

원저

HK-1000 약침이 흰쥐의 고지혈증 및 동맥경화증에 미치는 영향

박치영 · 홍권의

대전대학교 한의과대학 침구학교실

A Study on the Effect of Herbal-acupuncture with HK-1000 Solution on Hyperlipidemia and Arteriosclerosis Induced Rats

Park Chi-Young, Hong Kwon-Eui

Dept. of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Daejeon University

ABSTRACT

Objective&Methods The purpose of this study is to observe the effects of HK-1000 Herbal-acupuncture solution at GB34(Yangleungchean) on hyperlipidemia and arteriosclerosis in rats. The author performed several experimental items to analyze the levels of various components and enzymes in serum, urine and liver, as well as the histological change of liver and aorta.

Results

1. HK-1000 herbal-acupuncture infusion increased the cell viability rate, DPPH radical scavenging activity and HMG-CoA reductase inhibition rate in rat liver cells.
2. The levels of total cholesterol, free cholesterol, LDL-cholesterol, phospholipid in serum and AI (atherogenic index) were decreased, and the ratio of HDL to TCL(HDL/TCL) and the level of TG in serum were increased as compared with those of the control group.
3. In the HK-1000 group, serum AST and ALT were significantly lower than those of the HG group and saline group.
4. Hepatic GSH and catalase activities were significantly increased as compared with those of the saline group.

Conclusions From the above results, it is suggested that HK-1000 herbal-acupuncture at GB34 has a therapeutic effect on hyperlipidemia and arteriosclerosis.

Key words *Hyperlipidemia, Arteriosclerosis, Herbal-acupuncture, HK-1000, GB34(Yangleungchean)*

I. 서론

최근 생활수준의 향상, 치료 기술의 발달 등으로 평균 수명이 과거에 비하여 연장되었으나, 다른 한편으로는 각종 스트레스, 식생활의 서구화, 운동 부족 및 음주 과다 등으로 인해 질병 패턴 또한 점차 선진국화 되어가고 있다. 특히 사회적으로 비만의 비율이 점차 증가하면서 고지혈증의 유병률이 높아지고 있으며, 죽상동맥경화증에 의한

심장 질환이 급증 추세에 있다²⁾.

동맥경화증은 동맥벽이 두터워지고 탄력성을 잃어버리는 질환들을 말하는데, 이 중 죽상동맥경화증이 임상적으로 제일 흔하다. 죽상동맥경화증은 고콜레스테롤 혈증 및 고지혈증과 밀접한 연관이 있는 것으로 알려져 있다³⁾. 한의학에서 고지혈증 및 동맥경화증은 주로 심장과 간의 기능 실조로 인한 心悸, 中風, 眩暈, 心忪 및 肝陽上亢 등의 범주에서 다루어지고 있으며, 주 요인을 痰飲, 瘀血 및 火熱

※ 교신저자 : 홍권의, 대전광역시 중구 대흥동 22-5 대전대학교 부속대전한방병원 침구과

Tel. 042-229-6816 Fax. 042-254-3403 E-mail : hkeacu@djju.ac.kr

이 연구는 2007년 대한약침학회 연구사업의 지원을 받아 수행하였음 / Received 2008.7.14, Accepted 2008.8.25

등으로 인식하고 있다^{3,4)}.

약침요법은 신침요법의 일종으로 질병에 따라 선택된 약물의 약액을 경락학설에 의하여 유관한 혈위 혹은 압통점에 주입하여 침과 약물의 병합된 효과를 통하여 생체의 기능을 조정하고 병리형태를 변화시켜 진통, 종양유발억제 등의 치료효과가 있는 것으로, 약물의 흡수가 빠르고, 경구투여가 불가능한 경우에 처치할 수 있으며, 환처에 처치할 수 있는 등의 장점이 있다^{5,6)}.

고지혈증 및 동맥경화증에 관한 실험연구로는 順氣活血湯⁷⁾, 淸神導痰湯⁸⁾, 除濕順氣湯⁹⁾ 등의 처방을 이용한 연구와, 三白草¹⁰⁾, 桑葉¹¹⁾ 등의 단미제를 이용한 연구가 있었으나 약침을 이용한 연구는 미흡한 실정이다.

이에 저자는 임상적으로 HK-1000 약침이 고지방 식이로 고지혈증 및 동맥경화증을 유발한 흰쥐에 미치는 영향을 알아보기 위하여 약침액의 독성 및 효과를 실험하고, 흰쥐의 체중 및 장기의 무게를 측정하였으며, 혈청, 뇨, 간 내효소 및 조직학적 분석을 통해 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험

1. 재료

1) 동물 및 사료

동물은 6주령의 수컷 흰쥐(200±20 g)를 (주)중앙실험동물로부터 공급받아 실험기간동안 일반 고형사료 혹은 고지방식(AIN-76A diet, USA) 사료를 매일 일정한 시간에 물과 함께 공급하였으며, 실온(22±2°C)을 유지하였다.

2) 약재

본 실험에 사용된 HK-1000은 대전대학교 부속 대전한방병원에서 구입하여 이용하였다. HK-1000의 구성은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. Composition of HK-1000

약재	생약명	용량(g)
삼백초	Saururus chinensis Baill	60
상엽	Mori Folium	60
백출	Atractylodis macrocephalae Rhizoma	30
목통	Akebiae Caulis	20
총량		170

2. 방법

1) 약침액의 제조

HK-1001의 약재를 분쇄하여 분말로 만들어, 삼각 flask에 넣고 증류수 5000 mL를 가하여 3시간 동안 shaking water bath에서 유출한 후 여과하였다. 여과액을 여과지로 3회 여과한 후, rotary evaporator에 감압농축하고 95% ethyl alcohol 30 mL를 가하여, 실온에서 교반하였다. 침전물이 생성되면 여과하여 감압농축한 후, 다시 여과하였다. 이 여과액에 85% ethyl alcohol 30 mL를 가하여 교반하고 침전물이 생성되면 여과하였다. 여과액에 75% ethyl alcohol 30 mL를 가하고 교반하여 다시 여과하는 조작을 2회 반복하였다. 여과액 중의 ethyl alcohol 성분을 rotary evaporator로 감압 제거하고, 남은 농축액이 20 mL가 되게 하였다. 1N NaOH를 이용하여 농축액을 pH 6.8이 되도록 조절하고, 4°C에서 12시간 방치한 후, 침전물을 제거하기 위해 syringe filtering을 실시하였다. 여과된 농축액에 PBS를 첨가하여 1%로 희석하여 약침액으로 사용하였다.

2) 약침액의 세포독성 검사

정상 흰쥐의 간세포 1×10⁵ cell/well에 5%, 1%, 0.5%의 HK-1001 약침액을 처리한 후 MTT assay를 이용하여, 세포 생존률을 측정하였다.

3) 약침액의 DPPH 소거능 측정

1,1-Diphenyl-2-Picryl-Hydrazyl(DPPH, Sigma, USA) 80 mg을 에탄올 50 mL과 멸균 증류수 50 mL를 첨가하여 녹였다. 96 well에 180 μL씩 분주하고, 농도별 HK-1001 약침액을 첨가 하여 30분 동안 방치하였다. 517 nm로 O.D.값을 측정하고, activity로 환산하였다.

4) 약침액의 cholesterol 생합성 저해활성 검사

흰 쥐에게 7일간 AIN-76A diet(Dyet INC., PA, USA)를 섭취시킨 후 간 내 HMG-CoA reductase를 추출 및 분리하여 5%, 1%, 2.5%, 0.1%의 HK-1001 약침액 또는 control로 사용한 DMSO 20 μL를 첨가하고 효소 반응 시작과 동시에 340 nm에서 5분간 흡광도 변화를 확인하였다.

5) 고지혈증 동물 모델

실험동물에 alloxan(150 mg/kg)을 복강투여하고 일

주일 뒤 혈액 내 총콜레스테롤 수치가 180~220 mg/dl 로 증가된 것을 확인한 후, 고지방식 사료인 AIN-76A diet를 4주간 매일 일정시간에 공급하여 고지혈증을 유발 하였다²²⁾. 사료는 4°C에서 보관하였다.

6) 취혈, 실험군 분류 및 처치

흰쥐 8마리씩을 한 군으로 하여 정상군(normal), 대조군(control), HG군(hand grasping), NP군(needle prick), saline군(saline injection), HK-1000 약침군(HK-1000)의 6군으로 나누고, 骨度分寸法에 의거하여 흰쥐의 뒷다리에서 인체의 양릉천(GB34)에 상응하는 부위를 매 시술마다 좌우 교대로 취하였다.

정상군은 실험기간동안 일반 사료를 섭취하였으며, 정상군 이외의 모든 실험군은 고지방식 사료를 섭취하였다. 대조군은 고지방식 섭취 이외에 아무런 처치도 하지 않았다. HG군은 약침처치시와 같이 흰쥐를 잡았다 놓는 동작만 하고, 이외의 처치는 하지 않았다. Saline군은 양릉천(GB34) 상응부위에 saline 0.2 mL를 주입하였다. NP군은 양릉천(GB34) 상응부위에 26 gauge 주사기를 0.5 cm 정도 깊이로 자입하고 즉시 제거하였다. HK-1000 약침군은 양릉천(GB34) 상응부위에 1%의 HK-1000 약침액 0.2 mL를 주입하였다. H.G., N.P., saline 주입, HK-1000 약침 처치는 모두 alloxan 투여 1주 이후부터 4주간 주 3회 시행하였다.

7) 고지혈증 평가

(1) 몸무게, 간무게 및 간비중 측정

실험 종료 시까지 1주일 간격으로 각 실험군의 몸무게를 측정하여 기록하였다. 간 비중은 실험 종료 시, 실험동물의 몸무게와 간 무게를 측정하여 liver index를 계산하였다.

(2) 혈청 분석

실험 종료 후, ethyl ether를 이용하여 실험동물을 마취하고, 심장 채혈 법으로 채혈한 혈액에서 혈장을 분리하여, (주)Reference laboratory(DaeJeon, Korea)에 의뢰하여 혈청 중의 total cholesterol, free cholesterol, LDL, HDL cholesterol, 중성지방, 인지질, AST, ALT, LDH, ALP를 측정하였다.

(3) 동맥경화지수 판정

Atherosclerosis index는 혈청에서 측정한 Total cholesterol과 HDL cholesterol의 값을 이용하여 계산하였다.

(Total cholesterol - HDL cholesterol)

HDL cholesterol

(4) 뇨 분석

실험 종료 시, 각 실험군의 urine을 채취하여, glucose 및 pH를 uriscan 4 hemogph(영동제약, 한국) 시험지를 사용하여 측정하고, 시험지의 기준 표를 참고하여 판정하였다.

(5) 간 내 효소 분석

① HMG-CoA reductase 활성 측정

흰 쥐의 간에서 HMG-CoA reductase를 추출 및 분리한 후 1 mL cuvette에 0.5 mM phosphate buffer (pH 7.0)와 20 mM DTT 100 μ L를 분주하고, 3 mM NADPH 100 μ L, 효소원 100 μ L를 첨가하였다. 37°C에서 10분간 preincubation을 실시하고 3 mM HMG-CoA 100 μ L를 가하여 효소 반응 시작과 동시에 340 nm에서 5분간 흡광도 변화를 확인하였다

② Glutathione, superoxide dismutase(SOD) and catalase activity

간 조직의 일부를 취하여 Bansal 등²³⁾의 방법에 의해 간 조직 1g에 4배의 150mM의 KCl을 가하여 homogenizer로 균질화하였다. 균질화한 조직을 600 \times g에서 10분간 원심분리하여 균질화되지 않은 조직 등을 제거한 후, mitochondrial fraction, cytosolic fraction, microsomal fraction을 얻었다. microsomal fraction은 kit(Dojindo, Japan)을 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정해서 glutathione의 함량을 구하였고 cytosolic fraction은 SOD assay kit(Dojindo, Japan)을 이용하여 50 nm에서 SOD activity를 측정하였다. Mitochondrial fraction은 Catalase assay kit(Oxford Biomedical Research, USA)을 이용하여 520 nm에서 Catalase의 활성을 계산하였다.

(6) 간의 조직학적 검사

간 조직을 절취하여, 10%의 formalin에 고정한다. gum-sucrose 용액에 24시간 동안 4°C에서 조직을 침수하고 액체질소로 급속 동결한 후 10 μ m의 두께로 박절한다. 100% propylene glycol 용액에서 완전 탈수하고 60°C oven에 있는 Sudan black B 용액에서 염색 후 85% propylene glycol 용액에서 감별한다. 증류수로 세척한 후, Nuclear fast red 용액으로 핵 염색을 실시한 다음 다시 세척하고 수용성 봉입제로 봉입한다. 형광현미경(ECLIPSE E600, Nikon, Japan)으로 관찰한 후, 사진

촬영하고 ACT-1 program을 이용하여 분석하였다.

(7) 동맥의 조직학적 검사

동맥을 절취하여, 10%의 formalin에 고정한다. gum-sucrose 용액에 24시간 동안 4°C에서 조직을 침수하고 액체질소로 급속 동결한 후 10 μm의 두께로 박절한다. 100% propylene glycol 용액에서 완전 탈수하고 60°C oven에 있는 oil red O 용액에서 염색한 후 85% propylene glycol 용액에서 감별한다. 증류수로 세척한 후, 1% 희석 Harris' hematoxylin 용액으로 감별 염색한 다음 다시 세척하고 수용성 봉입제로 봉입한다. 형광현미경(ECLIPSE E600, Nikon, Japan)으로 관찰한 후, 사진 촬영하고 ACT-1 program을 이용하여 분석하였다.

9) 통계처리

실험 결과는 평균 ± 표준편차로 표시하였고 SPSS 통계프로그램(12.0 KO)의 일원분산배치(ANOVA) 통계법을 사용하여 유의성을 검증하였다. 각 실험군의 결과 수치를 비교하여 신뢰도 95%이상(p<0.05)일 때 유의한 것으로 판정하였다.

III. 성적

1. 약침액의 세포독성

약침액을 처리한 군의 세포 생존률이 대조군에 비하여 현저히 증가하였으며 약침액의 농도가 감소함에 따라 농도 의존적으로 감소하였다(Fig. 1).

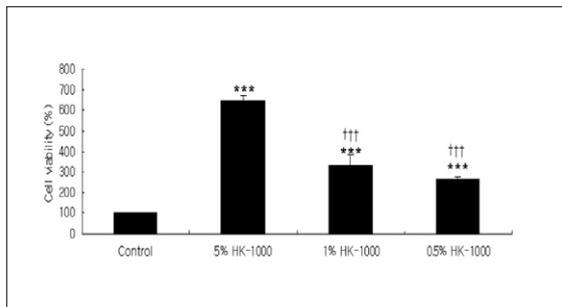


Figure 1. Cell viability rate with various concentrations of HK-1000 HAS. Values represent the means ± SEM of 3 independent experiments. ***: p<0.001 compared to control. †††: p<0.001 compared to 5% HK-1000 HAS.

2. 약침액의 DPPH 소거능

모든 농도에서 DPPH 소거능을 나타내었으며, HK-1000 약침액의 DPPH 소거능은 약침액의 농도가 감소함에 따라 농도 의존적으로 감소하였다(Fig. 2).

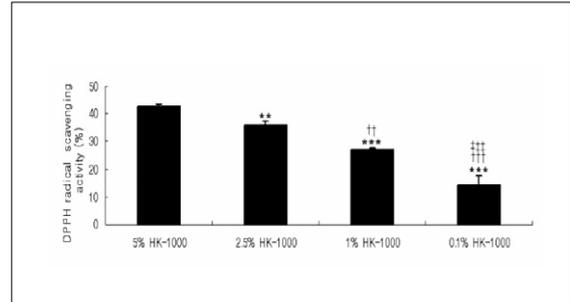


Figure 2. Effect of various concentrations of HK-1000-HAS on DPPH radical scavenging activity. Values represent the means ± SEM of 3 independent experiments. **: p<0.01, ***: p<0.001 compared to 5% HK-1000 HAS. ††: p<0.01, †††: p<0.001 compared to 2.5% HK-1000 HAS. †††: p<0.001 compared to 1% HK-1000 HAS.

3. 약침액의 HMG-CoA reductase 활성 억제

HMG-CoA reductase의 활성이 대조군에 비해 유의하게 억제되었다. HK-1000 약침액의 농도가 감소함에 따라 HMG-CoA reductase의 활성 억제는 증가하는 경향을 보였다(Fig. 3)

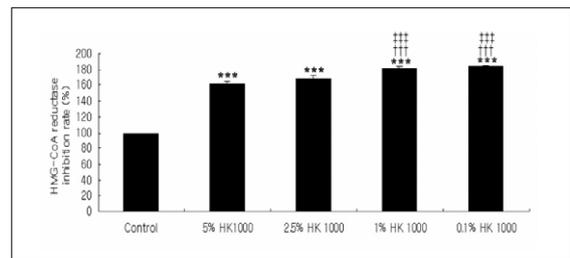


Figure 3. Hepatic HMG-CoA reductase inhibition rate of various concentrations of HK-1000-HAS ***: p<0.001 compared to 5% HK-1000 HAS. †††: p<0.001 compared to 2.5% HK-1000 HAS. †††: p<0.001 compared to 1% HK-1000 HAS.

4. 고지혈증 평가

1) 몸무게

정상군에 비해 대조군에서 현저하게 높은 몸무게가 나타났으며, HK-1000군에서 대조군에 비하여 낮은 몸무게가 나타났다(Fig. 4).

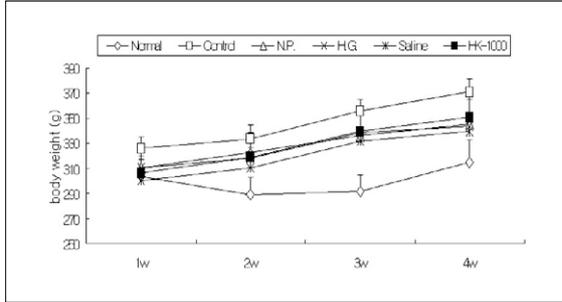


Figure 4. Effect of HK-1000 HA at GB34 on body weight in rats with hyperlipidemia. Values represent the mean \pm SD(n=8).

2) 간 무게

정상군에 비하여 대조군에서 간 무게가 유의하게 증가하였으며, HK-1000군에서 대조군에 비하여 간 무게가 감소하였으나, 통계적 유의성은 없었다(Fig. 5).

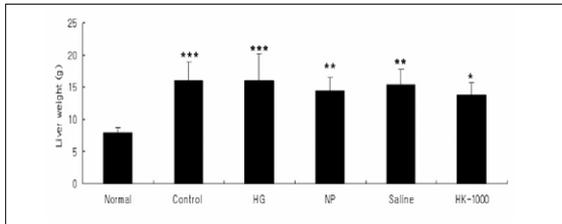


Figure 5. Effect of HK-1000 HA at GB34 on liver weight in rats with hyperlipidemia. Values represent the mean \pm SD(n=8). *: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001 compared to normal group.

3) 간 비중

정상군에 비하여 대조군에서 간 비중이 유의하게 증가하였으며, HK-1000군에 대조군에 비하여 간 비중이 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 6).

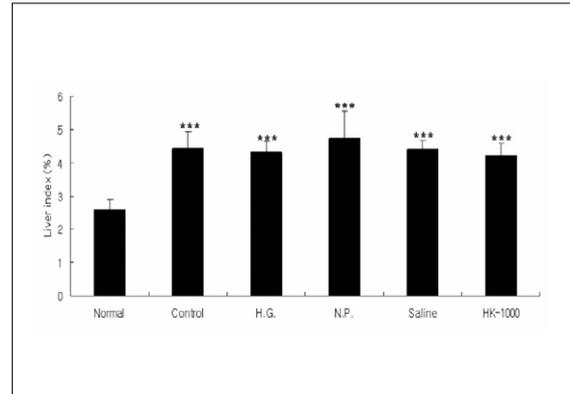


Figure 6. Effect of HK-1000 HA at GB34 on the liver index in rats with hyperlipidemia. Values represent the mean \pm SD(n=8). ***: p<0.001 compared to normal group.

5. 혈청 분석

1) 지질성분

각 실험동물의 혈청에서 지질성분인 total cholesterol, free cholesterol, HDL, LDL, triglyceride, 및 phospholipid를 측정하였다(Table 2).

Table 2. Effect of HK-1000 HA at GB34 on various components in serum of rats with hyperlipidemia.

Parameter	Normal	Control	H.G.	N.P.	Saline	HK-1000
Total cholesterol	59.2 \pm 7.694	214.4 \pm 23.093	125 \pm 13.398	105.6 \pm 9.788	130.6 \pm 38.102	109.8 \pm 18.377
Free cholesterol	3.8 \pm 2.775	19 \pm 3.162	18.6 \pm 7.57	11 \pm 2	16 \pm 4.637	12.4 \pm 3.362
HDL-cholesterol	40.6 \pm 5.497	84.2 \pm 5.11	73.2 \pm 7.121	67.92 \pm 6.736	66.724 \pm 8.75	68.44 \pm 11.501
LDL-cholesterol	8 \pm 1.871	34.4 \pm 3.362	32.75 \pm 3.961	24.8 \pm 4.324	32 \pm 2.345	27.25 \pm 1.785
Triglyceride	25.2 \pm 6.943	14.6 \pm 4.561	27.8 \pm 8.04	26.2 \pm 7.497	26 \pm 5.148	21.8 \pm 0.837
Phospholipid	95.6 \pm 6.465	137.2 \pm 15.32	133 \pm 14.265	118.8 \pm 7.95	121.8 \pm 9.783	122.8 \pm 19.79

Data were expressed as mean \pm SD(n=5)

(1) Total cholesterol

정상군에 비하여 대조군에서 혈중 total cholesterol이 유의하게 증가하였으며, HG군, NP군, saline군, HK-1000군에서 대조군에 비하여 유의하게 감소하였다.

(2) Free cholesterol

정상군에 비하여 대조군에서 혈중 free cholesterol이 유의하게 증가하였으며, NP군, saline군 및 HK-1000군에서 대조군에 비하여 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다.

(3) HDL cholesterol

정상군에 비하여 모든 실험군에서 혈중 HDL-cholesterol이 유의하게 증가하였다.

(4) HDL/Total cholesterol

정상군에 비하여 대조군에서 혈중 HDL / total cholesterol이 유의하게 감소하였으며, HG군, NP군, saline군 및 HK-1000군에서 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다.

(5) LDL cholesterol

정상군에 비하여 대조군에서 혈중 LDL cholesterol이 유의하게 증가하였으며, NP군 및 HK-1000군에서 대조군에 비하여 혈중 LDL-cholesterol이 유의하게 감소하였다.

(6) Triglyceride

정상군에 비하여 대조군에서 혈중 triglyceride가 감소하였으며, HG군, NP군, saline군 및 HK-1000군에서 대조군에 비하여 혈중 triglyceride가 증가하였으나 통계

적 유의성은 없었다.

(7) Phospholipid

정상군에 비하여 대조군에서 혈중 phospholipid가 유의하게 증가하였으며, NP군, saline군 및 HK-1000군에서 대조군에 비하여 혈중 phospholipid가 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다.

(8) 동맥경화지수(atherogenic index: AI)

정상군에 비하여 대조군에서 동맥경화지수가 유의하게 증가하였으며, NP군 및 HK-1000군에서 대조군에 비하여 동맥경화지수가 유의하게 감소하였다.

2) 효소 활성

각 실험동물의 혈청으로부터 ALP, AST, ALT, 및 LDH 농도를 측정하였다(Table 3).

(1) Alkaline phosphatase(ALP)

모든 실험군에서 혈중 ALP level에 통계적으로 유의한 차이가 나타나지 않았다.

(2) AST

정상군에 비하여 대조군, HG군 및 saline군에서 혈중 AST가 약간 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다. HK-1000군의 혈중 AST는 HG군 및 saline군에 비하여 유의하게 감소하였다.

(3) ALT

정상군에 비하여 HG군에서 혈중 ALT가 유의하게 증가하였다. HK-1000군의 혈중 ALT는 HG군 및 saline군에 비하여 유의하게 감소하였다.

Table 3. Effect of HK-1000 HA at GB34 on various enzymes in serum of rats with hyperlipidemia.

Parameter	Normal	Control	H.G.	N.P.	Saline	HK-1000
ALP	253.6 ±76.402	322.6 ±16.682	267.2 ±19.33	306.6 ±34.428	340.4 ±39.539	330.4 ±44.73
AST	344.2 ±81.3	367.6 ±110.19	392.8 ±38.713	347.6 ±65.854	426.8 ±51.183	229 ±58.116
ALT	68 ±12.43	90.6 ±19.45	150.6 ±43.24	121.2 ±35.39	148.8 ±49.93	69.8 ±18.42
LDH	1908 ±167.22	2206.8 ±199.68	2263 ±210.66	2372 ±125.11	2120.4 ±276.26	2352.2 ±193.759

(4) LDH

정상군에 비하여 NP군에서 혈중 LDH가 유의하게 증가하였으며, 다른 군에서는 통계적으로 유의한 차이가 나타나지 않았다.

6. 뇨 분석

정상군에서는 glucose에 대하여 음성반응을 나타내었으나, 대조군, HG군 및 NP군에서는 1 mg/mL이하의 양성반응을 나타내었다. Saline군과 HK-1000군에서는

glucose에 대하여 음성반응을 나타내었다. 대조군의 urine pH는 7로 정상군의 9에 비하여 낮게 나타났다. HK-1000군의 urine pH는 8.5로 나타났다(Table 4).

7. 간 내 효소 분석

분획한 간 조직으로부터 HMG-CoA reductase와 SOD activity, glutathione 농도, catalase activity를 측정하였다(Table 5).

Table 4. Effect of HK-1000 HA at GB34 on urine glucose and pH in rats with hyperlipidemia.

Parameter	Normal	Control	H.G.	N.P.	Saline	HK-1000
glucose	-	±	±	±	-	-
pH	9	7	8.5	9	9	8.5

Data were expressed as mean ± SD(n=3). Glucose; ± :1, +:2.5, ++:5, +++:10, ++++:20(mg/mL) ≤

Table 5. Effect of HK-1000 HA at GB34 on various hepatic enzymes in rats with hyperlipidemia

Parameter	Normal	Control	H.G.	N.P.	Saline	HK-1000
HMG-CoA. reductase activity (%)	54.321 ± 5.685	91.124 ± 5.685	85.185 ± 7.407	79.012 ± 8.553	94.443 ± 1.852	86.42 ± 5.658
SOD activity (%)	92.522 ± 6.148	93.439 ± 6.432	97.137 ± 5.687	91.02 ± 5.928	101.835 ± 4.96	78.176 ± 12.655
Glutathione Conc.(umol/L)	155.19 ± 15.416	118.931 ± 10.418	134.778 ± 11.338	132.125 ± 14.108	112.389 ± 8.361	162.736 ± 1.459
Catalase activity (U/mL)	176.26 ± 0.087	126.02 ± 3.007	141.267 ± 0.785	138.207 ± 4.627	128.877 ± 0.894	154.367 ± 4.437

Data were expressed as mean ± SD (n=5).

3) SOD

정상군에 비하여 대조군, HG군, NP군 및 saline군에서 SOD activity에 유의한 변화가 없었다. HK-1000군의 SOD activity는 대조군 및 saline군에 비하여 유의하게 감소하였다.

4) Catalase

정상군에 비하여 대조군에서 간내 catalase activity가 유의하게 감소하였다. HK-1000군의 catalase activity는 대조군, HG군, NP군 및 saline군에 비하여 유의하게 증가하였다.

1) HMG-CoA reductase activity

정상군에 비하여 다른 모든 군에서 간내 HMG-CoA reductase activity가 유의하게 증가하였다. HK-1000군의 HMG-CoA reductase activity는 대조군 및 saline군에 비하여 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다.

2) GSH

정상군에 비하여 대조군에서 GSH activity가 유의하게 감소하였다. HK-1000군은 대조군 및 saline군에 비하여 유의하게 증가하였다.

8. 조직학적 분석

1) 간조직

정상군에 비하여 대조군에서 흑갈색으로 착색된 부분이 조직절편 전체에서 나타났다. HK-1000군의 간조직에서는 흑갈색의 착색이 대조군에 비하여 감소하였다(Fig. 7).

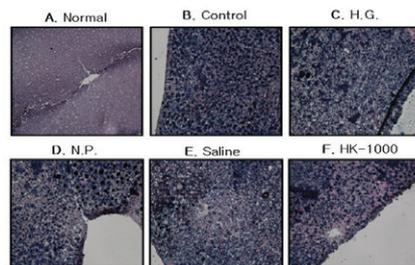


Figure 7. Histological analysis of liver in rats with hyperlipidemia(SBB stain)

2) 대동맥

정상군에 비하여 대조군에서 맥관 주변에 붉은색 착색이 현저히 증가하였다. HK-1000군에서는 붉은색의 착색이 대조군에 비하여 감소하였다(Fig. 8).

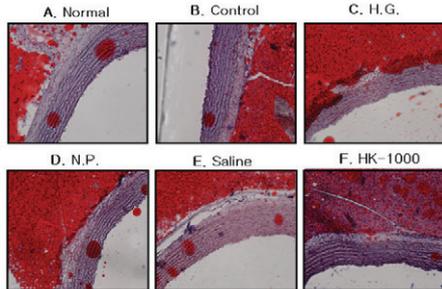


Figure 8. Histological analysis of aorta in rats with hyperlipidemia(Oil red O stain)

IV. 고찰

생활여건과 식생활의 변화로 인하여 체중증가, 음식섭취의 불균형, 정신적 긴장의 가중 등의 원인으로 고지혈증, 고혈압, 동맥경화증, 당뇨병, 비만과 같은 대사 및 순환기계통의 질병은 점차 증가하는 추세에 있다¹⁴⁾.

고지혈증은 혈액 중에 cholesterol, triglyceride, phospholipid, free fatty acid 등의 지질이 증가되어 있는 상태를 말한다. 그 중에서 cholesterol과 triglyceride의 이상이 고지혈증의 가장 일반적인 원인으로 인식되고 있다^{15,16)}.

고지혈증의 임상적 의의는 동맥경화증, 췌장염, 피부지방침착 등의 발생빈도가 높아지는 것인데, 특히 동맥경화증의 위험인자로서 중요한 의미를 갖는다¹⁷⁾.

동맥경화증은 선진국에서 사망과 장애의 가장 중요한 원인으로, 동맥벽이 두터워지고 탄력성을 잃어버리는 질환이다. 이 질환은 심근경색, 협심증, 뇌졸중, 일과성 허혈발작, 간헐적 파행, 괴저 그리고 장간막동맥 허혈 등 순환기계통의 여러 부위에 영향을 미칠 수 있다. 동맥경화증에는 여러 가지가 있는데 이 중 죽상동맥경화증이 임상적으로 제일 빈발한다. 죽상동맥경화증은 고콜레스테롤 혈증 및 고지혈증과 밀접한 연관이 있는 것으로 알려져 있다¹⁸⁾.

이에 대한 치료는 식이요법이 기본이 되며, 중증의 경우에는 약물치료 등을 병행하여야 한다. 다른 위험인자가 없는 35세미만의 남자나 폐경 전의 여자의 경우 LDL cholesterol의 농도가 220 mg/dl까지 되더라도 약물요법

은 가급적 연기하며 식이요법과 운동 등을 최대한 권장하도록 한다. 3-6개월간의 비약물요법에도 불구하고 LDL cholesterol의 농도가 190 mg/dl 이상이거나, 심혈관 질환의 위험인자가 2가지 이상이면서 LDL cholesterol의 농도가 160 mg/dl 이상인 경우 약물요법을 고려한다¹⁸⁾.

韓醫學에서는 고지혈증이란 병명은 없으나 《靈樞衛氣失常論》에서 “肥人多有膏, 有肉”라고 하여 지질과의 연관성이 있다고 보고 있으며, 張景岳은 “痰涎皆本血氣, 若失化失其正, 則臟腑病, 津液敗, 而氣血則成痰涎”이라 하여痰濁이 혈액상에 있어서 脈絡壅滯不暢하는 고로 고지혈증이痰濁으로 말미암아 血瘀에 이르게 되서 痰瘀互結 膠着脈道되어 마침내 脈痺가 되면서 중풍 등의 병을 발생할 수 있다고 보았다^{3,19)}.

약침요법은 동서의결합 신요법의 일종으로 혈위주사요법이라고도 하며, 경락학설과 약물요법에 근거하여 환자의 질병에 상응하는 수혈과 약물을 선택하고 약침액을 수혈 내에 주입하여 수혈과 약물이 질병에 대해 종합적인 작용을 발휘하여 질병을 치료하는 방법이다⁵⁾. 질병에 따라 선택된 약액을 유관한 혈위 혹은 압통점에 주입하여 침과 약물의 병합된 효과를 통하여 생체의 기능을 조정하고 병리형태를 변화시켜 진통, 종양유발억제 등의 치료효과가 있으며, 약물의 흡수가 빠르고, 경구투여가 불가능한 경우에 처치할 수 있으며, 환처에 처치할 수 있는 등의 장점이 있다^{5,6)}.

양릉천(GB34)은 筋會, 陽之陵泉이라고도 하며, 足少陽膽經의 合土穴이며 八會穴 중 筋會穴로써, 穴性是 舒筋脈, 疎經絡濕滯, 活血通脈, 強健腰腿, 膝關節痛의, 半身不隨, 痺不仁, 胸脇脹滿, 癰腫 등에 쓰이며, 瘀血, 痰飲으로 인해 발생한다고 여겨지는 고지혈증 및 동맥경화증의 치료에 임상적으로 활용할 수 있는 혈자리이다^{6,20)}.

한약복합제 HK-1000은 삼백초, 상엽, 백출, 목통으로 이루어진 처방이다. 삼백초는 三白草의 전초로 濕熱邪를 제거하고 부기를 가라앉히고 해독하는 효능이 있으며, 상엽은 뽕나무의 잎으로 風을 제거하고 열을 내리며 涼血하고 눈을 밝게 하는 효능이 있다. 백출은 白朮의 根莖으로 비위를 보익하고 습한 것을 건조하게 하며 중초를 조화시키며, 목통은 白木通 혹은 三葉木通, 木通의 목질줄기로 火를 瀉下하고 水를 통하게 하며 혈액을 通利하는 효능이 있다^{21,22)}.

이에 저자는 임상적으로 고지혈증 및 동맥경화증에 효과가 있다고 알려진 한약복합제 HK-1000 약침이 고지방식으로 고지혈증을 유발시킨 흰쥐에 미치는 영향을 알아

보기 위하여 약침액의 독성 및 효과를 실험하고, 흰쥐의 체중 및 장기의 무게를 측정하였으며, 혈청, 뇨, 간내 효소 및 조직학적 분석을 실험 관찰하였다.

흰쥐의 간세포에 HK-1000 약침액을 여러 가지 농도로 처리한 후 세포 생존률을 측정한 결과, 세포 생존률이 대조군에 비하여 현저히 증가하였으며 약침액의 농도가 감소함에 따라 농도 의존적으로 감소하여 HK-1000 약침액의 세포 증식 효과를 알 수 있었다(Fig. 1).

HK-1000 약침액을 여러 가지 농도로 희석한 후 DPPH 소거능을 측정한 결과, 모든 농도에서 DPPH 소거능을 나타내었다. DPPH 소거능은 약침액의 농도가 감소함에 따라 농도 의존적으로 감소하였다(Fig. 2). DPPH 소거능이 크면 높은 항산화 활성을 기대할 수 있으며, 항산화 능력은 항고지혈능과 관련이 있다고 알려져 있어²⁵⁾, HK-1000 약침액에 항고지혈능이 있을 것이라고 사료된다.

고지방식을 섭취한 흰쥐의 간에서 HMG-CoA reductase를 분리하여 HK-1000 약침액을 처리한 결과, HMG-CoA reductase의 활성이 대조군에 비하여 유의하게 억제되었다. 약침액의 농도가 감소함에 따라 HMG-CoA reductase의 억제 활성은 증가하는 경향을 나타내었다(Fig. 3). HMG-CoA reductase는 cholesterol 대사를 조절하는 주요 효소로서, HMG-CoA reductase 활성억제는 고cholesterol혈증과 동맥경화를 예방·치료하는데 유용한 것으로 보고있다^{24,25)}. 따라서 HK-1000 약침액은 고cholesterol혈증과 동맥경화를 예방·치료하는 효과가 있을 것으로 사료된다.

실험동물에 고지방식을 4주간 섭취하게 하면서 매주 몸무게를 측정한 결과 정상군에 비하여 대조군에서 현저하게 높은 몸무게를 나타내었으며, HK-1000군에서 대조군에 비하여 낮은 몸무게를 나타내었다(Fig. 4).

실험종료후 실험동물의 간을 적출하여 무게를 측정한 결과, 정상군에 비하여 대조군에서 간무게가 유의하게 증가하였으며, HK-1000군에서 대조군에 비하여 간무게가 감소하였으나 통계적 유의성은 없었으며(Fig. 5), 실험동물의 몸무게에 대한 간무게의 비중을 계산한 결과, 정상군에 비하여 대조군에서 간비중이 유의하게 증가하였으며, HK-1000군에서 대조군에 비하여 간비중이 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 6). 체중의 변화는 혈청지질에 영향을 미쳐 일부 보고에 의하면 체중감소군은 Triglyceride, Total cholesterol, LDL cholesterol이 감소하는 경향을 보이고 있다⁹⁾. 이상의 결과에서 HK-1000약침이 고지혈증 유발로 인한 체중, 간무게 그리고

간비중의 증가의 억제에 유효하다고 이해 할 수 있다.

혈중 total cholesterol level을 측정한 결과 정상군에 비하여 대조군에서 혈중 total cholesterol이 유의하게 증가하였으며, HG군, NP군, saline군, HK-1000군에서 대조군에 비하여 유의하게 감소하였고, free cholesterol level은 정상군에 비하여 대조군에서 유의하게 증가하였으며, NP군, saline군 및 HK-1000군에서 대조군에 비하여 감소하였으나 통계적 유의성은 나타나지 않았다. 고콜레스테롤혈증은 죽상경화의 가장 위험한 인자로 이미 널리 알려져 있고²⁶⁾, 혈중의 총 콜레스테롤 농도는 체내 지질 대사 이상의 지표로서 중요하다. 혈액 내에 필요 이상 많이 존재하게 되면 고지혈증이 유발되고 죽상 동맥경화증의 주요 원인이 된다²⁷⁾. 이상의 결과에서 HK-1000약침이 고지혈증으로 유발된 고콜레스테롤혈증의 억제에 유의한 효과를 나타낸 것으로 사료된다.

혈중 HDL-cholesterol level을 측정한 결과, 정상군에 비하여 모든 실험군에서 혈중 HDL-cholesterol이 유의하게 증가하였고, total cholesterol에 대한 HDL-cholesterol의 비를 측정한 결과, 정상군에 비하여 대조군에서 유의하게 감소하였으며, HG군, NP군, saline군 및 HK-1000군에서 대조군에 비하여 혈중 HDL/total cholesterol이 유의하게 증가하였다. 이미 기존의 연구에서 HDL은 관상동맥경화증의 주요 예방 인자로, 혈중 지표는 동맥경화성 질환예고의 중요한 지침이 된다는 사실이 알려져 있고, 관상동맥경화증, 비만, 고cholesterol혈증 및 뇌경색 등에서 수치가 저하된다는 것이 많은 논문을 통해서 보고²⁸⁻³⁰⁾ 되었다.

LDL-cholesterol level을 측정한 결과, 정상군에 비하여 대조군에서 혈중 LDL-cholesterol이 유의하게 증가하였으며, NP군 및 HK-1000군에서 대조군에 비하여 혈중 LDL-cholesterol이 유의하게 감소하였다. LDL-cholesterol의 증가는 고지혈증과 깊은 관계가 있다. LDL이 동맥벽의 내피에서 산화되어 혈관에 경화를 가져오며 세포의 이상증식을 통해 동맥경화의 원인이 되기도 한다^{27,31)}.

Triglyceride는 검사 시점, 공복의 여부, 음주 등 여러 단기적인 인자들에 의하여 영향을 받는데, 고지방식, 비만, 동맥경화증, 고지단백혈증, 당뇨병 및 지방간 등에서 증가하는 경향이 있다²⁷⁾. 고중성지방혈증인 경우 단독으로는 관상동맥의 위험인자는 아니고 LDL의 상승, HDL의 저하와 동반된 지질 이상에 이차적인 동반현상에 의해 발증한다고 보고된다³²⁾. 혈중 triglyceride level을 측정한

결과, 정상군에 비하여 대조군에서 혈중 triglyceride가 감소하였으며, HG군, NP군, saline군 및 HK-1000군에서 대조군에 비하여 혈중 triglyceride가 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다. 고cholesterol 식이 처치로 혈청 TG 함량의 감소를 보인 결과는 노 등^{33,34} 및 김 등³⁵의 실험과 일치하나, 이에 대해서는 추후 연구가 더 필요할 것으로 생각된다.

실험동물의 혈중 phospholipid level을 측정된 결과 정상군에 비하여 대조군에서 유의하게 증가하였으며, NP군, saline군 및 HK-1000군에서 대조군에 비하여 혈중 phospholipid가 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다. 동맥경화증에 있어서 phospholipid의 역할은 cholesterol 등의 용해를 높여서 동맥벽에 지질침착을 억제시키는, 항동맥경화인자의 하나이므로, Total phospholipid/Total cholesterol 比의 감소는 동맥경화 촉진의 지표로 이용된다²⁷.

혈청 total cholesterol과 HDL cholesterol의 수치를 이용하여 동맥경화지수를 계산한 결과 정상군에 비하여 대조군에서 동맥경화지수가 유의하게 증가하였으며, NP군 및 HK-1000군에서 대조군에 비하여 유의하게 감소하였다.

이상의 혈청분석 결과에서 HK-1000 약침이 고지혈증의 유발로 인해 증가하는 total cholesterol, free cholesterol, LDL-cholesterol, phospholipid, AI의 억제에 효과적이라고 사료되며, TG의 증가는 다른 지표들의 하강으로 인해 고지혈증의 악화로 판단하긴 어렵다고 생각된다.

혈청 중 ALP의 증가는 주로 골질환, 간·담도질환, 임신, 악성종양 등에서 볼 수 있다²⁷. 실험동물의 혈중 ALP level을 측정된 결과, 모든 실험군에서 통계적으로 유의한 차이가 나타나지 않았다.

혈중 AST와 ALT level을 측정된 결과 AST는 정상군에 비하여 대조군, HG군 및 saline군에서 약간 증가하였으나 통계적 유의성은 없었고, HK-1000군은 HG군 및 saline군에 비하여 유의하게 감소하였다. ALT는 정상군에 비하여 HG군에서 유의하게 증가하였고, HK-1000군은 HG군 및 saline군에 비하여 유의하게 감소하였다. AST와 ALT는 간장이나 심장 등에서 다량 존재하여, 간세포가 상해되면 혈중으로 다량 逸脫하여 혈청농도가 현저하게 상승한다⁴.

혈중 LDH level을 측정된 결과, 정상군에 비하여 NP군에서 혈중 LDH가 유의하게 증가하였으며, 다른 군에

서는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. LDH는 lactate와 pyruvate간의 가역성 산화 반응을 촉매 하는 효소로 탄수화물 대사에 관여하는 모든 장기의 세포내에 여러 가지 분자형태로 함유되어 있어 심장이나 간, 혈액 및 신장 질환 등 각종 질환에서 활성이 상승 된다²⁷.

이상의 효소 활성 분석결과에 의하면 HK-1000군이 다른 군에 비해 간보호 효과가 있다고 사료된다.

HMG-CoA reductase activity를 측정된 결과 정상군에 비하여 다른 모든 군에서 간내 HMG-CoA reductase activity가 유의하게 증가하였고, HK-1000군의 HMG-CoA reductase activity는 대조군 및 saline군에 비하여 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다. HMG-CoA reductase 활성억제는 고cholesterol혈증과 동맥경화를 예방·치료하는데 유용한 것으로 보고되어있다^{24,25}.

GSH level을 측정된 결과 정상군에 비하여 대조군에서 간내 GSH activity가 유의하게 감소하였고, HK-1000군의 GSH activity는 대조군 및 saline군에 비하여 유의하게 증가하였다. glutathione peroxidase는 glutathione을 산화시키는 과정에서 hydrogen peroxidase나 lipid peroxidase 등을 제거하는 효소이다³⁶.

SOD activity를 측정된 결과 정상군에 비하여 대조군, HG군, NP군 및 saline군에서 SOD activity에 유의한 변화가 없었고, HK-1000군의 SOD activity는 대조군 및 saline군에 비하여 유의하게 감소하였다. SOD는 활성 산소 scavenger로서 산소의 대사과정에서 가장 먼저 생성되는 superoxide anion radical($\cdot O_2^-$)을 제거하는 효소로 2분자의 O_2^- 를 반응시켜 O_2 와 H_2O_2 로 변화시킨다³⁷.

Catalase activity를 측정된 결과 정상군에 비하여 대조군에서 유의하게 감소하였고, HK-1000군의 catalase activity는 대조군, HG군, NP군 및 saline군에 비하여 유의하게 증가하였다. Catalase는 세포내에서 대사 산물인 H_2O_2 를 인체에 무해한 H_2O 와 O_2 로 분해하는 세포방어제 2항산화효소로서 생체에 유해한 활성산소를 효율적으로 제거한다³⁸.

이상의 간 내 효소 분석 결과에서 HK-1000 약침군이 대조군에 비해서 GSH와 catalase activity가 유의하게 증가하였고, HMG-CoA reductase activity는 감소하였으나 유의성은 없었다.

실험동물의 간조직을 염색한 결과 정상군에 비하여 대조군에서 흑갈색으로 착색된 부분이 조직절편 전체에서 관찰되었고, HK-1000군의 간조직에서는 흑갈색의 착색

이 대조군에 비하여 감소하였다(Fig. 7). 또한 대동맥 절편을 염색한 결과 정상군에 비하여 대조군에서 맥관 주변에 붉은색 착색이 현저히 증가하였고, HK-1000군에서는 붉은색의 착색이 대조군에 비하여 감소하였다(Fig. 8). 조직학적 분석에서 HK-1000 약침군이 대조군에 비해 정상군에 가까운 소견을 보였는데, 이는 HK-1000 약침이 고지혈증으로 인한 간조직 손상 억제 효과와 동맥경화 억제 효과가 있는 것으로 사료된다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때, 한약복합제인 HK-1000 약침은 고지방사료로 고지혈증 및 동맥경화증을 유발시킨 흰쥐의 고지혈증 및 동맥경화증의 치료에 효과가 있는 것으로 사료되며, 추후 고지혈증 및 동맥경화증에 대한 임상적인 응용이 가능할 것으로 생각된다.

V. 결론

양릉천에 시술한 HK-1000 약침이 고지방 식이로 유발된 rat의 고지혈증에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 혈청, 뇨, 간내 효소 분석 및 조직학적 분석을 통해 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. HK-1000 약침액은 유효한 DPPH 소거능과 HMG-CoA reductase 저해효능을 나타내었다.

2. HK-1000 약침군에서 대조군에 비해 혈청내 total cholesterol, free cholesterol, LDL-cholesterol, phospholipid, AI가 감소하였고, HDL-cholesterol, HDL/total cholesterol, TG가 증가하였다.

3. HK-1000 약침군의 혈청 AST와 ALT는 HG군과 saline군에 비해 유의하게 감소하였다.

4. HK-1000 약침군에서 대조군에 비해 간내 GSH activity와 catalase activity가 유의하게 증가하였다.

VI. 참고 문헌

1. 박영배 : 고지혈증, Medical Postgraduates, 31:160-165, 2003.
2. 보건복지부 : 국민건강영양조사,

<http://www.mohw.go.kr/user.tdf>, 2006.

3. 전국한외과대학 심계내과학교실 : 東醫心系內科學, 서울, 書苑堂, pp.209-214, 2001.
4. 전국한외과대학 간계내과학교수 : 간계내과학, 동양의학연구원출판부, pp.214-215, 1995.
5. 대한약침학회 : 약침제재와 임상응용, 서울, 대한약침학회, pp.1-5, 1997.
6. 전국한외과대학 침구경혈학교실 : 침구학, 서울, 집문당, pp.648-649, 1457-1467, 2000.
7. 이기서, 강탁림, 낭궁옥, 김동희 : 順氣活血湯이 高脂血症에 미치는 影響, 대전대학교 한의학연구소 논문집, 13(2):97-108, 2004.
8. 이원구, 이용구, 남궁옥, 김동희 : 淸神導痰湯이 食餌性 高脂血症 動物 病態에 미치는 影響, 대전대학교 한의학연구소 논문집, 13(2):109-123, 2004.
9. 김정현 : 除濕順氣湯이 高脂血症 病態 모델에 미치는 影響, 대한한방내과학회지, 27(1):16-26, 2006.
10. 김한수 : 삼백초 열수추출액 섭취가 고지혈증 흰쥐의 생체 내 지질성분 및 대사효소활성에 미치는 영향, 운동영양학회지, 10(2):99-106, 2006.
11. 임현정, 조금호, 조여원 : 고지혈증 환자에서 의학영양치료와 병행하여 섭취한 기능성차(상엽, 구기자, 국화, 대추, 참깨, 나복자)의 혈중 지질 농도 저하 및 항산화 효과, 한국식품영양과학회지, 34(1):42-56, 2005.
12. Xie W, Wang W, Su H, Xing D, Cai G, Du L : Hypolipidemic mechanisms of Ananas comosus L. leaves in mice: different from fibrates but similar to statins, J pharmacol Sci 103:267-274, 2007.
13. Bansal VS, Kanfer JN: The phospholipid-N-methyltransferase of rat brain microsomes, Biochim Biophys Acta, 836(1):73-79, 1985.
14. 徐舜圭 : 成人病·老人病學, 서울 : 高麗醫學, 1992:27, 38-53.
15. 서울대학교 의과대학출판부 : 내분비학, 서울, 서울대학교 의과대학, p.261, 2005.
16. 유언호 : 고지혈증과 동맥경화, 한국지질동맥경화학회, p11, 83, 135, 2003.
17. 杜鎬京 : 東醫腎系學(下), pp.995-1005, 서울, 東洋醫學研究院, 1991.
18. 신현호 : 고지혈증의 약물요법. 한국지질학회 제1차 동맥경화와 고지혈증 Workshop, pp.41-49, 1994.
19. 鄭遇悅, 安圭錫 : 韓方臨床病理學, 初版, 서울, 永林

- 社, p.545, 1998.
20. 안점우, 유윤조, 김정연 : 족삼리와 양릉천의 침, 전침과 경혈단위 전침기구 자극이 혈중 Gastrin 농도에 미치는 영향, 대한침구학회지, 21(3):179-191, 2004.
 21. 중약대사전 편찬위원회 : 완역 중약대사전, 서울, 정담, pp.1379-1348, 1707-1717, 2124-2125, 2175-2179, 1997.
 22. 전국한의과대학 본초학교실 : 본초학, 서울, 영림사, pp.145-146, 315-316, 536-537, 2000.
 23. 이경민, 서정철, 한상원 : 黃耆藥鍼液의 NO, DPPH 消去 및 IL-4 抑制效果, 대한침구학회지, 20(2):184-194, 2003.
 24. LEE, M. K., Moon, S. S., Lee, S. E., Bok, S. H., Jeong, T. S., Park, Y. B., Choi, M. S. : Naringenin 7-Ocetyl ether as inhibitor of HMG-CoA reductase and modulator of plasma and hepatic lipids in high cholesterol-fed rats. *Bioorganic and medicinal chemistry*, 11:393-398, 2003.
 25. Bocan, T. M., Mueller, S. B., Brown, E. Q., Lee, P., Bocan, M. J., Rea, T., Pape, M. E. : HMG-CoA reductase and ACAT inhibitors act synergistically to lower plasma cholesterol and limit atherosclerotic lesion development in the cholesterol-fed rabbit. *Atherosclerosis*, 139:21-30, 1998.
 26. Martin MJ. : Serum cholesterol, blood pressure, and mortality: implications from a cohort of 361662 men. *Lancet*, 2:933-939, 1986.
 27. 이삼열, 정운섭, 권오녕, 손경순 : 임상병리검사법, 서울, 연세대학교 출판부, pp.273-276, 281-283, 303-315, 2001.
 28. 안용호 : 高血壓 및 高體重者에서의 혈청 Total cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride와 LDL-cholesterol의 相關性에 관한 研究, 중앙대학교 석사학위논문, 1987.
 29. Berard AM., Foger B., Remaley A., Shamburek R., Vaisman BL., Talley G., Paigen B, Hoyt RF Jr, Marcovina S., Brewer HB jr., Santamarina-Fojo S. High plasma HDL concentrations associated with enhanced atherosclerosis in transgenic mice overexpressing lecithin-cholesterol acyltransferase. *Nat Med*. 3:744-749, 1997.
 30. Jurgens G., Taddei-Peters WC., Koltringer P., Petek W., Chen Q., Greilberger J., Macomber PF., Butman BT., Stead AG., Ransom JH. Lipoprotein(a) serum concentration and apolipoprotein(a) phenotype correlate with severity and presence of ischemic cerebrovascular disease. *Stroke*. 26:1841-1848, 1995..
 31. Cristopher, KG and Joseph, IW : Atherosclerosis : The road ahead. *Cell* 104:503-516, 2001.
 32. Anber V, Griffin BA, McConnel M, Packard CJ, Shepherd J. Role of plasma triglyceride in the regulation of plasma lowdensity lipoprotein (LDL) subfractions: relative contribution of small, dense LDL to coronary heart disease risk, *Atherosclerosis*, 106:241-253, 1994.
 33. 노환성, 김운자, 박건구, 조영환, 박형섭 : 고지혈증 동물 모델 설정을 위한 식이처방의 실험적 연구, 약제학회지, 24(4):297-300, 1994.
 34. 노환성, 고우경, 김운자, 박건구, 조영환, 박형섭 : 고지혈증 랫트를 이용한 수종 전통 한약제의 항고지혈 효과, 임상약학회지, 5(2):61-69, 1995.
 35. 김남재, 정은아, 김동현, 이상인 : 한방약물로부터 항고지혈증 치료약물개발(2) - 수종 한약제의 항고지혈증 효과-, 생약학회지, 31(2):190-195, 2000.
 36. Ozturk O, Gumuslu S. Changes in glucose-6-phosphate dehydrogenase. copper. zinc-superoxide dismutase and catalase activities. glutathione and its metabolizing enzymes. and lipid peroxidation in rat erythrocytes with age. *Experimental gerontology*. 39(2):211-216, 2004.
 37. 최우석, 강석봉 : 玄菟固本丸이 노화유발 백서의 항산화능에 미치는 영향, 大韓韓方內科學會誌, 25(4):147-157, 2004.
 38. Kim, S. M., Cho, Y. S. and Sung, S. K. : The antioxidant and nitrite scavenging ability of waste resource(crop shell, sesame meal, korean tangrin peel) extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*. 30:589-593, 2001.