

## 녹차 건분이나 항산화 비타민 보충이 9개월령과 12개월령 흰쥐의 부위별 뇌조직에 미치는 항산화 효과\*

최 지 형 · 장 남 수<sup>§</sup>

이화여자대학교 가정과학대학 식품영양학과

### Effects of Green Tea Powder or Antioxidant Vitamin Supplementation on Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzyme Activities in 9 Month- and 12 Month-old Rat Brain Regions\*

Choe, Jee Hyung · Chang, Namsoo<sup>§</sup>

Department of Food and Nutrition, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

#### ABSTRACT

This study was performed to investigate the effects of green tea or antioxidant vitamins on lipid peroxidation and antioxidant enzyme system in various regions of rat brain aged 9 and 12 months. Male Sprague-Dawley rats were raised on the experimental diets: 3% green tea powder diet, antioxidant vitamins diet containing the  $\beta$ -carotene, vitamin C, vitamin E in the level same as in the 3% green tea powder diet, and control diet for 3 weeks. We measured concentrations of malondialdehyde (MDA) and the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase, and glutathione peroxide (GSH-Px) in various brain regions such as cortex, cerebellum, striatum, and hippocampus. Green tea powder or antioxidant vitamin supplementation decreased MDA concentrations in the striatum and the hippocampus, and increased SOD activities in the striatum, and GSH-Px activities in the cortex. There was no significant difference in the observed antioxidative effects between the green tea powder and antioxidant vitamin supplementation. A significant difference between 9 month- and 12 month-old rats was found in MDA concentrations and GSH-Px activities in all brain regions. These results suggest that green tea powder can have protective effects on various regions of rat brain and that these effects on lipid peroxidation and antioxidant enzymes are different by age. In inhibiting lipid peroxidation, there was no difference between green tea powder and antioxidant vitamins. (*Korean J Nutrition* 35(4): 431~438, 2002)

**KEY WORDS:** green tea, antioxidant vitamins, antioxidant enzymes, malondialdehyde, rat brain regions.

#### 서 론

생체 세포막의 주요 구성 성분인 다중 불포화 지방산이나 체내 각종 지질물은 활성 산소에 의해 malondialdehyde (MDA)와 같은 과산화지질물로 전환되어 세포에 대한 산화적 파괴를 유발하고 각종 기능장애를 야기함으로써 노화와 질병의 원인이 된다.<sup>1)</sup> 체내에는 생성된 산화물을 분해시키는 항산화 물질이나 항산화 효소 등이 존재하는데, 항산화 물질인 glutathione과 vitamin A, vitamin C, vitamin E 등과 catalase, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px)와 같은 효소가 이에

속한다.<sup>2)</sup>

신체 조직 중에서 뇌는 산화적 반응이 쉬운 다중불포화지방산 (PUFA)의 함량이 높고, 체내 산소의 20%를 소모하기 때문에 산화적 손상을 받기 쉬운 것으로 보고되고 있다.<sup>3)</sup> 산화 반응에 의하여 생성된 지질과산화물은 조직의 연령 증가와 함께 증가하여 세포의 기능이상과 괴사를 초래하며 마침내 중추 신경계의 기능퇴화를 유도하게 된다.<sup>4)</sup> 노화와 관계된 뇌의 항산화 효소 활성의 변화를 보기 위해 Arjun 등<sup>5)</sup>은 출생부터 출생 후 600일 되는 흰 쥐의 전뇌에서 항산화 효소 활성과 지질과산화 정도를 측정하였다. 그 결과 지질과산화수준은 가령에 따라 증가하였고, SOD, catalase, GSH-Px 활성은 가령에 따라 점차적으로 감소하였다고 보고하였다.

녹차는 Camellia 속에 속하는 식물로서 녹차에 함유된 polyphenol류 들은 산화적 손상으로부터 뇌 조직을 보호하는 것으로 보고되고 있어 이에 대한 관심이 증가하고 있다.<sup>6)</sup>

접수일 : 2002년 4월 11일

채택일 : 2002년 5월 14일

\*This research was supported by the Korea Research Foundation Grant.

<sup>§</sup>To whom correspondence should be addressed.

Komatsu 등<sup>7)</sup>은 녹차의 polyphenol 성분인  $\beta$ -catechin (1 ml/kg body weight) 추출액을 흰 쥐에게 한 달 동안 투여한 결과 선조체 (striatum) 내 SOD 활성이 증가하였고 소뇌 (cerebellum) 내의 MDA 함량은 감소되었다고 보고하였다. 류의 연구<sup>8)</sup>에 의하면 1% 녹차 건분 공급이 선조체내의 MDA 함량을 유의적으로 감소시키고, 해마 (hippocampus) 내 GSH-Px 활성을 증가시키는 것으로 나타나, 녹차 건분 공급이 뇌 특정 조직의 지질 산화를 감소시키고 항산화 효소 활성을 증가시키는 것으로 나타났다. 녹차에는 polyphenol 뿐만 아니라  $\beta$ -carotene, vitamin C, vitamin E와 같은 항산화 비타민도 다량 함유되어 있으므로 이러한 항산화 비타민들도 녹차의 항산화능 증진효과에 기여할 것으로 생각된다. Ascorbic acid의 보충이 알코올로 산화적 스트레스를 유발한 guinea pig에 미치는 항산화능을 본 Suresh 등<sup>9)</sup>은 ascorbic acid가 전뇌의 MDA 함량을 알코올만 투여한 군에 비해 유의적으로 감소시키고, SOD와 catalase 활성을 증가시킨다고 보고하였다. 이러한 연구들은 항산화 비타민들이 뇌 조직의 지질과산화물을 낮추고, 항산화 효소활성을 높인다는 효과가 있다는 것을 보여준다.

이를 종합하여 볼 때 녹차나 항산화 비타민의 생체 내 항산화 능력을 통하여 뇌조직의 산화적 손상을 감소시킬 수 있음을 유추하여 볼 수 있다. 본 실험에서는 녹차가 녹차에 함유된 항산화 비타민 이상의 항산화 효과를 나타내는지 알아보고, 뇌의 항산화능이 연령에 따라 달라지는지를 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 동물 및 식이

실험 동물은 동일한 환경에서 사육된 9개월령과 12개월령 Sprague-Dawley종 수컷 흰 쥐였다. 체중이  $527.1 \pm 11.5$  g (9개월령, n = 21),  $574.9 \pm 10.6$ g (12개월령, n = 15) 인 쥐들을 녹차군 (green tea)과 항산화 비타민군 (antioxidant vitamins), 대조군 (control)으로 나누어 3주간 사육하였다. 실험에 사용된 식이의 구성성분은 American Institute of Nutrition (AIN-93M)<sup>10)</sup>을 참고로 하여 제조되었으며 녹차는 건조된 상태의 녹차잎을 분말화하여 식이 무게의 3%수준으로 첨가하였다. 실험에 사용된 식이 구성성분은 Table 1에 제시하였다. 항산화 비타민 식이는 3% 녹차 건분 식이에 함유된  $\beta$ -carotene, 비타민 C, 비타민 E를 대조군 식이에 첨가하여 제조되었다. 녹차 건분의 항

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

Ingredients	Experimental groups <sup>1)</sup>		
	Control	Green tea	Antioxidant vitamins
Corn Starch	620.7	590.7	620.7
Sugar	100.0	100.0	100.0
Casein	140.0	140.0	140.0
Soybean oil	40.0	40.0	40.0
Salt mixture <sup>2)</sup>	35.0	35.0	35.0
Vitamin mixture <sup>3)</sup>	10.0	10.0	10.0
Choline chloride	2.5	2.5	2.5
DL-Methionine	1.8	1.8	1.8
tert-Butylhydroquinone, mg	8.0	8.0	8.0
Cellulose	35.0	35.0	35.0
Green tea powder	0.0	30.0	0.0
Antioxidant vitamins			
$\beta$ -carotene, mg	0.0	0.0	3.0
Vitamin C, mg	0.0	0.0	30.0
Vitamin E, mg	0.0	0.0	3.0

1) Control group, Green tea group (30 g green tea powder/kg diet), Antioxidant vitamins group (3 mg  $\beta$ -carotene, 30 mg Vitamin C, 3 mg Vitamin E/kg diet)

2) AIN-93M<sup>17)</sup> salt mixture (g/kg mixture): Calcium carbonate anhydrous 357, Potassium phosphate monobasic 250, Potassium citrate, tripotassium monohydrate 28, Sodium chloride 74, Potassium sulfate 46.6, Magnesium oxide 24, Ferric citrate 6.06, Zinc carbonate 1.65, Sodium meta-silicate  $\cdot 9H_2O$  1.45, Manganous carbonate 0.63, Cupric carbonate 0.3, Chromium potassium sulfate  $\cdot 12H_2O$  0.275, Boric acid 81.5 mg, Sodium fluoride 63.5 mg, Nickel carbonate 31.8 mg, Lithium chloride 17.4 mg, Sodium selenate anhydrous 10.25 mg, Potassium iodate 10 mg, Ammonium paramolybdate  $\cdot 4H_2O$  7.95 mg, Ammonium vanadate 6.6 mg, finely powdered sucrose 209.806.

3) AIN-93M<sup>17)</sup> vitamin mixture (mg/kg mixture): Nicotinic acid 3000, Calcium Pantothenate 1600, Pyridoxine HCl 700, Thiamine HCl 600, Riboflavin 600, Folic acid 200, D-Biotin 20, Vitamin B<sub>12</sub> (Cyanocobalamin) (0.1% in mannitol) 2.5, Vitamin E (all-rac- $\alpha$ -tocopherol acetate) (500 IU/ g) 15, Vitamin A (all-trans-retinyl palmitate) (500,000 IU/g) 0.8, Vitamin D<sub>3</sub> (cholecalciferol) (400,000 IU/g) 0.25, Vitamin K<sub>1</sub> (phyloquinone) 0.075, finely powdered sucrose 974.655.

산화 비타민 함량은 농촌 진흥청,<sup>11)</sup> 이종미 등,<sup>12)</sup> Hands,<sup>13)</sup> 김성경 등<sup>14)</sup>에서 녹차의 항산화 비타민을 분석한 자료를 토대로 하여 녹차 건분 1g 당  $\beta$ -carotene (Wako Pure Chemical Industries, Ltd)는 100  $\mu$ g, 비타민 C (L-ascorbate, Showa Chemical Co., Ltd)는 1 mg, 비타민 E ( $\alpha$ -tocopherol acetate, Sigma Chemical Co.)는 100  $\mu$ g가 함유되었다고 계산하였다.

실험동물은 한 마리씩 stainless steel cage에서 사육하였고, 식이와 물은 자유롭게 공급하였다. 사육장의 명암은 12시간 주기, 온도는 22~25 $^{\circ}$ C, 습도는 40~50%로 유지하였다.

**2. 실험 동물의 희생 및 조직의 채취**

실험 동물은 동일한 시간대 (오전 9~11시)에 에테르로 가볍게 마취한 후 단두로 희생시켰다. 단두 직후 뇌 조직을 적출하고, 대뇌 (cortex), 소뇌, 선조체, 해마의 4개의 부위로 분리한 후 분석 시까지 -70℃로 보관하였다.

**3. 시료의 생화학적 분석**

**1) Malondialdehyde (MDA) 측정**

Malondialdehyde (MDA) 함량은 Rehnrona et al<sup>15)</sup> 방법을 변형하여 측정하였다. 부위별 뇌조직을 10 volume의 차가운 0.1 M sodium phosphate buffer에 균질화시킨 후에 50 mM FeSO<sub>4</sub>, 0.5 mM butylated hydroxytoluene (BHT), 50 mM ascorbic acid를 넣고 37℃에서 30분간 incubation한 후, 20% trichloroacetic acid (TCA) 0.1 ml를 첨가하여 13,000 × g에서 5분간 원심 분리하였다. 그 상층액에 0.67% thiobarbituric acid (TBA) reagent 첨가하고 10분간 끓인 다음 실온에 방치하였다가 spectrophotometer로 532 nm에서 비색 정량하였다.

**2) 항산화 효소 활성 측정**

효소 활성 측정을 위한 효소원은 각 뇌 부위 조직을 10 volume의 0.25 M ice cold sucrose 용액에 균질화시킨 후 12,000 × g, 4℃에서 30분간 원심분리 후 상층액을 효소원으로 취하여 분석 시까지 -70℃에 보관하였다.

Superoxide dismutase 활성은 Pattichis et al<sup>16)</sup>의 방법을 사용하여 측정하였다. 효소원에 65 mM potassium phosphate buffer (pH 7.8), 15 mM xanthine, 10 mM hydroxylammonium chloride, xanthine oxidase를 첨가하여 25℃에서 20분간 incubation한 후 0.03 mM sulfanilic acid, 0.1 mM naphthylamine를 첨가하여 530 nm에서 30초 간격으로 180초까지 측정하여 활성을 계산하였다.

Catalase 활성은 Johansson and Burg<sup>17)</sup>과 Hossain et al<sup>18)</sup>의 방법을 사용하여 측정하였다. 효소원에 250 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-NaOH buffer (pH 7.0), methanol, 0.27% hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)를 넣고 20℃에서 20분간 incubation하였다. 반응액에 7.8 M potassium hydroxide (KOH)를 가하고 34.2 mM purpald를 첨가하여 다시 20℃에서 10분간 incubation 하고 potassium periodate (KIO<sub>4</sub>)를 가하였다. 발색물을 10,000 × g에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 취하여 550 nm에서 비색정량하였다.

Glutathione peroxidase의 활성은 Prohaska and Ganther의 방법<sup>19)</sup>을 사용하여 측정하였다. 효소원에 0.1 M po-

tassium phosphate buffer (pH 7.0)-3 mM EDTA, 1 mM glutathione, glutathione reductase, 1 mM sodium azide (NaN<sub>3</sub>), 0.11 mM NADPH를 첨가하여 25℃에서 5분간 incubation한 후 100 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 첨가하여 340 nm에서 30초 간격으로 300초까지 흡광도를 측정하여 GSH-Px의 활성을 계산하였다.

모든 효소원의 단백질 농도는 Lowry 방법<sup>20)</sup>으로 측정하였다.

**4. 통계분석**

본 연구의 모든 결과는 실험군당 평균과 표준오차를 계산하였고, 연령군으로 나누어 α = 0.05 수준에서 일원배치분산분석 (one way analysis of variance, ANOVA)과 Duncan's multiple range test를 실시하였고 연령군 간의 비교를 위하여 Student's t-test를 실시하였다. 모든 통계 처리는 SAS (SAS Institute Inc., Version 8.01, USA)를 사용하였다.

**결과 및 고찰**

실험 동물의 일일 평균 식이 섭취량, 실험기간동안의 체중증가량과 적절한 모든 장기의 중량은 모두 식이에 따른 유의적인 차이가 없었다. 부위별 뇌조직인 대뇌, 소뇌, 선조체, 해마의 중량 역시 모든 실험군 간에 유의적인 차이를 보이지 않았다 (Data not shown.).

**1. 식이에 따른 부위별 뇌조직의 MDA 함량과 항산화 효소 활성**

각 실험군의 부위별 뇌조직 MDA 함량은 Table 2에 제시하였다.

대뇌와 소뇌 내의 MDA 함량은 식이에 의한 영향을 받지 않았으나 선조체와 해마의 MDA함량은 녹차군과 항산화비타민군 사이에는 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 그러나 항산화 비타민을 투여한 경우 9개월령 쥐의 선조체와 12개월령 쥐의 해마 내 MDA 함량이 대조군에 비해 유의적으로 낮게 나타났다 (striatum: 126.39 vs 179.52 nmol/g tissue, hippocampus: 185.36 vs 295.72 nmol/g tissue). 홍 등<sup>21)</sup>은 녹차 추출물 공급이 ischemia/reperfusion로 산화적 손상을 가한 Mongolian gerbils의 전뇌 (whole brain) MDA 함량을 낮추었다고 보고하였다. 또한 류의 연구<sup>22)</sup>에서는 1% 녹차 건분 식이 공급이 9개월령 쥐의 선조체와 해마 내 MDA 함량을 유의적으로 낮추는 것으로 나타나 녹차는 뇌의 지질과산화물 생성을 억제하고, 특히 선조체와 해마에서 그 효과가 있는 것으로 보고하였다. 비타민 E (400

**Table 2.** Effects of green tea powder diet or antioxidant vitamin supplementation diet on lipid peroxidation in various regions of brain from 9 month old and 12 month rats

Brain regions	Group	MDA concentrations (nmol/g tissue)		P-value <sup>4)</sup>
		9 month	12 month	
Cortex	Control	205.04 ± 15.30 <sup>1)NS2)</sup>	297.71 ± 17.97 <sup>NS</sup>	0.0055**
	Green tea	189.25 ± 20.73	266.77 ± 16.81	0.0287*
	Antioxidant vitamins	200.26 ± 18.93	262.45 ± 16.58	0.0484*
Cerebellum	Control	252.78 ± 17.20 <sup>NS</sup>	353.71 ± 17.44 <sup>NS</sup>	0.0027**
	Green tea	253.19 ± 13.46	345.53 ± 15.27	0.0019**
	Antioxidant vitamins	238.62 ± 17.03	345.67 ± 16.84	0.0021**
Striatum	Control	179.52 ± 17.30 <sup>3)</sup>	265.91 ± 33.35 <sup>NS</sup>	0.0350*
	Green tea	152.80 ± 15.25 <sup>ab</sup>	213.90 ± 32.18	0.0969
	Antioxidant vitamins	126.39 ± 12.61 <sup>b</sup>	190.81 ± 11.67	0.0080**
Hippocampus	Control	161.04 ± 7.49 <sup>NS</sup>	295.72 ± 28.93 <sup>a</sup>	0.0360*
	Green tea	146.42 ± 10.43	225.69 ± 23.62 <sup>ab</sup>	0.0066**
	Antioxidant vitamins	131.41 ± 17.01	185.36 ± 5.58 <sup>b</sup>	0.0309*

1) Mean ± Standard error

2) Not significant at  $p < 0.05$ 3) Values with different alphabet within the column are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.4) Significance between two groups (9 month and 12 month) was test by Student's t-test at  $p = 0.05$ . (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ )**Table 3.** Effects of green tea powder diet or antioxidant vitamin supplementation diet on activities of SOD in various regions of brain from 9 month old and 12 month old rats

Brain regions	Group	SOD (units/mg protein)		P-value <sup>4)</sup>
		9 month	12 month	
Cortex	Control	11.07 ± 1.89 <sup>1)NS2)</sup>	11.48 ± 1.99 <sup>NS</sup>	0.8883
	Green tea	14.69 ± 1.79	12.38 ± 1.08	0.3649
	Antioxidant vitamins	13.99 ± 0.96	13.24 ± 1.80	0.7164
Cerebellum	Control	21.82 ± 2.36 <sup>NS</sup>	13.74 ± 1.55 <sup>NS</sup>	0.0207*
	Green tea	17.33 ± 1.71	13.30 ± 0.73	0.0689
	Antioxidant vitamins	19.01 ± 2.81	13.02 ± 2.65	0.1376
Striatum	Control	11.00 ± 1.30 <sup>NS</sup>	11.42 ± 0.89 <sup>b</sup>	0.7882
	Green tea	16.59 ± 2.94	17.01 ± 0.80 <sup>a</sup>	0.8558
	Antioxidant vitamins	13.72 ± 1.02	16.17 ± 1.74 <sup>a</sup>	0.0898
Hippocampus	Control	12.51 ± 1.58 <sup>3)</sup>	14.38 ± 1.94 <sup>NS</sup>	0.4766
	Green tea	16.51 ± 1.42 <sup>ab</sup>	17.34 ± 1.27	0.9182
	Antioxidant vitamins	17.06 ± 1.02 <sup>a</sup>	15.75 ± 1.16	0.2123

1) Mean ± Standard error

2) Not significant at  $p < 0.05$ 3) Values with different alphabet within the column are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.4) Significance between two groups (9 month and 12 month) was test by Student's t-test at  $p = 0.05$ . (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ )

IU/kg body weight/day)와  $\beta$ -carotene (6.68 mg/kg body weight/day)이 lipopolysaccharide로 산화적 스트레스를 유발한 뇌조직의 항산화능에 미치는 효과를 관찰한 Abel 등<sup>29)</sup>은 이러한 항산화 비타민 보충이 흰 쥐 전뇌의 SOD 활성 증가에는 유의적인 영향을 미치지 못했으나 MDA 함량은 감소시켰다고 보고하였다. 본 연구에서는 선행연구와는 달리 MDA에 미치는 녹차의 효과가 유의적으로 나타나지는 않았으나 녹차군의 MDA 함량이 대조군에 비해 낮은 경향을 보였다.

실험군의 부위별 뇌조직의 SOD 활성은 Table 3과 같이 선조체와 해마 내에서 식이에 의한 영향을 받는 것으로 나타났다. 12개월령 쥐 녹차군 (17.01 units/mg protein)과 항산화 비타민군 (16.17 units/mg protein)이 대조군 (11.42 units/mg protein)에 비해 선조체 내 SOD 활성이 유의적으로 높았다. 또한 9개월령 쥐 항산화 비타민군 (17.06 units/mg protein)의 해마 내 SOD 활성이 대조군 (12.51 units/mg protein)에 비해 유의적으로 높았으며 녹차군 (16.51 units/mg protein)과 항산화 비타민군 사이에는

유의적인 차이가 없었다. Yoneda 등<sup>24)</sup>은 녹차의  $\beta$ -catechin을 투여한 흰 쥐의 뇌에 iron 염으로 산화적 스트레스를 유도했을 때 ipsilateral 대뇌에서 SOD 활성이 증가하는 것을 관찰하였다. Komatsu 등<sup>7)</sup>은  $\beta$ -catechin이 노령쥐의 뇌에서 SOD 활성에 미치는 영향을 보고자 한 달 동안 beta-catechin 용액을 흰 쥐에게 경구 투여하였다. 그 후 대뇌에 ferric chloride 용액을 투여했을 때,  $\beta$ -catechin 투여군의 선조체와 중뇌 (mid brain)의 SOD 활성이 증가되었다고 보고하였다. 본 실험에서도 녹차 건분 공급은 12개월령 흰쥐의 선조체내 SOD 활성을 유의적으로 증가

시키는 것으로 나타났다. 따라서 녹차 건분과 같은 항산화 물질의 공급은 뇌의 SOD 활성을 증가시키는 것으로 생각된다.

Catalase 활성은 Table 4에서와 같이 모든 연령과 부위별 뇌조직에서 식이에 따른 유의적인 차이가 없었다. 본 실험의 선행연구였던 류의 연구<sup>8,22)</sup>에서 보면 뇌조직에서 catalase 효소 활성은 녹차 건분 공급에 의해 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 녹차에 대한 실험은 아니었지만 Roy 등<sup>25)</sup>은 뇌 신경 세포의 지방 갈색소를 감소시키는 항산화 물질인 chlorpromazine을 투여한 12개월령 쥐에서 소뇌

**Table 4.** Effects of green tea powder diet or antioxidant vitamin supplementation diet on activities of catalase in various regions of brain from 9 month old and 12 month old rats

Brain regions	Group	Catalase (units/mg protein)		P-value <sup>3)</sup>
		9 month	12 month	
Cortex	Control	0.18 ± 0.01 <sup>1)NS2)</sup>	0.26 ± 0.03 <sup>NS</sup>	0.0729
	Green tea	0.22 ± 0.02	0.20 ± 0.03	0.5866
	Antioxidant vitamins	0.17 ± 0.03	0.23 ± 0.03	0.2442
Cerebellum	Control	0.46 ± 0.06 <sup>NS</sup>	0.42 ± 0.05 <sup>NS</sup>	0.7516
	Green tea	0.65 ± 0.10	0.35 ± 0.05	0.0880
	Antioxidant vitamins	0.64 ± 0.13	0.46 ± 0.08	0.3669
Striatum	Control	0.24 ± 0.02 <sup>NS</sup>	0.22 ± 0.02 <sup>NS</sup>	0.4729
	Green tea	0.33 ± 0.04	0.27 ± 0.06	0.4202
	Antioxidant vitamins	0.23 ± 0.05	0.23 ± 0.04	0.8980
Hippocampus	Control	0.26 ± 0.06 <sup>NS</sup>	0.24 ± 0.02 <sup>NS</sup>	0.7026
	Green tea	0.31 ± 0.05	0.29 ± 0.04	0.7654
	Antioxidant vitamins	0.33 ± 0.04	0.25 ± 0.03	0.1286

1) Mean ± Standard error

2) Not significant at  $p < 0.05$

3) Significance between two groups (9 month and 12 month) was test by Student's t-test at  $p = 0.05$  (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ).

**Table 5.** Effects of green tea powder diet or antioxidant vitamin supplementation diet on activities of GSH-Px in various regions of brain from 9 month old and 12 month old rats

Brain regions	Group	GSH-Px ( $10^{-2} \times$ units/mg protein)		P-value <sup>4)</sup>
		9 month	12 month	
Cortex	Control	3.39 ± 0.35 <sup>1)NS2)</sup>	3.63 ± 0.42 <sup>NS</sup>	0.6754
	Green tea	6.81 ± 0.89 <sup>a</sup>	4.20 ± 0.61	0.0830
	Antioxidant vitamins	6.41 ± 0.59 <sup>a</sup>	4.75 ± 0.91	0.1382
Cerebellum	Control	8.50 ± 0.12 <sup>NS3)</sup>	4.76 ± 0.64 <sup>NS</sup>	0.0434*
	Green tea	10.89 ± 0.73	6.15 ± 0.57	0.0017**
	Antioxidant vitamins	9.31 ± 1.40	5.62 ± 0.11	0.1068
Striatum	Control	6.07 ± 1.01 <sup>NS</sup>	3.91 ± 0.50 <sup>b</sup>	0.1316
	Green tea	8.74 ± 1.22	6.72 ± 0.74 <sup>a</sup>	0.2313
	Antioxidant vitamins	9.24 ± 1.53	4.29 ± 0.46 <sup>b</sup>	0.0223*
Hippocampus	Control	3.04 ± 0.66 <sup>b</sup>	5.21 ± 0.48 <sup>NS</sup>	0.0382*
	Green tea	5.90 ± 1.30 <sup>ab</sup>	6.54 ± 0.74	0.7085
	Antioxidant vitamins	6.24 ± 0.48 <sup>a</sup>	5.43 ± 0.40	0.2527

1) Mean ± Standard error

2) Values with different alphabet within the column are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

3) Not significant at  $p < 0.05$

4) Significance between two groups (9 month and 12 month) was test by Student's t-test at  $p = 0.05$  (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ )

와 뇌간 (brain stem)의 SOD와 GSH-Px의 활성이 증가되고 catalase 활성에는 아무런 변화가 없는 것을 관찰하였다. 이로 볼 때, catalase 효소는 뇌조직에서 녹차나 항산화 비타민 등의 항산화 물질 공급으로 인한 영향을 크게 받지 않는 것으로 사료된다.

각 실험군의 GSH-Px 활성은 Table 5에 비교하였다. Glutathione peroxidase 활성은 모든 부위별 뇌조직에서 녹차군과 항산화 비타민군에서의 GSH-Px 활성이 더 높았고, 9개월령 쥐의 대뇌에서는 녹차군 ( $6.81 \times 10^2$  units/mg protein)과 항산화 비타민군 ( $6.41 \times 10^2$  units/mg protein)이 대조군 ( $3.39 \times 10^2$  units/mg protein)에 비해 GSH-Px 활성이 유의적으로 높았다. 다른 실험자들에 의하여 녹차의 뇌조직 GSH-Px 활성 증진효과가 관찰된 연구는 없었으나, 항산화 물질인 chlorpromazine이 소뇌와 brain stem의 GSH-Px를 증진시킨다는 것은 관찰된 바 있다.<sup>26)</sup>

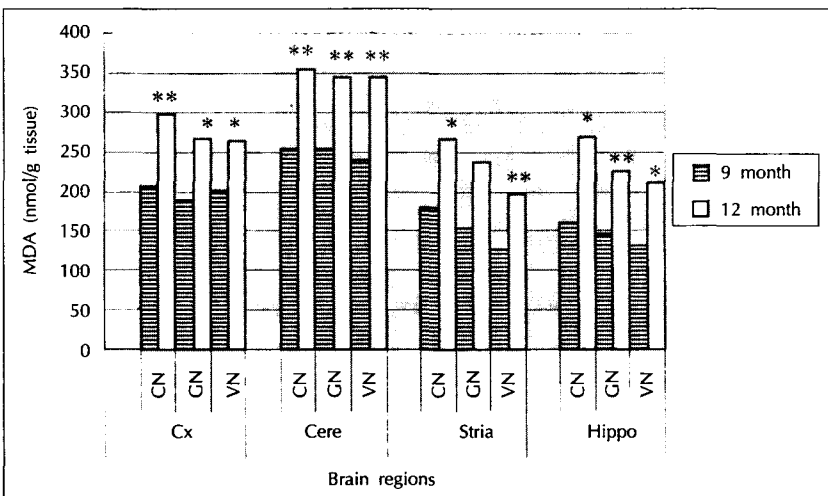
항산화 비타민은 활성 산소로부터 생체를 보호하는 역할을 하는데, 특히 비타민 C, 비타민 E,  $\beta$ -carotene 등의 비타민은 많은 연구에서 뇌 조직에서의 항산화능이 입증된 바 있다.<sup>24)</sup> 항산화 비타민을 함유한 식이가 닭의 뇌 조직에서 항산화 효소활성에 미치는 영향을 보고자 한 Urek 등<sup>27)</sup>은 45주 된 닭에게 vitamin E (70 mg DL- $\alpha$ -tocopherol acetate/kg diet), vitamin A (240 mg retinol acetate/kg diet), vitamin C (500 mg ascorbic acid/kg diet)를 보충한 식이를 공급하였다. 그 결과, 비타민 C 보충은 전뇌의 Mn-SOD 활성을 15% 증가시켰고, 비타민 E와 비타민 C 보충은 뇌에서의 GSH-Px의 활성을 증가시켰으며 항산화 비타민 보충이 catalase 활성에는 아무런 영향을 미치지 않았다고 보고하였다. 본 실험식이의 항산화 비타민 보충수준 ( $\beta$ -carotene : 0.14 mg/kg body weight/day, ascorbic

acid : 1.37 mg/kg body weight/day,  $\alpha$ -tocopherol : 0.14 mg/kg body weight/day)은 위의 연구의 항산화 비타민 보충 수준에 비해 1/10 수준이었고, AIN-93<sup>11)</sup>에서 권장한 비타민 수준에 비해서는 20배 이상 높은 수준이었다. 이로 볼 때, 항산화 비타민의 보충 역시 뇌의 지질 과산화물 생성을 완화시키고, 항산화 효소 활성을 증가시키며 그 효과는 3% 녹차 건분의 항산화능 증진효과와 차이가 없는 것으로 사료된다.

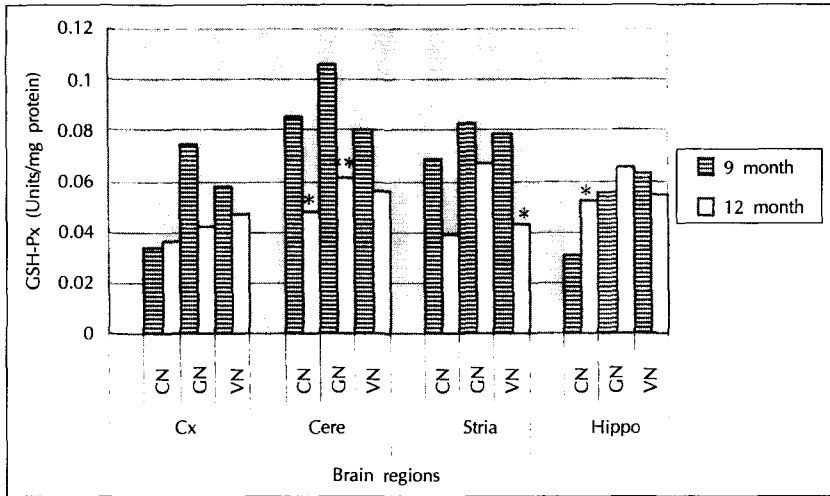
**2. 연령에 따른 부위별 뇌조직의 MDA 함량과 항산화 효소 활성**

연령에 따른 부위별 뇌조직의 MDA 함량의 비교 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 모든 부위별 뇌조직의 MDA 함량은 모든 실험군에서 가령에 따라 유의적으로 증가하였다. 12개월령 쥐의 MDA 함량은 9개월령 쥐에 비해 뇌 부위별로 140~160%정도 증가하는 것으로 나타났다.

항산화 효소 활성의 변화는 SOD와 catalase 활성에 있어서는 소뇌에서의 SOD 활성을 제외하고는 가령에 따른 유의적인 변화가 보이지 않았다. 소뇌에서의 SOD 활성은 가령에 따라 낮아지는 경향이 있었고 대조군에서는 유의적으로 감소하였다. Fig. 2에는 GSH-Px 활성을 연령별로 비교하였는데, GSH-Px 활성은 해마를 제외한 모든 조직에서 가령에 따라 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다. 뇌의 과산화 지질 함량이나 항산화 효소 활성은 연령에 따라 다르다고 보고한 연구 결과들이 많이 있다. Ramassamy 등<sup>28)</sup>은 해마의 MDA가 3개월령 쥐에 비해 13개월령 쥐에게서 유의적으로 높았고, 반면 SOD나 GSH-Px의 활성은 대뇌나 해마에서 가령에 따른 유의적인 변화가 없는 것으로 나타났다고 보고하였다. Dogru 등<sup>29)</sup>은 6개월령과 22개월령 쥐의 뇌 지질과산화물과 항산화 효소를 분석한 결과, 비



**Fig. 1.** Comparison of MDA concentration in various regions of rat brain between 9 month old and 12 month old rats. Statistical significance was tested by Student's t-test at p = 0.05 (\*p < 0.05, \*\*p < 0.01). Striped bars and blank bars represent 9 month old rats and 12 month old rats, respectively. CN: control diet, GN: green tea diet, VN: vitamin-supplemented diet. Cx: cortex, Cere: cerebellum, Stria: striatum, Hippo: hippocampus.



**Fig. 2.** Comparison of activity of GSH-px in various regions of rat brain between 9 month old and 12 month old rats. Significance between two groups was tested by Student's t-test at  $p = 0.05$  (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ). Striped bars and blank bars represent 9 month old rats and 12 month old rats, respectively. CN: control diet, GN: green tea diet, VN: vitamin-supplemented diet. Cx: cortex, Cere: cerebellum, Stria: striatum, Hippo: hippocampus.

록 유의적인 차이는 아니었으나 6개월령 쥐에 비해 22개월령 쥐의 뇌에서 MDA 함량은 더 높고 glutathione 함량은 더 낮다고 보고하였다. 이러한 결과들을 볼 때, 가령에 따라 뇌의 MDA 함량은 증가하며, GSH-Px 활성은 감소하는 것으로 생각되며 catalase 효소활성은 가령에 따라 민감하게 변화하지 않는 것으로 사료된다. Fukui<sup>30)</sup> 등은 비타민 E 보충은 흰쥐의 대뇌와 해마에서 노화나 산화적 스트레스로 인한 산화적 손상을 완화시켜 기억력 감퇴를 완화시킨다고 보고하였다. 해마가 기억기능의 전반에 관여하고 있다고 보고한 많은 연구들<sup>31,32)</sup>과 선조체가 운동 조절과 습관 형성의 기능을 담당한다는 것을 고려해 볼 때<sup>33)</sup> 해마나 선조체에서의 항산화 효소 활성 증진으로 인한 산화적 손상의 완화는 노화와 관련된 여러 질병의 발생을 지연시키거나 예방하는데 효과가 있다고 사료된다.

본 연구 결과들을 정리하면, 3% 녹차 건분 공급이나 항산화 비타민 보충은 흰 쥐의 선조체와 해마 내 과산화 지질물을 낮추고, 선조체 내 SOD 활성과 대뇌 내 GSH-Px 활성을 증가시키는 것으로 나타났다. 하지만 녹차 건분을 공급한 군과 항산화 비타민을 보충한 군의 항산화능 사이에는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 녹차 건분에 함유된 항산화 물질은 항산화 비타민 이외에도 catechin과 같은 polyphenol 성분을 함유하고 있으므로 항산화 비타민을 보충한 군에서 나타난 항산화 효과 이상의 상승된 효과를 기대했으나 녹차 건분과 항산화 비타민의 항산화능 사이에는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 이는 일상적인 수준의 녹차 섭취가 뇌조직 항산화능 증진에 미치는 기전은 녹차에 함유된 항산화 비타민에 기인한 것이라고 생각된다. 가령에 따라 과산화지질 함량은 증가하고 특정 항산화 효소 활성은 감소하는 것으로 나타났다.

## 요약 및 결론

본 연구에서는 녹차 건분 식이나 항산화 비타민 보충식이 뇌 조직의 항산화능 증진효과를 가지고 있는지를 보고자, 생후 9개월령과 12개월령 Sprague-Dawley종 실험동물에게 3% 녹차 건분식이나 항산화 비타민 보충식을 3주간 공급하였다. 희생 후 뇌 조직을 대뇌, 소뇌, 선조체, 해마로 나누어 malondialdehyde (MDA)의 함량과 catalase, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px)의 활성을 측정하였다. 본 실험 결과를 종합하여 볼 때, 3% 녹차 건분 식의 공급은 선조체 내 SOD 활성과 대뇌 내 GSH-Px 활성을 12개월령에서 증가시키는 것으로 나타났고, 녹차군과 항산화 비타민군의 항산화능에는 서로 유의적인 차이가 없었다. 가령에 따라 부위별 뇌조직의 MDA 함량은 증가하였고, GSH-Px 활성은 감소하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 3% 녹차 건분 식의 항산화능 증진효과가 녹차 건분에 함유된 항산화 비타민에 기인한 것일 수 있으며, 가령에 따라 항산화 효소 활성의 변화가 효소의 종류에 따라 달라질 수 있다는 것을 보여준다.

## Literature cited

- 1) Somani SM, Husain K, Diaz L, Lanzotti DY, Kareti KR, Trammell GL. Interaction of exercise and ethanol on antioxidant enzymes in brain regions of the rat. *Alcohol* 13(6): 603-610, 1996
- 2) Mate JM, Perez C, Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem* 32(8): 595-603, 1999
- 3) Yobimoto K, Matsumoto K, Huang N, Kasai R, Yamasaki K, Watanabe H. Suppressive effects of vietnamese ginseng sapo-

- nin and its major component majonoside-R2 on psychological stress-induced enhancement of lipid peroxidation in the mouse brain. *Pharmacol Biochem Behavior* 66(3): 661-665, 2000
- 4) Shutenko Z, Henry Y, Pinard E, Seylaz J, Potier P, Berthet F, Girard P, Sercombe R. Influence of the antioxidant quercetin *in vivo* on the level of nitric oxide determined by electron paramagnetic resonance in rat brain during global ischemia and reperfusion. *Biochem Pharmacol* 57: 199-208, 1999
  - 5) Arjun S, Chiany GBN. Alterations in the activities of cerebral antioxidant enzymes of rat are related to aging. *Int J Devel Neurosci* 15(8): 939-948, 1997
  - 6) Suganuma M, Okabe S, Sueoka E, Matsuyama S, Imai K, Nakachi K, Fujiki H. Green tea and cancer chemoprevention. *Mutat Res* 428: 339-344, 1999
  - 7) Komatsu M, Hiramatsu. The efficacy of an antioxidant cocktail on lipid peroxide level and superoxide dismutase activity in aged rat brain and DNA damage in iron-induced epileptogenic foci. *Toxicology* 148: 143-148, 2000
  - 8) Ryu SM, Chang NS. Antioxidative effects of green tea powder diet against ethanol-induced oxidative damage in rat brain regions. *Kor J Nutr* 34(5): 525-531, 2001
  - 9) Suresh MV, Sreeranjit K, Lal JJ, Indira M. Impact of massive ascorbic acid supplementation on alcohol induced oxidative stress in guinea pigs. *Toxicology* 104: 221-229, 1999
  - 10) Reeves PG. Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diets. *J Nutr* 127: 838S-841S, 1997
  - 11) Case Report of Rural Living Science 94-96, National Rural Living Science Institute, 1995
  - 12) Lee JM, Shin KS, Lee HJ. Analysis of antioxidant vitamin contents in Korean garden foods. *Kor J Dietary Culture* 4(2): 169-174, 1999
  - 13) Hands ES. *Nutrients in Food*. Lippincott Williams & Wilkins 82, 2000
  - 14) Kim SK, Lee HJ, Kim MK. Effect of water and ethanol extracts of persimmon leaf and green tea different conditions on lipid metabolism and antioxidative capacity in 12-month-old rats. *Kor J Nutr* 34(5): 499-512, 2001
  - 15) Rehncrona S, Smith DS, Akesson B, Westerberg E and Siesjo BK. Peroxidative changes in brain cortical fatty acids and phospholipids, as characterized during  $Fe^{2+}$  and ascorbic acid stimulated lipid peroxidation *in vitro*. *J Neurochem* 34(6): 1630-1638, 1980
  - 16) Pattichis K, Louca LL and Glover V. Quantitation of soluble superoxide dismutase in rat stria, based on the inhibition of nitrite formation from hydroxylammonium chloride. *Anal Biochem* 221: 428-431, 1994
  - 17) Johansson LH and Borg LAH. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. *Anal Biochem* 174: 331-336, 1988
  - 18) Hossain S, Hashimoto M, Gamoh S and Masumura S. Antioxidative effects of docosahexaenoic acid in the cerebrum versus cerebellum and brainstem of aged hypercholesterolemic rats. *J Neurochem* 72: 1133-1138, 1999
  - 19) Prohaska JR and Ganther HE. Selenium and glutathione peroxidase in developing rat brain. *J Neurochem* 27: 1379-1387, 1976
  - 20) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ. Protein measurement with Folin's phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951
  - 21) Hong JT, Ryu SR, Kim HJ, Lee JK. Protective effect of green tea extract on ischemia/reperfusion-induced brain injury in Mongolian gerbils. *Brain Res* 888: 11-18, 2001
  - 22) Ryu SM, Chang NS. Antioxidative effects of green tea powder diet against ethanol-induced oxidative damage in 9 month old rat brain regions. *Kor J Nutr* 35(1): 24-29, 2002
  - 23) Adel AK, Tarek KM, Mohamed ZG, Hana MA. Protective effect of vitamin E,  $\beta$ -carotene and acetylcysteine from the brain oxidative stress induced in rats by lipopolysaccharide. *Int J Biochem Cell Biol* 33: 475-482, 2001
  - 24) Yoneda T, Hiramatsu M, Sakamoto M, Togasaki K. Antioxidant effect of "beta catechin". *Biochem Mol Biol Int* 35(5): 995-1008, 1995
  - 25) Roy D, Pathak DN, Singh R. Effects of chlorpromazine on the activities of antioxidant enzymes and lipid peroxidation in the various regions of aging rat brain. *J Neurochem* 42: 628-633, 1984
  - 26) Suresh MV, Sreeranjit Kumar CV, Lal JJ, Indira M. Impact of massive ascorbic acid supplementation on alcohol induced oxidative stress in guinea pigs. *Toxicol Lett* 104(3): 221-9, 1999
  - 27) Urek RO, Bozkaya LA, Tarhan L. The effect of some antioxidant vitamin and trace element-supplemented diets on activities of SOD, CAT, GSH-Px and LPO levels in chicken tissues. *Cell Biochem Funct* 19: 125-132, 2001
  - 28) Ramassamy C, Krzywkowski P, Averill D, Lussier-Cacan S, Theroux L, Christen Y, Davignon J, Poivier J. Impact of apoE deficiency on oxidative insults and antioxidant levels in the brain. *Mol Brain Res* 86: 76-83, 2001
  - 29) Dogru S, Tamer S, Ugural B. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in liver and brains of aged rats. *Mech Aging Dev* 98: 177-180, 1997
  - 30) Fukui K, Omoi NO, Hayasaka T, Shimkai T, Suzuki S, Abe K, Urano S. Cognitive impairment of rats caused by oxidative stress and aging, and its prevention by vitamin E. *Ann NY Acad Sci* 959: 275-284, 2002
  - 31) Hanppson RE, Deadwyler SA. Cannabinoids reveal the necessity of hippocampal neural encoding for short-term memory in rats. *J Neurosci* 20(23): 8932-42, 2000
  - 32) Fortin NJ, Agster KL, Eichenbaum HB. Critical role of the hippocampus in memory for sequences of events. *Nat Neurosci* 25: [epub ahead of print], 2002
  - 33) Gerdeman GL, Ronesi J, Lovinger DM. Postsynaptic endocannabinoid release is critical to long-term depression in the striatum. *Nat Neurosci* 5(5): 446-51, 2000