

碩士學位論文

성소(난소·정소)의 제거와 고콜레스테롤
식이 급여가 흰쥐의 혈장과 간의
콜레스테롤, 중성지방 수준과 혈소판
응집성 및 간 조직의 변화에 미치는 영향



食品營養學科

吳仁淑

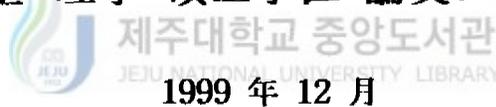
1999年12月

성소(난소·정소)의 제거와 고콜레스테롤
식이 급여가 흰쥐의 혈장과 간의
콜레스테롤, 중성지방 수준과 혈소판
응집성 및 간 조직의 변화에 미치는 영향

指導教授 姜晶淑

吳仁淑

이 論文을 理學 碩士學位 論文으로 提出함.



1999年12月

吳仁淑의 理學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長 신종범 
委 員 강재욱 
委 員 김규철 

濟州大學校 大學院

1999年12月

**Effects of gonadectomy and hypercholesterol
diet on plasma and liver cholesterol and
triglyceride levels, platelet aggregation and
liver tissue in Sprague Dawley rats**

In Sook Oh

(Supervised by Professor Jung Sook Kang)

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

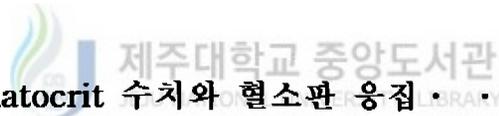
**DEPARTMENT OF FOOD SCIENCE AND
NUTRITION GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY**

1999. 12.

목 차

초 록	8
I. 서론	10
II. 실험재료 및 방법	14
1. 실험재료	14
1) 실험동물의 식이 배합	
2) 실험동물의 사육 및 수술	
2. 실험방법	17
1) 시료수집	
(1) 혈액 채취	
(2) 간 장기 적출	
2) 시료분석	
(1) 혈장지질농도 분석	
(2) 간의 콜레스테롤과 중성지방 분석	
(3) 혈소판 응집	
(4) 간의 조직학적 변화 관찰	
3. 통계처리방법	20

III. 실험결과 및 고찰	21
1. 일일증체량, 일일식이섭취량, 식이전환을 및 L.W/B.W ratio	21
2. 혈장 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 및 중성지방	27
3. 간의 총콜레스테롤과 중성지방	32
4. Hematocrit 수치와 혈소판 응집	35
5. 간의 조직학적 변화	38
IV. 결론	42
V. 참고문헌	44
Abstract	56



List of tables

- Table 1. Composition of experimental diets 15
- Table 2. Effects of diets and gonadectomy on
growth rate and feed intake 25
- Table 3. Effects of diets and gonadectomy on
plasma total-cholesterol, HDL-C, LDL-C
and TG 31
- Table 4. Effects of diets and gonadectomy on
liver total-cholesterol and TG 34
- Table 5. Effects of diets and gonadectomy on
hematocrit and platelet aggregation 37
- Table 6. Effects of diets and gonadectomy on
physical characteristics of liver tissue . . 40

List of figures

**Figure 1. Analytical scheme for total cholesterol
and TG in the liver 19**

**Figure 2. Effects of diets and gonadectomy on
growth 26**



**Figure 3. Microscopic appearance of liver tissue,
(×400) 41**

초 목

심혈관계 질환의 발병요인이 되는 동맥경화증의 주된 원인으로서는 체내 콜레스테롤에 많은 관심이 집중되어 왔다. 한편 남성이 같은 나이의 가입기 여성에 비해 심혈관계 질환의 발병률이 높으나, 이 차이는 여성이 폐경 상태에 이르면서 사라지게 된다. 본 연구는 동물을 모델로 하여, 성소를 절제함으로써 성호르몬의 변화를 통해 나타나는 체내 콜레스테롤과 중성지방의 변화를 알아보고자 실행되었다. 6 주된 Sprague Dawley 암·숫쥐를 대상으로 성소의 절제가 성장률 및 혈장과 간의 콜레스테롤과 중성지방의 수준, 혈소판 응집과 간 조직의 변화에 미치는 영향과 성소가 절제된 상태에서 0.5 % 콜레스테롤 + 0.2 % cholate 식이를 급여하였을 때 이에 대한 효과를 관찰하였다.

Sham 암쥐에 비해 난소절제한 암쥐에서 식이효율이 현저히 증가하여 상당한 체중증가를 나타냈다. 혈장 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 수준은 암·숫쥐 모두 성소의 절제에 의해 다소 증가하지만, 유의성은 없다. 성소가 절제된 상태에서 콜레스테롤 식이는 혈장 총 콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤 수준을 상당히 증가시키는 반면, HDL-콜레스테롤은 현저히 감소되었다. 다른 처리구에 비해 성소가 절제된 숫쥐에서 콜레스테롤 식이 급여는 혈장 중성지방 수준을 상당히 감소시켰다. 간에 있어 성소의 절제로 인한 콜레스테롤 수준은 암·숫쥐에서 별 변화가 없으나, 성소가 절제된 상태에서 콜레스테롤 식이는 암·숫쥐 모두 간의 총 콜레스테롤

을 4-5 배정도 증가시켰다. 특히 콜레스테롤 식이는 암·숫쥐의 간에 중성 지방의 축적을 야기해 비대성 지방간을 일으켰다. 혈소판 응집효과는 암쥐에 비해 숫쥐가 유의적으로 높으며, 성소의 절제는 암쥐에 있어 혈소판 응집효과를 증가시키고, 숫쥐는 감소시켰다. 콜레스테롤 식이는 암·숫쥐 모두 증가시켰다.

위 내용을 종합해 볼 때, 혈소판 응집력과 성장률에 있어 숫쥐에 비해 암쥐가 성소절제에 의한 영향이 더 현저하였다. 콜레스테롤 식이 급여시 숫쥐의 경우 정소절제에 의해 혈장과 간의 콜레스테롤 수준이 암쥐의 그것과 유사하였다. 암쥐와는 달리 숫쥐는 콜레스테롤 식이 급여시 간의 중성 지방 수준이 높은 반면 혈장은 감소되었다. 암·숫쥐의 성소절제에 의해 나타나는 이러한 차이는 호르몬의 변화가 어떤 기전을 통해 콜레스테롤과 중성지방의 대사에 영향을 주고 있음을 알 수 있다. 여전히 폐경 이후 또는 난소절제된 여성이 심혈관계 질환 발병률이 더 높으나, 호르몬 치료가 위험률을 감소시킬 수 있는지는 논쟁의 여지가 있다. 따라서 성호르몬과 관련된 콜레스테롤 대사에 대한 더 많은 연구가 폭넓게 이루어져야 할 것으로 사료된다.

I. 서 론

오늘날 의학의 발달 및 생활수준의 향상과 아울러 질병의 양상도 전염성 질병보다 노화관련 질환이나 심장순환기 질환의 발생률이 점차 증가 추세에 있다. 우리 나라 국민의 주된 사망원인이 되는 질병 양상을 살펴보면, 과거 1940년대에는 전염병, 호흡기계 질환이나 결핵이 상위에 위치하고 있었으나, 1980년에 접어들어 암과 함께 뇌졸중, 심장마비와 같은 심혈관계 질환 (cardiovascular disease, CVD) 이 전체 사망률의 반 이상을 차지하고 있다 (김정순, 1993). 심혈관계 질환은 매년 증가하고 있는 추세이며 (최인현, 1985), 1990년대에 이르러 이러한 질환으로 인한 사망자수가 29.9%에 달한다 (경제기획원, 1982-1990).

관상심장 질환 (coronary heart disease) 이나 뇌졸중 (stroke) 과 같은 말초혈관 질환 (peripheral vascular disease) 을 포함하는 심혈관계 질환의 주된 위험인자로는 유전적 요인 이외에도 흡연, 스트레스, 비만, 고혈압, 고지혈증 및 고콜레스테롤혈증 등을 들 수 있다. 특히 고콜레스테롤혈증은 동맥경화 (atherosclerosis) 의 직접적인 원인으로, 이른바 "rich diet" 라는 포화지방, 콜레스테롤, 칼로리, 설탕의 함량이 높은 식품의 섭취증가가 주된 요인으로 작용한다. 우리 나라에 있어서 1인 1일 콜레스테롤 섭취량은 300-500 mg 정도이며, 총 섭취 열량에 대한 지방의 비율은 18%로서 이 중 45% 정도를 동물성지방으로 섭취하고 있는 것으로 나타났다.

식품으로 섭취되는 양 이외에, 체내 합성되는 콜레스테롤 양은 하루에 800 mg 정도이며, 정상 건강한 성인에 있어서 체 콜레스테롤의 body pool 은 약 120 g 으로 대체로 일정하게 유지된다 (Beitz와 Knight 1994). 체내

콜레스테롤은 모든 동물의 세포막, myelin 과 담즙산의 중요한 구성요소이며, 스테로이드 호르몬의 전구체이기도 하다. 이렇게 생리적으로 중요한 위치에 있는 만큼 체내 콜레스테롤의 존재는 필수적이고, 건강인에 있어서 섭취와 합성의 균형 있는 조절작용을 통하여 적당한 혈중 콜레스테롤을 유지하는 것은 건강을 위해 매우 중요한 일이다. 또한 자살 등 우울증관련 사고가 지나치게 낮은 혈중 콜레스테롤과 관련이 있다는 최근의 보고 (Hibbeln와 Norman 1995) 는 흥미롭다.

혈중 지단백질 (lipoprotein) 의 콜레스테롤 분포 비율과 혈장 콜레스테롤의 수준은 밀접한 관계가 있으며, 이러한 지단백질의 구성 양상은 동맥경화성 플라그 (atherosclerosis plaque) 형성이나 다른 심혈관계 질환의 위험 지표가 되고 있다. Smith (1974) 와 Ronnema 등 (1978) 에 의하면 low density lipoprotein (LDL) 은 혈청 콜레스테롤의 주된 운반형으로, 혈관내벽 (endothelium) 에 콜레스테롤을 축적시킴으로써 죽상경화를 촉진하는 반면, high density lipoprotein (HDL) 은 죽상경화를 억제한다고 한다. 또한 혈중 콜레스테롤, 특히 LDL-콜레스테롤을 감소시키는 것이 심혈관계 질환을 예방 또는 지연하며 심지어는 역전시킬 수 있다고 한다 (Barter와 Rye 1996, LaRosa 1994; Rosenfeld 1989; Stalmer 등 1986).

심혈관계 질환 발병률과 관련하여 성별에 의한 차이를 연구한 보고가 많다. Kannel 등 (1976) 에 의하면 남성이 같은 나이의 여성에 비해 심혈관계 질환의 이환률이 높다. 특히 심혈관계 질환의 발병과 관련이 되는 혈장 콜레스테롤의 분포를 보면, 건강한 젊은 여성의 경우 같은 나이의 남성에 비해 총 콜레스테롤이 낮으며 (Adlersberg 등 1956), 그 중 LDL-콜레스테롤이 낮고 (Carlson과 Ericsson 1975), HDL-콜레스테롤은 상대적으로 남성에 비해 증가되어 있지만 (Russ 등 1951), 이러한 차이는 여성이 폐경 상태에 이르면서 사라졌다 (Carlson과 Ericsson 1975). 폐경으로 인한 내분비계의 변화는 비만을 비롯하여 혈중 지질농도의 변화를 야기하며, 이러한 요인들이 심혈관계 질환의 발병 위험요인으로 작용한다 (Wagner 등 1991;

Haarbo 등 1991).

여러 연구 (Mook 등 1972; Tarttelin과 Gorski 1973; Abul-Hajj 1978; 권자령 1996) 에서 난소절제는 체중증가 및 체지방의 증가를 보고하였으며, 폐경이 시작되면 혈장 총 콜레스테롤, 중성지방과 very low density lipoprotein (VLDL) 은 증가하고 HDL-콜레스테롤은 약간 감소하였다 (Haarbo와 Christiansen 1996; Clarkson 등 1989). 한편 에스트로젠 투여가 자연 폐경 또는 인위적인 폐경 여성에 있어서 심혈관계 질환을 예방할 수 있는지는 아직 불분명하지만, 몇몇 동물실험에서 에스트로젠은 죽상경화증을 지연시켰으며, 이 효과는 부분적으로 혈청 지질과 지단백질의 변화로 설명되었다. 또한 에스트로젠의 항죽상경화성 효과는 nitric oxide(NO) 생성과 혈관 벽의 직접적인 작용에 의한 것이라는 연구 (Akishita 등 1996) 가 있으며, in vivo (Sack 1994) 와 in vitro (Masziere 1991; Subbiah 1993) 에서 에스트로젠이 LDL의 산화를 억제하며 산화된 LDL의 혈관내벽으로의 부착을 억제하였다.

한편 남성호르몬인 안드로젠의 수준 변화는 심혈관계 질환의 위험과는 연관성이 없는 것 같다는 보고 (Haffner와 Valdez 1995) 가 있고, Alexandersen 등 (1999) 은 성소를 절제한 숫토끼에 있어 천연 안드로젠은 lipid-mediated effect를 통해 부분적으로 동맥의 죽상경화증을 억제할 수 있다는 사실을 보여 주었다. 하지만 혈청 지질과 죽상경화증에 대한 안드로젠의 효과에 대해 아직도 논쟁의 여지가 있다.

Lawrence 등 (1995) 은 동맥경화와 혈소판의 관련성을 혈소판에 의한 일차적인 지혈활성작용 (primary hemostatic activity) 과 동맥경화의 진행과정과 연관하여 설명하였다. 남성에 있어서 죽상경화성 질환과 특히, platelet-mediated thrombosis에 의한 심근경색과 뇌졸중의 높은 이환률은 혈소판의 과민성과 과다 활성화에 의한 것이다. 이러한 혈소판의 활성화는 'membrane-associated' 현상이므로, 막의 지질구성은 혈소판의 반응성을 결정짓는다. 특히 혈장 콜레스테롤과 중성지방의 수준은 막의 지질구성에

영향을 주어 궁극적으로 혈소판 활성화에 변화를 초래할 것이다 (Brook과 Aviram 1988).

앞에서 거론했듯이 심혈관계 질환은 혈청 콜레스테롤, 중성지방, 지단백질의 함량 증가와 밀접한 관련이 있으며, 또한 여성의 폐경도 이러한 심혈관계 질환과 높은 상관이 존재한다고 생각되어져 왔다. 그러나 암·숫쥐를 동시에 실험대상으로 한 연구가 드물며, 그러므로 암·숫쥐를 이용하여 intact 동물과 성소가 절제된 동물에 있어서 체내 콜레스테롤과 중성지방의 암·수의 차이를 조사하고, 강 (1998) 의 실험에서 나타난 intact 암·숫쥐에 있어서 콜레스테롤 식이에 따른 체내 콜레스테롤 수준이 성소가 절제된 상태에서 어떤 차이가 있는지를 살펴보고, 이를 사람에게 대해서 보고된 여러 연구와 비교·분석해 보고자 했다.

따라서 본 연구는 Sprague Dawley 암·숫쥐를 대상으로 성소의 절제가 성장률 및 혈장과 간의 콜레스테롤과 중성지방의 수준, 혈소판 응집과 간 조직의 변화에 미치는 영향과 성소가 절제된 상태에서 0.5 % 콜레스테롤 + 0.2 % cholate 식이를 급여하였을 때의 효과를 관찰하고자 실시되었다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

1) 실험동물의 식이 배합

식은 AIN-76 (American Institute of Nutrition-76) 을 참고하여 <Table 1> 과 같이 배합되었다. 탄수화물 급원으로는 sucrose 와 corn starch 를, 단백질 급원으로는 casein 을, 지방 급원으로는 lard (9%) 와 soybean oil (1%) 을 사용하였다. 반면, 콜레스테롤 식이에는 대조군과 비교하여 corn starch 대신에 0.5 % 콜레스테롤과 0.2 % cholate을 첨가하였다.



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 1. Composition of experimental diets.

Ingredient	Control-diet	Cholesterol-diet
Casein ^{a)}	20.0	20.0
L-methionine ^{b)}	0.3	0.3
Lard ^{c)}	9.0	9.0
Soy bean oil ^{d)}	1.0	1.0
Choline chloride ^{a)}	0.2	0.2
Vitamin mix ^{c)}	1.0	1.0
Mineral mix ^{f)}	3.5	3.5
Sucrose ^{d)}	20.0	20.0
Corn starch ^{g)}	45.0	44.3
Cholesterol ^{b)}	-	0.5
Cholic acid ^{b)}	-	0.2
Total(%)	100.0	100.0

^{a)} United States Biochemical Corp., Cleveland, Ohio

^{b)} Sigma Chemical Co., St. Louis, MO.

^{c)} Samlip Yugi Co.

^{d)} Jeil Jedang Co.

^{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. E 2000.0, Vit. D₃ 0.25, Vit. K 0.5, Sucrose 97290.0

^{f)} Mineral mixture(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)} Sunil Pododang Co.

2) 실험동물의 사육 및 수술

본 연구에서 사용된 실험동물은 생후 1 개월 된 체중 80-90 g 정도의 Sprague Dawley 쥐로, 수술하기 전·후 1 주 동안 고형배합사료 (삼양사료) 로 적응시킨 후 평균체중이 숫쥐인 경우 150 g 정도, 암쥐는 130 g 정도가 되었을 때 실험식을 급여하였다.

실험디자인은 다음과 같이 총 여섯 군으로 나누어 각 군당 10 마리씩 할당하였다.

Male	Female
Intact-Control	Sham-Control
ODX(Orchidectomy)-Control	OVX(Ovariectomy)-Control
ODX-Cholesterol	OVX-Cholesterol

수술 12 시간 전에 실험동물을 절식시킨 후 난소절제군은 chloroform으로 마취하여 양측 등쪽 하부를 1 cm 정도 절개하여 난소를 제거하였고, sham-operation군은 난소절제시와 동일한 방법으로 시술하되 실제로 난소를 절제하지 않고 봉합하였다. 정소절제군인 경우, 양측 고환을 제거하여 봉합하였고, 수술한 부위는 알코올로 소독되었다. 수술 후 1 주간의 적응기간을 두고, 그 후 실험식을 제공하면서 사양 실험에 사용되었다. 실험의 전 기간동안 한 마리씩 분리하여 stainless-steel cage에 사육하였고, 실험실의 명암주기는 12 시간, 온도는 20-25℃, 습도는 40-60% 이었다. 물과 식이는 무제한으로 공급하고, 체중은 2 일마다, 식이섭취량은 3 일마다 일정한 시간에 측정되었다.

2. 실험방법

1) 시료수집

(1) 혈액채취

4 주간의 실험기간 종료 전, 12 시간을 절식시키고 chloroform으로 마취시킨 후, heparin 처리 vacuum tube로 cardiac puncture에 의해 혈액을 채취하였다. 혈소판 응집과 hematocrit은 채혈 즉시 전혈로 실험을 진행하고, 나머지 혈액은 $2000 \times g$ 에서 30 분간 원심분리한 후, 혈장을 분석에 사용하기 위해 -20°C 냉동고에 보관되었다.

Hematocrit은 hematocrit 용 원심분리기를 사용하여 3000 rpm 에서 15 분간 분리하여 측정되었다.

(2) 간 장기 적출

간을 바로 적출하여 표면의 혈액을 제거한 후, 무게를 측정하였다. 간 조직의 일부는 조직검사를 위해 10% formalin용액에 고정시켜 놓고, 남은 간은 콜레스테롤과 중성지방 분석을 위해 -20°C 냉동고에 보관되었다.

2) 시료분석

(1) 혈장지질농도 분석

총 콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤은 성분정량분석을 위해 commercial assay kit (Wako Pure Chemical Ind., Osaka, Japan) 으로, 중성지방은 commercial assay kit (Asan Pharm. Co., Korea) 로 측정되었다. 각 분석에 혈장 $20 \mu\text{l}$ 을 사용하였으며, 두 반복으로 진행하였다. LDL-콜레스테롤은 분석을 통해 얻은 총 콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤의 차이를 이용하여 계산되었다.

(2) 간의 콜레스테롤과 중성지방 분석

간의 콜레스테롤과 중성지방의 분석에는 Folch 등 (1957) 의 방법을 다소 수정하여 이용하였다. 간 조직 1 g 을 절단하여 6 ml chloroform/methanol mixture (2/1, v/v) 과 2 ml 증류수를 넣고 조직균질기 (tissue homogenizer) 로 5 분간 균질화 하여, 3000 × g 에서 10 분간 원심분리하였다. 콜레스테롤과 중성지방을 함유하고 있는 하층액인 chloroform층을 분석에 이용하였다.

간 콜레스테롤 측정을 위해서 하층액 500 μ l 을 취하여 질소가스로 건조한 후, 50 μ l Triton X-100/chloroform solution (1/1, v/v) 을 첨가하여 vortex하였다. 이를 450 μ l chloroform으로 희석하여 총 500 μ l 가 되게 한 후, 다시 vortex하였다. 새 tube에 10 μ l 을 취하여 질소가스로 건조하고, color reagent (Wako Pure Chemical Ind., Osaka, Japan) 1.5 ml 을 넣어 37°C water bath에서 5 분간 배양하였으며, 두 반복 측정하였다(Fig 1).

간 중성지방 측정에서는 하층액 10 μ l 을 질소가스로 건조하고, 50 μ l 메탄올을 넣고 용해시킨 후 vortex하였다. 여기에 color reagent (Asan Pharm. Co., Korea) 1.5 ml 을 넣고 37°C water bath에서 15 분간 배양하여 발색시킨 후, 두 반복 측정하였다 (Fig 1).

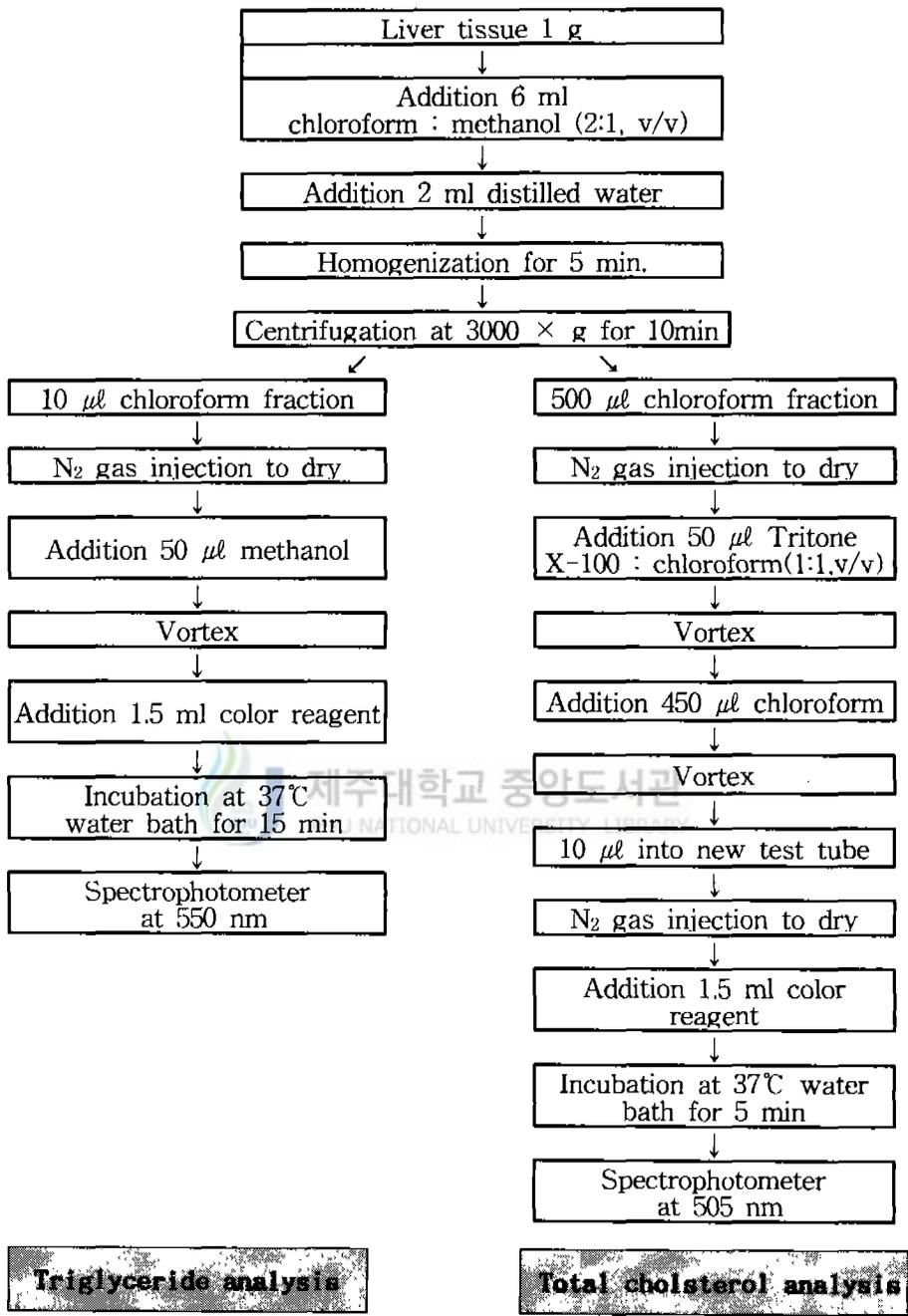


Figure 1. Analytical scheme for total cholesterol and triglyceride in the liver

(3) 혈소판 응집 (Whole blood platelet aggregation)

전혈 250 μl 을 등장액 (isotonic saline, 1:4) 으로 희석시켜, 혈소판 농도 200,000/ μl 로 조절한 후, 응집을 유도하기 위해 20 μl adenosine diphosphate (ADP, 2mM) 을 첨가하여, 3 회 반복 측정하여 평균치를 사용하였다.

혈소판 응집 측정에는 Chronolog Model 500-Ca Whole Aggregometer (Havertown, Pennsylvania, USA) 을 이용하였다. 이는 혈액에 삽입된 2 개의 platinum electrodes 사이에 나타나는 impedance의 상승을 측정하는 방법으로, recorder response가 20 Ω 이 되게 impedance gain을 맞추어 두었다. 이 방법은 신선한 전혈을 사용하여 혈액내의 다른 성분의 존재 하에서 측정하므로 보다 생리적인 상태에서 혈소판의 응집을 측정할 수 있는 장점이 있다.

(4) 간의 조직학적 변화 관찰

각 군마다 2 sample로 두 개의 표본을 만들어 관찰하였다. 전처리과정은 간 제거 즉시 신선한 상태를 유지하며 조직의 손상을 최소화하기 위해 3 g 정도를 10% formalin 용액에 48 시간동안 1차-고정을 하고, 다시 세포손상을 최소로 하여 2-3 mm 정도의 두께로 잘라서 capsule에 넣고 10% formalin 용액에 2차-고정을 시켰다. 2차-고정이 끝나면, 흐르는 물에 2 시간 이상 수세를 한 후, 탈수과정을 진행시켰는데, 이 과정은 알코올 농도가 70% \rightarrow 80% \rightarrow 90% \rightarrow 95% \rightarrow 100% \rightarrow 100% \rightarrow 100% \rightarrow xylene \rightarrow xylene 의 단계적 과정을 통해 총 18 시간의 조직처리과정을 거치며, 그 후 paraffin으로 고정하였다. 고정된 조직을 두께 4 μm 로 절단하여 Hematoxylin-Eosin 염색 한 후, 400 배율에서 관찰하였다.

3. 통계처리방법

본 실험결과의 분석치는 평균 \pm 표준편차로 표시되었고, 실험군의 분석치에 대한 유의성 검정은 ANOVA를 사용했으며, 분석 결과 $P < 0.05$ 에서 유의성 있으면 Duncan의 다중검정법을 이용하여 각 처리구 평균치간의 유의적 차이를 분석하였다.

III. 실험결과 및 고찰

생후 1 개월 정도의 Sprague Dawley 암·숫쥐를 이용하여 성소의 절제여부와 0.5% 콜레스테롤 + 0.2% cholate 식이 급여여부에 따라 총 여섯 군으로 나누어 4 주간 사육한 후 성장률, 혈장과 간의 콜레스테롤과 증성지방 수준, 혈소판 응집 및 간의 조직학적 변화를 관찰하였으며 그 실험결과는 다음과 같다.

1. 일일증체량, 일일식이섭취량, 식이 전환율 및 L.W/B.W ratio

실험동물의 일일증체량 (ADG), 일일식이섭취량 (ADFI), 식이 전환율 (feed intake/weight gain, F/G) 및 liver weight/body weight ratio (L.W/B.W ratio) 가 <Table 2> 에 나타나 있다.

일일증체량 (ADG) 는 같은 처리구의 암·숫쥐 사이에도 유의적 차이를 보여 전체적으로 숫쥐가 암쥐에 비해 ADG가 더 높다 ($P < 0.01$). 성소의 절제에 대한 영향을 살펴보면, 숫쥐의 경우 정소절제에 의해 ADG가 감소하지만, 암쥐는 난소절제군이 sham-operation 군과 비교할 때 2 배에 가까운 현저한 체중 증가를 가져왔다 ($p < 0.001$). 한편, 성소가 절제된 상태에서 콜레스테롤 식이는 암·숫쥐 모두 ADG의 감소를 야기하지만 유의성은 없었다 ($p > 0.05$). 숫쥐는 정소절제에 의한 ADG의 감소가 콜레스테롤 식이에 의해 더 악화되며, 암쥐는 난소가 절제된 상태에서 콜레스테롤 식이 급여군이 난소절제군에 비해 ADG가 다소 감소되었다.

일일식이섭취량 (ADFI) 는 ADG와 마찬가지로 숫쥐가 암쥐에 비해 유의적으로 높는데 ($P < 0.01$), F/G 에서 보듯이 숫쥐의 현저한 체중증가는 높은 식이섭취량에 의한 것이라 할 수 있다 (Figure 2). 숫쥐의 경우 정소절제

에 의해 ADFI가 감소하는 반면, 암쥐는 오히려 난소절제에 의해 유의적으로 증가하였다 ($P < 0.01$). 성소가 절제된 상태에서 콜레스테롤 식이의 효과는 숫쥐의 경우 ADFI의 감소를 가중시키면서 대조군과 유의적 차이를 보였으며 ($P < 0.01$), 암쥐의 경우 난소절제에 의해 증가된 ADFI가 콜레스테롤 식이 급여로 인해 상쇄되어 버렸다. 즉 암쥐에 있어 난소절제군의 현저한 체중증가는 부분적으로 ADFI의 증가와 관련이 있음을 짐작할 수 있다.

식이전환율 (F/G) 은 숫쥐의 경우 정소절제와 콜레스테롤 식이의 두 요인에 의한 처리구간에 유의적인 차이는 없다. 반면 암쥐의 경우 콜레스테롤 식이에도 불구하고 난소절제는 F/G의 유의적인 감소를 나타냈는데 ($P < 0.001$), 이는 난소를 절제함으로써 식이효율이 증가함을 의미하며, 난소절제군에서 체중증가의 주된 요인으로 작용할 것이다.

L.W/B.W는 sham 암쥐와 intact 숫쥐에 비해 성소를 절제한 암·숫쥐가 다소 감소했으나 유의적 차이는 없었고, 성소가 절제된 암·숫쥐에 있어 콜레스테롤 식이는 L.W/B.W를 증가시켰는데 ($P < 0.01$), 이는 체중에 비해 간 무게가 상대적으로 증가함을 나타낸다.

Kahl 등 (1984) 은 숫쥐가 암쥐에 비해 식이섭취량이 유의적으로 높다고 보고하였으며 본 실험결과와 일치한다. 콜레스테롤 식이에 의한 영향은 쥐의 계통 (strain) 에 따라 조금씩 차이가 있는 듯 하다. Story 등 (1974) 에 의하면 Wistar 쥐의 경우 콜레스테롤 식이는 대조군에 비해 유의적으로 증체량을 감소시키는 효과를 보였다. 반면 Spady와 Cuthbert (1992) 과 Marlett 등 (1990) 의 연구에서 Sprague Dawley 쥐는 증체량이 감소되기는 하였으나 유의적인 차이는 없었다고 하였으며, 이는 본 실험결과와 유사하다.

성소의 절제에 의한 영향은 증체에 있어서 암·숫쥐가 상반되었다. 즉 본 실험에서는 정소절제에 의해 증체량과 식이섭취량이 모두 감소되었지만, 난소절제에 의해서는 증가하였다. 정소절제에 의한 이러한 결과는

Rothwell와 Stock (1986) 과 Gentry와 Wade (1976) 의 보고와 일치한다. 한편 난소절제군에서의 체중증가는 여러 연구 결과 (Mueller와 Hsiao 1980; Shimizu 등 1992; Mook 등 1972; Schemmel 1982) 가 보고되었는데, 특히 권 (1996) 에 의하면 난소절제군에서 체중증가와 함께 식이섭취량이 증가하였고, 식이효율면에서도 상당한 차이가 있었으며, 이는 본 실험결과와 동일하다. Gale와 Sciafani (1977) 은 난소절제는 식이섭취량과 식이효율을 증가시켜 거식증 (hyperphagia) 과 비만을 야기한다고 보고하였으며, 이 등 (1989) 은 난소절제한 쥐들의 체중과 체지방 무게의 증가를 보고하였다. Wade (1985) 는 sham 암취에서의 체중증가의 저조는 gonadal steroids 특히 에스트로겐의 영향이며, 이는 다양한 기전을 통해 체중과 체지방을 감소시키는 작용을 한다고 하였다. 그는 또한 에스트로겐이 직접적으로 뇌에 작용하여 식이섭취를 감소시키고 자발적인 육체활동을 자극하여 energy balance와 adiposity에 영향을 준다고 보고하였다. 한편, 숫쥐의 경우 Kuchar 등 (1982) 은 대표적인 gonadal steroids인 안드로젠의 처리는 증체량의 증가를 야기한다고 보고하였으며, Woodward (1993)는 정소절제군에 비해 intact 숫쥐의 체중증가는 적어도 부분적으로 fat-free mass와 관련이 있다고 보고하였다. 반면 male goat에서 gonadal steroids의 제거는 유의적으로 지방조직의 lipogenesis을 증가시켰다는 보고도 있었다 (Gimenez 등 1989). Guinea pig를 이용한 연구에서도 에스트로겐은 증체량의 감소를, 안드로젠은 증체량의 증가를 초래한다고 하였다 (Czaja 1984). 이런 연구결과들을 종합하여 보면 gonadal steroids은 식이섭취량과 식이효율에 변화를 초래한다는 것을 알 수 있다 (Kuchar 등 1982). 하지만, 정소절제된 쥐에 비해 intact 숫쥐의 체중증가 원인은 식이섭취량의 증가에 의한 것이지만, 이러한 체중증가가 지방조직의 증가인지 또는 fat-free mass에서의 증가인지의 여부는 분명하지 않다. 반면 난소절제는 식이섭취의 증가와 식이효율의 변화를 가져와 현저한 체중증가를 야기하며 이 증가의 주된 원인은 체지방의 축적 때문일 것으로 생각된다

Takeuchi 등 (1986) 은 Wistar Kyoto 숫쥐의 정소절제는 간의 무게를 감소시켰다고 보고하였으며, Marlett 등 (1990) 은 콜레스테롤 식이를 급여

한 Sprague Dawley 암·숫쥐에서 간 무게의 증가를 보고하여, 본 실험결과와 동일하다. 반면, Story 등 (1974) 은 Wistar 숫쥐에게 콜레스테롤 식이는 간 무게를 증가시키지 않고, 다만 간 콜레스테롤 수준을 유의적으로 증가시켰다고 보고하였다. 결국 콜레스테롤 식이에 의한 간 무게의 영향은 쥐의 계통에 따라 상이하다는 것을 알 수 있다. 간의 무게 증가와 색의 변화를 유발하는 기전과 요인에 대한 연구가 필요할 것이다.



Table 2. Effects of diets and gonadectomy on growth rate and feed intake

	Control		Control		Cholesterol	
	Intact		Sham		OVX ¹⁾	
	male	female	male	female	male	female
Initial B.W.(g)	155.53 ± 20.42 ^c	125.89 ± 14.07 ^a	148.67 ± 14.96 ^{bc}	128.89 ± 8.43 ^a	137.06 ± 10.21 ^{ab}	125.61 ± 8.71 ^a
Final B.W.(g)	355.91 ± 18.41 ^d	213.52 ± 32.63 ^a	320.64 ± 34.25 ^{cd}	283.60 ± 35.44 ^{bc}	297.26 ± 23.87 ^c	252.99 ± 24.99 ^b
ADG ³⁾ (g/d)	6.69 ± 0.70 ^d	2.92 ± 0.88 ^a	5.73 ± 0.80 ^{cd}	5.16 ± 1.02 ^{bc}	5.34 ± 0.55 ^c	4.25 ± 0.74 ^b
ADFI ⁴⁾ (g/d)	21.65 ± 1.09 ^c	15.40 ± 1.77 ^a	19.50 ± 1.82 ^{bc}	17.98 ± 2.19 ^b	17.15 ± 1.67 ^{ab}	15.70 ± 1.28 ^a
F/G ⁵⁾	3.26 ± 0.27 ^a	5.91 ± 2.68 ^b	3.42 ± 0.19 ^a	3.55 ± 0.39 ^a	3.22 ± 0.17 ^a	3.78 ± 0.62 ^a
L.W/B.W ²⁾ ratio(%)	3.00 ± 0.32 ^a	2.89 ± 0.34 ^a	2.78 ± 0.33 ^a	2.58 ± 0.14 ^a	4.89 ± 0.59 ^b	4.68 ± 0.40 ^b

¹⁾ ODX : Orchiectomized, OVX : Ovariectomized

²⁾ B.W. : Body weight, L.W. : Liver weight

³⁾ ADG : Average daily weight gain

⁴⁾ ADFI : Average daily feed intake

⁵⁾ F/G : Feed intake / weight gain

Values are means ± SD of 9 rats

Values in the same row not sharing the same superscripts differ significantly (P < 0.01)

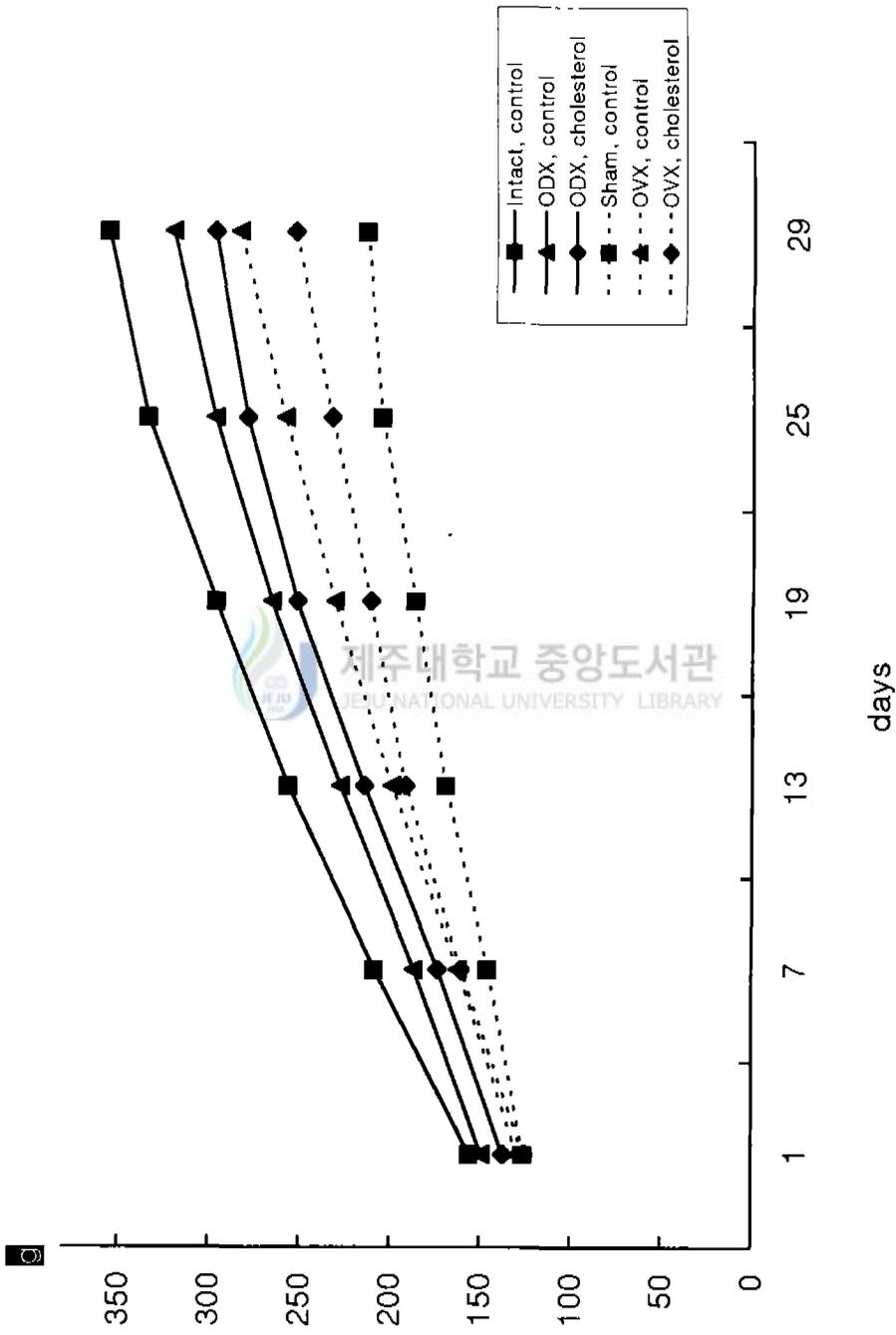


Figure 2. Effects of diets and gonadectomy on growth.

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

<Table 3>에서 보는 바와 같이 혈장 총 콜레스테롤 수준에 있어서 같은 처리구간의 암·숫쥐를 비교할 때 암쥐가 다소 높았으나 유의적 차이는 없었다. 한편 성소의 절제는 암·숫쥐 모두 총 콜레스테롤 수준을 다소 증가시켰으나 유의성은 없었고, 성소를 절제한 상태에서 콜레스테롤 식이군이 암·숫쥐 모두 대조 식이군에 비해 높게 나타났다 ($P < 0.001$). 따라서 성소의 절제와 성소가 절제된 상태에서 콜레스테롤 식이가 혈장 총 콜레스테롤 수준에 미치는 영향은 암·숫쥐에서 유사하였다.

혈장 HDL-콜레스테롤 수준은 같은 처리구간의 암·숫쥐를 비교할 때, 암쥐가 높았으며, 특히 sham 암쥐와 intact 숫쥐에 있어서 암쥐가 숫쥐보다 HDL-콜레스테롤 수준이 유의적으로 높다 ($P < 0.01$). 성소를 절제한 암·숫쥐는 sham 암쥐와 intact 숫쥐에 비해 HDL-콜레스테롤 수준이 다소 증가했으나 유의성이 없었고, 성소가 절제된 상태에서 콜레스테롤 식이는 대조 식이군에 비해 HDL-콜레스테롤 수준을 1/4 정도로 감소시켰다 ($P < 0.001$).

혈장 LDL-콜레스테롤 수준은 같은 사료 처리구의 암·숫쥐 사이에는 유의차가 없었으며, 암·숫쥐 모두 성소의 절제에 의해 증가하지만 유의적이지 못했다. 반면 성소가 절제된 암·숫쥐에 있어서 대조 식이군에 비해 콜레스테롤 식이군에서 유의적으로 높게 나타났다 ($P < 0.001$).

혈장 중성지방의 수준은 sham 암쥐가 intact 숫쥐에 비해 낮지만 유의성이 없으며, 암·숫쥐 모두 성소의 절제에 의해 감소하지만, 숫쥐에 있어 그 감소 폭이 크며, 성소가 절제된 암·숫쥐에 있어 콜레스테롤 식이에 의한 영향은 성별에 따라 아주 다른 양상을 보였다. 암쥐의 경우 콜레스테롤

식은 중성지방 수준에 거의 영향을 주지 못하는 반면, 숫쥐의 경우 콜레스테롤 식이가 정소절제에 의해 감소된 혈장 중성지방의 수준을 더욱 감소시켜 intact 숫쥐와 비교할 때 유의적인 차이를 보였다 ($P < 0.01$). 따라서 성소의 절제와 콜레스테롤 식이에 의한 혈장 중성지방의 수준 변화는 암쥐에 비해 숫쥐가 더 민감하게 반응한다는 것을 알 수 있었다.

일반적으로 정상 식이를 급여 받은 경우 숫쥐의 혈장 총 콜레스테롤은 암쥐의 그것보다 높다고 보고하였으나 (Guetta와 Cannon 1996), 본 실험 결과는 유의적이지 않지만 암쥐가 오히려 조금 높게 나타났다. 성소의 절제에 의한 영향은 정소절제 (Cinci 등 1993; Haug 등 1986) 와 난소절제 (Starzec와 Berger 1986) 모두 혈장 콜레스테롤을 증가시켰다고 보고하였다. 정소절제는 lipoprotein lipase (LPL) 의 활성을 증가시켜 LDL 농도를 상승시킴으로 인해 결과적으로 고콜레스테롤혈증과 저중성지방혈증을 야기한다고 하였고 (Cinci 등 1993), 암쥐의 경우 난소절제에 의한 에스트로젠 수준 저하는 LPL과 lethin:cholesterol acyltransferase (LCAT) 을 활성화시켜 LDL-콜레스테롤의 증가를 야기하여 고콜레스테롤혈증을 일으킨다고 하였다 (Wakatsuki와 Sagara 1995). 본 실험에서는 성소가 절제된 암·숫쥐에 있어서 혈장 콜레스테롤이 다소 증가되었을 뿐이며, 고콜레스테롤혈증상태는 아니었다.

여러 연구 (Sultan 등 1995; Story 1974; Morishita 1986; Hayashi 등 1989) 에서 cholate을 첨가한 콜레스테롤 식이 급여는 쥐에 있어 혈장 총 콜레스테롤 수준을 증가시켰다고 보고하였고, 본 실험도 성소가 절제된 상태에서 혈장 총 콜레스테롤 수준의 상당한 증가를 가져왔다. Chang와 Borensztajn (1993) 에 의하면 콜레스테롤 식이에 의한 혈장 콜레스테롤 수준의 상승은 혈장내에 콜레스테롤이 풍부한 지단백질 (β -lipoprotein) 의 축적에 의한 것이며, 이러한 축적은 순환계 (circulation) 로부터 간에 의한 제거 (clearance) 에 결핍, 즉 혈액내의 LDL의 급격한 상승에 비해 LPL와 hepatic lipase (HL) 의 작용이 그에 못 미치기 때문이라고 하였다.

한편 강 (1998) 의 연구결과를 보면 intact 암·숫쥐에 있어서 콜레스테롤 식이에 의해 혈장 콜레스테롤 수준은 숫쥐의 경우 대조군에 비해 약간 높은 반면, 암쥐는 3 배 이상의 증가를 보고하였으나, 본 실험에서는 성소를 절제한 상태에서 콜레스테롤 식이에 대한 영향은 암·숫쥐에 있어서 모두 3 배의 증가를 보여, 성소의 절제가 숫쥐의 경우 콜레스테롤 식이시에 혈장 콜레스테롤 수준을 암쥐의 수준까지 상승시켰다는 것을 알 수 있었다.

Staprans 등 (1990) 와 Guetta와 Cannon (1996) 은 숫쥐가 암쥐에 비해 상대적으로 HDL-콜레스테롤 수준이 낮으며, Staprans 등 (1990) 은 그 원인을 testosterone으로 설명하였다. Takeuchi 등 (1986) 과 Haug 등 (1986) 은 정소절제에 의한 testosterone의 감소는 HDL-콜레스테롤을 증가시켰다고 하였으며, 본 실험에서도 유의성은 없지만, 성소의 절제에 의해 약간의 증가를 보였다. Peinado 등 (1993) 은 이러한 차이는 sex steroid 가 HL과 LPL의 활성 조절과 밀접한 관련이 있기 때문이며, 특히 testosterone은 HL 활성을 감소시킨다고 하였다.

콜레스테롤 식이에 의한 영향을 보면 여러 연구 (Morishita 1986; Nakayama 1981; Fungwe 등 1992; Ohmura 등 1986) 에서 콜레스테롤 식이는 혈장의 HDL-콜레스테롤을 감소시켰으며, 본 실험에서도 성소가 절제된 상태에서 콜레스테롤 식이는 HDL-콜레스테롤을 상당량 감소시켰다.

혈중 콜레스테롤은 총 콜레스테롤의 가장 큰 비율을 차지하는 LDL-콜레스테롤에 의해 좌우된다. 콜레스테롤 식이에 의한 혈장 LDL-콜레스테롤 수준 증가는 다양한 연구 (Fungwe 등 1992; Ohmura 등 1986) 에서 보고되었으며, Spady와 Dietschy (1988) 은 콜레스테롤 식이에 의한 혈장 LDL-콜레스테롤의 증가는 간의 LDL receptor 활성 억제에 의한 receptor-dependent LDL transport의 감소가 원인이라고 보고하였다.

난소절제에 의한 혈장 중성지방의 감소는 Sprague Dawley 쥐 (Joles 등 1995) 와 Nagase analbuminemic 쥐 (Joles 등 1996) 에서 보고되었으며, 정소절제에 의한 혈장 중성지방의 감소는 Haug 등 (1986) 와 Takeuchi 등 (1986) 에 의해 보고되었다. 본 실험에서도 성소의 절제에 의해 감소했는

데, 특히 숫쥐의 경우 유의성은 없지만 감소 폭이 암쥐에 비해 더 크다. 강 (1998) 의 연구에 의하면 콜레스테롤 식이에 의해 숫쥐의 경우 혈장 중성지방이 감소하였고, 암쥐의 경우는 오히려 증가를 나타냈다고 보고했다. 본 실험에서 숫쥐의 경우 정소가 절제된 상태에서 콜레스테롤 식이는 강 (1998) 과 유사한 결과가 나타났으며, 암쥐의 경우는 콜레스테롤 식이에도 불구하고 대조구와 비교해 혈장 중성지방의 수준에 거의 변함이 없다. 어떤 연구 (Hulbron 등 1982, Morishita 1986) 는 콜레스테롤 식이가 숫쥐의 혈장 중성지방 수준을 상승시켰다고 하였으나, 본 실험에서는 감소를 보여 상반된 결과를 보여주는 반면 Nakayama (1981) 는 콜레스테롤 식이로 인해 혈장과 간의 중성지방 수준이 증가하였다가 감소를 보인다고 하여 결과적으로 아직도 콜레스테롤 식이가 중성지방에 미치는 영향에 대하여 논란의 여지가 있으며, 성 (sex) 차이에 의한 기전이 불분명하다.

Table 3. Effects of diets and gonadectomy on plasma total-cholesterol, HDL-C, LDL-C and TG.

	Control		Control		Cholesterol	
	Intact	Sham	ODX	OVX	ODX	OVX
	male	female	male	female	male	female
Plasma (mg/dl)						
Total-cholesterol	156.10 ± 29.95 ^a	164.83 ± 34.24 ^a	175.23 ± 24.65 ^a	195.68 ± 42.65 ^a	475.71 ± 92.56 ^b	491.35 ± 82.92 ^b
HDL-cholesterol	31.25 ± 5.67 ^b	38.03 ± 7.75 ^c	33.56 ± 4.02 ^{bc}	41.96 ± 7.28 ^{cd}	8.65 ± 0.42 ^a	11.63 ± 3.65 ^a
LDL-cholesterol	124.85 ± 26.87 ^a	126.57 ± 31.5 ^a	141.67 ± 23.91 ^a	153.72 ± 37.21 ^a	467.06 ± 92.68 ^b	479.72 ± 81.21 ^b
Triglyceride	57.80 ± 18.31 ^a	54.02 ± 15.79 ^{ab}	45.91 ± 11.78 ^{ab}	50.73 ± 9.81 ^{ab}	38.88 ± 6.86 ^b	51.60 ± 13.47 ^{ab}

ODX : Orchiectomized, OVX : Ovariectomized
 Values are means ± SD of 9 rats

Values in the same row not sharing the same superscripts differ significantly (P < 0.01)

3. 간의 총 콜레스테롤과 중성지방

간 총 콜레스테롤은 같은 처리구의 암·숫쥐 사이에는 유의적 차이가 존재하지 않으나, 전반적으로 숫쥐가 암쥐에 비해 다소 높다 (Table 4). 성소의 절제에 의해 암·숫쥐 모두 약간의 증가를 보이나, 유의성이 없으며, 성소가 절제된 상태에서 콜레스테롤 식이군이 대조 식이군에 비해 암·숫쥐 모두에서 간 총 콜레스테롤 수준이 5-6 배정도 상승하였다 ($P < 0.001$).

간 중성지방 수준은 간 총 콜레스테롤과는 달리 같은 처리구의 암·숫쥐를 비교할 때 암쥐가 높았는데, 특히 성소가 절제된 암·숫쥐의 경우 암쥐가 숫쥐보다 유의적으로 높게 나타났다 ($P < 0.01$). 이는 intact 숫쥐에 비해 sham 암쥐가 중성지방 수준이 높은 상태에서 성소의 절제로 인한 중성지방의 상승폭이 암쥐가 숫쥐보다 더 높았기 때문이다. 성소가 절제된 상태에서 콜레스테롤 식이는 암·숫쥐 모두에서 간 중성지방의 수준을 유의적으로 증가시켰다 ($P < 0.01$).

본 실험에서와 마찬가지로 콜레스테롤 식이로 인한 간 콜레스테롤과 간 중성지방의 증가는 여러 연구 (Hulbron 등 1982; Ronnema 1976; Fungwe 등 1992; Hayashi 등 1989; Ueno와 Okuyama 1986) 에서 보고되었다. Huang (1995) 은 숫쥐의 콜레스테롤 식이는 간 중성지방의 합성증가와 분비감소를 초래하여 간 중성지방을 증가시키는 반면, 혈장 중성지방의 감소를 야기한다고 하였으며, 본 실험의 정소절제된 숫쥐에서 보여준 양상과 유사하였다. Liu 등 (1995) 은 콜레스테롤 식이에 의한 간의 콜레스테롤과 중성지방 수준 증가의 원인을 간 microsome내의 중성지방 합성에 관여하는 중요한 효소인 glycerophosphate acyltransferase 와 diacylglycerol acyltransferase의 활성증가와 de novo lipogenesis가 증가하는 반면, β

-oxidation의 감소에 의한 것이라라고 설명하였다. 본 실험에서 암·숫쥐 모두 성소의 절제가 간 콜레스테롤 수준에는 영향을 주지 않았고, 유의적이지 않지만 간 중성지방의 수준에는 영향을 미치며, 또한 간 중성지방이 증가된 만큼 혈장 중성지방 수준이 감소되었음을 알 수 있다. 암·숫쥐 모두 성소가 절제된 상태에서 콜레스테롤 식이는 간의 콜레스테롤과 함께 중성지방의 축적을 야기했는데, Huang 등 (1995)과 Liu 등 (1995)의 설명처럼 숫쥐의 경우 콜레스테롤 식이는 간에서의 합성증가와 분비감소로 인해 간 중성지방 수준을 상승시키는 반면, 혈장 중성지방 수준을 반비례적으로 감소시켰지만, 암쥐의 경우 혈장 중성지방 수준에 거의 변화가 없는 것으로 보아 중성지방의 대사기전이 숫쥐와 상이한 듯 하며 그 기전에 대한 연구가 필요할 것이다.



Table 4. Effects of diets and gonadectomy on liver total-cholesterol and TG.

	Control		Control		Cholesterol	
	Intact	Sham	ODX	OVX	ODX	OVX
	male	female	male	female	male	female
Liver (mg/g)						
Total-cholesterol	9.22 ± 2.43 ^a	8.78 ± 3.26 ^a	10.32 ± 3.54 ^a	9.58 ± 3.09 ^a	56.32 ± 9.19 ^b	54.79 ± 7.50 ^b
Triglyceride	17.74 ± 4.53 ^a	23.31 ± 7.94 ^{ab}	20.73 ± 5.29 ^a	29.49 ± 5.78 ^b	36.78 ± 2.71 ^c	38.94 ± 4.81 ^c

ODX : Orchiectomized, OVX : Ovariectomized

Values are means ± SD of 9 rats

Values in the same row not sharing the same superscripts differ significantly (P < 0.01)

4. Hematocrit 수치와 혈소판 응집

Hematocrit 수치는 암·숫쥐에서 성 (sex) 자체에 의한 차이는 없었으며, 성소의 절제에 의한 영향이 숫쥐의 경우 거의 변화가 없는 반면, 암쥐의 경우 유의적인 차이는 없지만 다소 증가하였다. 성소가 절제된 상태에서 콜레스테롤 식이에 의해 암·숫쥐 모두 대조 식이군에 비해 콜레스테롤 식이군에서 유의적으로 낮게 나타났다 ($P < 0.05$) (Table 5).

혈소판 응집에서 maximum aggregation은 sham 암쥐에 비해 intact 숫쥐가 유의적으로 높았다 ($P < 0.05$). 성소의 절제 효과를 비교할 때 암쥐는 증가되었고, 숫쥐는 감소하였으나, 유의성은 없었다. 성소가 절제된 암·숫쥐에 있어서 콜레스테롤 식이는 암·숫쥐 모두 증가시켰으며, 특히 암쥐의 경우 성소의 절제와 콜레스테롤 식이라는 두 요인의 복합적인 작용에 의한 maximum aggregation의 증가는 대조식을 한 sham 암쥐와 비교할 때 유의성이 있었다 ($P < 0.05$) (Table 5).

Initial slope은 응집시작 1분 동안의 impedance의 기울기를 측정한 것으로, Maximum aggregation에서 보여준 것처럼, 같은 처리구간에서 숫쥐가 암쥐에 비해 높으며 난소절제는 증가를, 정소절제는 감소를 나타냈지만 유의성이 없으며, 콜레스테롤 식이에 의해 암·숫쥐 모두에서 증가를 야기하였다.

본 실험결과는 암쥐에 비해 숫쥐가 혈소판 응집력이 유의적으로 크며, 이 결과와 유사하게 혈소판 응집에 있어 성 (sex) 차이를 보고한 연구 (Kita와 Lamartiniere 1981; Kojima 등 1993; Emms와 Lewis 1985; Torres 등 1986; Oyekan과 Botting 1991) 들이 많다. Johnson 등 (1977) 은 ADP에 의한 혈소판의 반응이 암쥐에 비해 숫쥐가 높으며, 성소 절제에 의해 숫쥐

의 경우 혈소판 응집력이 감소하는 반면 암쥐는 증가하였다고 하여, 본 실험결과처럼 성소의 절제에 의한 영향이 암·숫쥐가 상반됨을 알 수 있다. 난소절제에 의한 암쥐의 혈소판 응집강화는 Oyekan과 Botting (1990) 와 Otsuka 등 (1997) 의 연구에서도 보고되었다. 반면 Orchard와 Botting (1981) 은 난소절제와 정소절제는 ADP에 의한 혈소판의 활성화에 변화를 주지 못하였다고 보고하여 서로 다른 결과를 보여 주었다.

앞에서 거론했듯이 대다수의 연구들은 gonadal steroids는 위에 있어 혈소판의 기능 조절과 관련이 있음을 보고하였다. 콜레스테롤 식이에 의한 혈소판 응집의 증가를 보고한 연구 (Lane 등 1986; Maeda 등 1982; Shattil 등 1975) 들이 있으며, 본 실험에서는 숫쥐의 경우 정소절제에 의해 감소된 혈소판 응집이 콜레스테롤 식이에 의해 증가되어 intact 숫쥐보다 약간 높으나, 유의성이 없는 반면, 암쥐의 경우는 난소절제에 의한 증가와 콜레스테롤 식이가 복합적으로 작용하여 증가를 가중시킴으로 인해 maximum aggregation에 있어 난소절제된 상태에서 콜레스테롤 식이를 한 암쥐와 sham 암쥐는 유의성이 존재하였다.



Table 5. Effects of diets and gonadectomy on hematocrit and platelet aggregation

	Control		Control		Cholesterol	
	Intact	Sham	ODX	OVX	ODX	OVX
	male	female	male	female	male	female
Hematocrit(%)	46.00 ± 2.80 ^{ab}	46.50 ± 3.81 ^{ab}	46.45 ± 1.24 ^{ab}	48.95 ± 2.43 ^b	44.05 ± 3.68 ^a	44.48 ± 2.87 ^a
Aggregation						
Maximum(Ω) ¹	18.20 ± 2.74 ^b	13.92 ± 3.28 ^{ab}	16.83 ± 2.39 ^{ab}	15.73 ± 2.99 ^{ab}	18.60 ± 3.10 ^b	18.09 ± 4.48 ^b
Initial slope(Ω/min) ²	16.17 ± 2.43 ^{ab}	13.27 ± 3.50 ^a	15.44 ± 2.77 ^{ab}	14.58 ± 2.49 ^{ab}	17.59 ± 2.07 ^b	15.58 ± 3.83 ^{ab}

ODX : Orchiectomized, OVX : Ovariectomized

Values are means ± SD of 9 rats

Values in the same row not sharing the same superscripts differ significantly (P < 0.05)

¹ Maximum aggregation in ohm at the point where aggregate dissociated.

² Initial slope is ohm change for the first one minute

5. 간의 조직학적 변화

육안으로 간의 상태를 관찰하면, 암·숫쥐 모두 성소의 절제에 의해서는 크기와 색의 변화를 볼 수 없으나, 성소가 절제된 상태에서 콜레스테롤 식이는 암·숫쥐 모두 현저한 부피 증가와 색의 변화를 가져와 비대성 (hypertrophic)·저색소성 (hypochromic) 간을 관찰할 수 있었다.

광학현미경을 이용한 간 조직의 변화를 보면 <Table 6>, sham 암쥐의 간 조직에서는 지방공포를 관찰할 수 없었지만, intact 숫쥐에서 다소 존재하였으며, 성소절제에 대한 영향을 보면 암쥐의 경우 난소절제에도 불구하고 sham과 유사하게 지방공포를 관찰할 수 없었지만, 정소절제의 숫쥐는 오히려 intact 숫쥐에서 관찰된 지방공포를 관찰할 수 없었다. 성소가 절제된 상태에서 콜레스테롤 식이는 암·숫쥐의 간에 상당수의 지방공포를 생성시켰고, 그 정도의 차이는 암쥐에 비해 숫쥐가 더 크며, 지방공포의 대부분은 혈관 주변에 분포되어 있었다 <Figure 3>.

간의 중성지방 수준과 간의 조직학적 변화와의 관계를 보면, 다른 처리구와 비교할 때 intact 숫쥐의 간 중성지방 수준이 가장 낮음에도 불구하고 다소의 지방공포를 관찰할 수 있었던 반면, 간의 중성지방 수준이 다소 높은 sham 암쥐와 성소가 절제된 암·숫쥐에서는 지방공포가 거의 없는 것을 볼 때, 성소의 절제가 간조직의 지방공포생성에 미치는 영향은 암·숫쥐에 있어 차이가 있음을 알 수 있었고, 성소가 절제된 상태에서 콜레스테롤 식이를 급여한 암·숫쥐의 간 조직내 중성지방 수준은 높고 지방공포의 생성정도 또한 아주 심하였다.

여러 연구 (Ronnema 1976; Lee와 Ho 1975; Lee 1981) 에서 콜레스테롤 식이는 쥐의 간에 지방공포 (vacuolar fat drop) 를 생성시키고, 비대성 지방간 (hypertrophic fatty liver) 을 야기한다고 하였으며, 본 실험에서

도 성소를 절제한 상태에서 콜레스테롤 식이를 섭취한 쥐의 간에서 유사한 비대성 지방간을 관찰할 수 있었다. Ueno 등 (1985) 은 고콜레스테롤 식이는 지방간을 야기하며, 이는 lipogenesis의 증가보다 오히려 lipoprotein의 분비감소에 의한 것이라 보고하였다.

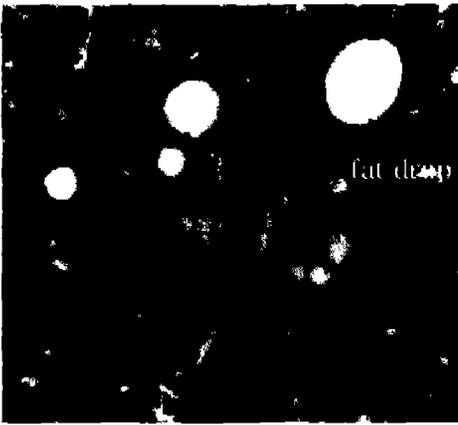


제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

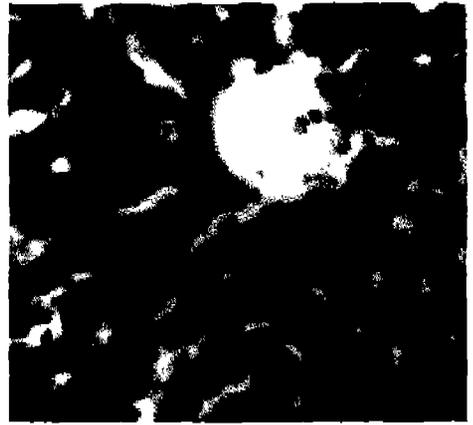
Table 6. Effects of diets and gonadectomy on physical characteristics of liver tissue

Sex	Surgery	Diet	1 Specimen ¹⁾	2 Specimen
Male	Intact	control	+ ²	+
			+ ³	+ ²
	ODX	control	-	-
			-	-
	ODX	cholesterol	+ ⁵	+ ⁴
			+ ⁴	+ ⁴
Female	Sham	control	-	-
			+	-
	OVX	control	-	-
			+	-
	OVX	cholesterol	+ ⁵	+ ⁵
			+ ²	+ ²

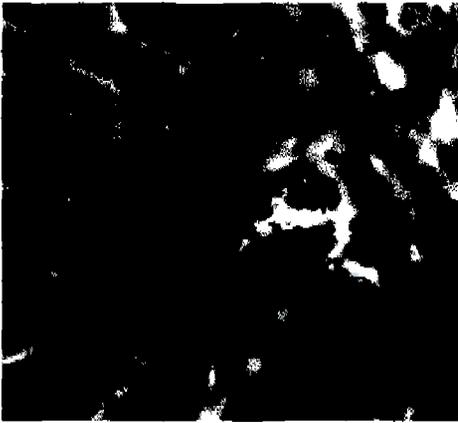
¹⁾ Liver tissue expressed as six levels according to the extent of vacuolar fat drop examined at 400× on microscopic ; None of vacuolar fat drop (-) , little (+) , a little (+²) , some (+³) , many (+⁴) , severe (+⁵)



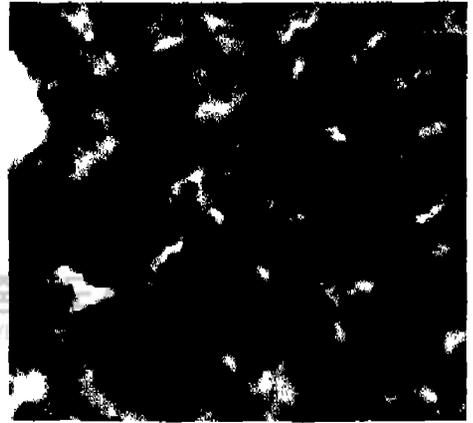
(a) Intact-control (♂)



(b) Sham-control (♀)



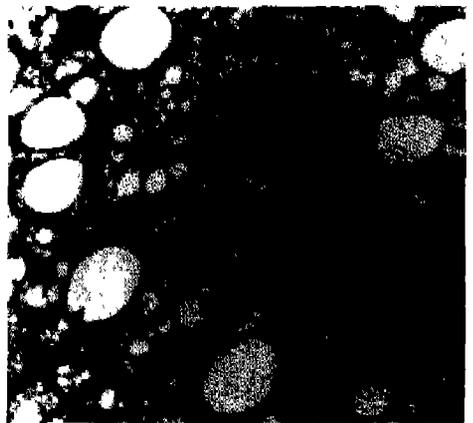
(c) ODX-control (♂)



(d) OVX-control (♀)



(e) ODX-cholesterol (♂)



(f) OVX-cholesterol (♀)

Figure 3. Microscopic appearance of liver tissue. ($\times 400$)

IV. 결 론

본 연구는 Sprague Dawley 암·숫쥐를 대상으로 성소의 절제가 성장을 및 혈장과 간의 콜레스테롤과 중성지방의 수준, 혈소판 응집과 간 조직의 변화에 미치는 영향과 성소를 절제한 상태에서 0.5% 콜레스테롤 + 0.2% cholate 식이를 급여하였을 때 그러한 효과에 대한 변화를 관찰하여 얻어진 결과를 요약하면 다음과 같다 :

1. 일일증체량 (ADG) 과 일일식이섭취량 (ADFI) 은 성소의 절제에 의해 숫쥐의 경우 감소하지만 암쥐는 유의적 증가를 보였으며, 성소가 절제된 상태에서 콜레스테롤 식이에 의해서는 암·숫쥐 모두에서 감소되었다. 이를 식이효율 (ADG/ADFI) 측면으로 보면, 숫쥐의 경우 처리구간에 차이가 거의 없으나, 암쥐의 경우 난소절제는 sham 암쥐에 비해 상당한 유의적 증가를 나타내었다. 체중에 대한 간 무게의 비율은 성소의 절제에 의해 암·숫쥐 모두 약간 감소하나, 콜레스테롤 식이에 의해서는 암·숫쥐 모두 유의적으로 증가하였다.

2. 혈장 총 콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤 수준은 암·숫쥐 모두 성소의 절제에 의해 약간 증가하며, 성소가 절제된 상태에서 콜레스테롤 식이에 의해 상당히 유의적으로 증가하였다. 반면 HDL-콜레스테롤 수준은 sham 암쥐가 intact 숫쥐에 비해 유의적으로 높으며, 성소의 절제에 의한 영향을 보면 암·숫쥐 모두 약간의 증가를 보이는 반면 콜레스테롤 식이에 의해서 유의적으로 감소하였다. 혈장 중성지방 수준은 성소의 절제에 의해 암·숫쥐가 다소 감소하지만, 성소가 절제된 상태에서 콜레스테롤 식이는 숫쥐의 경우 감소의 폭을 크게 하는 반면, 암쥐는 약간 증가시켰다.

3. 간의 콜레스테롤 수준은 전반적으로 숫쥐가 암쥐보다 높고, 간의 중성지방 수준은 암쥐가 숫쥐보다 높게 나타났다. 암·숫쥐 모두에게 성소의 절제는 간의 콜레스테롤과 중성지방을 증가시켰고, 성소가 절제된 상태에서 콜레스테롤 식이는 유의적 상승을 나타냈다.

4. Hematocrit 수치는 난소절제된 암쥐에서 약간 상승하였고, 성소가 절제된 상태에서 콜레스테롤 식이는 암·숫쥐 모두에서 다소 감소시켰다. 혈소판 응집에 있어 maximum aggregation은 sham 암쥐보다 intact 숫쥐가 유의적으로 높고, 성소의 절제에 의한 영향으로 암쥐가 증가를 보인 반면, 숫쥐는 감소하며, 성소가 절제된 상태에서 콜레스테롤 식이에 의해 암·숫쥐 모두 증가하였다. Initial slope의 경우 숫쥐가 암쥐보다 전반적으로 높고, 성소의 절제나 콜레스테롤 식이에 의한 효과는 유의적이지 않지만, 변화 양상은 maximum aggregation의 그것과 유사하였다.

5. 육안으로 간을 살펴보면, 암·숫쥐 모두 성소의 절제로 인한 변화는 거의 없었고, 콜레스테롤 식이에 의해 간의 크기 (hypertropic) 와 간의 색깔 (hypochromic) 의 변화를 보였다. 광학현미경을 통한 간 조직의 변화를 보면 sham 암쥐와 난소절제된 암쥐의 간은 지방공포가 거의 없으나, intact 숫쥐의 경우 다소의 지방공포가 관찰되는 반면, 정소절제된 숫쥐에서 관찰되지 않았다. 성소가 절제된 상태에서 콜레스테롤 식이는 암·숫쥐 모두 현저한 지방공포의 생성을 유도하며, 그 정도의 차이는 암쥐에 비해 숫쥐가 더 크다.

V. 참고 문헌

Abul-Hajj YJ. 1978. Stimulation by estradiol benzoate of hepatic β -hydroxy- β -methylglutaryl coenzyme A reductase in normal and ovariectomized rats. *Steroids* 31(6):841-847.

Adlersberg D, Schaefer LE, Steinberg AG, et al. 1956. Age, sex, serum lipids, and coronary atherosclerosis. *JAMA*. 162:619-622.

Akishita M, Kozaki K, Saito T, Eto M, Ishikawa M, Miyoshi H, Hashimoto M, Toba K, Orimo H and Ouchi Y. 1996. Effects of estrogen on atherosclerosis formation and serum nitrite/nitrate concentrations in cholesterol-fed ovariectomized rabbits. *J Atheroscler Thromb*. 3(2):114-119.

Alexanderson P, Haarbo J, Byrjalsen I, Lawaetz H and Christiansen C. 1999. Natural androgens inhibit male atherosclerosis. a study in castrated, cholesterol-fed rabbits. *Circ Res* 16;84(7):813-819

Bater PJ and Rye KA. 1996. High density lipoproteins and coronary heart disease. *Atherosclerosis* 121:1-12.

Beitz DC and Knight TJ. 1994. Fats and cholesterol, role in human nutrition. *Encyclopedia of Agricultural Science*. 2:139-153

Brook JG and Aviram M. 1988. Platelet lipoprotein interactions. *Semin Thromb Hemost*. 14:258-265.

Carlson LA and Ericsson M 1975. Quantitative and qualitative serum lipoprotein analysis. Part I. Studies in healthy men and women. *Atherosclerosis*. 21:417-433

Chang S and Borensztajn J. 1993. Hepatic lipase function and the accumulation of beta-very-low-density lipoproteins in the plasma of cholesterol-fed rabbits. *Biochem J* 1:293(Pt 3):745-750.

Cinci G, Pagani R, Pandolfi ML, Porcelli B, Pizzichini M and Marinello E 1993. Effects of testosterone on cholesterol levels and fatty acid composition in the rat. *Life Sci* 53(2):91-97.

Clarkson TB, Adams MR, Kaplan JR, Shively CA and Koritnik DR 1989. From menarche to menopause: coronary artery atherosclerosis and protection in cynomolgus monkeys. *Am. J. Obstet Gynecol* 160(5 pt 2):1280-1285.

Czaja JA. 1984. Sex differences in the activational effects of gonadal hormones on food intake and body weight. *Physiol Behav*. 33(4):553-558.

Emms H and Lewis GP. 1985. Sex and hormonal influences on platelet sensitivity and coagulation in the rat. *Br J Pharmacol*. 86(3):557-563.

Folch J, Lees M and Sloane Stanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol Chem*. 226:497-509

Fungwe TV, Cagen L, Wilcox HG and Heimberg M. 1992. Regulation of hepatic secretion of very low density lipoprotein by dietary cholesterol. *J Lipid Res*. 33(2):179-191.

Gale SK and Sclafani A. 1977. Comparison of ovarian and hypothalamic obesity syndromes in the female rat: effects of diet palatability on food intake and body weight. *J Comp Physiol Psychol.* 91(2):381-392.

Gentry RT and Wade GN. 1976. Androgenic control of food intake and body weight in male rats. *J Comp Physiol Psychol* 90(1):18-25.

Gimenez MS, Ponce de Ascheri AM, Elorza de Orellano ME, Oliveros L, Zirulnik de Hodara F, Bonomi MR and Gimenez LA. 1989. Lipids and lipogenic enzyme in adipose tissue of castrated male goats. *Lipids.* Nov,24(11):985-987.

Guetta V and Cannon RO 3rd. 1996. Cardiovascular effects of estrogen and lipid-lowering therapies in postmenopausal women. *Circulation.*15 ;93(10):1928-1937.

Haarbo J and Christiansen C. 1996. The impact of female sex hormone on secondary prevention of atherosclerosis in ovariectomized cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis.* 123(1-2):139-144.

Haarbo J, Leth-Espensen P, Stender S and Christiansen C. 1991. Estrogen monotherapy and combined estrogen-progestogen replacement therapy attenuate aortic accumulation of cholesterol in ovariectomized cholesterol-fed rabbits. *J. Clin. Invest.* 87:1274-1279.

Haffner SM and Valdez RA. 1995. Endogenous sex hormones : impact on lipids, lipoproteins, and insulin. *Am. J. Med.* 98;1A:40S-47S.

Haug A, Hostmark AT, Spydevold O and Eilertsen E. 1986. Hypercholesterolaemia, hypotriacylglycerolaemia and increased lipoprotein lipase activity following orchidectomy in rats. *Acta Endocrinol(Copenh)* 113(1):133-139.

Hayashi H, Ueno K, Hon T, Naito Y, Shimokawa T and Okuyama H. 1989 Hypertension does not stimulate the development of hypercholesterolemia of fatty liver induced by a high cholesterol/choleate diet in rats. *Chem Pharm Bull(Tokyo)* Jul;37(7):1844-1848.

Hibbeln JR and Norman S Jr. 1995. Dietary polyunsaturated fatty acids and depression : when cholesterol dose not satisfy. *Am J Clin Nutr.* 62:1-9

Huang PC, Liu CH and Huang MT. 1995. Sources of triacylglycerol accumulation in livers of rats fed a cholesterol-supplemented diet. *Lipids.* 30:6:527-531.



Hulbron G, Aubert R, Bourgeois F and Lemonnier D 1982. Early cholesterol feeding' are there long-term effects in the rat?. *J Nutr.* 112(7):1296-1305.

Johnson M, Ramey E and Ramwell PW. 1977. Androgen-mediated sensitivity in platelet aggregation. *Am J Physiol.* 232(4):H381-385.

Joles JA, Bijleveld C, van Tol A, Geelen MJ and Koomans HA. 1995 Ovarianectomy decreases plasma triglyceride levels in analbuminaemic rats by lowering hepatic triglyceride secretion. *Atherosclerosis.* 117(1):51-59.

Joles JA, van Goor H, van der Horst ML, van Tol A, Weening JJ and Koomans HA. 1996. Ovariectomy decreases plasma triglyceride levels and both prevents and alleviates glomerular disease in uninephrectomized female albuminemic rats. *J Am Soc Nephrol.* 7(8):1189-1197.

Kahl PE, Gotz F, Schimke E, Honigmann G and Werich M. 1984. Sex-specific differences in food intake, body weight and parameters of lipid metabolism (HDL-cholesterol, total-cholesterol and triglycerides) in rats under various feeding conditions. *Biomed Biochim Acta.* 43(11):1241-1249.

Kannel WB, Hjortland MC, and McNamara PM. 1976. The Framingham study. *Ann. Intern. Med.* 85:447-452.

Kita E and Lamartiniere CA. 1981. Pituitary control of blood coagulation in the rat. *J Endocrinol.* 91(3):367-373.

Kojima T, Inoue M, Morikawa M and Horiguchi Y. 1993. Contribution of plasmin to sex differences in platelet aggregation in the rat. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.* 82(3):351-356.

Kuchar S, Mozes S, Boda K and Koppel J. 1982 The effect of androgen and estrogen on food intake and body weight in rats-age dependency. *Endokrinologie.* 80(3):294-298.

Lane IF, Poskitt KR, Irwin JT and McCollum CN. 1986. Hypercholesterolaemia accentuated platelet activity. *J Mal Vasc* 11(1):39-41.

LaRosa JC. 1994. Cholesterol and public policy. *Atherosclerosis* 108(suppl): s137-s141.

Lawrence JB, Leifer DW, Moura GL, Southern P, Emery JD, Bodenheimer SL and Kramer WS. 1995. Sex differences in platelet adherence to subendothelium: relationship to platelet function tests and hematologic variables. *Am J Med Sci* 309(4):210-217.

Lee SP 1981. Increased hepatic fibrogenesis in the cholesterol-fed mouse. *Clin Sci.* 61(2):253-256.

Lee SS and Ho KJ. 1975. Cholesterol fatty liver. Morphological changes in the course of its development in rabbits *Arch Pathol.* 99(6):301-306.

Liu CH, Huang MT and Huang PC. 1995. Sources of triacylglycerol accumulation in livers of rats fed a cholesterol-supplemented diet. *Lipids.* 30(6):527-531.

Maeda J, Tsuboi T, Fujitani B, Kadokawa T and Shimizu M. 1982. Enhancement of platelet function in cholesterol-fed guinea-pigs. *Nippon Yakurigaku Zasshi.* 80(2):105-111.

Marlett JA, Shinnick FL and Steven LI. 1990. Dose response to a dietary oat bran fraction in cholesterol-fed rats. *J. Nutr.* 120:561-568.

Masziere C, Auclair M, Ronveaux MC, et al 1991. Estrogens inhibit copper and cell-mediated modification of low density lipoprotein. *Atherosclerosis.* 89:175-182.

Mook DG, Kenney NJ, Roberts S, Nussbaum AI and Rodier WI, 1972. Ovarian-adrenal interactions in regulation of body weight by female rats. *J Comp Physiol.* 81:192-211.

Morishita S, Saito T, Mishima Y, Mizutani A, Hirai Y, Koyama S and Kawakami M. 1986. Strains and species differences in experimental hyperlipidemia. *Nippon Yakurigaku Zasshi.* 87(3):259-264.

Mueller K and Hsiao S. 1980. Estrus- and ovariectomy-induced body weight changes : evidence for two estrogenic mechanisms. *J Comp Physiol Psychol.* 94(6):1126-1134.

Nakayama S, Sakashita M, Nishimura T and Sakamoto K. 1981. Variation of lipids in rats fed a cholesterol diet. *Nippon Yakurigaku Zasshi.* 78(2):91-107.

Ohmura E, Aoyama Y and Yoshida A. 1986. Changes in lipids in liver and serum of rats fed a histidine-excess diet or cholesterol-supplemented diets. *Lipids.* 21(12):748-753.

Orchard MA and Botting JH. 1981. The influence of sex hormones on rat platelet sensitivity to adenosine-diphosphate. *Thromb Haemost.* 28:46(2):496-499.

Otsuka K, Ohno Y, Sasaki T, Yamakawa H, Hayashida T, Suzawa T, Suzuki H and Saruta T. 1997. Ovariectomy aggravated sodium induced hypertension associated with altered platelet intracellular Ca^{2+} in Dahl rats. *Am J Hypertens.* 10(12 Pt 1):1396-1403.

Oyekan AO and Botting JH. 1990. Pharmacodynamic interaction between oestradiol and adrenaline on intravascular aggregation induced by adenosine diphosphate in the rat. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* 306:148-160.

Oyekan AO and Botting JH. 1991. Relationship between gender difference in intravascular aggregation of platelets and the fibrinolytic pathway in the rat *Arch Int Pharmacodyn Ther.* 313:176-192.

Peinado-Onsurbe J, Staels B, Vanderschueren D, Bouillon R and Auwerx J. 1993. Effects of sex steroids on hepatic and lipoprotein lipase activity and mRNA in the rat. *Horm Res.* 40(5-6):184-188.

Ronnemaa T, Lehtonen MT, vihersaari T and Running VJ. 1978. HDL-cholesterol and atherosclerosis. *Lancet.* 1802. 1161,

Ronnemaa T, Pelliniemi TT and Kulonen E. 1976. Factors stimulating collagen synthesis from the livers of hypercholesterolemic rats. *Atherosclerosis.* 24(1-2):311-321.

Ronnemaa T. 1976. Effect of high cholesterol, olive oil diet on the lipids and connective tissue in rat liver. A biochemical study. *Scand J Gastroenterol.* 11(8):849-855.

Rosenfeld L. 1989, Atherosclerosis and the cholesterol connection : revolution of a clinical application. *Clin. Chem.* 35:521-531

Rothwell NJ and Stock MJ. 1986. Energy balance and brown fat activity in adrenalectomized male, female, and castrated male rats. *Metabolism*. 35(7):657-660.

Russ EM, Eder HA and Barr DP. 1951. Protein-lipid relationships in human plasma. Part I. In normal individuals. *Am J Med*. 11:468-479.

Sack MN, Rader DJ and Cannon RO 3rd. 1994. Oestrogen and inhibition of oxidation of low-density lipoproteins in postmenopausal women. *Lancet*. 343:269-270.

Schemmel RA, Teague RT and Brau GA. 1982. Obesity in Osborne Mendel and S 4B/P1 rats: effects of sucrose solution, castration and treatment with estradiol or insulin. *Am J Physiol*. 243:R347-352.

Shattil SJ, Anaya-Galindo R, Bennett J, Colman RW and Cooper RA. 1975. Platelet hypersensitivity induced by cholesterol incorporation. *J Clin Invest*. 55(3):636-643.

Shimizu H, Shimomura Y, Sato N, Uehara Y and Kobayashi I. 1992. Colonic temperature was not changed in the development of obesity after ovariectomy. *Exp Clin Endocrinol*. 99(2):99-101.

Smith EB. 1974. The relationship between plasma and tissue lipids in human atherosclerosis. *Adr. Lipid Res*. 1.

Spady DK and Cuthbert JA. 1992. Regulation of hepatic sterol metabolism in the rat. *J. Biol. Chem*. 267:8:5584-5591.

Spady DK and Dietschy JM. 1988. Interaction of dietary cholesterol and triglycerides in the regulation of hepatic low density lipoprotein transport in the hamster. *J Clin Invest.* 81(2):300-309.

Stalmer J, Wethworth D and Neaton JD. 1986. Is there a relationship between serum cholesterol and risk of premature death from coronary heart disease and grade? *J. Am. Med. Assoc.* 256:2823-2829.

Staprans I, Rapp JH, Pan XM, Ong DL and Feingold KR. 1990. Testosterone regulates metabolism of plasma chylomicrons in rats. *Arteriosclerosis.* 10(4):591-596.

Starzec JJ and Berger DF. 1986. Effects of stress and ovariectomy on the plasma cholesterol, serum triglyceride, and aortic cholesterol levels of female rats. *Physiol Behav* 37(1):99-104.

Story JA, Tepper S and, Kritchevesky D. 1974. Influence of synthetic conjugates of cholic acid on cholesteremia in rats *J. Nutr.* 104:1185-1188.

Subbiah MTR, Kessel B, Agrawal M, Rajan R, Abplanalp W and Rymaszewski Z. 1993. Antioxidant potential of specific estrogen on lipid peroxidation. *J. Clin. Endocrinol Metab.* 77:1095-1097.

Sultan F, Benhizia F, Lagrange D, Will H and Griglio S. 1995. Effect of dietary cholesterol on activity and mRNA levels of hepatic lipase in rat. *Life Sci.* 56(1):31-37.

Takeuchi N, Go S, Murase M, Nomura Y, Takase H and Uchida K. 1986. Effects of castration and testosterone administration on serum lipoproteins and their apoproteins in male spontaneously hypertensive rat. *Endocrinology*. 118(5):1787-1794.

Tarttelin ME and Gorski RA. 1973. The effect of ovarian steroids on food and water intake and body weight in the female rat. *Acta. Endocr.* 72:551-568

Torres Duarte AP, Ramwell P and Myers A. 1986. Sex differences in mouse platelet aggregation. *Thromb Res.* 1;43(1):33-39.

Ueno K and Okuyama H. 1986. A high cholesterol/choleate diet induced fatty liver in spontaneously hypertensive rats. *Lipids.* 21(8):475-480.

Ueno K, Hayashi H, Moriuchi A and Okuyama H. 1985 Effect of a high cholesterol diet on lipid metabolizing enzymes in spontaneously hypertensive rats. *Biochim Biophys Acta.* 14;837(2):173-180.

Wade GN, Gray JM and Bartness TJ. 1985. Gonadal influences on adiposity. *Int J Obes.* :9 Suppl 1:83-92

Wagner JD, Clarkson TB, Clair RW, Schwenke DC, Shively CA and Adams MR. 1991. Estrogen and progesterone replacement therapy reduces low density lipoprotein accumulation in the coronary arteries of surgically postmenopausal cynomolgus monkeys. *J. Clin. Invest.* 88:1995-2002.

Wakatsuki A and Sagara Y. 1995. Lipoprotein metabolism in postmenopausal and oophorectomized women. *Obstet Gynecol* 85(4):523-528.

Woodward CJ 1993. A re-evaluation of the anabolic effect of testosterone in rats: interactions with gonadectomy, adrenalectomy and hypophysectomy. *Acta Endocrinol (Copenh)* 128(5):473-477.

강정애. 1998. 학위논문. 고콜레스테롤 식이를 먹인 쥐의 혈장과 간 중 콜레스테롤, 중성지방 수준 및 혈소판 응집성에 있어 암·수 차이.

경제기획원, 조사통계국. 사망통계연보 1982-1990.

권자령. 1996. 학위논문. 식이지방의 종류가 난소절제한 흰쥐의 혈청 및 지방조직에 미치는 영향.

김정순. 1993. 우리 나라 사망원인의 변천과 현황. *대한의학협회지*, 6(3) : 271-284,

이상선, 윤정환. 1989. 난소절제가 체조성에 미치는 장기적 영향. *한국영양학회지* 22(2):102-107.

최인현. 1985. 최근의 사망패턴에 관한 고찰. *한국인구학회지* 8(2).

ABSTRACT

Effects of gonadectomy and hypercholesterol diet on plasma and liver cholesterol and triglyceride levels, platelet aggregation and liver histology in Sprague Dawley rats

In Sook Oh

Department of Food science and Nutrition, Graduate School

Cheju National University, Cheju, Korea

Cholesterol has been considered to play a major role in the development of cardiovascular diseases (CVD) including atherosclerosis. Men generally have higher incidence of CVD than women at the same age, and this difference decreases after menopause.

The purpose of this study was to investigate if gonadectomy (GD) and GD + a hypercholesterol diet affect the levels of plasma and liver cholesterol and triglyceride. Using 6 weeks old Sprague Dawley rats, we examined the growth rate and food efficiency, plasma and liver levels of cholesterol and triglyceride, platelet aggregation and histological change of liver tissue in sham or ovariectomized (OVX) female and intact or orchidectomized (ODX) male rats fed a normal or 0.5 % cholesterol + 0.2 % cholate diet.

OVX female rats have a higher food efficiency and growth rate compared to sham female rats. The plasma levels of total cholesterol, LDL-cholesterol and HDL-cholesterol were increased in OVX female and ODX male than sham female and intact male rats, respectively, but the difference was not significant. The plasma levels of total cholesterol and LDL-cholesterol significantly were increased and HDL-cholesterol significantly decreased in both sexes when they were fed a hypercholesterol diet. Plasma triglyceride significantly decreased in ODX male rats fed a hypercholesterol diet compared to other groups.

Gonadectomy did not influence the liver level of total-cholesterol, but gonadectomy fed a hypercholesterol diet increased the liver cholesterol 4-5 times in both sexes, compared to them fed a normal diet. Regardless gonadectomy, a hypercholesterol diet greatly increased liver triglyceride, leading to fatty liver. The maximum aggregation of platelet was significantly higher in male than in female rats. Gonadectomy increased the maximum aggregation in female and decreased in male rats, and a hypercholesterol diet increased the aggregation in both sexes.

In conclusion, gonadectomy affects female rats more than male rats increasing growth rate and platelet aggregation. Orchidectomy of male rats increased plasma and liver cholesterol to the level of female rats when they were fed a hypercholesterol diet. Compared to female, male rats have a low plasma triglyceride level but higher liver triglyceride when they were fed a hypercholesterol diet. The differences observed between OVX female and ODX male rats may be attributed to the sex hormones which may influence cholesterol and triglyceride metabolism in some ways. It is still controversial that postmenopausal or ovariectomized women have more risk for the incidence of CVD and hormone treatment may reduce the risk. Further study should be done on cholesterol metabolism in relation with sex hormone

감사의 글

언 땅을 비집고 올라오는 봄의 새싹도, 여름의 무더위도, 가을의 떨어지는 낙엽도 채 느끼지 못한 채 바쁘게 지내온 시간들 속에 어느덧 하얀 눈이 내리는 겨울이 성큼 다가와 있었습니다. 논문을 마무리하다 보니 저에게 힘이 되어 주신 고마운 분들이 떠오릅니다.

지도교수님인 강정숙 교수님께 진심으로 감사의 말씀을 전합니다. ‘할 수 있다. 하고 싶다’는 열의만을 갖고 뛰어든 저에게 여러 가지 부족한 면을 채워주기 위해 아낌없이 베풀어주신 모든 것들을 기억하며, 마음속 깊이 교수님의 가르침과 조언을 새깁니다. 그리고 함께 고생해 준 실험방의 민숙, 양희, 승희, 지나, 유미, 지현 후배들과 앞서 석사의 길을 다져준 정애에게도 고맙다는 말을 전합니다. 또한 홍양자 교수님, 윤창훈 교수님, 양양한 교수님, 고양숙 교수님, 신동범 교수님의 학문적인 조언과 격려에 감사의 마음을 전합니다.

논문을 작성하는 동안 여러 친구들 특히 경애-동분, 회수-회근, 회경-석희, 수정-석종, 민주, 창협, 상협, 일연, 종연 오빠에게 이 지면을 빌어 고맙다는 말을 하고 싶습니다. 아주 늦은 시간에도 아랑곳하지 않고 제가 집에 들어간 것을 확인한 후에야 잠이 든 한 사람에게도 감사합니다. 그리고 저의 상사와 동료로서 격려의 말을 아끼지 않으셨던 과장님과 선생님들, 특히 영양사 선생님들께 감사의 마음을 전합니다. 이 분들의 ‘할 수 있다’는 저를 향한 믿음의 시선이 있었기에 지금의 결실을 맺게 되었습니다.

한 해를 시작하는 첫 날에 저는 두 가지 소원을 마음속에 간직합니다. 하나는 부모님의 건강을, 또 다른 하나는 삶을 살아가는데 최선을 다하는 저의 모습을 지켜보아 주는 보이지 않는 시선의 존재를 기원합니다.

끝으로 혼자 실험실에 있을 때마다 ‘힘들다’는 새벽의 전화에도 불구하고 항상 따뜻한 격려의 말을 해 주셨던 영원히 변하지 않는 아낌없는 사랑을 주시는 부모님께 비록 줄잡아지만 이 논문을 바칩니다.

여러분들과 함께 하는 더불어 사는 삶을 위해 좀 더 노력하는 저의 모습으로 고마움에 보답하기 위해 최선을 다 할 것을 약속합니다. 항상 저를 지켜보는 시선이 있음을 잊지 않겠습니다.