

## 쥐의 산화스트레스성 백내장 발생 모델에서 다시마 추출물을 이용한 글루타티온의 백내장 예방효과

김이태 · 오중협

인하대학교 의학전문대학원 안과학교실

**목적:** 다시마 추출물을 이용하여 산화 스트레스로 인한 백내장의 예방효과에 대해 알아보고자 하였다.

**대상과 방법:** 대조군과 실험군의 8군으로 백서 10마리씩 무작위로 분류하여 대조군에는 셀레나이트 주사 후 생리식염수만 투여하였고 실험군 4~8군은 각각 다시마 추출물 12.5, 25, 50, 100, 200 mg/Kg의 농도로 복강내 주사하였다. 세극등현미경검사를 시행하여 백내장 발생 정도를 비교하였고, 수정체를 채취하여 항산화효소와 말론디알데히드의 농도를 비교하였다. 또한 다시마 추출물의 아미노산 성분 분석을 실시하였다.

**결과:** 100 mg/Kg 농도의 다시마 추출물을 투여한 실험군 7에서 백내장이 적게 발생하였고 항산화 효소의 활성도가 높게 나타났다. 다시마 추출물의 농도가 높아짐에 따라 백내장 발생이 감소하는 양상을 보였으나 추출물의 농도가 너무 높거나 낮으면 오히려 백내장 발생이 증가하였다. 다시마 추출물의 아미노산 성분 분석 결과 글루타티온의 구성물질인 글루타메이트, 글라이신, 시스테인이 포함되어 있었다.

**결론:** 다시마 추출물은 글루타티온의 활성도를 높임으로써 항산화 효과를 보이며 산화 스트레스성 백내장을 효과적으로 예방할 수 있었다.

〈대한안과학회지 2009;50(10):1555-1562〉

백내장은 전 세계적으로 주요한 실명의 원인<sup>1</sup>이며 실명의 원인 중 약 48%를 차지한다.<sup>2,3</sup> 아직까지 백내장을 예방하거나 진행을 억제할 수 있는 확실한 약제가 발견되거나 개발된 것이 없다. 그러나 부작용이 적고 안정성이 높은 백내장 억제제의 개발은 산업적으로나 국민건강 측면에서 중요한 과제라고 할 수 있다.

백내장은 다양한 요인(multifactorial disease)으로 인해 발생하게 되며 그 위험요인으로서는 고령, 당뇨, 영양부족, 태양광선(자외선), 흡연, 고혈압, 신부전 등 다양하다.<sup>4</sup> 그 중 노인성 백내장을 일으키는 가장 중요한 원인으로 산화 스트레스가 알려져 있다.<sup>5</sup> 활성산소 등에 의한 산화 스트레스가 눈에 작용하면 수정체의 단백질이 산화되어 백내장이 유발될 수 있으며, 고령자일수록 활성산소 등의 산화 스트레스에 대한 방어력이 감소하기 때문에 백내장 유발 가능성이 높아진다.<sup>6,7</sup> 이러한 산화 스트레스에 대한 방어기전의 하나로 안구 내 여러 종류의 항산화 효소가 존재하지만 그

중 글루타티온은 활성 산소에 대한 가장 중요한 일차방어 물질로 알려져 있다.<sup>8</sup> 이전의 연구를 살펴보면 활성 산소에 대한 방어 역할을 하는 항산화제로 잘 알려진 비타민 C, E와 미네랄,<sup>9,10</sup> 아세틸 카르니틴(acetyl-L-carnitine),<sup>11</sup> 루테인(lutein),<sup>12</sup> 멜라토닌(melatonin),<sup>13</sup> 폴리페놀(polyphenol)<sup>14</sup>과 피니톨(pinitol)<sup>15</sup> 등 여러 종류의 식품영양 물질 및 항산화제를 이용하여 동물 모델에서 백내장 발생을 억제했다는 보고가 있었지만 그 효과가 미미하여 임상적으로 적용하기엔 한계가 있었고 또한 글루타티온에 직접 관련한 것은 아니었다.

이번 연구의 주요 성분인 다시마(*laminaria japonica aresch*)는 한국 및 일본을 비롯한 아시아에서 식품으로 많이 섭취하는 해조류로, 최근 해조류 탄수화물인식이섭유가 인체에 미치는 효과 즉, 장의 운동을 원활하게 하고, 식염, 중금속 등의 배출, 콜레스테롤의 혈관내 침착방지에 효과가 매우 높다는 것이 밝혀졌고, 해조 다당류의 항암효과에 관한 결과가 보고되고 있어 실제로 다시마를 이용한 기능성 건강식품이 판매되고 있다.<sup>16,17</sup> 또한 실험을 통하여 다시마가 자유피라디칼을 제거하는 특성이 있어서 노화와 성인병을 방지하는데 효과가 있다고 이전의 연구를 통해 밝혀져 있다.<sup>18,19</sup> 또한 당노를 일으킨 쥐의 실험 모델에서 다시마를 투여하여 혈당강하 효과 및 항산화 효과를 실험적으로 증명한 연구도 있었다.<sup>20</sup> 이에 착안하여 다시마를 재료로 하여

■ 접 수 일: 2009년 5월 11일 ■ 심사통과일: 2009년 6월 30일

■ 책임저자 오 중 협

인천광역시 중구 신흥동 3가 7-206

인하대학교병원 안과

Tel: 032-890-2400, Fax: 032-890-2403

E-mail: jhoh9707@hanmail.net

\* 본 논문은 2008년 10월 European Association for Vision and Eye Research, Portoroz, Slovenia에서 포스터로 발표하였음.

다시마의 항산화 효과를 확인해보고 이를 백내장 예방에 적용해 보고자 하였다. 구체적으로 다시마가 글루타티온의 활성도를 높임으로써 항산화 효과를 보이는지 알아보고 이를 이용하여 백내장 발생에 대한 예방효과를 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

## 대상과 방법

셀레나이트(sodium selenite)를 이용한 쥐의 백내장 실험 모델은 1978년 Ostadalova et al<sup>21</sup>이 처음 기술한 것으로 실험적으로 노인성 백내장을 쉽고 빠르게 만들 수 있는 방법으로 사람에서 발생하는 노인성 백내장과 형태 및 생화학적 성질이 비슷한 것으로 알려져 있어 널리 쓰이는 실험 방법이다.<sup>22</sup> 이번 연구에서도 셀레나이트를 이용하여 백내장을 유발하였으며 모든 동물들은 ARVO statement for Use of Animal in Research에 따라 처치되었다.

### 실험동물

생후 1일령 된 Sprague-Dawley종 흰 쥐 80마리를 실험대상으로 하였고 각 군당 10마리씩 나누어 총 8군으로 하였다. 실험군과 대조군의 설정은 다음과 같이 하였다. 1군은 아무런 시약도 처리하지 않은 정상군 2군은 셀레나이트와 생리식염수를 처리한 대조군 3군은 셀레나이트와 아스코빅에시드(ascorbic acid) 1,000 mg/kg를 처리한 군 4군은 셀레나이트와 다시마 추출물 12.5 mg/kg를 처리한 군 5군은 셀레나이트와 다시마 추출물 25 mg/kg를 처리한 군 6군은 셀레나이트와 다시마 추출물 50 mg/kg를 처리한 군 7군은 셀레나이트와 다시마 추출물 100 mg/kg를 처리한 군 8군은 셀레나이트와 다시마 추출물 200 mg/kg를 처리한 군

### 다시마 추출물의 제조 및 시약의 처리

다시마 추출물의 제조는 다시마(laminaria japonica, 인천광역시 옹진군 산(産)) 500 g에 증류수 3 L를 가하여 10 0℃에서 4시간 동안 열수추출하고 필터링한 다음, 추출액을 동결건조 하였다. 상기 동결건조 된 추출물을 생리식염수에 용해시켜 스톡용액(stock solution)을 제조하였다. 산화 스트레스성 백내장 유발은 셀레나이트(sodium selenite, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 15 µmol/kg body weight의 농도로 정상군(1군)을 제외한 모든 군(2~8군)에 생후 11일째에 피하 주사하여 산화스트레스성 백내장을 일으켰다. 이외에 2군(대조군)은 생후 3일째부터 하

루에 한 번씩 생리식염수를 복강 내로 주사하기 시작하여 셀레나이트 주사 후 3주까지 투여하였다. 3군은 생후 3일째부터 하루에 한 번씩 아스코빅에시드(ascorbic acid, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 1,000 mg/kg를 복강 내로 주사하기 시작하여 셀레나이트 주사 후 3주까지 투여 하였다. 4군부터 8군은 생후 3일째부터 하루에 한 번씩 각각 12.5 mg/kg, 25 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg 농도의 다시마 추출물을 복강 내로 주사하기 시작하여 셀레나이트 주사 후 3주까지 투여하였다.

### 백내장 발생의 관찰

셀레나이트 주사 후 4일째 1~8군의 모든 SD rat의 눈을 Slit lamp photo (FS-3, Nikon, Japan)를 이용하여 촬영함으로써 백내장 발생을 기록하였다. 셀레나이트 주사 후 각각 1주, 2주, 3주에 위와 같은 방법으로 모든 군에서 백내장 발생 정도를 촬영하여 기록하였다. 백내장 발생 정도는 Y-봉합선의 혼탁의 정도를 기준으로 핵 백내장의 차이를 분석하였다.

### 항산화 효과 평가 항산화 효소 농도 측정

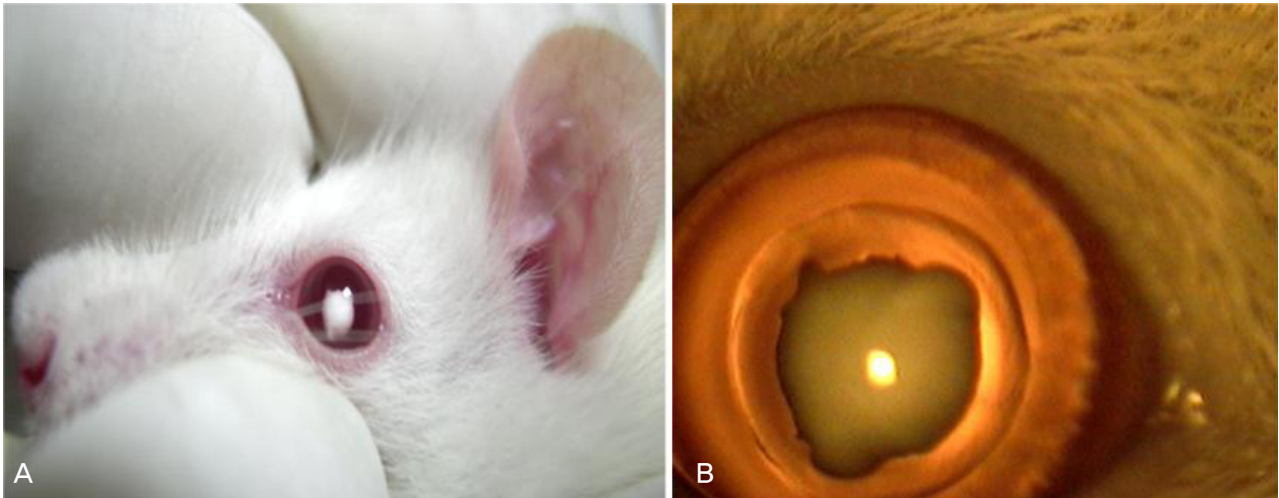
셀레나이트 투여 3주 후 시약 투여가 종료되면 1~8군의 모든 SD rat의 안구를 적출한 후 적출한 눈에서 방수와 수정체만 채취하여 0.2% 트리톤-X(트론-X)를 포함한 1.5% 염화칼륨(KCl) 용액을 이용하여 수정체를 균질화한 후 원심분리기를 이용하여 추출하였다. 추출한 수정체 용액을 각 군별로 나누어 글루타티온 퍼옥시다제(glutathione peroxidase, GPx), 슈퍼옥사이드 디스무타제(superoxide dismutase, SOD)와 말론디알데하이드(malondialdehyde, MDA) 농도를 효소면역측정법(ELISA)으로 측정하였다.

### 다시마의 성분분석

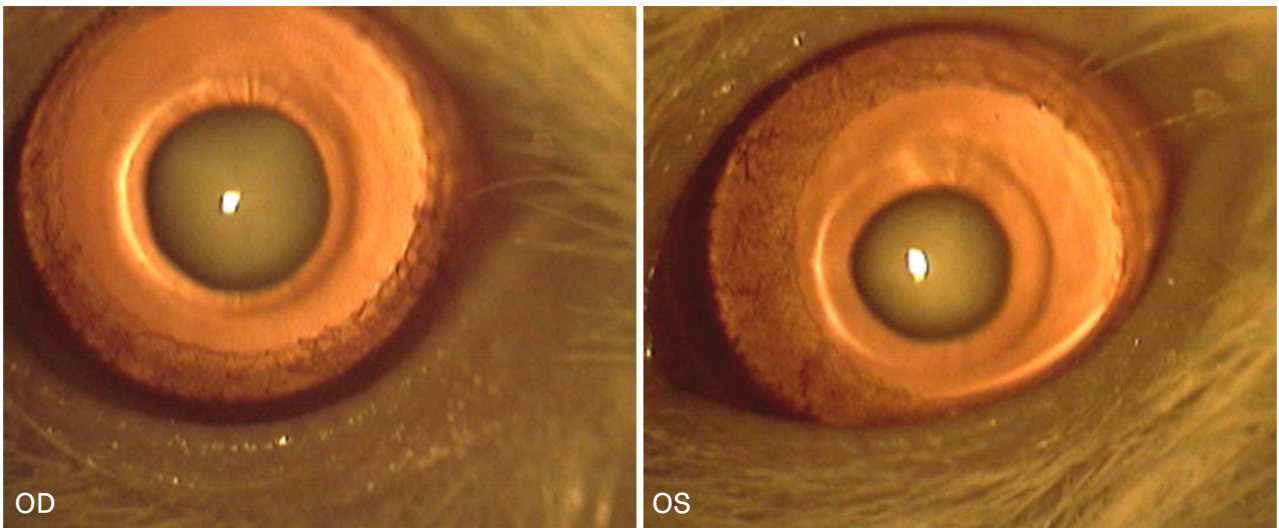
다시마의 항산화 효과를 나타내는 유효한 성분을 알아내기 위해 추출물 시료 중 10.38 mg를 취하여 PICO-tag 방법을 이용하여 가수분해 및 PITC (phenyl isothiocyanate) labeling을 한 다음 시료 10 µl를 취하여 HPLC에 로딩하고 크로마토그램을 얻는 방법으로 다시마의 아미노산 성분 분석 및 그 함량을 알아보았다.

### 통계처리

모든 데이터는 평균±표준편차로 표시하였다. 각 군 간의



**Figure 1.** Development selenite-induced cataract on the 4th day after sodium selenite injection. (A) External photograph of cataract development (B) Slit lamp photograph of cataract development. The central dense nucleus cataract was found after sodium selenite injection.



**Figure 2.** Slit lamp photograph of group 2 (control group) at the final follow-up (3 weeks after sodium selenite injection). Eight of 10 rats developed central nuclear cataract.

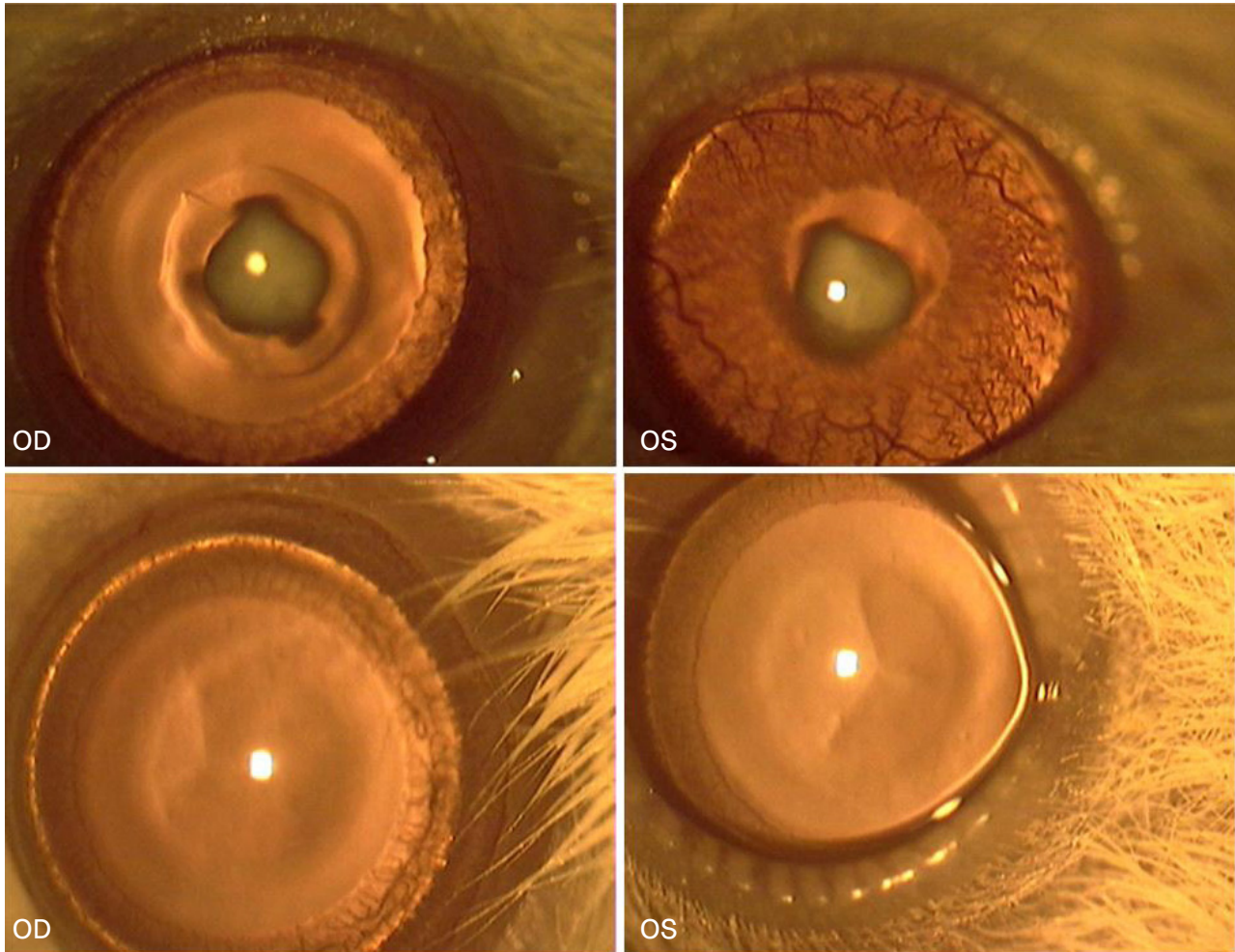
백내장 발생률의 차이는 chi-square test를 이용하였고 각 군에서 효소 농도의 차이는 *t*-test를 이용하여 통계적 유의성을 알아보았다(SPSS for Windows, version 11.0). 각 분석에서 *p*-value가 0.05 미만일 경우 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

## 결 과

### 수정체의 변화와 백내장 발생 결과

셀레나이트 주사 4일 후 모든 군에서 수정체의 변화를 처음으로 관찰하여 사진으로 기록하였다. 수정체 혼탁은 주사

약 4일 후부터 발생하기 시작하였고 중심부에 핵경화 백내장 형태로 발생하였다(Fig. 1). 이후 주사 1주, 2주, 3주 후 차례로 백내장 변화를 관찰하여 세극등현미경 사진으로 기록하였다. 최종 3주 후 백내장 발생의 결과를 정리해 보면, 아무것도 처리하지 않은 1군에서는 한 마리도 백내장이 발생하지 않았다. 셀레나이트 주사 후 생리식염수를 복강 내로 주입한 대조군인 2군에서는 10마리 중 8마리(80%)에서 중심부에 심한 핵경화 백내장이 발생하였다(Fig. 2). 항산화제로 알려진 아스코빅에시드를 주사한 3군에서는 10마리 중 4마리(40%)에서 중심부에 핵경화 백내장이 발생하였다. 다시마 추출물 12.5 mg/kg를 주사한 4군에서는 10마리 중 6마리(60%)에서 중심부 핵경화 백내장이 발생하였다. 다



**Figure 3.** Slit lamp photograph of group 7 (sea tangle extract 100 mg/kg injected) at the final follow-up (3 weeks after sodium selenite injection.). One of 10 rats developed central nuclear cataract as seen in the two top photographs and remaining 9 rats kept clear lenses as seen in the two bottom photographs.

시마 추출물 25 mg/kg를 주사한 5 군에서는 10마리 중 3마리(30%)에서 중심부 핵경화 백내장이 발생하였다. 다시마 추출물 50 mg/kg를 주사한 6군에서는 10마리 중 2마리(20%)에서 중심부 핵경화 백내장이 발생하였다. 다시마 추출물 100 mg/kg를 주사한 7군에서는 10마리 중 1마리(10%,  $p<0.05$ )에서 중심부 핵경화 백내장이 발생하였다(Fig. 3). 다시마 추출물 200 mg/kg를 주사한 8군에서는 오히려 10마리 중 6마리에서 중심부 핵경화 백내장이 발생하였다(Table 1). 모든 군에서 백내장이 발생하지 않은 수정체는 투명한 정상 수정체의 소견을 보였다.

#### 항산화 효과 평가

글루타티온 페록시다제(Glutathione peroxidase, GPx)  
글루타티온 퍼옥시다제의 활성도는 표에서 보듯이 다시마 추출물 50 mg/kg와 100 mg/kg을 투여한 6군( $230.64\pm$

$13.2$  nmol/min/ml)과 7군( $289.27\pm 9.2$  nmol/min/ml)에서 글루타티온 퍼옥시다제의 농도가 대조군인 2군( $207.72\pm 9.6$  nmol/min/ml)보다 유의하게( $p<0.05$ ) 높았다(Table 2).

슈퍼옥사이드 디스뮤타제(Superoxide dismutase, SOD)  
슈퍼옥사이드 디스뮤타제의 활성도는 표에서 보듯이 다시마 추출물 50 mg/kg, 100 mg/kg과 200 mg/kg를 투여한 6군( $50.10\pm 9.3$  U/ml)과 7군( $52.95\pm 8.9$  U/ml) 및 8군( $50.10\pm 7.9$  U/ml)에서 슈퍼옥사이드 디스뮤타제의 농도가 대조군인 2군( $38.15\pm 6.8$  U/ml)보다 유의하게( $p<0.05$ ) 높았다(Table 2).

말론디알데하이드(Malondialdehyde, MDA)

말론디알데하이드는 산화스트레스의 지표로서 표에서 보듯이 다시마 추출물 50 mg/kg와 100 mg/kg을 투여한 6군( $65.4\pm 7.6$  nmol/g)과 7군( $63.2\pm 8.3$  nmol/g)에서 말론



**Table 1.** The incidence of cataract development in each group. Group 7 (sea tangle extract 100 mg/kg) shows the lowest incidence of cataract. As the concentration of sea tangle extract is higher, the ratio of cataract development is getting lower. However, the incidence of cataract is getting high when the concentration is too low or too high (eg. Group 4 and 8)

Experimental groups	No. of rats	Number of rats in which lenticular opacification occurred	Incidence (%)
Group 1	10	0	0
Group 2	10	8	80
Group 3	10	4	40
Group 4	10	6	60
Group 5	10	3	30
Group 6	10	2	20
Group 7*	10	1*	10*
Group 8	10	6	60

All values are expressed as mean±SD.

Group 1=normal rat pups, Group 2=Selenite+intraperitoneal (i.p) Saline injection, Control group, Group 3=Selenite+i.p Ascorbic acid 1,000 mg/kg injection, Group 4=Selenite+i.p Sea tangle extract 12.5 mg/kg injection, Group 5=Selenite+i.p Sea tangle extract 25 mg/kg injection, Group 6=Selenite+i.p Sea tangle extract 50 mg/kg injection, Group 7=Selenite+i.p Sea tangle extract 100 mg/kg injection, Group 8=Selenite+i.p Sea tangle extract 200 mg/kg injection.

\*Statistically significant difference ( $p<0.05$ ) when compared with group 2 (control group).

**Table 2.** Quantitative analysis of antioxidant system enzymes and malondialdehyde in lenses of rats

Experimental groups	Antioxidant enzymes		MDA (nmol/g)
	GPx (nmol/min/ml)	SOD (U/ml)	
Group 1	293.41±12.3	62.20±7.3	60.5±3.7
Group 2	207.72±9.6	38.15±6.8	88.6±5.3
Group 3	210.55±11.2	44.75±8.3	76.2±6.2
Group 4	212.38±7.9	44.84±5.7	72.5±7.4
Group 5	209.91±8.5	46.71±11.6	74.1±6.8
Group 6	230.64±13.2*	50.10±9.3*	65.4±7.6*
Group 7	289.27±9.2*	52.95±8.9*	63.2±8.3*
Group 8	211.72±10.4	50.10±7.9*	69.7±4.8

All values are expressed as mean±SD.

GSH=glutathione peroxidase; SOD=superoxide dismutase; MDA=malondialdehyde.

\*Statistically significant difference ( $p<0.05$ ) when compared with group 2 (control group).

디알데하이드의 농도가 대조군인 2군(88.6±5.3 nmol/g)보다 유의하게( $p<0.05$ ) 낮았다(Table 2).

#### 다시마 추출물의 아미노산 분석 및 함량 측정

다시마 추출물의 아미노산 성분 분석 결과 글루타티온의 주요 구성 성분인 글루타메이트(glutamate), 글라이신(glycine), 시스테인(cysteine)을 포함한 여러 종류의 아미노산이 포함되어 있었다(Table 3).

## 결론

백내장은 다양한 종류가 있으며 백내장 발생에 대한 이론은 아직 완벽히 알려져 있지 않다.<sup>23</sup> 그러나 노인성 백내장의 가장 유력한 원인은 산화 스트레스 때문인 것으로 알

려져 있다.<sup>23</sup> 특히, 활성산소 등에 의한 산화 스트레스가 눈에 작용하면 수정체의 단백질이 산화되어 백내장이 유발될 수 있으며, 고령자일수록 활성산소 등의 산화 스트레스에 대한 방어력이 감소하기 때문에 백내장 유발 가능성이 높아진다.<sup>23,24</sup>

실제로 수정체는 다른 기관에 비하여 높은 농도의 글루타티온(glutathione)을 포함하고 있는데 글루타티온은 활성산소에 대한 가장 중요한 일차방어 물질로 알려져 있으며 생체 내에 폭넓게 분포되어있는 항산화 물질로서, 산화 시 두 분자가 결합하여 디설파이드 결합을 이루게 되고(GSSH) 환원형태의 글루타티온의 경우에는 글루타티온 퍼옥시다제(glutathione peroxidase)의 기질로서 생체 내에 발생한 과산화수소나 과산화기질 등의 과산화물을 분해하며 자신이 산화됨으로써 생체내 미치는 산화장애를 억제하는 중요한 작용을 한다.<sup>26-28</sup> 만약 글루타티온 같은 항산화물질의 농도가 적당하지 않아 수정체 내에서 산화-환원의 균형이 깨져서

**Table 3.** Amino acid analysis of sea tangle extract. Results of amino acid analysis show sea tangle includes glutamate, cysteine and glycine which are components of glutathione

Aminoacid	Concentration (pMol, Sea tangle)
Glutamate	39309.89
Cysteine	235.16
Glycine	9862.75
Aspartic acid	12943.78
Serine	5864.74
Histidine	2170.83
Arginine	2818.02
Threonine	6370.93
Alanine	19275.18
Proline	7635.96
Tyrosine	1915.90
Valine	7717.76
Methionine	2788.05
Isoleucine	4998.95
Leucine	8667.01
Lysine	4834.98

산화 스트레스의 영향을 받으면 단백질의 sulfhydryl group이 산화되어 단백질의 응집과 지질의 과산화(oxidation)가 일어나 백내장을 일으키게 된다.<sup>27</sup> 실제로 노화로 인한 핵백내장(nucleosclerosis)의 악화는 수정체 내의 글루타티온의 농도 감소와 밀접한 연관이 있다.<sup>25,29</sup> 따라서, 산화 스트레스 등이 가해지면 이를 방어하기 위하여 생체 내의 글루타티온은 소비, 고갈되어 정상적인 세포의 기능을 유지하기 어렵게 된다.<sup>29</sup> 글루타티온의 세포내 농도 저하에 의해 발생하는 장애를 치료하기 위하여 경구용 글루타티온 제제가 사용되었으나 분자량이 커서 제대로 흡수되지 못하기 때문에 그 효과가 미비하다는 단점이 있고 현재 국내 안과 분야에서 백내장 발생의 억제를 위하여 글루타티온을 이용한 약품은 없는 실정이다.

이번 연구에서는 다시마 추출물을 적정 농도로 투여한 결과 쥐 실험 모델에서 효과적으로 백내장 발생을 억제하는 것이 발견되었다. Lee et al<sup>20</sup>은 쥐를 이용한 당뇨유발 모델에서 다시마 추출물을 투여하여 혈당을 낮추고 항산화 효과를 보임을 보고하였으며 Kimura et al<sup>30</sup>도 다시마 추출물 중 alginate가 혈당을 낮추고 산화 스트레스로 유발되는 지질의 과산화(lipid peroxidation)를 막는다고 보고하였다. 당뇨유발 모델에서 다시마 추출물을 이용하여 혈당강화 및 항산화 효과가 있다고 발표한 연구결과들이 있지만 이를 백내장을 억제하는데 사용한 연구는 아직까지 발표되지 않았다. 본 연구에서는 다시마 추출물을 12.5 mg/kg, 25 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg으로 다양한 농도로 투여하여 효과적인 항산화 효과를 내는 적정 농도를 알아보았

다. 연구 결과 다시마 추출물 100 mg/kg의 농도에서 10마리의 실험모델 중 1마리에서 백내장이 발생하여 가장 좋은 항산화 효과를 보였다. 그러나 다시마 추출물 200 mg/kg를 투여한 모델에서는 10마리 중 6마리에서 백내장이 발생하여 너무 높은 농도를 투여하면 오히려 항산화 효과가 감소하는 것을 알 수 있었다. 실제로 아스코빅에시드를 이용하여 농도에 따른 항산화 효과를 알아보는 실험에서 최대의 항산화 효과를 보이는 농도 이상의 항산화제를 투여하면 항산화 효과가 감소함을 확인하였다. 또한 12.5 mg/kg 와 25 mg/kg의 다시마 추출물을 투여하였을 때 효과적인 백내장 발생이 이루어 지지 않은 것으로 보아 유효한 항산화 효과를 보이기 위해선 적절한 농도의 항산화제가 투여되어야 함을 알 수 있다. 또한 다시마 추출물의 제조방법에 따라 효과의 차이가 있을 수 있는데 실제로 판매되는 대부분의 다시마 성분이 포함된 기능성 건강식품은 다시마 건조분말을 용매에 녹여 음료 또는 환의 형태로 만들지만 제조사에 따라 방법과 농도가 서로 다르기 때문에 객관적인 효과의 평가 및 비교가 어렵다. 이번 연구에서 사용한 제조방법은 Kim<sup>31</sup> 과 Okumura et al<sup>32</sup>의 연구 결과에 기초하여 해조류 단백질의 수용성 추출 효과가 가장 좋고 무기질 함량이 가장 높게 추출되는 온도인 100℃에서 열수추출한 후 추출물을 동결건조하는 방법을 사용하였다.

항산화 효과를 평가를 위하여 수정체 내의 글루타티온 퍼옥시다제(GPx), 슈퍼옥사이드 디스무타제(SOD), 말론디알데하이드(MDA)의 농도를 측정된 결과 마찬가지로 다시마 추출물 100 mg/kg의 농도에서 글루타티온 퍼옥시다제의 효소 활성도가 실험군 중 가장 높았다. 슈퍼옥사이드 디스무타제의 경우도 마찬가지로 다시마 추출물 100 mg/kg의 농도에서 효소의 활성도가 가장 높았고 체내에서 산화 스트레스로 인한 세포막 손상의 지표인 말론디알데하이드는 다시마 추출물 100 mg/kg 농도에서 가장 낮은 수치를 보여 효과적으로 산화 스트레스를 방어하고 있음을 알 수 있었다.

이번 연구를 통하여 다시마 추출물의 항산화 효과를 최대한으로 나타내는 적절한 농도를 투여하면 효과적으로 산화 스트레스에 대항하여 백내장 발생을 억제할 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 구체적으로 다시마 추출물 중 어떤 성분이 항산화 효과를 나타내는지에 대해서 추가적인 연구가 필요하다. 다시마는 알긴산(alginic acid), 카로테노이드(carotenoids), 후코이단(fucoidan), 잔토펜(xanthophylls), 만니톨(mannitol)과 아직 알지 못하는 생리적 활성화 성분(unknown physiologically active components)이 포함되어 있다고 알려져 있다.<sup>20</sup> 이번 연구에서는 추가적으로 다시마 추출물의 아미노산 성분분석을 실시하였는데 글루타메이트(glutamate), 글라이신(glycine), 시스테인(cystein)을 비

롯한 아미노산이 포함되어 있음을 확인하였다. 실제로 가장 중요한 항산화 효소인 글루타티온은 글루타메이트 (glutamate), 글라이신(glycine), 시스테인(cystein)의 세 가지 아미노산으로 이루어진다.<sup>33</sup> 실제로 몇몇 실험에서 글루타메이트(glutamate), 글라이신(glycine), 시스테인(cystein) 합성용액을 점안 또는 경구로 투여하여 방수 내에서 세 가지 아미노산의 농도가 증가함을 보고하였고<sup>34</sup> 수정체 배양에서 세 가지 아미노산 합성용액을 첨가하여 글루타티온의 농도가 증가함을 보고하였다.<sup>35</sup> 따라서 다시마 추출물 투여 후 글루타티온 농도 증가의 이유로 본 연구는 다시마에 포함된 세 가지 아미노산이 다시마 추출물의 아직 알려지지 않은 유효한 생리 성분의 도움을 받아 효과적으로 방수와 수정체 내에서 글루타티온의 농도를 높였을 것으로 추측하고 있다. 그러나 이를 입증하기 위해서는 추가적인 실험이 필요할 것이다.

백내장은 전 세계적으로 보았을 때 중요한 실명의 원인이며 삶의 질을 떨어뜨리는 중요한 인자이다. 아직까지 백내장을 치료하기 위해서는 수술적 제거가 유일한 방법이다. 따라서 백내장을 예방하거나 억제하는 약물의 개발은 앞으로 보다 중요한 문제가 될 것이다. 향후 추가적인 연구가 필요하지만 본 연구 결과에서 살펴본 바와 같이 다시마 추출물은 안구 내에서 유효한 항산화 효과를 보이며 백내장을 억제하는데 유의한 효과가 있는 것으로 사료된다. 앞으로 임상적 적용에 있어서도 추가적인 연구를 병행하면 큰 의미가 있을 것으로 생각된다.

## 참고문헌

- 1) Congdon NG, Friedman DS, Lietman T. Important causes of visual impairment in the world today. *JAMA* 2003;290:2057-60.
- 2) Resnikoff S, Pascolini D, Etya'ale D, et al. Global data on visual impairment in the year 2002. *Bull World Health Organ* 2004; 82:844-51.
- 3) Abraham AG, Condon NG, West Gower E. The new epidemiology of cataract. *Ophthalmol Clin North Am* 2006;19:415-25.
- 4) Harding J. The epidemiology of cataract. In: Harding J, Ed. *Cataract- biochemistry, Epidemiology and Pharmacology*. Madras: Chapman & Hall, 1991; v. 2. chap. 13.
- 5) Giblin FJ. Glutathione: a vital lens antioxidant. *J Ocul Pharmacol Ther* 2000;16:121-35.
- 6) Spector A. Oxidative stress-induced cataract: mechanism of action. *FASEB J* 1995;9:1173-82.
- 7) Reddan JR, Sevilla MD, Giblin FJ, et al. The superoxide dismutase mimic TEMPOL protects cultured rabbit lens epithelial cells from hydrogen peroxide insult. *Exp Eye Res* 1993;56:543-54.
- 8) Kasuya M, Itoi M, Kobayashi S, et al. Changes of glutathione and taurine concentrations in lenses of rat eyes induced by galactose-cataract formation or ageing. *Exp Eye Res* 1992;54:49-53.
- 9) Sperduto RD, Hu TS, Milton RC, et al. The Linxian cataract studies. Two nutrition intervention trials. *Arch Ophthalmol* 1993; 111:1246-53.
- 10) Mares-Perlman JA, Lyle BJ, Klein R, et al. Vitamin supplement use and incident cataracts in a population-based study. *Arch Ophthalmol* 2000;118:1556-63.
- 11) Elanchezhian R, Ramesh E, Sakthivel M, et al. Acetyl-L-carnitine prevents selenite-induced cataractogenesis in an experimental animal model. *Curr Eye Res* 2007;32:961-71.
- 12) Arnal E, Miranda M, Almansa I, et al. Lutein prevents cataract development and progression in diabetic rats. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2009;247:115-20.
- 13) Yağci R, Aydin B, Erdurmuş M, et al. Use of melatonin to prevent selenite-induced cataract formation in rat eyes. *Curr Eye Res* 2006; 31:845-50.
- 14) Sakthivel M, Elanchezhian R, Ramesh E, et al. Prevention of selenite-induced cataractogenesis in wistar rats by the polyphenol, ellagic acid. *Exp Eye Res* 2008;86:251-9.
- 15) Park JH, Lee YJ, Kim JJ, et al. The effect of pinitol on cataractogenesis and anti-oxidative effect in streptozotocin induced diabetic rats. *J Korean Ophthalmol Soc* 2005;46:1886-93.
- 16) Tang H, Inoue M, Uzawa Y, Kawamura Y. Anti-tumorigenic components of a sea weed, *Eeteromorpha clathrata*. *Biofactors* 2004;22:107-10.
- 17) Park PJ, Kim EK, Lee SJ, et al. Protective effects against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced damage by enzymatic hydrolysates of an edible brown seaweed, sea tangle (*Laminaria japonica*). *J Med Food* 2009;12: 159-66.
- 18) Yan X, Nagata T, Fan X. Antioxidative activities in some common sea weeds. *Plant Foods Hum Nutr* 1998;52:253-62.
- 19) Rupérez P, Ahrazem O, Leal JA. Potential antioxidant capacity of sulfated polysaccharides from the edible marine brown seaweed *Fucus vesiculosus*. *J Agric Food Chem* 2002;50:840-5.
- 20) Lee KS, Choi YS, Seo JS. Sea tangle supplementation lowers blood glucose and supports antioxidant systems in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Med Food* 2004;7:130-5.
- 21) Ošťádalová I, Babický A, Obenberger J. Cataract induced by administration of a single dose of sodium selenite to suckling rats. *Experientia* 1978;34:222-3.
- 22) Shearer TR, David LL, Anderson RS. Selenite cataract: a review. *Curr Eye Res* 1987;6:289-300.
- 23) Lou MF. Redox regulation in the lens. *Prog Retin Eye Res* 2003; 22:657-82.
- 24) Truscott RJ. Age-related nuclear cataract-oxidation is the key. *Exp Eye Res* 2005;80:709-25.
- 25) Harding JJ. Free and protein-bound glutathione in normal and cataractous human lenses. *Biochem J* 1970;117:957-60.
- 26) Santini SA, Marra G, Giardina B, et al. Defective plasma antioxidant defenses and enhanced susceptibility to lipid peroxidation in uncomplicated IDDM. *Diabetes* 1997;46:1853-8.
- 27) Hightower KR, McCready JP. Effect of selenite on epithelium of cultured rabbit lens. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991;32:406-9.
- 28) Kumaran S, Savitha S, Anusuya Devi M, Panneerselvam C. Lcarnitine and DL-alpha-lipoic acid reverse the age-related deficit in glutathione redox state in skeletal muscle and heart tissues. *Mech Ageing Dev* 2004;125:507-12.
- 29) Nishigori H, Lee JW, Iwatsuru M. An animal model for cataract research: cataract formation in developing chick embryo by glucocorticoid. *Exp Eye Res* 1983;36:617-21.

- 30) Kimura Y, Watanabe K, Okuda H. Effects of soluble sodium alginate on cholesterol excretion and glucose tolerance in rats. *J Ethnopharmacol* 1996;54:47-54.
- 31) Kim JP. Development of protein utilization from insoluble algae-I. *Korean J Food Sci Technol* 1974;6:17-23.
- 32) Okumura A, Oishi K, Murata K. Quality of KOMBU, one of the edible seaweeds, belonging to the Laminariaceae-VII. water-extracting conditions of total and amino nitrogens. *Bull Japan Fish Sci Soc* 1963;29:1089-91.
- 33) Bhat KS, John A, Reddy PR, et al. Effect of pigmentation on glutathione redox cycle antioxidant defense in whole as well as different regions of human cataractous lens. *Exp Eye Res* 1991;52: 715-21.
- 34) Lim J, Li L, Jacobs MD, et al. Mapping of glutathione and its precursor amino acids reveals a role for GLYT2 in glycine uptake in the lens core. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:5142-51.
- 35) Hockwin O, Hata N. Changes in the content in reduced and oxydized glutathione in incubated bovine lenses. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 1978;206:151-5.

=ABSTRACT=

## Effect of Glutathione With Sea Tangle Extract on Prevention of Selenite-Induced Cataract Formation in Rats

Ei Tae Kim, MD, Jung Hyub Oh, MD, PhD

Department of Ophthalmology, Inha University School of Medicine, Incheon, Korea

**Purpose:** To evaluate antioxidative and preventive effects of sea tangle extract on selenite-induced cataract formation.

**Methods:** Eighty SD rat pups were randomized into 8 groups. Group 1 received no injection of reagent (normal); Group 2 to 8 received injection of selenite (15  $\mu$ mol/Kg, s.c.) was injected. In group 2 (control) and group 3, normal saline (i.p.) and ascorbic acid (i.p.) was injected on days 3~31. In groups 4~8, sea tangle extract (i.p.) was injected at a concentration of 12.5, 25, 50, 100, 200 mg/kg, respectively. Development of cataract was assessed and photographed weekly under slit lamp. Rat lenses were analyzed for antioxidant enzymes, glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase and malondialdehyde. Furthermore, an amino acid analysis of sea tangle extract was performed.

**Results:** Significant differences ( $p<0.05$ ) were seen in cataract development in group 7. Dense nuclear cataracts developed in 8 of 10 of the control group (group 2); Group 4~8 developed nuclear cataract with proportion of 6/10, 3/10, 2/10, 1/10, and 6/10 rats. In sea tangle injected group, levels of GPx were higher than in the ascorbic acid and control groups. In particular, group 7, injected with 100 mg/kg of sea tangle extract, showed significantly high level of enzyme. Results of the amino acid analysis showed sea tangle includes glutamate-glycine-cysteine, major constituents of glutathione (GSH).

**Conclusions:** The glutamate-glycine-cysteine in sea tangle is supposed to increase the level of lens GSH and this may contribute to lowering cataract development. This study strongly supports the activity of sea tangle as an endogenous antioxidant and anticataract agent.

*J Korean Ophthalmol Soc* 2009;50(10):1555-1562

**Key Words:** Antioxidants, Cataract, Glutathione, Laminaria japonica (Sea tangle)

---

Address reprint requests to Jung Hyub Oh, MD, PhD

Department of Ophthalmology, Inha University School of Medicine

#7-206 Shinheung-dong, Jung-gu, Incheon 400-711, Korea

Tel: 82-32-890-2400, Fax: 82-32-890-2403, E-mail: jhoh9707@hanmail.net