



* 본 내용은 서울기능식품 뉴스레터 9월호에서 발췌한 내용입니다.

엔도톡신에 의한 혈전증에 미치는 프로폴리스의 효과

덕성여자대학교 약학대학
정춘식 · 정주희 · 정기화

혈전과 관련한 질환은 심근경색, 말초혈관 질환, 쇼크 및 동맥경화증 등으로 최근 산업화되고, 고령화된 개발도상국이나 선진국에서 신체상의 이상이나 죽음을 초래하는 흔한 질환 중에 하나가 되었다.

혈전의 예방 및 치료를 위해서는 항응고제로 헤파린, 와파린 및 디쿠마롤 등이 있고, 혈전용해제로 스트렙토키나제, 유로키나제 및 아미노카프로익산 등이 있으며, 항혈소판제로 아스피린, 디피리다몰 및 티클로피딘 등이 대표적으로 사용되고 있다. (Joel G. Hardman 등, 1996) 헤파린은 합병증으로 출혈이 나타나 용량의 조절과 환자 선정이 국한되어 있으며, 유로키나제 등은 소아 혹은 치유 도중인 상처, 외상이나 악성 종양을 가진 환자에게 사용 금기로 이용에 어려움이 있으며 주사제로 인한 불편함을 해소하기 위하여 경구용 제제의 개발에 중점을 두고 있다.

프로폴리스는 벌집으로부터 채취한 수지상의 물질로 독특한 방향성과 점착성을 가졌으며, 성상은 채취장소와 시간에 따라 다르다. 국내에서는 1990년대 초 건강식품으로 소개되어 염증성 질환이나 심장 질환 및 당뇨병을 비롯하여 암에 이르기까지 치료효과가 소개되고 있다. (Han S. K. 과 Park, H. K 1996).

프로폴리스 성분중의 하나인 크리신은 항위염 및 항위궤양 작용(Jeong C. S 등, 1999; Jung. K. H 등, 1999), low-density lipoprotein(저밀도 지단백)에 대한 항산화 효과(Myra I. 등, 1993) 및 저혈당 효과(Shin J.S 과 Kim K.S., 1999)가 있다. 또한 간 마이크로솜에서 생체활성(Nielsen S. E. 등, 1995)에 대해서도 연구되고 있다.

본 실험에서는 프로폴리스의 성분인 크리신의 적혈구막 안정화 작용 및 혈소판 응집 억제 작용을 in vitro에서에서 확인하고, 그람음성세균에서 생성되는 내독소이며, protein-lipopolysaccharide의 복합체인 엔도톡신에 대한 혈액응고시간, 프로트롬

빈 시간, 피브리노겐 량 및 FDP량으로 항혈전작용을 검색하였다. 또한 항산화 작용의 측정을 통해 혈액 응고 기전과 관련이 깊은 간세포에 있어서 SOD 활성도, GSH량, GST활성도 및 지질과산화물량을 측정하였다.

결과 및 고찰

혈소판 응집 억제 작용

PRP 자체를 관찰하였을 때는 응집이 일어나지 않은 상태(-)이나 응집유도 물질로 콜라겐과 엔도톡신을 첨가한 PRP에서는 혈소판들이 응집(+++)을 일으킬 수 있었다.

프로폴리스의 성분인 크리신을 첨가한 PRP의 응집 정도는 대조군을 콜라겐으로 한 경우에는 응집도를 +로, 대조군을 엔도톡신으로 한 경우에는 응집도를 ±감소함을 보였다.

혈소판 응집유도 물질에 대하여 크리신 투여군은 혈소판 활성화의 억제로 혈소판 응집을 저해하여 혈전증 또는 혈소판 활성화에 의하여 발현되는 다른 병적 과정의 예방과 치료효과가 기대되어진다.

혈액응고시간

혈액응고시간은 혈소판 결핍과 기능이상 및 혈액응고인자의 결핍 등에 의해 일어날 수 있는 질환들을 판정하는 데 응용되는 방법으로 정상군이 113.83 sec인데 비하여 대조군은 160.68 sec로 대조군에 비하여 유의성이 있는 감소를 보임으로써 혈소판과 혈액응고제의 이상이 있는 대조군에 대하여 항혈전 작용이 있다고 생각된다.

프로트롬빈 시간

정상군이 16.20 sec 인데 비하여 대조군은 20.25 sec로 프로트롬빈 시간이 연장되었으며, 크리신 투



여군은 16.53 sec로 대조군에 비하여 유의성 있는 시간의 단축을 보였다. 이는 크리신 투여군이 엔도독신을 투여하여 일어나는 혈액응고계의 손상에 대하여 억제력을 보인 것으로 항혈전 작용이 공통인자 경로에서도 나타났음을 확인할 수 있었다.

피브리노겐 함량

심근경색, 간질환, 괴저성 병변 및 출혈증과 같은 질환의 예측 및 치료에 유용하게 응용되고 있는 혈장내의 피브리노겐 양은 크리신 투여군에서 59.38mg/mL로 대조군 35.69 mg/mL에 비하여 유의성 있는 증가를 보였다. 엔도독신은 혈액의 응고 작용이 항진되어 혈전을 형성하므로 피브리노겐의 소비량이 많아져 정상군에 비해 대조군에서 피브리노겐의 양이 감소된 것으로 보여진다. 크리신 투여군에 피브리노겐의 양이 대조군에 비해 증가한 것은 엔도독신에 의해 항진되는 혈액 응고 작용이 억제된 것으로 보여진다.

FDP함량

FDP는 항 피브린항체에 대해 정량적으로 응집 반응하는 것을 이용하여 측정하는 방법이다. 크리신 투여군의 FDP 양은 3.6 μ g/mL로 대조군 6.5 μ g/mL에 비해 감소하였다. FDP가 생성되지 않은 정상군에 비하여 FDP 양이 증가된 대조군은 혈전의 형성에 의한 것으로 생각할 수 있었고, 크리신은 혈전 형성을 억제함으로써 FDP양이 감소되었다고 보여진다.

적혈구막 안정화 작용

가열에 의한 적혈구의 용혈에 대한 억제작용을 확인하기 위한 적혈구막 안정화 작용은 540 nm에서 대조군의 흡광도가 0.5661인데 비해 크리신 투여량에 따라 0.1mg에서 0.4763, 1mg에서 0.4718, 10mg에서 0.4502 및 20mg에서 0.4299로 흡광도가 감소하였다. 크리신 투여군은 가열에 의한 적혈구막 손상을 억제하는 작용이 있음을 알 수 있었고 크리신 투여군의 적혈구막 보호작용은 혈액 응고 축진을 억제하는 작용이 있다고 생각된다.

SOD 활성도

Superoxide anion radicals에 의해 생기는 산화적 손상에 대한 세포의 방어에 관여하는 SOD의 활성도는 대조군이 1.16 unit/mg protein인데 비

하여 크리신 투여군은 1.86 unit/mg protein 으로 SDO 활성도가 증가하였다. 크리신 투여군은 Superoxide anion radicals에 의해 생기는 산화적 간세포 손상에 대해 보호 효과가 있다고 생각된다.

GSH 함량

과산화지질에 의한 조직 손상의 방어 인자인 GSH 함량은 대조군은 42.26M/g liver인데 비해 크리신 투여군은 46.72M/g liver로 GSH의 함량이 투여군에 비하여 유의성 있게 증가하여 조직 손상이 억제된 것으로 생각된다.

GST 활성도

GST는 GSH과 oxygen radical 및 친전자성 xenobiotics가 포함하여 해독화 시키는데 관여하는 효소이다. GST의 활성도는 대조군이 3.31mol/min/mg protein으로 유의성있게 증가하였다. 크리신은 항산화 작용을 통해서 GST의 활성이 증가하여 조직의 손상을 보호하는 것으로 보여진다.

지질과산화물 함량

MDA는 세포막의 인지질이 유리기의 공격을 받아 분해되었을 때에 생성되는 산물로 세포막의 손상 정도를 측정할 수 있다. MDA를 측정된 결과 대조군은 69.48nmol/g liver로 혈소판이 많이 응집되어 정상군보다 MDA양이 증가되었으나, 크리신 투여군은 60.12 nmol/g liver로 프리라디칼에 의한 지질과산화물을 억제하여 간세포를 보호 할 뿐 아니라 트롬복산 합성을 저해하여 혈액응고를 억제한 것으로 보여진다.

이상의 결과, 크리신으로 혈소판 응집 억제 작용, 혈액응고시간, 프로트롬빈 시간, 피브리노겐 및 FDP의 측정으로 항혈액응고 작용을 확인하였고, 또한 적혈구막 안정화 작용, SOD의 활성도 증가, GSH의 증가, GST 활성도의 증가 및 MDA의 감소를 통해서 radicals에 의한 항산화 효과로 세포 손상 보호 효과를 관찰하였다. 따라서 프로폴리스의 성분인 크리신의 항 혈전 작용은 직접적인 혈액응고활성억제와 간세포의 항산화작용에 의한 보호 효과임을 확인하였다.