



삼채 뿌리 보충식이 당뇨 흰쥐의 조직에서 항산화효소 활성도에 미치는 영향

김 명 화[†] · 한 혜 경

덕성여자대학교 식품영양학과

Effects of Dietary Supplementation with *Allium hookeri* Root on the Antioxidant Enzyme Activities in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Myung-Wha Kim[†] and Hye Kyoung Han

Dept. of Food and Nutrition, Duksung Women's University, Seoul 01369, Republic of Korea

ABSTRACT

This study examined the effects of *Allium hookeri* (AH) root on the antioxidant defense in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. Rats were rendered diabetic by STZ (45 mg/kg body weight) administration. The experimental groups were divided into four groups: a normal-control (N-control), STZ-control, STZ-AH 5%, and STZ-AH 10% supplemented groups. The N-control and STZ-control group were fed an AIN-93 diet, and the experimental groups were fed a modified diet containing 5% and 10% of AH root powder for 4 weeks. The activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), glutathione S-transferase (GST), and xanthine oxidase (XOD) were measured in the kidney, lung, and brain. The SOD activities in the lung and brain were significantly lower in the STZ-AH 10% group than in the STZ-control group. The activity of CAT in the kidney was significantly higher in the STZ-AH 10% group than in the STZ-control group. The GR activities in the kidney and lung were reduced in STZ-AH 5% and STZ-AH 10% group, respectively. In the kidney, the activity of GPx was significantly higher in the STZ-AH 5% group than in the STZ-control group. Similar results were observed for the lung. The GST activity was significantly lower in the STZ-AH 5% group in the kidney but significantly higher in the STZ-AH 10% group in the lung compared to the STZ-control group. The XOD activities in the kidney and brain were significantly lower in the STZ-AH 10% group than in the STZ-control group. *Allium hookeri* root contains bioactive compounds that possess important antioxidant properties and protected the kidneys, lung and brain from hyperglycemia damage.

Key words: *Allium hookeri* root, STZ-induced diabetic rats, antioxidant enzyme

서 론

당뇨는 조직세포가 포도당을 정상적으로 이용하지 못하여 고혈당이 나타나는 만성대사질환이다. 이것은 포도당 대사를 촉진시키고, 미토콘드리아의 산화적 호흡, 포도당 자동산화, advanced glycation end product(AGE) 생성, polyol pathway와 protein kinase C 활성도와 같은 여러 가지 신호전달체계를 활성화시켜 조직에서 활성산소종(Reactive Oxygen Species; ROS)을 생성시킨다(Brownlee M 2001; Fu MX 등 1994). 조직에서 지속적인 고혈당은 ROS의 과잉생산을 통해 산화적 스트레스를 증가시킨다(Koya D & King GL 1998; Sano T 등 1998).

산화적 스트레스는 대사적 스트레스, 조직 손상, 세포 죽

음의 연속적 순환에 의해서 증가되고, 자유기 생성을 증가시키고 이는 스트레스를 더욱 악화시킬 수 있다(Baynes JW 1991). 산화적 스트레스는 세포내의 세포막을 손상시켜 세포의 활성도가 감소되고, 전반적인 에너지 대사의 손실을 일으킨다(Vincent AM 등 2004). 산화적 스트레스는 세포 또는 조직의 유리기 생성과 소거 시스템간의 불균형에 의해서 생성된다(Ravi K 등 2004).

ROS는 당뇨병에서 심장과 간과 같은 시스템에서 장기 손상의 원인이 된다(West IC 2000). 이것은 catalase(CAT), superoxide dismutase(SOD) 및 glutathione peroxidase(GPx)와 같은 세포내액의 항산화계의 방어체계에 의해서 정상적으로 제거된다(Baliga R 등 1997). 항산화효소는 산화손상에 대한 세포의 방어에 중요한 역할을 한다. 그러나 활성산소종의 생성이 항산화 효소의 제거용량을 초과할 때 조직의 손상이 생긴다(Yen HW 등 2006). 즉, 통제가 되지 않거나 잘 제어되지 않는 고혈당은 ROS 생성 효소와 항산화계 간의 불균형을 일으

[†] Corresponding author : Myung-Wha Kim, Tel: +82-2-901-8598, Fax: +82-2-901-8372, E-mail: kmw7@duksung.ac.kr

킨다(Figueroa-Romero C 등 2008; Forbes JM 등 2008; Kowluru RA & Chan PS 2007).

SOD는 효소적 항산화계에서 가장 중요한 효소 중 하나이다. 이것은 superoxide anion($O_2^{\cdot-}$)을 과산화수소로 형성시켜 자유기에 의해 야기된 독성효과를 낮춘다. 과산화수소의 해독과 관련된 CAT는 superoxide anion($O_2^{\cdot-}$)에 의해서 활성화된다(Soon YY & Tan BK 2002). CAT는 포유동물세포의 퍼옥시좀에 존재하여 같은 곳에 존재하는 산화효소에 의하여 생성된 과산화수소를 파괴시키는 역할을 한다. 그러나 포유동물세포에 존재하는 과산화수소 제거효소는 GPx인 것으로 보이며, 이 효소는 활성부위에 셀레늄을 함유하고 있다(Nunoshiba T 등 2002). GPx는 과산화수소의 해독에 중요한 역할을 한다. 이것은 glutathione(GSH)을 감소시킴으로써 hydroperoxide를 감소시키는 것으로 보고되어 있다(Pereira B 등 1995). Glutathione S-transferase(GST)는 활성형의 대사물을 환원형 GSH와 결합시켜 배설시킴으로써 체내에서 제거하는 역할을 한다.

Superoxide anion($O_2^{\cdot-}$)과 hydroxy radical($OH\cdot$)은 주변 장기에 다양한 손상을 야기시킬 수 있다. 항산화 성질을 가진 자연 또는 합성 화합물은 손상의 일부 또는 전체 완화에 기여할 수 있다. 그러므로 superoxide anion($O_2^{\cdot-}$)과 hydroxy radical($OH\cdot$) 제거는 가장 효과적인 방어체계 중의 하나이다(Lin JM 등 1995). 식물에 존재하는 항산화 식물성 성분들은 활성산소를 제거하고 내인성 항산화제의 고갈을 방지한다(Manonmani G 등 2005; Ravi K 등 2004). 삼채(*Allium hookeri*; AH)는 백합과(Liliaceae) 파속(*Allium* L.)에 속하는 식물로 뿌리부추라고 불린다(Borborah K 등 2014). 삼채뿌리는 지질과산화억제(Cho HS 등 2015), 항산화(Lee EB 등 2015; Lee JY & Lee KK 2014; Lee YR 2015), 항염증(Bae GC & Bae DY 2012; Jang JY 등 2017; Kim CH 등 2012; Roh SS 등 2016)에 도움이 되는 다양한 생리활성을 가진다고 알려져 있다. 한국산 삼채뿌리 분말을 당뇨유발 흰쥐에게 식이로 섭취시켰을 때 당뇨대조군에 비해 혈당 수준이 낮아졌으며(Kim MW 2016), 간 cytosol의 CAT와 GST의 활성도가 유의적으로 높아졌고, xanthine oxidase(XOD) 활성도는 유의적으로 낮아졌다고 보고하였다(Kim MW 2017).

따라서 본 연구에서는 삼채 뿌리의 섭취가 STZ 유발 당뇨 시 산화스트레스 바이오마커의 활성도에 근거한 조직의 항산화계에 어떠한 영향을 미치는지를 평가하고자 하였다.

연구방법

1. 실험 재료

본 실험에서 사용한 삼채(*Allium hookeri*) 뿌리는 서울시

동대문구 제기2동에 있는 용성건재(사업자등록번호 204-92-77858)로부터 구입하였다. 우리나라 경상북도 영주군 상출동 104-4에서 야생 채배하여 2015년 7월에 수확한 것을 자연 건조시켜 분말(HMF-3450S, Hanil, Seoul, Korea)로 만들어 실험식이에 사용하였다.

2. 당뇨 유발 및 실험식이

체중 220 g 내외로 7주령인 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 [주식회사 샘타코 BIO KOREA(NTacSam: SD, Osan, Korea)] 28마리를 난피법에 의해 4개 군으로 나누어 사용하였다. 당뇨실험군은 16시간 공복 후 45 mg/kg의 STZ(Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo, USA)을 꼬리정맥에 주사하여 당뇨를 유발시켰다. STZ 주사 24시간 후 혈장 중의 포도당 농도가 300 mg/dL 이상인 동물을 당뇨가 유발된 것으로 확인하였다. 정상대조군에는 삼채뿌리를 첨가하지 않은 normal-control(N-control), 당뇨실험군에는 삼채뿌리를 첨가하지 않은 당뇨대조군(STZ-control)과 삼채뿌리를 분말로 하여 각각 5%(STZ-AH 5%)와 10%(STZ-AH 10%)를 첨가하여 4주간 실험하였다. 대조군은 AIN-93조제식이(Reeves PG 1997)로, 당뇨실험군은 대조군식이에 삼채뿌리 분말을 각각 5%와 10%씩 첨가하였다. 본 동물 실험은 덕성여대 동물실험윤리위원회의 승인(승인번호 2015-017-001)을 받은 후, 실험동물 관리 및 이용에 관한 지침에 맞추어 실시하였다.

3. 항산화효소 분석

실험 4주후 적출된 장기(신장, 폐 및 뇌)는 차가운 phosphate buffered saline(PBS)에 세척한 후 -70°C 에 동결시켰다. 동결된 조직은 Tris KCl buffer(0.1 M Tris acetate, 0.1 M KCl, 0.1 mM EDTA, pH 7.4)로 균질화한 다음 8,000×g에서 30분간 원심분리(model RC 5C, DuPont sorvall instrument, Wilmington, DE, USA)하여 1차 상등액을 얻었다. 1차 상등액은 10,000×g에서 30분간 원심분리하여 2차 상등액을 얻었다. 2차 상등액을 취하여 105,000×g에서 90분간 초원심분리(L-80, Beckman Co. Ltd, Setauket-East Setauket, NY, USA)시켜 cytosol 분획을 -70°C 에 저장한 후 항산화효소 활성도를 분석하였다. 단백질 함량은 Lowry 등의 방법(Lowry OH 등 1951)에 의해서 측정하였다.

SOD 활성도는 pyrogallol의 자동산화를 50% 억제하는 능력을 기초로 하여 Maklund와 Marklund의 방법(Maklund S & Marklund G 1974)에 의해 측정하였다. CAT의 활성도는 Aebi 방법(Aebi H 1984)에 따라 240 nm에서 H_2O_2 분해에 따른 흡광도의 감소로 측정하였다. GPx의 활성도는 Lawrence와 Burk의 방법(Lawrence RA & Burk RF 1976)에 따라 340 nm에서 NADPH 환원량을 측정하여 계산하였다. Glutathione

reductase(GR)는 340 nm에서 흡광도 감소속도를 측정하여 NADPH의 분자흡광도 계수를 적용하여 분석하였다(Mavis RD & Stellwagen E 1968). GST의 활성도는 Habig 등의 방법(Habig WH 등 1974)에 따라 기질인 1-chloro-2,4-dinitrobenzene(CDNB)과 환원형 GSH를 반응시켜 340 nm에서 흡광도의 증가를 측정하였다. XOD의 활성도는 Bergmeyer 등의 방법(Bergmeyer HU 등 1974)에 따라 xanthine으로부터 생성되는 요산의 양을 μmole 로 나타내었다.

4. 통계처리

모든 실험 데이터는 Statistical Package for the Social Science(SPSS) software package version 24로 통계처리하였고, 모든 수치는 평균과 표준편차(Standard Deviation; SD)로 표시하였다. 실험군 간의 차이는 one way analysis of variance (ANOVA)로 검증하였고, 각 실험군 간의 평균값의 차이에 대한 유의성은 Duncan's multiple range test를 이용하여 $p<0.05$ 수준에서 평가하였다.

결과 및 고찰

1. Superoxide Dismutase(SOD) 활성도

신장, 폐 및 뇌의 cytosol에서 SOD 활성도를 측정한 결과 (Table 1) N-control에 비해 STZ-control에서 높은 활성도를 보였으나, 유의적인 차이는 없었다. 호기적 대사를 하는 생물체는 산소 유리기의 일종인 superoxide를 제거하는 효소인 SOD를 갖고 있어 산소 유리기 반응에 의한 손상에 대하여 어느 정도의 방어력을 유지하고 있으며(Chow CK 1979), 비정상적으로 증가하는 산소 유리기의 제거를 위해 그 활성도가 높아지는 것으로 알려져 있다(McCord JM & Fridovich I 1969).

신장의 SOD 활성도는 STZ-control에 비해 당뇨실험군에서 차이를 보이지 않아 식이에 의한 효과는 나타나지 않았다. 폐와 뇌의 경우에는 STZ-control에 비해 STZ-AH 10%에서 유의적으로 낮아졌다. Sanders RA 등(2001)의 연구에서는 삼채의 구성성분인 quercetin을 당뇨쥐에 투여시켰을 때 신장과 뇌에서 효과를 보이지 않아 당뇨상태에서의 SOD 활성도는 조직에 따라서 다른 결과를 나타냈다.

2. Catalase(CAT) 활성도

CAT는 SOD와 함께 중요한 활성산소 소거효소로서 거의 모든 포유동물 세포내에 존재하는 것으로 알려져 있다. N-control과 비교하여 당뇨시 신장의 CAT 활성도의 감소 (Kedziora-Kornatowska KZ 등 2000; Maritim AC 등 1999; Rauscher FM 등 2001; Sanders RA 등 2001)가 일반적이다.

신장, 폐 및 뇌의 cytosol에서 CAT 활성도를 측정한 결과 (Table 2), 세 장기 중에서 뇌의 활성도가 가장 높았고, 신장과 폐는 거의 비슷하였다. 삼채뿌리 섭취에 의한 CAT의 활성도는 신장의 경우, STZ-control에 비해 모두 증가하였으며, STZ-AH 10%에서는 유의적으로 증가하였다. STZ-control에 비해 폐의 경우는 STZ-AH 10%, 뇌의 경우에는 STZ-AH 5%에서 증가하였으나 유의적인 차이는 보이지 않았다.

당뇨시 CAT의 활성도 감소는 이 효소의 활성도를 억제하는 ROS의 생성을 증가시키기 때문이다(Wohaieb SA & Godin DV 1987). Stanely Mainzen Prince P 등(2011)이 gallic acid를 투여하였을 때와 같이 본 연구에서 CAT 활성도의 결과는 삼채가 자유기 소거작용을 나타내는 것과 같다. 이것은 당뇨시 superoxide anion($\text{O}_2^{\cdot-}$)과 hydroxy radical($\text{OH}\cdot$)이 존재함에 따라 야기되는 병태적인 변화에 대해 이로운 작용을 나타낸다. Zhang L 등(2016)의 연구에서 뇌의 해마와 피질에서 CAT 활성도가 현저하게 감소하였는데 curcumin 치료가 정상 수준

Table 1. Effect of *Allium hookeri* root on the activity of superoxide dismutase(SOD) in the kidney, lung and brain in cytosol of normal and diabetic rats (unit/min/mg protein)¹⁾

Group ²⁾	Kidney	Lung	Brain
N-control	0.61±0.26 ^{3)NS4)}	4.81±0.18 ^{ab5)}	2.43±0.23 ^{ab}
STZ-control	0.64±0.11	4.94±0.44 ^b	2.69±0.38 ^b
STZ-AH 5%	0.61±0.13	4.98±0.42 ^b	2.46±0.31 ^{ab}
STZ-AH 10%	0.70±0.39	4.43±0.23 ^a	2.30±0.23 ^a

¹⁾ One unit was defined as the amount of enzyme that causes half maximal inhibition of pyrogallol autoxidation.

²⁾ N-control: normal control group, STZ-control: diabetic control group, STZ-AH 5%: diabetic fed with root of AH 5% treated group, STZ-AH 10%: diabetic fed with root of AH 10% treated group.

³⁾ Values are mean±S.D.

⁴⁾ NS: not significant.

⁵⁾ Values with different superscripts within the same column are significantly different at the $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 2. Effect of *Allium hookeri* root on the activity of catalase(CAT) in the kidney, lung and brain in cytosol of normal and diabetic rats (unit/min/mg protein)¹⁾

Group ²⁾	Kidney	Lung	Brain
N-control	3.47±0.78 ^{b3,4)}	4.98±2.12 ^b	7.33±2.71 ^b
STZ-control	2.76±0.45 ^a	3.43±1.93 ^a	5.42±2.57 ^{ab}
STZ-AH 5%	3.30±0.25 ^{ab}	3.25±0.84 ^a	7.03±2.27 ^{ab}
STZ-AH 10%	3.73±0.43 ^b	3.97±0.75 ^{ab}	5.16±2.09 ^a

¹⁾ One unit was defined as the amount of enzyme required to decompose 1 μmole of H₂O₂.

²⁾ N-control: normal control group, STZ-control: diabetic control group, STZ-AH 5%: diabetic fed with root of AH 5% treated group, STZ-AH 10%: diabetic fed with root of AH 10% treated group.

³⁾ Values are mean±S.D.

⁴⁾ Values with different superscripts within the same column are significantly different at the $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

으로 CAT 활성도를 유의적으로 증가시켰다고 보고하였다. VanGilder RL 등(2009)의 연구에서도 세사몰로 처리된 당뇨 쥐가 superoxide와 peroxynitrite 생성의 감소로 CAT 활성도를 뇌에서 유의적으로 증가시켰다. 삼채뿌리는 지질과산화물의 증가로 산화적 손상이 가속화될 때, 항산화 효소계의 활성도를 증가시키고, 산화 스트레스에 의한 조직 손상을 완화시켜 주는 것으로 판단된다. 따라서 삼채뿌리의 섭취로 인해 CAT 활성도가 증가된 것은 삼채뿌리가 체내 산화반응을 직접적으로 완화시켰을 것으로 보여진다. 본 실험결과, 폐와 심장보다는 신장에서 CAT 활성도 증가에 기여함을 볼 수 있었다.

3. Glutathione Peroxidase(GPx) 활성도

신장, 폐 및 뇌의 cytosol에서 GPx 활성도를 측정한 결과 (Table 3) 신장에서의 활성도가 가장 높았고 다음이 뇌 그리고 폐의 순서였다. 모든 조직에서 STZ-control이 N-control에 비해서 높아졌으나, 유의적인 차이는 보이지 않았다. 당뇨시

신장의 GPx 활성도의 증가는 고혈당에 의해 유발되는 강한 산화적 손상을 암시한다(Kamuren ZT 등 2006). Srinivasan M 등의 연구(2005)에서 당뇨 쥐의 뇌조직 GPx 활성도가 STZ-control에서 N-control에 비하여 유의성은 없으나 다소 높은 경향을 보인 결과와 일치하였다. GPx의 높은 수치는 당뇨에 대한 산화물질 스트레스의 만성적인 이상에서 발생한다. 세포의 GPx는 산화적인 손상으로부터 세포를 보호한다(de Haan JB 등 2004; Esposito LA 등 2000; Fu Y 등 1999; Tanaka Y 등 2002).

신장과 뇌에서 STZ-control에 비해 STZ-AH 5%에서 유의적으로 감소하였으며, N-control과 차이를 보이지 않았다. Derosa G 등(2016)의 연구에서 α-lipoic acid가 뇌의 해마에서 GPx의 활성도를 낮추었는데 이것의 생물학적인 역할은 산화적 손상으로부터 유기체를 보호하는 것이라고 보고하였다. 이러한 결과는 멜라토닌과 같은 항산화물질 투여시 가령에 따라 뇌의 GPx의 활성도가 증가하였다는 Okatani Y 등

Table 3. Effect of *Allium hookeri* root on the activity of glutathione peroxidase(GPx) in the kidney, lung and brain in cytosol of normal and diabetic rats (unit/min/mg protein)¹⁾

Group ²⁾	Kidney	Lung	Brain
N-control	10.8±2.5 ^{ab3,4)}	2.54±0.80 ^{NS5)}	7.16±3.44 ^{ab}
STZ-control	11.1±2.4 ^b	2.64±0.81	7.72±2.69 ^b
STZ-AH 5%	9.6±2.8 ^a	2.16±0.92	5.26±3.23 ^a
STZ-AH 10%	10.3±1.9 ^{ab}	2.37±0.61	6.40±2.66 ^{ab}

¹⁾ One unit was catalyzed the oxidation by H₂O₂ of 1 μmole of reduced glutathione to oxidized glutathione per minute at pH 7.0 at 25°C.

²⁾ N-control: normal control group, STZ-control: diabetic control group, STZ-AH 5%: diabetic fed with root of AH 5% treated group, STZ-AH 10%: diabetic fed with root of AH 10% treated group.

³⁾ Values are mean±S.D.

⁴⁾ Values with different superscripts within the same column are significantly different at the $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

⁵⁾ NS: not significant.

(2002)의 보고와 다른 결과를 보였다.

당뇨시 증가하는 CAT와 GPx는 H₂O₂의 분해에 의해서 산화적인 손상에 대해 세포를 보호하는 항산화 효소이다. CAT는 과도한 농도의 H₂O₂에서 효과가 있으나, GPx는 낮은 농도에서 H₂O₂를 해독시킨다. 신장에서 STZ-AH 10%에서 GPx의 유의적인 변화없이 CAT 활성도의 증가는 퍼옥시좀의 과잉의 H₂O₂ 생성 때문일 것이다(Doroshov JH 등 1980). 그러므로 당뇨시 신장의 GPx의 증가된 활성도는 보상 또는 적응 기전으로 고혈당상태에서 증가된 산화적 손상을 방해한다(Yen HW 등 2006).

4. Glutathione Reductase(GR) 함량

GR은 모든 포유동물에서 발견되는 flavoprotein으로 cytosol에 존재하고 있고 GPx에 의해 생성된 산화형 GSH를 NADPH를 소모하면서 GSH로 환원시키는 작용을 한다. GR은 이 산화 환원 반응을 통해 세포 내 GSH pool을 환원 상태로 유지함으로써 간접적으로 세포 보호 및 항상성 유지에 기여한다(Cho YJ 등 2002).

신장, 폐 및 뇌의 cytosol에서 GR 활성도를 측정된 결과가 Table 4에 나타나 있다. 신장에서 N-control에 비해 STZ-control이 유의적으로 증가하였으며, STZ-control에 비해 STZ-AH 5%에서 유의적으로 감소하였다. 이는 당뇨쥐에 인동초를 섭취시켰을 때 GR의 활성도가 감소하였다는 보고(Bang MA 등 2002)와 일치한 결과이다. 폐에서는 N-control과 STZ-control에 차이를 보이지 않았으며 STZ-control에 비해 STZ-AH 10%에서 유의적으로 감소하였다. 뇌에서는 N-control에 비해 STZ-control에서 유의적으로 감소하였으며 STZ-control에 비해 STZ-AH 5%에서 증가하였으나 유의적인 차이는 보이지 않았다. Zhang L 등(2016)의 연구에서는 GR 활성도가 뇌의 해마에서 유의적으로 감소하였는데, curcumin 치료가 GR 활성도를 정상수준으로 크게 증가시켰다

고 보고하였다. 본 연구에서는 삼채뿌리의 섭취로 인해 신장과 폐에서 GR 활성도를 저하할 수 있는 가능성을 관찰할 수 있었다.

Jung HS 등(2003)은 STZ 당뇨 유발시 GPx와 GR의 활성이 급격하게 감소하였고, 부추의 섭취는 감소되어진 항산화 효소 활성을 다소 증가시킨다고 보고하였다. Lee JO 등(2003)은 당뇨상태에서는 유리기 생성이 증가되어 항산화 효소계의 활성이 증가하면서 방어하기 위한 시도를 하나, 심한 산화적 스트레스가 유지됨에 따라 조직의 산화가 가속화되는 것으로 여겨지며 부추의 섭취는 조직의 산화를 억제하는데 효과가 있는 것으로 나타났다. 따라서 부추와 같이 *Allium*속 식물인 삼채뿌리에 함유된 함황화합물과 폐놀화합물 등의 여러 생리활성성분이 항산화제로서 당뇨병 치료의 보조제로 사용될 수 있는 근거를 제공할 수 있을 것으로 기대된다.

5. Glutathione S-Transferase(GST) 활성도

생체 내 자유기를 제거해주는 효소적 방어제인 GST는 내인성 독소 중에서 친전자성 물질 등에 환원형 GSH를 포함시켜 glutathione thioester(R-S-G)를 형성하는 반응을 촉매시킨다(Bompart GJ 등 1990).

신장, 폐 및 뇌의 cytosol에서 GST 활성도를 측정된 결과가 Table 5에 나타나 있다. 신장에서 N-control과 STZ-control은 유의적인 차이를 보이지 않았으며, STZ-control에 비해 STZ-AH 5%에서 유의적으로 감소하였다. 이는 삼채뿌리 분말을 5% 섭취시 당뇨시 혈당에 대한 산화적 반응을 신장에서 저하시켰음을 유추할 수 있다. 폐에서는 N-control에 비해 STZ-control에서 유의적으로 낮은 활성도를 보였다. STZ-AH 10%가 STZ-control에 비해 GST 활성도가 유의적으로 높게 나타났는데, 삼채에 포함된 유황화합물이 GST 활성도를 증가시킬 뿐 아니라 세포 내 GSH의 고갈을 방지하는 것으로 보고되었다(Kang HY 등 2016). 따라서 삼채뿌리 섭취가 당

Table 4. Effect of *Allium hookeri* root on the activity of glutathione reductase(GR) in the kidney, lung and brain in cytosol of normal and diabetic rats (unit/min/mg protein)¹⁾

Group ²⁾	Kidney	Lung	Brain
N-control	0.74±0.03 ^{b3,4)}	0.85±0.07 ^b	0.41±0.20 ^b
STZ-control	0.77±0.05 ^c	0.86±0.07 ^b	0.29±0.17 ^a
STZ-AH 5%	0.69±0.06 ^a	0.84±0.05 ^{ab}	0.36±0.18 ^{ab}
STZ-AH 10%	0.75±0.05 ^{bc}	0.80±0.05 ^a	0.27±0.10 ^a

¹⁾ One unit was reduced 1 μmole of oxidized glutathione per minute at pH 7.6 at 25°C.

²⁾ N-control: normal control group, STZ-control: diabetic control group, STZ-AH 5%: diabetic fed with root of AH 5% treated group, STZ-AH 10%: diabetic fed with root of AH 10% treated group.

³⁾ Values are mean±S.D.

⁴⁾ Values with different superscripts within the same column are significantly different at the $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 5. Effect of *Allium hookeri* root on the activity of glutathione S-transferase(GST) in the kidney, lung and brain in cytosol of normal and diabetic rats (unit/min/mg protein)¹⁾

Group ²⁾	Kidney	Lung	Brain
N-control	6.83±0.38 ^{b3,4)}	3.39±0.22 ^b	5.20±0.31 ^{NS5)}
STZ-control	6.84±0.65 ^b	2.85±0.21 ^a	5.17±0.34
STZ-AH 5%	5.86±0.46 ^a	2.84±0.15 ^a	5.11±0.27
STZ-AH 10%	6.27±0.40 ^b	3.40±0.24 ^b	5.05±0.44

¹⁾ One unit was increase 1 nmole of 2,4-dinitrobenzene glutathione conjugate per minute.

²⁾ N-control: normal control group, STZ-control: diabetic control group, STZ-AH 5%: diabetic fed with root of AH 5% treated group, STZ-AH 10%: diabetic fed with root of AH 10% treated group.

³⁾ Values are mean±S.D.

⁴⁾ Values with different superscripts within the same column are significantly different at the $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

⁵⁾ NS: not significant.

뇨의 폐에 있어서 항산화방어계에 효과가 있음을 확인할 수 있었다. 이때 삼채뿌리의 섭취량이 중요한 요인이 될 것으로 사료된다. 뇌의 경우 N-control, STZ-control 및 당뇨실험군 간에 차이를 보이지 않았다.

6. Xanthine Oxidase(XOD) 활성도

자유래디칼 생성계 효소로 알려진 XOD의 활성도가 Table 6에 나타나 있다. 모든 조직의 N-control과 STZ-control 사이에는 유의적인 차이가 없었지만, STZ-control에 비해 신장과 뇌의 cytosol에서 STZ-AH 10%는 유의적으로 낮은 활성도를 나타냈다.

생체 내 자유래디칼 생성계의 하나인 XOD는 purine, pyrimidine, pteridine, aldehyde류 및 heterocyclic compounds 등의 대사에 관여하는 비특이적 효소로서 주로 퓨린의 대사 산물인 hypoxanthine을 xanthine으로, xanthine을 다시 산화시켜 요산을 생성하는 반응의 촉매로 작용한다. Xanthine

dehydrogenase(XD)와 xanthine oxidase(XO)의 두 가지 형태가 있는 것으로 알려져 있는데, 정상상태에서는 거의 dehydrogenase 형태로 존재하지만 산화적 스트레스나 여러 가지 질병상태에서는 XD가 XO로 변환되며, XO의 활성도가 증가되어 superoxide anion($O_2^{\cdot-}$)과 H_2O_2 를 생성시킨다(Bursch W & Schulte-Hermann R 1986). 삼채뿌리 첨가군의 XOD 활성도가 STZ-control보다 유의적으로 낮은 것으로 보아 삼채뿌리의 섭취로 혈당조절에 효과가 있었으며, 자유기의 생성이 억제되어 당뇨 합병증 예방에 도움이 될 것으로 생각한다.

요 약

본 연구는 정상대조군(N-control), 당뇨대조군(STZ-control) 및 삼채를 처리한 당뇨군(STZ-AH 5%와 STZ-AH 10%)의 신장, 폐 및 뇌에서 항산화 효소활성도에 미치는 영향을 살펴

Table 6. Effect of *Allium hookeri* root on the activity of xanthine oxidase(XOD) in the kidney, lung and brain in cytosol of normal and diabetic rats (unit/min/mg protein)¹⁾

Group ²⁾	Kidney	Lung	Brain
N-control	32.6±1.2 ^{b3,4)}	94.6±6.3 ^{NS5)}	114.2±12.0 ^{ab}
STZ-control	33.2±1.3 ^b	94.2±5.1	117.2±11.0 ^b
STZ-AH 5%	33.1±1.2 ^b	92.0±7.1	112.2±7.6 ^{ab}
STZ-AH 10%	30.8±1.3 ^a	91.2±4.2	107.6±6.2 ^a

¹⁾ One unit converted 1 μ mole of xanthine to uric acid per minute at pH 7.5 at 25°C.

²⁾ N-control: normal control group, STZ-control: diabetic control group, STZ-AH 5%: diabetic fed with root of AH 5% treated group, STZ-AH 10%: diabetic fed with root of AH 10% treated group.

³⁾ Values are mean±S.D.

⁴⁾ Values with different superscripts within the same column are significantly different at the $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

⁵⁾ NS: not significant.

보았다.

SOD 활성도는 모든 조직에서 N-control과 STZ-control에서 유의적인 차이는 없었으나, 폐와 뇌의 경우 STZ-control에 비해 STZ-AH 10%에서 유의적으로 낮아졌다. CAT 활성도는 신장과 뇌에서 N-control과 STZ-control에서 유의적인 차이를 보였으며, STZ-control과 비교하여 신장에서 STZ-AH 10%에서 유의적으로 높은 활성도를 보였다. GPx 활성도는 STZ-control에 비해 신장과 뇌에서 STZ-AH 5%에서 유의적인 차이를 보였다. GR 활성도는 신장과 뇌에서 N-control과 STZ-control에서 유의적인 차이를 보였으며, STZ-control에 비해 신장에서는 STZ-AH 5%에서, 폐에서는 STZ-AH 10%에서 유의적인 차이를 보였다. GST 활성도는 폐에서 N-control과 STZ-control은 유의적인 차이를 보였고, 신장에서 STZ-control보다 STZ-AH 5%에서 유의적으로 낮은 활성도를 보였으나 폐에서는 STZ-control보다 STZ-10%에서 유의적으로 높은 활성도를 보였다. XOD 활성도는 신장과 뇌에서 N-control에 비해 STZ-control에서 증가하였으나 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 신장과 뇌에서 STZ-control보다 STZ-AH 10%에서 유의적으로 낮은 활성도를 보였다.

이상의 연구결과, 삼채뿌리는 당뇨의 병리적 상태일 때 SOD와 GST 활성도를 변화시켜 과생성된 ROS의 무독화를 촉진시키는 것으로 사료된다. 또한 XOD의 활성도를 억제함으로써 당뇨에서 나타나는 ROS의 생성을 감소시킴으로써 산화적 손상을 예방하는 것으로 사료된다. 당뇨쥐에서 삼채뿌리 섭취에 의한 항산화효소의 활성화도 변화는 장기의 종류나 효소의 종류에 따라서 차이가 있음을 알 수 있는데, 항산화효소 활성화도 변화가 신장에서 가장 크게 나타났다.

감사의 글

2017년도 덕성여자대학교 교내 연구비 지원을 받아 수행된 연구 결과로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Aebi H (1984) Catalase *in vitro*. Methods Enzymol 105: 121-126.
- Bae GC, Bae DY (2012) The anti-inflammatory effects of ethanol extract of *Allium hookeri* cultivated in South Korea. Korean J Herbology 27(6): 55-61.
- Baliga R, Ueda N, Walker PD, Shah SV (1997) Oxidant mechanisms in toxic acute renal failure. Am J Kidney Dis 29(3): 465-477.
- Bang MA, Cho YJ, Kim HA (2002) Effect of indongcho (*L. japonica* Thunb) on glucose and lipid metabolism and antioxidative enzyme system in streptozotocin-induced diabetic rats. Korean J Dietary Culture 17(4): 377-386.
- Baynes JW (1991) Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. Diabetes 40(4): 405-412.
- Bergmeyer HU, Gawehn K, Grassl M (1974) Methods of Enzymatic Analysis(Bergmeyer HU ed.). Academic Press Inc 1(2): 521-522.
- Bompart GJ, Prévot DS, Bascands JL (1990) Rapid automated analysis of glutathione reductase, peroxidase and S-transferase activity: Application to cisplatin-induced toxicity. Clin Biochem 23(6): 501-504.
- Borborah K, Dutta B, Borthakur SK (2014) Traditional uses of *Allium* L. species from north east india with special reference to their pharmacological activities. Am J Phyto-med Clin Ther 2(8): 1037-1051.
- Brownlee M (2001) Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. Nature 414(6865): 813-820.
- Bursch W, Schulte-Hermann R (1986) Cytoprotective effect of the prostacyclin derivative iloprost against liver cell death induced by the hepatotoxins carbon tetrachloride and bromobenzene. Klin Wochenschr 7: 47-50.
- Cho HS, Park WJ, Hong GE, Kim JH, Ju MG, Lee CH (2015) Antioxidant activity of *Allium hookeri* root extract and its effect on lipid stability of sulfur-fed pork patties. Korean J Food Sci An 35(1): 41-49.
- Cho YJ, Kim HA, Bang MA, Kim EH (2002) Effects of dietary mushroom of glucose levels, lipid concentration and glutathione enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. Korean J Nutr 35(2): 181-191.
- Chow CK (1979) Nutritional influence on cellular antioxidant defense systems. Am J Clin Nutr 32(5): 1066-1081.
- de Haan JB, Bladier C, Lotfi-Miri M, Taylor J, Hutchinson P, Crack PJ, Hertzog P, Kola I (2004) Fibroblasts derived from Gpx1 knockout mice display senescent-like features and are susceptible to H₂O₂-mediated cell death. Free Radic Biol Med 36(1): 53-64.
- Derosa G, D'Angelo A, Romano D, Maffioli P (2016) A clinical trial about a food supplement containing α -lipoic acid on oxidative stress markers in type 2 diabetic patients. Int J Mol Sci 17(11): E1802.
- Doroshov JH, Locker GY, Myers CE (1980) Enzymatic defences of the mouse heart against reactive oxygen metabolites: Alterations produced by doxorubicin. J Clin

- Invest 65(1): 128-135.
- Esposito LA, Kokoszka JE, Waymire KG, Cottrell B, MacGregor GR, Wallace DC (2000) Mitochondrial oxidative stress in mice lacking the glutathione peroxidase-I gene. *Free Radic Biol Med* 28(5): 754-766.
- Figuroa-Romero C, Sadidi M, Feldman EL (2008) Mechanisms of disease: The oxidative stress theory of diabetic neuropathy. *Rev Endocr Metab Disord* 9(4): 301-314.
- Forbes JM, Coughlan MT, Cooper ME (2008) Oxidative stress as a major culprit in kidney disease in diabetes. *Diabetes* 57(6): 1446-1454.
- Fu MX, Wells-Knecht KJ, Blackledge JA, Lyons TJ, Thorpe SR, Baynes JW (1994) Glycation, glycooxidation, and cross-linking of collagen by glucose: Kinetics, mechanisms, and inhibition of late stages of the Maillard reaction. *Diabetes* 43(5): 676-683.
- Fu Y, Cheng WH, Porres JM, Ross DA, Lei XG (1999) Knockout of cellular glutathione peroxidase gene renders mice susceptible to diquat-induced oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 27(5-6): 605-611.
- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB (1974) Glutathione S-transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 249(22): 7130-7139.
- Jang JY, Lee MJ, You BR, Jin JS, Lee SH, Yun YR, Kim HJ (2017) *Allium hookeri* root extract exerts anti-inflammatory effects by nuclear factor- κ B down-regulation in lipopolysaccharide-induced RAW264.7 cells. *BMC Complement Altern Med* 17(1): 126.
- Jung HS, Noh KH, Cho HY, Park JY, Choi CY, Kwon TW, Song YS (2003) Effect of buchu (*Allium tuberosum*) on lipid peroxidation and antioxidative defense system in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Life Sci* 13: 333-342.
- Kamuren ZT, Sanders R, Watkins JB III (2006) Low-carbohydrate diet and oxidative stress in diabetic and nondiabetic rats. *J Biochem Mol Toxicol* 20(5): 259-269.
- Kang HY, Lee CE, Ly SY (2016) Protective effects of ethanol extract of *Allium hookeri* root on acute alcohol-induced intoxication in ICR mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 45(5): 625-633.
- Kedziora-Kornatowska KZ, Luciak M, Paszkowski J (2000) Lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in the diabetic kidney: Effect of treatment with angiotensin convertase inhibitors. *IUBMB Life* 49(4): 303-307.
- Kim CH, Lee MA, Kim TW, Jang JY, Kim HJ (2012) Anti-inflammatory effect of *Allium hookeri* root methanol extract in LPS-induced RAW264.7 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41(11): 1645-1648.
- Kim MW (2016) Effect of *Allium hookeri* root on plasma blood glucose and fat profile levels in streptozotocin-induced diabetic rats. *J East Asian Soc Diet Life* 26(6): 481-490.
- Kim MW (2017) Effect of dietary supplementation with *Allium hookeri* root on hepatic enzyme contents in streptozotocin-induced diabetic rats. *J East Asian Soc Diet Life* 27(4): 399-407.
- Kowluru RA, Chan PS (2007) Oxidative stress and diabetic retinopathy. *Exp Diabetes Res* 2007: 43603.
- Koya D, King GL (1998) Protein kinase C activation and the development of diabetes complications. *Diabetes* 47(6): 859-866.
- Lawrence RA, Burk RF (1976) Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 71(4): 952-958.
- Lee EB, Kim JH, Yan JH, Kim YS, Jun HI, Ki BH, Lee SH, Kim YS, Han SC, Kim DK (2015) Antioxidant and longevity properties of the root *Allium hookeri* in *Caenorhabditis elegans*. *Korean J Pharmacogn* 46(3): 234-242.
- Lee JO, Ryu SH, Lee YS, Kim JI, Moon GS (2003) Protective effect of dietary buchu (*Allium tuberosum* Rottler) on oxidative stress and lipofuscin formation in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Sci Nutr* 32(8): 1337-1343.
- Lee JY, Lee KK (2014) Antimicrobial and antioxidant activity of *Allium hookeri* root extract and its fractions. *Korean J Aesthet Cosmetol* 12(4): 533-538.
- Lee YR (2015) Physiological activities of ethanol extracts from different parts of *Allium hookeri*. *Korean J Food Nutr* 28(2): 295-301.
- Lin JM, Lin CC, Chen MF, Ujji T, Takada A (1995) Scavenging effects of *Mallotus repandus* on active oxygen species. *J Ethnopharmacol* 46(3): 175-181.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193(1): 265-275.
- Maklund S, Marklund G (1974) Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J*

- Biochem 47(3): 469-474.
- Manonmani G, Bhavapriya V, Kalpana S, Govindasamy S, Apparathanam T (2005) Antioxidant activity of *Cassia fistula* (Linn.) flowers in alloxan induced diabetic rats. J Ethnopharmacol 97(1): 39-42.
- Maritim AC, Moore BH, Sanders RA, Watkins JB III (1999) Effects of melatonin on oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. Intl J Toxicol 18(3): 161-166.
- Mavis RD, Stellwagen E (1968) Purification and subunit structure of glutathione reductase from bakers' yeast. J Biol Chem 243(4): 809-814.
- McCord JM, Fridovich I (1969) Superoxide dismutase: An enzymatic function for erythrocyte (hemocuprein). J Biol Chem 244(22): 6049-6055.
- Nunoshiba T, Watanabe T, Nakabeppu Y, Yamamoto K (2002) Mutagenic target for hydroxyl radicals generated in *Escherichia coli* mutant deficient in Mn- and Fe-superoxide dismutases and fur, a repressor for iron-uptake systems. DNA Repair 1(5): 411-418.
- Okatani Y, Wakatsuki A, Reiter RJ, Miyahara Y (2002) Melatonin reduces oxidative damage of neural lipids and proteins in senescence-accelerated mouse. Neurobiol Aging 23(4): 639-644.
- Pereira B, Rosa LF, Safi DA, Bachara EJ, Curi R (1995) Hormonal regulation of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase activities in rat macrophages. Biochem Pharmacol 50(12): 2093-2098.
- Rauscher FM, Sanders RA, Watkins JB III (2001) Effects of coenzyme Q10 treatment on antioxidant pathways in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. J Biochem Mol Toxicol 15(1): 41-46.
- Ravi K, Ramachandran B, Subramanian S (2004) Effect of *Eugenia jambolana* seed kernel on antioxidant defense system in streptozotocin-induced diabetes in rats. Life Sci 75(22): 2717-2731.
- Reeves PG (1997) Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. J Nutr 127(5): 838-841.
- Roh SS, Kwon OJ, Yang JH, Kim YS, Lee SH, Jin JS, Jeon YD, Yokozawa T, Kim HJ (2016) *Allium hookeri* root protects oxidative stress-induced inflammatory responses and β -cell damage in pancreas of streptozotocin-induced diabetic rats. BMC Complement Altern Med 16: 63.
- Sanders RA, Rauscher FM, Watkins JB III (2001) Effects of quercetin on antioxidant defense in streptozotocin-induced diabetic rats. J Biochem Mol Toxicol 15(3): 143-149.
- Sano T, Umeda F, Hashimoto T, Nawata H, Utsumi H (1998) Oxidative stress measurement by *in vivo* electron spin resonance spectroscopy in rats with streptozotocin-induced diabetes. Diabetologia 41(11): 1355-1360.
- Soon YY, Tan BK (2002) Evaluation of the hypoglycaemic anti-oxidant activities of *Morinda officinalis* in streptozotocin-induced diabetic rats. Singapore Med J 43(2): 77-85.
- Srinivasan M, Padmanabhan M, Prince PS (2005) Effect of aqueous *Encostemma littorale* blume extract on key carbohydrate metabolic enzymes, lipid peroxides and antioxidants in alloxan-induced diabetic rats. J Pharm Pharmacol 57(4): 497-503.
- Stanely Mainzen Prince P, Kumar MR, Selvakumari CJ (2011) Effects of gallic acid on brain lipid peroxide and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic Wistar rat. J Biochem Mol Toxicol 25(2): 101-107.
- Tanaka Y, Tran PO, Harmon J, Robertson RP (2002) A role for glutathione peroxidase in protecting pancreatic beta cells against oxidative stress in a model of glucose toxicity. Proc Natl Acad Sci USA 99(19): 12363-12368.
- VanGilder RL, Kelly KA, Chua MD, Ptachcinski RL, Huber JD (2009) Administration of sesamol improved blood-brain barrier function in streptozotocin-induced diabetic rats. Exp Brain Res 197(1): 23-34.
- Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL (2004) Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. Endocr Rev 25(4): 612-628.
- West IC (2000) Radicals and oxidative stress in diabetes. Diabet Med 17(3): 171-180.
- Wohaieb SA, Godin DV (1987) Alterations in free radical tissue-defense mechanisms in streptozotocin-induced diabetes in rat: Effects of insulin treatment. Diabetes 36(9): 1014-1018.
- Yen HW, Lee HC, Chuang HY, Lai WT, Sheu SH (2006) Acute effect of ionic high osmolar contrast medium on renal antioxidant enzyme activity in streptozotocin-induced diabetic rats. Clin Exp Med 6(2): 94-98.
- Zhang L, Kong XJ, Wang ZQ, Xu FS, Zhu YT (2016) A study on neuroprotective effects of curcumin on the diabetic rat brain. J Nutr Health Aging 20(8): 835-840.