

콜레스테롤 식이와 운동이 흰쥐의 체내 지질수준, 혈소판 응집 및 적혈구막 Na 유출에 미치는 영향

강민숙* · 김영표** · 강영희*** · 강정숙*§

제주대학교 자연과학대학 식품영양학과,* 제주대학교 체육학부,** 한림대학교 식품영양학과***

Effects of Cholesterol Diet and Exercise on Plasma and Liver Lipids, Platelet Aggregation and Erythrocyte Na Efflux in Rats

Kang, Min Sook* · Kim, Young Pyo** · Kang, Young Hee*** · Kang, Jung Sook*§

Department of Food & Nutrition Science,* College of Natural Sciences, Cheju National University, Jeju 692-756, Korea

Division of Exercise & Sports Science,** Cheju National University, Jeju 692-756, Korea

Division of Life Sciences and Institute of Environment and Life Science,*** Hallym University, Chuncheon 200-702, Korea

ABSTRACT

Present study was conducted to investigate the effects of exercise and cholesterol diet on plasma and liver lipids, platelet aggregation, erythrocyte Na efflux and liver index such as GOT and GPT using Sprague Dawley rats. Forty rats were divided into four groups and fed control or 0.5% cholesterol diet with and without treadmill for six weeks. The final body weight of group fed cholesterol diet with exercise was somewhat decreased compared with group fed cholesterol diet without exercise. L.W/B.W ratio was significantly increased in groups fed cholesterol diet ($p < 0.01$), but exercise tended to decrease this ratio. Plasma total cholesterol was significantly increased and HDL-cholesterol was decreased in groups fed cholesterol diet ($p < 0.01$). Plasma triglyceride was significantly decreased in groups fed cholesterol diet compared with groups fed control diet ($p < 0.01$). Plasma triglyceride of groups with exercise was significantly decreased compared with their non exercising counterparts regardless diet ($p < 0.05$). Liver total cholesterol and triglyceride was significantly increased in groups fed cholesterol diet ($p < 0.01$), but exercise did not affect on these levels. Na-K ATPase was somewhat decreased in groups fed cholesterol diet, and exercise tended to recover the reduced Na-K ATPase. Na passive transport was significantly decreased in group fed control diet without exercise and significantly increased in group fed cholesterol diet with exercise, there were significant differences between groups ($p < 0.05$). There were no differences in total Na efflux and intracellular Na among groups, and total Na efflux was not correlated with intracellular Na. Hematocrit was significantly lower ($p < 0.05$) in group fed cholesterol diet without exercise compared with other groups. Platelet aggregation in the initial slope and the maximum was increased in groups fed cholesterol diet, but not statistically significant. Exercise especially increased the initial slope of aggregation. Plasma GOT and GPT was significantly increased in groups fed cholesterol diet ($p < 0.01$), and exercise in group fed cholesterol diet significantly decreased both GOT and GPT compared with the non exercising counterpart ($p < 0.01$). This study showed that cholesterol diet increases plasma and liver lipids and GOT and GPT, and exercise improves plasma and liver lipid profile and liver index of GOT and GPT preventing fatty liver. (Korean J Nutr 2008; 41(5): 381~390)

KEY WORDS: cholesterol supplemented diet, exercise, plasma and liver lipids, platelet aggregation, erythrocyte Na efflux, GOT/GPT.

서 론

오늘날 우리사회는 경제수준의 향상으로 식생활이 풍요

로워지고 과학기술의 발달로 일상생활이 편리해짐에 따라 영양과잉과 활동량 부족이라는 결과가 나타나게 되었으며, 이는 과체중이나 비만 인구의 증가로 이어지고 있다. 비만은 심혈관계 질환, 당뇨병 및 특정 암의 발병율과 밀접하게 연관되어 있으며, 운동을 규칙적으로 하는 경우 운동을 하지 않는 사람들에 비해 비만 또는 심혈관계 질환의 발병률이 더 낮다는 사실은 이미 잘 알려져 있다. 운동은 지난

접수일 : 2008년 3월 14일 / 수정일 : 2008년 3월 28일

채택일 : 2008년 7월 14일

§To whom correspondence should be addressed.

E-mail : jungkang@cheju.ac.kr

수십년간 건강을 증진시키는 방편으로 선호되어 왔으며, 특히 규칙적인 운동이 체지방 함량 및 혈중 지질 농도에 미치는 효과에 관한 연구가 꾸준히 진행되어 왔다. STRRIDE (Studies for a Targeted Risk Reduction Intervention through Defined Exercise) 연구에서 Johnson 등¹⁾은 규칙적이고 꾸준한 운동은 복부 지방량을 감소하고 대사증후군과 심순환계의 fitness를 향상시킨다고 보고하였다. 규칙적인 유산소 운동은 혈청 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 및 중성지방의 함량을 저하시키고, HDL-콜레스테롤 함량을 높임으로써 순환기계 질환을 예방할 수 있다고 한다.²⁾ Kelly 등³⁾의 meta-analysis에서 에어로빅 운동은 특히 여성에 있어서 총콜레스테롤과 중성지방은 감소시키고 HDL-콜레스테롤을 증가시킨다. Atena 등⁴⁾ 또한 4주간의 에어로빅 트레이닝 (VO₂max 60%)은 총콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤을 감소시키고 LDL-particle size 및 HDL-콜레스테롤을 증가시킨다. 반면 Kishali 등⁵⁾은 국가대표 레슬러를 일반인과 비교했을 때 중성지방을 비롯한 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, HDL-콜레스테롤에 큰 차이를 볼 수 없었고, 청소년을 상대로 체중 킬로그램당 140 kcal 초과 열량을 소모하는 주 3회, 12주간의 에어로빅 운동은 혈중 지방과 지단백에 큰 변화를 보이지 않았다.⁶⁾ 이처럼 대상자의 나이와 건강상태, 운동강도와 지속성에 따라 혈중 지질에 대한 운동효과는 다르게 나타나고 있다.

한편 관상동맥의 경화는 혈전과 밀접한 관련이 있다고 알려져 있는데, 동맥경화로 인한 손상 부위는 거의 동맥혈전이 있었던 위치에서 발견되고 있으며, 혈소판이나 혈전이 동맥경화의 plaque 형성에 관여한다는 것은 여러 연구에서 제시된 바 있다.^{7,8)} 운동이 심혈관 질환을 감소시키는 기전은 아직까지 분명하진 않지만, 여러 선행 연구에서 운동으로 항응고 과정이 활성화되고 혈액을 응고시키는 섬유소원 (fibrinogen) 저하와 항응고 성분 상승^{9,10)}과 함께 혈소판의 응집성이 감소하였다는 보고가 있다.¹¹⁾

순환기계통 질환 중에서 발생빈도가 높은 고혈압은 연령이 증가함에 따라 유병률이 같이 증가하고 있는 질환으로 비약물적 요법으로 식이요법과 더불어 운동의 효율성에 많은 관심이 집중되고 있다. 한편, 세포내 Na 분포량의 변동이 고혈압 유발기전에 관여될 수 있음이 시사되어 왔는데,¹²⁾ 세포내 Na량이 증가하게 되면 세포의 용적변동, 세포막 전압의 변동 또는 세포막 Ca⁺⁺량의 증가 등을 초래할 수 있고, 이러한 변동들이 혈관내 혈액 유통에 대한 저항성을 증가시키거나 혈관의 수축성을 증가시킴으로써 혈압을 상승시킬 수 있음을 추측할 수 있다. 사람의 적혈구 세포에서 Na⁺ 이동은 Na-K ATPase, Na-K cotransport와 Na-Li coun-

ter transport 및 Na-passive transport 기전 등에 의해서 이루어지는데, 특히 Na-pump라 불리는 Na-K ATPase의 활성은 고혈압, 당뇨병, 요독증, 고콜레스테롤혈증, 심장병과 같은 질환의 병리적 부속인자로서 연구의 지표로 이용되고 있다.¹³⁾ 최근 운동에 의한 fitness의 향상에 관한 연구로서 운동선수나 동물을 모델로 혈압의 변화 및 근육이나 적혈구막의 Na-K ATPase 활성을 조사함으로써 운동과의 상관성에 관한 많은 연구 보고^{14,30,34)}가 있다.

운동이 여러 성인병 유발 인자들에 다양한 영향을 미침으로써 순환기계 질환의 예방법으로 운동처방이 관심의 대상이 되고 있으나 최근 동물성식품 섭취증가로 인한 고지혈, 고콜레스테롤 혈증의 여건하에서 운동이 심순환 질환의 예방에 어떤 효과를 주는지에 대해서 아직 확실한 결론을 내리기 어렵다. 본 연구에서는 고콜레스테롤 식이하에서 운동이 심순환기 질환의 지표에 어떤 긍정적인 효과를 주는 지 조사하고자 0.5%의 콜레스테롤식이 급여와 함께 하루 1시간의 중등강도 (VO₂max 60~70%, 15 m/min) 유산소 운동이 Sprague Dawley 쥐의 혈장과 간의 콜레스테롤과 중성지방 수준, 혈소판 응집성, 적혈구막에서의 Na 유출 및 간기능 지표로서 GPT, GOT 수준에 미치는 영향을 관찰하였다.

재료 및 방법

실험동물의 식이, 사육 및 시료채취

생후 12주 된 370 g 전후의 Sprague Dawley 수컷 40 마리를 대조군식이의 비운동군과 운동군, 콜레스테롤식이의 비운동군과 운동군 등 4개 실험군으로 나누어 AIN-76를 근거한 대조군식이 또는 0.5% cholesterol과 0.2% cholate를 함유한 콜레스테롤식이 (Table 1)로 운동과 병행하며 6주간 사육하였다. 운동군의 쥐들은 트레드밀에서 처음에 5 m/min에서 10분 정도로 시작하여 VO₂max (최대산소섭취량)의 60~70%에 해당하는 15 m/min,¹⁵⁾ 30분까지 운동 강도와 시간을 서서히 증가시키면서 일주일간 적응기간을 둔 후, 본 실험에서는 15 m/min으로 일주일에 5회 (60분/1회)를 실시하였는데 운동 시 흰쥐의 스트레스 및 부상 방지를 위해 전기 자극은 사용하지 않았다. 쥐들은 12시간 명암주기와 온도와 습도가 조절되는 사육실에서 각기 stainless steel cage에서 사육되었으며, 물과 식이는 자유로이 공급되었다. 사양기간동안 이틀간격으로 식이 섭취량, 체중변화를 기록하였다. 실험식이 6주 때 쥐들을 12시간 절식한 후 cardiac puncture에 의해 heparin 처리된 전혈 (whole blood)을 채취하였다. 간은 바로 적출하여 거름중

Table 1. Composition of experimental diets (%)

Ingredient	Control	Cholesterol
Casein ^{a)}	20.0	20.0
L-methionine ^{a)}	0.3	0.3
Lard ^{b)}	9.0	9.0
Soybean Oil ^{c)}	1.0	1.0
Choline chloride ^{d)}	0.2	0.2
Vitamin mix ^{e)}	1.0	1.0
Mineral mix ^{f)}	3.5	3.5
Sucrose ^{e)}	20.0	20.0
Corn starch ^{g)}	40.0	39.3
Cellulose ^{h)}	5.0	5.0
Cholesterol ^{h)}	-	0.5
Cholic acid ^{h)}	-	0.2
Total (%)	100.0	100.0

a) Teklad, Harlan Madison WI, USA, b) Samlip Yugi Co, c) Jeil Jedang Co. d) Junsei Chemical Co., Ltd, e) Vitamin mixture (mg/100 g): 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 mixtuer (g/100 g): CaHPO₄ 50.0, NaCl 7.4, K₂C₆H₅O₇ · H₂O 22.0, K₂SO₄ 5.2, MgO 2.4, Manganous carbonate (43-48% Mn) 0.35, Ferric citrate (16.7% Fe) 0.6, Zinc carbonate (70% Zn) 0.16, Cupric carbonate (53-55% Cu) 0.03, KIO₃ 0.001, Na₂SeO₃ · 5H₂O 0.001, CrK (SO₄)₂ · 12H₂O 0.055, Sucrose 11.804. g) Samyang Genex Co. h) Sigma Chemical Co., USA

이로 표면의 혈액을 제거하여 무게를 측정한 후, 콜레스테롤과 중성지방 분석을 위해 분리된 혈청과 함께 -20°C 냉동고에 보관되었다.

혈소판 응집성

혈액 0.25 ml를 생리식염수로 희석하여 (1 : 4) 혈소판이 대략 200,000/μl로 조정한 후 ADP (2 μM)을 첨가하여 응집을 유도하였고, 3회 반복한 평균치를 사용하였다. 혈소판 응집은 whole blood platelet aggregation을 측정하는 impedance 방법으로, 혈소판의 응집에 따라 형성되는 두 전극간의 저항 (ohm)의 증가로 나타나는데 Chronolog aggregometer (model 500, Havertown PA, USA)를 사용하여 측정하였다.

적혈구막의 Na efflux

적혈구 용액의 준비

혈액을 1,000 × g에서 10분간 원심 분리하여 plasma와 buffy coat를 걷어낸 후 적혈구를 5배의 cold isotonic choline chloride washing solution (CWS) [150 mM choline chloride, 10 mM Tris-4-morpholinopropane sulfonic acid (MOPS) 4°C pH7.4]를 넣고 천천히 섞어 원심 분리하는 과정을 5회 반복하여 씻어주었다. 적혈구를 다시 CWS로 희석하여 hematocrit 40~50%의 적혈구 용액이 되게 조

정한 후 hematocrit을 측정하였다. 적혈구 용액 50 μl를 5 ml의 0.02% acationox (metal free detergent, Scientific Product, USA) 넣은 것으로 intracellular Na을 측정하였다.

Na efflux

Na-K ATPase: 준비된 적혈구 용액 4 ml을 40 ml의 medium 1 (70 mM MgCl₂, 10 mM KCl, 85 mM sucrose, 10 mM glucose, 10 mM Tris-MOPS, pH7.4 at 37°C)과 40 ml의 medium 2 (medium 1 plus 1 mM ouabain)에 넣고, 12 tubes에 할당하여 duplicate tube를 0, 2, 4, 6, 8, 10분간 37°C shaking 수조에서 배양한 후 얼음으로 옮겨 efflux를 중단시켰다. 각 tube들을 원심분리하여 윗층을 다른 tube에 옮긴 후 그 efflux된 Na 농도를 원자분광계로 측정하였다. Na-K ATPase는 medium 1과 medium 2의 Na 농도값의 차이이다.

Na-K cotransport: 준비된 적혈구용액 2 ml을 40 ml의 medium 3 (150 mM choline chloride, 10 mM glucose, 1 mM ouabain, 10 mM Tris-MOPS pH7.4 at 37°C)과 40 ml의 medium 4 (medium 3 plus 1 mM furosemide)에 넣고, 12 tubes에 할당하여 duplicate tube를 0, 10, 20, 30, 40, 50분간 배양 후, 위와 마찬가지로 Na 농도를 얻었다. Na-K cotransport은 medium 3과 medium 4의 Na 농도값의 차이이다.

Na-passive transport: Ouabain과 furosemide에 의해 Na-K ATPase와 Na-K cotransport를 각각 차단한 상태에서 efflux된 Na량으로 medium 4의 Na 농도값에 해당된다.

Na efflux 계산: Medium 40 ml에 4 ml 적혈구용액을 사용한 Na-K ATPase의 경우, 읽혀진 각 tube의 Na농도로부터 Na efflux 기울기 [$\mu\text{g}/(\text{ml} \times \text{min})$]를 구하여 다음의 계산식으로부터 구하였다.¹⁶⁾

$$\begin{aligned} & \mu\text{g}/(\text{ml} \times \text{min}) \times 60 \text{ min} \times \mu\text{mole}/23 \mu\text{g} \times \\ & [44 \text{ ml} - (4 \text{ ml} \times \text{hct}) / (4 \text{ ml} \times \text{hct})] \\ & = \mu\text{mole}/\text{ml rbc}/\text{hour} \text{ (mmole}/\text{l rbc}/\text{hour}) \end{aligned}$$

Acationox용액 5 ml로 희석된 50 μl적혈구 용액의 intracellular Na 농도값은 $\mu\text{g}/(\text{ml} \times \text{min}) \times 60 \text{ min} \times \mu\text{mol}/23 \mu\text{g} \times 101/\text{hct} = \mu\text{mole}/\text{ml rbc} \text{ (mmole}/\text{l rbc})$

혈청의 지질함량 분석

혈청내 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, 그리고 중성지방의 성분정량분석에는 Enzyme assay kit (Asan pharmaceutical Co., Ltd, Korea)을 사용하였다. 총 콜레스테롤과 중성지방 분석에는 혈청 10 μl을 사용하였고, HDL-콜레스테롤의 분석에는 200 μl을 사용하여 두 반복으로 진행하

었다. HDL-콜레스테롤은 분리시액 200 μ l를 넣고 vortex 하여, 10분 방치한 것을 1,000 \times g에서 10분간 원심 분리 한 후 상층액 50 μ l를 가지고 분석하였다. 각각 Color reagent를 1.5 ml씩 넣은 후 37 $^{\circ}$ C water bath에서 총콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤은 5분간, 중성지방은 10분간 배양하여 발색시켰다. 총 콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤은 500 nm에서, 그리고 중성지방은 550 nm에서 spectrophotometer로 흡광도를 측정하였다.

간의 지질함량 분석

간 시료의 콜레스테롤과 중성지방의 추출은 Folch 등¹⁷⁾의 방법을 다소 수정한 것으로, 간 조직 1 g을 6 ml chloroform/methanol mixture (2 : 1, v/v)와 2 ml 증류수를 넣어 균질화한 후 3,000 \times g에서 원심분리하였다. 하층액 500 μ l을 취하여 clean bench에서 자연 건조한 후, 여기에 50 μ l Triton X-100/chloroform mixture (1 : 1, v/v)와 450 μ l chloroform을 넣어서 500 μ l로 만들어 가볍게 흔들어서 내용물을 용해시켰다. 이 중 20~50 μ l을 취하여 chloroform을 휘발시킨 후 Asan kit을 사용하여 간의 콜레스테롤을 측정하였다. 간 중성지방은 하층액 20~50 μ l를 취하여 chloroform을 휘발시킨 후 50 μ l 메탄올을 넣고 용해시켜 Asan kit을 사용하여 측정하였다.

GPT와 GOT 수준 측정

혈장 GPT와 GOT 수준은 37 $^{\circ}$ C에서 3분간 예열된 각각의 효소시약 (STANBIO Laboratory., USA) 1 ml에 0.1 ml 시료를 넣고 1분간 배양한 후, 340 nm에서 증류수로 auto-zero로 맞춘 혈액 자동 분석 장치 (Ch 100 plus, Dae kwang meditech, Co., Ltd, Korea)로 측정하였다.

통계처리방법

본 실험의 결과는 평균 (mean)과 표준편차 (SD, standard deviation)로 표시하였고, 각 실험군간의 비교는 two-way ANOVA를 이용하여 분석한 후, p < 0.05 수준에서

Duncan's multiple range test에 의해 각 식이에 따른 처리구 간의 유의성을 검증하였다.

결 과

체중증가량, 식이섭취량 및 간/체중 무게비

본 실험에서 식이가 최종체중이나 증체율에 영향을 주지 않았고 운동수행에 의해 다소 억제되는 경향이 있었으나 유의적인 차이는 없었다. 간/체중 무게비는 콜레스테롤 섭취에 의해 유의적으로 높아졌으나 (p < 0.01), 운동에 의한 효과는 없었다 (Table 2).

혈장과 간의 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 및 중성지방 수준

콜레스테롤 첨가식이와 운동이 혈장과 간의 콜레스테롤 및 중성지방의 수준에 미치는 효과가 Table 3에 나타나 있다. 콜레스테롤 첨가식은 혈장 총콜레스테롤을 유의적으로 증가시킨 반면 (p < 0.01), HDL-콜레스테롤은 유의적으로 감소시켰다 (p < 0.01). 본 실험에서 대조군식이나 콜레스테롤식이에 있어서 비운동군과 운동군을 비교했을 때 운동이 혈중 총 콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤 수준에 영향을 주지 못했다. 혈중 중성지방 농도는 대조군 식이군보다 오히려 콜레스테롤 식이군에서 유의적으로 낮았다 (p < 0.001). 혈중 중성지방에 대한 운동 수행효과를 비교했을 때 대조군식이의 운동군이 유의적으로 감소하였고 (p < 0.01), 콜레스테롤군에 비해 콜레스테롤-운동군 또한 유의적으로 감소한 것으로 나타났다 (p < 0.05).

간의 콜레스테롤 수준은 콜레스테롤식이를 섭취한 비운동군이나 운동군이 대조군식이의 비운동군이나 운동군에 비해 각각 유의적으로 증가하였고 (p < 0.0001), 간 중성지방 또한 운동과 상관없이 콜레스테롤식이의 실험군이 유의적으로 높았다 (p < 0.0001). 간의 콜레스테롤이나 중성지방에 있어서 대조군식이나 콜레스테롤식이 모두 운동수행에 의한 효과는 없었다.

Table 2. Effects of cholesterol diet and exercise on growth rate and feed intake

	Control diet		Cholesterol diet		p-value		
	Non-exercise	Exercise	Non-exercise	Exercise	Diet	Exercise	Diet \times Exe
Initial B.W (g) ¹⁾	367.0 \pm 34.2	366.7 \pm 21.5	367.1 \pm 24.8	367.0 \pm 11.4			
Final B.W (g)	463.9 \pm 57.6	456.7 \pm 23.1	470.6 \pm 35.0	454.7 \pm 31.9	0.8130	0.1664	0.5973
ADG ²⁾ (g/d)	2.2 \pm 0.7	2.1 \pm 0.3	2.3 \pm 0.5	2.0 \pm 0.6	0.8304	0.1752	0.6485
ADFI ³⁾ (g/d)	22.8 \pm 2.9	22.4 \pm 0.9	21.9 \pm 2.1	22.1 \pm 1.1	0.3354	0.8957	0.6918
F.E.R ⁴⁾	0.10 \pm 0.02	0.09 \pm 0.02	0.11 \pm 0.02	0.09 \pm 0.02	0.4493	0.1055	0.3691
L.W/B.W ⁵⁾ (%)**	2.5 \pm 0.3 ^a	2.5 \pm 0.1 ^a	4.8 \pm 0.5 ^b	4.6 \pm 0.4 ^b	<0.0001	0.3749	0.2451

1) Body weight after exercise adaptation, 2) ADG: Average daily gain, 3) ADFI: Average daily feed intake

4) F.E.R: Feed Efficiency Ratio, 5) L.W/B.W: Liver wight/Body weight ratio Values are means \pm SD of 9 rats

** : Values in the same row not sharing the same superscript differ (p < 0.01)

적혈구 Na efflux

콜레스테롤 섭취와 운동 수행 여부가 Intracellular Na와 Na efflux에 미치는 영향은 Table 4에 제시되었다. Intracellular Na는 콜레스테롤식이나 운동수행에 의한 효과는 없었다. Na efflux중 가장 큰 비중을 차지하는 Na-K ATPase는 콜레스테롤식에 의해 활성이 감소되었고 운동에 의해 다소 회복되는 경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었다. Na-K cotransport는 콜레스테롤식이-운동군이 다소 낮게 나타났으나 사실상 실험군간의 차이는 없었고, Na-K cotransport과는 달리 Na passive transport는 콜레스테롤식이-운동군이 유의적으로 높게 나타나고 대조군식이-비운동군은 다른 실험군에 비해 유의적으로 낮게 나타났다 (p < 0.05). 총 Na efflux량은 사실상 각 비교군 간의 차이가 없었고 Intracellular Na와의 상관성도 없었다.

헤마토크릿과 혈소판 응집

헤마토크릿 수치와 혈소판 응집에 대한 결과는 (Table 5)에 제시되었다. 헤마토크릿수치는 콜레스테롤과 운동의 교차효과가 있어 콜레스테롤-비운동군에서 낮았으나 (p < 0.05), 운동에 의해 대조군 수준으로 회복되었다. 혈소판 응집에서 콜레스테롤을 함유한 식이를 섭취한 흰쥐의 maximum aggregation이 유의적으로 높았으며 (p < 0.05), initial slope에 있어서 운동에 의해 다소 증가하는 경향을 보였으나 유의적이지 않았고 콜레스테롤 식이에 의해 유의적으로 증가하였다 (p < 0.01).

혈장 GPT와 GOT 수준

간지표로 측정된 GPT와 GOT 수준은 식이와 운동에 대한 효과가 비슷한 추세로 나타났는데 (Table 6) 콜레스테

Table 3. Effects of cholesterol diet and exercise on the plasma and liver lipids

	Control diet		Cholesterol diet		p-value		
	Non-exercise	Exercise	Non-exercise	Exercise	Diet	Exercise	Diet × Exe
Plasma (mg/dl)							
Total-cholesterol**	67.3 ± 17.9 ^a	65.5 ± 14.3 ^a	144.3 ± 26.9 ^b	143.8 ± 23.8 ^b	<0.0001	0.8706	0.9307
HDL-cholesterol**	36.3 ± 9.7 ^a	37.7 ± 3.1 ^a	16.7 ± 4.0 ^b	15.7 ± 6.2 ^b	<0.0001	0.9116	0.5585
Triglyceride**	82.5 ± 19.8 ^a	56.5 ± 8.3 ^b	38.3 ± 7.4 ^{c1)}	28.6 ± 2.8 ^{d1)}	<0.0001	<0.0001	0.0405
Liver (mg/g)							
Total-cholesterol**	5.5 ± 1.6 ^a	5.5 ± 0.7 ^a	47.7 ± 7.3 ^b	44.0 ± 3.9 ^b	<0.0001	0.2132	0.1989
Triglyceride**	17.5 ± 3.8 ^a	16.5 ± 5.4 ^a	28.4 ± 7.4 ^b	26.0 ± 6.8 ^b	<0.0001	0.4028	0.7164

Values are means ± SD of 9 rats. 1) Values in the same row not sharing the same superscript differ (p < 0.05)
 **: Values in the same row not sharing the same superscript differ (p < 0.01)

Table 4. Effects of cholesterol diet and exercise on erythrocyte sodium efflux

	Control diet		Cholesterol diet		p-value		
	Non-exercise	Exercise	Non-exercise	Exercise	Diet	Exercise	Diet × Exe
Intracellular Na ¹⁾ (mmol/l rbc)	5.0 ± 0.7	4.3 ± 0.5	4.8 ± 0.9	4.4 ± 0.3	0.7924	0.0709	0.1912
Na Efflux (mmol/l rbc/hour)							
Na-K ATPase ²⁾	0.88 ± 0.2	0.89 ± 0.1	0.65 ± 0.2	0.71 ± 0.3	0.0821	0.7353	0.8289
Na-cotransport ³⁾	0.48 ± 0.2	0.50 ± 0.2	0.48 ± 0.2	0.36 ± 0.2	0.4392	0.5473	0.4351
Na-passive transport ^{4)*}	0.31 ± 0.1 ^a	0.46 ± 0.1 ^b	0.43 ± 0.1 ^{ab}	0.59 ± 0.1 ^c	0.0006	<0.0001	0.9101
Total Na efflux	1.67 ± 0.3	1.85 ± 0.2	1.56 ± 0.1	1.67 ± 0.3	0.8749	0.6325	0.9439

1) Intracellular Na; upper values are for intact red blood cells, 2) Na-K ATPase is ouabain sensitive Na efflux
 3) Na-cotransport is furosemide sensitive Na efflux
 4) Na-passive transport is Na efflux under the blockage of Na-K ATPase & Na-K cotransport
 Values are means ± SD of 9 rats. *: Values in the same row not sharing the same superscript differ (p < 0.05)

Table 5. Effects of cholesterol diet and exercise on hematocrit and platelet aggregation

	Control diet		Cholesterol diet		p-value		
	Non-exercise	Exercise	Non-exercise	Exercise	Diet	Exercise	Diet × Exe
Hematocrit (%) [*]	43.8 ± 1.2 ^a	43.6 ± 0.5 ^a	41.8 ± 1.1 ^b	44.0 ± 1.0 ^a	0.0202	0.0037	0.0008
Platelet aggregation							
Maximum (Δ)	19.4 ± 3.7	17.7 ± 1.6	21.7 ± 4.3	21.8 ± 4.2	0.0121	0.4916	0.4460
Initial slope (Δ/min) [*]	16.4 ± 2.1 ^a	17.9 ± 2.0 ^{ab}	20.7 ± 5.4 ^{ab}	21.9 ± 3.3 ^b	0.0009	0.2465	0.9094

Values are means ± SD of 9 rats. *: Values in the same row not sharing the same superscript differ (p < 0.05)

Table 6. Effects of cholesterol diet and exercise on GPT and GOT

	Control diet		Cholesterol diet		P-value		
	Non-exercise	Exercise	Non-exercise	Exercise	Diet	Exercise	Diet × Exe
GPT ¹⁾ (U/l) **	19.5 ± 3.0 ^a	14.3 ± 3.1 ^a	52.9 ± 25.5 ^b	25.3 ± 5.7 ^a	<0.0001	0.0007	0.0160
GOT ²⁾ (U/l) **	38.6 ± 7.2 ^a	46.9 ± 7.3 ^{ab}	121.3 ± 44.5 ^c	73.1 ± 12.6 ^b	<0.0001	0.0167	0.011

1) GPT: glutamate-pyruvate transferase, 2) GOT: glutamate-oxalate transferase, Values are means ± SD of 9 rats

** : Values in the same row not sharing the same superscript differ (p < 0.01)

콜식이 효과로서 운동군과 비운동군 모두 GPT, GOT 수준이 유의적으로 증가하였고 (p < 0.0001), 운동효과로서 GPT 수준의 경우 식이에 상관없이 유의적으로 감소한 반면 (p < 0.001), GOT 수준의 경우 콜레스테롤식을 섭취한 쥐에서 운동군이 비운동군에 비해 유의적으로 감소하여 (p < 0.01) GOT 수준 또한 운동에 의해 영향을 받는 것으로 나타났다.

고 찰

대조군식이거나 콜레스테롤식이군 모두 운동을 수행한 경우 비운동군에 비해 식이섭취량은 비슷한데 비해 증체량이 약간 낮아 최종 체중에 다소 차이를 보였으나 체중감량 효과에 대한 확신을 갖기에는 부족했다. 이는 6주간 운동수행이 효과를 확인하기에는 실험기간이 다소 부족했던 것으로 사료된다. 운동효과로 보통 8~12주 이상 운동을 실시한 경우 체중의 변화가 있는 것으로 보고하고 있는데, 이 기간 동안 체지방 감소와 함께 혈중 지질구성에 변화가 나타난다.¹⁸⁾ Oh 등¹⁹⁾의 연구에 의하면, 0.5% 콜레스테롤 첨가 식이는 체중에 대한 간 무게비가 거의 2배 이상 증가한 것으로 보고하고 있는데, 이는 고콜레스테롤식이에 의한 지질대사 이상을 원인으로 한 간에서의 중성지방 축적에 따른 것이라 할 수 있고, 유의차는 없었으나 운동에 의해 이러한 증가가 다소 억제되는 경향을 보였는데 이러한 결과는 간의 지질분석 결과와 함께 비교 설명할 수 있다.

AIN76을 참조한 대조군식이에 비해 콜레스테롤첨가군의 혈중 총 콜레스테롤이 증가한 반면 HDL-콜레스테롤은 상당히 감소되었고, 특히 혈중 중성지방이 콜레스테롤식이군에서 오히려 감소하는 경향을 보이고 있는데, 이는 지방간 상태에서 중성지방의 높은 합성과 혈장으로서의 낮은 분비에 기인한 것으로 Kushwaha 등²⁰⁾의 baboon 실험이나 Oh,¹⁹⁾ Liu 등²¹⁾의 쥐 실험결과와 일치한다. 혈중지질에 대한 운동 부하효과 (acute effect)로서 건강한 청·장년을 대상으로 9~12 km 트레드밀 (VO₂max 60~90%) 운동을 하게 한 직후 총콜레스테롤과 중성지방에는 변화가 없었으나, HDL-콜레스테롤과 HDL apoprotein A는 운동강도에

비례해서 증가되었다.²²⁾ Kantor 등²³⁾ 또한 최대 심박수 (HR max) 80%의 운동 강도에서 훈련된 남자는 두 시간, 비훈련된 남자는 한 시간의 자전거타기를 한 직후, 전자는 HDL₂ subfraction, 후자는 HDL₃ subfraction이 각각 증가됨을 보고하였다.

이렇게 운동직후에 나타나는 혈중지질에 대한 급성효과로서 HDL-콜레스테롤이 보다 민감하게 반응하는 게 아닌가 생각된다. Atena 등⁴⁾은 하루 30분간 트레드밀 조깅 (75% HRmax)을 4주간 지속하는 것으로 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤을 감소시켰고 LDL particle size와 HDL₂ subfraction을 유의적으로 증가시켰음을 보고하고 있으나 보다 장기적 운동효과로서 O'Donovan 등²⁾의 연구에서 24주간 지속된 주 3회, 1일 400 kcal의 운동량은 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 등 non-HDL-콜레스테롤이 감소한 것으로 나타났다. 쥐를 이용한 트레드밀 운동효과로서 Seelbach 등²⁴⁾의 lean과 obese Zucker쥐 실험에서 10주간의 트레드밀 운동은 lean 쥐와 obese 쥐 모두 비운동군에 비해 혈중콜레스테롤과 중성지방을 감소시켰는데, liver perfusion 실험에서 obese쥐의 경우 간의 VLDL분비가 감소된 반면 lean쥐는 HDL 분비가 증가되었다. 이는 혈중콜레스테롤 강하 기전에 있어 lean쥐와 obese쥐에서 차이가 있음을 의미하게 되고, 특히 lean쥐에서 높은 HDL 분비에도 불구하고 혈중 HDL-콜레스테롤에 대해 차이가 없음은 총콜레스테롤에 의한 차폐효과로 설명되어질 수 있다. Hashimoto²⁵⁾에 의하면 하루 한시간, 12주의 트레드밀 운동은 어린 쥐 (16 weeks old)의 경우 HDL-콜레스테롤 수준을 증가시켰고 늙은 쥐 (98 weeks old)의 경우 체질량의 감소와 함께 혈중 LDL-콜레스테롤의 감소효과를 보였다. 높은 체지방의 병리적 여건을 가진 obese쥐나 늙은 쥐의 경우 장기적인 운동효과로서 중성지방의 감소가 크게 나타난 반면, 대사과정이 보다 정상적일 수 있는 lean쥐나 어린 쥐에 있어서 HDL-콜레스테롤이 증가되는 긍정적인 효과가 나타나는 것으로 생각된다. Ghanbari-Niaki 등²⁶⁾의 주5회, 하루 90분간의 트레드밀 운동 (25 m/min)은 6주 후에 운동군이 비운동군에 비해 LCAT 및 HDL-콜레스테롤이 증가되었고 간에서 ABC (ATP-binding cassette)A1에 대한 mRNA

expression이 증가되었다. ABCA1은 혈장 HDL-콜레스테롤의 개조에 관여하는 세포막의 운반체로서 대식세포나 혈관 등 간의 콜레스테롤을 간으로 운반하는 역콜레스테롤 수송에 관여함으로 동맥경화의 억지력이 있다. LCAT 또한 HDL₂ fraction을 증가시킴으로서 혈중 free-콜레스테롤을 감소시킨다. 본 실험에서는 운동효과로서 혈중 총 콜레스테롤 감소나 운동의 기대효과로 알려진 HDL-콜레스테롤의 증가는 나타나지 않았으나 혈중 중성지방은 식이에 상관없이 감소했다. 간의 총콜레스테롤과 중성지방은 콜레스테롤 식이군이 대조군에 비해 각각 8~9배, 0.8배 정도 증가했으나 운동에 의한 감소효과는 없었는데, Seelbach 등²⁴⁾은 지단백대사에 대한 운동효과는 간외기전에 의한 것으로 간의 지질변화는 혈중지질보다 민감하지 않다고 설명하고 있다. 이러한 실험결과를 종합해 볼 때 운동부하효과로서 운동직후에 HDL-콜레스테롤이 운동강도에 따라 증가하지만, Wood 등¹⁸⁾연구에서와 마찬가지로 지속적이고 장기적 관점에서 운동은 HDL-콜레스테롤 증가뿐만 아니라 혈중 중성지방을 감소시키고 동맥경화를 방지하는 긍정적 효과를 기대할 수 있으리라 생각된다.

Intracellular Na 및 Na efflux는 체액량과 혈압조절 기전의 한축으로 여겨지고 있다. 신경세포를 비롯한 다양한 세포에서 활동전압 후 안정막을 유도하는데 관여하는 Na-K ATPase는 Na pump라고도 불리어지는데 세포막에서 Na efflux를 주관하는 가장 주된 경로로서 신장 세뇨관에서 물의 재흡수에도 관여한다. 많은 연구자들이 고혈압 동물이나 환자에 있어서 세포막의 Na transport에 있어서 angiotensin계의 비정상적인 기전이나 병리적 요인을 보고하고 있는데 특히 Na-K ATPase 활성이 감소되는 것으로 보고하였다.^{12,27,28)} 그러나 Vokurková 등²⁹⁾의 실험에서 salt sensitive (SS)한 Dahl쥐가 salt resistant (SR) 쥐에 비해 혈압상승과 함께 intracellular Na와 Na-K ATPase가 증가되었다. 혈중 콜레스테롤과 중성지방 농도는 세포막의 지질 profile을 변화시킬 수 있는데 세포막의 콜레스테롤은 세포막의 유동성을 감소시킴으로서 이온 경로의 기능에 영향을 준다.^{29,30)} Sen 등³⁰⁾에 의하면 임신기간이 경과됨에 따라 사람의 태반에 있어서 세포막의 콜레스테롤/인지질 비율은 낮아지고 Na-K ATPase 활성은 증가되는 것으로 나타났다. 한편 Shanmugasundaram 등³¹⁾은 소모적 상태의 bicycle ergometer는 Na-K ATPase의 감소와 함께 적혈구 막의 인지질을 5%, 콜레스테롤은 80%로 크게 감소시켰는데 운동으로부터 회복되면서 세포막의 지질과 Na-K ATPase는 운동전의 상태로 회복한 것으로 나타났다. 본 연구에서 콜레스테롤식이군의 증가된 혈중 콜레스테롤이 세포막의 지

질에 어떤 변화를 주었는지는 알 수 없으나 Na-K ATPase는 다소 감소하는 경향을 보였는데 이러한 결과는 본 실험실에서 진행했던 다른 연구³²⁾의 결과와 일치한다. Aughey 등³³⁾에 의하면 잘 훈련된 운동선수에게 있어서 sprint exercise 후의 hypoxic상태는 근육의 Na-K ATPase의 감소를 초래하고 normoxia상태의 회복과 함께 Na-K ATPase가 회복되었다. 이렇게 운동 직후 운동에 의한 세포막구성의 변화나 혈중 산소분압의 감소 등은 Na-K ATPase 활성에 영향을 주지만 장기적인 효과로서 운동에 의한 변화는 확인되지 않았는데, 본 실험에서도 6주간의 운동은 최종 적혈구막의 Na-K ATPase활성에 차이를 보이지 못했다. Vokurková 등²⁹⁾은 적혈구막의 Rb uptake를 이용하여 Na passive influx를 측정하였는데 SS-Dahl쥐에서 이 값이 유의적으로 증가함을 볼 수 있었다. 이는 세포 외의 Na가 농도차이에 의해 세포내로 유입된 것으로 이로 인해 intracellular Na증가되고 Na-K ATPase활성화와 함께 Na-K cotransport도 증가하였는데 이렇게 Na의 수동적인 influx가 증가됨은 적혈구막 지질구성의 변화에 의한 것으로 보고있다. 그러나 Blaustein 등¹²⁾은 고혈압환자의 높은 intracellular Na는 Na-K ATPase 활성의 감소에 의한 것으로 설명하는데 이렇게 고혈압이나 고지혈의 지표로서 Na-K ATPase활성은 연구자에 따라 상반된 의견을 보이고 있다. 이러한 상반된 의견은 Na-K ATPase 측정방법의 차이에서도 올 수 있는 것으로 용해된 이온자체를 측정하거나 ATPase에 의해 생성된 phosphate (P_{pi})를 측정하는 방법들이 있다. 본 실험에서 콜레스테롤식이 자체가 Na-K cotransport에 영향을 주지 않았고 콜레스테롤 식이군에서 운동에 의해 다소 감소하는 경향을 보였으나 콜레스테롤이나 운동이 Na-K cotransport에 미치는 영향에 대한 자료는 미미하다. Na leak으로 알려진 Na passive transport는 어떤 경로를 통하기보다 농도에 따라 지질층에서 수동적으로 누출되는 것으로 세포막의 지질의 profile에 의해 영향을 받고 고혈압과 같은 세포막의 유동성 변화나 산화에 의한 세포막의 손상과 좋은 상관관계를 보이고 있다.^{12,32)} 본 실험실에서는 Na passive transport는 세포내의 Na이 zero medium 속으로 유출된 양을 측정한 값으로 콜레스테롤-운동군에서 Na passive transport가 크게 증가함으로서 총 Na efflux량을 보충한 것이 아닌가 생각된다. 콜레스테롤 식이에 의해 Na passive transport가 유의적으로 증가하였고 운동에 의해 더욱 증가하였으나 intracellular Na과 상관성은 보이지 않았다. Vokurková 등²⁹⁾의 SS-Dahl쥐 실험에서 높은 intracellular Na는 Rb의 유입으로 측정된 Na passive transport가 증가됨을 볼 수 있었는데 본 실험의 결과와는

다소 차이가 있다.

Rovira 등³⁵⁾에 의한 개를 상대로 장애물 경기의 운동부하 실험에서 적혈구 숫자, 헤마토크릿, 헤모글로빈 숫치가 증가한 것으로 나타났다. 그러나 Schumacher 등³⁵⁾의 실험에서 고강도의 endurance training 결과 적혈구숫자, 헤마토크릿, 혈색소 등이 감소한 것으로 나타났는데 이는 운동에 의한 혈장량의 증가와 함께 “traumatic movement”에 의한 적혈구의 파괴가 한 원인이 될 수 있다고 한다. 한편, 헤마토크릿의 감소와 함께 운동에 의해 증가된 백혈구와 혈소판수치는 운동에 의한 심순환의 fitness나 inflammation과의 관계에서 설명되어지고 있다.³⁶⁾ 운동에 의한 혈액세포의 변화에 있어서 상반되는 결과는 대상자의 나이, 신체적 여건, 운동 강도에 의해 다를 수 있는데 본 연구에서 운동은 콜레스테롤식으로 인해 감소된 헤마토크릿이 정상수치로 호전시켜주는 역할을 한 것으로 보인다. 혈소판 응집성에 있어서 콜레스테롤 식이는 maximum과 initial slope을 모두 증가시켰는데, 이는 콜레스테롤 식이에 의해 최대응집치가 암·숫쥐 모두에서 증가하였다는 Oh 등¹⁸⁾의 결과와 일치하며, Winocour 등³⁾도 콜레스테롤 식이로 인한 고콜레스테롤혈증의 쥐에서 혈소판 응집성은 증가한 반면 혈소판 생존은 감소하였다고 보고하였다. 혈소판 생존은 최대 응집 이후 응집된 혈소판이 개체의 혈소판으로 분리됨으로 해석할 수 있는데 이는 혈전이나 thrombus 생성 정도와 관련이 있다. 혈소판 응집성에 대한 운동효과를 살펴볼 때 운동 자체는 혈소판 활성을 유도하여 운동 직후 응집성은 증가하나, 훈련된 운동선수경우 좌업의 일반인에 비해 혈소판의 밀도는 높으나 혈소판 응집성은 낮게 나타났다.¹¹⁾ 본 연구에서 대조군식의 쥐에서 운동에 의해 최대응집이 다소 감소하는 경향을 보였으나 초기응집은 식이에 상관없이 운동에 의해 다소 높은 경향을 보였는데 혈소판 응집에 유의적인 효과를 줄만큼 6주간의 트레드밀에 의한 운동 적응능력의 향상 등 신체적인 변화가 일어난 것으로 보이지 않는다.

술이나 고지방식 및 콜레스테롤식으로 인한 병리적 여건에서 지방간은 혈중 GOT 및 GPT 수준을 증가시킨다. 본 실험결과와 마찬가지로 Lee 등³⁷⁾도 흰쥐에게 1%의 콜레스테롤을 첨가하여 급여한 결과, 대조군에 비해 콜레스테롤 첨가군에서 GOT와 GPT 수준이 유의적으로 높아졌다고 보고하였는데 이는 콜레스테롤 식이에 의한 지방간의 병리적 여건을 반영하는 것이라 생각된다. GOT와 GPT 수준은 운동에 의한 영향으로 Chae 등³⁸⁾의 조정선수를 대상으로 한 연구나 Critz 등³⁹⁾의 Harvard step test 실험에서 운동은 혈청 GOT 활성수준을 저하시킨다는 보고를 하

였다. 반면 Metivier와 Gauthier⁴⁰⁾는 운동 후 혈청 GOT 활성수준은 증가하였으며, 혈청 GPT 활성수준은 일정치 않았다고 보고해 다소 상이한 결과를 나타내고 있는데 GOT, GPT는 간장이나 심장 등 조직의 손상과 관련이 있으므로 운동은 그 강도와 측정 시간 등에 따라 GPT, GOT 효소 활성에 미치는 영향이 다를 것으로 사료된다.

요 약

본 실험은 콜레스테롤식이와 운동수행이란 두 조건을 심순환기 질환의 관련지표로서 혈장 및 간의 지질, 적혈구막의 Na efflux 그리고 혈소판 응집성에 어떠한 영향을 미치는지 조사하였다. 운동에 의해서 체중이 다소 감소하였지만 그렇게 크지는 않았다. 라드를 주 지방원으로 사용한 식이에 0.5% 콜레스테롤첨가는 혈중 콜레스테롤을 2배 이상, 간 콜레스테롤을 8배 이상 증가시켰고 HDL-콜레스테롤을 절반 이하로 떨어뜨렸는데, 특히 운동효과로 예상했던 HDL-콜레스테롤증가는 대조군식이나 콜레스테롤식이에서 나타나지 않았다. 혈중 중성지방은 콜레스테롤 식이군에서 오히려 감소하였고 간의 경우 지방 축적으로 인해 간의 크기뿐만 아니라 간의 중성지방은 현저히 증가되었다. 체액량 조절 및 혈압과 관계에서 조사된 적혈구의 Na efflux는 Na-K ATPase가 콜레스테롤 식이에 의해 그 활성을 감소되었고 운동이 이를 다소 회복시키는 경향을 보였다. 혈압과의 상관성이 높다고 알려진 Na passive leak은 콜레스테롤과 운동이 각각 독립적으로 증가시키는 요인으로 작용하여 콜레스테롤-운동군이 대조군식-비운동군에 비해 현저히 증가된 것으로 나타났다. 총 Na efflux는 실험군 간에 큰 차이가 없었고 intracellular Na와의 상관성도 보이지 않았다. 혈소판응집성에 있어서 콜레스테롤식이가 혈소판 응집을 증가시키고 특히 운동이 초기응집을 증가시키는 경향을 보였다. 혈장 GOT 및 GPT수치는 콜레스테롤식으로 인해 현저히 증가됨으로서 간의 병리적 상태를 잘 반영하였고 운동에 의해 감소됨으로서 운동수행이 술이나 고지방식으로 인한 지방간을 호전시켜 줄 수 있으리라 기대할 수 있다. 고지혈증이나 고혈압 환자에 있어서 비약물적 요법으로 식이나 운동을 통한 치료나 예방의 가능성을 규명하기 위한 실험의 결과로서 특히 운동에 대해 일관되고 가시적인 효과가 미흡한 것은 6주간의 짧은 실험기간을 생각할 수 있는데 혈청 지질, Na flux 및 체액, 혈소판 응집성 등 심순환기 질환의 예방에 도움이 되는 운동의 형태나 강도 혹은 지속 기간에 대한 더 많은 연구가 필요하리라 생각된다.

Literature cited

- 1) Johnson JL, Slentz CA, Houmard JA, Samsa GP, Duscha BD, Kraus WE. Exercise training amount and intensity effects on metabolic syndrome (from Studies of a Targeted Risk Reduction Intervention through Defined Exercise). *Am J Cardiol* 2007; 15(12): 1759-1766
- 2) O'Donovan G, Owen A, Keaney EM, Nevel AM, Jones Dw, Woolf-May K. Changes in cardiovascular fitness and coronary heart disease risk factors following 24week of moderate or high intensity exercise of equal energy cost. *J Appl Physiol* 2005; 98(5): 1619-1625
- 3) Kelly GA, Kelly KS, Tranz ZV. Walking, lipids and lipoproteins: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Prev Med* 2004; 38(5): 651-661
- 4) Atena TS, Michaelson JL, Ball SD, Guilford BL, Thomas TR. Lipoprotein subfraction changes after continuous or intermittent exercise training. *Med Sci Sports Exerc* 2006; 38(2): 367-372
- 5) Kishali NF, Imamoglu O, Kaldirimci M, Akyol P, Yildirim K. Comparison of lipid and lipoprotein values in men and women differing in training status. *Int J Neurosci* 2005; 115(9): 1247-1257
- 6) Tolfrey K, Jones AM, Campbell IG. Lipid lipoprotein in children: an exercise dose response study. *Med Sci Sports Exerc* 2004; 36(3): 418-427
- 7) Miller GJ. Dietary fatty acids and the haemostatic system. *Atherosclerosis* 2005; 179(2): 213-227
- 8) Wincour PD, Rand ML, Kinlough-Rathbone RL, Richardson M, Mustard JF. Platelet function and survival in rats with genetically determined hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 1989; 76(1): 63-70
- 9) Herne T, Bärtsch P, Haeberli A, Straub PW. Increased thrombin-anti-thrombin III complexes after 1h of physical exercise. *J Appl Physiol* 1992; 73(6): 2499-2504
- 10) El-Sayed MS. Effects of exercise on blood coagulation, fibrinolysis and platelet aggregation. *Sports Med* 1996; 22(5): 282-298
- 11) Singh I, Quinn H, Mok M, Southgate RJ, Turner AH, Li D, Sinclair AJ, Hawley JA. The effect of exercise and training status on platelet activation: do cocoa polyphenols play a role? *Platelets* 2006; 17(6): 361-367
- 12) Blaustein MP. Sodium ions, calcium ions, blood pressure regulations, and hypertension: a reassessment and a hypothesis. *Am J Physiol* 1977; 232(5): C165-173
- 13) Kiziltunc A, Akcay F, Polat F, Kuskay S, Sahin YN. Reduced lecithin: cholesterol acyltransferase (LCAT) and Na⁺, K⁺, ATPase activity in diabetic patients. *Clin Biochem* 1997; 30(2): 177-182
- 14) Green HJ, Duhamel TA, Holloway GP, Ranney D, Tupling AR. Muscle Na⁺-K⁺-ATPase response during 16 h of heavy intermittent cycle exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 293(2): E523-530
- 15) Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi CV. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. *J Appl Physiol* 1979; 147(6): 1278-1283
- 16) Kang JS, Cregor MD, Smith JB. Effect of calcium on blood pressure, platelet aggregation and erythrocyte sodium transport in Dahl salt sensitive rats. *J Hypertension* 1990; 8: 245-250
- 17) Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 1957; 226: 497-509
- 18) Wood PD, Stefanick ML, Dreon DM, Frey-Hewitt B, Garay SC, Williams PT, Superko HR, Fortmann SP, Albers JJ, Vranizan KM. Changes in plasma lipids and lipoproteins in overweight men during weight loss through dieting as compared with exercise. *N Engl J Med* 1988; 319(18): 1173-1179
- 19) Oh IS, Kang JA, Kang JS. Gender difference in the effects of gonadectomy and hypercholesterol diet on plasma and liver cholesterol and triglyceride levels, platelet aggregation and liver tissue in Sprague Dawley rats. *Korean J Nutr* 2002; 35(1): 12-23
- 20) Kushwaha RS, Hazzard WR, Harker LA, Engblom J. Lipoprotein metabolism in baboons. Effect of feeding cholesterol-rich diet. *Atherosclerosis* 1978; 31(1): 65-76
- 21) Liu CH, Huang MT, Huang PC. Source of triglyceride accumulation in livers of rats fed a cholesterol supplemented diet. *Lipids* 1995; 30: 527-531
- 22) Hicks AL, MacDougall JD, Muckle, TJ. Acute changes in high-density lipoprotein cholesterol with exercise of different intensities. *J Appl Physiol* 1987; 63(5): 1956-1960
- 23) Kantor MA, Cullinane EM, Sady SP, Herbert PN, Thompson PD. Exercise acutely increases high density lipoprotein-cholesterol and lipoprotein lipase activity in trained and untrained men. *Metabolism* 1987; 36(2): 188-192
- 24) Seelbach JD, Kris-Etherton PM. The effect of vigorous treadmill exercise on plasma lipoprotein and hepatic lipoprotein production in Zucker rats. *Atherosclerosis* 1985; 57(1): 53-64
- 25) Hashimoto M. Effects of exercise on plasma lipoprotein levels and endothelium dependent vasodilation in young and old rats. *Eur J Appl Occup Physiol* 1990; 61: 440-445
- 26) Ghanbari-Niaki A, Khabazian BM, Hossami-Kakhak SA, Hedayati M. Treadmill exercise enhances ABCA1 expression in rat liver. *Biochem Biophys Res Comm* 2001; 361(4): 841-846
- 27) Tian G, Dang C, Lu Z. The change and significance of the Na⁺-K⁺-ATPase alpha-subunit in ouabain-hypertensive rats. *Hypertens Res* 2001; 24(6): 729-734
- 28) Golik A, Weissgarten J, Evans S, Cohen N, Cotariu D, Modai D. Erythrocyte Na⁺, K⁺ and Ca²⁺, Mg (2⁺)-ATPase activities in hypertensives on angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Clin Biochem* 1996; 29(3): 249-254
- 29) Vokurková M, Dobesova Z, Kunes J, Zicha. Membrane ion transport in erythrocytes of salt hypertensive Dahl rats and their F2 hybrids: the importance of cholesterol. *J Hypertens Res* 2003; 26(5): 397-404.
- 30) Sen A, Ghosh PK, Mukherjee M. Changes in lipid composition and fluidity of human placental basal membrane and modulation of bilayer protein functions with progress of gestation. *Mol Cell Biochem* 1998; 187(1-2): 183-190
- 31) Shanmugasundaram KR, Padmavathi C, Acharya S, Vidhyalakshmi N, Vijayan VK. Exercise-induced cholesterol depletion and Na-K ATPase activities in human red cell membrane. *Exp Physiol* 1992; 77(6): 933-936

- 32) Park IS, Kang YH, Kang JS. Effects of taurine on plasma and liver lipids, erythrocyte ouabain sensitive Na efflux and platelet aggregation in Sprague Dawley rats. *Nutrition RP* 2007; 1 (3) : 200-205
- 33) Aughey RJ, Clark SA, Gore CJ, Kinsman TA, Goodman C, McKenna MJ. Interspersed normoxia during live high, train low interventions reverses an early reduction in muscle Na-K ATPase activity in well trained athletes. *Eur J Appl Physiol* 2006; 98 (3) : 299-309
- 34) Rovira S, Munoz A, Benito M. Hematologic and biochemical changes during canine agility competitions. *Vet Clin Pathol* 2007; 36(1) : 30-35
- 35) Schumacher YO, Schmid A, Grathwohl D, Bultermann D, Berg A. Hematological indices and iron status in athletes of various sports and performances. *Med Sci Sports Exerc* 2002; 34(5) : 869-875
- 36) Choi JH, Yang JO. A Study on the cardiopulmonary function and blood component changes followed training method of distance runners. *Korean J Physical Education* 2001; 40 (3) : 835-844
- 37) Lee US, Lee RR, Lee BH. Hypocholesterolemic effects of diets containing sea tangle (*Laminaria japonica*) fermented and rice cultures by *monascus ruber* in hypercholesterolemic rats. *The Journal of Graduate School of Chungju National University* 2002; 3: 389-406
- 38) Chae JR, Cho YH, Choi CH. A study of blood components during a training of rowing player. *The Journal of The Research Institute of Physical Education & Sports Science Kunsan National University* 1999; 1: 139-148
- 39) Critz JB, Merrick AW. Serum glutamic-oxaloacetic transaminase levels after exercise in men. *Proc Soc Exp Biol Med* 1962; 109: 608-610
- 40) Metivier G, Gauthier R. Effects of acute physical exercise on some serum enzymes in healthy male subjects between the ages of 40 and 64 years. *Enzyme* 1985; 33 (1) : 25-33