

## 부추가 Streptozotocin 유발 당뇨쥐의 지질과산화와 항산화방어체계에 미치는 영향

정현실 · 노경희 · 조혜연 · 박지영 · 최춘연 · 권태완 · 송영선\*

인제대학교 의생명공학대학 식품생명과학부, 식품과학연구소 및 바이오헬스소재센터

### Effect of buchu (*Allium tuberosum*) on lipid peroxidation and antioxidative defense system in streptozotocin-induced diabetic rats

Hyun-Sil Jung, Kyung-Hee Noh, Hye-Yeon Cho, Ji-Young Park, Chun-Yeon Choi,  
Tae-Wan Kwon and Young-Sun Song\*

School of Food and Life Sciences, Food Sciences Institute, & Biohealth Product Research Center,  
Inje University, Gimhae 621-749, Korea

#### Abstract

The pathogenic effect of high glucose, possibly in concert with fatty acids, is mediated to vascular complications of diabetes via increased production of reactive oxygen species(ROS), reactive nitrogen species(RNS), and subsequent oxidative stress. This study was carried out to investigate the suppressive effect of *buchu*(*Allium tuberosum*) on oxidative stress in streptozotocin(STZ)-induced diabetes in Sprague Dawley male rats. The effect of *buchu* supplementation (10%) on lipid peroxidation, and antioxidative defense system in blood and liver was compared among normal rats fed basal diet(normal) and diabetic rats fed basal diet(DM-control) or 10% *buchu*-supplemented diet(DM-*buchu*). Diabetes was experimentally induced by the femoral muscle injection of 50 mg STZ per kg of body weight. Animals were sacrificed after 4 wks of experimental diets feeding. The induction of diabetes by STZ elevated the level of lipid peroxidation represented by thiobarbituric acid-reactive substances(TBARS) and conjugated dienes in plasma, LDL, liver, and erythrocytes. 10% *buchu*-supplemented diet significantly reduced the levels of conjugated dienes in erythrocytes( $p < 0.05$ ) and lowered TBARS in liver and LDL to the levels of control. Induction of diabetes by STZ elevated Mn-superoxide dismutase(Mn-SOD) activity and lowered activities of glutathione reductase(GSH-red) and glutathione peroxidase(GSH-px). Catalase activity was not affected by the induction of diabetes by STZ. However, *buchu* supplementation to diabetic rats significantly elevated catalase activity( $p < 0.05$ ) and slightly elevated GSH-px and GSH-red activities in liver. GSH levels of blood and liver were lowered or not changed by induction of diabetes by STZ, respectively, while *buchu* supplementation to diabetic rats significantly elevated hepatic GSH level ( $p < 0.05$ ). In conclusion, it can be concluded that *buchu* might be a food source to attenuate oxidative stress in diabetic patients by inhibiting lipid peroxidation, by increasing hepatic GSH level, and by inducing anti-oxidative enzyme systems.

**Key words** – *buchu*, lipid peroxidation, antioxidative enzyme activity, GSH, diabetic rats

\*To whom all correspondence should be addressed  
Tel : 055-320-3235, Fax : 055-321-0691  
E-mail : fdsnsong@inje.ac.kr

## 서 론

생체는 정상적인 생리상태에서도 유리기를 생성하며 이러한 유리기를 제거하는 항산화방어계가 생체를 산화적 스트레스로부터 보호하고 있다. 항산화 방어계에는 superoxide radical, hydroxyl radical 등과 같은 유리기를 제거하여 생체를 보호하는 superoxide dismutase(SOD), catalase, glutathione peroxidase(GSH-px), glutathione reductase(GSH-red) 등의 항산화효소계와 GSH, 비타민 C, 토코페롤과 셀레늄 등의 비효소적 항산화제가 있다. 그러나, 과도한 산화적 스트레스의 증가는 체내에서 유리기의 생성을 촉진하거나 항산화계의 활성을 감소시켜 세포에 상해를 주며, 혈관을 비롯한 여러 조직에 손상을 일으켜 염증반응, 동맥경화, 간질환, 암 등의 원인으로 지적되고 있다[8,13,29].

Streptozotocin(STZ)은 췌장 랑게르한스섬의 베타세포에 선택적으로 작용하여 실험동물에 당뇨병을 유발하는데 많이 사용되고 있는 약물이며[42], 당뇨유발 기전은 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)에 의한 베타세포 손상때문으로 알려져 있다[3,41]. 당뇨병 환자들은 고혈당에 의해 활성산소종과 활성질소종(reactive nitrogen species, RNS)이 증가하여 산화적 스트레스가 증가되고, 증가된 산화적 스트레스는 당뇨병성 혈관합병증과 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있다[10,18,22,46,47]. 당뇨병에서 동맥경화증을 비롯한 혈관성 장애가 빈발하는 이유로는 지질대사 이상으로 인한 혈중 지질의 증가와 지질과산화에 의한 조직의 손상 등이 제시되고 있다. 즉, 증가된 산화적 스트레스에 의해 동맥혈관 벽의 내피세포가 손상되고 LDL-콜레스테롤(LDL)이 산화되어 동맥경화증을 유발한다는 조직의 상해설이 주목받고 있다[3,13,20]. 또한 혈당수준과 적혈구막의 지질 과산화 정도는 유의한 상관성을 가진다고 보고되었다[18].

부추(*Allium tuberosum* Rottler)는 백합과의 다년생 식물로 영명(英名)으로는 Chinese chives이며, 일명 기양초(起陽草)라고 불리기도 한다. 우리나라, 일본, 중국 등에 주로 분포하며, 우리나라 전역에서 널리 재배되고 있고 오래 전부터 약용 및 식용 등으로 다양하게 이용되어 왔다[2,37]. 부추는 항산화물질로 알려진 flavonoid 화합물과  $\beta$ -카로틴 및 식이성 phenol인  $\beta$ -sitosterol, quercetin, phenolic acid, kaemperol 등을 많이 함유하고 있으며[34,44], 독특한 향기

성분인 황화아릴 및 프로필 설파이드를 함유한다[11,37]. 부추에 함유된 항산화물질이 산화적 스트레스를 저하시킨다는 연구결과가 세포계와 동물계에서 보고된 바 있다. 즉, 부추의 식이성 phenol은 비타민 C와 E 등의 항산화제보다도 LDL 산화저해능이 높았다고 보고되었으며[2], quercetin은 동맥경화성 plaque에서 LDL의 축적과 산화적 변이를 저해하는 강력한 항산화제라고 보고되었다[29]. 과산화수소와 paraquat을 투여하여 산화적 스트레스를 유도한 keratinocyte 세포에 부추 추출물을 투여했을 때 세포독성 완화효과를 나타내었다는 보고도 있다[33]. 따라서, flavonoid 화합물과  $\beta$ -카로틴 및 식이성 phenol 물질의 함량이 높은 부추의 섭취는 LDL 산화를 억제하거나 지질과산화 등의 산화적 스트레스를 억제하여 당뇨의 증상 완화 및 합병증 예방 효과를 기대할 수 있을 것으로 사료된다. 본 연구에서는 STZ를 주사하여 당뇨를 유발시킨 흰쥐에게 10% 부추 식이를 섭취시키고 혈액, LDL, 적혈구 및 간조직에서의 지질과산화 정도와 GSH 수준, 항산화효소계 활성에 미치는 영향을 조사하여 부추가 당뇨쥐의 산화적 스트레스 억제에 미치는 효과를 규명하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험동물의 사육

체중  $320 \pm 20$ g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 대한 동물실험센터로부터 구입하여 1주일간 적응시킨 후 chow로 예비 사육한 후 체중에 따라 난괴법으로 정상군, 당뇨대조군, 그리고 당뇨부추군(n=10)으로 나누어 당뇨대조군과 당뇨부추군에 당뇨를 유발시켰다. 해당 식이와 물은 자유 급식법으로 공급하였으며 4주 후 dry ice를 이용한 호흡기 마취법으로 희생시켰다. 사육기간 동안 식수로는 지하수를 공급하였으며, 사육실의 온도는  $20 \sim 25^\circ\text{C}$ 로 실온을 유지하였고, 명암은 12시간 간격으로 점등 및 소등하였다. 흰쥐의 식이 섭취량은 격일로, 체중은 일주일마다 측정하였다.

### 당뇨의 유발

실험식이 공급 전, streptozotocin(STZ; Sigma S-0130, 50 mg/kg BW)을 대퇴부 근육에 1회 주사하여 실험적으로 당뇨병을 유도하였다. STZ은 0.1 M citrate 완충용액(pH 4.5)에 용해시켜 사용하였고 정상군은 동량의 citrate 완충용액

(0.1 M, pH 4.5)을 투여하였다. 당뇨 유발의 확인은 STZ 투여 24시간 후 꼬리 정맥으로부터 채혈하여 공복혈당 수준이 200 mg/dl 이상일 때 당뇨병이 유발된 것으로 간주하였다. 혈당의 측정은 Accutrend *alpha*(D-68298 Mannheim, Germany)를 사용하였다.

부추의 일반성분, 식이섬유 및 GSH 함량 분석

본 실험에 사용한 부추는 대동농협(김해산)으로부터 구입하여 동결 건조하여 마쇄한 후 사용하였으며, 부추가루의 일반성분 중 수분은 상압가열건조법, 조지방은 Soxhlet 추출법, 조단백질은 Semimicro Kjeldahl법, 조회분은 회화법을 이용하여 분석하였으며[38], 총 식이섬유 함량은 AOAC법 [30]으로 측정하였다. GSH 함량은 Rudy 등[32]의 방법으로 측정하였으며, 시료 1 g을 인산완충액 10 ml로 균질화하여 시료용액으로 하였다. 공시험에는 증류수를 이용하였으며, 표준곡선은 농도별로 조제한 GSH 용액을 이용하여 작성하였다. 동결건조 부추의 일반성분은 수분 6.1%, 회분 14.5%, 지방 2.8%, 단백질 30.8%, 그리고 식이섬유는 29.2%이었다. Basal diet에 사용된 casein의 경우 GSH를 전혀 함유하고 있지 않았으나, 부추는 394.4 µg/g의 GSH를 함유하였다.

식이의 조성

부추는 동결 건조하여 가루로 만들어 식이에 첨가하였고, 흰쥐의 체내 지방합성 반응을 촉진시키기 위해 basal diet에는 사료 100 g에 대해 설탕 40 g, 옥수수유 10 g과 콜레스테롤 0.5 g을 첨가하여 조제하였으며(Table 1), 부추식

Table 1. Composition of experimental diets (%)

Ingredients	Basal diet	10% <i>Buchu</i> diet
Casein	20	16.9
Sucrose	40	40
Corn starch	19.5	15.8
Corn oil	10	9.72
Cellulose	5	2.08
AIN-76 mineral mixture	3.5	3.5
AIN-76 vitamin mixture	1	1
Choline bitartrate	0.2	0.2
<i>D</i> · <i>L</i> -methionine	0.3	0.3
Cholesterol	0.5	0.5
<i>Buchu</i>	-	10

이군은 부추의 일반성분을 고려하여 basal diet와 에너지 수준이 동일하게 식이(semipurified diet)를 조성하였다. 정상군과 부추대조군은 basal diet를, 부추당뇨군은 부추식을 섭취하였다. 무기질 혼합물, 비타민 혼합물, 셀룰로오스, 그리고 *D,L*-methionine은 ICN(USA), casein은 Murry Goulburn(Australia), 옥수수 전분은 두산, 설탕(정제당)은 삼양, 옥수수유는 제일제당 제품을 사용하였다. 콜레스테롤, choline bitartrate는 Sigma(USA) 제품을 사용하였다.

시료수집 및 실험동물의 처리

각 실험군의 실험동물은 희생하기 전 14시간 가량 절식시켜 CO<sub>2</sub>로 마취시켜 개복 후 심장에서 채혈하였으며, 간, 췌장, 심장, 비장, 신장은 적출하여 지방을 제거하고 생리 식염수로 씻은 다음 여과지로 물기를 제거하고 무게를 측정하여 액체 질소에서 급속 동결시킨 후, -70°C에서 보관하면서 실험에 이용하였다.

지질 과산화 정도의 측정

혈장과 LDL 획득의 TBARS 함량은 Buege 등[4]에 의한 방법으로 측정하였다. 혈장 0.1 ml(LDL은 200 µg의 단백질)을 취하고 증류수로 0.5 ml를 맞춘 후 TBARS 용액을 1 ml를 가하여 95°C에서 20분간 가열하여 원심분리(2,000 rpm, 10분)한 후, 그 상등액의 흡광도를 532 nm에서 측정하였다. 표준물질로는 1,1,3,3-tetramethoxypropane(TMP)를 사용하였으며 측정된 값을 표준곡선에 대입시켜 malondialdehyde(MDA)의 양으로 환산하였다. 간의 지질과산화물은 Ohkawa 등[26]의 방법을 이용하여, thiobarbituric acid와 반응하는 MDA의 함량을 측정하였고 표준용액으로 TMP를 사용하였다. 적혈구에서의 지질과산화정도는 conjugated diene 생성량으로 측정하였다[5]. 즉, 적혈구를 인산완충액으로 10배 희석한 시료 0.5 ml에 1 mM CuSO<sub>4</sub> 용액으로 시료 속의 CuSO<sub>4</sub>의 농도가 5 µM이 되도록 희석하여 37°C에서 14시간동안 반응시키면서 반응시간에 따른 흡광도 변화를 234 nm에서 측정하였다. Conjugated diene 생성량의 측정은 초기속도구간에서의 단위시간당 흡광도 변화율로 계산하였다.

간조직의 항산화 효소계 활성 측정

간 조직에 대해 10배의 차가운 50 mM 인산완충액(pH

7.4)을 첨가하여 균질화하고 원심분리(3,000 rpm, 10분)하여 얻은 세포질 획분을 다시 13,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 미토콘드리아 획분과 상등액을 얻었다. 세포질 획분에서는 catalase와 GSH-px 활성을 측정하였고, 미토콘드리아 획분과 상등액은 각각 Mn-SOD와 Cu,Zn-SOD 활성 측정 시료로 사용하였다. Catalase 활성은 Aebi의 방법 [1]으로 측정하였다. 즉, 세포질 획분 100  $\mu$ l에 50 mM 인산완충액(pH 7.0) 2.0 ml를 가한 후 30 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>용액을 1.0 ml 가하고 240 nm에서의 흡광도 변화로 측정하였으며, 대조실험에는 기질인 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>용액 대신에 50 mM 인산완충액(pH 7.0)을 사용하였다. 효소의 활성은 1분 동안 1  $\mu$ mole의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 분해하는 효소의 양을 1 unit로 하였다. GSH-px 활성은 GSH-px가 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 제거하면서 소비한 GSH를 환원형으로 전환시키는 데 필요한 NADPH의 양을 340 nm에서의 흡광도 변화로 측정하였다[17]. GSH-px 1 unit는 1분간 1 nmole NADPH를 산화시키는 효소의 양으로 정의하였다. GSH-red 활성은 GSH-red가 glutathione disulfide (GSSG)를 GSH로 환원하는데 필요한 NADPH-의존성 flavoprotein 양을 340nm에서의 흡광도 변화율로 측정하였다 [16]. GSH-red 1 unit는 1분간 1 nmole의 NADPH의 환원을 촉매하는 효소의 양으로 정의하였다. SOD 활성은 Oyanagui 등의 방법[27]으로 행하였으며, 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Cu,Zn-SOD활성은 0.5 ml의 상등액(S2)에 50  $\mu$ l의 10mM hydroxylamine hydrochloride를 가하여 37°C에서 10분간 가온시켰으며, 여기에 0.1 unit/ml의 xanthine oxidase 0.2 ml를 가한 후 20분간 반응시키고, 1% sulfanilamide 1 ml과 0.02% N-(1-naphthyl)ethylene diamine 1 ml를 가하여 실온에서 20분간 방치 후 흡광도를 측정하였다. Mn-SOD 활성의 측정은 미토콘드리아 획분을 0.1% triton X-100에 용해한 후, 75 mM sodium-xanthine 50  $\mu$ l, 10 mM hydroxylamine hydrochloride 50  $\mu$ l, 그리고 4 mM KCN 0.2 ml를 첨가한 뒤, 37°C에서 10분간 가온시켰다. 여기에 0.1 unit/ml의 xanthine oxidase 0.2 ml를 가한 후 20분간 반응시키고, 0.02% N-(1-naphthyl)ethylene diamine 1 ml를 가해 흡광도를 측정하였다. 공시험에서는 시료 대신 65 mM 인산완충용액(pH 7.8)을 사용하였으며, 본 방법의 SOD 1 NU (Nitrate Unit)는 반응계에서 생성되는 superoxide가 50% 저해되는 검체량(ID<sub>50</sub>)으로 나타내었다. 간 균질액으로부터 분리한 각 획분의 단백질 함량은

Lowry법[23]으로 측정하였으며, 표준곡선은 농도별로 조제한 BSA(Bovine serum albumin)용액을 이용하여 작성하였다.

#### GSH 함량 및 GOT, GPT 활성 측정

간과 혈장에서의 GSH 함량은 Rudy 등[32]에 의한 방법으로 측정하였으며, 간 조직(1 g)은 인산완충용액 10ml로 균질화한 후 원심분리한 상등액을 시료로 사용하였으며, 혈장은 그대로 시료로 사용하였다. 혈장의 GOT와 GPT 활성은 각각 효소법에 의한 정량용 kit시약(Sigma Kit No. 58-10, Sigma Kit No. 59-10)으로 측정하였다.

#### 통계처리

실험의 분석결과는 평균 $\pm$ 표준편차로 표시하였으며, 각 식이군 간의 유의성은 ANOVA와 Fisher's Least Significant Difference test(LSD test)로  $p < 0.05$  수준에서 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 식이 섭취량과 체중 증가량 및 식이 효율

각 실험식이로 4주간 사육한 정상쥐와 STZ 유발 당뇨쥐의 식이 섭취량과 체중 증가량 및 식이 효율을 측정할 결과는 Fig. 1과 같다. 1일 식이 섭취량은 정상군에 비해 당뇨군에서 유의적으로 증가하였으며( $p < 0.001$ ), 이는 당뇨병으로 인한 다식 현상으로 사료된다. 당뇨쥐의 식이 섭취량이 증가하였음에도 불구하고 체중은 유의적으로 감소되었고( $p < 0.001$ ), 부추를 섭취한 당뇨쥐의 체중은 당뇨대조군에 비해 유의적으로 증가되었다( $p < 0.05$ ). 당뇨쥐의 식이 효율 역시 대조군에 비해 유의적으로 감소하였고( $p < 0.001$ ), 부추를 섭취한 당뇨군의 식이 효율은 당뇨 대조군보다 증가하였다( $p < 0.05$ ). STZ 투여에 따른 당뇨 유발 시  $\beta$ -세포의 파괴로 인한 인슐린 생성 부족은 당대사의 불균형을 초래하여 체중감소를 초래한다고 알려져 있으며[39], Park 등[28]은 STZ로 당뇨를 유발시킨 흰쥐에 녹차의 카테킨을 섭취시킨 결과 당뇨 유발로 인해 감소되었던 체중이 회복되었다고 보고하였다.

### 장기의 무게

체혈 후 적출한 간, 췌장, 비장, 신장과 심장의 무게는

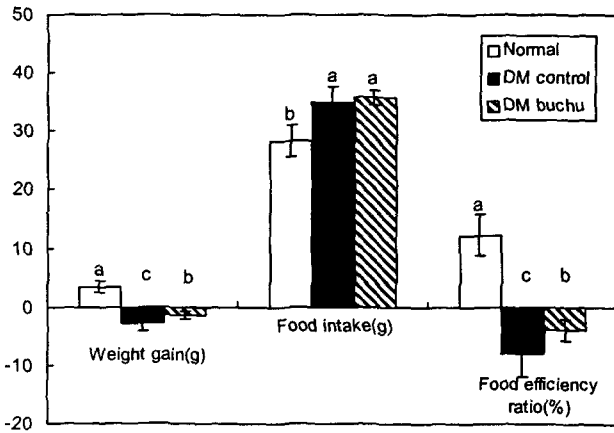


Fig. 1. Effect of *buchus* supplementation on body weight gain, food intake, and food efficiency ratio in streptozotocin-induced diabetic rats. Values are expressed as means±S.E. Bars with same alphabet are not significantly different at p<0.05. DM control: STZ-induced diabetic rats fed basal diet, DM buchus: STZ-induced diabetic rats fed buchus diet.

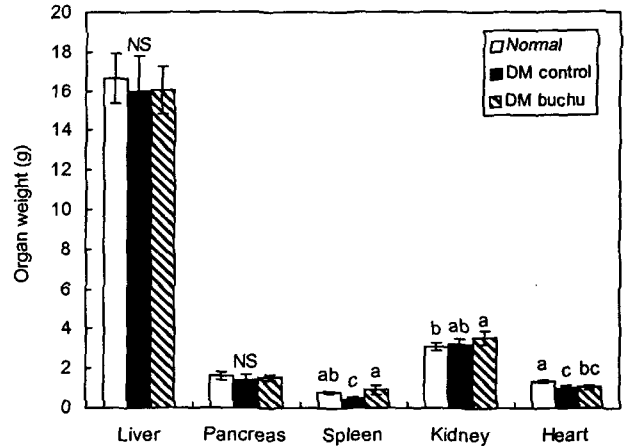


Fig. 2. Effect of *buchus* supplementation on organ weights in streptozotocin-induced diabetic rats. Values are expressed as means±S.E. Bars with same alphabet are not significantly different at p<0.05. DM control: STZ-induced diabetic rats fed basal diet, DM buchus: STZ-induced diabetic rats fed buchus diet.

Fig. 2에서 보는 바와 같다. 간과 췌장의 무게는 대조군과 당뇨군에 차이가 없었으나, 심장의 무게는 대조군에 비해 당뇨군에서 유의적으로 감소하였다(p<0.05). 비장의 무게 역시 대조군에 비해 당뇨 대조군에서 감소하였으나(p<0.05), 당뇨부추군에서는 대조군 수준으로 증가되었다. 이는 당뇨로 인해 저하되었던 면역기능이 부추로 인해 활성화되어 비장의 무게를 증가시켰을 것으로 사료된다. 신장의 무게는 대조군에 비해 당뇨군에서 증가되었으며(p<0.05), 당뇨 대조군과 당뇨부추군 간에 차이는 없었다. STZ로 당뇨를 유발한 쥐에서 고혈당증과 신장의 비대는 양의 상관관계를 나타낸다고 한다[40]. 즉 혈장 내 높은 농도의 포도당은 세포막의 비대를 가져오는 UDP-galactose 또는 glycogen으로 대사되어 사구체내의 mesangial cells에 축적되어 신

장의 비대현상을 초래하며[36], 또한 혈장 내 높은 농도의 포도당이 5탄당 인산화경로를 거쳐 phosphoribosyl pyrophosphate를 공급하여 RNA 및 DNA의 합성이 증가되어 신장의 세포분열을 촉진시켜 신장의 비대현상을 가져오게 된다[41].

지질 과산화 정도의 측정

간과 혈장에서의 지질과산화 수준과 LDL 산화예민도를 Table 2에 나타내었다. 간에서의 TBARS 함량은 대조군에 비해 당뇨대조군에서 유의적으로 증가하였으나(p<0.05), 당뇨부추군에서는 감소되어 대조군과 유사한 수준을 나타내었다. 혈장에서의 TBARS 함량은 대조군과 당뇨군간에 유의적인 차이가 없었고, LDL에서의 TBARS 함량은 대조군에 비해 당뇨대조군에서 유의적으로 증가되었으나(p<

Table 2. Effect of *buchus* supplementation on TBARS of liver, plasma, and oxidized LDL in streptozotocin-induced diabetic rats

TBARS	Normal	DM control	DM buchus
liver (n moles MDA/mg)	0.15±0.01 <sup>b</sup>	0.20±0.01 <sup>a</sup>	0.17±0.01 <sup>ab</sup>
plasma (n moles MDA/ml)	13.9±0.92 <sup>NS</sup>	16.3±1.93	13.6±0.89
oxidized LDL (n moles MDA /mg protein)	1.42±0.15 <sup>b</sup>	2.60±0.30 <sup>a</sup>	2.36±0.32 <sup>ab</sup>

Values are expressed as means±S.E. Values with same alphabet are not significantly different at p<0.05. NS: not significant. DM control: STZ-induced diabetic rats fed basal diet, DM buchus: STZ-induced diabetic rats fed buchus diet.

0.05), 당뇨부추군에서는 대조군과 비슷한 수준으로 저하하였다. 적혈구의 과산화정도는 구리 촉매 하에 측정된 conjugated diene 생성 정도로 비교하였으며, 그 결과는 Fig. 3과 같다. 대조군에 비해 당뇨대조군에서 단위 시간당 conjugated diene 생성량이 유의적으로 증가하였으나( $p < 0.05$ ), 부추 당뇨군에서는 대조군 수준으로 감소되었다. 당뇨 합병증의 발생은 증가된 산화적 스트레스와 밀접한 관계가 있는 것으로 보고되고 있다[8,13]. 유리기는 정상적인 체내 대사과정 중에서도 생성되지만 STZ로 유발된 당뇨쥐에서는 유리기 생성이 정상쥐에 비해 더욱 촉진됨으로써 지질과산화 가속화되고 따라서 조직의 과산화적 손상이 쉽게 초래된다고 한다[3,41]. Park 등[28]도 STZ으로 유발된 당뇨쥐의 간 조직에서 지질 과산화가 증가됨을 관찰하였고, 녹차 카테킨의 항산화능은 STZ-유발 당뇨쥐의 과산화를 억제한다고 보고되었다[28]. 지질 과산화의 지표로는 conjugated diene과 TBARS가 주로 사용되고 있는데, conjugated diene은 지질과산화의 초기반응속도를 반영하며 TBARS는 과산화지질의 2차 생성물을 나타낸다[23]. 본 실험에서도 조직의 종류에 따라 위의 두가지 지표를 선택적으로 측정하였다. 그 결과 당뇨쥐의 간조직 TBARS 함량은 대조군에 비해 유의적으로 높았으며, LDL의 산화예민도

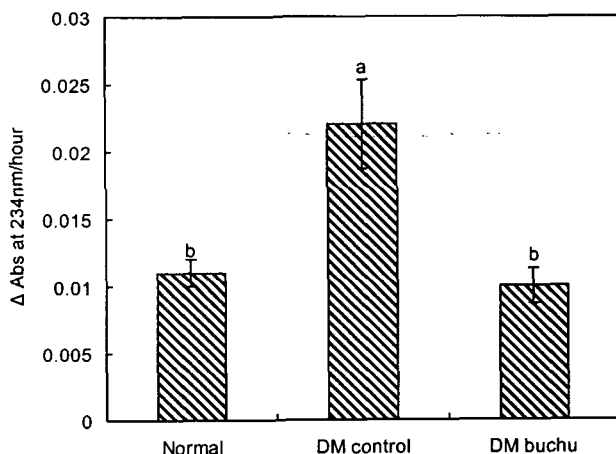


Fig. 3. Effect of *buchu* supplementation on conjugated diene level of red blood cell in streptozotocin-induced diabetic rats.

Values are expressed as means  $\pm$  S.E. Bars with same alphabet are not significantly different at  $p < 0.05$ . DM control: STZ-induced diabetic rats fed basal diet, DM buchu: STZ-induced diabetic rats fed buchu diet.

역시 대조군에 비해 당뇨쥐에서 유의적으로 높았다. 그러나 당뇨쥐에 부추를 섭취시켰을 때 간과 LDL의 TBARS 함량은 다소 저하되었으며 대조군과 유의적인 차이를 보이지 않았다. 동맥경화의 초기단계에 형성되는 거품세포는 oxi-LDL이 대식세포의 scavenger 수용체에 의해 인지되어 흡수될 때 만들어지므로 LDL의 산화를 억제하는 것은 동맥경화를 예방하는 방안이 된다[20]. Claire 등[5]은 비타민 E를 보충하면 LDL 산화를 억제하여 동맥경화성 질환을 예방할 수 있다고 하였으며, probucol과 lovastatin 등도 고지혈증을 가진 당뇨햄스터에서 산화적 스트레스를 억제하는 효과가 있다고 보고되었다[9]. 따라서 당뇨 유발로 인해 증가된 간과 LDL의 산화적 스트레스가 부추의 섭취로 인해 저하되었다는 것은 부추의 항산화효과가 간을 활성산소종으로부터 보호할 뿐만 아니라 LDL 산화로 인한 동맥경화 유발을 방어하는데 효과적임을 알 수 있다. 뿐만 아니라, 부추의 섭취는 적혈구의 conjugate diene 생성을 저하함으로써 산화적 스트레스에 의한 적혈구 막의 손상을 방지할 수 있으리라 사료된다[18,47].

#### 간의 항산화 효소계 활성

부추의 섭취가 당뇨쥐의 항산화효소계 활성에 미치는 영향은 다음과 같다. Table 3에서 보는 바와 같이, 간의 GSH-red와 GSH-px 활성은 대조군에 비해 당뇨군에서 유의적으로 감소되었으나( $p < 0.05$ ), 당뇨대조군에 비해 당뇨부추군에서 다소 증가되었다. Catalase 활성은 대조군과 당뇨대조군에 비해 당뇨부추군에서 유의적으로 증가하였으며( $p < 0.05$ ), Cu,Zn-SOD와 Mn-SOD는 대조군에 비해 당뇨군에서 유의적으로 증가되었다( $p < 0.05$ ). 생체는 정상적인 대사과정 중에서도 유리기가 생성되고 지질과산화가 일어나면, 가장 먼저 활성을 띠는 SOD는 생성된 superoxide anion을  $H_2O_2$ 로 바꿔주며 catalase는  $H_2O_2$ 를 물과 산소로 전환시켜 생체를 조직의 과산화로부터 보호한다. 당뇨병과 같은 대사성 질환은 혈당이 자동산화와 비효소적 단백질의 당화 과정을 통해 산소 유리기의 생성을 증가시키고 세포막의 지질과산화를 초래하여 조직은 과산화적 손상을 입게 된다[15,45]. 따라서 superoxide anion을 일차적으로 과산화수소로 분해시키는 SOD 활성이 당뇨군에서 높아진 것은 증가된 활성산소종 수준에 대응하기 위한 생체의 방어기전[8,10] 내지는 superoxide anion을 불활성화함으로써

Table 3. Effect of *buchu* supplementation on hepatic GSH peroxidase and GSH reductase, catalase, Cu,Zn-SOD and Mn-SOD activities in streptozotocin-induced diabetic rats

	Normal	DM Control	DM <i>buchu</i>
GSH peroxidase (units/mg protein)	33.95 ± 3.03 <sup>a</sup>	7.49 ± 1.18 <sup>b</sup>	14.22 ± 2.31 <sup>b</sup>
GSH reductase (units/mg protein)	6.49 ± 1.05 <sup>a</sup>	1.05 ± 0.18 <sup>b</sup>	1.41 ± 0.20 <sup>b</sup>
Catalase (units/mg protein)	0.17 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.17 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.36 ± 0.03 <sup>a</sup>
Cu,Zn-SOD (Nitrate units/mg protein)	3.17 ± 0.34 <sup>b</sup>	3.58 ± 0.42 <sup>ab</sup>	4.81 ± 0.48 <sup>a</sup>
Mn-SOD (Nitrate units/mg protein)	4.43 ± 0.34 <sup>b</sup>	6.20 ± 0.44 <sup>a</sup>	5.78 ± 0.32 <sup>ab</sup>

Values are expressed as means ± S.E. Values with same alphabet are not significantly different at p < 0.05. DM control: STZ-induced diabetic rats fed basal diet, DM *buchu*: STZ-induced diabetic rats fed *buchu* diet.

catalase를 보호하려는 기전으로 풀이된다[21]. 한편 GSH-px와 GSH-red 활성은 당뇨쥐에서 오히려 감소하는 경향을 보였는데, 이러한 현상은 여러 연구자들의 실험결과에서도 관찰되었다[6,23,25,31]. 그러나 당뇨쥐에 부추를 섭취시킨 결과, catalase 활성은 대조군과 당뇨대조군에 비해 유의적으로 증가하였으며, GSH-px와 GSH-red 활성 역시 당뇨대조군에 비해 다소 증가하였다. 부추 섭취에 의한 항산화효소계 활성 증가현상은 부추가 당뇨로 인한 과산화적 손상으로부터 생체를 보호하는 효과가 있음을 보여주는 것이라 하겠다.

혈장과 간의 GSH 함량 및 GOT, GPT 활성

혈장에서의 GSH 함량은 대조군에 비해 당뇨군에서 유의적으로 감소하였다(p < 0.001, Fig. 4). 당뇨군의 혈장에서 GSH 함량이 감소한 것은 GSH가 산화형인 GSSG로 전환되었을 때 이것을 다시 GSH으로 전환시켜 주는 GSH-red가 혈장에는 존재하지 않기 때문인 것으로 추정된다[17]. 즉, 당뇨유발에 의해 발생된 유리기에 의해 산화된 GSSG가 GSH로 환원되지 않음을 의미하며, NIDDM 환자의 혈청과 적혈구에서 GSH의 수준이 정상인에 비해 20~30% 낮게 존재한다고 보고된 바 있다[29]. 간의 GSH 함량은 Fig. 5에서 보는 바와 같이 대조군과 당뇨대조군에 비해 당뇨부추군에서 유의적으로 증가되었다(p < 0.01). GSH은 수산화기와 일중항 산소를 제거하고 GSH-px 효소의 기질로서 작용한다. 세포에서 높은 농도로 존재함으로써 활성산소종을 소거하는 역할을 한다. 조직이 과량의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 또는 수산화기에 노출되면 GSH/GSSG의 비율이 저하되어 GSSG가 축적되고 GSSG는 효소의 -SH와 결합하여 효소들을 불활성화시킨다. 따라서 당뇨부추군에서 간의 GSH 수준이 증가

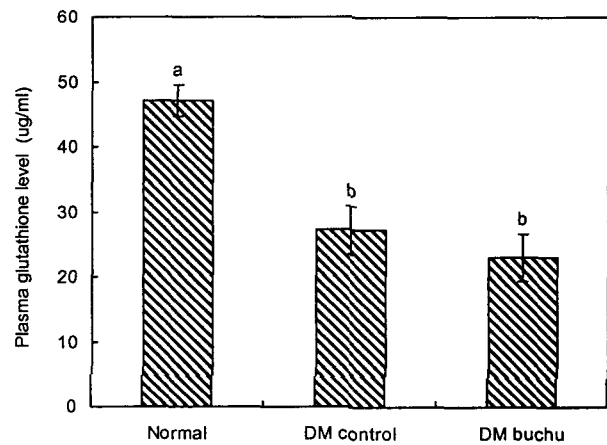


Fig. 4. Effect of *buchu* supplementation on plasma glutathione levels in streptozotocin-induced diabetic rats.

Values are expressed as means ± S.E. Bars with same alphabet are not significantly different at p < 0.05. DM control: STZ-induced diabetic rats fed basal diet, DM *buchu*: STZ-induced diabetic rats fed *buchu* diet.

한 것은 부추에 함유된 GSH와 항산화물질이 생체내 GSH의 소모를 저하한 때문으로 풀이되며[31,35] 이러한 GSH 절약작용은 catalase와 GSH-px와 같은 항산화효소를 보호하는데 기여한 것으로 사료된다.

혈장 GOT와 GPT 활성은 대조군에 비해 당뇨대조군에서 각각 302%와 325% 증가하였으나 부추를 섭취한 당뇨군에서는 대조군 수준으로 감소하였다(p < 0.001). GOT 및 GPT는 간세포에 다량으로 존재하는 효소로서 간세포 손상 시 세포 외로 유출되어 혈액에 증가되어 간 손상의 지표로 이용된다. 당뇨 유발 시 GOT 및 GPT 활성도가 증가된 것은 간조직의 TBARS가 증가하고 GSH가 감소한 것과 밀접한 관계가 있으며, 당뇨부추군에서 GOT 및 GPT 활성이

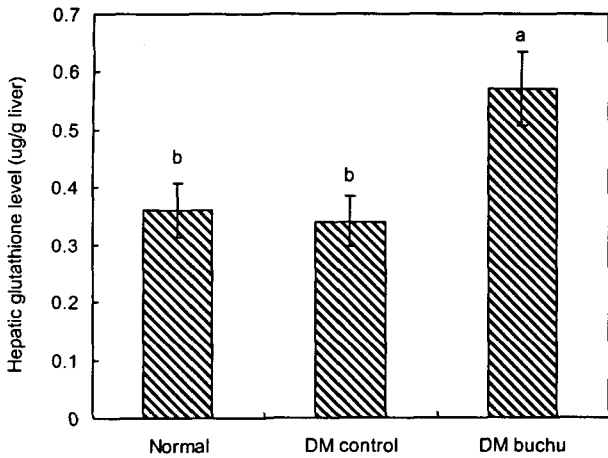


Fig. 5. Effect of *buchu* supplementation on hepatic glutathione levels in streptozotocin-induced diabetic rats.

Values are expressed as means  $\pm$  S.E. Bars with same alphabet are not significantly different at  $p < 0.05$ . DM control: STZ-induced diabetic rats fed basal diet, DM buchu: STZ-induced diabetic rats fed buchu diet.

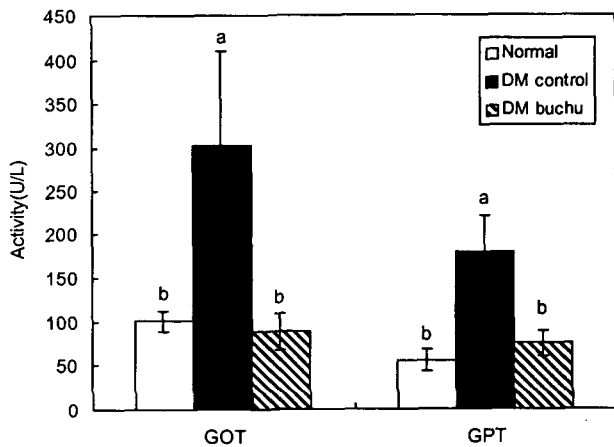


Fig 6. Effect of *buchu* supplementation on plasma GOT and GPT levels in streptozotocin-induced diabetic rats.

Values are expressed as means  $\pm$  S.E. Bars with same alphabet are not significantly different at  $p < 0.05$ . DM control: STZ-induced diabetic rats fed basal diet, DM buchu: STZ-induced diabetic rats fed buchu diet.

대조군 수준으로 감소한 결과는 증가된 GSH 수준과 관계가 있는 것으로 보인다. GSH는 동물에서 제초제, 농약, 외부 독성물질에 대한 분해대사에 관여한다. 생체외물질이 동물체내로 흡수될 경우 간은 이를 glutathione-S-trans-

ferase 작용으로 GSH과 결합시켜 배설시킨다. 그러므로 부추의 섭취에 의해 증가된 GSH은 STZ에 의해 유발된 간 독성을 완화시키거나 간의 산화적 스트레스를 저하하여 간의 기능을 보호하는 효과가 있는 것으로 풀이된다. 이상의 결과를 요약하면 부추의 섭취는 STZ에 의해 유발된 당뇨쥐에서 직접적인 항산화작용이나 이차적인 항산화방어체계 강화를 통해 STZ에 의해 유발된 당뇨쥐에서의 산화적 스트레스를 억제하는 것으로 사료된다.

## 요 약

STZ(50mg/kg BW)을 대퇴부 근육에 주사하여 당뇨를 유발시킨 당뇨 흰쥐(Sprague Dawley, 수컷)에서 10% 부추 첨가식이 혈액과 적혈구, 간조직의 지질과산화 정도와 항산화 효소계 활성 및 GSH 수준에 미치는 영향을 조사하였다. 실험군은 정상군, 당뇨대조군, 당뇨부추군의 3군 (n=10)으로 나누었으며 4주간 사육한 후 실험에 이용하였다. STZ로 유발된 당뇨대조군의 적혈구, 간과 LDL의 TBARS와 conjugated dienes 함량은 대조군에 비해 증가하였으나, 당뇨부추군에서는 적혈구의 conjugated dienes 수준이 유의적으로 감소하였고( $p < 0.05$ ), 간과 LDL의 TBARS 수준은 당뇨대조군에 비해 다소 감소하여 정상대조군과 차이를 보이지 않았다. 간에서의 항산화 효소계 중 SOD 활성은 대조군에 비해 당뇨대조군에서 증가하였고, catalase 활성은 당뇨대조군에 비해 부추를 섭취한 당뇨군에서 유의적으로 증가하였다. GSH-px와 GSH-red 활성은 대조군에 비해 당뇨대조군에서 유의적으로 감소하였으나( $p < 0.05$ ), 당뇨부추군에서는 다소 증가하였다. 간의 GSH 함량은 대조군과 당뇨대조군에 비해 당뇨부추군에서 유의적으로 증가하였으며( $p < 0.01$ ), 혈장의 GSH 함량은 대조군에 비해 당뇨군에서 유의적으로 감소하였다( $p < 0.05$ ). GOT와 GPT 활성은 정상대조군에 비해 당뇨대조군에서 급격히 증가하였으나 당뇨부추군에서는 정상군 수준으로 감소하였다. 이상의 결과로 미루어 볼 때, 부추는 간의 항산화효소계를 활성화시키고 간조직의 GSH 수준을 높게 유지하여 고혈당과 STZ로부터 유발된 산화적 스트레스(지질과산화)를 해소함으로써 당뇨로 인한 합병증 예방 및 치료를 위한 식품자원으로 활용이 가능한 것으로 사료된다.



## 감사의 글

본 연구는 농림부 농림기술개발사업 연구비(298002-3)와 한국과학재단 지정 지역협력연구센터인 인제대학교 바이오헬스 소재 연구센터의 연구비 지원에 의해 연구되었으며, 저자들은 이에 감사하는 바입니다.

## 참고 문헌

1. Aebi, H. E. 1983. Catalase. pp.282-284, In Bergmeyer, H. U. (ed.), *Method in Enzymatic Analysis*. Verlag Chemie, Weinheim.
2. Ahn, J. M., S. H. Lee and Y. S. Song. 2001. Biological functions in leek. *Food Industry and Nutrition* **6**, 68-73.
3. Baynes, J. W. 1991. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* **40**, 405-412.
4. Buege J. A and S. D. Aust. 1978. Microsomal lipid peroxidation. pp.302-306, In Fleischer S., and L. Packer (eds.), *Methods in Enzymology*, Vol. **52**, Academic Press, New York.
5. Claire, B. K., Charles, C. and Claudine, B. 1997. Combined effects of lipid peroxidation and antioxidant status on carotid atherosclerosis in a population aged 59-71 y: The EVA study. *Am. J. Clin. Nutr.* **65**, 121-127.
6. Cho, S. Y., J. Y. Park, E. M. Park, M. S. Choi, M. K. Lee, S. M. Jeon, M. K. Jang, M. J. Kim and Y. B. Park. Alternation of hepatic antioxidant enzyme activities and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats by supplementation of dandelion water extract. *Clinica Chemica Acta* **317**, 109-117.
7. Choi, J. H., H. M. Choi and H. S. Son. 1994. Fatty acid composition and functional properties of low density lipoprotein and oxidized LDL from human plasma. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **23**, 402-408.
8. Donna, O., E. Yorulmaz, H. Pekel and N. Suyugul. 2002. Blood and lens lipid peroxidation and antioxidant status in normal individuals, senile and diabetic cataractous patient. *Curr. Eye Res.* **25**, 9-16.
9. El-Sweify, S., E. J. Schaefer, L. J. Seman, D. van Dongen, A. Sevanian, D. E. Smith, J. M. Ordovas, M. El-Sweidy and M. Meydani. 2000. The effect of vitamin E, probucol, and lovastatin on oxidative status and aortic fatty lesions in hyperlipidemic-diabetic hamsters. *Atherosclerosis* **149**, 277-286.
10. Evans, J. L., I. D. Goldfine, B. A. Maddux and G. M. Grodsky. 2003. Are oxidative stress -activated signaling pathway mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction?. *Diabetes* **52**, 1-8.
11. Food Science Institute of Inje University. 1998. *Development of leek processing technology and the formulation of leek-containing food products*. pp.6, Research report supported by Dept. Agriculture and Fishery.
12. Gardia, M. J., P. M. McNamara and T. Gordon. 1974. Morbidity in mortality in diabetics in the Framingham population. *Diabetes* **23**, 105-111.
13. Griendling, K. K. and R. W. Alexander. 1997. Oxidative stress and cardiovascular disease. *Circulation* **96**, 3264-3275.
14. Hong, S. A. and S. K. Wang. 2000. Effect of Korean leek and dietary fat on plasma lipid and platelet aggregation in hypercholesterolemic rats. *Korean J. Nutr.* **33**, 374-385.
15. Hunt, J. V., C. C. T. Smith and S. P. Wolff. 1990. Autoxidative glycosylation and possible involvement of peroxides and free radicals in LDL modification by glucose. *Diabetes* **39**, 1420-1424.
16. Inger, C. and M. Bengt. 1985. *Methods in Enzymology*. pp.484-490, Academic Press, New York.
17. Jackson, A. A. 1986. Blood glutathione in severe malnutrition in childhood. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **80**, 911-913.
18. Jain, S. K., R. McVie, J. Duett and J. J. Herdst. 1989. Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes. *Diabetes* **38**, 1539-1543.
19. Kadowak, M., N. Harada and S. Takahashi. 1989. Differential regulation of degradation of myofibrillar and total protein in dietary protein and starvation. *J. Nutr.* **119**, 471-477.
20. Kim, T. W. 1994. Functional properties of low density lipoprotein(LDL) and oxidized-LDL. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **23**, 530-539.
21. Kono, Y. and I. Fridovich. 1982. Superoxide radicals inhibit catalase. *J. Biol. Chem.* **257**, 5751-5754
22. Koo, J. R. and N. D. Vaziri. 2003. Effects of diabetes, insulin and antioxidants on NO synthase abundance and NO interaction with reactive oxygen species. *Kidney Int.* **63**, 195-201.
23. Lee, S. Z., S. H. Park and H. S. Lee. 2001. Changes in *in vivo* lipid peroxidation and antioxidant defense

- system in streptozotocin-induced diabetic rats: a time course study. *Kor. J. Nutr.* **34**, 253-264.
24. Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
  25. Mak, D. H. and K. M. Ko. 1997. Alterations in susceptibility to carbon tetrachloride toxicity and hepatic antioxidant/detoxification system in streptozotocin-induced short-term diabetic rats: efficacies of insulin and Schisandrin B treatment. *Mol. Cell Biochem.* **175**, 225-232.
  26. Ohkawa, H., N. Ohishi and K. Yagi. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95**, 351-358.
  27. Oyanagui, Y. 1948. Reevaluation of assay methods and establishment of kit for superoxide dismutase activity. *Anal. Biochem.* **4**, 290-296.
  28. Park, G. Y., S. J. Lee and J. G. Im. 1997. Effect of green tea catechin on Cytochrome P<sub>450</sub>, Xanthine oxidase activities in liver and liver damage in streptozotocin induced diabetic rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **26**, 901-907.
  29. Perez, D. D, P. Strobel, R. Foncea, M. S. Diez, L. Vasquez, I. Urquiaga, O. Castillo, A. Cuevas, A. San Martin and F. Leighton. 2002. Wine, diet, antioxidant defenses, and oxidative damage. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **957**, 136-145.
  30. Prosky, L., N. Asp and T. F. Scheizer. 1988. Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food products: Interlaboratory study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **71**, 1017-1023.
  31. Rhee, S. J., W. K. Choe, B. K. Cha, J. A. Yang and W. Y. Kim. 1996. Effect of vitamin E and selenium on the antioxidative defense system in streptozotocin-induced diabetic rats. *Kor. J. Nutr.* **29**, 22-31.
  32. Rudy, J. R. and D. M. Sheldon. 1975. Effect of glutathione depletion on tissue deposition of methylmercury in rats, *Toxicol. and Appl. Pharmacol.* **31**, 505-519.
  33. Ryu, S. H. 1997. Antioxidative effects of kimchi and kimchi ingredients *in vitro* and *in vivo* systems. *M.S. Thesis*, Inje Univ., Gimhae, Korea.
  34. Savickiene, N., Dagilyte, A., Lukosius, A. and Zitkevicius, V. 2002. Importance of biologically active compounds and plants in the prevention of diabetes mellitus. *Medicina.* **38**, 970-975.
  35. Sener, G., O. Sacan, R. Yanardag and G. Ayanoglu-Dulger. 2002. Effects of chard(*Beta vulgaris* L. var. cicla) extract on oxidative injury in the aorta and heart of streptozotocin-diabetic rats. *J. Med. Food* **5**, 37-42.
  36. Seyer, H. K. 1977. Renal hypertrophy in experimental diabetes relation to severity of diabetes. *Diabetologia* **13**, 141-143.
  37. Shanghai Science & Technical Publisher. 1985. *The dictionary of Chinese drugs* (Zhong Yao Da Ci Dian). pp.449, Vol. 1. Shougakukan, Tokyo.
  38. Shin, H. S. 1992. *Food analysis*, pp.69-87, Shinkwang, Seoul.
  39. Smith, O. L. K., C. Y. Wong. and R. A. Gelfand. 1989. Skeletal muscle proteolysis in rats with acute streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes* **38**, 1117-1122.
  40. Sochor, M., S. Kunjara and N. Z. Baquer. 1991. Regulation of glucose metabolism in livers and kidneys of NOD mice. *Diabetes* **40**, 1467-1471.
  41. Steer, K. A., M. Sochor and P. Mclean. 1985. Renal hypertrophy in experimental diabetes changes in pentose phosphate pathway activity. *Diabetes* **34**, 485-490.
  42. Takasawa, S., H. Yamamoto, K. Terazono and H. Okamoto. 1986. Novel gene activated in rat insulinomas. *Diabetes* **35**, 1178-1180.
  43.  $\alpha$ -Tocopherol,  $\beta$ -carotene Prevention Study Group. 1994. The effect of vitamin E and beta-carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. *N. Engl. J. Med.* **330**, 1029-1035.
  44. Wenzel, U., S. Kuntz, M. D. Brendel and H. Daniel. 2000. Dietary flavone is a potent apoptosis inducer in human colon carcinoma cells. *Cancer Res.* **60**, 3823-3831.
  45. Wolff, S. P. and R. T. Dean. 1987. Glucose autooxidation and protein modification: the potential role "autooxidative glycosylation" in diabetes mellitus. *Biochem. J.* **245**, 243-250.
  46. Yang, F., W. J. de Villiers, C. J. McClain and G. W. Varilek. 1998. Green tea polyphenols block endotoxin-induced tumor necrosis factor-production and lethality in a murine model. *J. Nutr.* **128**, 2334-2340.
  47. Yoo, H. J. 1997. Effect of dietary polyunsaturated/saturated fatty acid on membrane lipid peroxidation of red blood cells and hepatic intracellular organelles in streptozotocin induced diabetic rats. *J. Diabetes* **21**, 271-279.

(Received March 22, 2003; Accepted June 17, 2003)