

Streptozotocin-유발 당뇨쥐에서 부추식이의 산화적 스트레스 및 Lipofuscin 생성 억제 효과

이점옥 · 류승희 · 이유순* · 김정인 · 문갑순†

인제대학교 바이오헬스 소재 연구센터, 식품과학연구소 및 식품생명과학부

*경북과학대학 향장공업과

Protective Effect of Dietary *Buchu* (*Allium tuberosum* Rottler) on Oxidative Stress and Lipofuscin Formation in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Jum-Ok Lee, Seung-Hee Ryu, Yu-Soon Lee*, Jung-In Kim and Gap-Soon Moon†

Biohealth Products Research Center, Food Science Institute, and School of Food and Life Science, Inje University, Kimhae 621-749, Korea

*Dept. of Cosmetic Engineering, Kyongbuk College of Science, Chilgok 718-850, Korea

Abstract

Diabetes mellitus has been known to be a state of increased oxidative stress. Free radical formation and lipid peroxidation are accelerated in this metabolic disorder. *Buchu* (*Allium tuberosum* Rottler) contains lots of antioxidative nutrients such as chlorophyll, vitamin C, β -carotene, phenolic compounds and sulfur compounds. To investigate the protective effects of *buchu*, 10% lyophilized *buchu* diet was fed to streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats for 14 weeks and lipid peroxidation, protein oxidation, contents of reactive oxygen species, activities of antioxidative enzymes and contents of accumulated lipofuscin were measured as indicators of oxidative stress. Hepatic MDA and carbonyl contents tended to decrease in 10% *buchu* diet group compared with control group. Dietary *buchu* significantly suppressed lipid and protein oxidation in the skin of rats ($p < 0.05$). Contents of hepatic hydroxyl radicals, which exert the highest toxicity among the reactive oxygen species, were significantly decreased in rats fed 10% *buchu* diet ($p < 0.05$). Activities of antioxidative enzyme, such as superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase, tended to increase in liver and skin of rats fed 10% *buchu* diet, while hepatic catalase activity was significantly increased in *buchu* group compared with control group. *Buchu* supplementation significantly inhibited the accumulation of lipofuscin, an end-product of lipid peroxidation reactions induced by reactive oxygen radicals, in eye tissues compared with control diet ($p < 0.001$). In conclusion, *buchu* supplementation diminished the oxidative stress, so dietary *buchu* could help to attenuate diabetes complications.

Key words: *buchu*, diabetes mellitus, oxidative stress, lipofuscin, streptozotocin

서 론

당뇨병은 췌장 세포에서 분비되는 인슐린의 분비 장애 및 작용 부족에 의해 유발된 대사장애로 정의되며 포도당의 과잉생산, 체지방의 분해, 그리고 단백질의 낭비를 수반하고 글루카곤의 분비를 비정상적으로 항진시켜 대사상의 혼란을 야기시킨다(1). 우리나라에서도 당뇨병의 유병율이 지속적으로 증가하고 있어 국가적으로 심각한 건강장애 질환으로 간주되고 있다(2). 당뇨병은 여러 생리적 대사조절 기능의 이상으로 고혈당과 요당 등의 특징적인 증세를 나타내며 만성적인 당뇨증세가 일정기간 지속되면 고혈압, 동맥경화증, 당뇨병성 망막증, 신증, 말초 신경증, 고지혈증 등의 합병증을 발생시킨다(3). 특히 당뇨병과 같은 병리적 상태에서는 유리기 생

성계의 하나인 mixed function oxidase가 활성화되어 superoxide anion(O_2^-)과 hydrogen peroxide(H_2O_2) 등의 라디칼이 발생되어 지질과산화가 증가하며, 산화적 스트레스는 여러 가지 당뇨 합병증의 주요 요인이 된다(4). 또한 이러한 산화적 스트레스는 직·간접으로 조직세포에 손상을 입혀 세포의 기능을 저하시킬 뿐만 아니라 암, 노화 및 각종 퇴행성 질환을 유발시키기도 한다(5).

부추(*Allium tuberosum* Rottler)는 한국을 비롯한 동북아시아 지역에 분포하고 있는 백합과의 다년초로 독특한 맛과 향기가 있어 일상 식생활에서도 널리 이용될 뿐만 아니라 한방에서 보혈, 청혈, 구충, 이뇨, 권위, 권뇌, 강심, 진통, 해독 등의 약재로 이용되어 왔고(6), 중풍, 출혈, 치질, 당뇨, 치루, 타박상의 치료에도 이용되었다(7,8). 부추는 우리나라 사람

†Corresponding author. E-mail: fdsnmoon@inje.ac.kr
Phone: 82-55-320-3234, Fax: 82-55-321-0691

들이 즐겨 섭취하는 채소류이나 부추의 생리활성 관련 논문으로는 quinone reductase 유도활성을 이용한 항암연구(9-11)와 항균효과(12,13)에 관한 연구가 몇 편 보고되어 있을 뿐이다. 저자 등이 최근 부추의 항산화효과 및 항산화 원인 성분(14)에 관한 연구 결과를 발표한 바 있는데 특히 장기간(12개월)의 부추식이 ICR 마우스의 간과 피부조직에서 지질과산화 및 단백질 산화를 유의적으로 억제시켰으며(15,16), 활성산소종의 생성 또한 유의적으로 감소시키는 것으로 나타났다(17).

따라서 본 연구에서는 강력한 항산화효과를 가진 부추가 streptozotocin(이하 STZ)으로 당뇨를 유발시킨 Sprague-Dawley계 쥐의 당뇨 합병증 증세 완화효과를 나타내는지 보기 위하여 10% 부추식을 14주간 섭취시켜 간과 피부조직에서 지질 및 단백질 산화와 활성산소종의 생성 및 항산화 효소계의 활성변화를 조사하였다. 또한 노화색소인 lipofuscin이 축적되기 쉬운 심장과 눈 조직에서 부추의 항노화 효과를 측정하였다.

재료 및 방법

실험동물의 사육 및 당뇨유발

Sprague-Dawley계 수컷 쥐(체중 320 ± 10 g) 25마리를 구입하여 2주간 고탄사료(Purina chow)를 제공하여 적응시킨 후 기본 식이로 1주간 예비 사육하였다. 예비사육 후 STZ를 0.1 M citrate buffer(pH 4.5)에 용해시켜 kg 체중당 50 mg의 STZ를 복강 주사하여 당뇨를 유발시켰다. STZ 투여 일주일 후, 공복상태인 쥐의 꼬리정맥에서 채혈하여 혈당을 측정(Accutrend alpha, D-68298 Mannheim, Germany)하였으며 혈당 수준이 200 mg/dL 이상인 쥐 22마리를 당뇨가 유발된 것으로 분류하였고 이때의 당뇨유발율은 88%였다. 당뇨유발 후 체중에 따라 난피법으로 각각 10마리씩 당뇨군과 당뇨부추군으로 나누어 대조군 식이와 10% 부추식을 공급하여 14주간 사육하였다. 물과 식이는 자유로이 섭취하도록 하였고 사육실의 온도는 20~25°C로 유지하였으며, 12시간 간격으로 점등 및 소등하였다. 식이 섭취량은 격일로 측정하였고 체중은 일주일마다 측정하였다.

식이조성

본 실험에서는 김해 대동면에서 생산된 부추(그린벨트종, 대동농협)를 구입하여 동결 건조한 후 가루로 만들어 식이에 첨가하였으며 부추 속의 당질, 지질, 단백질, 무기질, 섬유질 등의 성분을 고려하여 식이(semi-purified diet)를 조성하였다. 두 그룹의 미량성분을 동일하게 공급하기 위해 10% 부추 식이에 calcium phosphate 3.297 g/kg, sodium chloride 0.659 g/kg, zinc carbonate 0.004 g/kg를 첨가하였다. 10% 부추식을 급여한 동물의 식이 조성은 Table 1과 같고 냉장 보관하면서 실험동물에게 14주간 공급하였다.

Table 1. Composition of experimental diets (%)

Ingredients	Control diet	Buchu diet
Freeze-dried <i>buchu</i>	-	10.00
Casein ¹⁾	20.00	19.50
Corn starch ²⁾	50.00	50.00
Sucrose ³⁾	11.20	7.07
Corn oil ⁴⁾	10.00	9.70
AIN-76 mineral mixture ⁵⁾	3.50	2.43
AIN-76 vitamin mixture ⁵⁾	1.00	1.00
D,L-methionine ³⁾	0.30	0.30
Cholesterol ⁶⁾	0.50	0.50
Cellulose ⁷⁾	3.30	-
Choline bitartrate ⁷⁾	0.20	0.20
Calcium phosphate	-	0.3297
Sodium chloride	-	0.0659
Zinc carbonate	-	0.0004

Ingredients were prepared from following ¹⁾Murry goulburn Co., Australia, ²⁾Daesang Co., Korea, ³⁾Samyang Co., Korea, ⁴⁾CJ Co., Korea, ⁵⁾ICN Biochemical, USA, ⁶⁾Daehung, Co., Korea, ⁷⁾Sigma Co., USA.

시료의 처리

실험동물은 드라이아이스로 마취시켜 간, 안구, 심장 및 피부부를 적출하여 0.9% 생리식염수로 세척한 뒤 여과지로 물기를 제거하고 -70°C에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

간과 피부조직의 산화 측정

간과 피부조직의 지질과산화물 함량은 Ohkawa 등(18)의 방법을 이용하여 thiobarbituric acid(TBA)와 반응하는 malondialdehyde(MDA)의 함량으로 측정하였다. 이때 표준용액으로는 1,1,3,3-tetramethoxypropane(TMP)을 사용하였으며 측정된 값을 표준곡선에 대입시켜 MDA의 양으로 환산하였다.

간과 피부조직에서 단백질 carbonyl 함량은 2,4-dinitrophenyl hydrazine(2,4-DNPH)을 이용한 Oliver 등(19)의 방법에 준하여 측정하였다. 침전된 단백질에 2,4-DNPH 시약을 가해 반응시킨 후 에타놀과 에틸아세테이트의 혼합액으로 세척하고 6 M guanidine-HCl용액을 가해 용해시켜 370 nm에서 흡광도의 차를 측정하고 흡광계수($22 \times 10^{-5} \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)를 이용하여 환산하였다.

간과 피부조직에서 항산화 효소계의 활성 측정

Superoxide dismutase(SOD)활성은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund와 Marklund(20)의 방법을 이용하여 420 nm에서 측정하였다. SOD 1 unit는 1분 동안 pyrogallol의 자동산화를 50%까지 억제하는데 요구되는 효소의 양으로 정의하였다. Catalase 활성 측정은 Aebi(21)의 방법에 의해 50 mM Na-K 인산완충액(pH 7.0), 기질로 30 mM H₂O₂ 용액과 시료액을 취해 240 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였고 효소의 활성은 1분동안 1 μmol의 H₂O₂를 분해시키는 효소의 양을 1 unit로 하였다. Glutathione peroxidase(GSH-px)활성은 Lawrence와 Burk(22)의 방법에 의해 측정하였다. 즉 효소 활성은 GSH-px가 H₂O₂를

제거하면서 소비된 GSH를 환원형으로 전환시키는데 필요한 NADPH의 양을 340 nm에서 측정하였고 GSH-px 1 unit는 1분간 1 μ mol NADPH를 산화시키는 효소의 양으로 정의하였다. 효소활성 측정에 필요한 단백질 함량은 Peterson(23)의 방법에 의해 bovine serum albumin을 표준단백질로 사용하여 측정하였다.

활성산소종의 함량 측정

활성산소종의 함량을 측정하기 위해 간 subcellular fraction을 분리하여 세포질 획분에서 superoxide anion을, 미토콘드리아 획분에서 hydroxyl radical을 Choi 등(24)의 방법을 변형하여 측정하였으며 실험방법은 전보(17)에서 보고한 바와 같다.

Lipofuscin 함량 측정

Fletcher 등(25)의 방법을 이용하여 심장과 눈에서 lipofuscin 함량을 측정하였다. 즉 클로로포름:메탄올(2:1, v/v)을 첨가하여 균질화한 뒤 증류수를 가해 혼합하고 3,000 rpm에서 2분간 원심 분리시켰다. 클로로포름층을 취해 메탄올과 혼합한 뒤 excitation 365 nm, emission 450 nm에서 형광스펙트럼을 측정하였고 당뇨군의 형광도와 비교하여 상대적인 형광도로 나타내었다.

통계처리

실험결과는 평균 \pm 표준편차로 표시하였고, SPSS program을 이용하여 t-test로 유의차를 검정하였다.

결과 및 고찰

식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율

14주간 대조군 식이 및 10% 부추식이를 섭취시킨 당뇨쥐의 식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율을 Table 2에 나타내었다. 1일 평균 섭취량은 당뇨군과 부추식이군간의 유의차는 나타나지 않았다. 대조군과 부추식이군 모두 체중감소가 나타났으며 식이효율도 유사하게 나타났다.

본 실험에서 당뇨를 유발하기 위해 사용한 STZ는 췌장의 β -cell에 necrosis(26)와 apoptosis(27)를 유발하여 파괴시키고(28), 이것이 인슐린 생성부족을 야기시켜 당대사의 불균형에 의한 체중감소를 일으키는 것으로 알려져 있다(2). 여러

Table 2. Food intake, body weight gain and food efficiency ratio in streptozotocin-induced diabetic rats fed 10% *buchu* diet

	Food intake ¹⁾ (g/day)	Body weight gain (g/day)	Food efficiency ratio ²⁾ (%)
Basal group	24.1 \pm 2.9 ³⁾	-0.373 \pm 0.499	-1.51 \pm 1.95
<i>Buchu</i> group	22.8 \pm 3.8	-0.398 \pm 0.423	-1.83 \pm 2.07

¹⁾Food intake = total food intake g/day.

²⁾Food efficiency ratio (%)=(weight gain g/food intake g) \times 100.

³⁾Values are mean \pm SD (n=8).

실험에서 STZ으로 당뇨를 유발시켰을 때 당뇨쥐의 성장이 급격히 감소하고 체중 감소가 일어났으며(2,29) 본 실험에서 당뇨유발 후 체중 및 성장이 감소한 것과 일치하였다. Jung 등(29)은 STZ-유도 당뇨쥐에게 10% 부추식이를 4주간 섭취시켰을 때 당뇨쥐에 비해 부추섭취군의 경우 체중감소가 유의적으로 낮았고, 식이효율은 다소 증가하였다고 보고하였으나 본 실험에서는 두 군간의 차이가 없었다.

지질과산화 억제효과

당뇨쥐의 간과 피부조직에서 지질과산화 함량 측정 결과는 Fig. 1과 같다. 간에서 당뇨군의 MDA함량은 0.76 \pm 0.12 nmole MDA/mg protein이었고, 10% 부추 섭취군에서는 0.70 \pm 0.11 nmole MDA/mg protein으로 유의적인 차이가 나타나지 않았으나 피부조직의 경우 당뇨군이 3.87 \pm 1.78 nmole MDA/mg protein인 반면 부추 섭취군에서 2.26 \pm 1.19 nmole MDA/mg protein으로서 41.7%나 유의적으로 감소하였다 (p<0.05).

당뇨성 합병증의 발생은 당뇨 상태에서 증가되어진 산화적 스트레스와 밀접한 관련이 있으며(30), 최근 연구에서는 혈장과 조직내의 산화적 스트레스 증가에 의한 지질과산화의 증가로 당뇨병 환자에서 가장 흔한 심혈관질환 합병증이 유발된다고 보고된 바 있다(31-33). 특히 관상동맥성 심장질환, 동맥경화증 등의 혈관성 질환의 발병율은 비 당뇨인의 2~6배나 높은 것으로 알려져 있다(34). 당뇨병 동안 지속적인 고혈당은 자동산화(35)와 비효소적 단백질의 당화(36)를 통해 산소유리기의 생성을 증가시키고 산소유리기가 막인 지질의 지질과산화를 초래하여 지질산화 생성물인 MDA를 증가시키게 된다. 뿐만 아니라 당뇨를 유발하기 위해 사용된 약제인 STZ도 H₂O₂ 발생을 자극하여 superoxide anion과 hydroxyl radical 등의 유리기 생성을 증가시키는 것으로 보고되어 있다(37). 따라서 당뇨쥐에서 지질과산화를 억제시

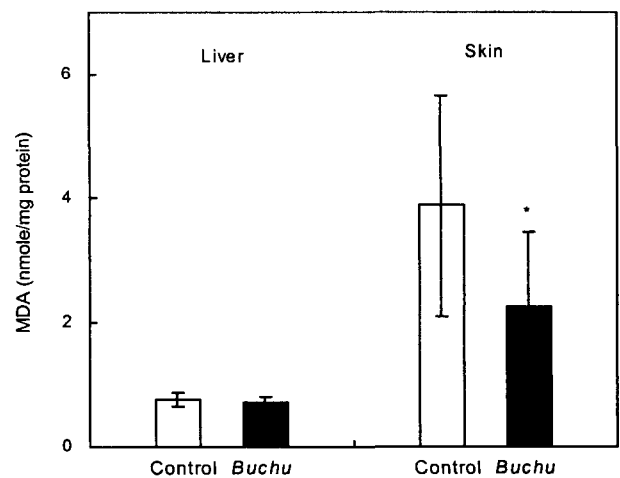


Fig. 1. MDA contents of liver and skin in diabetic rats fed control and 10% *buchu* diets for 14 weeks.

Values are mean \pm SD (n=8).

*Values are significantly different at p<0.05.

키는 것은 당뇨 합병증 유발을 지연시킬 수 있는 좋은 방안이 될 수 있는 것으로 기대된다.

Moon 등(14)이 수확시기별 부추의 항산화 관련 성분들을 분석한 결과 건조된 부추의 carotenoids 함량은 24.76~30.48 mg%, 비타민 C 함량은 249.36~325.41 mg%, 클로로필 함량이 532.11~581.47 mg%이었고, 총 페놀 함량도 132~184 mg%로 부추에는 많은 항산화 관련 물질들이 존재하고 있었다. 따라서 이러한 항산화 성분들이 당뇨쥐의 산화적 스트레스를 방어하는데 크게 기여한 것으로 보인다. 본 연구에서 부추식은 당뇨쥐의 간보다는 피부에서 지질과산화를 유의적으로 억제하였고, Lee 등(15,16)의 연구에서도 장기간의 부추 섭취는 ICR mouse의 간보다는 피부조직에서 지질과산화를 유의적으로 억제하였다. 즉 부추의 섭취는 당뇨로 유발된 산화적 스트레스 조건하에서 피부의 지질과산화를 효과적으로 억제하였고 만성적인 당뇨 상태에서 일어나기 쉬운 피부 질환을 예방하거나 지연시킬 수 있을 것으로 기대되어진다.

단백질 산화 억제효과

당뇨쥐의 간과 피부조직에서 단백질의 산화를 나타내는 carbonyl 함량을 Fig. 2에 나타내었다. 간에서 carbonyl 함량은 6.27 ± 1.50 nmole/mg protein이었고, 10% 부추 섭취군에서는 5.50 ± 0.55 nmole/mg protein으로 12.3% 감소하였으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 이에 반해 피부조직에서는 당뇨군이 7.36 ± 1.77 nmole/mg protein인 반면 부추 섭취군은 5.46 ± 1.23 nmole/mg protein으로 25.9% 감소하였으며 부추급여에 의해 단백질 산화가 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$).

부추의 섭취는 당뇨쥐의 간과 피부조직에서 단백질의 산화를 억제하였으며 특히 피부조직에서 현저한 효과를 나타내었다. 당뇨병의 피부 증상은 주로 피부 감염, 세소 혈관증, 대사 장애, 신경병증 및 치료 약제에 의한 피부 반응 등으로

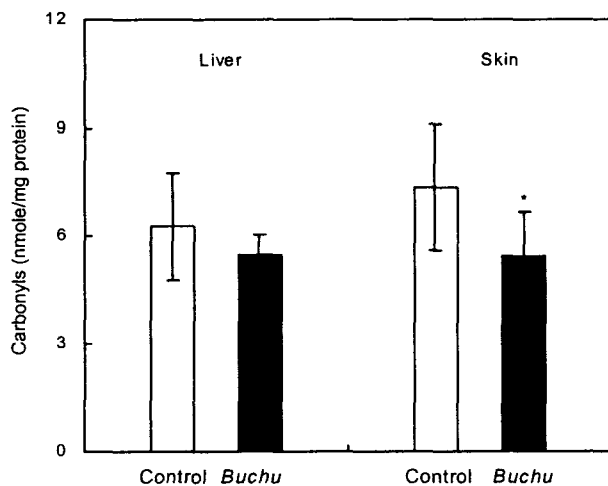


Fig. 2. Protein carbonyl values of liver and skin in diabetic rats fed control and 10% *buchu* diets for 14 weeks.

Values are mean \pm SD (n=8).

*Values are significantly different at $p < 0.05$.

인해 유발되며 당뇨병환자의 피부 병변 출현 빈도는 외국의 경우 30% 정도로 보고되고 있으나(38), 우리나라에서는 그보다 훨씬 높은 43.3~51.5%로 보고되어 있다(39). 피부 감염은 대사조절의 이상과 증가되어진 glycosylated hemoglobin (HbA_{1c})에 의해 유발되거나(40), 당뇨병에서 일어날 수 있는 다양한 결체조직 이상과도 관련되어진다(41). 즉 당뇨병환자의 경우 콜라겐의 생합성은 감소되고 새로이 합성되어진 콜라겐의 분해는 가속되어짐에 따라 피부 콜라겐 함량이 감소되고, 이러한 콜라겐의 양적·질적 이상은 피부의 상처회복능력 손상과 관련되어 있다(42). 합성 항생제가 이용되기 전에는 *allium* 식물은 발진티푸스, 이질, 결핵과 같은 전염병의 치료에 널리 쓰였고, 특히 diallyl trisulfide는 중국에서 바이러스 감염과 수막염을 치료하는데 이용되었고, diallyl disulfide는 nitrosamines을 불활성화하여 종양의 증진을 억제한다고 알려져 있다(43). 부추의 휘발성 향기성분 대부분은 황화합물(43)이며, 이들 성분이 부추에 풍부한 항산화 성분들과 함께 단백질 산화를 억제하고 궁극적으로는 피부조직 산화를 예방하였을 것으로 여겨진다.

Superoxide anion과 hydroxyl radical 함량

활성산소종의 함량을 측정된 결과(Fig. 3) 당뇨군의 superoxide anion의 함량은 13.97 ± 5.22 nmole/mg protein이었고 부추섭취군은 14.02 ± 3.07 nmole/mg protein으로 두 군에서 유사한 값을 나타내었다. 그러나 hydroxyl radical의 경우 당뇨군은 8.89 ± 2.94 nmole/mg protein이 반면 부추 섭취군은 5.84 ± 1.96 nmole/mg protein으로 유의적으로 부추섭취에 의해 감소되는 것으로 나타났다($p < 0.05$).

본 연구에서 당뇨유발된 쥐에서 부추의 섭취는 hydroxyl radical의 생성을 유의적으로 억제하였고 이는 부추 속의 풍부한 항산화물질이 효과적으로 활성산소종의 소거에 관여하

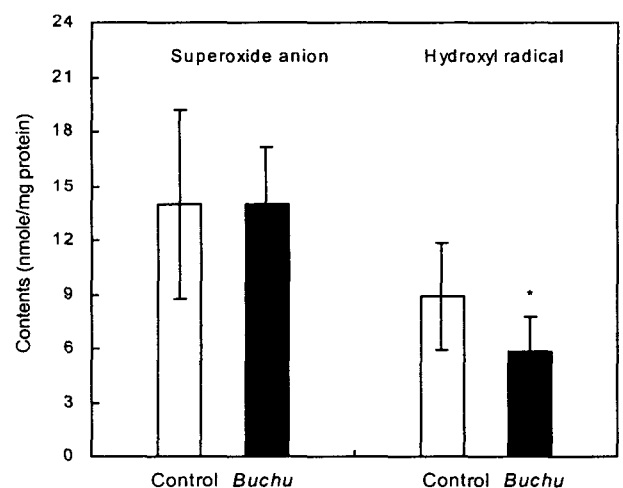


Fig. 3. Superoxide anion and hydroxyl radical contents of liver in diabetic rats fed control and 10% *buchu* diets for 14 weeks.

Values are mean \pm SD (n=8).

*Values are significantly different at $p < 0.05$.

는 것으로 보여진다. 부추가 카드몐 투여로 인한 간과 신장의 피사와 종창을 억제시켜 독성을 방어하였다(44)는 연구와 장기간 부추를 섭취시켰을 때 정상 ICR 마우스의 간과 피부조직에서 활성산소종의 생성이 유의하게 억제된 것(17), 당뇨 유발시 증가되는 GOT, GPT 활성을 부추가 정상 수준으로 회복시킨 것(29) 등의 연구결과로 미루어 부추에 존재하는 항산화 활성물질들, 특히 글루타치온과 같은 물질들이 간의 독성물질 대사를 원활히 하도록 도와주고 활성산소종을 빠르게 소거할 수 있도록 작용한 것으로 보여진다.

항산화 효소계의 활성 변화

당뇨쥐의 항산화 효소계 활성 변화는 Fig. 4에서 나타내었다. SOD의 경우 간에서는 당뇨군이 9.57 ± 1.21 unit/mg protein였고, 부추섭취군은 10.02 ± 0.96 unit/mg protein의 활성을 나타내었다. 피부에서는 당뇨군이 12.65 ± 7.32 unit/mg protein의 활성을, 부추섭취군은 17.48 ± 4.02 unit/mg protein의 활성을 나타내었고, 개체차가 커서 유의적이지는 않았지만 부추의 섭취에 의해 SOD 활성이 약간 증가하는 것으로 나타났다. Catalase 활성의 경우 간에서 당뇨군이 2.00 ± 0.80 , 부추섭취군이 3.27 ± 1.14 unit/mg protein으로 부추의 섭취에 의해 유의적으로 활성이 증가하였고($p < 0.05$), 피부에서는 각각 5.76 ± 3.16 , 7.35 ± 4.31 unit/mg protein으로 부추섭취군에서 활성이 약간 높은 것으로 나타났다. 간의 GSH-px 활성의 경우 당뇨군이 14.54 ± 2.94 unit/mg protein, 부추섭취군이 15.77 ± 2.05 unit/mg protein으로 측정되었고, 피부에서는 당뇨군이 8.83 ± 2.41 , 부추섭취군이 10.18 ± 3.11 unit/mg protein으로 15.3% 증가하는 것으로 나타났다.

당뇨 합병증의 발병은 항산화 방어계의 저하로 인해 일어나는 것으로 알려져 있으나 실제로는 당뇨병 유발시 조직의 항산화 효소 활성변화에 대한 일관성은 결여되어 있는 실정이다. Saleh과 David(45)는 STZ 유도 당뇨병쥐의 간과 신장에서 항산화 효소계인 SOD와 catalase의 활성 감소를 보고하

였고, Kesavulu 등(46)도 유사한 결과를 보고하였다. 그러나 Kakkar 등(47)의 보고에서는 당뇨병에서 catalase와 SOD 활성이 정상군에 비해 높은 것으로 나타났다. 또한 STZ-유도 당뇨병쥐에서 항산화 효소계의 경시적 변화를 조사한 Lee 등(33)의 연구에서도 유의적인 차이는 없었으나 당뇨병쥐의 효소활성이 정상쥐에 비해 높게 유지되는 것으로 나타났다. Jung 등(29)은 STZ-당뇨발발시 간의 Mn-SOD 활성은 증가한 반면 GSH peoxidase와 GSH reductase의 활성이 급격하게 감소하였고 부추의 섭취는 감소되어진 항산화 효소 활성을 다소 증가시킨다고 보고하였고 Kwak 등(48)도 김해산 부추의 SOD 유사활성을 보고한 바 있다. 이상의 결과로 미루어 당뇨상태에서는 유리기 생성이 증가되어 항산화 효소계의 활성이 증가하면서 방어하기 위한 시도를 하나 심한 산화적 스트레스가 유지됨에 따라 조직의 산화가 가속화 되는 것으로 여겨지며 부추의 섭취는 조직의 산화를 억제하는데 효과가 있는 것으로 나타났다.

Lipofuscin 생성 억제효과

당뇨군과 부추섭취군의 심장과 눈에서 노화 색소인 lipofuscin 측정 결과는 Fig. 5에 나타내었다. 심장에서 당뇨군에 비해 부추섭취군의 상대적인 함량은 $95.31 \pm 12.82\%$ 로 감소하였으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 그러나 안구에서 lipofuscin의 측정은 부추섭취시 유의적으로 감소하여 당뇨군에 비해 상대적인 함량이 $95.58 \pm 2.21\%$ 였다($p < 0.001$).

피부와 함께 눈은 다른 기관들과 마찬가지로 당뇨병에 의한 대사적 장애에 의해 손상받기 쉽다. 당뇨병에서 증가되어진 비효소적 glycation, 단백질과 지질의 산화, 그리고 환원형 글루타치온의 감소는 유해물질에 대한 피부의 저항성을 감소시키고 수정체의 혼탁과 백내장을 유발한다(49). 부추는 마늘과 같이 *allium* 속에 속하는 다년생 식물로 마늘이나 양파에 비해 단백질, 섬유질, 칼슘과 비타민 C의 함량이 높고 함유황아미노산의 함량이 8.8%에 이른다(44). 동결건조

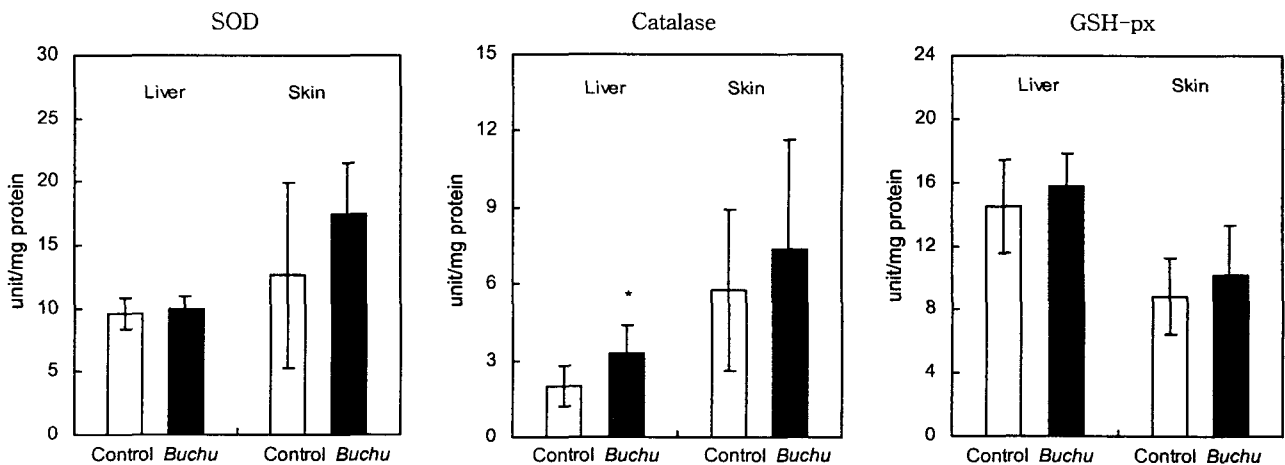


Fig. 4. Hepatic SOD, catalase, GSH-px activities of diabetic rats fed control or 10% buchus diet for 14 weeks.

Values are mean \pm SD (n=8).

*Values are significantly different at $p < 0.05$.

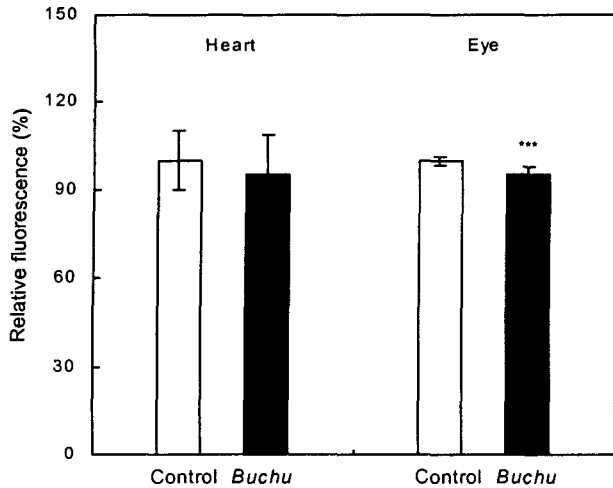


Fig. 5. Relative fluorescence of lipofuscin of heart and eye in diabetic rats fed control or 10% buchu diet for 14 weeks. Values are mean \pm SD (n=8).

***Values are significantly different at $p < 0.001$.

부추는 39.4 mg%의 글루타치온을 함유(29)하고 있을 뿐 아니라, 아미노산 중 타우린의 함량도 높은 것으로 보고되어 있다(50). 타우린(β -amino ethane sulfonate)는 대부분 동물류에 풍부한 아미노산으로 합황 아미노산의 최종산물이며, 당뇨에서 빈번하게 일어나는 합병증을 예방하며 당뇨병을 완화시키는 효과가 있다(51,52)고 보고되어 있다. 이처럼 부추의 성분들은 STZ로 유발시킨 당뇨쥐에서 지질 및 단백질 산화를 지연시키고 눈의 lipofuscin 생성을 억제하여 당뇨 합병증을 일으키는 주요 원인인 산화적 스트레스를 억제하는 효과를 나타내었으므로 당뇨병의 증상완화에 기여할 것으로 기대되어진다.

요 약

산화적 스트레스를 많이 받는 당뇨상태에서 항산화활성이 높은 부추의 섭취가 지질 및 단백질 산화, 활성산소종의 생성, 항산화 효소계 활성 변화 및 lipofuscin 생성에 미치는 영향을 조사하고자 S.D.계 쥐에게 streptozotocin을 복강투여하여 당뇨병을 유발시킨 후 대조군 식이와 10% 부추식을 14주간 섭취시켰다. 부추의 섭취는 대조군 식이에 비해 간보다는 피부조직에서 지질 및 단백질 산화를 유의적으로 감소시켰고($p < 0.05$), 반응성이 큰 활성산소종인 hydroxyl radical의 생성도 당뇨군에 비해 유의적으로 감소된 것으로 나타났다($p < 0.05$). 부추의 섭취는 간과 피부조직의 항산화 효소계 활성을 증가시키는 것으로 나타났으며 심장과 눈 조직에서 노화색소인 lipofuscin을 측정된 결과 당뇨군에 비해 당뇨부추군에서 감소하였고 특히 눈에서 유의적으로 감소하였다($p < 0.001$). 이상의 결과로 부추의 섭취는 당뇨 합병증을 일으키는 주요 원인인 산화적 스트레스를 억제하는 효과를 나타내었고, 당뇨 합병증의 증상완화에 도움을 줄 것으로 기대되어진다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부·한국과학재단 지정 지역협력연구센터인 인제대학교 바이오헬스 소재 연구센터(Biohealth Products Research Center) 및 농림부의 연구비 지원으로 수행되었고 이에 감사드립니다.

문 헌

- Abrams JJ, Ginsberg H, Grundy SM. 1982. Metabolism of cholesterol and plasma triglycerides in non ketoic diabetes mellitus. *Diabetes* 31: 903-910.
- Park SH, Lee YK, Lee HS. 1994. The effect of dietary fiber feeding on gastrointestinal functions and lipid and glucose metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Nutr* 27: 311-322.
- Tai ES, Lim SC, Tan BY, Chew SK, Heng D, Tan CE. 2000. Screening for diabetes mellitus—a two-step approach in individuals with impaired fasting glucose improves detection of those at risk of complications. *Diabet Med* 17: 771-775.
- Lalla E, Lamster IB, Drury S, Fu C, Schmidt AM. 2000. Hyperglycemia, glycoxidation and receptor for advanced glycation endproducts: potential mechanisms underlying diabetic complications, including diabetes-associated periodontitis. *Periodontol* 23: 50-62.
- Aust SD, Chignell CF, Bray TM, Kalyanaraman B, Mason RP. 1993. Free radicals in toxicology. *Toxicology and Applied Pharmacology* 120: 168-178.
- Yoo SO, Bae JH. 1993. Investigation of Korean native Chinese chives on flower bud differentiation. *J Kor Soc Hort Sci* 34: 395-401.
- Kim SJ, Park KH. 1995. Retardation of kimchi fermentation by the extracts of *Allium tuberosum* and growth inhibition of related microorganism. *Korean J Food Sci Technol* 27: 813-818.
- Shanghai Science and Technological publisher. 1985. *The dictionary of Chinese drugs*. Shougakukan, Tokyo. Vol 1, p 449.
- Kwak YJ, Jun HJ, Lee MJ, Kwon TW, Kim JS. 1998. Modulation of anticarcinogenic enzyme and plasma testosterone level in male mouse fed leek-supplemented diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 968-972.
- Hwang CW, Shin HK, Do MS, Kim YJ, Park JH, Choi YS, Joo WH. 2001. The various biofunctional effects (anticarcinogenic, antioxidative and lypolytic activity) of Pohang buchu. *Korean J Food Sci Technol* 33: 279-281.
- Park YJ, Kim MH, Bae SJ. 2002. Anticarcinogenic effects of *Allium tuberosum* on human cancer cells. *Korean J Food Sci Technol* 34: 688-693.
- Hong JH, Lee MH, Kang MC, Hur SH. 2000. Separation and identification of antimicrobial compounds from Korean leek (*Allium tuberosum*). *J Food Hyg Safety* 15: 235-240.
- Lee MK, Lee HA, Park IS. 2001. Growth retardation of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* by leek extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 196-198.
- Moon GS, Ryu BM, Lee MJ. 2003. Components and anti-oxidative activities of buchu (Chinese chives) harvested at different times. *Korean J Food Sci Technol* 35: 493-498.
- Lee MJ, Ryu BM, Lee YS, Moon GS. 2002. Effect of long term buchu (Chinese chives) diet on antioxidative system of ICR mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 834-839.
- Lee MJ, Ryu BM, Kim MH, Lee YS, Moon GS. 2002. Pro-

- tective effect of dietary *buchu* (chinese chives) against oxidative damage from aging and ultraviolet irradiation in ICR mice skin. *Nutraceuticals & Food* 7: 238-244.
17. Moon GS, Lee MJ. 2003. The long term effect of *buchu* (Chinese chives) diet on ROS formation in the liver and skin tissue of ICR mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 444-449.
 18. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351-358.
 19. Oliver CN, Ahn B, Moerman EJ, Goldstein S, Stadtman ER. 1987. Age-related changes in oxidized proteins. *J Biol Chem* 262: 5483-5492.
 20. Marklund 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: 469-474.
 21. Aebi H. 1984. Catalase in vitro. *Methods in Enzymol* 105: 121-126.
 22. Lawrence RA, Burk F. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 71: 952-958.
 23. Peterson GL. 1977. A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Analy Biochem* 83: 346-356.
 24. Choi JH, Kim DI, Park SH, Kim DW, Lee JS, Kim HS. 1999. Investigation of anti-aging effect and determination of chemical structures of pine needle extract (PNE) through the animal experiments. 1. Effects of PNE on oxygen radicals and their scavenger enzymes in liver of SD rats. *Korean J Life Science* 9: 466-472.
 25. Fletcher BL, Dillard CJ, Tappel AL. 1973. Measurement of fluorescent lipid peroxidation products in biological systems and tissues. *Analytical Biochemistry* 52: 1-9.
 26. Turk J, Corbett JA, Ramanadham S, Bohrer A, McDaniel ML. 1993. Biochemical evidence for nitric oxide formation from streptozotocin in isolated pancreatic islets. *Biochem Biophys Res Commun* 197: 1458-1464.
 27. Liu K, Paterson AJ, Chin E, Kudlow JE. 2000. Glucose stimulates protein modification by O-linked GlcNAc in pancreatic beta cells: linkage of O-linked GlcNAc to beta cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 2820-2825.
 28. Roos MD, Xie W, Su K, Clark JA, Yang X, Chin E, Paterson AJ, Kudlow JE. 1998. Streptozotocin, an analog of N-acetylglucosamine, blocks the removal of O-GlcNAc from intracellular proteins. *Proc Assoc Am Phys* 110: 422-432.
 29. 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.
 30. Baynes JW. 1991. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 40: 405-412.
 31. Obrosova IG, Fathallah L, Greene DA. 2000. Early changes in lipid peroxidation and antioxidative defense in diabetic rat retina: effect of DL-alpha-lipoic acid. *Eur J Pharmacol* 398: 139-146.
 32. Maytin M, Leopold J, Loscalzo J. 1999. Oxidant stress in the vasculature. *Curr Atheroscler Rep* 1: 156-164.
 33. Lee SZ, Park SH, Lee HS. 2001. Changes in *in vivo* lipid peroxidation and antioxidant defense system in streptozotocin-induced diabetic rats: a time course study. *Korean J Nutr* 34: 253-264.
 34. Rhee SJ, Yang JA, Kim SO, Choe JH, Shin JY, Chai YM, Cha BK. 1997. Changes of physiological antioxidative system according to the period in streptozotocin-induced diabetic rats. *HSJAS* 5: 117-125.
 35. Hunt JV, Smith CCT, Wolff SP. 1990. Autoxidative glycosylation and possible involvement of peroxides and free radicals in LDL modification by glucose. *Diabetes* 39: 1420-1424.
 36. Wolff SP, Dean RT. 1987. Glucose autoxidation and protein modification: the potential role "antioxidative glycosylation" in diabetes mellitus. *Biochem J* 245: 243-250.
 37. Takasu N, Komiya I, Asasa T, Nagasawa Y, Yamada T. 1991. Streptozotocin and alloxan induced H₂O₂ generation and DNA fragmentation in pancreatic islets. *Diabetes* 40: 1141-1145.
 38. Verrotti A, Chiarelli F, Amerio PL, Morgese G. 1995. Skin diseases in children with type 1 diabetes mellitus. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 4: 41-43.
 39. Han JB, Kim KS, Son SJ, Yoo HJ. 1986. Statistical study of cutaneous manifestations and systemic complications in diabetes mellitus. *Korean J Dermatol* 24: 271-277.
 40. Romano G, Moretti G, Di Benedetto A, Giofre C, Di Cesare E, Russo G, Califano L, Cucinotta D. 1998. Skin lesions in diabetes mellitus: prevalence and clinical correlations. *Diabetes Research and Clinical Practice* 39: 101-106.
 41. Chithra P, Sajithlal GB, Chandrakasan G. 1998. Influence of aloe vera on the healing of dermal wounds in diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 59: 195-201.
 42. Goodson WH, Hunt TK. 1979. Wound healing and the diabetic patient. *Surgery, Gynecology and Obstetrics* 149: 600-608.
 43. Park ER, Jo JO, Kim SM, Lee MY, Kim KS. 1998. Volatile flavor components of leek (*Allium tuberosum* Rottler). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 563-567.
 44. Ahn RM, Kim WT, Lee HS. 1991. Protective effect of leek (*Allium odorum* L.) on the cadmium poisoning in rats. *Kor J Env Hlth* 17: 102-113.
 45. Saleh AW, David VG. 1987. Alteration in free radical tissue defense mechanism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes* 36: 1014-1018.
 46. Kesavulu MM, Giri R, Kameswara RB, Apparao C. 2000. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in type 2 diabetics with microvascular complications. *Diabetes Metab* 26: 387-392.
 47. Kakkar R, Kalra J, Mantha SV, Prasod K. 1995. Lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in diabetic rats. *Molecular and Cellular Biochemistry* 151: 113-119.
 48. Kwak YJ, Chun HJ, Kim JS. 1998. Chlorophyll, mineral contents and SOD-like activities of leeks harvested at different times. *Korean J Soc Food Sci* 14: 513-515.
 49. Yarat A, Tunali T, Yanardag R, Gursoy F, Sacan O, Emekli N, Ustuner A, Ergenekon G. 2001. The effect of glurenorm (gliquidone) on lenses and skin in experimental diabetes. *Free Rad Biol Med* 31: 1038-1042.
 50. Choi JS, Kim JY, Lee JH, Young HS, Lee TW. 1992. Isolation of adenosin and free amino acid composition from the leaves of *Allium tuberosum*. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 286-290.
 51. Trachtman H, Cel Pizzo R, Futterweit S, Levine D, Rao PS, Valderrama E, Sturman JA. 1992. Taurine attenuates renal disease in chronic puromycin aminonucleoside nephropathy. *Am J Physiol* 262: 117-123.
 52. Kilic F, Bhardwaj R, Caulfeild J, Trevithick JR. 1999. Modelling cortical cataractogenesis 22: Is *in vitro* reduction of damage in model diabetic rat cataract by taurine due to its antioxidant activity? *Exp Eye Res* 69: 291-300.

(2003년 7월 14일 접수; 2003년 9월 30일 채택)