨가군(271.0±19.5) 모두에서 낮은 수준으로 유의적인 차이를 보였다(Table 3). GST는 산화에 의해 손상되는 세포의 지방 분자를 보호하는 역할로 중요하다. 본 연구에서는 당뇨 시 GST 수준이 낮은 결과로 산화적인 손상에 민감하게 반응하지 못한 것으로 보인다(32).

### Xanthine oxidase(XOD) 수준

간장의 cytosol에서 XOD의 수준을 측정한 결과 정상대조

군( $78.2 \pm 5.3$ )과 당뇨대조군( $76.9 \pm 4.2$ ) 사이에는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 정상실험군에서는 정상대조군에 비해 비타민나무잎 20% 첨가군( $84.2 \pm 5.0$ )에서 유의적으로 높은 수준 차이를 보였다. 당뇨실험군에서는 당뇨대조군에 비해 비타민나무잎 10%( $67.2 \pm 1.8$ )와 20% 첨가군( $63.6 \pm 3.0$ ) 모두에서 유의적으로 낮은 수준이었다(Table 3). STZ 당뇨 유발 시 간장에서 크산틴(xanthine)의 산화가 증가되어 XOD의 수준이 증가되면 슈퍼옥사이드 음이온과 과산화수소의 생성으로 당뇨 시 염증반응과 췌사 등의 원인이 되어 DNA에 변형이 일어난다(27). 당뇨 시에는 비타민나무잎 분말 첨가량에 따라 XOD 수준이 감소하였으므로 당뇨 시 대사이상으로 생기는 변화를 감소시킨 것으로 사료된다.

## 요 약

본 연구는 4주간 비타민나무잎을 식이에 보충하여 streptozotocin 당뇨흰쥐 간장의 cytosol에서 항산화효소 수준을 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 간장의 MDA 수준이 비타민나무잎 10% 첨가군에서는 정상실험군에서 유의적으로 낮은 수준을 보였고, 당뇨실험군에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다. SOD 수준은 정상실험군에서는 정상대조군에 비해 비타민나무잎 20% 첨가군에서 유의적으로 높은 수준이었고 당뇨실험군에서는 당뇨대조군보다 높아지는 경향이 있었으나 유의성은 검증되지 않았다. CAT 수준은 정상실험군에서는 비타민나무잎 첨가 시 정상대조군에 비해 유의성이 검증되었고 비타민나무잎 10% 첨가군에서 높은 수준이었다. 당뇨실험군에서는 당뇨대조군에 비해 비타민나무잎 10% 첨가군에서 유의적으로 낮은 수준으로 비타민나무잎 보충정도에 따른 수준 차이를 보였다. GPX 수준은 정상대조군과 당뇨대조군 사이에는 유의적인 차이를 보였다. 정상실험군에서는 비타민나무잎 첨가 비율이 높은 20% 첨가군에서 유의적으로 수준이 높았으며 당뇨실험군에서는 당뇨대조군에 비해 모든 비타민나무잎 분말 첨가군에서 유의적으로 높은 수준이었다. GR의 수준은 각각의 실험군 사이에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 생체내 유리기를 제거해주는 효소적 방어계인 GST 수준은 정상실험군에서는 비타민나무잎 10% 첨가군보다 20% 첨가군에서 유의적으로 낮은 수준이었고, 당뇨실험군에서는 당뇨대조군에 비해 모든 비타민나무잎 첨가군에서 유의적으로 낮은 수준이었다. 간장의 cytosol에서 생체 내 유리기 생성계의 하나인 XOD 수준은 정상실험군에서는 정상대조군에 비해 비타민나무잎 20% 첨가군에서 유의적으로 높은 수준이었고, 당뇨실험군에서는 당뇨대조군에 비해 비타민나무잎 첨가군 모두에서 유의적으로 낮은 수준을 보였다. 이상의 연구결과 비타민나무잎 분말을 식이로 첨가하였을 때 당뇨흰쥐 간장의 SOD 수준은 증가하는 경향을 보였으며, GPX 수준은 유의적으로 증가하였고 XOD 수준은 유의적으로 낮은 수준임을 확인할 수 있

었다.

## 감사의 글

2010년도 덕성여자대학교 교내 연구비 지원을 받아 수행된 연구 결과로 이에 감사드립니다.

## 문 헌

1. Reaven GM. 1988. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37: 1595-1607.
2. Abate N. 2000. Obesity and cardiovascular disease. Pathogenic role of the metabolic syndrome and therapeutic implications. *J Diabetes Complications* 14: 154-174.
3. Kim J, Ahn CW. 2011. Diabetes management system based on ubiquitous healthcare. *J Korean Diabetes* 12: 133-137.
4. Lim SC. 2012. Intervention strategies for older adults with diabetes. *J Korean Diabetes* 13: 52-55.
5. Jeong JH, Lee JW, Kim KS, Kim JS, Han SN, Yu CY, Lee JK, Kwon YS, Lim MJ. 2010. Antioxidant and antimicrobial activities of extracts from a medicinal plant, sea buckthorn. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 53: 33-38.
6. Baynes JW. 1991. Role of oxidative stress in the development of complication in diabetes. *Diabetes* 40: 405-421.
7. Lee SA, Jo HK, Cho SH, Ko SK. 2010. Comparison of the contents of phenolic compounds of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) cultivated in Korea and Mongolia. *Kor J Pharmacogn* 41: 308-312.
8. Pang X, Zhao J, Zhang W, Zhuang X, Wang J, Xu R, Xu Z, Qu W. 2008. Antihypertensive effect of total flavones extracted from seed residues of *Hippophae rhamnoides* L. in sucrose-fed rats. *J Ethnopharmacol* 117: 325-331.
9. Kim MW. 2010. Effect of sea buckthorn leave on plasma blood glucose and cholesterol level in streptozotocin induced diabetic rats. *J East Asian Soc Dietary Life* 20: 372-381.
10. Reeves PG. 1997. Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. *J Nutr* 127: 838S-841S.
11. Junod A, Lambert AE, Stauffacher W, Renold AE. 1969. Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. *J Clin Invest* 48: 2129-2139.
12. Lenzen S. 2008. The mechanism of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 51: 216-226.
13. Mihara M, Uchiyama M. 1978. Determination of malondialdehyde precursor in tissue by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 86: 271-278.
14. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
15. Maklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 467-474.
16. Aebi H. 1984. Catalase *in vitro*. *Methods Enzymol* 105: 121-126.
17. Lawrence RA, Burk RF. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Comm* 71: 952-958.
18. Mavis RD, Stellwagen E. 1968. Purification and subunit structure of glutathione reductase from baker's yeast. *J Biol Chem* 243: 809-814.
19. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. 1974. Glutathione-S-transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid

- formation. *J Biol Chem* 249: 7130-7139.
20. Bergmeyer HU, Gawehn K, Grassl M. 1974. *Methods of Enzymatic Analysis*. 2nd ed. Bergmeyer HU, ed. Academic Press Inc., New York, NY, USA. Vol 1, p 521-522.
  21. Suryakumar G, Gupta A. 2011. Medicinal and therapeutic potential of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *J Ethnopharmacol* 138: 268-278.
  22. Kim MW. 2004. Effects of *Benincasa hispida* seed supplementation on glycogen status and lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Nutr* 37: 865-871.
  23. Maheshwari DT, Yogendra Kumar MS, Verma SK, Singh VK, Singh SN. 2011. Antioxidant and hepatoprotective activities of phenolic rich fraction of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves. *Food Chem Toxicol* 49: 2422-2428.
  24. Kang NE, Kim WK. 1999. Effects of antioxidant vitamins supplementation on antioxidative status and plasma lipid profiles in Korean NIDDM patients. *Korean J Nutr* 32: 775-780.
  25. Kim KM, Park MH, Kim KH, Im SH, Park YW, Kim YN. 2009. Analysis of chemical composition and *in vitro* antioxidant properties of extracts from Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*). *J Appl Biol Chem* 52: 58-64.
  26. Ugochunkwu NH, Babady NE, Cobourne M, Gasset SR. 2003. The effect of *Gongronema latifolium* extracts on serum lipid profile and oxidative stress in hepatocytes of diabetic rats. *J Biosci* 28: 1-5.
  27. Saggu S, Kumar R. 2008. Effect of sea buckthorn leaf extracts on circulating energy fuel, lipid peroxidation and antioxidant parameters in rats during exposure to cold, hypoxia and restraint (C-H-R) stress and post stress recovery. *Phytomedicine* 15: 437-446.
  28. Ting HC, Hsu YW, Tsai CF, Lu FJ, Chou MC, Chen WK. 2011. The *in vitro* and *in vivo* antioxidant properties of sea-buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed oil. *Food Chem* 125: 652-659.
  29. Jang YS, Ahn HS, Kim HR. 1998. Effects of vitamin E supplementation on the lipid peroxides and activities of antioxidant enzymes in the pancreas of diabetic KK mice. *Korean J Nutr* 31: 153-158.
  30. Atalay M, Laaksonen DE, Niskanen L, Uusiyupa M, Hanninen O, Sen CK. 1997. Altered antioxidant enzyme defence in insulin-dependent diabetic men with increased resting and exercise-induced oxidative stress. *Acta Physiol Scand* 161: 195-201.
  31. Park SA, Choi MS, Jung UJ, Kim MJ, Kim DJ, Park HM, Park YB, Lee MK. 2006. *Eucommia ulmoides* olive leaf extract increases endogenous antioxidant activity in type 2 diabetic mice. *J Med Food* 9: 474-479.
  32. Rashidi A, Kirkwood TB, Shanley DP. 2009. Metabolic evolution suggests an explanation for the weakness of antioxidant defences in beta-cells. *Mech Ageing Dev* 130: 216-221.

(2012년 11월 12일 접수; 2013년 1월 9일 채택)