

양파식이가 흰쥐에서 사염화탄소 독성에 미치는 영향

박평심 · 이병래* · 이명렬†

조선대학교 산업대학 식품영양학과
*조선대학교 의과대학 생화학교실

Effects of Onion Diet on Carbon Tetrachloride Toxicity of Rats

Pyoung-Sim Park, Byoung-Re Lee* and Myung-Yul Lee†

Dept. of Food and Nutrition, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea

*Dept. of Biochemistry, College of Medicine, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea

Abstract

This study designs to investigate effects of onion diet on carbon tetrachloride toxicity of rats. Experiments were performed with week's feeding, body weight, food intake, ratio of organ weight/body weight, serum lipid levels, superoxide dismutase and catalase activity and malondialdehyde(MDA) content in liver and kidney were determined. The contents of serum total cholesterol in each group were lower than those of control group($p < 0.05$), especially at onion juice treated group. Serum HDL-cholesterol level of CBB and CBJ groups was significantly lower than that of control group ($p < 0.05$). Superoxide dismutase activities of liver and kidney were significantly increased by carbon tetrachloride treatment and decreased by onion feeding. MDA contents in liver and kidney of CCl_4 treated rats were significantly decreased by boiled and fresh onion fed group, compared with CCl_4 treated control group. This result suggested that onion diet has a protective effect on CCl_4 induced hepatotoxicity and nephrotoxicity of rat.

Key words : superoxide dismutase, catalase, MDA, carbon tetrachloride, onion

서 론

천연물중에는 flavonoid계 색소, phenol계 및 방향족 amine등 항산화작용을 나타내는 물질이 많다¹⁻³⁾. 양파(*Allium cepa* L.)는 가정에서 빈번히 사용하는 채소로 성분중에는 quercetin, quercitrin, rutin등의 flavonoid계 색소⁴⁾, 황 함유화합물인 allyl propyl disulfide 및 diallyl disulfide⁵⁻⁷⁾등이 함유되어 항산화

작용을 가지고 있는 것으로 알려지고 있다. 항산화 작용을 가지고 있는 물질들은 지질과산화물의 형성 억제⁸⁻¹⁰⁾ 뿐만아니라 노화의 지연¹¹⁾등에도 관계되어 있으며 항동맥경화효과를 가지고 있다¹²⁻¹⁴⁾는 연구 보고들은 많으나 양파식이에 의한 지질과산화물 생성 등에 대한 연구는 아직 미진한 상태이다.

사염화탄소는 microsomal enzyme인 mixed-function oxidase system과 cytochrome P-450에 의해서 trichloromethyl free radical을 형성하여 세포막인지질의 불포화지방산을 과산화시킴으로써 독성을 나타

† To whom all correspondence should be addressed

내는 것으로 알려져 있다⁸⁾.

본 연구에서는 양파식이 사염화탄소 독성에 미치는 영향을 알기 위하여 흰쥐에 실험적으로 사염화탄소를 투여한후 4주동안 양파식으로 사육하여 체중, 식이섭취량, 혈청지질농도를 측정하고, 간과 신장의 superoxide dismutase 및 catalase활성도, 지질과산화도를 측정하여 보고한다.

재료 및 방법

150g정도 되는 수컷 흰쥐를 1주일간 기초사료(제일사료)로 사육한후 5마리씩 기초사료 투여군(정상군) 및 CCl₄투여군으로 나누고, CCl₄투여군은 다시 대조군, 삶은양파(boiled onion), 생양파(fresh onion) 및 양파즙(onion juice)투여군으로 나누어 4주간 사육하면서 매일 일정한 시간에 식이섭취량과 주 1회 체중을 측정하였다.

실험식은 신선한 양파를 시장에서 구입 세절한 후 자연건조하여 생양파 식이로, 세절한 양파를 삶아서 자연건조 시켜 삶은 양파식으로 하여 실험식이 성분표에 의거(Table 1) 기초사료에 첨가후 실험식이로 사용하였으며, 양파즙은 juicer를 사용하여 즙을내어(양파 100g당 80.0ml의 즙을얻음) 한마리당 1일 2.0ml(10ml/kg of body weight)씩 경구투여 하였다. CCl₄는 CCl₄:olive oil(1:3)으로 하여 체중kg당 0.5ml씩 1일 간격으로 2회 피하주사하였다.

실험식이로 4주간 사육한 흰쥐를 12시간 절식시킨 뒤 ethyl ether로 마취하여 경동맥을 절제 채혈하여 응고시킨 후 3000rpm으로 15분간 원심분리하여 혈청을 얻었으며 간, 신장을 적출하여 무게를 측정하였다.

Table 1. Experimental diet composition

Groups	Diet composition	
B	basal diet	—
CB	basal diet	+ CCl ₄ (0.5ml/kg)
CBB	basal diet + boiled onion(4%)	+ CCl ₄ (0.5ml/kg)
CBF	basal diet + fresh onion(4%)	+ CCl ₄ (0.5ml/kg)
CBJ	basal diet + onion juice	+ CCl ₄ (0.5ml/kg)
Onion juice dosage : 10ml/kg of body weight/day		
CB	CCl ₄ + basal diet	
CBB	CCl ₄ + basal diet + boiled onion	
CBF	CCl ₄ + basal diet + fresh onion	
CBJ	CCl ₄ + basal diet + onion juice	

혈청중의 total cholesterol, HDL-cholesterol 및 triglyceride농도는 효소에 의한 측정 kit(V-cholesterolase; Nissui, high-cholesterolase; Iatron, TG-S; Iatron)를 사용하여 자동분석기(Gilford 203)로 측정하였으며, LDL-cholesterol량은 total cholesterol - (HDL-cholesterol) - (triglyceride/5)로 계산하였다.

적출한 간과 신장은 미리 냉각된 생리식염수로 세척한 후 10배 (w/v)의 냉각된 100mM phosphate buffer (pH7.4)를 가하여, Teflon-pestle homogenizer 균질화 시켰으며 4°C에서 10,000×g로 30분간 원심분리하여 상청액을 조효소액으로 사용하여 superoxide dismutase(이하 SOD)활성도는 Crapo법¹⁶⁾, Catalase활성도는 Abei법¹⁶⁾ 및 지질과산화도는 Buege and Aust등의 TBA법¹⁷⁾으로 측정하였다.

단백질의 정량은 Lowry등의 방법¹⁸⁾에 의해서 측정하였으며 이상의 실험결과는 student t-test에 의하여 검정 하였다.

결과 및 고찰

체중 및 식이섭취량

4주간 실험식이로 사육한 흰쥐의 체중 및 식이섭취량은 Table 2 와 같다. CB군이 B군에 비하여 체중이 감소되었는데 이결과는 Richard등¹⁹⁾, Mowat등²⁰⁾의 연구결과와도 일치한다. 그러나 CCl₄와 양파를 동시에 투여한 CBB, CBF군에서는 모두 B군과 비슷한 체중증가를 나타냈으며, 식이섭취량은 전실험군에서 비슷하였다.

장기의 중량

실험식에 의한 4주후의 체중에 대한 장기중량의 비율은 Table 3과 같다.

Table 2. Effects of onion diet on body weight and food intake of carbon tetrachloride treated rats
(mean ± S.D, n=10)

Groups*	Body weight(g)	Food intake(g/day)
B	276 ± 22	23.0 ± 2.2
CB	256 ± 30	22.7 ± 3.4
CBB	286 ± 11	23.2 ± 2.8
CBF	270 ± 26	20.0 ± 1.7
CBJ	283 ± 10	20.0 ± 2.1

* Refer to table 1

Table 3. Effects of onion diet on organ weight/body weight ratio of carbon tetrachloride treated rats

Groups*	Organ weight/body weight ratio(%)	
	Liver	Kidney
B	4.28±0.39	0.79±0.22
CB	4.75±0.24	2.01±0.11#
CBB	4.35±0.36	1.01±0.21*
CBF	4.05±0.44	1.09±0.22*
CBJ	3.65±0.59	0.95±0.20*

Mean±SD, n=5.

; p<0.05 compared with B group

* ; p<0.05 compared with CB group

CCl₄를 투여하면 간세포막 손상으로 투과성이 증가하여 부종이 일어나고 지방변성이 일어나 간내에 지질성분이 다량 축적되므로써 중량이 증가되어지는데²⁰ 본 실험에서 CBF군과 CBJ군이 CB군에 비하여 체중에 대한 간장중량의 비율이 저하되었으나 통계적인 의의는 없었다.

체중에 대한 신장중량의 비율은 CCl₄투여로 CB군이 B군에 비하여 약 145%증가되었으나 양파식으로 의미있는 감소효과를 나타냈다(p<0.05).

혈청중의 지질함량

흰쥐에 CCl₄를 투여하고 4주간 양파식으로 사육한 후 혈청중의 total cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol 및 LDL-cholesterol량을 측정된 결과는 Table 4와 같다.

혈청 총 콜레스테롤농도는 CCl₄투여로 B군에 비하여 상승되었으나 양파식으로 저하되었으며(p<0.05) 특히 시료중 CBJ군의 혈청농도는 정상군에 근접하였다(p<0.05). 이 결과는 Menson등이 양파가 CCl₄투여로 유도된 고지혈증을 저하시키는 작용이 있다²¹는 연구보고와 일치하며 그 원인은 양파중에 함유되어 있는 황 함유화합물인 allyl propyl disulfide와 diallyl disulfide²²⁻²³ 혹은 quercitrin, quercetin, rutin등의 flavonoid계의 항산화작용²⁴에 의한 것으로 알려지고 있으나 본 논문의 결과로서는 단정지을 수 없으며 앞으로 식이투여량, 투여기간 및 방법등의 다양화를 통하여 계속 추구해 보아야 할 것으로 사료된다.

HDL콜레스테롤 농도는 CBB, CBJ군이 CB군에 비하여 유의적인 저하효과를 나타냈으며(p<0.05) 혈청중 triglyceride 농도는 CBJ군이 CB군에 비하여 유의

Table 4. Effects of onion diet on serum lipid levels of carbon tetrachloride treated rats

Groups	Serum lipid level (mg/dl)			
	T-CHO	HDL-CHO	LDL-CHO	TG
B	52.2±7.0	28.4±4.5	7.9±9.4	77.4±21.0
CB	74.7±8.5#	44.0±4.3*	7.5±4.2	165.7±23.5*
CBB	57.0±7.1*	32.3±3.7*	8.8±8.4	179.3±28.8
CBF	30.0±4.3*	35.8±4.0	8.1±6.6	132.0±23.1
CBJ	56.3±4.8*	33.0±3.2*	9.5±9.1	109.0±15.9*

T-CHO ; Total cholesterol, TG ; triglyceride.

Mean±SD, n=5.

; p<0.05 compared with B group

* ; p<0.05 compared with CB group

성있게 증가가 억제되었다(p<0.05).

이상의 결과로 미루어 CCl₄에 의해서 유도되는 혈청지질의 증가를 양파투여로 억제할 수 있는 것으로 생각된다.

SOD 활성화도

간의 SOD 활성화도를 측정된 결과 CCl₄투여로 CB군이 B군에 비하여 약 35%가 증가 되었으나(p<0.01), 양파 투여로 의하여 CB군에 비하여 효소 활성화도의 증가가 둔화 되었는데(p<0.05) 특히 CBJ군이 우수한 효과를 나타냈다(p<0.05). 또한 신장에서는 CCl₄투여로 B군에 비하여 효소 활성화도가 약 54% 증가 되었으나(p<0.01), CBJ군은 CB군에 비하여 유의성있게 효소활성도증가를 둔화시켰다(p<0.01, Table 5).

CCl₄독성은 그자체보다도 조직의 endoplasmic reticulum에서 생성되는 대사산물인 trichloromethyl free radical (CCl₄→Cl+·CCl₃)에 의해서 생체막손상이 초래되는데²⁵, trichloromethyl free radical은 산소

Table 5. Effects of onion diet on superoxide dismutase activity on liver and kidney in CCl₄ treated rats

Groups	Enzyme activity(mU/mg protein)	
	Liver	Kidney
B	67.56±4.58	98.14±15.69
CB	91.73±0.69#	151.83±17.46#
CBB	82.51±3.23*	136.96±18.81
CBF	81.12±3.13*	144.22±16.20
CBJ	72.10±5.71*	105.98±7.45**

Mean±SD, n=5.

; p<0.05 compared with B group

* ; p<0.05 ** ; p<0.01 compared with CB group

와 반응 하여 trichloromethyl peroxy radical (CCl₃O₂)을 생성하여 세포손상을 초래한다²⁶. Oxygen free radicals는 xanthine oxidase등의 생물학적 반응²⁶, 고농도의 산소투여²⁵⁻²⁷, 및 CCl₄등의 투여^{8,28}에 의하여 생성될수 있는 독성이 매우 강한 물질로서 산소대사를 하는 생물체는 superoxide를 제거하는 효소인 SOD를 갖고 있어서 생체는 superoxide에 의한 손상으로부터 보호받고 있다.

본 실험에서 CCl₄투여로 SOD활성도가 증가 되었는데 (p<0.01), CCl₄투여로증가된 oxygen free radicals에 의하여 SOD가 유도되어 효소활성도가 증가된 것으로 생각되며 양과의 투여로 효소활성이 정상 회복된 결과로 보아 양과가 CCl₄독성에 대한 해독 효과가 있는 것으로 생각된다.

Catalase 활성도

간, 신장조직의 세포질내 catalase활성도를 살펴보면 CB군은 B군에 비하여 증가를 나타냈으나 (p<0.01), CBB (p<0.05), CBJ (p<0.01) 군은 CB군에 비하여 증가가 둔화되었다 (Table 6).

Catalase는 조직내에서 SOD효소반응등에 의하여 형성된 H₂O₂를 제거하여 생체를 방어하는 기능을 나

Table 6. Effects of onion diet on catalase activity of liver and kidney in carbon tetrachloride treated rats

Groups	Enzyme activity(mU/mg protein)	
	Liver	Kidney
B	347.1±46.8	197.9±26.9
CB	463.5±19.5#	279.2±41.0#
CBB	352.3±33.7*	251.2±54.3
CBF	375.7±33.3	195.7±32.2
CBJ	352.5±21.4**	183.3±23.2**

Mean±SD, n=5.

; p<0.01 compared with B group

* ; p<0.05, ** ; p<0.01 compared with CB group

타내는데 본 실험에서 CCl₄투여로 catalase활성도가 증가된것은 CCl₄에 의해 생성된 free radical에 의하여 H₂O₂양이 증가되고 이로 인하여 효소합성이 촉진된 결과로 생각된다.

지질과산화도

지질과산화는 oxygen radical에 의해 불포화지방산에서 일어나는 연쇄반응¹⁷으로 oxygen radical의 직접

적인 작용보다는 철 이온 존재하에 superoxide와 H₂O₂의 상호작용에 의해 형성되는 OH에 의해 간접적으로 일어나며, 이의 주된 손상장소가 DNA나 세포막이다²⁶⁻²⁷.

본 실험에서 간에서 CB군은 CCl₄투여로 지질과산화물질인 malondialdehyde(MDA)량이 B군에 비하여 12%가 증가 되었으나, 양과 투여로 CB군에 비하여 감소 되었으며 (CBB, CBJ : p<0.05, CBF : p<0.01), 신장에서는 CCl₄투여로 CB군이 B군에 비하여 약 22% 증가 되었으나 양과투여로 감소효과를 나타냈다 (p<0.05, Table 7).

Table 7. Effects of onion diet on MDA content of liver and kidney in carbon tetrachloride treated rats

Groups	MDA (nM/mg protein)	
	Liver	Kidney
B	40.03±2.51	35.96±2.05
CB	45.07±3.47	43.41±2.27#
CBB	35.78±4.16*	34.77±1.10*
CBF	34.35±2.36**	36.76±3.94*
CBJ	35.12±2.80*	36.78±3.73*

Mean±SD, n=5.

; p<0.01 compared with B group

* ; p<0.05, ** ; p<0.01 compared with CB group

요 약

양과식이 CCl₄독성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 생양과, 삶은양과, 양과즙을 실험식으로 흰쥐를 4주간 사육하여 체중, 식이섭취량, 장기중량, 혈청지질농도와 간 및 신장의 SOD, catalase활성도 및 지질과산화도의 변화를 관찰하였다. 체중, 식이섭취량 및 장기의 중량에 있어서 유의적인 변화는 없었으나 신장의 무게는 CCl₄투여에 의해 증가 되었으나 양과로 유의한 감소효과를 나타냈다 (p<0.05). 혈청 콜레스테롤 농도는 CCl₄투여로 증가를 나타냈으나 양과로 유의한 감소를 나타냈는데 생양과와 양과즙을 투여한 군에서 우수한 효과를 나타냈다. 간 및 신장의 SOD 및 catalase활성도는 모두 CCl₄투여로 효소활성도가 증가되었으나 양과투여로 효소활성도가 억제되었는데 양과즙이 우수한 영향을 나타냈다. 간 및 신장의 지질과산화도는 CCl₄투여로 증가되었던 지질과산화물질인 malondialdehyde양이 양과투여로 인하여 감소되었

다.

이상의 결과로 미루어 양파는 흰쥐에서 CCl_4 투여로 증가된 혈청중의 지질함량을 낮추고 간장 및 신장의 MDA, SOD 및 catalase활성의 변화를 둔화시키는 것으로 보아 CCl_4 독성을 완화시키는 작용이 있는것으로 사료된다.

문 헌

- Pratt, D. E. and Watts, B. W. : The antioxidant activity of vegetable extracts, I. Flavone aglycones. *J. Food Sci.*, **29**, 27 (1964)
- Chang, S. S., Ostric-Matijasevice, B., Hsieh oliver, A. I. and Hyung, C. L. : Natural antioxidants from rosmary and sage. *J. Food Sci.*, **42**, 1102(1977)
- Hammerschmidt, P. A. and Pratt, D. E. : Phenolic antioxidants of dried soybeans. *J. Food Sci.*, **43**, 556(1977)
- 赤松金芳 : 新訂 和漢藥, 東京, 醫齒學出版社, p. 587(1974)
- Pratt, D. E. : Lipid antioxidants in plant tissue. *J. Food Sci.*, **30**, 737(1965)
- Borida, A. and Bansal, H. C. : Essential oil of garlic in prevention of atherosclerosis. *Lancet*, **2**, 4(1973)
- Borida, A., Bansal, H. C., Arora, S. K. and Singh, S. V. : Effect of the essential oils of garlic and onion on alimentary hyperlipemia. *Atherosclerosis*, **21**, 15(1975)
- Recknagel, R. O., Glende, E. A. and Hruszkewycz, A. M. : Chemical mechanisms in carbon tetrachloride toxicity. *Free radicals in biology*, vol III, Pryor, W. A. (ed), Academic Press, New York, p.97 (1982)
- Combs, G. F. Jr. and Scott, M. L. : Antioxidant effects on selenium and vitamin E function in the chick. *J. Nutr.*, **104**, 1297(1974).
- Chen, L. H. and Barnes, K. J. : Nutritional relationship of vitamin E and vitamin C in guinea pigs. *Nutr. Rep. Int.*, **14**, 89(1976)
- Harman, D., Heidrick, M. L. and Eddy, D. E. : Free radical theory of aging ; Effect of free radical reaction inhibitors on the immune response. *J. Am. Geriatr. Soc.*, **25**, 400 (1977)
- Hirahara, F. : Effects of D- α -tocopherol and D- α -tocopherol on atherogenic diet fed rats after high dose administration. *Nutr. Rep. Int.*, **36**, 161 (1987)
- Stone, W. L., Stewart, M. E., Nicholas, C. and Pavuluri, S. : Effects of dietary selenium and vitamin E on plasma lipoprotein cholesterol levels in male rats. *Ann. Nutr. Metab.*, **30**, 94(1986)
- Westrope, K. L., Miller, R. A. and Wilson, R. B. : Vitamin E in a rabbit model of endogeneous hypercholesterolemia and atherosclerosis. *Nutr. Rep. Int.*, **25**, 83(1982)
- Crapo, H. C., McCord, M. J. and Fridovich, I. : Preparation and assay of superoxide dismutase. In "*Methods in enzymology*", Fleischer, S. and Packer, L. (eds.), Academic Press, New York, p.382(1978)
- Abei, H. : Catalase. In "*Methods of enzymatic analysis*", Bergmeyer, H. U., Bergmeyer, J. and Grabl, M. (eds.), Verlag chemie, **3**, 273 (1983)
- Buege, A. J. and Aust, D. S. : Microsomal lipid peroxidation. In "*Methods in enzymology*". Fleischer, S. and Packer, L., (eds.), Academic Press, New York, **52**, 302(1978)
- Lowry, C. H., Rsenbrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 256 (1951)
- Richard, A. P., Glaug, M. R., Greco, R. S., Mackenzie, J. W., Boyd, C. D. and Deak, S. B. : Increased procollagen mRNA levels in carbon tetrachloride induced liver fibrosis in rats. *J. Biol. Chem.*, **262**, 1652(1978)
- Trivedi, P. and Mowat, A. P. : Carbon tetrachloride induced hepatic fibrosis and cirrhosis in the developing rat : An experimental model of cirrhosis in childhood. *Br. J. Exp. Path.*, **64**, 25 (1983)
- Menson, I. S., Kendal, R. Y., Dewar, H. A. and Newell, D. J. : Effect of onions on blood fibrinolytic activity. *Brit. Med. J.*, **3**, 351(1968)
- Borida, A., Verma, S. K., Vyas, A. K., Khaba, B. L., Rathore, A. S., Bhu, N. and Bedi, H. K. : Effect of essential oil of onion and garlic on experimetal atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis*, **26**, 379(1977)
- Fawell, J. K. and Hunt, S. : In "*Environmental toxicology*", John Willy and Sons, New York, p. 160 (1988)
- Fridovich, I. : Quantitative aspects of the production of superoxide anion radical by milk xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.*, **245**, 4053(1970)
- Fridovich, I. : Biological effects of the superoxide radical. *Arch. Biochem. Biophys.*, **247**, 1 (1986)
- Fridovich, I. : Superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.*, **264**, 7764(1989)
- Fred, J., Yost, J. and Fridovich, I. : Superoxide and hydrogen peroxide in oxygen damage. *Arch. Biochem. Biophys.*, **175**, 514(1976)

(1990년 12월 28일 접수)