

고콜레스테롤혈증 여자 노인에서 항산화 물질 복용에 따른 혈중 지질 농도와 면역능의 변화*

김 화 영[§] · 김 미 현

이화여자대학교 식품영양학과

The Change of Lipid Metabolism and Immune Function Caused by Antioxidant Material in the Hypercholesterolemic Elderly Women in Korea*

Kim, Wha Young[§] · Kim, Mi Hyun

Department of Food & Nutrition, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

ABSTRACT

This study was performed to examine the change of lipid metabolism and immune function caused by antioxidant material in hypercholesterolemic elderly women (serum total cholesterol \geq 200 mg/dl). The subjects were 51 elderly women aged over 60 yrs. They were divided into antioxidant nutrients complex group (n = 25) and spirulina group (n = 26). Antioxidant nutrients complex (1 capsule/day) and spirulina (7.5 mg/day) were used for intervention for 8 weeks. All the subjects were fully informed the purpose of study and gave written consents to participate in this study. Dietary intakes, anthropometric indices and blood assessment for lipid, immune function and antioxidant status were measured before and after supplementation. Either antioxidant nutrients complex or spirulina supplementation for 8 weeks resulted in improved antioxidant status evidence by increased TAS (total antioxidant status) and decreased TBARS (thiobarbituric acid reactive substance). This intervention led to decreased serum levels of total cholesterol, LDL-cholesterol, oxLDL, apolipoprotein B, IL-6 and IL-6 production by peripheral blood lymphocyte. In conclusion, the lipid profiles, immune function and antioxidant capacity were improved after either antioxidant nutrient complex or spirulina supplementation for hypercholesterolemic women. Therefore, improving antioxidant status using supplementation could provide means of controlling cardiovascular disease in Korean elderly people. (*Korean J Nutrition* 38(1): 67~75, 2005)

KEY WORDS : antioxidant capacity, immune function, intervention study, spirulina, hypercholesterolemic elderly women.

서 론

심혈관계 질환은 노화에 따른 지질대사 이상과 면역 기능 저하의 결과이며 영양은 이러한 과정을 조절할 수 있는 중재가 가능한 요인이다.¹⁾ 노화에 따라 LDL 콜레스테롤의 산화 산물이 동맥 내피조직의 세포의 기질에 축적이 되며 IL-6를 포함한 친염증성 사이토카인과 CRP 등의 염증성 매개 물질들의 분비가 증가되어 질환의 진행에 관여

한다. 식사 요인으로는 열량, 동물성 지방, 특히 포화지방산과 콜레스테롤의 과잉섭취가 심혈관계 질환의 유발 인자로 제기되고 있다.²⁾ 그러나 우리나라 동맥경화 위험 노인을 대상으로 한 연구³⁾에서 지질 섭취 비율이 한국인의 식사 지침에서 제시하는 20%에 미치지 못하는 수준이었고 열량, 콜레스테롤 섭취도 낮았다. 또한 항산화 비타민의 섭취가 부족한 것으로 나타나 서구와는 다른 경향을 보이고 있다.

산화적 스트레스는 심혈관계 질환의 발병 기전에서 중요한 역할을 한다. 혈관벽의 산화적 스트레스는 혈관의 확장과 수축의 조화를 깨뜨리며, oxLDL의 생성을 증가시켜 동맥경화증을 유발하고 진전시킨다.⁴⁾ 여러 연구에서 항산화 비타민의 섭취와 심혈관계 질환 간에 관련성이 있음이 보고되고 있으며 이를 규명하기 위한 중재 연구가 이루어지고 있다.⁵⁻⁸⁾ Carpenter 등⁵⁾은 경동맥혈전내막박리술을 받

접수일 : 2004년 9월 22일

채택일 : 2005년 1월 3일

*This work was supported by grant No. R04-2000-000-00065-0 from the Korea Science and Engineering Foundation and ES Group Fund.

[§]To whom correspondence should be addressed.

은 환자 104명을 대상으로 placebo-controlled double blind study를 수행하여 이중 53명에게 하루 500 IU의 α -tocopherol을 복용하게 한 결과 위약군에 비하여 순환 LDL 콜레스테롤 내 α -tocopherol 수준이 40% 증가하였으며 LDL 콜레스테롤의 산화가 감소하는 것으로 나타났다. Machlin⁶⁾은 비타민 C와 비타민 E를 병합하여 보충하였을 때 관상심장질환의 위험율이 감소하였다고 보고하여 LDL 콜레스테롤의 산화를 예방하는데 있어서 단일 항산화 영양소 뿐 아니라 이러한 항산화 영양소를 복합적으로 보충할 때 큰 도움이 될 것으로 사료된다. 한편 심혈관계 질환에 대한 항산화 영양소 보충의 효과가 나타나지 않았다는 보고들^{7,8)}도 있어 심혈관계 질환에 대한 항산화 비타민 보충의 유용성에 대한 체계적인 연구가 필요하다.

비타민제 이외의 다른 항산화 물질인 스피루리나, flavonoids 등을 투여한 연구도 보고되고 있다.⁹⁻¹¹⁾ 스피루리나는 사람이 섭취 할 수 있는 미생물로서 항산화 역할을 하는 phenolic acid, tocopherols, β -carotene을 함유하고 있으며 스피루리나에 함유된 피코시아닌은 최근 연구가 활발한 색소 성분으로 항산화능을 증진시킬 뿐 아니라 항염증 작용을 한다고 보고되고 있다.¹⁰⁾ Nakaya 등¹¹⁾은 경증의 고지혈증 혹은 고혈압 대상자에게 4.2 g/day의 스피루리나를 8주 동안 복용시켰을 때 동맥경화지수 감소와 혈청 콜레스테롤 저하 효과가 있다고 보고하였다. Kim 등¹⁰⁾의 연구에서는 일반 노인을 대상으로 6개월 동안 스피루리나를 복용시켰을 때 혈장 콜레스테롤이 감소하였고 총항산화능 및 면역능이 유의하게 증가하였다.

본 연구는 우리나라 노인에서 심혈관계 질환에 대한 항산화 물질의 효과를 규명하기 위하여 수행되었다. 심혈관계 질환의 위험 집단으로 분류되는 60세 이상의 고콜레스테롤혈증 여자 노인에서 항산화영양소복합제와 스피루리나를 중재하였을 때 체내 지질대사, 면역체계 및 항산화능의 변화를 분석하여 항산화 보충제 섭취의 효과를 설명하고자 하였다.

연구내용 및 방법

1. 연구대상자

본 연구의 대상 노인은 서울과 경기 지역에 거주하는 60세 이상의 여자 노인 51명이었다. 대상자 선정 기준은 “한국인 고지혈증 치료지침 제정 위원회” (한국 지질 동맥경화학회, 2003)¹²⁾에서 제시한 고지혈증 분류 기준치에 근거하여 혈중 총 콜레스테롤 농도가 200~230 mg/dl인 경계역군과 240 mg/dl 이상인 고콜레스테롤군에 속한 노인 중

에서 자원자를 대상으로 하였다. 특별한 식사 요법을 하거나 본 실험 4주 전에 statin 계열의 콜레스테롤 저하 약물 또는 다른 지질 저하 약물을 복용한 자 및 비타민제를 비롯한 식사 보충제를 복용한 자는 제외하였다. 지원자들 중에서 단순무작위 표출법에 의해 항산화영양소복합제군과 스피루리나군으로 분류하였다. 실험 전에 모든 대상자들로부터 중재 실험에 참여하겠다는 서면 동의서를 받았으며 2003년 4월부터 2003년 8월까지 중재 연구를 실시하였다.

2. 연구디자인

본 임상 실험에서는 항산화영양소복합제 (Binacle, 중외

Table 1. Nutritional composition of antioxidant nutrients complex and spirulina^{13)*}

		Ingredients	Daily amount
Antioxidant nutrients complex		Vitamin E	400 I.U.
		β -carotene	15 mg
		Ascorbic acid (K.P.)	500 mg
		Selenium	50 μ g
		Moisture	0.375 g
		Protein	4.875 g
		Lipid	0.375 g
		Carbohydrate	0.35 g
		Ash	0.525 g
	Minerals	Calcium	75.0 mg
		Phosphorus	67.5 mg
Iron		11.25 mg	
Sodium		45.0 mg	
Copper		90.0 mg	
Magnesium		30.0 mg	
Manganese		0.375 mg	
Zinc		0.225 mg	
Potassium		90.0 mg	
Chromium		21 μ g	
Spirulina	Vitamins	Ascorbic acid	0.375 mg
		β -Carotene	9.6 mg
		Biotin	0.375 μ g
		Cobalamin	2.4 μ g
		Folic acid	0.75 μ g
		Pyridoxine	60.0 μ g
		Pantothenic acid	7.5 μ g
		Niacin	1.095 mg
		Thiamin	0.2325 mg
		Tocopherol	0.75 IU
Pigments	Carotenoids	27.75 mg	
	Phycocyanin	1,125.0 mg	
	Chlorophyll	86.25 mg	
	γ -linolenic acid	101.25 mg	
	Glycolipids	150 mg	
	Sulfolipids	7.5 mg	

*Daily dose of spirulina in this study was 7.5 g.

계약)와 한국외이피 (주)로부터 제공받은 다이어씨 지구 스피루리나 정제를 사용하였다. 항산화영양소복합제는 1일 1회 1정 씩 복용하도록 하였고 스피루리나는 1회 10정 (2.5g)씩 1일 3회 총 7.5g을 복용하도록 하였으며 총 중재기간은 2개월이었다. 항산화영양소복합제와 스피루리나의 함량은 Table 1에 제시하였다. 실험기간 중 대상자들에게 평상시 식사를 하도록 하였으며 다른 영양 보충제나 비타민제의 섭취는 금하였다. 연구대상자의 항산화영양소복합제와 스피루리나 복용 여부는 일주일에 3번 전화로 확인하였으며 12일 간격으로 항산화영양소복합제와 스피루리나를 나누어 제공하면서 복용 상태를 확인하였다.

항산화영양소복합제와 스피루리나 복용 전에 모든 대상자의 일반 사항과 식사 조사, 신체계측조사 및 공복 시 혈액 검사를 실시하여 초기 자료로 사용하였으며 복용 2개월 후 모든 조사를 반복 실시하였다.

3. 조사 내용 및 방법

1) 식사 섭취 및 신체계측 조사

식사 섭취 조사는 24시간 회상법을 이용하였으며 하루의 식사 내용을 잘 훈련된 조사자가 직접 면접하여 조사하였다. 또한 식품 재료명 및 섭취 분량의 정확한 회상을 위해 식품 모형을 사용하였다. 조사된 식사 섭취량은 CAN-Pro 2.0 (한국영양학회, 2002)¹⁴⁾으로 분석하여 영양소 섭취량을 구하였으며 1일 영양소 섭취량을 한국인 영양권장량 (한국영양학회, 제 7차 개정, 2000)¹⁵⁾과 비교하였다.

신장은 허리를 곧게 펴게 한 후 선자세에서 측정하였으며, 체중, 체지방, 체지방률은 INBODY 2.0 (주 바이오스페이스)을 이용하여 BIA (Bioelectrical impedance analysis) 법으로 측정하였다. 신장과 체중 값으로부터 체질량지수 (BMI, kg/m²)를 구하였으며, 허리둘레와 엉덩이둘레를 측정하여 waist-to-hip ratio (WHR)를 구하였다. 혈압은 10분 이상 안정 상태를 유지한 후 자동혈압측정기 (Omron, HEM-705)를 이용하여 우측 상완에서 측정하였으며 수축기 및 이완기 혈압을 2회 측정하여 평균 혈압을 사용하였다.

2) 혈당 및 혈액 지질 성상

혈액은 12시간 공복상태에서 조사 대상자의 상완정맥에서 채혈하여 혈청 및 혈장을 분리하였고 분석 시 까지 -70℃에서 보관하였다. 공복 시 혈당은 혈당계 (Accutrend alpha, Boehringer Mannheim GmbH, Germany)를 이용하여 채혈 즉시 측정하였다. 또한 중성지방, 총 콜레스테롤, HDL-cholesterol은 자동혈액분석기 (Ekachem DTSC module, Johnson & Johnson, U.S.A)를 이용하여 분석하였으며,

LDL-cholesterol은 Friedwald 공식을 이용하여 산출하였다.¹⁶⁾ Atherogenic index (AI)는 Lauer 공식에 의해서 구하였다.¹⁷⁾ Oxidized LDL (oxLDL)함량은 oxLDL의 auto antibodies를 이용한 enzyme immunoassay kit (Biomedica, American Laboratory Products Company, NH)를 사용하여 ELISA reader (Spectra Max 340, U.S.A)로 측정하였다. Apolipoprotein B 함량은 면역확산법을 이용한 Radial Immunodiffusion plate (Nor-partigen, Behring Co., Germany)를 사용하여 분석하였다.

3) 면역능 측정

혈청 C₃ 함량은 면역확산법을 이용한 Radial Immunodiffusion plate (Nor-partigen, Behring Co., Germany)를 사용하여 분석하였다. IL-2와 IL-6의 혈청 농도 및 말초혈 임파구 생성능은 enzyme immunoassay kit (Immuno tech, A Beckman Coulter Co., France)를 사용하여 ELISA reader (Spectra Max 340, U.S.A)로 측정하였다.

임파구의 세포 증식 능력은 Mosmann¹⁸⁾의 방법을 이용하여 측정하였고 전 실험 과정은 무균상태에서 행해졌다. Heparin 처리한 전혈은 채혈 직후 Ficoll-paque (Histopaque 1077, Sigma H8889)를 이용해 임파구를 분리한 후 gentamycin (GibcoBRL 15710-064) 0.2%, FBS (GibcoBRL 100-82147)을 10% 함유한 배양액 (GibcoBRL, RPMI 1640 12385-015)과 mitogen을 넣어 37℃의 humidified CO₂ incubator (Flow Lab ; 5% CO₂, 95% air, humidified)에서 68시간 배양한 다음 세포 증식능력을 측정하였다. 이 때 96 well plate에 2 × 10⁵/well이 되도록 분주하였다. Mitogen으로는 T-cell mitogen인 ConA 0.5 μg/10 μl (Concanavalin A, Sigma C-5275)와 PHA 0.5 μl/10 μl (Phytohemagglutinin, Gibco BRL 10576-015)를, B-cell mitogen인 LPS 0.5 μg/10 μl (Lipopolysaccharide, Sigma L-6143)를 사용하였다. 68시간 동안 배양한 후 MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazoliumbromide, Sigma M 2128)와 4시간 반응시켜 ELISA reader (Spectra Max 340, U.S.A)로 492 nm에서 흡광도를 측정하여 세포 증식 정도를 측정하였다. 말초혈 임파구의 증식능력은 mitogen을 넣지 않은 well의 흡광도와 mitogen을 넣은 well의 흡광도를 비교해 자극지수 (Stimulation index, SI)를 구하였다.

ConA로 자극시킨 임파구의 IL-2와 IL-6 생성 능력을 측정하기 위하여 위와 같이 말초혈을 분리한 후 세포수를 측정한 다음 각 24-well round bottom plate 당 1 ml 씩 넣고 37℃의 humidified CO₂ incubator (Flow Lab ; 5%

CO₂, 95% air, humidified)에서 2시간 배양하였다. 그 후 10% FBS를 버린 후 Well당 10% FBS medium 900 μ l 와 mitogen [ConA (0.5 μ g/10 μ l)]을 100 μ l씩 첨가한 후 48시간 동안 배양한 다음, 상층액을 100 μ l를 취하였다. 분리한 상층액은 IL-2 및 IL-6 antibody를 포함한 enzyme immunoassay kit를 사용하여 ELISA reader (Spectra Max 340, U.S.A)로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

4) 항산화능 분석

혈장의 Vitamin A와 Vitamin E의 농도는 reversed-phase HPLC를 이용하여 분석하였고,¹⁹⁾ Vitamin C 농도는 Bieri 법을 수정한 방법²⁰⁾으로 측정하였다. 이 때 모든 실험 과정은 간접 조명 하에서 이루어졌다. 항산화능을 판정하기 위해 혈장의 지질과산화물 지표인 TBARS 함량은 Yagi 법²¹⁾으로, 총항산화능의 지표인 혈장 내 TAS 함량은 EDTA로 처리된 혈장을 TAS 측정용 kit (ABTS^R, Randox, Lab, Ltd, UK)를 이용하여 측정하였다.

5) 중재 물질의 항산화능 측정

중재 연구에 사용한 항산화영양소복합제와 스피루리나는 체외에서의 항산화능을 측정한 후 사용하였다. 항산화영양소복합제와 스피루리나의 총항산화능 (TAS) 수준은 McCusker 등²²⁾과 Marklund 등²³⁾의 방법을 응용해서 측정하였다. 수소전자공여능 (Electron donating ability, EDA) 측정은 Blois²⁴⁾와 Bonder 등²⁵⁾의 방법에 준하여 실시하였으며 시판되고 있는 합성 항산화제인 BHT (Butylated hydroxytoluene)를 표준품으로 사용하였다.

4. 자료의 처리 및 분석

본 연구의 모든 자료는 SPSS 11.0 program을 이용하여 분석하였다. 항산화영양소복합제와 스피루리나 복용군에서 복용 전과 후의 체위, 혈액 성분과 면역능, 항산화능 및 영양소 섭취량의 평균과 표준 오차를 계산하였고, 각각의 복용 전과 후의 효과 차이는 paired t-test로 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다. 또한 항산화영양소복합제와 스피루리나 복용에 따른 효과 차이를 보기 위하여 Repeated measure ANOVA를 이용하여 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 중재 물질의 항산화능

중재 실험에서 사용된 항산화영양소복합제와 스피루리나의 총항산화능 (TAS)과 수소전자공여능 (EDA) 결과는 Table 2에 제시하였다. 총항산화능은 항산화영양소복합제

Table 2. Antioxidant status and electron donation ability (EDA) of the antioxidant nutrients complex and spirulina and BHT

	Antioxidant nutrients complex	Spirulina	BHT ³⁾
TAS ¹⁾ (nmol/L plasma)	1.68	1.28	
EDA ²⁾ (%)	88.6	80	90.5

1) TAS : Total antioxidant status

2) EDA : Electron donation ability

3) BHT : Butylated hydroxytoluene, used as standard material

(1.68)가 스피루리나 (1.28) 보다 높게 나타났다. 수소 전자공여능은 표준품으로 사용된 합성항산화제인 BHT (10 mg/ml)가 90.5%, 항산화영양소복합제 88.6%, 스피루리나 80% 순으로 나타났다. 그러므로 본 연구에서 항산화 중재에 사용한 항산화영양소복합제의 항산화능은 BHT와 비슷하였고 스피루리나도 상당한 항산화능을 가진 물질로 판명되어 연구의 목적에 적합하였다.

2. 중재에 따른 혈장 항산화능의 변화

대상자는 총 51명으로 이 중 항산화영양소복합제 복용군이 25명, 스피루리나 복용군이 26명이었다. 항산화 물질 중재 전 혈장 α -tocopherol과 비타민 C 농도는 두 복용군 모두 정상범위에 속해있었으며 레티놀 농도는 정상 범위보다 높아 대상자의 항산화 상태는 양호하다고 할 수 있었다. 항산화영양소복합제 복용 후 혈장 α -tocopherol과 레티놀 농도가 유의적으로 ($p < 0.001$) 증가하였으며 비타민 C 농도는 유의한 변화를 나타내지 않았다 (Table 3). 지질 과산화물인 혈장 TBARS 농도는 30% 감소하였으며 TAS 농도는 30% 증가하여 차이가 유의적이었다 ($p < 0.001$). Hercberg 등²⁶⁾은 35~60세인 남녀 12,735명에게 항산화영양소복합제 (비타민 C 120 mg, 비타민 E 30 mg, 베타카로틴 6 mg, selenium 100 μ g, 아연 20 mg)를 8년 간 복용시킨 결과 혈장 항산화 비타민 농도가 증가되었으며 심혈관계 질환 위험도가 감소되었음을 보고하였다. 또한 성인에게 항산화영양제 (베타카로틴 18 mg, 비타민 C 900 mg, 비타민 E 250 mg 및 아연 12 mg)를 3개월 간 보충하였을 때 혈장 베타카로틴은 5%, 비타민 E는 55%, 비타민 C가 27% 증가하였으며,²⁷⁾ 비타민 E 보충 후 혈장 내 지질과산화물 TBARS 수준이 감소하였음도 보고²⁸⁾되었다. 그러므로 본 연구 결과 고콜레스테롤혈증 여자노인에서 항산화영양소복합제의 보충은 체내 항산화능을 개선시키는데 도움이 되며 이는 혈청 내 항산화 비타민 농도를 증가시킴으로써 초래되는 결과라고 보겠다.

한편 스피루리나 복용 후 지질 과산화물 지표인 혈장 TBARS 수준은 30% 감소하였으며 총항산화능은 27.3% 증가하였으나 혈청 항산화비타민 수준에는 변화가 없어 항산

Table 3. Antioxidant status of the subjects for intervention study

	Antioxidant nutrients complex (n = 25)		Spirulina (n = 26)		Normal range	Repeated measure ANOVA ³⁾
	Before	After	Before	After		
α -tocopherol (mg/l)	10.1 ± 0.6 ¹⁾	15.9 ± 0.9 ^{***2)}	9.9 ± 0.7	10.2 ± 0.8	5 - 12	0.002 ⁴⁾
Retinol (μg/dl)	74.9 ± 4.5	96.4 ± 4.2 ^{***}	79.9 ± 4.5	96.5 ± 7.6	45 - 65	0.636
Vitamin C (μg/dl)	785 ± 43.9	758 ± 24.6	740.9 ± 36	789 ± 33.3	>200	0.838
TAS (nmol/l plasma)	1.0 ± 0.03	1.3 ± 0.04 ^{***}	1.1 ± 0.03	1.4 ± 0.04 ^{***}	1.3 - 1.77	0.262
TBARS (nmol/ml plasma)	2.0 ± 0.02	1.4 ± 0.02 ^{***}	2.0 ± 0.02	1.4 ± 0.02 ^{***}		0.560

1) Mean ± S.E.
 2) Significantly different by paired t-test between before and after intervention period in each supplement group (***p < 0.001).
 3) Repeated measure ANOVA was conducted to compare the effect of supplementation between two groups.
 4) Pr > F

Table 4. Anthropometric measurements of the subjects for intervention study

	Antioxidant nutrients complex (n = 25)		Spirulina (n = 26)		Repeated measure ANOVA
	Before	After	Before	After	
Age (year)	68.2 ± 0.9 ¹⁾		66.7 ± 0.9		
Height (cm)	151.5 ± 0.9	151.6 ± 0.9	152.9 ± 0.9	153 ± 1.0	
Weight (kg)	58.8 ± 1.5	58.6 ± 1.4	57.5 ± 1.4	57.2 ± 1.4	0.516 ⁴⁾
BMI (kg/m ²) ³⁾	25.5 ± 0.5	24.5 ± 1.1	24.6 ± 0.6	24.5 ± 0.6	0.161
WC (cm)	85.0 ± 1.6 ^{**2)}	82.2 ± 1.3	81.3 ± 1.7	80.2 ± 1.3	0.149
WHR	0.94 ± 0.01 ^{**}	0.93 ± 0.01	0.93 ± 0.1 ^{***}	0.92 ± 0.01	0.343
Bodyfat (%)	33.7 ± 0.96	33.3 ± 0.9	33.6 ± 1.1 ^{***}	32.4 ± 1.1	0.721

1) Mean ± S.E.
 2) Significantly different by paired t-test between before and after intervention period in each supplement group (**p < 0.01, ***p < 0.001).
 3) BMI : Body mass index, WC : Waist circumference, WHR : Waist-to-hip ratio
 4) Pr > F

화영양소복합제와는 다른 기전으로 항산화능을 증진시키는 것으로 생각된다. Miranda 등²⁹⁾은 동물 실험을 통해 스피루리나 복용에 의해 혈장의 TBARS 수준이 감소되었음을 보고하였다. 따라서 스피루리나가 단일 항산화 비타민 수준에는 큰 영향을 미치지 않으나 항산화능은 증진시킴을 알 수 있다. 두 가지 중재 물질의 효과의 차이를 Repeated measure ANOVA를 사용하여 분석한 결과, 비타민 E를 제외하고는 복용 물질에 따른 비타민 A와 비타민 C 농도 및 항산화능의 차이는 없었다 (Table 3).

3. 중재에 따른 신체계측 성분의 변화

Table 4에 제시한 것과 같이 항산화영양소복합제 복용군의 평균 연령은 68.2세였으며 스피루리나 복용군은 66.7세로 두 군 간에 유의적인 차이는 없었다. 중재 전 두 군 모두 비만에 속하였으며 평균 허리둘레도 80 cm 이상으로 심혈관질환 위험군에 속하였다. 항산화영양소복합제와 스피루리나를 2개월 동안 복용시킨 결과 항산화영양소복합제 복용군에서 허리둘레 (p < 0.01), WHR (p < 0.01)이 유의적으로 감소하였고 스피루리나 복용군에서는 WHR과 체지방률이 감소 (p < 0.001)하였으나 여전히 비만에 속하였다. Repeated measure ANOVA 결과, 두 그룹 간에 차이가 나

타나지 않아 복용 물질의 종류는 신체 계측치에 영향을 미치지 않는 것으로 보인다 (Table 4).

4. 중재에 따른 식사 섭취 상태의 변화

항산화영양소복합제 복용군과 스피루리나 복용군에서 복용 전과 후의 영양소 섭취량은 중재 물질을 포함하지 않고 식사로부터 섭취한 양만을 계산하였다. 복용 전 영양소 평균 섭취량은 항산화영양소복합제군에서 칼슘과 아연을 제외하고는 두 군 모두 권장량의 80% 이상을 충족하고 있었다 (Table 5). 열량은 두 군 모두 권장량 이하로 섭취하고 있었으며 열량 대비 지방 섭취량은 20% 정도, 콜레스테롤은 240 mg 이하로 섭취하였다. 비타민 A, 비타민 C, 비타민 E는 대체적으로 권장량을 충족하고 있었다. 중재 물질 복용 전과 후에 모든 영양소 평균 섭취량에 있어서 유의한 변화가 없었다. 복용 물질에 따른 효과 차이를 분석한 결과, 엽산 섭취량만 유의적인 차이를 나타내었으며 (p=0.037) 나머지 영양소들은 복용군에 따라 섭취량에 차이가 나지 않았다. 그러므로 2개월 동안의 항산화영양소복합제와 스피루리나 복용은 영양소 섭취량에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

Table 5. Daily nutrient intakes and % RDA of the subjects for intervention study

Nutrient	Antioxidant nutrients complex (n = 25)		Spirulina (n = 26)		Repeated measure ANOVA
	Before	After	Before	After	
Energy (g)	1511.3 ± 64.9 ¹⁾ (87.2 ± 3.8) ²⁾	1633.3 ± 80.5 (93.9 ± 4.4)	1628.2 ± 78.5 (92.9 ± 4.8)	1520.4 ± 91.3 (87 ± 5.4)	0.983 ⁴⁾
Protein (g)	64.4 ± 3.9 (117.1 ± 7.2)	61.1 ± 3.2 (111.1 ± 5.8)	72.5 ± 4.4 (131.8 ± 7.9)	63.2 ± 4.4 (114.9 ± 8.0)	0.247
Fat (g)	40.9 ± 3.8	40.6 ± 3.5	37.9 ± 3.8	35.4 ± 3.2	0.344
Carbohydrate (g)	237.0 ± 9.7	262.2 ± 14.4	259.4 ± 12.5	238.5 ± 15.9	0.966
Ca (mg)	519.4 ± 40.1 (74.2 ± 5.7)	501.0 ± 66.4 (71.6 ± 9.5)	657.9 ± 48 (93.9 ± 6.9)	532.4 ± 47.3 (76.1 ± 6.8)	0.110
Fe (mg)	14 ± 0.9 (110.7 ± 8.2)	12 ± 0.7 (95.2 ± 5.5)	14.7 ± 0.7 (112.5 ± 6.2)	13.4 ± 1.1 (104.4 ± 10.1)	0.311
Folic acid (mg)	245.9 ± 20.9 (98.4 ± 8.4)	219 ± 15.6 (87.6 ± 6.2)	288.2 ± 19.4 (115.3 ± 7.8)	274.7 ± 23.7 (109.9 ± 9.5)	0.037
Zn (mg)	8 ± 0.5 (79.9 ± 4.9)	7.4 ± 0.3 (74 ± 3.4)	8.9 ± 0.5 (88.6 ± 4.7)	7.7 ± 0.5 (76.6 ± 5.0)	0.265
Vitamin A (μg RE)	960.8 ± 146.4 (137.3 ± 20.9)	645.3 ± 64.5 (92.2 ± 9.2)	774.4 ± 99 (110.6 ± 14.2)	675.5 ± 85.9 (96.5 ± 12.3)	0.451
Vitamin C (mg)	100.5 ± 13.3 (143.6 ± 18.9)	83.1 ± 9.2 (118.7 ± 13.2)	103.6 ± 12.2 (147.9 ± 17.4)	94 ± 9.9 (134.2 ± 14.2)	0.541
Vitamin E (mg)	9.3 ± 1.4 (93.4 ± 14.4)	10.7 ± 1.3 (106.7 ± 12.9)	9.7 ± 1.0 (97.3 ± 10.2)	12.0 ± 0.9 (120.2 ± 9.7)	0.498
Cholesterol (mg)	224 ± 38.6	239.9 ± 36.9	193.5 ± 22.7	196.5 ± 23.9	0.223
SFA (g) ³⁾	8.3 ± 1.4	7.2 ± 1.1	6.5 ± 1.1	6.3 ± 1.0	0.220
MUFA (g)	8.9 ± 1.5	8.4 ± 1.2	7.4 ± 1.2	6.0 ± 0.8	0.131
PUFA (g)	6.5 ± 0.8	6.7 ± 0.8	6.1 ± 0.9	6.4 ± 0.7	0.716
n-6/n-3 ratio	5.6 ± 5.3	4.7 ± 1.6	5.9 ± 2.1	6.1 ± 1.2	0.428

1) Mean ± S.E. Assessed by CAN pro 2.0 program

2) () refers to % RDA

3) SFA : Saturated fatty acid, MUFA : Monounsaturated fatty acid, PUFA : Polyunsaturated fatty acid, P/M/S ratio : PUFA/MUFA/SFA ratio, n-6/n-3 ratio : n-6 fatty acid/n-3 fatty acid ratio

4) Pr > F

5. 중재에 따른 혈당 및 혈액 지질 성상의 변화

항산화영양소복합제 복용 전 공복 시 혈당 농도는 정상범위에 속해 있었고 복용 후 유의적 변화가 없었다 (Table 6). 혈청 총 콜레스테롤은 복용 전과 후에 각각 239.9 mg/dl, 217.9 mg/dl로 ($p < 0.001$), LDL 콜레스테롤은 167.2 mg/dl, 141.9 mg/dl로 ($p < 0.01$) 유의적으로 감소하여 복용 전에는 고콜레스테롤 위험군에 속하였으나 보충 후에는 경계 위험군 수치로 떨어졌다. HDL 콜레스테롤과 중성지방, 동맥경화지수 (AI)는 항산화영양소복합제 복용에 따른 유의적인 변화가 없었다. Apolipoprotein B는 정상범위에 속하였으며 복용에 따라 유의적으로 감소하였고, LDL/HDL ratio ($p < 0.05$)와 oxLDL, 수축기 혈압과 이완기 혈압 ($p < 0.01$)도 복용에 따라 유의적으로 감소하였다.

스피루리나 중재 결과도 항산화영양소복합제와 전반적으로 비슷한 결과를 보였다. 스피루리나 복용 전과 복용 후 공복 시 혈당, HDL 콜레스테롤과 중성지방 농도 및 동맥경화지수 (AI)는 유의적 차이가 없었다. 혈청 총 콜레스테롤과 LDL콜레스테롤의 평균 농도는 복용 전 고콜레스테롤 위

험군에 속하였으나 복용 후에 유의적으로 감소하여 ($p < 0.001$) 경계위험군 수치로 떨어졌다. Apolipoprotein B와 oxLDL ($p < 0.001$) 및 LDL/HDL ratio ($p < 0.01$)도 복용에 따라 유의적으로 감소하였다. 수축기 혈압은 복용 후에 유의적인 차이는 없었으나, 이완기 혈압은 복용 전에 비해 복용 후에 감소하였다 ($p < 0.01$). 공복 시 혈당 수준과 혈청 지질 성상 및 혈압의 변화는 항산화영양소복합제 및 스피루리나 복용군에 따른 유의한 차이는 나타나지 않았다.

Kang 등³⁰⁾은 비타민 E (400 IU), 비타민 C (1000 mg) 및 비타민 C + 비타민 E (1000 mg + 400 IU)를 4주 간 50~60대 여성 45명을 대상으로 각각 섭취시켰을 때 모든 군에서 혈청 총콜레스테롤 감소와 HDL 콜레스테롤 증가를 관찰하였다. Reaven 등³¹⁾은 하루에 비타민 E를 1,600 mg 보충시킨 후 혈액 내 LDL 콜레스테롤의 산화가 보충 전에 비해 50% 감소하였음을 보고하였다. 본 연구에서도 항산화영양소복합제 섭취 후 혈청 총콜레스테롤, LDL 콜레스테롤, apolipoprotein B, oxLDL 농도 및 LDL/HDL ratio가 감소하였다. 따라서 항산화영양소의 보충은 혈액

Table 6. Serum profiles and blood pressure of the subjects for intervention study

	Antioxidant nutrients complex (n = 25)		Spirulina (n = 26)		Repeated measure ANOVA
	Before	After	Before	After	
Fasting blood sugar (mg/dl)	105.2 ± 4.7 ¹⁾	100.3 ± 7.7	94.5 ± 3.0	87.6 ± 4.8	0.063 ⁵⁾
Total cholesterol (mg/dl)	239.9 ± 6.9	217.9 ± 6.7 ^{***2)}	240.8 ± 5.7	208.5 ± 4.9 ^{***}	0.586
LDL-cholesterol (mg/dl)	167.2 ± 6.7	141.9 ± 8.1 ^{**}	167.4 ± 5.5	136.5 ± 5.4 ^{***}	0.747
HDL-cholesterol (mg/dl)	40.9 ± 1.8	40.1 ± 1.8	45.8 ± 1.9	43.8 ± 2.1	0.077
Triglyceride (mg/dl)	160.6 ± 16.8	187.6 ± 23.7	138.2 ± 13.6	142.1 ± 14.1	0.128
Apolipoprotein B (g/l)	1.63 ± 0.07	1.4 ± 0.05 [*]	1.7 ± 0.1	1.4 ± 0.1 ^{***}	0.970
Oxidized LDL (mU/ml)	444.5 ± 90	244.6 ± 59.9 ^{**}	493.4 ± 87.7	280.7 ± 52.4 ^{***}	0.664
LDL/HDL	4.3 ± 0.3	3.7 ± 0.3 [*]	3.9 ± 0.2	3.3 ± 0.2 ^{**}	0.186
AI ³⁾	5.2 ± 0.4	4.7 ± 0.3	4.5 ± 0.3	4.0 ± 0.2	0.075
SBP ⁴⁾ (mmHg)	139.4 ± 3.7	130.3 ± 3.6 ^{**}	137.2 ± 3.2	131.3 ± 3.5	0.968
DBP (mmHg)	81.9 ± 2.3	78.7 ± 2.0 ^{**}	79.9 ± 1.9	76.4 ± 2.1 ^{**}	0.526

- 1) Mean ± S.E.
- 2) Significantly different by paired t-test between before and after intervention period in each supplement group (*p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001).
- 3) Atherogenic index : (total cholesterol - HDL- cholesterol) /HDL-cholesterol
- 4) SBP : systolic blood pressure, DBP : diastolic blood pressure
- 5) Pr > F

Table 7. Selected immune response indices of the subjects for intervention study

	Antioxidant nutrients complex (n = 25)		Spirulina (n = 26)		Repeated measure ANOVA
	Before	After	Before	After	
Serum concentration					
C ₃ ³⁾ (g/l)	1.4 ± 0.1 ¹⁾	1.0 ± 0.1 ^{*2)}	1.1 ± 0.1	1.2 ± 0.1	0.505 ⁵⁾
IL-2 (pg/ ml)	128.7 ± 0.6	129.4 ± 1.1	127.7 ± 0.3	128.3 ± 0.8	0.232
IL-6 (pg/ ml)	39.7 ± 2.2	33.6 ± 1.7 [*]	45.2 ± 3.7	34.8 ± 2.1 [*]	0.212
Lymphocyte proliferation response					
ConA (SI ⁴⁾)	2.3 ± 0.2	1.9 ± 0.1	2.5 ± 0.3	1.9 ± 0.2 [*]	0.63
PHA (SI)	2.8 ± 0.2	2.2 ± 0.1 [*]	2.6 ± 0.2	2.2 ± 0.1 ^{**}	0.504
LPS (SI)	1.4 ± 0.1	1.5 ± 0.1	1.5 ± 0.1	1.4 ± 0.1	0.849
IL-2 and IL-6 production					
IL-2 (pg/ ml)	635.4 ± 18.9	632.8 ± 33.8	648.1 ± 19.1	682.9 ± 42.3	0.346
IL-6 (pg/ml)	1419.3 ± 65.2	719.9 ± 70.1 ^{***}	1411.6 ± 50.7	588 ± 71.7 ^{***}	0.378

- 1) Mean ± S.E.
- 2) Significantly different by paired t-test between before and after intervention period in each supplement group (*p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001).
- 3) C₃ : complement 3
- 4) SI : Absorbance of the well with mitogen/Absorbance of the well without mitogen
- 5) Pr > F

지질 저하 효과뿐만 아니라 LDL 산화를 억제하여 동맥경화의 위험을 감소시킬 수 있을 것으로 생각된다.

또한 스피루리나 복용 후에도 혈청 총콜레스테롤, LDL 콜레스테롤, oxLDL, apolipoprotein B 및 LDL/HDL ratio가 감소하였다. 이러한 결과로 스피루리나 섭취도 총콜레스테롤, LDL 콜레스테롤, oxLDL 수준을 감소시켜 지질 성상을 개선시키는 기능을 가짐을 알 수 있었다. 일반 노인을 대상으로 6개월 동안 스피루리나를 복용한 연구¹⁰⁾에서도 총콜레스테롤, LDL 콜레스테롤, 중성지방 농도 감소와 HDL 콜레스테롤 농도 증가가 보고되었다. Gonzalez

등³²⁾은 쥐에게 5%의 스피루리나를 첨가한 식사를 준 결과 총 콜레스테롤 농도가 감소하고 HDL 콜레스테롤과 중성지질은 증가하였다고 보고하였고, Cases 등³³⁾도 동물 실험을 통해 스피루리나가 총콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤 농도를 감소시키며 HDL 콜레스테롤 농도는 증가시킴을 보고하였다. Huang 등³⁴⁾의 연구에서 스피루리나를 보충해준 쥐 그룹에서 LDL/HDL ratio와 동맥경화지수가 감소됨이 관찰되어 동물 실험에서의 결과가 인체를 대상으로 한 본 연구의 결과와 일치하였다.

6. 중재에 따른 면역 반응의 변화

중재에 따른 혈청 면역 성분 함량과 임파구 세포 증식능의 변화를 살펴보면 (Table 7), 항산화영양소복합제 복용군에서 혈청 내 C₃의 농도는 복용 전과 후에 각각 1.4 g/l에서 1.0 g/l로 유의적으로 감소하였다 ($p < 0.05$). 항염증 사이토카인인 혈청 IL-2의 농도는 복용 전과 후에 차이가 없었으나 친염증성 사이토카인인 IL-6의 농도는 복용 전 39.7 pg/ml에서 복용 후 33.6 pg/ml로 유의적으로 감소하였다 ($p < 0.05$). ConA와 LPS로 유도된 세포 증식 능력은 복용에 따른 유의한 변화가 없었으나 PHA로 유도된 세포 증식 능력은 복용 후에 유의적으로 감소하였다 ($p < 0.05$). ConA로 자극시킨 말초혈 임파구의 IL-2 생성능은 복용 전과 후에 유의한 변화가 없었으나 IL-6 생성능은 복용 전 1419.3 pg/ml에 비해 복용 후 719.9 pg/ml로 감소하여 혈청 수준과 같은 경향을 보였다 ($p < 0.001$).

스피루리나 복용 후 항염증성 사이토카인인 IL-2의 혈청 내 농도는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 친염증성 사이토카인인 IL-6의 혈청 내 농도는 복용 후에 유의적으로 감소하였으며 ($p < 0.05$), ConA로 자극시킨 말초혈 임파구의 생성능도 같은 경향을 나타내었다. ConA ($p < 0.05$)와 PHA ($p < 0.001$)로 유도된 세포 증식 능력은 복용 전에 비해 복용 후에 유의적으로 감소하였으나 LPS 자극 지수는 유의적인 차이가 없었다. 혈청 면역 물질 함량과 임파구 증식 능력 변화에 있어서 복용군에 따른 유의한 차이는 없었다 (Table 7).

본 연구에서 항산화영양소복합제와 스피루리나 복용은 친염증성 사이토카인인 IL-6 농도를 감소시켜 염증 반응을 저하시키는 것으로 보인다. 그러므로 일반적으로 노화에 따라 나타나는 전체적인 면역능의 감소뿐 아니라 항염증 사이토카인과 친염증성 사이토카인의 비가 변화하여 나타나는 면역 기능의 조절 이상 (dysregulation)이 항산화 영양소복합제 및 스피루리나와 같은 항산화 물질의 복용에 의해 정상으로 될 수 있는 가능성을 시사한다고 보겠다.

요약 및 결론

본 연구는 혈장 콜레스테롤이 높아 심혈관계 질환 위험군으로 분류될 수 있는 여자 노인에게 항산화 물질의 중재 효과를 규명하고자 51명을 대상으로 하여 항산화영양소복합제와 스피루리나를 2개월 간 중재하고 체위, 식사 섭취상태, 혈청 지질성분, 면역능 및 항산화능의 변화를 조사하였다.

1) 항산화영양소복합제 복용 후에는 혈장 α -tocopherol 과 레티놀 농도가 증가하였고, TAS 수준이 증가하였으며

TBARS 수준은 감소하였다. 그러나 스피루리나 복용 후에는 TBARS 수준은 감소하고 TAS 수준은 증가하였으나 혈청 비타민 수준에는 변화가 없었으므로 항산화영양소복합제와는 다른 기전으로 항산화능을 증진시키는 것으로 보인다.

2) 심혈관계 질환 위험 집단인 고콜레스테롤혈증 비만 여자 노인에서 항산화영양소복합제와 스피루리나 복용 후 허리둘레, WHR 및 체지방률이 감소하였다.

3) 항산화영양소 복합제와 스피루리나 복용 후에 혈청 총 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤, apolipoprotein B, oxLDL 농도가 감소하였다.

4) 항염증성 사이토카인인 IL-2의 혈청과 임파구의 수준은 복용 후 유의한 변화가 없었으나 친염증성 사이토카인인 IL-6 수준은 감소하여 항산화 물질 복용에 따라 염증 반응이 저하 되었다. 이는 만성퇴행성 질환을 가진 노인에서 일반적으로 나타나는 염증 반응의 증가가 항산화 물질 복용에 의해 정상으로 될 수 있는 가능성을 시사한다고 보겠다.

본 연구 결과 항산화영양소복합제와 스피루리나 복용은 심혈관계 질환 집단인 고콜레스테롤혈증 여자 노인에서 항산화 상태를 증진시켰으며 혈청 LDL 콜레스테롤 산화 억제제를 비롯한 지질대사 개선과 염증 반응 저하의 효과를 나타냄을 알 수 있다. 또한 항산화영양소복합제와 스피루리나 중재 결과가 유사하게 나타난 것으로 보아 스피루리나의 효과도 항산화능 개선을 통해 이루어진 것으로 사료된다. 그러므로 심혈관계 질환 위험군에서 나타난 혈청 지질 대사 이상과 면역능의 변화가 이러한 항산화 물질의 보충에 의해서 정상으로 될 수 있으며 나아가 심혈관계 질환의 예방에 도움이 될 것으로 사료된다. 따라서 우리나라 노인에서는 열량과 콜레스테롤 섭취 저하 보다는 항산화 영양소 섭취를 권장하는 것이 바람직할 것으로 보이며 앞으로 항산화능이 혈청 지질 대사 및 면역 체계에 미치는 영향에 대하여 대규모의 사람들을 대상으로 한 체계적인 연구가 필요할 것이다.

■ 감사의 글

본 논문을 위하여 연구비를 지원해 주신 ES group과 실험에 참여해 주신 어르신들께 감사드립니다.

Literature cited

- 1) Osiecki H. The role of chronic inflammation in cardiovascular disease and its regulation by nutrients. *Altern Med Rev* 9(1): 32-53, 2004
- 2) Herder R, Demming AB. The power of a balanced diet and lifes-

- tyle in preventing cardiovascular disease. *Nutr Clin Care* 7(2) : 46-55, 2004
- 3) Lee HS, Nam JH, Kim MH, Cho MS, Kim WY. Immune and nutrition status in elderly Koreans with hyperLDL-cholesterolemia. *Nutr Res* 2004 (forthcoming)
 - 4) Hodis HN, Mack WJ, Labree L, Cashin HL, Sevanian A, Johnson R, Azen SP. Serial coronary angiographic evidence that antioxidant vitamin intake reduces progression of coronary artery atherosclerosis. *J Am Med Assoc* 273:1849-1854, 1995
 - 5) Carpenter KL, Kirkpatrick PJ, Weissberg PL, Challis IR, Dennis IF, Freeman MA, Mitchinson MJ. Oral alpha-tocopherol supplementation inhibits lipid oxidation in established human atherosclerosis lesions. *Free Radic Res* 37(11) : 1235-1244, 2003
 - 6) Machlin LJ. Critical assessment of the epidemiological data concerning the impact of antioxidant nutrients on cancer and cardiovascular disease. *Crit Rev Food Sci Nutr* 35(1-2) : 41-50, 1995
 - 7) Spirichev VB. Antioxidant vitamins in the treatment and prevention of cardiovascular disease. *Vopr Pitan* 72(6) : 45-51, 2003
 - 8) Yusuf S, Dagenais G, Pogue J, Bosch J, Sleight P. Vitamin E supplementation and cardiovascular events in high risk patients. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. *Eng J Med* 345: 154-160, 2000
 - 9) Kromhout D, Hertog ML, Hollman MH, Hertog ML, Katan MB. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen elderly study. *Lancet* 342: 1007-1011, 1993
 - 10) Kim WY, Park JY. The effect of spirulina on lipid metabolism, antioxidant capacity and immune function in Korean elderly. *Korean J Nutrition* 36(3) : 287-297, 2003
 - 11) Nakaya N, Homma Y, Goto Y. Cholesterol lowering effect of spirulina. *Nutr Rep Int* 37: 1329-1337, 1988
 - 12) Korean guidelines of hyperlipidemia treatment for prevention of atherosclerosis. Korean society of lipidology and atherosclerosis, 2002
 - 13) Kay RA. Microalgae as food and supplement. *Critical Review in Food and Nutrition* 30(6) : 555-573, 1991
 - 14) The Korean Nutrition Society. Nutrition information center. Nutritional assessment program, 'CAN pro 2.0', 2002
 - 15) Recommended dietary allowances for Koreans, 7th revision, The Korean Nutrition Society, Seoul, 2000
 - 16) Friedwald WT, Levy RI, Fredrick DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 499-502, 1972
 - 17) Lauer RM, Clarke WP, Lee J. Factors affecting the relationship between childhood and adult cholesterol levels. The Muscatine study. *Pediatrics* 82(3) : 309-318, 1988
 - 18) Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 65: 55-63, 1983
 - 19) Kang MH, Genser D, Elmadfa I. Increased sister chromatid exchanges in peripheral lymphocytes of patients with Crohn's disease. *Mutation Res* 381: 141-148, 1997
 - 20) Sim JE. Assessment of vitamin C nutritional status and analysis of factors related to serum ascorbic acid levels in diabetes mellitus case and control groups. Seoul National Univ. Graduate Sch. Masters's thesis, 1996
 - 21) Yagi K. Assay for Blood Plasma or Serum: in *Methods in enzymology* Academic Press Inc. NY 105: 328-331, 1984
 - 22) McCusker CA, Fitzgerald SP. Measurement of total antioxidant status in beverages using a rapid Automated method. Randox Laboratory Ltd., 1996
 - 23) Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47(3) : 469-474, 1974
 - 24) Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1202, 1958
 - 25) Bondet V, Brand W, Berset C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH · free radical method. *Lebensm Wiss U Technol* 30: 609-615, 1997
 - 26) Hercberg S, Galan P, Preziosi P, Roussel AM, Arnaud J, Richard MJ, Malvy D, Paul DA, Briancon S, Favier A. Background and rationale behind the SUVIMAS study, a prevention trial using nutritional doses of a combination of antioxidant vitamins and minerals to reduce cardiovascular disease and cancers. *Int J Vitam Nutr Res* 68(1) : 3-20, 1998
 - 27) Abby M, Nestel P, Baghurst PA. Antioxidant vitamins and low-density lipoprotein oxidation. *Am J Clin Nutr* 58: 525-532, 1993
 - 28) Kim WK. Effects of vitamin E supplementation on immune response and antioxidant defense parameters in healthy Korean elderly women. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28(4) : 924-933, 1999
 - 29) Miranda MS, Cintra R, Barros SM, Mancini FJ. Antioxidant activity of the microalga spirulina maxima. *Brazilian J Med Biol Res* 31: 1075-1079, 1998
 - 30) Kang NE, Kim WK. Effects of antioxidants vitamins supplementation on antioxidative status and plasma lipid profiles in Korean NIDDM patients. *Korean J Nutrition* 32(7) : 775-780, 1999
 - 31) Reaven PO, Khouw A, Beltz WF, Parthasarathy S, Witztum JL. Effect of dietary antioxidant combinations in human. Protection of LDL by vitamin E but not by beta carotene. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 13: 590-600, 1993
 - 32) Gonzalez RC, Miranda R, Diaz JC, Juarez MA. Preventive effect of spirulina maxima on the fatty liver induced by a fructose-rich diet in the rat, a preliminary report. *Life Sci* 53(1) : 57-61, 1993
 - 33) Cases J, Puig M, Caporiccio B, Baroux B, Baccou JC, Besancon P, Rouantet JM. Glutathione-related enzymic activities in rats receiving high cholesterol or standard diets supplemented with two forms of selenium. *Food Chemistry* 65: 207-211, 1999
 - 34) Huang JM, Bai SM, Hu XZ, Yang CL, Zhu DB, Shi JP. Effects of spirulina on serum lipids, erythrocyte membrane fluidity and vascular endothelial cells in tail-suspended rats. *Space Med Eng* 16(3) : 184-186, 2003