

< Original Article >

## 랫드에서 thioacetamide의 반복 투여로 유도된 간 손상에 대한 민들레 추출물의 효과

문선진<sup>1</sup> · 신성식<sup>1</sup> · 손창호<sup>1</sup> · 오기석<sup>1</sup> · 김하정<sup>1</sup> · 정지영<sup>2</sup> · 서국현<sup>1\*</sup>  
전남대학교 수의과대학<sup>1</sup>, 전남동물위생시험소<sup>2</sup>

### Protective effects of dandelion extract against liver damage by repeated administration of thioacetamide in rats

Sun-Jin Moon<sup>1</sup>, Sung-Shik Shin<sup>1</sup>, Chang-Ho Son<sup>1</sup>, Ki-Seok Oh<sup>1</sup>,  
Ha-Jung Kim<sup>1</sup>, Ji-Young Jung<sup>2</sup>, Guk-Hyun Suh<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea  
<sup>2</sup>East-Branch, Jeollanamdo Veterinary Service Laboratory, Suncheon 57923, Korea

(Received 4 May 2017; revised 20 June 2017; accepted 26 June 2017)

#### Abstract

This study was conducted to investigate of hepatoprotective effect of dandelion water extract (DWE) according to repeated administration of thioacetamide (TAA) induced hepatotoxicity in Sprague-Dawley rats. Thirty rats were randomly assigned to 5 groups; normal control, DWE-control, TAA-control (TAA injection during the feeding of normal diet), TAA&DWE600 (TAA repeated injection during the feeding of DWE 600 mg/kg BW), TAA&DWE1200 (TAA repeated injection during the feeding of DWE 1,200 mg/kg BW). Rats in DWE-control and TAA&DWE groups were treated with DWE (600 or 1,200 mg/kg BW daily) by gavage for 20 days (twice a day). All the rats in the TAA-control and TAA&DWE groups were repeated injection of TAA (100 mg/kg BW) into the abdominal cavity 3 days interval and 12 hrs later, all rats were sacrificed. At the same time, normal control and DWE-control groups were injected normal saline. In TAA&DWE groups, serum alanine and aspartate aminotransferase (ALT, AST) were significantly decreased and triglyceride (TG) synthesis was significantly increased compared to TAA group. As well as total billilubin and GGT were slightly decreased by the treatment of DWE. Lipid peroxidation (MDA) concentration was significantly decreased and hepatic GSH content was slightly or significantly increased in the TAA&DWE groups compared to TAA group. Hepatic anti-oxidative enzyme activities, such as GSH, GST, SOD and catalase were slightly or significantly elevated by the treatment of DWE. According to these results, When dandelion extract was long term supplied, it could be used as a potential protective material for a longer time liver damage by repeated administration of the TAA.

**Key words :** *Taraxacum officina*, Dandelion water extract, Antioxidant enzymes, Thioacetamide, Liver injuries

## 서 론

포유동물 체내에서 산화적 스트레스(oxidative

stress)의 유발은 잠재적으로 세포의 손상을 일으키고 이로 인하여 병리적 질환을 일으키게 된다(Videla과 Fernandez, 1988; Alfadda와 Sallam, 2012). 따라서 각종 항산화제의 산화적 손상에 대한 예방효과와 치료 효과에 대하여 지속적으로 관심을 보이고 있다. 최근

\*Corresponding author: Guk-Hyun Suh, Tel. +82-62-530-2870,  
Fax. +82-41-530-2881, E-mail. ghsuh@chonnam.ac.kr

그러한 항산화제의 원료 성분으로서 합성물 대신하여 천연물을 주재료로 한 항산화제를 더욱 선호하는 추세이다(Park과 Kweon, 2013). 반응성이 강한 활성 산소종(Reactive oxygen species; ROS)은 산소의 산화물로서 생성과 제거는 매우 유기적으로 조절되지만 역시 이상의 생성이 진행되면 변형 단백질의 축적, 지질 형태 변형 및 핵산 변형 등을 통해 질환으로 발전될 수 있다고 보고되고 있다(Alfadda와 Sallam, 2012). 따라서 이러한 활성산소종의 감소를 통해 질환을 예방하고 치료하고자 하는 시도가 계속되고 있다. 현재 천연 항산화제로서 비타민, 카테킨, 커큐민 그리고 레스베라트롤, 합성 항산화제로서 글루타티온 유도체, 마이토퀴논, 초과산화물 불균등화효소, 과산화수소 분해효소 유사제 등이 합성되어 건강 보조제 및 치료제로서 임상에 적용하기 위해 시험되고 있다(Park과 Kweon, 2013).

민들레는 오랫동안 약용식물로서 사용되었으며 포공영이란 한약재로 강장, 해열, 거담 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있으며(Katrin 등, 2006; Im 등, 2011), 최근 민들레가 이노, 최담, 항염증, 진통, 항알러지, 항산화 및 항암효과 등의 다양한 생리 활성을 나타내는 것으로 연구되어 왔다(Ho 등, 1998; Halliwell 등, 1999; Takasaki 등, 1999ab; Hu와 Kitts, 2003; Han 등, 2005; Schütz 등, 2006; Sigstedt 등, 2008; Han 등, 2011). 민들레의 이러한 생리적 효과를 나타내는 잎과 줄기에 있는 주요한 성분들은 항산화 작용을 갖는 Luteolin, 항균 및 항염증효과가 있는 Taraxacoside, 심혈관계에 작용하는 chicoric acid, 면역기능을 자극하는 monocaffeoyltartaric acid와 chlorogenic acid 등이 있다(Gonzalez-Castejon 등, 2012). 민들레는 잎, 뿌리, 꽃, 줄기 각각의 부위마다 함유성분에 차이가 있으며 이를 분석하여 다양한 활용 가능성에 대한 연구가 이루어져 있으며, 항산화 활성을 나타내는 플라보노이드와 폴리페놀은 꽃, 잎 부위에서 다량 함유하고 있고 전자공여능, 아질산염 소거능 또한 높게 나타나 천연 항산화제로 이용 가치가 높다고 보고되었다(Kang 등, 2002; Kim 등, 2008; Im과 Lee, 2011). 또한 열수추출 또는 에탄올 추출물의 항산화 효과 등도 조사되었다(Han 등, 2010; Han 등, 2011). 이러한 민들레의 열수추출물의 단기간의 급여가, 산화적 간 손상을 일으키는 것으로 알려진 D-Galactosamine이나 thioacetamide를 단회 투여에 의한 간 손상에 대한 간 보호 효과가 있음이 보고되었다(Park, 2008; Cho 등, 2013). 그러나 반복적으로 간 독성 물질에 노출되어

발생된 산화적 간손상에 관한 항산화적 보호효과에 대한 보고는 드문 실정이다.

본 연구에서는 민들레 항산화 작용을 통하여 반복적인 간 손상에 대한 보호효과를 알아보고 임상적인 사용가능성을 확인하고자 하였다. 민들레 추출물(Dandelion water extract, DWE)을 시험 전 기간 동안 급여하고 3일마다 thioacetamide (TAA)를 반복적으로 복강내 주사하여 유발한 산화적 간 손상에 대한 보호 가능성을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 공시재료 및 공시 동물

민들레 추출물은 서양민들레(*Taraxacum officinale*)를 사용하여 Cho 등(2013)의 방법에 준하여 제조하였다. 즉, 깨끗하게 세척한 민들레 줄기와 잎을 65°C의 공기대류식 건조기(oven)에 넣어 24시간 동안 건조한 후, 분쇄하여 20 mesh의 체로 걸러 입자의 크기가 20 mesh 이하인 민들레분말을 제조하였다. 증류수와 민들레 분말을 9:1 비율로 준비하여 2시간 동안 80~90°C의 온도로 가열·교반하면서 민들레 성분을 추출하였다. 열수 추출물은 여과지(Watman No. 3)로 진공 여과하였으며, 여과액은 진공 감압 오븐에 넣어 고형분이 40% 될 때까지 농축시켰다. 농축된 민들레 추출액을 원액으로 하여 멸균 증류수(대한약품공업주식회사, 한국)를 시험용량에 따라 희석용매로 첨가하여 사용하였다.

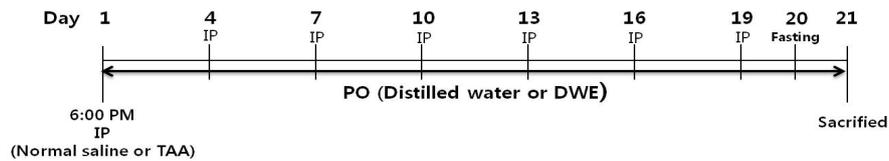
실험동물은 7주령의 Sprague Dawley계 수컷 랫드(Samtako Bio, Korea)를 구입 공시하였다. 실험군은 7일간 검역 및 순화기간 거쳤으며, 실험기간 중 실험축은 22±2°C의 온도에서 12시간 간격의 명암주기 조건의 조도 150~300 lux 수준으로 조정된 사육실에서 관리하였으며, 물과 사료(Samtako Bio, Korea)는 자유채식 하도록 급여 하였다.

### 실험군 설계 및 처리방법

실험군은 30마리의 랫드를 체중에 따른 완전임의 배치법에 의해 처리군 당 6마리씩 5개 처리군으로 분류하였다. 각 처리군에 따른 투여물질 및 용량은 Table 1에, 처리방법은 Fig. 1에 나타내었다. DWE는 체중 kg당 급여량을 멸균증류수 15 mL에 희석하여

**Table 1.** Experimental groups of hepatoprotective effect of Dandelion water extract (DWE) on Thioacetamide (TAA) induced hepatic damage in Sprague-Dawley rats

Group	No. of rats	Treatment (mg/kg)	
		DWE	TAA
TAA Non-treatment	Control	0	0
	DWE	1,200	0
TAA treatment	TAA	0	100
	DWE 600 & TAA	600	100
	DWE1200 & TAA	1,200	100



**Fig. 1.** Experimental treatment schedule of hepatoprotective effect of dandelion water extract (DWE) against Thioacetamide (TAA)-induced hepatic damage in Sprague-Dawley rats. Rats in DWE and TAA&DWE groups were pretreated with DWE (1200, 600 or 1,200 mg/kg) for 20 days, while rats in the control and TAA groups received equal volume of distilled water. TAA were injected intra-peritoneally to rats in treatment with TAA groups every 3 days, while rats in TAA non-treatment groups were treated intra-peritoneally with normal saline. All animals were anesthetized with ethyl ether and sacrificed.

존데를 이용하여 정해진 시간에 1일 2회 분할하여 경구투여 하였다. TAA (CAS No.62-55-5; Sigma Chemical USA)는 체중 kg당 100 mg이 되도록 2 mL의 생리식염수에 희석하여 3일 간격으로 복강주사 하였으며 (TAA처리구), TAA 비치리구에는 동량의 생리식염수를 복강내 주사하였다. 한편 TAA 비치리구의 대조군과 TAA처리구의 TAA 단독처리군은 동량의 멸균증류수와 생리식염수를 각각 경구 및 복강주사 하였다. 일반증상 관찰과 체중, 사료섭취량 및 음수량의 측정 은 매일 실시하였다. 체중은 0.01 g까지 3 간격으로 측정하였으며, 최종 체중은 안락사 직전에 측정하였다. 실험동물의 사료섭취량 및 음수량은 매일 1회 잔량을 조사하였다. 공시동물의 관리 및 실험은 전남대학교 동물실험 윤리위원회의 승인(CNU IACUC-YB-2013-56)을 받아 전남대학교 수의과대학 실험동물사를 이용하여 실시하였다.

**혈구분석 및 혈청화학검사**

혈액 시료는 TAA 복강투여 종료 12시간 후 에틸에테르 가스를 이용하여 마취 후 개복하여 후대정맥을 통해 채혈하였다. 각 처리구별 혈구성분은 다품종자동혈구측정기(HEMAVET 850, CDC, USA)를 이용하였으며, 혈청성분은 자동혈액화학분석기(Dri-chem 4000i,

Fujifilm Co., Japan)를 이용하여, Aspartate aminotransferase (AST), Alanine amino transferase (ALT),  $\gamma$ -Glutamyl transpeptidase (GGT), Triglycerides (TG) 그리고 Total bilirubin (TB)을 측정하였다.

**항산화 효과 측정**

산화적 손상은 간 조직을 이용하여 분석하였다. 간 시료는 공시 랫트를 마취 하에서 후대 정맥을 절단하여 충분히 방혈시켜 안락사 시킨 후 즉시 채취하여 10×PBS로 세척하였으며, 각 개체에서 동일한 간엽을 절제하여 -70°C의 냉동고에 보관하여 산화 손상 분석에 이용하였다. 간 조직은 중량을 측정하여 0.2 g/mL이 되도록 PBS를 첨가하여 Glass-Teflon Homogenizer (Precellys 24, Bertin technologies, France)를 이용하여 균질화 하였다. 균질액을 4°C에서 10,000×g로 15분간 원심분리 하여 상층액으로부터 지질과산화물인 malondialdehyde (MDA)와 비효소적 항산화작용을 하는 glutathione (GSH)의 농도와, 항산화 효소인 superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) 그리고 glutathione-S-transferase (GST) 활성을 상용화된 ELISA kit (Cayman chemical Co, USA)를 이용하여 제조사에서 제시한 방법에 준하여 처리하고 측정하였다.

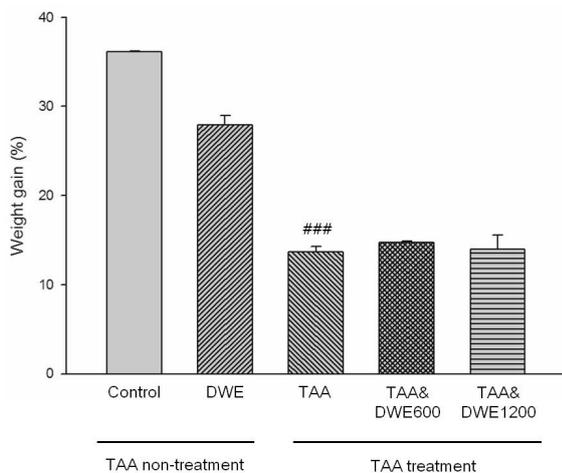
## 통계학적 분석

모든 결과는 GraphPad Instat 3.0 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA)를 이용하였으며 일원 분산분석방법으로 평균을 비교하였으며,  $P < 0.05$  수준에서 Dunnett's multiple comparison test로 사후 검정을 실시하였다.

## 결 과

### 일반증상 관찰 및 증체율

실험기간 동안 모든 군에서 사망한 동물은 관찰되지 않았으며, 활동성 저하와 같은 임상증상 또한 관찰되지 않았다. TAA 투여 및 DWE 급여가 실험동물의 성장에 미치는 영향을 확인하기 위해 투여기간 동안 조사한 증체율은 TAA 단독 투여군에서  $14.1 \pm 0.6\%$ 로 TAA 비처리군에 비해 유의적으로 낮았고, TAA 처리군 내에서 DWE 600 mg/kg 병용 투여군은  $15.5 \pm 0.05\%$ , 1,200 mg/kg 병용 투여군은  $14.8 \pm 1.39\%$ 로 DWE 투여 용량에 따른 유의적인 차이는 나타내지 않았다 (Fig. 2). 평균 사료 섭취량과 음수량은 모든 군에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다.



**Fig. 2.** Weight gain (%) of rats in each of Thioacetamide (TAA) non-treatment and TAA treatment groups. TAA treatment group showed significant decrease in body weight gain as compared to TAA non-treatment.  $###P < 0.001$  vs TAA non-treatment group.

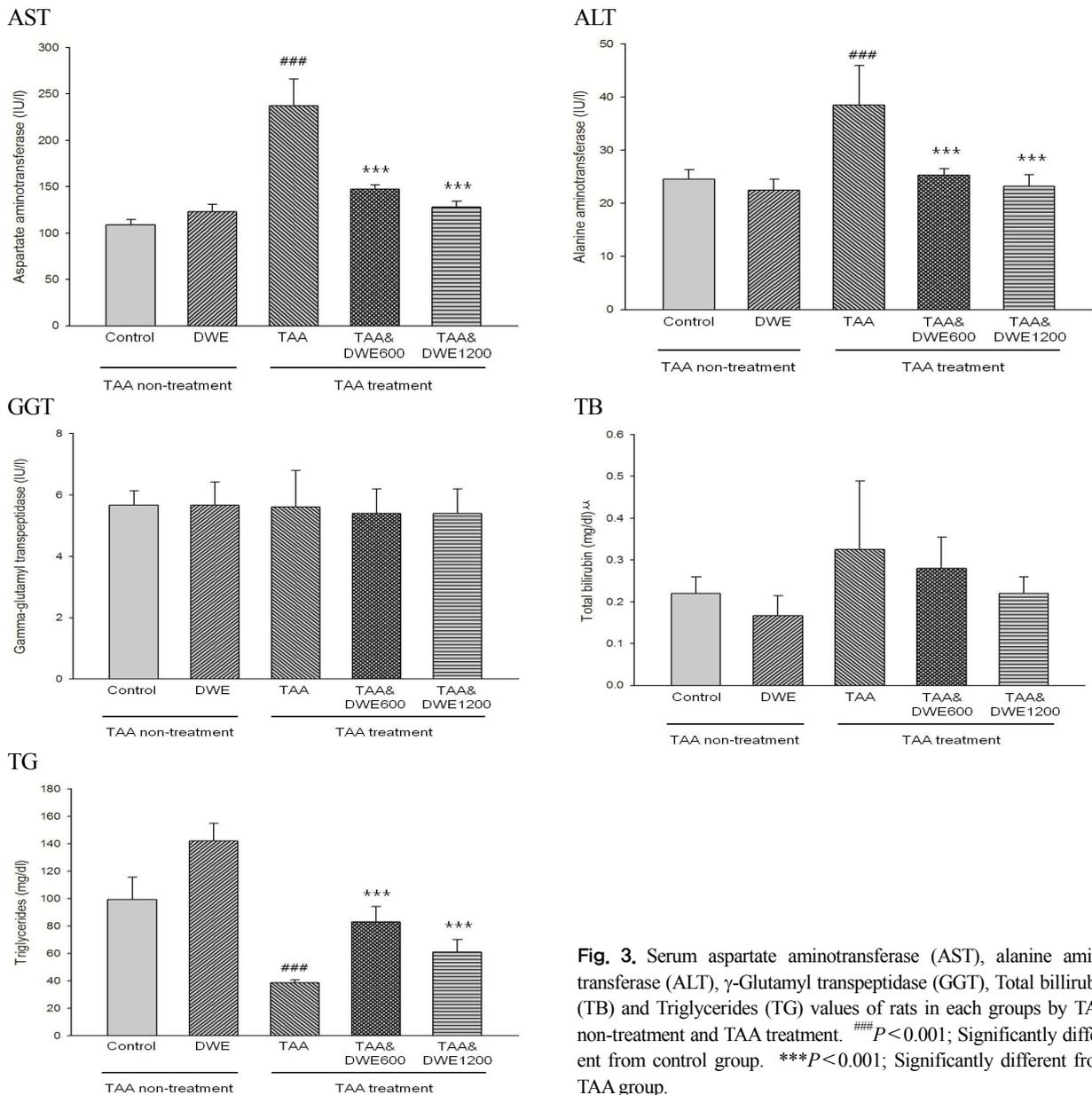
## 혈청 성분 및 혈구성분

민들레 추출물 급여에 따른 간기능 관련 혈청성분을 조사한 결과를 Fig. 3과 같다. 혈청 AST 및 ALT 수치는 TAA 비처리군과 TAA 처리군의 DWE 병용투여군 비해 TAA 단독 투여군( $237.33 \pm 28.64$  U/L,  $38.5 \pm 7.94$  U/L)에서 유의적으로 높았으며( $P < 0.001$ ), TAA 비처리군과 각각의 DWE 병용투여군과는 비슷한 경향을 나타내었다. 한편 GGT와 TB는 각 처리군별로 유의적인 차이를 나타내지 않았으나, TB의 경우 TAA 투여군이 TAA 비투여군 보다 높은 경향을 보였으며, TAA 단독투여군에 비해 DWE 병용투여군에서 용량 의존적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 혈청 TG는 TAA 단독투여군에서 TAA 비투여군과 TAA와 DWE 병용투여군 보다 유의적으로 낮은 값을 나타내었으며, DWE병용 투여군에서 용량 의존적으로 낮은 값을 나타내었다( $P < 0.001$ ).

한편 TAA 처리군 및 TAA 비처리군의 각 처리군에 대한 혈구검사 결과 총백혈구수를 비롯한 백혈구 감별계산 및 총 적혈구 수 등은 각 처리군에서 정상 범위 내에 유지되었으나, TAA 처리군의 DWE 병용 처리군에서 공히 낮은 경향을 나타내었다. 총 백혈구 수와 호중구 수는 TAA 비처리군의 DWE 급여군에서  $9.19 \pm 2.38$  K/mL와  $2.58 \pm 0.55$  K/mL였으며, TAA 단독 투여군에서는  $9.50 \pm 0.54$  K/mL와  $3.33 \pm 0.35$  K/mL, DWE 1,200 mg/kg 병용투여군에서  $8.51 \pm 1.07$  K/mL와  $2.09 \pm 0.44$  K/mL를 나타내었다.

## 항산화 효과

랫드의 간 조직에서 지질과산화물인 MDA와 비효소적 방어체계인 GSH의 농도 및 효소적 방어체제로 작용하는 CAT, GST 그리고 SOD 활성의 측정 결과는 Fig. 4와 같다. MDA는 TAA 처리군의 TAA 단독 투여군( $0.28 \pm 0.03$   $\mu$ M)에서 TAA 비처리군의 대조군( $0.19 \pm 0.02$   $\mu$ M)과 DWE 급여군( $0.21 \pm 0.02$   $\mu$ M)에 비해 유의적으로 높게 나타났으며 DWE 600 mg/kg 병용 투여군( $0.22 \pm 0.02$   $\mu$ M) 및 DWE 1,200 mg/kg 병용투여군( $0.23 \pm 0.02$   $\mu$ M) 모두에서 유의적으로 낮게 나타났으며, TAA 비처리군과 비슷하였다. 산화스트레스시 감소하는 GSH 농도는 대조군에 비해 TAA 단독투여군( $46.32 \pm 1.08$   $\mu$ M)에서 유의적으로 낮은 값을 나타내었으며( $P < 0.001$ ), TAA 처리군에서 TAA와 DWE 600 mg/kg 병용투여군( $49.52 \pm 1.09$   $\mu$ M)이 TAA 단독투여



**Fig. 3.** Serum aspartate aminotransferase (AST), alanine amino transferase (ALT),  $\gamma$ -Glutamyl transpeptidase (GGT), Total bilirubin (TB) and Triglycerides (TG) values of rats in each groups by TAA non-treatment and TAA treatment. ### $P < 0.001$ ; Significantly different from control group. \*\*\* $P < 0.001$ ; Significantly different from TAA group.

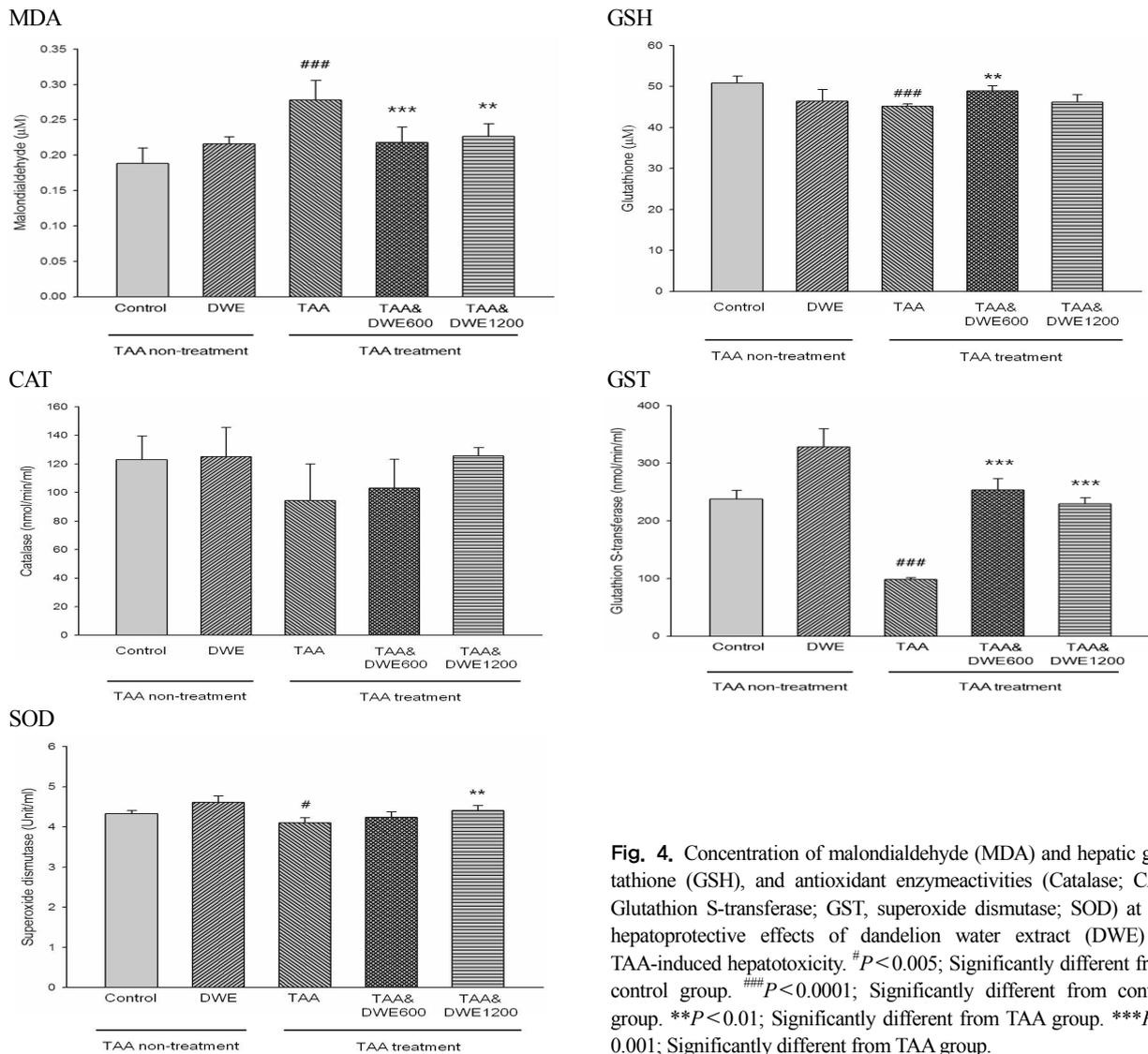
군보다 유의적으로 높았다( $P < 0.01$ ).

항산화 효소인 CAT의 활성은 통계적인 유의차가 없었으나 TAA처리군의 TAA 단독 처리군에서( $97.255 \pm 12.02$  nmol/mL/min) 가장 낮았으나 DWE 병용투여군에서 용량 의존적으로 증가하는 경향을 나타내었는데, DWE 1,200 mg/kg 병용 투여군( $125.78 \pm 6.18$  nmol/mL/min)에서 TAA 비처리군의 대조군 및 DWE 투여군과 비슷한 활성을 나타내었다.

한편 GST는 DWE 단독처리군( $335.67 \pm 21.19$  nmol/mL/min)에서 가장 높은 활성을 나타내었으며, TAA 단독 처리군에서( $98.35 \pm 3.02$  nmol/mL/min) 유의적으로

가장 낮았으며( $P < 0.001$ ), DWE 600 mg/kg ( $253.57 \pm 19.55$  nmol/mL/min)과 DWE 1,200 mg/kg ( $229.74 \pm 10.37$  nmol/mL/min)의 병용투여군에서 TAA 단독 처리군보다 유의적으로 높았으나( $P < 0.01$ ) TAA 비처리군의 대조군과 비슷한 경향이였다.

SOD의 경우 TAA 비처리 및 TAA 처리군과 비교 시 TAA 단독 투여군( $4.13 \pm 0.03$  Unit/mL)에서 유의적으로 낮았으며( $P < 0.05$ ), DWE 용량 의존적으로 증가하여, DWE 1,200 mg/kg 병용투여군( $4.55 \pm 0.15$  Unit/mL)에서 TAA 단독투여군보다 유의적으로 높았다( $P < 0.05$ ).



**Fig. 4.** Concentration of malondialdehyde (MDA) and hepatic glutathione (GSH), and antioxidant enzyme activities (Catalase; CAT, Glutathion S-transferase; GST, superoxide dismutase; SOD) at the hepatoprotective effects of dandelion water extract (DWE) in TAA-induced hepatotoxicity. #*P*<0.05; Significantly different from control group. ###*P*<0.001; Significantly different from control group. \*\**P*<0.01; Significantly different from TAA group. \*\*\**P*<0.001; Significantly different from TAA group.

## 고찰

민들레는 오랫동안 약용식물로서 사용되었으며 포공영이란 한약재로 강장, 해열, 거담 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 최근 민들레가 이노, 최담, 항염증, 진통, 항알러지, 항산화 및 항암효과 등이 알려져 있으며(Ho 등, 1998; Takasaki 등, 1999ab; Hu와 Kitts, 2003; Han 등, 2005; Schütz 등, 2006; Sigstedt 등, 2008; Han 등, 2011), 또한 항산화 기전에 의하여 간 보호효과가 있음이 보고되었다(Back, 2003; Park 등, 2008; Cho 등, 2013). 이 연구에 사용된 민들레 추출물은 서양민들레(*T. officinale*)에서 열수 추출한 것으로(Cho 등, 2013) 우리나라에 매우 널리 분포하고 있어 채취 및 이용이 용이하여(Keum, 1995), 유효성

분, 생리적인 활성 및 약리효능 등에 관한 보고가 다수 있으며(Williams 등, 1996; Kim 등, 2007; Sigstedt 등, 2008; You 등, 2010), 용매 조건을 달리한 민들레 추출물의 항산화 효과는 열수 추출물이 가장 우수한 것으로 보고되었고(Min과 Jhoo, 2013), 최근 D-Galactosamine (Park 등, 2008)과 간에서 Flavin-containing monooxygenase (FMO)에 의해 산화성변환을 받아 산화성대사산물을 생성하며, 전자친화성 대사산물인 thioacetamide S-oxide가 간세포에서 독성을 일으키거나(Porter와 Neal, 1978; Lee 등, 1998; Hajovsky 등, 2012), 간 조직에서 중심정맥 주변의 고도의 염증세포 침윤과 괴사를 나타내는(Chen, 2012; Cho 등, 2013) TAA를 단회 투여하여 유발된 간 손상에 대한 민들레열수추출물의 항산화적 간 보호 효과가 확인

되었다(Cho 등, 2013). 이 연구에서는 DWE를 20동안 경구 투여하면서 TAA를 체중 kg당 100 mg을 3일 간격으로 반복적으로 투여하여 지속적인 간 손상에 대한 DWE의 보호효과를 확인하였다.

민들레열수추출물은 비교적 안전한 물질로 FDA에서 GRAS (generally recognized as safe) 등급으로 분류되어 있으며, 사용량에 제한을 받지 않고 부작용이 없는 것으로(Bisset 등, 1994), 체중 kg 당 1,200 mg를 급여하여도 이상증상을 나타내지 않았다(Cho 등, 2013). 본 결과에서도 TAA 반복투여에 따른 간 손상에 대한 치료효과에 공시한 랫드 역시 임상증상의 발현이나 사망한 동물은 없었다. 또한 DWE를 급여한 흰쥐의 증체율이 비급여군과 비교시 유의성 있게 증가하였는데, 특히 간독성을 유발시키는 물질을 투여한 처리구에 비하여 증체율 증가하는 것으로 보고되었다(Park 등, 2008; Cho 등, 2013). 본 결과에서도 TAA 비처리군의 DWE 투여구 증체율(28.5±0.8%)이 TAA 처리구의 14~15% 증체율 보다 유의성 있게 높게 나타내고 있다. 그러나 TAA 처리구내에서 DWE 급여군의 증체율은 TAA 단독 투여구와 비슷한 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 간독성을 유발하는 물질의 투여방법의 차이에 기인한 것으로, 이전의 결과는 DWE 급여후 간독성 물질을 단회 투여하였으나 본 실험에서는 DWE의 급여와 동시에 3일 간격의 반복적인 복강내 주사로 인하여 만성적인 간독성에 기인하여 증체율이 감소된 것으로 판단된다. 최근 TAA처리하는 사료섭취량 감소를 초래하게 되며(Cho 등, 2013), Wista rat에 200 mg/kg 용량의 TAA를 1주에 3회씩 14주간 복강내 투여하였을 경우 4주째까지 증체율이 감소되었음이 보고되었다(Guerra 등, 2010).

민들레의 항염 활성은 tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ )를 억제하는 기전 등을 통해 이루어지며 여러 가지 염증 유발 물질에 대한 효과가 있는 것으로 보고되고 있다(Yasukawa 등, 1996; Seo 등, 2005; Katrin 등, 2006; Park 등, 2008). 한편 TAA는 일회 투여 후 급성 간 괴사 및 간염을 유발하고 혈액 내 염증수치를 증가시킨다고 보고되어 있다(Rouša 등, 2009), Cho 등(2013)은 TAA 단회 투여한 결과에서 백혈구와 호중구 수의 증가가 관찰되었으나, DWE 투여에 의하여 용량 의존적으로 호중구 수치가 유의적으로 감소한다고 하였다. 또한 Abbasi (2013)는 300 mg/kg의 TAA를 복강내 단회 투여한 후 12시간째에 실시한 혈구 검사에서 총 백혈구수가 증가되었으며, 특히 호중구수의 유의적인 증가가 관찰되었으나, 18

주 동안 200 mg/L 농도의 TAA를 음수 시켰을 때, 총 백혈구수와 호중구수가 유의적으로 감소를 나타냄을 보고하였다. 반복적으로 TAA를 투여한 본 결과에서는 총 백혈구 수는 TAA 비처리구의 대조군(9.40±1.40 K/ $\mu$ L)과 DWE 투여군(9.19±2.38 K/ $\mu$ L)에 비해 유의적인 차이는 없었지만 TAA 단독 투여군(9.50±0.54 K/ $\mu$ L)에서 높은 경향을 나타내어, 단회 투여한 결과와 비슷한 경향으로, 장기간 투여한 Abbasi (2013)의 결과와 차이를 보였다. 이러한 차이는 TAA의 투여방법, 용량 그리고 사육조건의 차이에 기인된 것으로 판단된다. 한편 본 결과에서 백혈구수와 호중구수가 DWE 병용 투여구에서는 낮아지는 경향을 보였다. 또한 TAA처리구의 TAA 단독 투여구와 비교시 DWE 병용 투여에서 염증지표인 호중구 및 단핵구수가 낮아지는 경향을 보였다. 이러한 점은 기 보고된 민들레 추출물의 항염 효과(Kim 등, 2000; Lee 등, 2010)를 고려할 때, DWE의 지속적인 투여가 TAA에 의해 유발된 간 손상 예방 및 치료효과가 있음을 간접적으로 추정할 수 있을 것이다.

현재 임상적으로 간기능 평가를 위한 비침습적 방법으로 혈액내 간효소치 검사, 간세포합성물질 검사, 간에서 제거하여야 하는 물질검사 등이 활용되고 있다(Batt과 Ferrari, 1995). 한편, TAA는 TAA자체 보다는 산화성 대사체가 특이적으로 간에 급성 중심소엽 괴사 및 염증세포침윤(Mangipudy 등, 1995; Lee, 1998; Choi, 2013) 및 산화적 세포 손상(Porter 등, 1979)을 일으키는 것으로 알려져 있다. 또한 간세포 장애시 활성도가 증가되어 간질환 표식자로 흔히 측정되는 혈액내 간효소치인 AST 및 ALT (Steven 등, 2008)와 같은 혈청아미노기 transaminase 상승과 간세포 괴사를 일으키고 장기간 투여 시 간암을 유발 하는 것으로 보고되었다(Kuroda 등, 1987; Lee 등, 1998; Yeh 등, 2004) 그러나 Zimmerman 등(1986)은 비교적 낮은 용량의 TAA (200 mg/kg/day의 용량)를 16주 동안 음수에 반복 투여시 AST와 ALT는 미미한 증가나 상한치를 보인다고 하였다. DWE를 지속적으로 급여하면서 3일 간격으로 100 mg/kg/day 용량을 7회 투여한 본 결과에서 혈청 AST 및 ALT의 활성은 TAA 단독 투여군에서 각각 237.33±28.64 IU/L와 38.5±7.94 IU/L로 DWE를 급여하지 않은 대조구보다 유의적으로 높았는데( $P < 0.001$ ), 이는 Choi 등(2013)과 Lee 등(1998)이 TAA 단회 투여시 AST와 ALT 활성이 증가하였다는 결과와 일치하였다. 한편 DWE 단독 급여구의 경우 DWE 비급여 대조구와 비슷한 수치를 나타내어

DWE가 단독으로 AST와 ALT의 활성에 영향을 미치지 않았음을 알 수 있었다. TAA와 DWE 병용처리군에서 AST는 TAA 비처리군 보다 높았으나 유의적인 차이를 나타내지 않았고 ALT는 TAA 비처리군과 비슷한 경향을 나타내고 있다. 또한 본 결과에서 간 실질의 손상시 합성이 감소되는 혈청 Triglyceride 수치 역시 TAA 처리군에서 유의적으로 낮은 경향을 보이고 있으나, DWE 병용처리군에서 TAA 단독처리군보다 유의적으로 높게 나타내어 Choi 등(2013)의 결과와 일치하였다. 한편 Zimmerman 등(1986)은 장기간 TAA 투여시 지질대사에 있어서 혈청 Triglyceride와 간에서 VLDL-TG 농도가 감소한다고 하였다. 간세포의 비정상적인 제거(섭취)와 중합 및 분비증가 등에 의해 높게 나타날 수 있는 혈청 총 빌리루빈의 농도는 유의적인 차이는 없었지만 TAA 처리군에서 TAA 비처리군에 비하여 높았으나 DWE 병용투여군에서 용량의존적으로 낮아지는 경향을 보였다. 이러한 결과는 TAA의 반복적인 처리에 의해 유발된 간 손상에 대하여 DWE의 장기간 급여는 유의미한 간 기능 개선 효과가 있음을 알 수 있었다.

간세포의 endoplasmic reticulum에 존재하는 약물대사효소인 Cytochrome P450은 steroid, 지방산, amine, 의약품, 화학성발암물질 및 돌연변이성 물질을 대사시킨다. 화학물질 등이 간 대사를 거치는 과정에서 대사중간체들이 형성되는데 중간체들은 전위나 효소 대사를 거쳐 안정화되는데, 일부는 고분자 물질과 반응하여 공유결합물을 형성하여 세포에 독성을 나타낸다(Lee 등, 1988; Nordmann 등, 1992). TAA는 간에서 Cytochrome P450 2E1에 의해 산화성 변환을 받아 TASO 및 TASO<sub>2</sub>와 같은 전자친화성 대사산물을 생성하여 활성산소종 매개성 산화적 스트레스를 유발하여 간세포 괴사, 간세포 증식 및 간경화 등을 일으키는 것으로 알려져 있다(Hunter 등, 1977; Dyroff와 Neal, 1983; Kim 등, 2000; Hajovsky 등, 2012).

민들레 추출물은 항산화 효과가 있는 것으로 보고되고 있다(Kang 등, 2002; Park 등, 2008; Katrin 등, 2006; Im 등, 2011; Han 등, 2011; Choi 등, 2013). Cho 등(2013)은 민들레열수추출물을 7일간 투여후 TAA 1회 투여한 결과 간 조직의 세포막에서 불포화지방산의 과산화로 생성되며 지질 과산화 반응을 반영하여 변화하는 Malondialdehyde (MDA)가(Nordmann 등, 1992) TAA 단독투여군에서 유의적으로 증가하였으며, DWE 고용량 병용 투여군에서는 TAA 단독투여군에 비해 유의미한 감소를 나타내었다고 하였다. 또

한 활성산소종의 정상 수준을 유지하는데 중요한 역할을 하는 비효소적 항산화제 중 glutathione (GSH) 수치와 효소적 항산화 기전에 관여하는 생성된 활성산소를 물로 변환시켜 체외로 배출시키는 catalase (CAT) (Halliwell, 1999; McMichael, 2007), 활성산소를 과산화수소로 변환시켜 물로 변화시키는 과정중 산화된 glutathione을 환원형으로 만드는 glutathione reductase (GR) 및 glutathione S-transferase (GST) (Eaton, 2006)를 측정된 결과 네가지 모두 TAA 단독 투여군에서 통계적으로 유의성 있는 감소를 나타냈으며 DWE 고용량 투여군에서 TAA 단독 투여군에 비해 의미 있는 증가를 나타내었다고 하였다. 또한 Park 등(2008)은 D-Galactosamine으로 산화적 손상을 유발한 간손상에서 MDA가 DWE의 용량 의존적으로 감소시켜 free radical 생성을 억제하거나 소거하여 지질과산화물을 막은 것으로 보고하였으며, superoxide anion을 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 전환시켜 생체내 손상으로부터 보호하는 glutathione peroxidase와 catalase, glutathione reductase 그리고 superoxide를 제거하는 효소인 Superoxide dismutase (SOD) 등이 DWE 용량 의존적으로 증가함을 보고 하였다. 장기간 DWE를 급여하는 과정에서 3일 간격으로 TAA를 처리한 본 결과에서도 MDA가 TAA 처리군의 TAA 단독 투여군(0.28±0.03 μM)에서 TAA 비처리군에 비해 유의적으로 높게 나타났으며, 민들레추출물의 병용 투여군 저용량(0.22±0.02 μM) 및 고용량(0.23±0.02 μM) 모두에서 유의적으로 낮게 나타내었고, 비효소적 방어체제로 작용하는 글루타치온(GSH)과 효소적 방어체제로 superoxide를 제거하는 효소인 SOD와 catalase (CAT) 등은 용량 의존적으로 감소하고 있어 이들의 결과와 일치하였다. 또한 랫트에 TAA를 음수에 300 mg/L 농도로 3개월간 투여시 MDA가 증가되고 GSH는 감소하지만, 간 보호제로 알려진 taurine (식이에 2%w/w)을 TAA와 함께 3개월간 투여하였을 때, 지질과산화물이 감소하고 있는 결과(Balkan 등, 2001)와 TAA에 의한 간 손상 유발 후 간보호제로 항산화효과가 있는 것으로 보고된 타우린(Dorgru-Abbasoglu 등, 2001), 실리마린(Chen 등, 2012) 등을 투여시 MDA 증가하고 있고 GSH가 감소하여 간보호 효과가 있는 것으로 보고한 결과와 일치하고 있다. 따라서 본 결과는 각 부위 및 추출 용매에 따라 다양한 항산화성분을 함유하고 있는 것으로 알려져 있는(Kang 등, 2002; Katrin 등, 2006; Han 등, 2010; Im 등, 2011; Gonzalez-Castejon 등, 2012) 민들레 추출물의 장기간 투여가 산화적 스트레스의 감소에 의하

여 TAA의 반복적인 투여로 유발된 산화적 간 손상에 대한 보호효과가 있음을 시사한다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 민들레 추출물은 비교적 안전한 천연추출물로 실험동물에 장기간 급여가 가능하며, 이러한 장기 급여를 통해 공시한 민들레 추출물 용량(1,200 mg/kg)에서 만성적인 산화적 간 손상 유발에 대한 보호 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

## 결 론

항산화제의 투여가 많은 질병의 예방과 치료 목적으로 이루어지고 있다. 항염, 항당뇨, 항암, 지질대사 개선 및 간 기능개선 등의 여러 효과가 알려져 있는 민들레는 테르펜, 페놀화합물, 플라보노이드 등의 다양한 항산화 물질을 함유하고 있다. 본 연구에서는 민들레의 이러한 생리 활성을 이용하여 산화적 간 손상을 일으키는 TAA에 반복적으로 노출된 랫드의 간 손상에 대한 민들레추출물의 보호 효과를 확인하였다. 공시랫드의 증체율은 TAA 비처리군 보다 TAA 처리군에서 낮았으며 DWE 급여에 따른 처리군 간의 증체율 차이는 없었다. 간기능 지표인 혈청 AST 및 ALT 수치는 TAA 단독 투여군(237.33±28.64 U/L, 38.5±7.94 U/L)에서 유의적으로 높았고, TAA 비처리군과 TAA와 DWE 병용투여군에서는 비슷한 경향을 나타내었다. 혈청 TB는 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 TAA 단독투여군에 비해 DWE 병용투여군에서 감소하는 경향을 나타내었으며, 간에서 합성되는 혈청 TG는 TAA와 DWE 병용투여군에서 TAA 단독투여군보다 유의적으로 높은 값을 나타내어 민들레 추출물의 지속적인 급여가 TAA에 반복적으로 노출된 간독성에 대한 보호효과가 있음을 확인하였다. 또한 TAA 단독 투여군에서 산화적 손상지표인 MDA (0.28±0.03 μM)가 유의적인 증가를 나타내었으나, GSH (46.32±1.08 μM), GST (98.35±3.02 nmol/mL/min), SOD (4.13±0.03 Unit/mL)는 유의적으로 낮았으며 Catalase 역시 낮게 나타내었다. 그러나 TAA와 DWE 병용투여군에서는 MDA가 유의적으로 감소하였으며, GSH, GST, SOD 및 Catalase 활성이 유의적으로 증가하고 있어 항산화적 보호효과를 확인 하였다. 이상의 결과로 민들레 열수추출물의 지속적인 급여가 TAA에 반복적으로 노출된 간 독성에 대한 보호효과가 있음을 확인 하였으며, 이를 통하여 민들레열수추출물

을 다양한 원인에 의한 산화적 간손상에 대한 보호제로 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

## 감사의 글

이 연구는 농림수산식품기술기획평가원 학술연구비 지원(Grant No. 315016-3-C00)에 의해 수행되었으며, 본 연구의 동물실험 및 분석업무의 일부는 전남대학교 동물의학연구소의 지원에 의해 수행되었다.

## REFERENCES

- Abbasi MH, Akhtar T, Malik IA, Fatima S, Khawar B, Mujeeb KA, Mustafal G, Hussain S, Iqbal J, Sheikh N. 2013. Acute and Chronic Toxicity of Thioacetamide and Alterations in Blood Cell Indices in Rats. *Journal of Cancer Therapy* 4: 251-259.
- Alfadda AA, Sallam RM. 2012. Reactive oxygen species in health and disease. *J Biomed Biotechnol* 2012, Article ID 936486, doi:10.1155/2012/936486.
- Baek H. 2003. In Vitro free radical scavenging and hepatoprotective activities of *Taraxacum mongolicum*. *Kor. J. Pharmacogn.* 34: 324-326.
- Balkan J, Doğru-Abbasoğlu S, Kanbağlı O, Cevikbaş U, Aykaç-Toker G, Uysal M. 2001. Taurine has a protective effect against thioacetamide-induced liver cirrhosis by decreasing oxidative stress. *Human & Experimental Toxicology* 20(5): 251-254.
- Batt AM, Luc Ferrari L. 1995. Manifestations of Chemically Induced Liver Damage. *Clin Chem* 41: 1882-1887.
- Bisset NG, Phillipson JD, Czygan FC, Frohne D, Höoltzel D, Nagell A, Pfander HJ, Willuhn G, Buff W. 1994. *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals: A Handbook for Practice on a Scientific Basis.* pp. 486-489. CRC Press, London.
- Chen IS, Chen YC, Chou CH, Chuang RF, Sheen LY, Chiu CH. 2012. Hepatoprotection of silymarin against thioacetamide-induced chronic liver fibrosis. *J Sci Food Agric* 92: 1441-1447.
- Cho IY, Ma SR, Moon SJ, Yu DH, Shin SS, Son CH, Oh KS, Hur TY, Jung YH, Choi CY, Suh GH. 2003. Hepatoprotective effects of the aqueous extract from *Taraxacum officinale* (Dandelion) against Thioacetamide-induced hepatotoxicity in rats. *Korean J Vet Serv* 36: 233-242.
- Dorgru-Abbasoğlu S, Kanbağlı Ö, Balkan J, Cevikbaş U, Aykaç-Tokerl G, Uysall M. 2001. The protective effect of taurine against thioacetamide hepatotoxicity of rats. *Human & experimental toxicology* 20: 23-27.
- Dyroff MC, Neal RA. 1983. Studies of the mechanism of metab-

- olism of thioacetamide S-oxidase by rat liver-microsomes. *Mol Pharmacol* 23: 219-227.
- Eaton S. 2006. The biochemical basis of antioxidant therapy in critical illness. *Proc Nutr Soc* 65: 242-249.
- Gonzalez-Castejon M, Visioli F, Rodriguez-Casado. 2012. Diverse biological activities of dandelion. *Nutrition Reviews* 70: 534-547.
- Guerra RR, Trotta MR, Aloia TPA, Dagli MLZ, Hernandez-Blazquez FJ. 2010. A novel chronic cirrhosis TAA-induced model in rats. *Braz J Vet Pathol* 3: 9-16.
- Hajovsky H, Hu G, Koen Y, Sarma D, Cui W. 2012. Metabolism and Toxicity of Thioacetamide and Thioacetamide S-Oxide in Rat Hepatocytes. *Chem Res Toxicol* 25: 1955-1963.
- Halliwell B. 1999. Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free Radic Res* 31: 261-272.
- Han SH, Hwang JK, Park SN, Lee KH, Ko KI, Kim KS, Kim KS, Kim KH. 2005. Potential effect of solvent fractions of *Taraxacum mongolicum* H. on protection of gastric mucosa. *Korean J Food Sci Technol* 37: 84-89.
- Han EK, Jung EJ, Lee TY, Jin YX, Chung CK. 2011. Antioxidative activity of ethanol extracts from different parts of *Taraxacum officinale*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 56-62.
- Han EK, Lee JY, Jung EJ, Jin YX, Chung CK. 2010. Antioxidative activities of water extracts from different parts of *Taraxacum officinale*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1580-1586.
- Ho C, Choi EJ, Yoo GS, Kim KM, Ryu SY. 1998. Desacetylmaticarin, an anti-allergic component from *Taraxacum platycarpum*. *Planta Med* 64: 577-578.
- Hu C, Kitts DD. 2003. Antioxidant, prooxidant, and cytotoxic activities of solvent-fractionated dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extracts in vitro. *J Agric Food Chem* 51: 301-310.
- Hunter AL, Holscher MA, Neal RA. 1977. Thioacetamide-induced hepatic necrosis I. Involvement of the mixed-function oxidase enzyme system. *J Pharmacol* 200: 439-448.
- Im DY, Kim SH, Hor JR. 2011. A Comparative Study on Antioxidative Activity of Extracts from *Taraxacum coreanum* and *Taraxacum officinale*. *Korean Soc Cosmology* 17: 544-549.
- Im DY, Lee KI. 2011. A Nitric oxide production inhibitory and scavenging activity and tyrosinase inhibitory activity of extracts from *Taraxacum officinale* and *Taraxacum coreanum*. *Korean J. Medical Crop Sci* 19: 362-367.
- Kang MJ, Shin SS, Kim LS. 2002. Antioxidative and free radical scavenging activity of water extract from dandelion (*Taraxacum officinale*). *Korean J Food Preserv* 9: 253-259.
- Katrin S, Reinhold C, Andreas S. 2006. *Taraxacum*-A review on its phytochemical and pharmacological profile. *Journal of Ethnopharmacology* 107: 313-323.
- Keiko Kuroda Kiyoshi Terao Mitsutaro Akao. 1987. Inhibitory Effect of Fumaric Acid on Hepatocarcinogenesis by Thioacetamide in Rats. *J Nati Cancer Inst* 79: 1047-1051.
- Kim HM, Shin HY, Lim KH, Ryu ST, Shin TY, HChae HJ, Kim HR, Lyu YS, An NH, Lim KS. 2000. *Taraxacum officinale* inhibits tumor necrosis factor alpha production from rat astrocytes. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. 22: 519-530.
- Kim JJ, Noh KH, Cho MK, Jang JH, Song YS. 2007. Anti-oxidative, anti-inflammatory and anti-atherogenic effects of dandelion (*Taraxacum officinale*) extracts in C57BL/6 mice fed atherogenic diet. *FASEB J* 21: 862-867.
- Kim YC, Rho JR, Kim KT, Cho CW, Rhee YK, Choi UK. 2008. Phenolic acid contents and ROs scavenging activity of dandelion (*Taraxacum officinale*). *Korean J Food Preserv* 15: 325-331.
- Lee HJ, Choi JH, Choi HC, Ha JH. 1998. The effect of diphenyl dimethyl dicarboxylate on thioacetamide treated acute hepatic injury. *Korean Journal of Medicine* 54: 804-813.
- Lee MH, Song SH, Ham IH, Bu YM, Kim HC, Choi HY. 2010. Anti-inflammatory effect and contents from the aerial part and root of the various *Taraxacum* spp. distributed in Korea. *Kor J Herbology* 25: 77-84.
- Mangipudy RS, Chanda S, Mehendale HM. 1995. Tissue repair response as a function of dose in thioacetamide hepatotoxicity. *Environ Health Perspect* 103: 260-267.
- McMichael MA. 2007. Oxidative stress, antioxidants, and assessment of oxidative stress in dogs and cats. *JAVMA* 231: 714-720.
- Min KC, Jho JW. 2013. Antioxidant activity and inhibitory effect of *Taraxacum officinale* extracts on nitric oxide production. *Korean J Food Sci Technol* 45: 206-212.
- Nordmann R, Ribiere C, Rouach H. 1992. Implication of free radical mechanisms in ethanol-induced cellular injury. *Free Radical Biology and Medicine* 12(3): 219-240.
- Park JH, Kweon GR. 2013. Clinical application of antioxidants. *Hanyang Med Rev* 33: 130-136.
- Park JY, Park CM, Kim JJ, Young-Sun Son YS. 2008. Hepatoprotective activity of dandelion (*Taraxacum officinale*) water extract against D-galactosamine-induced hepatitis in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 177-183.
- Porter WR, Gudzinowicz MJ, Neal RA. 1979. Thioacetamide-induced hepatic necrosis. II. Pharmacokinetics of thioacetamide and thioacetamide S-oxide in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 208: 386-391.
- Porter WR, Neal RA. 1978. Metabolism of thioacetamide and thioacetamide S-oxide by rat liver microsomes. *Drug Metabolism and Disposition* 6: 379-388.
- Roušar T, Kučera O, Křivráková P, Lotková H, Kandár R, Mužáková V, Červinková Z. 2009. Evaluation of oxidative status in acetaminophen treated rat hepatocytes in culture. *Physiol Research* 58: 239-246.
- Schütz K, Carle R, Schieber A. 2006. *Taraxacum*—A review on

- its phytochemical and pharmacological profile. *Journal of Ethnopharmacology* 107: 313-323.
- Seo SW, Koo HN, An HJ, Kwon KB, Lim BC, Seo EA, Ryu DG, Moon G, Kim HY, Kim HM, Hong SH. 2005. *Taraxacum officinale* protects against cholecystokinin-induced acute pancreatitis in rats. *World J Gastroenterology* 11: 597-599.
- Sigstedt SC, Hooten CJ, Callewaert MC, Jenkins AR, Romero AE, Pullin MJ, Kornienko A, Lowrey TK, Slambrouck SV WIM, Steelant WFA. 2008. Evaluation of aqueous extracts of *Taraxacum officinale* on growth and invasion of breast and prostate cancer cells. *Int J Oncol* 32: 1085-1890.
- Takasaki M, Konoshima T, Tokuda H, Masuda K, Arai Y, Shiojima K, Ageta H. 1999a. Anti-carcinogenic activity of *Taraxacum* plant. I. *Biol Pharm Bull* 22: 602-605.
- Takasaki M, Konoshima T, Tokuda H, Masuda K, Arai Y, Shiojima K, Ageta H. 1999b. Anti-carcinogenic activity of *Taraxacum* plant. II. *Biol Pharm Bull* 22: 606-610.
- Videla LA, Fernandez V. 1988. Biochemical aspects of cellular oxidative stress. *Archivos De Biologia y Medicina Experimentales* 21: 85-92.
- Williams CA, Goldstone F, Greenham J. 1996. Flavonoids, cinnamic acids and coumarins from the different tissues and medicinal preparations of *Taraxacum officinale*. *Phytochemistry* 42: 121-127.
- You YH, Yoo SN, Yoon HG, Park JJ, Lee YH, Kim SO, Oh KT, Lee JM, Cho HY, Jun WJ. 2010. In vitro and in vivo hepatoprotective effects of the aqueous extract from *Taraxacum officinale* (dandelion) root against alcohol-induced oxidative stress. *Food and Chemical Toxicology* 48: 1632-1637.
- Yeh CN, Maitra A, Lee KF, Jan YY, Chen MF. 2004. Thioacetamide-induced intestinal-type cholangiocarcinoma in rat: an animal model recapitulating the multi-stage progression of human cholangiocarcinoma. *Carcinogenesis* 25: 631-636.
- Zimmermann T, Franke H, Dargel R. 1986. Studies on lipid and lipoprotein metabolism in rat liver cirrhosis induced by different regimens of thioacetamide administration. *Exp Pathol* 30: 109-117.