

인삼 사포닌이 일산화탄소와 노화에 의한 신경전달계 변화에 미치는 영향 (기억력 장애에 미치는 영향)

윤혜정 · 신정희 · 최현진 · 윤재순*

이화여자대학교 약학대학

(Received January 15, 1992)

Effect of Ginseng Saponins on Neurotransmitter System Damage in Carbon Monoxide and Aging Rats (Effect on the Memory Impairment)

Hea Chung Yun, Jeung Hee Shin, Hyun Jin Choi and Jae Soon Yun*
College of Pharmacy, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

Abstract—The present study examined the effects of carbon monoxide (CO) intoxication and aging on learning and memory deficit in young(5~8 weeks) and aged(52~66 weeks) mice, using the step down and step through passive avoidance failure techniques. We also investigated the effects of ginseng saponins on memory deficit.

Significant decrease in memory registration, retention and retrieval function in young mice and decrease in memory registration and retention function in aged mice were observed.

Normal young mice were apt to perform to a great degree of passive avoidance response than normal aged mice, but there was no difference between both groups by CO exposure.

Administration of ginseng saponins showed an improvement on passive avoidance failure induced by CO exposure.

Keywords □ Ginseng saponins, CO intoxication, step down and stepthrough passive avoidance failure techniques, memory injury.

평균수명의 연장으로 고령화 인구나 환경오염의 증가추세로 노년성치매 및 뇌혈관성치매나 유독성 오염물질 등에 기인한 뇌장애증상이 큰 의료문제로 대두되어 이를 개선 및 예방하는 약물의 개발에 관심이 모아져 있다. 그러나 아직도 뇌장애의 발생기서가 명확하게 구명되어 있지 않다.

정상동물에 기억장애를 야기시키는 방법으로 항 choline약, anoxia, electroconvulsive shock 및 허혈 부하 등의 amnesia model을 이용하여 기억장애를

개선하는 약물의 효능을 검사하고 있다는 많은 보고가 있다.¹⁻⁷⁾

일산화탄소(CO)는 자동차 배기가스, 연료 등 우리 생활환경에서 흔히 발생하는 기체로 혈액소와의 친화력이 커서 소량을 흡입해도 쉽게 일산화탄소헤모글로빈(HbCO)을 형성하여 조직으로의 산소공급을 차단하고 mitochondrial cytochrome oxidase 저해로 조직내 산화환원대사도 억제한다.⁸⁻¹⁰⁾ CO는 심한 저산소증으로 예민하고 빠른 치명적 중독증상을 나타내나 일차적 손상부위는 중추신경계로서 비가역적 손상으로 뇌기능장애를 일으켜 치매, 운동장애, 언어

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

장애, 지각장애, 지연성 후유증 등이 온다.¹¹⁻¹⁴⁾ 그러므로 CO 중독에 의한 저산소성 뇌장해 모델을 만들어 학습, 기억능력을 시험하고자 한다.

한편 인삼 panax ginseng은 항stress, 항피로, 항당뇨병, 항암작용, 혈압 안정화 및 정신활동 증가 등 다양한 효능이 보고되어 있으며¹⁵⁻¹⁸⁾ 특히 인삼 saponin이 electroconvulsive shock이나 scopolamine으로 유발시킨 학습, 기억장해의 실험모델에서 기억감퇴증상을 개선하였다는 보고가 있으므로⁶⁾ 본 실험은 CO 중독으로 인한 저산소성 뇌장해 증상 발현시와 고령화가 기억획득, 고정, 재현의 3단계 각각에 미치는 영향과, 이에 대한 인삼 total saponin, panaxadiol 및 panaxatriol saponin의 개선효과를 관찰하였다.

실험재료 및 방법

실험기기

CO 중독용 180l 용적의 stainless steel chamber 및 CO 검지관과 검지기(Gastec. CO. Japan), UV/Vis. spectrophotometer(Shimatzu UV-240), step down 및 step through 수동회피반응 측정장치를 사용하였다.

Step down 수동회피반응 측정장치는 Chorover¹⁹⁾ 등에 의해 사용된 것을 기본으로 하여, 12×12×30 cm의 아크릴상자 5개가 연계되어 있고 바닥에 7 mm 간격으로 격자를 설치하였다. 격자 위에는 높이, 지름이 4×4 cm인 원통형의 우레탄으로 된 단을 설치하였고 생쥐가 이 단 위에서 바닥으로 내려올 경우 바닥의 격자를 통해 30 volt의 전기가 가해지도록 장치하였다.

Step through 수동회피반응 측정장치는 일본 동경대 약학부 Saito가 도안, 제작케 한 Passive Avoidance Control PA-M5(TIME)로써 2개의 공간으로 나누어져 있는 상자로 그 칸막이에는 구멍이 있어서 이 구멍을 통해 생쥐가 쉽게 통과할 수 있도록 하였다. 상자의 한쪽부분은 투명한 아크릴판으로 만들어 상자안을 밝게 하였고 다른 한쪽은 검은 아크릴판으로 만들어 상자안을 어둡게 하였으며, 바닥에는 7 mm 간격으로 격자를 설치하였다. 전기충격은 바닥에 설치된 격자를 통해, 생쥐가 어두운 부분으로 들어갔을 때 30 volt의 전기가 주어지도록 장치하였다.

투여약물

Ginseng total saponin, panaxadiol saponin 및 panaxatriol saponin은 한국인삼연초연구소에서 6년근 수삼을 증숙가온건조시켜 제조된 홍삼을 약 6 mm로 절단한 다음 Ando²⁰⁾ 및 김 등²¹⁾이 사용한 방법으로 80% 메탄올 엑스를 얻은 다음 수포화 n-부탄올 추출법으로 추출 정제하여 total saponin을 얻었으며 이를 silica gel(Kiesel gel 60, Merck Art 9385, 230~400 mesh) 컬럼에 n-butanol/ethyl acetate/water(4:1:5, 상층)으로 전개시켜 panaxatriol계 fraction 및 panaxadiol계 fraction을 얻어 강압농축시켜 결정체를 얻었다. 이를 증류수에 용해시켜 각각 250 mg/kg, 50 mg/kg, 50 mg/kg의 용량으로 경구투여하였다.

실험동물의 구분

생후 5~8주 및 52~66주 된 ICR계 수컷 생쥐를 사용하였고 실험전까지 고형사료(삼양유지)와 물을 자유로이 섭취하도록 공급하였다.

실험군의 구분은 어린 동물군(5~8주령)과 고령동물군(52~66주령)의 2군으로 대별하고 각각을 정상대조군, CO중독대조군, CO중독군에 ginseng total saponin(TS)전투여군, ginseng panaxadiol saponin(PDS)전투여군 및 ginseng panaxatriol saponin(PTS)전투여군으로 구분하였다. ginseng saponin은 CO 중독전 5일간 매일 1일 1회 경구투여한 다음날에 실험을 행하였다. CO 중독은 180l의 중독용 chamber에 CO 1%, N₂ 79% O₂ 20%의 혼합가스를 2l/min의 기속으로 흘러 chamber 내의 CO 농도가 5000 ppm이 유지되도록 하면서 동물을 40분간 노출시켰고, 이때 상자내 CO농도는 수시로 측정 확인하였다. 정상대조군은 CO 혼합가스 없이 압축공기만을 같은 조건으로 흘러주었다. CO 중독대조군은 약물 대신에 생리식염수를 투여하였다.

HbCO 양 측정

생쥐의 안총정맥에서 채혈한 혈액과 heparin액(50 IU)을 1:1로 혼합하여 이중 100 μl을 취하여 0.12 M NH₄OH 25 ml와 반응시켜 5분간 방치후 혼합액 3 ml를 바이알에 취하고 sodium dithionite(Na₂S₂O₄) 10 mg을 넣어 2분간 반응시킨다. 반응액을 UV spectrophotometer로 541 nm와 555 nm에서의 흡광도를 측정하여 555 nm에서 측정된 흡광도에 대한 541 nm에서 측정된 흡광도의 비로부터 이미 작성된 표준곡

선을 이용하여 HbCO의 농도를 측정하였다.

표준곡선은 생쥐의 안총정맥에서 채혈한 heparin 처리혈액을 Conard법²²⁾에 따라 진한 황산과 개미산을 수욕상에서 반응시켜 발생하는 CO로 15분간 포화시켜 100% HbCO로 하고, 한편 순수한 O₂로 15분간 포화시켜 0% HbCO로 하여 표준곡선의 양 끝점을 구하였다. CO로 포화시킨 100% HbCO 혈액을 N₂로 5분간 처치하여 물리적으로 녹아있는 CO를 제거하여 이미 만들어진 표준곡선에서 정확한 HbCO 량을 얻었다. 또 표준곡선의 중간점은 N₂ 처리혈액과 O₂ 처리혈액을 각각 7 : 3 및 3 : 7로 혼합하여 구하였다.

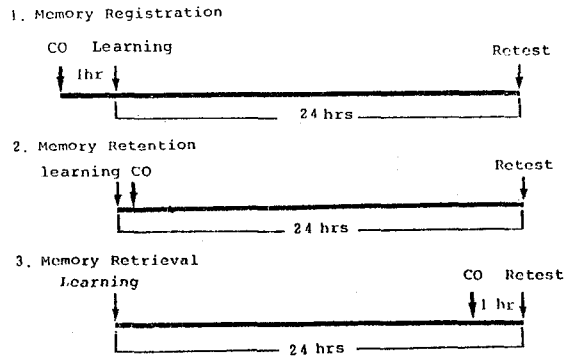
Step Down 수동회피반응

생쥐를 실험상자의 원통 단위에 올려놓으면 생쥐는 즉시 바닥으로 내려와 실험상자 안을 탐색하는데 이때 생쥐가 바닥으로 내려오면 바닥의 격자를 통해 전기 자극이 가해지도록 하는 조건에서 3분동안 생쥐를 실험상자 안에 두고 기억을 획득하게 하였다. 이때 생쥐를 처음에 단 위에 올려놓은 뒤 30초 이상 바닥으로 내려오지 않는 동물은 실험에서 제외시켰다. 검사시행은 훈련시행 24시간 후에 실시하였으며, 생쥐를 실험상자의 단 위에 올려놓고 바닥으로 내려오기까지의 시간(latency time)을 실험상자에 설치된 감지기를 통해 자동으로 측정하였다. 검사시행은 3분 동안 관찰하였다.

Step Through 수동회피반응

생쥐를 실험상자의 밝은 부분에 넣으면 생쥐는 구멍을 통해 어두운 부분으로 들어가게 되며 생쥐가 어두운 부분으로 들어가면 전기충격이 가해지도록 하는 상태에서 3분동안 훈련을 시행하여 기억을 획득하도록 하였으며, 훈련시 30초 이상 어두운 부분으로 들어가지 않는 동물은 실험에서 제외시켰다. 검사시행은 훈련시행 24시간 후에 실시하였다. 검사시행은 생쥐를 밝은 부분에 넣고 어두운 부분으로 들어갈 때까지의 시간(latency time)을 측정하였는데 이 시간은 상자의 어두운 부분 내에 설치된 감지기를 통해 자동으로 측정되었으며 3분동안 관찰하였다.

수동회피반응은 기억획득, 고정 및 재현의 3단계에 대하여 각각 실시하였으며 각 단계에서 step down과 step through의 두 측정방법을 사용, 측정하였다. 기억의 단계에 따른 실험과정을 Scheme I에 요약하였다.



Scheme I—Experimental design corresponding the phase of memory.

운동기능에 대한 영향 측정

수동회피반응 측정시 CO 중독이나 기타 사용된 약물의 효과가 기억에 대한 고유한 영향인지 혹은 운동기능실조에 의한 현상인지를 구별하는 것은 중요하다. 따라서 훈련받지 않은 동물을 이용하여 step down 및 step through 수동회피반응 측정장치에서의 지체시간(latency time)을 측정하였다.

통계분석

모든 실험값은 평균± 표준오차로 표시하였으며 지체시간에 대한 측정값의 유의성은 Student t-test에 의하여 검정하였으며, 일정시간(180 sec) 이상 기억하는 동물수에 대한 유의성은 Chisquare test에 의하여 검정하였고 p<0.05일 때 유의성이 있다고 판정하였다.

실험결과

CO 중독시 HbCO 농도

ICR계 웅성 생쥐를 CO 5000 ppm에서 40분간 중독시킨 직후 혈중 HbCO 포화도는 미리 작성한 표준곡선을 이용하여 측정하였을 때 72%였다.

운동기능에 대한 효과

훈련을 받지 않은 실험동물에 대하여 saline만 투여한 정상대조군, saline 투여후 CO에 노출시킨 CO 중독대조군, CO 중독전에 GTS 250 mg/kg, PDS 50 mg/kg 및 PTS 50 mg/kg을 각각 전치치한 약물 전치치 CO 중독군의 5군으로 분류하여 수동회피반응 측정장치를 이용하여 latency time을 측정하였으며,

Table I—Effects of CO intoxication and ginseng saponins on the motor function in normal mice

Group	Dose (mg/kg, p.o.)	Latency Time (sec)	
		step through	step down
normal control	—	4.86±1.01	4.43±1.96
CO control	—	5.00±1.46	5.00±1.57
CO+total saponin	250	6.43±1.25	5.29±2.08
CO+PD saponin	50	5.43±2.11	3.29±0.89
CO+PT saponin	50	7.00±1.79	3.67±1.23

Each value represents the mean±S.E.M. of 6 animals.

5일간 1일 1회 약물투여하고 다음날 검사를 시행하였다. 이 결과 각 실험군의 평균지체시간이 step through 수동회피반응에서 각각 4.86, 5.00, 6.43, 5.43 및 7.00초였고, step down 수동회피반응에서는 4.43, 5.00, 5.29, 3.29, 3.67초로 나타나 모두 대조군과 유의한 차이가 없었다. 따라서 CO 중독이나 약물투여가 실험동물의 운동기능에 특별한 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 실험결과는 Table I과 같다.

어린 동물군의 기억획득에 대한 영향

CO 5000 ppm에 40분간 노출시킨 후 1시간 후에 수동회피반응 학습훈련을 시키고 24시간 후 기억인출시험을 행하여 기억획득에 대한 영향을 검사하였다. 각 실험군의 수동회피반응 측정치는 지체시간 및 실험에 사용한 동물수에 대한 180초 이상 지체하는 동물수의 비율값으로 각각 비교하였으며, step through와 step down의 두 방법으로 측정하였고 그 결과는 Table II와 같다.

step through 수동회피반응 측정장치로 측정하였을

때 정상대조군의 평균지체시간이 134.51초였으나 CO 중독대조군은 71.92초로 정상대조군에 비하여 유의하게 감소하였다. GTS, PDS 및 PTS를 실험시행전 5일간 1일 1회 경구투여한 실험군에 있어서는 각각 119.48, 136.29 및 114.62초로 지체시간이 CO 중독대조군에 비하여 유의적으로 증가하였다. 또한 실험 동물수에 대한 180초 이상 지체하는 동물수의 비율값으로 비교했을 때도 정상대조군 61.2%에 비하여 CO 중독군은 19.4%로 감소하였고 GTS, PDS, PTS 투여시는 각각 48.4, 57.9, 55.9%로 CO 중독군에 비하여 유의하게 증가하였음을 나타냈다.

step down 수동회피반응 측정장치로 측정하였을 때 정상대조군의 단위에서의 평균지체시간이 132.37 초였으나 CO 중독대조군은 96.89초로 정상대조군에 비하여 유의적으로 감소하였다. GTS 및 PDS를 전 처치한 실험군은 각각 132.65, 131.97초로 CO 중독대조군보다 지체시간이 유의하게 증가하였으며 PTS 전처치시도 지체시간이 증가는 하였으나 유의성은 없었다. 한편 180초 이상 지체하는 동물수의 비율은 유의성은 없으나 CO 중독으로 감소하였고 인삼처치군에서는 기억하는 동물수가 증가됨을 나타냈다.

어린 동물군의 기억고정에 대한 영향

수동회피학습훈련시킨 직후에 CO 5000 ppm에 40분간 노출시키고 훈련 24시간 후에 기억인출시험 측정을 행하여 기억고정에 대한 영향을 조사한 결과를 Table III에 표시하였다.

step through 수동회피반응 측정장치로 측정하였을 때 정상대조군의 평균지체시간이 150.3초였으나 CO 중독대조군은 113.09초로 유의하게 감소하였다. 측정

Table II—Effects of ginseng saponins on CO-induced passive avoidance failure in young mice(Membry resistration)

Group	Dose (mg/kg, p.o.)	step through		step down	
		latency time (sec)	ratio of memory(%) ^a	latency time (sec)	ratio of memory(%) ^a
normal control	—	134.51±9.39	61.2	132.37±8.50	57.1
CO control	—	71.92±11.41*	19.4*	96.89±11.52*	36.1
CO+total saponin	250	119.48±11.96**	48.4**	132.65±10.97**	58.1
CO+PD saponin	50	136.29±10.26**	57.9**	131.97±10.09**	57.9
CO+PT saponin	50	114.62±13.16**	55.9**	121.97±10.52	47.1

^aratio of the No. of animals staying on the platform or in the light compartment more than 180 sec to the No. of animals used.

Each value represents the mean±S.E.M. of 30~35 animals.

*p<0.05 vs. normal control group, **p<0.05 vs. CO-exposed control group

Table III—Effects of ginseng saponins on CO-induced passive avoidance failure in young mice(Memory retention)

Group	Dose (mg/kg, p.o.)	step through		step down	
		latency time (sec)	ratio of memory(%) ^a	latency time (sec)	ratio of memory(%) ^a
normal control	—	150.30± 8.67	71.1	152.05± 7.85	72.1
CO control	—	113.09± 13.28*	48.6*	112.83± 12.45*	48.6*
CO+total saponin	250	151.23± 11.31**	80.0**	144.83± 11.81	73.3**
CO+PD saponin	50	145.80± 10.38**	71.4**	134.83± 11.66	65.7
CO+PT saponin	50	156.20± 9.76**	80.0**	146.23± 10.25**	66.7

^aratio of the No. of animals staying on the platform or in the light compartment more than 180 sec to the No. of animals used.

Each value represents the mean± S.E.M. of 30~35 animals.

*p<0.05 vs. normal control group, **p<0.05 vs. CO-exposed control group

Table IV—Effects of ginseng saponins on CO-induced passive avoidance failure in young mice(Memory retrieval)

Group	Dose (mg/kg, p.o.)	step through		step down	
		latency time (sec)	ratio of memory(%) ^a	latency time (sec)	ratio of memory(%) ^a
normal control	—	120.47± 10.84	55.6	139.51± 9.27	62.2
CO control	—	78.91± 12.47*	37.2	122.09± 11.94	60.5
CO+total saponin	250	110.39± 13.33	55.6	136.50± 11.59	69.4
CO+PD saponin	50	124.61± 13.22**	60.6**	150.91± 10.16	75.8
CO+PT saponin	50	98.61± 14.25	48.5	149.79± 10.40	75.8

^aratio of the No. of animals staying on the platform or in the light compartment more than 180 sec to the No. of animals used.

Each value represents the mean± S.E.M. of 30~35 animals.

*p<0.05 vs. normal control group, **p<0.05 vs. CO-exposed control group

5일 전부터 매일 1회 GTS, PDS 및 PTS를 경구투여한 실험군은 각각 151.23, 145.8 및 156.2초로 지체시간이 CO 중독대조군에 비하여 유의하게 증가되었다. 또한 180초 이상 지체하는, 즉 완전히 기억한 동물수의 비율도 정상대조군 71.1%에 비하여 CO 중독대조군은 48.6%였으나 GTS, PDS, PTS를 전투여한 실험군은 각각 80.0, 71.4, 80.0%로 유의하게 증가하였다.

Step down 수동회피반응 측정장치로 측정하였을 때 정상대조군의 단위에서의 평균지체시간이 152.05초였으나 CO에 노출시켰을 때 112.83초로 유의적으로 감소하였다. 인삼 saponin 전처리하는 모든 실험군에서 지체시간이 연장은 되었으나 PTS 투여군에서만 유의성이 있었다. 또한 180초 이상 지체하는 동물수의 비율은 CO 중독군에서 유의적으로 감소하였고 인삼 전처리하는 증가는 하였으나 GTS 투여군에서만 유

의성이 있는 것으로 나타났다.

어린 동물군의 기억재현에 대한 영향

수동회피학습훈련시킨 23시간 후에 CO 5000 ppm에 40분간 노출시키고 그 1시간 후에 기억인출에 대한 시험을 행하여 기억재현에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table IV와 같다.

Step through 수동회피반응 측정시 정상대조군의 평균지체시간이 120.47초였으나 CO 중독대조군은 78.91초로 정상군에 비하여 유의하게 감소하였다. 인삼 saponin 전처리하는 모든 실험군에서 지체시간이 증가는 하였으나 유의성 있는 증가는 PDS 투여군에서만 나타났다. 180초 이상 지체하는 동물수의 비율은 CO 중독대조군이 정상대조군에 비하여 감소는 하였으나 유의성은 없었고 인삼 saponin중 PDS 투여군에서만 유의성있게 증가하였다.

Table V—Effects of ginseng saponins on CO-induced passive avoidance failure in aging mice(Memory registration)

Group	Dose (mg/kg, p.o.)	latency time(sec, mean± S.E.M.)	
		step through	step down
normal control	—	131.99± 4.94	119.99± 10.19
CO control	—	123.71± 6.80	87.79± 10.95*
CO+total saponin	250	114.57± 8.12	132.02± 8.33**
CO+PD saponin	50	126.74± 8.24	111.68± 10.02
CO+PT saponin	50	126.98± 6.54	126.78± 7.72**

*p<0.05 vs. normal control group, **p<0.05 vs. CO-exposed control group

Table VI—Effect of ginseng saponins on CO-induced passive avoidance failure in aging mice(Memory retention)

Group	Dose (mg/kg, p.o.)	latency time(sec, mean± S.E.M.)	
		step through	step down
normal control	—	131.35± 6.31	120.27± 11.96
CO control	—	88.40± 11.43*	93.0 ± 16.76
CO+total saponin	250	119.64± 8.45**	111.11± 13.59
CO+PD saponin	50	109.67± 10.03	168.18± 4.43**
CO+PT saponin	50	144.00± 1.42**	128.60± 14.58

*p<0.05 vs. normal control group, **p<0.05 vs. CO-exposed control group

Table VII—Effect of ginseng saponins on CO-induced passive avoidance failure in aging mice(Memory retrieval)

Group	Dose (mg/kg, p.o.)	latency time(sec, mean± S.E.M.)	
		step through	step down
normal control	—	132.23± 14.58	120.02± 12.72
CO control	—	147.57± 10.71	127.34± 12.04
CO+total saponin	250	150.00± 9.69	126.19± 11.54
CO+PD saponin	50	167.36± 8.77	146.54± 9.09
CO+PT saponin	50	180.00± 0.00**	105.39± 11.85

*p<0.05 vs. normal control group, **p<0.05 vs. CO-exposed control group

Step down 수동회피반응에 있어서는 CO 중독군이 정상대조군보다 지체시간이 감소하였으며 각 인삼 saponin을 전처치하였을 때 지체시간이 증가하는 하였으나 모든 실험군에서 유의성은 없었고 180초 이상 지체하는 동물수의 비율도 같은 경향이였으며 모두 유의성은 없었다.

고령 동물군의 기억획득에 대한 영향

생후 52~66주의 고령동물군의 기억획득에 대한 수동회피반응 측정은 Table V에 표시하였다.

Step through 수동회피반응을 측정하였을때 정상대조군의 평균지체시간 131.99초에 비하여 CO 중독대조군은 감소는 하였으나 유의성은 없었고, 각 인삼 saponin을 투여하였을 때도 평균지체시간에 영향을 미치지 못하였다.

Step down 수동회피반응을 측정하였을 때 정상대조군의 평균지체시간은 119.99초였으나 CO에 노출시켰을 때 87.79초로 유의하게 감소하였다. 인삼 saponin중 GTS, PTS를 전처치한 실험군에서는 CO 중독대조군에 비하여 지체시간이 유의하게 증가하였음을 나타냈다.

고령 동물군의 기억고정에 대한 영향

Step through 수동회피반응 측정장치로 기억고정을 측정한 결과를 Table VI에 표시하였다. 이 경우 정상대조군의 평균지체시간이 131.35초였으나 CO 5000 ppm에 노출시켰을 때는 88.4초로 유의성있게 감소하였다. GTS와 PTS를 전처치한 실험군의 지체시간은 각각 119.64와 144.0초로 CO 중독대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였다.

Step down 수동회피반응의 경우는 CO 중독대조군이 정상대조군의 지체시간보다 감소는 하였으나 유의성은 없었고 각 인삼 saponin을 전처치하였을 때도 CO 중독대조군보다 지체시간이 연장은 되었으나 PDS 투여군 이외는 유의성이 없었다.

고령 동물군의 기억재현에 대한 영향

Step through 및 step down 수동회피반응 측정장치로 기억재현을 시험하였을 때의 결과를 Table VII에 표시하였다. 수동회피학습훈련시키고 CO에 노출시켰을 때 정상대조군에 비하여 지체시간에 변화를 나타내지 않아 고령동물에 있어서는 CO 중독으로 기억재현에 영향을 미치지 않았으며 인삼 saponin을 투여하였을 때도 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

고 찰

노령인구의 증가와 산업공해의 증가에 따라 뇌장해성 치매에 의한 지적기능장애의 발현율이 높다. 본 실험에서는 CO 중독이 학습 및 기억의 지적능력에 미치는 영향을 알아보기로 수동회피반응을 실시하였다. 수동회피반응은 학습이 진행되고 있는 시간을 비교적 정확히 측정할 수 있는 장점이 있으므로 동물의 학습과 기억 연구에 유용한 방법으로 알려져 있다.²³⁾ 기억은 뇌에서 정보를 받아들여 기호화하며 잠정적인 간섭원으로부터 보호되도록 저장되고 필요에 따라 성공적으로 인출되는 일련의 중요한 과정을 거친다고 한다.²⁴⁾ 따라서 동물에게 수동회피반응 학습훈련을 시킨 후 그 기억인출시험을 행하여 기억 획득, 고정, 재현에 대한 CO의 영향과 인삼 saponin의 효과를 관찰하였다.

CO에 노출시킨 어린 동물군에 대하여 step through 수동회피반응을 측정하였을 때 기억 획득, 기억 고정 및 기억 재현 모두가 유의성 있게 저해되었음을 나타냈다. Step down 수동회피반응을 측정시는 기억 획득과 고정과정이 유의하게 저해되었다.

이러한 학습 및 기억능력의 저해를 나타내는 것은 뇌에너지대사 장애, 대뇌 저산소증뇌졸중, 뇌경색, 동맥혈관 상해 등 뇌허혈성 장애, 약물 중독, 기타 원인에 의한 대뇌손상 등 여러 원인에 기인할 수 있다. 뇌는 대사활성이 극히 왕성한 조직으로 혈중 산소농도의 급속한 변화에 대하여 가장 민감한 영향을 받게 되며 CO 중독에 의한 뇌산소 결핍증이 되면 뇌의

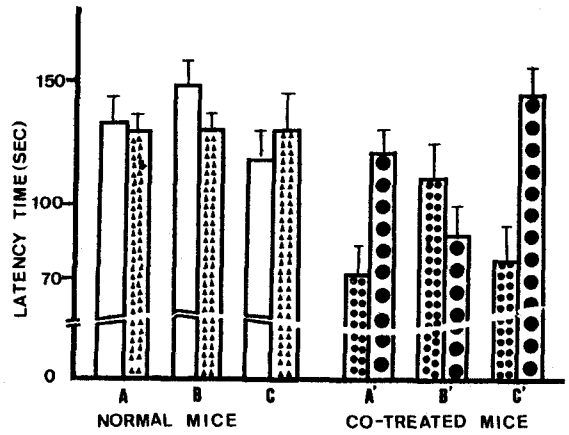


Fig. 1—Comparison between young and aging mice by step through to passive avoidance failure. A,A'; memory registration, B,B'; memory retention, C,C'; memory retrieval, □, ◼; young mice, ◻, ◻; aging mice.

항상성 기전이 저해되므로 신속하게 그 기능을 상실하여 갑작스런 신경장애가 나타난다.²⁵⁻²⁷⁾ 뇌조직은 자동조절기서에 의하여 일정량의 혈액공급을 받고 그 동맥혈로부터 에너지원인 glucose와 산소를 공급받아야 하므로, 혈액공급의 장애로 산소공급이 감소되면 대사효과로 뇌혈류량을 증가하여 자기조절기능으로 산소공급을 증가한다. 그러나 CO를 흡입하였을 때는 CO가 Hb와의 친화력이 산소보다 210배 더 크기 때문에 Hb를 우선 점유하여 HbCO를 형성하므로 산소운반이 불가할 뿐 아니라, 기존의 HbO₂로부터의 산소해리도 저해되어 뇌조직으로의 산소공급이 차단되어 결국 빈혈성 저산소증을 유발하여²⁸⁾ 중추신경계 손상 및 뇌대사장애를 일으켜 지적기억장애가 나타났다고 본다.

또한 고령 동물군에 대한 지적 기억능력을 시험하고 저 생후 52~66주 된 고령 생쥐를 사용하여 step through 수동회피반응을 측정하였을 때는 CO에 노출시킴으로서 기억 고정은 유의성 있게 저해됨을 나타냈으나 기억 획득과 재현에 있어서는 변화가 없었다. Step down 수동회피반응 측정시는 CO 중독으로 기억 획득은 유의하게 저해되었으나 기억 고정과 재현에 대하여는 CO가 영향을 미치지 못하였다.

또한 정상동물의 어린 동물군과 고령 동물군 간의 지적 기억능력시험 결과를 비교하였을 때 Fig. 1에

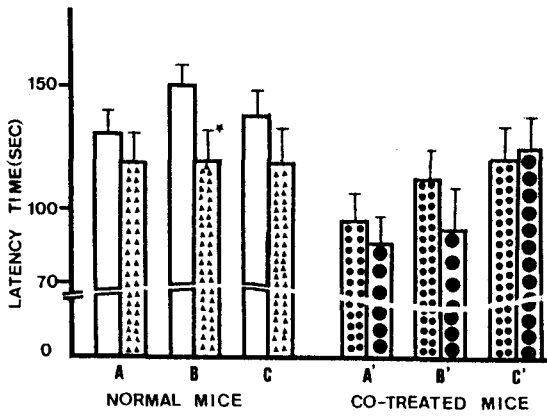


Fig. 2—Comparison between young and aging mice by step down to passive avoidance failure. A,A'; memory registration, B,B'; memory retention, C,C'; memory retrieval, □, □; young mice, □, □; aging mice, ★; p<0.05 vs. young mice.

나타난 바와 같이 step down 수동회피반응에 있어 어린 동물군은 기억 획득, 고정, 재현의 모든 기억 인출과정에서 고령 동물보다 더 우수함을 나타냈으며 기억 고정은 유의적이었다. step through 수동회피반응 측정시는 Fig. 2에서와 같이 기억 고정에 있어 어린 동물군이 고령 동물군보다 우수하게 나타났다. 즉 step through나 step down에서 모두 어린 동물군은 고령 동물보다 기억 고정 능력이 우수함을 알 수 있다. 그리고 CO에 노출시켰을 때의 지적 기억능력 시험에 있어서는 step down 수동회피반응에서는 기억 획득과 고정이 고령 동물군에서 더 장애를 많이 받았고 step through 수동회피반응에서는 기억 고정이 고령 동물군에서 더 장애를 많이 받은 것으로 나타났으나 모두 유의성은 없었다. 기타의 기억 인출과정에서는 CO에 노출로 유의한 차이는 없었다.

동물을 이용한 연구에서 연령에 관련된 행동실험에 관하여 다양한 보고들이 있으며²⁹⁾ 행동실험에서 가령화에 따른 기능은 일의 종류나 개인에 따라 큰 차이가 있다고 하며, Morris 수중미로장치에서 고령동물이 어린동물보다 더 잘 활동하였다는 보고도 있다.³⁰⁾ 뇌의 노화는 단 하나의 인자에 기인한 것은 아니고 중추신경계의 노화를 촉진시키는 특별한 요인이 있는 것도 아니며, 가령에 따른 퇴화, 보상기구의 불완전성, 알 수 없는 질병, 상해 등의 복합적인 요인으로 인해

그 기능이 결국 약화되어진다고 한다.³¹⁾ 고위종합중추인 두뇌는 항상 변화하는 외부 환경에 적응해 나감으로 결정적으로 기능을 잃게 할 정도의 큰 침해의 축적에 의해서 뇌의 노화가 일어나게 된다. CO 5000 ppm에 노출시켰을 때 고령 생쥐는 어린 생쥐보다 외부 유해조건에 대하여 보다 더 잘 적응함으로써 CO 중독에 의해 지적 기억능력에 큰 장애를 일으키지 않았다고 생각된다.

CO에 노출시킨 어린 동물군의 step through 수동회피반응을 측정하여 기억 획득, 고정 및 재현이 저해된 어린 동물군에 GTS(ginseng total saponin), PTS(ginsenoside-Re, -Rf, -Rg₁, -Rg₂ 및 -Rh₁이 함유된 panaxatriol계 saponin) 및 PDS(ginsenoside-Ra, -Rb₁, -Rb₂, -Rb₃, -Rc 및 -Rd가 함유된 panaxadiol계 saponin)를 각각 250 mg/kg, 50 mg/kg 및 50 mg/kg을 전처치하였을 때는 기억 획득과 고정은 각 인삼 saponin 투여한 모든 군에서 유의한 저해작용이 회복됨을 나타냈고 기억 재현에 있어서는 PDS 투여군은 유의성 있는 회복 효과를 나타냈고 기타의 인삼 saponin 투여군은 유의성은 없었으나 회복되었다. 또한 CO에 노출시킨 어린 동물군에 대하여 step down 수동회피반응 측정시 기억 획득 및 고정이 저해되었고, GTS, PDS 및 PTS을 각각 전처치하였을 때는 모든 기억 인출과정이 개선됨을 알 수 있으며 특히 기억 획득의 경우 GTS와 PDS의 투여시 유의성 있게 개선되었고 기억 고정은 PTS 투여시 유의성이 있었다.

고령 동물군에 있어서는 step through 수동회피반응을 측정하였을 때 CO 5000 ppm에 노출시 기억 고정이 유의성 있게 저해되었고, GTS와 PTS을 전처치하였을 때 기억 고정의 장애증상이 유의성 있게 개선되었다. step down 수동회피반응을 측정시는 CO에 노출로 기억 획득이 유의성 있게 저해되었고 GTS와 PTS를 전처치하였을 때 저해된 기억획득이 유의성 있게 개선되었다.

인삼은 정신활동 증가를 비롯한 수많은 효능이 보고되어 있으며 특히 Saito는 인삼 saponin이 electroconvulsive shock이나 scopolamine으로 유발시킨 학습, 기억 장애의 실험적 건망증에 대하여 유효하다고 보고하였으며 그중에서 GRg₁이 가장 유효하다고 하였다. 본 실험에서는 CO로 유발시킨 학습, 기억 장애의 실험적 모델에서 기억의 획득, 고정, 재현의 저해에 대하여 GTS, PDS 및 PTS은 모두 유효한 개

선효과를 나타내었다. 따라서 인삼 saponin은 CO 중독에 의한 뇌신경전달계 장애로 야기되는 기억장애에 대하여 개선효능이 있다고 사료된다.

결 론

CO 중독과 고령화가 학습 및 기억의 지적 능력에 미치는 영향을 알아보고 이에 인삼 투여시의 개선효과를 알아보고저 생쥐를 실험동물로 사용하여 기억 획득, 고정, 재현에 관하여 step through 및 step down 수동회피반응을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

어린 동물군은 CO 5000 ppm에 40분간 노출시켰을 때 기억의 획득, 고정 및 재현 모두가 유의성 있게 장애되었고 ginseng total saponin, panaxadiol saponin 및 panaxatriol saponin을 전처치하는 기억의 획득과 고정이 유의성 있게 개선되었고 기억의 재현은 step through 수동회피반응 측정시 panaxadiol saponin 전처치군에서만 유의하게 개선되었다.

고령화 동물군은 CO에 노출시켰을 때 실험방법에 따라 기억의 획득과 고정에 장애가 나타났고 step through법으로 기억 고정의 저하가 total saponin과 panaxatriol saponin으로 개선되었고, 기억 획득의 저하는 total saponin과 panaxatriol saponin으로 개선되었다.

또한 어린 정상 동물군과 고령 정상 동물군 사이의 기억의 획득, 고정, 재현을 비교시 고령 동물군이 어린 동물군에 못미치는 경향이 있으며 CO 노출시의 양군의 기억 획득, 고정, 재현은 큰 차이가 없었다.

결론적으로 CO 노출로 학습 및 기억의 지적 능력이 유의성 있게 저해되고 ginseng total saponin, panaxadiol saponin 및 panaxatriol saponin 등은 이를 개선하는 효과가 있었다. 노화는 기억의 획득, 고정 및 재현에 저해 경향은 있으나 크게 영향을 미치지 않았다.

감사의 말씀

본 연구는 1989년도 교육부 학술진흥재단 부설연구소 연구비의 지원에 의해 이루어졌음을 감사드리고, 동경대학교 약학부 Saito Hiroshi 교수님의 step through 수동회피반응 측정장치의 기증 및 실험법에 대한 많은 지도에 감사드립니다.

문 헌

- 1) Drachman, D.A.: Central cholinergic system and memory. *Psychopharmacology*(ed. by Lipton, M.A., DiMascio, A. and Killam, K.F.), Raven Press, New York, p.651(1978).
- 2) Saito, K., Honda, S., Tobe, A. and Yanagiya, I.: Effects of befemelane hydrochloride(MCI-2016) on acetylcholine level reduced by scopolamine, hypoxia and ischemia in the rats and Mongolian gerbils. *Japan. J. Pharmacol.*, **38**, 375(1985).
- 3) Muramoto, O., Sugishita, M., Sugita, H. and Yoyokura, Y.: Effect of physostigmin on constructural and memory tasks in Alzheimer's disease. *Arch. Neurology* **36**, 501(1979).
- 4) Deutch, J.A. and Rogers, J.B.: Brain acetylcholine and cognitive function. *The Brain Acetylcholine and Neuropsychiatric Disease*. (ed. by Davis, I., Kenneth, I. and Philip, A.) Plenum Press, N.Y., p.175(1979).
- 5) Izumi, N. and Yasuda, H.: Pharmacological studies on sulfoxazine(II), Antianoxic effect. *Folia Pharmacol. Japan.* **86**, 323-328(1985).
- 6) Saito, H., Nishiyama, N. and Himi, T.: Brain and ginseng. *Proc. 2nd Int. Sym. on Recent Advance in Natural Product Res.*, Oct. 12, 14(1989).
- 7) Yun, J.S., Shin, J.H. Lee, Y.S. and Yoo, Y.C.: The effect of piracetam on memory and acetylcholine level in cerebral cortex of mice. *Kor. Res. Inst. Better Living* **47**, 131-138(1991).
- 8) Chance, B., Erecinska, M. and Wagner, M.: Mitochondrial response to carbon monoxide toxicity. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **174**, 193(1970).
- 9) Schmitt, F.O. and Scott, M.G.: The effect of carbon monoxide on tissue respiration. *Am. J. Physiol.*, **107**, 85(1934).
- 10) Piantadosi, C.A.: Carbon monoxide, oxygen transport and oxygen metabolism. *J. Hyperbaric Med.*, **2**, 27(1987).
- 11) 최일생: 일산화탄소 중독의 신경성 후유증에 관한 연구, 대한의학협회지, **23**(4), 341-346(1982).
- 12) 박충서: CO 중독의 후유증, 대한의학협회지, **11**(11), 22-26(1968).
- 13) 김중은: CO 중독으로 인한 정신장애, 대한의학협회지, **11**(11), 27-29(1968).

- 14) Jafferson, J.W.: Subtle neuropsychiatric sequelae of carbon monoxide intoxication; Two case reports. *Am. J. Psychiatry* **133**(8), 961-964(1973).
- 15) Bittles, A.H.: The effect of ginseng on lifespan and stress responses in mice, *Gerontology* **25**, 125(1979).
- 16) Hiai, S., Yokohama, H. and Oura, H.: Adrenocorticotropin and corticosterone secretion by ginseng saponin. *Proc 3rd Int. Sym. on Recent Advance in Natural Product Res.*, Oct. 12, 14(1989).
- 17) Baubardelli, E., Cristoni, A. and Lietti, A.: The effect of acute and chronic ginseng saponins treatment on adrenal function. *Pro. 3rd Int. Ginseng Sym.*, Sep. 8-10(1980).
- 18) Nagasawa, T., Oura, H., Choi, J.H. and Bae, H.Y.: Application of HPLC to the isolation of ginsenoside from ginseng saponins. *Pro. 3rd Int. Ginseng Sym.*, 8-10(1980).
- 19) Chorover, S.L. and Schiller, P.H.: Short-term retrograde amnesia in rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, **59**(1), 73(1965).
- 20) Toshio Ando, Osamu Tanaka and Shoji Shibata: *Syoyakugaku Zasshi*, **25**(1), 28-32(1971).
- 21) 김만옥, 최강주, 박종래, 김석창, 고성룡: 인삼연구 보고서(제품분야), 한국인삼연초연구소, p.196(1985).
- 22) Conard, F.W.: *Inorganic Syntheses*, Vol.2, McGraw Hill, New York, p.81(1946).
- 23) Ader, R., Weignen, J.A. and Moleman, P.: Retention of a passive avoidance response as a function of intensity and duration of electric shock. *Psychonomic Science* **26**, 125-128(1972).
- 24) 레빈탈 C.: 생리심리학, 이관용, 김기중, 서울; 법무사 (1978).
- 25) Garcia, J.H. and Conger, K.A.: *Pathology and Pathophysiology of Shock, Anoxia and Ischemia.* (ed. by Cowely, R.A. and Trump, B.F.), W and W, London, p.547(1982).
- 26) Rehnrcrona, S. and Siesjo, B.K.: *Brain Failure and Resuscitation* (ed. by Grenvik, A. and Safar, P.), Churchill Livingstone Inc., p.11(1981).
- 27) Nayler, W.G.: The role of calcium in the ischemic myocardium. *Am. J. Pathol.* **102**, 262(1981).
- 28) Collier, C.R.: Oxygen affinity of human blood in the present of CO. *J. Appl. Physiol.*, **40**, 487(1976).
- 29) Bartus, R. and Dean, R.L.: Developing and utilizing animal models in the search for an effective treatment for aged-related memory disturbances, Inc. Gottgries(ed.), *Physiological Aging and Dementia.* Basel, S. Karger Press, pp.231-267(1983).
- 30) Gage, F.H. and Bjorklund, A.: Cholinergic septal grafts into the hippocampal formation improve spatial learning and memory in aged rats by an atropinesensitive mechanism. *J. Neurosci.*, **6**, 2837-2847(1986).
- 31) George, S., Bernard, A., Albers, R.W. and Perry, M.: *Neurochemistry*, 4th ed., Raven Press, N.Y. p. 534(1989).