

스트렙토조토신 유발 당뇨병 백서의 산화스트레스에 대한 S-Allylcysteine의 영향

경기대학교 이과대학 화학전공

신철호 · 임자혜

Effects of S-allylcysteine on Oxidative Stress in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Shin Chul Ho, Ihm Jahei

Department of Chemistry, Kyonggi University

ABSTRACT

Background: An increase in oxidative stress is postulated to contribute to the development of diabetic complications and the use of antioxidant therapy could be protective against these processes. This study was performed to investigate the role of the antioxidant S-allylcysteine (SAC), a water-soluble component of aged garlic, for reducing levels of oxidative stress that occurs in diabetic rats.

Methods: SAC (100 mg/head/day) was administered orally to streptozotocin-induced diabetic rats for eight weeks. The effects of SAC on the levels of markers of oxidative stress (malondialdehyde and glutathione) and mRNA expression of antioxidant enzymes were measured in the liver and kidney.

Results: SAC-fed rats showed lower cholesterol and triacylglyceride levels than untreated diabetic rats. Malondialdehyde levels were increased in the liver and kidney of diabetic rats and SAC administration lowered the levels in both organs. Glutathione levels were lower in the liver and kidney of diabetic rats, and SAC administration restored the glutathione to a level similar in non-diabetic rats. In the liver and kidney of untreated diabetic rats, mRNA expression of catalase, superoxide dismutase and glutathione reductase were down regulated, and administration of SAC increased expression of these enzymes.

Conclusion: Our results have shown that administration of SAC to diabetic rats can lower blood lipid levels and alleviate oxidative stress in the diabetic tissues, suggesting that SAC might have beneficial effects in a prevention trial for diabetic complications. (J Korean Endocr Soc 23:129~136, 2008)

Key Words: antioxidant enzyme, oxidative stress, S-allylcysteine, streptozotocin-diabetic rats

서 론

당뇨병은 고혈당으로 인하여 여러 기전에 의해 과산화 (superoxide) 음이온과 같은 활성 산소종이 과다 생산될 수

있다[1]. 과산화 음이온, 과산화수소, 지질과산화물과 같이 반응성이 큰 화학종들로부터 반응성이 더 큰 수산화라디칼 ($\cdot\text{OH}$)이 생성되며 이 라디칼은 산화, 분해 및 교차결합 반응을 통해 생체 거대분자에 손상을 줄 수 있다. 당뇨병에서는 산화적 공격의 증가 또는 항산화 능력의 감소로 인해 발생하는 활성 산소종의 생산과 처리(scavenging)의 불균형에 의해 세포와 조직에 손상이 올 수 있으므로, 증가된 산화 스트레스는 당뇨병 만성 합병증의 발생에 중요한 역할을 하리라 여겨진다[2~4].

접수일자: 2007년 12월 7일

통과일자: 2008년 2월 13일

책임저자: 임자혜, 경기대학교 이과대학 화학전공

* 본 연구는 2006학년도 경기대학교 학술연구비(일반과제) 지원에 의하여 수행되었음

세포에는 이러한 활성 산소족들의 폐해로부터 세포를 방어하는 항산화 방어체계가 있는데, 그 중 효소적인 것으로 superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (Gpx), glutathione reductase (Gred) 등의 항산화 효소가 있다[5]. 이들은 활성 산소족에 의한 연쇄반응의 개시를 저해한다. SOD는 과산화 음이온을 과산화수소로 바꾸어주고, CAT는 과산화수소를 분해함으로써 과산화 음이온의 작용으로부터 세포를 보호한다. Gpx는 Gred와 함께 작용하여 과산화수소를 물과 산소로 분해 시킨다. 즉, Gpx는 과산화수소와 환원형 glutathione (GSH)으로부터 물과 산화형 glutathione (GSSG)을 만들고, Gred는 GSSG를 다시 GSH로 환원시킨다.

마늘(*Allium sativum* L.)은 오래전부터 각종 질병 치료와 예방 목적으로 널리 사용되어왔다[6]. 오늘날에도 의약품에 사용되어지고 있으며, 혈중지질감소, 동맥경화방지, 혈당저하, 항응고제, 항고혈압제, 항균제, 항암제, 중금속으로 인한 독성 해독제, 간장보호, 면역조절에 효과가 있다고 보고 되었다[7~8]. 그러나 어떠한 기전으로 이러한 효능들이 나타나는지는 아직 잘 알려지지 않고 있다.

마늘에는 특이한 냄새와 향을 가지며 생물학적 유효성이 있는 유기황(organosulfur) 화합물들이 포함되어 있다[6]. 이런 유기황 화합물들은 마늘 처리 방법에 따라 다른 형태로 나타난다[9]. 이 중 효능이 많은 Aged Garlic Extract (AGE)는 실온에서 마늘을 20개월 이상 15~20% 알코올에 숙성시켜 얻게 되는데[10,11]. 이 과정에서 불안정하고 강한 냄새를 가진 물질들이 안정되고 냄새가 없는 수용성인 물질로 변화된다[12]. AGE에 가장 많이 존재하는 S-allylcysteine (SAC)은 항산화 효과가 있으며 자유라디칼의 제거제(scavenger)로 보고되었다[13~18] (Fig. 1).

마늘이 갖는 여러 이로운 효능들이 마늘의 성분들 중 주로 SAC에 의한다고 보고된 바 있다[19]. SAC는 과산화수소를 제거(scavenge)하는 작용을 하므로[13,17] 과산화수소에 의한 세포손상과 지질 과산화 등을 감소시킨다[12]. 또한 SAC를 포함한 마늘 성분의 몇몇 유기황 화합물들은 저밀도 지단백-콜레스테롤의 당화 및 산화를 감소시키는데 이러한 작용이 마늘의 심혈관계 질환으로부터의 보호효과에 기여할 것이라는 보고가 있다[20].

SAC가 많은 관심을 받는 이유는 높은 수용성과 무취, 안정성, 마늘로부터 생성된 다른 물질(allicin, diallyl-disulfide

등)에 비해 낮은 독성과 높은 LD50[11], 높은 생물학적 유효성(bioavailability)과 비교적 간단하고 저렴하게 합성되기 때문이다[21,22]. 이러한 SAC가 당뇨병에도 효과가 있다는 몇몇 연구 결과가 보고된 바 있다. 비효소적 단백질 당화의 증가로 생성되는 당과 단백질의 복합체인 최종 당화산물(Advanced Glycation End products)의 축적은 당뇨병 합병증 발생에 영향을 주며 자유 라디칼에 의한 당과 단백질의 자동산화를 촉진시키는데, SAC는 생체 내에서 최종 당화산물의 생성을 감소시키고 자유 라디칼을 제거하는 것으로 관찰되었다[23,24]. 또한 당뇨병 환자에서 이미 진행된 저밀도지단백-콜레스테롤의 산화 및 당화가 SAC 투여로 감소되었고, 이들 환자의 혈장에서 저하된 CAT 및 Gpx의 활성은 증가되었다[25].

본 연구에서는 이와 같이 항산화 효과가 있다고 알려진 SAC를 스트렙토조토신(streptozotocin, STZ)에 의해 유발된 당뇨병 백서에 투여하여 당뇨병 동물의 조직에서 변화된 산화 스트레스 지표와 항산화 효소의 발현에 어떤 영향을 미치는지 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

S-allylcysteine (SAC)은 TCI Organic Chemical (Tokyo, Japan)에서, GSH, STZ, GSSG reductase, NADPH, TBA는 Sigma사(St.Louis, MO)에서, Protein assay kit은 BioRad사(Hercules, CA)에서 구입하였고, Trizol reagent, DEPC, GADPH, RNAlater는 QIAGEN사(Hilden, Germany)의 제품을 사용하였다.

2. 쥐 사육 및 관리

Sprague-Dawley 백서 5주령 수컷을 구입하여(샘타코, 한국) 10일 동안 사료(샘타코, 한국)와 물을 자율적으로(ad libitum) 주며 환경에 대한 적응을 시킨 후 평균 체중이 300g인 백서들을 비당뇨군, 당뇨군, SAC 투여 당뇨군의 세 군으로 나누어 당뇨군들에게는 5 mM citrate buffer (pH 4.5)에 녹인 STZ을 체중 kg당 60 mg의 용량으로 복강 내에 주사하여 당뇨병을 유발하였고 비당뇨 대조군에도 같은 부피의 citrate buffer를 주사하였다.

STZ을 투여한 당뇨군들에 대하여 다음 날부터 Glucotest stick을 이용하여 요당 검사를 실시하였고, 꼬리정맥에서 정맥혈을 취하여 Glucometer로 혈당을 측정하여 300 mg/dL 이상인 경우 당뇨병이 유발된 것으로 판정하였다. 당뇨병이 유발된 후부터 SAC 투여 당뇨군에는 물에 용해된 SAC를 마리당 100 mg/day씩 8주간 경구 투여하였다. 사육실의 온도는 22~25℃를 유지하며 40~50%의 습도 조건에서 12시간의 일광조건으로 설정하였다.

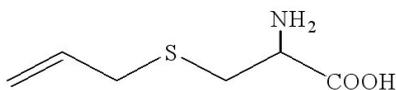


Fig. 1. Structure of S-allylcysteine (SAC).

3. 실험방법

1) 조직 채취

STZ 투여 8주 후 에테르로 마취하여 정맥혈을 채혈하여 4°C에서 3000 rpm으로 10분간 원심 분리하여 침전된 적혈구와 혈장을 -70°C에 보관하였다. 간 및 양측 신장은 적출하여 차가운 생리식염수에 세척 후 조각을 내어 -70°C에 보관하였고, 일부는 RNAlater에 넣어 -20°C에 보관하였다.

2) 단백질 농도 결정

BioRad사의 Protein assay kit를 이용하였다.

3) 혈당, 당화 헤모글로빈(HbA_{1c}), 콜레스테롤과 중성 지방 정량

Sigma사의 diagnosis kits을 이용하였다.

4) Malondialdehyde (MDA) 농도 측정

지질의 과산화 정도를 나타내는 지표의 하나로 지질 분해 산물인 MDA의 농도를 thionbarbituric acid reactive substance (TBARS) 방법으로 측정하였다[26]. MDA (OHC-CH₂-CHO)가 thionbarbituric acid (TBA)와 반응하여 분홍색의 발색 복합체인 MDA-(TBA)₂를 형성하는 것을 간과 신장에서 분광광도기로 측정하였다. 각 조직으로부터 4°C에서 10% (w/v) homogenate (in cold 1.15% KCl)를 만든 후 15,000 rpm에서 5분간 원심 분리하여 상등액의 단백질 농도를 측정하였다. 이 상등액 200 µL (단백질 2,000 µg 포함)과 50 µL의 0.56 M SDS, 500 µL의 5.0 M acetic acid (pH 3.5), 750 µL의 0.8% TBA, 500 µL의 증류수를 섞어 95°C로 1시간동안 가열하였다. 실온으로 식힌 혼합액에 0.5 ml의 증류수와 15:1 (v/v)의 n-butanol/pyridine을 2.5 ml 가한 후 상하로 5분간 흔든 다음 4,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상등액에서 분광광도기를 이용하여 532 nm에서의 흡광도를 측정하였다($\epsilon_{\text{max}532} = 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

5) Glutathione (GSH) 정량

각 조직 g수의 5배에 해당하는 5% 5-sulfosalicylic acid를 넣고 조직 균질액을 만들어 4°C에서 5분간 원심 분리한 후 상등액을 취하였다. 총 GSH 정량을 위하여 700 µL의 NADPH (0.248 mg/ml)와 100 µL의 6 mM DTNB, 180 µL의 증류수를 섞어 미리 30°C로 온도를 맞춰놓고 위의 상

등액 20 µL와 10 µL의 GSSG reductase (266 unit/mL)를 첨가하여 반응을 시작하였다. ELISA reader를 이용하여 10초 간격으로 3분간 흡광도 변화를 읽어 기울기를 구하고 100 mM GSH 표준용액과 기울기를 비교하여 정량하였다[27].

6) Real time RT-PCR을 이용한 조직에서의 항산화 효소 mRNA 발현

각 조직에서 Trizol reagent를 이용하여 RNA를 분리하였고, M-MLV 역전사효소, 총 RNA 1 µg 및 CAT, SOD, Gpx와 Gred에 대한 각각의 primer를 넣어 RNA/primer 혼합물을 준비하였다(Table 1). 위 혼합물을 Exicycler™ Quantitative Thermal Block (Bioneer, Deajeon, Korea)에 넣어 95°C에서 15분간 1순환, 94°C에서 5초, 50°C에서 15초 그리고 72°C에서 10초씩 45 순환하여 real time RT-PCR로 분석을 하였다. GADPH로 표준화하여 상대적 정량을 하였다.

4. 통계처리

데이터는 평균 ± 표준편차로 나타내었다. 데이터 분석은 MedCalc program (Mariakerke, Belgium)를 이용하여 두 집단에 대한 분산(F-검정)과 유의성 여부(t-검정)를 상호 비교하여 나타내었고, 통계적 유의성은 $P < 0.05$ 로 하였다.

결 과

1. 백서의 체중 변화 및 사료 소비량

총 8주간 체중을 일주일 단위로 측정된 결과 비당뇨군은 체중이 꾸준히 증가하여 40% 증가하였고 당뇨군과 SAC 투여 당뇨군은 체중이 각각 14%, 10% 감소하였다(Table 2). 백서 마리당 일일 평균 사료 소비량을 일주일 단위로 측정된 결과, 비당뇨군은 사료 소비량이 거의 일정한 반면, 당뇨군과 SAC 투여 당뇨군은 비당뇨군에 비해 각각 43%, 41%의 사료를 더 소비하였다(Table 2).

2. 혈당과 당화혈색소

당뇨군에서는 비당뇨군보다 혈당이 현저히 높았고, SAC 투여 당뇨군은 당뇨군보다 혈당이 13% 낮았다($P < 0.02$, Table 3). 당화혈색소는 당뇨군의 경우 비당뇨 대조군보다 77% 높았고, SAC 투여 당뇨군은 당뇨군에 비해 11% 낮았으나 통계적으로 유의하지는 않았다(Table 3).

Table 1. Primers used for antioxidant enzymes

	Forward	Reverse
CAT	CTC AGC TTT TCA TTC AGA GG	TGT ACG TAG GTG TGA ATT GC
SOD	GCA GGA CCT CAT TTT AAT CC	AGT CAT CTT GTT TCT CGT GG
Gpx	GAG GTG AAT GGT GAG AAG G	GAC CAA ATG ATG TAG TTG GG
Gred	GAC GTC TCT TAT GAT CAG GC	TTT GGA GAA GTA TTC CTT GC

Table 2. Body weight changes and daily food consumption

Group	N	Body weight (g)		Daily food consumption(g/day)	
		0 wk	8 wk	0 wk	8 wk
Control	9	304.3 ± 3.2	426.3 ± 9.8	24.7 ± 2.9	28.0 ± 3.2
Diabetic	10	301.9 ± 3.5	259.0 ± 32.2*	25.5 ± 2.1	47.9 ± 6.1*
Diabetic + SAC	10	302.4 ± 9.0	73.6 ± 21.0*	25.1 ± 2.7	47.8 ± 6.0*

Values are means ± SD. * $P < 0.01$ vs. control.

Table 3. Plasma glucose, cholesterol, triacylglyceride and HbA_{1c} levels

Group	N	Plasma glucose	Plasma cholesterol	Plasma triacylglyceride	HbA _{1c} (%)
		(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	
Control	9	156.5 ± 31.8	122.7 ± 42.5	101.8 ± 46.3	3.5 ± 0.2
Diabetic	10	583.7 ± 68.1*	200.3 ± 30.5 [†]	437.8 ± 172.7 [†]	6.2 ± 0.3*
Diabetic + SAC	10	508.3 ± 63.5 [‡]	126.3 ± 35.4 [§]	163.4 ± 83.3 [§]	5.5 ± 0.7

Values are means ± SD. * $P < 0.001$ vs. control. [†] $P < 0.002$ vs. control. [‡] $P < 0.02$ vs. diabetic. [§] $P < 0.002$ vs. diabetic.

Table 4. MDA (malondialdehyde) levels in the liver and kidney

Group	N	MDA (nmol/mg protein)	
		Liver	Kidney
		Control	9
Diabetic	10	0.38 ± 0.07*	1.6 ± 0.3 [†]
Diabetic + SAC	10	0.31 ± 0.04 [‡]	1.2 ± 0.4 [§]

Values are means ± SD. * $P < 0.002$ vs. control. [†] $P < 0.001$ vs. control. [‡] $P < 0.02$ vs. diabetic. [§] $P < 0.05$ vs. diabetic.

Table 5. GSH (glutathione) levels in the liver and kidney

Group	N	GSH (nmol/g)	
		Liver	Kidney
		Control	9
Diabetic	10	21.5 ± 4.8*	0.6 ± 0.1 [†]
Diabetic + SAC	10	31.8 ± 6.0 [‡]	1.0 ± 0.1 [§]

Values are means ± SD. * $P < 0.001$ vs. control. [†] $P < 0.005$ vs. control. [‡] $P < 0.005$ vs. diabetic. [§] $P < 0.001$ vs. diabetic.

3. 콜레스테롤과 중성지방 정량

당뇨군에서는 비당뇨군에 비해 콜레스테롤의 농도가 63% 높았고, SAC 투여 당뇨군에서는 당뇨군보다 63% 낮아($P < 0.002$) 비당뇨군과 유사하였다. 중성지방은 당뇨군에서는 비당뇨군보다 4.3배로 높았고, SAC 투여 당뇨군에서는 비당뇨군보다 1.6배 높아 당뇨군보다 유의하게 낮았다($P < 0.002$, Table 3).

4. MDA 농도 정량

간에서 MDA의 농도는 당뇨군에서는 비당뇨군보다 41% 높았고, SAC 투여 당뇨군에서는 당뇨군보다 18% 낮았다($P < 0.02$). 신장에서는 당뇨군에서 비당뇨군보다 MDA의 농도가 66% 높았고, SAC 투여 당뇨군에서는 당뇨군보다 25% 낮았다($P < 0.05$, Table 4).

5. Glutathione (GSH)의 정량

간과 신장에서의 GSH 양은 당뇨군에서 비당뇨군에 비해 유의하게 감소되어 있었고, SAC 투여 당뇨군은 당뇨군에 비해 유의하게 높아 비당뇨군 수준을 보였다(Table 5).

6. 조직의 항산화 효소 mRNA 발현 측정

산화스트레스로 인해 활성산소가 많아지면 항산화 효소의 mRNA 발현에도 영향을 미치게 된다. 간에서의 CAT, SOD, Gpx 및 Gred의 mRNA 발현은 당뇨군에서 비당뇨군에 비해 모두 유의하게 감소되었고, SAC 투여 당뇨군은 당뇨군에 비해 모두 유의하게 증가되었다(Fig. 2). 신장에서의 항산화 효소 mRNA 발현은 CAT, SOD 및 Gred의 경우 당뇨군에서 비당뇨군에 비해 유의하게 감소되었고, SAC 투여 당뇨군은 당뇨군에 비해 유의하게 증가되었다(Fig. 2). 신장에서의 Gpx의 발현은 군 간에 유의한 차이는 없었다.

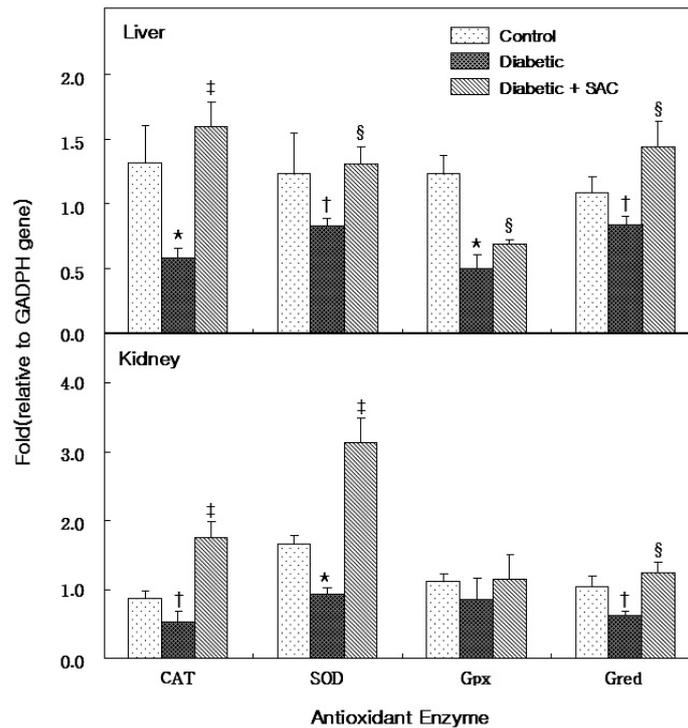


Fig. 2. Messenger RNA expression levels of antioxidant enzymes in the liver and kidney. * $P < 0.005$ vs. control, † $P < 0.05$ vs. control. ‡ $P < 0.005$ vs. diabetic. § $P < 0.01$ vs. diabetic.

고 찰

당뇨병에서는 고혈당으로 인해 연속적인 당화와 단백질의 당화적 산화 등으로 단백질과 교차결합 된 복합체의 형성이 가속화되어 조직 등에 손상을 입히게 된다. 이러한 손상이 항산화 방어체계에도 영향을 주어 산화스트레스가 증가하게 되는데 이는 당뇨병 합병증의 발생에 기여할 수 있다. 따라서 당뇨병에서 합병증을 줄이기 위해서는 일차적으로 혈당을 철저히 조절하여야 하고 한편으로는 고혈당으로 인한 활성산소종의 생성을 억제 또는 제거하는 것이 도움이 될 것이다.

최근에 마늘을 건강보조제로 사용하는 것에 관심이 많은데 이는 주로 심혈관계 질환에 대한 보호 작용 때문이다[28,29]. 특히 AGE가 높은 효능을 보이는데, AGE에 많이 존재하는 SAC는 항산화 효과가 있으며 자유라디칼의 제거제로 보고된 바 있고 마늘이 갖는 여러 효능들이 마늘의 여러 성분들 중 주로 SAC에 의한다고 보고되었다[30]. SAC는 높은 수용성과 무취, 안정성, 매우 낮은 독성(높은 LD50)을 갖고, 간단하고 저렴하게 합성된다는 장점이 있다. 또한 SAC는 높은 생물학적 유효성(bioavailability)이 있어 백서에 SAC를 경구투여 했을 때 위장관에서 신속히 흡수되어 유효성이 98.2%였고 흡수된 SAC는 주로 혈장, 간과 신장에 분포했다는 보고가 있다[31].

본 연구에서 마늘 추출물 SAC를 STZ으로 당뇨병이 유

발된 백서에 8주간 투여한 결과 SAC를 투여 당뇨군에서는 당뇨군에 비해 혈당이 약간 낮았으나 당화혈색소에는 유의한 차이는 없었다. Hsu 등[32]은 다회 저용량 STZ 유발 당뇨병 마우스에서 4주간의 SAC 투여로 혈당이 약 20% 감소됨을 관찰하였고 이는 SAC의 항산화 및 항염증 작용에 의해 자가면역성 췌도염이 완화되기 때문으로 고찰한 바 있으나, 고용량 STZ 유발 당뇨병 백서에서도 SAC 투여로 혈당이 감소된다는 본 연구의 결과는 이 기전으로는 설명되지 않는다. 본 연구에서 SAC는 당뇨군에서 증가된 콜레스테롤과 중성지방을 비당뇨군 수준으로 현저히 낮추었다. 이러한 SAC의 지질강화 작용이 기왕에 알려진 마늘의 심혈관계 질환에 대한 보호작용에 기여하였을 가능성이 있겠다.

STZ 유발 당뇨병 백서에서 지질과산화물 농도의 현저한 증가는 고혈당으로 인한 포도당의 자가산화에 의한 자유라디칼 생성의 증가 때문으로 여겨진다. 이와 같이 당뇨병에서 증가된 산화 스트레스는 지질과산화를 초래하고 이는 당뇨병의 만성 합병증 발생과도 연관이 있다고 알려져 있다. TBARS assay를 지질과산화의 지표로 사용한 이전 실험들과 마찬가지로[33~35], 본 연구에서도 MDA 농도는 STZ 유발 당뇨 백서의 간과 신장 모두에서 증가하였고, 간에 비해 신장에서 당뇨병 상태에서 지질과산화가 더 뚜렷이 증가하였다. SAC 투여 당뇨군은 당뇨군에 비해 간과 신장의 MDA가 모두 유의하게 낮아 SAC의 항산화작용을 확인할 수 있었다.

GSH는 세포막에서 단백질의 redox 상태를 조절함으로써 산화적 손상으로부터 세포막을 보호한다[36,37]. 당뇨병의 간과 신장에서 GSH 농도가 비당뇨군에 비하여 유의하게 낮았는데, SAC 투여가 이를 비당뇨군 수준으로 높여주었다. 이러한 GSH 함량의 증가는 해로운 라디칼에 대한 감수성을 줄임으로써 당뇨병과 관련된 조직 손상으로부터 보호할 것이다.

산화스트레스로 인해 활성산소가 많아지면 항산화 효소의 mRNA 발현에도 영향을 미치게 된다. 당뇨병 상태에서 항산화 효소의 유전자 발현은 조직이나 당뇨병의 종류, 당뇨병 기간 등에 따라 다양하게 보고되었고, STZ로 당뇨병이 유도된 백서에서도 항산화효소의 mRNA 발현은 조직 및 당뇨병 기간 등에 따라 다양하게 보고 되었다[38~40]. 항산화효소의 발현에 증가가 있는 경우는 보상유도(compensatory induction) 과정 때문으로 설명되나, 본 연구에서는 간과 신장에서 당뇨병에서 비당뇨군에 비해 항산화 효소들의 mRNA 발현이 낮아 과도한 당뇨병 상태의 백서에서 보상유도 기전이 방해 받은 것으로 보인다. SAC 투여 당뇨병은 당뇨병에 비해 이들 항산화 효소의 발현이 유의하게 증가되어, 이러한 기전이 SAC의 항산화작용에 기여할 가능성을 시사하였다.

결론적으로, 본 연구에서는 STZ-유발 당뇨병 백서에서 SAC 경구 투여는 뚜렷한 지질강하효과와 함께 간과 신장 조직에서 산화스트레스의 표지자들의 변화를 거의 정상화시키는 항산화작용이 있음을 관찰하였다. 이러한 결과는 당뇨병 환자에서 철저한 혈당조절 노력과 함께 SAC의 투여가 지질강하효과 및 항산화작용을 통해 당뇨병의 만성 합병증의 발생 및 진행의 예방에 유익할 가능성을 시사한다.

요 약

연구배경: 당뇨병에서 산화스트레스의 증가는 만성합병증의 발생과 연관되어 있으며 항산화제 투여로 당뇨병의 합병증이 예방되거나 진행이 지연될 가능성이 있다. 본 연구에서는 숙성된 마늘의 수용성 성분으로 다양한 항산화작용이 있다고 보고된 S-allylcysteine (SAC)이 당뇨병에서 증가된 산화 스트레스에 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

방법: streptozotocin (STZ)으로 당뇨 유발된 백서에 SAC (100 mg/day)를 8주간 경구 투여한 후 혈당, HbA_{1c}, 혈장의 콜레스테롤 및 중성지방을 측정하였고 간과 신장에서 MDA와 GSH 농도 및 항산화효소의 mRNA 발현을 측정하여 비당뇨군 및 SAC를 처리하지 않은 당뇨병군과 비교하였다.

결과: SAC 투여 당뇨병은 비당뇨군에 비해 혈당이 13% 낮았으나 HbA_{1c}는 양 군 간 유의한 차이가 없었다. SAC 투여 당뇨병은 당뇨병에 비해 콜레스테롤과 중성지방이 현저히 낮았다. 당뇨병에서 비해 SAC 투여군에서 간과 신장 조

직 MDA 농도가 유의하게 낮았고, 반면에 간과 신장 조직 GSH 농도는 유의하게 높았다. 간과 신장에서 항산화효소 (CAT, SOD, Gpx, Gred)의 발현은 당뇨병에서 비당뇨군에 비해 낮았고, SAC 투여로 이들의 발현이 유의하게 증가되었다.

결론: 당뇨병 상태에서 SAC의 투여가 지질강하효과 및 항산화작용을 통해 당뇨병의 만성 합병증의 발생 및 진행의 예방에 유익할 수 있다.

참 고 문 헌

1. Nishikawa T, Edelstein D, Brownlee L: The missing link: a single unifying mechanism for diabetic complications. *Kidney Int* 77:S26-S30, 2000
2. Kuroki T, Isshiki K, King GL: Oxidative stress: the lead or supporting actor in the pathogenesis of diabetes complications. *J Am Soc Nephrol* 14:S216-S220, 2003
3. Scott JA, King GL: Oxidative stress and antioxidant treatment in diabetes. *Ann N Y Acad Sci* 1031:204-213, 2004
4. Sheetz MJ, King GL: Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic complications. *JAMA* 288:2579-2588, 2002
5. Baynes JW, Thorpe SR: Role of oxidative stress in diabetic complications. a new perspective on an old paradigm. *Diabetes* 48:1-9, 1999
6. Block E: The chemistry of garlic and onions. *Sci Am* 252:114-119, 1985
7. Agarwal KC: Therapeutic actions of garlic constituents. *Med Res Rev* 16:111-124, 1996
8. Augusti KT: Therapeutic values of onion(*Allium Cepa* L) and garlic(*Allium sativum* L): *Indian J Exp Biol* 34:634-640, 1996
9. Banerjee SK, Mukherjee PK, Maulik SK: Garlic as an antioxidant: the good, the bad and the ugly. *Phytother Res* 17:97-106, 2003
10. Imai J, Ide N, Nagae S, Moriguchi T, Matsuura H, Itakura Y: Antioxidant and radical scavenging effects of aged garlic extract and its constituents. *Planta Med* 60:417-420, 1994
11. Moriguchi T, Saito H, Nishiyama N: Aged garlic extract prolongs longevity and improves spatial memory deficit in senescence-accelerated mouse. *Biol Pharm Bull* 19:305-307, 1996
12. Amagase H, Petesch BL, Matsuura H, Kasuga S, Itakura

- Y: Intake of garlic and its bioactive components. *J Nutr* 131:955S-962S, 2001
13. Yamasaki K, Hashimoto A, Kokusenya Y, Miyamoto T, Sato T: Electrochemical method for estimating the antioxidative effects of methanol extracts of crude drugs. *Chem Pharm Bull(Tokyo)* 42:1663-1665, 1994
 14. Ide N, Lau BH: Garlic compounds minimize intracellular oxidative stress and inhibit nuclear factor-kappa b activation. *J Nutr* 131:1020S-1026S, 2001
 15. Mostafa MG, Mima T, Ohnishi ST, Mori K: S-allylcysteine ameliorates doxorubicin toxicity in the heart and liver in mice. *Planta Med* 66:148-151, 2000
 16. Numagami Y, Ohnishi ST: S-allylcysteine inhibits free radical production, lipid peroxidation and neuronal damage in rat brain ischemia. *J Nutr* 131:1100S-1105S, 2001
 17. Peng Q, Buz'Zard AR, Lau BH: Neuroprotective effect of garlic compounds in amyloid-beta peptide-induced apoptosis in vitro. *Med Sci Monit* 8:BR328-BR337, 2002
 18. Maldonado PD, Barrera D, Rivero I, Mata R, Medina-Campos ON, Hernández-Pando R, Pedraza-Chaverrí J: Antioxidant S-allylcysteine prevents gentamicin-induced oxidative stress and renal damage. *Free Radic Biol Med* 35:317-324, 2003
 19. Amagase H: Clarifying the real bioactive constituents of garlic. *J Nutr* 36:716S-725S, 2006
 20. Ide N, Lau BH: Garlic compounds protect vascular endothelial cells from oxidized low density lipoprotein-induced injury. *J Pharm Pharmacol* 49:908-911, 1997
 21. Nagae S, Ushijima M, Hatono S, Imai J, Kasuga S, Matsuura H, Itakura Y, Higashi Y: Pharmacokinetics of the garlic compound S-allylcysteine. *Planta Med* 60:214-217, 1994
 22. Maldonado PD, Barrera D, Medina-Campos ON, Hernández-Pando R, Ibarra-Rubio ME, Pedraza-Chaverrí J: Aged garlic extract attenuates gentamicin induced renal damage and oxidative stress in rats. *Life Sci*. 73:2543-2556, 2003
 23. Ahmad MS, Ahmed N: Antiglycation properties of aged garlic extract: possible role in prevention of diabetic complications. *J Nutr* 136:796S-799S, 2006
 24. Ahmad MS, Pischetsrieder M, Ahmed N: Aged garlic extract and S-allylcysteine prevent formation of advanced glycation endproducts. *Eur J Pharmacol* 561:32-38, 2007
 25. Huang CN, Horng JS, Yin MC: Antioxidative and antiglycative effects of six organo sulfur compounds in low-density lipoprotein and plasma. *J Agric Food Chem* 52:3674-3678, 2004
 26. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95:351-358, 1979
 27. Anderson ME: Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. *Methods Enzymol* 113:548-555, 1985
 28. Banerjee SK, Maulik SK: Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review. *Nutr J* 1:4-9, 2002
 29. Rahman K: Historical perspective on garlic and cardiovascular disease. *J Nutr* 131:977S-979S, 2001
 30. Borek C: Antioxidant health effects of aged garlic extract. *J Nutr* 31:1010S-1015S, 2001
 31. Nagae S, Ushijima M, Hatono S, Imai J, Kasuga S, Matsuura H, Itakura Y, Higashi Y: Pharmacokinetics of the garlic compound S-allylcysteine. *Planta Med* 60:214-217, 1994
 32. Hsu CC, Yen HF, Yin MC, Tsai CM, Hsieh CH: Five cysteine-containing compounds delay diabetic deterioration in Balb/cA mice. *J Nutr* 134:3245-3249, 2004
 33. Baştar I, Seckin S, Uysal M, Aykaç-Toker G: Effect of streptozotocin on glutathione and lipid peroxide levels in various tissues of rats. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 102:265-272, 1998
 34. Kakkar R, Mantha SV, Radhi J, Prasad K, Kalra J: Increased oxidative stress in rat liver and pancreas during progression of streptozotocin-induced diabetes. *Clin Sci* 94:623-632, 1998
 35. Kedziora-Kornatowska K, Luciak M: Effect of aminoguanidine on lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in the diabetic kidney. *Biochem Mol Biol Int* 46:577-583, 1998
 36. Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB 3rd: Diabetes, oxidative stress and antioxidants. *J Biochem Mol Toxicol* 17:24-38, 2003
 37. Inoue M, Saito Y, Hirato E, Morino Y, Nagase S: Regulation of redox status of plasma proteins by metabolism and transport of glutathione and related compounds. *J Protein Chem* 36:169-173, 1987
 38. Limaye PV, Raghuram N, Sivakami S: Oxidative stress and gene expression of antioxidant enzymes in the renal cortex of streptozotocin-induced diabetic rats. *Mol Cell Biochem* 243:147-152, 2003

39. Lal MA, Körner A, Matsuo Y, Zelenin S, Cheng SX, Jaremko G, DiBona GF, Eklöf AC, Aperia A: Combined antioxidant and COMT inhibitor treatment reverses renal abnormalities in diabetic rats. *Diabetes* 49:1381-1389, 2000
40. Agardh CD, Israelsson B, Thuesen-Olesen B, Agardh, E: Application of quantitative competitive polymerase chain reaction for measurements of mRNA from antioxidative enzymes in the diabetic rat retina and kidney. *Metabolism* 51:1279-1284, 2002