KJVS
Korean Journal of Veterinary Service
https://doi.org/10.7853/kjvs.2024.47.3.157
pISSN: 3022-7372 eISSN: 2287-7630
Korean J Vet Serv 2024;47(3):157-164

SHORT COMMUNICATION

액상과 고상의 프로폴리스를 투여한 비글견의 혈액 검사를 통한 안전성 비교 분석

조혜진*

질병관리청 국립보건연구원 신종바이러스매개체연구과

Comparative analysis of the safety of liquid and powder propolis in beagle dogs through blood tests

Hyejean Cho*

Division of Emerging Virus & Vector Research, Korea National Institute of Health, Korea Disease Control and Prevention Agency, Cheongju 28159, Korea

Received September 19, 2024
Accepted September 20, 2024

Corresponding author:
Hyejean Cho
E-mail: hcho21@snu.ac.kr
https://orcid.org/0009-0000-9461-2013

The aim of this study was to assess and compare the toxicity and safety of two types of propolis (liquid and powder) in beagle dogs. Blood counts, serum biochemistry, and electrolyte tests were conducted to evaluate acute oral toxicity. Propolis was administered at a 5% concentration and 40 g dosage, and the beagles were monitored for 8 weeks. Three beagles served as controls, while four beagles each were assigned to the liquid and powder groups. No significant clinical signs or changes in feed intake, water consumption, body condition, or hematological/biochemical parameters were observed. The results indicate that oral administration of both liquid and powder propolis does not induce toxicological effects in beagle.

Key Words: Propolis, Beagle, Hematology, Serum biochemistry, Safety

서 론

전 세계적으로 인구의 고령화, 1인 가구의 증가는 반려동물의 소유를 증가시키고 있고, 장기화된 코로나 19 팬데믹은 반려동물의 건강과 복지에 대한 관심을 크게 높이고 있다(Kim과 Chun, 2021; Marcial-Modesto 등, 2023). 반려동물 건강을 개선하려는 관심이 커지면서 프로폴리스는 그 생리활성과 건장 증진에 대한 효능 덕분에 주목을 받고 있으며, 이는 수천 건의 과학적 연구로 입증되고 있다(Braakhuis, 2019). 프로폴리스에는 페놀산, 플라보노이드, 지방산, 비타민 및 미네랄과 같은 생리활성 화합물이 포함되어 있는데, 이로 인해 항산화, 항종양 활성 및 염증 완화에 기여하며 항균 작용, 상처 치유, 심혈관 보호, 그리고 신경 기능의 활성을 돕는데 널리 활용되고 있다(Braakhuis, 2019; Kim 등, 2021). 수의학계에서 집중하고 있는 프로폴리스의 역할은 항균, 항 염증, 항산화 효과인데, 고양이, 개 상처 치료에 유의성 있는 결과를 보이며 활용 가능성에 대한 범위를 넓히고 있다(Svetikiene 등, 2024). 가축 사육에서도 프로폴리스는 기여할 수 있는데, 성장을 촉진하고, 생산성을 높이는 데 도움을 주며, 항균 및 항염 작용을 도와 세균 및 바이러스 감염을 예방하는 중요한 역할을 하고 있다. 이러한 프로폴리스의 역할은 가축 산업에서 항생제 사용을 줄이는 유기농 축산 시스템을 도모하는데 큰 비중을 차지하기 시작했다.

프로폴리스는 그 제조 방식으로 제형이 액상과 고상인 가루형(powder)로 나뉘게 된다. 액상 프로폴리스는 주로 에탄올이나 물을 기반으로 한 추출물로 체내 흡수가 용이한 장점이 있고, 고상 프로폴리스는 동결 건조를 통해 만들어져, 용해시켜 다양한 제품에 첨가될 수 있다는 장점을 지니고 있다(Kubiliene 등, 2015; Berretta 등, 2023).

Copyright © The Korean Society of Veterinary Service.
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0). which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

또한, 프로폴리스가 체내에 미칠 수 있는 독성은 낮은 수준으로 평가되고 있는데, 프로폴리스 추출물이 세포와 조직에 미치는 영향은 낮은 농도에서 세포가 잘 견딜 수 있는 수준의 독성을 보였으며, 이로 인해 상처 치유 및 국소 항균 치료에 활용될 가능성이 높다고 평가되었다(Ripari 등, 2021; Svetikiene 등, 2024). 더불어, 프로폴리스의 급성경구 독성에 대한 연구 결과, 비교적 안전한 수준에서 사용이 가능했으며, 프로폴리스가 건강 보조제로서의 가치를 긍정적으로 평가한 반면, 동물 종에 따른 안전성 평가가 추가로 필요함을 시사하였다(Sabri Ayad 등, 2023). 따라서, 인간의 반려동물로서 가장 오랜 역사와 비중을 차지하고 있는 개(Glausiusz, 2021)를 대상으로, 프로폴리스 급여가 미치는 영향과 독성 평가를 수행하였다. 본 연구는 비글견에게 8주간 프로폴리스를 경구로 급여한 후 생화학적 변화를 추적, 측정하여 독성 여부를 평가하였고, 더 나아가 프로폴리스 제형에 따른 차이점이 있는지 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

실험물질

본 실험에서는 농도 5%의 프로폴리스를 사용하였으며, 농축액과 파우더 총 2가지 제형을 아마미스(Seoul, South Korea)에서 공급받았다. 농축액은 검은색을 띄고 특유의 강렬한 냄새가 있으며, 파우더는 하얀색의 무취 가루로 공급되었다. 두 제형 모두 농도는 5%로 동일하며, 보관 방법 역시 실온 보관으로 동일하게 유지되었다.

실험동물

실험에 사용된 비글견 동물 모델은 서울대학교 동물 실험 윤리 위원회(IACUC)에서 승인(SNU-190102-2)을 받았으며, 디스템퍼, 파보바이러스 및 코로나바이러스에 대한 백신 접종을 완료한 9~24개월령의 임신 및 출산 경험이 없는 암컷으로 Raon Bio Animal, Inc. (Yongin)에서 공급받았다. 동물 모델은 2주의 순화 기간을 거친 후, 질병 검사, X-ray, 초음파를 포함한 영상의학 검사, 혈액 검사 결과가 정상인 개체들 중 체중 7~10 kg의 건강한 모델로 선발하여 실험에 사용하였다.

사육환경

동물 사육실의 환경은 25°C와 습도 50%로 유지되었으며, 인공조명을 이용하여 12시간 주기(8:00 점등, 20:00 소등)로 조절하였다. 비글견은 음수가 자유롭게 가능하도록, 자동 급수 장치가 설치된 케이지에 1마리씩 수용되었으며, 일반 사료로 하루 2회 공급되었다.

실험설계

본 실험에서 비글견은 3마리의 대조군 1그룹을 포함하여, 총 3그룹으로 나누었다. 실험군은 액상 프로폴리스 급여군, 고상 프로폴리스 급여군으로 나뉘며, 각 군을 4마리씩 배정하였다. 프로폴리스는 실험군 비글견에게 총 8주간 하루에 한 번, 40 g씩 동일한 시간에 경구 투여되었으며 혈액 채취는 투여 전과 투여 4주 후, 투여 8주 후에 이루어졌다.

혈액검사방법

비글견은 투여 전인 0주차, 투여 4주차, 8주차에 프로폴리스를 경구 투여 전, 12시간 동안 절식 후, 경정맥에서 채혈하였다. 혈액 샘플은 자동 혈구 측정기(ADVIA2120i, SIEMENS, USA)를 이용해 백혈구 백분율(white blood cell differential count), 백혈구 수(White blood cell), 적혈구 수(Red blood cell), 혈구 용적 측정검사(packed cell volume), 혈소판 수(Platelet count)를 측정하였다.

혈청생화학검사 및 전해질 검사

채혈한 혈액을 30분 이상 실온에 방치해 두었다가 원심분리기(Centrifuge 5427R, Eppendorf, Germany)로 3000 rpm에서 5분간 원심분리하여 분리된 혈청의 일부는 자동분석기(7180 Clinical Analyzer, Hitachi, Japan)로 ALT (Alanine aminotransferase), AST (Aspartate aminotransferase), ALP (Alkaline phosphatase), GGT (Amma-glutamyltransferase, TBIL (Total bilirubin), BUN (Blood urea nitrogen), CREA (Creatinine), CA (Calcium), IP (Phosphate), TP (Total protein), ALB (Albumin), GLU (Glucose)를 포함한 화학적 분석을 실시하였다. 분리된 혈청의 다른 일부는 전해질 분석기(EasyLyte PLUS REF2121 NA/K/Cl ANALYZER; Medica, USA)를 통해 혈청내 Na^+, K^+, Cl^- 농도를 측정하는 데 사용되었다.

https://doi.org/10.7853/kjvs.2024.47.3.157

통계분석

통계분석은 SPSS version 25 (SPSS Statistics, IBM, USA, 2009)를 사용하여 수행되었으며, 본 실험에서 얻은 모든 데이터는 평균±표준편차로 표기되었다. 그룹 간의 차이는 Student's t-test로 분석하였고 그룹 사이에서 유의수준(P<0.05)에서 유의성이 있는지 분석하였다.

결 과

혈액검사

비글견에게 프로폴리스를 급여하기 전, 채혈한 혈액 검사 결과(Table 1), 대조군(control)의 평균 백혈구 수(White blood cell; WBC)는 10.11±1.18이었고, 액상급여군(Liquid administration group)의 백혈구 수는 10.82±2.23, 고상급여군(Powder administration group)의 경우 백혈구 수가 9.97±1.37로써 통계학적인 유의성은 인정되지 않았다(P<0.05). 프로폴리스 급여 시작 4주 후의 평균 백혈구 수는, 대조군이 9.24±2.13, 액상급여군(Liquid administration group)이 10.03±2.24, 고상급여군(Powder administration group)의 백혈구 수는 11.01±2.2로써, 통계학적인 유의성은 없었다. 시험 마지막 단계인 프로폴리스 급여 8주 후의 평균 백혈구 수는 대조군의 경우, 10.21±2.11이였고, 액상급여군(Liquid administration group)의 백혈구 수는 11.41±3.65, 고상급여군(Powder administration group)의 백혈구 수가 11.61±3.57로 세 그룹 간의 통계학적인 유의성이 없었다. 적혈구 수(Red blood cell; RBC) 평균치를 프로폴리스 급여 전후로 비교해본 결과, 급여 전의 대조군은 6.92±1.10였고, 액상급여군의 적혈구 수는 7.47±0.81, 고상급여군의 적혈구 수는 7.47±0.98로 그룹 사이에 통계학적인 유의성이 없었다. 프로폴리스 급여 4주 후, 대조군의 평균 적혈구 수는 7.17±0.85였고, 액상급여군(Liquid administration group)의 평균 적혈구 수는 7.19±0.59를 나타내며, 고상급여군(Powder administration group)의 값은 7.49±0.45로써 통계학적인 유의성이 없었다. 비글견에게 프로폴리스 급여를 시작하고 8주 후의 평균 적혈구 수의 경우, 대조군이 7.10±0.87, 액상급여군(Liquid administration group)이 7.86±0.47, 고상급여군(Powder administration group)이 7.58±0.74로 통계학적인 유의성을 보이지는 않았다. 동일한 조건에서 같이 검사가 진행된 혈구 용적 측정 검사(Packed cell volume; PCV)와 혈소판 수(Platelets count; PLT) 측정

Table 1. Hematology data from control and treatment groups

Item	Group/week									
	Control			Liquid administration group			Powder administration group			
	0	4	8	0	4	8	0	4	8	
WBC ($\times10^3$/uL)	10.11±1.18	9.24±2.13	10.21±2.11	10.82±2.23	10.03±2.24	11.41±3.65	9.97±1.37	11.01±2.2	11.61±3.57	
RBC ($\times10^6$/uL)	6.92±1.10	7.17±0.85	7.10±0.87	7.47±0.81	7.19±0.59	7.86±0.47	7.47±0.98	7.49±0.45	7.58±0.74	
PCV	51.44±5.41	48.81±1.16	49.61±2.87	48.39±3.47	48.41±2.23	49.00±2.91	49.39±3.14	48.91±2.36	49.80±2.94	
PLT	301.78±3.63	315.07±7.62	327.17±10.64	300.48±9.45	324.33±15.64	343.42±22.10	301.86±9.57	331.18±10.68	333.72±13.0	

WBC, White blood cell; RBC, red blood cell; PCV, packed cell volume; PLT, platelet count.

결과에서도 프로폴리스 급여 전과 4주, 8주 후의 대조군과 액상급여군(Liquid administration group), 고상급여군(Powder administration group)의 결과 값을 비교해볼 때, 통계학적인 유의성은 보이지 않았다. 프로폴리스 급여 전 대조군의 혈구 용적측정 검사(Packed cell volume; PCV)는 51.44±5.41로 측정되었고, 액상급여군(Liquid administration group)이 48.39±3.47, 고상급여군(Powder administration group)이 49.39±3.14였다. 프로폴리스 급여 4주 후 대조군은 48.81±1.16, 액상급여군(Liquid administration group)이 48.41±2.23, 고상급여군(Powder administration group)이 48.91±2.36을 보였으며 급여 8주 후 대조군이 49.61±2.87, 액상급여군(Liquid administration group)이 49.00±2.91, 고상급여군(Powder administration group) 49.80±2.94로 측정되어 그룹 간의 통계학적 유의성이 없었다. 같은 조건에서 측정된 평균 혈소판 수는 프로폴리스를 급여 전 대조군 비글견의 혈액에서는 301.78±3.63, 액상급여군(Liquid administration group)의 혈액에서는 300.48±9.45, 고상급여군(Powder administration group)의 혈액에서는 301.86±9.57의 결과값을 보였다. 프로폴리스 급여 4주의 평균 혈소판 수는 대조군이 315.07±7.62, 액상급여군(Liquid administration group)이 324.33±15.64, 고상급여군(Powder administration group)이 331.18±10.68로 측정되었다. 급여 8주 후에는 대조군이 327.17±10.64, 액상급여군(Liquid administration group)의 값이 343.42±22.10, 고상급여군(Powder administration group)의 평균값이 333.72±13.0으로 다른 평균값과 동일하게 통계결과 유의기준(P<0.05) 보다 큰 값을 보이며, 통계학적 유의성이 없었다(Table 1).

혈청 생화학검사

독성 여부 판단을 위한 간의 기능 상태 확인을 위해 ALT (Alanine aminotransferase), AST (Aspartate aminotransferase), ALP (Alkaline phosphatase), GGT (Amma-glutamyl transferase, TBIL (Total bilirubin)을 측정하였고, 신장 기능의 저하 또는 이상, 혹은 탈수 여부를 파악하기 위해 BUN (Blood urea nitrogen), CREA (Creatinine), CA (Calcium), IP (Phosphate) 등을 검사 항목에 포함하였으며, 추가로 영양상태, 간 및 신장의 기능, 혈당조절 능력을 파악하기 위해 TP (Total protein), ALB (Albumin), GLU (Glucose) 항목을 검사하였다(Table 2).

간 세포 손상 여부를 알 수 있는 ALT 평균 수치는 프로폴리스를 급여하기 전의 대조군에서 53.17±3.56, 액상급여군에서 53.27±3.18, 고상급여군에서 52.34±6.18를 보여 통계 결과 유의기준(P<0.05) 보다 큰 값을 보였다. 프로폴리스 급여 4주 후에도 대조군이 59.07±3.05, 액상급여군이 51.87±2.74, 고상급여군이 50.07±3.67로 나타났으며, 급여 8주 후의 대조군은 53.97±7.11, 액상급여군이 50.67±2.41, 고상급여군이 50.67±3.24로 측정되어 통계분석 결과 유의성이 없는 것으로 판단되었다. 간의 질환과 더불어 심장 질환이나 근육 손상 등

Table 2. Serum biochemistry data from control and treatment groups

Item	Group/week								
	Control			Liquid administration group			Powder administration group		
	0	4	8	0	4	8	0	4	8
AST	33.21±2.40	37.78±1.98	27.07±3.08	42.31±6.16	27.08±5.08	29.03±1.20	41.20±4.61	27.07±3.18	27.90±1.01
ALP	55.60±1.97	49.30±3.10	48.70±1.13	37.61±6.26	40.27±7.42	38.05±5.21	37.06±5.16	41.43±7.24	39.30±5.10
BUN	27.32±3.58	24.22±5.17	25.26±1.89	23.20±1.36	24.64±4.62	25.49±1.43	23.44±4.31	26.74±4.83	25.48±3.13
CREA	0.62±0.00	0.61±0.10	0.82±0.11	0.73±0.14	0.75±0.13	0.81±0.10	0.70±0.10	0.70±0.11	0.81±0.12
GLU	98.13±0.67	99.7±8.24	100.63±5.06	103.43±4.82	103.93±0.61	97.17±2.03	103.50±4.12	103.93±0.66	99.80±2.33
TBIL	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.10±0.10	0.00±0.00	0.00±0.00	0.10±0.10	0.00±0.00	0.00±0.00
ALB	3.71±0.21	3.70±0.10	3.71±0.14	4.00±0.17	3.69±0.10	3.67±0.14	4.01±0.13	3.59±0.10	3.73±0.12
TP	7.10±0.31	7.13±0.00	6.79±0.21	7.22±0.32	6.89±0.15	7.18±0.10	7.32±0.11	6.88±0.10	7.17±0.32
GGT	4.71±0.65	3.67±1.52	3.73±1.51	2.09±2.83	4.03±0.06	3.74±1.27	3.03±4.08	4.13±0.96	3.81±1.52
CA	9.07±0.12	10.71±0.57	10.09±0.19	10.13±1.56	10.34±1.26	9.77±0.32	10.91±1.44	9.76±1.91	10.37±0.33
IP	5.10±0.32	4.98±0.25	4.66±0.37	5.42±1.08	5.60±1.35	4.76±0.31	5.32±1.08	5.46±1.56	4.77±0.03
ALT	53.17±3.56	59.07±3.05	53.97±7.11	53.27±3.18	51.87±2.74	50.67±2.41	52.34±6.18	50.07±3.67	50.67±3.24

AST, aspartate aminotransaminase; ALP, alkaline phosphatase; BUN, blood urea nitrogen; CREA, creatinine; GLU, glucose; TBIL, total bilirubin; ALB, albumin; TP, total protein; GGT, gamma-glutamyl transpeptidase; CA, calcium; IP, phosphate; ALT, alanine transaminase.

https://doi.org/10.7853/kjvs.2024.47.3.157

을 의미할 수 있는 AST의 평균값은 프로폴리스 급여 전의 대조군이 33.21±2.40, 액상급여군이 42.31±6.16, 고상급여군이 41.20±4.61이었으며, 급여 4주 후의 대조군은 37.78±1.98, 액상급여군이 27.08±5.08, 고상급여군은 27.07±3.18로 측정되었다. 급여 8주 후의 대조군, 액상급여군과 고상급여군의 각 평균값은 차례대로 27.07±3.08, 29.03±1.20, 27.90±1.01로 나와 급여 0주, 4주, 8주 모두 그룹 간의 통계학적 유의성이 없는 것으로 확인되었다. 간 기능과 더불어 담도계의 이상, 뼈 성장과 관련된 이상 평가를 위한 ALP의 경우 프로폴리스 급여 이전 대조군의 혈액에서 55.60±1.97로 측정되었고, 액상급여군은 37.61±6.26, 고상급여군이 37.06±5.16으로 통계학적 유의성은 없었다. 급여 4주 후의 대조군은 평균값이 49.30±3.10, 액상급여군과 고상급여군은 순서대로 40.27±7.42, 41.43±7.24로 나와 유의 기준(P<0.05)을 넘는 통계값을 보였다. 급여 8주 후의 ALP 평균 값은 대조군이 48.70±1.13, 액상급여군이 38.05±5.21, 고상급여군이 39.30±5.10으로 다른 타임포인트와 동일하게 통계학적 유의성은 없었다. 영양 결핍, 탈수 등을 포함하여 신장 기능 평가 확인을 위한 BUN의 평균값은 프로폴리스 급여 전, 대조군이 27.32±3.58, 액상급여군은 23.20±1.36, 고상급여군이 23.44±4.31로 통계학적 유의성을 보이지 않았다. 프로폴리스 급여 4주 후 비글견의 혈액에서 BUN 평균 수치는 대조군에서 24.22±5.17, 액상급여군에서 24.64±4.62, 고상급여군에서 26.74±4.83으로 확인되었으며 통계학적 유의성은 보이지 않았다. 프로폴리스 급여 8주 후의 BUN 평균 수치는 대조군이 25.26±1.89, 액상급여군의 평균 값이 25.49±1.43, 고상급여군의 값이 25.48±3.13으로 유의 기준(P<0.05) 이상의 통계 결과를 보였다. 신장 기능 저하 여부나 근육량의 감소, 대사 문제를 감지할 수 있는 CREA 평균 수치는 프로폴리스 급여 전 대조군이 0.62±0.00, 액상급여군이 0.73±0.14, 고상급여군이 0.70±0.10으로 계산되어 유의성 없는 통계 결과를 나타냈다. 급여 4주 후의 평균 수치는 대조군, 액상급여군, 고상급여군의 순서대로 0.61±0.10, 0.75±0.13, 0.70±0.11, 동일한 순서로 급여 8주 후는 0.82±0.11, 0.81±0.10, 0.81±0.12로 각 평균 수치가 측정되어 그룹 간의 통계학적 유의성은 없었다. 프로폴리스를 급여한 비글견의 혈중 칼슘 농도 측정으로 근육 기능, 신경 전달, 신장 질환이나 갑상선 기능 이상을 파악할 수 있는 CA 평균 수치도 측정되었다. 프로폴리스 급여 전 대조군은 9.07±0.12, 액상급여군은 10.13±1.56, 고상급여군이 10.91±1.44였으며, 급여 4주 후, 각 그룹의 평균 수치는 대조군, 액상급여군과 고상급여군의 순서대로 10.71±0.57, 10.34±1.26, 9.76±1.91로 두 시점 모두 그룹 사이의 통계학적 유의성은 없었다. 프로폴리스 급여 8주차의 혈중 칼슘 농도 역시 대조군의 평균이 10.09±0.19, 액상급여군의 평균이 9.77±0.32, 고상급여군의 평균이 10.37±0.33으로 통계 결과는 유의 기준(P<0.05) 이상이었다. 혈중 인산 염 농도를 측정하여 신장, 부갑상선 문제 등을 확인할 수 있는 IP 평균 수치는 프로폴리스 급여 전 대조군의 평균이 5.10±0.32, 액상급여군의 평균은 5.42±1.08, 고상급여군의 평균이 5.32±1.08이었다. 급여 4주 후 대조군은 4.98±0.25, 액상급여군은 5.60±1.35, 고상급여군은 5.46±1.56이었으며, 급여 8주 후, 각 그룹의 평균 수치는 대조군, 액상급여군, 고상급여군의 차례대로, 4.66±0.37, 4.76±0.31, 4.77±0.03이었다. IP 평균 수치도 통계 결과 각 그룹 간의 통계학적 유의성이 없는 것으로 판단되었다. 혈중 총 단백질 수치 측정으로, 간과 신장 기능, 영양상태 파악과 밀접한 TP 평균 수치는 프로폴리스 급여 전 대조군의 평균값은 7.10±0.31, 액상급여군의 평균값이 7.22±0.32, 고상급여군의 평균값이 7.32±0.11이었다. 급여 4주 후 대조군의 TP 평균 수치는 7.13±0.00, 액상급여군은 6.89±0.15, 고상급여군이 6.88±0.10으로 통계학적 유의성이 없었다. 급여 8주 후의 TP 평균 수치도 대조군, 액상급여군, 고상급여군의 순서로 6.79±0.21, 7.18±0.10, 7.17±0.32로 측정되어 통계학적 유의성을 찾지 못하였다. 이어서 혈중 단백질 중 가장 많은 비율을 차지하는 알부민의 양을 측정함으로써, 혈관 내 삼투압 유지는 물론, 프로폴리스 급여 후 간과 신장 질환 여부를 파악할 수 있는 알부민, ALB의 평균 수치를 측정하였다. 프로폴리스 급여 전, 대조군, 액상급여군, 고상급여군의 순서대로 평균 수치는 3.71±0.21, 4.00±0.17, 4.01±0.13으로 나타났고, 급여 4주는 동일한 순서로, 3.70±0.10, 3.69±0.10, 3.59±0.10, 급여 8주 후에는 3.71±0.14, 3.67±0.14, 3.73±0.12로 측정되어 그룹 사이에 통계학적 유의성이 없었다. 프로폴리스 급여가 비글견에게 독성 반응을 일으켰는지 파악하고, 간세포 혹은 담도계 세포의 손상 여부를 확인하는 데 밀접한 GGT의 평균 수치를 급여 전 대조군의 데이터와 급여 4, 8주 후 데이터와 비교해보았다. 급여 전 대조군은 4.71±0.65, 액상급여군이 2.09±2.83, 고상급여군이 3.03±4.08로 측정되었다. 급여 4주 후에 대조군의 평균 수치는 3.67±1.52, 액상급여군의 평균 수치가 4.03±0.06, 고상급여군의 평균 수치가 4.13±0.96이었다. 급여 8주 후, 대조군의 평균 수치가 3.73±1.51, 액상급여군은 3.74±1.27, 고상급여군이 3.81±1.52로 통계 결과, 프로폴리스 급여 전후의 비글견의 혈중 내 GGT 평균 수치는 모든 급여 시점에 그룹 간의 유의성이 없었다. 적혈구가 분해될 때 생성되는 빌리루빈은, 약물 중독, 독성 반응이 있을 경우 과도한 적혈구의 파괴가 일어나 상승 수치를 보인다. 따라서 혈

중 총 빌리루빈을 측정하는 TBIL 평균값으로 프로폴리스 급여가 독성 반응을 유도하는지 확인할 수 있는 중요한 지표인데, 급여 전 대조군, 액상급여군, 고상급여군이 순서대로 0.00±0.00, 0.10±0.10, 0.10±0.10, 급여 4주, 8주 후는 대조군, 액상급여군, 고상급여군의 모든 개체가 0.00±0.00의 수치를 보였다. 마지막으로 프로폴리스 급여가 혈중 포도당 양의 상승이나 하락을 유도하는지 확인하기 위해 측정된 GLU (혈당)은 급여 전, 대조군이 98.13±0.67, 액상급여군이 103.50±4.12, 고상급여군이 103.5±4.12로 나타났다. 이어서 급여 4주 후 대조군, 액상급여군, 고상급여군의 순서로 나타난 수치는, 99.7±8.24, 103.93±0.61, 103.93±0.66이었고, 급여 8주 후는 동일한 순서로, 100.63±5.06, 97.17±2.03, 99.80±2.33으로 파악되어 모든 급여 시점에 모든 그룹이 통계학적 유의성이 없는 것으로 확인되었다.

전해질검사

프로폴리스 급여 전, 급여 4주 후, 급여 8주 후에 동일하게 채혈된 혈액 샘플로 진행된 전해질 검사(Na^+, K^+, Cl^-)는 비글견 신체의 수분의 균형, 산과 염기의 균형을 확인함으로써 프로폴리스 급여로 인해 구토, 설사 여부를 확인하며, 신경 및 근육 기능을 평가하기 위해 실시되었다. 체내 수분 균형 조절 및 혈압 유지와 밀접해 비글견의 탈수 여부나 신경과 근육 기능 평가를 파악하기 위한 Na^+ 평균 수치는 대조군에서 144.51±3.55, 액상급여군이 144.54±2.05, 고상급여군은 145.05±1.08로 파악되었다. 프로폴리스 급여 4주 후의 대조군 평균 수치는 146.86±2.20, 액상급여군이 147.65±1.63, 고상급여군이 146.89±0.69로 나타났다. 프로폴리스 급여 8주 후의 혈중 평균 나트륨 수치는 146.67±0.54, 액상급여군은 144.09±0.74, 고상급여군이 147.01±0.70으로 측정되어 혈중 나트륨 수치도 모든 급여 시점에 그룹 간 차이가 통계학적 유의성을 보이지 않았다. 비글견 체내 신경 신호 전달, 근육 수축과 밀접하여, 심장 기능, 근육과 신경 기능을 평가할 수 있는 K^+의 평균 수치는 프로폴리스 급여 전 대조군이 4.28±0.14, 액상급여군이 4.45±0.14, 고상급여군이 4.35±0.35로 측정되었다. 프로폴리스 급여 4주 후 대조군은 4.51±0.27, 액상급여군이 4.93±0.17, 고상급여군이 4.88±0.17로 측정되었고, 급여 8주 후, 대조군, 액상급여군, 고상급여군의 순서로 혈중내 K^+의 평균 수치는 3.88±0.34, 4.32±0.29, 4.53±0.23으로 나타나 혈중 내 칼륨 농도 역시 급여 시점 및 급여 그룹 사이의 통계학적 유의성은 발견되지 않았다. 비글견의 체내에서 신장 기능, 산과 염기의 균형을 파악하여 프로폴리스 급여 후, 전해질 불균형 혹은 대사성 산증이나 알칼리증이 발생했는지 알아보기 위한 혈중 Cl^-의 평균수치는 급여 전 대조군, 액상급여군, 고상급여군의 순서로 115.71±1.09, 115.16±1.44, 115.61±.045로 측정되었다. 프로폴리스 급여 4주 후는 대조군이 118.79±1.12, 액상급여군과 고상급여군이 117.68±1.04, 116.60±1.40으로 측정되었으며, 급여 8주 후 평균 염소 수치는 대조군이 115.61±1.28, 액상급여군과 고상급여군은 116.47±0.98, 117.06±1.02로 측정되어 전 급여 시점에 모든 그룹 사이의 차이는 유의 기준(P<0.05)를 초과하는 통계 결과를 보였다(Table 3).

고 찰

본 연구는 8주간 비글견에게 액상 프로폴리스와 고상(가루형, Powder) 프로폴리스를 경구 급여했을 때, 혈액 내 혈청 생화학적 지표를 평가하여 간과 신장 기능에 미치는 독성과 중독 가능성을 확인하고, 독성 및 중독에 관한 영향이 있는지, 제형별 프로폴리스의 차이점을 평가하기 위해 수행되었다. 프로폴리스는 항균, 항산화, 항염증, 항종양 등에 작용을 하는데, 이 중 액상 프로폴리스는 그 활성 성분이 물이나 에탄올 같은 용매에 용해되어 있어 체내 흡수율이 높아 피부 및 구강건강에 직접 사용하기 용이한 반면, 강렬한 향과 맛을 가지고 있다. 이에 반해 고상인 가루형 프로폴리스는 덜 강렬한 향이나 맛을 지니고 있어 특정 제품에 혼합하기에 적합한 형태를 지녔고, 덕분에 가루형 캡슐이나 건강 보조제로서 활용도가 높다(Kubiliene 등, 2015; Berretta 등, 2023).

Table 3. Electrolyte analysis data between the control and the liquid/powder administration groups

Item	Group/week								
	Control			Liquid administration group			Powder administration group		
	0	4	8	0	4	8	0	4	8
Na	144.51±3.55	146.86±2.20	146.67±0.54	144.54±2.05	147.65±1.63	144.09±0.74	145.05±1.08	146.89±0.69	147.01±0.70
K	4.28±0.14	4.51±0.27	3.88±0.34	4.45±0.14	4.93±0.17	4.32±0.29	4.35±0.35	4.88±0.17	4.53±0.23
Cl	115.71±1.09	118.79±1.12	115.61±1.28	115.16±1.44	117.68±1.04	116.47±0.98	115.61±.045	116.60±1.40	117.06±1.02

https://doi.org/10.7853/kjvs.2024.47.3.157

본 연구에서는 액상과 고상 프로폴리스 시료 급여 전과 후에 채혈하여 혈청 생화학검사를 진행해서, 객관적이고 간편하게 실험 모델인 비글견의 간과 신장에 급성 독성 반응이 일어났는지 알아보았다. 간의 기능 검사를 위해 ALT (Alanine aminotransferase), AST (Aspartate aminotransferase), ALP (Alkaline phosphatase), GGT (Amma-glutamyl transferase, TBIL (Total bilirubin)이 측정되었고, 신장의 기능 검사를 위해 BUN (Blood urea nitrogen), CREA (Creatinine), CA (Calcium), IP (Phosphate) 항목이 측정되었으며, 추가로 영양상태, 간 및 신장의 기능, 혈당조절 능력을 파악하기 위해 TP (Total protein), ALB (Albumin), GLU (Glucose) 항목을 검사하였다. 간세포 손상 여부를 파악하여, 간 기능을 평가하는 주요 지표인 ALT는 간세포와 더불어, 심장 및 근육 손상까지 파악할 수 있는 지표인 AST와 함께 측정되었다. 해당 결과는 프로폴리스가 간 보호 효과와 항산화 작용으로 인해 간세포 손상을 줄이며, 간 효소인 AST와 ALT 수치를 감소시키는데 도움을 줄 수 있다는 연구 결과(Devequi-Nunes 등, 2018)를 뒷받침해 액상, 고상 프로폴리스 모두 비글견에서 독성이나 염증을 일으키지 않았음을 확인하였다. ALP 항목은 간이나 담도계에 염증이 발생했거나, 항생제 투여 시 증가하는 경향이 있는데, 해당 실험에서는 액상, 고상 프로폴리스 급여 후에도 증가하지 않은 결과를 얻었다. 또한, 스테로이드를 과다 투여했을 때나 간질환 생겼을 때 증가하는 효소인 GGT 역시 액상, 고상 프로폴리스 급여 후에는 증가하지 않았다. 간과 적혈구의 상태를 나타내며, 간 기능 저하, 약물 중독이나 독성 물질이 간을 손상시킬 때 혈중내에서 증가하는 TBIL도 액상, 고상 프로폴리스 급여 후 비글 견의 혈액에서는 증가하지 않는 것을 확인하였다. 해당 지표들로 이번 연구에서 대조군과 액상 프로폴리스 급여군, 고상 프로폴리스 급여군, 세 그룹 사이에 유의미한 차이는 나타나지 않았는데, 이로 인해 액상, 고상 두 가지 제형 모두 프로폴리스가 간에 독성 반응을 일으키지 않는 것으로 나타났다.

액상 및 고상 프로폴리스를 경구 급여한 비글견들의 신장 상태를 파악하기 위한 지표 중 신장 기능 및 탈수 상태를 반영하는 항목인 BUN은 급여 기간 중 비글견들이 구토, 설사 등 이상 증세가 없었는지 파악하는 데 주요한 지표이다. 해당 실험에서는 대조군과 비교했을 때 액상, 고상 프로폴리스 두 제형 모두 수치가 유지된 걸 확인할 수 있었다. 신장의 여과기능을 평가하며 단백질 대사의 최종 산물로, 급여 물질의 독성 반응으로 수치가 증가했을 때는 급, 만성 신부전을 의심할 수 있는 항목인 CREA 역시 대조군과 비교했을 때 두 개의 급여군 모두 증가하지 않은 결과를 보였다. 부 갑상선과 신장 기능으로 대사 능력을 평가해볼 수 있는 CA와 IP 항목 역시 대조군과 비교해 안정적인 결과로 나타남으로써, 액상과 고상 프로폴리스 두 제형 모두 신장에도 독성 반응 유도는 없다고 판단할 수 있었다. 더불어, 추가적으로 신장 기능 평가 및 체내 탈수 여부를 판단할 수 있는 TP 지표와 간의 기능, 영양 상태 등을 파악할 수 있는 ALB, 혈당 상승 및 저하 정도를 파악할 수 있는 GLU 결과 모두 대조군과 비교했을 때 두 가지 급여군에게 유의미한 차이는 발견되지 않았다. 이 추가적인 지표들은 액상, 고상 프로폴리스를 급여한 비글견의 신장과 간에 독성 반응이 없었다고 판단할 수 있다.

기원전 300년 경부터 효능을 인정받아 치유 및 방부, 감염방지 목적으로 사용된 프로폴리스는 현대 의학 및 제약 산업에서 건강 보조 식품으로 역할과 활용 범위를 넓혀가고 있다(Siheri 등, 2018). 현대에는 인간은 물론이고 반려동물과 가축에서도 항균 및 항산화 효과로 사용하는 다양한 사례들이 있는데, 개에게는 피부 감염, 상처 치유 효과, 말과 염소의 감염성 질환 치료에도 효과적이었다. 가축인 소와 돼지의 건강 개선 효과 및 성장 촉진에 기여할 수 있음을 시사하며, 자연에서 얻을 수 있는 항균제로서 항생제 내성 문제를 해결하는 데 중요한 역할을 할 수 있다(Svetikiene 등, 2024). 이처럼 다양한 활용범위를 포함하여 높은 가치를 가진 천연 물질인 프로폴리스는 아직 활용도가 낮은 편에 속하는 수의학 분야에서 추가 연구들이 진행되고 있다.

본 연구를 기반으로 프로폴리스를 이용한 건강보조 식품 등에 대한 연구도 이어질 수 있다. 이번 연구에서 사용한 두 가지 제형의 프로폴리스 중, 액상 프로폴리스는 체내흡수율이 높고 정재 방식이 고상 프로폴리스보다 강렬한 맛과 향으로 기호성이 떨어질 수 있어 반려동물의 사료나 간식 등에 첨가가 쉽지 않지만, 고상 프로폴리스는 안정성이 높아 장기간 보관도 가능하고, 강렬한 맛이나 향이 없어 건강 보조식품이나 캡슐형태로 첨가 및 가공이 쉽다는 장점이 있다. 때문에 반려동물의 기호성을 고려할 수 있는 첨가제에 대한 추가 연구 역시 필요할 것으로 전망되고 있다.

결 론

본 연구에서 사용된 농도 5%의 액상 프로폴리스와 고상 프로폴리스를 고용량(40 g)으로 급여한 결과, 백혈구와 적혈구의 수, 빈혈 정도(PCV) 등의 혈액학적 지표에서 대조군과 유의미한 차이가 나타나지 않았으며, 급여 기간 동안에도 변화는 관찰되지 않아 두 가지 제형의 프로폴리스 모두 개에서 안정성을 입증하였다. 또한, 액상, 고상 프로폴리스를 급여한 두 그룹 모두 간과 신장의 기능에 대한 독성 반응 여부를 평가하기 위한 혈청 생화

학적 지표(ALT, SFT, BUN, CREA, TP, ALB, GLU)에서도 대조군과 급여군간, 그리고 급여 기간별로 차이나 상승정도는 파악되지 않았다. 이는 액상, 고상 두 제형의 프로폴리스가 장기 기능에 독성 영향을 미치지 않는다는 결론을 뒷받침하는 근거가 되었다. 또, 전해질 검사에서도 유의미한 변화가 없었으며, 이를 통해 두 제형의 프로폴리스 모두 비글견에게 구토나 설사, 빈혈 등의 이상 증상을 유발하지 않고 안전하다는 결과를 확인할 수 있었다.

CONFLICT OF INTEREST

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

ORCID

Hyejean Cho, https://orcid.org/0009-0000-9461-2013

REFERENCES

Ayad AS, Benchaabane S, Daas T, Smagghe G, Loucif-Ayad, W. 2024. Assessment of efficacy of Algerian propolis against the parasitic mite *Varroa destructor* and safety for honey bees by spray treatment. Insects 15(1): 75.

Berretta AA, Zamarrenho LG, Correa JA, De Lima JA, Borini GB, Ambrósio SR, Barud HS, Bastos JK, De Jong D. 2023. Development and characterization of new green propolis extract formulations as promising candidates to substitute for green propolis hydroalcoholic extract. Molecules 28(8): 3510.

Braakhuis A. 2019. Evidence on the health benefits of supplemental propolis. Nutrients 11(11): 2705.

Devequi-Nunes D, Machado BAS, Barreto GA, Silva JR, Silva DF, Rocha JLC, Brandão HN, Borges VM, Umsza-Guez, MA. 2018. Chemical characterization and biological activity of six different extracts of propolis through conventional methods and supercritical extraction. PLoS One 13(12): e0207676.

Glausiusz J. 2021. How dogs became humans' best friends: from Neanderthals to now. Nature 599(7886): 553-554.

Kim J, Chun BC. 2021. Association between companion animal ownership and overall life satisfaction in Seoul, Korea. PLoS One 16(9): e0258034.

Kim SK, Woo SO, Chang JS. 2021. Biological properties of propolis isolated from honeybees. J Life Sci 31(7): 686-697.

Kubiliene L, Laugaliene V, Pavilonis A, Maruska A, Majiene D, Barcauskaite K, Kubilius R, Kasparaviciene G, Savickas A. 2015. Alternative preparation of propolis extracts: Comparison of their composition and biological activities. BMC Complement Altern Med 15: 156.

Marcial-Modesto D, Chin BN, Casserly ED, Parsons SM, Feeney BC. 2023. Pet ownership and mental health in United States adults during COVID-19. Front Psychol 14: 1217059.

Ripari N, Sartori AA, Honorio MS, Conte FL, Tasca KI, Santiago KB, Sforcin JM. 2021. Propolis antiviral and immunomodulatory activity: A review and perspectives for COVID-19 treatment. J Pharm Pharmacol 73(3): 281-299.

Siheri W, Alenezi S, Tusiimire J, Watson DG. 2017. The chemical and biological properties of propolis. In J. Alvarez-Suarez (Ed.), Bee products - Chemical and biological properties (pp. 137-178). Springer, Cham.

Svetikiene D, Zamokas G, Jokubaite M, Marksa M, Ivanauskas L, Babickaite L, Ramanauskiene K. 2024. The comparative study of the antioxidant and antibacterial effects of propolis extracts in veterinary medicine. Vet Sci 11(8): 375.

https://doi.org/10.7853/kjvs.2024.47.3.157