大韓本草學會誌 제27권 제3호(2012년 5월)
Kor. J. Herbology 2012 ; 27(3) : 107-112
http://dx.doi.org/10.6116/kjh.2012.27.3.107

通心絡이 고지방식이로 유도된 이상지질혈증 생쥐의 체내 지질 변화에 미치는 영향

하태훈[1], 김현영[1], 김형우[2], 조수인[2], 김영균[1*]

1 : 동의대학교 한의과대학
2 : 부산대학교 한의학전문대학원

Effects of Tong Xin Lou (TXL) on levels of serum lipid in high fat diet-induced dyslipidemia in mice

Tae-Hoon Ha[1], Hyun-Young Kim[1], Hyung-Woo Kim[2], Su-In Cho[2], Young-Gyun Kim[1*]

1 : College of Oriental Medicine, Dongeui University
2 : School of Korean medicine, Pusan National University

ABSTRACT

Objectives : This study was designed to investigate the effects of Tong Xin Lou (TXL) on lipid accumulation in liver tissue in Hypercholesterolemic mice. TXL is new drug, which is one of Cardiotonic Pills. TXL is used for activating the blood flow in the restoration stage of cerebral infarction, and for alleviation of angina pectoris including the symptoms as chest oppressed and stabbing pain.

Methods : Hyperlipidemia was induced by providing high fat diet for 6 weeks. Normal group was provided with normal rodent diet. TXL was administered orally in the concentration of 10 ㎎/day for 2 weeks (TXL group). D/W was administered orally in CTL group for 2 weeks. We observed histopathological changes in liver and heart tissues, and also investigated the effect on body weights, and levels of total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol and triglyceride in serum.

Results : In this study, TXL did not affects weight gain in hypercholesterolemic mice. TXL group showed downward tendency of lipid accumulation compared with CTL group. In addition, oral administration of TXL lowered levels of total cholesterol ($P < 0.05$) and triglyceride ($P < 0.05$), which were elevated by induction of hypercholesterolemia.

Conclusion : These results suggest that TXL can prevent lipid accumulation in liver tissue through regulation of dyslipidemia.

Key words : Tong Xin Lou, Cardiotonic Pills, Hyperlididemia, dyslipidemia

서 론

근래에 들어 생활 환경의 변화, 식생활의 서구화, 각종 스트레스 등으로 인하여 각종 심혈관계 질환이 증가하고 있는 추세이며[1], 통계청 자료에 의하면, 우리나라 사망원인의 2위와 3위가 뇌혈관 질환과 심장 질환인 것으로 발표 되었다[2]. 심혈관 질환은 발생시 사망률이 높기 때문에 고혈압, 흡연, 콜레스테롤의 증가, 비만, 당뇨 등의 위험인자 관리가 무척 중요하며, 이러한 노력들이 다양하게 시도되고 있다[3]. 특히, 고지혈증은 이러한 심장 질환의 직접적인 원인으로 인식되고 있으며, 이에 대한 치료 방법이 다양하게 연구되고 있다[4].

통심락 (通心絡, Tong Xin Luo, TXL)은 최근 중국의 以岭藥業에서 개발한 한약물 복합제제 신약으로 개발된 제품으로 全蝎, 水蛭, 蝉蜕, 蜈蚣, 蟅蟲의 5종 동물성 생약과 人蔘, 芍藥, 龍腦의 3종 식물성 생약으로 구성된 혈액 순환 개선제이다. TXL은 동맥경화증, 혈관연축, 뇌경색 후유증 등의 질환에 효과가 효과가 있다고 알려져 있다[5]. TXL은 현재 임상에서 뇌혈전증 회복기의 혈액순환 개선 및 울체 제거와 협심

*교신저자 : 김영균, 부산시 부산진구 엄광로 176 동의대학교 한의과대학
· Tel : 051) 867-5105, · E-mail : lab3402@hanmail.net
· 접수 : 2012년 4월 3일 · 수정 : 2012년 4월 23일 · 채택 : 2012년 4월 24일

증에 의한 흉부 압박감 및 흉통의 완화 목적으로 사용되고 있다. 최근 임상 연구에서 胸痛, 胸悶 등의 증상이 호전됨이 보고 되었다.

이에 저자는 TXL이 고지방식이 공여로 유발된 고콜레스테롤 혈증 생쥐의 간 및 심장 조직에 미치는 영향을 살펴보기 위하여, 4주간 고지방식이를 투여하여 고콜레스테롤증을 유발하고, 2주간 TXL을 투여하면서 체중변화를 관찰하고, 2주간의 TXL 투여가 끝난 후 간 및 심장조직을 적출하여 지방분포를 관찰하였다. 아울러, 혈액 내의 total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triglyceride 함량 변화를 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

고지혈증 유발을 위하여 체중 18 ~ 20 g의 웅성 C57BL6 (두열바이오텍, 한국)을 사용하였다. 실험 동물은 항온항습 장치가 부착된 사육장에서 고형사료와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경 (실내온도 24±2℃, 습도 55±5%, 12시간 dark/light)에 1주일 이상 적응시킨 후 사용하였다.

2) 약재

통심락 (通心絡, Tong Xin Luo, TXL)은 대신제약 (충북, 한국)에서 수입하고 일양약품 (경기, 한국)에서 판매하는 것을 구입하여 사용하였다.

2. 방법

1) 고콜레스테롤 혈증 유발 및 실험군 분류

실험 시작 후 4주간은 정상식이군 (Normal)에는 일반 사료를 공급하였고, 고지방식이군 (CTL, TXL)에는 고지방식이를 공급하였다. 실험 5주 째부터는 정상군은 계속 일반식이를 공급하면서, D/W를 1일 1회 구강투여 하였고, 고지혈증군 대조군(CTL)은 고지방식이를 공여하면서 D/W를 1일 1회 구강투여하였다. TXL 투여군 (TXL)은 고지방 식이를 계속 공여하면서 TXL을 10 ㎎/day 농도로 구강투여 하였다. 쥐의 대사속도는 사람보다 10배 이상 빠르고, TXL의 적정 사용량은 1일 6 ~ 12 g임을 감안하여 사람의 1일 투여량의 대략 4배에 해당하는 값으로 투여용량을 결정하였다. 실험 식이는 두열바이오텍(대전, 한국)에 주문 제작하여 사용하였으며, 조성은 Table 1와 같다.

Table 1. Compositions of high fat diet

Ingredients	gm	kcal
Casein	200	800
Sucrose	68.8	275.2
Cellulose	50	0
Soybean Oil	25	225
Larda)	245	2,205
Mineral mix	10	0
Vitamin mix	10	40
L-Cystine	3	12
Choline Bitartrate	2	0
Potassium Citrate	16.5	0
DiCalcium Phosphate	13	0
Calcium Carbonate	2	0
Maltodextrin	125	500
Total	773.85	4,057

a) Typical analysis of cholesterol in lard = 0.95 mg/gram.

2) 체중 및 식이량, 음수량 측정

1주일간의 실험실 적응이 끝나고, 고지방식이를 공여하기 시작하는 날 전자저울을 이용하여 기준 체중을 측정하였으며, 이후 7일 간격으로 체중을 측정하였다. 총 6주간의 실험기간 동안 주 1회 식이량 (g) 및 음수량 (㎖)을 측정하였다. 측정 단위는 24시간으로 전일 오후 6시에 고형사료와 음용수를 공여한 후, 다음 날 오후 6시에 남은 사료와 음용수의 양을 측정하여 그 차이를 하루 동안의 식이량 및 음수량으로 계산하였다.

3) 조직 적출 및 처리

6주간의 실험이 끝나고, 생쥐를 희생시킨 후, 간과 심장을 적출하였다. 간은 대엽의 첨부, 심장은 심실 부위를 절제하여 인산완충액에 헹군 후, 4% paraformaldehyde에 1일간 고정하였다. 고정된 조직은 Paraffin 포매과정을 거쳐서 조직 절편을 완성하였다. 5 ㎛ 두께로 절제된 조직을 슬라이드 글라스 위에 올리고 haematoxylin and eosin 기법으로 염색하고, 광학 현미경 (Zeiss, Germany)을 이용하여 관찰하였다.

4) 혈중 콜레스테롤 및 triglyceride 함량 측정

2주간의 약물 투여가 끝난 후, 생쥐의 복대동맥에서 혈액을 채취하였다. 얻어진 혈액을 5,000 x g로 20분간 원심분리하여 상청액을 취하여 혈중 콜레스테롤 및 triglyceride 함량을 측정하였다. 혈청 중 Total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol 및 Triglyceride의 함량은 각각의 측정용 킷(아산제약, 한국)을 사용하였으며, OD (Optical Density)값은 분광광도계 (Hitachi, Japan)를 이용하여 측정하였다.

3. 통계 처리

실험 자료에 대한 통계적 분석은 통계 패키지인 Sigma plot (Sigma plot for Windows, ver. 9.0, U.S.A.)를 이용하였다. 실험 성적은 평균±표준편차(mean±SD)로 나타내었으며, 실험군 간 평균의 차이를 검정할 때에는 Student's t-test로 검정하여 p-값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

성 적

1. 체중 변화에 미치는 영향

약물을 투여하지 않은 처음 4주간의 실험 기간 동안 체중 변화를 관찰한 결과 고콜레스테롤 유발군 (CTL group) 및 TXL 투여군 (TXL group)은 정상군 (NOR group)에 비하여 유의한 수준의 체중증가가 관찰 되었으며, TXL군과 CTL군 사이에는 특별한 차이를 발견 할 수 없었다 (Fig. 1). 약물이 투여되는 2주간의 체중 변화를 관찰한 결과 CTL군에서 보이는 체중 증가현상이 TXL 군에서 억제되는 경향을 보였으나 유의성은 없었다 (Fig. 1).

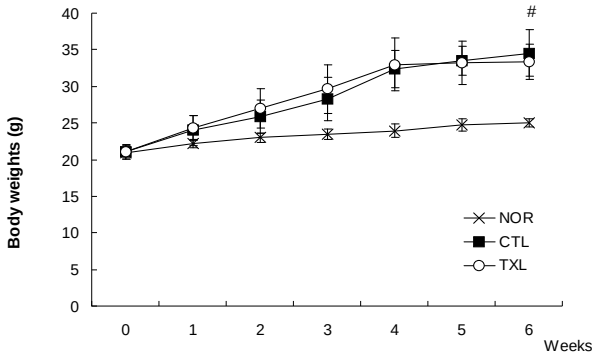


Fig. 1. Effects of TXL on Changes in Body Weights in Hypercholesterolemic Mice.
Body weights were measured on day which TXL was firstly administered (day 1) and every 7 days. Normal : naive Mice, CTL : Hypercholesterolemic Mice, TXL : TXL administered Mice. Values are represented as mean±SD. $^{\#}P < 0.05$ vs. Normal group (n=8).

2. 식이량 및 음수량에 미치는 영향

6주간의 실험기간 동안 식이량 및 음수량의 변화를 관찰한 결과 CTL군과 TXL군 모두에서 NOR군에 비하여 유의한 식이량 및 음수량 감소 현상이 관찰 되었다 (Table 2). CTL군과 TXL군 사이에 식이량 및 음수량의 특별한 차이는 관찰되지 않았다 (Table 2).

Table 2. Effects of TXL on Changes of Food and Water uptake in Hypercholesterolemic Mice.

Group	Food Uptake (g)	Water Uptake (ml)
NOR[a)]	3.20±0.16[b)]	4.35±0.49
CTL	2.30±0.37[#]	3.40±0.38[#]
TXL	2.29±0.42	3.45±0.67

a) Normal: naive Mice, CTL: Hypercholesterolemic Mice, TXL: TXL administered Mice. b) Values are represented as mean±SD. $^{\#}P < 0.05$ vs. Normal group (n=8).

3. 간 조직의 지방 분포에 미치는 영향

6주간의 실험이 끝난 후, 간조직을 적출하여 지방 분포를 관찰한 결과 CTL군에서 NOR군에 비하여 확연히 증가된 지방 분포를 관찰할 수 있었다 (Filled arrow). TXL군에서는 고콜레스테롤 혈증 유발에 의하여 증가하는 지방 분포를 감소시키는 경향을 보였다 (Fig. 2).

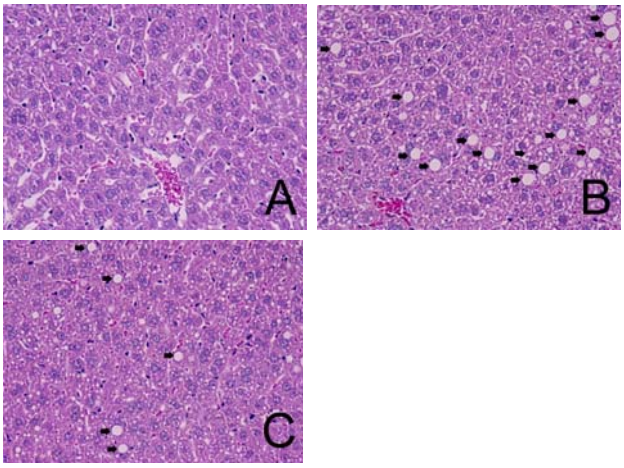


Fig. 2. Effects of TXL on Lipid accumulation of liver tissue in Hypercholesterolemic mice.
Liver tissues were observed using heamatoxilin and eosin stain. A) NOR group, B) CTL group, C)TXL group (x200).

4. 심장 조직에 미치는 영향

6주간의 실험이 끝난 후, 심장 조직을 적출하여 관찰한 결과 모든 군에서 특별한 차이를 발견할 수 없었다 (Fig. 3).

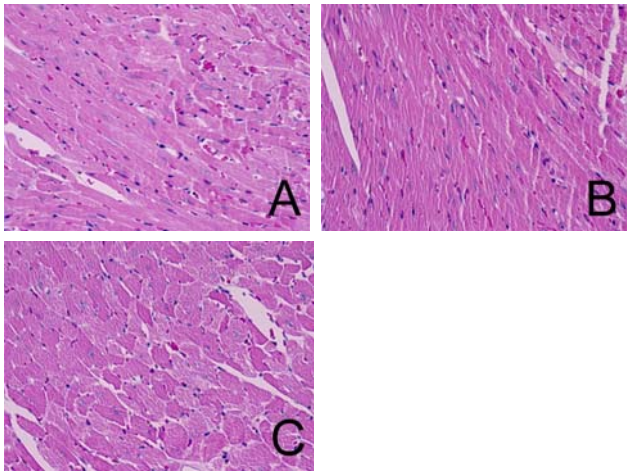
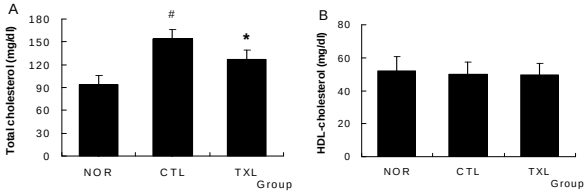


Fig. 3. Effects of TXL on Heart tissue in Hypercholesterolemic mice.
Heart tissues were observed using heamatoxilin and eosin stain. A) NOR group, B) CTL group, C)TXL group (x200).

5. 혈중 cholesterol 및 triglyceride 함량 변화에 미치는 영향

생쥐의 혈액으로부터 total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol 및 triglyceride 함량 변화를 관찰한 결과 total cholesterol은 CTL군에서 154.21±11.59 ㎎/㎗로 나타나 93.94±12.01 ㎎/㎗를 보인 NOR군에 비해 유의한 증가를 보였고, TXL군에서는 127.27±11.86 ㎎/㎗로 나타나 CTL군에 비하여 유의한 감소를 보였다 (Fig. 4A). 생쥐의 혈액으로부터 triglyceride 함량 변화를 관찰한 결과 CTL군에서 83.41±3.11 ㎎/㎗로 나타나 66.17±8.52 ㎎/㎗를 보인 NOR군에 비해 유의한 증가를 보였고, TXL군은 69.32±6.60 ㎎/㎗로 나타나 CTL군에 비하여 유의한 감소를 보였다 (Fig. 4D). LDL cholesterol 은 고콜레스테롤 혈증 유발에 의하여 유의한 수준으로 함량이 증가함이 관찰되었으며, TXL군은 CTL군에 비하여 LDL cholesterol 함량이 감소하는 경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었다 (Fig. 4B). HDL cholesterol 은 모든 군에서 특별한 차이를 발견할 수 없었다 (Fig. 4C).



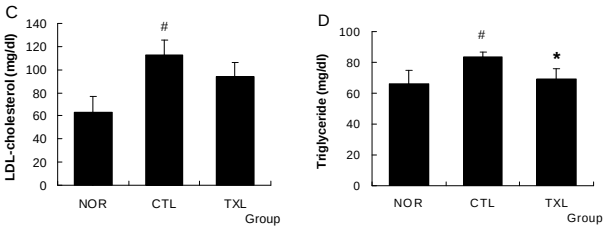


Fig. 4. Effects of TXL on Serum Cholesterol and Triglyceride Levels in Hypercholesterolemic mice.
Cholesterol and triglyceride levels in serum were measured using spectrophotometry. (A) Total cholesterol, (B) HDL-cholesterol, (C) LDL-cholesterol, (D) Triglyceride. Normal : naive Mice, CTL : Hypercholesterolemic Mice, TXL : TXL administered Mice. Values are represented as mean±SD. #P 〈 0.05 vs. NOR group, *P 〈 0.05 as compared to CTL group (n=8).

고 찰

통심락 (通心絡, Tong Xin Luo, TXL)은 全蝎, 水蛭, 蟬蛻, 蜈蚣, 蟅蟲, 人蔘, 芍藥, 龍腦의 총 8종 한약을 포함하고 있으며, 뇌혈전증 회복기 환자의 혈액 순환 개선 및 울체 제거와 협심증에 의한 흉부 압박감 및 흉통의 완화를 사용 목적으로 하고 있다. 최근 중국의 연구에 의하여 혈관 내피세포의 기능을 회복시킨다는 사실이 알려져 있다[3,5]. 오[5]는 그의 저서에서 endothelin, vascular cell adhesion molecules, intercellular adhesion molecules를 감소시키고, nitric oxide를 증가시켜 혈관 내피세포의 기능을 회복하고, flow-mediated dilation과 intima-media thickness를 호전 시켜 동맥경화 초기에 발생하는 동맥 내피 세포의 기능 장애를 개선해줌으로써 궁극적으로 기질적인 동맥경화를 개선해 줄 수 있음을 밝혔다[5]. 또한, 국내에서 시행된 임상시험 연구를 통하여 TXL이 胸痛 및 胸悶 증상을 호전 시킬 가능성이 제기 되었다[3].

TXL을 구성하는 약재 중 全蝎은 전갈과에 속한 곤충인 全蝎(鉗蝎) *Buthus martensi Karsch*의 충체이며, 蜈蚣은 왕지네과에 속한 동물인 왕지네 *Scolopendra subspinipes mutilans L. KOCH*의 충체로 두 종 모두 平肝息風藥類에 속하는 약으로 熄風止痙, 通絡止痛 解毒散結 등의 효능을 지닌다[6]. 水蛭은 거머리과에 속한 環節動物인 말거머리(螞蟥) *Whitmania pigra Whitman* 및 동속 근연 동물의 충체이며, 蟅蟲은 왕바퀴과에 속한 昆蟲인 地鱉 *Eupolyphaga sinensis Walker*의 乾燥體로 두 종 모두 活血祛瘀藥類에 속하며 破血, 逐瘀, 通經의 효능을 지닌다[6]. 蟬蛻는 말매미 *Cryptotympana pustulata Fabricius* 또는 기타 근연곤충이 성충이 될 때 탈피한 껍데기로 發散風熱藥類에 속하며 疏散風熱효능 이외에 解痙 작용을 가지고 있다[6]. 이 외에 식물성 약물로 開竅藥類에 속하는 龍腦, 補氣藥類에 속하는 人蔘 마지막으로 補陰藥類에 속하는 芍藥으로 구성되어 있다. 이러한 개개의 약물 중에서 TXL의 효능과 가장 유사한 효능을 지니는 全蝎, 蜈蚣, 水蛭, 蟅蟲에 대한 최근 연구동향을 살펴보면, 全蝎이 nitric oxide 생산을 억제하며[7], prostaglandin E2의 농도를 낮추어주며[8], 혈전증을 예방 할 수 있다[9]는 사실이 알려져 있고, 蜈蚣은 시험관 내에서 항염증 작용[10], 생체 내에서 鎭痛 鎭痙 작용이 알려져 있으며[11], 한국산 水蛭로부터 항혈전단백질이 분리 정제법이 소개되어 있다[12].

이러한 자료들을 바탕으로 본 저자는 TXL이 고콜레스테롤혈증이 유발된 생쥐의 간 및 심장 조직에 지방 축적 정도 및 혈중 콜레스테롤 함량 변화에 미치는 영향을 관찰 하였다.

본 연구의 결과에서 6주간의 고지방식이의 공여를 통해 간 조직 내에 지방 축적의 흔적이 보이고, 혈중 total cholesterol과 trigliceride가 정상식이군에 비해 유의한 증가를 보이는 고콜레스테롤혈증이 유발되었다.

체중 변화에 대한 결과를 살펴보면, 첫 4주간은 고콜레스테롤혈증 유발 단계로서 3주차부터 CTL군 및 TXL군은 유의한 수준으로 NOR군과 체중차가 나기 시작하였다 (Fig. 1). TXL을 투여하기 시작한 후 체중 변화는 실험 5주차와 6주차에서 살펴 볼 수 있다. 6주차의 체중은 TXL 투여 전인 4주차 체중을 기준으로 NOR군은 1.1% 증가하였고, CTL군은 2.2% 증가한 반면, TXL군은 0.4% 증가에 그쳤다 (Fig. 1). 이는 TXL의 투여가 고콜레스테롤혈증에서 보이는 점진적인 체중 증가를 억제하는 경향을 보이는 것으로 해석될 수 있다. 비교적 투여기간을 설정한 후속 연구를 통해 체중 증가를 억제하는 경향성에 대한 확인이 필요할 것으로 생각된다.

식습관은 비만, 당뇨 고지혈증의 호전과 악화에 직접적으로 영향을 미칠 수 있다[13]. 6주간의 실험기간 동안 식이량과 음수량 변화를 살펴본 결과 CTL군과 TXL군이 NOR군에 비하여 유의한 수준의 식이량 및 음수량 감소현상이 나타났다 (Table 2). 이는 고콜레스테롤혈증의 유발이나 기타 생체 내적 요인에 기인하는 것이 아니라 고지방식이 자체의 문제에 기인한다고 생각된다. 본 연구에서 사용된 고지방식이는 일반 사료에 비하여 칼로리가 높고 (5.24 kcal/g) 습윤하고 부드러우며 밀도가 높다.

간 내의 지방 축적은 고지혈증, 비만 등에서 일어날 수 있으며, 축적의 정도가 심한 상태를 간지방증 (Hepatic steatosis)라 한다[14]. 간 내의 지방 축적은 일반적으로 알콜이나 당뇨, 고혈압, 비만이나 이상지질혈증과 같은 대사이상이 다양하게 복합되어 일어난다[15]. 또한, 이때의 지방 변화는 주로 triglyceride의 세포내 축적에 기인한다[16]. 간지방증의 조직학적 특징은 steatosis라고 할 수 있다. steatosis (fatty change)는 일반적으로 간실질 세포의 liposome 내에 지방이 축적되는 것을 의미하며 이로 인하여 세포가 파괴되지 않은 상태를 말한다[17]. Steatosis는 간뿐만 아니라 신장, 심장 또는 근육에도 나타날 수 있다[17].

본 연구의 결과에서 6주간의 고지방식이 투여는 간 조직 내에 확연한 지방 축적의 흔적인 microsteatosis를 형성 하였다 (Fig. 2B). 이러한 지방 축적의 궁극적인 원인은 에너지 섭취와 소모의 불균형에서 오는 지질대사 이상이다[18]. TXL군에서는 CTL군에 비하여 microsteatosis의 크기와 개수가 모두 감소하는 경향을 보였다 (Fig. 2C). 이러한 결과는 TXL이 간조직 내에 지방 축적을 감소시킬 수 있다는 증거로 해석 할 수 있다.

Steatosis 형성의 위험인자로는 당뇨[19], 단백질 부족[20], 고혈압[21], 세포 독작용[22], 비만[22], 산소결핍[17] 등이 있는데, 이 중에서 본 연구 내용과 가장 유관한 것은 비만이라 할 수 있다. 또한, 지방 축적의 원인은 궁극적으로 지질 대사 이상[18]이므로 TXL이 지질대사 이상을 개선함으로써 간 내 지방 축적을 억제 하였다는 사실을 유추 할 수 있다. 이를 확인하기 위하여 혈액 내의 total cholesterol, HDL-cholesterol,

LDL-cholesterol, triglyceride 함량에 미치는 영향을 조사한 결과 고콜레스테롤혈증 유발에 의하여 total cholesterol, LDL-cholesterol, triglyceride 함량이 유의하게 증가되어 전형적인 고콜레스테롤혈증이 유발되었고 (Fig. 4), TXL의 투여는 total cholesterol과 triglyceride 함량을 유의한 수준으로 낮추었다 (Fig. 4A,D). 이러한 결과는 선행 연구결과[3]와 일맥상통하며, TXL의 간 내 지방 축적 억제의 기전이 이상지질혈증의 개선에 있음을 시사한다.

본 연구의 결과에서 체중 증가량의 감소세는 관찰되었으나 통계적으로 유의하지 않았고 (Fig. 1), 심장 조직에 특별한 영향을 미치지 못한 것 (Fig. 3)은 상대적으로 짧은 고콜레스테롤혈증 유발기간 (4주)과 TXL 투여기간 (2주)에 기인하는 것으로 생각된다. 추후 비교적 장기적인 실험 계획을 가지는 후속 연구를 통하여 TXL이 체중 변화에 미치는 영향과 각종 장기의 지방 축적 또는 기타 조직병리학적 이상변화 현상에 미치는 영향을 다각적으로 관찰해야할 필요성이 있다고 생각한다.

결 론

고콜레스테롤혈증 생쥐 모델에서 간 조직의 지방 축적에 미치는 영향 및 기전을 실험적으로 규명하기 위하여 고지방식이를 투여하여 고콜레스테롤혈증을 유발하고, 2주간 通心絡을 투여한 다음 간과 심장 조직을 적출하여 조직병리학적 이상변화를 관찰하고 혈액으로부터 total cholesterol, HDL -cholesterol, LDL-cholesterol, triglyceride 함량변화를 관찰한 결과 通心絡은 고콜레스테롤증이 유발된 생쥐의 체중 증가량에 특별한 영향을 미치지 않았으며, 간 조직 내의 지방 축적을 억제하는 경향을 보였다. 또한, 고콜레스테롤증이 유발에 의하여 상승된 혈중 total cholesterol 및 triglyceride 함량을 유의한 수준으로 낮추었다. 이러한 결과들을 통하여 通心絡은 이상지질혈증 개선을 통하여 간 내의 지방 축적을 억제 해준다는 사실을 알 수 있었다.

감사의 글

이 논문은 2010년도 동의대학교 교내 연구비 지원에 의해 연구되었음 (과제번호 : 2010AA112).

참고문헌

1. Namgung S. A study on risk factors of hyperlipidemia in Korean midddle age women. Seoul : Graduated school, Catholic University. 2005 : 19-20.
2. Kim M., Jang S., Lee Y. Effect of Dietary Fat and Genistein on Lipid Metabolism and Antioxidant Activity in Hyperlipidemic Male Rats induced High Fat Diet J Kor Nuri Soc. 2006 ; 39(2) : 100-8.
3. Park S., Jeong W., Moon S., Go C., Cho K., Kim Y., Bae H. Clinical trial to evaluate the efficacy and safety of Tongxinluo in high risk group of cardiovascular diseases. Kor J Joongpoong. 2005 ; 6(1) : 25-32.
4. Sanders, TA. Oakley, FR. Miller, GJ. Mitropoulos, KA. Influence of n-6 versus n-3 polyunsaturated fatty acids in diets low in saturated fatty acids on plasma lipoproteins and hemostatic factors. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1997 ; 17(12) : 3449-3460.
5. Yiling WU. Laobingxue. Beijing:Publishing house of Science and technology in China. 2004 : 868-1155.
6. Collaboration with professors of herbology in Korea. Bonchohak. Seoul : Younglimsa. 2004 : 193-4, 469-71, 545-7.
7. Cho H., Kim K. Anti-arthritic Effects of Buthus martensi Karsch Herbal Acupuncture, Inhibiting Interleukin - 1 - induced Expression of Nitric Oxide Synthase and Production of Nitric Oxide in Human Chondrocytes. J Kor Acu & Mox Soc. 2003 ; 20(1) : 104-9.
8. Song I., Choi W., Park J., Lee S., Kim K. The Effect of Buthus martensi Karsch Herbal-acupuncture on Immune Responses to Adjuvant Induced Arthritis in Rats. J Kor Acu & Mox Soc. 2002 ; 19(2) : 177-88.
9. Hwang Y., Baek M., Kang J., Kim S. Study on the effect of Buthus martensi Karsch extract on thrombosis and brain damage. Dongguk J ins Ori med. 1999 ; 8(1) : 171-90.
10. Bea E., Lee K., Lee B., Lim S., Jung T., Seo J. Microarray analysis of gene expression in raw cells treated with scolopendrae corpus herbal-acupuncture solution. Kor J Mer & Acu. 2006 ; 23(3) : 133-60.
11. Jung B, Jang K., Song C., An C. The Effects of Scolopendra subspinipes mutilans L. Koch aquacupuncture Extract Solution on the Analgesia and Anticonvulsion. J Kor Acu & Mox Soc. 1997 ; 14(2) : 219-30.
12. Lee S., Son J., Choi E., Rhee S. Screening and Purification of Anticoagulant Proteins from Korean Leeches. Biochem Mol Biol Rep. 1993 ; 26(3) : 228-34.
13. Park J., Yoon J. Comparison of Dietary Habits and Nutrient Intakes in Subjects with Obesity or Hyperglycemia Classified Metabolic Syndrome. J Kor Nuri Soc. 2005 ; 38(8) : 672-81.
14. Bayard M, Holt J, Boroughs E. Nonalcoholic fatty liver disease. Ame Fam physician. 2006 ; 73(11) : 1961-8.
15. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. N Engl J Med. 2002 ; 346(16) : 1221-31.
16. Reddy JK, Rao MS. Lipid metabolism and liver inflammation. II. Fatty liver disease and fatty acid oxidation. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2006 ; 290(5) : 852-8.
17. Cotran, Kumar, Collins. Robbins Pathologic Basis of Disease. Philadelphia: W.B Saunders Company. 1998.

18. Medina J, Fernández-Salazar LI, García-Buey L, Moreno-Otero R. Approach to the pathogenesis and treatment of nonalcoholic steatohepatitis. Diabetes Care 2004 ; 27(8) : 2057-66.
19. Araya Q AV, Valera M JM, Contreras B J, Csendes J A, Díaz J JC, Burdiles PP, Rojas C J, Maluenda G F, et al. Glucose tolerance alterations and frequency of metabolic syndrome among patients with non alcoholic fatty liver disease. Rev Med Chil. 2006 ; 134(9) : 1092-8.
20. Conde Martel A, González Reimers E, Santolaria Fernández F, Castro Alemán V, Marchena Gómez J, Martínez Riera A. Liver changes in protein malnutrition. An experimental study in rats. Nutr Hosp. 1993 ; 8(6) : 358-63.
21. MJ Brookes, BT Cooper. Hypertension and fatty liver: guilty by association?. J Hum Hypertens. 2007 ; 21(4) : 264-70.
22. S Saadeh. Nonalcoholic Fatty liver disease and obesity. Nutr Clin Pract. 2007 ; 22(1) : 1-10.