

후두 손상 유발시킨 랫드에 칩잎추출물을 투여하여 스트레스 경감효과에 미치는 영향

이태종[†] · 예춘정^{*}

대구파티마병원 병리과, *계명문화대학교 보건학부

Effects of Kudzu Leaf Extracts on Stress Reduction in Rats with Damaged Larynxes

Tae-Jong Lee[†] and Chun-Jung Yea^{*}

Department of Pathology, Daegu Fatima Hospital, Daegu 701-600, Korea

*Department of Public Health, Keimyung college, Daegu 702-701, Korea

ABSTRACT

Objectives: This study aims to investigate the effects of voice disorders on changes in stress among people with damaged larynxes. To accomplish this, physiological changes and reductions in the stress of Sprague-Dawley rats whose larynx had been damaged were investigated after the laboratory animals were administered kudzu leaf extracts with sedative effects.

Methods: In the experiment, a total of 24 rats were divided into four groups of six rats, including the normal group, control group, experimental group 1, and experimental group 2. After orally administering to the subjects a predetermined amount of the extract at a specific time (once per day over five weeks), changes in physiological functions, internal organ weight, cortisol, estrogen, and progesterone in the subjects were examined, and an immunological test was conducted on their brain tissues.

Results: Statistical significance was seen in the experimental group as opposed to the control group and the results were similar to those of the normal group.

Conclusions: In consideration of these results, it is deemed that there are severe effects on stress due to voice disorders and that the administration of kudzu leaf extracts results in improvement in stress.

Keywords: Kudzu, hormone, stress, cortisol, estrogen, progesteron

I. 서 론

현대사회에서는 삶의 질에 대한 인식이 높아지면서 음성 장애와 변화를 호소하는 질환자가 증가하고 있으며 이로 인해 스트레스성 합병증 또한 증가하는 추세이고 이와 더불어 치료에 대한 기대와 삶의 만족도에 대한 기대치가 매우 커지고 있다. 호르몬은 생체에 여러 기능을 조절하는데 있어서 중요한 역할을

을 담당하고 균형 있는 스트레스는 인체에 도움이 되지만 과도한 스트레스 상황이 되면 뇌는 크게 두 가지 경로를 통하여 반응을 유도하게 되는데,¹⁾ 스트레스를 감지한 후 신경세포들이 노르에피네프린의 활성을 증가시키는 작용을 하게 되며 교감신경계를 활성화시키게 되고 이것에 의해 부신수질에서 에피네프린과 노르에피네프린을 방출하게 되며 이물질들은 혈액을 타고 전신에 퍼져서 각장기와 뇌에 영향

[†]Corresponding author: Department of Pathology, Daegu Fatima Hospital, Tel: +82-53-940-7484, Fax: +82-53-940-7273, E-mail: taejongok@hanmail.net

Received: 19 June 2012, Revised: 12 July 2012, Accepted: 2 October 2012

을 미치게 된다.^{2,3)} 음성을 변화시키는 후두 병변의 관찰에서부터 진단 그리고 치료까지 그 목적과 언어적인 차이에 따라 다양하게 치료되고 있지만 음성호전을 목적으로 그와 관련된 합병증에 대한 치료와 관심에 대해선 아주 미비하여 만족스럽지 못한 실정이며 음성으로 인한 부작용으로 혀나 구강점막 및 생리기능의 변화로 생체리듬에 미치는 부작용이 발생하는 경우가 종종 보고되고 있으며^{4,5)} 이로 인한 호르몬 변화에 따른 스트레스의 증가로 삶의 질에 많은 영향을 미치므로 엄격한 음성치료와 관리가 필요한 실정이다.

음성으로 인한 스트레스가 발생하게 되면 스트레스를 감소시키거나 제거하기위하여 생리활성기능의 대응반응이 일어남으로 대뇌에서 지각되어 변연계에 변화를 일으키게 된 스트레스는 시상하부로 전달되어 신경계통을 통한 시상하부, 자율신경계, 부신수질 축 및 내분비계를 통한 시상하부, 뇌하수체 전엽부, 부신피질 축을 자극하여 기능을 활성화 시킨다.⁶⁾ 자율신경계의 교감신경계가 활성화가 되면 심박동율의 증가, 혈당의 증가, 동공확장, 내장기관의 수축 및 뇌와 근육에서 혈류량의 증가 등이 발생되고 이에 따른 위기대응반응으로 물질분비 반응이 일어나게 된다. 신경 흥분반응에 따라 부신피질이 활성화됨에 따라 에피네프린 및 노르에피네프린이 분비되어 혈류를 통한 신체를 순환하여 뇌하수체 전엽을 자극하여 부신호르몬의 분비를 촉진시킨다. 시상하부에서 분비되어진 부신피질자극호르몬 방출인자(corticotropin-releasing factor:CRF)에 의하여 활성화된 뇌하수체 전엽은 ACTH를 분비하고 이는 혈류를 통하여 부신피질에 도착하여 부신피질호르몬(corticoid)을 분비하게 한다.⁷⁾ 이러한 호르몬들은 세포 작용에 의하여 나트륨이온 및 칼륨이온의 균형을 이루려는 반응이 일어나며 콩팥, 침샘, 땀샘을 통하여 생리리듬을 조절하게 되고 당류부신피질호르몬은 주로 코티졸과 코티코스테롤에 의하며 혈중 글루코스의 양을 조절한다.^{8,9)}

본 실험에 사용된 침엽추출물은 타일랜드 북부의 험준한 산악지대에서 주로 서식 하는 다년생의 콩과 덩굴 식물의 일종으로 호르몬 분비와 침의 주요성분인 카테킨이 많이 존재하는 폴리페놀류 물질로 강한 항산화 능과 진정작용 등이 있어 에스트로젠의 활성을 증대시키는 phytoestrogen 속 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있다.

이에 본 연구는 후두 손상된 사람들에서 목소리 장애 시 스트레스변화에 미치는 영향을 알아보고자 Sprague-Dawley계 랫드에 후두손상을 유발시킨 후 실험동물에 나타나는 생리적 변화와 스트레스 인자 변화를 알아보고, 진정작용이 있는 침엽추출물을 투여 후의 변화를 보고, 후두 손상 시 심리적 안정제로서의 활용 가능성을 알아보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시약 및 기기

실험기기로 Laryngoscope(Olympus, Japan), Auto biochemistry analyzer(Thermo, Konelab 20XT, Finland), 면역조직화학 염색은 BenchMark XT automated immunostainer(Ventana Medical Systems, USA), electronic balance(Sartorius, CP224S, Germany)을 사용하였다. 생화학 분석시약은 Sigma사(USA)의 제품을, 마취제 Ketamine chloride(Korea), 항생제 Amoxycillin(Korea), 그 외 일반시약들은 특급품을 사용하였다.

2. 시료 조제

침엽 600 g을 경북 영천의 한약 재료상에서 구입하여 흐르는 물에 씻은 후 물 6 l를 가하여 100°C의 온도, 60분간 초고속 감압 저온추출기로 열수 추출한 후 0.6 l로 농축하여 1일 투여량씩 진공 파우치 포장 후, 냉장보관 하였다. 동결 건조로 측정된 침엽추출물의 수율(yield rate)은 26.30%였다. 실험군 시료는 동결 건조시킨 침엽열수추출물을 용매 propyleneglycol: ethanol: water (5:3:2)에 2% 농도로 용해시켜 사용하였다.

3. 동물실험 과정

5주령(200~220 g)의 Sprague-Dawley계 수컷 랫드를 대한바이오링크(주)에서 구입하여, 1주간 적응과정을 거쳐 실험에 사용하였다. 사육실 온도는 22±1°C, 습도는 50±5%, 명암주기 12시간 밤과 낮 단위로 조절되는 표준사육 환경에서 사육하고 실험기간 동안 물과 사료(삼양사, 한국)의 양은 제한 없이 공급하였다.

4. 실험동물의 후두 손상 모델 제작

실험동물은 4개 군으로 나누어 각 군마다 SD 랫

Table 1. 실험군의 분류

군 분류	모델제작	처리물질	처리물질 용량
N	아무처리하지 않음	Salin	0.25 ml/kg BW/day
C	후두손상 시킴	Salin	0.25 ml/kg BW/day
E1	후두손상 시킴	침입추출물(Kudzu)	0.25 ml (0.35 g/kg BW/day)
E2	후두손상 시킴	침입추출물(Kudzu)	0.50 ml (0.70 g/kg BW/day)

드 6마리씩을 임의로 배치하여 본 실험에서는 총 24 마리를 사용하였다.

모델제작은 랫드의 다리 근육에 동물용 마취제인 Ketamine chloride(유한, 서울, 한국, 1~3 uL/mL) 25 mg (0.5 ml)를 주사하여 마취하였다. 랫드를 앞으로 누힌 자세에서 목을 고정시킨 후 후두부 노출을 용이하게 하여 75% 알코올로 소독한 후 1 cm정도 절개 후 대조군, 실험군 E1, E2 군에 후두를 손상하였다. 손상 직후부터 3일간 동물용 항생제인 Amoxycillin 0.1 mg 을 근육주사 하였으며, 1주 후 부터 실험군의 분류표 (Table 1)에 따라 경구 투여하여 실험하였다.

6. 처치 및 시료채취

생체 실험동물의 처치는 각 군마다 SD 랫드 6마리씩 총 24마리를 일중 변동리듬을 감안하여 일정한 시간에 실시하였다. 실험종료 12시간 전부터 절식시킨 후, diethyl ether로 흡입 마취시키고 개복하여 복부 대동맥에서 혈액을 채취하였고 간장, 비장, 흉선 을 적출하여 무게를 측정하였다. 간장 조직은 생리식염수로 간 문맥을 통하여 관류시켜 조직 내 혈액을 제거시킨 후 적출하였다.

7. 체중, 음수량 및 식이량, 식이효율 측정

체중, 음수량 및 식이량, 식이효율 을 매주 1회 오전의 일정한 시간대에 측정하였다.

8. 생화학적 호르몬 분석

채혈된 혈액을 vacuum tube(Greiner, Austria)에 담아 1시간 실온에 방치한 후 3,000rpm으로 10분간 원심분리 하여 얻은 혈청을 자동생화학분석기(Thermo, Konelab 20XT, Finland)를 이용하여 코티졸, 에스트로젠, 프로게스테로젠을 분석하였다.

9. 뇌 조직의 면역조직화학적 염색 관찰

절취한 뇌 조직을 10% 중성 포르말린 용액에 12

시간 고정하고 흐르는 물에 수세한 다음 탈수, 투명, 침투과정을 거쳐 포매 하고 microtome을 이용하여 4 μm 두께의 절편을 제작하여 coating slide에 부착 탈파라핀 함수 후 BenchMark XT automated immunostainer(Ventana Medical Systems, USA)를 사용하여 염색하였다. 자동화 과정은 reaction buffer로 2분간 세척하고 Cell conditioning의 standard ccl 60분 반응 후 일차항체 GFAP(Ventana, USA)을 32분 반응시키고 reaction buffer로 자동 세척하였다. 이 후 biotin과 streptavidin에 각각 25분 반응시키고 DAB(Ventana Detection kit, USA)에 발색 후 대조 염색, 봉입하여 광학현미경으로 관찰한 다음 영상분석 소프트웨어(Image analysis software, USA)를 이용하여 뇌 세포내 단백질 발현정도를 수치화(μm²)하여 분석하였다.

10. 통계처리

통계적 분석은 SPSS 18.0 for windows(SPSS Inc, USA)를 이용하여 정상군, 대조군, 실험군(E1, E2) 간의 차이를 비교하기 위하여 일원배치분산분석(one-way ANOVA)으로 검증하였다. 각 그룹간의 차이를 검증하기 위하여 Duncan's multiple range test를 이용하여 사후분석을 실시하였고 통계학적 유의 수준은 p<0.05로 하였다.

III. 연구결과 및 고찰

1. 체중, 음수량 및 식이량, 식이효율 변화

체중, 식이량, 음수량 및 식이효율을 측정한 결과는 Table 2과 같다. 연구결과를 살펴보면, 음수량은 대조군이 정상군에 비하여 10.9% 낮았으며 실험군(E1, E2)은 대조군에 비하여 증가하였으나 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 식이량은 대조군이 정상군에 비하여 10.4% 유의성 있게 낮았으며 대조군에 비해 실험군(E1, E2)은 약 11.3% 증가하여 통계적

Table 2. Water intake, food intake, body weight gain food and efficiency ratio of laryngoparalysis in rats treated with *Pueraria mirifica* extracts

Group	Normal	Control	Experimental	
	N	C	E1	E2
Water intake (ml/day)	51.10±3.84 ^a	45.24±3.02 ^a	49.74±5.17 ^a	49.16±2.44 ^a
Food intake (g/day)	29.72±0.81 ^b	26.98±1.32 ^a	30.18±1.29 ^b	30.62±0.69 ^b
Body weight gain(g/day)	6.89±0.45 ^b	5.65±0.42 ^a	7.01±0.34 ^b	7.08±0.48 ^b
Food efficiency ratio ¹⁾ (%)	23.45±1.21 ^b	20.17±1.42 ^a	23.33±1.40 ^b	23.27±1.98 ^b

Values are mean±SD of 6 rats.

N: saline (0.25 ml/kg BW/day)

C: Laryngoparalysis + saline (0.25 ml/kg BW/day)

E1: Laryngoparalysis + Kudzu 0.25 ml (0.35 g/kg BW/day)

E2: Laryngoparalysis + Kudzu 0.5 ml (0.70 g/kg BW/day)

¹⁾Feed efficiency ratio(%) = (Body weight gain / Feed intake)×100

Values with different superscripts are significantly different (p<0.05) by ANOVA and Duncan's multiple range test.

Table 3. Effect of *Pueraria mirifica* extract on organ weight activity of laryngoparalysis inrats

Group	Normal	Control	Experimental	
	N	C	E1	E2
Liver	12.09±1.29 ^{ab}	12.44±0.97 ^b	10.91±0.77 ^a	11.68±1.21 ^{ab}
	2.86±0.22 ^b	2.92±0.15 ^b	2.58±0.15 ^a	2.73±0.28 ^{ab}
Spleen	0.84±0.18 ^a	0.81±0.13 ^a	0.90±0.11 ^a	0.87±0.16 ^a
	0.20±0.03 ^a	0.19±0.02 ^a	0.21±0.02 ^a	0.20±0.04 ^a
Thymus	0.48±0.05 ^a	0.51±0.07 ^a	0.55±0.06 ^a	0.55±0.12 ^a
	0.11±0.01 ^a	0.12±0.01 ^a	0.13±0.02 ^a	0.13±0.03 ^a

Values are mean±SD of 6 rats, unit: g.

¹⁾Absolute weight: g.

²⁾Relative weight: g/100 g body weight.

N: saline (0.25 ml/kg BW/day)

C: Laryngoparalysis + saline (0.25 ml/kg BW/day)

E1: Laryngoparalysis + Kudzu 0.25 ml (0.35 g/kg BW/day)

E2: Laryngoparalysis + Kudzu 0.5 ml (0.70 g/kg BW/day)

Values with different superscripts are significantly different (p<0.05) by ANOVA and Duncan's multiple range test.

으로 유의한 차이가 있었다. 이를 볼 때 Heman-Ackah는 후두 추출된 환자에서 일시적 체중 증감 현상이 있을 수 있음을 보고하였고,¹⁰⁾ Simpson등은 성대마비 환자에게서 생체 리듬변동 현상이 있는 것으로 보고하였다.¹¹⁾ 본 연구에서 후두손상 시 체중증가율, 식이효율이 낮게 나타난 점은 스트레스에 의한 물질 대사에서 중심장기인 간장의 활성 등의 영향이 미쳤을 것이며, 추출물을 투여한 실험군의 체중증가율, 식이효율이 정상군과 별다른 차이가 없는 것은 후두손상을 완화시켜 정상에 가까운 물질대사를 하고 있음을 의미한다고 볼 수 있다. 이러한 사실은 투여 기간에 따라 대사율 및 관련 기전이 변화되는 것으로 사료되며, 앞선 다른 연구들의 대사

에 관한 결과들이 상이한 것도^{10,12)} 췌장의 섭취형태, 용량 및 기간 등의 차이에 따라 체내 기초대사에 영향을 주었을 것에 기인한다고 판단되었다.

2. 장기의 무게 측정

적출한 장기의 간장, 비장 및 흉선의 무게를 측정 한 결과는 Table 3와 같다. 간장의 무게는 대조군에서 정상군에 비하여 무게가 증가하는 양상을 보였으나 통계적 유의성은 없었고, 실험군(E1, E2)에서는 정상군과 비슷한 수치를 보였으며 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 비장 및 흉선의 절대무게와 상대 무게에 있어서 모든 군에서 다소간의 증감작용은 있었으나 유의한 차이가 없었다. Mehta 는 동물실험

Table 4. Effect of *Pueraria mirifica* extract on the serum levels of Cortisol, ER, and PR activity of laryngoparalysis inrats

Group	Normal	Control	Experimental	
	N	C	E1	E2
Cortisol	164.5±5.6 ^a	200.4±8.1 ^d	167.5±2.0 ^{ab}	168.7±8.4 ^{bc}
ER	42.4±3.7 ^a	89.4±6.13 ^d	41.9±2.69 ^a	43.4±3.8 ^{ab}
PR	248.0±26.4 ^a	345.1±26.4 ^d	255.8±16.6 ^a	283.5±29.3 ^b

Values are mean±SD of 6 rats, unit: IU.

N: saline (0.25 ml/kg BW/day)

C: Laryngoparalysis + saline (0.25 ml/kg BW/day)

E1: Laryngoparalysis + Kudzu 0.25 ml (0.35 g/kg BW/day)

E2: Laryngoparalysis + Kudzu 0.5 ml (0.70 g/kg BW/day)

Values with different superscripts are significantly different (p<0.05) by ANOVA and Duncan's multiple range test.

에서 추출물을 투여한 랫드의 간장, 비장, 신장의 장기 무게 변화에서 유의한 차이가 없었다고 보고하였으며,¹³⁾ AL-Bekairi 등은 실험동물 랫드에서 장기 손상 시 마늘추출물의 투여 후 심장, 폐, 간장, 신장, 비장의 무게측정에서 폐와 신장에서는 변화가 없었으나 간장과 비장에서 약간의 감소를 보여 본 연구의 결과와 유사하였다.¹⁴⁾ 이러한 결과로 볼 때 칩입추출물은 장기의 무게에 변화를 일으킬 만한 다소의 자극 및 경미한 작용은 있었지만 장기의 기능에 영향을 직접적으로 미칠 수 있는 영향은 상대적으로 적은 것으로 사료되었다.

3. 혈청의 코티졸, 에스트로젠, 프로제스트로젠 분석

스트레스 지표인자인 코티졸과 호르몬 지표인 에스트로젠, 프로제스트로젠의 물질 변화는 Table 4과 같다. 대조군이 정상군에 비하여 코티졸 22.1%, 에스트로젠 65.5%, 프로제스트로젠 38.0%, 유의하게 증가하여 성분 변화를 보였다. 실험군(E1, E2)은 대조군에 비하여 코티졸은 각각 18.8%, 15.9%, 에스트로젠은 각각 66.2%, 56.3%, 프로제스트로젠은 각각 35.9%, 23.8%, 정상군 수준으로 유의하게 변화하여 스트레스인자 감소를 보였다. 실험군이 대조군에 비해 스트레스 회복이 빠르게 나타남을 확인하였다. 후두손상으로 인한 음성변화 자체가 스트레스 요인이 되므로 정신적, 심리적 문제 등으로 더 어려움에 직면하게 될 수 있고, 스트레스물질이 더 심화되면 건강과 삶의 질에 부정적 영향을 미치게 된다.¹⁵⁾ 코티졸은 스트레스성 반응에 따라 생리적 기능변화와 관련성이 있는데, 혈청에 코티졸, 에스트로젠, 프로제스트로젠 활성도의 변화는 대조군에서 스트레스가

증가되었으며 본 연구에서 혈청내 호르몬 변화를 보면, 대조군에서 정상군에 비하여 유의하게 증가되어 있음을 확인하였다. 실험군(E1, E2)은 대조군에 비하여 활성도가 정상군 수준으로 유의하게 감소하였는데, 이는 선택한 추출물이 용량비의존형(반비례)으로 회복하였음을 알 수 있었다. 한편, 후두 결찰로 인한 치료에서 심리치료와 병행 시 현저하게 회복됨을 보고하였고,¹⁰⁾ Yarcheski는 성대마비로 인한 음성 변화에 대한 치료에서 Calcium- Vitamin 복용 시 개선된다고 보고하였으며,¹⁶⁾ 이러한 보고들로 볼 때 추출물투여에 따른 호르몬의 분비, 생리기능의 활성화, 뇌 신경계의 활성화 등에 효과가 있으며 아울러 본 연구에서는 스트레스 지표인 혈액내 호르몬성분 변화에도 칩입추출물투여로 인해 스트레스를 감소시킬 수 있음과 후두손상인의 기능성식품의 가능성이 있음을 확인하였다.

4. 뇌 조직의 면역조직화학적 염색 관찰

적출한 장기의 뇌 조직 면역조직화학적 염색 측정 한 결과는 Table 5와 같다. 연구에 따르면 대조군의 뇌 조직 GFAP(glial fibrillary acidic protein) 항체에 대한 신경조직 발현 부분에 비하여 정상군과 실험군 E1, E2에서 통계적으로 유의성 있는 염색성이 나타나고 실험군간 E1, E2에서는 차이가 없었으며 통계적 유의성이 나타나지 않았다. 본 연구결과로 볼 때 신체의 각 기관들과 뇌 조직은 스트레스에 민감하게 반응 한다는 것을 알 수 있으며, 인간은 95% 이상이 신경계의 뇌와 척수에서 통제를 받고 있으므로 이러한 이유로 중추, 말초신경에 대한 연구와 개발이 활발히 진행되고 있는 실정이다.¹⁷⁾ 최근의 연구

Table 5. Comparison of GFAP protein expression in Sprague-Dawley brain tissue treated with compounds topically for 5 weeks

Area	Normal	Control	Experimental	
	N	C	E1	E2
Total (μm^2)	6489.8 \pm 460.3	7386.8 \pm 410.8	7281.4 \pm 363.5	7231.9 \pm 262.8
GFAP protein (μm^2)	223.7 \pm 28.3 ^b	885.1 \pm 73.9 ^a	438.6 \pm 30.6 ^c	448.6 \pm 40.7 ^c
% of GFAP protein	248.0 \pm 26.4 ^a	10.2 \pm 2.2 ^c	4.4 \pm 0.3 ^b	4.6 \pm 0.5 ^b

Values are the means \pm SD of 6 samples.

Groups are the same as described in Table 5

Values with different superscripts in the same row are significantly different ($p < 0.05$) by ANOVA and Duncan's multiple range test.

에서 중추신경에도 신경줄기세포와 희소돌기아교세포선조세포라는 줄기세포가 존재한다는 것이 알려져 있으며 경미한 신경계 질병을 앓는 경우나 심한 스트레스 후 일정한 기간이 지나면 스스로 치유 하려는 기능이 있는 것으로 알려져 있다.^{10,18)} 그러나 신경줄기세포나 희소돌기아교세포선조세포의 양이 적기 때문에 많은 양의 신경세포 손실이나 심한 스트레스로 인한 손상은 심각한 뇌 질병 및 인체의 각종 장기에 질병을 야기 할 수 있고 경우에 따라서는 사망에 이를 수도 있다.¹⁹⁾ 그러므로 자연 추출물을 이용한 신경줄기세포의 활성화를 유도하여 신경세포로의 분화, 신경성장인자의 분비촉진, 신경계세포의 기능유지 등에 매우 효과 적절한 개선 방법으로 사용 가능할 것으로 사료된다.

IV. 결 론

본 연구는 5주령(200~220 g)의 Sprague-Dawley계를 이용하여 후두손상을 유발시킨 후 칩입추출물을 이용하여 실험동물에 나타나는 생리적 리듬과 스트레스 인자의 변화를 알아보기 위해 지정된 용량으로 1일 1회 일정한 시간대에 주 6회씩 5주간 경구투여 후 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 실험동물의 생리적 기능에 대한 효능을 확인하기 위하여 체중, 식이량, 음수량 및 식이효율을 측정 한 결과, 음수량은 대조군이 정상군에 비하여 낮았으나 유의한 차이는 없었다. 식이량, 체중증가량, 식이효율은 대조군이 정상군에 비해 유의성 있게 낮았으며 실험군은 정상군과 유의한 차이가 없었다.

2. 적절한 장기의 간장, 비장 및 흉선의 무게를 측정한 결과 간은 대조군이 정상군에 비하여 무게가

약간 높았으나 유의한 차이는 없었으며 실험군(E1, E2)은 정상군과 비슷한 수치를 보였으며 유의한 차이가 없었다. 비장 및 흉선의 절대무게와 상대무게에 있어서 모든 군에서 유의한 차이가 없었다.

3. 대조군이 정상군에 비하여 코티졸, 에스트로젠, 프로제스트로젠 유의하게 증가하여 성분 변화를 보였다. 실험군(E1, E2)은 대조군에 비하여 Cortisol, 에스트로젠, 프로제스트로젠 유 의하게 정상군 수준으로 변화하여 스트레스 인자를 감소하여 실험군이 대조군에 비해 스트레스 인자회복이 빠르게 나타남을 확인 하였다.

4. 뇌조직의 면역조직화학적관찰 결과는 대조군의 뇌 조직 GFAP 항체에 대한 신경조직 발현 부분에 비하여 정상군과 실험군 E1, E2에서 통계적으로 유의성 있는 염색성이 나타나고 실험군간 E1, E2에서는 차이가 없었으며 통계적 유의성이 나타나지 않았다.

이상의 실험결과를 종합해 보면 칩입추출물은 대조군과 비교할 때 통계적으로 유의성 있는 변화를 확인하였다. 따라서 칩입추출물은 스트레스 개선제로 활용 가능성이 있을 것으로 판단되며 차후 추가적인 연구가 병행되어야 될 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Krause E, Schirra J. Botulinum toxin A treatment of cricopharyngeal dysphagia after subarachnoid hemorrhage. *Dysphagia*. 2008; 23: 406-410.
2. Ramadan H, Wax MK. Outcome and changing cause of unilateral vocal cord paralysis. *head Neck Surg*. 1998; 118: 192-202.
3. Rosen CA, Gartner-Schmidt J, Casiano R, Anderson TD. Vocal fold augmentation with calcium

- hydroxylapatite: twelve-month report. *Laryngoscope*. 2009; 119: 1033-1041.
4. Isshiki N, Morita H, Okamura H, Hiramoto H. Thyroplasty as a new phonosurgical technique. *Acta Otolaryngologica*. 1974; 78(5-6): 451-457.
 5. Bae SH, Lee SJ. Comparison of vocal outcome after autologous fat injection and medialization thyroplasty for unilateral vocal cord paralysis. *Korean J Otolaryngol-Head Neck Surg*. 2010; 53: 24-29.
 6. Koufman JA, Postam GN, Cummins MM, Blalock PD. Vocal fold paresis. *Otolaryngol-Head Neck Surg*. 2000; 122: 537-541.
 7. Cashman S, Simpson CB, McGuff HS. Soft tissue response of the rabbit larynx to Gore-Tex implants. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2002; 111(11): 977-982.
 8. Sulica L, Blitzer A. Vocal fold paresis: evidence and controversies. *Curr Opin Otolaryngol-Head Neck Surg*. 2007; 15: 159-162.
 9. Kennedy BP, Blum JD, Keith H, Nislow LF. Comparing naturally occurring stable isotopes of nitrogen, carbon and strontium as markers for the rearing location of atlantis salmon. *Canadian J Fish Aquat sciences*. 2005; 62: 48-57.
 10. Heman-Ackah YD, Batory M. Determining the etiology of mild vocal fold hypomobility. *J Voice*. 2003; 17: 579-588.
 11. Simpson CB, Cheung EL, Jackson CJ. Vocal fold paresis: clinical and electrophysiologic features in a tertiary laryngology practice. *J Voice*. 2009; 23: 96-398.
 12. Yoo YS, Choi C, Kim HJ. New thyroplasty technique using balloon catheter. *Korean J Logopedics and Phoniatrics*. 2007; 18(2): 118-121.
 13. Mehta D, Hillman R. Voice assessment: updates on perceptual acoustic aero dynamic, and endoscopic imaging methods. *Curr Opin Otolaryngol head Neck surg*. 2008; 16: 211-215.
 14. AL-Bekairi AM, Shah AH, Qureshi S. Effect of *Allium sativum* on epididymal spermatozoa, estradiol-treated mice and general toxicity. *J Ethnopharmacology*. 1990; 29: 117-125.
 15. Winholtz WS, Raming L. Vocal tremor analysis with the vocal demodulator. *J speech and hearing research*. 1992; 35(3): 562-573.
 16. Enzinger FM. Malignant fibrous histiocytoma 20 years after stout. *Am J Surg Pathol*. 1986; 1: 43-53.
 17. Yarcheski AC. Kanpp-Spooner. Stressors Associated with Coronary Bypass Surgery. *Clinical Nursing Research*. 1994; 3(1): 57-68.
 18. Johnson JE, Waldo M, Johnson RG. Stress and perceived health status in the rural elderly. *J Gerontological Nursing*. 1993; 19(9): 24-29.
 19. Thase ME. Depression, sleep, and antidepressants. *J Clinical Psychiatry*. 1998; 59(4): 55-65.