

과잉 철로 유도된 산화적 스트레스가 혈소판 활성화에 미치는 작용

서근영¹ · 박효진¹ · 장성근² · 박영현^{1*}

¹순천향대학교 식품영양학과

²순천향대학교 화학과

Effect of Iron Excess-induced Oxidative Stress on Platelet Aggregation

Geun-Young Seo¹, Hyo-Jin Park¹, Sung-Geun Jang² and Young-Hyun Park^{1*}

¹Dept. of Food Science and Nutrition and ²Dept. of Chemistry,
Soonchunhyang University, Asan 336-745, Korea

Abstract

Although iron is essential for many physiological processes, excess iron can lead to tissue damage by promoting the generation of reactive oxygen species (ROS). There is increasing evidence that ROS might play an important role in the pathogenesis of cardiovascular disease. However, the effects of iron excess on platelet function and the thrombotic response to vascular injury are not well understood. We examined the effects of iron excess-induced oxidative stress and the antioxidants on platelet aggregation. Oxidative stress was accessed by either free iron (Fe^{+2}) or hydrogen peroxide (H_2O_2), as well as their combination on washed rabbit platelets (WPs) *in vitro*. When WPs were stimulated with either Fe^{+2} alone or a subthreshold concentration of collagen, which gave an aggregatory curve with a little effect, and a dose dependent increase in platelet aggregation was observed by increasing concentrations of Fe^{+2} with H_2O_2 . This aggregation was associated with the iron-catalyzed formation of hydroxyl radicals from H_2O_2 , and were inhibited by NAD/NADP (proton acceptor), catalase (H_2O_2 scavenger), tiron (iron chelator), mannitol (hydroxyl radical scavenger), and indomethacin (cyclooxygenase inhibitor), but not by NADH/NADPH (proton donor), superoxide mutase, and aspirin. However, NADH/NADPH, an essential cofactor for the antioxidant capacity by the supply of reducing potentials, showed the effect of an enhanced radical formation, suggesting a role for NADH/NADPH-dependent oxidase. These results suggest that iron (Fe^{+2}) can directly interact with washed rabbit platelets and this aggregation be mediated by $OH \cdot$ formation as in the Fenton reaction, inhibited by radical scavengers.

Key words: iron, free radical, oxidative stress, platelet aggregation, antioxidants

서 론

철분(iron, Fe)은 인체의 성장과 발달에 중요한 미량 무기 질 영양소로서 산소운반 및 에너지대사에 필수적인 성분이다. 성장기 어린이부터 중·노년층에 이르기까지 부족하기 쉬운 영양소이기 때문에 철분 보충이 필요하지만 최근 생활 수준의 향상과 식생활의 서구화로 인해 체내 이용률이 높은 동물성 헴 철분의 섭취량이 높아지고 있다(1,2). 선천적으로 철분의 흡수율이 높은 혈색소증(hemochromatosis), 철침착증(hemosiderosis), 지중해성 빈혈(thalassemia), 재생불량성 빈혈 등과 올바르게 영양지식과 철분 보충제의 과다한 복용 등으로 체내에 유입된 과잉 철분이 세포독성을 유발하여 허혈성 심장질환 뇌·심혈관계 질환, 암 및 노화를 일으키는 원인으로 보고되고 있다(3-5). 특히 폐경기 여성 및 핀란드 남성에게서 심근경색과 관련된 심장질환 발생 요인으

로 체내 축적된 과잉철로 인한 serum ferritin 농도가 높은 것과 밀접한 관련성이 있다고 보고되고 있다(6).

과잉철은 산화적 스트레스로 인한 급속한 지질과산화 연쇄반응으로 혈액 내의 염증세포 또는 혈관의 내피세포와 조직에서 superoxide anion, hydroxy radical, hydrogen peroxide 등과 같은 ROS(reactive oxygen species) 자유기의 형성을 증가시키고 세포막에 결합된 인지질이나 효소 단백질을 산화적 활성화로 혈관내의 염증을 유발하여 동맥경화를 일으키는 작용으로 보고되고 있다(7-9).

혈액 내 혈소판은 혈관 손상이나 생화학적 자극시 활성화되어 혈관벽에 침착하거나 서로 응집하여 지혈을 일으키지만 과도한 활성화와 응집으로 혈전이 형성되어 동맥경화와 혈관 협착 등에 의한 뇌·심혈관계 질환과의 밀접한 관계를 나타내고 있다. 최근 적혈구에서 유리된 헤모글로빈과 철로 인한 산화적 스트레스작용으로 자유기의 형성을 증가시켜

*Corresponding author. E-mail: phy012@sch.ac.kr
Phone: 82-41-530-1259, Fax: 82-41-530-1264

혈소판 활성화와 응집을 유도한다고 한다(10,11). H_2O_2 에 의한 산화적 스트레스작용은 부분적으로 세포막 인지질부터 phospholipase A_2 를 활성화시켜 thromboxane A_2 의 전구물질로 arachidonic acid(AA)를 유리하거나 cyclooxygenase의 활성 증가에 의해 AA 대사를 자극하고 세포내 Ca^{2+} 농도를 증가시켜 혈소판 응집을 유도하며 aspirin은 이러한 작용을 억제한다고 보고되고 있다(12-14). 이와 같이 산화적 스트레스로 인한 ROS 자유기와 이를 억제하는 항산화효소 및 항산화물질들은 생체내 염증세포에서 다양하게 관여하여 뇌·심혈관 순환계 질환에서 혈관 내의 염증으로 동맥경화를 유발하지만 이에 대한 혈소판 활성화와 관련된 산화적 스트레스와 항산화에 관한 연구는 매우 부족하다.

따라서 본 연구에서는 토끼 혈소판에 $FeSO_4$ 와 H_2O_2 로 유도한 산화적 스트레스가 혈소판 활성화 작용에 미치는 작용을 알아보고, 다양한 생체내 항산화효소로서 SOD(superoxide dismutase), catalase, 조효소로서 NAD(nicotinamide adenine dinucleotide), NADH(nicotinamide adenine dinucleotide reduced form), NADP(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate), NADPH(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate reduced form), 자유기 scavenger로서 glutathione, mannitol, tiron 및 항염증약물로 사용되는 aspirin, indometacin 등의 항산화작용이 혈소판 활성화와 산화적 스트레스작용과의 관련성을 확인하고자 한다.

재료 및 방법

실험동물 및 시약

본 실험에 사용한 토끼는 체중이 2.5~3.5 kg의 수컷을 썬타코에서 구입하여 사용하였다. 혈소판 응집제로 사용한 collagen은 Chrono-Log Co.(Havertown, PA, USA)에서 구입하였고, 산화적 스트레스와 관련된 시약으로 ferrous sulfate, H_2O_2 , 항산화효소인 SOD(superoxide dismutase), catalase, 항산화 조효소로서 NAD(nicotinamide adenine dinucleotide), NADH(nicotinamide adenine dinucleotide reduced form), NADP(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate), NADPH(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate reduced form), 자유기 scavenger로서 glutathione, mannitol, tiron 및 항염증 약물로 사용되는 aspirin, indometacin 등은 Sigma Co.에서 구입하고, 그 외 나머지 시약은 특급시약을 사용하였다.

혈소판 현탁액의 제조

체중 2.5~3.5 kg의 수컷 토끼의 귀 동맥을 확장시킨 후 토끼 혈액을 citrate-dextrose용액(혈액량의 1/6: 65 mM citric acid, 85 mM trisodium citrate, 2% dextrose, pH 4.5)에 채혈한 후, 250×g로 10분간 원심분리한다. 상등액(platelet rich plasma)을 분리한 후 침전물(platelet rich pellet)을 Tyrode HEPES buffer(pH 6.5) 용액으로 2회 세척한 후, 마

지막으로 Tyrode HEPES buffer(pH 7.35) 용액으로 부유하여 세정 혈소판(washed platelet)을 조제하였다. 혈소판 수를 광학현미경으로 계측하여, 혈소판 수가 $3\sim5\times 10^8$ cell/mL가 되도록 희석하여 실험에 사용하였다(15). Tyrode HEPES beffer 용액의 조성은 138 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 1 mM $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 4 mM $NaHCO_3$, 10 mM HEPES, 0.35% albumin(Bovine), 0.2% glucose이다.

혈소판 활성화 및 응집작용

혈소판 활성화와 응집작용은 광투과도 변화를 이용한 자동투과응집측정장치(Aggregometer 470-VS, Chrono-Log Co., USA)를 사용하였다(16). 토끼 세정 혈소판 부유액 250 μ L를 취하여 $CaCl_2$ 1 mM을 첨가하고 1,000 rpm에서 교반하면서 37°C로 incubation시킨 후 3분이 경과된 후에 항산화물질을 농도별로 투여한 다음 다시 3분간 incubation한 후에 유도제로 collagen이나 산화적 스트레스를 유도하기 위해서 H_2O_2 와 ferrous sulfate를 최적 농도로 투여하여 혈소판 응집을 유도하였다. 혈소판 활성화는 aggregation(%)로 나타내었고, 대조군으로 유도제의 최적 농도에서 $100\pm 8\%$ 응집으로 나타내었다.

통계학적 검사

모든 데이터는 평균±표준오차로 나타내었다. 대조군과 항산화제 투여군과의 차이는 Student's t-test를 이용하여 결정하였다.

결과 및 고찰

$FeSO_4$ 와 H_2O_2 에 의한 혈소판 활성화 작용

토끼 세정 혈소판에서 $FeSO_4$ 와 H_2O_2 에 의한 산화적 스트레스로 유도된 혈소판이 응집에 미치는 영향을 측정하였다. H_2O_2 단독 투여시 혈소판 응집작용이 나타나지 않았지만 $FeSO_4$ (ferrous) 단독 투여시 농도 의존적으로 혈소판 응집작용이 나타났다(Table 1). 그러나 $Fe_2(SO_4)_3$ (ferric) 단독 투여시 혈소판 응집작용이 나타나지 않았다(data not shown). H_2O_2 존재 하에 $FeSO_4$ 투여시 단독 투여와 비교하여 농도 의존적으로 혈소판 응집이 증가되어 나타났다(Table 1). 이것은 혈소판 내 산화적 스트레스작용이 2가 철인 ferrous(Fe^{+2})가 3가 철인 ferric(Fe^{+3})보다 혈소판 활성화에 선택적으로 작용하며, $FeSO_4$ 단독투여시 약한 혈소판 응집작용과 H_2O_2 존재 하에 $FeSO_4$ 투여시 강력한 혈소판 응집작용은 혈소판 내에서 생성되거나 혈소판 외에서 생성한 H_2O_2 로 인하여 Fenton reaction($Fe^{+2}+H_2O_2 \rightarrow Fe^{+3}+OH^-+OH\cdot$)과 같이 금속 촉매인 ferrous(Fe^{+2})가 H_2O_2 와 결합하여 free radical을 생성해 혈소판 응집을 증가시키는 것으로 사료된다.

혈소판 응집을 유도하는 collagen 최적의 농도(2 μ g/mL)보다 낮은 1/10농도(0.2 μ g/mL)에서 $FeSO_4$ 투여시 농도 의존적으로 응집작용이 증가되었다(Table 1). 이러한 증가 작

Table 1. Platelet activation measured as aggregation (% light transmission) and washed platelets (WP) treated with H₂O₂, iron (Fe²⁺) and collagen

Conditions	Light transmission (%)
WP+H ₂ O ₂ (100 μM)	0
WP+Fe ²⁺ (10 μM)	16±3 ¹⁾ *
WP+Fe ²⁺ (30 μM)	23±6*
WP+Fe ²⁺ (50 μM)	27±7*
WP+H ₂ O ₂ +Fe ²⁺ (10 μM)	20±5*
WP+H ₂ O ₂ +Fe ²⁺ (30 μM)	63±11*
WP+H ₂ O ₂ +Fe ²⁺ (50 μM)	75±13*
WP+Collagen (0.2 μg/mL)	8±2
WP+Collagen+Fe ²⁺ (10 μM)	20±4*
WP+Collagen+Fe ²⁺ (30 μM)	40±9*
WP+Collagen+Fe ²⁺ (50 μM)	62±11*

¹⁾Results are expressed as mean±SD and represent the mean of 11 separate experiments. *p<0.01.

용은 혈소판에서 collagen의 응집작용에 ferrous(Fe²⁺)가 관련된 산화적 스트레스로 인한 작용으로 사료된다.

이러한 과잉철의 혈소판 활성화 작용은 혈관 손상이나 출혈로 적혈구가 용혈되어 유리된 헤모글로빈과 철로 인하여 collagen의 혈소판 활성화와 응집을 증가시켜 혈전을 형성하며 손상된 부위를 지혈시킨다. 또, 혈관내 염증 유발로 인하여 생성되는 H₂O₂가 응집작용을 증가시키는 것은 혈소판에서도 H₂O₂의 산화적 스트레스가 관여하는 것으로 보고되고 있다(9,11).

혈소판에서 산화적 스트레스와 항산화작용

FeSO₄와 H₂O₂에 의한 산화적 스트레스로 유도된 혈소판 활성화에 미치는 영향과 관련한 항산화물질 및 항산화효소의 작용에 대하여 연구하고자, 토끼 세정 혈소판에 산화적 스트레스와 관련된 항산화 물질을 각각 농도별로 투여하고 100 μM H₂O₂ 존재하에 50 μM FeSO₄를 투여하여 혈소판 응집의 변화를 측정하였다. NAD는 100 μM 이상의 농도에서 의존적으로 혈소판 응집을 현저히 억제하는 경향을 나타냈고 NADH는 NAD보다 높은 300 μM 농도에서 혈소판 응집을 현저히 억제시키는 것으로 나타났다(Fig. 1). NADP와

NADPH를 각각 농도별로 첨가한 결과 NADP는 10 μM 이상의 농도에서 의존적으로 혈소판 응집을 현저히 억제하였으나, NADPH는 NADP보다 높은 50 μM 농도에서 혈소판 응집이 현저히 억제되었다(Fig. 1). H₂O₂와 FeSO₄에 의한 산화적 스트레스로 인한 혈소판 응집 억제작용은 NADP>NADPH>>NAD>NADH 농도 순으로 나타내었다. 산화환원효소 cofactor인 NADH/NADPH(proton donor)보다 NAD/NADP(proton acceptor)가 억제하는 항산화작용을 나타내었다. NAD/NADH 또는 NADP/NADPH는 세포내 다양한 산화환원효소의 공역 cofactor로서 작용한다. 일반적으로 H₂O₂ 등과 같은 ROS 자유기를 생성하는 산화효소는 proton donor인 환원형 NADH/NADPH에 의존하여 촉진되지만, 반대로 proton acceptor인 산화형 NAD와 NADP는 Fenton 반응에 필요한 H₂O₂ 자유기 생성을 관여한다. 그러므로, 이러한 cofactor의 혈소판 응집작용은 radical을 직접 억제하기보다 radical 생성에 관련하는 것으로 사료된다. 또한 NAD/NADH 의존성 산화환원효소의 cofactor보다 인산기가 결합된 NADP/NADPH가 혈소판에 대한 산화적 스트레스 작용을 현저하게 억제시키는 것은 인산기가 있는 cofactor가 보다 선택적으로 관여한다고 본다. 최근 혈관 내피세포, 중성구, 단핵구, macrophage 등의 염증세포와 더불어 혈소판에서도 세포막 NADH/NADPH oxidase가 확인되었다(17,18). 이러한 산화적 스트레스작용과 세포내 정보전달은 NADPH에 의존하는 과정에 의해 인산화와 관련된 protein tyrosine kinase(PTK)을 활성화시키고 mitogen activated protein (MAP) kinase는 계속해서 인산화되고 prostaglandin endoperoxide 합성을 조절한다고 보고되고 있다(17,19).

항산화효소인 catalase 및 SOD를 각각 농도별로 첨가한 후 혈소판 응집의 변화를 측정된 결과, catalase는 농도 의존적으로 혈소판 응집을 현저히 억제하였으나 SOD는 그렇지 않았다(Fig. 2). 따라서 항산화효소인 SOD는 혈소판 활성화 작용에 직접적으로 영향을 주지 못하나 catalase는 H₂O₂를 분해하여 혈소판 응집을 억제하는 것으로 사료된다. ROS 자유기의 형성은 여러 가지 만성질환 및 노화의 직접 또는

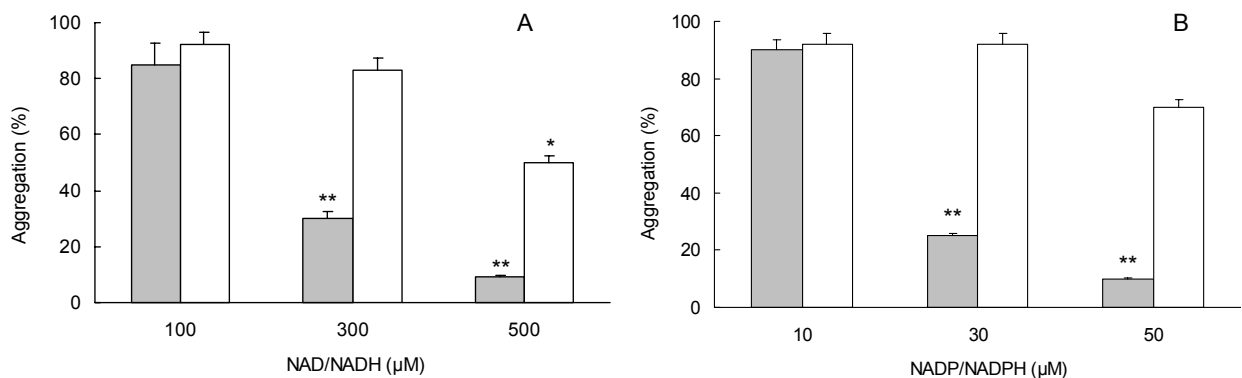


Fig. 1. Effect of NAD/NADH (A) and NADP/NADPH (B) on platelet aggregation induced by FeSO₄ (50 μM) and H₂O₂ (100 μM). ■ NAD or NADP, □ NADH or NADPH. Each value represents the mean±SE. *p<0.05 and **p<0.01.

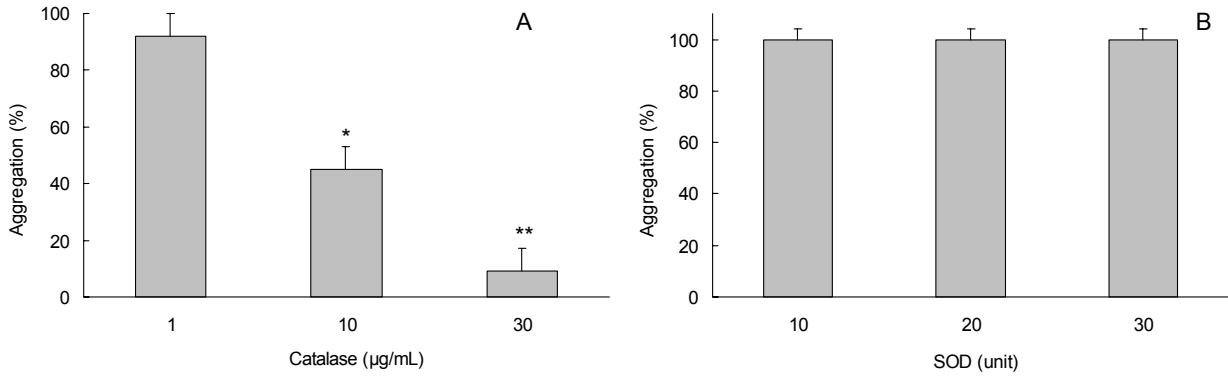


Fig. 2. Effect of catalase (A) and SOD (B) on platelet aggregation induced by FeSO₄ (50 µM) and H₂O₂ (100 µM). Each value represents the mean ± SE. *p<0.05 and **p<0.01.

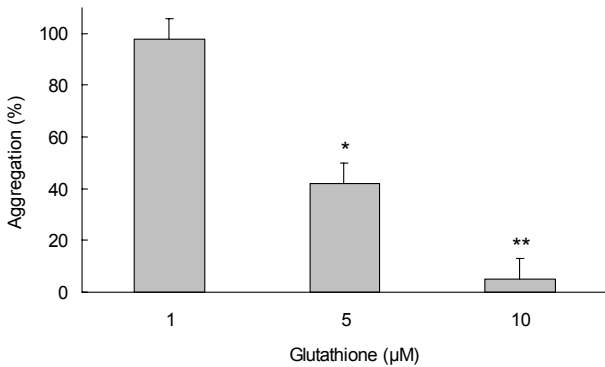


Fig. 3. Effect of glutathione on platelet aggregation induced by FeSO₄ (50 µM) and H₂O₂ (100 µM). Each value represents the mean ± SE. *p<0.05 and **p<0.01.

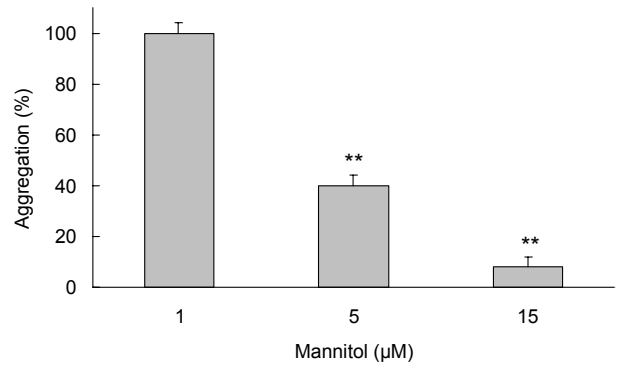


Fig. 4. Effect of mannitol on platelet aggregation induced by FeSO₄ (50 µM) and H₂O₂ (100 µM). Each value represents the mean ± SE. **p<0.01.

간접적 원인으로 보고되고 있고 이러한 자유기 생성을 조절하기 위한 다양한 항산화물질과 항산화효소, SOD, catalase, glutathione peroxidase(GPx) 등이 세포내 존재한다. 또한 혈소판도 ROS 자유기를 조절하는 다양한 항산화효소가 존재하지만 SOD는 ferrous(Fe⁺²)와 H₂O₂ 투여시 Fenton reaction에서 생성된 hydroxy(OH·)보다 간접적으로 NO(nitric oxide) 자유기의 생성과 관련하여 혈소판 활성을 억제한다고 보고되고 있다(13).

Glutathione을 농도별로 첨가한 후 혈소판 응집의 변화를 측정된 결과, glutathione은 농도 의존적으로 혈소판 응집을 현저히 억제하는 것으로 나타났다(Fig. 3). Glutathione은 GPx 항산화효소에 작용하거나 ROS 자유기와 직접 반응하고 생성된 glutathione disulfide(GSSG)는 NADPH 의존성 glutathione reductase에 의해 다시 glutathione으로 환원되어 ROS 자유기를 조절한다고 한다. 여기서도 NADPH는 glutathione reductase의 cofactor로 glutathione 생성에 중요한 역할을 한다고 사료된다.

Mannitol을 농도별로 첨가한 후 혈소판 응집의 변화를 측정된 결과, mannitol은 농도 의존적으로 혈소판 응집을 현저히 억제하는 것으로 나타났다(Fig. 4). 따라서 Fenton reaction에서 생성된 hydroxy(OH·) 자유기를 직접적으로

scavenger하는 mannitol이 농도 의존적으로 혈소판 활성화를 억제하는 것으로 사료된다.

Fe의 chelating agent인 tiron을 농도별로 첨가한 후 혈소판 응집의 변화를 측정된 결과, tiron은 농도 의존적으로 혈소판 응집을 현저히 억제하는 것으로 나타났다(Fig. 5). Hydroxy(OH·) 자유기의 생성을 촉매하는 철을 직접적으로 킬레이트하여 농도 의존적으로 혈소판 활성화를 억제하는 것으로

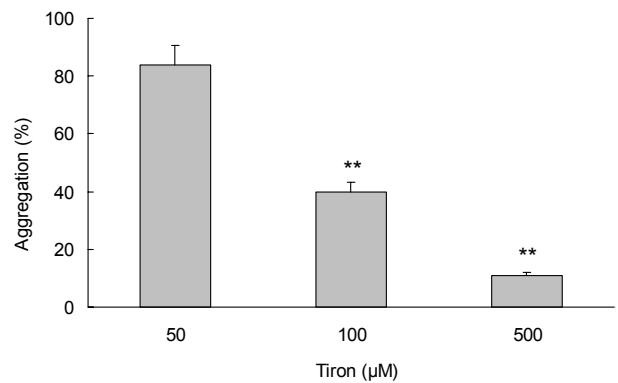


Fig. 5. Effect of tiron on platelet aggregation induced by FeSO₄ (50 µM) and H₂O₂ (100 µM). Each value represents the mean ± SE. **p<0.01.

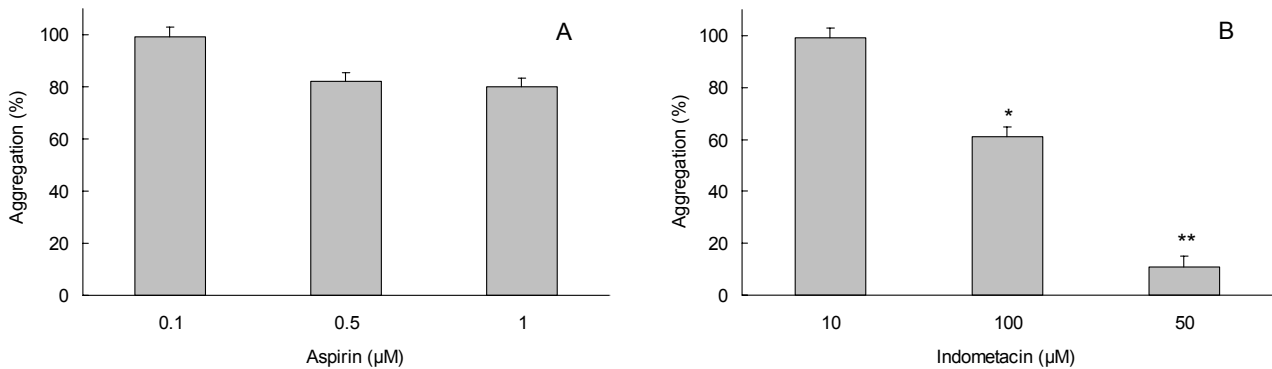


Fig. 6. Effect of aspirin and indometacin on platelet aggregation induced by FeSO_4 (50 μM) and H_2O_2 (100 μM). Each value represents the mean \pm SE. * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$.

사료된다.

심혈관계질환 예방 및 소염제로 사용되는 aspirin과 indometacin을 농도별로 첨가한 후 혈소판 응집의 변화를 측정한 결과, aspirin은 혈소판에서 collagen, arachidonic acid 등으로 유도하는 응집작용을 억제하는 것으로 알려져 있으나, FeSO_4 와 H_2O_2 에 의한 산화적 스트레스로 유도된 혈소판 응집작용에서는 농도 의존적으로 억제효과를 나타내지 않았다. 반면에 indometacin은 농도 의존적으로 혈소판 응집 억제효과가 나타났다(Fig. 6). 따라서 산화적 스트레스로 인한 혈소판 활성화에서 indometacin이 현저한 억제작용을 나타내는 것은 aspirin보다 선택적으로 혈소판 내에 cyclooxygenase 등의 산화효소에 작용하기 때문으로 사료된다.

항염증 작용은 산화적 스트레스가 염증세포에서 세포막 인지질부터 phospholipase A_2 를 활성화시켜 prostaglandin 유도체, thromboxane A_2 의 전구물질로 arachidonic acid (AA)를 유리하고 cyclooxygenase의 활성 증가에 의해 AA 대사를 자극하고 이러한 약물이 염증을 억제한다고 한다(20,21). 이러한 산화적 스트레스는 prostaglandin endoperoxide 생합성경로로부터 혈소판 활성화에서도 작용하고, 항산화효소와 radical scavenger는 선택적으로 생합성경로에서 cyclooxygenase 산화효소작용을 억제한다. 항염증 약물(aspirin, indomethacin)은 arachidonic acid 대사에서 prostaglandin endoperoxide 과산화대사물질의 생성을 촉진하는 cyclooxygenase, lipoxygenase 등의 각종 산화효소에 대한 선택적 친화력에 따라서 혈소판 응집을 억제한다고 보고되고 있다(22). 최근 산화적 스트레스작용과 관련하여 혈소판에서 확인된 세포막결합 NADPH oxidase 산화효소가 생성하는 자유기는 arachidonic acid 대사의 cyclooxygenase 산화효소작용을 활성화시켜 thromboxane A_2 를 생성하고 있다. 이는 강력한 혈관 수축과 혈소판 응집을 유발한다고 보고되고 있다. 과잉철로 인한 산화적 스트레스작용은 혈소판에서 생성된 자유기와 arachidonic acid 대사의 활성화와 인산화 단백질로 인한 세포내 산화적 스트레스와 관련성에 관하여 앞으로 계속 연구하고자 한다.

요 약

과잉 철은 폐경기 여성 및 핀란드 남성에서의 심혈관계질환 증가와 예방통계학적으로 밀접한 관련이 있다고 보고되고 있다. 허혈성 심장질환, 뇌·심혈관계 질환, 암 및 노화의 원인으로 산화적 스트레스가 자유기 반응을 자극하고 지질 과산화 반응 등을 연쇄적으로 촉진시키는데 철이 위험 인자로 인식되고 있다. 그러나 뇌심혈관계 질환 유발의 중요인자인 혈소판 활성화와 관련하여 철로 인한 산화적 스트레스와 항산화작용의 연구는 부족하다고 한다. 산화적 스트레스에서 철 및 과산화수소의 자유기 형성과 관련하여 토끼 혈액에서 분리한 세정 혈소판을 사용하여 연구하였다. 산화적 스트레스를 통해 혈소판 응집을 유도하고 이에 미치는 영향을 연구한 결과에서 H_2O_2 단독 투여시 혈소판 응집작용은 나타나지 않았다. FeSO_4 단독 투여시 농도 의존적으로 혈소판 응집작용이 증가하여 나타내지만, H_2O_2 존재 하에 FeSO_4 투여시 농도 의존적으로 혈소판 응집작용이 증가되어 나타났다. 혈소판 응집을 유도하는 collagen 최적의 농도(2 $\mu\text{g}/\text{mL}$)보다 낮은 1/10 농도(0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$)에서 H_2O_2 및 FeSO_4 의 영향은 농도 의존적으로 혈소판 응집작용이 증가되었다. 철 단독 투여시보다 과산화수소와 함께 투여시 농도 의존적으로 혈소판 활성화가 증대되었고 이러한 혈소판 활성화는 NAD/NADP, catalase, glutathione, mannitol, tiron 등에 의해 농도 의존적으로 억제되었고, NADH/NADPH, SOD, aspirin 등에 의해서는 영향이 없었다. 그러므로, 이러한 NAD(H)/NADP(H) cofactor는 혈소판 응집작용을 일으키는 radical을 직접 억제하기보다 radical 생성에 관여하는 것으로 사료된다. 이상의 결과에서 과잉철은 혈소판 활성화에 직접적으로 관여하고 H_2O_2 존재하에 2가 철을 촉매로 하여 Fenton 반응으로 생성된 $\text{OH}\cdot$ 자유기가 혈소판 활성화에 중요한 역할을 한다. 그러나 혈소판에서 자유기가 arachidonic acid 대사의 활성화와 인산화 단백질로 인한 세포내 정보전달에 관한 연구가 더 이루어져야 한다고 사료된다.

문헌

1. Lee JM, Park HJ. 2005. Effects of supplementary diet in iron status and development in infants. *J Kor Nutr* 38: 226-231.
2. Jun YS, Choi MK, Kim AJ, Kim MH, Sung CJ. 2002. Effect of iron supplementation in mineral utilization in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 658-663.
3. Kim SK, Park J, Kim MK. 2004. Effect of dietary iron levels on lipid metabolism, antioxidative and antithrombogenic capacities in 16-month-old Rats. *J Kor Nutr* 37: 273-280.
4. Hwang EH, Kim IS, Lee HJ. 2000. The role of vitamin C and vitamin E supplementation on iron contents and bio-markers of oxidative stress in blood, liver and brain of aging rats. *J Kor Nutr* 33: 507-516.
5. Day SM, Duquaine D, Mundada LV, Menon RG, Khan BV, Rajagopalan S, Fay WP. 2003. Chronic iron administration increases vascular oxidative stress and accelerates arterial thrombosis. *Circulation* 107: 2601-2606.
6. Salonen JT, Nyyssonen K, Korpela H, Tuomilehto J, Seppanen R, Salonen R. 1992. High stored iron levels are associated with excess risk of myocardial infarction in eastern Finnish men. *Circulation* 86: 803-811.
7. Henderson LM, Chappel JB. 1996. Article NADPH oxidase of neutrophils. *Biochim Biophys Acta* 1273: 87-107.
8. Lee SM, Koh HJ, Park DC, Song BJ, Huh TL, Park JW. 2002. Cytosolic NADP⁺-dependent isocitrate dehydrogenase status modulates oxidative damage to cells. *Free Radic Biol Med* 32: 1185-1196.
9. Petra PR, Essilakari KO, Kinnula VL. 2000. Expression of antioxidant enzymes in human inflammatory cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 278: C118-C125.
10. Iuliano L, Colavita AR, Leo R, Pratico D, Violi F. 1997. Oxygen free radicals and platelet activation. *Free Radic Biol Med* 22: 999-1006.
11. Pratico D, Pasin M, Barry OP, Ghiselli A, Sabatino G, Iuliano L, FitzGerald GA, Violi F. 1999. Iron-dependent human platelet activation and hydroxy radical formation involvement of protein kinase C. *Circulation* 99: 3118-3124.
12. Caccese D, Pratico D, Ghiselli A, Natoli S, Pignatelli P, Sangui V, Iuliano L, Violi F. 2000. Superoxide anion and hydroxyl radical release by collagen-induced platelet aggregation-role of arachidonic acid metabolism. *Thromb Haemost* 83: 485-490.
13. Clutton P, Miermont A, Freedman JE. 2004. Regulation of endogenous reactive oxygen species in platelets can reverse aggregation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24: 187-192.
14. Mirabelli F, Salis A, Vairetti M, Bellomo G, Thor H, Orrenius S. 1989. Cytoskeletal alterations in human platelets exposed to oxidative stress are mediated by oxidative and Ca²⁺ dependent mechanism. *Arch Biochem Biophys* 270: 478-488.
15. Jang MJ, Kang MH, Park YH. 2005. Anti-platelet aggregating effect of solvent extracts from Korean soybean varieties and isoflavone derivatives. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 1320-1324.
16. Born GV, Cross MJ. 1963. The aggregation of blood platelet. *J Physiol* 168: 178-195.
17. Seno T, Inoue N, Gao D, Okuda M, Sumi Y, Matsui K, Yamada S, Hirata K, Kawashima S, Tawa R, Imajoh-Ohmi S, Sakurai H, Yokoyama M. 2001. Involvement of NADH/NADPH oxidase in human platelet ROS production. *Thromb Res* 103: 339-409.
18. Iuliano L, Mauriello NM, Sbarigia E, Spagnoli LG, Violi F. 2000. Radiolabeled native low-density lipoprotein injected into patients with carotid stenosis accumulates in macrophages of atherosclerotic plaque. *Circulation* 101: 1249-1254.
19. Chao TS, Byron KL, Lee KM, Villereal M, Rosner MR. 1992. Activation of MAP kinase by calcium-dependent and calcium independent pathways. Stimulation by thapsigargin and epidermal growth factor. *J Biol Chem* 267: 19876-19883.
20. Blache D, Durand P, Prost M, Loreau N. 2002. (+)-Catechin inhibits platelet hyperactivity induced by an acute iron in vivo. *Free Radic Biol Med* 33: 1670-1680.
21. Son DJ, Cho MR, Jin YR, Kim SY, Park YH, Lee SH, Akiba S, Sato T, Yun YP. 2004. Antiplatelet effect of green tea catechin: a possible mechanism through arachidonic acid pathway. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 71: 25-31.
22. Pignatelli P, Lenti L, Sanguigni V, Frati G, Simeoni P, Gazzaniga P, Pulcinelli FM, Violo F. 2003. Carnitine inhibits arachidonic acid turnover, platelet function, and oxidative stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 284: H41-H48.

(2006년 6월 27일 접수; 2006년 8월 16일 채택)