

노화과정에 따른 흰쥐의 지방대사와 혈전능의 변화*

엄민영[§] · 노경아 · 김미경

이화여자대학교 식품영양학과

Age-Related Changes of Lipid Metabolism and Thrombogenic Capacity in Rats*

Um, Min Young[§] · Rho, Kyoung Ah · Kim, Mi Kyung

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

ABSTRACT

This study was performed to investigate the age-related changes of the lipid metabolism and thrombogenic capacity in Sprague-Dawley (SD) rats at the ages of 4, 8, 12, 16, 20 and 24 months old. Total lipid, triglyceride (TG) and total cholesterol in plasma and liver, HDL-cholesterol concentration, and eicosanoid contents in plasma were measured. Lipid peroxides were determined by the levels of thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) in LDL fraction. Body weight was increased continuous until 16 months and decreased after 20 months. Epididymal fat pad (EFP) weight was increased continuously until 20 months and decreased at 24 months. Total lipid and TG concentrations in plasma were increased until 20 months and then rapidly decreased at 24 months but plasma cholesterol was increased continuously with aging. HDL-cholesterol level was increased continuously until 12 months, but decreased at 16 months and maintained there after. The TBARS levels in LDL fraction were the highest level at 24 months. Liver total lipid, TG, and total cholesterol concentrations were shown a tendency to increase with aging, and especially TG concentration was increased rapidly from 12 months to 16 months. Plasma thromboxane B₂ (TXB₂) and 6-keto-prostaglandin F₁ (6-keto-PGF₁) contents did not change with aging, but the ratio of TXB₂/6-keto-PGF₁ was increased with aging, especially from 8 to 12 months. These results showed that lipid levels in plasma and liver, TBARS levels in LDL fraction, and TXB₂/6-keto-PGF₁ ratio were increased with aging. (*Korean J Nutrition* 37(7) : 525~532, 2004)

KEY WORDS : aging, lipid metabolism, thrombogenic capacity.

서 론

노인인구의 증가는 전 세계적인 추세로 우리나라의 경우, 2000년 65세 이상의 노인인구는 전체인구의 약 7.2%로 이미 고령화 사회 (aging society)에 이미 진입하였고¹⁾ 이에 따라 노인의 건강문제와 함께 노화에 대한 관심이 고조되고 있다.

노화란 시간경과에 따른 연속적 현상으로 생체기능의 감소를 의미한다.²⁾ 나이가 들어감에 따라 증가하는 산화스트레스는 세포구성성분에 손상을 초래하여 암, 효소활성의 저하, 염증 촉진 및 세포막의 변화를 가져와 노화 및 돌연변이를 유발한다고 알려져 있다.³⁾ 또한 연령이 증가되면 혈액

내 지방 성분인 중성지방과 콜레스테롤 함량이 증가한다고 보고⁴⁾되고 있으며, 노화와 관련된 퇴행성 질환 중의 하나인 관상동맥질환에서 oxidized LDL이 proatherogenic 역할을 하는 것으로 많은 연구들에서 제공되고 있다.^{5,6)}

혈소판 응집 반응은 동맥경화나 혈전형성 및 혈관 협착에 의한 색전증 (embolism)의 주요한 병인으로 여겨지는 것으로 inflammatory condition에서 arachidonic acid가 세포막으로부터 유출되어 lipoxygenase와 cyclooxygenase에 의해 prostaglandin endoperoxide와 thromboxane A₂ (TXA₂)로 대사되는 과정을 통하여 일어난다.^{7,8)} Prostaglandin endoperoxide와 TXA₂는 혈소판을 활성화시켜서 활성화된 혈소판이 혈관벽에 침착, 응집되도록 유도하고, lipid peroxide와 free radical의 발생을 증가시킴과 동시에 내피 세포에서 항혈전 및 혈관이완인자인 prostacyclin과 nitrous oxide가 생성되는 것을 방해한다.⁷⁻⁹⁾ Kim 등¹⁰⁾의 연구에 의하면 노령쥐 (17개월)와 젊은 쥐 (4개월)를 비교 시 노령쥐에서 혈청지질 수준이 높았고, 노로 배설된 TXB₂와 PGE₂

접수일 : 2004년 7월 16일

채택일 : 2004년 8월 19일

*This research was supported by grants from Jiwon Co. Ltd.

[§]To whom correspondence should be addressed.

농도에는 유의적 차이가 나타나지 않았으나 나이증가에 따른 신장기능의 변화는 체내 eicosanoids 대사에 영향을 미칠 것으로 제시하였다.

노화에 따라 나타나는 지방대사와 혈전능의 변화는 노화 과정에서 나타나는 체내대사 변화의 기전을 설명할 수 있는 하나의 현상으로서 검토되어 왔다. 그러나 노화과정에 따른 변화를 관찰한 많은 연구¹¹⁻¹³⁾들의 대부분이 노화가 급속히 진행되도록 유전적으로 조작한 실험동물을 사용하여서 정상적인 노화과정을 대변할 수 없고, 변화속도나 변화양상은 파악되지 않는다. 따라서 본 연구는 생애초기로부터 노령기까지의 나이 증가에 따른 지질 대사와 혈전능의 변화를 파악하고자 한다.

연구방법

1. 실험동물의 사육

본 실험에서는 샘타코 바이오 코리아에 의뢰하여 출생시부터 동일한 환경에서 고휘배합사료 [(주)삼육동물실험연구소: 조단백 22%이상, 조지방 4.5%이상, 조섬유 6.0%이하, 조회분 8.0%이하, Ca 0.7%이상, P 0.50%이상]로 사육한 4, 8, 12, 16, 20, 24월령의 Sprague-Dawley (SD, outbred)종 수컷 흰쥐를 각 7마리씩 총 42마리를 대상으로 하였다. 실험동물들은 본 동물사육실로 옮긴 후에 1주일간 동일한 고휘배합사료 [(주)삼육동물실험연구소]로 적응시킨 후, 희생하였다. 혈액 및 간 조직, 변에서의 지방과 LDL 내 지질 과산화물 함량을 분석하였으며, 혈장에서 eicosanoids 함량 및 비율을 분석하여 가령에 따른 지방대사와 혈전능의 변화를 관찰하였다.

2. 변, 혈액 및 장기의 채취

실험동물을 희생하기 4일 전부터 대사장 (metabolic cage)에서 12시간씩 2회에 걸쳐 24시간 동안의 변을 채취하였는데, 이때 두 번 채취한 변을 합쳐 1일간의 변으로 간주하였다. 식이에 의해 변의 성분이 오염되는 것을 막기 위하여 식이 그릇을 넣어주지 않았다. 이 기간 중 물 (탈 이온 증류수)은 제한 없이 공급하였으며 채취한 변은 무게를 측정 후 -20°C 에서 냉동 보관하였다.

실험기간이 종료된 실험동물은 12시간 절식시킨 후 diethyl ether로 마취시켜 개복한 후 10 ml 주사기를 이용하여 심장에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 응고되는 것을 방지하기 위해 heparin (25000 IU/5 ml)이 들어있는 원심분리관에 담아 ice bath에 20분간 방치한 후 2,800 rpm, 4°C 에서 30분간 원심분리 (Refrigerated multi-purpose

centrifuge union 55R, Hanil, Korea)하여 적혈구와 혈장을 분리하였다. 혈장 중 지질의 수준을 측정하기 위하여 -70°C deep freezer 보관하였으며, LDL 내 지질 과산화물 함량은 채혈 즉시 측정하였다. 또한 혈장의 일부는 eicosanoids 측정을 위해 혈장 600 μl 에 EDTA 용액 57 μl 와 absolute alcohol에 녹인 0.04 M indomethacin 용액 3 μl 을 넣어 가볍게 혼합한 후 분석 전까지 -70°C deep freezer에 보관하였다. 위의 EDTA 용액은 2 g의 disodium EDTA와 0.8 g의 NaCl을 증류수로 녹인 후 NaOH로 pH 7.4를 맞추고 최종 부피가 100 ml가 되도록 제조한 것으로 indomethacin 용액과 함께 혈장에 첨가되어 arachidonic acid가 prostaglandins로 전환되지 않도록 한다.

간은 혈액 채취한 후 떼어내어 ice cold saline에 세척한 다음 여지로 물기를 제거하여 -70°C deep freezer에 보관, 지질 함량 분석에 사용하였다. 그 외 부고환 지방을 적출하여 무게를 측정하였다.

3. 생화학적 분석

1) 혈장의 총 지방, 중성 지방, 총 콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤

혈장의 총 지방 농도는 Frings법¹⁴⁾으로 측정하여 540 nm에서 spectrophotometer (Spectronic 301, Milton Roy, USA)로 흡광도를 측정하고, olive oil를 이용한 표준곡선에 의하여 함량을 산출하였다. 혈장의 중성 지방과 콜레스테롤 농도는 효소법을 이용한 분석 kit (영동제약)를 이용하였고, HDL-콜레스테롤 농도는 LDL 및 very low density lipoprotein (VLDL)을 침전시킨 후 효소법으로 측정하는 분석 kit (아산제약)를 이용하여 500 nm에서 흡광도를 측정 (HP 8453, Hewlett Packard, USA)하였다.

2) 간과 변의 총 지방, 중성 지방 및 총 콜레스테롤

간과 변의 총 지방 농도는 Bligh와 Dyer법¹⁵⁾으로 측정하였다. 간과 변의 중성 지방과 콜레스테롤 농도는 위에서 추출한 총 지방을 methanol로 녹여 혈장에서와 같은 방법으로 kit를 이용하여 측정하였다.

3) Low density lipoprotein fraction의 Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS) 함량

Low density lipoprotein (LDL) fraction은 밀도 용액을 이용하여 원심분리하면 상층에 lipoprotein이 분리되는 ultracentrifugation¹⁶⁾에 의해 분리하였다. 분석에 필요한 혈장은 실험동물 한 마리의 혈장으로는 부족하여 각 군의 실험동물의 혈장을 일정량씩 모아 pooling하여 LDL 분리에 사용하였다. 추출한 LDL내 TBARS 함량은 Chiu 등¹⁷⁾ 방법을 이용하여 532 nm에서 흡광도를 측정 후, 1,1,3,3,-tetra

methoxypropane를 표준시약으로 하고 검량선을 기준하여 정량하였다.

4) 혈장의 Thromboxane B₂ 함량

Thromboxane A₂ (TXA₂)는 혈소판 응집의 강력한 inducer이며 vaso-constrictor로 작용하는데, 반감기가 30 초 정도로 매우 빠르게 가수 분해 되어 비교적 안정한 형태인 thromboxane B₂ (TXB₂)를 형성한다. 따라서 TXB₂를 측정하는 것이 TXA₂의 좋은 지표가 될 수 있다. 분석방법은 unlabelled TXB₂와 일정량의 peroxidase로 labelled된 TXB₂간의 한정된 수의 specific antibody의 결합 위치에 대한 competition을 근거로 한 enzyme immunoassay (EIA) kit (amersham phamacia biotech, UK)를 사용하였다. 1 M 황산 용액을 넣어 반응을 종결시키고 생성된 반응물질을 450 nm에서 microtitre plate photometer (SPECTRA MAX 340, USA)로 읽어 비색정량 하였다. 이 때 TXB₂ 표준용액의 농도범위는 0~64 pg/well 이었다.

5) 혈장의 6-keto-prostaglandin F_{1α} 함량

Prostacyclin (PGI₂)은 TXA₂와 생리적으로 정반대의 작용을 하며, 불안정하여 자발적 가수분해 과정을 거쳐 6-keto-prostaglandin F_{1α}가 된다. 따라서 6-keto-prostaglandin F_{1α}를 측정하는 것이 PGI₂ 형성량을 대표한다고 하겠다. 분석방법은 TXB₂의 분석 원리와 같으며 EIA kit(amersham phamacia biotech, UK)를 사용하여 반응시킨 후, 1 M 황산 용액을 넣어 반응을 종결시키고 450 nm에서 microtitre plate photometer (SPECTRA MAX 340, USA)로 측정하였다.

4. 통계처리

본 연구의 동물사육 실험결과는 실험군당 평균과 표준 오차를 계산하였고 각 군별로 나누어 일원배치 분산분석 (one-way analysis of variance)을 한 후 α=0.05 수준에서 Duncan's multiple range test에 의하여 각 실험군 평균치간의 유의성을 검정하였다.

연구결과

1. 체중과 장기 무게의 변화

월령이 다른 쥐의 체중과 부고환 지방의 무게는 Fig. 1에 제시하였다. 체중의 경우 4개월에서 16개월까지는 체중이 증가하였으나 20개월에 체중이 감소하여 20, 24개월에는 비슷한 수준을 보였다. 부고환 지방의 무게는 4개월에서 20개월까지 월령이 증가할수록 무게가 증가하였다가 24월령에서 다시 감소하였다(Fig. 1).

2. 지방 대사의 변화

1) 혈장 내 지질 농도

혈장 내 지질 함량 분석 결과 및 총 콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율은 Table 1과 같았다. 혈장 총 지방 및 중성 지방 수준은 20개월까지 월령의 증가에 따라 계속 증가하다가 24개월에서 수준이 급격히 낮아졌다. 혈

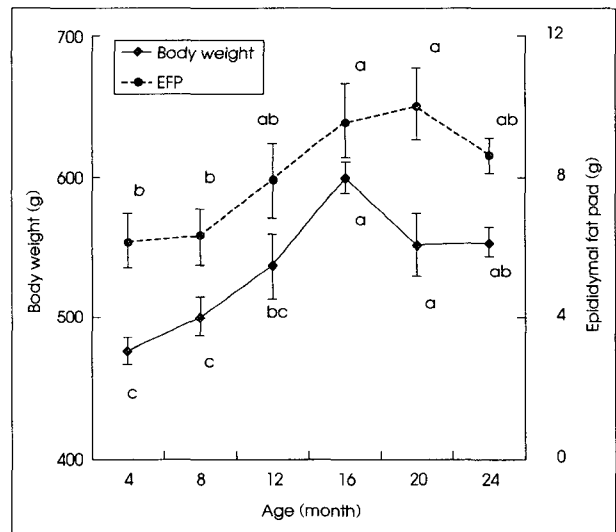


Fig. 1. Body and Epididymal fat pad (EFP) weights in rats with different age. Values are mean ± SE. Data with different superscripts in each age are significantly different at p < 0.05.

Table 1. Plasma lipids and HDL cholesterol: total cholesterol ratio in rats with different age¹⁾

Age	Plasma lipids (mg/dl)				HDL cholesterol: total cholesterol ratio
	Total lipids	Triglycerides	Total cholesterol	HDL cholesterol	
4 month	351.45 ± 28.81 ^{c2)}	36.04 ± 6.61 ^b	72.19 ± 5.93 ^d	26.38 ± 2.55 ^b	0.31 ± 0.02 ^{ab}
8 month	359.52 ± 19.50 ^c	48.05 ± 4.51 ^b	79.06 ± 7.00 ^{cd}	36.29 ± 3.44 ^a	0.37 ± 0.04 ^{ab}
12 month	416.09 ± 13.08 ^b	49.26 ± 5.41 ^b	87.15 ± 7.39 ^{bcd}	38.69 ± 3.56 ^a	0.45 ± 0.07 ^a
16 month	468.10 ± 14.48 ^a	52.26 ± 10.15 ^b	105.45 ± 6.00 ^{abc}	31.15 ± 1.27 ^{ab}	0.29 ± 0.05 ^b
20 month	478.85 ± 4.19 ^a	74.85 ± 6.82 ^a	110.45 ± 9.51 ^{ab}	30.12 ± 1.27 ^{ab}	0.32 ± 0.06 ^{ab}
24 month	370.12 ± 9.47 ^{bc}	41.69 ± 5.49 ^b	126.98 ± 15.29 ^a	30.54 ± 1.73 ^{ab}	0.29 ± 0.02 ^b

1) Values are mean ± standard error (n = 7)

2) Values with different alphabet within the column are significantly different at α = 0.05 by Duncan's multiple range test

장 총 콜레스테롤 수준은 월령에 따라 계속적으로 증가하여 24월령에서 가장 수준이 높았다. 반면 혈장 HDL-콜레스테롤은 8개월에 현저히 증가하여 12월령까지 비슷한 수준을 지속하였으나 16개월부터는 다소 감소하여 24개월까지 비슷한 수준을 유지하였다. 총 콜레스테롤에 대한 HDL-콜레스테롤의 비율은 12월령에서 가장 높은 수준을 나타내었다가 감소하여 16개월부터 24개월령까지 비슷한 수준을 보였다(Table 1).

2) 간의 지질 농도

간 조직 1 g당 총 지방, 중성 지방 및 총 콜레스테롤 농도를 Table 2에 제시하였다. 총 지방 수준이 가장 높았던 16, 24월령은 가장 낮은 4월령에 비하여 유의적인 차이를 보였을 뿐 나머지 월령군 간에는 큰 차이가 없었다. 중성 지방은 4개월에서 12개월까지는 유의적인 차이를 보이지 않았으나 16개월이 4~12월령보다 유의적으로 증가하여 약 2배정도의 차이를 보였으며, 그 이후 24개월까지 서서히 증가하는 경향을 보여주었다. 총 콜레스테롤 수준은 4개월에서 16개월까지는 유의적이지 않으나 서서히 증가하는 경향을 보였고 24개월에는 16개월에 비하여 유의적으로 증가하여 가장 높았다. 따라서 간의 총 지방, 중성 지방 및 총 콜레스테롤 농도는 모두 연령에 따라 서서히 증가하는 경향을 보였다(Table 2).

3) 변의 지질 배설량

변의 무게와 변으로의 총 지방, 중성지방 및 총 콜레스테롤

Table 2. Liver total lipids, triglycerides, and total cholesterol concentrations in rat with different age¹⁾ (mg/g wet weight)

Age	Total lipids	Triglycerides	Total cholesterol
4 month	21.70 ± 1.01 ^{b2)}	4.81 ± 0.59 ^b	1.65 ± 0.13 ^c
8 month	24.05 ± 1.47 ^{ab}	5.34 ± 0.73 ^b	1.98 ± 0.25 ^{bc}
12 month	24.21 ± 1.11 ^{ab}	5.48 ± 0.32 ^b	2.24 ± 0.19 ^{bc}
16 month	26.70 ± 1.34 ^a	8.85 ± 0.95 ^a	2.20 ± 0.18 ^{bc}
20 month	25.50 ± 1.81 ^{ab}	9.36 ± 1.83 ^a	2.57 ± 0.21 ^{ab}
24 month	26.97 ± 1.02 ^a	10.79 ± 1.28 ^a	2.94 ± 0.19 ^a

1) 2) See table 1

Table 3. Fecal weight and lipid excretions in rat with different age¹⁾

Age	Fecal wet weight (g/day)	Fecal excretions (mg/day)		
		Total lipids	Triglycerides	Total cholesterol
4 month	1.79 ± 0.04 ^{b2)}	36.50 ± 1.87 ^b	0.66 ± 0.04 ^{abc}	2.87 ± 0.41 ^a
8 month	1.76 ± 0.07 ^b	35.61 ± 2.76 ^b	0.46 ± 0.05 ^c	1.94 ± 0.49 ^{ab}
12 month	1.55 ± 0.10 ^b	34.50 ± 1.18 ^b	0.44 ± 0.02 ^c	1.65 ± 0.15 ^b
16 month	2.30 ± 0.15 ^a	35.16 ± 0.85 ^b	0.56 ± 0.09 ^{bc}	2.18 ± 0.19 ^{ab}
20 month	1.92 ± 0.18 ^b	45.57 ± 0.85 ^a	0.88 ± 0.11 ^a	2.31 ± 0.22 ^{ab}
24 month	1.92 ± 0.13 ^b	43.85 ± 1.69 ^a	0.74 ± 0.11 ^{ab}	2.51 ± 0.27 ^{ab}

1) 2) See table 1

롤의 배설량은 Table 3에 제시하였다. 일일 변 평균 무게(wet weight g/day)는 16월령이 다른 월령의 변 무게보다 높은 수치를 보였을 뿐 다른 월령에서는 차이가 없었다. 변의 총 지방 배설량은 16개월령 까지 차이를 보이지 않다가 20개월령에서 유의적으로 증가하여 24월령에도 비슷한 수준을 보였다. 중성지방과 총 콜레스테롤 배설량은 4월령에서 높게 나타나다가 8개월에서 감소하여 16월령에서 다시 증가하였다. 따라서 변 중 지질 배설량은 대체로 20월령 이후 높은 경향을 보였다(Table 3).

4) Low density lipoprotein fraction 내 지질 과산화물 함량

가령에 따른 low density lipoprotein (LDL)의 과산화 정도를 비교하여 보기 위해서 LDL fraction의 지질 과산화물 함량 (TBARS values)을 측정하였는데 그 결과는 Table 4와 같았다. 그 결과를 살펴보면, 4, 8월령은 비슷한 수치를 보였으며 12월령에서 다소 낮은 수준을 보이다가 16개월

Table 4. TBARS levels of LDL fraction in rat with different age¹⁾

Age	TBARS (nmole/ml LDL fraction)
4 month	1.856
8 month	1.849
12 month	1.135
16 month	1.548
20 month	1.800
24 month	3.868

1) Values from pooled plasma per experimental group

Table 5. Plasma Content and Ratio of TXB2 and 6-keto-PGF1 α in rats with different age¹⁾

Age	TXB ₂ (ng/dl plasma)	6-keto-PGF _{1α} (ng/dl plasma)	TXB ₂ /6-keto-PGF _{1α}
4 month	118.02 ± 19.49 ^{NS3)}	8.66 ± 1.30 ^{NS}	6.66 ± 0.27 ^{c2)}
8 month	91.09 ± 12.63	6.47 ± 0.84	7.56 ± 0.54 ^{bc}
12 month	114.48 ± 30.78	4.97 ± 0.87	10.32 ± 0.32 ^{ab}
16 month	129.71 ± 39.10	6.13 ± 1.77	10.92 ± 1.80 ^a
20 month	96.41 ± 30.54	4.48 ± 1.48	11.26 ± 1.23 ^a
24 month	123.75 ± 34.70	5.42 ± 1.36	11.67 ± 0.92 ^a

1) 2) See table 1

3) Not significant

이후에 다시 증가하여 24개월에서 가장 높은 수치를 나타내었다(Table 4).

3. 혈전능의 변화

혈장 내 thromboxane B₂ (TXB₂)와 6-keto-prostaglandin F_{1α} (6-keto-PGF_{1α}) 합량 및 그 비율을 측정 한 결과는 Table 5와 같았다. 혈장내 TXB₂와 6-keto-PGF_{1α} 합량은 각 월령군간에 유의적인 차이를 나타내지 않았으나, TXB₂/6-keto-PGF_{1α} 비율은 4월령군에서 가장 낮은 수치를 나타내었고, 가령에 따라 점차 증가하여 24월령군에서 가장 높은 수치를 보여서 4개월에 비해 그 비율이 약 1.8배 증가하였다(Table 5).

고 찰

실험동물의 체중은 4월령에서 16월령까지 증가하였고 20월령에서 감소하여 24월령까지 지속되었다. Corman 등¹⁸⁾은 Wistar (WAG/Rij) 중 흰쥐 암컷을 선택하여 6월령에서 30월령까지의 체중을 조사하였는데 체중은 18월령까지 계속 증가하나 18월령과 30월령 사이에는 더 이상 증가를 보이지 않았다고 하여 본 실험의 체중 결과와 비슷한 경향을 보였다. 부고환 지방은 20개월까지 월령이 증가할수록 그 무게가 증가하였다. 더욱이 체중이 12월령과 16월령 사이에 증가하였는데 부고환 지방 무게도 그 시기에 증가폭이 커서 서로 비슷한 경향을 나타내었다.

본 연구에서 혈장의 총 지방 농도는 20월령까지 계속적으로 증가하다가 24월령에 급격히 감소하였으며, 중성 지방 농도는 16월령에서 20월령 사이에 가장 큰 증가폭을 보여 20월령에서 가장 높은 수치를 보이다가 급격히 감소하여 24월령은 4월령과 비슷한 수치를 나타내었다. 반면에 혈장 콜레스테롤 농도는 월령에 따라 계속적으로 증가하였다. Dagny 등¹⁹⁾은 혈청 콜레스테롤의 수준이 월령에 따라 증가하는 기전을 cholesterol 7α-hydroxylase의 활성 감소로 설명하였다. 즉 콜레스테롤은 연령에 관계없이 일정하게 생성되는 반면 cholesterol 7α-hydroxylase의 활성은 감소하여 담즙 생성이 저하되고, 이로 인하여 혈청 콜레스테롤 수준이 증가하기 때문이라고 하였다. 사람의 경우에도 혈청 콜레스테롤 함량이 연령 증가와 더불어 증가한다는 보고²⁰⁾가 있으며 Kritchevsky 등²¹⁾은 남자의 경우 17~55세에 도달할 때까지 서서히 증가하고 그 이후의 연령에서는 뚜렷한 경향을 찾아 볼 수가 없다고 하였다. 또한 사람의 혈중 콜레스테롤 수치는 남녀 간의 차이가 존재하는데, 20세 이전의 성장기에 있는 계층에서는 연령이 증가될수록 혈청 콜

레스테롤 함량이 감소되었다. 하지만 그 이후의 연령에서는 가령에 따라 계속 증가되어 남자는 50~60세, 여자는 60~70세에 최고치에 도달한다고 하였다.²²⁾ 이것은 본 연구의 흰쥐를 대상으로 한 결과와는 다소 차이를 보여 혈중 콜레스테롤 수준은 동물의 종, 성별, 연령의 차이가 있음을 알 수 있었다. Story 등²³⁾의 연구에서 2, 6, 12, 18, 24개월 된 female Fisher 344 rat의 혈장 콜레스테롤 양은 가령에 따라 점차적으로 증가한 것을 볼 수 있었으며 특히 18~24월령 사이에 급격한 증가를 보여 본 연구와 비슷한 경향을 나타내었다. 가령에 따라 혈장 콜레스테롤 함량이 증가되는 이유를 생각해 보면, 연령이 증가함에 따라 소장으로부터 콜레스테롤 흡수율이 증가하고 LDL 수용체의 수가 감소되어,²⁴⁾ 위의 Dagny가 제시한 담즙 배설의 감소로 혈장 내 콜레스테롤 수준이 증가하기 때문인 것으로 보인다.

혈중 HDL-cholesterol 농도를 살펴보면 8월령에 현저히 증가하여 12월령까지 비슷한 수준을 지속하였으나 12월령까지 증가하다가 16월령에서 다시 감소하여 16, 20, 24월령이 비슷한 수준을 보였다. 본 실험에서 16, 20, 24월령이 4월령보다 HDL-콜레스테롤 양이 다소 높은 원인은 혈장 내 총 콜레스테롤의 증가와 더불어 HDL-콜레스테롤 농도도 증가되었기 때문인 것으로 사료된다. 한편 Applebaum-Bowden 등²⁵⁾은 연령 증가에 따라 간 내 HDL 분자 분해율이 감소되어 나타난 결과로 설명하였다. 하지만 HDL: total cholesterol ratio를 살펴보면 24월령에서 가장 낮은 수치를 보여 총 콜레스테롤 농도가 더욱 많이 증가됨을 알 수 있다. 사람을 대상으로 한 연구들에서 살펴보면 연령이 증가할수록 혈액 내의 HDL-콜레스테롤은 감소하며 LDL 함량은 서서히 증가하여 동맥경화를 일으키는 원인과 관계가 깊다고 하였다.²⁶⁾ Heiss 등²⁰⁾의 연구에서도 남녀 모두에서 연령이 증가할수록 HDL 농도가 낮아졌으나 여성이 상대적으로 높았다.

간의 총 지방 농도는 가령에 따라 증가하는 경향을 보였으며 중성 지방과 총 콜레스테롤 농도는 24월령까지 계속적으로 증가하였다. 특히 중성 지방 농도는 12월령에서 16월령 사이에 큰 폭으로 상승하였다. 노화가 진행되면서 인슐린의 저항 상태로 인하여 혈액 내 인슐린 함량은 증가하고 지방 조직의 축적이 증가되는 경향이 나타나는데,²⁷⁾ 간의 총 지방의 증가는 이러한 작용에 의한 결과로 생각된다.

Carlson 등²⁸⁾의 연구에서도 1, 6, 18, 24개월을 비교했을 때 점차적으로 콜레스테롤이 간에서 축적되는 것을 볼 수 있었으며 본 실험과 비슷한 경향을 나타내었다. 연령이 증가할수록 간의 콜레스테롤 대사에도 변화가 일어나는데 Dagny

등⁹⁾은 간의 콜레스테롤 함량 증가에 대한 가능한 기전으로 간 내 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase와 cholesterol 7 α -hydroxylase의 불균형적인 변화를 제시하였다. 이 실험에서 Spargue-Dawley 흰쥐 1, 6, 24월령 비교시 HMG-CoA reductase는 1개월에서 6개월 사이에 많이 감소하였으나 그 이후에는 변화가 없었으며 cholesterol 7 α -hydroxylase의 활성은 연령이 증가할수록 감소하였다. 따라서 HMG-CoA reductase/cholesterol 7 α -hydroxylase ratio는 가령에 따라 증가되고 더불어 acyl coA: cholesterol acyltransferase (ACAT) 활성도 증가하여 간 내 콜레스테롤 축적을 야기시킨 것으로 보인다. 이러한 효소의 가령에 따른 변화는 간에 콜레스테롤을 축적시키며 혈장의 콜레스테롤 함량을 증가시키는 것으로 생각된다.

변으로 배설되는 총 지방량은 16월령까지 뚜렷한 변화를 보이지 않다가 20, 24개월에서 배설량이 현저하게 증가하였으며 중성 지방과 총 콜레스테롤 배설량은 4월령에서 높게 나타나다가 8개월에서 감소하여 16월령에서 다시 증가하였다. 이때, 12월령에서 변 총 지질, 중성 지방 및 콜레스테롤 양이 가장 낮은 것은 변 배설량이 낮은 것에 기인한 것으로 보인다. 대체적으로 변의 지질 배설량은 20, 24월령에서 높은 수준을 보였다.

Low density lipoprotein 내 지질 과산화물 함량은 4, 8월령은 비슷한 수치를 보였으며 12월령에서 다소 낮은 수준을 보이다가 16개월 이후 증가하여 24개월에서 가장 높은 수치를 보였다. Schmuck 등²⁹⁾의 노인을 대상으로 한 연구에서는 노인이 젊은 사람에 비하여 LDL oxidation 정도가 더 높았으며 LDL 내 불포화지방산의 함량이 높았다고 보고되었다. 또한 LDL-콜레스테롤과 연령, 총 콜레스테롤과 연령은 서로 양적인 상관관계를 갖는다고 Mangion과 Roy가 보고하였다.³⁰⁾ 본 연구에서는 직접 조사하지 않았지만, 많은 연구^{5,6)}에서 연령증가에 따른 LDL-콜레스테롤의 증가를 보고하였으며 이는 LDL이 산화되는 기회를 증대시킬 것으로 생각된다. 또한 본 연구와 병행된 실험³¹⁾에서 연령에 따라 항산화 효소 (catalase, glutathione peroxidase)의 활성이 감소되었다. 이러한 조건들이 더욱더 LDL 산화를 가속화시켜 본 실험의 24월령에서 LDL fraction 내 지질 과산화물 수치가 가장 높았던 것으로 고려된다.

본 연구의 혈장내 TXB₂와 6-keto-PGF_{1 α} 의 함량은 나이변화에 따른 유의적인 차이가 나타나지 않았으나, TXB₂/6-keto-PGF_{1 α} 의 비율은 나이가 증가함에 따라 점차 증가되어져 24개월령의 TXB₂/6-keto-PGF_{1 α} 의 비율은 4개월 된 쥐와 비교할 때 거의 두 배 가량으로 나타났다.

Thromboxane B₂는 혈소판 응집과 혈관 수축을 유도하는 TXA₂의 좋은 지표로서 측정되었고, 6-keto-PGF_{1 α} 는 혈관 이완 인자인 PGI₂의 지표로서 측정되었다. Arachidonic acid (AA)를 갖고 있는 세포막 인지질은 phospholipase A₂에 의해 lysophospholipid와 AA를 유출시키고, 세포막으로부터 방출된 AA는 cyclooxygenase (COX)의 작용으로 PGG₂ 및 PGH₂를 거쳐서 thromboxane synthase의 작용을 받아 TXA₂를 생성하게 된다.⁹⁾ Cyclooxygenase를 경유하는 TXA₂의 이러한 생체내 합성과정은 lipid hydroperoxide (ROOH)에 의해 촉진되어 나타나므로,³²⁾ 가령에 따른 항산화 효소활성의 불균형과 지질과산화물의 조직 내 축적으로 인하여 혈장 TXA₂의 함량이 증가될 것으로 예측할 수 있다. 그러나 본 연구에서는 가령에 따라 혈장 내 TXA₂나 PGI₂의 함량 변화가 나타나지 않았고 다만 TXB₂/6-keto-PGF_{1 α} 의 비율이 가령에 따라 크게 증가되는 것으로 나타나 이러한 결과는 노인성 질환으로 분류되는 동맥경화와 같은 심혈관계 질환의 발생이 나이가 증가되면서 높아지는 것과 상관성이 있을 것으로 생각된다.

요약 및 결론

본 연구에서는 정상적인 노화 과정 중 지질 대사와 혈전능의 변화를 살펴보기 위하여 생후 4, 8, 12, 16, 20, 24개월 된 흰쥐 수컷을 대상으로 체중과 장기무게를 측정하였으며 혈장, 간 및 변의 지질 수준과 LDL 내 지질 과산화물 함량을 알아보았다. 그리고 혈장에서 TXB₂와 6-keto-PGF_{1 α} 의 함량 및 그 비율을 측정하였다.

1) 실험 I에서 4, 8, 12, 16, 20, 24개월 된 Sprague-Dawley 중 수컷 흰쥐의 체중은 16월령에서 가장 높았다가 20월령에서 다시 감소하였고, 부고환 지방은 20월령까지 증가하는 경향을 나타내었다.

2) 혈장 총 지방, 중성 지방 농도는 20월령까지 증가하다가 24월령에서 감소하였으며 혈장 콜레스테롤 농도는 가령에 따라 계속적으로 증가하였다. 혈장 HDL-콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤 : 총 콜레스테롤의 비율은 12월령에서 높은 수준이었으나 그 후 감소하여 16월령 이후는 비슷하였다. 그리하여 혈중 지질 수준은 12개월을 전후로 하여 급격한 변화를 나타내었다. 간 조직에서 지질 수준을 살펴보면 총 지질, 중성 지방 및 총 콜레스테롤 함량이 가령에 따라 증가하였으며 특히 간의 중성 지방은 12월령에서 16월령 사이에 급격히 증가하였다. 변의 지질 배설량은 4개월령에서 16월령까지 큰 변화가 없었으나 20월령 이후 높은 경향을 보였다.

3) Low density lipoprotein 내 지질 과산화물 함량은 12월령에서 가장 낮은 수준을 보였다가 그 이후부터 증가하여 24월령에서 급격히 증가하여 높은 수준을 보였다. 따라서 노년기에 LDL 내 지질 과산화물이 축적되는 것을 볼 수 있었다.

4) 흰쥐의 혈장내 TXB₂와 6-keto-PGF_{1α}의 함량은 가령에 따른 유의적인 변화가 없었으나, TXB₂/6-keto-PGF_{1α}의 비율은 가령에 따라 유의적으로 증가하여 특히 8~12개월 사이에 가장 큰 폭으로 증가하였다. 정상적인 노화과정에서 혈소판응집 및 혈전생성이 eicosanoids의 절대적인 함량보다 그 비율의 변화에 의해 증가되어 나타나는 것으로 생각된다.

따라서 본 연구결과를 종합해 보면, 정상적인 노화 과정에서 체내 지방은 축적되며 혈장과 간의 지질 수준 및 LDL 내 지질 과산화물 생성은 가령에 따라 증가하였는데, 특히 16개월 이후에 급격한 변화를 나타내었다. 또한 혈장 내 eicosanoids의 불균형은 가령에 따라 심화되는 것을 알 수 있었다.

Literature cited

- 1) Population projection for Korea. 2000-2050, Korea National Statistical Office, Republic of Korea, 2001
- 2) Hanman D. Aging: A theory based on free radical and radical chemistry. *J Gerontology* 11: 298-305, 1956
- 3) Husain SR, Cillard J, Cillard P. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry* 26 (9) : 2489-2491, 1987
- 4) Kim SH, Kim HW. Aging. Mineumsa, 1997
- 5) Chiu HC, Jeng JR, Shieh SM. Increased oxidizability of plasma low density lipoprotein from patients with coronary artery disease. *Biochimica et Biophysica Acta* 1225: 200-208, 1994
- 6) Schmuck A, Cindy J. Fuller, Sridevi D, Ishwarlal J. Effect of aging on susceptibility of low-density lipoproteins to oxidation. *Clin Chem* 41 (11) : 1628-1632, 1995
- 7) Nijveldt RJ, Nood E, Hoorn DEC, Boelens PG, Norren K, Leeuwen PAM. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr* 74: 418-425, 2001
- 8) Nelson DL, Cox MM. Lehninger Principles of Biochemistry 3rd edition, 2001
- 9) Petroni A, Blasevich M, Salami M, Papini N, Montedoro GF, Galli C. Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. *Thrombosis Res* 78 (2) : 151-160, 1995
- 10) Kim HY, Lee SJ, Jeong HJ. Effect of different types of dietary fat in renal functions in aged rats. *Korean J Nutr* 31 (3) : 253-262, 1998
- 11) Matsugo S, Kitagawa T, Minami S, Esashi Y, Oomura Y, Tokumaru S, Kojo S, Matsushima K, Sasaki K. Age-dependent

changes in lipid peroxide levels in peripheral organs, but not in brain, in senescence-accelerated mice. *Neurosci Lett* 278: 105-108, 2000

- 12) Kurokawa T, Asada S, Nishitani S, Hazeki O. Age-related changes in manganese superoxide dismutase activity in the cerebral cortex of senescence-accelerated prone and resistant mouse. *Neurosci Lett* 298: 135-138, 2001
- 13) Umezawa M, Takeda T, Kogishi K, Higuchi K, Matushita T, Wang J, Chiba T, Hosokawa M. Serum Lipid Concentrations and Mean Life Span Are Modulated by Dietary Polyunsaturated Fatty Acids in the Senescence-Accelerated Mouse. *J Nutr* 130: 221-227, 2000
- 14) Frings CS, Dunn RT. A colorimetric method for determination of total serum lipid based on the sulfuric-phospho-vanillin reaction. *Am J Clin Nutr* 53: 89, 1970
- 15) Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 67: 911-917, 1959
- 16) Havel RJ, Eder HA, Bragdan JH. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest* 34: 1345-1353, 1955
- 17) Chiu HC, Jeng JR, Shieh SM. Increased oxidizability of plasma low density lipoprotein from patients with coronary artery disease. *Biochimica et Biophysica Acta* 1225: 200-208, 1994
- 18) Corman B, Pratz J, Poujeol P. Changes in anatomy, glomerular filtration, and solute excretion in aging rat kidney. *Am J Physiol* 248: R282-R287, 1985
- 19) Dagny S, Angelin B, Kurt E. Age-related changes in the metabolism of cholesterol in rat liver microsomes. *Lipids* 26: 349-352, 1991
- 20) Heiss G, Tamir I, Davis CE, Tyroler HA, Rifkind BM, Schonfeld G, Jacobs D, Frantz ID. Lipoprotein-cholesterol distributions in selected North American populations: the lipid research clinics program prevalence study. *Circulation* 61 (2) : 302-315, 1980
- 21) Kritchevsky D. Age-related changes in lipid metabolism. *Proc Soc Exp Biol Med* 165: 191-199, 1980
- 22) Kreisberg RA, Kasim S. Cholesterol metabolism and aging. *Am J Med* 26 (82) : 54-60, 1987
- 23) Story JA, Tepper SA, Kritchevsky D. Age-related changes in the lipid metabolism of Fisher 344 rats. *Lipids* 11 (8) : 623-627, 1976
- 24) Parini P, Angelin B, Rudling M. Cholesterol and lipoprotein metabolism in aging. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19: 832-839, 1999
- 25) Applebaum-Bowden D, Haffner SM, Wahl PW, Hoover JJ, Warnick GR, Albers JJ, Hazzard WR. Postheparin plasma triglyceride lipases. Relationships with very low density lipoprotein triglyceride and high density lipoprotein cholesterol. *Arteriosclerosis* 5 (3) : 273-282, 1985
- 26) Schonfeld G, Patsch W, Rudel LL, Nelson C, Epstein M, Olson RE. Effects of dietary cholesterol and fatty acids on plasma lipoproteins. *J Clin Invest* 69 (5) : 1072-1080, 1982
- 27) Narimiyama M, Azhar S, Dolkas CB, Mondon CE, Sims C, Wright DW, Reaven GM. Insulin resistance in older rats. *Am J Physiol* 246 (5 Pt 1) : E397-404, 1984
- 28) Carlson LA, Froberg SO, Nye ER. Effect of age on blood and tissue lipid levels in the male rat. *Gerontologia* 14 (1) : 65-79, 1968

- 29) Schmuck A, Cindy J. Fuller, Sridevi D, Ishwarlal J. Effect of aging on susceptibility of low-density lipoproteins to oxidation. *Clin Chem* 41 (11) : 1628-1632, 1995
- 30) Mangion DM, Roy SS. Serum lipids and coronary heart disease in British elderly. *Postgrad Med J* 69 (814) : 609-614, 1993
- 31) Rho KA. Effect of grape intake in antioxidative and antithrombotic capacity of Cd-administered rats during aging. Ewha womans university graduate school foods and nutrition doctoral thesis, 2000
- 32) Kinsella JE, Frankel E, German B, Kanner J. Possible Mechanisms for the protective role of antioxidants in wine and plant foods. *Food technology* pp.85-89, 1993