韓國營養學會誌 23(3) : 157~169, 1990
Korean J Nutrition 23 (3) : 157~169, 1990

어유의 섭취가 젊은 여성의 혈청 Apoprotein 및 혈소판 기능에 미치는 영향

장 현 숙 · 김 성 미*
안동대학 식품영양학과
*계명대학교 가정대학 식생활학과

Effect of Fish Oil Ingestion on Serum Apoprotein and Platelet Function in Healthy Young Females

Jang, Hyeon-Sook · Kim, Sung-Mee*
Department of Food and Nutrition, Andong National College
**Department of Food and Nutrition, College of Home Economics Keimyung University*

ABSTRACT

This study was designed to investigate the effect of supplementation of fish oil on serum apoprotein and platelet function in healthy young females. Eighteen female college students were divided into 3 groups. Each group fed a typical Korean diet supplemented with 15g, 12g, and 9g of fish oil respectively for 1-week. Blood samples were obtained 4 times, before supplementation, immediately after, 1-week after and 3-week after stopping supplementation.

After 6-week break, the doses of fish oil were interchanged among 3 groups and the experiment was repeated to reduce interindividual variation. The concentration of apoprotein A, apoprotein B in the serum samples and the platelet adhesion, the platelet aggregation and bleeding time were determined immediately after supplementation of fish oil, 1-week after and 3-week after stopping supplementation and then the value compared with those of before supplementation period. The results obtained are summarized as follows :

Serum apoprotein A levels decreased significantly($p<0.05$), immediately after supplementation of fish oil in the 15g group. The serum apoprotein B levels did not show significant change. The platelet adhesion decreased significantly($p<0.05$) 1-week after supplementation of fish oil in the 15g group. The platelet aggregation decreased significantly($p<0.01$) immedeately after supplementation of fish oil in the 15g group.

KEY WORDS : fish oil · apoprotein · platelet adhesion · platelet aggregation · bleeding time.

접수일자 : 1990년 4월 6일

서 론

어유는 식물유와는 다른 종류의 불포화지방산으로 구성되어 있으며 이들 지방산이 갖는 대사과정은 아직 자세히 연구된 바가 적다. 어유는 불포화도가 높아서 식물유와 유사하나 식물유의 불포화지방 구성성분이 ω-6계열인 것에 비해 어유는 ω-3계열의 지방산의 함량이 높고, 탄소수가 20이상인 Very long chain fatty acid가 상당량 포함되어 있다는 점이 특이하다[1]. 서양인의 식사에 ω-3계 지방산을 보충하여 혈청 지질 상태가 개선되었다는 보고[2-4]가 있고 아울러 혈소판응집력의 저하 및 출혈시간 연장등이 보고[5-7]되어 있다.

Von Schacky등[8]은 ω-3계 지방산을 인체에 장기간 투여한 실험에서 지방산의 변화와 prostanoid형성이 in vitro 실험이나 동물실험의 결과와는 인체실험의 결과가 다르다고 보고하였다. 즉, cod liver oil 투여후 인체내에서는 prostaglandin I_3(PGI_3)가 생성되었고 PGI_2생성은 감소되지 않았으나 인체내피 세포배양실험에서는 PGI_2생성이 감소되었다.

한편, 쥐는 ω-3계 지방산투여후 PGI_3를 생성하지 않았다[8]. 이와같이 동물실험의 결과와 인체실험의 결과의 차이가 실험동물에 따른 차이인지 아니면 실험방법에 따른 차이인지 또는 어유를 보충하는 방법에 따른 차이인지는 아직 분명히 밝혀지지 않았다. 따라서 그들은 ω-3계 지방산을 사용한 in vitro 실험 혹은 동물실험의 결과를 인체에 직접 적용할수 있을지에 대해 의문을 제기하였다. 즉, 식이중 ω-3계 지방산은 혈소판막 내의 인지질 subfraction 중 phosphatidyl-ethanolamine (PE), phosphatidyl-serine (PS), phosphatidyl-inositol (PI), phosphatidyl-choline(PC)등에로의 주입속도가 다르고 PC중의 C_{20}: 5ω-3의 증가율은 C_{22}: 6ω-3의 증가율보다 훨씬 더 높았다[9]. 그 결과 식이중 ω-3계 지방산은 혈청 지질저하, 혈소판응집력 저하, 혈압강하및 혈액과 혈관의 반응성의 저하작용 이외에도 eicosanoid의 작용영역을 더욱 바람직한 방향으로 변화 시킨다고 설명하였다. 이러한 결과는 심장및 순환기계 질환자들의 치료식이로서 어육식이를 권장하게끔 되었다.

서구인을 대상으로 한 현재까지의 연구[10]에서 식이중 어유는 혈청내 인지질 pool의 arachidonic acid(AA)가 eicosapentaenoic acid(EPA)나 docosahexaenoic acid(DHA)로 대치되게 한다. EPA와 DHA는 투여한 어유의 양과 기간에 비례하여 지질내에 축적된다. 그 결과로서 thromboxane A_2(TXA_2) 생산이 감소되고 혈소판응집 경향이 유의적으로 감소된다.

현재까지의 ω-3계 지방산을 사용한 인체실험[2-7]에서 ω-3계 지방산의 양이 일반적으로 식사로부터 섭취하는 것보다 초과한 양으로 실험하였다. 즉, 해산물을 주식으로 하는 Greenland Eskimo인의 경우에도 1일 EPA 섭취량이 6g[11]정도인데 비해 대부분의 실험에서 1일 EPA 섭취량이 1~15g 범위였다. 또, 현재까지 대부분의 연구가 서양인을 대상으로 하여 이루어졌고, 국내연구로는 박등[12]의 연구가 있을 뿐이다.

일본인을 대상으로 한 실험[6]에서 어육식이후 혈소판응집은 유의적인 변화가 없었다고 하였다. 따라서 미국이나 유럽계 백인에서 얻어진 결과가 황색인종이나 흑인에게도 적용될 수 있는가의 여부를 확인해 볼 필요가 있다. Castelli등[13]의 보고를 보면 흑인의 혈청 HDL-C가 백인의 그것에 비해 남녀 공히 평균 10mg/100ml정도 높았다는 사실을 알 수 있어 인종에 따른 혈청지질 농도의 차이가 있고, 따라서 어유섭취에 따른 효과의 차이도 있을 수 있음을 암시한다.

본 연구에서는 서양인과는 식사중 지방함량이 다른 또, 관상 동맥성 심장질환(Coronary Heart Disease, CHD)의 예견인자가 다른 한국인에 있어서 한국인의 식생활에서 섭취가능한 양의 어유를 투여한 후의 혈청 apoprotein과 혈소판기능의 변화를 조사하여 동맥경화증및 CHD의 예방 및 치료식이로서 어유섭취의 효과를 규명하고자한다.

실험대상 및 방법

1. 실험대상

본 연구의 대상자는 단체 생활을 하고 있었던 건강한 여대생으로 평균연령은 21세(20~22세), 평균신장 160.4cm(158~166cm), 평균체중 53.4kg (46~58.5kg) 이었으며 최소한 실험이 시작되기 2주일 전부터 실험이 끝날때까지 혈소판 기능에 영향을 미치는 약(aspirin, 항히스타민)을 포함한 어떤 종류의 약물도 복용을 금지시켰다. 실험 전에 혈액검사, 요검사, 간기능검사, 간염검사, 객담검사 및 분변검사등의 신체검사를 해서 정상임을 확인하였고, 실험기간중 alcohol 섭취와 흡연은 금지시켰으며 일상적인 육체활동은 제한시키지 않았다.

2. 실험계획

어유급원은 시판의 정제된 어유를 사용 하였으며 어유 투여방법은 capsule로 하였다. 식이의 내용은 일상적인 한국음식으로 하였고, 하루에 공급한 실험식이의 총 열량은 1,800kcal였으며, 그 중 탄수화물은 71%, 단백질은 15%, 지방은 14%로 구성되었다. 실험 전 기간에 걸쳐서 열량은 동일하게 하였고, 피험자의 체중이나 증가나 감소가 없게 하였다(Table 1).

실험군은 3군으로 하였고, 한군에 6명씩으로 하여 총 18명을 실험대상으로 하였다. 어유 투여량은 실험군에 따라 1일 각각 9g, 12g및 15g을 1주간 투여 하였다. 일차 실험은 각 실험군에 따라 일정량의 어유를 1주간 투여한 후, 어유 투여전과 투여 직후, 어유 투여를 중단한 후 1주째및 3주째에 각각 검사를 실시 하였고, 이차 실험은 일차 실험 종료 후 6주간의 자유식사를 시킨 후 각 실험군의 어유 투여량을 달리 하여, 동일한 방법으로 혈청중 apoprotein함량, 혈소판 기능 검사및 bleeding time을 각각 조사 하였다(Table 2).

3. 실험방법

채혈은 미국 National Institute of Health의 lipid research clinic의 표준지질 측정법[14]에 준하여 14±2 시간의 공복 후에 시행 하였으며 채혈된 혈액은 원심분리(Beckman, USA) 하여 혈청을 검사물로 사용하였다.

Table 1. Time schedule of the experiment

Week / Group	1	2-10	11	12-15
A	fish-oil(15g)	←——free diet——→	fish oil(9g)	←——free diet——→
B	fish-oil(12g)	←——free diet——→	fish oil(15g)	←——free diet——→
C	fish-oil(9g)	←——free diet——→	fish oil(12g)	←——free diet——→
blood sampling	1.↑	2.↑ 3.↑ 4.↑	5.↑	6.7.↑ 8.↑

Table 2. Physical status of subjects

Group	No. of subject	Height (cm)	Weight (kg)	BMI*
A	6	160.0±0.82[1)]	53.67±2.01	20.90±0.54
B	6	158.8±0.87	53.25±0.89	21.07±0.48
C	6	162.5±1.26	53.08±1.62	20.28±0.57

1) Mean±S.E.
*BMI : Body Mass Index

혈청 apoA및 apoB의 측정은 single radial immunodiffusion 검사법[15]으로 NOR-partigen^R Kit (Behring Werke AG, Marburge, W.Germany)를 사용 하였다. 검사 방법은 표준인 혈청(dl당 apoprotein 1.00g을 함유)과 실험 혈청을 각 well에 5 ml가한 후 4일간 실온에 방치한 다음, 표준 혈청의 침전원의 직경이 허용 범위내에 속하는 것을 확인한 다음 주어진 환산표를 이용해서 농도를 측정 하였다.

apoB LDL은 다음 공식[16]에 의해 산출하였다.

apoB LDL=혈청 apoB-0.085VLDL-TG

VLDL의 측정[17]은 혈청을 초원심분리하여 chylomicron을 제거한 후 ethanol과 ether로 지방을 제거한 후 tetramethylurea(TMU)로 침전시켜서 측정하였다.

혈소판 부착능의 검사[18](platelet adhesion test)는 glass bead(평균지름 0.0185inch, Minesota Mining사 제품) 1.3g을 내경이 0.013inch인 polyvinyl tube(녹십자사 제품)에 채워 넣고, tube 양끝에 실리콘 처리된 nylon mesh(0.002inch opening)가 붙은 연결관을 끼운 후 20 gauge 주사침을 연결한 Salzman glass bead 연결장치를 사용 하였다. tube의 길이는 혈액이 tube를 통과하여 채혈관에 도달하는 시간이 40~50초가 되도록 조정하였다.

검사 방법은 피험자를 편안한 자세로 하여 정맥을 찌른 다음, 일정량의 혈액을 먼저 흘려 버리고 난 후 EDTA tube에 3cc 정도의 혈액을 일차로 받고 이어서 Salzman system을 연결시켜 glass bead tube를 통과한 혈액을 이차로 5cc정도 받아서 자동 혈구 계산기 (Coulter Counter S plus II Model)를 이용 하여 혈소판 수를 측정 하였다. 혈소판 부착능은 일차시료(glass bead tube를 통과 시키지 않은 혈액)의 혈소판 수에 대해 일차와 이차시료(glass bead tube를 통과 시킨 후의 혈액)의 혈소판 수의 차이를 백분율로 계산하여 구하였다.

부착능(%)=(1차 시료 혈소판 수−2차 시료 혈소판 수)÷1차 시료 혈소판 수×100

혈소판의 응집능 검사[19](platelet aggregation test)는 3.8% sodium citrate 1cc가 들어있는 시험관에 검사자의 정맥혈 9cc를 섞은 다음 250g(1600 rpm)에서 10분간 원심하여 상층의 혈소판 풍부혈장(platelet rich plasma, PRP)을 분리하고 나머지를 다시 1500g(4000rpm)에서 10분간 원심하여 혈소판결핍 혈장(platelet poor plasma, PPP)을 분리하였다. 검사의 정확도를 위해 PRP의 최종 혈소판 수를 200~300×10^9/L가 되도록 맞추어 사용 하였고 실험은 채혈후 2시간 이내에 실시 하였다.

응집시약은 어유의 혈소판 응집능에 대한 효과를 최대한 예민하게 측정하기 위해 통상 용량의 1/10인 0.2mg/ml collagen(Sigma사 제품)을 사용하였으며 기구로는 chrono Log 400(Chrono Log사 제품)을 이용하여 측정한 후 Chart recorder로 기록되게 하였다.

검사 방법은 PRP 450ul를 cuvet에 넣고 측정기간 동안 계속 magnetic stirring이 되도록 stir bar를 넣었으며, 동시에 PPP 500ul도 cuvet에 넣어 응집능 검사기구의 해당 위치에 각각 두었다. Chart recorder의 기저선을 10~90%로 조절한 다음 냉장 보관한 collagen 50ul를 PRP가 든 cuvet에 첨가시키면 그때부터 혈소판이 응집 되고 빛에 의해 혼탁도의 변화로 Chart recorder에 그려지도록 하였다. 완전한 응집변화를 보기 위하여 5분이상 관찰 하였으며 연속되는 검사 성적을 객관적으로 비교하기 위하여 응집시약을 넣고 난 후 5분 때의 응집능을 구하였다. 응집능은 아래 공식에 의해 산출하였다[20].

혈소판 응집능=(5분때의 Chart recorder 결과 −10% of scale "Zero" line)÷(90% of scale−10% of scale "Zero" line)×100

출혈 시간은 Duke의 방법[21]으로 실시 하였고, 피험자의 귓볼(ear lobe)을 alcohol솜으로 깨끗이 소독한 후 lancet으로 상처를 낸 다음, 흐르는 피를 15초 간격으로 여과지에 흡수시켜 지혈이 되는 순간까지의 시간을 측정하였다.

본 연구의 모든 실험 결과는 각 실험군당 평균치와 표준오차로 계산하였고 대응되는 2개의 평균치의 차이검정을 paired-t test로서 비교하였다. 또 각 집단간의 차이는 Sheffe test에 의해 비교하였

다[22].

실험결과 및 고찰

1. 혈청 Apoprotein 함량

1) 혈청 Apoprotein A 함량

각 실험군별로 투여전, 투여후, 투여중단 1주째 및 투여중단 3주째에 혈청 apoA함량을 측정한 결과는 Table 3에 표시한 바와 같다.

대부분의 연구에서는 High Density Lipoprotein-cholesterol(HDL-C)의 측정에 의해 HDL을 정량적으로 분석하였으나, HDL의 정량은 Apo-A의 측정으로도 가능하다[23]. Witzum과 Schonfeld 등[24]은 HDL 농도의 유일한 지표로서 HDL-C의 측정은 불완전하며 HDL 변화의 잘못된 판단을 내릴수도 있다고 하였다. Naito[25]는 coronary stenosis의 정도와 여러 생화학적인 지표들과의 상관관계를 연구한 결과, HDL-C과는 -0.13의 상관을 나타내었고 Apo-A와는 -0.47의 상관관계가 있다고 보고하였으며, 따라서 관상동맥성 심장질환의 예견지표로서 HDL-C 농도보다도 Apo-A 농도가 더 정확한 예견지표가 된다고 하였다. Maciejko등[26]은 CHD 환자의 Apo A-I은 96.7±4.2mg/dl인데 비해, 건강한 성인은 146.9±2.1mg/dl라고 보고하여 CHD 환자는 Apo A치가 더 낮음을 보고하였다.

본 실험결과, 어유투여 후 Apo-A의 변화는 9g군과 12g군에서는 유의적인 변화가 없었으며, 15g군에서는 어유투여 후에 유의적인 감소($p<0.05$)를 보였다. 각 실험군간의 혈청 apoA 함량의 차이를 각 기간별로 볼 때 유의적인 차이는 없었다.

Phillipson 등[27]은 고 TG혈증 환자에게 어유투여후 apoA의 유의적인 변화가 없었다고 보고하였으나, Shepherd[28]은 Polyunsaturated Fatty Acid (PUFA) 식이에 의해 apoA가 유의적으로 감소($p<0.05$) 하였다고 보고하였다.

본 실험에서 15g군에서 어유투여 1주후에 apoA의 유의적인 감소($p<0.05$)를 나타내었으며, Shepherd[27]의 결과와 일치하는 경향을 나타내었다.

2) 혈청 Apoprotein B 함량

각 실험군별로 혈청 apoB 함량을 측정한 결과는 Table 4에 표시한 바와 같다.

혈청 apoB 함량은 15g군에서 각 기간에 있어서 91.40±7.67mg%내지 104.08±10.68mg% 범위내였고 12g군에서는 92.73±5.10mg%내지 100.48±5.77 mg%, 9g군에서는 101.98±5.01mg%내지 105.93±6.65mg% 범위내였으며 각 기간별로 유의한 변동은 없었다.

각 실험군간에 혈청 apoB 함량의 차이를 각 기간별로 볼 때 유의적인 차이는 없었다. ApoproteinB는 apoB-48과 apoB-100이 있고, apoB-48은 Chylomicron의 주된 구성 단백질이고, apoB-100은 VLDL의 주된 구성단백질이다. apoB-100은 LDL-

Table 3. The changes of serum apoprotein A in healthy females after supplementation of fish oil[1]

Experimental period	Dietary groups[2]		
	A	B	C
		mg/100 ml	
Before-supplementation	209.5±12.2	182.2±10.2	192.3±12.4
Immediately after 1wk suppl.	172.7±12.3	172.3±8.7	172.4±9.5
1wk after stopping suppl.	186.8±7.8	174.3±9.9	180.7±11.6
3wk after stopping suppl	193.8±8.3	186.2±11.1	182.4±11.7

1) Mean±S.E.
2) A : 15g fish oil supplementation group
B : 12g fish oil supplementation group
C : 9g fish oil supplementation group

Table 4. The changes of serum apoprotein B in healthy females after supplementation of fish oil[1)]

Experimental period	Dietary groups[2)]		
	A	B	C
		mg/100 ml	
Before-supplementation	91.4±7.67	92.7±5.10	104.7±5.84
Immediately after 1wk suppl.	91.5±6.58	98.3±5.11	105.9±6.65
1wk after stopping suppl.	92.9±5.23	97.4±4.45	102.9±6.96
3wk after stopping suppl	104.0±10.68	100.4±5.77	101.9±5.01

1) Mean±S.E.
2) Refer to Table 1.

receptor와 상호작용하여서 LDL 분해에 중요한 역할[27)]을 하여 간세포 외부로 지방을 운반하는 역할을 한다.

Naito[24)]는 건강한 사람의 apoB는 107±25mg/dl 이고, CHD 환자에서는 137±26mg/dl 정도로 건강한 사람에 비해 약 28% 더 높았다고 보고하였다. Von Schacky 등[8)]은 1일 4~8.3g의 ω-3계 지방산을 5달간 투여 하였을때 apoB 합성이 저하되었다고 보고하였으며, Nestel 등[31)]은 어유투여후 VLDL과 TG뿐만 아니라 VLDL apoB도 저하되었다고 보고하였다. 또 Becker 등[32)]도 PUFA 식 이에 의해 apoB가 감소 하였다고 보고하였다.

본 실험에서는 어유투여후 apoB의 유의적 변화는 나타나지 않았으며 이러한 이유는 어유 투여량이 본 실험에서와 비슷한 실험인 Von Schacky등[8)]의 실험결과에서 1일 4~8.3g의 ω-3계 지방산을 5달간 투여한 결과 apoB합성이 감소되었다는 결과를 나타낸 데 비해 본 실험의 기간이 너무 짧았던 점에 기인한 것으로 사료된다.

3) 혈청 LDL apoB 함량및 LDL-C/LDL apoB 비율

각 실험군별로 혈청 LDL apoB 함량및 LDL-C/LDL apoB 비율은 Table 5와 6에서 보는 바와 같다.

혈청 LDL apoB 함량은 15g군에서 각 기간에 있어서 22.59±3.84mg% 내지 26.48±6.21mg% 범위내였고, 12g군에서는 24.78±5.63mg% 내지 32.21±8.57mg% 범위내였으며 9g군에서는 21.32±4.70mg%내지 32.21±8.57mg% 범위내이었으며, 각 기간별로 볼 때 어유투여후에 감소하는 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 없었다(Table 6).

혈청 LDL-C/LDL apoB는 15g군에서 각 기간에 있어서 4.35±1.51 내지 9.19±3.33 범위내였으며

Table 5. The changes of serum apoprotein B in low density lipoprotein in healthy females after supplementation of fish oil[1)]

Experimental period	Dietary groups[2)]		
	A	B	C
		mg/100 ml	
Before-supplementation	26.5±6.21	30.6±4.94	26.1±3.14
Immediately after 1wk suppl.	26.3±5.40	24.8±5.63	21.3±4.70
1wk after stopping suppl.	24.7±3.48	32.2±8.57	32.2±8.57
3wk after stopping suppl	22.6±3.84	31.9±5.13	24.9±5.51

1) Mean±S.E.
2) Refer to Table 1.

12g군에서는 2.01±0.84 내지 8.53±3.30 범위 내였고, 9g군에서는 3.57±0.72 내지 8.15±2.85 범위내였다. 각 기간별로 볼 때 LDL-C/LDL apoB는 어유투여 후에는 증가하는 경향이었으나, 통계적인 유의성은 없었다. 그러나, 투여중단 1주째는 오히려 유의적인 감소($p<0.05$)를 하여서 일관성 있는 경향은 나타나지 않았다.

각 실험군간의 혈청 LDL apoB 함량 및 LDL-C/LDL apoB의 차이를 각 기간별로 볼 때 유의적인 차이는 없다.

Vega등[16]의 실험에 의하면, PUFA의 LDL 저하작용시, LDL 의 화학적 조성이 근본적으로 변화되지 않음을 나타내었다. 즉 LDL-C 과 LDL apoB의 감소의 평균치는 각각 26%와 29%였다. 이런 결과는 PUFA는 LDL apoB를 분명히 저하시킴을 보이고 있고 따라서 이론적으로 동맥경화증 발생을 지연시킬수 있다고 하였다.

2. 혈소판 기능에 미치는 영향

1) 혈소판 수

각 실험군별로 혈소판 수를 측정한 결과는 Table 7에 표시한 바와 같다.

15g군의 혈소판수를 보면 각 기간별로 유의적인 변동은 없었다. 12g군에서는 각 기간별로 투여중단 1주째와 3주째에 유의적인 감소($p<0.05$)를 나타내었다. 9g군에서는 각 기간별로 투여 후와 투여중단 3주째에 유의적인 감소(각각 $p<0.05$)를 나타내었다.

Saynor등[33]은 20ml의 어유를 투여한 후, 1달후에 혈소판 수는 유의적으로 감소($p<0.01$) 하였다고 하였고, 9달 후에는 원래상태로 되돌아가기 때문에 혈소판 감소 현상은 일시적인 현상이라고 보고하였다.

본 실험에서 어유투여후 혈소판 수는 감소하는

Table 6. The changes in ratio of low density lipoprotein-cholesterol to low density lipoprotein apoprotein B (LDL-C/LDL-apo B ratio)[1]

Experimental period	Dietary groups[2]		
	A	B	C
Before-supplementation	5.48±0.88	5.66±0.78	6.42±0.75
Immediately after 1wk suppl.	6.62±1.51	8.54±3.03	8.15±2.86
1wk after stopping suppl.	4.36±1.51	2.02±0.84*	3.57±0.73
3wk after stopping suppl	9.20±3.36	5.11±1.10	6.25±1.07

1) Mean±S.E.
* Signficantly different from the before-supplementation at $p<0.05$
2) Refer to Table 1.

Table 7. The changes of the pletelet count in healthy females after supplementation of fish oil[1]

Experimental period	Dietary groups[2]		
	A	B	C
Before-supplementation	275.8±11.66[1]	266.1±19.80	309.7±21.04
Immediately after 1wk suppl.	268.2±12.91	241.1±20.19	271.4±18.92*
1wk after stopping suppl.	252.5±14.97	237.3±17.80*	280.5±18.38
3wk after stopping suppl	249.9±17.02	225.1±19.52*	267.2±22.67*

1) Mean±S.E.
* Signficantly different from the before-supplementation at $p<0.05$
2) Refer to Table 1.

경향을 보였으며 유의적인 감소($p<0.01$)는 12g군과 9g군에서 나타났다.

Sanyor등[33]의 실험기간과 본 실험의 기간을 비교해 볼 때 실험기간이 훨씬 짧은 본 실험에서 혈소판 수의 유의적 감소가 나타난 점이 상이한 결과라고 생각되며 어유투여 기간에 따른 혈소판 수의 변화를 앞으로 더 연구할 필요가 있다고 사료된다.

어유투여 전에 대한 어유투여 후의 혈소판 수의 백분율 변화는 각 군에 있어서 투여 후에 89.5~97.3%, 투여 중단 1주째에는 90.1~92.7%, 투여 중단 3주째에 86.3~90.6% 범위였다.

2) 혈소판 부착능

각 실험군별로 혈소판 부착능을 측정한 결과는 Table 8에 표시한 바와 같다. 혈소판 부착능은 15g군에서는 각 기간별로 투여 중단 1주째에 유의적인 감소 ($p<0.05$)를 나타내었다. 9g군 및 12g군에서는 각 기간별로 유의적인 변동은 없었다.

각 실험군간의 혈소판 부착능의 차이를 각 기간별로 볼 때, 유의적인 차이는 없었다(Table 8).

어유투여 전에 대한 투여 후의 혈소판 부착능의 백분율 변화는 각 군에 있어서 투여 후에 93.0~100.1% 범위였고, 투여중단 1주째에 85.9~104.6% 범위였으며, 투여중단 3주째에는 102.3~114.1% 범위였다.

Takashi 등[6]은 어유(EPA 3.6g/day 함유) 투여 후 혈소판 부착능은 유의적인 감소를 ($p<0.05$) 하였다고 보고하였다.

Table 8. The changes in pletelet adhesion in healthy females after supplementation of fish oil[1)]

Experimental period	Dietary groups[2)]		
	A	B	C
		%	
Before-supplementation	70.6±3.66[1)]	60.2±2.80	63.7±5.05
Immediately after 1wk suppl.	65.0±4.15	59.7±3.92	61.5±6.19
1wk after stopping suppl.	60.1±4.68*	62.4±3.33	63.5±6.00
3wk after stopping suppl	70.7±4.50	63.3±4.44	64.0±5.64

1) Mean±S.E.
* Signficantly different from the before-supplementation at $p<0.05$
2) Refer to Table 1.

Table 9. The changes in pletelet aggregation in healthy females after supplementation of fish oil[1)]

Experimental period	Dietary groups[2)]		
	A	B	C
		%	
Before-supplementation	81.3±3.11	69.8±5.33	75.1±3.79
Immediately after 1wk suppl.	56.4±6.99**	72.4±4.30	58.9±9.10
1wk after stopping suppl.	72.2±2.71	71.7±5.96	55.7±9.31*
3wk after stopping suppl	80.7±3.37	76.7±2.51	75.7±1.78

1) Mean±S.E.
* Signficantly different from the before-supplementation at $p<0.05$
** at $p<0.01$
2) Refer to Table 1.

본 실험에서 15g군에서 어유투여 중단 1주째에 혈소판 부착능은 유의적인 감소($p<0.05$)를 나타내었으며 이 결과는 1일 1800~2000Kcal를 섭취하고 총 열량의 60%는 탄수화물, 20%는 지방으로 구성된 식이에 어유(EPA 3.6/day 함유)를 보충 투여한 일본인을 대상으로 한 실험[6] 결과에서 혈소판 부착능이 유의적으로 감소($p<0.05$)한 결과와 유사하였다.

3) 혈소판 응집능

각 실험군별로 혈소판 응집능을 측정한 결과는 Table 9에 표시한 바와 같다.

혈소판 응집능은 15g군에서는 투여 후에 유의적인 감소($p<0.01$)를 나타내었다. 9g군에서는 투여 중단 1주째에 유의적인 감소 ($p<0.05$)를 나타내었다.

각 실험군간의 혈수판 응집능의 차이를 각 기간별로 볼 때 유의적인 차이는 없었다.

어유투여 전에 대한 투여 후의 혈소판 응집능의 백분율 변화는 각 군에 있어서 어유투여 후에 70.9~113.4% 범위였고 투여 중단 1주째에는 77.5~116.1% 범위였으며, 투여 중단 3주째에는 98.5~122.0% 범위였다.

어유 섭취시 혈소판 응집이 저하하는 이유는 혈소판 인지질중 ω-3계 EPA는 증가하고 ω-6계 AA는 감소된 것에 기인한다고 보고[34,35]되었다. 또 여러 인체실험[6,35]에서 혈소판 지질중 EPA와 DHA는 유의적으로 증가하고 linoleic acid와 AA는 감소함을 나타내었다.

Goodnight[35]은 ω-3계 지방산을 1일 10g씩 4주간 투여한 후, 혈소판 응집의 유의적인 변화가 없었다고 보고하였다. 또 Kobatake등[36]의 일본인을 대상으로 한 실험에서 혈소판 응집은 유의적인 변화가 없었다고 보고하였다. 그러나 Siess 등[5]은 1일 500~800g의 고등어를 6일간 섭취한 백인 남자에게서 혈소판 응집이 유의적으로 감소($p<0.01$)하였으며 그 이유는 혈소판막내의 EPA/AA의 비율이 현저하게 증가한 데 기인하였다고 하였다.

본 실험에서 혈소판 응집능은 15g군에서 어유투여 후 유의적인 감소($p<0.01$)와 9g군에서 투여 중단 1주째에 유의적인 감소($p<0.05$)를 나타내었으나 12g군에서는 유의적인 변화를 나타내지 않았음을 볼 때 본 실험에서 혈소판 응집능에 미치는 어유의 영향은 일정한 경향성을 나타내지 않았다.

Needleman등[37]은 ω-3계 EPA는 혈소판의 cyclooxygenase에 대한 poor substate 이고, ω-6계 AA가 TXA로 전환되는 것의 1/8정도만이 EPA에서 TXA로 전환하였다고 보고한 것으로 보아, ω-3계 EPA의 혈소판 응집에 미치는 영향은 TXA_2대신 TXA_3가 생성되고, PGI_2대신 PGI_3가 생성되는 것만으로 이루어지는 것이 아니고, TXA_2와 PGI_2의 전반적인 합성부족에 의해서 일어난다고 생각되어진다.

Table 10. The changes in bleeding time in healthy females after supplementation of fish oil[1]

Experimental period	Dietary groups[2]		
	A	B	C
		second	
Before-supplementation	127.5±12.70	163.3±14.30	175.0±23.24
Immediately after 1wk suppl.	135.0±30.98	175.0±22.58	168.8±23.40
1wk after stopping suppl.	135.0±25.40	153.0±36.00	213.3±29.32
3wk after stopping suppl	285.0±32.63**	321.7±45.49*	410.0±54.53*

1) Mean±S.E.
* Signficantly different from the before-supplementation at $p<0.05$
** at $p<0.01$
2) Refer to Table 1.

4) 출혈시간

각 실험군별로 출혈시간을 측정한 결과는 Table 10에 표시한 바와 같다.

어유투여 후 출혈시간의 변화로는 Knapp등[38]은 동맥경화증 환자에게 어유투여 후 1주일째에 출혈시간이 유의적($p<0.01$)으로 길어졌다고 보고하였다.

본 실험에서 어유투여 후 출혈시간은 길어지는 경향이었으며, 어유투여 중단 3주째에 15g군($p<0.01$), 12g군 및 9g군(각각 $p<0.05$)에서 유의적인 증가를 나타내었다. Sanders등[39]은 20ml의 cod liver oil(EPA+DHA=4g 함유)을 투여한 실험에서 출혈시간의 연장은 어유투여 3주후에 유의적인 증가($p<0.01$)를 보인다고 보고하였다. 그러나, 본 실험에서는 9g, 12g, 15g의 어유를 1주간 투여한 후 투여 중단 3주째에 출혈시간이 유의적으로 증가된 점은 어유의 출혈시간에 미치는 영향이 시간이 경과한 후에 나타난 것으로 사료되며, Sanders등[39]의 3주후에 출혈시간의 유의적인 증가를 나타낸 결과와 유사한 결과를 나타내었다.

어유투여후 혈소판 응집능은 어유투여직후 및 투여중단 1주째에 유의적인 감소를 나타내었으며, 출혈시간의 연장은 어유투여 중단 3주째에 유의적인 변화를 나타내었다. Mori 등[9]은 혈소판막 인지질 중의 지방산 조성을 조절하는 기전은 in vivo와 in vitro에서 다르다고 하였고, 어유투여후 혈소판막 인지질중 $C_{20}:5\omega3$의 함량은 어유투여를 중단한 후 6주째까지도 계속 높았다고 보고하였다.

본 실험에서는 혈소판막내의 $C_{20}:5\omega3$의 함량을 조사하지는 못하였으나, 혈소판 응집능에 미치는 어유의 효과와 출혈시간의 연장에 미치는 어유의 효과가 나타나는 시기는 혈소판막내의 인지질의 영향을 받기 때문에 반드시 일치하지는 않는다고 사료된다. 현단계로서는 본 실험의 결과의 중요성은 확실하지 않으나, eicosanoid 형성을 변화시키기 위해서는 혈소판막의 지방산조성의 변화가 일어나야 가능하다고 사료된다.

요 약

ω-3계 지방산의 함량이 많은 어유는 혈청지질을 저하시키고, ω-6계의 arachidonic acid로 부터 thromboxane A_2 및 prostagrandin I_2의 생성을 억제하며 동시에 ω-3계의 eicosapentaenoic acid로 부터 thromboxane A_3 및 prostagrandin I_3를 소량 합성하므로 동맥경화증의 위험을 감소시킨다고 보고되어 있다. 그러나, 어유의 효과가 식이중 지방함량이 낮은 수준에서 더 현저한가에 대해서는 확실히 알려져 있지 않다.

본 연구는 서양인과는 식사내용이 다르며 또한 관상동맥성 심장질환의 예견 인자가 다른 한국인에 있어서 1일 9g, 12g 및 15g의 어유를 1주간 투여한 후 혈청 apoprotein 및 혈소판기능을 조사하여 동맥경화증 및 관상동맥성 심장질환의 예방식이로서 어유섭취의 효과를 알아보고자 계획되었다.

실험대상은 단체생활을 하는 건강한 여대생으로 평균연령은 21세(20~22세), 평균신장은 160.4cm(158~166cm), 평균체중은 53.4kg(46~58.5kg)이었으며 실험군은 3군으로 나누어서 한 군에 6명씩 총 18명을 실험대상으로 하였다. 각 실험군에 따라 1일 각각 9g, 12g 및 15g의 어유를 1주간 투여하였다. 일차 실험은 어유투여 전과 각 실험군에 따라 일정량의 어유를 1주간 투여한 직후, 어유투여를 중단한 1주째 및 3주째에 채혈하여 각각 검사를 실시하였다. 이차실험은 일차실험 종료후 6주간의 자유식사를 한 후 각 실험군의 어유투여량을 달리하여 동일한 방법으로 채혈하여서 혈청 apoprotein, 혈소판 기능검사 및 출혈시간을 조사한 결과는 다음과 같다.

apoA는 어유투여후 15g군에서 어유투여직후 유의적인 감소($p<0.05$)를 나타내었다. apoB는 어유투여 후 유의적인 변화를 나타내지 않았다. 혈소판 수는 어유투여후 감소하는 경향을 보였으며 혈

소판 부착능은 어유투여 후 감소하는 경향을 보였으나, 유의적인 감소($p<0.05$)는 어유 15g 투여군에서 투여 중단 1주째에 나타났다. 혈소판 응집능은 감소하는 경향을 보였으나 유의적인 감소($p<0.01$)는 어유 15g 투여군에서 투여 직후에 유의적인 감소($p<0.01$)를 나타내었다.

Bleeding Time은 길어지는 경향을 보였으나 유의적인 변화($p<0.05$)는 어유투여 중단 3주째에 나타났다.

각 기간에 있어서 투여한 어유의 양에 따른 혈청 apoprotein 함량 및 혈소판기능의 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

Literature cited

1) 임정교, 조성희. 식이지방이 흰쥐의 혈청지질상태 및 조직지방산 분포에 미치는 영향. 한국영양학회지 *16(1)* : *10-20*, 1983

2) Goodnight SH, Harris WS, Conner WE, Illingworth DR. Polyunsaturated fatty acids, hyperlipemia, and thrombosis. *Atherosclerosis 2* : 87-113, 1982

3) Ahrens EH, Insull W, Hirch J, Stoffel W, Peterson ML, Farquhar JW, Miller T, Thomasson HJ. The effect on human serum lipids of a dietray fat, highly unsaturated, but poor in essential fatty acids. *Lancet 1* : 115-119, 1959

4) Illingworth DR, Harris WS, Conner WE. Inhibition of low density lipoprotein synthesis by dietary w-3 fatty acids in humans. *Ateriosclerosis 4* : 270-275, 1984

5) Siess W, Roth P, Scherer B, Kurtzmann I, Böhling B, Weber PC. Platelet membrane fatty acids, platelet aggregation, and thromboxane formation during a mackerel diet. *Lancet 1* : 441-444, 1980

6) Takashi T, Hiria A, Hamazaki T, Kobayashi A, Fujita T, Tamura Y, Kumagai A. Effect of oral administration of highly purified eicosapentaenoic acid on platelet function, blood viscosity and red cell deformability in healthy human subjects. *Atherosclerosis 46* : 321-331, 1983

7) Lorenz R, Spengler U, Fischer S, Duhm J, Weber PC. Platelet function, thromboxane formation and blood pressure control during supplementation of the western diet with cod liver oil. *Circulation 67* : 504-511, 1983

8) Von Schacky C, Fischer S, Weber PC. Long-term effects of dietary marine ω-3 fattyacids upon plasma and cellular lipids, platelet function, and eicosanoid formation in humans. *J Clin Invest 76(October)* : 1621-1613, 1985

9) Mory TA, Codde JP, Vandongen R, Beilin LJ. New findings in the fatty acid composition of individual platelet phospholipids in man after dietary fish oil supplementation. *Lipids 22* (10) 744-750, 1987

10) Truswell AS. Diet and plasma lipids-A reappraisal. *Am J Clin Nutr 31(June)* : 977-989, 1987

11) Herold PM, Kinsella JE. Fish oil consumption and decreased risk of cardiovascular disease : a comparison of findings from animal and human feeding trials. *Am J Clin Nutr 43* : 566-598, 1986

12) 박현서, 한선화. 사람에서 n-3계 불포화지방산의 serum lipoprotein과 지질 조성에 미치는 영향. 한국영양학회지 *21(1)* : 61-74, 1988

13) Castelli WP, Doyle JT, Gordon T, Hamse CG, Hjortland MC, Hulley SE, Kagan A, Zukel WJ. HDL-cholesterol and other lipids in coronary heart disease : The cooperative lipoprotein phenotyping study. *Circulation 55* : 768, 1977

14) Lipid Research Clinics Program. Manual of laboratory operations. Lipid and lipoprotein analysis. *U.S. Department of Health and Human Services, Publication No. (NTH)75, Revised September*, 1982

15) Cheung MC, Albers JJ. The measurement of apolipoprotein A-I and A-II levels in men and women by immunoassay. *J Clin Invest 60* : 43,

1977

16) Vega GL, Elliott G, Richard W, Grundy SMG. Influence of polyunsaturated fats on composition of plasma lipoproteins and apoproteins. *J Lipid Res 23* : 811-822, 1982

17) Gustafson A, Alaupovic P, Furman RH. Studies of the composition and structure of serum lipoproteins : Isolation, purification and characterization of very low density lipoproteins of human serum. *Biochemistry 4*, 596-605. 1965

18) Salzman EW. Measurement of platelet adhesiveness, a simple in vitro technique demonstrating an abnormality in von Willebrand's disease. *J Lab Clin Med 62* : 724, 1963

19) Wu KK, Hoak JC. A new method for the quantitative defection of p;atelet aggregations in patients with arterial insuffeciency. *Lancet 2* : 924-6, 1974

20) Feinman RD, Lubowsky J, Charo IF, Zabinski MP. The lumi-aggregometer : A new instument for simultaneous mesurement of secretion and aggregation *J Lab Clin Med 90* : 125-129. 1977.

21) Duke WW. The relation of blood platelets to hemorrhagic disease. *JAMA 55* : 185, 1910

22) Steel RGD, Torrie JH. *Principles and procedure of statistics. MacGraw-Hill book com.* 1960

23) Eder HA, Gidez LI. The Clinical significance of the plasma high density lipoproteins. *Medical Clinics of North America 66(2)* 431-441, 1982

24) Witzum J, Schonfeld G. *High density lipoproteins, Diabetes 28* : 326, 1979

25) Naito HK. The clinical significance of apolipoprotein measurements. *J Clin Immunoassay 9(1)* : 11-20, 1986

26) Macie JJ, Holemes DR, Kottke DA. Apolipoprotein A-I as a marker of angiographically assessed coronary artery disease. *N Engl J Med 309* : 385-389, 1983

27) Phillipson BE, Rothrock DW, Connor WE, Harris WS, Illingworth DR. Reduction of plasma lipids, lipoproteins and apoproteins by dietary fish oils in patients with hypertriglyceridemia. *N Eng J Med 312* : 1210-1216, 1985

28) Shepherd J, Packard CJ, Ratch JR. Effects of dietary polyunsaturated and saturated fat on the properties of high density lipoproteins and the metabolism of apolipoprotein A-I. *J Clin Invest* 1582-1592, 1978

29) Goldstein JL, Brown MS. The LDL receptor defect in familial hypercholesterolemia. In Havel RJ(ed) : The Medical Clinics of North America : Symposium on lipid disorders. *Philadelphia, WB Saunders Company,* 496-484, 1982

30) Naito KN. Serum apolipoprotein measurements : An improved discriminator for assessing coronary heart disease risk. *Comprehensive Therapy 13(11)* : 43-52, 1987

31) Nestel PJ, Connor WE, Reardon MR, Connor S, Wong S, Boston R. Suppression by diets rich in fish oil of very low density lipoprotein production in man. *J Clin Invest 74(July)* : 82-89, 1984

32) Becker N, Illingworth DR, Alaupovic P, Connor WE, Sundberg EE. Effects of saturated, monounsaturated and w-3 polyunsaturated fatty acids on plasma lipids, lipoproteins and apoproteins in humans. *Am J Clin Nutr 37* : 350-360, 1983

33) Saynor R, Verel D, Gillott T. The long term effect of dietary supplementation with fish lipid concentrate on serum lipid, bleeding time, platelets and angina. *Atherosclerosis 50* : 3-10, 1984

34) von Schacky C, Weber PCW. Metabolism and effects on platelet function of the purified eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acids in humans. *J Clin Invest 76(December)* : 2446-2450, 1985

35) Goodnight SH, Harris WS, Conner WE. The effects of dietary w-3 fatty acids on platelet composition and function in man : A prospective controlled study. *Blood 58(5)* : 880-885, 1981

36) Kobatake Y, Saito M, Kuroda K, Kobayashi S,

Innami S. Influence of fish consumption on serum lipid and lipid peroxide concentration in middle aged subjects. 日本榮養食糧學會志 40 (2) : 103-110, 1987

37) Needleman P, Raz A, Minkes MS, Ferrendelli JA, Sprecher H. Triene Prostaglandns : Prostacyclin and thromboxane biosynthesis and unique biological properties. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* *76* : 944-948, 1979

38) Knapp HR, Reilly IAG, Alessandrini P, FitzGerald GA. IN vivo indexes of platelet and vascular function during fish oil administration in patients with atherosclerosis. *N Engl J Med 314* : 937-942, 1986

39) Sanders TAB, Vickers M, Haines AP. Effect on blood lipids and haesmostasis of a supplement of cod-liver oil, rich in eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in healthy young man. *Clinical Science 61* : 317-324, 1981