

소형견에서 마늘투여가 혈액상에 미치는 영향

장우석 · 김홍태 · 진태원 · 장혜숙 · 장인호 · 장광호 · 김영홍 · 大和 修* · 前出 吉光* · 이근우¹
경북대학교 수의과대학, *일본 북해도대학 수의학부

Garlic-induced Hematologic Effects in Small dogs

Woo-seok Chang, Hong-tae Kim, Tae-won Jin, Hye-sook Chang, In-ho Chang, Kwang-ho Chang, Young-hong Kim, Osamu Yamato*, Yoshimitsu Maede* and Keun-woo Lee¹
College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University,
*College of Veterinary Medicine, Hokkaido University

ABSTRACT : It is well-known that onion and garlic of *Allium* family have been cultivated for major food since ancient times. Especially garlic is known for containing protective materials against cardiovascular disease, neoplasm and cancer, and decreasing cholesterol value. Hemolytic anemia was first reported by Goldsmith in onion-fed cattle in 1909. Subsequently, similar effects have been reported in cattle, horses, sheep, dogs and cats. This toxic effect has been attributed to n-propyl disulfide which causes oxidant damage to erythrocyte cell membrane. There are few reports on overconsumption of garlic. Kim et al. reported in 1999 that 45% of Jindo dogs in Korea have erythrocytes characterized by high Na-K-ATPase activity with high K and low Na concentrations (HK) which easily results in hemolytic anemia. The purpose of present report is to determine whether garlic-induced hemolytic anemia occurs in normal erythrocytes characterized by complete lack of Na-K-ATPase activity with low K and high Na concentrations (LK) when LK dogs are fed large amounts of garlicks. We found in this experiment that Erythrocyte count, PCV and Hemoglobin concentration decreased significantly, and GSH and Met-hemoglobin concentrations increased. Consequently, we determined that overconsumption of garlic induces hemolytic anemia in LK dogs.

Key words : garlic, GSH, Na-K-ATPase, erythrocyte, hemolytic anemia

서 론

백합과에 속하는 양파, 마늘 등의 식물은 예로부터 인류의 식생활에 중요한 역할을 했을 뿐 아니라 특히 마늘의 경우 최근에는 심맥관계 질환, 종양 및 암 등에 대한 방어기전 물질을 함유하는 것으로 알려졌으며 또한 cholesterol 수치를 낮추며 동맥경화 등에도 탁월한 효과를 나타낸다고 알려져 있다. 그러나 이러한 백합과에 속하는 식물, 특히 양파의 과량 섭취시에는 소에서 용혈성 빈혈이 유발된다는 사실이 Goldsmith 등에 의하여 최초로 보고된 이후 여러 연구가들에 의하여 말, 양, 고양이 및 개에서도 유사한 결과가 보고되었으며 이러한 용혈성 빈혈의 발생기전은 양파에 함유된 n-propyl disulfide 성분이

적혈구 세포막에 oxidant damage를 가함으로써 유발된다고 알려져 있다. 그러나 같은 백합과에 속하면서 건강보조 식품으로도 널리 사용되고 있는 마늘의 과량 섭취에 관한 연구보고는 거의 없는 실정이다. 김 등은 최근의 보고서를 통하여 우리 나라에 사육 중인 진도견의 적혈구 phenotype을 조사한 결과 약 45%에서 적혈구 세포막에 Na-K ATPase가 존재함으로써 이러한 용혈성 빈혈이 쉽게 나타날 수 있는 phenotype을 가진 것으로 보고하였다. 따라서 본 연구에서는 정상적인 phenotype을 지닌 즉 Na-K ATPase가 결여된 적혈구 세포내 K 함량이 낮고 Na 함량이 높은 LK견에서도 과량의 마늘 투여 시 동일한 용혈성 빈혈이 유발되는지를 관찰하고자 본 실험을 실시하였다.

¹Corresponding author.

재료 및 방법

실험동물

실험동물로는 임상적으로 정상인 체중 5 kg 미만 (평균 3.9±1.1 kg)의 소형견 5마리를 사용하였다.

마늘추출물의 준비 및 투여방법

시판되는 마늘을 구입하여 homogenized 시킨 후 거즈를 통하여 여과시키고 이 액을 15분간 끓인 후 2차로 여과를 시켜서 나온 추출물을 사용하였다. 실험견에게 마늘의 투여는 위관 카테터를 사용하였으며 5 ml/kg(1 ml는 생마늘 1 g)씩 7일간 연속 투여했다.

혈액채취

채혈은 cephalic vein천자를 통해서 7일간 마늘 투여 전 같은 시간에 하였고 10일째, 12일째, 15일째, 20일째, 30일째 등은 마늘 투여없이 채혈만 하였다. 채혈한 혈액은 EDTA(35 µl/ml blood)처리된 eppendorf tube에 주입하여 냉장 보관했다.

혈액학적 검사

RBC, Hb(Hemoglobin), MCH(Mean corpuscular hemoglobin), MCV(Mean corpuscular volume), MCHC(Mean corpuscular hemoglobin concentration)는 자동 혈액분석기(Hemavet)를 이용해서 측정하였으며 PCV는 Microhemacrit법을 이용하였다. 또한 적혈구내 GSH(Reduced glutathione)함량은 Beutler 등의 방법에 의하여, Met-Hb(Hemoglobin)함량은 Nakamura 등의 방법에 의하여 측정하였다. GSH 측정법으로서는 deionized 증류수 900 µl에 시료혈액 100 µl를 첨가한 후 vortex mixer에서 충분히 mix한 후 3000 rpm의 저온 원심분리기에서 15분간 원침하였으며 이 상층액 1000 µl를 취하여 0.3M PB 4000 µl 및 DTNB(5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoate derivatives) 500 µl를 첨가하여 412 nm의 UV spectrophotometer(sp-870, USA)에서 그 흡광도를 산정하였다. Met-Hemoglobin 측정은 Deionized 증류수 925 µl에 시료혈액 200 µl를 혼합하여 충분히 pipetting한 후 0.5 M PB 375 µl를 첨가하여 15000 rpm의 저온원심분리기에서 3분간 원침하였으며 5% K₃ Fe(CN)₆ 120 µl, 0.5M PB 1500 µl, Deionized water 4380 µl를 첨가한 시약 A와, 10% NaCN 300 µl, 12% Acetic acid 270 µl를 첨가한 시약 B를 원심분리한 혈액과 mix한 후 632 nm의 UV에서 그 흡광도를 측정하였다.

결과

총 적혈구수 및 혈구용적(PCV)

총 적혈구수치는 투여15일째 5.5×10⁶/µl로서 평균 20.8%의 감소(P<0.01)를 나타내었으며

이러한 변화는 30일째까지 지속되었다(Fig 1). 혈구용적(PCV)함량 역시 투여 12일째부터 감소(P<0.01)를 나타내었다(Fig 2).

Hemoglobin 함량

Hb 함량은 투여 20일째 평균 11.56 mg/dl로서 유의한 감소가 인정되었다(Fig. 3).

평균혈구용적(MCV) 및 평균혈구헤모글로빈(MCH)

MCV 및 MCH는 전 실험기간동안 유의한 변화가

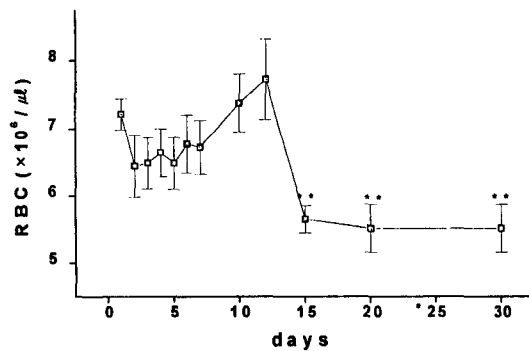


Fig 1. Changes in erythrocyte count in dogs fed garlic extracts daily for 7 days. Data represent mean±SD of 5 dogs. *P<0.05 and **P<0.01, compared with control day (day 1).

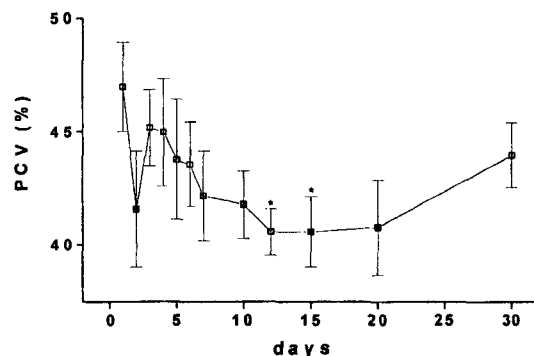


Fig 2. Changes in hematocrit value(PCV) in dogs fed garlic extracts daily for 7 days. Data represent mean±SD of 5 dogs. *P<0.05 and **P<0.01, compared with control day (day 1).

관찰되지 않았다(Fig 6, 7).

평균혈구해모글로빈농도(MCHC)

MCHC는 투여 2일째의 평균이 3.34 g/dL로서 유의한 감소를 나타내었다(Fig 8).

GSH 농도

GSH의 농도는 투여 6일째가 평균 5.46 mg/dl로 실험전의 3.27 mg/dl에 비하여 최고치를 나타낸 후 30일째 정상치인 3.64 mg/dl로 환원되었다(Fig 4).

Met-Hemoglobin 농도

Met-Hb함량은 투여 6일째가 평균 2.453%로서 실험전의 0.663%에 비하여 현저한 증가 ($P < 0.01$)를 나타

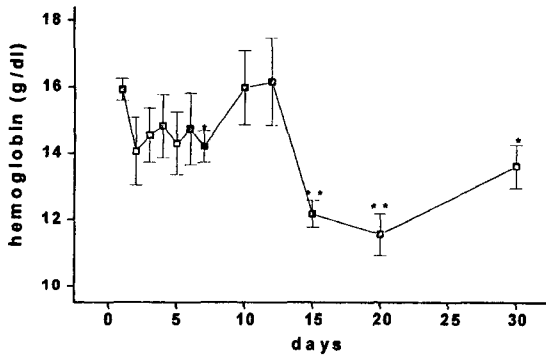


Fig 3. Changes in hemoglobin concentration in dogs fed garlic extracts daily for 7 days. Data represent mean \pm SD of 5 dogs. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$, compared with control day(day 1).

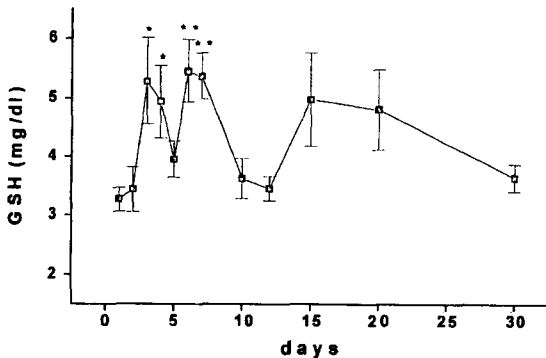


Fig 4. Changes in GSH concentration in dogs fed garlic extracts daily for 7 days. Data represent mean \pm SD of 5 dogs. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$, compared with control day (day 1).

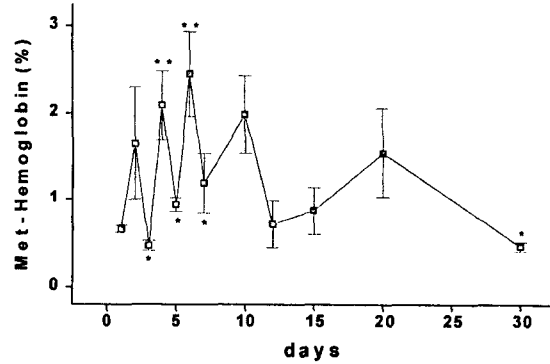


Fig 5. Changes in Met-hemoglobin concentration in dogs fed garlic extracts daily for 7 days. Data represent mean \pm SD of 5 dogs. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$, compared with control day (day 1).

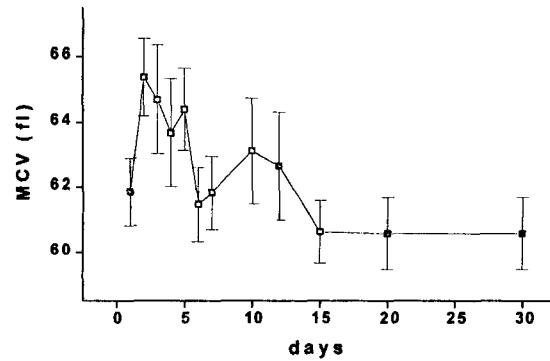


Fig 6. Changes in MCV in dogs fed garlic extracts daily for 7 days. Data represent mean \pm SD of 5 dogs. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$, compared with control day (day 1).

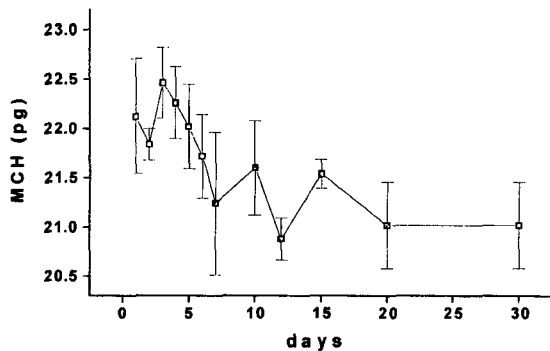


Fig 7. Changes in MCH in dogs fed garlic extracts daily for 7 days. Data represent mean \pm SD of 5 dogs. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$, compared with control day(day 1).

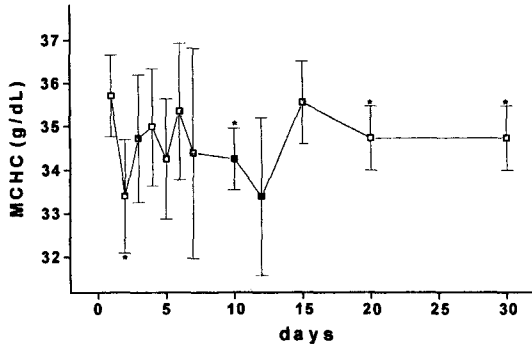


Fig 8. Changes in MCHC in dogs fed garlic extracts daily for 7 days. Data represent mean±SD of 5dogs. *P<0.05 and **P<0.01, compared with control day(day 1).

내었다(Fig 5).

고 찰

개에 있어서 양파의 과량섭취로 인한 용혈성 빈혈의 발생에 관한 보고는 많으나 마늘에 의한 혈액학적 변화에 관하여서는 보고되어 있지 않다. 본 실험결과 체중 kg당 5g의 함량으로 마늘 추출액을 투여한 개에서 총 적혈구수는 실험 시작전의 평균 $7.2 \times 10^6/\mu\text{l}$ 에 비하여 20일째의 평균이 $5.5 \times 10^6/\mu\text{l}$ 로서 23.6%의 감소를 나타내었으며 PCV 및 Hb함량은 투여 12일째 및 20일째 평균함량이 각각 40.6% 및 11.56 g/dl로서 현저한 빈혈소견을 나타내었다.

또한 MCV, MCHC수치는 20일 및 12일째 각각 2.1% 및 5.6%의 감소를 나타내었으나 유의성은 인정되지 않았으며 MCHC는 투여 2일째 6.4%의 감소를 나타내었다. 이러한 결과는 과량의 양파 투여전에서 심한 용혈성 빈혈이 유발된다는 여러 연구가들의 보고와 일치하는 결과로 생각되며 양파뿐 아니라 과량의 마늘 투여시에는 역시 개에서는 용혈성 빈혈이 나타날 수 있다는 사실을 확인하는 결과로 생각된다. GSH는 적혈구 세포막의 intergridity에 중요한 역할을 하는 Hb, thiol 의존 효소로서 red cell membrane protein을 oxidant damage로부터 보호하는 역할 및 sulfhydryl-containing tripeptide로서 oxidant damage로부터 적혈구 세포막을 보호하는 작용을 하며 적혈구의 정상적인 구조의 유지, 그리고 hemoglobin을 제1철 상태로 유지시키고 H_2O_2 의 해독에도 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 본 실험결과 GSH농도는 투여 6일째 67.1%의 현저한 증가율을 나타낸 바

는 Harvey와 Rackear, Ogawa 등이 보고한 양파의 과량섭취에 GSH농도가 현저히 증가된다는 보고와 일치하는 결과로 생각된다. met-hemoglobin은 hemoglobin oxidative degradation의 중요한 초기 단계이며 Heinz body의 전구체로 알려져 있으나 최근의 연구에서는 met-hemoglobin과 Heinz body의 형성이 유사하게 진행되나 met-hemoglobin이 Heinz body의 전구체가 아니라고 보고되었다. 본 실험결과 met-hemoglobin농도는 투여 6일째가 2.453%로서 실험전의 함량에 비해서 370%의 증가를 나타내었다. 이러한 결과는 과량의 양파투여시 met-hemoglobin함량이 현저히 증가된다는 보고와 일치하는 결과로 생각되며 아울러 마늘의 과량투여로 인하여서도 적혈구막에 oxidant damage를 초래하는 것으로 생각된다. 결론적으로 지금까지 보고된 HK phenotype을 지닌 개에서만 과량의 양파투여가 적혈구 세포막에 oxidant damage를 초래하는 것으로 보고되었으나 본 실험결과 LK phenotype을 지닌 정상견에서도 과량의 마늘 투여시에는 용혈성 빈혈이 유발되는 것으로 생각된다.

결 론

백합과 식물에 속하면서 건강보조식품으로도 널리 사용되고 있는 마늘의 과량섭취에 의한 개에서의 용혈성 빈혈의 발생유무를 관찰함과 동시에 정상적인 LK phenotype 개에서도 이러한 변화가 관찰되는지를 알아보고자 본 실험을 실시한 결과 다음과 같은 성적을 얻었다.

RBC 수치는 투여 후 20일째 투여 전 함량에 비하여 23.6%의 감소를 나타내었으며 PCV치는 12일째 13.6%의 감소를 나타내었다. Hb 함량의 평균치는 투여 후 20일째 27.3%의 감소를 나타내었다. GSH 함량은 투여 후 6일째 67.1%의 증가를 나타내었다.

Met-Hemoglobin함량은 투여 후 6일째 370%의 증가를 나타내었다. MCV는 투여 후 20일째 2.1%의 감소를 나타내었다. MCH는 투여 후 12일째 5.6%의 감소를 나타내었다. MCHC는 투여 후 2일째 6.4%의 감소를 나타내었다.

참 고 문 헌

1. Anderson AC, Gee W. Normal blood values in the beagle. *Vet Med* 1958; 53: 135.
2. Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963; 61: 882-888.

3. Beutler E. Drug-induced hemolytic anemia. *Pharmacological Reviews* 1969; 21: 73-103.
4. Edwards CM, Belford CJ. Six cases of heinz body hemolytic anemia induced by onion and/or garlic ingestion. *Aust Vet Practit* 1996; 26(1).
5. Fujise H, Hishiyama N, Ochiai H. Heredity of red blood cells with high K and low glutathione(HK/LG) and high K and high glutathione(HK/HG) in a family of japanese shiba dogs. *Exp Anim* 1997; 46(1): 41-46.
6. Gill PA, Sergeant E S G. Onion poisoning in a bull. *Aust Vet J* 1981; 57: 484.
7. Goldsmith WW. Onion poisoning in cattle. *J Comp Pathol Ther* 1909; 22: 151.
8. Gruhzt OM. Anemia in dogs produced by feeding of the whole onions and of onion products. *Am J Med Sci* 1931; 181: 812-815.
9. Harvey JW, Rachear D. Experimental onion-induced hemolytic anemia in dogs. *Vet Pathol* 1985; 22: 387-392.
10. Kirk JH, Bulgin MS. Effects of feeding cull domestic onions(*Allium cepa*) to sheep. *Am J Vet Res* 1979; 40: 397-399.
11. Kobayashi K. Onion poisoning in the cat. *Feline Fract* 1981; 11: 22-27.
12. Koger LM. Onion poisoning in cattle. *J Am Vet Med Assoc* 1956; 129: 75.
13. Lincoln SD, Howell ME, Comb JJ, Hinman DD. Hematologic effects and feeding performance in cattle fed cull domestic onions(*Allium cepa*). *J Am Vet Med Associ* 1992; 200(8): 1090-1094.
14. Maede Y. High concentration of blood glutathione in dogs with acute hemolytic anemia. *Exp J Vet Sci* 1977; 39: 187-189.
15. Maede Y, Inaba M. Energy metabolism in canine erythrocytes associated with inherited high Na⁺-and K⁺- stimulated adenosine triphosphatase activity. *Am J Vet Res* 1987; Vol 48: No 1.
16. Munday R. Toxicity of aromatic disulphides. I. Generation of superoxide radical and hydrogen peroxide by aromatic disulphides in vitro. *J App Toxicol* 1985; Vol 5(6).
17. Munday R, Manns E. Toxicity of aromatic disulphides. III. In vivo hemolytic activity of aromatic disulphides. *J App Toxicol* 1985; Vol 5(6).
18. Munday R. Toxicity of thiols and disulphides: Involvement of free-radical species. *Free Radical Biol Med* 1989; 7: 659-673.
19. Munday R, Manns E. Comparative toxicity of prop(en)yl disulfides derived from Alliaceae: Possible involvement of 1-propenyl disulfides in onion-induced hemolytic anemia. *J Agric Food Chem* 1994; 42: 959-962.
20. Nakamura I, Nishida N, Maruyama H, Kudo Y, Kagami M. Microdetermination of methemoglobin and the normal value. *St Marianna Med J* 1980; 8: 146-152.
21. Ogawa E, Shinoki T, Akahori F, Masaoka T. Effect of onion ingestion on anti-oxidizing agents in dog erythrocytes. *Jpn J Vet Sci* 1986; 48(4): 685-691.
22. Sebrell WH. An anemia of dogs produced by feeding onions. *Pub Health Reb* 1930; 45: 1175.
23. Spice RN. Hemolytic anemia associated with ingestion of onions in a dog. *Can Vet J* 1976; 17: 181-183.
24. Thorp F, Harshfield GS. Onion poisoning in horses. *J Am Vet Med Assoc* 1939; 94: 52-53.
25. Verhoeff J, Hajer R, et al. Onion poisoning of young cattle. *Vet Rec* 1985; 117: 497-498.