팔미지황환의 Propylthiouracil로 유발된 Rat 갑상샘기능저하성 여성 생식기 손상 제어 효과

김승모

대구한의대학교 한의과대학 간계내과학교실

Favorable Control Effects of Palmijihwang-Whan on the Propylthiouracil Induced Hypothyroidism Related Rat Male Reproductive Organ Damages

Seung-Mo Kim

Department of Korean Internal Medicine of Hepatology, College of Korean Medicine, Daegu Haany University

Received: September 16, 2015

Revised: November 24, 2015

Accepted: November 26, 2015

Correspondence to: Seung-Mo Kim
Department of Korean Internal
Medicine of Hepatology, College of
Korean Medicine, Daegu Haany
University, 136 Sincheondong-ro,
Suseong-gu, Daegu 42158, Korea
Tel: +82-53-770-2111
Fax: +82-53-768-6340
E-mail: heuwon@hanmail.net

Copyright © 2015 by The Society of Korean
Medicine for Obesity Research

Objectives: This study was to evaluate the effect of Palmijihwang-whan (PMJHW) aqueous extract in the regulation of hypothyroidism related reproductive organ damages in propylthiouracil (PTU)-induced rat model.

Methods: PMJHW aqueous extract (yield=17.90%) were administered, once a day for 42 days from 2 weeks before start of PTU treatment as oral doses of 500, 250, and 125 mg/kg (body weight), and hypothyroidism was induced by daily subcutaneous treatment of PTU 10 mg/kg for 28 days.

Results: PTU-induced hypothyroidism and related male reproductive organ damages-atrophic changes of testis, epididymis and prostate, were favorably and dose-dependently inhibited by treatment of PMJHW 500, 250, and 125 mg/kg. They also effectively regulated the PTU-induced abnormal antioxidant defense system changes in the testis. Although levothyroxine also favorably inhibited PTU-induced hypothyroidism, it deteriorated the hypothyroidism related male reproductive organ damages through testicular oxidative damages. The results suggest that oral administration of 125, 250, and 500 mg/kg of PMJHW has favorable effects on the hypothyroidism and related reproductive organ damages through augmentation of antioxidant defense system in the testis.

Conclusions: This study suggest that PMJHW may be help to ameliorate the hypothyroidism and related organ damages in clinics.

Key Words: Palmijihwang-whan, Hypothyroidism, Male reproductive organ damages, Propylthiouracil, Histopathology, Antioxidants

서론

흔한 내분비 질환 중의 하나인 갑상샘기능저하증은 한의 학적으로 浮腫, 虛勞, 行遲, 語遲, 結陽證, 解 등에 속한다. 주로 氣血不足, 脾腎陽虛, 命門火衰, 心腎陽虛 등에 의해 초래되며^{1,2)} 補氣補血, 溫補脾腎, 溫補腎陽, 溫補心陽하는 大營煎, 右歸飲, 八味地黃丸, 十全大補湯, 補中益氣湯 등

이 應用되고 있다¹⁾.

갑상샘기능저하증은 임상적으로 원인불명의 특발성 점 액수종에 의한 원발성이 가장 많으며 종양, 염증, 수술 등의 원인에 의해서도 발생하는데³⁾ 갑상샘의 이상이나 시상하부와 뇌하수체의 기능 이상 및 갑상샘호르몬 생합성 중간단계의 장애로 인해 기초대사율 저하, 고콜레스테롤혈증, 장 포 도당 흡수 저하, 단백질 합성저하 등이 발생한다. 갑상샘기

능저하증 시 신체의 항산화 방어 system의 변화가 초래되는 데, 기초 대사량의 감소로 세포 호흡이 억제되고 내인성 항산화 방어 효소인 superoxide dismutase (SOD) 및 catalase (CAT)의 현저한 감소에 따라 과산화수소(H_2O_2)가 조직에 축적되어 다양한 체내 손상이 유발되는 것으로 알려져 있다⁴⁾. 고환을 포함한 생식기 역시 갑상샘호르몬에 의해 영향을 받는 대표적인 장기로, 갑상샘기능저하증 시 고환 위축과 함께 남성 호르몬인 testosterone 및 dihydrotestosterone (DHT)의 감소와 follicular stimulating hormone (FSH)의 함량 증가가 수반된다⁵⁻⁷⁾.

서양의학적 치료방법은 일반적으로 저용량 throxine (T4) 보충요법을 지속하는 것인데, 일정량의 levothyroxine (LV4)을 매일 복용하여 갑상샘호르몬을 보충하는 치료법을 사용한다. 이는 일생 동안 약물을 복용해야 하는 문제점뿐만 아니라 복약 후 정상 호르몬 수치에서도 증상이 지속되거나 급성 심근 경색, 심방세동, 불안정성 협심증 등의 허혈성 심질환, 의인성 갑상샘기능항진증 등 여러 부작용들을 유발할 수 있다⁸⁾. 이에 최근 부작용이 적고 강력한 항산화 효과를 나타내는 천연물 유래의 갑상샘기능저하증 치료제의 개발이 주목받고 있다⁹⁻¹¹⁾.

Propylthiouracil (PTU; 6-n-propyl-2-thiouracil)은 갑상샘의 기능을 억제하는 항갑상샘제제로 다양한 갑상샘기능증가증을 치료하기 위해 개발되었으나 정상 랫트에서는 iodine과 tyrosine의 결합을 억제하는 작용을 하여 갑상샘자극호르몬(thyroid-stimulating hormone, TSH)의 증가와 함께 tri-iodothyronine (T_3) 및 T_4 의 절대적 감소를 유발하여 비활동성 갑상샘종대(simple goiter)를 유발하므로^{10,11)} 현재 갑상샘기능저하증 동물 모델 확립에 가장 흔히 사용되고

있다^{9,12)}.

八味地黄丸은 한대 Zhang (張仲景)¹³⁾의 『金匱要略』에서 처음 수록된 처방으로 八味丸, 腎氣丸, 八味地黄丸 등의 異名과 후대에 이르러서는 金匱腎氣丸, 桂附地黄丸 등으로도 불리고 있으며, 熟地黄, 山藥, 山茱萸, 茯苓, 澤瀉, 牡丹皮, 肉桂 및 附子の 여덟 가지 약재로 구성되어 있다. 주지증은 『金匱要略』에서는 虛勞腹痛과 小便不利 등에 사용하였으나 이후 朱震亨은 腎氣虛乏 下源冷虧 臍腹冷痛에 許俊은 老年水火直虧, 下部陽虛 陰冷如冰, 命門虛, 凡人四肢痿弱無力多困 등을 치료한다고 하여 점차 腎虛, 命門虛 등의 제반증상에 기본적 처방으로 하였다^{14,15)}. 한의학적으로 팔미지황환은 갑상샘기능저하증에 전통적으로 사용되어 왔으며¹⁾ 여덟 가지 구성 약제 각각, 즉 熟地黄¹⁶⁾, 山藥¹⁷⁾, 山茱萸¹⁸⁾, 茯苓¹⁹⁾, 澤瀉²⁰⁾, 牡丹皮²¹⁾, 肉桂²²⁾ 및 附子²³⁾의 항산화 활성이 이미 잘 알려져 있으나, 갑상샘 기능 이상 및 관련 생식기 손상에 대한 효과는 아직 알려져 있지 않다.

본 연구에서는 현재 한의학에서 대표적인 補腎, 補陰劑로 사용되고 있는 팔미지황환의 경구 투여가 PTU로 유발된 rat 갑상샘기능저하증 및 관련 생식기 손상에 미치는 영향을 LT4 0.5 mg/kg 복강 투여군^{10,11)}과 비교하여 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 검체의 제조

팔미지황환은 지역 약업사(대원약업사, Daegu, Korea)에서 구입하여 현미경하 관능검사를 통해 선정하였다. 본 실험에 사용된 팔미지황환 1점 분량(49.625 g)의 조성은

Table 1. Composition of Palmijhwang-whan Used in This Study

Herb	Scientific name	Producing district	Amount (g)
Rehmanniae Radix Preparata	<i>Rehmannia glutinosa</i> Liboschitz var. <i>purpurea</i> Makino	Youngcheon, Gyeongbuk, Korea	15,000
Dioscoreae Rhizoma	<i>Dioscorea batatas</i> Decne	Jecheon, Chungbuk, Korea	7,000
Corni Fructus	<i>Cornus officinalis</i> Siebold et Zuccarini	Yeongwol, Gangwon, Korea	7,000
Hoelen	<i>Poria cocos</i> Wolf	Namyangju, Gyeonggi, Korea	5,625
Alismatis Rhizoma	<i>Alisma orientale</i> Juzepczuk	Suncheon, Jeonnam, Korea	5,625
Cinnamomi Cortex	<i>Cinnamomum cassia</i> Blume	Vietnam	1,875
Moutan Cortex Radicis	<i>Paeonia suffruticosa</i> Andrews	Jecheon, Chungbuk, Korea	5,625
Aconiti Lateralis Radix Preparata	<i>Aconitum camichaeli</i> Debeaux	China	1,875
Total	8 types		49,625

All individual herbs were purchased from Daewon Pharmacy (Daegu, Korea).

Table 1과 같다. 선정된 약제 10점 분량(총량 496.25 g)을 취하여 정제수 5 L로 가열 추출한 후(60°C, 3시간, 3번) 흡인 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator (Eyela N-1110, Tokyo, Japan)로 감압·농축하여 점조성의 추출물을 얻은 다음 programmable freeze dryer (Operon FDB-5503, Kimpo, Korea)를 사용하여 동결 건조시켜 총 96.72 g (수율 17.90%)의 연갈색의 물 추출물을 얻어 실험에 사용하였으며, 일부 약제는 대구한의대학교 방제글로벌 연구센터 시료 보관 냉동고(Lot No. PMJHW2013Ku)에 보관하였다.

2. 실험동물 및 사양관리

132마리의 수컷 SPF/VAF Outbred CrI:CD (Sprague-Dawley) rat (6-week old upon receipt; OrientBio, Seongnam, Korea)를 15일간의 순화과정을 거쳐 실험에 사용하였다. 순화과정 및 실험 전 기간 동안 온도(20~25°C)와 습도(40~45%)가 조절된 사육실에서 polycarbonate 사육상자에 4마리씩 수용하여 사육하였다. 명암 주기(light:dark cycle)는 12시간 주기로 조절하였으며, 사료(Samyang, Seoul, Korea)와 음수는 자유롭게 공급하였다.

순화과정 후 체중(average, 285.96±9.88 g; ranged in 272.00~306.00 g)이 일정한 실험동물을 선별하여 군당 8마리씩 총 6개군으로 구분하여 사용하였다.

본 동물실험은 대구한의대학교 동물실험윤리위원회(Institutional Animal Care and Use Committee)의 사전 승인을 받아 수행하였다(승인번호: DHU2013-068).

3. 실험군 설정 및 약물투여

실험은 rat 8마리씩을 정상 대조군, PTU 대조군, LT4 투여군 및 팔미지황환 물 추출물 500, 250 및 125 mg/kg 투여군으로 구분하여 진행하였다.

정상군을 제외한 나머지 군에는 50 mg의 PTU (Sigma, St. Louise, MO, USA)를 10 ml 생리 식염수에 용해시켜 kg당 2 ml의 용량으로 매일 1회씩 총 4주간 매일 등쪽 경부 피하에 주사하여 갑상샘기능저하증을 유발하였다. 한편 정상 대조군에서는 PTU 대신 동일한 용량의 생리 식염수만 동일한 방법과 기간 동안 투여하였다.

팔미지황환 투여군은 PTU 투여 시작 2주 전부터 42일간

100, 50 및 25 mg의 팔미지황환 물 추출물을 1 ml 멸균 증류수에 용해시켜 rat kg당 5 ml의 용량으로 존데(zonde)가 부착된 5 ml 주사기를 이용하여 매일 1회씩 강제 경구 투여하였으며, LT4 투여군은 PTU 투여 시작일로부터 28일간 2.5 mg의 LT4를 10 ml의 생리 식염수에 용해시켜 kg당 2 ml의 용량으로 매일 복강 주사하였다. 한편 정상 및 PTU 대조군에서는 동일한 용량의 멸균 증류수를 팔미지황환 물 추출물 투여군과 동일한 기간 동안 경구 투여하였다(Fig. 1).

4. 체중 측정

모든 실험동물의 체중을 팔미지황환 물 추출물 투여 시작 1일 전, 투여 시작일, 투여 7, 14 (PTU 및 LT4 투여 시작일), 21, 28, 35, 41 및 42일(최종 희생일) 후에 automatic electronic balance (Precisa Instrument, Zürich, Switzerland)를 이용하여 측정하였으며, 사료섭취에 따른 체중 변화를 최소화하기 위해 팔미지황환 물 추출물 투여시작일 및 최종 희생일에 모든 실험동물은 18시간 정도 절식을 실시하였다.

5. 장기 중량의 측정

최종 희생일에 모든 실험동물의 전립샘, 좌측 갑상샘, 고

Fig. 1. Experimental designs used in this study. Six groups, each of 8 rats per group were selected after 15 days of acclimatization based on the body weights (average, 285.96±9.88 g; ranged in 272.00~306.00 g) as intact vehicle control, PTU control, LT4, PMJHW 500, 250 and 125 mg/kg treated groups. PMJHW were administered, once day for 42 days from 2 weeks before start of PTU treatment as an oral dose of 500, 250 and 125 mg/kg (body weight), and hypothyroidism was induced by daily subcutaneous treatment of PTU 10 mg/kg for 28 days. The changes on the body weight, thyroid gland, epididymis, prostate and testis weights, serum thyroid hormone-thyroid-stimulating hormone, tri-iodothyronine and thyroxine levels, serum male sex hormone-testosterone, dihydrotestosterone and follicular stimulating hormone levels, testis antioxidant defense system-lipidperoxidation, H₂O₂, superoxide dismutase and catalase were observed with histopathology of thyroidgland, epididymis, prostate and testis. Results were compared with LT40.5 mg/kg intraperitoneally treated rats in this experiment. PMJHW: Palmijihwang-whan aqueous extracts (yield=17.90%), PTU: propylthiouracil (6-n-propyl-2-thiouracil), LT4: levothyroxine.

환 및 부고환을 적출·분리한 다음 중량을 측정하여 절대중량(absolute wet-weight)으로 하였으며, 체중의 변화에 수반된 이차적 변화를 최소화하기 위해 체중에 대한 절대중량의 비율인 상대중량([absolute organ weights/body weights at sacrifice] $\times 100$; % of body weight)을 각각 산출하였다.

6. 채혈 및 혈청의 분리

최종 희생일에 모든 실험동물을 18시간 이상 절식 후 후대정맥(vena cava)에서 각각 6 ml의 혈액을 채취한 후 상온에서 1시간 정도 방치한 다음 3,000 rpm으로 원심분리하여 혈청을 분리하였고, 분석 전까지 -150°C 의 초저온냉장고(deep freezer; Sanyo, Tokyo, Japan)에 보관하였다.

7. 혈청 중 호르몬 함량의 측정

Radioimmunoassay법²⁴⁾에 준하여 혈청 중 TSH, T_3 , T_4 , testosterone, DHT 및 FSH 함량을 각각 Coat A count Total TSH, T_3 , T_4 , testosterone, DHT 및 FSH kit (DPC, Danville, CA, USA)를 사용하여 Gamma count Cobra II (Packard Co., Downers Grove, IL, USA)로 pg/ml, ng/ml 또는 $\mu\text{g/ml}$ 단위로 각각 측정하였다.

8. 항산화 방어 system의 측정

Kavutcu 등²⁵⁾의 방법에 따라, 적출한 고환의 일부 조직을 얼음으로 냉각(ice-cold)한 0.01 M Tris-HCl (pH 7.4)을 이용하여 homogenize한 다음, $800 \times g$ 으로 10분간 원심분리하여 상층액을 분리하고, 다시 $12,000 \times g$ 으로 15분간 원심분리하여 mitochondrial fraction을 준비하였다. 이후 단백질 함량은 Lowry 등²⁶⁾의 방법으로 bovine serum albumin을 standard로 이용하여 측정하였으며 지질 과산화 정도(lipid peroxidation)는 Jamall과 Smith²⁷⁾의 방법으로 2-thiobarbituric acid를 이용하여, 흡광도 525 nm에서 측정하여 malondialdehyde nM/mg protein 단위로 측정하였다. 또한 H_2O_2 함량은 Pick과 Keisari²⁸⁾의 방법에 따라 horseradish peroxidase (Sigma)와 phenol red (Wako, Osaka, Japan)를 이용하여, nM/mg protein 단위로 spectrophotometry로 측정하였으며, 이전의 방법²⁹⁾에 따라 H_2O_2 분해능을 이용하여 CAT 함량을 흡광도 240 nm에서 측정하였다. 즉, pH 7.0, 온도 25°C 하에서 $1 \mu\text{mol}$ 의 H_2O_2 를

분해하는 데 필요한 CAT를 1 unit (U)로 정의하여 U/mg protein의 단위로 catalase의 활성을 평가하였고, SOD 활성은 Nishikimi 등³⁰⁾의 nicotinamide adenine dinucleotide (reduced)-phenazine methosulphate-nitroblue-tetrazolium 억제 반응을 변형시킨 Kakkar 등³¹⁾의 방법을 이용하여 평가하였다. SOD 1 unit는 상온 ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$)에서 1분 동안 formazan 형성을 50% 억제하는 농도로 정의하여 U/mg protein 단위로 측정하였다.

9. 조직병리

최종 희생일에 전립샘, 좌측 갑상샘, 고환 및 부고환 조직을 적출 후 절단하고 10% 중성포르말린에 18시간 이상 고정하여 탈수를 거쳐 파라핀 포매 후 $3 \mu\text{m}$ 의 조직 절편을 제작하고 H&E 염색을 실시한 후 광학현미경하에서 관찰하였다. 또한 명확한 조직병리학적 변화를 관찰하기 위해 세포 절단한 갑상샘 전체 두께 및 평균 갑상샘 여포 직경을 각각 automated image analysis process (ISolution FL ver 9.1, IMT i-solution Inc., Quebec, Canada)를 이용하여 측정하였으며, 고환 내 정세관의 평균 직경과 도관내 성숙한 정자를 함유한 stage I~II의 정세관이 차지하는 비율을 각각 $\mu\text{m}/\text{tubule}$ 및 $\%/ \text{mm}^2$ 단위로 측정하였다. 부고환 두부(head)의 평균 두께 및 정자수의 감소를 나타내는 부고환 도관(aspermatogonia/oligospermatogonia tubules)의 비율 역시 mm/head region 및 $\%/ \text{mm}^2$ 단위로 측정하였고 전립샘 도관 상피의 평균 두께($\mu\text{m}/\text{tubule}$) 및 위축, 전립샘 도관의 비율($\%/ \text{mm}^2$) 역시 automated image analysis process를 이용하여 각각 측정하였다.

10. 통계처리

모든 수치는 평균 $\pm$ 표준편차로 표시하였으며, 다중비교 검증을 이용하여 통계처리를 실시하였고, 분산동질성을 Levene test를 실시하여 검증하였다³²⁾. 등분산일 경우, one way ANOVA test를 실시한 다음 least-significant differences test로 사후 검증을 실시하여 군 간의 유의성을 측정하였다. 비등분산일 경우에는 비모수 검증인 Kruskal-Wallis H test를 실시하여 유의성이 인정된 경우에는 Mann-Whitney U test를 실시하여 군 간의 유의성을 검증하였다. 모든 통계처리는 SPSS for Windows, Release 14.0K (SPSS

Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 평가하였으며, P-value가 0.05 이하인 경우 통계적 유의성을 인정하였다.

결 과

1. 체중의 변화

PTU 대조군에서 PTU 투여 3주 후(day 35)부터 유의한 ($P<0.01$) 체중의 감소가 시작되었으나, LT4 및 팔미지황환 물 추출물 500 mg/kg 투여군에서는 PTU 투여 3주 후부터 유의한 체중의 증가가 시작되었고($P<0.01$ 또는 $P<0.05$), 250 mg/kg의 팔미지황환 물 추출물 투여군에서도 유의한 (체중 증가 $P<0.01$ 또는 $P<0.05$)가 PTU 투여 41 및 42일 후 각각 인정되었다. 한편 125 mg/kg의 팔미지황환 물 추출물 투여군에서는 PTU 대조군에 비해 유의한 체중의 변화는 실험 전 기간 동안 인정되지 않았다(Fig. 2).

2. 갑상샘 중량의 변화

PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의한 절대 및 상대 갑상샘 중량의 증가가 인정되었으며($P<0.01$) LT4 및 모든 세 용량의 팔미지황환 물 추출물 투여군에서는 PTU 대조군에 비해 유의한 절대 및 상대 갑상샘 중량의 감소가 각각 인정되었다($P<0.01$). 팔미지황환 물 추출물 투여군에서는 투여 용량 의존적인 갑상샘 중량 감소 억제 효과가 인정되었다(Table 2, Fig. 3).

3. 고환 및 부고환 중량의 변화

PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의한 절대 및 상대 고환, 부고환 중량의 감소가 확인되었다($P<0.01$). 또

Fig. 2. Body weight changes after LT4 and PMJHW treatment in PTU-treated rats. Note that the body weights in PTU control were significantly decreased from 3 weeks after PTU treatment, at 35 days after PMJHW extract administration (arrow). However, these body weight decreases were significantly inhibited by treatment of LT4 and PMJHW 500 mg/kg from 3 weeks after PTU treatment, and also from 41 days after PMJHW 250 mg/kg treatment as compared with PTU control, respectively. Anyway, no significant changes on the body weights were demonstrated in PMJHW 125 mg/kg treated rats as compared with PTU control rats, in this experiment. Values are presents as mean $\pm$ standard deviation of eight rats (g). 0 means, at start of PMJHW extracts administration. PTU: propylthiouracil (6-n-propyl-2-thiouracil), LT4: levothyroxine, PMJHW: Palmijihwang-whan aqueous extracts (yield=17.90%). * $P<0.01$ as compared with PTU control by least-significant differences (LSD) test. $^{\dagger}P<0.05$ as compared with PTU control by LSD test. ‡ All rats were overnight fasted.

Table 2. Organ Weights after LT4 and PMJHW Treatment in PTU-Treated Rats

Groups	Control		Reference		PMJHW treated	
	Intact	PTU	LT4 0.5 mg/kg	500 mg/kg	250 mg/kg	125 mg/kg
Absolute weight (g)						
Thyroid gland	0.011 $\pm$ 0.004	0.041 $\pm$ 0.006*	0.011 $\pm$ 0.003 †	0.021 $\pm$ 0.005* †	0.026 $\pm$ 0.006* †	0.031 $\pm$ 0.008* †
Testis	1.647 $\pm$ 0.094	1.155 $\pm$ 0.151 §	1.092 $\pm$ 0.127 §	1.551 $\pm$ 0.075 ¶	1.476 $\pm$ 0.055 §	1.373 $\pm$ 0.043 ¶
Epididymis	0.599 $\pm$ 0.058	0.408 $\pm$ 0.036*	0.456 $\pm$ 0.057*	0.586 $\pm$ 0.058 †	0.530 $\pm$ 0.040* †	0.490 $\pm$ 0.042* †
Prostate	1.051 $\pm$ 0.263	0.552 $\pm$ 0.081 §	0.537 $\pm$ 0.056 §	0.942 $\pm$ 0.127 ¶	0.822 $\pm$ 0.113 ¶	0.697 $\pm$ 0.086 ¶
Relative weight (% of body weight)						
Thyroid gland	0.003 $\pm$ 0.001	0.012 $\pm$ 0.002*	0.003 $\pm$ 0.001 †	0.005 $\pm$ 0.001* †	0.007 $\pm$ 0.002* †	0.009 $\pm$ 0.002* †
Testis	0.391 $\pm$ 0.028	0.329 $\pm$ 0.044 §	0.284 $\pm$ 0.041 §	0.412 $\pm$ 0.026 ¶	0.399 $\pm$ 0.020 ¶	0.375 $\pm$ 0.022**
Epididymis	0.142 $\pm$ 0.016	0.116 $\pm$ 0.010*	0.119 $\pm$ 0.017*	0.156 $\pm$ 0.017 †	0.143 $\pm$ 0.012 †	0.134 $\pm$ 0.011 †
Prostate	0.249 $\pm$ 0.060	0.157 $\pm$ 0.023 §	0.139 $\pm$ 0.016 § **	0.251 $\pm$ 0.036 ¶	0.222 $\pm$ 0.034 ¶	0.191 $\pm$ 0.029 ¶ **

Values are presented as mean $\pm$ standard deviation.

LT4: levothyroxine, PMJHW: Palmijihwang-whan aqueous extracts (yield=17.90%), PTU: propylthiouracil (6-n-propyl-2-thiouracil).

* $P<0.01$ as compared with intact control by least-significant differences (LSD) test, $^{\dagger}P<0.01$ and $^{\ddagger}P<0.05$ as compared with PTU control by LSD test, $^{\S}P<0.01$ and $^{\P}P<0.05$ as compared with intact control by Mann-Whitney U (MW) test, $^{\P}P<0.01$ and $^{**}P<0.05$ as compared with PTU control by MW test.

Fig. 3. Representative thyroid gland gross images, taken from intact or PTU-treated rats. Note that marked hypertrophic changes of thyroid glands were demonstrated in PTU control rats as compared with intact control rats, but they were noticeably inhibited by treatment of LT4 and also dose-dependently by treatment of PMJHW 125, 250, and 500 mg/kg as compared with PTU control, respectively (scale bars=3 mm). (A) Intact control, (B) PTU control, (C) LT4 0.5 mg/kg treated rats, (D) PMJHW 500 mg/kg treated rats, (E) PMJHW 250 mg/kg treated rats, (F) PMJHW 125 mg/kg treated rats, PTU: propylthiouracil (6-n-propyl-2-thiouracil), LT4: levothyroxine, PMJHW: Palmijihwang-whan aqueous extracts (yield=17.90%).

한 500, 250 및 125 mg/kg의 팔미지황환 물 추출물 투여군에서는 PTU 대조군에 비해 투여 용량 의존적인 유의한 절대 및 상대 고환, 부고환 중량의 증가가 인정되었다($P < 0.01$ 또는 $P < 0.05$). 한편 LT4 투여군에서는 PTU 대조군에 비해 유의한 고환 및 부고환 중량의 변화는 인정되지 않았다(Table 2, Fig. 4).

4. 전립샘 중량의 변화

PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의한 절대 및 상대 전립샘 중량의 감소가 인정되었으나($P < 0.01$), 팔미지황환 물 추출물 125, 250 및 500 mg/kg 투여군에서는 PTU 대조군에 비해 투여 용량 의존적인 유의한(절대 및 상대 전립샘 중량의 증가가 각각 인정되었다 $P < 0.01$ 또는 $P < 0.05$). 한편 LT4 투여군에서는 PTU와 유사한 절대 전립샘 중량의 변화를 나타내었으나 전립샘 상대 중량은 PTU 대조군에 비해서도 유의한 감소를 나타내었다($P < 0.05$; Table 2).

5. 혈청 중 갑상샘호르몬 함량의 변화

PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의한 혈청 중

Fig. 4. Representative testis and epididymis gross images, taken from intact or PTU-treated rats. Note that marked atrophic changes of epididymis and testis were noticed in PTU control rats as compared with intact control rats, but they were dramatically and dose-dependently normalized by treatment of all three different dosages of PMJHW 125, 250, and 500 mg/kg as compared with PTU control, respectively. Anyway, LT4 treated rats showed similar or slightly more severe atrophic changes on the testis and epididymis as compared with PTU control rats at gross inspections in this experiment (scale bars=10 mm). (A) Intact control, (B) PTU control, (C) LT4 0.5 mg/kg treated rats, (D) PMJHW 500 mg/kg treated rats, (E) PMJHW 250 mg/kg treated rats, (F) PMJHW 125 mg/kg treated rats, PTU: propylthiouracil (6-n-propyl-2-thiouracil), PMJHW: Palmijihwang-whan aqueous extracts (yield=17.90%), LT4: levothyroxine.

TSH 함량의 증가가 T_3 및 T_4 함량의 감소와 함께 인정되었으나($P < 0.01$), 팔미지황환 물 추출물 500, 250 및 125 mg/kg 투여군에서는 PTU 대조군에 비해 투여 용량 의존적인 유의한 TSH 함량의 감소와 함께 T_3 및 T_4 함량의 증가가 인정되었다($P < 0.01$ 또는 $P < 0.05$). 한편 LT4 투여군에서도 PTU 대조군에 비해 유의한 TSH 함량의 감소와 함께 T_4 함량의 증가가 인정되었으나($P < 0.01$), 의미있는 T_3 함량의 변화는 인정되지 않았다(Table 3).

6. 혈청 중 성 호르몬 함량의 변화

PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의한 혈청 중 FSH 함량의 증가가 testosterone 및 DHT 함량의 감소와 함께 인정되었으나($P < 0.01$), 모든 세 용량의 팔미지황환 물 추출물 투여군에서는 PTU 대조군에 비해 FSH 함량의 유의한 감소와($P < 0.01$ 또는 $P < 0.05$) testosterone 및 DHT 함량의 유의한 증가가 각각 인정되었다($P < 0.01$ 또는

$P<0.05$). 한편 LT4 투여군에서는 PTU 대조군에 비해서도 유의한 FSH 함량의 증가와 DHT 및 testosterone 함량의 감소가 각각 인정되었다($P<0.01$; Table 4).

7. 고환 항산화 방어 system의 변화

PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 없는 경미한 지질 과산화의 감소가 인정되었으나 유의한 H_2O_2 함량의 증가와($P<0.01$) 유의한 SOD 및 CAT 활성의 감소가

인정되었다($P<0.01$). 팔미지황환 물 추출물 500, 250 및 125 mg/kg 투여군에서는 PTU 대조군에 비해 투여 용량 의존적인 유의한 SOD 및 CAT 활성의 증가가 H_2O_2 함량의 감소와 함께 인정되었다($P<0.01$ 또는 $P<0.05$). 한편 LT4 투여군에서는 PTU 대조군에 비해 유의성은 인정되지 않았으나 CAT 활성의 감소가 인정되었고, 유의한 SOD 활성의

Table 3. Serum Thyroid Hormone Levels after LT4 and PMJHW Treatment in PTU-Treated Rats

Groups	Serum hormone level		
	TSH (ng/ml)	T3 (ng/ml)	Thyroxine (μg/ml)
Control			
Intact	14.64±3.45	73.31±9.50	5.86±1.17
PTU	60.18±11.38*	17.55±5.65*	0.99±0.22*
Reference			
LT4 0.5 mg/kg	12.91±2.91 [†]	18.57±4.88*	6.96±1.80 [†]
PMJHW treated			
500 mg/kg	30.68±8.66* [†]	28.24±3.96* [†]	2.75±0.52* [†]
250 mg/kg	38.85±6.40* [†]	25.15±4.44* [†]	1.86±0.65* [†]
125 mg/kg	44.99±4.54* [†]	23.38±2.41* [†]	1.60±0.28* [†]

Values are presented as mean±standard deviation.

LT4: levothyroxine, PMJHW: Palmijihwang-whan aqueous extracts (yield=17.90%), PTU: propylthiouracil (6-n-propyl-2-thiouracil), TSH: thyroid stimulating hormone, T3: tri-iodothyronine.

* $P<0.01$ as compared with intact control by Mann-Whitney U (MW) test, [†] $P<0.01$ and [‡] $P<0.05$ as compared with PTU control by MW test.

Table 4. Serum Testicular Hormone Levels after LT4 and PMJHW Treatment in PTU-Treated Rats

Groups	Serum hormone level		
	Testosterone (ng/ml)	DHT (pg/ml)	FSH (ng/ml)
Control			
Intact	3.36±0.56	175.38±14.57	10.84±1.63
PTU	1.93±0.20	127.88±14.26*	18.03±1.63*
Reference			
LT4 0.5 mg/kg	1.48±0.30 [¶]	104.38±16.59* [‡]	21.48±2.62* [‡]
PMJHW treated			
500 mg/kg	2.91±0.17 [¶]	166.38±20.26 [‡]	12.29±2.03 [‡]
250 mg/kg	2.66±0.24 [¶]	155.88±13.50 [‡] [¶]	14.31±1.13* [‡]
125 mg/kg	2.49±0.41 [¶]	147.88±8.44* [‡]	15.63±1.63* [‡]

Values are presents as mean±standard deviation.

LT4: levothyroxine, PMJHW: Palmijihwang-whan aqueous extracts, PTU: propylthiouracil (6-n-propyl-2-thiouracil), DHT: dihydrotestosterone, FSH: follicular stimulating hormone.

* $P<0.01$ and [†] $P<0.05$ as compared with intact control by least-significant differences (LSD) test, [‡] $P<0.01$ and [§] $P<0.05$ as compared with PTU control by LSD test, ^{||} $P<0.01$ as compared with intact control by Mann-Whitney U (MW) test, [¶] $P<0.01$ as compared with PTU control by MW test.

Table 5. Testicular Antioxidant Defense Systems after LT4 and PMJHW Treatment in PTU-Treated Rats

Groups	Testis contents			
	MDA (nM/mg protein)	H_2O_2 (nM/mg protein)	SOD (U/mg protein)	Catalase (U/mg protein)
Control				
Intact	6.04±0.82	26.75±4.27	32.38±4.10	28.38±6.50
PTU	5.43±1.21	54.88±10.48*	14.13±2.47*	14.13±2.53
Reference				
LT4 0.5 mg/kg	5.87±1.27	72.00±13.77* [‡]	9.13±3.48* [§]	12.13±3.91
PMJHW treated				
500 mg/kg	5.62±1.50	32.63±10.35 [‡]	26.13±5.46 [‡]	22.63±3.29 [¶]
250 mg/kg	5.76±1.01	37.50±9.77 [‡] [¶]	23.25±4.03 [‡] [¶]	19.88±2.03 [¶]
125 mg/kg	5.58±1.08	40.88±7.85* [‡]	18.88±2.59* [§]	17.88±2.30 ^{**}

Values are presents as mean±standard deviation.

LT4: levothyroxine, PMJHW: Palmijihwang-whan aqueous extracts (yield=17.90%), PTU: propylthiouracil (6-n-propyl-2-thiouracil), MDA: malondialdehyde, SOD: superoxide dismutase.

* $P<0.01$ and [†] $P<0.05$ as compared with intact control by least-significant differences (LSD) test, [‡] $P<0.01$ and [§] $P<0.05$ as compared with PTU control by LSD test, ^{||} $P<0.01$ as compared with intact control by Mann-Whitney U (MW) test, [¶] $P<0.01$ and ^{**} $P<0.05$ as compared with PTU control by MW test.

감소와($P<0.05$) 유의한 H_2O_2 함량의 증가가 인정되었다($P<0.01$; Table 5).

8. 갑상샘의 조직병리학적 관찰

PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 현저한 갑상샘 여포세포의 증생에 의한 비대 소견이 여포 직경 및 여포내 colloid 물질의 감소와 함께 인정되었으며, 갑상샘 전체 두께의 유의한 증가가($P<0.01$) 평균 갑상샘 여포 직경의 유의한 감소와 함께 인정되었다($P<0.01$). 한편 이러한 PTU 투여에 의한 갑상샘 조직의 증생 및 비대 소견이 LT4, 팔미지황환 물 추출물 500, 250 및 125 mg/kg 투여에 의해 현저히 억제되었다. 즉, LT4, 팔미지황환 물 추출물 500, 250 및 125 mg/kg 투여군에서는 PTU 대조군에 비해 유의한 갑상샘 전체 두께의 감소와 평균 갑상샘 여포 직경의 현저한 증가를 각각 나타내었다($P<0.01$; Table 6, Fig. 5).

9. 고환의 조직병리학적 관찰

PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 현저한 정세관 위축 및 정세관내 정자 형성이 현저히 억제되어 정상 대조군에 비해 유의한 정세관 평균 직경 및 성숙 정자를 나타내는 stage I~II 정세관 비율의 감소가 인정되었으나($P<0.01$), PTU 투여에 의한 고환의 위축 및 정세관내 정자 형성 억제 소견이 500, 250 및 125 mg/kg의 팔미지황환 물 추출물 투여에 의해 현저히 억제되었다. 즉, 모든 세 용량의 팔미지황환 물 추출물 투여군에서는 PTU 대조군에 비해 유의한 정세관 평균 직경($P<0.01$) 및 성숙 정자를 나타내는 stage I~II 정세관 비율의 증가를 투여 용량 의존적으로 나타내었다. 한편 LT4 투여군에서는 PTU 대조군에 비해서도 유의한 평균 정세관 직경의 감소($P<0.01$)와 함께 유의한 stage I~II 정세관 비율의 감소($P<0.05$)를 각각 나타내었다(Table 6, Fig. 6).

Table 6. Histomorphometry after LT4 and PMJHW Treatment in PTU-Treated Rats

Group	Control		Reference		PMJHW treated	
	Intact	PTU	LT4 0.5 mg/kg	500 mg/kg	250 mg/kg	125 mg/kg
Thyroid gland						
Total thickness (μ m)	1,286.52 $\pm$ 173.26	2,418.41 $\pm$ 295.34*	1,377.85 $\pm$ 187.34 [†]	1,572.43 $\pm$ 275.02 ^{††}	1,712.94 $\pm$ 279.59 [†]	1,942.99 $\pm$ 260.21 [†]
Follicle diameter (μ m)	121.78 $\pm$ 21.52	41.89 $\pm$ 11.63*	103.03 $\pm$ 19.82 ^{††}	80.19 $\pm$ 11.73 [†]	70.56 $\pm$ 15.69 [†]	56.39 $\pm$ 10.99*
Testis						
SET diameter (μ m)	336.01 $\pm$ 41.50	197.43 $\pm$ 14.23	172.81 $\pm$ 16.06 ^{**}	286.71 $\pm$ 26.33 ^{**}	261.90 $\pm$ 17.77 ^{**}	240.03 $\pm$ 7.83 ^{**}
Stage I~II SET (%)	74.50 $\pm$ 11.84	24.00 $\pm$ 6.63*	14.50 $\pm$ 8.19 [§]	60.75 $\pm$ 8.50 [†]	50.25 $\pm$ 8.68 [†]	40.63 $\pm$ 7.52 [†]
Epididymis						
Total diameter (μ m)	4,168.81 $\pm$ 489.78	2,976.29 $\pm$ 503.54	3,813.50 $\pm$ 411.21 ^{**}	4,129.84 $\pm$ 200.50 ^{**}	3,902.98 $\pm$ 172.39 ^{**}	3,451.09 $\pm$ 150.37 ^{††}
AO tubules (%)	8.13 $\pm$ 3.40	43.75 $\pm$ 8.75	58.38 $\pm$ 5.50 ^{**}	14.63 $\pm$ 2.83 ^{**}	21.00 $\pm$ 2.88 ^{**}	31.50 $\pm$ 6.30 ^{**}
Prostate						
Epithelial thickness (μ m)	52.79 $\pm$ 12.51	14.52 $\pm$ 2.16	9.06 $\pm$ 2.32 ^{**}	41.74 $\pm$ 4.16 ^{**}	31.02 $\pm$ 1.58 ^{**}	22.69 $\pm$ 6.32 ^{**}
Atrophic tubule (%)	7.88 $\pm$ 4.29	66.63 $\pm$ 12.92	82.13 $\pm$ 9.73 ^{††}	24.50 $\pm$ 4.34 ^{**}	37.00 $\pm$ 4.57 ^{**}	50.13 $\pm$ 7.08 ^{**}

Values are presents as mean $\pm$ standard deviation.

LT4: levothyroxine, PMJHW: Palmijihwang-whan aqueous extracts (yield=17.90%), PTU: propylthiouracil (6-n-propyl-2-thiouracil), SET: semni-ferous tubule, AO: aspermatogonia/oligospermatogonia.

* $P<0.01$ and [†] $P<0.05$ as compared with intact control by least-significant differences (LSD) test. [†] $P<0.01$ and [§] $P<0.05$ as compared with PTU control by LSD test. ^{||} $P<0.01$ and ^{||} $P<0.05$ as compared with intact control by Mann-Whitney U (MW) test. ^{**} $P<0.01$ and ^{††} $P<0.05$ as compared with PTU control by MW test.

Fig. 5. Representative thyroid gland histological images, taken from intact or PTU-treated rats. Note that marked enlargement of the thyroid glands related to hyperplasia of follicular cells were demonstrated in PTU control rats at histopathological inspections with decreases of follicular colloid contents and mean diameters. However, these PTU-induced thyroid histopathological changes related to hypothyroidism were dramatically decreased by treatment of LT4, PMJHW extracts 500, 250, and 125 mg/kg, in this experiment (A~F: H&E; scale bars=400 μ m). (A) Intact control, (B) PTU control, (C) LT4 0.5 mg/kg treated rats, (D) PMJHW 500 mg/kg treated rats, (E) PMJHW 250 mg/kg treated rats, (F) PMJHW 125 mg/kg treated rats, PTU: propylthiouracil (6-n-propyl-2-thiouracil), LT4: levothyroxine, PMJHW: Palmijihwang-whan aqueous extracts (yield=17.90%).

10. 부고환의 조직병리학적 관찰

PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 현저한 부고환 두부의 위축과 도관내 정자수의 감소가 인정되어, 정상 대조군에 비해 유의한 부고환 두부의 평균 직경의 감소와 함께 정자 감소증을 나타내는 부고환 도관 비율의 증가가 인정되었으나($P<0.01$), 이러한 PTU 투여에 의한 부고환 위축 및 도관 내 정자 감소 소견이 모든 세 용량의 팔미지황환 물 추출물 투여에 의해 현저히 억제되었다. 즉 500, 250 및 125 mg/kg의 팔미지황환 물 추출물 투여군에서는 PTU 대조군에 비해 유의한 부고환 두부 평균 직경의 증가($P<0.01$ 또는 $P<0.05$)가 정자 감소증을 나타내는 부고환 도관 비율의 유의한 감소와 함께 인정되었다($P<0.01$). 한편 LT4 투

Fig. 6. Representative testis histological images, taken from intact or PTU-treated rats. Atrophic changes of seminiferous tubules and decreases of stage I~II seminiferous tubules which have matured spermatid were detected in PTU control rats at histopathological inspections. However, these PTU-induced testis changes were dramatically and dose-dependently decreased by treatment of PMJHW 500, 250, and 125 mg/kg, respectively. It also demonstrated that treatment of LT4 aggravated the PTU-induced testis histopathological atrophic changes, in this our experiment (A~F: H&E; scale bars=400 μ m). (A) Intact control, (B) PTU control, (C) LT4 0.5 mg/kg treated rats, (D) PMJHW 500 mg/kg treated rats, (E) PMJHW 250 mg/kg treated rats, (F) PMJHW 125 mg/kg treated rats, PTU: propylthiouracil (6-n-propyl-2-thiouracil), PMJHW: Palmijihwang-whan aqueous extracts (yield=17.90%), LT4: levothyroxine.

여군에서는 PTU 대조군에 비해서도 유의한 정자 감소증을 나타내는 부고환 도관 비율의 증가가 인정되었으나($P<0.01$), 부고환 두부의 평균 직경은 PTU 대조군에 비해 유의한 증가를($P<0.01$) 나타내었다(Table 6, Fig. 7).

11. 전립샘의 조직병리학적 관찰

PTU 대조군에서는 정상 대조군에 비해 현저한 전립샘 도관의 위축이 인정되어 정상 대조군에 비해 유의한 전립샘 도관 상피의 평균 두께의 감소와 함께 위축 소견을 나타내는 전립샘 도관 비율의 증가가 각각 인정되었으나($P<0.01$), PTU 투여에 의한 전립샘 위축 소견이 500, 250 및 125 mg/kg의 팔미지황환 물 추출물 투여에 의해 현저히 억

Fig. 7. Representative epididymis histological images, taken from intact or PTU-treated rats. Marked atrophic changes of epididymis head regions and increases of a/oligospermatogonia tubules were detected in PTU control rats at histopathological inspections. However, these PTU-induced epididymal changes were dramatically and dose-dependently inhibited by treatment of all three different dosages of PMJHW 500, 250, and 125 mg/kg. Although treatment of LT4 inhibited the atrophic changes of epididymis heads, but aggravated PTU-induced a/oligospermatogonia in the epididymal tubules in the present study (A~F: H&E; scale bars=400 μ m). (A) Intact control, (B) PTU control, (C) LT4 0.5 mg/kg treated rats, (D) PMJHW 500 mg/kg treated rats, (E) PMJHW 250 mg/kg treated rats, (F) PMJHW 125 mg/kg treated rats. PTU: propylthiouracil (6-n-propyl-2-thiouracil), PMJHW: Palmijihwang-whan aqueous extracts (yield=17.90%), LT4: levothyroxine.

제되었다. 즉, 모든 세 용량의 팔미지황환 물 추출물 투여군에서는 PTU 대조군에 비해 투여 용량 의존적인 유의한 전립샘 도관 상피의 평균 두께의 증가가 위축 도관 비율의 감소와 함께 각각 인정되었다($P<0.01$). 한편 LT4 투여군에서는 PTU 대조군에 비해서도 유의한 전립샘 도관 상피의 평균 두께의 감소 및 위축 도관 비율의 증가가 각각 인정되었다($P<0.01$ 또는 $P<0.05$; Table 6, Fig. 8).

Fig. 8. Representative prostate histological images, taken from intact or PTU-treated rats. Note that marked atrophic changes of prostate tubules and related loss of luminal contents were detected in PTU control rats at histopathological inspections. However, these PTU-induced prostate tubular atrophic changes related to hypothyroidism were dramatically and dose-dependently inhibited by treatment of PMJHW 500, 250 and 125 mg/kg, respectively. On the contrary, treatment of LT4 aggravated PTU-induced prostate tubular atrophic changes, in this our experiment (A~F: H&E; scale bars=400 μ m). (A) Intact control, (B) PTU control, (C) LT4 0.5 mg/kg treated rats, (D) PMJHW 500 mg/kg treated rats, (E) PMJHW 250 mg/kg treated rats, (F) PMJHW 125 mg/kg treated rats. PTU: propylthiouracil (6-n-propyl-2-thiouracil), PMJHW: Palmijihwang-whan aqueous extracts (yield=17.90%), LT4: levothyroxine.

고 찰

갑상샘기능저하증은 자연형 질환으로 인식이 어려우며 증상의 발현 정도는 원인에 상관없이 갑상샘호르몬의 결핍 정도에 따라 결정된다. 임상증상은 질병의 진행 정도에 따라 매우 다양하나 피로 및 쇠약감, 추위에 민감, 체중 증가, 무기력, 기억력 감퇴, 식욕감퇴, 근육통, 관절통 및 발한 감소가 전형적으로 관찰된다⁴⁾.

갑상샘기능저하증의 치료는 부족한 갑상샘호르몬을 외부에서 공급하여 보충해주는 것으로 주로 LT4를 사용하나, 허

혈성 심질환, 의인성 갑상샘기능항진증 등이 유발되어⁸⁾ 최근 부작용이 적고 강력한 항산화 효과를 나타내는 천연물 유래의 갑상샘기능저하증 치료제의 개발이 주목받고 있다^{10,11)}.

八味地黄丸은 한대 Zhang (張仲景)¹³⁾의 『金匱要略』에서 처음 수록된 처방으로, 현재 한의학에서 대표적인 補腎, 補陰劑로 사용되고 있다¹⁴⁾. 한편 한의학적으로 팔미지황환은 갑상샘기능저하증에 전통적으로 사용되어 왔으며¹⁾, 여덟 가지 구성 약제인 熟地黄¹⁶⁾, 山藥¹⁷⁾, 山茱萸¹⁸⁾, 茯苓¹⁹⁾, 澤瀉²⁰⁾, 牡丹皮²¹⁾, 肉桂²²⁾ 및 附子²³⁾의 항산화 활성이 이미 잘 알려져 있으나 갑상샘 기능 이상 및 관련 생식기 손상에 대한 실험적 연구는 아직까지 알려져 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 팔미지황환의 경구 투여가 PTU로 유발된 rat 갑상샘기능저하증 및 관련 생식기 손상에 미치는 영향을 평가하기 위하여, 500, 250 및 125 mg/kg의 팔미지황환 물 추출물을 PTU 처리시작 2주 전부터 6주간 투여하고 체중, 갑상샘, 전립샘, 부고환 및 고환 중량, 혈중 갑상샘 및 성 호르몬 함량, 고환 항산화 방어 system의 변화를 갑상샘, 고환, 전립샘 및 부고환의 조직병리학적 변화와 함께 관찰하였다.

28일간의 연속적인 PTU 10 mg/kg의 피하 투여에 의해 현저한 체중 감소, 갑상샘 중량의 증가, 고환, 전립샘 및 부고환 중량의 감소, 혈청 중 T_3 , T_4 함량의 감소와 TSH 함량의 증가, 혈청 중 testosterone 및 DHT 함량의 감소와 FSH 함량의 증가, 고환의 항산화 방어 system의 장애가 인정되었으며, 조직병리학적으로 현저한 갑상샘 여포세포의 증생에 의한 비대 소견, 부고환 위축과 정자 감소증을 나타내는 부고환 도관의 수적 증가, 고환 정세관의 위축 및 성숙 정자를 함유한 stage I~II 정세관 비율의 감소, 전립샘 도관의 현저한 위축이 인정되었다. 모든 세 용량의 팔미지황환 물 추출물 투여에 의해 투여 용량 의존적으로 PTU 유발 갑상샘기능저하증 소견이 억제되었으며, 관련 고환 항산화 방어 system의 변화 역시 500, 250 및 125 mg/kg의 팔미지황환 물 추출물 투여에 의해 매우 효과적으로 조절되는 것으로 관찰되었다. 한편 LT4 투여에 의해서도 갑상샘기능저하증은 현저히 억제되었으나, 고환, 전립샘 및 부고환, 즉 생식기의 손상은 더욱 악화되는 것으로 관찰되었고 특히 고환 내 항산화 방어 system의 현저한 악화가 나타났다.

PTU는 항갑상샘제제로 정상 랫트에서 TSH 증가, T_3 및

T_4 의 절대적 감소를 유발하여 비활동성 갑상샘 종대(simple goiter)를 유발하며^{10,11)} 또한 10 mg/kg 이상의 PTU 투여가 현저한 체중의 감소를 유발시키는 것으로 알려져 있다²⁴⁾. 본 실험 결과에서도 PTU 투여 3주 후부터 유의한 체중의 감소가 나타났는데, 이러한 PTU 유발 체중의 감소가 LT4, 팔미지황환 물 추출물 250 및 500 mg/kg 투여에 의해 유의하게 되어($P < 0.01$ 또는 $P < 0.05$), 250 mg/kg 이상의 팔미지황환 물 추출물은 PTU 투여 갑상샘기능저하증 시 유발되는 체중의 감소를 매우 효과적으로 억제하는 것으로 판단된다.

갑상샘호르몬 검사 중 PTU 투여군에서 현저한 TSH의 증가와 함께 T_3 및 T_4 의 절대적 감소가 초래되었다. 한편 LT4 투여에 의해 TSH의 함량 감소와 T_4 함량의 증가가 인정되었으나 팔미지황환 물 추출물 125, 250 및 500 mg/kg 투여군에서는 투여 용량 의존적인 TSH 함량의 감소와 T_4 함량의 증가가 각각 인정되었고, T_3 함량 역시 유의하게 증가되었다. 따라서 팔미지황환 물 추출물은 LT4와는 달리 단순히 감소된 T_4 함량의 보충뿐만 아니라 항산화 방어 시스템의 활성을 통해 갑상샘 여포세포의 변화를 억제하여 갑상샘기능저하증에 유효한 효과를 나타내는 것으로 판단되나 정확한 기전은 알 수 없다. 따라서 다방면의 다양한 기전 연구가 금후 수행되어야 할 것으로 판단된다.

갑상샘호르몬 함량과 남성 불임은 특히 밀접한 관련이 있어 주로 고환 내 항산화 방어 system의 변화가 이에 관여하는 것으로 알려져 있다³³⁾. 고환 역시 갑상샘호르몬에 의해 영향을 받는 대표적인 장기로서 갑상샘기능저하증 시 현저한 위축과 함께 testosterone 및 DHT의 감소, FSH의 함량 증가가 수반된다^{6,7)}. 본 연구에서 정자 형성의 변화 유무를 관찰하기 위해 정세관 관강 내 성숙한 정자를 함유한 stage I~II 정세관의 비율을 측정된 결과 고환, 부고환 및 전립샘 중량 감소, 남성 호르몬의 함량 감소, 부고환 위축과 정자 감소증을 나타내는 부고환 도관의 수적 증가, 고환 정세관의 위축 및 성숙 정자를 함유한 stage I~II 정세관 비율의 감소, 전립샘 도관의 현저한 위축이 조직병리학적으로 인정되었다. 한편 PTU 유발 생식기 장애가 팔미지황환 물 추출물 125, 250 및 500 mg/kg 투여에 의해 투여 용량 의존적으로 현저히 억제되었으며, 특히 고환 내 항산화 방어 system 변화, 고환내 SOD 및 CAT 활성 감소에 의한 H_2O_2 함량의 증가를 현저히 억제하였다. 따라서 125 mg/kg 이상

의 팔미지황환 물 추출물은 고환내 항산화 효과에 의해 PTU 유발 갑상샘기능저하증 시 초래되는 생식기 장애를 억제하는 것으로 판단된다. LT4 투여군에서는 항산화 방어 system과 관련해 생식기 장애를 유발하는 것으로 확인되었다.

이상에서 125, 250 및 500 mg/kg의 팔미지황환 물 추출물의 경구투여는 PTU 유발 갑상샘기능저하증 시 초래되는 체중 감소, 갑상샘 종대, 갑상샘 및 성 호르몬 감소, 생식기 손상을 용량 의존적으로 억제하였고, PTU 유발 갑상샘기능저하증으로 초래되는 고환 항산화 방어 system의 변화 역시 용량 의존적으로 억제하였다. 따라서 항산화 방어 system의 조절을 통해 갑상샘기능저하증 및 관련 생식기 손상에 매우 유효한 효과를 나타낼 것으로 기대되나 금후 명확한 기전 연구가 수행되어야 할 것으로 판단된다. 한편 LT4 투여로 갑상샘기능저하증은 현저히 억제되었으나 고환, 전립샘 및 부고환 등의 생식기의 손상은 더욱 악화되는 것으로 관찰되었고 특히 고환내 항산화 방어 system의 현저한 악화가 인정되었다.

결 론

팔미지황환의 경구 투여가 PTU로 유발된 rat 갑상샘기능저하증 및 관련 생식기 손상에 미치는 영향을 평가하기 위하여 갑상샘기능저하증 치료제로 사용되고 있는 LT4 투여군과 비교한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. PTU 투여군에서는 갑상샘기능저하증 및 관련 생식기 손상과 관련하여 체중 감소, 갑상샘 중량 증가, 고환과 전립샘 및 부고환 중량의 감소, 혈청 중 T_3 , T_4 함량의 감소, TSH 함량 증가, 혈청 중 testosterone 및 DHT 함량의 감소와 FSH 함량의 증가, 고환의 항산화 방어 system 장애, 갑상샘 여포세포 비대 소견, 부고환 위축과 정자 감소증을 나타내는 부고환 도관의 수적 증가, 고환 정세관의 위축 및 성숙 정자를 함유한 stage I~II 정세관 비율의 감소, 전립샘 도관의 현저한 위축이 나타났다.

2. 팔미지황환 물 추출물 500, 250 및 125 mg/kg 투여에 의해 투여 용량 의존적으로 PTU 유발 갑상샘기능저하증 소견 및 PTU 유발 생식기 장애가 억제되었다.

3. LT4 투여군에서 갑상샘기능저하증은 현저히 억제되었으나 생식기의 손상은 더욱 악화되는 것으로 관찰되었고,

특히 고환내 항산화 방어 system의 현저한 악화가 인정되었다.

이상의 결과로 갑상샘기능저하증 치료제로 사용되는 LT4가 고환내 항산화 방어 system의 악화, 생식기 손상을 유발하는 것과 달리 팔미지황환 물 추출물은 항산화 방어 system의 조절을 통해 갑상샘기능저하증 및 관련 생식기 손상에 매우 유효한 효과를 나타내는 것으로 확인되었으며, 본 연구를 통해 추후 갑상샘기능저하증에 대한 팔미지황환 효능의 명확한 기전 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

감사의 글

이 논문은 2014년도 대구한의대학교 기린연구비 지원에 의한 것임(2014-901-30).

References

1. Doo J. DongEuNephrology. Seoul : Oriental Medicine Research Office. 1993 : 1059-65.
2. Kim M. Treatment on thyroid diseases in Hyungsang medicine. J Hyungsang Orient Med Clin. 2008 ; 9(1) : 351-92.
3. Lee J. Thyroid diseases for clinicians. Seoul : Ryumongak. 1994 : 125-6.
4. Subudhi U, Das K, Paital B, Bhanja S, Chainy GB. Supplementation of curcumin and vitamin E enhances oxidative stress, but restores hepatic histoarchitecture in hypothyroid rats. Life Sci. 2009 ; 84(11) : 372-9.
5. Choudhury S, Chainy GB, Mishro MM. Experimentally induced hypo- and hyper-thyroidism influence on the antioxidant defence system in adult rat testis. Andrologia. 2003 ; 35(3) : 131-40.
6. Sahoo DK, Roy A, Bhanja S, Chainy GB. Hypothyroidism impairs antioxidant defence system and testicular physiology during development and maturation. Gen Comp Endocrinol. 2008 ; 156(1) : 63-70.
7. Sahoo DK, Roy A, Chainy GB. Protective effects of vitamin E and curcumin on L-thyroxine-induced rat testicular oxidative stress. Chem Biol Interact. 2008 ; 176(2) : 121-8.
8. Devdhar M, Ousman YH, Burman KD. Hypothyroidism. Endocrinol Metab Clin North. 2007 ; 36(3) : 595-615.
9. Bhanja S, Jena S. Modulation of antioxidant enzyme expression by PTU-induced hypothyroidism in cerebral cortex of postnatal rat brain. Neurochem Res. 2013 ; 38 : 42-9.
10. Ku SK, Lee YJ. Effects of Ionicerae flos on the 6-n-propyl-2-thiouracil (PTU)-induced rat hypothyroidism. Korean J Orient Physiol Pathol. 2010 ; 24(4) : 630-7.
11. Kim SM, Ku SK, Cho SY, Park SJ. Effects of Bupleuri Radix on

- the rat hypothyroidism induced by PTU (6-n-propyl-2-thiouracil). Korean J Orient Physiol Pathol. 2012 ; 26(5) : 714-23.
12. Moffett SX, Giannopoulos PF, James TD, Martin JV. Effects of acute microinjections of thyroid hormone to the preoptic region of hypothyroid adult male rats on sleep, motor activity and body temperature. Brain Res. 2013 ; 1516 : 55-65.
13. Zhang ZJ, Gumgweyolak. Beijing : Inminwisaeng publisher. 1989 : 157.
14. Oh RS, Kim YH, Ahn BG. Study on the effects of Parnijiwhanghan and Yukmijiwhanghan. Korean J Orient Med Pathol. 1996 ; 10(2) : 12-7.
15. Je HW, Jang BY. Gumguesingiwhan. Taiwan : Chinese Medicine Publisher. 2005 : 22-5.
16. Liu CL, Cheng L, Ko CH, Wong CW, Cheng WH, Cheung DW, et al. Bioassay-guided isolation of anti-inflammatory components from the root of *Rehmannia glutinosa* and its underlying mechanism via inhibition of iNOS pathway. J Ethnopharmacol. 2012 ; 143(3) : 867-75.
17. Hou WC, Hsu FL, Lee MH. Yam (*Dioscorea batatas*) tuber mucilage exhibited antioxidant activities in vitro. Planta Med. 2002 ; 68(12) : 1072-6.
18. Lee NH, Seo CS, Lee HY, Jung DY, Lee JK, Lee JA, et al. Hepatoprotective and antioxidative activities of *Cornus officinalis* against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. Evid Based Complement Alternat Med. 2012 ; 2012 : 804924.
19. Park YH, Son IH, Kim B, Lyu YS, Moon HI, Kang HW. Poria cocos water extract (PCW) protects PC12 neuronal cells from beta-amyloid-induced cell death through antioxidant and antiapoptotic functions. Pharmazie. 2009 ; 64(11) : 760-4.
20. Han CW, Kang ES, Ham SA, Woo HJ, Lee JH, Seo HG. Antioxidative effects of *Alisma orientale* extract in palmitate-induced cellular injury. Pharm Biol. 2012 ; 50(10) : 1281-8.
21. Ding HY, Chou TH, Lin RJ, Chan LP, Wang GH, Liang CH. Antioxidant and antimelanogenic behaviors of *Paeonia suffruticosa*. Plant Foods Hum Nutr. 2011 ; 66(3) : 275-84.
22. Yang CH, Li RX, Chuang LY. Antioxidant activity of various parts of *Cinnamomum cassia* extracted with different extraction methods. Molecules. 2012 ; 17(6) : 7294-304.
23. Yamada K, Suzuki E, Nakaki T, Watanabe S, Kanba S. Aconiti tuber increases plasma nitrite and nitrate levels in humans. J Ethnopharmacol. 2005 ; 96(1) : 165-9.
24. O'Connor JC, Frame SR, Ladics GS. Evaluation of a 15-day screening assay using intact male rats for identifying steroid biosynthesis inhibitors and thyroid modulators. Toxicol Sci. 2002 ; 69(1) : 79-91.
25. Kavutcu M, Canbolat O, Oztürk S, Olcay E, Ulutepe S, Ekinci C, et al. Reduced enzymatic antioxidant defense mechanism in kidney tissues from gentamicin-treated guinea pigs: effects of vitamins E and C. Nephron. 1996 ; 72(2) : 269-74.
26. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951 ; 193(1) : 265-75.
27. Jamall IS, Smith JC. Effects of cadmium on glutathione peroxidase, superoxidase dismutase and lipid peroxidation in the rat heart: a possible mechanism of cadmium cardiotoxicity. Toxicol Appl Pharmacol. 1985 ; 80(1) : 33-42.
28. Pick E, Keisari Y. Superoxide anion and hydrogen peroxide production by chemically elicited peritoneal macrophages: induction by multiple nonphagocytic stimuli. Cell Immunol. 1981 ; 59(2) : 301-8.
29. Aebi H. Catalase. In: Bergmeyer HU, editor. Methods in enzymatic analysis. New York : Academic Press Inc. 1974 : 673-86.
30. Nishikimi M, Rao NA, Yagi K. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced PMS and molecular oxygen. Biochem Biophys Res Comm. 1972 ; 46(2) : 849-54.
31. Kakkar P, Das B, Viswanathan PN. Modified spectrophotometric assay of SOD. Indian J Biochem Biophys. 1984 ; 21(2) : 130-2.
32. Levene A. Pathological factors influencing excision of tumours in the head and neck. Part I. Clin Otolary. 1981 ; 6(2) : 145-51.
33. Mutvei A, Nelson BD. The response of individual polypeptides of the mammalian respiratory chain to thyroid hormone. Arch Biochem Biophys. 1989 ; 268(1) : 215-20.