

녹차 건분이 급성 알코올 투여받은 9개월령 흰쥐의 뇌 부위별 항산화능에 미치는 영향*

류 선 미 · 장 남 수[§]

이화여자대학교 가정과학대학 식품영양학과

Antioxidative Effects of Green Tea Powder Diet Against Ethanol-Induced Oxidative Damage in 9 Month Old Rat Brain Regions*

Ryu, Sun Mi · Chang, Namsoo[§]

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

ABSTRACT

Present study investigates the protective effects of green tea against acute ethanol administration on lipid peroxidation and antioxidant system in various regions of rat brain: cortex, cerebellum, striatum and hippocampus. The following parameters were examined: malondialdehyde(MDA) concentrations and activities of superoxide dismutase(SOD), catalase and glutathione peroxidase(GSH-Px). Male Sprague-Dawley rats of 9 month old were given control diets or those containing 1% green tea powder for 4 weeks, and at the end of feeding each diet group was received acute ethanol(5g/kg body weight) or equicaloric sucrose solution administration. Results indicated that green tea powder significantly decreased malondialdehyde(MDA) levels in the striatum(81.85nmol/g tissue) and hippocampus(71.68nmol/g tissue), compared to control group(145.68nmol/g tissue in the striatum, 119.04nmol/g tissue in the hippocampus). Also, a significant decrease was observed in the striatum of green tea-ethanol treated group compared to control group. Green tea significantly blocked an ethanol-induced catalase activation in the hippocampus, which means an ethanol administration drew a significant increase only in control diet groups. In conclusion, these results suggest that moderate consumption of green tea leaves can have protective effects against ethanol induced oxidative stress on various regions of rat brain, by significantly reducing MDA concentrations in the striatum and hippocampus and inhibiting ethanol induced catalase activation in the hippocampus. (*Korean J Nutrition* 35(1) : 24~29, 2002)

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

서 론

조직의 산화적 손상은 만성질환과 중추신경계 장애의 주요기전으로 알려져 있다.¹⁾ 여러 신체 기관 중 뇌는 체내 산소의 20%를 소비함에도, 항산화 성분들의 함량은 낮은 반면 산화되기 쉬운 불포화 지방산과 카테콜라민류의 함량이 높아서^{2,3)} 다른 기관에 비하여 산화적 손상을 더 많이 받는다.⁴⁾ 체내 산화 반응에 의하여 생성된 지질 과산화물이나 DNA 산화물은 조직의 연령증가와 함께 증가하며,⁵⁾ 세포의 기능이상과 피사를 초래하여 마침내 중추신경계의 기능퇴

화를 유도한다.^{6,7)} 에탄올에 의한 중추신경계 손상 또한 조직의 산화적 손상에 의한 것으로 알려져 있다. 생체 내외 생체 외에서 모두 알코올에 의하여 산화적 유리의 합성이 증가한 연구보고들은 이를 잘 뒷받침한다.⁸⁾ Kaufmann 등⁹⁾의 실험에서 24개월령 쥐의 소뇌와 해마에서 항산화 기능을 하는 단백질(Bcl-2)의 합성이 증가하며, 이 단백질은 *N-tert-butyl-α-phenylnitron*(PBN)으로 산화적 자극을 가하였을 때 감소한다고 보고하였다. 이러한 연구 결과들은 노화와 연관된 중추신경계 손상에 산화적 기전이 작용함을 시사하며 이에 대하여 항산화 성분들이 보호기능을 할 수 있음을 시사한다.^{9,10)}

최근 많은 연구들에 의하여 녹차의 항산화 기능,^{4,6)} 항암 기능,^{5,9)} 항염증¹¹⁾ 기능이 알려지면서 이에 대한 관심이 증가하고 있다.^{11,12)} Lin 등⁹⁾의 실험에 의하면 녹차 추출물의 epigallocatechin gallate(EGCG) 성분이 철분으로 산화

접수일: 2001년 7월 3일

채택일: 2002년 1월 2일

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

[§]To whom correspondence should be addressed.

적 손상을 가한 뇌 조직에서 항산화 효과를 나타낸다고 보고하였으며, Guo 등¹⁵⁾은 EGCG가 synaptosome에서의 과산화 지질물 생성을 감소시킨다고 보고하였다. 본 저자들의 선행 연구¹⁶⁾에서, 1% 녹차 건분 식이를 4주간 공급받은 1개월령 흰 쥐의 striatum 내 MDA 함량이 낮았고, hippocampus 내 GSH-Px 활성이 유의적으로 높은 것으로 나타났다. 이러한 연구결과들은 녹차의 항산화 기능이 중추 신경계를 보호할 수 있음을 의미하며, 녹차의 항산화 기능에 대한 많은 연구가 대부분 생체 외에서 이루어진 점에서 녹차의 중추 신경계에서의 생체 내 항산화능과 또한 이에 대한 연령에 대한 영향 연구의 의미가 크겠다.

따라서, 본 연구에서는 녹차 분말 첨가 식이가 급성 알코올 투여에 의해 산화적 스트레스를 받은 뇌 조직의 항산화 효소와 과산화물 수준에 미치는 효과가 연령이 다른 동물에서는 어떻게 나타나는지를 선행 실험 결과와 비교하여 보고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험 동물 및 식이

실험 동물은 평균체중 539g(평균 9개월령)의 Sprague-Dawley종 수컷 32마리였다. 이들을 실험 시작 전 1주일간 고형배합사료(삼양사료)로 적응시킨 후, 난괴법으로 녹차군과 대조군의 두 군으로 나누어 실험 식이와 물을 제한 없이 공급하였다. 실험 동물은 한 마리씩 stainless steel cages에서 사육되었고, 사육장의 명암은 12시간 주기, 온도는 22~25℃, 습도는 40~50%로 유지하였다.

실험에 사용된 녹차군(Green tea)과 대조군(Control)의 식이는 선행연구¹⁶⁾와 같이 제조되었다. 실험 식이로 4주간 사육한 후, 희생 12 시간 전에 설탕물(Control group, Green tea group) 또는 20% ethanol 용액(5g/kg body weight, Control + ethanol treated group, Green tea + ethanol treated group)을 gastric intubation 방법으로 투여하였다.

2. 실험 동물의 희생 및 조직의 채취

모든 실험 동물은 아침 9~11시의 동일한 시간대에, 에테르로 가볍게 마취한 후 단두에 의하여 희생되었다. 단두 직후 뇌 조직을 적출하고, 대뇌(cortex), 소뇌(cerebellum), 선조체(striatum), 해마(hippocampus)의 4개의 부위로 분리한 후 즉시 -70℃로 얼렸다.

3. 시료의 생화학적 분석

뇌 조직의 생화학적 분석방법은 선행 연구¹⁶⁾와 동일한 방

법으로 시행하였다.

1) Malondialdehyde(MDA) 측정

뇌 조직의 malondialdehyde(MDA) 함량 측정은 Rehnrona 등¹⁷⁾방법을 변형하여 사용하였다. 뇌 부위 조직에 10 volume의 ice cold 0.1M sodium phosphate buffer에 균질화시킨 후에 50mM FeSO₄, 0.5mM butylated hydroxytoluene(BHT), 50mM ascorbic acid를 넣고 37℃에서 30분간 incubation한 후, 20% trichloroacetic acid (TCA) 0.1ml를 첨가하여 13,000 × g에서 5분간 원심 분리한 후 상층액에 0.67% thiobarbituric acid(TBA) reagent 첨가하고 10분간 끓인 다음 spectrophotometer로 532nm에서 비색 정량하였다.

2) 항산화 효소 활성 측정

효소 활성 측정을 위한 효소원은 각 뇌 부위 조직을 10 volume의 0.25M ice cold sucrose 용액에 균질화 시킨 후 12,000 × g, 4℃에서 30분간 원심분리 후 상층액을 효소원으로 취하여 준비하였다.

SOD 활성은 Pattichis 등¹⁸⁾의 방법을 사용하여 측정하였다. 효소원에 65mM potassium phosphate buffer(pH7.8), 15mM xanthine, 10mM hydroxylammonium chloride, xanthine oxidase를 첨가하여 25℃에서 20분간 incubation한 후 0.03mM sulfanilic acid를 첨가하고 0.1 mM naphthylamine를 첨가하여 530nm에서 30초 간격으로 180초까지 측정하여 활성을 계산하였다.

Catalase 활성의 측정은 Johansson and Burg¹⁹⁾과 Hossain 등²⁰⁾의 방법을 사용하여 측정하였다. 효소원에 250 mM KH₂PO₄-NaOH buffer(pH7.0), methanol, 0.27% hydrogen peroxide(H₂O₂)를 넣고 20℃에서 20분간 incubation한 후 7.8M potassium hydroxide(KOH)를 가하고 34.2mM purpald를 첨가한 후 다시 20℃에서 10분간 반응하여 potassium periodate(KIO₄)를 가하였다. 발색물을 10,000 × g에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 취하여 550nm에서 비색정량하였다.

GSH-Px의 활성은 Prohaska and Ganther의 방법²¹⁾을 사용하여 측정하였다. 효소원에 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.0)-3mM EDTA, 1mM glutathione, glutathione reductase, 1mM sodium azide(NaN₃), 0.11mM NADPH를 첨가하여 25℃에서 5분간 incubation한 후 100μM H₂O₂를 첨가하여 340nm에서 30초 간격으로 5분까지 측정하여 GSH-Px의 활성을 계산하였다.

3) 단백질 정량

모든 효소원의 단백질 농도는 Lowry 방법²²⁾으로 측정하였다.

4. 통계분석

본 연구의 모든 결과는 실험군당 평균과 표준오차를 계산하였고, 두 실험군 비교인 신체 성장 및 장기비교 결과는 $\alpha = 0.05$ 수준에서 student's t-test를 실시하여 군간의 차이를 비교하였으며, 뇌 부위별 MDA와 항산화 효소 활성 결과는 이원배치분산분석(two way analysis of variance, ANOVA)과 Duncan's multiple range test를 실시하여 실험군간의 유의적인 차이를 검증하였다. 모든 통계처리는 SAS 통계분석프로그램(version 6.12)을 사용하였다.

결과 및 고찰

1. 신체 성장 및 장기 중량

녹차군의 식이섭취량이 대조군에 비하여 유의적으로 많은 것을 제외하고는, 실험군의 식이효율 및 체중증가량에는 유의적인 차이가 없었고(Table 1), 간, 신장, 비장 등 장기

Table 1. Effects of green tea powder diet on food intake, body weight gain and food efficiency ratio(FER)

Group	Food intake (g/day)	Body weight gain	FER
Control	20.74 ± 0.54	45.89 ± 4.63	0.05 ± 0.01
Green tea	22.42 ± 1.17*	52.27 ± 7.11	0.05 ± 0.01

*significantly different from control group by Student's t-test at $p < 0.05$

Table 2. Effects of green tea powder diet on weights of various regions of brain(mg)

Group	Cortex	Cerebellum	Striatum	Hippocampus
Control	768.68 ± 37.55	335.67 ± 5.74	111.76 ± 9.56	108.20 ± 7.16
Green tea	677.73 ± 33.16	355.01 ± 6.70*	150.12 ± 5.90**	114.43 ± 8.66

*significantly different with control group by Student's t-test at $p < 0.05$

**significantly different with control group by Student's t-test at $p < 0.01$

중량에서도 유의적인 차이가 없었다(Data not shown). 동일종의 평균체중 200g(1개월령) 쥐를 대상으로 한 선행 연구¹⁶⁾에서는 실험군의 식이 섭취량에 유의적인 차이가 나지 않았던 반면, 동일한 조건의 9개월령 대상의 본 실험에서는 녹차섭취군의 식이섭취량(22g/day)이 대조군(20g/day)에 비하여 유의적으로 많았다($p < 0.05$).

실험군을 대조군과 녹차군의 두 그룹으로 나누어 녹차 투여 여부에 따른 뇌 부위별 무게를 비교하였다. 그 결과 Table 2와 같이 녹차군의 cerebellum(355mg)과 striatum(150mg)의 중량이 대조군(cerebellum: 335mg, striatum: 111mg)에 비하여 유의적으로 높았다. 녹차 섭취에 의해 뇌 부위별 조직의 중량이 증가한다는 사실은 1개월령의 동일 종 쥐를 대상으로 한 선행실험¹⁶⁾에서 처음 관찰되었고, 연령이 다른 쥐를 대상으로 한 본 실험결과에서도 관찰된 것으로 보아 유의미한 것으로 사려되며 앞으로 이에 대한 연구가 더 이루어져야 할 것이다.

2. 뇌 부위별 MDA 함량 및 항산화 효소의 활성

각 실험군의 뇌 부위별 MDA 함량은 Fig. 1에, 항산화 효소 SOD, catalase, GSH-Px의 활성은 Table 3에 제시하였다.

MDA 함량은 Fig. 1에 제시된 바와 같이 모든 실험군의 cortex, cerebellum, striatum 내에서 유의적인 차이가 없었다. Striatum에서는 녹차군(Green tea)의 MDA 함량이 각각 81.85nmol/g으로 대조군(Control, 145.68nmol/g)과 비녹차-알코올 투여군(Control + ethanol treated, 161.53nmol/g) 모두에 비하여 유의적으로 낮았다($p < 0.01$).

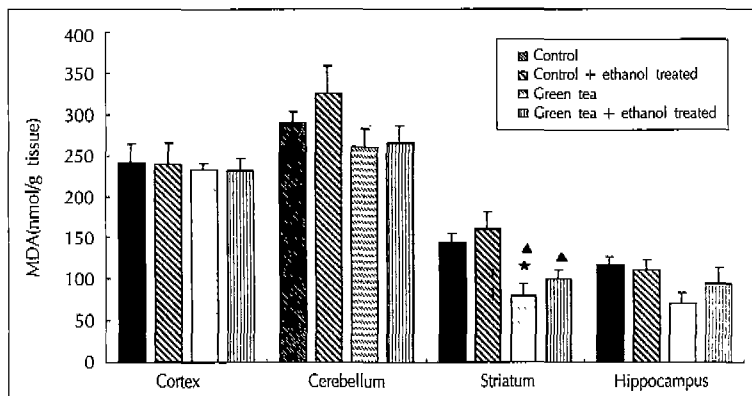


Fig. 1. Effects of green tea powder diet(1% of g diet) and alcohol administration(5g/kg body weight) on lipid peroxidation in brain regions of the rat. Values represent mean + standard error(SE), $n = 6-8$ rats. ★ Significantly different with control group(by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$). ▲ Significantly different with control + ethanol treated group(by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$).

또한 녹차-알코올 투여(Green tea+ethanol treated)군의 MDA 함량도 102.27nmol/g으로서 대조군과 비녹차-알코올 투여군에 대하여 유의적으로 낮았다($p < 0.05$). 실험군의 뇌 부위별 항산화 효소의 활성은 hippocampus 내 catalase 활성을 제외하고는 모두 유의적인 차이가 없었다 (Table 3). Hippocampus 내 catalase 활성은 비녹차-알코올 투여군(Control + ethanol treated)의 활성이 0.3 units/mg protein으로 대조군(Control, 0.21units/mg protein)보다 유의적으로 낮았던 반면($p < 0.05$), 녹차군(Green tea)과 녹차-알코올 투여군(Green tea + ethanol treated)에서는 내 catalase 활성이 유의적인 차이가 없었다.

본 실험 결과를 종합하면, 1% 녹차 건분 식이를 4주간 공급받은 9개월령 흰쥐의 striatum와 hippocampus 내 MDA 함량이 유의적으로 낮았으며, 알코올 투여에 의한 hippocampus 내 catalase 활성 증가가 억제되었다.

알코올에 의한 중추신경계의 손상과 항산화 물질에 의한 보호 효과는 많은 연구들에 의하여 보고되고 있다. Renis의 연구²³⁾에 의하면, 수컷 Wister rat에게 5g/kg의 ethanol을 급성으로 투여한 군과 5% ethanol 식이를 만성으로 공급한

군 모두에게서 혈청 내 GSH-Px의 활성과 체내 항산화 기능에 중요 기능 담당하는 SH기가 감소하였으며, 특히 급성 투여군의 hippocampus와 cerebellum 내에서 손상된 DNA가 극히 유의적으로 증가한 것을 보고하였다.

신경계 세포에 속하는 astrocyte 배양 실험²⁴⁾에 의하면, alcohol에 의해 acetaldehyde가 축적되었으며 장기 투여한 군에서 급성 투여한 경우보다 더 많은 양의 acetahdehyde가 축적된 것으로 보고되었다. 또한 만성 알코올 투여군의 GSH-Px와 SOD의 활성도 유의적으로 증가하였으며, 이와 동시에 환원형 glutathione이 유의적으로 감소되었다.

Mitchell 등의 실험⁸⁾ 결과에 의하면, 재태연령 18일의 Long-Evans hooded rat 배아에서 분리한 hippocampus cell에 ethanol을 투여하여 배양한 결과, ethanol 투여에 의하여 투여량에 비례하여 세포의 수가 감소하였으며, 여기에 vitamin E이나 β -carotene을 같이 공급한 배양군에서는 모두에서 각각 동일한 ethanol만 투여한 대조군보다 유의적으로 세포배양이 증가한 결과를 보고하였다. 이는 ethanol에 의한 세포독성을 vitamin E나 β -carotene과 같은 항산화 물질이 유의적으로 감소시켰음을 의미한다. 그 외 녹차에 함유되어 강력한 항산화 기능을 하는 것으로 알

Table 3. Effects of green tea powder diet and alcohol administration on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in cortex and cerebellum.

Group	Superoxide dismutase (units/mg protein)	Catalase (units/mg protein)	Glutathione peroxidase (units $\times 10^{-2}$ /mg protein)
Cortex			
Control	13.88 \pm 1.21 ^{1)NS2)}	0.45 \pm 0.09 ^{NS}	7.58 \pm 1.11 ^{NS}
Control + ethanol treated	12.17 \pm 1.42	0.40 \pm 0.07	7.00 \pm 0.86
Green tea	12.77 \pm 1.28	0.40 \pm 0.05	7.51 \pm 0.45
Green tea + ethanol treated	12.04 \pm 1.11	0.50 \pm 0.04	6.92 \pm 0.51
Cerebellum			
Control	22.19 \pm 1.68 ^{NS}	0.55 \pm 0.06 ^{NS}	12.14 \pm 0.59 ^{NS}
Control + ethanol treated	22.75 \pm 1.49	0.65 \pm 0.04	12.01 \pm 0.86
Green tea	21.38 \pm 1.77	0.87 \pm 0.14	12.75 \pm 1.13
Green tea + ethanol treated	24.71 \pm 2.05	0.63 \pm 0.08	9.83 \pm 0.96
Striatum			
Control	6.48 \pm 0.60 ^{NS}	0.27 \pm 0.03 ^{NS}	6.71 \pm 0.73 ^{NS}
Control + ethanol treated	6.35 \pm 0.42	0.29 \pm 0.02	6.84 \pm 0.44
Green tea	6.47 \pm 0.49	0.33 \pm 0.03	6.40 \pm 0.30
Green tea + ethanol treated	6.54 \pm 0.47	0.30 \pm 0.02	6.11 \pm 0.36
Hippocampus			
Control	17.26 \pm 1.23 ^{NS}	0.21 \pm 0.02 ^{ab3)}	6.84 \pm 0.60 ^{NS}
Control + ethanol treated	15.33 \pm 0.56	0.30 \pm 0.03 ^b	6.93 \pm 0.75
Green tea	15.51 \pm 0.55	0.20 \pm 0.04 ^a	6.20 \pm 0.59
Green tea + ethanol treated	15.76 \pm 0.59	0.23 \pm 0.03 ^{ab}	6.82 \pm 0.37

1) Values are expressed as mean \pm SE

2) NS: Not significantly different by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$

3) A group with different alphabet is significantly different by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$

려진 epigallocatechin gallate(EGCG)공급에 의하여 산화적 손상이 감소되는 결과^{27,28)}를 보였다. 이러한 다양한 연구결과들은 본 실험결과에서 보인 녹차의 항산화 효과가 이러한 성분들에 의한 것이라는 추측을 뒷받침하여 준다.

녹차의 항산화 기능을 하는 polyphenol은 건분 중량의 30~35%를 차지하며,²⁶⁻²⁸⁾ 대표적으로 catechins류가 알려져 있다.²⁸⁾ Polyphenol의 항산화 기능은 일차적으로 그 구조적 특징에 기인하며,^{27,28)} 일부 β -catechin류의 성분들은 뇌의 blood brain barrier를 통과하여 뇌 조직에 존재하면서 항산화 기능을 하는 것이 알려져 있다.¹⁰⁾ Hiramatsu 등(1997)의 실험결과에 의하면 쥐에게 β -catechin을 장기적으로 투여하였을 때 간, 신장, 혈청의 MDA 생성은 감소하지 않은 반면 대뇌와 해마에서의 MDA 함량은 감소한 결과를 보고하였다.¹⁰⁾

녹차는 체내 산화물을 공급하는 산화적 효소의 활성을 억제하는 기능도 알려져 있다. Cho 등¹²⁾은 녹차로부터 추출한 탄닌 성분들이 xanthine oxidase 활성을 최고 65%까지 감소시킨 것으로 보고하였다. 녹차 catechin 성분의 galloyl기는 xanthine oxidase의 활성을 뛰어나게 저해하는 것으로 알려졌으며, 체내 퓨린으로부터의 생성되는 유리기인 urate 생성을 저하시킨다.

본 실험의 결과를 1개월령 동일종 쥐에게 동일한 식이를 공급한 선행 실험¹⁰⁾ 결과와 비교하여 보면, 1% 녹차 건분 식이를 공급하였을 때 1개월령 쥐에서는 striatum 내 MDA 함량이 유의적으로 낮고 hippocampus 내 GSH-Px 활성이 유의적으로 증가한 반면, 9개월령 쥐에서는 striatum과 hippocampus 내 MDA 함량이 유의적으로 낮았고 hippocampus 내 catalase 활성 증가가 유의적으로 감소하였다. Alper의 연구²⁹⁾ 결과에 의하면 나이 많은 쥐의 뇌에서 catalase와 SOD는 감소, MDA의 극히 유의적인 증가가 보고하였으며, deprenyl 공급에 의하여 3개월령 쥐와 17개월령 쥐 실험군 모두 MAO 활성은 감소하고 MDA 함량도 감소하였지만, 3개월령 쥐에서는 catalase 활성은 증가하고 SOD 활성은 감소하였고, 평균 17개월령 쥐에서는 오직 SOD 활성만이 증가한 결과를 보였다. 이러한 실험 결과의 차이는 연령에 따라 녹차의 뇌에서의 항산화 작용 부위가 기전이 달라질 수 있음을 보여준다.

이러한 결과는 녹차 중에 함유된 여러 가지 항산화 성분들이 특히 불포화 지방산의 함량이 높고 알코올에 의하여 산화적 활성이 증가한 뇌 조직을 산화적 작용으로부터 보호하여 과산화물을 생성을 감소시키고 또한 세포막을 안정화시켜 효소의 최적 기능 조건을 유지시켰음에 기인한다고 사려된다.

본 연구결과들을 종합하여 볼 때, 1% 녹차 건분 공급은 9개월령 흰쥐의 striatum과 hippocampus 내 과산화 지질물을 낮추고, 알코올 투여에 의한 hippocampus 내 catalase 활성의 증가를 유의적으로 억제하였다. 본 결과는 녹차 섭취가 알코올 투여에 의한 산화적 손상으로부터 뇌의 특정 조직을 보호함을 의미한다. 따라서 녹차 섭취는 중추 신경계에서 항산화 기능을 가지며 알코올에 의한 조직 손상을 감소시킬 수 있으며, 이러한 결과는 녹차가 노령 집단에서의 중추 신경계 손상 보호에 유용하게 이용될 수 있으며 또한 과음을 하는 사람들의 중추 신경계 퇴화를 지연시킬 수도 있음을 보여준다. 일상적인 수준의 녹차 섭취가 녹차의 뇌 조직 항산화 효과의 기전을 규명하기 위하여 녹차와 더불어 항산화 비타민 투여군을 포함한 후속 실험을 진행하고 있다.

요약 및 결론

본 연구에서는 녹차 건분 식이가 뇌 조직에서 알코올에 의한 산화적 스트레스 감소효과를 나타내는 지를 규명하고자, 생후 9개월령 Sprague-Dawley에게 1% 녹차 건분 식이를 4주간 공급하고 희생 12시간 전에 급성으로 알코올을 투여한 후 뇌 조직을 cortex, cerebellum, striatum, hippocampus로 나누어 malondialdehyde(MDA)의 함량과 catalase, superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-Px)의 활성을 측정하였다. 본 실험 결과를 종합하여 볼 때, 1% 녹차 건분 식이의 공급은 striatum과 hippocampus 내 MDA 함량을 유의적으로 낮추고 알코올에 따른 hippocampus 내 catalase 활성 증가를 유의적으로 억제하였다. 이러한 결과는 녹차 건분의 공급이 알코올로 산화적 stress를 가한 동물에서 일부 뇌 조직의 지질 산화를 감소시키고 알코올에 의한 뇌 조직 손상으로부터 보호할 수 있음을 보여준다.

Literature cited

- 1) Somani SM, Husain K, Diaz L, Lanzotti DY, Karet KR, Trammell GL. Interaction of exercise and ethanol on antioxidant enzymes in brain regions of the rat. *Alcohol* 13(6): 603-610, 1996
- 2) Husain K, Somani K. Effect of exercise training and chronic ethanol ingestion on cholinesterase activity and lipid peroxidation in blood and brain regions of rat. *Prog Neuro Psychopharmacol & Biol Psychiat* 22(4): 411-423, 1998
- 3) Serafini M, Ghiselli A, Rerro A. In vivo antioxidant effect of green and black tea in man. *Eur J Clin Nutr* 50: 28-32, 1996
- 4) Hong JT, Ryu SR, Kim HJ, Lee JK, Lee SH, Kim DB, Yun YP,

- Ryu JH, Lee BM, Kim PY. Neuroprotective effect of green tea extract in experimental ischemia-reperfusion brain injury. *Brain Res Bull* 53: 743-749, 2000
- 5) Mecocci P, MacGarvey U, Kaufman AE, Koontz D, Shoffner JM, Wallace DC, Beal MF. Oxidative damage to mitochondrial DNA shows marked age-dependent increase in human brain. *Ann Neurol* 24: 609-616, 1993
 - 6) 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
 - 7) Mates JM, Perez C, Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem* 32(8): 595-603, 1999
 - 8) Mitchell JJ, Michael P, Heaton MB. The antioxidants vitamins E and β -carotene protect against ethanol-induced neurotoxicity in embryonic rat hippocampal cultures. *Alcohol* 17(2): 163-168, 1999
 - 9) Kaufmann JA, Bickford PC, Tagliatela G. Oxidative-stress-dependent up-regulation of Bcl-2 expression in the central nervous system of aged Fisher-344 rats. *J Neurochem* 76(4): 1099-1109, 2001
 - 10) Komatsu M, Hiramatsu M. 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. *Toxicol* 148: 143-148, 2000
 - 11) Vinson JA, Dabbagh YA. Effect of green tea and black tea supplementation on lipid, lipid oxidation and fibrinogen in the hamster: mechanisms for the epidemiological benefits of tea drinking. *FEBS Lett* 433: 44-46, 1998
 - 12) Cho YJ, Chun SS, Choi C. Inhibitory effect of condensed tannins isolated from Korean green tea against xanthine oxidase. *J Korean Soc Food Nutr* 22(4): 418-422, 1993
 - 13) Lee SR, Suh SI, Kim SP. Protective effects of the green tea polyphenol(-)-epigallocatechin gallate against hippocampal neuronal damage after transient global ischemia in gerbils. *Neurosci Lett* 287: 191-194, 2000
 - 14) Lin AM, Chyi BY, Wu LY, Hwang LS, Ho LT. The antioxidative property of green tea against iron induced oxidative stress in rat brain. *Chin J Physiol* 41: 189-194, 1998
 - 15) Guo Q, Zhao B, Li M, Shen S, Xin W. Studies on protective mechanisms of four components of green tea polyphenols against lipid peroxidation in synaptosomes. *Biochem Biophys Acta* 1304: 210-222, 1996
 - 16) Chang NS, Ryu SM. Antioxidative effects of green tea powder diet against ethanol-induced oxidative damage in rat brain regions. *Korean J Nutr* 34(5): 525-531, 2001
 - 17) Rehncrona S, Smith DS, Akesson B, Westerberg E, 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
 - 18) Pattichis K, Louca LL, 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
 - 19) Johansson LH, Borg LAH. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. *Anal Biochem* 174: 331-336, 1988
 - 20) Hossain S, Hashimoto M, Gamoh S, Masumura S. Antioxidative effects of docosahexaenoic acid in the cerebrum versus cerebellum and brainstem of aged hypercholesterolemic rats. *J Neurochem* 72: 1133-1138, 1999
 - 21) Prohaska JR, Ganther HE. Selenium and glutathione peroxidase in developing rat brain. *J Neurochem* 27: 1379-1387, 1976
 - 22) Loewry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with Folin's phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951
 - 23) Renis M, Calabrese V, Calderone RA, Barcellona ML, Rizza V. Nuclear DNA strand breaks during ethanol-induced oxidative stress in rat brain. *FEBS Lett* 390: 153-156, 1996
 - 24) Soliman KFA, Mazzi EA. *In vitro* attenuation of nitric oxide production in C6 astrocyte cell culture by various dietary compounds. *PSEBM* 218: 390-397, 1998
 - 25) Terao J, Piskula M, Yao Q. Protective effect of epicatechin, epicatechin gallate, and quercetin on lipid peroxidation in phospholipid bilayers. *Arch Biochem Biophys* 308(1): 278-284, 1994
 - 26) Yoneda T, Hiramatsu M, Sakamoto K, Togasaki K, Komatsu M, Yamaguchi K. Antioxidant effects of β -catechin. *Biochem Mole Biol Intl* 35(5): 995-1008
 - 27) Bravo L. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev* 56(11): 317-333, 1998
 - 28) Wiseman SA. Antioxidants in tea. *Critical Rev Food Sci Nutr* 37(8): 705-718, 1976
 - 29) Alper G, Girgin FK, Ozgonul M, Menten G, Ersoz B. MAO inhibitors and oxidant stress in aging brain tissue. *Eur Neuropsychopharmacol* 9: 247-252, 1999.