



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

碩士學位論文

Simvastatin 처리한 고콜레스테롤혈증
흰쥐에 있어서 Coenzyme Q10, 녹차가 체내
지질수준, 혈소판응집, TBARS 생성 및
적혈구막 Na leak에 미치는 영향



濟州大學校 教育大學院

營養教育專攻

金 良 姬

2007 年 8 月

Simvastatin 처리한 고콜레스테롤혈증
흰쥐에 있어서 Coenzyme Q10, 녹차가 체내
지질수준, 혈소판응집, TBARS 생성 및
적혈구막 Na leak에 미치는 영향

指導教授 姜晶淑

金良姬

이 論文을 教育學 碩士學位 論文으로 提出함.

2007 年 月

金良姬의 教育學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長 _____ 印

委 員 _____ 印

委 員 _____ 印

濟州大學校 教育大學院

2007 年 8 月

Effects of Coenzyme Q₁₀, Green Tea on Plasma
and Liver Lipids, Platelet Aggregation, TBARS
and Erythrocyte Na Leak in Simvastatin treated
Hypercholesterolemic Rats

Yang-Hee Kim

(Supervised by professor Jung-Sook Kang)

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MASTER OF
EDUCATION

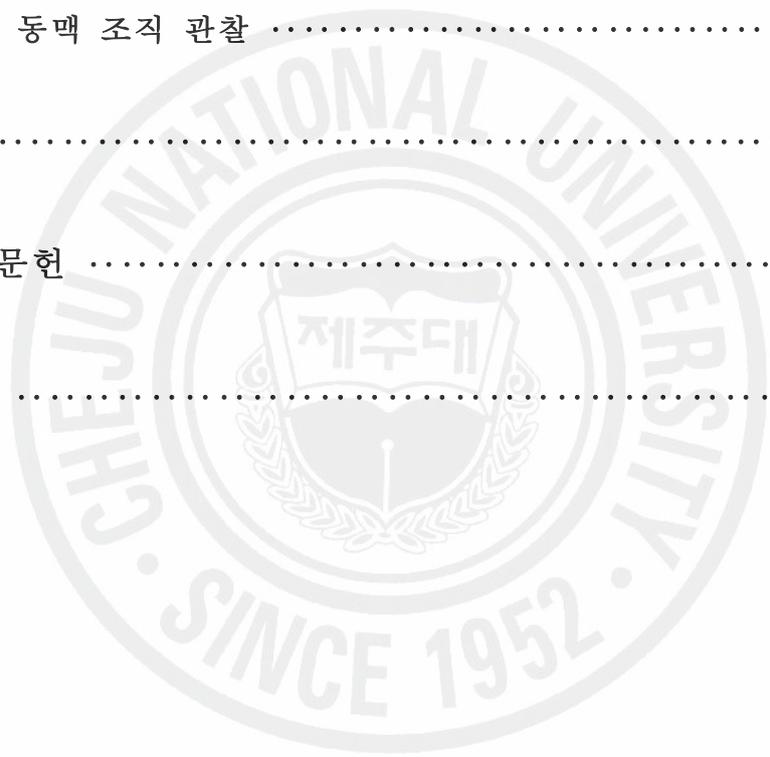
2007. 8

DEPARTMENT OF NUTRITION EDUCATION
GRADUATE SCHOOL OF EDUCATION
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

목 차

| | |
|--|-----|
| Abstract | iii |
| Lists of Table | v |
| Lists of Figure | vi |
| | |
| I. 서론 | 1 |
| | |
| II. 실험재료 및 방법 | |
| 1. 실험재료 | 9 |
| 2. 실험방법 | 11 |
| 1) 시료채취 | |
| 2) 시료분석 | |
| (1) 혈장 지질 농도분석 | |
| (2) 간 지질 농도 분석 | |
| (3) 혈소판 응집 | |
| (4) 적혈구 Na leak 측정 | |
| (5) 적혈구 용혈 | |
| (6) 혈장 TBARS 측정 | |
| (7) 간 조직 및 동맥조직 표본 염색 | |
| 2. 통계처리방법 | 17 |
| | |
| III. 실험결과 및 고찰 | 18 |
| 1. 체중증가량, 식이효율 및 간/체중 비 | 18 |
| 2. 혈장의 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 및 중성지방 | 21 |
| 3. 간의 총 콜레스테롤 및 중성지방 | 25 |

| | |
|-----------------------------------|----|
| 4. 혈소판 응집 | 27 |
| 5. Hematocrit와 적혈구 용혈 | 29 |
| 6. Intracellular Na와 Na-leak..... | 32 |
| 7. 혈장 TBARS의 수준 | 34 |
| 8. 간 및 동맥 조직 관찰 | 37 |
| IV. 결론..... | 41 |
| V. 참고문헌 | 43 |
| VI. 초록 | 54 |



ABSTRACT

Effects of Coenzyme Q₁₀, Green Tea on Plasma and Liver Lipids, Platelet Aggregation, TBARS and Erythrocyte Na Leak in Simvastatin treated Hypercholesterolemic Rats

Yang-Hee Kim

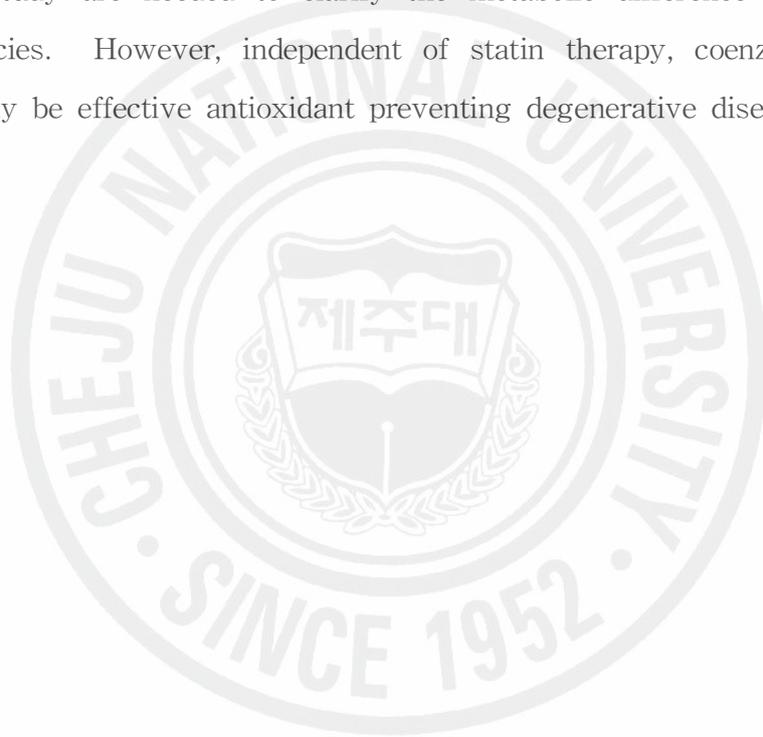
Department of Nutrition Education, Graduate School of Education
Cheju National University

HMG CoA reductase inhibitor, statin is recognized as one of the most popular drug lowering cholesterol in human. Statin therapy has been reported to deplete coenzyme Q₁₀ which shares cholesterol biosynthetic pathway. Reduced form of coenzyme Q₁₀, ubiquinol is radical scavenging so that coenzyme Q₁₀ depletion leads to loss of antioxidant capacity. We proposed to test whether dietary supplementation of coenzyme Q₁₀ or green tea can compensate the deplete state of antioxidant by statin therapy.

We divided four groups of 10 Sprague Dawley rats each and fed 0.5% cholesterol based control diet, plus 30 mg/kg simvastatin diet, plus 15 mg/kg BW coenzyme Q₁₀ or 5% green tea powder for 4weeks. We examined plasma and liver lipid profiles and oxidation related parameters such as platelet aggregation, erythrocyte Na leak, hemolysis and TBARS production. Food efficiency ratio was significantly higher in the group plus green tea compared with simvastatin group ($p < 0.05$). Plasma total and LDL cholesterol were somewhat increased in statin group compared with control and coenzyme Q₁₀ or green tea did not affect on these levels. Plasma triglyceride in simvastatin group was decreased and showed a significant difference ($p < 0.05$) compared with the group plus green tea. Liver total cholesterol were not different between the control and simvastatin group, but the group plus green tea was significantly decreased compared with other groups ($p < 0.05$). Liver triglyceride in simvastatin

group was decreased compared with the control and the group plus green tea was significantly decreased compared with the control ($p < 0.05$). Platelet aggregation of both the initial slope and the maximum was not significantly different, but the group plus green tea was lower in initial slope and higher in the maximum compared with other groups. Hemolysis was increased in all groups with simvastatin compared with control, but not statistically significant.

In present study, even high dose of statin did not show cholesterol lowering effect, and depletion of coenzyme Q₁₀ after statin treatment may not occur in rats. More study are needed to clarify the metabolic difference of cholesterol between species. However, independent of statin therapy, coenzyme Q₁₀ and green tea may be effective antioxidant preventing degenerative diseases.



Lists of Table

| | |
|--|----|
| Table 1. Composition of experimental diets | 10 |
| Table 2. Supplementation effects of simvastatin, coenzyme Q ₁₀ , green tea to cholesterol based diet on growth rate and food intake..... | 20 |
| Table 3. Supplementation effects of simvastatin, coenzyme Q ₁₀ , green tea to cholesterol based diet on the plasma levels of cholesterol and triglyceride | 24 |
| Table 4. Supplementation effects of simvastatin, coenzyme Q ₁₀ , green tea to cholesterol based diet on the liver levels of cholesterol and triglyceride..... | 26 |
| Table 5. Supplementation effects of simvastatin, coenzyme Q ₁₀ , green tea to cholesterol based diet on the platelet aggregation | 28 |
| Table 6. Supplementation effects of simvastatin, coenzyme Q ₁₀ , green tea to Cholesterol based diet on the hematocrit and erythrocyte hemolysis | 31 |
| Table 7. Supplementation effects of simvastatin, coenzyme Q ₁₀ , green tea to cholesterol based diet on the erythrocyte Na efflux..... | 33 |
| Table 8. Supplementation effects of simvastatin, coenzyme Q ₁₀ , green tea to cholesterol based diet on the production of TBARS in plasma | 36 |

Lists of Figure

| | |
|---|----|
| Figure 1. Pathways of cholesterol and coenzyme Q ₁₀ synthesis..... | 2 |
| Figure 2. Structure of coenzyme Q ₁₀ | 2 |
| Figure 3. Model of the mechanism of AAPH induced Na-leak in red blood cell..... | 4 |
| Figure 4. Structures of catechins..... | 7 |
| Figure 5. Analytical scheme of total cholesterol and triglyceride in the liver | 13 |
| Figure 6.. Microscopic appearance of liver tissue (×400) | 39 |
| Figure 7. Microscopic appearance of aorta tissue (×400)..... | 40 |

I. 서 론

오늘날 경제성장으로 인한 생활수준의 향상과 의학의 발달로 인간의 평균수명은 계속해서 증가하고 있으나, 뇌혈관 질환·고혈압 등의 순환기계 질환, 암 그리고 노화 관련 질환 등의 발생률 또한 크게 높아지고 있어 건강한 상태로 장수하는 것에 대한 관심이 집중되고 있다.¹⁾ 암에 이어서 주요 사망원인이 되고 있는 순환기계 질환의 주요 원인은 동맥경화증이며, 동맥경화증은 혈액내의 콜레스테롤 수준이 높은 경우 발병률이 높음은 잘 알려진 사실이다. 혈중 콜레스테롤 수치와 관상동맥 질환과의 양의 상관관계는 미국의 프래밍햄 연구 및 이후 30년간의 추적 검사로 알려진바 있다.²⁾ 효과적인 지질 저하 치료는 관상동맥 질환 및 죽상 동맥 경화증의 예방에 중요한 역할을 한다. 체내의 총 콜레스테롤의 약 1/3은 음식을 통해서, 나머지 2/3은 주로 간과 장에서 합성된다.³⁾ 따라서 생체 내에서 생산되는 콜레스테롤의 양을 감소시키면 혈장 내의 콜레스테롤 수치를 낮출 수 있다는 결론에 도달할 수 있다.

현재 이용중인 지질 저하제 가운데 statin계 약물은 총 콜레스테롤 및 low density lipoprotein(LDL:저비중 지단백) 콜레스테롤 수치를 낮추는 데 가장 효과적이라고 알려져 있다.⁴⁾ HMG CoA(3-hydroxy-3-methyl glutaryl Coenzyme A) reductase는 체내 콜레스테롤 생합성에서 속도 조절단계에 작용하는 효소로 HMG CoA를 mevalonate로 전환한다. Statin계 약물은 이 HMG CoA reductase의 활성을 저해함으로써 체내의 콜레스테롤 신생 합성을 억제하여 혈관 속의 콜레스테롤 수치를 효과적으로 감소시킨다.⁵⁾ 임상연구 결과 statin계 약물이 내피세포 기능을 개선하여 심혈관 질환의 발생률을 낮추는 것으로 알려져 있으며 이는 혈중 콜레스테롤을 낮추는 효과에 의존해서만 나타나는 것이 아니라 statin계 약물의 내피세포 기능 개선, 항혈전 작용, 죽상동맥경화반 안정화, 항염증작용과 같은 여러 다양한 다면발현성 효과에 의한 것이다.⁶⁾ 이런 statin계 약물의 내피세포 기능개선을 비롯한 다양한 효과 때문에 임상적으로 심혈관질환에서 statin계 약물의 사용이 증가하고 있다. Statin계 약물의 하나인 simvastatin은 강력한 콜레스테롤 합성 저해제로써 혈중 LDL 콜레스테롤과 중성 지방치를 낮추면서 HDL(고비중 지단백) 콜레스테롤치를 올리는데 효과적이라고 제시된바 있다.⁷⁾ 그러나 Statin계 약물 투여로 인한 콜레스테롤 합성 저해는 생성과정을 공유하는 isoprenoids의 합성이 저해됨으로써 isoprenoid를 구성성분으로 하고 있는 coenzyme Q₁₀의 합성에 영향을 준다 <Figure. 1, 2> .

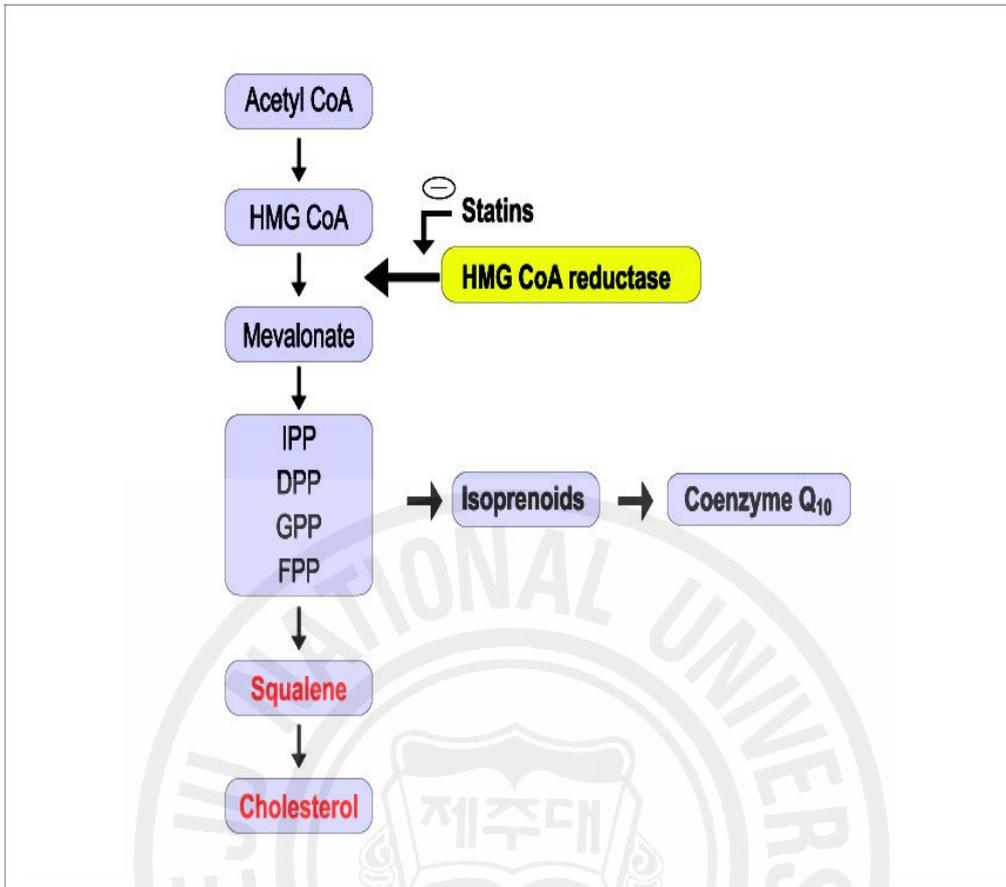


Figure 1. Pathways of cholesterol and coenzyme Q₁₀ synthesis

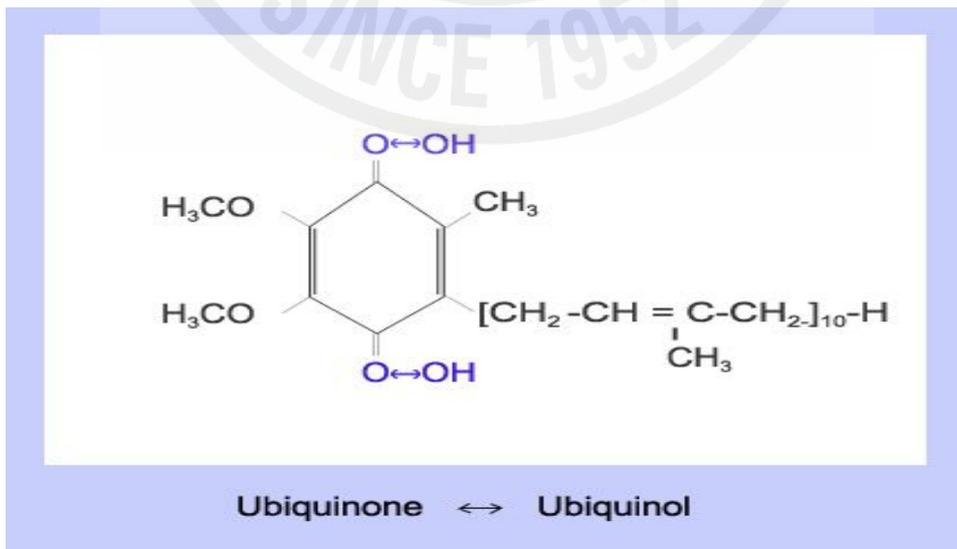


Figure 2. Structure of coenzyme Q₁₀

Goli 등⁸⁾은 lovastatin 혹은 simvastatin이 체내의 coenzyme Q₁₀의 생합성을 방해하여 coenzyme Q₁₀의 결핍을 초래한다고 하고 이와 같은 약제를 복용 할 때 coenzyme Q₁₀을 함께 복용하는 것이 바람직하다고 하였다. 체내 coenzyme Q₁₀의 합성감소는 혈중 coenzyme Q₁₀의 감소를 가져오고 이는 coenzyme Q₁₀의 체내 주요 기능인 에너지 대사와 항산화 기능에 문제를 초래할 것이다.

생체조직에 있어 산소는 생체 내 에너지를 만드는 과정에서 필수 불가결한 분자이지만, 호흡과정에서 들여 마신 산소 중 약 2~3%는 free radical 이라고 일컫는 활성 산소로 전환되어 생체 조직에 산화적 손상을 일으킨다. 유해 활성산소의 종류에는 수퍼옥사이드 라디칼(O₂^{•-}), 히드록시 라디칼(•OH), 단일항 산소(¹O₂), 하이포 아염소산염(OCl⁻), 과산화수소(H₂O₂)등이 있으며 이들은 분자 구조적으로 매우 불안정하기 때문에 고분자의 세포 성분들을 공격하기 쉽게 되어 산화적 스트레스 환경이 조성된다.⁹⁾ Na passive transport는 사람의 적혈구 또는 백혈구 세포에서 Na-K ATPase 와 Na-K cotransport를 통해 나오는 Na efflux를 차단한 상태에서 흘러나오는 Na량을 말한다. 수용성 물질인 2,2'-azobis (2-amidino-propane) dihydrochloride (AAPH)를 저농도로 세포에 처리하면 세포막 안으로 들어가서 강력한 산화력을 가진 peroxy radical(AOO[•])을 생성하여 세포막 지질층을 산화시킨다고 알려져 있다.¹⁰⁾ 그러므로 AAPH로 처리된 적혈구인 경우 Na efflux는 증가하게 된다. Na-leak 는 Intact한 적혈구와 AAPH 처리된 적혈구로부터 흘러나오는 Na량의 차이를 말하며 적혈구 막의 항산화 기능이 떨어진 경우 막의 안정성이 떨어질 것이며 AAPH 처리에 의한 peroxy radical의 영향을 많이 받아 적혈구의 Na-leak는 증가하게 된다 <Figure. 3> .

유해 활성 산소들은 세포막이나 마이크로솜 및 미토콘드리아 등의 세포 소기관의 손상을 유발하며, 효소 단백질의 아미노산 잔기를 산화시켜 비가역적 불활성화를 유발하고, 핵산 염기의 변형 및 산화적 분해나 절단을 통한 DNA 손상을 유도한다.^{9,11)} 따라서 체내 항산화 기능이 원활히 이루어지지 않으면 활성산소들의 작용에 의한 산화적 스트레스 환경의 증가는 암과 심혈관계질환 및 알츠하이머와 같은 만성 질환의 병리적 진행과 노화과정에 있어 중요한 원인으로 생각되어지고 있다. 따라서 최근에는 각종 질병의 치료 및 예방과 관련하여 항산화제에 대한 관심과 연구가 집중되고 있다.^{12,13)}

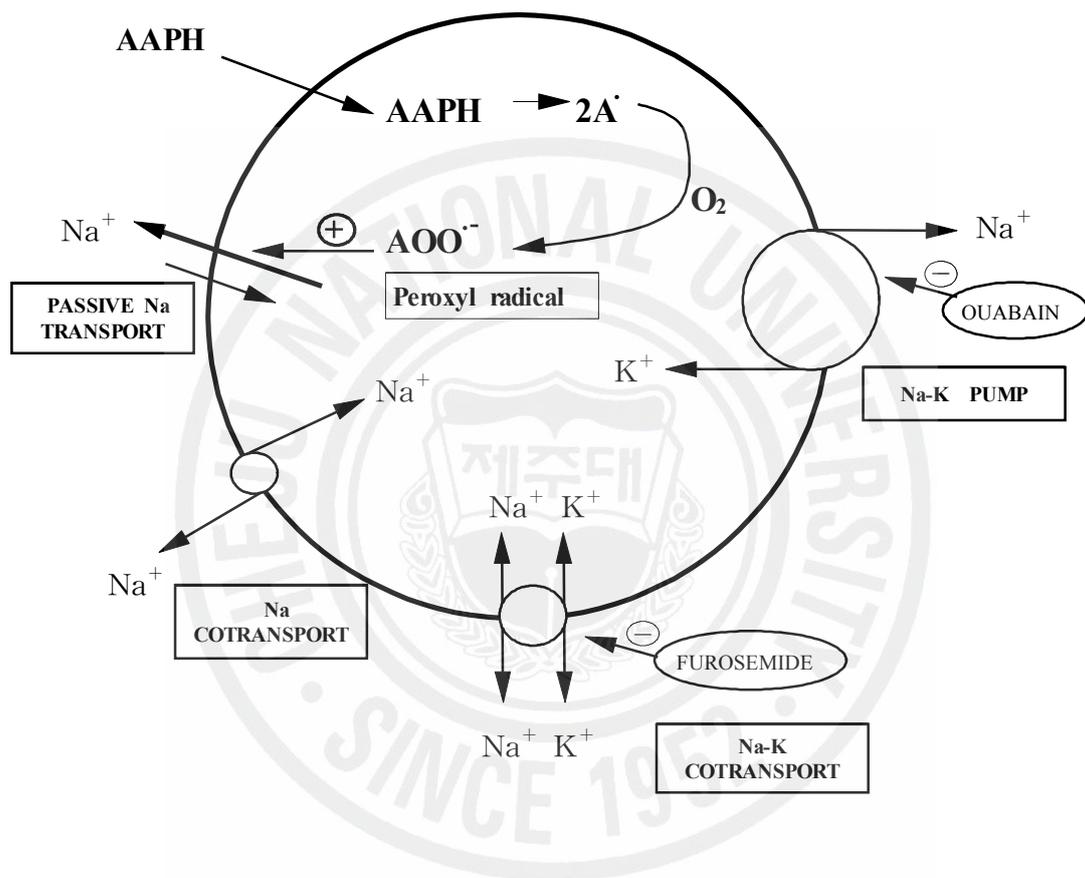


Figure 3. Model of The Mechanism of AAPH induced Na-Leak in Red Blood Cell

현재 α -lipoic acid, coenzyme Q₁₀, glutathione 등과 같이 인체 내 세포에서 생성되는 항산화제와 식품을 섭취함으로써 얻어지는 색소물질인 플라보노이드, 카로티노이드를 비롯하여 비타민 C, 비타민 E, 셀렌늄 등 다양한 항산화제에 대한 연구가 이루어지고 있다.¹⁴⁾

Coenzyme Q₁₀은 1975년에 위스콘신 대학의 Frederick Crane에 의해 소 심장의 미토콘드리아에서 처음 발견되었으며¹⁵⁾, 1958년에 Folkers 등에 의해 coenzyme Q₁₀의 화학적인 구조가 밝혀졌다 <Figure. 2> .¹⁶⁾ Coenzyme Q는 자연계의 거의 모든 호기적 대사를 하는 동·식물체의 조직에서 발견되고 있으며, coenzyme Q₁₀은 인체의 세포막에 결합되어 있는 전자전달계의 필수적인 지질계 화합물로 특히 심장, 간, 미토콘드리아 내막이나 소포체, 골지체, 라이소좀, 퍼록시좀, 원형질막에 존재한다.¹⁷⁾ Coenzyme Q₁₀의 구조는 막 내부의 소수성 영역에 위치해 있는 긴 소수성 isoprenoid tail과 전자를 받아들이고 전달할 수 있는 quinoid head 그룹으로 이루어져 있다.¹⁸⁾

Coenzyme Q₁₀은 10개의 isoprenoid chains를 가짐으로써 붙여진 이름이며, 생명체의 건강한 기능을 위해서 필수적으로 요구되는 coenzyme Q₁₀의 역할은 크게 두 가지로 나눌 수 있다. 첫째, coenzyme Q₁₀은 세포내의 소기관이나 미토콘드리아에서 에너지 대사에 필수적인 촉매로서 작용한다. 즉, 사람에게 있어서 미토콘드리아 내막에서의 ATP의 합성을 지탱하고, 세포막을 안정화시켜 세포의 상태 및 기능을 유지시키며, 에너지 합성에 중요한 기능을 담당하고 전자전달계사이에서 전자 및 양자 전달체로서 작용한다.¹⁹⁻²⁰⁾ 둘째, coenzyme Q₁₀은 세포내에서 ubiquinone(산화된 형태)과 ubiquinol(환원된 형태) 형태로 존재하는데 <Figure. 2> , 환원된 형태의 ubiquinol은 활성 산소를 소거하는 작용을 하여 DNA, 지질, 단백질 등에 대한 산화적 손상을 막는 항산화제로서의 역할을 한다.²¹⁾ Coenzyme Q₁₀은 세포막의 인지질과 지단백질을 지질의 과산화로부터 보호할 뿐만 아니라 intergral membrane protein의 변형을 방지하고 LDL로부터 유리라디칼의 산화를 방지한다고 보고되었다. 이렇게 coenzyme Q₁₀은 미토콘드리아의 전자전달계의 주요성분일 뿐만 아니라, 활성산소에 대한 탁월한 소거능을 가지고 있어 세포막의 안전성을 높여준다.^{19,22)} 이외에도 coenzyme Q₁₀은 콜레스테롤 수치 상승, 고혈압, 울혈성 심부전증, 심근증, 승모판탈출, 관상동맥 수술, 협심증과 같은 심장 질환을 예방하고 치료한다. 또한, coenzyme Q₁₀은 phosphotyrosine kinase 효소를 활성화시킴으로써 자외선 A에 의

해 초래된 human keratinocyte의 산화적 손상을 방지하는데 효과적이며²³⁻²⁴⁾ 강력한 항암제인 adriamycin의 독성을 줄이기 위해서도 이용 된다.²⁵⁾ 특히, 유방암의 치료와 이차전이를 예방하는 효과가 밝혀졌다.²⁶⁻²⁹⁾ 뿐만 아니라 coenzyme Q₁₀은 면역세포 수를 증가시키지 않지만 면역세포를 강화시켜 식세포 작용을 원활하게 함으로써 인체의 면역기능을 향상시키고 노화를 방지 한다.³⁰⁾ 이 같은 효능으로 coenzyme Q₁₀은 의학 및 산업적으로 유용성이 매우 높은 물질로 알려져 있다.

항산화 기능 및 혈액 내 지질 수준 저하기능을 가진 생리활성 물질에 대한 관심 또한 고조되면서 천연 자연식품에 대한 이목이 집중되고 있다. 그 중 기호음료로써 오랜 역사를 갖고 있는 녹차가 혈중콜레스테롤 저하효과 및 항산화 효과가 있음이 오래전부터 연구 보고 되었다.³¹⁻³⁴⁾

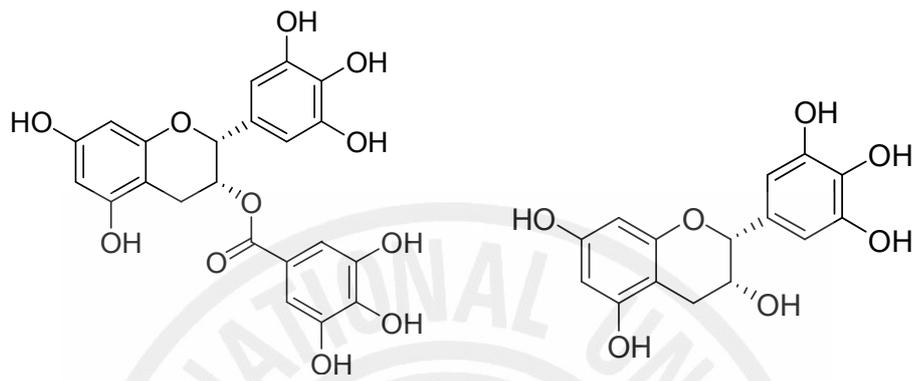
녹차(*Camellia sinensis* O. Ktze)는 가장 널리 애용되고 있는 차 음료로 머리를 맑게 해주고 오장의 기를 돋우어 주고, 간을 강하게 하며 열을 내리고 체내의 노폐물을 빨리 씻어주며, 소화작용과 갈증을 해소하는 약효가 있다고 알려져 있다.³⁵⁾

동양과 유럽의 역학조사결과에서 녹차를 음용하는 사람은 비음용자에 비해 관상동맥질환의 위험이 감소된다는 보고가 있다.³⁶⁾ 녹차가 동물의 혈중 콜레스테롤 함량을 유의적으로 감소시켰다는 연구결과³⁷⁾가 있으며, 녹차의 콜레스테롤 저하기전을 콜레스테롤 흡수억제 및 담즙산 형태로의 배설을 촉진함으로써 혈중 지질 상태를 개선하는 것으로 추정하였다.

녹차의 성분 중 카페인과 탄닌은 방향족 화합물인 폴리페놀로 구성되어 있고, 이 폴리페놀은 분자내 수개 이상의 페놀성 수산기를 가진 섬유질, 리그닌, 카테킨 등으로 이루어져 있다. 녹차에 함유되어진 폴리페놀 성분 중 대표적 활성물질로 알려진 것은 카테킨류이며, 녹차 폴리페놀 함량의 약 70% 이상을 차지하고 있다.³⁸⁻³⁹⁾

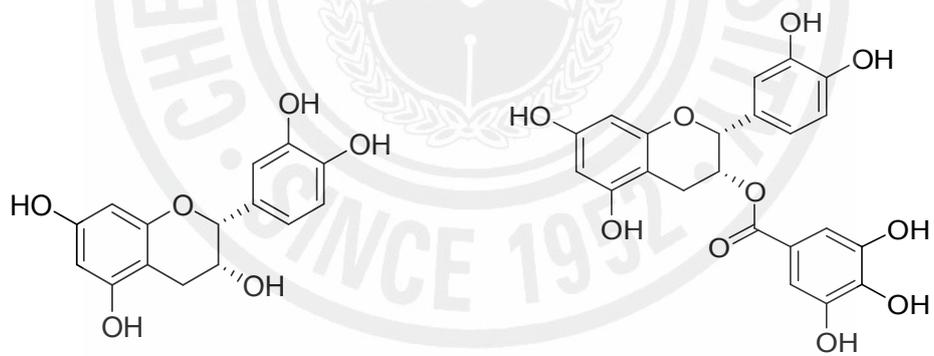
녹차 카테킨의 종류에는 (-)-epigallocatechin-3-gallate(EGCG), (-)-epigallocatechin(EGC), (-)-epicatechin-3-gallate (ECG), (-)-epicatechin(EC) 등이 있으며 <Figure. 4> , 상대적인 양은 EGCG(58%) > ECG(12%) > EC(6.6%) > GCG(1.6%) > ECG(0.5%) > caffeine(0.4%)의 순이다.⁴⁰⁾

녹차 한 잔 중에는 100 mg 내외의 카테킨이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다.⁴¹⁾ 이 폴리페놀 성분은 인체의 세포에 과산화 작용을 증가시키는 free radical 소거기능을 가지고 있고, 금속이온 (Fe⁺², Cu⁺² 등)과 킬레이트 결합하여 금속에 의



Epigallocatechin gallate [ECGC]

Epigallocatechin [EGC]



Epicatechin [EC]

Epicatechin gallate [ECG]

Figure 4. Structures of catechins.

해 촉매 되는 과산화 반응을 막음으로써 항산화제로서의 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이중에 EGCG의 경우는 강한 흡수력과 산화력을 가지고 있어, 미생물 성장 억제작용, 항산화 작용, 암세포 성장억제 작용 등이 있는 것으로 알려져 있다.

이러한 성분들이 혈청 지질 과산화를 억제시키거나 항산화능을 증가시키고, LDL의 산화를 억제시키는 기능을 갖고 있는 것으로 보고 녹차가 순환기장애와 발암 및 노화 등을 억제시키는 것으로 보고 있다.⁴²⁻⁴³⁾

녹차 카테킨은 자연적인 항산화제로서 유해한 유리기를 제거하고 항산화 효소의 활성을 증가시켜 항산화 활성을 나타내며³³⁻³⁴⁾, 카테킨에 대한 연구를 통하여 혈중 콜레스테롤 저하작용, 항균작용, 혈압강하작용, 혈당강하효과 등의 약리작용이 보고되고 있으며⁴⁴⁻⁴⁵⁾, 이외에 혈소판응집 억제⁴⁶⁾, 항암작용⁴⁵⁾ 등에 대해서도 일부 알려져 있다.

콜레스테롤생합성에 영향을 주는 의약품 즉 statin계 약물의 장기 사용은 체 콜레스테롤 합성뿐만 아니라 우리 몸에서 에너지대사와 항산화기능에 주요한 역할을 담당하는 coenzyme Q₁₀의 체내 합성에도 큰 영향을 미친다. 이는 혈중 coenzyme Q₁₀의 감소로 이어지며 LDL 산화 및 세포막의 지질과산화적 손상 등을 초래하게 된다.

따라서 본 연구에서는 HMG CoA reductase 억제제인 simvastatin을 고콜레스테롤혈증 흰쥐에게 투여하고 체내 지질 수준의 변화를 관찰하고, coenzyme Q₁₀, 녹차 첨가가 체내 지질 수준의 변화에 유리한 영향을 미치는 지를 알아보려고 하였다. 또한, simvastatin 투여로 나타날 수 있는 산화적 손상을 coenzyme Q₁₀ 또는 녹차가루 첨가에 의해 억제되는지를 관찰해 보고자 하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

1) 실험동물 및 식이배합

생후 8주된 체중 280 그램 전후의 Sprague Dawley 숫쥐 40마리를 식이 구성에 따라 대조군, simvastatin군, coenzyme Q₁₀ 첨가군, 녹차 첨가군 으로 각 10마리씩 나누어 stainless steel cage에서 4주간 분리·사육하였다. 동물 사육실의 명암주기는 12시간, 온도 20~25 °C와 습도 40~60% 로 일정하게 유지되도록 조절하였다. 실험기간 동안 물과 식이는 자율급식으로 공급하였다.

기본 실험 식이는 AIN-76을 참고로 하여 〈Table 1〉 과 같이 제조되었다. 탄수화물 급원으로는 sucrose와 corn starch를, 단백질 급원으로는 casein을, 지방 급원으로는 라드 (9%)와 대두유 (1%)을 사용하였다. 0.5% cholesterol과 0.2% cholate를 함유한 대조군 식이에 simvastatin군은 30 mg/Kg BW의 simvastatin을 첨가하였고, coenzyme Q₁₀ 첨가군에는 30 mg/Kg BW의 simvastatin과 15 mg/Kg BW의 coenzyme Q₁₀을 그리고 녹차첨가군에는 30 mg/Kg BW의 simvastatin과 5%의 녹차가루를 첨가하였다. 또한 녹차분말에 상응하는 5%의 섬유소를 대조군, simvastatin군 그리고 coenzyme Q₁₀ 첨가군에 첨가하였다. Simvastatin은 중외제약에서 coenzyme Q₁₀은 영진약품에서 제공받았고, 녹차가루는 2006년도 봄에 채취하여 건조된 신선한 가루를 제주농업기술센터에서 제공받아 실험에 사용하였다.

Table 1. Composition of experimental diets (%)

| Ingredient | Control | Simvastatin | Stain+CoQ10 | Statin+Green tea |
|--|--------------|--------------|--------------|------------------|
| Casein ^{a)} | 20.0 | 20.0 | 20.0 | 20.0 |
| L-methionine ^{a)} | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 |
| Lard ^{b)} | 9.0 | 9.0 | 9.0 | 9.0 |
| Soybean Oil ^{c)} | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| Choline chloride ^{d)} | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| Vitamin mix ^{e)} | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| Mineral mix ^{f)} | 3.5 | 3.5 | 3.5 | 3.5 |
| Sucrose ^{c)} | 20.0 | 20.0 | 20.0 | 20.0 |
| Corn starch ^{g)} | 39.3 | 39.3 | 39.3 | 39.3 |
| Cellulose ^{h)} | 5 | 5 | 5 | 0 |
| Cholesterol ^{h)} | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| Cholic acid ^{h)} | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| Simvastatin ⁱ⁾ | | 30 mg/Kg B.W | 30 mg/Kg B.W | 30 mg/Kg B.W |
| Coenzyme Q ₁₀ ^{j)} | 0 | 0 | 15 mg/Kg B.W | 0 |
| Green tea powder ^{k)} | 0 | 0 | 0 | 5 |
| Total (%) | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |

a) Teklad, Harlan Madison WI, USA

b) Samlip Yugi Co.

c) Jeil Jedang Co.

d) Junsei Chemical Co., Ltd.

e) Vitamin mixture(mg/100g) : Thiamine HCl 60.0, Riboflavin 60.0, Pyridoxine HCl 70.0, Nicotinic Acid 300.0, D-Calcium Pantothenate 160.0, Folic Acid 20.0, D-Biotin 2.0, Vit. B₁₂ 0.1, Vit. A 80.0, Vit. D₃ 0.25, Vit. K 0.5, Sucrose 99247.15

f) Mineral mixtuer(g/100g) : CaHPO₄ 50.0, NaCl 7.4, K₃C₆H₅O₇ · H₂O 22.0, K₂SO₄ 5.2, MgO 2.4, Manganous carbonate(43-48%Mn) 0.35, Ferric citrate(16.7%Fe) 0.6, Zinc carbonate(70% Zn) 0.16, Cupric carbonate(53-55%Cu) 0.03, KIO₃ 0.001, Na₂SeO₃ · 5H₂O 0.001, CrK(SO₄)₂ · 12H₂O 0.055, Sucrose 11.804

g) Samyang Genex Co.

h) Sigma Chemical Co., USA

i) Choongwae Pharm. Co., Korea

j) Yungjin Pharm. Co.,Ltd

k) Jeju Agri. Devel. Tech. Exten. Center

2) 식이 섭취량과 체중 및 식이효율

식이 섭취량은 식이 공급량에서 남은 식이량을 뺀 값으로 계산되었고, 체중은 식이 섭취로 인한 일시적인 체중 변화를 막기 위하여 측정하기 1시간 전에 식이를 제거한 후 측정하였다. 식이 공급과 체중 측정은 이틀마다 매번 같은 시각에 이루어졌다. 식이 효율 (Food Efficiency Ratio, FER, ADG/ADFI)은 사료섭취량에 대한 증체를 나타내는 것으로 전 실험기간에 대해서 계산하였다.

2. 실험방법

1) 시료수집

(1) 혈액채취

실험기간 종료 전에 16 시간을 절식시키고 에테르로 마취시킨 후, cardiac puncture 방법으로 헤파린이 들어 있는 vacuum tube에 혈액을 채취하였다. 혈소판 응집과 Na-leak, 적혈구 용혈, 그리고 헤마토크리트 측정은 채혈 즉시 실시되었다. 나머지 혈액은 1000 × g에서 15분간 원심 분리하여 혈장을 분리하고, 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, 중성지방 분석과 TBARS 측정을 위해 -20℃ 냉동고에 보관하였다.

헤마토크리트는 헤파린이 들어 있는 capillary tube를 사용하여 헤마토크리트 용 원심분리기로 1000 × g에서 15분간 혈액을 원심분리한 후 측정하였다.

(2) 간 및 동맥조직 적출

간은 혈액채취 후 바로 적출하여 거름종이로 표면의 혈액을 제거한 후 즉시 무게를 측정하였으며, 간 조직의 일부는 간 조직 내 지방크기 관찰을 위해 Bouin's solution 용액에 일부 고정시켰고, 나머지는 총 콜레스테롤, 중성지방 분석을 위해 -20℃ 냉동고에 보관하였다.

동맥도 간을 적출한 후 바로 분리하여 간조직과 동일하게 Bouin's solution 용액에 고정시켰다. 현미경 관찰을 위한 동맥조직은 각 그룹 당 3마리씩 분리하였다.

2) 시료분석

(1) 혈장 지질 농도 분석

총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, 그리고 중성지방의 성분 정량 분석에는 commercial enzymatic kit (ASAN Pharmaceutical Co., Ltd, Korea)를 사용하였다. 총 콜레스테롤과 중성지방 분석에는 혈장 10 μl 을 사용하고, HDL-콜레스테롤의 분석에는 혈장 200 μl 에 분리시액 200 μl 을 넣고 vortex하여 10분간 방치한 것을 1000 \times g에서 10분간 원심 분리한 후 얻은 상층액 50 μl 를 가지고 분석하였다. 각각 enzymatic reagent를 1.5 ml씩 넣은 후 37 $^{\circ}\text{C}$ 항온수조에서 총 콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤은 5분간, 중성지방은 10분간 배양하여 발색시켰다. 총 콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤은 500 nm에서, 중성지방은 550 nm에서 spectrophotometer로 흡광도를 두 반복 측정하였다. LDL-콜레스테롤은 분석을 통해 얻은 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤과 중성지방의 수치를 이용하여 계산되었다⁴⁷⁾.

$$[\text{LDL-cholesterol} = \text{T-cholesterol} - (\text{HDL-cholesterol} + \text{TG}/5)]$$

(2) 간 지질 농도 분석

간의 콜레스테롤과 중성지방의 분석은 Folch 등⁴⁸⁾의 방법을 다소 수정하여 수행하였다. 간 조직 1 g을 절단하여 15 ml conical tube 입구에 넣고 가위로 잘게 조각을 낸 후에 10 ml Folch solution (chloroform/methanol, 2:1, v/v)을 넣어 overnight하였다. Whatman #1로 여과시킨 후 여과된 간 추출액과 0.5% H_2SO_4 3 ml를 분류 깔대기에 넣고 흔들어 주었다. 분리된 하층을 새로운 conical tube에 넣고 Folch solution을 첨가하여 총량이 10 ml 되도록 맞추었다. 이 추출액 10 μl 를 중성지방 분석에 이용하였다. 간 총콜레스테롤 측정을 위하여 추출액 500 μl 을 새로운 tube에 넣어 하루 밤 동안 세워 실온에서 자연 건조시킨 후 50 μl 의 Triton X-100/ chloroform solution (1/1, v/v)을 첨가하여 vortex 하고 다시 chloroform 450 μl 을 넣어 총 500 μl 가 되게 희석하여 다시 vortex 하였다. 이 용액 10 μl 를 간 콜레스테롤을 측정하는데 이용하였다.

간 콜레스테롤과 중성지방 분석은 추출액 10 μl 를 실온에서 자연 건조시킨 후 enzymatic reagent(ASAN Pharmaceutical Co., Ltd, Korea) 1.5 ml를 넣고 37 $^{\circ}\text{C}$ 항온수조에서 일정시간 배양하여 발색시킨 후, 총 콜레스테롤은 500 nm에서, 중성지방은 550 nm에서 각각 두 반복 측정하였다. (Fig. 5)

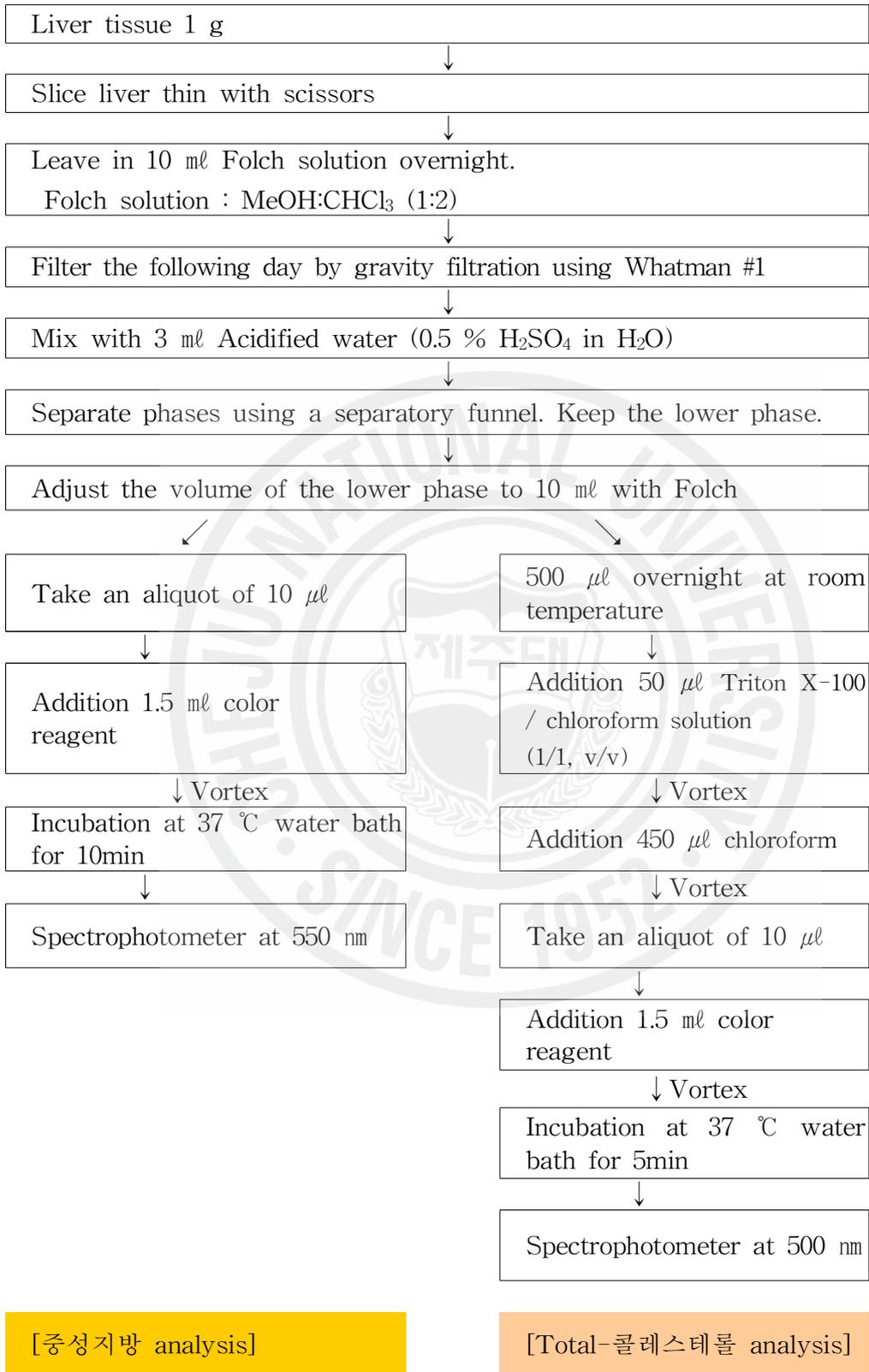


Figure 5. Analytical scheme of total cholesterol and triglyceride in the liver.

(3) 혈소판 응집 (whole blood platelet aggregation)

혈소판 응집은 전혈을 이용한 impedance 방법으로 Chronolog Platelet Aggregometer (Chronolog 500-CA, Havertown, USA)를 이용하여 측정되었다. 채혈 즉시 전혈 250 μ l를 750 μ l 생리적 식염수 (0.9% NaCl)로 희석시켜 (1:4) 혈소판 농도 200,000/ μ l로 조정 한 후, 20 μ l의 1mM ADP (adenosine diphosphate)를 넣어 최종 농도 20 μ M이 되게 하여 응집을 유도하였으며, 3회 반복한 평균치를 사용하였다.

혈소판 응집은 응집의 진행에 따라 혈액에 삽입된 두개의 백금전극사이에 나타나는 전기저항의 상승을 측정하는 방법으로, recorder response를 20 Ω 이 되게 impedance gain을 맞추어 둔 것이다. 이 방법은 신선한 전혈을 사용하여 혈액 내 다른 성분의 존재 하에서 측정하므로, 보다 생리적인 상태에서 혈소판 응집성을 관찰하는 장점이 있다.

(4) 적혈구 Na leak 측정

가. 적혈구 전처리

전혈을 1000 \times g에서 10분간 원심분리 시키고 난 후 혈장과 중간층의 buffy coat를 걷어낸다. 적혈구를 50 ml conical tube에서 대략 5배의 cold isotonic choline chloride (CWS, 150 mM choline chloride, 10 mM Tris-4-morpholinopropane sulfonic acid (MOPS) 4 $^{\circ}$ C pH 7.4)를 넣고 천천히 위아래로 흔들어준 후 다시 1000 \times g에서 10분간 원심분리 시킨 후 상층액을 버린다. 이렇게 CWS로 5번 반복해서 적혈구를 씻어준다. 마지막 상층액을 버린 후 적혈구 pellet을 CWS로 희석하여 hematocrit 값이 40 ~ 50%가 되게 조정 한 후 정확한 hematocrit값을 측정하였고 이 적혈구용액을 intracellular Na, NA-leak 측정에 사용하였다.

나. Intracellular Na 측정

적혈구 용액 50 μ l를 5 ml의 0.02% acationox (metal free detergent, Scientific Product, USA)을 넣어, 적혈구내의 Na 농도 (intracellular Na)를 계산하였다. 원자 흡광광도계 (atomic absorption spectrophotometer, AA6701F Shimadzu Corporation, Japan)를 이용하여 Na 농도를 측정하였다.

다. Na-leak 측정

Na leak은 Na-K ATPase(ouabain)와 Na-K cotransport(furosemide)로부터 Na efflux를 차단한 상태에서 흘러나온 Na량을 뜻하는 것으로, radical 생성물질 2,2'-azobis (2-amidino-propane) dihydrochloride (AAPH)를 처리한 적혈구와 Intact한 적혈구로부터 흘러나오는 Na량의 차이를 말한다.

AAPH는 수용성으로서 세포막 안으로 들어가서 peroxy radical (AOO[•])을 생성하여 적혈구의 지방층만을 과산화 시켜 세포막의 손상을 초래하는 것으로¹⁰⁾ Intact한 적혈구에 비해 AAPH로 처리된 적혈구의 Na-leak은 증가한다 <Figure. 3> .

Hematocrit을 측정한 적혈구 용액 1.5 ml를 각각 30 ml의 1 mM AAPH첨가된 medium 4 (150 mM choline chloride, 10 mM glucose, 1 mM ouabain, 1mM furosemide, 10 mM Tris-MOPS 37 °C pH 7.4)와 AAPH가 첨가되지 않은 medium 4에 넣어 섞은 후 10개의 test tube에 고르게 분배하여 0, 10, 20, 30, 40분 간격으로 37 °C shaking water bath에서 배양하여, 즉시 얼음 속으로 옮겨 Na efflux를 중단시킨 후, 4 °C에서 원심 분리하여 상층액을 분리하였다. Na leak실험이 진행되는 동안 모든 medium과 test tubes는 얼음 속에 보관하였다.

분리된 상층액의 Na 농도는 atomic absorption spectrophotometer (AA6701F Shimadzu Corporation, Japan)을 이용하여 측정하였고 기울기 (Na $\mu\text{g}/\text{min}$)를 구한 후, AAPH를 처리한 적혈구와 Intact한 적혈구로부터 흘러나온 Na의 기울기 값의 차이를 아래와 같이 구하였다.⁴⁸⁻⁴⁹⁾

계산식 :

$$\frac{[\text{Na } \mu\text{g}/\text{ml}]}{[\text{min}]} \frac{[60\text{min}]}{[\text{hr}]} \frac{[\mu\text{mole}]}{[23\mu\text{g}]} \frac{[31.5-(1.5 \times \text{HCT})]}{[1.5 \times \text{HCT}]} = \text{Na mmole}/\ell \text{ rbc}/\text{hr}$$

Intracellular Na :

$$\frac{[\text{Na } \mu\text{g}]}{[\text{ml}]} \frac{[\mu\text{mole}]}{[23\mu\text{g}]} \frac{[101]}{[\text{HCT}]} = \text{Na mmole}/\ell \text{ rbc}$$

(5) 적혈구 용혈

적혈구 용혈 정도는 Draper 등⁵⁰⁾의 autohemolysis 방법을 약간 변형시킨 Buckingham⁵¹⁾의 방법을 참고하여 측정하였다. 적혈구의 용혈은 heparin 처리된 혈액을 채혈 즉시 200 μ l 댄서 Phosphate Buffered Saline (PBS, pH 7.4) 5 ml에 분산시킨다. PBS는 phosphate buffer (0.1M Na₂HPO₄, 0.02M HCl)와 0.89 % NaCl를 동량으로 혼합하여 제조하였다. PBS에 분산시킨 용액을 1200 × g에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 버린 다음, 적혈구 부분만을 다시 5 ml의 PBS용액에 분산시킨다. 두 개의 시험관에 각기 4 ml의 PBS와 증류수를 넣은 다음 적혈구 분산액을 1 ml씩 넣어 혼합하고 마개를 한 후 37 °C에서 4시간 배양한다. 배양액을 천천히 아래위로 흔들어서 액을 섞은 후 10분 간 1200 × g에서 원심분리하고, 상층액을 취해서 spectrophotometer로 415 nm에서 흡광도를 측정했다. 실험은 모두 두 반복으로 측정하였다.

$$\langle \% \text{용혈} = \text{buffer 분산액의 흡광도} / \text{증류수 분산액의 흡광도} \times 100 \rangle$$

(6) 혈장 TBARS 측정

혈장 TBARS (thiobarbituric acid reactive substance) 함량은 Yagi⁵²⁾의 방법을 이용하여 측정하였다. 혈장 0.1 ml에 1/12N 황산 4 ml와 10 % phosphotungstic acid 0.5 ml를 넣고 5분간 방치한 후 1200 × g에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 버리고 침전물에 1/12N 황산 2 ml와 10% phosphotungstic acid 0.3 ml를 넣고 위와 같은 과정을 다시 한 번 반복하였다. 이 과정 후 얻어진 침전물에 증류수 4 ml와 thiobarbituric acid (TBA) reagent 1 ml를 가하여 잘 섞은 후 뚜껑을 막고 95°C에서 1시간 반응시켰다. 여기에 n-butanol을 가하여 잘 섞고 1200 × g에서 15분간 원심분리한 후 상층액을 취하였다. 1,1,4,4-tetraethoxypropane을 표준용액으로 하여 상층액에 있는 TBARS양을 Spectrofluorophotometer (Shimadzu RF-1501)로 excitation 515 nm, emission 553 nm에서 정량 하였다.

(7) 간 및 동맥조직 표본 염색

적출 즉시 손상을 최소화하기 위해 Bouin's solution에 고정하였고, 자동조직파라핀 유도장치를 이용해 paraffin 유도과정을 거쳐 파라핀 블록을 만들었다. Microtome을 이용하여 간 및 동맥 조직의 종단면을 5~7 μ m 두께로 절편 하였다.

조직표본은 Harris hematoxylin (H)과 0.5 %-eosin (E)으로 비교염색을 하였다.

3. 통계처리방법

본 실험의 측정치는 평균과 표준편차로 표시되었고, 실험 결과들은 one-way ANOVA를 사용하여 분석하였으며, 5 % 수준에서 유의차가 있을 때 Duncan multiple range test에 의해 각 처리군 간의 유의차를 검증하였다.



Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 체중증가량, 식이섭취량, 식이효율 및 간/체중 비

실험동물의 평균 일일 증체량 (ADG), 평균 일일 식이섭취량 (ADFI), 식이 효율 (Food Efficiency Ratio, F.E.R.) 및 간 무게/체중 비 (LW/BW)는 〈Table 2〉에 제시하였다.

4주간의 실험 종료 후 실험동물의 최종 무게는 350~370 그램 정도였으며, 식이 효율을 제외한 평균 일일 증체량, 평균 일일 식이 섭취량, 간무게/체중 비 모두 각 그룹 간 유의적 차이가 없었다.

평균 일일 증체량은 녹차 첨가군이 가장 높게 나타났으며, simvastatin군이 가장 낮게 나타났다. Simvastatin군이 대조군에 비해 낮게 나타났는데, 이는 simvastatin 처리와 식이섭취량의 감소에 따른 영향으로 보인다. 녹차와 coenzyme Q₁₀ 첨가군이 simvastatin군에 비해 증체량이 높게 나타났다.

평균 일일 식이섭취량은 그룹 간 비슷한 경향을 보였으나, 녹차 첨가군이 simvastatin군과 비슷한 수준이지만 가장 낮고 coenzyme Q₁₀ 첨가군이 가장 높게 나타났다. 녹차 첨가군이 가장 낮은 식이 섭취는 녹차 특유의 색과 맛에 의해 식이 섭취에 대한 거부감이 나타난 것으로 보인다.

식이효율은 simvastatin군이 섭취량은 적고 증체량은 낮아서 같은 섭취량의 녹차 첨가군에 비해 유의적으로 낮았다 ($p < 0.05$). 녹차첨가군은 평균 일일 증체량은 높고 평균 일일 식이섭취량은 낮아서 식이효율이 가장 높게 나타났다.

체중에 대한 간의 무게 비는 4.2 - 4.3 정도로 비슷한 경향을 보여 각 그룹 간 유의적 차이를 보이지 않았다. 신미경 등⁵³⁾은 동물성 고지방식이에 녹차건분 1%를 첨가하여 6주간 실험한 경우 녹차 첨가에 의해 장기 무게가 유의적으로 감소하였다는 결과가 있었으나, 본 실험에서는 녹차 첨가에 따른 간 무게 감소효과는 나타나지 않았다. 강민숙 등⁵⁴⁾은 고콜레스테롤 식이를 섭취한 경우 간/체중비가 대조군에 비해 유의적으로 높았고, 이를 손바닥선인장이 낮추어 고콜레스테롤 식이로 인한 지방간이나 간의 비대를 방지하는 효과가 있을 것이라고 보고하였다. 본 실험에서도 고콜레스테롤 식이에 따른 영향으로 간 무게는 증가하였을 것으로 보이나,

simvastatin, coenzyme Q₁₀, 녹차 첨가에 따른 간 무게 감소 효과는 나타나지 않았다.

본 실험에서 녹차의 높은 식이효율은 5% 녹차 건분 섭취가 높은 식이효율을 나타냈다고 보고한 김은성 등⁵⁵⁾의 연구결과와 비슷한 경향을 보였다. 신미경 등⁵³⁾의 연구에서 동물성 고지방식이에 녹차건분 1%를 첨가하여 6주간 실험한 경우 녹차건분 첨가에 따라 식이섭취량, 체중증가량은 대조군에 비해 감소하였으나, 식이효율은 유의적으로 증가하였다고 보고하였다. 김은성 등⁵⁵⁾은 높은 식이효율이 녹차 물추출액은 위액의 펩신 분비를 촉진시켜 식욕을 증진시킨다고 알려져 있으므로 이에 따른 영향으로 보고 있었으나, 본 실험에서는 일일 섭취량은 낮는데 비해 일일 증체량이 높아 식이효율이 높게 나타났으므로 식욕 증진에 따른 결과로 볼 수는 없을 것 같다. 반면 Tonooka 등⁵⁶⁾은 3.5%의 녹차 카테킨을 흰쥐에게 섭취시킨 경우 30일 후의 체중은 대조군보다 유의적으로 낮추었으나, 2% 카테킨 첨가로 3개월간 사육했을 경우에는 대조군과 차이가 없었다고 하여 녹차 섭취가 체중에 미치는 영향은 첨가량에 따라 다르게 나타나는 것으로 보인다. 또한, 고지방식이에 증류수 대신 식수를 녹차음료로 공급하여 8주간 실험한 김희선 등⁵⁷⁾의 연구에 의하면 체중증가량과 식이섭취량이 유의적으로 감소하였다고 하였다.

본 실험 결과를 보면 평균 일일 증체량, 평균 일일 식이 섭취량, 간무게/체중 비는 그룹 간 유의적 차이를 볼 수 없었다. 그러나 simvastatin군은 식이섭취량과 증체량이 낮아서 식이효율이 녹차 첨가군에 비해 유의적으로 낮았으며 ($p < 0.05$), 녹차의 높은 식이효율은 simvastatin 처리에 따른 증체량 감소를 보충하는 효과를 보인 것으로 사료된다.

Table 2. Supplementation effects of simvastatin, coenzyme Q₁₀, green tea to cholesterol based diet on growth rate and food intake

| | Control | Simvastatin | Simvastatin + Co Q ₁₀ | Simvastatin + Green tea |
|--------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------------------|----------------------------|
| Cholesterol based diet | | | | |
| Initial BW(g) | 278.2±14.7 | 278.5±15.8 | 278.7±13.6 | 278.4±13.4 |
| Final BW(g) | 363.3±26.8 | 350.6±29.3 | 361.8±29.1 | 369.6±18.1 |
| ADG ²⁾ (g/d) | 2.87±0.62 | 2.42±0.91 | 2.80±0.78 | 3.07±0.56 |
| ADFI ³⁾ (g/d) | 17.3±1.0 | 16.9±1.6 | 18.1±3.6 | 16.3±1.1 |
| F.E.R ^{4)*} | 0.17±0.04 ^{ab} | 0.14±0.03 ^b | 0.15±0.03 ^{ab} | 0.19±0.04 ^a |
| LW/BW ¹⁾ (%) | 4.2±0.3 | 4.3±0.6 | 4.2±0.5 | 4.3±0.5 |

¹⁾BW : Body weight, LW : Liver weight

²⁾ADG : Average daily gain

³⁾ADFI : Average daily feed intake

⁴⁾F.E.R : Food Efficiency Ratio (ADG/ADFI)

Values are means±SD of 10 rats.

*Values in the same row not sharing the same superscript differ (p < 0.05).

2. 혈장의 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 및 중성지방

혈장 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, 중성지방 수준은 <Table 3>에 제시하였다. 혈장 총 콜레스테롤의 경우 각 그룹 간 유의적 차이가 없었으나, simvastatin을 첨가한 모든 군이 대조군에 비해 높게 나타나 simvastatin에 의한 콜레스테롤 강하 효과는 보이지 않았다. Coenzyme Q₁₀과 녹차 첨가도 총 콜레스테롤 감소에 영향을 미치지 못하였고, simvastatin군보다 오히려 총 콜레스테롤 수준을 증가시켰다.

혈장 LDL-콜레스테롤의 경우도 각 그룹 간 유의적 차이는 나타나지 않았으나, simvastatin을 첨가한 모든 군이 대조군에 비해 높게 나타났으며, coenzyme Q₁₀과 녹차 첨가에 따른 영향이 나타나지 않았다.

혈장 HDL-콜레스테롤 또한 각 그룹 간 유의적 차이는 없었으나, simvastatin군이 다른 군에 비해 다소 낮게 나타났다. Coenzyme Q₁₀ 첨가군과 녹차 첨가군의 혈장 HDL-콜레스테롤이 대조군, simvastatin군에 비해 다소 높게 나타나 coenzyme Q₁₀과 녹차 첨가에 따른 영향으로 보여 진다.

혈장 중성지방은 simvastatin군이 가장 낮게 나타났으며, 대조군에 비해 유의적이지는 않지만 9.2% 감소하였다. Coenzyme Q₁₀ 첨가군과 녹차 첨가군의 혈장 중성지방은 simvastatin군에 비해 증가하였으며, 특히 녹차첨가군은 simvastatin군에 비해 유의적으로 증가하였다 ($p < 0.05$).

Marinari 등⁵⁸⁾의 연구보고에 의하면 흰쥐에게 고콜레스테롤 식이와 함께 simvastatin을 투여한 결과 혈장의 콜레스테롤수준은 감소한 반면에 HDL-콜레스테롤은 증가하였으며, Shalaby 등⁵⁹⁾의 연구결과에서도 simvastatin을 65일 동안 투여한 고콜레스테롤혈증 albino swiss strain 쥐의 혈청 총콜레스테롤 수준은 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다. 임상연구결과도 같은 경향을 보여 충남대학병원을 내원하는 고지혈증 환자 18명을 대상으로 lovastatin (Mevacor)을 4주간 투여한 결과 혈청 총 콜레스테롤은 30%, 중성지방은 35%, LDL-콜레스테롤은 45%로 감소하였으며, HDL-콜레스테롤은 27%로 증가하였다고 보고하였다.⁶⁰⁾ 또한 한국인에서 simvastatin의 효과와 부작용 분석을 위한 공동 임상 연구⁶¹⁾에서도 고콜레스테롤 혈증 환자에게 simvastatin을 투여한 결과 1개월 후부터 총 콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤, 중성지방 모두 감소하였고, 3개월째에 최저점으로 도달하였다고 보고하였

다. 이외에도 한국인 고콜레스테롤 혈증 환자를 대상으로 simvastatin 10 mg을 6개월 간 복용한 결과 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤은 유의적으로 감소하였으나, HDL-콜레스테롤과 중성지방에는 의미 있는 변화가 없었다고 보고한 연구⁶²⁾도 있다.

Statins는 HMG-CoA reductase와 결합하는 HMG-CoA와 구조가 유사하여, HMG-CoA 대신 HMG-CoA reductase와 미리 결합함으로써 mevalonate의 합성을 저해한다. 그 결과 콜레스테롤 생합성을 제한하여 혈관 속의 콜레스테롤 수치를 효과적으로 감소시킨다고 알려져 있다. 임상 연구 결과⁶⁰⁻⁶²⁾를 보면 statins는 탁월한 콜레스테롤 강하효과를 보여 혈중 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤은 효과적으로 낮추면서 HDL-콜레스테롤은 증가시켰다. 그러나 본 실험에서는 simvastatin처리에 따른 혈중 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, HDL-콜레스테롤의 의미 있는 변화의 결과가 나타나지 않았다. 중성지방인 경우에는 대조군에 비해 유의적이지는 않지만, 다소 낮추는 경향을 보여 위의 임상 연구 결과와 유사한 경향을 보이고 있다. 따라서 본 실험에서는 콜레스테롤 강하 효과보다 중성지방 감소효과가 더 큰 것으로 보여 진다.

Sayama 등⁶³⁾의 연구에서는 가루녹차 2%, 4% 함유 식이 군에서 혈청 중성지방은 녹차 함량 증가에 따라 유의적으로 감소하였으나, 총 콜레스테롤에는 영향을 미치지 않았다고 하였다. 김은성 등⁵⁵⁾은 5% 녹차 건분군에서 혈장의 총 콜레스테롤은 대조군보다 낮은 경향을 보였으며, 중성지방의 경우에는 낮추지 못하는 결과를 보였고, HDL-콜레스테롤의 경우는 녹차 건분군이 가장 높은 것으로 나타났다고 하였다. Raederstorff 등⁶⁴⁾의 연구에서 Wister rat에게 녹차의 catechin 성분인 EGCG를 0.25%, 0.5%, 1%를 사료에 혼합하여 섭취시킨 결과 총 콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤 혈중 농도가 유의적으로 감소하였으나, 혈장 중성지방과 HDL-콜레스테롤에는 변화가 없었다고 하였다. 반면, Muramatsu 등⁴⁴⁾은 4%의 녹차 추출물을 첨가한 군에서 혈청의 총 콜레스테롤 및 중성지방을 대조군과 유사하게 낮추었다고 보고하였다. 김희선 등⁵⁷⁾의 연구에 의하면 고지방식이에 증류수 대신 식수를 녹차음료로 공급하여 8주간 실험한 결과 녹차음료 섭취에도 불구하고 중성지방, 총 콜레스테롤 모두 유의적 차이가 없었으며 다소 높게 나타났다. 이는 실험동물들이 고지방식을 한 결과 혈중 지질분포에는 영향을 미쳤으나, 혈중 콜레스테롤량에는 변화를 미치지 않았던 것으로 혈중 콜레스테롤 양의 변화는 고지방식을 섭취하는 경우에는

잘 나타나지 않았던 것으로 사료된다. 본 실험에서도 녹차 첨가군의 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, 중성지방이 대조군, simvastatin군에 비해 다소 높게 나타났는데, 이것은 고콜레스테롤 식이에 기인하여 수치가 상승된 것으로 사료되며, 이는 녹차 첨가에 의한 영향이 미치지 않았다고 생각된다. 김은성 등⁵⁵⁾은 5% 녹차 건분군의 HDL-콜레스테롤이 가장 높게 나타났다고 하였는데, 본 실험에서도 유의적이지는 않지만 다른 비교군에 비해 HDL-콜레스테롤이 높게 나타났다.

본 실험결과 simvastatin을 처리한 모든 군이 대조군에 비해 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤이 높게 나타나, simvastatin 처리에 따른 콜레스테롤 강하효과는 나타나지 않았다. Coenzyme Q₁₀ 첨가군과 녹차 첨가군이 대조군, simvastatin군에 비해 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤이 높게 나타났는데, 이는 동물성지방 및 고콜레스테롤 식이를 섭취함에 따라 coenzyme Q₁₀과 녹차가 혈중 콜레스테롤 함량에 영향을 미치지 못하였다고 생각되어 진다. Simvastatin은 혈장 중성지방을 대조군에 비해 낮추었으며, 녹차 첨가군에 비해서는 유의적으로 낮춘 것으로 보아 환위에 있어서는 콜레스테롤 강하 효과보다는 중성지방을 낮추는데 더 효과적일 것으로 사료된다.

Table 3. Supplementation effects of simvastatin, coenzyme Q₁₀, green tea to cholesterol based diet on the plasma levels of cholesterol and triglyceride

| | Control | Simvastatin | Simvastatin + Co Q ₁₀ | Simvastatin + Green tea |
|------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------------------|----------------------------|
| Cholesterol based diet | | | | |
| mg/dl | | | | |
| Total-cholesterol | 171.6±69.6 | 182.9±52.5 | 194.6±60.7 | 199.4±46.7 |
| HDL-cholesterol | 26.9±5.1 | 25.7±6.2 | 28.4±5.6 | 29.8±4.3 |
| LDL-cholesterol | 130.1±68.1 | 143.9±59.2 | 149.0±60.5 | 150.6±44.8 |
| Triglyceride* | 73.4±15.8 ^{ab} | 66.6±16.3 ^a | 85.7±20.7 ^{ab} | 94.8±29.5 ^b |

Control: 0.5% cholesterol, Simvastatin: 0.5% cholesterol plus simvastatin 30 mg/kg BW

Simvastatin + Co Q₁₀: 0.5% cholesterol, simvastatin 30 mg/kg BW plus 15 mg/kg BW

Simvastatin + Green tea: 0.5% cholesterol, simvastatin 30 mg/kg BW plus 5% green tea powder

Values are means ± SD of 10 rats.

*Values in the same row not sharing the same superscript differ (p<0.05).

3. 간의 총 콜레스테롤 및 중성지방

간의 총 콜레스테롤과 중성지방 결과는 〈Table 4〉에 제시하였다. 간의 총 콜레스테롤은 혈장의 총 콜레스테롤과 다른 경향을 보였으며, 대조군과 simvastatin군에 비해 녹차 첨가군이 유의적으로 낮게 나타났다 ($P<0.05$). 간 중성지방 또한 녹차 첨가군이 대조군에 비해 유의적으로 낮게 나타났으며 ($P<0.05$), simvastatin군도 대조군에 비해 낮게 나타났다.

김영언 등⁶⁵⁾의 보고에 의하면 고콜레스테롤 식이의 흰쥐에게 녹차추출물을 50 mg/kg BW을 4주간 투여하였을 때 정상식이의 대조군 수준으로 총콜레스테롤 수치가 유의적으로 감소하였다. Sayama 등⁶³⁾의 연구에서도 가루녹차 2%, 4% 함유식이 군에서 총 콜레스테롤과 간 중성지방이 대조군에 비해 유의적으로 감소했다고 하며, Muramatsu 등⁴⁴⁾은 1% 콜레스테롤과 15% lard에 녹차 카테킨 1%와 2%를 급여한 동물연구에서 간에서의 총지방과 콜레스테롤의 농도는 감소하였다고 보고되어 녹차 첨가에 따른 영향은 유사한 결과를 보이는 것으로 사료된다.

간은 콜레스테롤의 분배작용 및 합성과 혈장 지단백의 재조정과 관련된 기관으로 이의 지질성분 변화는 중요한 의미를 갖는다고 볼 수 있다. 고콜레스테롤 식이 급여에 따른 혈장 콜레스테롤 수준이 높아짐에 따라, 녹차첨가군은 간에서의 콜레스테롤의 합성을 낮추는 데 효과를 나타냈다.

ADR(adriamycin)을 투여한 흰쥐에 있어서 coenzyme Q₁₀ 첨가는 ADR에 의해 증가된 간 콜레스테롤 수치를 유의적으로 낮추었다는 연구결과⁶⁶⁾가 있으나, 본 실험에서는 coenzyme Q₁₀이 간 콜레스테롤 수치나 중성지방에 영향을 미치지 않았다.

본 실험결과 녹차는 고콜레스테롤 식이 급여에 따른 혈중 콜레스테롤 수치 상승을 억제하기 위하여 간에서의 콜레스테롤 생합성을 억제하며, 간에서의 지방 축적도 억제하는 기능을 가진 것으로 사료된다.

Table 4. Supplementation effects of simvastatin, coenzyme Q₁₀, green tea to cholesterol based diet on the liver levels of cholesterol and triglyceride

| | Control | Simvastatin | Simvastatin + Co Q ₁₀ | Simvastatin + Green tea |
|------------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------------------|----------------------------|
| Cholesterol based diet | | | | |
| mg/g fresh weight | | | | |
| Total-cholesterol* | 12.2±3.7 ^a | 12.0±1.8 ^a | 11.4±3.2 ^{ab} | 7.4±3.7 ^b |
| Triglyceride* | 15.2±3.0 ^a | 12.8±2.4 ^{ab} | 14.9±3.3 ^{ab} | 11.5±2.6 ^b |

Values are means ± SD of 10 rats.

*Values in the same row not sharing the same superscript differ (p<0.05).

4. 혈소판 응집

혈소판 응집에 대한 결과는 〈Table 5〉에 나타내었다.

혈소판 응집에서 초기응집곡선과 최대응집치 모두 그룹 간 유의적 차이를 보이지 않았다. 녹차 첨가군이 다른 군에 비해서 초기응집곡선은 낮고 최대응집치는 높게 나타났다.

초기응집곡선은 녹차 첨가군이 6.8 (Ω/min)으로 가장 낮고 다른 비교군은 7.5-7.7 (Ω/min)으로 비슷한 경향의 수치를 보였다.

최대응집치는 대조군과 coenzyme Q₁₀ 첨가군이 비슷한 수치로 가장 낮고, 그 다음이 simvastatin군, 녹차 첨가군 순으로 높게 나타났다.

Statin은 혈관내피세포의 기능을 회복시키고 혈소판 응집과 혈전 형성을 감소시켜 심혈관계 질환의 발생 감소에 기여한다고 알려져 있으나, 본 실험에서는 별다른 영향을 미치지 못하였다.

녹차에 다량 함유된 flavonoids는 cyclo-oxygenase와 lipoxygenase의 활성을 저해함으로써, 혈소판의 응집을 억제하여 관상심장질환, 동맥경화증, 혈전증, 고혈압을 예방한다고 알려져 있다.⁸²⁾ 또한 Lill 등⁶⁷⁾은 녹차의 카테킨 중 EGCG가 응집을 유도하는 thrombin 형성을 억제하고 혈소판의 기능을 저해하여 항혈전 작용이 있다고 보고하였다. Neiva 등⁶⁸⁾은 카테킨이 농도 의존적으로 혈소판의 과산화적 손상과 응집으로부터 혈소판을 보호해준다고 보고했다. 윤여표 등⁶⁹⁾은 in vitro 실험을 통해 다양한 혈소판 응집촉진물질 ADP (20 μM), epinephrine (10 μM), collagen (200 $\mu\text{g}/\text{ml}$), ristocetin (1.5 mg/ml)을 이용하여 녹차추출물 (1.0 mg/ml)의 효과를 살펴본 결과, ADP에서 79.6%, collagen 86.7%, epinephrine 97.5%, ristocetin 36.5%의 혈소판 응집 억제효과가 있는 것으로 나타난 반면, 아스피린의 경우 collagen, epinephrine에서만 효과가 있는 것으로 나타나 카테킨류가 아스피린 보다 광범위한 혈소판응집 제제로서의 효과가 있었다.

본 실험에서 simvastatin은 혈소판 응집 억제에 영향을 미치지 않았으며, 녹차 첨가군도 초기응집 곡선은 낮추었으나, 최대응집치는 높게 나타나 녹차 첨가에 따른 억제효과가 나타나지 않았다. 이는 녹차를 분말로 첨가함으로써 혈소판 응집과 관련된 생리활성 물질들의 흡수 정도가 낮아 억제 효과가 나타나지 않았을 것으로 사료된다.

Table 5. Supplementation effects of simvastatin, coenzyme Q₁₀, green tea to cholesterol based diet on the platelet aggregation

| | Control | Simvastatin | Simvastatin + Co Q ₁₀ | Simvastatin + Green tea |
|---|----------|-------------|-------------------------------------|----------------------------|
| Cholesterol based diet | | | | |
| Platelet Aggregation | | | | |
| Initial Slope(Ω /min) ¹⁾ | 7.7±1.8 | 7.6±1.9 | 7.5±1.1 | 6.8±1.8 |
| Maximum(Ω) ²⁾ | 10.3±2.2 | 11.3±2.0 | 10.2±2.1 | 12.0±2.8 |

Values are means \pm SD of 10 rats.

1) Initial slope ohm change for the first one minute of aggregation.

2) Maximum aggregation is ohm at the point where aggregate dissociated.

5. Hematocrit와 적혈구 용혈

Hematocrit와 적혈구 용혈 실험 결과는 〈Table 6〉에 제시하였다.

Hematocrit는 혈액에 대한 혈구의 용적을 나타낸 것으로 실험결과 모든 군에서 42-44%로 비슷한 수치를 나타내면서 유의적 차이를 보이지는 않았으나, coenzyme Q₁₀ 첨가군이 42.5%로 가장 낮게 나타났다.

적혈구 용혈은 각 그룹 간 유의적 차이는 없었으나, simvastatin을 첨가한 모든 군들이 대조군에 비해 높게 나타났다. Coenzyme Q₁₀과 녹차 첨가에 의한 용혈 억제 효과는 나타나지 않았다.

적혈구의 용혈은 적혈구 막의 안정성에 의해 좌우되며, 적혈구 막 지질의 과산화 반응은 막의 안정성에 영향을 미친다. 따라서 적혈구 막의 용혈현상을 통해 조직의 전반적인 항산화 상태의 척도를 알 수 있을 것이다.

Simvastatin 처리에 따라 coenzyme Q₁₀의 합성이 감소되어 체내 coenzyme Q₁₀양이 감소되고 이로 인해 항산화 기능이 떨어질 것이라고 생각되었으나, 다소 영향을 주긴 했지만 유의적으로 용혈이 증가되지 않아 simvastatin에 의한 적혈구 용혈이 증가된 것으로 생각할 수는 없을 것이다.

Davies와 Hochstein⁷⁰⁾은 흰쥐의 경우 생체막에서 coenzyme Q₁₀량과 free radicals 생성량 사이에 상호 관련성이 있으며, coenzyme Q₁₀이 결핍되었을 때 미토콘드리아에서 지질 과산화 반응이 촉진되어 지질과산화물 생성이 증가된다고 보고 하였고, 또한 Novoselova 등⁷¹⁾은 막에서의 coenzyme Q₁₀농도 변화가 막 성분비 이상을 초래한 결과 막에서 free radicals에 대한 민감도가 증진되어 지질과산화 반응이 촉진된다고 보고하였다. 이러한 연구결과들을 보면 coenzyme Q₁₀이 막 안정화에 기여할 것으로 여겨지나, 본 실험에서는 coenzyme Q₁₀ 첨가에 따른 적혈구 용혈 억제 효과는 나타나지 않았다.

Morel 등⁷²⁾은 rat의 hepatocyte 배양액에서 catechin, quercetin, 그리고 diosmetin의 세포보호효과는 catechin, quercetin, diosmetin 순으로 효과가 있었다고 보고하여 catechin의 세포보호 효과는 높을 것으로 생각되어 진다. Almurshed 등⁷³⁾은 CCl₄로 산화적 자극을 받은 쥐에서 녹차섭취군의 용혈반응이 유의적으로 감소하였다고 하였으며, Satoh 등⁷⁴⁾은 적혈구막에 AAPH로 처리한 후 녹차, 우롱차, 홍차 추출물을 첨가한 결과, AAPH로 손상된 적혈구막에 있어 녹차추출물의 용혈현상이

가장 낮게 나타났다고 한다.

본 실험 결과 simvastatin 처리에 따른 적혈구 용혈은 대조군에 비해 높게 나타났으나 유의적 차이를 볼 수 없었으며, 녹차나 coenzyme Q₁₀에 따른 억제 효과도 볼 수 없었다. Simvastatin 처리에 따른 coenzyme Q₁₀의 감소는 확실치 않으며, coenzyme Q₁₀이 감소하였다고 하더라도 세포막내에 존재하는 vitamin E가 radicals를 급속히 포착하여 지질과산화 연쇄반응을 막아줌으로써 simvastatin의 영향이 크게 나타나지 않았을 것으로 생각되어 진다. 또한, 산화적 스트레스가 크지 않으므로 coenzyme Q₁₀과 녹차 첨가에 따른 영향도 나타나지 않은 것으로 보인다.

현황에 있어서 simvastatin 처리에 따른 coenzyme Q₁₀의 감소 정도를 알아보기 위해서는 더 많은 연구가 이루어져야 할 것이며, coenzyme Q₁₀과 녹차의 적혈구막 보호 효과는 여러 항산화물질이 배제된 가운데서 실험이 이루어져야 할 것으로 사료된다.

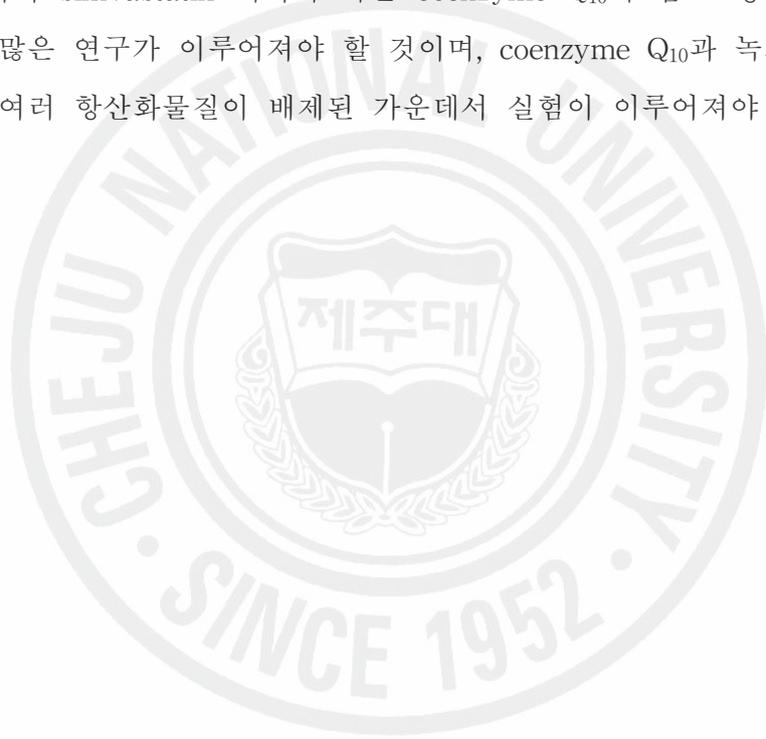


Table 6. Supplementation effects of simvastatin, coenzyme Q₁₀, green tea to cholesterol based diet on the hematocrit and hemolysis

| | Control | Simvastatin | Simvastatin + Co Q ₁₀ | Simvastatin + Green tea |
|------------------------|----------|-------------|-------------------------------------|----------------------------|
| Cholesterol based diet | | | | |
| Hematocrit(%) | 44.4±2.7 | 43.9±1.1 | 42.5±1.9 | 44.2±2.4 |
| Hemolysis(%) | 7.5±1.1 | 8.3±1.1 | 8.1±1.8 | 8.2±1.7 |

Values are means ± SD of 10 rats.

6. Intracellular Na 와 Na-leak

Intracellular Na과 Na-leak 실험 결과는 <Table 7> 에 제시하였다.

Intracellular Na은 각 그룹 간 유의적 차이가 없었으나, simvastatin을 처리한 군들이 다소 높게 나타났다. 특히, 녹차 첨가군이 가장 높게 나타났다.

Na leak를 보면 Intact 인 경우 passive Na permeability는 대조군이 가장 높게 나타났고, simvastatin군이 가장 낮게 나타났으며, coenzyme Q₁₀ 첨가군과 녹차 첨가군은 비슷한 수준으로 나타났다. AAPH처리된 상태에서의 passive Na permeability는 simvastatin군이 대조군과 coenzyme Q₁₀ 첨가군에 비해 유의적으로 낮았고 ($p < 0.05$), 녹차 첨가군에 비해서도 유의적이지는 않지만 낮게 나타났다. AAPH처리에 의한 Na passive leak의 차이는 각 그룹 간 유의적 차이가 없지만, simvastatin군과 녹차 첨가군이 AAPH처리에 의한 영향을 가장 적게 받았으며, 그 다음이 대조군, coenzyme Q₁₀ 첨가군 순이었다.

세포막의 기능은 여러 가지 광범위한 물질들에 의해 변화될 수 있다. 그 중 phenazine methoslfate (PMS)는 radical 생성을 위해 사용되는 물질로 적혈구 막을 쉽게 통과하여 세포내에서 NADH 존재 하에 활성 산소를 생성한다.⁷⁵⁾ 따라서 PMS를 처리하는 경우 막의 지질과산화는 계속해서 진행되고, 그로 인해 세포막의 손상을 가져오게 되며, 이는 passive K permeability를 증가시킨다. 본 실험에서는 PMS대신 저 농도의 AAPH를 사용하여 쥐의 적혈구 막 지질층에 손상을 주어 simvastatin 처리와 coenzyme Q₁₀, 녹차의 첨가가 세포막 항산화 기능에 어떠한 영향을 미치는 지를 살펴보았는데, simvastatin군과 녹차 첨가군이 다른 비교군에 비해 AAPH처리에 의한 영향을 다소 적게 받았다.

Saffari 등⁷⁶⁾의 in vitro실험에서 사람의 적혈구 막을 t-butylhydroperoxide (t-BHP)로 산화적 손상을 주었을 때, t-BHP처리보다 t-BHP와 EGCG를 같이 처리한 군에서 지질과산화물량이 유의적으로 감소하였다. 더불어 김은성 등⁵⁵⁾은 적혈구에서 항산화 효소들의 활성을 측정된 결과 대조군에 비해 catalase, SOD, GSH-px의 활성이 녹차 추출물군에서 가장 높게 나타났다고 하였다.

본 실험에서 녹차 첨가군은 AAPH 처리에 의한 영향을 적게 받았는데, 이러한 결과는 위의 실험 결과^{76, 55)}들을 종합해 볼 때 녹차에 들어있는 카테킨 등의 생리활성물질에 의한 항산화 작용에 의한 것으로 생각되어진다.

Table 7. Supplementation effects of simvastatin, coenzyme Q₁₀, green tea to cholesterol based diet on the erythrocyte Na efflux

| | Control | Simvastatin | Simvastatin + Co Q ₁₀ | Simvastatin + Green tea |
|--------------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------------------|----------------------------|
| Cholesterol based diet | | | | |
| | <i>mmole/ l rbc</i> | | | |
| Intracellular Na ¹⁾ | 1.98±0.39 | 2.09±0.42 | 2.25±0.72 | 2.60±0.67 |
| | <i>mmole/ l rbc/ hr</i> | | | |
| Na Leak ²⁾ | | | | |
| Intact | 0.24±0.11 | 0.14±0.1 | 0.20±0.08 | 0.20±0.05 |
| AAPH* | 0.26±0.11 ^a | 0.15±0.04 ^b | 0.26±0.07 ^a | 0.21±0.06 ^{ab} |
| △ Na-leak | 0.02±0.28 | 0.01±0.16 | 0.06±0.17 | 0.01±0.06 |

Values are means ± SD of 10 rats.

*Values in the same row not sharing the same superscript differ (p<0.05)

1) Intracellular Na ; upper values are for intact red blood cells. (Na *mmole/ l rbc*)

2) Na leak is Na efflux through passive sodium channel in red blood cells.(*na mmole/ l rbc/ hr*)

7. 혈장 TBARS의 수준

단백질과 지질의 과산화 정도를 측정하는 TBARS 측정 결과는 〈Table 8〉에 제시하였다.

혈장 TBARS 생성 수준은 유의적이지는 않지만, simvastatin 군이 다른 비교군에 비해 다소 높게 나타났다. Coenzyme Q₁₀ 첨가군과 녹차 첨가군은 혈장 TBARS 생성 수준을 simvastatin군과 대조군에 비해 유의적으로 낮추었다 ($p < 0.05$).

혈장 TBARS 생성 정도를 측정하는 실험은 각 물질의 항산화 효과를 알아보기 위한 것이다. Colquhoun 등⁷⁷⁾은 사람에게 20 mg/day의 simvastatin을 한 달 동안 투여하였을 때 24%의 coenzyme Q₁₀이 감소되었다고 보고하였으나, 본 실험에서는 simvastatin에 의한 coenzyme Q₁₀ 감소가 뚜렷하게 나타나지는 않았다.

서정숙 등⁷⁸⁾의 연구에서 ADR 투여에 의한 혈장과 심장 미토콘드리아 분획에서의 지질 과산화물 함량은 현저하게 증가되었으나, coenzyme Q₁₀을 공급함으로써 지질 과산화물 함량이 저하되었다고 보고하였다. Mimnaugh 등⁷⁹⁾은 ADR 대사산물인 semiquinone기가 지질 과산화물 형성을 증가시키나, coenzyme Q₁₀, Vitamin A, E, C 같은 항산화 기능을 가진 물질들을 공급하였을 때 심장과 간 등 여러 조직에서 지질과산화물 함량이 감소되었다고 하였다. Hino 등⁸⁰⁾과 Folkers 등⁸¹⁾의 보고에 의하면 ADR 투여 후 일어난 부작용에 대해 coenzyme Q₁₀ 공급이 여러 가지 보호 효과를 보였으며, 심장 미토콘드리아에서 지질과산화물 함량을 저하시켰다고 보고하였다. 본 실험에서도 coenzyme Q₁₀ 첨가군이 대조군과 simvastatin군에 비해 TBARS 생성이 유의적으로 낮게 나타나 위의 연구결과들과 비슷한 경향을 보였다.

녹차에 다량 함유된 flavonoids는 free radicals를 효과적으로 소거하고 Fe⁺²와 Cu⁺²같은 금속을 킬레이트할 뿐만 아니라 항산화 효소의 활성을 증가시킴으로써 지질과산화와 LDL의 산화를 방지한다고 알려져 있다.⁸³⁾ 김은성 등⁵⁵⁾은 녹차 추출물과 녹차 분말을 각각 5%씩 쥐에게 섭취시켜 혈장 TBARS 수준을 측정한 결과 대조군에 비해 녹차 섭취군이 낮게 나타났으며, 간에서의 TBARS 수준도 대조군보다 녹차 섭취군이 유의적으로 감소하여 녹차가 체내의 지질과산화를 효과적으로 억제하였다고 보고하였다. Sano 등⁸⁴⁾의 연구에서는 녹차와 홍차가 함유된 식이를 섭취한 쥐의 간과 신장에서 t-BHP에 의한 지질과산화가 억제됨을 보고 하였다.

정세원 등⁸⁵⁾은 5%의 녹차건분을 식이에 첨가하여 공급한 결과 혈장과 간의 TBARS 생성이 대조군에 비해 유의적으로 낮추었다고 보고하였다. Grinberg 등⁸⁶⁾의 연구에서는 in vitro 실험에서 녹차 폴리페놀을 처리하였을 경우 과산화수소에 의해 생성된 지질과산화물의 함량이 유의적으로 감소하였다. 또한 혈관내피 세포(HUVEC)에서 LDL의 산화를 유도하여 실험한 Yang 등⁸⁷⁾의 연구에서 녹차를 처리하였을 때 대조군에 비해 지질과산화물의 함량이 유의적으로 감소하였다고 한다. 본 실험에서도 녹차 첨가군이 대조군 simvastatin군에 비해 유의적으로 TBARS 생성이 감소됨을 볼 수 있다.

본 실험결과 TBARS 생성에 있어서 simvastatin군이 대조군에 비해 약간 높긴 하지만 비슷한 수치를 나타냄으로써 simvastatin 처리에 따른 혈장에서의 항산화 기능 감소는 명백하지 않은 것으로 생각되어진다. 그러나 coenzyme Q₁₀ 첨가군과 녹차 첨가군의 TBARS 생성 수준이 유의적으로 낮으므로 coenzyme Q₁₀과 녹차는 탁월한 항산화 효과를 가진 항산화제로서의 가능성을 제시할 수 있을 것으로 사료된다.

Table 8. Supplementation effects of simvastatin, coenzyme Q₁₀, green tea to cholesterol based diet on the production of TBARS in plasma

| | Control | Simvastatin | Simvastatin + Co Q ₁₀ | Simvastatin + Green tea |
|--------|------------------------|------------------------|-------------------------------------|----------------------------|
| | Cholesterol based diet | | | |
| | <i>μmole/l</i> | | | |
| TBARS* | 0.10±0.02 ^a | 0.11±0.01 ^a | 0.06±0.01 ^b | 0.06±0.02 ^b |

Values are means ± SD of 10 rats.

*Values in the same row not sharing the same superscript differ (p<0.05)

8. 간 동맥 조직 관찰

간 조직 및 동맥조직 관찰 사진을 <Figure 6와 7>에 제시하였다. 간 조직의 경우 대조군에 비해서 simvastatin군 coenzyme Q₁₀ 첨가군, 녹차 첨가군의 지방구 크기 및 숫자가 감소하게 보였다. 대조군의 간 조직은 지방구 크기가 조금 컸으며, 숫자도 다소 맞게 보인 반면, simvastatin군 coenzyme Q₁₀ 첨가군, 녹차첨가군은 지방구가 소지방구로 보였다. 간 중성지방인 경우 대조군에 비해 녹차 첨가군이 유의적으로 낮게 나타났듯이 조직 관찰에서도 대조군에 비해 녹차첨가군의 지방구가 거의 보이지 않았다. 김영언 등⁶⁵⁾은 고콜레스테롤 식이를 섭취한 군의 간세포는 세포질 내 다량의 지질침착에 따라 포말형 세포로 변형되어 있었지만, 녹차섭취군은 이러한 foamy hepatocytes의 분포가 중심정맥 주위로 상당히 제한되어 나타났다. 채희열 등⁸⁸⁾의 연구에서 토끼에게 고콜레스테롤 식이에 녹차추출물이나 lovastatin을 첨가하여 급여한 경우 대조군에 비해 간의 중량이 다소 완화되었고, 포말형 세포가 centrilobular regions에 국한되어 나타남으로써 상당히 개선된 소견을 나타내었다고 하였다. 본 실험에서도 같은 결과를 보여 simvastatin군 coenzyme Q₁₀ 첨가군, 녹차 첨가군이 다소 개선 효과를 보였다. 따라서 이러한 물질들에 의해 간세포 내 지질 축적이 완화된 것으로 보인다.

동맥 조직인 경우 군 간 차이는 뚜렷하지 않다. Statin은 동맥 내피 세포 기능을 좋게 하여 콜레스테롤 수준을 낮추는 효과 이외 항동맥경화 작용을 한다고 알려져 있다.⁶⁾

채희열 등⁸⁸⁾의 연구에서 보면 10주간 고콜레스테롤 식이를 한 토끼의 동맥벽은 심한 비후를 나타냈으며, oil red O에 붉게 염색되는 두꺼운 atheromatous plaques를 보여주었고, 이에 비해 2주간 고콜레스테롤 식이 후 8주간 고콜레스테롤 사료에 녹차추출물을 혼합하여 급여한 토끼의 동맥벽은 아주 얇은 oil red O 염색 지질층을 보여주었다고 한다. 또한 lovastatin을 투여한 동물 또한 효과적으로 지질층이 감소하여 미약한 동맥 경화 소견을 나타내었다고 한다. 녹차추출의 동맥경화 완화 효과에 대한 작용기전을 녹차에 다량 함유되어 있는 카테킨의 혈중 콜레스테롤 저하효과에 기인하는 것으로 보고되어 지고 있다. 그러나 본 연구에서는 녹차가 혈중 LDL-콜레스테롤을 감소하고, HDL-콜레스테롤을 증가시키는데 영향을 미치지 못하였으므로 동맥 조직에 별다른 차이를 발견할 수 없었던 것으로 사료되어 진다.

또한 simvastatin 처리에 따른 혈중 콜레스테롤 저하효과도 본 실험에서 나타나지 않았으므로 마찬가지로 동맥 조직에 별다른 차이를 보이지 않는 것으로 보여 진다. 본 실험에서는 지속적으로 고콜레스테롤 식이를 급여함으로써 지속되는 lipoproteins의 생성 및 대사에 simvastatin처리와 더불어 coenzyme Q₁₀과 녹차 첨가가 충분한 영향을 미치지 못하여서 동맥조직에도 영향을 미치지 못한 것으로 생각되어 진다.



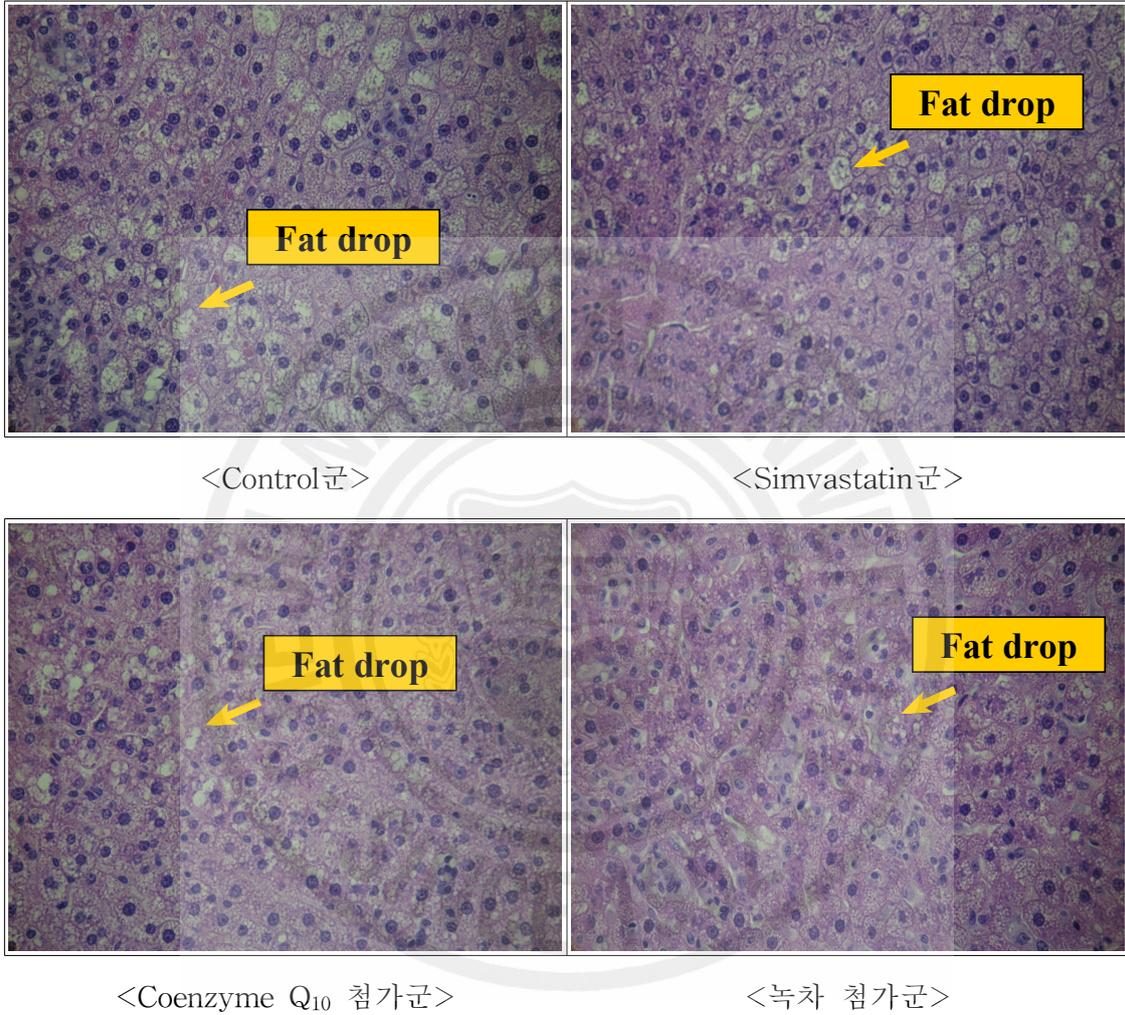
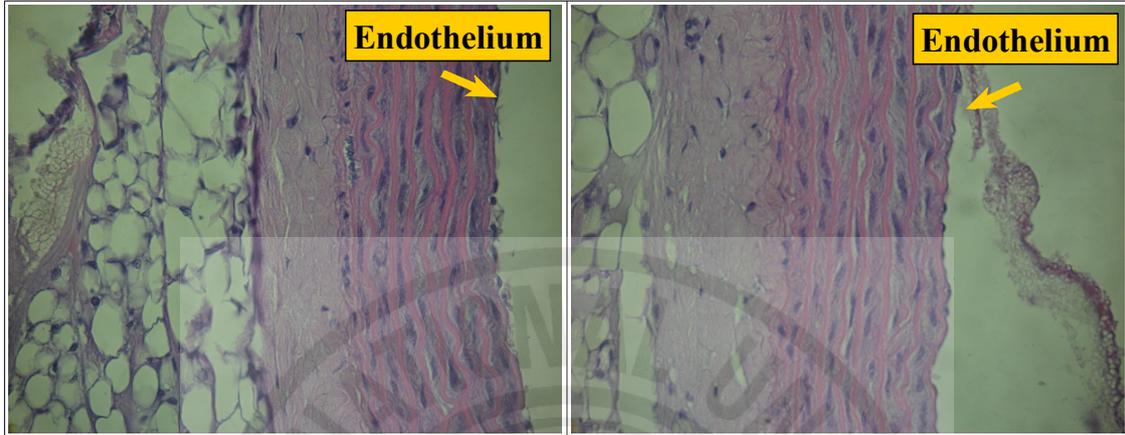
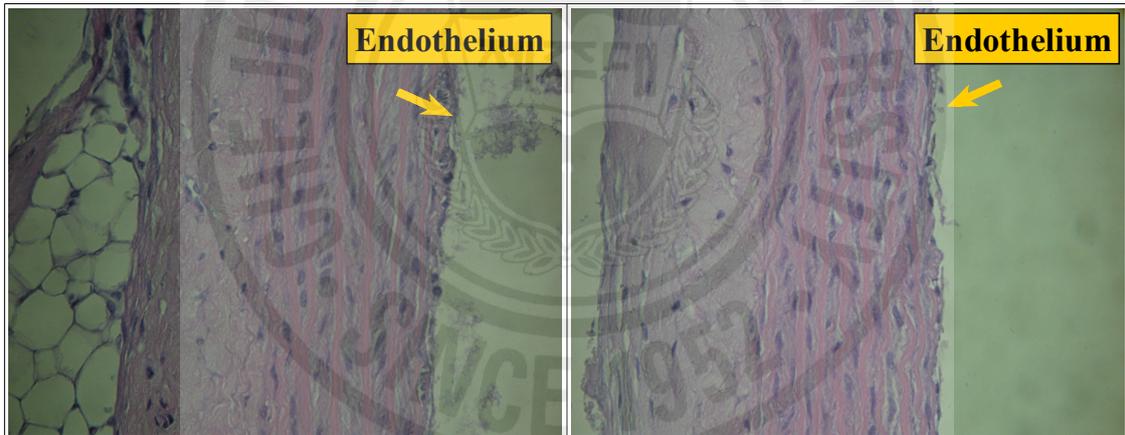


Figure 6. Microscopic appearance of liver tissue (×400)



<Control군>

<Simvastatin군>



<Coenzyme Q₁₀ 첨가군>

<녹차 첨가군>

Figure 7. Microscopic appearance of aorta tissue (×400)

IV. 결 론

본 연구에서는 고콜레스테롤 혈증 흰쥐에게 simvastatin 처리(30 mg/kg BW)와 coenzyme Q₁₀, 녹차 첨가가 체내 지질 대사, 혈소판 응집, 적혈구 막에 미치는 영향에 대해 알아보고자 대조군 (0.5 % 콜레스테롤 식이), simvastatin군 (콜레스테롤식이+30 mg/kg BW simvastatin), coenzyme Q₁₀ 첨가군 (simvastatin 식이+ 15 mg/kg BW coenzyme Q₁₀), 녹차 첨가군 (simvastatin 식이+ 5% 녹차가루)으로 구성하여 *in vivo* 실험을 4주간 수행하였다. 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 증체량, 식이섭취량, 간/체중 무게비에 있어서 각 그룹간 유의적 차이는 없었다. Simvastatin군은 섭취량이 적고 증체량은 낮아서 같은 섭취량의 녹차 첨가군에 비해 식이효율(FER)이 유의적으로 낮았다 ($p<0.05$).

2. Simvastatin군의 혈장 총 콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤은 대조군에 비해 다소 높았고, coenzyme Q₁₀이나 녹차 첨가는 이들을 더욱 증가시켰다. HDL-콜레스테롤은 각 그룹 간 유의적 차이는 없었으나, coenzyme Q₁₀ 첨가군이나 녹차 첨가군이 대조군과 simvastatin군에 비해 다소 높게 나타났다. Simvastatin군의 혈장 중성지방은 대조군에 비해 다소 낮았으나, coenzyme Q₁₀이나 녹차 첨가에 의해 증가되어 녹차군과 비교했을 때 유의적으로 낮았다 ($p<0.05$).

3. 간의 총 콜레스테롤은 simvastatin군과 대조군사이에 차이가 없었으나, 녹차 첨가군에서 크게 감소하여, 다른 비교군에 비해 유의적으로 낮았다 ($p<0.05$). 간 중성지방은 simvastatin군이 대조군에 비해 감소되었고, 녹차 첨가군에서 더욱 낮아져 대조군에 비교해 유의적으로 낮추었다 ($p<0.05$).

Simvastatin는 혈장과 간에서 중성지방 강하 효과를 보였고, 녹차 첨가는 간에서 콜레스테롤과 중성지방 강하 효과를 보였다.

4. 혈소판응집은 각 그룹 간에 유의적 차이는 나타나지 않았지만, 녹차첨가군은 다른 군에 비해 초기응집은 낮고, 최대응집치는 높게 나타났다.

5. 적혈구 용혈에서는 각 그룹간 유의적 차이는 없었으나, simvastatin 첨가군들에서 대조군에 비해 다소 높은 경향을 보였다.

6. Intact 적혈구의 Na passive leak이 simvastatin군에서 가장 낮았고, AAPH 처리

에 대한 반응도 가장 낮아 Na passive leak 증가가 가장 적었다.

7. TBARS생성에 있어서 simvastatin군은 대조군에 비해 다소 높았으나, coenzyme Q₁₀ 첨가군 이나 녹차 첨가군에서 억제되어 simvastatin군과 비교해서 유의적으로 낮았다 ($p < 0.05$).

본 실험 결과 simvastatin 처리에 따른 콜레스테롤 강하 효과가 흰쥐에 있어서는 나타나지 않음을 볼 수 있어 simvastatin 처리에 의한 coenzyme Q₁₀ 감소도 흰쥐에 있어서는 일어나지 않을 수도 있을 것으로 생각되어진다. Coenzyme Q₁₀과 녹차에 의한 혈장 지질 개선 효과는 나타나지 않았으나, 녹차인 경우 간에서 총 콜레스테롤과 중성지방을 유의적으로 낮추어 간에 있어서의 지질 개선 효과가 큰 것으로 여겨진다. 그리고 coenzyme Q₁₀과 녹차는 혈장 TBARS 생성을 효과적으로 억제함으로써 항산화 기능의 높은 물질로 유용할 것이라 여겨진다.



V. 참고문헌

1. 2005년 우리나라 국민의 사망원인별 통계분석자료. 대한통계협회. 2005
2. Kannel WB, Castelli WP, Gordon T, McNamara PM. Serum cholesterol, lipoproteins, and the risk of coronary heart disease: the Framingham study. *Ann Intern Med.* 1971;74:1-12.
3. Dietschy, JM and Wilson, JD. Regulation of cholesterol Metabolism. *N. Eng. J. Med.* 1970;282:1179-1183.
4. Recto CS 2nd, Acosta S, Dobs A. Comparison of the efficacy and tolerability of simvastatin and atrovastatin in the treatment of hypercholesterolemia. *Clin Cardiol* 2001;23:682-688
5. Russell DW. Cholesterol biosynthesis and metabolism. *Cardiovascular Drugs Ther.* 1992;6:103-110
6. Wolfrum S, Jensen KS, Liao JK. Endothelium-Dependent Effects of Statins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:729-736
7. Insull W, Kafonek S, Goldner D, Zieve F. Comparison of efficacy and safety of atrovastatin(10mg) with simvastatin (10mg) at six weeks. *Am J Cardiol* 2001;87:554-559
8. Goli AK, Goli SA, Byrd RP Jr, Roy TM. Simvastatin-induced lactic acidosis: a rara adverse reaction? *Clin. Pharmacol Ther.* 2002;72(4):461-464
9. Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J.* 1984; 219: 1-14

10. E. Niki, T Saito, A Kawakami, Y Kamiya. Inhibition of oxidation of methyl linoleate in solution by vitamin E and vitamin C. *J. Bio. Chem.* 1984;59: 4177-4182
11. Lee SE. Antioxidative characteristics of Chamchwi(*Aster scaber* Thunb.) and identification of the active compounds. *PhD Dissertation. Pusan National University.* 2001; 1-30
12. Freeman BA, Grapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest.* 1982; 47: 412-426
13. Fridovich I. Biological effects of the superoxide radical. *Arch Biochem Biophys.* 1986; 247:1-11
14. Kuhn MA. Oxygen free radicals antioxidants. *Am J Nurs.* 2003;103:58-62
15. Crane, FL, Hatefi, Y, Lester, RL and Widmer, C. Isolation of quinone from beef heart mitochondria. *Biophys. Acta.* 1957;25:220-221
- 16.. Wolf, DE, Hoffman CH, Trenner NR, Arison BH, Shunk, CH, Linn, BO, McPherson, JF and Folkers, K. Structure studies on the Q group. *J. Am. Chem. Soc.* 1958;80:4752-4758
17. Ernster L. Forsmark-Andree P. Ubiquinol: an endogenous antioxidant in aerobic organisms. *Clinical Investigator* 1986; 71(suppl 8):S60-S65
18. Meganathan A. Biosynthesis of the isoprenoid quinones, menaquinone(vitamin K2) and ubiquinone(coenzyme Q); in *Escherichia coli* and *Salmonella*. *Cell. Mol. Bio.* 1996;642-656
19. Grane, F. L. "in biochemistry of Quinones" (R. A. Morton, ed.), *Academic*

Press, London. 1961:183.

20. Szarkowska, L. The restoration of DPNH oxidase activity by coenzyme Q(ubiquinone). *Arch. Biophys.* 1966;113(3):519-525

21. Britta, S. and Robert, K. P. Microbial ubiquinones: multiple roles in respiration, gene regulation and oxidative stress management. *Microbiology* 1999;145:1817-1830

22. Ernster, L. and Dallner, G. Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochim Biophys Acta.* 1995;1271:195-204

23. Hoppe, U., Bergemann, J., Diembeck, W., Ennen, J., Gohla, S., Harris, I., Jacob, J., Kielholz, J., Mei, W., Pollet, D., Schachtschabel, D., Sauermann, G., Schreiner, V., Stab, F. and Steckel, F. Coenzyme Q10, a cutaneous antioxidant and energizer. *Biofactors* 1999;9(2-4):371-378

24. Biondi C, Galeazzi R, Littarru G, Greci. Reduction of 1,4-quinone and ubiquinones by hydrogen atom transfer under UVA irradiation. *Free Radic Res.* 2002;36(4):399-404

25. Lenaz G., Cavazzoni, M., Genova, M. L., D'Aurelio, M., Pich, M. M., Pallotti, F., Formiggini, G., Marchetti, M., Castelli, G. P. and Bovina, C. Oxidative stress, antioxidant defences and aging. *Biofactors* 1998;8(3-4):195-204

26. Steve Austin. Recent Progress in Treatment and Secondary Prevention of Breast cancer with supplements. *Alternative Medicine Review.* 1977;2(1):4-11

27. Lockwood K, Moesgaard S, Folkers K. Partial and Complete Regression of Breast Cancer in Patients in relation to Dosage of coenzyme Q10. *Biochem.*

Biophys. Res. Commun. 1994;199(3): 1504-1508

28. Portakal O, Ozkaya O, et al. Coenzyme Q10 concentrations and Antioxidant status in Tissues of Breast Cancer Patients. *China Biochem.* 2000;33(4):279-284

29. Lockwood K, Moesgaard S, Yamamoto T, Folkers K. Progress on Therapy of Breast cancer with vitamin Q10 and the Regression of Metastases. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995;212(1):172-177

30. Bliznakov, E.G. Coenzyme Q in Experimental Infections and Neoplasia. In *Biochemical and Clinical Aspects of Coenzyme Q10*. Folkers, K., and Yamamura, Y., eds, *Elsevier Scientific Publishing, Amsterdam*. 1977; 73-89

31. 2000 Annual Report on the cause of Death Statistics, National Statistics office. *Republic of Korea*. 2001

32. Wu JH, Kao JT, Wen MS. Coronary artery disease risk predicted by plasma concentration of HDL cholesterol, apolipoprotein AI, apolipoprotein B, and lipoprotein(a) in ageneral Chinese population. *Clin Chem.* 1993;39:209-215

33. Robak J. Gryglewski RJ. Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochemical Pharmacology.* 1998;37:837-841

34. Husain SR, Chillard J, Cillard P. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry.* 1987;26:2489-2491

35. Imai K. Nakachi K, Cross sectional study of effects of drinking green tea on cardiovascular and liver diseases. *Br Med J.* 1995;310:693-696

36. Vinson JA, Dabbagh YA. Effect of green and black tea supplementation on

lipids, lipid oxidation and fibrinogen in hamster: Mechanisms for the epidemiological benefits of tea drinking. *FEBS Lett* 1998;33(1-2):44-46

37. Muramatsu K, Fukuyo M, Hara Y. Effect of green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol-fed rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 1986;2(6):613-622

38. Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complication. *Diabetes Care* 1996;19:257-267

39. Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev* 1998; 56(11):317-333

40. Yukio M, Tsuyoshi C, Isao T, Haruko K, Shinji M, Keizo U, Yikihiko H, Masahiko I, Takako T. Tea catechins prevent the development of atherosclerosis in apoprotein E-deficient mice. *J Nutr.* 2001;131:27-32

41. S Khokhar, SGM Magnusdottir. Total phenol, catechin and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom. *J Agric Food Chem* 2002; 50:565-570,

42. Cai. H. Harrison DC. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases; the role of oxidant stress. *Circ Res.* 2000;87:840-844

43. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature.* 2001;414:813-820

44. Muramatsu K, Fukuyo M, Hara Y. Effect of green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol-fed rats. *J Nutr Sci Vitaminol.* 1986;32(6):613-622

45. 최원경, 박정현, 김성환, 이도영, 이용창. 암세포의 종류에 따른 녹차 Catechin

의 항암효과. *한국영양학회지*. 1999;32(7):838-843

46. Trevisanato SI, Kim YI. Tea and Health. *Nutr Review*. 2000;58:1-10
47. Friedwald WT, Le vy RI, Frdreicson DS. Estimation of the concentration of low density-lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499
48. Smith, J.B., Ash, K.O., Hentschel, W.M., Sprowell, W.L., Williams, R.R. A simplified method for simultaneously determining countertransport and cotransport in human erythrocyte. *Cin Chim Acta*, 1984b;137:167-177
49. Smith, J.B., Ash, K.O., Sprowell, W.L., Hentschel, W.M., Williams. R.R. An improved non-radioisotopic method for increasing ouabain-sensitive Na efflux from erythrocytes. *Clin Chim Acta*, 1984a;143:295-299
50. Draper, HH and Csallany, AS. A simplified hemolysis test for vitamin E deficiency. *J Nutr* 1969;98:390-394
51. Buckingham, KW. Effects of dietary Polyunsaturated/Saturated Fatty Acid Ratio and Dietary Vitamin E on Lipid Peroxidation in the Rat. *J Nutr* 1985;115:1425-1435
52. Yagi K. A simple fluometric assay for lipoperoxide in plasma. *Biochem Med*. 1976;15:212-216
53. Shin, MK, Kim, DH Han SH. Effects of Dried Green Tea Leaf Powder of Serum on Lipid Concentrations in Rats Fed High Fat Korean J. Food culture 2003;18(3)

54. 강민숙, 강정숙. 감귤박, 다시마, 손바닥 선인장 분말을 함유한 식이의 급여가 고콜레스테롤혈증 흰쥐의 체내 지질수준과 장내 콜레스테롤 흡수, 혈소판 응집성 및 간 조직에 미치는 영향. *한국영양학회지*. 2001;34(2):141-149
55. Kim, ES, Kim MK. Effect of Dried powders and Ethanol of Persimmon, Green Tea and Pine Needle on Lipid Metabolism and Antioxidant Capacity in rats. *The Kor. J. of Nutr.* 1999;32(4):337-352
56. Tonooka, F. Matsumoto, N. Ishigaki, A. and Hara, Y The effects of crude catechins of tea on the food in take and body fat in rat. *Proceeding Int. Symp Tea Sci.* 1991;366
57. 김희선, 오연. 녹차 및 지골피의 섭취가 고지방식을 한 흰쥐의 혈청 지질성분 및 간 소포체에서의 과산화지질 형성에 미치는 영향. *Soonchunhyang J. Nat. Sci.* 2000;6(1):121-125
58. Marinari UM, Pronzato MA, Dapino D, Gazzo P, Traverso N, Cottalasso D, Odetti P. Effects of simvastatin on liver and plasma levels of cholesterol, dolichol and ubiquinol in hypercholesterolemic rats. *Ital J Biochem.* 1995;44(1):1-9
59. Shalaby MA, el-Zorba HY, Kamel GM. Effect of alpha-tocopherol and simvastatin on male fertility in hypercholesterolemic rats. *Pharmacol Res.* 2004;50(2):137-42
60. 김영건, 전은석, 구대회. 고지혈증에 대한 Lovastatin (MEVACOR)의 치료효과. *충남의대잡지*, 1990;17(2):371-376
61. 박영배 김동운 조승연 채인호 김재형 김철호 강정채 정진원 김종성 김효수 손민수 배종화 고재기 채성철 김권삼 유언호 이철환 전은석 김권배 신현호 서정돈 이

원로 최경훈 신영우 박정의 신길자 안정천 임종윤 최성준 노영무 이건주 홍순표.
한국인에서 심바스타틴의 효과와 부작용 분석을 위한 다기관 공동 임상 연구. *대한
내과학회지* 1999;57(5):906-915

62. 이재건, 김화민, 이현희, 최혜진, 박창하, 서명덕, 정재천, 조한균, 최성식, 이지현,
김석연, 이우승. 고콜레스테롤혈증 치료에서 심바스타틴 10 mg과 20 mg 사용시의
효능 및 안정성 비교 연구. *대한내과학회지*, 2002;63(1) 46-53

63. Kazutoshi Sayama, Shi Xing Lin, Guo Dong Zheng, Itaro Oguni.
Anti-obesity Effects of Green Tea Powder and Its Components. *한국식품
과학회 국제녹차심포지움*. 2003;7:55-62

64. Raederstorff DG, Schlachter MF, Elste V, Weber P. Effect of EGCG on
lipid absorption and plasma lipid levels in rats. *J. Nutr. Biochem.* 2003;
14(6):326-332

65. 김영언, 오세욱, 권은경, 한대석, 김인호, 이창호. 녹차, 메밀, 포도잎 추출물
이 고콜레스테롤 급여 흰쥐의 지질대사, TBARS 및 혈액응고에 미치는 영
향. *Korean J. Food Sci. Technol.* 2004;36(6):979-985

66. 양경미, 정영아, 서정숙. 식이 중에 첨가한 Coenzyme Q10과 Vitamin E가
Adriamycin을 투여한 흰쥐의 간 지질대사에 미치는 영향. *J. Korean Soc. Food
Nutr.* 1992;21(5):484-489

67. Lill G, Voit S, Schror K, weber AA. Complex effects of different green
tea catechins on human platelets. *FEBS Lett.* 2003;546(2-3):265-70

68. Neiva TJ, Morais L, Polack M, Simoes CM, D'Amico EA. Effects of
catechins on human blood platelet aggregation and lipid peroxidation.
Phytother Res 1999;13(7):597-600

69. 윤여표, 강원식, 이미애. 녹차 카테킨류의 항혈전효과. *한국식품위생안전성학회지*. 1996;11(2):77-82
70. Davis, KJA and Hochstein, P. Ubiquinone radicals in liver : Implications for a mitochondrial Q cycle in vivo. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*. 1982;107:1292
71. Noveselova, EG, Kolomiytseva, IK, Obolnikova, EA, Samokhvalov, GI and Kuzin, AM. The role of ubiquinones in the regulation of lipid metabolism in rat thymocytes. *Bull. Exp. Biol. Lipid Peroxi. Med.*, 1989;4:440
72. Morel, I, Gerare Lescoat, Pascale Cogrel, Odile Sergent, Nicole Pasedeloup, Pierre Brissot, Pierre Cillard and Josiane Cillard. Antioxidant and Iron-Chelating activities of the Flavonoids Catechin, Quercetin and Diosmetin on Iron-Loaded Rat Hepatocyte Cultures. *Biochemical Pharmacology* 1993;45(1):13-19
73. Almurshed KS. Protective effect of black and green tea against carbon tetrachloride-induced oxidative stress in rats. *Saudi Med J*. 2006;27(12):1804-1809
74. Satoh E, Tohyama N, Nishimura M. Comparison of the antioxidant activity of roasted tea with green, oolong, and black teas. *Int J Food Sci Nutr*. 2005;56(8):551-559
75. Maridonneau I, Braquet P, Garay RP. Na⁺ and K⁺ transport damage induced by oxygen free radicals in human red cell membranes. *J. Biol. Chem.* 1983;258(5):3107-3113
76. Saffari Y, Sadrzadeh SM. Green tea metabolite EGCG protects membranes against oxidative damage in vitro. *Life Sci*. 2004;74(12):1513-8

77. Colquhoun, DM, Jackson, R, Walters, M, Hicks BJ, Goldsmith, J, Young P. Effects of simvastatin on blood lipids, vitamin E, coenzyme Q10 levels and left ventricular function in humans. *European Journal of Clinical Investigation* 2005;35:251-258
78. 서정숙, 양경미, 정영아. Coenzyme Q₁₀과 Vitamin E 첨가 식이가 Adriamycin을 투여한 흰쥐의 체내 지질과산화에 미치는 영향. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 1991;20(4):320-328
79. Mimnaugh, EG, Trush MA, Bhatnagar M and Gram, TE. Enhancement of reactive oxygen-dependent mitochondrial membrane lipid peroxidation by anticancer drug adriamycin. *Biochem. Pharma.* 1985;34:847
80. Hino, Y, Yoo, SB, Kaglyama, A and Ogura R. Effect of riboflavin-butyrate on cardiac glutathione reductase affected by adriamycin. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 1985;31:139
81. Folkers, K, Choe, JY and Combs, AB. Reactive coenzyme Q10 from electrocardiographic abnormalities caused by the toxicity of adriamycin in the rat. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1978;75:5178
82. Anna O, Milena B, Marco S, Nadia P, Gian FM, Clandio G. Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. *Thrombosis Res* 1995;78:151-160
83. Ishikawa T, Suzukawa M, Ito T, Yoshida H, Ayaori M, Nishiwaki M, Yonemura A, Hera Y, Nakamura H. Effect of tea flavonoid supplementation on the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative modification. *Am J Clin Nutr* 1997;66(2):261-266

84. Sano M, Takahashi Y, Yoshino K, Shimoi K, Nakamura Y, Tomita I, Oguni I, Konomoto H. Effect of tea (*Camellia sinensis* L.) on lipid peroxidation in rat liver and kidney: a comparison of green and black tea feeding. *Biol. Pharm. Bull.* 1995; 18(7): 1006-1008
85. Jung, Sow, Kim, MK, Effect of Dried Powders of Chamomile, Sage, and Green Tea on Antioxidative Capacity in 15-Month-Old Rats, *The Korean J Nutr* 2003;36(7):699-710
86. Grinberg LN, Newmark H, Kitrossky N, Rahamim E, Chevion M, Rachmilewitz EA. Protective effects of tea polyphenols against oxidative damage to red blood cells. *Biochem. Pharmacol.* 1997; 54(9): 973-978
87. Yang TT, Koo MW. Inhibitory effect of Chinese green tea on endothelial cell-induced LDL oxidation. *Atherosclerosis.* 2000; 148(1): 67-73
88. 채희열, 권운, 김태명, 김한얼, 이남진, 신지순, 이덕근, 박종범, 박승경, 황석연, 김윤배, 강종구. 고콜레스테롤혈증 토끼에서 녹차추출물의 동맥경화 치료효과. *한국동물실험학회지* 2004;20(3):245-251

VI. 초 록

HMG CoA reductase 억제제인 statin은 사람에게서 콜레스테롤을 가장 효과적으로 낮추는 약물 중의 하나로 인식되고 있다. Statin 투여는 콜레스테롤과 생합성 과정을 공유하는 coenzyme Q₁₀의 생성을 감소한다고 보고되어 졌다. Coenzyme Q₁₀의 환원된 형태인 ubiquinol은 라디칼 scavenger로서 작용하므로 coenzyme Q₁₀의 감소는 항산화 기능의 감소로 이어질 것이다. 본 연구에서는 statin 투여에 따른 감소된 항산화 기능이 coenzyme Q₁₀과 녹차의 식이 첨가에 의해 회복될 수 있는지를 관찰해 보고자 한다.

대조군은 0.5 % 콜레스테롤이 함유된 식이, simvastatin군은 콜레스테롤 식이에 30 mg/kg BW simvastatin이 첨가된 식이, coenzyme Q₁₀ 첨가군과 녹차 첨가군은 simvastatin 식이에 15 mg/kg BW coenzyme Q₁₀, 5% 녹차가루를 각각 첨가한 식이를 각 그룹 당 10마리의 Sprague Dawley 숫쥐로 4그룹을 구성하여 4주간 급여하였다. 혈장·간의 지질 수준과 항산화와 관련된 지표인 혈소판 응집, 적혈구 Na leak, 적혈구 용혈, 그리고 TBARS 생성에 대한 실험을 수행하였다.

식이효율은 녹차첨가군이 simvastatin군과 비교해 유의적으로 높게 나타났다 ($p < 0.05$). 간 무게/체중 비는 그룹 간 차이가 없었다. 혈장 총 콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤은 대조군에 비해 simvastatin군에서 다소 증가되었고 coenzyme Q₁₀과 녹차는 이 수치에 영향을 미치지 않았다. Simvastatin군은 혈장 중성지방을 감소하였고 녹차 첨가군과 비교해 유의적 차이를 보여주었다 ($p < 0.05$). 간 총콜레스테롤은 대조군과 simvastatin군 사이에 별 차이가 없었지만, 녹차 첨가군이 다른 군에 비해 유의적으로 감소되었다 ($p < 0.05$). 간 중성지방은 simvastatin군이 대조군에 비해 감소되었고, 녹차 첨가군은 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다 ($p < 0.05$). 혈소판 응집은 initial slope과 maximum aggregation에서 모두 유의적 차이가 없었다. 그러나 녹차 첨가군은 다른 군에 비해 initial slope은 낮고 maximum aggregation은 높은 경향을 보였다. 적혈구 용혈은 simvastatin을 투여한 모든 군이 대조군에 비해 증가되었으나, 유의적 차이는 없었다.

본 연구 결과 과량의 statin 처리에도 불구하고 statin은 콜레스테롤 강하효과를 보이지 않았으므로 쥐에 있어서 statin 처리에 따른 coenzyme Q₁₀ 감소는 일어나지 않을 수도 있다. 종(species)간의 콜레스테롤 대사적 차이를 명확히 할 수 있는 더

많은 연구가 필요하다. 그러나 statin 투여와 관계없이 coenzyme Q₁₀과 녹차는 퇴행성 질환을 예방하는 효과적인 항산화제일 것으로 사료된다.

