

## 참취 및 썸바귀 첨가식이 고지혈증 흰쥐의 심혈관 수축과 이완 및 혈관내피세포에 미치는 영향

임상선<sup>\*</sup> · 이종호

경상대학교 식품영양학과

### Effect of *Aster scaber* and *Ixeris dentata* on Contractility and Vasodilation of Cardiovascula and Endothelial Cell in Hyperlipidemic Rat

Sang-Sun Lim<sup>\*</sup> and Jong-Ho Lee

Dept. of Food and Nutrition, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea

#### Abstract

The effects of *Aster scaber* and *Ixeris dentata* on cardiovascular system in hyperlipidemic rats were examined. Five groups of thirty Sprague Dawley rats were fed with the diet contained 1% cholesterol, 0.25% sodium cholate, 10% coconut oil and 5% lard(control group) for 4 weeks. Each experimental diet group was added with 5% plant powder or extract of the 5% plant powder by dry weight. Contractile or relaxation responses in the isolated atria and thoracic aortae were measured and the morphological changes of the aortic endotherium from the rats fed the experimental diet were inspected. In response to isoproterenol, the number of right atrial spontaneous beat was significantly lower in Cham chy powder group(PP<sub>1</sub>) and Sumbagui powder group(PP<sub>2</sub>) than control at 10<sup>-6</sup>M concentration. The contraction forces by injection of phenylephrine and calcium in isolated thoracic aorta were significantly low in each experimental groups compared with the control. The relaxation rates by acetylcholine represented comparatively higher value in PP<sub>1</sub> than control. The morphological changes of endothelial cell surface was a little in PP<sub>1</sub> and PP<sub>2</sub> compared with control, while the damages were considerably advanced in Cham chy and Sumbagui extract diet group(PE<sub>1</sub>, PE<sub>2</sub>).

**Key words:** *Aster scaber*, *Ixeris dentata*, hyperlipidemic, contraction, relaxation

#### 서 론

심장순환기계 질환을 유발시키는 여러 위험인자중 혈중 콜레스테롤 및 중성지방 농도, 지단백질 조성 등의 변화는 심장 및 혈관의 형태학적 변화를 초래하게 된다. 동맥경화증의 초기 병변중 형태학적인 중요한 변화는 내피막하층에 지질이 축적되는 것이 특징적인데, 콜레스테롤의 투여로 대동맥의 intima 및 내피세포 손상을 유발하고(1-3), lipid peroxide, oxidised LDL 또한 내피세포를 손상시켜 동맥경화, 고혈압, 당뇨 등에서 내피세포 의존적 이완이 감소된다고 보고되어 있다(4-6). 고지혈증 쥐의 혈액중 LDL, VLDL 및 lipid peroxide 등의 증가로 인한 내피세포의 손상과 동맥벽의 비후 등은 혈관의 수축반응에도 변화를 주는 것으로 보고되고 있다(7-9). 그 밖에 혈관이완 물질이나 혈소판 응집제

해 물질, 항산화 물질 등은 동맥경화증이나 심혈관계 질환의 병변을 지연시키는 것으로 알려져 있다(10,11). 근래에는 한방이나 민간요법을 근거로 하여 식품의 효능을 과학적으로 입증하고, 활성 성분을 추출하여 지질대사 개선작용을 보고하고 있는데 이러한 식이 요인이나 활성 성분에 의한 혈액 지질농도의 조절 뿐만 아니라 여러 활성물질을 함유한 식품의 심장 및 혈관계에 대한 수축, 이완, 형태학적 변화에 미치는 영향을 종합적으로 연구할 필요가 있다. 따라서 본 연구에서는 전보(12)에서 지질대사 개선작용이 있는 것으로 나타난 참취(*Aster scaber*)와 썸바귀(*Ixeris dentata*)가 심혈관계에 미치는 영향을 검토하고자 분말과 추출물 형태로 흰쥐의 고지혈증 유발식에 첨가하여 급여한 후 적절한 심장과 혈관의 수축, 이완반응 및 혈관 내피세포의 형태학적 변화를 조사하였다.

<sup>\*</sup>To whom all correspondence should be addressed

## 재료 및 방법

### 시료

본 실험에서 사용한 재료는 진주 일원에 자생하는 참취(*Aster scaber*) 및 썸바귀(*Ixeris dentata*)를 채취하여 3회 세척하고 음건한 후 100mesh로 분쇄하여 사용하였다.

### 실험동물과 식이조성

평균 체중이 약 80~110g인 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐를 6마리씩 5군으로 나누어 전보(12)와 동일한 방법으로 사육하였고, 실험식이의 조성은 야자유 10%와 돈지 5%, cholesterol 1%와 soldium cholate 0.25%를 첨가하여 조제하였다. 참취, 썸바귀(PP<sub>1</sub>, PP<sub>2</sub>)는 분말상태로 각각 5%씩 첨가하고 참취, 썸바귀 추출물식이군(PE<sub>1</sub>, PE<sub>2</sub>)은 5%에 상당하는 분말을 20배량의 증류수를 가하고 3회 열수추출하여 회전 진공농축기로 농축시킨 후 사료에 첨가하였다(Table 1).

### 실험동물의 처리

실험동물은 4주간의 사육기간의 최종일에 12시간 절식시킨 후 에테르로 흡입마취시킨 후 가능한 한 빨리 심장과 흉부 대동맥을 적출하여 Krebs용액(mM : NaCl 118.5, KCl 4.74, NaHCO<sub>3</sub> 24.9, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.18, MgSO<sub>4</sub>

Table 1. Composition of experimental diet (g/100g)

| Ingredient               | Group <sup>1)</sup> |                                   |                                   |
|--------------------------|---------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                          | Control             | PP <sub>1</sub> , PP <sub>2</sub> | PE <sub>1</sub> , PE <sub>2</sub> |
| Sucrose                  | 40.0                | 40.0                              | 40.0                              |
| Casein                   | 20.0                | 20.0                              | 20.0                              |
| Coconut oil              | 10.0                | 10.0                              | 10.0                              |
| Lard                     | 5.0                 | 5.0                               | 5.0                               |
| Mineral mixture          | 3.5                 | 3.5                               | 3.5                               |
| Vitamin mixture          | 1.0                 | 1.0                               | 1.0                               |
| DL-Methionine            | 0.3                 | 0.3                               | 0.3                               |
| Choline bitartrate       | 0.2                 | 0.2                               | 0.2                               |
| Cholesterol              | 1.0                 | 1.0                               | 1.0                               |
| Sodium cholate           | 0.25                | 0.25                              | 0.25                              |
| Cellulose                | 1.0                 | 1.0                               | 1.0                               |
| Corn starch              | 17.75               | 12.75                             | 12.75                             |
| Plant powder             | —                   | 5.0                               | —                                 |
| Plant extract and starch | —                   | —                                 | 5.0                               |

<sup>1)</sup>The experimental diet groups mixed with the plant are as follows

- PP<sub>1</sub>; The powder of Cham chui(*Aster scaber*)
- PP<sub>2</sub>; The powder of Sumbagui(*Ixeris dentata*)
- PE<sub>1</sub>; The extract of Cham chui(*Aster scaber*)
- PE<sub>2</sub>; The extract of Sumbagui(*Ixeris dentata*)

1.18, CaCl<sub>2</sub> 2.5, Glucose 10, EDTA 0.1)에 옮겨 적출장기 실험에 사용하였다.

### 심장 및 혈관 표본의 준비

심장은 95% O<sub>2</sub>와 5% CO<sub>2</sub>의 혼합가스가 연속적으로 공급되는 Krebs용액 속에서 우심방근을 분리하여 10ml 용량의 Krebs액이 담겨있는 37°C의 organ bath에 담고 우심방근의 하단을 근육고정기에 고정하고 상단은 등력성 근수축 변화기(force-displacement transducer) F-60에 연결하여 수축력을 연속적으로 기록하였다. 이러한 조건하에서 실험은 근수축이 평형상태를 유지하도록 1시간이 경과한 후부터 시작하였다.

혈관표본은 95% O<sub>2</sub>와 5% CO<sub>2</sub>의 혼합가스가 연속적으로 공급되는 가운데 혈관 주변의 조직과 지방 등을 제거하고 3mm 크기의 환상으로 잘라 실험에 사용하였다. 혼합가스가 공급되는 10ml용량의 37°C organ bath에 삼각형 tungsten wire로 연결한 흉대동맥 고리를 한쪽 끝은 고정하고 다른 쪽 끝은 transducer(FT-03, Grass)에 연결하여 polygraph(79E physiograph, Gass)의 pen recorder에 기록되게 하였다. 기초장력을 1g으로 하고, 20분 간격으로 Krebs용액을 갈아주면서 1시간 동안 평형을 유지시킨 후 실험을 실시하였다.

### 수축력 및 이완도의 측정

각 식이군 흰쥐의 심장의 수축력은 isoproterenol(10<sup>-8</sup>~10<sup>-5</sup>M)을 누적적으로 첨가하여 약물에 대한 우심방근의 민감도를 polygraph상에 기록된 박동수로써 표시하였다. 흉부대동맥의 수용체를 통한 수축력을 측정하기 위하여 phenylephrine(10<sup>-8</sup>~10<sup>-5</sup>M)을 투입하여 혈관 수축을 관찰하였다.

수용체를 통한 수축에 있어서 calcium유입에 의한 효과를 관찰하기 위하여 calcium free Krebs용액(mM : NaCl 118.5, KCl 4.74, NaHCO<sub>3</sub> 24.9, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.18, MgSO<sub>4</sub> 1.18, Glucose 10, EDTA 0.1, EGTA 2.0)이 담겨 있는 organ bath에 10분 정도 방치한 후 약물을 첨가하였다. Phenylephrine(10<sup>-6</sup>M)을 첨가하여 일시적인 수축을 관찰한 다음 이것을 기준으로 하여 calcium(0.1~2.5mM)을 첨가하여 혈관 수축을 관찰하였다.

내피세포 의존성 혈관이완을 관찰하기 위하여 phenylephrine(10<sup>-6</sup>M)으로 수축시킨 후 acetylcholine(10<sup>-8</sup>~10<sup>-5</sup>M)을 누적적으로 투입하였다.

### 혈관 내피세포의 형태학적 관찰

각 식이군 흰쥐의 흉대동맥을 내피세포가 손상되지

양도록 조심스럽게 잘라 Krebs액에 담그고 95% O<sub>2</sub>와 5% CO<sub>2</sub>의 혼합가스가 연속적으로 공급되는 가운데 37°C를 유지하면서 1시간 방치하였다. Tyrode용액(mM : NaCl 136.9, KCl 2.68, CaCl<sub>2</sub> 1.84, MgCl<sub>2</sub> 1.05, NaHCO<sub>3</sub> 11.9, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.42, Glucose 5.55)으로 행귀낸 후 2.5% glutaldehyde로 고정된 다음 1% osmium tetroxide로 혈관을 재고정하였고, 에탄올로 탈수시켰다. Gold palladium으로 coating하여 주사형 전자현미경(DS 130C ISIABT)으로 내피세포를 관찰하였다.

실험결과는 mean ± S.E.로 표시하였으며 실험군 간의 통계적 유의성 검정은 SPSS 프로그램을 이용하여 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple test를 통하여 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 심장의 수축력

Table 2은 실험식이를 섭취한 흰쥐의 우심방근에 isoproterenol을 누적적으로 투입하였을 때의 심근의 반응을 1분간의 박동수로 나타낸 것으로서 대조군은 여타군에 비하여 대체로 우심근의 박동수가 빠른 경향을 보였으며 썸바귀 분말군에서 가장 낮은 수치를 나타내었고, 쥐 분말군 또한 10<sup>-8</sup>M 농도에서 대조군에 비하여 유의하게 낮았다. Isoproterenol의 농도가 증가함에 따라 각 실험군 간에 유의성은 없지만 각 분말군이 비교적 낮은 경향이였다.

역학적 연구에서 높은 수준의 심박동수는 관상 심장질환의 위험요소이며 관상동맥 경화증의 심각도와 관련이 있다고 하였는데(13,14), 심박수는 박동성 혈류의 전단응력방향(shear stress direction)으로 진동을 줌으로써 동맥경화증에 직접적인 영향을 미칠 수 있으며(15), 심박수가 높은 경우 중성지방, 총 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤의 수준이 높은 것으로 보고되었다(16,17). 본 연구에서는 isoproterenol에 대한 심방근의

감응도를 조사한 결과 LDL과 총 콜레스테롤의 농도가 낮은 분말군(12)이 대조군에 비해 심근박동수가 낮은 경향을 나타내었으나 그 작용기전에 대한 자세한 연구가 요구된다.

### 혈관의 수축력

Table 3은 실험식이군의 적절한 흉부 대동맥에 phenylephrine(10<sup>-8</sup>~10<sup>-5</sup>M)을 투입한 후의 혈관 수축력을 나타낸 것으로서 10<sup>-8</sup>M에서는 대조군에 비하여 각 시료첨가군에서 수축력이 낮게 나타났으며 10<sup>-8</sup>M과 10<sup>-7</sup>M 농도에서 대조군에 비하여 시료첨가군이 유의적으로 낮은 수축력 반응을 보였으며 특히 참취와 썸바귀 분말군에서의 수축력은 대조군의 41~52% 정도였다. 고농도(10<sup>-6</sup>~10<sup>-5</sup>M)에서도 유사한 경향으로 대조군에 비하여 각 시료 첨가군이 유의하게 낮았으며 전반적으로 참취와 썸바귀 분말군이 추출물군에 비하여 낮은 수축력을 나타내었다. 칼슘을 제거한 Krebs용액중에서 10<sup>-6</sup>M 농도의 phenylephrine 존재하에 칼슘을 0.1~2.5mM 농도로 투입하였을 때 칼슘투입에 의한 각 실험군의 혈관 수축력은 Table 4와 같다. 칼슘 0.1mM 농도에서는 각 시료의 분말군의 수축력은 대조군에 비해 유의하게 낮은 값을 보였는데 분말군은 대조군의 수축력의 42~49%이었고, 0.5mM 농도에서도 유사한 경향을 나타내어 각 시료 분말군이 대조군의 68% 이하이었다. 칼슘은 혈관 평활근의 수축을 조절하는 중요한 인자로서 혈관수축에 이용되는 칼슘은 세포의 외부에서 유입되거나 세포내부의 칼슘이 유리되는 것이고(18), 혈관의 수축은 주로 탈분극에 의한 calcium channel을 통해서 일어나게 된다(19). 수축성 효전제로는 norepinephrine, phenylephrine, 5-hydroxy-tryptamine, histamine, antensin 등이 있는데 이들 화합물은 calcium channel을 통한 세포의 칼슘의 유입을 증가시키는 것으로 보고되었다(20). 콜레스테롤은 *in vitro*에서 개의 관상대동맥

Table 2. Spontaneous beat response to isoproterenol of right arterial from rats fed the experimental diets (heart rate/min)

| Group           | Concentration of isoproterenol(M) |                         |                         |                         |                         |                         |                         |
|-----------------|-----------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                 | 1                                 | 3×10 <sup>-8</sup>      | 10 <sup>-7</sup>        | 3×10 <sup>-7</sup>      | 10 <sup>-6</sup>        | 3×10 <sup>-8</sup>      | 10 <sup>-5</sup>        |
| Control         | 355.2±18.0 <sup>bl)</sup>         | 397.4±16.1 <sup>a</sup> | 413.0±15.3 <sup>a</sup> | 420.4±13.7 <sup>a</sup> | 422.9±13.0 <sup>a</sup> | 415.5±17.8 <sup>a</sup> | 413.3±17.0 <sup>a</sup> |
| PP <sub>1</sub> | 320.7±20.6 <sup>a</sup>           | 354.7±19.6 <sup>a</sup> | 351.3±25.3 <sup>a</sup> | 373.4±17.1 <sup>a</sup> | 375.7±14.2 <sup>a</sup> | 381.3±15.1 <sup>a</sup> | 382.3±16.1 <sup>a</sup> |
| PP <sub>2</sub> | 293.8±22.8 <sup>a</sup>           | 342.0±20.4 <sup>a</sup> | 357.3±19.0 <sup>a</sup> | 371.7±16.8 <sup>a</sup> | 375.4±17.1 <sup>a</sup> | 390.8±15.9 <sup>a</sup> | 377.7±18.1 <sup>a</sup> |
| PE <sub>1</sub> | 351.2±18.0 <sup>b</sup>           | 387.4±16.1 <sup>a</sup> | 380.3±19.9 <sup>a</sup> | 411.7±15.6 <sup>a</sup> | 384.1±20.0 <sup>a</sup> | 391.0±22.3 <sup>a</sup> | 391.3±22.2 <sup>a</sup> |
| PE <sub>2</sub> | 349.3±19.7 <sup>b</sup>           | 393.4±17.2 <sup>a</sup> | 409.9±15.7 <sup>a</sup> | 418.2±14.5 <sup>a</sup> | 415.4±15.7 <sup>a</sup> | 410.9±17.8 <sup>a</sup> | 411.5±18.1 <sup>a</sup> |

<sup>1)</sup>Mean ± S.E.

Means in the same column sharing a common superscript letter are not significantly different(p<0.05)

을 수축시켰으며 콜레스테롤에 노출된 혈관은 세포의 칼슘에 대해 민감하게 반응하며(21), 지질의 과산화 또한 칼슘이동에 이상을 초래하고 세포내 칼슘을 증가시킨다는 보고도 있다(22). 고지혈증 토끼에서 수축성 표현제인 ergometrine과 5-hydroxytryptamine에 대한 민감도가 증가되었으며(7,23), 고콜레스테롤 혈증이 있는 쥐와 개에서 내피세포를 제거한 혈관에서도 norepinephrine, serotonin, clonidine에 대한 수축반응이 증가되었다는 보고들이 있다(24,25). 이와는 반대로 Verbeuren 등(26)은 16주간 토끼에게 cholesterol을 급여하였을 때 intima층의 상해가 증가함에 따라 norepinephrine과 clonidine에 의한 수축반응이 감소하였는데 이는  $\alpha_2$  교감신경 수용체의 반응성이 감소된데 기인한다고 하였다.

본 실험에서는 4주간 고콜레스테롤 식이를 섭취시킨 후 흰쥐의 혈관에서 phenylephrine과 칼슘의 반응을 본 것으로서 혈관 내피세포 변화에 의한 endothelium dependent relaxing factor(EDRF)의 생성 및 분비장애로 cGMP의 감소와 칼슘의 반응성 증가 등이 예상되거나 4주간의 사육기간으로는 intima층의 조직학적 상해가 심각하지 않을 것으로 짐작되는데 총 콜레스테롤, LDL 및 VLDL의 농도가 높은 대조군(12)에서의 혈관 수축반응이 시료 섭취군에 비해 크게 나타났다. 이와 같이 각 분말군의 수축력이 뚜렷이 낮았고, 추출물군 또한 대조군에 비해 낮은 경향을 나타냈는데 이는 시

료의 급여에 따른 혈청 지질성분의 개선효과로 인하여 혈관에서 내피세포 변화가 지연되고, 교감신경  $\alpha$ 수용체와 칼슘에 대한 반응성이 낮게 나타난 것으로 생각된다.

**혈관의 이완도**

Table 5는 참취 및 썸바귀의 급여가 혈관의 내피세포 의존성 이완에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 대조군 및 각 시료군의 흉부대동맥에 acetylcholine을  $10^{-5}$ M 까지 누적적으로 투입하였을 때의 혈관이완 반응을 phenylephrine  $10^{-6}$ M을 투입하였을 때의 수축력의 백분율로 나타낸 것으로서 acetylcholine이 낮은 농도( $10^{-8} \sim 3 \times 10^{-7}$ M)에서는 각 시료급여군은 대조군에 비하여 대체로 이완도가 큰 것으로 나타났고 각 시료의 분말군이 추출물군 보다 이완율이 높은 경향을 보였다.  $10^{-6}$ M 과  $10^{-5}$ M 농도에서도 대조군에 비해 각 시료군의 이완율이 높게 나타났고 그 중 참취 분말군에서 유의한 차이가 있었다. Acetylcholine은 내피세포 의존성 이완인자인 nitric oxide를 분비시키므로써 cGMP 생성이 증가되어 혈관 평활근이 이완되는데 이 NO는 반응성 산소대사물에 의해 쉽게  $\text{NO}_2$ 로 되어 불활성화되는 것으로 알려져 있다(27,28). 고지혈증 또는 동맥경화성 혈관에서는 EDRF 생성 또는 방출이 감소되고, 혈관 평활근의 반응장애로 인하여 내피세포 의존성 혈관이완

**Table 3. Contraction response to phenylephrine of thoracic aortae from rats fed the experimental diets for 4 weeks (contractile force, g)**

| Group           | Concentration of phenylephrine(M) |                      |                      |                    |                   |                    |                      |
|-----------------|-----------------------------------|----------------------|----------------------|--------------------|-------------------|--------------------|----------------------|
|                 | $10^{-8}$                         | $3 \times 10^{-8}$   | $10^{-7}$            | $3 \times 10^{-7}$ | $10^{-6}$         | $3 \times 10^{-6}$ | $10^{-5}$            |
| Control         | $0.15 \pm 0.04^{b1)}$             | $0.71 \pm 0.09^c$    | $1.34 \pm 0.07^c$    | $1.69 \pm 0.05^c$  | $1.81 \pm 0.07^c$ | $1.92 \pm 0.07^c$  | $1.97 \pm 0.07^c$    |
| PP <sub>1</sub> | $0.11 \pm 0.02^{ab}$              | $0.37 \pm 0.07^{ab}$ | $0.67 \pm 0.08^a$    | $0.98 \pm 0.07^a$  | $1.10 \pm 0.08^a$ | $1.25 \pm 0.05^a$  | $1.29 \pm 0.06^a$    |
| PP <sub>2</sub> | $0.09 \pm 0.01^a$                 | $0.29 \pm 0.06^a$    | $0.68 \pm 0.10^a$    | $0.97 \pm 0.11^a$  | $1.16 \pm 0.05^a$ | $1.27 \pm 0.07^a$  | $1.32 \pm 0.06^a$    |
| PE <sub>1</sub> | $0.12 \pm 0.02^b$                 | $0.47 \pm 0.04^b$    | $1.02 \pm 0.04^b$    | $1.23 \pm 0.05^b$  | $1.39 \pm 0.05^b$ | $1.46 \pm 0.05^b$  | $1.50 \pm 0.05^{ab}$ |
| PE <sub>2</sub> | $0.10 \pm 0.04^{ab}$              | $0.37 \pm 0.10^{ab}$ | $0.88 \pm 0.07^{ab}$ | $1.22 \pm 0.05^b$  | $1.41 \pm 0.07^b$ | $1.51 \pm 0.07^b$  | $1.57 \pm 0.71^b$    |

<sup>1)</sup>Mean  $\pm$  S.E.

Means in the same column sharing a common superscript letter are not significantly different( $p < 0.05$ )

**Table 4. Contraction response to extracellular calcium induced contraction of thoracic aortae from rats fed the experimental diets for 4 weeks (contractile force, g)**

| Group           | Concentration of calcium(M) |                      |                      |                   |                   |
|-----------------|-----------------------------|----------------------|----------------------|-------------------|-------------------|
|                 | 0                           | 0.1                  | 0.5                  | 1                 | 2.5               |
| Control         | $0.26 \pm 0.02^{c1)}$       | $0.61 \pm 0.07^c$    | $1.25 \pm 0.07^b$    | $1.50 \pm 0.09^b$ | $1.59 \pm 0.08^b$ |
| PP <sub>1</sub> | $0.14 \pm 0.01^{ab}$        | $0.30 \pm 0.03^{ab}$ | $0.84 \pm 0.07^a$    | $1.02 \pm 0.07^a$ | $1.12 \pm 0.08^a$ |
| PP <sub>2</sub> | $0.10 \pm 0.02^a$           | $0.26 \pm 0.07^a$    | $0.85 \pm 0.10^a$    | $1.01 \pm 0.10^a$ | $1.09 \pm 0.10^a$ |
| PE <sub>1</sub> | $0.17 \pm 0.01^b$           | $0.59 \pm 0.08^c$    | $1.17 \pm 0.08^b$    | $1.44 \pm 0.07^b$ | $1.54 \pm 0.06^b$ |
| PE <sub>2</sub> | $0.18 \pm 0.05^b$           | $0.58 \pm 0.08^{bc}$ | $1.06 \pm 0.14^{ab}$ | $1.28 \pm 0.13^b$ | $1.44 \pm 0.12^b$ |

<sup>1)</sup>Phenylephrine induced transient contraction in calcium free Krebs media was regarded as baseline

Mean  $\pm$  S.E. Means in the same column sharing a common superscript letter are not significantly different( $p < 0.05$ )

Table 5. Comparison of relaxation response to acetylcholine of aortic rings from rats fed experimental diets for 4 weeks (%)

| Group           | Concentration of acetylcholine(M) |                       |                       |                       |                        |                        |                        |
|-----------------|-----------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
|                 | 1                                 | $3 \times 10^{-8}$    | $10^{-7}$             | $3 \times 10^{-7}$    | $10^{-6}$              | $3 \times 10^{-6}$     | $10^{-5}$              |
| Control         | 9.5±1.7 <sup>a1)</sup>            | 30.0±4.5 <sup>a</sup> | 60.0±4.5 <sup>a</sup> | 75.7±3.3 <sup>a</sup> | 82.5±2.5 <sup>a</sup>  | 82.6±2.6 <sup>a</sup>  | 83.3±2.5 <sup>a</sup>  |
| PP <sub>1</sub> | 14.6±4.7 <sup>a</sup>             | 41.3±5.7 <sup>a</sup> | 75.9±4.2 <sup>a</sup> | 87.0±2.7 <sup>a</sup> | 93.4±1.5 <sup>b</sup>  | 94.9±1.2 <sup>b</sup>  | 95.5±3.7 <sup>b</sup>  |
| PP <sub>2</sub> | 14.9±2.4 <sup>a</sup>             | 40.1±3.9 <sup>a</sup> | 73.7±2.8 <sup>a</sup> | 84.1±3.3 <sup>a</sup> | 86.3±2.3 <sup>ab</sup> | 92.1±2.7 <sup>ab</sup> | 93.1±2.3 <sup>ab</sup> |
| PE <sub>1</sub> | 14.7±2.4 <sup>a</sup>             | 38.4±5.2 <sup>a</sup> | 72.1±7.3 <sup>a</sup> | 85.7±3.4 <sup>a</sup> | 90.5±2.7 <sup>ab</sup> | 89.8±1.3 <sup>ab</sup> | 91.8±2.5 <sup>ab</sup> |
| PE <sub>2</sub> | 12.8±2.4 <sup>a</sup>             | 34.8±3.5 <sup>a</sup> | 67.0±3.4 <sup>a</sup> | 80.7±2.0 <sup>a</sup> | 88.7±1.3 <sup>ab</sup> | 89.4±2.8 <sup>ab</sup> | 91.0±1.2 <sup>ab</sup> |

<sup>1)</sup>Thoracic aortic rings were precontracted submaximally with phenylephrin( $10^{-6}$ M). Acetylcholin( $10^{-8} \sim 10^{-5}$ M) was added at the time of peak contractile responses to phenylephrin

Relaxation was expressed as percentage of contraction to phenylephrin( $10^{-6}$ M)

Mean±S.E. Means in the same column sharing a common superscript letter are not significantly different( $p < 0.05$ )

이 감소된다고 보고하고 있는데(5,6), 동맥경화성 혈관에서 adenylyl cyclase와 guanylyl cyclase 활성의 감소는 이러한 혈관의 이완반응 감소 및 수축효과의 증진과 관련이 있을 수 있다고 하였다(29). LDL과 함께 배양된 혈관에서 acetylcholine에 대한 이완이 감소되었고(30), 이러한 혈관이완의 감소는 동맥경화증이 발전되기 전 고콜레스테롤 혈증상태에서도 관찰되었다(4). 동맥경화를 유발하는 식이는 혈액과 혈관에 lipid peroxide 농도가 증가하여 내피세포에서 산화형 LDL이 생성되고, 혈소판 응집이 촉진되며 내피세포의 상해와 대식세포에 지질의 축적이 촉진된다고 하였고(1,3), 혈액중 산화물질의 존재는 LDL이 산화되는 것을 지연시켜 동맥경화 발현에 주요 인자인 산화된 LDL의 생성을 방지하게 된다. 산화된 LDL은 EDRF의 방출을 저해하거나 분해하며, 내피세포에 거품세포(foam cells)형성 및 혈소판 응집과 지질축적을 더욱 가속화시키는데(8,31) 산화물질의 존재는 이러한 진행을 완화시킨다(11, 32). 본 실험결과에서는 참취, 썸바귀 분말군의 혈관 이완율이 대조군에 비해 높게 나타났고 특히 참취 분말군에서 혈관 이완율이 더욱 높았다. 추출물 급이군 또한 비교적 이완도가 큰 경향을 나타내었는데 이는 시료의 콜레스테롤과 VLDL, LDL 농도의 저하효과(12)에 의하여 내피세포의 손상이 지연되어 EDRF 분비 또는 혈관 평활근의 반응장애가 억제되었기 때문인 것으로 짐작된다.

#### 혈관 내피세포의 형태학적 변화

정상쥐와 실험식이군 흰쥐의 혈관 내피세포를 전자현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 1(A, B, C, D, E, F)과 같다. 정상쥐(A)와 대조군(B)의 혈관 내피세포에서 정상쥐는 표면이 부드럽고 규칙적이며 손상되지 않은 상태였고 대조군은 표면이 거칠고 솜같은 것으로 덮혀 있으며 동공형성 등이 관찰되었다. 참취 분말군(C)의

내피세포는 거의 손상되지 않은 상태였으나 약간의 백혈구 부착이 관찰되었으며, 썸바귀 분말군(D)에서는 불규칙한 배열, 표면이탈 및 부풀어 오른 상태를 보였으나 대조군에 비해 내피세포의 손상이 적었다. 한편 각 시료의 추출물 급이군에서는 불규칙한 배열, 액포, 피사 및 동공형성 등이 나타났으며 썸바귀 추출물군(F)은 내피세포의 상해가 조금 더 심한 상태였다. 동맥경화의 초기단계에서 나타나는 내피세포의 상해는 부풀어 오르고 일그러진 형태를 보이며 백혈구 부착이 증가할 뿐만 아니라 내피세포의 표면과 내부에 지질의 액포현상이 발견된다(33). 콜레스테롤을 16주간 투여한 토끼의 대동맥에서 내피세포의 이탈과 불규칙적인 배열, 내피세포 표면의 원형함몰부(creator) 등이 관찰되었고(2), 단핵구와 혈소판이 응집하여 거품세포(foam cell)의 형성이 나타나는데(5), 지질의 과산화와 반응성 산소대사물에 의하여 LDL이 산화됨으로써 이러한 변화가 가속화되는 것으로 알려져 있다(1,3,8). 고콜레스테롤 식이를 섭취한 동물에서 지질의 내피세포 투과성이 증가되며(34), 이러한 혈관내 콜레스테롤 축적증가로 세포 matrix가 증식된다(35). 또한 당뇨성 혈청에서 VLDL의 증가는 혈관내피세포를 손상시켰고(36,37), 고지혈증 환자의 VLDL이 소의 대동맥 내피세포의 손상을 유발하는 것으로도 보고되었다(38). 본 실험결과에서도 혈청 VLDL과 LDL의 농도가 낮은 참취 분말급이군에서 내피세포의 상해가 가장 적었으며 시료추출물군에서는 분말군에 비하여 내피세포의 손상이 심했는데 이는 시료분말 속에 함유된 섬유소나 열수로 추출되지 않는 성분에 의하여 혈청 VLDL과 LDL 농도가 저하되었고(12) 이러한 지단백질의 감소로 인하여 내피세포의 손상이 지연된 것으로 보인다.

#### 요 약

국화과에 속하는 식용식물중 참취 및 썸바귀가 고

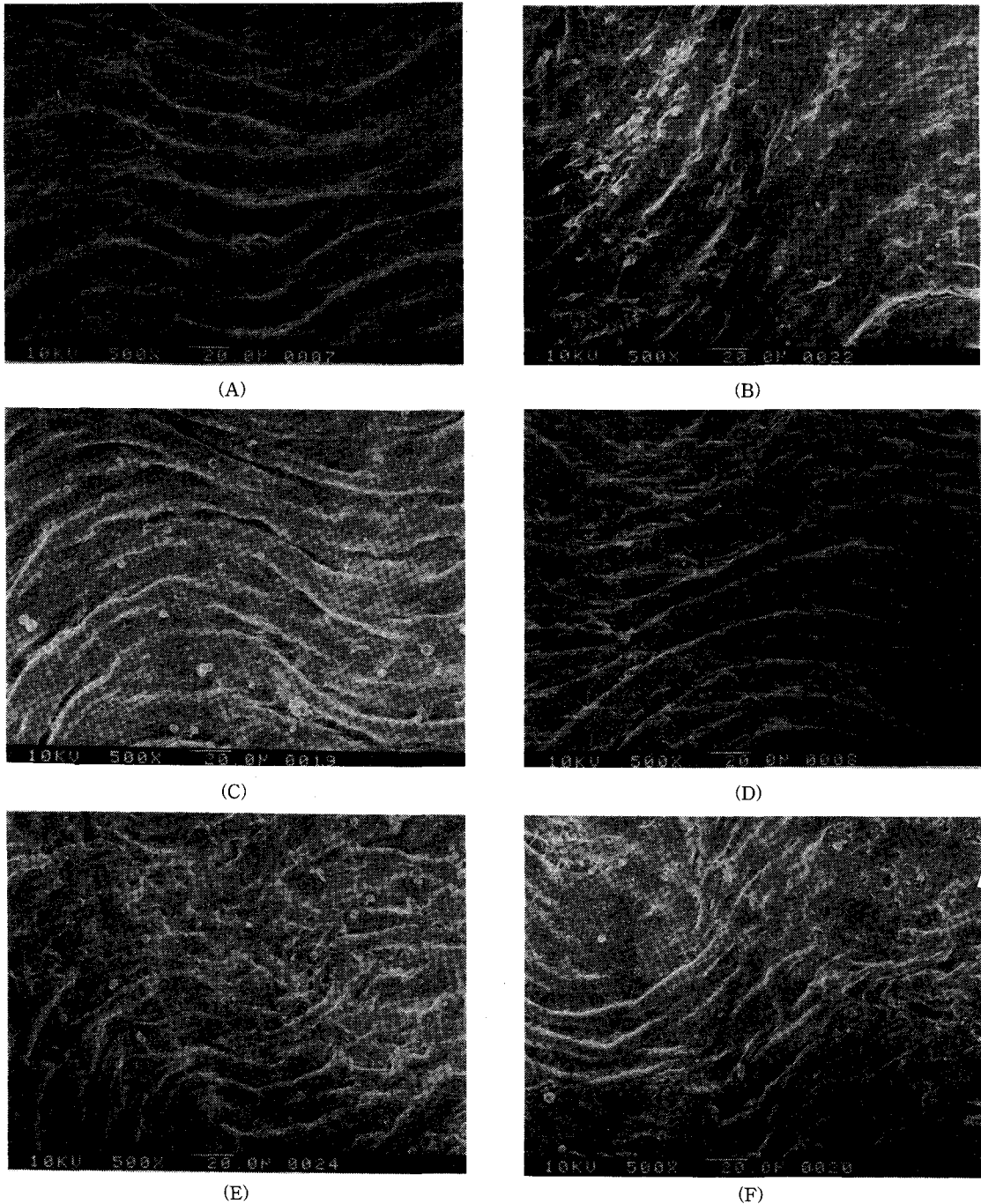


Fig. 1. Scanning electron microscopic photograph of aortic endothelium from normal rat(A), the control rat(B), Cham chui powder diet group(C), Sumbagui powder diet(D), Cham chui extract diet group(E) and Sumbagui extract diet group(F).

지혈증 흰쥐의 지질대사와 심혈관계에 미치는 영향을 구명하기 위하여 S.D.계 흰쥐에게 각각의 분말 5%와 그에 상당하는 열수추출물을 급이하여 4주간 실험사

육한 후 적출한 심장과 혈관의 수축 이완반응 및 혈관 내피세포의 형태학적 변화를 관찰하였다. 심방근의 isoproterenol에 대한 반응에서 우심방근의 박동수는

각 분말급이군에서 대체로 낮은 수치를 보였다. 흉부 대동맥의 phenylephrine과 calcium 투입에 의한 혈관의 수축반응은 대조군에 비하여 각 시료급이군에서 유의하게 낮았으며 특히 분말군이 추출물군 보다 수축반응이 낮게 나타났다. 흉부대동맥의 acetylcholine에 의한 이완반응은 각 시료급이군이 대조군에 비해 이완도가 대체로 큰 것으로 나타났고, 특히 참취 분말군이 유의하게 높았다. 혈관 내피세포의 전자현미경적 관찰결과에 의하면 참취 분말군이 내피세포의 손상이 가장 적었으며 썸바귀 분말군에서도 손상이 상당히 지연되었으나 추출물군에서 대조군 보다 손상의 정도는 약하지만 각각의 분말군 보다 많은 것으로 나타났다. 이러한 결과들을 종합하여 볼 때 참취와 썸바귀는 혈중 콜레스테롤과 LDL 및 VLDL 등의 농도를 저하시키므로써 혈관수축과 이완반응 및 혈관내피세포의 변화를 지연시킨 것으로 생각되며 참취나 썸바귀의 분말상태로의 급여는 분말중의 섬유소나 열수로 추출되지 않는 성분들로 인하여 추출하였을 때 보다 이러한 효과가 더욱 뚜렷한 것으로 나타나는데 참취와 썸바귀의 이러한 작용은 심장 순환기계질환의 치료와 예방에 긍정적인 영향을 줄 것으로 기대된다.

## 문 헌

1. Fogelman, A. M., Shechter, T., Seager, J., Hokem, M., Child, J. S. and Edwards, P. A. : Malondialdehyde alteration of LDL leads to cholesterol ester accumulation in human monocyte and macrophage. *Pro. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**, 2214(1980)
2. Kishino, Y., Yoshioka, A. and Wakitani, C. : Effect of cholesterol diet on aorta of hypertensive rats(SHRSP)-ultrastructural study. *Tokushima. J. Exp. Med.*, **35**, 115(1988)
3. Stringer, M. D., Gorog, P. G., Freeman, A. and Kakker, V. V. : Lipid peroxides and atherosclerosis. *Br. Med. J.*, **289**, 281(1989)
4. Creager, M. A., Cooke, J. P., Mendelsohn, M. E., Gallagher, S. J., Coleman S. M., Loscalzo, J. and Dzau, V. J. : Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J. Clin. Invest.*, **86**, 228(1990)
5. Jayakody, L., Senaratne, M. P. J., Thomson, A. B. R., Sreeharan, N. and Kappagoda, C. T. : Persistent impairment of endothelium dependent relaxation to acetylcholin and progression of atherosclerosis following 6 weeks of cholesterol feeding in the rabbit. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **67**, 1454(1989)
6. Lefer, A. M. and Ma, X. L. : Decresed basal nitric oxide release in hypercholesterolemia increased neutrophil adherence to rabbit coronary artery endothelium. *Arteriosclerosis and Thrombosis*, **13**, 771(1993)
7. Cohen, R. A., Shepherd, J. T. and Vanhoutte, P. M. : Inhibitory role of the endothelium in the response of isolated coronary arteries to platelets. *Science*, **221**, 273(1983)
8. Flavahan, N. A. : Atherosclerosis of lipoprotein induced endothelial dysfunction. *Circulation*, **85**, 1927(1992)
9. Henry, P. D. and Yokoyama, M. : Supersensitivity of atherosclerotic rabbit aorta to ergonovine. Mediation by a serotonergic mechanism. *J. Clin. Invest.*, **66**, 306(1980)
10. Tonkin, A. : Calcium channel blockers. *Medical progress*, **17**, 36(1995)
11. Steinberg, D. : Antioxidants in the prevention of human atherosclerosis. *Circulation*, **85**, 2338(1992)
12. 임상선, 이종호 : 참취 및 썸바귀의 성분조성과 혈청지질 저하작용에 대한 연구. *한국식품영양과학회지*, **26**, 123(1997)
13. Kannel, W. B., Kannel, C., Paffenbarger, R. S. and Cupples, L. A. : Heart rate and cardiovascular mortality-The Framingham study. *Am. Heart J.*, **113**, 1489(1987)
14. Perski, A., Hamsten, A., Lindvall, K. and Theorell, T. : Heart rate correlates with severity of coronary atherosclerosis in young postinfarction patients. *Am. Heart J.*, **116**, 1369(1988)
15. Beere, P. A., Glagov, S. and Zarins, C. K. : Retarding effect of lowered heart rate on coronary atherosclerosis. *Science*, **226**, 180(1984)
16. Williams, P. T., Haskell, W. L., Vranizan, K. M., Blair, S. N., Krauss, R. M., Superko, H. R., Albers, J. J., Frey-Hewitt, B. and Wood, P. D. : Associations of resting heart rate with concentrations of lipoprotein subfractions in sedentary men. *Circulation*, **71**, 441(1985)
17. Bφnaa, K. H. and Arnesen, E. : Association between heart rate and atherogenic blood lipid fractions in a population. *Circulation*, **86**, 394(1992)
18. Minneman, K. P. : Alpha-1 adrenergic receptor subtypes, inositol phosphates and source of cell calcium. *Pharmacol. Rev.*, **40**, 87(1988)
19. Van Breemen, C., Aaronson, P., Loutzenhler, P. R. and Meisheri, K. : Ca<sup>2+</sup> movements in smooth muscle. *Chest*, **78**, 157(1980)
20. Cauvin, C., Lukeman, S., Cameron, J., Hwang, O. and Van Breemen, C. : Defferences in norepinephrine activation and diltiazem inhibition of Ca<sup>++</sup> channels in isolated rabbit aorta and mesenteric resistance vessels. *Cir. Res.*, **56**, 822(1985)
21. Yokoyama, M. and Henry, P. D. : Sensitization of isolated canine coronary arteries to calcium ions after exposure to cholesterol. *Cir. Res.*, **45**, 479(1979)
22. Ebersole, B. J. and Mdinoff, P. B. : Inhibition of binding of [<sup>3</sup>H] PN 200-110 to membranes from rat brain and heart by ascorbate is mediated by lipid peroxidation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **259**, 337(1991)
23. Yokoyama, M., Akita, A., Mizutani, T., Fukuzaki, H. and Watanabe, Y. : Hyperactivity of coronary arterial smooth muscles in response to ergonovine from rabbits with hereditary hyperlipidemia. *Cir. Res.*, **53**, 63(1983)
24. Cocks, T. M. and Angus, J. A. : Endothelium-dependent relaxation of coronary arteries by noradrenaline and serotonin. *Nature*, **305**, 627(1983)
25. Egleme, C., Godfraind, T. and Miller, R. C. : Enhanced

- responsiveness of rat isolate aorta to clonidine after removal of the endothelial cells. *Br. J. Pharmacol.*, **81**, 16(1984)
26. Verbeuren, T. J., Jordaens, F. H., Zonnekeyn, L. L., Van Hove, C. E., Coene, M. C. and Herman, A. C. : Effect of hypercholesterolemia on vascular reactivity in the rabbit. *Cir. Res.*, **58**, 552(1986)
  27. De Mey, J. G. and Vanhoutte, P. M. : Heterogeneous behavior of the canine arterial and venous wall. *Cir. Res.*, **51**, 439(1982)
  28. Vanhoutte, P. M. and Shimokawa, H. : Endothelium-derived relaxing factor and coronary vasospasm. *Circulation*, **80**, 1(1989)
  29. Schmidt, K., Klatt, P. and Mayer, B. : Hypercholesterolemia is associated with a reduced response of smooth muscle guanylyl cyclase to nitrovasodilator. *Arteriosclerosis and Thrombosis*, **13**, 1159(1993)
  30. Andrews, H. E., Bruckdorfer, K. R., Dunn, R. C. and Jacobs, M. : Low-density lipoproteins inhibit endothelium-dependent relaxation in rabbit aorta. *Nature*, **327**, 237(1987)
  31. Steinberg, D. and Witztum, J. L. : Lipoproteins and atherogenesis. *J.A.M.A.*, **264**, 3047(1990)
  32. Lehr, H. A., Becker, M., Marklund, S. L., Hubner, C., Arfors, K. E., Kohschutter, A. and Messmer, K. : Super-oxide dependent stimulation of leukocyte adhesion by oxidatively modified LDL *in vivo*. *Arteriosclerosis and Thrombosis*, **12**, 824(1992)
  33. Lefer, A. M. and Sedar, A. W. : Endothelial alterations in hypercholesterolemia and atherosclerosis. *Pharmacological Research*, **23**, 1(1991)
  34. Ross, R. : The pathogenesis of atherosclerosis an update. *N. Engl. J. Med.*, **314**, 488(1986)
  35. Nielsen, L. B., Nordestgaard, B. G., Stender, S. and Kjøløsen, K. : Aortic permeability to LDL as a predictor of aortic cholesterol accumulation in cholesterol-fed rabbits. *Arteriosclerosis and Thrombosis*, **12**, 1402(1992)
  36. Arbogast, B. W., Berry, D. L. and Newell, C. L. : Injury of arterial endothelial cells in diabetic sucrose fed and aged rats. *Atherosclerosis*, **51**, 31(1984)
  37. Arbogast, B. W., Berry, D. L. and Raymond, N. : *In vitro* injury of porcine aortic endothelial cells by very low density lipoproteins from diabetic rats serum. *Diabetes*, **31**, 593(1982)
  38. Gianturco, S. H., Eskin, S. G., Navarro, L. T., Lahart, C. T., Smith, L. C. and Gotto, M. : Abnormal effects of hypertriacylglycerolemic very low-density lipoproteins on 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase activity and viability of cultured bovine aortic endothelial cell. *Biochem. Biophys. Acta*, **618**, 143(1980)

(1997년 1월 8일 접수)