

Effect of Propolis on the Activity of Antioxidant Enzymes in Rat Liver Irradiated by X-ray

Ji Hoon Lee, Tae Jeong Ji¹ and Eul Won Seo[†]

Department of Biological Science, Andong National University, Andong 760-749, Korea.

¹Department of Radiological Science, Kaya University, Goryeong 717-802, Korea

We investigated the effect of propolis on the activity of antioxidant enzymes in rat liver exposed by X-ray irradiation. The dosage of propolis showed the effect of lowering the concentration of superoxide anion in irradiated rat liver, suggesting that propolis has a significant role to remove superoxide anion as an antioxidant and/or by activating the antioxidant enzyme. The activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione reductase (GR), disturbed by X-ray irradiation, were restored in 30 days to normal status in the group which dosed propolis before X-ray irradiation. Interestingly, catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPOX) activities were highly increased with feeding propolis to rat compared to untreated group, whereas glutathione s-transferase (GST) activity was little affected. Taken together, it suggests that the propolis has a protective role in the rat liver cells against X-ray irradiation by increasing and recovering the activities of antioxidant enzymes.

Key Words: Propolis, Irradiation, Liver, Antioxidant enzyme

서 론

방사선 조사는 종양 치료에 많이 사용되지만 부수적으로 유리 라디칼의 생성을 유발하게 되어 (Yamaoka et al., 1994), 단백질의 SH기나 DNA와 반응하여 분자의 구조를 변화시켜 결국 세포의 손상뿐만 아니라 세포내 효소의 활성을 저하시키기도 한다. 유해 유리 라디칼의 일종인 활성산소는 생체의 정상적인 대사과정을 통해서도 발생하지만 태양광선이나, 자외선 및 진단용 방사선의 조사 시에도 발생하는 것으로 밝혀졌다 (von Deutsch et al., 2005). 특히 고선량의 방사선 조사는 유리 라디칼의 생성을 증가시켜 대사과정에서 아미노산을 산화시켜 단백질의 기능 저하를 초래하며, 핵산 염기의 변형을 가져와 노화, 돌연변이 등을 발생시키는 원인이 되기도 한다 (Datta et al., 2000; Droge, 2002).

체내 활성산소는 생체에는 유리 라디칼 등에 의해 유발되는 유해한 작용을 효율적으로 조절하는 여러 방어체계가 갖추어져 있는데, 이 중 항산화물질이 유리 라디칼의 생성을 억제하거나 제거하며, 보다 효율적인 방법으로는 항산화효소계를 이용하기도 한다 (Fridovich, 1986; Kuo and Fridovich,

1986). 그러나 고선량의 방사선 조사는 활성산소를 제거하는 항산화효소의 활성을 저하시키기 때문에 효율적으로 유해 라디칼을 제거하지 못하게 된다 (Benderitter et al., 1995). 따라서 방사선 조사에 따른 항산화효소의 활성을 촉진하여 유해 라디칼의 효율적인 방법이 제시되어야만 방사선 치료를 보다 효율적으로 진행할 수 있게 된다. 이에 따라 방사선 조사로부터 생체를 보호할 수 있는 방사선 방어제에 대한 연구가 진행되고 있으며 더욱이 생체에 전혀 해가되지 않는 천연물의 개발이 여러 각도에서 시도되고 있다.

방사선에 의한 부작용으로부터 생체를 보호할 수 있는 물질로는 주로 thiol 기가 포함된 WR-2721로 알려져 있는 amifostine과 cystamine 등이 있으나 (Yuhas, 1980) 중간 대사물질은 독성을 나타내고 있기 사용상 문제점을 내포하고 있다. 천연물질 중에는 홍삼 추출물을 감마선 조사 전에 투여하면 신장에서 Cu, Zn, Mn-SOD 등의 활성이 증가되며, 지질 과산화의 함량은 81% 감소된다고 하였으며, 6 Gy의 감마선에 조사된 마우스에서는 생존율이 40% 증가되는 것으로 확인된 바 있다 (Kim and Chang, 1994; Kim and Chang, 1998). 또한 녹차는 감마선 조사에 의한 장해 발생을 경감시키는 효과가 있는 것으로 조사되기도 하였다 (Kim et al., 2003). 최근에는 꿀벌에 의해 만들어지는 프로폴리스에 의한 방사선의 방어효과에 대한 가능성이 제시되고 있다. 프로폴리스는 항산화효과와 항균 및 항염증 효능이 있다고 알려져 있으며 (Brumfitt et al., 1990), 프로폴리스 성분 중에는 감마선 조사

* 논문 접수: 2006년 9월 19일

수정재접수: 2006년 12월 5일

[†]교신저자: 서울원, (우) 760-749, 경북 안동시 송천동, 안동대학교 생명과학과

Tel: 054-820-5462, e-mail: ewseo@andong.ac.kr

후 염색체의 손상을 50% 감소시켜 방사선의 방어효과가 있는 것으로 확인되었다 (Montoro et al., 2005). 또한 쥐를 대상으로 한 실험에서 프로폴리스에 의해 SOD의 활성이 증가되고, 방사선으로 인한 염증을 방어 한다고 보고된 바 있다 (El-Ghazaly and Khayal, 1995).

따라서 본 연구는 천연 추출물의 방사선 방어효과를 조사하는 연구의 일환으로 프로폴리스가 방사선이 조사된 쥐의 간 내 항산화효소 활성에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 프로폴리스 제조

실험에 사용한 프로폴리스는 경북 북부지역인 예천, 청송 지역에서 채취한 양봉 봉고를 취득해 80% ethanol에 교반하여 숙성과정을 거쳐 추출하였다. 추출물은 왁스성분을 제거하기 위하여 -20℃에서 48시간 냉동 보관 후 반복 여과하여 얻은 추출물을 프로폴리스 농도 측정기 (PROEM HB-62, Korea)를 이용하여 40%의 프로폴리스를 제조하여 사용하였다.

2. 프로폴리스 투여

본 연구에 사용한 실험 동물은 생후 10~12주의 체중 200 g 내외의 Sprague-Dawley 종 수컷의 외관상 건강한 흰쥐를 선택하여 사용하였다. 프로폴리스의 섭취는 사료 100 g당 프로폴리스 20 ml를 혼합하여 60℃에서 건조 후 사용하였으며, 수분은 0.05% 프로폴리스가 포함된 식수를 공급하였다. 사료의 수분은 자유롭게 섭취하도록 하였으며, 일정 시간까지 사육실에서 사육하였다.

3. 방사선 조사

본 실험에 사용한 쥐는 프로폴리스를 먹이지 않은 대조군 (C), 프로폴리스 섭취 실험군 (P), 방사선만 조사한 실험군 (G) 및 프로폴리스 섭취 후 방사선을 조사한 실험군 (PG)으로 나누었다. 방사선 조사는 임상에서 종양 치료에 사용하고 있는 선형가속기 (Clinac 21 EX., USA)의 X-선을 이용하여 특수 제작한 아크릴 상자에 넣은 다음 5 Gy의 방사선을 전신 조사하였다. 방사선 조사 후 5일, 10일, 20일 및 30일 간격으로 간 조직을 적출하였다.

4. 시료 제조

적출한 간은 차가운 식염수 (PBS, pH 7.4)와 여과지로 표면의 수분과 잔여 혈액을 세척, 제거한 후 액체 질소에 급속 냉동하여 -70℃에서 보관하였다. Superoxide anion의 함량과 SOD (sodium dismutase), CAT (catalase), GPOX (glutathione peroxidase), GST (glutathione s-transferase) 및 GR (glutathione

reductase)의 활성을 측정하기 위하여 간 조직을 균질용 완충액 (154 mM KCl, 50 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA buffer, pH 7.4)을 5배량 첨가하고 파쇄하였다. 이후 파쇄액을 1,000 g로 10분간 원심 분리하여 상층의 지방과 지질등을 제거하고 상층액을 취한 후 다시 10,000 g로 20분간 원심 분리하여 상층액과 하층액을 구분하여 채취하였다. 상층액의 일부를 취하여 100,000 g로 1시간 원심 분리하여 이를 다시 상층액 (세포질분획)과 하층액 (소포체분획)으로 분리하여 세포질분획층을 시료로 사용하였다. GSH의 농도 측정은 간 조직에 균질용 용액 (1% picric acid)을 5배량 첨가하여 균질화한 후 3,000 g에서 20분간 원심 분리하여 상층액을 사용하였다.

5. 효소 활성의 측정

Superoxide anion의 측정은 Choi 등 (1999)의 방법에 따라 0.1 mM EDTA를 함유한 0.3 M PBS (pH. 7.4), 3 mM potassium cyanide, 0.1 mM cytochrome C를 혼합하여 시료를 첨가하고 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

SOD의 활성 측정은 McCord와 Fridovich (1969)의 방법에 따라 10,000 g로 원심 분리한 상층액을 효소액으로 사용하여 측정하였다. 효소의 측정은 50 mM PBS (pH 7.8), 0.1 M cytochrome C, 50 mM xanthine, 0.1 mM EDTA, 효소액이 포함된 용액에 xanthine oxidase를 첨가하여 반응을 개시하였다. cytochrome C는 안정화를 위해 4℃에서 약 24시간 보관 후 사용하였으며 sodium dithionite를 사용하여 보정하였다. Xanthine oxidase 첨가량은 시료를 함유하지 않은 반응액의 흡광도가 분당 0.025가 되도록 조절하였고 superoxide dismutase의 활성은 cytochrome C의 환원 속도를 50% 억제하는 양을 1 unit로 책정하였다. CAT의 활성은 Aebi (1984)의 방법에 따라 10,000 g로 원심 분리하여 얻은 하층 부분을 사용하였다. 효소 측정은 50 mM PBS (pH 7.0)와 10 mM H₂O₂ 용액을 첨가하여 잘 혼합한 후 25℃에서 약 5분간 반응시켰으며, 파장 240 nm에서 흡광도의 변화를 3분간 측정하였다. 효소의 활성은 1 μmol의 H₂O₂를 1분간 분해하는 효소의 양을 1 unit로 하였다.

GSH의 농도는 Griffith (1980)의 방법에 따라 6 mM NADPH를 포함한 0.125 M Na₂HPO₄, 6 mM 5,5-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB)가 혼합된 용액에 증류수가 첨가된 시료를 넣어 30℃에서 4분간 반응시킨 이후 412 nm에서 측정하였다. GPOX의 활성도는 Flohe와 Gunzler (1984)의 방법으로 측정하였다. 즉 1 mM EDTA를 함유한 100 mM PBS (pH 7.6), 0.25 mM GSH, 0.12 mM NADPH 1 unit/ml을 시료와 잘 혼합한 후 37℃에서 5분간 반응시켰다. 이후 cumene hydroperoxide를 가하여 340 nm에서 3분간 흡광도를 측정하였다. 효소의 활성은 1 μmol의 NADPH를 NADP로 1분간 산화하는 효소량을 1 unit로 표시하였다. GST의 활성은 Habig와 Jakoby 등

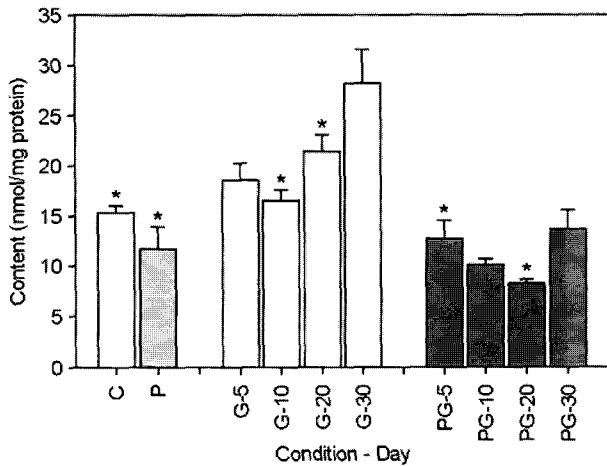


Fig. 1. Changes of superoxide anion concentration in rat liver irradiated after feeding propolis during 30 days. Numbers indicate days after irradiation. □ (C): control group; ▨ (P): propolis fed group; □ (G): irradiated group; ▩ (PG): irradiated group with propolis. Each value represents the mean \pm S.E. of 5 experiments, * \cdot P -value $<$ 0.05.

(1981)의 방법에 따라 0.1 M PBS와 1 mM GSH, 1 mM CDNB (1-chloro-2, 4-dinitrobenzene)를 혼합하여 340 nm에서 3분간 흡광도를 측정하였다. 활성은 1분 동안에 1 nM GSH를 소비하는 효소의 양을 1 unit로 하였다. GR의 활성은 Glatzle 등 (1974)의 방법에 따라 100 mM PBS (pH 7.5), 1 mM GSSG (oxidized glutathione), 50 μ M NADPH를 넣은 후 340 nm에서 3분간 변화되는 흡광도를 측정하였다. 활성은 1분간 1 nM NADPH가 산화되는 효소의 양을 1 unit로 하였다.

6. 데이터 분석

모든 실험의 결과는 평균 \pm 표준편차로 표시하였고, 통계 프로그램은 SPSS (Ver. 12.0)을 이용하여, $P < 0.05$ 의 수준에서 유의성을 검정하였다

결 과

프로폴리스가 방사선에 조사된 쥐의 간 조직 내 항산화 효소의 활성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 superoxide anion의 농도와 이의 제거에 관여하는 superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT)의 활성 및 glutathione (GSH) 농도와 GSH를 이용하여 반응하는 glutathione peroxidase (GPOX), glutathione s-transferase (GST), glutathione reductase (GR)의 활성 변화를 조사하였다.

1. 프로폴리스 섭취에 의한 superoxide anion의 농도와 SOD, CAT 활성의 변화

프로폴리스를 섭취한 쥐의 간 내 superoxide anion의 농도

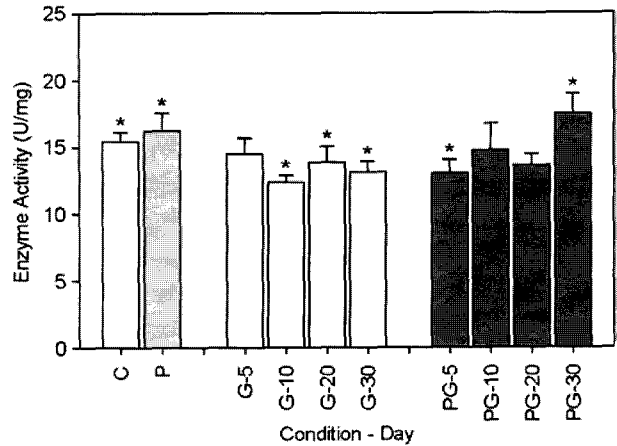


Fig. 2. Superoxide dismutase (SOD) activities in rat liver irradiated after feeding propolis during 30 days. The procedure of SOD activity measurement was described in experimental methods. Each value represents the mean \pm S.E. of 5 experiments, * \cdot P -value $<$ 0.05.

는 대조군에 비해 25% 정도 감소하고 있으나 대조 실험군에 5 Gy 방사선을 조사하면 superoxide anion의 농도는 급격히 증가하였다. 그러나 프로폴리스 섭취 실험군에 방사선을 조사하면 superoxide anion의 농도는 방사선 조사 후 20일까지 지속적으로 감소하였다. 프로폴리스의 섭취는 간 내 superoxide anion의 제거에 뚜렷한 효과를 나타내고 있으며 방사선 조사 시에도 동일한 효과를 나타내는 것으로 확인되었다 (Fig. 1). Superoxide anion의 제거에 일차적으로 관여하는 SOD의 활성은 대조군 및 프로폴리스 섭취 실험군에서 높은 활성을 나타내고 있으나 대조군에 방사선을 조사하면 SOD의 활성은 대조군에 비해 10~15% 정도 감소하고 있다. 또한 프로폴리스 섭취 실험군에 방사선을 조사하면 SOD의 활성은 대조군에 비해 다소 활성이 감소하고 있으나 방사선 조사 30일 정도가 되면 SOD의 활성이 대조군 수준으로 회복되고 있다. 방사선 조사는 SOD 활성을 감소시키지만 지속적인 프로폴리스의 섭취는 대조군 수준 이상으로 SOD 활성을 회복하는데 효과를 나타내었다 (Fig. 2). CAT의 활성은 대조군에 비해 방사선 조사 실험군과 프로폴리스 섭취 후 방사선 조사 실험군에서 CAT 활성이 증가되었다. 그러나 프로폴리스 섭취 후 방사선 조사 실험군에서 CAT 활성은 방사선 조사 초기에는 활성이 다소 증가되었으나 방사선 조사 30일이 경과 되면 대조군 수준의 활성을 유지하였다 (Fig. 3).

2. 프로폴리스 섭취에 따른 GSH 농도와 GPOX, GST 및 GR 활성의 변화

활성산소와 같은 유리 라디칼의 제거에는 SOD나 CAT외에도 glutathione을 이용하여 GPOX와 GST 같은 항산화효소가 과산화수소나 수산화 라디칼 뿐만 아니라 지질 과산화

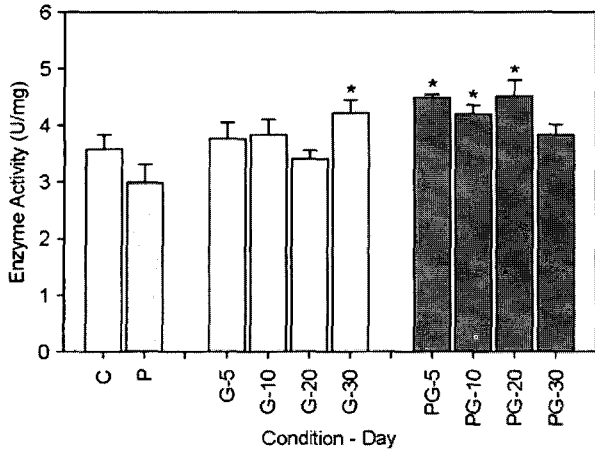


Fig. 3. Catalase (CAT) activities in rat liver irradiated after feeding propolis during 30 days. The procedure of CAT activity measurement was described in experimental methods. Each value represents the mean \pm S.E. of 5 experiments, * \cdot P -value $<$ 0.05.

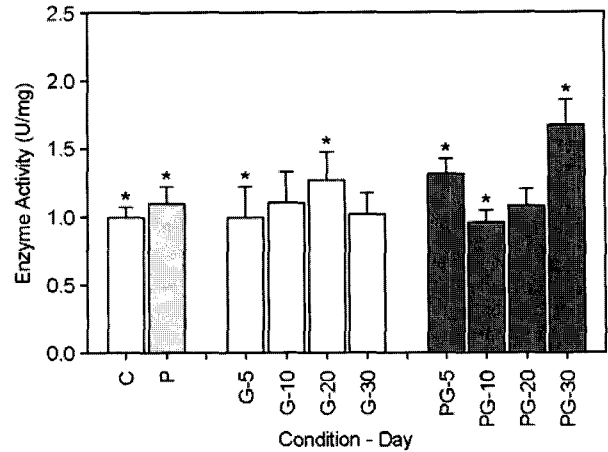


Fig. 5. Glutathione peroxidase (GPOX) activities in rat liver irradiated after feeding propolis during 30 days. The procedure of GPOX activity measurement was described in experimental methods. Each value represents the mean \pm S.E. of 5 experiments, * \cdot P -value $<$ 0.05.

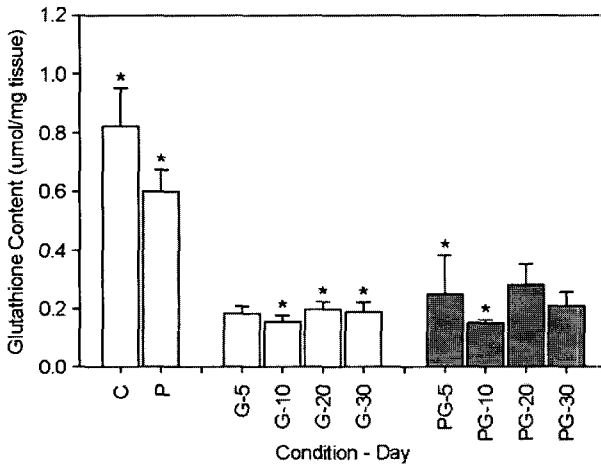


Fig. 4. Changes of glutathione concentration in rat liver irradiated after feeding propolis during 30 days. Numbers indicate days after irradiation. \square (C): control group; \square (P): propolis fed group; \square (G): irradiated group; \blacksquare (PG): irradiated group with propolis. Each value represents the mean \pm S.E. of 5 experiments, * \cdot P -value $<$ 0.05.

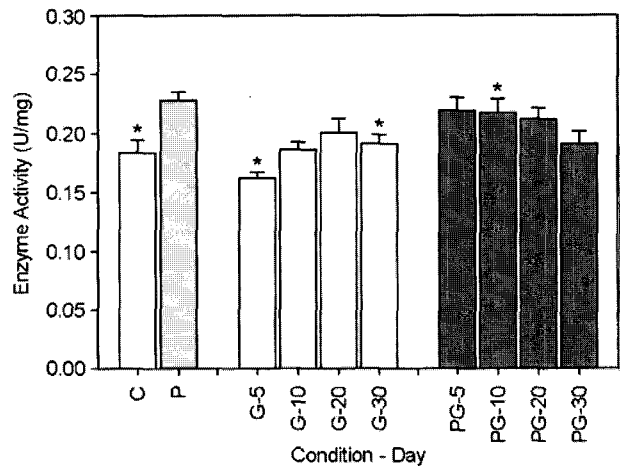


Fig. 6. Glutathione s-transferase (GST) activities in rat liver irradiated after feeding propolis during 30 days. The procedure of GST activity measurement was described in experimental methods. Each value represents the mean \pm S.E. of 5 experiments, * \cdot P -value $<$ 0.05.

정 중에 생성되는 peroxy 라디칼의 제거에 관여하고 있다 (Ahmad, 1995). GSH의 농도가 프로폴리스 섭취에 의해 영향을 받는지 살펴보면 GSH의 농도는 대조군에 비해 프로폴리스 섭취 실험군에서 감소하고 있으며, 대조군에 방사능을 조사하면 GSH의 농도는 대조군에 비해 60% 정도까지 감소하는 경향을 나타내고 있다. 프로폴리스 섭취 후 방사능을 조사하면 GSH의 농도는 방사선 조사 실험군에 비해 다소 증가하고 있으나 대조군에 비하면 여전히 낮은 수준을 유지하고 있어 GSH의 농도는 프로폴리스 섭취 활동에 거의 영향을 받지 않고 있다 (Fig. 4). GPOX의 활성은 대조군에 비해 프로폴리스 섭취 후 10%의 증가를 나타내고 있으며, 방사선

조사 시에도 크게 감소하지 않고 오히려 방사선 조사 후 20 일까지는 증가하고 있다. 프로폴리스 섭취 실험군은 방사선 조사 초기에 활성이 급격히 증가하여 대조군에 비해서도 높은 활성을 나타내었으나 그 이후에는 감소하여 대조군과 유사한 활성도를 유지하며 30일 정도 지나면 이의 활성이 다시 매우 증가하고 있다. 지속적인 프로폴리스의 섭취는 GPOX의 활성에 뚜렷한 효과를 보여주고 있다 (Fig. 5). GST의 활성도 대조군에 비해 프로폴리스 섭취 후 증가하고 있으나 방사선 조사 5일에는 대조군에 비해 활성이 감소하나 그 이후에는 대조군 수준을 유지하고 있다. 프로폴리스 섭취 후 방사능을 조사하면 GST의 활성이 대조군에 비해 훨씬 높은

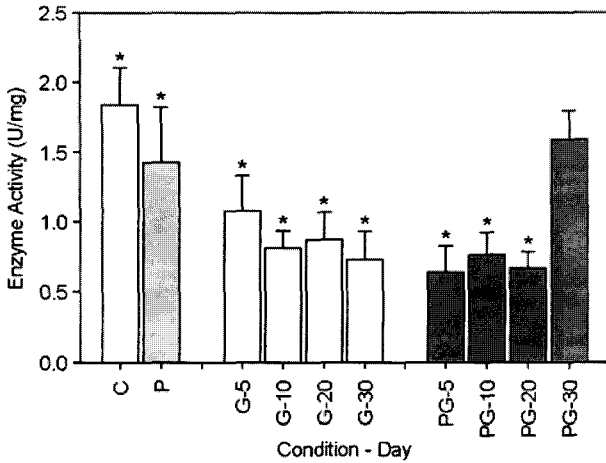


Fig. 7. Glutathione reductase (GR) activities in rat liver irradiated after feeding propolis during 30 days. The procedure of GR activity measurement was described in experimental methods. Each value represents the mean \pm S.E. of 5 experiments, * - *P*-value < 0.05.

활성을 나타내고 있으나 시간이 갈수록 점차 활성도가 감소하고 있다. GST의 활성은 프로폴리스 섭취에 의해 방사선 조사 초기에는 효과를 나타내지만 그 효과는 오래 지속되지 않는 것으로 확인되었다 (Fig. 6). 환원형 GSH를 만드는데 관여하는 GR의 활성은 방사선이 조사되지 않은 대조군에서는 높은 활성을 띠고 있으나 프로폴리스의 섭취 후에는 감소하고 있으며, 방사선을 조사하면 GR의 활성은 더욱 급격히 감소하고 있다. 프로폴리스 섭취 실험군에서도 GR의 활성은 방사선 조사 초기에는 대조군에 비해 40% 정도의 활성도를 나타내지만 시일이 지날수록 GR의 활성은 증가하여 대조군의 90% 수준까지 증가하고 있다. 방사선 조사 초기에는 전반적으로 효소의 활성이 감소하지만 프로폴리스의 섭취로 인하여 GR의 활성은 점차 회복되어 가는 것으로 보인다 (Fig. 7).

고 찰

superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$), 과산화수소 (H_2O_2), hydroxyl radical ($\cdot OH$), 일중항산소 (1O_2), 삼중항산소 (3O_2) 및 peroxy radical (LOO^{\cdot}) 등과 같은 반응성이 큰 활성산소는 세포의 주요 구성물질인 단백질 및 핵산을 파괴하여 노화, 암, 퇴행성 신경질환 등 만성질환을 유발하는 원인이 된다 (Aust et al., 1993; Cavalieri et al., 1988). 이러한 활성산소는 중앙이나 암 치료 시에 사용되는 방사선에 의해서도 발생하여 (von Deusch, 2005), 원래의 치료 목적 외에 방사선으로 인한 부작용을 유발하게 된다 (Benderitter et al., 1995). 방사선은 유리 라디칼의 제거에 관여하는 항산화효소의 활성을 저하시킴으로써 부작용을 유발하게 되는데, 방사선의 치료 목적 외에 항산화

효소의 활성을 일정하게 유지하거나 혹은 보다 활성을 촉진하게 된다면 방사선 조사로 인한 부작용의 위해를 최소화할 수 있게 된다. 이러한 관점에서 생체에 유해한 성분이 없는 여러 천연 추출물의 방사선 방어제로서의 역할이 주목받고 있다. 활성산소를 제거하는 세포 내 항산화 방어체계는 크게 효소계와 비효소계로 나눌 수 있다. 항산화효소계 중 superoxide dismutase, catalase는 superoxide anion, 과산화수소 및 수산화 라디칼 등의 활성산소를 제거하며, glutathione peroxidase, glutathione s-transferase는 glutathione을 이용하여 지질성 peroxy radical의 제거에 관여한다. 또한 glutathione reductase는 산화형 GSSG를 환원형 GSH로 전환하는데 관여하는데, 과잉 생성된 활성산소의 제거에는 여러 항산화효소 중 SOD가 매우 중요한 역할을 하고 있다 (Ahmad, 1995).

본 연구에서는 프로폴리스가 방사선 방어제로서 항산화효소의 활성에 미치는 효과를 조사하였다. 우선 프로폴리스가 superoxide anion의 농도와 이의 제거에 관여하는 SOD와 CAT의 활성 변화를 살펴보았다. 프로폴리스의 섭취로 인해 superoxide anion의 농도는 대조군에 비해 25% 정도 감소하고 있으며, 방사선 조사 시에도 이의 농도를 낮춰주는 효과를 나타내고 있어 프로폴리스는 생체 내에서 항산화제의 역할 혹은 항산화효소의 활성을 촉진함으로써 활성산소의 생성을 지속적으로 억제하거나 제거에 관여할 것으로 생각된다. Superoxide anion의 제거에 관여하는 SOD의 활성은 프로폴리스 섭취 후 방사선 조사 시 대조군에 비해 활성이 감소하고 있으나 방사선 조사 30일 정도가 되면 SOD의 활성이 대조군 수준으로 회복되고 있다. 일련의 방사선 조사에 의해 SOD의 활성은 저해되지만 지속적인 프로폴리스의 섭취로 SOD 활성은 대조군 수준으로 회복되고 있어 SOD 활성의 회복에는 장기적인 프로폴리스의 섭취가 필요할 것으로 생각된다. 그러나 이 시기에 superoxide anion의 농도도 증가하고 있어 SOD의 활성이 증가되어도 효율적인 활성산소의 제거에는 관여하지 못하는 것으로 보인다. 또한 과산화수소의 제거에 관여하는 CAT의 활성은 프로폴리스 섭취 후 방사선을 조사하면 방사선 조사 초기에는 활성이 다소 증가되지만 30일 정도 경과되면 이의 활성이 대조군 수준으로 감소하는 것으로 보아 프로폴리스 섭취로 인한 CAT의 활성은 방사선 조사 초기에 주로 효과를 나타내는 것으로 생각된다.

지질과산화반응은 일련의 연쇄반응으로 lipid peroxy radical이 형성되면, 이는 기타의 지질분자와 반응하여 lipid hydroperoxide와 기타의 LOO^{\cdot} radical이 형성되며 이러한 연쇄반응은 지속적으로 일어나게 된다. 이러한 연쇄반응으로 연쇄중지 항산화제가 이 반응을 정지시키지 않는 한 수천 번이고 반복적으로 일어나 수많은 불포화 지방산을 파괴하게 되며 결국 세포막은 파괴된다. 이러한 지질과산화반응을 통해 막

유동성의 손실, 선택적 투과성의 손실, 막을 통한 aldehyde의 세포소기관 침투, 유기 라디칼과 단백질의 결합으로 인한 노화 색소인 lipofuscin의 형성, 산화된 지질생성물의 수많은 효소 기능 억제 및 DNA와 작용하여 DNA 부가 생성물을 형성하게 된다. 결국 지질과산화반응이 누적되면 동맥경화증, 용혈성 빈혈, 허혈, 암 및 노화를 나타내게 된다 (Ahmad, 1995). 이러한 과정에는 일반적으로 GSH를 매개로 GPOX, GST 및 GR 등과 같은 항산화효소가 peroxy radical의 산화·환원 과정에 관여하며, 유기 라디칼을 제거한다 (Jakoby, 1985; Halliwell and Gutteridge, 1985). 본 연구에서 GPOX의 활성은 대조군에 비해 프로폴리스 섭취 후 방사선 조사 실험군에서 방사선 조사 초기에 활성이 증가하나 그 이후에는 활성이 감소하고 있으며, 장기적으로 프로폴리스를 섭취시키면 이의 활성이 다시 증대되는 효과를 나타내고 있다. GST의 활성도 프로폴리스 섭취에 따라 방사선 조사 초기에는 대조군에 비해 매우 증가하고 있다. 단지 이의 활성은 지속적인 프로폴리스의 섭취에도 불구하고 지속적으로 감소하고 있어 프로폴리스는 방사선 조사 초기에 보다 효율적으로 작용하는 것 같다. GR의 활성은 GPOX나 GST와는 달리 프로폴리스 섭취에 따라 활성이 감소하고 있지만 프로폴리스 섭취 후 방사선을 조사한 실험군에서 방사선 조사 30일 후에 이의 활성이 급격히 증가하여 대조군 수준으로 활성이 증가하는 것으로 보아 지속적인 프로폴리스의 섭취가 GR의 활성 회복에 효과를 나타낼 것으로 생각된다.

프로폴리스의 섭취로 인해 방사선 조사 초기에는 CAT와 GST의 활성이 증가되며 SOD, GPOX 및 GR의 활성은 방사선 조사 초기에는 감소하지만 지속적인 프로폴리스의 섭취에 의해 이의 활성이 회복되는 경향을 보여주고 있어 프로폴리스는 항산화효소의 활성을 증가시켜 주거나 이의 활성을 회복시켜 줌으로서 방사선 조사로 인한 부작용을 완화시키는 역할을 할 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2006년도 안동대학교 특성화 추진 지원사업에 의하여 연구되었음.

REFERENCES

- Aebi H. Catalase in vitro. In Packer (ed): *Methods in Enzymology*. 1984. Vol 105, pp 121-126. Academic Press. NY, USA.
- Ahmad S. *Oxidative stress and antioxidant defenses in biology*. 1995. 238-272. Chapman and Hall. NY, USA.
- Aust SD, Chignell CF, Bray TM, Kalyanaraman B, Mason RP. Free radicals in toxicology. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1993. 120: 168-178.
- Benderitter M, Maingon P, Abadie C, Assem M, Mauipoil V, Briot F, Horiot JC, Rochette L. Effect of in vivo heart irradiation on the development of antioxidant defense and cardiac function in the rat. *Radiat Res*. 1995. 44: 64-72.
- Brumfitt W, Hamilton-Miller JMT, Franklin I. Antibiotic activity of natural products. *Microbios* 1990. 62: 19-22.
- Cavalieri LG, Rogan P, Cremonesi M, Devanesan D. Radical cations as precursors in metabolic formation of quinones from benzopyrene and 6-fluoro-benzopyrene. Fluoro substitution as a probe for one-electron oxidation in aromatic substrates. *Biochem Pharmacol*. 1988. 37: 2173-2176.
- Choi JH, Kim DI, Park SH, Kim DW, Lee JS, Kim HS. Investigation of anti-aging effect and determination of chemical structures of pine needle extract (PNE) through the animal experiments. 1. Effects of PNE on oxygen radicals and their scavenger enzymes in liver of SD rats. *Korean J Life Sci*. 1999. 9: 466-472.
- Datta K, Sinha S, Chattopadhyay P. Reactive oxygen species in health and disease. *Nat'l Med J India*. 2000. 13: 304-310.
- Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 2002. 82: 47-95.
- El-Ghazaly MA, Khayal MT. The use of aqueous propolis extract against radiation induced damage. *Drugs Exp Clin Res*. 1995. 21: 229-236.
- Flohe L, Gunzler WA. Assay of glutathione peroxidase, *Methods in enzymology*. 1984. Vol 105, pp 114-121. Academic Press. NY, USA.
- Fridovich I. Biological effects of the superoxide radical. *Arch Biochem Biophys*. 1986. 247: 1-11.
- Griffith OW. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Anal biochem*. 1980. 106: 207-212.
- Glatzle D, Vuilleumier JP, Weber F, Decker K. Glutathione reductase test with whole blood, a convenient procedure for the assessment of the riboflavin status in humans. *Experientia* 1974. 30: 665-668.
- Habig WH, Jakoby WB. Glutathione S-transferase in rat and human. *Methods in Enzymology*. 1981. Vol 77, pp 218-231. Academic Press. NY, USA.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. 1985. pp 323. Oxford University Press, London, UK.
- Jakoby WB. Glutathione transferases: an overview. *Methods in Enzymology*. 1985. Vol 113, pp 495-499. Academic Press. NY, USA.
- Kim DJ, Chang CC. The effect of red ginseng extracts on anti-

- oxidant enzyme activities and lipid peroxidation of the kidney in γ -postirradiated mice. *Korean J Ginseng Sci.* 1994. 18: 25-31.
- Kim DY, Chang JC. Radioprotective effect of ginseng components on antioxidant enzymes glutathione and lipid peroxidation of liver in γ -irradiation mice. *Korean J Ginseng Sci.* 1998. 22: 1-10.
- Kim SR, Lee HJ, Kim SH. The radioprotective effects of green tea and its fraction in Gamma-irradiation mice. *Korea J Vet Res.* 2003. 43: 633-639.
- Kuo CF, Fridovich I. Free-radical chain oxidation of 2-nitropropane initiated and propagated by superoxide. *Biochem J.* 1986. 237: 505-510.
- McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte protein (Hemocuprotein). *J Biol Chem.* 1969. 244: 6049-6055.
- Montoro A, Almonacid M, Serrano J, Saiz M, Barquinero JF, Barrios L, Verdu G, Jeong IY. Antioxidant activity and radioprotection of two flavonoids from propolis. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2005. 34: 162-166.
- von Deusch AW, Mitchell CD, Williams CE, Dutt K, Silvestrov NA, Klement BJ, Abukhalaf IK, von Deusch DA. Polyamines protect against radiation-induced oxidative stress. *Gravit Space Biol Bull.* 2005. 18: 109-110.
- Yamaoka K, Edamatsu R, Itoh T, Mori A. Effects of low-dose X-ray irradiation on biomembrane in brain cortex of aged rats. *Free Radic Biol Med.* 1994. 16: 529-534.
- Yuhus J. Active versus passive absorption kinetics as the basis for selective protection of normal tissue by S-2-(3-aminopropylamino)-ethyl-phosphorothioic acid. *Cancer Res.* 1980. 40: 1519-1524.
-