

난소를 절제한 흰쥐의 생리활성에 미치는 알로에의 영향

하 배 진[†]

신라대학교 신소재생명공학부

The Effect of Aloe on the Bioactivity of Ovariectomized Rats

Bae-Jin Ha[†]

Division of New Materials and Biotechnology, Silla University, Pusan, 617-736

Abstract

In order to observe the bioactivity of ovariectomized rats, ovariectomized group (Ovx), nonovariectomized group(Sham) and ovariectomized aloe-treat group(Ovx+Aloe) were made.

Lipidperoxides of liver and kidney, serum AST·ALT, BUN, total cholesterol and HDL-cholesterol were investigated as follows.

Lipidoxides of the liver and the kidney in Ovx group were 1.74 times and 1.38 times increased compared to Sham group respectively.

But they were significantly decreased in Ovx+Aloe group compared to Ovx group. Serum AST and ALT in Ovx group were increased 1.49 times and 1.65 times respectively compared to Sham group respectively. But they were decreased compared to Ovx group.

Serum total cholesterol in Ovx group was increased 1.48 times compared to Sham group. While it was increased 50% in Ovx+Aloe group.

Serum HDL-cholesterol in Ovx group was decreasead 23% compared to Sham group. While it was increasead 58% in Ovx+Aloe group compared to Ovx group. Serum BUN in Ovx group was increased slightly compared to Sham group. In Ovx+Aloe serum BUN had no change compared to Ovx group.

Key words – Aloe, Ovariectomized rat lipidperoxide, HDL-cholesterol

서 론

여성의 생식기계 질환을 치료할 목적으로 시행되는 난소절제술은 estrogen의 생성을 저하시켜서 인위적인 폐경을 야기하므로 이로 인한 심혈관계질환의 발병에 관심이 집중되고 있다.

여성은 폐경후 1~3 년 사이에 혈청내 estradiol량이 급속히 감소됨을 보고하였고[1], 폐경 전 여성의 혈청 estrogen농도는 난포기에 평균 150~200mg/ml이나 폐경 후 estrogen의 농도가 35pg/ml로 폐경 전에 비하여 현저히 감소됨을 보고하였다[2].

심혈관계질환을 야기하는 혈중 콜레스테롤은 동맥경화

[†]Corresponding author

증의 주요한 원인이며, 동일한 연령대의 폐경 이후의 여성은 폐경전에 비하여 혈청 콜레스테롤치가 상당히 높았다 [3]고 하였고, 폐경시 총 혈청 콜레스테롤치가 약 25.4mg/dl가량 증가되었다고 보고하였다[4]. 또한, 난소절제술로 인한 노화촉진현상이 일어나는 이유중 체내 과산화지질생성이 증가한다는 사실이다. 이 과산화지질은 생체 막의 radical attack로 발생하는 대표적인 세포손상이며, 생체내에서 각종 효소나 lipoprotein을 변성시키고 세포막을 파괴하여 급성 조직장애를 일으키거나 lipofuscin이 축적되어 세포노화를 유도하고, 간질환, 당뇨병 등 각종 성인병의 원인이 될 뿐만 아니라 발임의 원인으로 주목되고 있다[5]. 이러한 현상에서 난소절제에 관련하여 간 및 신장의 효소와 과산화 지질에 관한 연구에 관심을 갖게 되었고, 이에 민간 약으로 사용되어 오고 백합과(Liliaceae)의 알로에 속(Aloeineae)에 속하는 다년초인 Aloe를 대상으로 실험하였다. Aloe가 난치성 피부병, 항염증작용, 소화기 궤양, 항암작용, 면역기능 조절작용, 방사선 조사에 의한 백혈구 감소증 등의 약리 효능이 있는 것으로 알려지고 있다[6-14]. Aloevera의 치료된 역사는 Table 1과 같다 [15]. 따라서, 본 실험에서는 난소를 절제하지 않은 쥐와 노화모델로써 난소를 절제한 쥐를 사용하여 간 및 신장조직증 과산화지질 및 L-Aspartate-2-oxoglutarate aminotransferase(AST), L-Alanine-2-oxoglutarate aminotransferase(ALT), Blood urea nitrogen(BUN), 그리고 혈청 중 cholesterol과 HDL-cholesterol의 량을 측정함으로써 생리학적 변화를 관찰하고자 한다.

재료 및 방법

실험 동물 및 식이

실험 동물은 체중 $150\pm10g$ 의 내외가 되는 Sprague-Dawley rat을 암컷으로 구입하여 실험실에서 일주일간 적응시킨 후 Table 2와 같이 난소를 절제하지 않은 Sham군과 노화모델로써 난소를 절제한 Ovx군으로 나누었고, 난소를 절제하고 Aloe를 투여한 Ovx+Aloe군의 3군으로 나누어 Aloe를 200g당 0.5ml씩 이틀에 한 번 두달간 복강내로 주사하였고 Sham군과 Ovx군에는 0.9% saline을 같은 방법으로 주사하였다. Aloe는 시중에서 구입하여 수충을 -70°C defreezer에 냉동하여 freezing dryer에서 분말로 한 다음 kg당 100mg되게 제조하여 사용하였다.

혈액 및 장기 채취

실험 종료 후 실험 동물을 ether 마취 하에서 개복한 후 심장에서 채혈하여 30분 후 3000rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하였으며 간장은 적출하여 0.9% 생리식염수용액으로 세척하여 vial에 담아 -70 °C Defreezer에 보관하여 실험에 사용하였다.

간(신장) 조직 중의 과산화지질 정량

과산화지질의 정량은 간(신장)1g을 취하여 간(신장)무게의 5배 용량인 5ml의 1/20M phosphate buffer (pH7.4)에 homogenation 시켜 마개 있는 시험관에 0.5ml씩 triple로 취하였다. 여기에 0.67%(동량의 Acetic Acid 혼합 시

Table 1. History of Aloe Vera Therapy

1750 B.C.E.	Aloe pictured as medicinal treatment on Mesopotamian clay tablets
550 B.C.E.	Egyptian books refer to the treatment of skin infections
74 C.E.	Greek physician writes about his success in treating wounds, hair loss, and hemorrhoids
700 C.E.	Aloe used for sinusitis and eczema in the Orient
1200 C.E.	Predominantly used as a cathartic medicine
1935 C.E.	Modern experimentation begins with radiation-induced ulcerations

Table 2. Experimental design

Group	SD rat(수)	Day	
		1st-8weeks	Injection dose (ml/200g of body wt.)
Sham	10	Saline	0.5ml
Ovx	10	Saline	0.5ml
Ovx + Aloe	10	Aloe	0.5ml

Sham: operated group

Ovx: ovariectomized group

Ovx + Aloe: ovariectomized Aloe group

약) 2ml를 가하여 95°C 수육상에서 50분간 가온 후 즉시 급냉시켜 Butanol 5ml로 추출하고 3000rpm에서 10분간 원심분리한 후 상동액을 취하여 Elisa를 이용하여 535nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈청 AST(aspartate aminotransferase), ALT(alanine aminotransferase) 활성 측정

혈청AST, ALT 활성도는 Reitman-Frankel method를 이용해 다음과 같이 실시한다.

* AST 측정

AST substrate 1.0ml를 시험관에 취하여 37°C water bath에서 3분간 방치한다. 여기에 0.2ml의 혈청을 가하여 섞은 후, 37°C water bath에서 60분간 반응시킨다. 시간이 되면 1ml의 color reagent를 가하여 잘 혼합한 후 20분간 실온에 방치한다. 0.4N-NaOH 10ml를 가하여 5-10분간 방치시킨 후 파장 505nm에서 중류수를 blank로 하여 흡광도를 구한 후 표준 곡선을 이용하여 측정하였다.

* ALT 측정

ALT 측정은 ALT substrate를 사용하고, 혈청과 혼합 후 37°C 수조 내에서의 반응 시간이 30분인 것을 제외하고는 AST측정법과 동일하다.

혈청 중 BUN(Blood Urea Nitrogen) 의 분석

혈청 중 요소 질소 함량을 Urease 효소법을 이용하여 요소 질소 측정용 시약으로 분석하였다. 검체용, 표준형, 시약 Blank에 각각 혈청 0.02ml를 취한 후 완충액20ml를 첨가하고 잘 혼합하여 37°C에서 15분간 방치한 다음 발색액 2.0ml를 가하여 37°C에서 5분간 방치 후 맹검을 대조로하여 60분이내에 570nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈청중 HDL-cholesterol의 분석

HDL-Cholesterol은 영동HDL-Cholesterol Kit로 측정하였다. 혈청 1.0ml에 침전시약 0.1ml를 넣어 5분간 실온에서 방치하여 10분간 원심분리한 후 얻은 상층액을 검체로 사용하였다. 검체, 맹검, 표준액에 각각의 피검재료 혈청, 물, 기준액을 각각 0.02ml씩 넣은후 효소 용액을 0.3ml을 넣고 혼합한 후 37°C 수조에서 15분간 반응시킨후 1시간 이내에 맹검을 대조로하여 500nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

혈청 중 총 콜레스테롤 함량 분석

혈청 중 총 콜레스테롤 함량은 총 콜레스테롤 측정용 시액을 사용하여 분석하였다.

검체용, 표준용, 시약 Blank에 각각 시료 0.02ml씩 취한 다음 효소 시액 3.0ml씩을 첨가하고 잘 혼합하여 37°C에서 5분간 방치한 다음 시약 Blank를 대조로하여 60분 이내에 파장500nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계 처리

모든 결과의 자료는 student's t-test로 통계 처리하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 흰쥐의 난소를 제거한 경우와 하지 않은 경우 간, 신장조직의 과산화지질, 효소활성, Cholesterol 및 HDL-Cholesterol을 관찰한 결과는 다음과 같았다.

간, 신장조직의 과산화지질

간·신장조직 중 과산화지질량을 비교해 보면 Table 3에서 보는 바와 같이 간의 경우, 난소를 제거한 군의 과산화지질량은 14.43nmol로 난소를 제거하지 않은 군의 과산화지질량 8.30nmol보다 1.74배 높게 나타났고 신장의 경우도 마찬가지로 절제한 군이 18.20nmol로 제거하지 않은 군의 13.15nmol보다 1.38배 높게 나타났다. 이는 estrogen이 난소를 제거시키므로서 hormone의 기능이 상실된 결과로 과산화지질량이 증가되는 것으로 보인다. Ovx+Aloe군에서 간의 경우는 MDA량이 감소되는 경향은 있었

Table 3. The effect of Aloe on the lipidperoxide in ovariectomized rats

Group	MDA(nM/100mg wet wt.)	
	Liver	Kidney
Sham	8.30±1.55	13.15±1.55
Ovx	14.43±1.35	18.20±3.49
Ovx + Aloe	12.55±2.28*	14.48±2.42**

All values are Mean±SD

Sham: operated group

Ovx: ovariectomized group

Ovx+Aloe: ovariectomized Aloe group

*p<0.05, **p<0.01

으나 유의성이 없었고, 신장의 경우는 유의성 있게 감소됨을 볼수 있었다.

Colditz의 보고[16]에서 보면 폐경 이후 질의 상피조직이 얇아지고 당원파립의 함량이 감소하는 한편 병원균의 침해가 심해지고 자궁이 위축되는 등의 비뇨생식기의 이상이 초래된다. 난소절제수술로 인한 폐경시 뇌로 배설되는 Ca^{2+} 치가 증가하여 체내 무기물의 1/3이 손실될때까지 1년에 1~3/2씩 콜밀도가 감소되었고 골절 발생빈도가 높아졌다고 보고한바 있다. 이를 유추해보면 신장에도 이상 현상으로 과산화지질량이 증가된 것으로 사료된다. 이에 비해 Aloe를 처리한 Ovx+Aloe군에서 신장의 과산화지질량이 유의적으로 억제하였다.

혈청 중 ALT, AST의 측정

혈청 중 AST, ALT의 활성변화는 Table 4에서 보는 바와 같이 난소를 제거한 군의 혈청 AST량이 85.82unit/ml로 난소를 제거하지 않은 군의 혈청 AST량인 57.60 unit/ml에 비해 1.49배 높게 나타났으며 혈청 ALT 경우, 난소를 절제한 군의 혈청 ALT량은 38.24unit/ml로 제거하지 않은 군의 혈청 ALT량 23.15unit/ml에 비해 1.65배 높게 나타났으나 Aloe처리군에서 다소 감소하였다.

혈청 중 BUN의 측정

혈청 중 BUN의 활성변화를 보면 Table 5와 같이 난소를 제거한 군의 혈청 BUN량이 16.15unit/ml로 난소를 제거하지 않은 군의 혈청 BUN량인 14.37unit/ml 보다 약간 높게 나타남을 알 수 있다. 한편, Aloe를 처리한 Ovx+

Table 4. The effect of Aloe on serum AST and ALT in ovariectomized rats

Group	Enzyme activity(unit/ml)	
	AST	ALT
Sham	57.60 ± 4.95	23.15 ± 3.22
Ovx	85.82 ± 10.01	38.24 ± 5.71
Ovx + Aloe	77.38 ± 15.22	31.8 ± 0.57

All values are mean ± SD

Sham: operated group

Ovx: ovariectomized group

Ovx + Aloe: ovariectomized Aloe group

p<0.05

Table 5. The effect of Aloe on serum BUN in ovariectomized rats

Group	Sham	Ovx	Ovx + Aloe
BUN	14.37 ± 1.10 unit/ml	16.15 ± 2.26	15.99 ± 2.33

All values are mean ± SD

Sham: operated group

Ovx: ovariectomized group

Ovx + Aloe: ovariectomized Aloe group

Aloe군에서의 BUN량을 보면 영향으로 인한 변화는 관찰할 수 없었다. BUN 값이 증가하는 것은 단백질(아미노산) 분해대사증가(간의 요소합성과 배설이 증가), 탈수상태(dehydration), 신장의 기능부전 (kidney malfunction) (신장이 urea를 정상적으로 배설하지 못함), 결석이나 비정상적인 성장에 의한 요로 (urinary tract)의 장애 등을 나타내는 것이다.

혈청중 HDL-cholesterol의 분석

HDL-cholesterol은 동맥경화 유발을 저하시키므로 수치가 높을수록 동맥경화의 위험성이 낮다. 그 반대로 혈중 농도가 낮아지면 이전 질환의 위험신호라 할 수 있다.

Table 6에서 살펴보면 HDL-cholesterol은 난소절제한 군이 난소절제하지 않은 군에 비해 23% 감소하였음을 보였다. 하지만 난소를 절제하고 Aloe를 처리한 군에서는 58%의 유의적인 증가를 관찰할 수 있었다.

혈청 중 Cholesterol의 측정

혈청 중 Cholesterol 활성변화를 Table 7에서 살펴보면

Table 6. The effect of Aloe on serum HDL-cholesterol value in ovariectomized rats

Group	Sham	Ovx	Ovx + Aloe
HDL-cholesterol (mg/dl)	57.32 ± 3.58	44.11 ± 6.87	51.87 ± 8.96

All values are Mean ± SD

Sham: operated group

Ovx: ovariectomized group

Ovx + Aloe: ovariectomized Aloe group

p<0.01

Table 7. The effect of Aloe on serum total cholesterol in ovariectomized rats

Group	Sham	Ovx	Ovx+Aloe
Cholesterol mg/dl	59.79±2.42	89.07±7.74	74.23±6.88
Atherosclerotic index ^③	0.043	1.019	0.431

All values are mean±SD

Sham: operated group

Ovx: ovariectomized group

Ovx+Aloe: ovariectomized Aloe group

③: (Total cholesterol-HDL-cholesterol)/(HDL-cholesterol)

p<0.05

난소를 제거한 군의 혈청Cholesterol량은 94.23unit/ml로 난소를 제거하지 않은 군의 혈청 Cholesterol량인 59.79 unit/ml 보다 1.58배 높게 나타났다. 이러한 결과는 폐경 이후의 고콜레스테롤증은 많은 양의 식이성 콜레스테롤과 포화지방산 섭취 이외에 체내 지방대사를 조절하는 지단백이 관여하는 것으로 알려져있고, 여성에게 있어서 혈장 지단백의 주요 성분은 월경 주기에 따른 estrogen의 분비에 의해서 차이를 나타내며 황체기에는 혈청내 중성지방 및 LDL의 함량이 저하되고 HDL 함량이 증가된다고 한다[17]. 폐경시 초래되는 estrogen의 생성 저하로 인한 콜레스테롤 대상장애에 의한 결과[18]로서 cholesterol이 높게 나타난 것으로 사료된다. Table 7에서 동맥경화지수를 살펴보면 Sham군에서 0.043인데 비하여 Ovx 군에서 1.019로 상당히 높게 나타났고 Ovx+Aloe군에서는 0.431로 지수가 감소함을 볼 수 있었다. 이는 30~55세의 미국여성 121,700명을 대상으로 관상동맥질환의 발병률을 조사한 결과 폐경전에 비하여 자연 폐경시에는 발병률이 1.7배가 높았고 양측 난소절제술을 시행한 경우에는 2.2배가 높았다고 하였으며, 난소절제술 시행시 동맥경화증의 발병률이 8.2% 증가되었고 50세이전의 여성은 발병률이 6%이하였으며 50세 이후의 여성에게는 9%정도로 나타났다고 보고한바[19]와도 유사한 결과를 관찰할 수 있었다.

결 론

난소를 절제한 rat의 생리활성 변화를 관찰하기 위하여

150±10g되는 SD rat암컷을 난소를 절제한 군(Ovx)과 절제하지 않은 군(Sham)으로 나누고 난소를 절제하여 Aloe를 복강내로 투여한 Ovx+Aloe군의 3군으로 분류하여 간, 신장조직 중의 과산화지질함량측정과 혈청 AST, ALT, BUN, total-Cholesterol, HDL-cholesterol을 측정하였다.

1. 간, 신장조직 중의 과산화지질량은 Sham군에 비교하여 제거한 군이 간의 경우는 1.74배 증가하였으며, 신장의 경우에는 1.38배 증가함을 관찰할 수 있었고, Ovx+Aloe 처리군에서는 유의성 있게 감소됨을 볼 수 있었다.

2. 혈청 AST 및 ALT의 경우에 Sham군에 비교하여 Ovx군의 AST활성도가 1.49배 증가하였으며, ALT활성도가 1.65배 증가함을 관찰할 수 있었고, Aloe처리군에서는 유의성 있는 억제 효과를 보였다.

3. 혈청 BUN은 Sham군에 비해 Ovx군이 약간 증가함을 관찰할 수 있었으나 유의성 있는 증가는 관찰 할 수 없었다.

4. 혈청 Cholesterol은 Sham군에 비해 Ovx군이 1.48배 증가함을 관찰할 수 있었고, Ovx+Aloe군에서는 50% 억제효과를 보였다. 혈청 HDL-cholesterol 경우에는 Sham군에 비해 Ovx군이 23%감소하는 경향 이었으나 Ovx+Aloe에서는 HDL이 Ovx에 비해 58%증가하는 경향이었다. 동맥경화지수도 Ovx군에는 증가하였으나 Ovx+Aloe군에서는 유의적인 억제효과를 관찰할 수 있었다.

감사의 말씀

본 연구는 1998년 신라대학교 교내학술연구비로 수행되었기에 이에 감사드리는 바입니다.

참 고 문 헌

1. Abe, T., et al. 1977. Carnlatin between climacteric symptoms and serum levels of estradiol, progesterone, follicle-stimulating hormone and lutesning hormone. Am. J. Obstet. Gynecol., **129**, 65-67.
2. Baird, D. D., et al. 1985. Mannusl drugs in serum cholesterol. Am. J. Epidemiology., **112**(6), 982-993.
3. Colditz, G. A., et al. 1987 Menopause and the risk of coronary heart disease in women. N. Engl. J. Med., **316**, 1105-1110.
4. Davis, R. H. and Maro, M. P. 1989. Aloe vera and

- gibberellin. J. Am. Poly. Med. Assoc., **79**, 24-26.
5. Fujita K., et al. 1979. Preparation of a carboxy-peptidase from Aloe. Biochem Pharmacol, **28**, 1261-1262.
6. Fujita, K., Teradaira, R. and Nagatsu, T. 1976. Bradykinase activity of Aloe extract. Biochem Pharmacol, **25**, 205-209.
7. Fulton, J. R. 1987 Dermabrasion-Loo-Punch-Excision Technique for the treatment of Acne-induced osteoma cutis. J. Dermatol Surg Oncol, **13**, 655-659.
8. Ha, B. J. 1996. Studies on the Antilipidperoxidative Effect of Aloe, J. Fod. Hyg. Safety., **11(2)**, 159-164
9. Hart, L. A. 1989. An anti-complementary polysaccharide with immunological adjuvant activity from leaf Parenchymagel of Aloe Vera. Planta Medica, **55**, 509-512.
10. Hegazy, M. A, et al. 1978. The use of Aloe vera extract in the treatment of experimental corneal ulcers in rabbit. J. Drug Res Egypt, **10**, 198-210.
11. Kim, H. J., Kalhoff, R. K. 1979. Changes in lipoprotein composition during the menstrual cycle. Metabolism., **28(6)**, 663-668.
12. Kuller, L. H., et al. 1990. Relationship of endogenous sex steroid hormones to lipids and apoproteins in post-menopausal women. Atherosclerosis., **10**, 1058-1066.
13. Ratterband, A. B., et al. 1993. Gonadal function and development of coronary heart disease. Circulation, **xxvii**, 237-251.
14. Ronald, M. Shelton. 1991. Its chemical and therapeutic properties. International Journal of Dermatology., **30**, 679-683.
15. Shida, T., Yagi, A., Nishimura, H. and Nishioka, I. 1985. Effect of Aloe extract on peripheral phagocytosis in adult bronchial asthma. Planta Medica, **51**, 273-275.
16. Tappel, A. L. 1973. Lipidperoxidation damages to cell components. Fed. Proc., **32**, 1070.
17. Utian, W. h. 1980. Endocrinology of climacteric. In memparme in modern perspective. New York. Appleton-Century Crotis., P32.
18. Weiss, N. S. 1972. Relationship of Menopausal toserem Cholesterol and Arterial Blood Pressure-The United Stated Health Examination Survey of Adults. Am. J. Epidemiol., **96(4)**, 237-241.
19. Yagi, A., Makino, K., Nishioka, I. and Kuchino Y. 1977. Aloe Mannan, Polysaccharide from Aloe arborescens var. natalensis. Planta Medica, **31**, 17-20.