

구기자 추출액이 알루미늄을 투여한 흰쥐의 혈청 효소활성도와 renin 및 aldosterone 호르몬에 미치는 영향

한 성 희*
원광보건대학 식품영양과

Effects of *Lycii fructus* Water Extracts of Serum Enzymes Activities on Renin and Aldosterone Hormone in Aluminum Fed Rats

Sung Hee Han*

Department of Food & Nutrition Wonkwang Health Science University

Abstract

This study was designed to investigate the effects of Korean *Lycii fructus* water extract in Al (Aluminum) administered rats. Forty-eight male Sprague-Dawley rats were divided into six groups: Control group, water extract group with 3% *Lycii fructus*, 1000 and 2000 ppm of Al groups, and 1000 and 2000 ppm of Al with 3% *Lycii fructus* water extract group. The Al content of rat tissue in the Al administered group was lower than that in rat tissue in the Al with 3% *Lycii fructus* water extract group. Plasma levels of renin and aldosterone activity was higher in the Al administration group, compared with the 3% *Lycii fructus* water extract group and Al administered group. Aspartate amino transaminase and alanine amino transaminase activities were elevated in the Al administered group and lower in the 3% *Lycii fructus* water extract group. Lactate dehydrogenase was lower in the 3% *Lycii fructus* water extract Al group than in the Al group. Choline acetyltransferase was higher in the 3% *Lycii fructus* water extract Al group than in the Al group.

Key Words: *Lycii fructus*, LDH, ChEase, rennin, aldosterone

1. 서 론

현대 사회는 대기오염, 공장폐수, 생활하수, 쓰레기 등의 과잉 발생으로 인한 환경오염이 날로 증가하고 있다. 특히 그 속에는 유기, 무기 독성물질이 함유되어 있어 인간이 유용하게 쓰여야 할 식품, 물, 공기, 토양 등을 점차 오염시켜 인간의 생존을 위협할 뿐만 아니라 미량일지라도 여러경로를 통해 장기간 동안 노출될 경우 생체내에 축적되어 대사 장애를 수반한다고 볼 수 있다(Kim et al. 1999). 이러한 유해물질을 제거하고자 동물, 식물, 미생물, 고분자 합성물질을 이용하는 연구가 보고되었다(Choi et al. 1994; Kim et al. 1995). 알루미늄은 지구상에서 산소, 규소에 이어 3번째로 지구 표면의 8%를 차지하는 금속으로 토양, 수질, 동, 식물체 등의 자연계에 널리 분포하며, 상수원수의 정수처리과정에도 광범위하게 사용되고 있다(Kim et al. 2002).

일상생활에서 알루미늄의 환경적 노출은 주로 물, 식품첨가제, 음식, 알루미늄의 조리기구 및 용기에 의한 것으로 1

일 30~50 mg 정도 섭취되며(Bjorksten, 1982), 공기를 통해서 는 약 0.042 mg이, 물을 통해서 는 약 0.26 mg의 알루미늄 이 매일 섭취된다고 한다(Sollars 1989). 고농도 알루미늄 노출에 의한 질병으로는 골이형성증, 거대적 아구성빈혈, 위장 관장애, 심장독성, 간독성, 치매, 신경병증 등이 나타난다고 보고하였다(Cannata, 1991; Fulton & Jeffery 1992; Bouras et al. 1997; Swain & Chainy 1997; Schetinger et al. 1999; Berg et al 2000). 알루미늄으로 인한 질병이 발병하는 메카니즘은 아직 명확하게 밝혀지지 는 않았지만, 철이나 알루미늄과 같은 금속이온들이 생체내에서 radical를 생성시켜 이들이 지질과산화 를 일으켜 만성질환을 일으키는 원인이 된다고 한다(Ohtawa et al. 1983; Frage et al. 1990; Takao 1993).

국민 소득과 생활수준의 향상으로 건강을 오래 유지하고자 생리활성물질을 이용한 건강기능성 식품에 대한 수요가 증가하고 있는 가운데 약용작물로 재배되고 있는 구기자는 열매, 잎, 뿌리 등에 널리 이용되고 있다. 그 중 열매는 베타인(betaine), 카로틴, 니코틴산, 비타민 A, B₂, C 등이 함유되

*Corresponding author: Sung Hee Han, Department of Food & Nutrition, Wonkwang Health Science University, Iksan, Jeonbuk 570-749, Korea
Tel: 82-63-840-1252 Fax: 82-63-840-1259 E-mail: hansh@wu.ac.kr

어 있어 간보호, 피로 및 무력감 치료, 동맥경화 예방, 콜레스테롤 감소 등에 효과가 있다고 한다(Cho et al. 2005). 특히 구기자의 수용성 성분은 혈압강하효과와 메탄올 추출물의 arachidonic acid에 의해 유발된 혈전 억제 효과 등이 있다(Kim et al. 1994). 이외에 항암효과(Park et al. 2000), 면역증진효과(Park et al. 2002), 항비만 및 항당뇨효과(Hwang et al. 2009), 항산화효과(Kim et al. 1995), 혈중콜레스테롤 저하효과(Kim et al. 1998), 항고혈압효과(Lee et al. 1996; Cho et al. 2005; Lee et al. 2008)등에 관한 보고가 있다. 현재 알루미늄이 인체에 미치는 유용성에 대해서는 논란중으로 알루미늄이 사람들에게 지속적으로 노출되면 독성에 대한 연구가 계속 보고되고 있다(Gupta & Shukla 1995; Flaten et al 1996; El-Maraghy et al. 2001). 특히 흡수된 알루미늄 대부분이 원위세뇨관을 통하여 소변으로 배설되기 때문에 신장기능과도 매우 밀접한 관련이 있다고 보고하였다(Krizek et al. 1997).

이에 본 연구에서는 고부가가치 생리기능이 있는 구기자 추출액이 알루미늄 중독완화에 어느 정도의 영향을 미치는지를 보고자 고혈압 기전과 관계가 깊은 renin과 aldosterone 기능 및 혈액 중 AST, ALT, LDH 효소활성도와 신경전달물질계통인 Choline acetyl transferase (ChAT) 활성에 대해 알아보려고 한다.

II. 연구 내용 및 방법

1. 추출물의 재료

본 실험에 사용된 구기자는 2013년산으로서 전북 구례시 장의 한약 재료상에서 구입하여 채취, 세척, 동결 건조하여 분쇄기(Daewoo grinder KMF-360, Korea)로 마쇄한 후 100 mesh로 분말화하였다. 3% 구기자 추출액은 분말화 한 30 g의 구기자를 1 L의 탈이온 증류수에 넣어 10시간 동안 밀봉 상태로 순환냉각기를 사용해서 60±10°C에서 가열한 후 여과하여 회전감압농축기로 농축시켜 구기자 추출액을 제조하였으며 농축 정도는 3% 농도(고형분 함량비)의 시료용액을 만들어 4°C에서 보관하여 시료로 사용하였다.

2. 실험동물 사육

실험에 이용한 흰쥐는 Sprague-Dawley계(male, 100±10 g)로 일반 cage에 8마리씩 넣어 일반 고형사료(Purina Co, Seoul, Korea)로 1주일 동안 환경(온도 23±2°C, 습도 50~60%)에 적응시킨 다음 체중에 따른 난피법으로 stainless steel cage에 한 마리씩 분리사육 하였고, 물과 식이는 제한 없이 먹도록 하였다. 각 군당 8마리씩 6개 군으로 <Table 1>에서 보는 바와 같이 정제수만을 급여한 대조군, 3% 구기자 추출물군, 알루미늄 1000, 2000 ppm 단독 급여군, 3% 구기자 추출액에 각각 1000, 2000 ppm 알루미늄 병합 급여군으로 나눈 다음 4주 동안 사육하였다.

<Table 1> Classification of experimental groups

Experimental groups	Aluminum in solution	<i>Lycium fructus</i> extracts
CON ¹⁾	-	-
LC ²⁾	-	+
LAI ³⁾	1000 ppm	-
HAI ⁴⁾	2000 ppm	-
LE-LAI ⁵⁾	1000 ppm	+
LE-HAI ⁶⁾	2000 ppm	+

¹⁾CON (Control diet): deionized water, without heavy metals.

²⁾LC: 3% *Lycii fructus* water extract group.

³⁾LAI: Al-1000 ppm added, non-3% *Lycii fructus* extract group.

⁴⁾HAI: Al-2000 ppm added, non-3% *Lycii fructus* extract group.

⁵⁾LC-LAI: Al-1000 ppm added, 3% *Lycii fructus* extract group.

⁶⁾LC-HAI: Al-2000 ppm added, 3% *Lycii fructus* extract group.

흰쥐에 급여한 알루미늄 농도 기준은 알루미늄의 유해성을 인식한 유럽공동체에서 먹는 물 중에 알루미늄 허용치를 0.05 mg/L로 규제하고 세계보건기구(WHO)에서는 알루미늄 허용치를 0.2 mg/L 이하, 우리나라는 먹는물 중 알루미늄의 규제농도를 0.2 mg/L 이하가 되도록 권장하고 있다(Choi 1995). 본 연구에서 Aluminum (Al₂SO₄)₃의 공급은 일상생활에서 식수를 통하여 오염될 가능성이 높다고 보는 중금속 농도 음용수 수질 기준인 0.2 ppm을 중심으로 1000, 2000 ppm의 알루미늄을 함유하게 하였다(Han & Shin 2005). 실험기간 동안 명암의 주기는 12시간 간격으로 조정하였고, 몸무게는 1주일에 한 번 측정하였으며, 식이효율은 전 체중 증가량을 같은 기간 동안의 식이섭취량으로 나누어 계산하였다. 식이섭취량은 매일 정해진 시간에 측정하였으며 실험에 사용된 모든 기구는 무기질의 오염을 방지하기 위하여 0.5% EDTA (ethylenediaminetetra acetic acid)용액으로 세척한 후 탈이온 증류수로 헹구어 사용하였다.

3. 시료 채취

실험 종료 후 흰쥐를 12시간 절식시킨 후 ethyl ether로 가볍게 마취한 후 개복한 즉시 심장 경동맥에서 10 mL 주사기로 혈액을 채취하였고 각 장기는 간, 폐, 심장, 신장, 위 및 비장을 적출하여 무게를 측정하였다. 혈청은 15°C에서 20분간 방치한 후 3000 rpm에서 15분간 원심분리하였고, 혈장은 채혈 즉시 항응고 처리된 관에 넣어 검사하였다.

4. 각 조직의 알루미늄 함량 분석법

간, 폐, 심장, 신장, 위 및 비장을 -70°C에서 냉동보관 한 후 Ganje 습식분해법(Ganje & Page 1976)에 준하여 분석하였다. 분석액은 방냉한 후 액을 50 mL로 정용한 다음 여과하여 여과액을 ICPS (inductively coupled plasma spectrometer, Liberty 110-Varian)를 사용하여 <Table 2>의 조건으로 측정하였다.

<Table 2> The operating condition of ICPS

Classification	Condition
Plasma	15.0 m/min
Auxiliary	1.50 L/min
Pump speed	25.0 rpm
Carrier gas flow	75 psi
Nebulizer	250 kpa
Integration time	3 sec
Cooling water flow	2 kg/cm ²

5. 혈청중의 효소 활성도 측정

Asparatate amino transaminase (AST) 및 alanine amino transaminase (ALT) Reitman-Frankle법(Ginsberg; 1970)에 기초한 혈청 transamiase 측정용 Kit 시약(Asan pharm, Korea)을 사용하여 측정하였다. 정색시약(2,4-dinitrophenyl hydrazine) 1.0 mL를 넣어 실온에서 20분간 발색시킨 후 0.4 N-NaOH 10 mL 가하여 증류수 blank를 대조로 하여 spectrophotometer (Model Gilford ATASAR-3)로 505 nm에서 비색정량하였다. AST, ALT의 활성 단위는 혈청 mL 당 Karmen unit로 하였다. Lactate dehydrogenase (LDH)는 Kit 시약(Mizuho, Medy, SR-1110, Japan)을 이용하여 spectrophotometer(Model Gilford STASAR-3)로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. Choline acetyl transferase (ChAT)는 Kit 시약(Roche, switzerland)을 이용하여 분석기기(Cobas Integra 800, Roche switzerland)로 측정하였다.

6. 혈장 renin과 aldosterone 활성도 측정

혈장 renin 활성도는 소량 (25 µL)의 혈장에 대량의 renin 기질을 사용하여 생성된 angiotensin I을 측정하는 방법으로 정량하였다(Cho et al. 1987) Angiotensin I의 항체는 Goodfriend et al.(1964)의 방법에 따라 angiotensin I (5-I le, 9-His)을 토끼의 혈청 albumin에 접합시켜 동량의 Freund's adjuvant와 잘 섞어 6주간 1회씩 여러 부위에 주사하였다. 2주후부터 채혈하여 그 titer를 측정하였으며 혈장은 56°C에서 30분간 불활성화하여 측정하였다. Titer가 결정된 angiotensin I 항혈청은 사용에 편리하도록 희석하여 소량씩 나누어 -70°C에 보관하였다. Renin기질은 Cho et al.(1979)의 방법에 따라 만들었으며 renin 활성도의 측정을 위한 angiotensin I의 측정은 Sealey et al.(1973)의 방법을 변형한 Cho et al.(Cho & Kim. 1982; Cho et al. 1989)의 방법에 따랐다. 변환효소 및 angiotensinases의 억제제로는 EDTA, phenylmethyl sulfonyl-fluoride 및 8-hydroxy-quinoline을 사용하였다. Angiotensin I의 radiomunoassay는 bovine serum albumin을 포함한 Tris-acetate buffer (pH 7.4, 0.1 M)를 사용하는 일반적인 방법에 따랐다. 4°C 하에서 18~30시간 방치 후 charcoal suspension(activated Norit A charcoal, 6.0 g; dextran T 70, 0.625 g; phenylmercuric acetate 34 mg; Tris-acetate

buffer (pH 7.4, 0.1 M)으로 1 L 되게 하여 bound form과 free form을 분리하였으며 gamma counter (Autogamma 5500, Packard, Downers Grovn, IL, USA)를 사용하여 그 radioactivity를 측정하였다. 혈장 aldosterone 농도는 aldosterone solid-phase RIA kit (Diagnostic Products Corporation, Los Angles, CA, USA)를 사용하여 측정하였다.

7. 통계처리

실험 결과는 SPSS 프로그램을 이용하여, 각 실험군의 평균과 표준편차를 구하였고 ANOVA Duncan's multiple range test에 의해 p<0.05수준에서 유의성을 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 체중 증가량 및 식이 효율

알루미늄 용액과 3% 구기자 추출액의 급여에 따른 체중 증가량, 식이섭취량, 식이효율은 <Table 3>에서 보는 바와 같다. 식이섭취량에서 대조군은 20.18 g, 구기자 추출액 단독 급여군은 21.43 g으로 대조군과는 유의한 차이를 보이지 않았다. 또한 알루미늄 단독급여군은 22.04~23.19 g, 구기자과 알루미늄 병합급여군은 21.02~22.25 g으로 알루미늄 단독급여군에 비하여 감소하였으나 유의성은 나타나지 않았다. 체중증가량에서 대조군은 73.47 g, 구기자 추출액 단독급여군은 70.14 g, 농도를 달리한 알루미늄 단독급여군은 69.03~70.70 g, 구기자 추출액과 알루미늄의 병합급여군은 65.34~67.02 g으로 알루미늄 단독급여군에 비하여 약간 감소하였으나 유의한 차이는 없었다. 식이효율은 각 실험군간에 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

2. 각 조직중의 알루미늄 함량

간, 심장, 신장, 폐, 위 및 비장 조직 중의 알루미늄 함량에서 대조군과 구기자 추출액 단독급여군 간에는 유의한 차이를 보이지 않았으며 전체적으로 알루미늄 단독 급여군에 비하여 알루미늄과 구기자 추출액 병합급여군의 함량은 감소하였다.

<Table 4>에서 보는 바와 같이 각 조직에 있어서 대조군은 0.76~2.66 mg/100 g, 구기자 추출액 단독급여군은 0.74~2.91 mg/100 g, 알루미늄 단독급여군은 1.04~5.07 mg/100 g에 비하여 구기자 추출액과 알루미늄 병합급여군이 0.84~3.91 mg/100 g으로 유의적으로 감소하였다. 일반적으로 체내에 중금속이 축적되면 식욕감퇴, 체중감소, 면역능력 감소 등의 중독 증상이 나타나며, 간이나 신장에 축적되기 쉽고, 일부 유독성 금속은 비교적 낮은 농도에서도 체조직과 반응하여 서서히 독성작용을 나타내어 일단 중독이 되면 완치가 불가능하다는 보고도 있다(Chung et al. 1999; Choi et al. 2002). Moon et al.(2004)에 의하면 조직 내에 있어서 알루미늄 농도 증가는 산화적 손상을 양적으로 증가시킨다고 보고하였

<Table 3> Feed intake, body weight gain and feed efficiency ratio (FER)

Group ¹⁾	Feed intake (g/a day)	body weight gain (g/4 week)	FER
CON	20.18±3.45	73.47±5.45 ^{2)ab3)}	0.13±0.02
LC	21.43±3.97	70.14±8.24 ^a	0.12±0.06
L-Al	22.04±4.18	70.70±7.88 ^{ab}	0.11±0.03
H-Al	23.19±4.67	69.03±6.90 ^{ab}	0.10±0.01
LC-LAI	22.25±3.72	67.02±9.43 ^{ab}	0.11±0.04
LC-HAI	21.02±3.23	65.34±5.45 ^b	0.11±0.02

¹⁾See Table 1.

²⁾Mean±SD (n=8)

³⁾Values with different alphabet within the same column different of $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test.

는데 본 결과에서 알루미늄 단독 급여군에 비하여 구기자와 알루미늄 병합급여군의 유의적인 감소는 구기자 추출액의 항산화성 화합물 성분이 알루미늄 금속이온과 착염을 형성하여 체내조직의 알루미늄 축적량을 어느 정도 감소시킨 것으로 생각된다.

4. 혈장 중 renin과 aldosterone 호르몬에 미치는 영향

알루미늄과 구기자 추출액을 급여한 흰쥐의 renin과 aldosterone 호르몬 농도는 <Table 5>에서 보는 바와 같다. Renin 호르몬 농도에서 대조군은 285.57 ngAl/mL/hr으로 구기자 추출액 단독급여군은 143.10 ngAl/mL/hr으로 대조군에 비하여 유의적으로 감소하였다. 알루미늄 단독급여군은 322.78~350.10 ngAl/mL/hr, 알루미늄과 구기자 추출액 병합급여군은 272.54~274.90 ngAl/mL/hr으로 알루미늄 단독급여군에 비하여 유의적으로 감소하였다. Aldosterone 농도에서 대조군이 336.96 pg/mL, 구기자 추출액 단독급여군은 279.09 pg/mL으로 대조군에 비하여 유의적으로 감소하였다. 알루미늄 단독급여군은 636.12~697.33 pg/mL, 알루미늄과 구기자 추출액 병합급여군은 535.68~560.93 pg/mL으로 알루미늄 단독급여군에 비하여 유의적으로 감소하였다.

혈관의 수축작용은 신장에서 분비되는 renin의 효소작용에 의해 생성된 고혈압에 의해 일어나며, angiotensin은 부신피

<Table 5> Effects of *Lycii fructus* water extracts on the plasma renin activity and aldosterone activity in Aluminum fed rats

Group ¹⁾	plasma renin activity (ngAl/mL/hr)	plasma aldosterone activity (pg/mL)
CON	285.57±28.58 ^{2)ab3)}	336.96±52.39 ^c
LC	143.10±18.24 ^c	279.09±25.94 ^d
LAI	322.78±15.49 ^a	636.12±96.84 ^a
HAI	350.10±26.03 ^a	697.33±67.39 ^a
LAI-LC	274.90±10.36 ^b	560.93±72.82 ^b
HAI-LC	272.54±30.96 ^b	535.68±62.82 ^b

¹⁾See Table 1.

²⁾Mean±SD (n=8)

³⁾Values with different alphaet within the same column different of $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test.

질에서 aldosterone 분비 증가를 일으키는 요인이 되므로 고혈압의 발생기전은 renin-angiotensin-aldosterone system이 매우 중요한 역할을 한다고 보고하였다(Lee et al. 1996). 따라서 이를 해결하고자 고혈압 치료제로서의 개발 가능성으로 식물 잎에서 분리한 phenol성 물질에 대한 ACE (Angiotension converting enzyme)저해 활성이 보고되었다 (Pertrillo & Ondetti 1982; Wyvrett et al 1985). renin 호르몬 생리 기능은 나트륨의 배설량을 감소시키고 교감신경을 자극하여 angiotensin 생성에 영향을 끼치기 때문에 renin 활성도가 높으면 신장기능이 저하된다고 한다. 따라서 renin과 aldosterone 농도에서 알루미늄 단독급여군에 비하여 구기자 추출액과 알루미늄 병합급여군의 유의적인 감소는 구기자의 성분 가운데 phenol성 화합물, betain, rutin, kukoamine A 등이 함유된 천연항산화제 성분의 영향(Cho et al. 2005)으로 renin과 aldosterone 농도가 감소한 것으로 사료되나 이에 대한 기전은 좀 더 많은 연구가 필요한 것으로 사료된다.

5. 혈청 중 ALT, AST 활성도

혈청중의 ALT, AST 활성은 정상상태에서는 효소의 활성이 낮으나 심장, 간, 근육, 혈구 등의 조직이 병적 상태에 빠지거나 혹은 붕괴되어 질병이 발생하면 세포내에 존재하는 효소가 다량으로 혈중에 유출되어 활성이 증가하는 효소로

<Table 4> Effects of *Lycii fructus* water extracts on Aluminum concentration in Aluminum fed rats (unit: mg/100 g)

Tissue/Group ¹⁾	CON	LC	LAI	HAI	LC-LAI	LC-HAI
liver	1.08±0.15 ^{2)bc3)}	1.10±0.01 ^{bc}	2.45±0.13 ^a	2.55±0.43 ^a	1.25±0.07 ^b	1.30±0.02 ^b
heart	0.76±0.01 ^c	0.74±0.02 ^c	1.28±0.11 ^a	1.04±0.11 ^a	0.98±0.07 ^b	0.84±0.04 ^b
kidney	1.16±0.03 ^b	1.05±0.10 ^b	1.27±0.12 ^a	1.34±0.13 ^a	0.52±0.17 ^c	0.78±0.16 ^c
lung	1.34±0.04 ^{bc}	1.27±0.05 ^c	3.45±0.29 ^a	3.97±0.34 ^a	2.05±0.06 ^b	2.66±0.13 ^b
stomach	2.45±0.19 ^c	2.30±0.04 ^c	3.50±0.19 ^a	3.71±0.15 ^a	2.85±0.09 ^{ab}	2.35±0.02 ^{ab}
spleen	2.66±0.20 ^c	2.91±0.12 ^c	4.25±0.12 ^a	5.07±0.14 ^a	3.91±0.20 ^b	3.42±0.11 ^b

¹⁾See Table 1.

²⁾Mean±SD (n=8)

³⁾Values with different alphaet within the same column different of $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test.

<Table 6> Effects of *Lycii fructus* water extracts on the serum ALT and AST activities in Aluminum fed rats (unit: IU/L)

Group ¹⁾	AST	ALT
CON	61.20±9.38 ^{2)c3)}	236.43±30.99 ^c
LC	62.24±10.24 ^c	278.60±39.43 ^c
LAI	108.20±13.45 ^a	479.40±47.15 ^a
HAI	96.40±28.31 ^a	531.00±39.45 ^a
LAI-LC	87.00±20.15 ^b	377.66±36.13 ^b
HAI-LC	71.40±20.36 ^{bc}	321.00±31.23 ^b

¹⁾See Table 1.

²⁾Mean±SD (n=8)

³⁾Values with different alphaet within the same column different of α=0.05 by Duncan's multiple range test.

만성간염, 급성간염, 지방간, 알콜성간염, 간암 등 주로 간세포의 변성이나 괴사를 반영한다(Bergmeyer 1995). 알루미늄 급여에 따른 구기자 추출액 급여가 ALT와 AST 활성에 영향을 미치는지를 조사한 결과는 <Table 6>과 같다. AST는 대조군이 61.20 IU/L에 비하여 구기자 추출액 단독 급여군이 62.24 IU/L로 대조군과 유의한 차이가 없었다. 알루미늄 단독급여군은 96.40~108.20 IU/L인데 비하여 알루미늄과 구기자 추출액 병합급여군이 71.40~87.00 IU/L으로 알루미늄 단독급여군에 비하여 유의적으로 감소하였다. ALT는 대조군이 236.43 IU/L, 구기자 추출액 단독급여군이 278.60 IU/L으로 대조군에 비하여 증가하였으나 유의한 차이는 없었다. 알루미늄 급여군은 479.40~531.00 IU/L으로 구기자 추출액과 알루미늄 병합급여군은 321.00~377.66 IU/L으로 알루미늄 단독급여군에 비하여 유의적으로 감소하였다. 구기자의 성분 가운데 betaine은 사염화탄소로 손상을 입은 간세포에 투여한 결과 ALT 농도가 감소하였으며, 간의 해독작용에 관여하는 glutathione-S-transferase의 활성도가 증가하여 간독성을 완화시킨다고 보고하였다(Kim et al. 1993).

즉, 구기자에 약 0.1% 정도를 차지하는 betain이 간을 보호하는 기능이 있는 것으로 보아 알루미늄을 단독급여한 군에 비하여 구기자 추출액과 알루미늄 병합급여군이 감소한 것은 구기자 추출액으로 인해 어느 정도 알루미늄 방에 영향을 미친 것으로 사료된다.

6. 혈청 중 LDH, ChAT 활성도

LDH는 해당계 효소의 일종으로 간, 심장, 골격근에 분포되어 있는 효소로 이 활성의 증가는 심장, 간, 신장질환, 암, 악성빈혈 및 백혈병 등에서 볼 수 있다(Rhee et al. 1989). LDH는 대조군이 1903.80 IU/L, 구기자 추출액 단독급여군은 1993.40 IU/L으로 대조군에 비하여 약간 증가하였으나 유의한 차이는 없었다. 알루미늄 단독급여군은 3620.25~3526.40 IU/L으로 구기자 추출액 급여군과 알루미늄 병합급여군은 2488.80~2956.40 IU/L으로 감소한 결과 알루미늄 단독급여군이 다른 실험군에 비하여 LDH 활성도가 높았다. 이

<Table 7> Effects of *Lycii fructus* water extracts on the serum LDH and ChAT activities in Aluminum fed rats (unit: IU/L)

Group ¹⁾	LDH	ChAT
CON	1903.80±157.79 ^{2)c3)}	340.20±39.42 ^b
LC	1993.40±126.52 ^c	397.60±26.09 ^b
LAI-	3620.25±163.65 ^a	322.80±24.11 ^b
HAI-	3526.40±130.05 ^a	316.20±49.15 ^b
LAI-LC	2488.80±131.09 ^b	412.20±27.98 ^{ab}
HAI-LC	2956.40±121.06 ^b	641.80±37.98 ^a

¹⁾See Table 1.

²⁾Mean±SD (n=8)

³⁾Values with different alphaet within the same column different of α=0.05 by Duncan's multiple range test.

는 중금속 이온을 투여한 실험군의 LDH 활성도 농도가 증가하였다는 보고(Morgan et al. 1983; Yang et al. 1993)와도 유사한 경향을 보였다.

Yang et al.(1993)에 의하면 세포막을 통과한 중금속 이온들은 세포질과 세포소기관에 분포하는 ligand의 물질대사에 필수적인 미량원소와 경쟁적으로 결합하여 효소를 불활성화시킬뿐만 아니라 이들 필수적인 미량원소의 정상적인 분포에 영향을 주어 효소의 활성을 억제하여 대사 등의 생리적 기능을 저해한다고 한다.

따라서 알루미늄과 구기자 추출액 병합급여군이 알루미늄 단독급여군에 비하여 유의적으로 감소한 것은 구기자 추출액 급여로 인해 어느 정도 알루미늄의 완화 효과를 볼 수 있다고 사료된다. ChAT는 대조군이 340.20 IU/L, 구기자 추출액 단독급여군이 397.60 IU/L으로 대조군에 비하여 증가하였으나 유의한 차이가 없었다. 알루미늄 추출액 단독급여군은 316.20~322.80 IU/L, 구기자 추출액과 알루미늄 병합급여군은 412.20~641.80 IU/L으로 알루미늄 단독급여군에 비하여 증가하였다. acetylcholine의 합성과 분해에 관련된 ChAT의 효소 활성은 체내 신경전달이 원활하게 이루어지기 위해서 중요하다(Schulz 2003; Oh et al. 2004). 따라서 알루미늄이 뇌조직에 축적되면 신경섬유가 변성을 일으켜 ChAT와 acetylcholine esterase의 활성도가 감소되며 알츠하이머 환자의 경우 콜린성 기능 장애로 인해 ChAT의 활성도가 현저하게 저하된다고 보고(Bowen 1983; Marquis & Black 1984)하였다. 이와 같은 연구결과는 알루미늄이 감소된 ChAT 농도를 구기자 추출액의 급여로 인해 증가되어 뇌의 신경전달을 원활하게 한 것으로 생각되었으나 추후 부가적인 연구가 계속되어야 할 것으로 사료된다.

IV. 요약 및 결론

본 연구는 구기자 추출액을 음용하였을 때 알루미늄 급여에 따른 AST, ALT, LDH, ChAT 효소 활성도와 renin과 aldosterone 호르몬 농도에 대해 조사하였다.

알루미늄 용액과 구기자 추출액의 급여에 따른 식이섭취량에서 구기자 추출액 단독 급여군은 대조군과는 유의한 차이를 보이지 않았다. 알루미늄 병합급여군은 알루미늄 단독 급여군에 비하여 감소하였으나 각 실험군간에 유의성은 나타나지 않았다. 체중 증가량에서 알루미늄 단독급여군은 구기자 추출액과 알루미늄의 병합급여군에 비하여 약간 증가하였다. 간, 심장, 신장, 폐, 위 및 비장 조직에서 대조군과 구기자 추출액 단독 급여군 간에는 유의한 차이를 보이지 않았으며 알루미늄 급여군에 비하여 알루미늄과 구기자 추출액 병합급여군의 함량은 감소하였다. Renin과 aldosterone 호르몬 농도 및 AST와 ALT는 알루미늄 단독급여군에 비하여 알루미늄과 구기자 추출액 병합급여군이 유의적으로 감소하였다. LDH는 구기자 급여군이 대조군에 비하여 약간 증가하였으나 유의한 차이는 없었으며, 알루미늄 급여군에 비하여 구기자 추출액과 알루미늄 병합급여군이 유의적으로 감소하였다. ChAT는 알루미늄 단독급여군에 비하여 구기자 추출액과 알루미늄 병합급여군의 농도가 증가하였다. 이와 같은 결과는 구기자 다염성분의 하나인 polyphenol계 화합물에 의한 항산화성 물질이 알루미늄과 작용을 형성한 것으로 장기적인 구기자의 음용은 어느 정도 알루미늄에 의한 중독 완화효과를 볼 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2013년도 원광보건대학 교내 연구비로 수행되었습니다.

References

- Berg BM, Croom J, Fernandez JM, Spears JW, Eisen EJ, Taylor IL, Daniel LR, Coles BA, Boenheim F, Mannon PJ. 2000. Peptide YY administration decreases brain aluminum in the Ts65Dn down syndrome mouse model. *Growth Develop. Aging.*, 64(12):3-19
- Bergmeyer HU. 1995. *Methods of enzymatic analysis*. Verlag Chemie Academic press Weinheim, USA, 1(1):20-28
- Bjorksten JA. 1982. Dietary aluminum and alzheimer's disease. *Sci toal Environ.*, 25(1):81-86
- Bouras C, Giannakopoulos P, Good PF, Hsu A, Hof PR, Perl DP. 1997. A laser microprobe mass analysis of brain aluminum and iron in dementia pugilistica comparison with Alzheimer's disease. *Eur. Neurol.*, 38(1):53-58
- Bowen DM, Benren JS, Allen SJ, Goodhardt MJ. 1983. Biochemical assessment of serotonergic and cholinergic dysfunction and cerebral atrophy in Alzheimer's disease. *J. Neurochem.*, 41(1):266-272
- Cannata Andia JB. 1991. Role of aluminum in osteodystrophy and anemia in chronic renal failure. *An. Med.. Interna.*, 8(2):21-27
- Cho KW, Malvin RL. 1979. Renin inactivation during in vitro. *Experimental Am. J. Physiol.*, 236(6):501-504
- Cho KW, Kim SH. 1982. Factors affecting the relationship between renal renin activity and plasma renin activity. *Korean J. Physiol.*, 16(1):63-68
- Cho KW, Kim SH, Koch GY. 1987. Radioimmunoassay and characterization of renin-angiotensin system in the fresh water turtle. *L. Exp. Zool.*, 242:255-262
- Cho KW, Kim SH, Koh GY, Seul KH, Huh KS, Chu D, Rap NS, Moon HB, Kim KK, Kook YJ. 1989. Plasma concentration of atrial natriuretic peptide in different phase of korean hemorrhagic fever. *Nephron.*, 51(2):215-219
- Cho YJ, Chun SS, Cha WS, Park JH, Lee KH, Kim JH, Kwon HJ, Yoon SJ. 2005. Antioxodative and antihypertensive effects of Lycii fructus extracts. *J. korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 34(9):1308-1313
- Choi BS, Park YJ, Kweom IH, Hong YP, Park JD. 2002. Reference values of mercury in liver and kidney of korean. *Korean J. Environ. Toxicol.*, 17(2):119-115
- Choi SI. 1995. The Current moving in commencing advanced water treatment in korea and the encountering concerns. *J. KSWO Sec.*, 11(3):153-161
- Choi SJ, Lee JH, Ree SR. 1994. Effect of green tea beverage on the removal of cadmium and lead by membrane filtration. *Korean J. Food Sci. Tech.*, 26(6):740-744
- Chung Y, Hwang MS, Yung GY, Jo SJ. 1999. Health risk assessment of lead exposure through multi-pathways in korea. *Korean J. Environ. Toxicol.*, 14(2):203-206
- EI-Maraghy SA, Gad MZ, Fahim AT, Hamdy MA. 2001. Effect of cadmium and aluminum intake in the antioxidant status and lipid peroxidation in rat tissues. *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, 15(4):207-214
- Flaten TP, Alfrey AC, Birchall JD. 1996. Status and future concerns of clinical and environmental aluminum toxicity. *J. Toxicol. Environ. Health.*, 48(6):527-541
- Frage CG, Oteiza PL, Golub MS, Gershwin ME, Keen CL. 1990. Effects of aluminum on brain lipid peroxidation. *Toxicol. Lett.*, 51(2):213-219
- Fulton B, Jeffery EH. 1992. Heme oxygenase induction. A possible factor in aluminum level in hemodialysis patients. *Nephron*, 61(2):158-162
- Ganje JJ, Page AL. 1976. Rapid acid dissolution of plant tissue for cadmium determination by atomic absorption spectrophotometry. *At. Absorp. Newslett.*, 131(13):108-110
- Ginsberg AL. 1970. Very high levels of SGOT and LDH in patients with extrahepatic biliary tract obstruction. *J. Amer. Dig. Dis.*, 15(2):803-805
- Goodfriend TL, L Levine, Fasma GD. 1964. Antibodies to bradykinin and angiotensin. A use of carbodiimide in

- immunology. *Science.*, 144(3624):1344-1346
- Gupta A, Shukla GS. 1995. Effect of chronic aluminum exposure in the levels of conjugated dienes and enzymatic antioxidants in hippocampus and whole brain of rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 55(3):716-722
- Han SH, Shin MK. 2005. Effects of water extracts of pueraria radix on serum enzymes activities in aluminum administrates. *J. Korean Soc. Food Cult.*, 20(1):113-122
- Kim HK, Kim YE, Do JR, Lee YC, Lee BY. 1995. Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 27(1):80-85
- Kim HS, Park YS, Kim YE, Kim CI. 1998. Changes of serum lipid profiles after eating Lycii fructus in rats fed high fat diet. *Korean J. Nutr.*, 31(3):263-270.
- Kim JY, Oh KC, Baek SH. 1999. Effects of food (Fruit and oriental Herb's) waste materials on removability of cd^{2+} , pb^{2+} , Ion in water. *Korean J. Food & Nutr.*, 12(6):602-607
- Kim JY, Kim KH, Am WS, Jang TW, Kim I, Hong YS, Kim JI. 2002. Aluminum clearance by hemodialysis in chronic renal failure. *Korean J. Occup. Environ. Med.*, 14(1):78-84
- Kim NJ, Youn WG, Hong ND. 1994. Pharmacological effects of Lycium chinense. *Korean J. Pharmacogn.*, 25(3):264-271
- Kim SY, Kim HP, Lee MK, Byun SJ, Kim SH, Han HM, Moon A, Huh M, Kim YC. 1993. The effect of betain on the CCl4-induced hepatotoxicity in rats. *J. pharm. soc. Korea*, 37(5): 538-543
- Krizek M, Senft V, Motan J. 1997. Aluminum and the body. *Cas. Lek. Cesk.*, 136(17):545-547
- Lee HS, Do GR, Yun GY, Yu YC. 1996. Effects of Lycii fructus warwe extracts on the blood pressure, plasma renin activity and plasma levels of artial nayriuretic peptide in two-kidney. one clip goidblatt hypertensive rats. *J. Korean orient. med.*, 17(1):37-47
- Lee JS, Park YC, Paik SW, Lee SS, Ahn YK, Lee JS. 2008. Physiological functionality of Gugiga products and in Vivo examination on anti-hypertension effects. *Korean J Food & Nutr.*, 21(2):115-120
- Marquis & Black. 1984. Aluminum activation and inactivation of bovine caudate acetylcholinesterase. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 32(1):704-710
- Moon CJ, Koh HC, Shin IC, Lee EH, Moon HR. The effects of oxidative stress induced by aluminum on cellular macromolecules in the hippocampus and cerebral cortex of rats. *J. toxicol. Pub. Health.*, 20(3):213-223
- Morgan RM, Kundomal YR, Hupp YR. 1983. Serum lactate dehydrogenase (LDH) activity following exposures to cadmium and/or Co amma irradiation. *J. Environ. Sci. Health.*, 18(4):483-492
- Oh MH, Houghton PJ, Wang WK, Cho JH. 2004. Screening of korean herbal medicines used to improve cognitive function for anti-choline esterase activity. *Phytomedicine.*, 11(6):544-548
- Ohtawa M, Seko M, Takayama F. 1983. Effects of aluminum ingestion on lipid peroxidation in rats. *Chem. pharm. Bull.(Tokyo).*, 31(4):1415-1418
- Park JS, Park JD, Lee BC, Choi KJ. 2000. Effects of extracts from various parts Lycium chinense mill on proliferation of mouse spleen cells, *Korean J. Med. crop. Sci.*, 8(4):291-296
- Park YJ, Kim MH, Bae SJ, Choi KJ. 2002. Enhancement of anticarcinogenic effect by combination of Lycii fructus with vitamin C. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 31(1):143-148
- Pertrillo EW & Ondetti MA, 1982. Angiotension converting enzyme inhibitors: Medicinal chemistry and biological actions. *Med. Chem. Biol Act. Med. Res.*, 2(1):1-5
- Rhee SJ, Hung PC. 1989. Metallothionein accumulation in CHO of cells in response fead treatment. *Chem. Biol. Interact.*, 72(3):347-361
- Schetinger MR, Bonan CD, Morsch VM, Bohrer D, Valentim LM, Rodrigues SR. 1999. Effects of aluminum sulfate on delta-aminolevulinatase dehydratase from kidney, brain and liver of adultmice. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 32(6):761-766
- Schulz V. 2003. Ginkgo extract or cholinesterase inhibitors in patients with dementia; what clinical trials and guidelines fail to consider. *Phytomedicine.*, 10(4):74-79
- Sealey JE, Laragh JH. 1973. Searching out low renin patients limitation of some commonly used methods. *Am. J. Med.*, 55(3):303-314
- Sollars CJ, Bragg SS. 1989. Aluminum in European drinking water. *Environ. Technol.*, 10(2):131-150
- Swain C, Chainy GB. 1997. Aluminum effect on lipid peroxidation and on the activities of superoxide dismutase and catalase in the cerebral hemisphere and liver of young chicks. *Trace Elem. Med. Biol.*, 11(2):77-82
- Takao O, Karino T, Matsuhiko K. 1993. Stimulation of Fe^{2+} -induced lipid peroxidation in phosphatidycholine liposomes by aluminum ions at physiological pH. *BBA-Lipids Lipid met.*, 1170(2):182-188
- Wyvrat MJ, Patchett AA. 1985. Recent developments in the design of angiotension-converting enzyme inhibitors. *Med. Res. Rev.*, 5(4):483-488
- Yang SI, Wui IS, Lee JB. 1993. The effect of heavy metal ions on the enzyme activity of the chick embryos. *Korean J. Environ. Biol.*, 1(1):1-10