

감마-리놀렌산을 함유하는 식이지방이 흰쥐의 혈전작용 및 혈액지질 수준에 미치는 영향

박 병 성^{§*} · Zammit, A Victor^{**}

강원대학교 동물생명과학전공,^{*} 영국 한나연구소 생물의학부^{**}

Effect of Dietary Oil Containing γ -Linolenic Acid on the Plasma Lipid Levels and Thrombotic Activity in Rats

Park, Byung Sung^{§*} · Zammit, A Victor^{**}

Animal Life Science Programs,^{*} Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea
Biomedical Group,^{**} Hannah Research Institute, Ayr KA6 5HL, Scotland, UK

ABSTRACT

This study was carried out to determine the effect of dietary γ -linolenic acid on decreasing the plasma lipid levels and the thrombotic activity in rats. Sprague-Dawley male rats (B.W 120 g) were fed a experimental diet containing 5% lard (46.05% saturated fatty acids), corn oil (51.36% linoleic acid), evening primrose oil (EPO, 72.80% linoleic acid and 9.16% γ -linolenic acid) or borage oil (BO, 40.29% linoleic acid and 24.25% γ -linolenic acid) for 30 days. Although there were no significant differences in the food intake among the groups, the body weight gain of the BO group was significantly lower than that of the other groups. The bleeding time of the BO group was significantly longer than that of the other groups. There were significant differences in the whole blood clotting time among the groups except for the EPO and corn oil groups, where the whole blood clotting time of the BO group was the highest among the groups, and that of the lard group was the lowest. The plasma triacylglyceride (TAG), total cholesterol (TC) and low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) concentrations were the lowest in the BO group, but highest in the lard group, and there were significant differences among the groups. The plasma HDL-C concentrations were in the following order: BO, EPO, corn oil and lard groups and there were significant differences among the groups. The excretions of fecal neutral steroids and acidic steroids of the BO group were the highest among the groups, and there were significant differences compared to the other groups. The results suggest that dietary EPO and BO containing γ -linolenic acid has an antithrombotic activity, and inhibits the increasing of plasma TAG, TC and LDL-C concentrations compared to lard, which contains saturated fatty acids, or corn oil, which contains linoleic acid. (*Korean J Nutrition* 36(9) : 889~897, 2003)

KEY WORDS : γ -linolenic acid, bleeding time, cholesterol, neutral steroid, acidic steroid.

서 론

식이지방의 형태는 혈액지질 수준에 영향을 뿐만 아니라 항혈전 작용에도 관여하는 가장 중요한 요인 가운데 하나이다. 식이로부터 섭취되는 콜레스테롤과 포화지방산의 양이 많게 되면 사람의 혈액 내 포화지방산과 중성지방, 총콜레스테롤과 유해콜레스테롤로써 알려진 저밀도지질단백질 콜레스테롤 함량을 높일 뿐만 아니라 출혈시간과 전혈응고

시간을 단축하는 등 혈전 형성을 가속화함으로써 뇌혈관 질환 및 심혈관 질환으로 인한 사망률을 높이는 원인이 될 수 있다. 그러나 고도불포화지방산의 섭취는 혈액지질함량을 낮추어줌과 동시에 출혈시간과 전혈응고시간을 길게 해주는 항혈전 작용에 관한 생리활성효과를 갖는 것으로 알려졌다. 이러한 측면에서 최근 고도불포화지방산의 섭취증가는 동맥경화증과 같은 심혈관 질환 사망률 감소에 기여하고 있다.¹⁻⁵⁾ 고도불포화지방산 가운데 식물성 기름에 다량 함유되어있는 n-6계열 지방산 특히 linoleic acid (18 : 2n-6)는 혈액지질 함량을 낮추는 효과가 크며²⁾ 해바라기씨 기름과 채종유의 섭취시 출혈시간이 연장되는 등 항혈전 작용 효과가 보고되었다.^{6,7)}

접수일 : 2003년 7월 22일

채택일 : 2003년 11월 18일

[§]To whom correspondence should be addressed.

γ -linolenic acid (18 : 3n-6)는 linoleic acid로부터 Δ_6 -desaturase에 의해서 불포화도가 증가된 대사물로서 혈액지질 감소효과가 큰 것으로 보고되었다.^{8,9)} 흰쥐실험에서 달맞이꽃 종자유와 서양자초유에 함유되어있는 γ -linolenic acid는 linoleic acid보다도 혈액 콜레스테롤 감소에 더욱 유의적인 효과를 나타내며,^{1,10-12)} 달맞이꽃 종자유는 약 9%의 γ -linolenic acid를 함유하며 달맞이꽃 종자유는 홍화씨유 또는 대두유보다도 혈액 콜레스테롤 감소효과가 더욱 큰 것으로 보고되었다.¹²⁾ 한편 사람에서 달맞이꽃 종자유로서 공급된 γ -linolenic acid의 섭취는 혈액 콜레스테롤을 낮추는 효과가 linoleic acid보다도 약 170배 정도가 높으며 그것은 linoleic acid가 γ -linolenic acid로 전환됨으로써 혈액 콜레스테롤 감소효과를 더욱 크게 하기때문으로 보고되었다.¹³⁾ 사람을 비롯한 단위동물의 생체내에서 γ -linolenic acid 대사는 급속히 빠른 속도로 진행되기 때문에 생체내에 존재하는 γ -linolenic acid 함유량은 극히 낮다. 사람에서 Δ_6 -desaturase의 역가는 비교적 낮기 때문에 아토피성피부염, 여성의 생리전증후군, 당뇨병이나 동맥경화증과 같은 Δ^7 desaturase 역가가 억압받는 경우에 있어서 식이를 통한 적절한 양의 γ -linolenic acid를 공급해주는 것이 바람직하다.¹⁴⁻¹⁷⁾ 이러한 측면에서 건강보조식품 생산을 위한 지질신소재로서 널리 쓰여질 수 있는 γ -linolenic acid의 급원은 달맞이꽃 종자유, 까막까치밥나무 종자유 그리고 서양자초유이다.^{17,18)}

지금까지 식물성 기름에 풍부하게 함유되어 있는 n-6계 열 고도불포화지방산의 혈액지질 감소에 관한 많은 연구결과가 보고되었음에도 불구하고 γ -linolenic acid의 혈액지질 감소효과에 포함된 기전은 아직 불분명한 점들이 많으며 특히 항혈전 작용에 관한 보고는 거의 없는 것으로 보인다.

따라서 본 연구에서는 γ -linolenic acid를 함유하는 식이지방의 첨가급여가 흰쥐의 혈전작용 및 혈액 중성지방 그리고 유해 콜레스테롤 수준 감소에 관한 효과를 조사하는데 주목적을 두고 수행하였으며, 그 방법으로서 포화지방산 급원으로 소비자들이 가장 선호하는 돼지고기 기름 첨가군을 대조군으로 하여서 linoleic acid를 함유하는 옥수수 기름과 γ -linolenic acid를 함유하는 달맞이꽃 종자유 그리고 서양자초유 첨가군을 비교하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 실험설계

실험동물은 체중 약 120 g의 Sprague-Dawley 중 흰

쥐 수컷 24마리를 이용하였다. 일반식으로 1주일간 적응시킨 다음 본 실험에 이용하였으며 물과 실험식을 30일간 자유섭취케 하였다. 흰쥐는 평판 플라스틱 케이지내에서 사육하였으며 사육실의 온도와 습도는 각각 20°C와 50%를 유지하였고 12시간 (08 : 00-20 : 00)점등을 실시 하였다. 실험설계방법으로서 흰쥐는 체중에 따라서 4처리구 6반복으로 완전임의 배치하였으며 각 처리구당 공시동물은 반복 케이지당 각각 1마리씩 수용하여 6반복으로 배치하였다. 4개의 처리구는 실험식내 5%수준의 돼지기름 첨가구, 옥수수기름 첨가구, 달맞이꽃 종자유 첨가구, 서양자초유 첨가구로 구분하였다.

2. 실험식이

실험식은 미국 영양연구소 (AIN' 76)¹⁹⁾에서 제시된 흰쥐의 영양소 요구량 수준을 넘을 수 있게 배합하였다. 실험식의 사용원료는 단백질 공급원으로서 조단백질 88.50%를 함유하는 카제인, 탄수화물 공급원으로서 설탕과 옥수수 전분, 섬유질 공급원으로서 알파셀룰로스 (Sigma, Co, USA), AIN' 76 미네랄과 비타민 첨가제 (ICN biomedical, USA) 그리고 서로 다른 지방급원을 이용해서 배합하였으며 (Table 1) 각 처리구 식이조성은 지방급원만을 다르게 하였다. 즉 gas-liquid chromatography (GLC, Packard model

Table 1. Composition of experimental diets (g/kg diet)

Ingredient	Groups ¹⁾			
	L	CO	EPO	BO
Casein	200	200	200	200
Sucrose	500	500	500	500
Corn starch	150	150	150	150
Fiber (α -cellulose)	50	50	50	50
Lard	50	-	-	-
Corn oil	-	50	-	-
Evening primrose oil	-	-	50	-
Borage oil	-	-	-	50
DL-methionine (95%)	3.0	3.0	3.0	3.0
Mineral mix ²⁾	35	35	35	35
Vitamin mix ³⁾	10	10	10	10
Choline bitartrate	2.0	2.0	2.0	2.0

1) L: lard, CO: corn oil, EPO: evening primrose oil, BO: borage oil

2) AIN'76-mineral mixture (g/kg): calcium phosphate, dibasic: 500.0, sodium chloride: 74.0, potassium citrate, monohydrate: 220.0, potassium sulfate: 52.0, magnesium oxide: 24.0, manganese carbonate: 3.5, ferric citrate: 6.0, zinc carbonate: 1.6, cupric carbonate: 0.3, potassium iodate: 0.01, sodium selenate: 0.01, chromium potassium sulfate: 0.55, powdered sucrose 118.03

3) AIN'76-vitamin mixture (g/kg): thiamin-HCl: 0.6, riboflavin: 0.6, pyridoxine-HCl: 0.7, nicotinic acid: 3.0, calcium pantothenate: 1.6, folic acid: 0.2, biotin: 0.02, vitamin B₁₂: 0.001, vitamin A (retinyl acetate): 0.8, vitamin E (dL- α -tocopheryl acetate): 3.8, vitamin D₃ (7-dehydrocholesterol) : 0.0025, vitamin K (menadione): 0.005, powdered sucrose 988.67

439, USA)를 이용하여서 지방산 조성을 직접 분석한 결과^{20,21)} 각 처리구별 식이지방 급원으로서 46.05% 포화지방산을 함유하는 돼지기름, 51.36% linoleic acid (18 : 2n-6)를 함유하는 옥수수기름, 72.80% linoleic acid와 9.16% γ -linolenic acid를 함유하는 달맞이꽃 종자유 그리고 42.09% linoleic acid와 24.25% γ -linolenic acid를 함유하는 서양자초유를 사용하였으며 이들 지방급원을 각각의 실험식 이내 동일한 5% 수준으로 첨가해 주었다. 달맞이꽃 종자유와 서양자초유는 영국의 에파몰 (Efamol Ltd., England) 제품을 구입하여 사용하였다. 불포화지방산의 산화를 방지하기 위하여 옥수수기름, 달맞이꽃 종자유 및 서양자초유에는 기름 1당 100 mg의 BHT를 혼합하였다. 배합된 실험식이는 펠렛 처리후 20°C의 송풍건조기에서 건조한 다음 10°C이하의 저온실에 보관하면서 실험동물에게 급여해주었다. 모든 실험식이는 AIN' 76의 환취 영양소 요구량을 충족하면서 동일한 영양소가 함유될 수 있도록 배합되었으므로 특정영양소의 과부족에 기인한 식이내 변이를 최소화하였다.

3. 식이섭취량, 체중변화 및 식이요구율

본 실험 30일간의 사육기간 중 실험식이는 매일매일 충분히 섭취하고 남은 정도로 급여해주었고 3일에 1회씩 잔량을 조사하였으며 체중 증가량은 10일에 1회씩 측정하였다. 전체 기간 중 식이섭취량과 체중 증가량을 30으로 나누어서 일일 평균 식이섭취량과 체중 증가량을 계산하였다. 그리고 식이요구율은 일일 평균 체중증가량에 대한 식이섭취량의 비율 (식이섭취량/체중증가량)로서 계산하였다.

4. 출혈시간 측정

실험식이를 급여한지 29일 제 즉 실험종료일 1일 전에 다음과 같은 방법으로 출혈시간을 측정하였다. 에틸에테르로 흰쥐를 가볍게 마취시킨 후 꼬리 끝부분의 3~5 mm되는 곳을 절단하자마자 곧바로 37°C의 생리식염수에 꼬리 끝부분으로부터 5 cm되는 부분까지 침지시켜 지혈될 때까지의 시간 (sec)을 stop watch로 측정하였다.⁷⁾

5. 전혈응고시간 측정

출혈시간을 측정하고 1일 지난 후 즉 실험종료일에 흰쥐를 에틸에테르로 가볍게 마취시키고 복대동맥으로부터 혈액 1 ml를 채취하여서 전혈응고시간을 측정하였다. 이때 혈액 채취시 사용되는 주사기는 3.13% sodium citrate용액 0.5 ml를 미리 주입해 두었다. 채취한 혈액 1 ml를 유리시험관에 넣고 여기에 1.7% 염화칼슘용액 200 μ l를 가하여 실온에서 서서히 흔들어 주면서 혈액응고물 (red thrombus)이 생길 때까지의 시간 (sec)을 측정하였다.²²⁾

6. 혈액 지질의 생화학적 분석

혈액내 지질함량의 생화학적 분석을 위한 혈액채취는 실험 종료일에 흰쥐를 에틸에테르로써 가볍게 마취시킨 다음 복부를 절개하여 25게이지 주사기를 이용하여서 복대동맥으로부터 5~10 ml의 혈액을 채취하였다. 채취된 혈액은 즉시 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여서 혈장을 얻었고 액체질소가스에 급속냉동 (-196°C)처리한 다음 분석시까지 냉동 보관하였다. 혈액내 중성지방 (TAG, triacylglyceride), 총콜레스테롤 (TC, total cholesterol), 고밀도지질단백질 콜레스테롤 (HDL-C, high density lipoprotein cholesterol) 및 저밀도지질단백질 콜레스테롤 (LDL-C, low density lipoprotein cholesterol)함량은 미국의 sigma enzymatic bioanalysis kit를 이용하여 측정하였다. HDL-C 함량은 sigma 진단시약 EZ HDL™ kit에 의해서 측정하였고, LDL-C함량은 sigma EZ LDL kit를 이용하여 자동분석장치 (Hitachi 917)에 의해서 측정하였다.

7. 스테로이드 배설량 측정

분종의 스테로이드 함량을 측정하기 위해서 실험종료 3일 전부터 실험종료일까지 3일간 각 처리구 그룹으로부터 배설된 분을 수거하여 무게를 측정하였다. 막자사발 (motar)을 이용하여서 분을 곱게 분쇄한 후 5 g의 시료를 취한 다음 증류수 5 ml를 첨가하여 ultra turrex에서 격렬하게 혼합·처리하여 균질화 하였다. 균질물 1 g을 취하여 90% ethanolic N sodium hydroxide 20 ml를 이용해서 1시간 동안 환류가열하여 검화 시켰다. petroleum ether 50 ml와 증류수 10 ml를 이용해서 1시간 동안 격렬하게 혼합처리한 다음 3000 rpm에서 5분동안 원심분리후 상층액을 얻은 다음 이렇게 얻어진 상층액을 40°C이하에서 질소가스의 주입과 함께 농축한 후 중성스테로이드분획물을 얻었다. 한편 아래층은 2 ml의 10 N NaOH를 이용하여서 3시간 동안 15 PSI (2 ATM)에서 더욱더 강력히 검화시킨다음 HCl를 이용하여 pH 2.0으로 조절하였다. 이것을 다시 클로로포름과 메탄올 2 : 1 혼합용액 75 ml를 이용하여서 free bile acid를 추출하기 위해 3000 rpm에서 5분동안 원심분리하였다. 이렇게 해서 얻어진 아래층을 40°C이하에서 질소가스의 주입과 함께 농축한 후 산성스테로이드 분획물을 얻었다. 상기방법으로 얻어진 각각의 스테로이드 분획물을 이용하여 TMS (trimethylsilyl)유도체를 조제한 다음 TMS 반응 혼합물 1~3 μ l를 gas-liquid chromatography (GLC, Packard model 439, USA)에 주입하여서 개개의 스테로이드 함량을 측정하였다.^{23,24)} 내부표준물질로서 5 α -cholestane (Sigma, USA)를 이용하였으며 DBM capillary column (0.25mm ×

Table 2. Food intake, body weight gain and feed conversion rate in rats fed dietary fats for 30 days

Groups ¹⁾	Food intake (g/day/rat)	Body weight gain (g/day/rat)	Feed conversion rate (feed intake/body weight gain)
L	20.19 ± 0.47 ²⁾	5.24 ± 0.42 ^o	3.87 ± 0.31
CO	19.75 ± 0.89	5.07 ± 0.50 ^o	4.19 ± 0.66
EPO	20.11 ± 0.52	5.07 ± 0.52 ^o	3.99 ± 0.34
BO	19.99 ± 0.55	4.09 ± 0.37 ^b	4.07 ± 0.31

1) L: lard, CO: corn oil, EPO: evening primrose oil, BO: borage oil

2) Mean values ± standard deviations (n = 6). Values within the same line with different superscript are significantly different (a, b p < 0.05)

30m, J & W Scientific, Folsom, CA) 이용하였다. GLC 분석을 위한 carrier gas로는 분당 30~60 ml 속도로써 조절된 helium gas를 사용하였고, column 온도 240°C, 그리고 detector 온도 260°C로 조절하였다.

8. 통계처리

분석된 자료의 통계처리는 SAS program을 이용하였으며 각 처리구 그룹의 평균과 표준편차를 구하고 분산분석을 실시한 다음 Duncan's multiple range test에 의하여 5% 수준에서 유의성을 검정하였다.²⁵⁾

결과 및 고찰

1. 식이섭취량 체중변화 및 식이요구율

돼지기름, 옥수수기름, γ -linolenic acid 급원으로서 달맞이꽃종자유 (저수준)와 서양자초유 (고수준)를 각각 5% 함유하는 실험식이를 급여한 후 조사된 식이섭취량, 체중변화 및 식이요구율은 Table 2와 같다.

실험개시전 동물의 평균 체중은 120 g이었고 30일간의 사육기간 동안 일일 평균 20 g의 실험식이를 섭취하였으며 실험종료시의 평균 체중은 270 g으로서 30일 동안 일일 평균 5 g씩의 체중이 증가한 것으로 나타났다. 일일 평균 증체량은 고수준의 γ -linolenic acid를 함유한 서양자초유 첨가구가 4.1 g으로써 가장 낮은 증체량을 나타냈으며 이것은 일일 평균 5 g의 증체량을 보여준 다른 첨가구와 비교할 때 유의적인 차이가 있었다. 식이요구율은 처리구간 유의적인 차이가 없었다.

γ -linolenic acid의 체중감소에 대한 효과는 흰쥐실험에서 γ -linolenic acid 첨가구가 대두유 첨가구에 비해서 유의적인 체중감소가 관찰되었고 이는 도체지방 감소가 주 원인이었고 γ -linolenic acid 식이를 섭취한 흰쥐에서 에너지 효율성이 낮았기 때문으로 보고하였다. 이와함께, γ -linolenic acid는 간에서 지방산의 산화를 촉진시켜줌으로써 도체지방 함량을 낮출 수 있을 것으로 보고 되었다.¹⁰⁾ 본 실험결과 서양자초유 첨가구에서 특히 체중증가율이 가장 낮

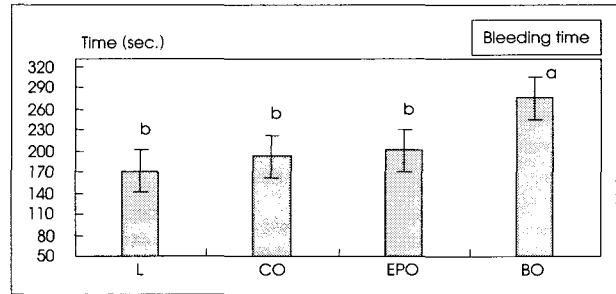


Fig. 1. Bleeding time in rats fed dietary fats for 30 days. L: lard, CO: corn oil, EPO: evening primrose oil, BO: borage oil. Different alphabet represent the significant differences among group (a, b p < 0.05).

았던 점은 부분적으로 이와 관련 하였을 것으로 생각된다. 그러나 서양자초유 첨가구가 타 시험구에 비해 성장률이 낮은 것은 서양자초유에 성장 저해물질 혹은 독성물질의 함유 여부를 추정해 볼 수 있겠으나 이에 관한 선행연구결과는 전혀 찾아볼 수 없었으며 앞으로 이 부분에 관한 추가적인 연구가 필요할 것으로 보인다.

2. 출혈 시간

돼지기름, 옥수수기름 그리고 γ -linolenic acid급원으로서 달맞이꽃 종자유 (저수준)와 서양자초유 (고수준)를 각각 5%함유하는 실험식이를 29일동안 급여한 후 조사된 출혈시간은 Fig. 1에서 보는 바와 같다.

출혈시간은 돼지기름, 옥수수기름 및 달맞이꽃종자유에서 각각 171초, 192초 및 202초로 측정되어 돼지기름에 비해서 식물성 기름의 섭취시 증가되는 것으로 나타났으나 유의적인 차이는 없었다. 그러나 γ -linolenic acid 고수준을 함유하는 서양자초유의 출혈시간은 276초로 나타나서 돼지기름 첨가구와 비교할 때 161%의 유의적으로 연장되었고 다른 첨가구와 비교할 때 역시 유의적으로 출혈시간이 길게 연장되었다. 출혈시간의 측정은 혈액응고와 관련한 항혈전작용의 연구에 있어서 하나의 측정변수로서 중요하며 출혈시간이 길다는 것은 혈소판 응집 억제와 관련이 있기 때문에 혈액이 맑고 깨끗함을 나타낸다.²⁶⁾ 실험동물을 대상으로 한 연구에서 포화지방의 과잉섭취 시 출혈시간은 단축되지만 n-6계열의 불포화지방산이 풍부한 해바라기씨 기름을

급여할 경우 출혈시간이 연장되는 등 항혈전 작용 효과는 높게 나타나며 사람에게 해바라기씨 기름과 채종유 그리고 등푸른 생선의 섭취시 항혈전 작용 효과가 큰 것으로 보고 되었다.²⁷⁻³¹⁾ 그러나 γ -linolenic acid를 함유하는 식이지방 즉 달맞이꽃 종자유와 서양자초유 등의 출혈시간과 관련한 항혈전 작용에 관한 선행연구는 찾아볼 수 없었다.

일반적으로 출혈시간과 전혈응고시간이 짧은 것은 혈액내 TAG, TC 및 LDL-C 함량이 높은 것과 관련이 있는 것으로 보고 되었는데,^{26,28)} 본 연구결과 나타난 중요한 발견은 γ -linolenic acid를 함유하는 식이지방의 첨가급여시 혈액 내 TAG, TC 및 LDL-C 함량이 낮아지게 됨으로서 (Fig. 3-5) 혈전형성이 적어서 혈액이 맑고 깨끗하여 출혈시간이 연장되는 효과를 갖는 것으로 생각된다.

3. 전혈응고시간

돼지기름, 옥수수기름 그리고 γ -linolenic acid 급원으로 하여 달맞이꽃 종자유 (저수준)와 서양자초유 (고수준)를 각각 5% 함유하는 실험식이를 30일동안 급여한 후 조사된 전혈응고시간은 Fig. 2에 나타내었다.

전혈응고시간은 포화지방산을 함유하는 돼지기름첨가구와 비교할 때 불포화지방산을 함유하는 옥수수기름, 달맞이꽃 종자유 및 서양자초유 첨가구에서 각각 114%, 128% 및 175%까지 길게 연장되는 경향을 보였으며 특히 γ -lino-

lenic acid를 함유하는 달맞이꽃 종자유와 서양자초유 첨가구는 돼지기름 첨가구와 비교할 때 유의적인 차이가 있었다. γ -linolenic acid 함량이 상대적으로 높았던 서양자초유 첨가구는 linoleic acid 급원으로 이용된 옥수수기름 첨가구와 γ -linolenic acid 함량이 상대적으로 낮았던 달맞이꽃 종자유 첨가구보다도 유의적으로 길게 연장 되었다. 그러나 옥수수기름 첨가구와 달맞이꽃 종자유 첨가구간 유의차는 없었다. 한편 γ -linolenic acid를 함유하는 달맞이꽃 종자유와 서양자초유를 급여한 실험동물의 선행연구에서 전혈응고시간과 관련한 항혈전 작용 결과는 찾아볼 수가 없었다. 그러나 해바라기씨 기름과 채종유 그리고 등푸른 생선의 섭취시 출혈시간과 전혈응고시간이 길어진 것은 n-6와 n-3 계열의 불포화지방산이 혈액 TAG, TC 및 LDL-C 함량을 낮추기 때문으로 보고되었다.²⁹⁻³¹⁾

따라서 본 연구에서 나타난 중요한 발견은 γ -linolenic acid를 함유하는 식이지방의 첨가급여로 혈액 TAG, TC 및 LDL-C 함량이 낮아지게 되어 (Fig. 3-5) 출혈시간이 연장되며 전혈응고시간이 길어지게 되는 것으로 볼 수 있다. 이러한 결과로 볼 때 γ -linolenic acid를 함유하는 식이지방의 섭취는 항혈전작용을 높일 수 있을 것으로 생각된다. 출혈시간은 혈관, 혈소판 및 혈액응고계의 항혈전작용 효과를 모두 관찰할 수 있으며 전혈 응고시간은 혈소판과 혈액응고계의 항혈전작용 효과를 관찰할 수 있다.^{22,32,33)}

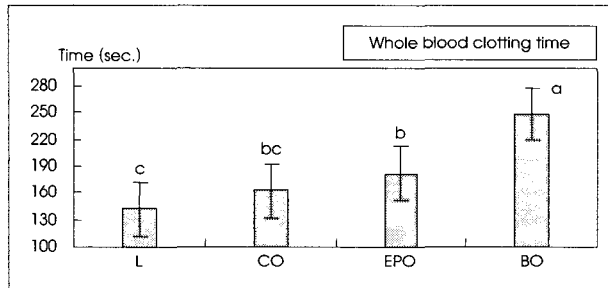


Fig. 2. Whole blood clotting time in rats fed dietary fats for 30 day. L: lard, CO: corn oil, EPO: evening primrose oil, BO: borage oil. Different alphabet represent the significant differences among group (a, b p < 0.05).

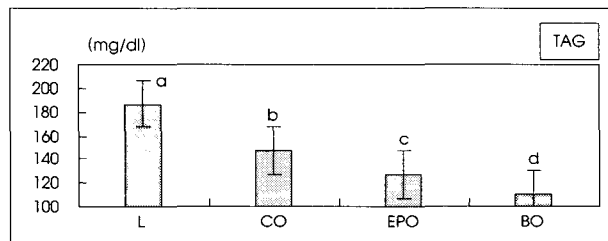


Fig. 3. Plasma triacylglyceride (TAG) in rats fed dietary fats for 30 days. L: lard, CO: corn oil, EPO: evening primrose oil, BO: borage oil. Different alphabet represent the significant differences among group (a, b, c, d p < 0.05).

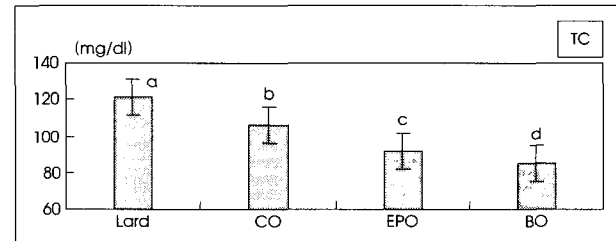


Fig. 4. Plasma total cholesterol (TC) in rats fed dietary fats for 30 days. L: lard, CO: corn oil, EPO: evening primrose oil, BO: borage oil. Different alphabet represent the significant differences among group (a, b, c, d p < 0.05).

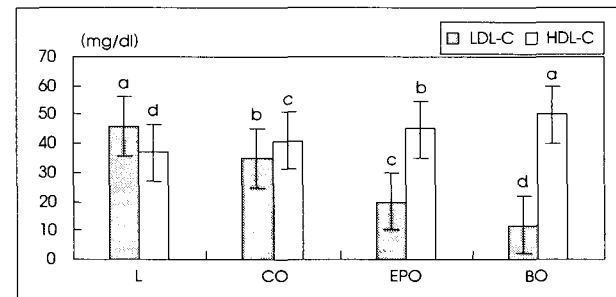


Fig. 5. Plasma LDL-C and HDL-C in rats fed dietary fats for 30 days. L: lard, CO: corn oil, EPO: evening primrose oil, BO: borage oil. Different alphabet represent the significant differences among group (a, b, c, d p < 0.05).

4. 혈액 지질 함량 변화

돼지기름, 옥수수기름 그리고 γ -linolenic acid 급원으로 서 달맞이꽃 종자유 (저수준)와 서양자초유 (고수준)를 각각 5% 함유하는 실험식이를 30일 동안 급여한 후 조사된 혈액 지질 함량 변화는 Fig. 3-5에 나타내었다.

Fig. 3에 제시된 혈액 중성지방 (TAG, triacylglyceride) 함량은 100 ml당 127~187 mg 범위로 나타났으며 돼지기름 첨가구가 가장 높았고 고수준의 γ -linolenic acid를 함유한 서양자초유 첨가구가 가장 낮았으며 각 처리구간 유의적인 차이가 있었다. 혈액 TAG 함량은 포화지방산이 다량 함유된 돼지기름 첨가구와 비교할 때 옥수수기름, 달맞이꽃 종자유 및 서양자초유 첨가구에서 각각 21.80%, 23.45% 및 40.96%의 유의적인 감소경향을 나타냈다. 옥수수기름 첨가구와 비교할 때 달맞이꽃 종자유와 서양자초유 첨가구에서 각각 13.60%, 24.49%의 유의적인 감소경향을 나타냈으며 서양자초유 첨가구는 달맞이꽃 종자유 첨가구에 비해서 12.60%의 유의적인 감소경향을 나타냈다.

Fig. 4에 제시된 혈액 총 콜레스테롤 (TC, total cholesterol) 함량은 혈액 100 ml당 85~121 mg 범위로 나타났다. 혈액 TC 함량은 돼지기름 첨가구가 가장 높았고 돼지기름 첨가구와 비교할 때 옥수수기름, 달맞이꽃 종자유 및 서양자초유 첨가구에서 각각 13.11%, 24.59% 및 30.32%의 유의적인 감소경향을 나타냈으며 특히 고수준의 γ -linolenic acid를 함유한 서양자초유 첨가구가 유의적으로 가장 낮았다. 옥수수기름 첨가구와 비교할 때 달맞이꽃 종자유와 서양자초유 첨가구에서 각각 13.20%, 19.81%의 유의적인 감소경향을 나타냈으며 서양자초유 첨가구는 달맞이꽃 종자유 첨가구에 비해서 7.36%의 유의적인 감소경향을 나타냈다.

Fig. 5에 제시된 혈액 저밀도지질단백질 콜레스테롤 (LDL, low density lipoprotein cholesterol) 함량은 혈액 100 ml당 12~46 mg 범위로 나타났으며 돼지기름 첨가구가 가장 높았고 서양자초유 첨가구가 가장 낮았으며 각 처리구간 유의적인 차이가 나타났다. 혈액 LDL-C 함량을 돼지기름 첨가구와 비교할 때 옥수수기름, 달맞이꽃 종자유 및 서양자초유 첨가구에서 각각 24.31%, 55.18% 및 73.43%의 유의적인 감소경향을 나타냈다. 혈액 LDL-C 함량을 옥수수기름 첨가구와 비교할 때 달맞이꽃 종자유와 서양자초유 첨가구에서 각각 40.79%, 64.90%의 유의적인 감소효과를 나타냈고 달맞이꽃 종자유에 비해서 서양자초유는 40.70%의 유의적인 감소경향을 나타냈다. 각 처리구에서 조사된 LDL-C를 TC함량기준으로 계산해보면 돼지기름, 옥수수기름, 달맞이꽃 종자유 및 서양자초유 첨가구에서 각각 38.15%, 33.00%, 22.59% 및 14.46%로 나타나서 혈액 TC에 대한 LDL-C

함량은 돼지기름 첨가구가 가장 높은 비율을 차지하였고 서양자초유 첨가구가 가장 낮은 비율을 차지하는 것으로 나타났다.

Fig. 5에 제시된 혈액 고밀도지질단백질 콜레스테롤 (HDL-C, high density lipoprotein cholesterol) 함량 범위는 혈액 100 ml당 38~51 mg로 나타났다. HDL-C는 서양자초유 첨가구가 가장 높았고 돼지기름 첨가구가 가장 낮았으며 각 처리구간 유의적인 차이가 나타났다. 혈액 HDL-C 함량은 LDL-C함량과 서로 반대되는 결과를 보였으며 HDL-C를 TC함량기준으로 계산해보면 돼지기름, 옥수수기름, 달맞이꽃 종자유 및 서양자초유 첨가구에서 각각 31.01%, 39.40%, 49.75%, 및 59.73%로 나타나서 혈액 TC에 대한 HDL-C함량은 서양자초유 첨가구가 가장 높은 비율을 차지하였고 돼지기름 첨가구가 가장 낮은 비율을 차지하는 것으로 나타났다. 혈액 HDL-C 함량을 돼지기름 첨가구와 비교할 때 옥수수기름, 달맞이꽃 종자유 및 서양자초유 첨가구에서 각각 11.00%, 12.14%, 및 13.51%의 유의적인 증가경향을 나타냈다. 혈액 HDL-C함량을 옥수수기름 첨가구와 비교할 때 달맞이꽃 종자유와 서양자초유 첨가구에서 각각 10.94%, 12.17%의 유의적인 증가경향을 나타냈으며 달맞이꽃 종자유에 비해 서양자초유 첨가구는 11.13%의 유의적인 증가경향을 나타냈다.

여기에 제시되지는 않았지만 혈액 초저밀도지질단백질과 중밀도지질단백질 콜레스테롤 (VLDL · IDL-C, very low density lipoprotein plus Intermediate density lipoprotein cholesterol) 함량을 계산한 결과 혈액 100 ml당 22~37 mg 범위로 나타났다. 혈액 VLDL · IDL-C함량은 돼지기름 첨가구가 가장 높았고 서양자초유 첨가구가 가장 낮았으며 각 처리구간 유의적인 차이가 나타났다.

본 실험결과는 γ -linolenic acid를 함유하는 식이지방이 n-6계 불포화지방산의 모수지방산인 linoleic acid와 포화지방산을 함유하는 식이지방에 비해서 혈액 내 TAG와 TC 특히 LDL-C 함량을 낮추는데 효과적임을 보여주고 있다. 또한 γ -linolenic acid를 함유하는 식이지방의 섭취는 혈액 내 유익한 콜레스테롤로써 알려진 HDL-C 함량을 높여 줄 수 있음을 보여 주고 있다. 혈액 TC와 LDL-C의 감소기전의 하나로서 분 중의 스테로이드 배설과 관련한 지질의 흡수억제 대사경로를 생각해 볼 수 있으며, γ -linolenic acid를 함유한 달맞이꽃종자유와 서양자초유 첨가구에서 분을 통한 스테로이드의 배설량이 증가됨으로서 (Table 3) 혈액내 과잉 존재시 유해한 것으로 알려진 LDL-C함량이 감소되어 (Fig. 5) 그 결과 혈액 TC함량이 낮아 지는 것 (Fig. 4)으로 생각된다. 혈액 콜레스테롤 농도는 포화지방산

Table 3. Fecal steroid excretions in rats fed dietary fats for 30 days¹⁾

Groups ²⁾	Neutral steroids (mg/day/rat)			Acidic steroids (mg/day/rat)				
	Total	TC	CS	Total	TBA	LCA	DCA	CA
L	30.24 ± 1.09 ^{c3)}	22.01 ± 0.82 ^c	8.23 ± 0.78	31.67 ± 1.18 ^c	17.30 ± 0.76 ^c	5.71 ± 1.18 ^{bc}	0.69 ± 0.36	8.31 ± 0.77 ^a
CO	38.71 ± 1.47 ^b	30.65 ± 1.04 ^b	8.03 ± 0.83	30.14 ± 0.33 ^c	17.00 ± 0.86 ^c	5.29 ± 0.73 ^c	1.20 ± 0.29	6.44 ± 0.98 ^b
EPO	41.91 ± 1.49 ^b	34.20 ± 2.05 ^b	7.71 ± 0.58	33.93 ± 0.17 ^b	18.80 ± 0.32 ^b	6.75 ± 0.53 ^b	0.98 ± 0.55	7.40 ± 0.66 ^{ab}
BO	52.19 ± 2.90 ^a	42.99 ± 3.64 ^a	9.20 ± 1.00	39.42 ± 1.13 ^a	21.38 ± 0.87 ^a	10.34 ± 0.17 ^a	1.00 ± 0.26	6.70 ± 0.35 ^b

1) TC: total cholesterol, CS: Coprostanol, TBA: total bile acids, LCA: lithocholic acid, DCA: deoxycholic acid, CA: cholic acid

2) L: lard, CO: corn oil, EPO: evening primrose oil, BO: borage oil

3) Mean values ± standard deviations (n = 6), Values within the same line with different superscript are significantly different (a, b, c p<0.05)

섭취에 의해서 높아질 수 있으나 포화지방산을 n-3 및 n-6계열의 불포화지방산으로 대체하면 혈액 콜레스테롤의 감소와 함께 각종 심장혈관계 질환을 예방하는데 도움이 될 수 있다.^{32,34,35)}

n-6계열의 불포화지방산 공급원으로서 linoleic acid 함량이 풍부한 식물성 기름의 섭취가 혈액 내 콜레스테롤 함량을 낮출 수 있으며 linoleic acid로써 사료내 포화지방산을 대체할 경우 혈액 내 LDL-C 함량이 낮아짐으로써 TC 함량이 낮아진다.³⁶⁻³⁸⁾

본 연구에서 발견된 중요한 사실은 포화지방산이 풍부하게 들어있는 돼지기름첨가구와 비교했을 때 γ -linolenic acid를 함유하는 달맞이꽃종자유와 서양자초유첨가구에서 혈액 지질감소효과가 뚜렷하였다는 점 특히 서양자초유첨가구에서 나타난 획기적인 TAG (41%감소)와 LDL-C (71%감소) 감소효과였다. n-6계열지방산의 혈액 TAG 감소효과 기전은 아직 명확하게 밝혀지지 않았으나 이와 관련한 간장에서 VLDL생성을 감소와 혈액TAG제거에 의한다는 일부 보고가 있다.^{39,40)} 본 연구에서 직접 조사되지는 않았지만 간장에서 새롭게 생선분비되는 VLDL-TAG함량과 혈액내 TAG제거 효과에 기인한 혈액 TAG 감소가 있었을 것으로 볼 수 있으며 이것은 식이내 첨가지방 특히 달맞이꽃종자유와 서양자초유에 풍부한 γ -linolenic acid의 결과로서 변화가 있었을 것으로 생각된다.^{40,41)} 식이내 포화지방산을 n-6계열 지방산으로 바꿔주게 되면 순환계에서 LDL입자수가 줄어들게되며 LDL수용체의 역가가 높아진다.⁴²⁾ 따라서 혈액 TAG와 LDL-C 감소와 관련한 본 연구의 결과는 이러한 기전을 반영하였을 것으로 본다. 최근 γ -linolenic acid가 linoleic acid에 비해서 혈액 콜레스테롤 수준을 낮추는데 있어서 더욱더 효과적임이 보고되었다.^{13,37)} linoleic acid와 비교할 때 γ -linolenic acid의 혈액콜레스테롤을 낮추는 가능한 효과는 dihomogamma-linolenic acid로의 전환을 촉진시켜주며 이것은 linoleic acid의 대사체계에서 비올제 한단계인 $\Delta 6$ deasturase 반응을 γ -linolenic acid가 우

회하기 때문으로 본다. 그 결과 γ -linolenic acid로부터 합성된 일부 prostaglandins (PGE₁)이 콜레스테롤 대사 조절에 관여할 것으로 보고되었다.^{36,38)} 이러한 prostaglandins은 콜레스테롤의 합성을 억제하며 콜레스테롤 세포로부터 콜레스테롤에스터의 이동을 자극한다. 따라서 γ -linolenic acid가 혈액 콜레스테롤을 낮추는 효과가 큰 것은 비에이코사노이드와 에이코사노이드의 양쪽 모든 기능을 허용할 수 있기 때문으로 보고 있다.¹⁾ 동물 실험결과 환취식이의 콜레스테롤이 linoleic acid의 탈포화작용을 억제하며 에이코사노이드 생산에 관한 강력한 제어제로서 작용함이 밝혀지게 되었다. 그러나 이러한 조건하에서 γ -linolenic acid는 linoleic acid의 탈포화 작용 및 에이코사노이드 생성에 관한 효과를 명백히 촉진시키는 것으로 보고된 바 있다.^{16,43)}

5. 분종의 스테로이드함량

Table 3은 실험종료 3일전부터 실험종료일까지 3일간 흰쥐로부터 배설된 분에서 측정된 중성 스테로이드와 산성 스테로이드 농도에 관한 식이지방의 효과를 나타낸 것이다.

중성 스테로이드의 배설량은 서양자초유 첨가구가 가장 높았고 돼지기름 첨가구가 가장 낮았으며 각 처리구간 유의적인 차이가 나타났다. 분을 통한 중성 스테로이드 가운데 콜레스테롤의 배설량은 coprostanol보다도 높게 나타났으며 서양자초유 첨가구가 가장 높았고 돼지기름 첨가구가 가장 낮은 배설량을 나타냈으며 각 처리구간 유의적인 차이가 나타났다. 산성 스테로이드 배설량은 서양자초유 첨가구가 가장 높았고 돼지기름 첨가구가 가장 낮았으며 각 처리구간 유의적인 차이가 나타났다. 산성 스테로이드 가운데서 담즙산의 함량이 가장 높았고 담즙산의 배설량은 서양자초유 첨가구가 가장 높았고 돼지기름과 옥수수기름 첨가구가 가장 낮았으며 각 처리구간 유의적인 차이가 나타났다. lithocholic acid와 cholic acid 배설량은 서양자초유 첨가구가 가장 높았고 각 처리구간 유의적인 차이가 나타났다. 그러나 deoxy cholic acid 배설량은 각 처리구간 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 불포화지방산의 섭취에 의한 혈액콜

레스테롤 감소는 지질의 흡수역제 대사경로인 분을 통한 스테로이드 배설량이 증가하는 것을 생각해 볼 수 있다.¹³⁾ 돼지기름 첨가구에서 혈액콜레스테롤이 가장 높았던 점은 불포화지방산이 낮고 포화지방산이 높은 지방 급여에 기인한 간장의 LDL 수용체 역가가 낮아졌음을 추정해 볼 수 있고,¹³⁾ 본 실험 결과 나타난 분을 통한 스테로이드 배설량 감소 (Table 3)와 직접적인 관련이 있을 것으로 본다.

또한 본 연구에서 나타난 돼지기름, 옥수수기름 첨가구와 비교할 때 서양자초유와 달맞이꽃 종자유 첨가구에서 혈액 TAG, TC와 LDL-C함량이 낮았던 결과 (Fig. 3-5)는 이 들처리구에서 돼지기름, 옥수수기름 첨가구 보다도 분을 통한 스테로이드 배설량이 높았던 점 (Table 3)에서 그 작용기전을 찾아볼 수 있다. 따라서 이 결과는 γ -linolenic acid를 함유하는 식이지방의 섭취시 분을 통한 중성 스테로이드와 산성스테로이드의 배설량을 증가시킴으로써 혈액내 TC와 LDL-C의 감소가 있었으며 TAG 역시 감소 하였음을 나타낸다.^{13,44,45)}

요약 및 결론

본 연구는 γ -linolenic acid를 함유하는 식이지방의 첨가급여가 흰쥐의 혈전작용 및 혈액지질 감소에 미치는 효과를 조사하고자 수행하였다. SDS흰쥐 수컷 (평균체중 120 g)에서 46.05%의 포화지방산을 함유하는 돼지기름, 51.36%의 linoleic acid를 함유하는 옥수수기름, 72.80% linoleic acid와 9.16% γ -linolenic acid를 함유하는 달맞이꽃 종자유 및 40.29% linoleic acid와 24.25% γ -linolenic acid를 함유하는 서양자초유가 각각 5%함유된 실험식이를 30일 동안 급여하였다.

식이섭취량은 처리구간 차이가 없었으나 서양자초유 첨가구의 증체량은 다른 첨가구보다도 유의적으로 낮았다. 출혈시간은 서양자초유 첨가구가 다른 첨가구에 비해서 가장 길었다. 전혈응고시간은 옥수수기름과 달맞이꽃 종자유 첨가구를 제외한 각 처리구 사이에 유의적인 차이가 있었고, 서양자초유 첨가구가 가장 길었으며 돼지기름첨가구가 가장 짧았다. 혈액내 중성지방, 총콜레스테롤 및 저밀도지질단백질 콜레스테롤 함량은 돼지기름 첨가구가 가장 높게 나타났고 서양자초유 첨가구가 가장 낮았으며 모든 처리구간 유의성이 있었다. 혈액내 고밀도지질단백질 콜레스테롤 함량은 서양자초유, 달맞이꽃 종자유, 옥수수기름 및 돼지기름 첨가구순으로 높게 나타났으며 처리구간 유의성이 있었다. 분을 통한 중성 스테로이드와 산성 스테로이드 배설량은 서양자초유 첨가구가 가장 높았고 다른 첨가구와 비교

할 때 유의적인 차이가 있었다.

본 연구의 결과는 식이 내 γ -linolenic acid를 함유하는 달맞이꽃 종자유와 서양자초유가 포화지방산을 함유하는 돼지기름, linoleic acid를 함유하는 옥수수기름에 비해서 항혈전작용효과를 갖으며 혈액 내 중성지방, 총콜레스테롤 및 저밀도지질단백질 콜레스테롤 함량 증가를 억제 할 수 있음을 나타낸다.

Literature cited

- 1) Horrobin DF, Huang YS. The role of linolenic acid and its metabolites in the lowering of plasma cholesterol and the prevention of cardiovascular disease. *Int J Cardiology* 17: 241-255, 1987
- 2) Goodnight SH, Harris WS, Connor WE, Illingworth DR. Polyunsaturated fatty acid, hyperlipidemia, and thrombosis. *Atherosclerosis* 2: 87-113, 1982
- 3) Kraemer FB, Greenfield M, Tobey TA, Reaven GM. Effect of moderate increase in dietary polyunsaturated: saturated fat on triglyceride and cholesterol levels in man. *Br J Nutr* 47: 259-266, 1982
- 4) Harris WS, Connor WS, McMury MP. The comparative reductions of the plasma lipids and lipoproteins by dietary polyunsaturated fats: Salmon oil vs vegetable oils. *Metabolism* 32: 179-184, 1983
- 5) Sanders TAB, Hochland MC. A comparison of the influence on plasma lipids and platelet function of supplements of ω 3 and ω 6 polyunsaturated fatty acids. *Br J Nutr* 50: 521-529, 1983
- 6) McDonald BE, Gerrard JM, Bruce VM, Corner EJ. Comparison of the effect of canola oil and sunflower oil on plasma lipids and lipoproteins and in vivo thromboxane A₂ and prostacyclin production in healthy young man. *Am J Clin Nutr* 50: 1382-1385, 1989
- 7) Hornsta G, Lewis B, Chait A, Turpeinen O, Kawonen MJ, Vergroesen A J. Influence of dietary fat on platelet function in man. *Lancet* 1: 1155-1158, 1973
- 8) Richard JL, Martin C, Maille M, Mendy F, Delolange B, Jacotot B. Effects of dietary intake of gamma-linolenic acid on blood lipids and phospholipid fatty acids in healthy human subject. *Clin Biochem* 8: 65-74, 1990
- 9) Fukushima M, Akiba S, Nakano M. Comparative hypocholesterolemic effect of six vegetable oils in cholesterol-fed rat. *Lipids* 31: 415-419, 1996
- 10) Sugano M, Ide I, Ishida T, Yoshida K. Hypocholesterolemic effect of gamma linolenic acid in rats. *Ann Nutr Metab* 36: 289-299, 1986
- 11) Sugano M, Ishida T, Yoshida K, Tanaka K, Niwa M, Arima M, Morita A. Effect of mold oil containing γ -linolenic acid on the blood cholesterol and eicosanoid levels in rats. *Agric Biol Chem* 50: 2483-2491, 1986
- 12) Sugano M, Ishida T, Ide T. Effect of various polyunsaturated fatty acids on blood cholesterol and eicosanoids in rats. *Agric Biol Chem* 50: 2335-2340, 1986
- 13) Horrobin DF, Manku MS. How do polyunsaturated fatty acids

- lower plasma cholesterol levels. *Lipid* 18: 558-562, 1983
- 14) Brenner RR. Factors influencing fatty acids chain elongation and desaturation. In: The role of fats in human nutrition. pp.45-79, Academic Press. London UK, 1989
 - 15) Horrobin DF. Loss of delta-6-desaturase as a key factor in aging. *Med Hypothesis* 7: 1211-1220, 1981
 - 16) Darcet P, Driss F, Mendy F, Delhaye N. Effect of a diet enriched with gammalinolenic acid on polyunsaturated fatty acids metabolism and platelet aggregation in elderly men. *Ann Nutr Alim* 34: 277-290, 1980
 - 17) Carter JP. Gamma-linolenic acid as a nutrient. *Food Tech June* 72-82, 1988
 - 18) Horrobin DF. Nutritional and medical importance of gamma-linolenic acid. *Lipid Res* 31: 163-194, 1992
 - 19) American Institute Nutrition. Report of the American Institute of Nutrition. Ad Committee on standards for nutritional studies. *J Nutr* 107: 1340-1348, 1977
 - 20) Folch J, Lees M, Sloam-Stanley GH. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 477-509, 1958
 - 21) Morrison WR, Smith LM. Preparation of fatty acid methylesters and dimethylacetals from lipid with boron fluoride methanol. *J Lipid Res* 5: 600-608, 1964
 - 22) Han YM, Baik SK, Kim TH, Han BH. Assays for antithrombotic activity. *Arch Pharm Res* 10: 115-120, 1987.
 - 23) Miettinen TA, Ahrens EH, Grundy SM. Quantitative isolation and gas-liquid chromatographic analysis of total dietary and fecal neutral steroids. *J Lipid Res* 6: 411-424, 1965
 - 24) Grundy SM, Ahrens EH Jr, Miettinen TA. Quantitative isolation and gas-liquid chromatographic analysis of total fecal bile acids. *J Lipid Res* 6: 397-410, 1965
 - 25) Steel RGD, Torrie JH. Principles and procedure of statistics, pp. 195-233, McGraw Hill. New York, 1960
 - 26) Hronsta G, Christ-Hazelhof E, Haddenman E, Hoor F, Nugteren DH. Fish oil feeding lowers thromboxane and prostacyclin production by rat platelets and aorta and dose not result in the formation of prostaglandin I₃. *Prostaglandins* 21: 727-739, 1981
 - 27) Abeywardena MY, McLennan PL, Charnock JS. Long-term saturated fat supplementation in the rat causes an increase in PGI₂/TXB₂ ratio of platelet and vessel wall compared to n-3 and n-6 dietary fatty acid. *Atherosclerosis* 66: 181-189, 1987
 - 28) Sanders TAB, Roshanai F. The influence of different types of ω3 polyunsaturated fatty acids on blood lipids and platelet function in healthy volunteers. *Clin Sci* 64: 91-99, 1983
 - 29) Sinclair HM. In omega-6-essential fatty acids: pathophysiology and roles in clinical medicine. pp.1-20, Alan Liss. New York, 1990
 - 30) Hornsta G, Lewis B, Chait A, Turpeinen O, Kawonen MJ, Vergeesen AJ. Influence of dietary fat on platelet function in man. *Lancet* 1: 1155-1159, 1973
 - 31) Dyerberg J. Cardiovascular pharmacology of the prostaglandins. pp.233-235, Raven Press. New York, 1982
 - 32) Dyerberg J, Bang HO, Hjme N. Fatty acids composition of plasma lipid in Greenland Eskimos. *Am J Clin Nutr* 28: 958-966, 1975
 - 33) Fisher J, Donegan DR, Leon H, Wills AL. Effects of prostaglandins and their precursors in some tests of hemostatic function. *Prog Lipid Res* 20: 799-805, 1981
 - 34) Chait A, Onitri A, Nicoll A, Rabaya E, Daries J, Lewis B. Reduction of serum triglyceride levels by polyunsaturated fat. *Atherosclerosis* 20: 347-364, 1974
 - 35) Vessby B, Gustaffson IB, Boberg B, Karlstr MB, Lithell H, Wemer I. Substituting polyunsaturated fat for saturated fat as a single change in a Swedish diet: Effect on serum lipoprotein metabolism and glucose tolerance in patients with hyperlipoproteinemia. *Eur J Clin Invest* 10: 193-202, 1980
 - 36) Michihiro F, Takae M, Kiichiro Y, Masuo N. Comparative hypocholesterolemic effects of six dietary oils in cholesterol-fed rats after long-term feeding. *Lipid* 32: 1069-1074, 1997
 - 37) Huang YS, Manku MS, Horrobin DF. The effects of dietary cholesterol on blood and liver polyunsaturated fatty acid and on plasma cholesterol in rats fed various types of fatty acid diet. *Lipids* 19: 664-672, 1984
 - 38) McNamara DJ. Dietary fatty acids, lipoproteins, and cardiovascular disease. *Adv Food Nutr Res* 36: 253-351, 1992
 - 39) Ruiz-Gutierrez V, Morgado N, Prada JJ, Perez-Jimenez F, Mutiana FIG. Composition of human VLDL triacylglycerols after ingestion of olive oil and high oleic sunflower oil. *J Nutr* 128: 570-576, 1998
 - 40) Campos H, Dreon DM, Krauss RM. Association of hepatic and lipoprotein lipase activities with changes in dietary composition and low-density lipoprotein subclasses. *J Lipid Res* 36: 462-472, 1995
 - 41) Montalto MB, Bensadoun A. Lipoprotein lipase synthesis and secretion: effect of concentration and type of fatty acids in adipocyte cell culture. *J Lipid Res* 34: 397-407, 1993
 - 42) Grundy SM, Denke MA. Dietary fat influence serum lipids and lipoproteins. *J Lipid Res* 31: 1149-1172, 1990
 - 43) Ide T, Sugano M, Ishida J, Niwa M, Arima M, Morita A. Effects of gamma-linolenic acid on fatty acid profiles and eicosanoid production of the hamster. *Nutr Res* 4: 1085-1092, 1987
 - 44) Hostmark AT, Lystad E, Haug A, Eilertsen E. Plasma lipids, lipoproteins, and fecal excretion of neutral sterols and bile acids in rats fed various & high diets or a low fat/high sucrose diet. *J Nutr* 119: 356-363, 1989
 - 45) Myant NB, Eder HA. The effect of biliary drainage upon the synthesis of cholesterol in the liver. *J Lipid Res* 2: 363-368, 1961