

인삼이 PTU (6-n-propyl-2-thiouracil)로 유발된 Rat 갑상선 기능저하증에 미치는 영향

김 승 모*

대구한의대학교 한의과대학 간계내과학교실

Effects of Ginseng Radix on the Rat Hypothyroidism Induced by PTU (6-n-propyl-2-thiouracil)

Seong-Mo Kim*

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University

ABSTRACT

Object : This study was to evaluate the effect of Ginseng Radix, aqueous extracts of the root part of Panax ginseng on the 6-n-propyl-2-thiouracil(PTU)-induced rat hypothyroidism.

Methods : Aqueous extracts of Ginseng Radix(GR; yield = 11.70%) were administered, once day for 42 days from 2 weeks before start of PTU treatment as an oral dose of 300 and 150 mg/kg(body weight), and hypothyroidism was induced by daily subcutaneous treatment of PTU 10mg/kg for 28 days. The changes in the body weight, thyroid gland weights, serum levels of thyroid hormone-thyroid stimulating hormone(TSH), tri-iodothyronine(T3) and thyroxine(T4), total cholesterol, low density lipoprotein(LDL), high density lipoprotein(HDL) and triglyceride, liver antioxidant defense system-lipid peroxidation, H₂O₂, superoxide dismutase(SOD) and catalase(CAT) were observed with histopathology of thyroid glands.

Results : Results were compared with LevoT4 0.5mg/kg treated rats. GR extracts suppressed the decreases in the body weight, thyroid gland weights, T3 and T4, TG, liver H₂O₂ and SOD activities as results of PTU treatment. And GR extracts suppressed the increases of HDL contents, liver CAT activities, thyroid gland weight as results of PTU treatment. In addition, marked hyperplasia of follicular cells with decreases of follicular colloid contents and sizes were demonstrated at histopathological inspections. However, these PTU-induced histopathological changes related to hypothyroidism were dramatically decreased by treatment of both different dosages of GR extract, respectively

Conclusions : This study suggest that GR extracts have favorable effects on the thyroid hormone productions with beneficial effects on the hypothyroidism mediated by the modulatory effects on the antioxidant defense system.

Key words : Ginseng Radix, hypothyroidism

서 론

갑상선 기능저하증이란 갑상선의 이상이나 시상하부와 뇌하수체의 기능 이상 및 갑상선호르몬 생합성 중간단계의 장애로 인해 갑상선호르몬이 부족한 탓은 대사 상태를 의미하며, 원인에 따라 일차성 갑상선 기능저하증과 중심성 갑상선 기능저하증으로 분류된다¹⁾. 갑상선 기능저하증은 매우 서서히 진행되는 질환이므로 인식하기 어려운 경우가 많고, 임상증상은 질병의 진행 정도에 따라 매우 다양하나, 일반적으로, 피로

및 쇠약감, 추위에 민감, 체중증가, 무기력, 무력감, 기억력감퇴, 식욕감퇴, 근육통, 관절통, 발한감소가 나타난다²⁻³⁾. 갑상선 호르몬인 thyroxine(T₄)가 에너지 대사와 당, 지방 및 단백질 대사에 관여하므로, 기초대사율 저하, 장 포도당 흡수저하, 고콜레스테롤혈증, 단백질 합성저하 및 점액수종 등이 발생한다. 또한 thyroxine(T₄)는 골성장과 골단폐쇄를 돕고 정신기능을 자극하며, catecholamine 동원작용이 있어, 성장 지연, 지능발달지연, 심박출량 감소 및 심박수 저하 등이 초래된다⁴⁾.

*교신저자 : 김승모, 대구광역시 수성구 상동 165번지 대구한의대학교 한의학과 간계내과학교실.

· Tel : 053-651-2600, · Fax : 053-651-2600, · H.P : 010-8585-9824, · E-mail : heuwon@hanmail.net

· 접수 : 2010년 8월 5일 · 수정 : 2010년 8월 31일 · 채택 : 2010년 9월 13일

갑상선 기능저하증의 치료는 부족한 갑상선 호르몬을 외부에서 공급하여 보충해주는 것으로, 일생동안 약물을 복용해야 하며, 특히 주로 사용되는 Levothyroxine(LT₄)는 급성 심근경색이나 불안정성 협심증 등의 허혈성 심질환의 위험성, 갑상선 호르몬 요구량의 변화, LT₄를 보충해도 임상증상의 개선이 없는 경우도 발생하는 등 여러 가지 문제점을 가지고 있다^{1,4-6}). 또한 갑상선 기능저하증에서는 일반적인 기초 대사량의 감소로 인한 세포 호흡이 억제되어, 지질과산화가 억제되고, high density lipoprotein(HDL) 및 low density lipoprotein(LDL) 함량 증가가 초래되며, 이와 함께 superoxide dismutase(SOD)의 경미한 증가와 catalase(CAT)의 현저한 감소에 따른 과산화수소 (H₂O₂)의 간 조직내 축적 등과 함께 다양한 체내 손상이 유발되는데, 이러한 갑상선 기능저하증 소견은 항산화제의 투여에 의해 현저히 감소되는 것으로 알려져 있다⁷⁻⁸). 따라서 최근 부작용이 적고, 강력한 항산화 효과를 나타내는 천연물 유래의 갑상선 기능저하증 치료제의 개발이 주목 받고 있는 실정이다⁹⁻¹⁰).

6-n-propyl-2-thiouracil(PTU MW = 170.2)은 갑상선의 기능을 억제하는 항갑상선제로서 iodine과 tyrosine의 결합을 억제하는 작용을 하여, TSH의 증가와 함께 tri-iodothyronine (T₃) 및 T₄의 절대적 감소를 유발하며, 비활동성 갑상선 종대(simple goiter)유발 하므로, 현재 갑상선 기능저하증 유발에 가장 흔히 사용되고 있다¹¹).

한의학적으로 갑상선 기능저하증은 浮腫, 虛勞, 行遲, 語遲, 結陽證, 解 등에 속한다고 볼 수 있으며, 그 원인은 주로 氣血不足, 脾腎陽虛, 命門火衰, 心腎陽虛 등이고, 補氣補血, 溫補脾腎, 溫補腎陽, 溫補心陽하는 大營煎, 右歸飲, 八味地黃丸, 十全大補湯, 補中益氣湯 등이 應用되고 있다¹²).

인삼(Ginseng Radix)은 오가과 (Araliaceae)에 속한 다년생 초본인 인삼 (Panax ginseng CA Meyer)의 뿌리로, 大輔元氣, 補裨益氣, 生津止渴 및 寧神益智의 효능이 있다¹³). 현재 인삼의 유효 성분인 다양한 종류의 ginsenoside가 규명되어 있으며¹⁴), 면역활성¹⁵), 항염¹⁶), 생식 호르몬 활성 작용¹⁷), 항산화¹⁸), 중추신경 조정 기능¹⁹), 항스트레스²⁰), 혈당 강하²¹), 혈관 확장²²), 지질 억제²³) 및 발기력 향상²⁴) 효과가 알려져 있다. 또한 갑상선 기능저하증 자체에 대한 효과는 아직 알려져 있지 않으나, 인삼 추출물이 갑상선 기능저하증시 초래되는 지질 변화 및 간 손상을 효과적으로 억제하는 것으로 알려져 있으며²⁵), 인삼수침이 PTU 유발 갑상선 기능저하증에서 현저한 혈중 TSH의 감소와 T₃ 및 T₄ 함량의 증가를 초래하여 유효한 것으로 알려져 있다²⁶).

본 연구에서는 인삼 추출물의 경구 투여가 PTU로 유발된 rat 갑상선 기능저하증에 미치는 영향을 평가하기 위하여, 300 및 150mg/kg의 인삼 물 추출물을 PTU 처리시작 2주전부터 6주간 투여하고, 체중, 갑상선 중량, 혈중 갑상선 호르몬(TSH, T₃ 및 T₄) 함량, 혈중 지질(total cholesterol, HDL, LDL 및 triglyceride) 함량, 간 항산화 방어 system(lipid peroxidation, H₂O₂, SOD 및 CAT)의 변화를 갑상선의 조직병리학적 변화와 함께 관찰하였다. 또한 본 실험에서의 결과는 LT₄ 0.5mg/kg 복강 투여군과 비교하였다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

40 마리의 수컷 Sprague-Dawley rat(6-wk old upon receipt, SLC, Japan)를 7일간의 순화과정을 거쳐 실험에 사용하였으며, 순화과정 및 실험 전 기간 동안 온도 (20-25℃)와 습도(30-35%)가 조절된 사육실에서 polycarbonate 사육상자에 4 마리씩 수용하여 사육하였고, 명암 주기(light : dark cycle)는 12시간 주기로 조절하였으며, 사료 (Samyang, Korea)와 음수는 자유롭게 공급하였다. 모든 실험동물은 인삼 추출물 투여 시작일 및 최종 부검일 18시간 전 절식을 실시하였으며(이 기간에도 음수는 자유롭게 공급하였다), picric acid로 개체를 식별하였다. 본 실험은 대구한의대학교 동물윤리위원회 동물실험 윤리규정을 준수하여 실시하였다.

2) 약재 및 추출

국내산 인삼(5년근 금산)을 엄선 구입·정선하여, 대구한의대학교 본초학교실에서 감정한 후 실험에 사용하였다. 선정된 인삼 5kg을 취하여 정제수 50,000ml로 가열 추출한 후(60℃, 3시간, 3번), 흡인 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator(Rotavapor R144 Büchi Labortechnik AG, Switzerland)로 감압·농축하여, 점조성의 추출물을 얻은 다음 programmable freeze dryer(Freezone 1; Labconco Corp., MO, USA)를 사용하여, 동결 건조시켜 총 585g(수율 11.70%)의 연갈색의 물 추출물을 얻어 실험에 사용하였다. 준비한 인삼 추출 동결건조물은 -20℃로 냉동 보관 후 실험에 사용하였으며, 본 실험에서 사용한 용매인 증류수에 60mg/ml의 농도까지 비교적 잘 용해되었다.

2. 방법

1) 실험군 배정 및 약물 투여

실험동물은 군당 8마리씩 5그룹 - 정상 대조군, PTU 대조군, LT₄ 투여군 및 2 용량(300 및 150mg/kg) 투여군으로 구분하여 실험하였다. 600 또는 300mg의 인삼 추출물을 각각 10ml의 멸균 증류수에 용해시켜, kg당 5ml/kg의 용량으로 존데(zonde)가 부착된 5ml 주사기를 이용하여 매일 1회씩 PTU 투여 시작 2주전부터 42일 동안 강제 경구 투여하였으며, 2.5mg의 LT₄(Sigma, MO, USA)를 10ml의 생리 식염수에 용해 시켜, kg당 2ml의 용량으로, PTU 투여 시작일로부터 28일간 매일복강 주사하였다. 정상 및 PTU 대조군에서는 동일한 용량의 멸균 증류수를 인삼 추출물 투여군과 동일한 기간 동안 경구 투여하였다.

(Experimental grouping used in this study)

| Goup ID | No. of animals | Treatment |
|-----------------|----------------|---|
| Intact control | 8 | saline treated instead of PTU, and distilled water orally administered group |
| PTU control | 8 | PTU subcutaneously treated and distilled water orally administered group |
| LT ₄ | 8 | PTU subcutaneously treated and LT ₄ 0.5mg/kg intraperitoneally treated group |
| GR 300 | 8 | PTU subcutaneously treated and GR extracts 300mg/kg orally administered group |
| GR 150 | 8 | PTU subcutaneously treated and GR extracts 150mg/kg orally administered group |

2) 갑상선 기능저하증의 유발

50mg 의 PTU(Sigma, MO, USA)를 10ml생리 식염수에 용해시켜, kg 당 2ml의 용량으로 매일 1회씩, 28일간 매일 등쪽경부 피하에 주사하여, 갑상선 기능저하증을 유발하였다. 정상 대조군에서는 PTU 대신 동일한 용량의 생리 식염수만 동일한 방법과 기간 동안 투여하였다.

3) 체중의 측정

인삼 추출물 투여 시작 1일 전, 투여 시작일, 투여 7, 14(PTU 및 LT₄ 투여 시작일), 21, 28, 35, 41 및 42(최종 희생일)일 후에 각각 측정하였으며, 사료섭취에 따른 체중 변화를 최소화하기 위해 인삼 추출물 투여시작일 및 최종 희생일에 모든 실험동물은 18시간 정도 절식시켰다. 실험 시작시의 개체 차이에 의한 체중 변화를 최소화하기 위해 2주간의 인삼 추출물 전 투여기간, 4주간의 PTU 투여기간 및 6주간의 실험 전 기간 동안의 체중 변화량인 증체량(body weight gains)을 각각 측정하였다.

4) 갑상선 중량 측정

최종 희생일에 모든 실험동물의 좌측 갑상선을 적출·분리한 후, 중량을 측정하였다. 절대 중량(absolute weight)으로 하였으며, 체중의 변화에 수반된 이차적 변화를 최소화하기 위해 체중에 대한 갑상선 절대중량의 비율인 상대 중량(relative thyroid gland weights = Absolute kidney weight / Body weight at sacrifice) × 100)을 산출하였다.

5) 채혈 및 혈청의 분리

최종 희생일에 모든 실험동물을 18시간 이상 절식 후 후대 정맥(vena cava)에서 각각 6ml의 혈액을 채취하였으며, 상온에서 1시간 정도 방치한 다음 3,000rpm으로 원심분리하여 혈청을 분리하였고, 분석 전까지 -70℃의 초저온냉장고(Deep freezer)에 보관하였다.

6) 혈청 중 갑상선 호르몬 함량의 측정

Radioimmunoassay법²⁷⁾에 준하여 혈청 중 TSH, T₃ 및 T₄ 함량을 각각 Coat A count Total TSH, T₃ 또는 T₄ kit(DPC, CA, USA)를 사용하여, Gamma count Cobra II(Packard Co., IL, USA)로 ng/ml 또는 µg/ml 단위로 측정하였다.

7) 혈청 중 지질 함량의 측정

자동혈액분석장치(Toshiba 200 FR, Japan)를 이용하여 혈청 중 total cholesterol, HDL, LDL 및 triglyceride 함량을 각각 mg/dl 단위로 측정하였다.

8) 간 항산화 방어 system의 측정

적출한 간의 일부 조직을 얼음으로 냉각(ice-cold) 한 0.01M Tris-HCl(pH 7.4)을 이용하여 homogenize 한 다음, 800×g으로 10분간 원심분리하여 상층액을 분리하고, 다시 12,000×g으로 15분간 원심분리하여, mitochondrial fraction을 준비하였다. 이 후 단백질 함량은 bovine serum albumin을 standard로 이용하여 측정하였으며, 지질 과산화 정도 (lipid peroxidation)는 2-thiobarbituric acid를 이용

하여, 흡광도 525 nm에서 측정하여 malondialdehyde(MDA) nm/mg protein 단위로 측정하였다²⁸⁾. H₂O₂ 함량은 horseradish peroxidase(Sigma, MO, USA)와 phenol red(Wako, Japan)를 이용하여, nM/mg protein 단위로 spectrophotometry로 측정하였으며²⁹⁾, H₂O₂ 분해 능을 이용하여 catalase 함량을 흡광도 240nm에서 측정하였다. 즉, pH 7.0, 온도 25℃이하에서 1µ mol의 H₂O₂를 분해하는데 필요한 catalase를 1 unit(U)로 정의하여, U/mg protein의 단위로 catalase의 활성을 평가하였고, SOD 활성은 nicotinamide adenine dinucleotide(reduced)-phenazine methosulphate-nitrobluetetrazolium 억제 반응을 변형시킨 Kakkar et al.³⁰⁾를 이용하여 평가하였다. SOD 1 unit는 상온(25±2℃)에서 1분 동안 formazan 형성을 50% 억제하는 농도로 정의하여, U/mg protein 단위로 측정하였다.

9) 조직병리

최종 희생일에 좌측 갑상선 조직을 적출한 다음 세포로 절단하고, 10% 중성포르말린에 18시간 이상 고정시킨 다음, 탈수를 거쳐 파라핀 포매 후 4µm의 절편을 제작하였다. 이후 Hematoxylin & eosin(H&E) 염색을 실시하고 광학현미경 하에서 관찰하였다. 세포 절단한 갑상선 전체 두께(mm /central regions), 평균 갑상선 여포 직경(µm/follicle) 및 피막 두께(µm/thyroid)를 각각 CCD image analyzer(DMI-300, DMI, Korea)를 이용하여 측정하였다.

3. 통계처리

모든 수치는 평균 ± 표준편차로 표시하였으며, 다중비교 검증을 이용하여 통계처리를 실시하였고, 분산동질성을 Levene test를 실시하여 검증하였다. 등분산일 경우, one way ANOVA test를 실시한 다음 least-significant differences(LSD) test로 사후 검증을 실시하여 군간의 유의성을 측정하였다. 비등분산일 경우에는 비모수 검증인 Kruskal-Wallis H test를 실시하여 유의성이 인정된 경우에는, Mann-Whitney U test를 실시하여 군간의 유의성을 검증하였다. 모든 통계처리는 SPSS for Windows(Release 14.0K, SPSS Inc., USA)를 이용하여 평가하였으며, p-value가 0.05 이하인 경우 통계적 유의성을 인정하였다.

결 과

1. 체중의 변화

정상 대조군에 비해 PTU 대조군에서는 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) 체중의 감소가 PTU 투여 2주 후부터 인정되기 시작하여, 4주간의 PTU 투여기간 및 6주간의 실험 전 기간 동안의 증체량 역시 정상 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 감소를 각각 나타내었다. LT₄ 투여군에서는 투여 2주 후부터 PTU 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) 체중의 증가가 인정되기 시작하여, PTU 투여기간 및 실험 전 기간 동안의 증체량이 PTU 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 증가를 각각 나타내었고, 인삼 추출물 300

및 150mg/kg 투여군에서는 PTU 대조군에 비해 유의성 있는 체중의 변화는 인정되지 않았으나, PTU 대조군에 비해 PTU 투여기간 및 실험 전 기간 동안의 증체량의 현저한 증가가 각각 인정되었다(Table 1).

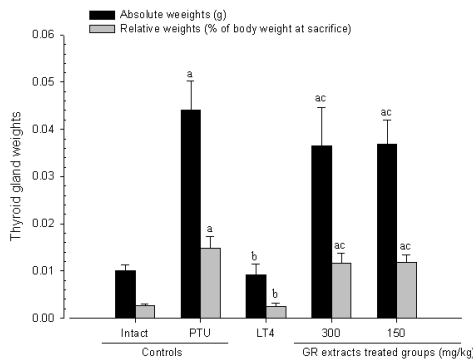
Table 1. Changes on the body weight gains after LT₄ and GR extracts treatment in PTU treated rats

| Groups | Body weight gains during | | |
|-------------------------------|-------------------------------------|---------------------------|------------------------------|
| | 2 weeks of GR extracts pretreatment | 4 weeks of PTU treatment | 6 weeks of total experiments |
| Controls | | | |
| Intact | 125.75±7.36 | 61.13±13.59 | 186.88±19.48 |
| PTU | 127.38±7.11 | -18.38±5.53 ^a | 109.00±7.15 ^a |
| LT ₄ treated group | | | |
| 0.5 mg/kg | 125.50±5.88 | 50.88±14.10 ^a | 176.38±14.53 ^a |
| GR extracts treated groups | | | |
| 300 mg/kg | 122.25±10.05 | -2.13±6.85 ^{ab} | 120.13±13.05 ^a |
| 150 mg/kg | 131.00±7.07 | -10.00±5.83 ^{ab} | 121.00±10.20 ^{ac} |

Values are expressed as mean ± S.D. g of eight rats
^a p<0.01 as compared with intact control by MW test
^b p<0.01 and ^c p<0.05 as compared with PTU control by MW test

2. 갑상선 중량의 변화

PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는 (p<0.01) 절대 및 상대 갑상선 중량의 증가가 인정되었으나, LT₄ 및 두 용량의 인삼 추출물 투여군에서는 PTU 대조군에 비해 각각 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) 절대 및 상대 갑상선 중량의 감소가 각각 인정되었다(Fig. 1).



Values are expressed as mean ± S.D. of eight rats
^a p<0.01 as compared with intact control by MW test
^b p<0.01 and ^c p<0.05 as compared with PTU control by MW test

Fig. 1. Thyroid gland weight changes after LT₄ and GR extracts treatment in PTU treated rats

3. 혈청 중 갑상선 호르몬 함량의 변화

PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는 (p<0.01) 혈청 중 TSH 함량의 증가가 T₃ 및 T₄ 함량의 감소와 함께 인정되었다. LT₄ 및 300mg/kg의 인삼 추출물 투여에서는 PTU 대조군에 비해 TSH 함량의 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) 감소가 인정되었으며, 150mg/kg의 인삼 추출물 투여군에서도 유의성은 인정되지 않았으나, 현저한 혈청 중 TSH 함량의 감소가 인정되었다. LT₄ 및 두 용량의 인삼 추

출물 투여에서 PTU 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) 혈청 중 T₄ 함량의 증가가 각각 인정되었으나, T₃ 함량은 PTU 대조군과 유사하게 인정되었다(Table 2).

Table 2. Changes on the serum thyroid hormone levels after LT₄ and GR extracts treatment in PTU treated rats

| Groups | Serum levels | | |
|-------------------------------|-------------------------------------|---------------------------|-------------------------|
| | Thyroid stimulating hormone (ng/ml) | Tri-iodothyronine (ng/ml) | Thyroxine (µg/ml) |
| Controls | | | |
| Intact | 14.18±2.54 | 73.54±2.98 | 4.38±0.43 |
| PTU | 55.48±11.68 ^a | 18.95±3.68 ^a | 0.85±0.23 ^a |
| LT ₄ treated group | | | |
| 0.5 mg/kg | 12.51±0.80 ^b | 18.55±3.57 ^a | 6.65±1.27 ^{ab} |
| GR extracts treated groups | | | |
| 300 mg/kg | 44.38±4.84 ^{ac} | 19.35±1.28 ^a | 1.69±0.31 ^{ab} |
| 150 mg/kg | 47.03±4.69 ^a | 19.56±1.01 ^a | 1.29±0.38 ^{ac} |

Values are expressed as mean ± S.D. of eight rats
^a p<0.01 as compared with intact control by MW test
^b p<0.01 and ^c p<0.05 as compared with PTU control by MW test

4. 혈청 중 지질 함량의 변화

PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는 (p<0.01) 혈청 중 HDL은 증가를 나타내었으며, 혈청 중 triglyceride는 유의성 있는(p<0.01) 감소를 나타내었으나, LT₄ 투여군에서는 PTU 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 혈청 중 HDL의 감소 및 triglyceride 함량의 증가를 각각 나타내었고, 두 용량의 인삼 추출물 투여군에서는 PTU 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 혈청 중 triglyceride 함량의 증가를 각각 나타내었다. PTU 투여에 의해 의미 있는 혈청 중 total cholesterol 및 LDL의 변화는 인정되지 않았다 (Table 3).

Table 3. Changes on the serum lipid levels after LT₄ and GR extracts treatment in PTU treated rats

| Groups | Serum levels (mg/dl) | | | |
|-------------------------------|----------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | Total cholesterol | Low density lipoprotein | High density lipoprotein | Triglyceride |
| Controls | | | | |
| Intact | 68.61±8.75 | 15.29±2.13 | 28.19±4.88 | 94.04±22.34 |
| PTU | 71.46±7.55 | 16.51±1.91 | 45.74±6.80 ^a | 38.63±6.07 ^c |
| LT ₄ treated group | | | | |
| 0.5 mg/kg | 65.80±8.44 | 15.58±2.67 | 29.36±5.13 ^a | 83.88±16.70 ^f |
| GR extracts treated groups | | | | |
| 300 mg/kg | 69.96±11.08 | 17.29±1.48 | 49.71±6.17 ^a | 68.71±13.55 ^{df} |
| 150 mg/kg | 70.43±9.52 | 18.00±2.57 ^b | 49.48±5.37 ^a | 50.11±6.01 ^{ef} |

Values are expressed as mean ± S.D. of eight rats
^a p<0.01 and ^b p<0.05 as compared with intact control by LSD test
^c p<0.01 and ^d p<0.05 as compared with intact control by MW test
^e p<0.01 as compared with PTU control by LSD test
^f p<0.01 as compared with PTU control by MW test

5. 간 항산화 방어 system의 변화

PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 없는 경미한 지질 과산화 (MDA 함량)의 감소가 인정되었으나, 유의성 있는(p<0.01) H₂O₂ 및 SOD 활성의 증가와 CAT 활성의 유

의성 있는($p < 0.01$) 감소가 함께 인정되었다. LT_4 및 두 용량의 인삼 추출물 투여군에서는 PTU 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$) MDA 함량 및 CAT 활성의 증가가 H_2O_2 함량의 감소와 함께 인정되었다. LT_4 투여군에서는 PTU 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) SOD 활성의 감소가 인정된 반면, 두 용량의 인삼 추출물 투여군에서는 PTU 대조군과 유사한 SOD 활성이 각각 인정되었다(Table 4).

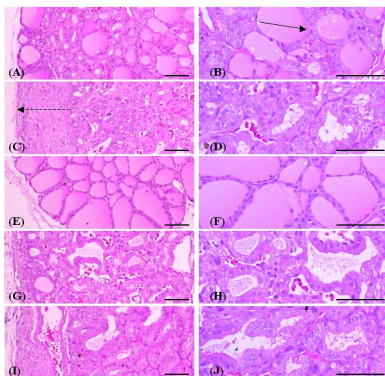
Table 4. Changes on the liver antioxidant defense systems after LT_4 and GR extracts treatment in PTU treated rats

| Groups | Liver contents | | | |
|----------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|----------------------------|
| | MDA (nM/mg protein) | H_2O_2 (nM/mg protein) | SOD (U/mg protein) | Catalase (U/mg protein) |
| Controls | | | | |
| Intact | 2.54±0.57 | 117.50±19.26 | 47.50±7.27 | 307.25±56.07 |
| PTU | 2.15±0.43 | 195.38±19.76 ^a | 76.13±11.14 ^a | 149.75±16.13 ^b |
| LT_4 treated group | | | | |
| 0.5 mg/kg | 3.45±0.45 ^{ac} | 8.13±16.92 ^{ac} | 46.13±8.44 ^c | 217.88±28.00 ^{bc} |
| GR extracts treated groups | | | | |
| 300 mg/kg | 3.38±0.52 ^{ac} | 129.50±17.30 ^c | 74.13±10.13 ^a | 233.38±11.86 ^{bc} |
| 150 mg/kg | 2.84±0.53 ^{ad} | 43.63±18.58 ^{ac} | 77.50±9.64 ^a | 214.25±14.16 ^{bc} |

Values are expressed as mean ± S.D. of eight rats
^a $p < 0.01$ as compared with intact control by LSD test
^b $p < 0.01$ as compared with intact control by MW test
^c $p < 0.01$ and ^d $p < 0.05$ as compared with PTU control by LSD test
^e $p < 0.01$ as compared with PTU control by MW test

6. 조직병리학적 관찰

PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 현저한 갑상선 여포 세포의 증생에 의한 비대 소견이 여포 직경 및 여포내 colloid 물질의 감소와 함께 인정되었으며, 갑상선 전체 두께 및 피막 두께의 유의성 있는($p < 0.01$) 증가와 평균 갑상선 여포 직경의 유의성 있는($p < 0.01$) 감소가 인정되었다. 이러한 소견은 LT_4 및 두 용량의 인삼 추출물 투여에 의해 현저히 억제되었는데, 즉 LT_4 및 두 용량의 인삼 추출물 투여군에서는 PTU 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$) 갑상선 전체 두께 및 피막 두께의 감소와 유의성 있는($p < 0.01$) 평균 갑상선 여포 직경의 증가를 각각 나타내었다(Fig. 2).



All H&E stain, Scale bars = 160µm.
 Arrow indicated the mean capsule thickness measured
 Dot arrow indicated mean follicle thickness measured

Fig. 2. Representative histopathological profiles of the left thyroid glands in the intact control(A, B), PTU control(C, D), LT_4 (E, F), GR extracts 300(G, H) and 150(I, J) mg/kg treated rats

고찰

갑상선 기능저하증이란 갑상선호르몬의 결핍으로 생기는 병증을 통칭하며, 원인은 갑상선 조직자체가 소실되어 호르몬의 생합성이 불가능한 경우, 상위 조절 증추인 시상하부 또는 뇌하수체 기능에 이상이 있어서 갑상선 자극원이 사라진 경우가 있다¹²⁾. 갑상선 기능저하증에서는 태아 및 신생아의 뇌와 골격의 성장 및 발육장애, 열 발생 저하로 인한 체온하강 및 내한성 감소가 나타나고, 모든 조직내 대사를 감소로 인한 이화작용의 저하에 의해 조직내 대사산물의 축적이 유발되고, 모든 장기의 기능저하 현상이 나타나 나태감을 느끼게 된다³¹⁾. 갑상선 기능저하증의 증상 발현 정도는 원인에 상관없이 갑상선 호르몬의 결핍정도에 따라 결정되는데, 질병의 진행 정도에 따라 매우 다양하나, 피로 및 쇠약감, 추위에 민감, 체중증가, 무기력, 무력감, 기억력 감퇴, 식욕감퇴, 편비, 근육통, 관절통 및 발한감소가 전형적으로 관찰되는 것으로 알려져 있다²⁻³⁾.

갑상선 기능저하증의 진단은 갑상선 호르몬의 혈중농도를 측정함으로써 가능하다. T_4 가 먼저 감소한 다음 T_3 가 감소하므로, 경미한 갑상선 기능저하증일 경우에는 T_4 만 감소하는 경우도 있다. 또한 갑상선 기능저하증의 임상 소견은 진행 정도 및 중증도에 따라 아주 다양하여 심한 예를 제외하고는 임상증상만으로 진단이 어려우나, 초기부터 나타나는 증상인 체중증가, 근육통 및 저림, 추위에 민감해지는 등의 증상은 진단에 이용되기도 한다^{2-3,12,31)}.

갑상선 기능저하증의 치료는 부족한 갑상선 호르몬을 외부에서 공급하여 보충해주는 것으로 주로 LT_4 를 사용하나, 여러 가지 문제점^{1,4,6)}을 가지고 있어, 최근 부작용이 적고 강력한 항산화 효과를 나타내는 천연물 유래의 갑상선 기능저하증 치료제의 개발이 주목 받고 있는 실정이다⁹⁻¹¹⁾. 인삼의 갑상선 기능저하증 자체에 대한 효과는 아직 알려져 있지 않으나, 인삼 추출물이 갑상선 기능저하증시 초래되는 지질 변화 및 간 손상을 효과적으로 억제하는 것으로 알려져 있으며²⁵⁾, 인삼수침이 PTU 유발 갑상선 기능저하증에서 현저한 혈중 TSH의 감소와 T_3 및 T_4 함량을 증가시키는 것으로 알려져 있다²⁶⁾. 따라서 본 연구에서는 갑상선기능 저하증에 대하여 수침이 아닌 경구투여에 의한 인삼의 효과과 前처치를 통하여 갑상선 기능 저하 유발억제 효과를 알아보고자 하였다.

본 실험의 결과, 28 일간의 연속적인 PTU 10mg/kg 피하 투여에 의해 현저한 체중감소, 혈청 중 갑상선 호르몬 및 triglyceride 함량, 간 H_2O_2 함량 및 SOD 활성의 감소가 혈청 중 HDL 함량, 간 CAT 활성 및 갑상선 중량의 증가와 함께 인정되었으며, 현저한 갑상선 여포세포의 증생에 의한 비대 소견이 여포 직경 및 여포내 colloid 물질의 감소와 함께 조직병리학적으로 인정되었다. 이러한 PTU 유발 갑상선 기능저하증 소견이 LT_4 및 두 용량의 인삼 물 추출물 투여에 의해 용량 의존적으로 억제되었으며, PTU 유발 항산화 방어 system의 변화 역시 두 용량의 인삼 물 추출물 투여에 의해 매우 효과적으로 조절되는 것으로 관찰되었다.

일반적으로 갑상선 기능저하증시 부족한 갑상선 호르몬의 분비에 의해 대사가 지연되고, 이화작용이 감소하여 조직내 당단백질이 침착하므로 체중의 증가가 일어나나^{2,31)}, 갑상선 기능저하증에 의한 체중의 증가를 보상하기 위해 leptin의 분

비가 증가되고 결과적으로 식욕이 저하되고, 에너지 대사가 증가되어 체중의 감소가 유발될 수도 있다³²). 하지만 PTU 유발 갑상선 기능저하증을 유발 시킨 rat에서는 현저한 체중의 감소가 유발되며, 특히 10mg/kg 이상의 PTU 투여는 현저한 체중의 감소를 유발시키는 것으로 알려져 있다^{8,27}). 본 실험 결과에서도 PTU 대조군에서는 유의성 있는 체중의 감소가 PTU 투여 2주 후부터 인정되기 시작하여, 4 주간의 PTU 투여기간 및 6주간의 실험 전 기간 동안의 증체량 역시 정상 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 각각 나타내었으나, 이러한 체중 및 증체량의 감소가 LT₄, 인삼 추출물 300 및 150mg/kg 투여에 의해 현저히 억제되었다. 이러한 결과는 인삼 추출물이 PTU 투여 갑상선 기능저하증시 유발되는 체중의 감소를 매우 효과적으로 억제하는 것을 나타내는 직접적인 증거로 판단된다.

PTU는 대표적인 갑상선 억제제로서 iodine과 tyrosine의 결합을 억제하는 작용을 하여, TSH의 증가와 함께 T₃ 및 T₄의 절대적 감소를 유발하여, 비활동성 갑상선 종대(simple goiter)유발 하고, 조직 병리학적으로 현저한 갑상선 여포세포의 증생에 의한 비대 소견과 여포 직경 및 여포내 colloid 물질의 감소를 특징적으로 나타낸다^{11,27}). 본 실험의 결과에서도 현저한 갑상선 중량의 증가와 함께 갑상선 여포세포의 증생에 의한 비대, 여포 직경 및 여포내 colloid 물질의 감소 등의 조직 병리학적 변화, 즉 전형적인 비활동성 갑상선 종대 소견이 PTU 대조군에서 인정되었다. 이러한 갑상선 중량 및 비활동성 갑상선 종대의 조직병리학적 변화가 두 용량의 인삼 추출물 투여에 의해 투여 용량 의존적으로 억제되었다. 따라서 인삼 추출물은 PTU에 의한 갑상선의 변화를 직접적으로 억제하는 것으로 판단된다.

갑상선의 기능 검사로 혈청 중 TSH, T₃ 및 T₄의 함량 변화를 주로 이용하며, TSH의 증가, T₄의 감소, T₃ 정상 또는 감소를 갑상선 기능저하증으로 진단한다¹⁻²). 본 실험의 결과에서도 PTU 투여군에서 현저한 TSH의 증가와 함께 T₃ 및 T₄의 절대적 감소가 초래되었다. 인삼 추출물 투여에 의해 투여 용량 의존적인 TSH 함량의 감소와 T₄ 함량의 증가 인정되었으나, 인삼 추출물은 최소한 300mg/kg 까지는 LT₄와 함께 PTU 투여에 의해 유발되는 T₃ 함량에는 별 다른 영향을 미치지 않는 것으로 관찰되었다.

갑상선 호르몬은 간에서의 지질 대사와 콜레스테롤 합성을 억제하여, 혈청 중 지질 함량의 변화를 유발한다. 일반적으로 알려진 지질 단백질의 이상은 total cholesterol 및 LDL 함량의 증가로, 이들로 인해 혈관계의 합병증이 유발되는 것으로 알려져 있으며³³), 이러한 변화는 LT₄의 투여에 의해 현저히 억제되는 것으로 알려져 있다³⁴). 그러나 혈청 중 지질 변화는 갑상선 호르몬의 상태에 따라 다양하게 변화되고, 특히 항산화 방어 system의 변화와 직결되어 증감되는 것으로 알려져 있어, 갑상선 기능저하증의 유발 정도, 시기 및 다른 합병증의 유무에 따라 매우 다양한 혈청 중 지질 함량의 변화가 유발된다^{2,8}). 본 실험의 결과, PTU 투여에 의해 의미 있는 혈청 중 total cholesterol 및 LDL의 변화는 인정되지 않았으나, HDL의 증가와 triglyceride 감소를 나타내었다. 한편 PTU 대조군에 비해 유의성 있는 혈청 중 triglyceride 함량의 증가가 두 용량의 인삼 추출물 투여군에서 인정된 점은 갑상선 호르몬의 함량 증가에 의해, 간에서 지질 대사 기능이

정상화되고, 이차적으로 지질의 이용이 증가되어 나타난 결과로 판단되나, 인삼의 항산화¹⁸) 및 지질 억제 효과²³)가 알려져 있어, 향후 기전에 대한 지속적인 연구가 필요한 것으로 생각된다.

최근에 들어 갑상선 기능저하시에는 일반적인 기초 대사량의 감소로, 세포 호흡이 억제되어 지질과산화방어 system의 변화가 초래되는 것으로 알려져 있으며, 갑상선 기능저하증 소견이 항산화제의 투여에 의해 현저히 감소되는 것으로 알려져 있다⁷⁻⁸). 이에 따라 강력한 항산화 효과를 나타내는 천연물 유래의 갑상선 기능저하증 치료제의 개발이 주목 받고 있는 실정이며⁹⁻¹⁰), 인삼의 항산화 효과 역시 이미 잘 알려져 있다^{18,23}). 본 실험의 결과, PTU 투여에 의해 지질 과산화의 경미한 감소와 함께 대표적인 내인성 항산화 효소인 SOD 활성의 경미한 증가와 함께 CAT 현저한 감소에 따른 대표적인 세포 호흡성 산화물질인 SOD의 H₂O₂의 간 mitochondria fraction 내 축적이 인정되어, 이전의 연구들⁷⁻⁸)과 일치하였는데, 인삼 추출물은 SOD 활성 억제와 CAT 활성의 증가를 초래한 LT₄와는 달리 SOD의 활성 억제에는 별 다른 영향을 미치지 않았으나, CAT 활성을 현저히 증가시키는 것으로 관찰되었다. LT₄ 및 두 용량의 인삼 추출물 투여군에서 인정된 지질 과산화의 증가는 갑상선 호르몬의 함량 증가에 의해, 간에서 지질 대사 기능이 정상화되면서 초래된 이차적 변화로 생각된다.

이상에서 인삼 추출물의 경구투여는 PTU 유발 갑상선 기능저하증시 초래되는 체중의 감소, 갑상선 종대, 갑상선 호르몬의 감소, 혈청 중 지질 함량의 변화 및 간 손상을 투여 용량 의존적으로 억제하였고, PTU 유발 갑상선 기능저하증시 초래되는 항산화 방어 system의 변화 역시 투여 용량 의존적으로 억제하였으므로, 항산화 방어 system의 조절을 통해 갑상선 기능저하증에 매우 유효한 효과를 나타낼 것으로 판단된다.

결론

본 연구에서는 인삼의 경구 투여가 PTU로 유발된 rat 갑상선 기능저하증에 미치는 영향을 평가하기 위하여, 인삼 추출물(수율: 11.70%) 300 및 150mg/kg을 PTU 처리시작 2주전부터 6주간 투여하고, 체중, 갑상선 중량, 혈청 갑상선 호르몬 함량, 혈청 지질 함량, 간 항산화 방어 system 변화를 갑상선의 조직병리학적 변화와 함께 관찰하였으며, 실험결과는 LT₄ 0.5mg/kg 복강 투여군과 비교하였다. 본 실험의 결과, 28 일간의 연속적인 PTU 10mg/kg 피하 투여에 의해 현저한 체중, 혈청 중 갑상선 호르몬 및 triglyceride 함량, 간 H₂O₂ 함량 및 SOD 활성의 감소가 혈청 중 HDL 함량, 간 CAT 활성 및 갑상선 중량의 증가와 함께 인정되었으며, 현저한 갑상선 여포세포의 증생에 의한 비대 소견이 여포 직경 및 여포내 colloid 물질의 감소와 함께 조직병리학적으로 인정되었다. 이러한 PTU 유발 갑상선 기능저하증 소견이 LT₄ 및 두 용량의 인삼 추출물 투여에 의해 용량 의존적으로 억제되었으며, PTU 유발 항산화 방어 system의 변화 역시 두 용량의 인삼 추출물 투여에 의해 매우 효과적으로 조절되는

것으로 관찰되었다. 따라서 인삼 추출물은 항산화 방어 system의 조절을 통해 갑상선 기능저하증 및 관련 간 손상 및 지질 변화에 매우 유효한 효과를 나타낼 것으로 판단된다.

감사의 글

이 논문은 2009년도 대구한의대학교 기린연구비 지원에 의한 것임(This research was supported by a grant from Daegu Hanny University Ky-rin Fund, 2009).

참고문헌

1. 조보연. 임상갑상선학. 2판. 서울:고려의학. 2001:409-41.
2. Andreoli TE, Carpenter CJ, Plum F, Smith L. Cecil Essentials of Medicine, Philadelphia:WB Saunders' s Company. 1986:436-7.
3. Schmidt RF, Thews G. Human Physiology, Berlin Heidelberg:Springer-Verlag. 1989:385-6.
4. 송영기, 오연상. 갑상선학. 서울:고려의학. 1995:131-88, 223-47.
5. 안세영. 갑상선클리닉. 서울:성보사, 2004:132-54, 248.
6. Wiersinga WM. Thyroid hormone replacement therapy. Horm Res. 2001;56 Suppl 1:74-81.
7. Das K, Chainy GB. Modulation of rat liver mitochondrial antioxidant defence system by thyroid hormone. Biochim Biophys Acta. 2001;1537:1-13
8. Subudhi U, Das K, Paital B, Bhanja S, Chainy GB. Supplementation of curcumin and vitamin E enhances oxidative stress, but restores hepatic histoarchitecture in hypothyroid rats. Life Sci. 2009;84:372-9.
9. Carmeli E, Bachar A, Barchad S, Morad M, Merrick J. Antioxidant status in the serum of persons with intellectual disability and hypothyroidism: a pilot study. Res Dev Disabil. 2008;29:431-8.
10. Erdamar H, Demirci H, Yaman H, Erbil MK, Yakar T, Sancak B, Elbeg S, Biberoğlu G, Yetkin I. The effect of hypothyroidism, hyperthyroidism, and their treatment on parameters of oxidative stress and antioxidant status. Clin Chem Lab Med. 2008;46:1004-10.
11. Sarandöl E, Taş S, Dirican M, Serdar Z. Oxidative stress and serum paraoxonase activity in experimental hypothyroidism: effect of vitamin E supplementation. Cell Biochem Funct. 2005;23:1-8.
12. 杜鎬京, 東醫腎系學, 서울:東洋醫學研究院. 1993:729, 867-74, 1042, 1059-65.
13. 김동현, 김형민, 류중훈, 엄재영, 김상찬, 양재하, 조민경, 임종필, 홍승현. 한방약리학, 서울:신일상사. 2006:745-52.
14. Hasegawa H. Proof of the mysterious efficacy of ginseng: basic and clinical trials: metabolic activation of ginsenoside: deglycosylation by intestinal bacteria and esterification with fatty acid, J Pharmacol Sci. 2004;95:153-7.
15. See DM, Broumand N, Sahl L, Tilles JG. In vitro effects of echinacea and ginseng on natural killer and antibody-dependent cell cytotoxicity in healthy subjects and chronic fatigue syndrome or acquired immunodeficiency syndrome patients. Immunopharmacology. 1997;35:229-35.
16. Park EK, Choo MK, Kim EJ, Han MJ, Kim DH. Antiallergic activity of ginsenoside Rh2. Biol Pharm Bull. 2003;26:1581-4.
17. Lee Y, Jin Y, Lim W, Ji S, Choi S, Jang S, Lee S. A ginsenoside-Rh1, a component of ginseng saponin, activates estrogen receptor in human breast carcinoma MCF-7 cells. J Steroid Biochem Mol Biol. 2003;84:463-8.
18. Liu ZQ, Luo XY, Liu GZ, Chen YP, Wang ZC, Sun YX. In vitro study of the relationship between the structure of ginsenoside and its antioxidative or prooxidative activity in free radical induced hemolysis of human erythrocytes. J Agric Food Chem. 2003;51:2555-8.
19. Takagi K, Saito H, Nabata H. Pharmacological studies of Panax ginseng root: estimation of pharmacological actions of Panax ginseng root. Jpn J Pharmacol. 1972;22:245-9.
20. Kim DH, Moon YS, Jung JS, Min SK, Son BK, Suh HW, Song DK. Effects of ginseng saponin administered intraperitoneally on the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in mice. Neurosci Lett. 2003;343:62-6.
21. Dey L, Xie JT, Wang A, Wu J, Maleckar SA, Yuan CS. Anti-hyperglycemic effects of ginseng: comparison between root and berry. Phytomedicine. 2003;10:600-5.
22. Kim ND, Kim EM, Kang KW, Cho MK, Choi SY, Kim SG. Ginsenoside Rg3 inhibits phenylephrine-induced vascular contraction through induction of nitric oxide synthase. Br J Pharmacol. 2003;140:661-70.
23. Kim SH, Park KS. Effects of Panax ginseng extract on lipid metabolism in humans. Pharmacol Res. 2003;48:511-3.
24. Hong B, Ji YH, Hong JH, Nam KY, Ahn TY. A double-blind crossover study evaluating the efficacy of korean red ginseng in patients with erectile dysfunction: a preliminary report. J Urol. 2002;168:2070-3.
25. 尹再順. 內分泌先調疾患에 대한 高麗人蔘의 藥效에 대한 研究. 韓國生活科學研究院 論叢 1980;26:153-67.

26. 김용석, 강성길. 인삼수침이 흰쥐의 갑상선기능저하에 미치는 영향. 慶熙醫學. 1990;6:202-10.
27. O'Connor JC, Frame SR, Ladics GS. Evaluation of a 15-day screening assay using intact male rats for identifying steroid biosynthesis inhibitors and thyroid modulators. *Toxicol Sci.* 2002;69:79-91.
28. Jamall IS, Smith JC. Effects of cadmium on glutathione peroxidase, superoxidase dismutase and lipid peroxidation in the rat heart: a possible mechanism of cadmium cardiotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1985;80:33-42.
29. Pick E, Keisari Y. Superoxide anion and hydrogen peroxide production by chemically elicited peritoneal macrophages--induction by multiple nonphagocytic stimuli. *Cell Immunol.* 1981;59:301-18.
30. Kakkar P, Das B, Viswanathan PN. Modified spectrophotometric assay of SOD. *Indian J Biochem Biophys.* 1984;2:130-2.
31. Roti E, Minelli R, Gardini E, Braverman LE. The use and misuse of thyroid hormone. *Endocr Rev.* 1993;14:401-24.
32. 김민선, 윤초아, 조영민, 정혜승, 신찬수, 박경수, 김성연, 조보연, 이홍규, Bloom SR. 랫트에서 단기간의 갑상선 기능 변화에 따른 혈중 랩틴 농도의 변화. 대한내분비학회지. 2002;17:197-205.
33. Frost PH, Havel RJ. Rationale for use of non-high-density lipoprotein cholesterol rather than low-density lipoprotein cholesterol as a tool for lipoprotein cholesterol screening and assessment of risk and therapy. *Am J Cardiol.* 1998;81:26B-31B.
34. Ito M, Arishima T, Kudo T, Nishihara E, Ohye H, Kubota S, Fukata S, Amino N, Kuma K, Sasaki I, Hiraiwa T, Hanafusa T, Takamatsu J, Miyauchi A. Effect of levo-thyroxine replacement on non-high-density lipoprotein cholesterol in hypothyroid patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:608-11.