

腎臟 組織에서 蟾螬의 抗酸化 效果의 機轉 研究

東國大學校 韓醫科大學 內科學教室

鄭智天 · 文相元 · 金吉燮

I. 緒論

산소유리기들 (oxygen free radicals)은 신장에서 허혈성 급성신부전, 항생제나 독성물질에 의해 유발되는 급성 신부전 및 사구체신염 등과 같은 급성 및 만성 신장 질환을 일으키는 원인으로 보고되고 있다.¹⁻⁴⁾

생체세포막들은 불포화지방산을 많이 함유하고 있기 때문에 산소유리기들에 의해 쉽게 공격을 받아 지질의 과산화가 발생되게 된다.^{5,6)} 산소유리기들이 직접 작용하거나 지질의 과산화를 통해서 세포막의 투과성을 증가시키고,^{5,7)} 세포막을 통한 물질이동을 억제함으로써 신장기능 장애를 유발하고 있다.^{8,9)} 그러므로 이들을 제거하거나 발생을 억제할 수 있는 약물이 개발된다면 급성 신부전을 방지하거나 예방하는 길이 열릴 수 있을 것이다.

한의학에서 급성 신부전의 치료에는 活血化瘀法도 활용되고 있으며,^{10,11)} 최근의 연구에 의하면 瘀血의 병리 표현과 산소유리기에 의한 손상이 밀접한 관계가 있다고 하여¹²⁾ 活血化瘀 약물이 산소유리기의 작용을 억제할 가능성을 시사하고 있다.

蟾螬는 풍뎡이의 유충인 굼벵이를 건조한 것으로 血分에 入하여 結滯를 消散시키는 효능이 있어 惡血, 血瘀痺氣 등 瘀血의 치료에 사용되어 왔다.¹³⁻¹⁶⁾ 실험 연구에 의하면 蟾螬는 endotoxin을 주입하여 혈전증을 유발시킨 흰쥐에서 prothrombin time을 단축시키고 fibrinogen의 양을 증가시키며 FDP 농도를 감

소시켰으며,^{17,18)} 蟾螬에서 혈전 용해 효소가 분리되고 그 특성도 구명되었다.¹⁹⁾

저자들은 이전 연구에서 蟾螬 추출물이 신장 조직에서 산소유리기에 의한 세포 손상을 방지하는 효과가 있음을 확인한 바 있다.²⁰⁾ 따라서 본 연구에서는 蟾螬 추출물이 어떤 기전으로 항산화 효과를 나타내는지를 밝히기 위하여 세포내에 존재하는 항산화 체계에 대한 蟾螬 추출물의 영향을 조사하였다.

II. 實驗

1. 재료

1) 동물

체중 1.5-2kg 되는 New Zealand 백색 성토를 동물사육장에서 구입하여 암수 구별 없이 사용하였다.

2) 약재

蟾螬(*Holotrichia*)를 시중에서 구입하여 정선한 것을 사용하였다.

2. 방법

1) 검액의 조제

蟾螬 150g을 1,000ml round flask에 넣고 증류수 500ml를 가한 다음 냉각기를 부착하여 2시간 동안 가열 전탕하고 2회 흡인 여과한 여

액을 rotary vacuum evaporator에 넣어 감압 농축시켜 액기스 분말을 얻어 본 실험에 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

2) 신피질 절편의 제작

토끼를 희생시킨 후 신장을 들어내어 냉한 saline을 신동맥내에 주입하여 혈액을 제거한 다음 Stadie-Riggs microtome으로 약 0.3 - 0.5 mm 두께의 신피질 절편을 만들어 사용하였다.

3) 신피질 절편에서 세포 손상 측정

H₂O₂에 의한 신장 조직 손상을 유발하기 위하여 신피질 절편을 37°C에서 60분 동안 H₂O₂에 노출시켰다. 세포 손상 정도는 lactate dehydrogenase (LDH) 유리를 측정하여 판정하였는데, 적당한 조건에서 incubation한 세포들을 용액으로부터 분리한 후 세포를 마쇄시켜 incubation 용액과 마쇄된 조직액 각각 50 μ l를 취하여 LDH 활성을 LDH assay kit (Sigma Chemical)를 이용하여 측정하였다.

4) Lipid peroxidation 측정

세포막 지질의 과산화 정도는 그 산물인 malondialdehyde (MDA) 양을 Uchiyama와 Mihara 방법²¹⁾으로 측정하여 평가하였다. 간단히 설명하면, 신장 조직을 차가운 1.15% KCl 용액 (5% wt/vol) 속에서 파쇄하였다. 이 조직 파쇄 균질액 0.5 ml에 1% 인산 용액 3 ml과 0.6% thiobarbituric acid 용액 1 ml을 첨가하여 끓는 물에서 45분간 가열하였다. n-Butanol 4 ml을 첨가하여 완전히 섞은 다음 2000 g에서 20분간 원심분리한 후, 상층액의 흡광도를 536와 520 nm에서 측정하였다. MDA 값은 단백질 1 mg 당 nmoles로 표시하였다. 단백질 농도는 Bradford²²⁾의 방법으로 측정하였다.

5) Glutathione (GSH) 함량 측정

Glutathione (GSH) 함량은 Anderson의 방법²³⁾으로 측정하였다. 0.248 mg/ml NADPH

(143 mM sodium phosphate, 6.3 mM Na₂-EDTA, pH 7.5를 함유하고 있는) 용액 700 μ l, 6 mM 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) 용액 100 μ l와 증류수 198 μ l를 cuvette에 넣어 30°C에서 15분간 데운후 시료 2 μ l를 넣고 섞은 다음 266 U/ml GSSG reductase 10 μ l를 첨가하여 412 nm에서 흡광도의 변화를 관찰하였고 단위는 μ g/mg protein으로 나타내었다.

6) Catalase 활성 측정

Catalase 활성은 Aebi의 방법²⁴⁾에 따라 H₂O₂의 분해 정도를 spectrophotometer로 추적하여 측정하였다. 신장 절편을 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.4)에서 파쇄시켜 Triton X-100을 0.02% 되게 첨가한 후 40,000 g 에서 30분간 원심분리하여 상층액을 취하였으며, 2 ml의 상층액에 30 mM H₂O₂ 1 ml을 첨가하여 반응을 시작시키고 240 nm에서 30초 동안 흡광도를 측정하였다. 상층액의 단백질 농도를 측정하여 catalase 활성은 nmole/min/mg protein으로 나타내었다.

7) Glutathione peroxidase 활성 측정

Glutathione peroxidase 활성 측정은 Flohe와 Gunzler의 방법²⁵⁾으로 행하였는데, 간단히 설명하면, 토끼 신장절편을 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) 용액에서 파쇄시켜 사용할 때까지 4°C에 보관하였고 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) 500 μ l, 시료 100 μ l, 2.4 U/ml glutathione reductase 100 μ l, 100 mM GSH 100 μ l를 semi-microcuvette에 넣어 37°C에서 10분간 preincubation하였다. 1.5 mM NADPH 용액을 100 μ l 넣어 hydroperoxide에 무관한 NADPH 소모를 약 3분 동안 기록한다. 1.5 mM H₂O₂ 100 μ l를 첨가하여 340 또는 365 nm에서 흡광도의 감소를 약 5분 동안 관찰하였다. 단위는 nmol/min/mg protein으로 표시하였다.

8) Superoxide dismutase (SOD) 활성 측정

Xanthine-xanthine oxidase와 superoxide에 의해 ferricytochrome c가 환원되는 반응을 superoxide dismutase (SOD)가 억제시키는 원리를 이용하여 그 활성을 측정하였다.²⁶⁾ 실험편을 50 mM phosphate buffer (pH 7.8) 용액에서 파쇄시켜 사용할 때까지 4°C에 보관하며 아래의 실험은 실온에서 행하였으며, 3 ml 용량의 시험관에 incubation 용액 (50 μ M xanthine, 0.1 mM NaOH, 20 μ M cytochrome c, 0.1 mM EDTA, 50 mM phosphate buffer, pH 7.8)을 2.9 ml 씩 넣고 시료 (증류수, SOD-standard 또는 tissue homogenate)를 50 μ l 씩 첨가하였다. 0.1 mM EDTA용액에 0.2 U/ml xanthine oxidase를 만들어 50 μ l 씩 첨가하고 섞은 후 550 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 그 단위는 nmol/min/mg protein으로 표시하였다.

9) 자료정리 및 통계처리

성적은 평균치±표준오차로 나타내었으며, 평균치간의 유의성은 Student's t-test를 이용하여 검정하였고 p 값이 0.05 미만일 때 유의한 것으로 판정하였다.

III. 成績

1. H₂O₂에 의한 세포 손상과 지질의 과산화에 대한 蟾螬 추출물의 효과

蟾螬 추출물이 H₂O₂에 의한 세포 손상과 지질의 과산화에 대한 영향을 관찰하여 그림 1 과 2에 나타내었다. 50 mM H₂O₂를 처리했을 때 LDH 유출은 정상 조직의 4.15±0.88%에서 18.39±3.12%로 약 4.5배 증가함으로써 세포 손상이 명백함을 알 수가 있었다. 여기에 5% 蟾螬 추출물을 첨가하였을 때 LDH 유출은 거의 정상 수준인 5.29±1.97%까지 감소하였다.

(그림 1)

그림 2는 지질의 과산화에 대한 蟾螬의 영향을 조사한 것으로, 50 mM H₂O₂를 처리했을 때 지질의 과산화는 298.34±35.39 pmole MDA/mg protein에서 884.92±45.29 pmole MDA/mg protein으로 증가하였으며, 5% 蟾螬 추출물을 첨가하였을 때 지질의 과산화는 354.19±32.84 pmole MDA/mg protein으로 정상 수준까지 감소하였다.

2. 세포내 glutathione(GSH) 농도에 대한 蟾螬의 효과

蟾螬 추출물이 oxidant에 의한 세포 손상을 방지하는 작용이 세포내 GSH의 농도를 변화시켜 나타나는지를 확인하기 위하여 정상 조직과 H₂O₂를 처리한 조직에서 GSH 농도 변화에 대한 蟾螬 추출물의 효과를 조사하였다. 그림 3에서 보는 바와 같이 H₂O₂를 처리하지 않은 정상 조직에 5% 蟾螬 추출물을 첨가하였을 때 세포내 GSH 농도는 1.08±0.23 μ mole/g wet wt.에서 0.90±0.19 μ mole/g wet wt.로 유의한 변화를 보이지 않았다. 신장 조직에 50 mM H₂O₂를 처리한 결과 세포내 GSH 농도는 0.74±0.21 μ mole/g wet wt.로 통계적인 유의성은 없으나 감소하는 경향을 보였고, 여기에 5% 蟾螬 추출물이 첨가되었을 때 0.77±0.18 μ mole/g wet wt.로 유의한 변화를 보이지 않았다.

3. Catalase 활성에 대한 蟾螬의 영향

정상조직에 5% 蟾螬 추출물을 첨가하였을 때 효소의 활성은 7.73±0.81 mmole/mg/min에서 8.59±0.89 mmole/mg/min로 유의한 변화를 보이지 않았으나 H₂O₂를 처리한 조직에 蟾螬를 첨가하였을 때 효소의 활성이 4.96±0.60에서 9.01±1.29 mmole/mg/min로 H₂O₂에 의해 억제되었던 효소의 활성이 정상 수준까지 회복되었다.(그림 4)

4. Glutathione peroxidase 활성에 대한 蟾蜍의 영향

정상 조직에서 5% 蟾蜍 추출물을 처리했을 때 72.50 ± 2.40 에서 103.62 ± 6.66 nmole/mg/min로 증가하였으나 유의성은 없었다. 50 mM H_2O_2 를 처리했을 경우 효소의 활성이 72.50 ± 2.40 에서 80.96 ± 6.94 nmole/mg/min로 유의한 변화를 보이지 않았으나, 5% 蟾蜍 추출물을 첨가하였을 때 145.22 ± 10.87 nmole/mg/min로 유의한 증가 현상을 보였다.(그림 5)

5. Superoxide dismutase 활성에 대한 蟾蜍의 영향

蟾蜍 추출물이 superoxide dismutase (SOD)의 활성에 어떤 영향을 미치는 지를 확인하기 위하여 정상 조직과 50 mM H_2O_2 를 처리한 조직에 5% 蟾蜍 추출물을 첨가하여 SOD의 활성 변화를 조사하였다. 그림 6에서 보는 바와 같이 정상조직에서나 oxidant를 처리한 조직에서 SOD의 활성은 蟾蜍에 의하여 영향을 받지 않았다.

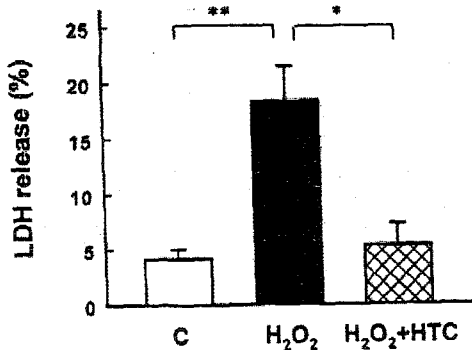


Fig. 1. Protective effect of *Holotrichia* (HTC) against H_2O_2 -induced lactate dehydrogenase (LDH) release in renal cortical slices. Slices were incubated with

various 50 mM H_2O_2 at $37^\circ C$ for 60 min in the presence and absence of 5% *Holotrichia* (HTC). Data are mean \pm SE of four experiments. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

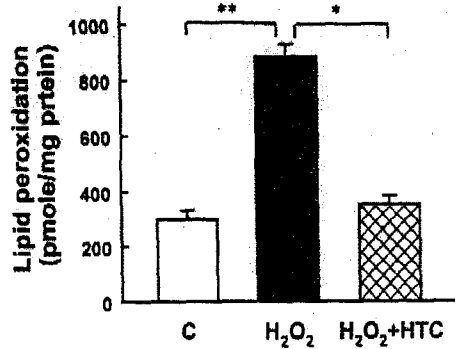


Fig. 2. Protective effect of *Holotrichia* (HTC) against H_2O_2 -induced lipid peroxidation in renal cortical slices. Slices were incubated with 50 mM H_2O_2 at $37^\circ C$ for 60 min in the presence and absence of 5% *Holotrichia* (HTC). Data are mean \pm SE of four experiments. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

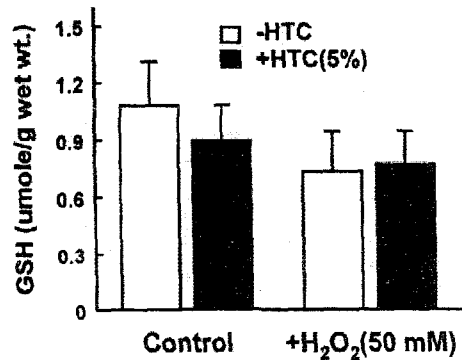


Fig. 3. Effect of *Holotrichia* (HTC) on glutathione (GSH) content in renal cortical slices. Slices were treated with 50 mM H_2O_2 at $37^\circ C$ for 60 min in the presence and absence of 5% HTC. Data are mean \pm SE of four experiments.

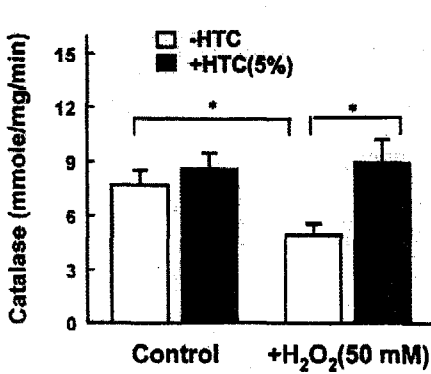


Fig. 4. Effect of *Holotrichia* (HTC) on catalase activity in renal cortical slices. Slices were treated with 50 mM H₂O₂ at 37°C for 60 min in the presence and absence of 5% HTC. Data are mean±SE of four experiments. *p<0.05.

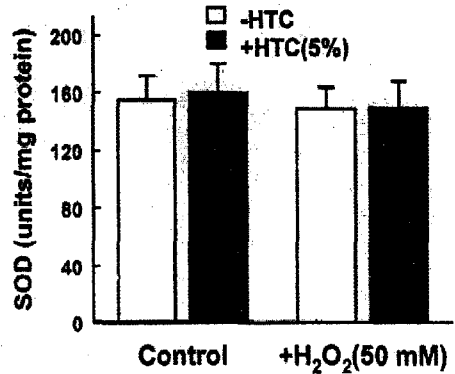


Fig. 6 Effect of *Holotrichia* (HTC) on superoxide dismutase (SOD) activity in renal cortical slices. Slices were treated with 50 mM H₂O₂ at 37°C for 60 min in the presence and absence of 5% HTC. Data are mean±SE of four experiments.

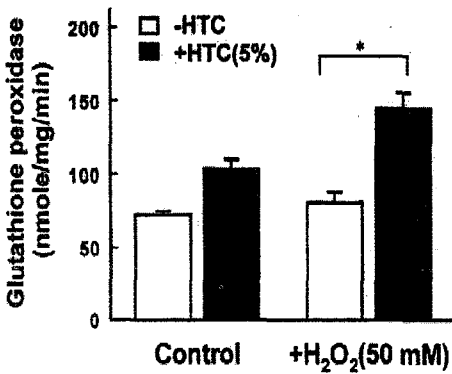


Fig. 5. Effect of *Holotrichia* (HTC) on glutathione peroxidase activity in renal cortical slices. Slices were treated with 50 mM H₂O₂ at 37°C for 60 min in the presence and absence of 5% HTC. Data are mean±SE of four experiments. *p<0.05.

IV. 考察

최근에 독성물질들이 oxidant를 발생시켜 신부전을 유발하고 있음이 밝혀짐으로써²⁷⁻³⁰⁾ oxidant에 의한 신부전의 중요성이 제시되고 있다. 신부전은 생명에 심각한 영향을 미치기 때문에 이를 방지하기 위한 여러 방법들이 많이 시도되었고, 특히 독성물질에 의한 신부전을 방지할 수 있는 약물의 개발이 관심의 대상으로 되었다.³¹⁾ 그러나 지금까지 효과적인 방법을 찾지 못하고 있을 뿐만 아니라 신부전을 방지할 수 있는 약물도 부작용 때문에 임상적으로 실용화되는 데는 어려움이 많은 것으로 알려졌다.^{31,32)} 이러한 점을 고려할 때 합성된 약물보다 자연에서 얻을 수 있는 약물을 이용함으로써 부작용 없이 급성 신부전을 방지할 수 있는 방법이 절실히 요구되고 있다.

급성 신부전은 한의학에서 關格, 癰閉, 浮腫, 蓄血, 中毒, 虛損 등의 병증에 속하는 것으로 치료는 利水, 解毒, 清熱, 通泄, 健脾, 補腎 및

活血化癥法 등이 활용되고 있다.^{17,18,33,34)} 活血化癥法에 의한 급성 신부전의 치료에는 丹參, 牛膝, 當歸, 桃仁, 紅花 등의 약물이 사용되고 있으며 최근에는 水蛭, 全蝎, 地龍 등의 蟲類 약물도 활용되고 있다.^{17,18)} 특히 蟾螬는 강력한 破血祛瘀 효과를 가지고 있기에¹⁰⁻¹³⁾ 급성 신부전의 치료에 유효할 수 있을 것으로 생각된다.

Oxidant들이 세포 손상을 일으키는 기전중의 하나는 지질의 과산화이기 때문에^{35,36)} 일반적으로 지질의 과산화 정도를 측정하여 oxidant에 기인된 세포 손상인 지를 확인하고 있다. 따라서 oxidant에 의한 세포 독성을 방지하는 약물들은 oxidant에 의한 지질의 과산화를 감소시키는 효과를 가지고 있음은 잘 알려진 사실이다.

본 실험에서도 oxidant인 H₂O₂에 의한 LDH 유출 정도가 지질의 과산화와 일치함으로써 H₂O₂가 신장 조직에서 지질의 과산화를 일으켜 세포 손상을 유발하고 있음을 보였다. 이러한 oxidant에 의한 세포 손상을 蟾螬 추출물이 강력하게 억제하였으며, 지질의 과산화에 대한 효과도 세포 손상에 대한 효과와 비슷하게 감소시킴으로서 蟾螬가 신장 조직에서 지질의 과산화를 억제함으로써 세포 손상을 방지하는 것으로 해석된다.

약물이 여러 가지 방법으로 항산화 효과를 나타낼 수 있겠으나 내재성으로 존재하는 항산화 물질이나 항산화 효소의 활성을 증대시켜 나타낼 수 있다. 따라서 본 연구에서 蟾螬가 세포의 내재성 항산화 능력을 증대시킴으로서 oxidant에 의한 신장 조직 손상을 방지하는 지를 관찰하였다.

GSH는 여러 독성 물질에 의한 세포 손상을 방지하는 해독 효과를 나타낼 뿐만 아니라, 세포내에서 항산화제 역할을 하고 있기 때문에 어떤 약물이 세포내 GSH의 농도를 증가시키게 되면 oxidant를 포함한 여러 독성 물질에 대한 방어 능력이 증가됨은 잘 알려져 있다.^{37,38)} 蟾螬 추출물은 정상 조직에서나 H₂O₂를

처리한 조직에서 GSH의 농도에 유의한 변화를 나타내지 못하였다.

세포내 존재하는 항산화 효소로 H₂O₂를 분해하여 제거하는 작용을 가진³⁹⁾ catalase와 glutathione peroxidase 활성에 어떤 영향을 미치는 지를 조사한 결과 H₂O₂를 처리한 조직에 비하여 蟾螬 추출물을 첨가한 후 H₂O₂를 처리한 조직에서 catalase 및 glutathione peroxidase의 활성이 유의하게 증대되었다.

이러한 항산화 효소의 활성 증가가 효소 단백질의 합성 증가로 인해 나타났는 지 또는 효소 활성 자체를 증가시켰는 지는 본 실험의 결과로서는 알 수가 없다. 그러나 본 실험의 결과는 蟾螬가 세포의 내재성 항산화 효소의 활성을 증가시켜 oxidant에 의한 세포 손상을 방지하고 있음을 분명히 보여주고 있다.

본 연구 결과 蟾螬 추출물이 신장 조직에서 지질의 과산화를 억제하여 oxidant에 의한 세포손상을 방지함으로써 천연산 항산화제로 활용될 수 있을 가능성을 제시하고 있다. 또한 본 실험의 결과는 蟾螬 추출물의 항산화 효과가 부분적으로 내재성 항산화 효소의 활성 증가에 기인하는 것으로 나타났다.

V. 結 論

蟾螬가 신장 조직에서 oxidant에 의한 지질의 과산화 및 세포 손상을 방지하는 작용이 어떤 기전에 기인하는 지를 확인하기 위하여 심피질 절편을 H₂O₂에 노출시켜 지질의 과산화와 세포 손상을 유발시킨 후 세포내 존재하는 항산화 물질인 glutathione과 항산화 효소들의 활성 변화를 조사하였다.

신장 조직을 50 mM H₂O₂에 노출시켰을 때 세포 손상 및 지질의 과산화가 유발되었으며, 이러한 변화는 5% 蟾螬 추출물에 의해 완전히 방지되었다. 50 mM H₂O₂는 세포내 glutathione 함량을 통계적으로 유의성은 없으

나 감소시키는 경향을 보였고, 5% 蟾螬 추출물은 정상 조직이나 H_2O_2 를 처리한 조직에서 glutathione 함량을 변화시키지 못하였다. 신장 조직에 50 mM H_2O_2 를 처리한 결과 catalase 활성이 유의하게 감소하였으며, 이러한 감소는 5% 蟾螬 추출물의 첨가로 정상 수준까지 회복되었다. 50 mM H_2O_2 를 처리한 조직에서 glutathione peroxidase의 활성이 유의하게 증가되었다. 그러나 superoxide dismutase 활성은 蟾螬에 의해 영향을 받지 않았다.

이상의 결과를 종합할 때 蟾螬는 세포내 내재성 항산화 효소의 활성을 증가시켜 oxidant에 의한 세포 손상과 지질의 과산화를 방지하고 있음을 알 수가 있다.

參考文獻

1. Paller MS and Neumann TV: Reactive oxygen species and rat renal epithelial cells during hypoxia and reoxygenation. *Kid Int*, 40:1041-1049, 1991.
2. Walker PD and Shah SV: Evidence of the role of hydroxyl radical in gentamicin-induced acute renal failure in rats. *J Clin Invest*, 81:334-341, 1988
3. Rehan A, Johnson KJ, Wiggins RC, Kunkel RG and Ward PA: Evidence for the role of oxygen free radicals in acute nephrotoxic nephritis. *Lab Invest*, 51:396-403, 1984.
4. Weinberg JM : The biology of ischemic renal injury. *Kid Int*, 39:479-500, 1991.
5. Chance B, Sies H and Boveris A: Hydroperoxide metabolism un mammalian organs. *Physiol Rev*, 59:527-605, 1979.
6. Mead JF : Free radical mechanisms of lipid damage and consequences for cellular membranes, IN:Free radical in Biology(W Pryor, ed), pp.51-68, Academic Press, New York, 1976.
7. Arstila AU, Smith MA and Trump BF: Microsomal lipid peroxidation: Morphological characterization. *Science*, 175:530-533, 1972.
8. Koko K, Kato M, Matsuoka T and Mustapha A: Depression of membrane-bound Na^+-K^+ -ATPase activity induced by free radicals and by ischemia of kidney. *Am J Physiol*, 254:C330-C337, 1988.
9. Andreoli SP, McAteer JA, Seifert SA and Kempson SA: Oxidant-induced alterations in glucose and phosphate

- transport in LLC-PK₁ cells. Mechanisms of injury. *Am J Physiol*, 265:F337-F384, 1993.
10. 張 天, 陳以平 主編 : 實用中醫腎病學, 上海中醫學院出版社, p.638, 649, 1990.
 11. 曹希和 : 急性腎功能衰竭的中醫臨床研究, 中醫雜誌 (6):54-56, 1988.
 12. 許沛虎 外 : 中醫藥研究中有關自由基研究近, 中西醫結合雜誌 15(3):185-188, 1995.
 13. 이상인 : 본초학, 서울, 의약사, p. 471, 1975.
 14. 李時珍 : 本草綱目, 高文社, 서울, p.1300, 1975.
 15. 唐慎微 : 重修政和經史證類備用本草, 人民衛生出版社, 北京, p.428, 1986.
 16. 江蘇中醫學院 編 : 中藥大辭典, 上海科學技術出版社, p.2379, 1988.
 17. 문성환 외 : 혈전증에 미치는 蟾蜍의 효능에 관한 실험적 연구, 경희의학, 8(2):177-181, 1992.
 18. 안규석 : 구인, 수질, 蟾蜍 및 오공이 혈전증에 미치는 영향, 대한한의학회지, 11(2): 92-101, 1990.
 19. 홍시내 : 蟾蜍의 혈전 용해 효소 분리 및 그 특성에 관한 연구, 동국대학교 대학원 석사학위 논문, 1996.
 20. 문상원, 정지천 : 蟾蜍가 oxidant에 의한 신장 조직 손상에 미치는 효과, 한방성인병학회지, 3:93-102, 1997.
 21. Uchiyama M and Mihara M: Determination of malonaldehyde precursor in tissue by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem*, 86: 271-278, 1978.
 22. Bradford MM: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72: 248-524, 1976.
 23. Anderson ME: Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. *Methods Enzymol*, 113:548-554 1985.
 24. Aebi H.: Catalase in vitro. *Methods Enzymol*, 105: 121-126, 1984.
 25. Flohe L and Gunzler WA: Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol*, 105:114-121, 1984.
 26. Flohe L and Otting F: Superoxide dismutase assays. *Methods Enzymol*. 105: 93-104, 1984.
 27. Sugihara K, Nakano S, Koda M, Tanaka K, Fukuishi N and Gemba M: Stimulatory effect of cisplatin on production of lipid peroxidation in renal tissues. *Jap J Pharmacol*, 43:247-252, 1987.
 28. Walker PD and Shah SV: Evidence of the role of hydroxyl radical in gentamicin-induced acute renal failure in rats. *J Clin Invest*, 81:334-341, 1988.
 29. Shah SV and Walker PD: Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in glycerol-induced acute renal failure. *Am J Physiol*, 255:F438-F443, 1988.
 30. Nath KA, Croatt AJ, Likely S, Behrens TW and Warden D: Renal oxidant injury and oxidant response induced by mercury. *Kid Int*, 50:1032-1043, 1996.
 31. Borch RF and Markman M: Biochemical modulation of cisplatin toxicity. *Pharmacol Ther*, 41:371-380, 1989.
 32. Halliwell B, Gutteridge JMC and Cross CE: Free radicals, antioxidants, and human disease: Where are we now? *J Lab Clin Med*, 119:598-620, 1992.
 33. 張大寧 : 實用中醫腎病學, 天津, 中國醫藥科學技術出版社, pp.473-485, 1990.
 34. 두호경 : 동의신계학, 서울, 동양의학연구원, pp.514-527, 1990.
 35. Farber JL, Kyle ME and Coleman JB:

- Biology of diseases: Mechanisms of cell injury by activated oxygen species. *Lab Invest*, 62:670-679, 1990.
36. Sies H: Biochemistry of oxidant stress. *Angew Chem Int Ed*, 25:1058-1071, 1986.
 37. Meister A and Anderson ME: Glutathione. *Annu Rev Biochem*, 52:711-760, 1983.
 38. Starke, PE and Farber JL: Endogenous defence against the cytotoxicity of hydrogen peroxide in cultured rat hepatocytes. *J Biol Chem*, 260:86-92., 1985.
 39. Ross D and Moldeus P: antioxidant defence systems and oxidative stress. In: *Membrane Lipid Oxidation*, ed. by Vigo-Pelfrey C., Vol II, pp.151-170, CRC Press, Boston, 1993.

ABSTRACT

Underlying mechanism of antioxidant action of
Holotrichia in renal tissues

Ji-cheon Jeong, Sang-won Moon, Kil-seop Kim
Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine,
Dong-guk University

This study was carried out to examine mechanisms by which *Holotrichia* (HTC) produces protective effect against renal cell injury. HTC extraction (5%) prevented H₂O₂(50 mM)-induced LDH release and lipid peroxidation in renal cortical slices. When slices were treated with 5% HTC extraction, cellular glutathione content and the superoxide dismutase activity were not altered in control and H₂O₂-treated tissues. When slices were treated with 50 mM H₂O₂, the catalase activity was significantly inhibited, which was completely restored by addition of 5% HTC. Treatment of slices with 5% HTC extraction increased the glutathione peroxidase activity in H₂O₂-treated tissues.

These results suggest that HTC prevents oxidant-induced cell injury and lipid peroxidation by increasing the activities of catalase and glutathione peroxidase in renal cortical slices.

Key Words : *Holotrichia*, LDH, lipid peroxidation, catalase, glutathione peroxidase