

사염화탄소에 의해 유발된 급성간장장애에 대한 마늘의 간장 보호 효과

박 무 현 · 강 종 구¹⁾ · 이 병 우

한국식품개발연구원 ¹⁾충북대학교 수의과대학

Effect of Liver Protection of Garlic on Acute Liver Damage Caused by Carbon tetrachloride

Moo-Hyun Park · Jong-Koo Kang¹⁾ · Byung-Woo Lee

Korea Food Research Institute, ¹⁾Chungbuk National University

Abstract

To determine the effect of garlic on acute liver damage caused by CCl₄, the values of GOT, GPT, LDH in blood were measured. GOT, GPT, LDH values from mouse treated 2,000mg/kg garlic substance powder were significantly lower than distilled water treated mouse. In the viewpoint of pathological tissue science on liver tissue, liver tissues of CCl₄ treated mouse(positive treatment) after distilled water ingestion only showed big death, but 2,000mg/kg garlic powder treated mouse rarely showed death of liver tissue.

Key Words : Garlic, Acute liver damage, Caron tetrachloride

緒 言

최근 식생활의 다양화에 수반된 동물성식품과 주류 등의 섭취증가로 간질환, 고혈압, 혈관순환계질환 등의 성인병 발생율이 증가되고 있는 실정이며, 유해산업공해물질이 인체에 폭로됨으로써 질병 발생율이 증가되고 있다. 공해물질중 xenobiotics의 일종인 사염화탄소(이하 CCl₄)는 간독소의 일종으로 생체의 단백 영양상태에 따라서 그 독성발현이 차이를 나타낸다고 보고되고 있다¹³⁾.

CCl₄를 단일 투여한 rat에서 간세포의 소엽중심성괴사(centrilobular necrosis)와 지방변성을 일으키며^{2,11,12)}, CCl₄는 간에서 단백질 합성의 저해, K⁺축적의 저해, 간세포의 괴사, microsomal enzyme의 활성을 저해하는 대표적인 물질로서¹⁴⁾ hepatocellular endoplasmic reticulum에서 CCl₃ free radical이 대사되어^{5,10)} lipid peroxidation을 일으켜 간독성을 일으키고, hepatic lipid의

alkyl기 또는 liver nuclear DNA와 covalent binding을하여 간괴사를 일으킨다고 보고되었다.^{3,8,9)} 특히 rat와 mouse에 있어서 CCl₄가 sodium phenobarbital(PB)와 같은 cytochrome P-450 inducer와 동시에 투여될시 간독성은 더욱 증가된다고 알려져 있다.^{6,7,15)} 이러한 간독성 때문에 CCl₄는 환경오염 물질로 취급되어 점차 그 사용이 제한되고 있지만 다양한 간질환을 유발시킬 수 있어 약물의 효과를 밝히는 간장독으로 널리 사용되고 있다. 따라서 본 연구는 마늘분말제재 및 추출물이 CCl₄에 의해 유발된 mouse의 급성간장장애에 어떤 효과를 미치는지를 비교검색 하였다.

材料 및 方法

1) 材料, 實驗動物 및 飼育環境

실험에 사용한 실험동물 및 사육환경은 전보와 동일한 방법으로 사용하였으며, garlic powder는

Table 1. Experimental groups, dosage of garlic powder and extract shown in table.

Material of dosage	Experimental groups	Dose	CCl ₄ . (μl/kg)
Garlic powder	GP-1, Male	2000(mg/kgB.W)	40
Garlic powder	GP-2, Male	200(mg/kgB.W)	40
Garlic extract	GP-3, Male	10(ml/kg B.W)	40
Garlic extract	GP-4, Male	1(ml/kg B.W)	40
D.W positive	GP-5, Male	20(ml/kgB.W)	40
D.W negative	GP-6, Male	20(ml/kgB.W)	0

G : garlic P : protective effect

마늘 인편을 절단후 가열추출하여 얻은 액을 동결 건조하여 사용하였다.¹⁾

2) 投與量 및 試驗群의 構成

마늘 분말제제와 추출물을 주사용증류수에 용해시켜 분말제제의 경우는 mouse에 경구로 투여할 수 있는 최대량인 체중kg당 2,000mg(투여액량: 0.2ml/10g B.W)을 최고용량으로 설정한 다음, 이 용액을 10배 희석하여 200mg/kg의 용량군을 설정하였다. 추출물의 경우, 체중kg당 10ml(투여액량: 0.2ml/10g B.W)을 최고용량으로 설정한 다음, 이 용액을 10배 희석하여 1ml/kg의 용량군을 설정하였다. 또한 양성대조군과 음성대조군은 주사용증류수 만을 투여한다.

시험군의 구성, 투여량 및 투여액량은 표 1과 같다.

3) 投與方法

① 檢액의 調製방법

마늘분말제제는 주사용증류수에 녹여서 조제하였고, 추출물의 경우 원액을 2배 희석하여 최고농도로 조제하였다. 간장해 유도물질인 CCl₄용액의 조제는 올리브 오일에 희석하여 조제하였다.

② 투여회수 및 투여기간

췌투여는 시험개시부터 5일간 연속투여한 다음 급성간장해 유도를 위해서 5일째에 CCl₄를 투여하였다.

③ 투여부위 및 투여법

경구투여는 Sonde를 이용하여 위내에 투여하였다.

4) 試驗方法

마늘의 간장해 예방 및 치료에 미치는 영향을 검색하기 위하여 5일간 마늘분말제제와 추출액을 투여하고 마지막 투여 6시간후에 CCl₄를 음성대조군을 제외한 모든군에 상기의 농도로 투여하였다. 그후 22시간을 절식시키고 부검하여 혈액을 채취한 후 혈청을 분리하고, 분리한 혈청을 이용하여 검사를 실시하였다.

5) 觀察 및 檢査項目

① 간장지표 효소의 측정

각군의 실험동물은 도살부검시 혈액은 모두 복혈정맥으로 부터 채혈하여 헤파린처리한 소원심관에 넣어 3,000rpm으로 2분간 원심분리하여 혈장을 분리한 후에 Spochem(Dry chemistry)에 넣어 S-GOT, S-GPT, LDH(lactate dehydrogenase)를 측정하였다.

② 예방효과의 계산

③ 간장의 병리조직학적 관찰

각군의 실험동물은 도살부검시 혈액을 채취하고 방혈 한 후에 간장을 일반적인 파라핀포매 과정을 거쳐 5μm두께의 조직절편을 제작한 다음 Hematdxylin-Eosin(H&E)염색을 하여 광학현미경으로 관찰하였다.

$$\text{Inhibition \%} = \frac{\text{CCl}_4 \text{ 투여군의 효소 측정치} - \text{시험물질 투여군의 효소 측정치}}{\text{CCl}_4 \text{ 투여군의 효소 측정치} - \text{정상군의 효소 측정치}}$$

6) 統計學的 解析

실험에서 얻은 측정치의 통계학적 분석은 one way ANOVA를 실시하여 유의 차가 있는 검사 항목은각 처리군과의 대조군간의 유의성을 검정하기 위하여 Dunnett's t-test로 $p < 0.001 (0.1\%)$, $p < 0.01 (1.0\%)$ 수준에서 검정하였다.

結果 및 考察

1. Oxaloacetic transaminase(GOT) activity

CCl₄에 의해 유발된 mouse의 급성간장장애에 대한 각 약물의 효과에 있어서 간독성의 지표인 GOT 측정결과는 표 2와 같다.

즉 CCl₄ 투여후 GOT 값은 마늘분말 2,000mg/kg투여군과 마늘 extract 1ml/kg 투여군은 증류수 투여군에 비하여 유의성있는 감소가 인정되었다 ($p < 0.001$).

그러나 마늘분말 200mg/kg투여군과 마늘

extract 10ml/kg 투여군에서는 증류수 투여군에 비하여 각각 22.1%, 19.4% 감소 되었으나 유의 차는 인정되지 않았다.

2. Glutamic pyruvic transaminase(GPT) activity

CCl₄에 의해 유발된 mouse의 유발된 급성간장장애에 대한 각 약물의 효과에 있어서 간독성의 지표인 GPT 측정결과는 표 3와 같다.

CCl₄투여 후 GPT값에 있어서 마늘분말 2,000mg/kg투여군은 증류수 투여군에 비하여 유의성 있는 감소가 인정되었다($p < 0.01$).

그러나 마늘분말 200mg/kg 투여군과 마늘 extract 10ml/kg, 1ml/kg투여군에서는 증류수 투여군에 비하여 유의 성 있는 감소는 인정되지 않았다. 한편, 마늘분말 2,000mg/kg투여군에 대한 결과는 Hikino¹⁵⁾등이 언급한 마늘성분이 CCl₄에 의한 간손상의 해독작용보고에서 정상 흰쥐의

Table 2. Protective effect of garlic on mice serum glutamic oxaloacetic transaminase(GOT) activity increased by CCl₄

Treatment	GOT(I.U/L)	Inhibition%
Normal	28.1±4	-
D.W.+CCl ₄	4847±719###	-
Garlic power+CCl ₄ (2,000mg/kg)	259.6±233.8***	95.2%
Garlic power+CCl ₄ (200mg/kg)	3784±2120	22.1%
Garlic extract+CCl ₄ (10ml/kg)	3914±1268	19.4%
Garlic extract+CCl ₄ (1ml/kg)	474.3±590.7***	90.7%

Values are represent mean ±S.D.

: $p < 0.001$ (vs normal group)

*** $p < 0.001$ (vs CCl₄ treated group)

Table 3. Protective effect of garlic on mice serum glutamic pyruvic transaminase(GPT) activity increased by CCl₄.

Treatment	GPT(I.U/L)	Inhibition %
Normal	99.3±38.6	—
D.W.+CCl ₄	2178±788 ^{###}	—
Garlicpower+CCl ₄ (2,000mg/kg)	186.9±250.1 ^{**}	95.8%
Garlicpower+CCl ₄ (200mg/kg)	2439.6±977.2	—
Garlic extract+CCl ₄ (10ml/kg)	1964.5±502.5	10.2%
Garlic extract+CCl ₄ (1ml/kg)	1528.8±1166.1	31.2%

Values are represent mean ±S.D.

: p<0.001(vs normal group)

** p<0.01(vs CCl₄ treated group)

GPT와 GOT가 각각 46, 91U이고 CCl₄를 투여 하여 상승된 GPT 412U를 alliin투여에 의해 하강시켰다는 보고와 일치하였다.

3. Lactate dehydrogenase(LDH) activity
CCl₄에 의해 유발된 mouse의 급성간장장애에 대한 각 약물의 효과에 있어서 간독성의 지표인 LDH 측정결과는 표 4와 같다. CCl₄투여 후

Table 4. Protective effect of garlic on mice serum lactate dehydrogenase(LDH) activity increased by CCl₄.

Treatment	LDH(I.U/L)	Inhibition %
Normal	1088.4±461.5	—
D.W.+CCl ₄	11689.8±1809.5 ^{###}	—
Garlic oil(power)+CCl ₄ (2,000mg/kg)	1725±397.2 ^{***}	94.0%
Garlic oil(power)+CCl ₄ (200mg/kg)	9495.6±3117.1	21.0%
Garlic oil(extract)+CCl ₄ (10ml/kg)	7245.8±1851.4 ^{**}	41.9%
Garlic oil(extract)+CCl ₄ (1ml/kg)	11533.8±3504.8	1.5%

Values are represent mean ±S.D.

: p<0.001(vs normal group)

*** : p<0.001(vs CCl₄ treated group)

** : p<0.01 (vs CCl₄ treated group)

LDH값에 있어서 마늘분말 2,000mg/kg 투여군은 증류수 투여군에 비하여 유의성 있는 감소가 인정 되었으며($p < 0.001$), 10ml/kg 투여군에서도 증류수투여군에 비하여유의성 있는 감소가 관찰되었다($p < 0.01$).

그러나 마늘분말 200mg/kg 투여군과 마늘 extract 1ml/kg투여군에서는 증류수 투여군에 비하여 유의성 있는 감소는 인정 되지 않았다.

4. 병리조직학적인 검사

CCl₄ 투여 후의 mouse에 있어서 관찰된 간의 병리조직학적인 결과는 Fig 1,2에 나타난 바와 같다. 즉 마늘분말을 투여하지 않고(Fig.1) CCl₄를 투여한 mouse의 간조직은 간의 중심정맥 주위에 호산성의 조엽중심성의 광범위한 괴사가 일어나서 간세포의 형태를 소실시키고 있다.

그러나 마늘분말 2,000mg/kg을 5일간 투여한 후 (Fig.2) CCl₄를 투여한 mouse 간조직에서 병리학적인 소견은 간의 중심정맥 주위에 경도의 세포 열 침윤이 관찰되었으나 그밖의 뚜렷한 이상 현상은 관찰되지 않아 정상에 가까운 간장의 형태를 유지하고 있다.

이상의 결과로부터 마늘분말에서 뚜렷한 간독성

예방 간장보호효과가 인정되므로서 건강식품은 물론 간장치료제로서의 그 유용성이 기대된다.

摘 要

Mouse의 CCl₄에 의한 급성간장해에 있어서 마늘분말은 농도의존적으로 간세포보호효과, 간독성억제효과를 갖는 것이 인정되었으며, 이러한 결과는 GOT, GPT등의 혈청학적 수치의 결과와 일치하였다. 그러나 마늘extract 투여군에서의 간장보호효과는 마늘분말보다도 미약하고 오히려 고농도 투여군인 10ml/kg 투여군에 비하여 저농도투여군인 1ml/kg에서 보다 뚜렷한 간장보호효과가 관찰되어 마늘 extract에 관한 약효,약리작용에 관한 검토 및 독성에 관한 연구가 보다 필요한 것으로 사료되었다.

引 用 文 獻

1. 박무현, 강종구, 이병우, 1995. 마늘분말이 mouse의 체력증강에 미치는 영향. 東洋資源植物學會誌.
2. Brittin, W. J., Glende, E.A. J. R. and Tecknagel,

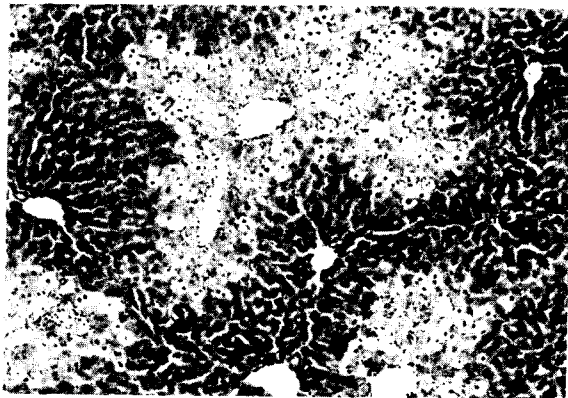


Fig 1. Liver of mouse after dosing with CCl₄ and D.W. H&E. $\times 100$

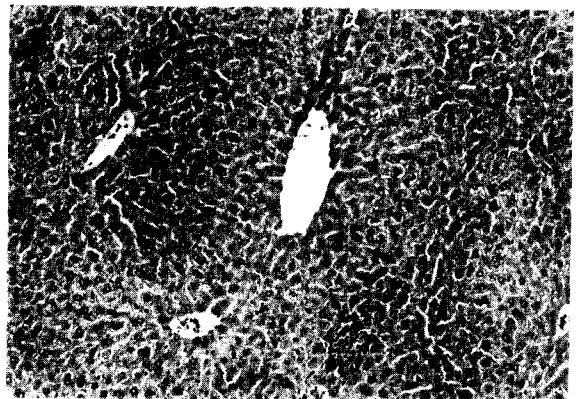


Fig 2. Liver of mouse after dosing with CCl₄ and garlic powder(2,000mg/kg). H&E. $\times 100$

- R. O. 1986. Kpathological mechanisms in carbon tetrachloride hepatotoxicity. *J. Free Rad Biol Med* 1:27-38.
3. Gomez, M.I. and Castro, J.A. 1980. Covalent binding of carbon tetrachloride metabolite to liver nuclear DNA, proteins and lipids. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 56:199-206.
 4. Hikino, H., Tohkin, M., Bukiso, Y., Namiki, T., Nishimur, S. and Takeyama, K. 1986. Antihepatotoxic actions of *Allium sativum* bulbs. *Planta Medica.* 52:163
 5. Hruszkewy, A. M., Glende, E. A. and Tecknagel, R.O. 1978. Destruction of microsomal cytochrome P-450 and glucose-6-phosphate by lipides extracted from peroxidized microsomes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 46:695-702
 6. Kluwe, W.M. Hook, J.B. and Bernstein, J. 1982. Synergistic toxicity of CCl_4 and several aromatic organohalide compounds. *Toxicology.* 23:321-336.
 7. Lindros, K.O. Cai, Y. and Penttila, P.E. 1990. Role of ethanol-inducible carbon tetrachloride-induced damage to centrilobular hepatocytes from ethanol treated rats. *Hepatology.* 19:1092-1097.
 8. Long, R.M. and Moore, L. 1986. Inhibition of liver endoplasmic reticulum pump by carbon tetrachloride and releases of a sequestered calcium pool. *Biochem. Pharmacol.* 35(23) 413-4137.
 9. Long, R.M. and Moore, L. 1986. Elevated cytosolic calcium in rat hepatocytes exposed to carbon tetrachloride. *Pharmacol. and Exp. Ther.* 238(1):186-191.
 10. Reiler, R. and Burke, R.F. 1988. Formation of glutathione adducts of carbon tetrachloride metabolite in a rat liver microsomal incubation system. *Biochemical Pharmacology.* 37(2): 327-334.
 11. Stater, T.F. 1966. Necrogenic action of carbon tetrachloride in thraat: A speculative mechanism based in activation. *Nature.* 209:36-40.
 12. Stater, T.F. 1972. Hepatotoxicity of carbon tetrachloride: Fatty degeneration. In: *Free radical mechanisms in tissue injury.* JR Langago, Ed. Pion Ltd, London.
 13. Smuckler, E.A and Beneditt, E.P. 1963. Carbon tetrachloride poisoning in rats. *Science.* 140:308.
 14. Tomas, B.D., Mariani, M.E. and G.D.V. 1989. Comparison of metabolic effects of carbon tetrachloride and 1,2-dichloroethane added in vitro to sliced of rat liver. *Toxicol. in Vitro.* 3:159-168.
 15. Tuchweber, B. Werringloer, J. and Kourounakis, P. 1974. Effect of phenobarbital of prenenolone-16 α -carbonitrile (PCN) pretreatment on acute CCl_4 hepatotoxicity in rats. *Biochem. Pharmacol.* 23:513-518.

(접수일: 1995년 10월 10일)