

## Research Article



# 고과당식이를 급여한 흰쥐에 있어서 토종보리수 추출물의 인슐린 저항성 및 비알콜성 지방간 개선 효과

최하늘 <sup>1\*</sup>, 최지혜 <sup>2,\*</sup>, 김정인 <sup>3</sup>

<sup>1</sup>창원대학교 식품영양학과  
<sup>2</sup>한국건강관리협회 경남지부 건강증진과  
<sup>3</sup>인제대학교 디지털항노화헬스케어학과

## OPEN ACCESS

**Received:** Oct 29, 2023  
**Revised:** Nov 27, 2023  
**Accepted:** Nov 29, 2023  
**Published online:** Dec 6, 2023

### Correspondence to

#### Jung-In Kim

Institute of Digital Anti-Aging Healthcare, Inje University, 197 Inje-ro, Gimhae 50834, Korea.  
Tel: +82-55-320-3236  
Email: fdsnkjji@inje.ac.kr

\*Ha-Neul Choi and Jihye Choi contributed equally to this work.

© 2023 The Korean Nutrition Society  
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

### ORCID iDs

Ha-Neul Choi <https://orcid.org/0000-0002-3859-7047>  
Jihye Choi <https://orcid.org/0000-0002-7971-8976>  
Jung-In Kim <https://orcid.org/0000-0002-3829-2665>

### Funding

This research was supported by Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Education (No. 2016R1D1A3B03930584).

## Effects of autumn olive berry extract on insulin resistance and non-alcoholic fatty liver in high fructose-fed rat

Ha-Neul Choi <sup>1\*</sup>, Jihye Choi <sup>2,\*</sup>, and Jung-In Kim <sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Food and Nutrition, Changwon National University, Changwon 51140, Korea  
<sup>2</sup>Health Promotion Department, Korea Association of Health Promotion Gyeongnam Branch, Changwon 51322, Korea  
<sup>3</sup>Institute of Digital Anti-Aging Healthcare, Inje University, Gimhae 50834, Korea

## ABSTRACT

**Purpose:** Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is characterized by the accumulation of fat in the liver which is not a result of excessive alcohol consumption. Its global prevalence was estimated to be approximately 32% in the years 1994-2019. More than half of obese individuals and patients with diabetes are reported to have NAFLD as a comorbidity. This study aimed to investigate the impact of the autumn olive (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) berry on insulin resistance and steatosis in rats fed a high-fructose diet.

**Methods:** Six-week-old Wistar rats were divided into four groups. The control group received a diet consisting of 65% corn starch, while the fructose and experimental groups were fed a diet comprising 65% fructose (FRU) and an FRU diet containing 0.5% (low-dose autumn olive berry group; LAO) or 1.0% (high-dose autumn olive berry group; HAO) ethanol extract of autumn olive berry, respectively, for 10 weeks.

**Results:** The HAO group exhibited significantly lower blood glucose levels compared to the fructose-fed group. Both the LAO and HAO groups showed a substantial reduction in serum insulin levels and insulin resistance when compared to the fructose-fed group. The consumption of LAO and HAO significantly ameliorated dyslipidemia and reduced the levels of triglycerides in the liver compared to the fructose-fed group. Additionally, the consumption of HAO resulted in lower serum alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) activities compared to the fructose group. The hepatic expression of the sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c) and carbohydrate-responsive element-binding protein (ChREBP) was significantly reduced in the LAO and HAO groups

**Conflict of Interest**

There are no financial or other issues that might lead to conflict of interest.

compared to the fructose group.

**Conclusion:** Autumn olive berries improved steatosis by ameliorating insulin resistance and down-regulating the lipogenesis proteins in rats fed on high fructose diet.

**Keywords:** autumn olive berry; NAFLD; insulin resistance; blood glucose; fructose

**서론**

비알코올성 지방간질환 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)은 알코올 섭취 및 바이러스 감염과 무관하게 간 내 지방이 과다 축적되는 간질환으로, 단순 지방증 (steatosis), 지방간 (fatty liver), 지방간염 (nonalcoholic steatohepatitis, NASH), 섬유증 (fibrosis) 및 간경화 (cirrhosis)와 같은 폭넓은 범위의 간손상을 의미한다 [1,2]. 1994-2019년도의 NAFLD의 전 세계적인 유병률은 약 32.4%로 추정되며, 남성의 유병률은 39.7%로 보고되어 여성의 유병률인 25.6%보다 높게 나타났다 [3]. 국내 NAFLD의 유병률도 30.2%로 세계 유병률과 유사한 수준인 것으로 보고되었다 [4]. NAFLD 환자의 4-14%는 NASH로 발전한다고 보고되어 조기 발견 및 치료가 중요하다 [5].

비만 환자의 60%, 제2형 당뇨병 환자의 70% 이상은 NAFLD를 동반하는 것으로 보고되어 인슐린 저항성이 NAFLD의 진행에 중요한 요인인 것으로 나타났다 [6,7]. 인슐린 저항성은 지방세포의 지방분해를 촉진하여 혈액 내 유리지방산의 농도를 증가시키고 간으로 유리지방산의 유입을 증가시킨다 [8]. 간으로 유입된 유리지방산은 *de novo* lipogenesis (DNL)를 증가시키고, DNL 과정에 발생하는 diacylglycerols, ceramide 및 sphingosine 등의 대사산물은 지질독성을 유도해 소포체 스트레스를 일으킨다 [9,10]. 따라서 간조직의 DNL 증가는 인슐린 저항성과 산화적 스트레스, 만성염증을 더욱 가속화하여 지방간염, 간섬유증으로 발전할 수 있다 [11]. 또한, 인슐린 저항성은 간조직의 sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c) 전사인자 발현을, 고혈당은 carbohydrate responsive element binding protein (ChREBP) 전사인자 발현을 활성화시킨다 [12]. SREBP-1c와 ChREBP의 발현은 DNL을 활성화하여 acetyl-CoA carboxylase (ACC), fatty acid synthase (FAS), stearyl-CoA desaturase (SCD)와 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase 활성을 촉진해 중성지방과 콜레스테롤의 합성을 유도하여 지방간으로 발전시킨다 [13]. 또한 ChREBP는 SREBP-1c의 발현을 직접 상향조절하기도 한다 [12]. 간 조직의 중성지방 합성 증가는 간에서 혈액으로 초저밀도 지질단백질 (very low-density lipoprotein, VLDL) 방출을 증가시켜 이상지질혈증을 초래한다 [14]. 따라서 NAFLD의 진행을 예방하기 위해선 질병의 조기 발견과 더불어 인슐린 저항성과 이상지질혈증 상태를 개선하는 것이 중요하다.

토종보리수나무 (autumn olive, *Elaeagnus umbellata* Thunb.)는 한국, 일본, 인도, 파키스탄 등 아시아 전역에서 약용 식물로 널리 재배된다 [15]. 토종보리수 열매는 폴리페놀 함량이 풍부한 것으로 보고되었는데 크랜베리와 블루베리보다 높은 것으로 나타났다 [15]. 특히 토종보리수 열매의 리코펜 함량은 15-54 mg/100 g으로 나타나 토마토 (3 mg/100 g)보다 높은 것으로 보고되었다 [16]. 보리수 열매 추출물은 *in vitro*에서 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical 소거 활성이 우수하게 나타났으며, 마우스의 간조직에서 thiobarbituric acid reactive species (TBARS) 생성도 유의적으로 억제하여 항산화 효과가 우수한 것으로 보고되었다

[17,18]. 또한, 보리수 열매 추출물은 과산화수소로 산화적 스트레스를 유도한 섬유아세포를 보호하며 활성산소종에 의해 유발된 염증반응을 감소시켜, 항염증 활성이 우수한 것으로 보고되었다 [19]. Kim 등 [20]의 연구에서 토종보리수 열매 에탄올 추출물이 *in vitro*에서  $\alpha$ -glucosidase 저해활성을 보였으며, 제2형 당뇨병동물모델에서 공복혈당을 감소시켰다.

따라서 토종보리수 열매는 인슐린 저항성과 비알코올성 지방간 개선효과가 우수할 것으로 사료되나, 지방간 동물모델에 있어서 토종보리수 열매의 인슐린 저항성 개선효과를 조사한 연구는 미비한 실정이다. 본 연구에서는 고과당 식이로 지방간을 유도한 흰쥐에서 토종보리수 열매의 인슐린 저항성 및 비알코올성 지방간 개선 효과를 규명하고, 작용기작을 규명하고자 하였다.

## 연구방법

### 토종보리수 추출물 제조

본 실험에 사용한 토종보리수 열매는 경상남도 함천군에 위치한 지역시장에서 구입하였다. 토종보리수 열매는 깨끗하게 세척한 후 탈수하여  $-70^{\circ}\text{C}$ 에서 동결 후 동결건조기로 건조하였다. 동결건조한 토종보리수 열매는 분쇄기를 사용하여 분쇄한 후 시료의 10배 (w/v)의 100% ethanol을 가하여 상온에서 12시간, 6시간, 3시간 동안 추출한 후 여과액과 잔사를 분리하였다. 여과액은 rotary evaporator (FDU-1100; EYELA, Tokyo, Japan)를 사용하여  $50^{\circ}\text{C}$ 에서 감압농축하여 추출물을 제조하였다. 추출물의 수득률은 39.5%로 나타났다.

### 실험동물 사육 및 식이조성

5주령의 수컷 Wistar rats ( $n = 28$ )를 Bio Genomics, Inc. (Seoul, Korea)에서 구입하여 1주간 고형사료 (Purina, Seoul, Korea)를 제공하며 적응기간을 거쳤다. 이후 난괴법에 의해 7마리씩 네 개의 군으로 나누어 대조군 (control group)에게는 corn starch 65%가 함유된 식이를, 과당군에게는 fructose 65%가 함유된 식이 (fructose diet group, FRU)를, 저농도 보리수군 (low autumn olive group, LAO) 및 고농도 보리수군 (high autumn olive group, HAO)에게는 토종보리수 열매 추출물을 각각 0.5% 및 1.0% 수준으로 함유한 FRU 식이를 자유급식으로 10주간 제공하였다 (Table 1). 사육실은 항온 ( $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ )과 항습 ( $55 \pm 5\%$ ), 12시간 명암주기를 유지하였으며, 사육기간동안 체중은 주 1회, 식이섭취량은 주 3회 측정하였다. 동물실험은 인제대학교 동물자원센터의 승인을 받아 수행되었다 (승인번호 2017-018).

### 혈청 생화학 분석 및 간조직의 중성지방 분석

실험동물은 희생 전 12시간 절식 후 심장채혈법으로 희생시켰다. 혈액과 간은 즉시 수집하였고, 혈액은  $3,000 \times \text{g}$ 의 속도로 15분간 원심분리하여 혈청을 분리한 후  $-70^{\circ}\text{C}$ 에서 실험 전까지 보관하였다. 혈당과 총 콜레스테롤, 중성지방, high-density lipoprotein (HDL)-콜레스테롤, 혈청 alanine transaminase (ALT) 및 aspartate aminotransferase (AST) 측정은 kit를 이용해 효소비색법으로 측정하였다 (Asan Pharmaceutical Co., Seoul, Korea). 혈청 인슐린 농도는 rat insulin enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (BioVendor R&D, Brno, Czech Republic)를 사용하여 측정하였다. 인슐린 저항성 지표인 homeostasis model assessment for insulin resistance (HOMA-IR)은 {공복 인슐린 ( $\mu\text{U}/\text{mL}$ )  $\times$  공복 혈당 ( $\text{mmol}/\text{L}$ )} / 22.5로

**Table 1.** Composition of basal and experimental diets (%)

Variables	Groups			
	Control (n = 7)	FRU (n = 7)	LAO (n = 7)	HAO (n = 7)
Corn starch <sup>1)</sup>	65.0	-	-	-
Fructose <sup>1)</sup>	-	65.0	64.5	64.0
Casein <sup>2)</sup>	20.0	20.0	20.0	20.0
Corn oil <sup>3)</sup>	5.0	5.0	5.0	5.0
α-Cellulose <sup>4)</sup>	5.0	5.0	5.0	5.0
Mineral mixture <sup>5)</sup>	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamin mixture <sup>5)</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0
D,L-Methionine <sup>4)</sup>	0.3	0.3	0.3	0.3
Choline bitartrate <sup>4)</sup>	0.2	0.2	0.2	0.2
Autumn olive berry extract	-	-	0.5	1.0

FRU, rats fed fructose diet; LAO, rats fed fructose diet containing 0.5% (low-dose) autumn olive berry extract; HAO, rats fed fructose diet containing 1.0% autumn (high-dose) olive berry extract.

<sup>1)</sup>Daesang CO. Ltd., Seoul, Korea.

<sup>2)</sup>ICN Pharmaceuticals, Inc., Costa Mesa, California, USA.

<sup>3)</sup>CJ Cheiljedang CO., Seoul, Korea.

<sup>4)</sup>Sigma-Aldrich CO., St.Louis, Missouri, USA.

<sup>5)</sup>MP Biomedicals, LCC., Illkirch, France.

계산하였다 [21]. 간조직의 지질은 Folch 등 [22]의 방법을 수정하여 추출하고, chloroform으로 10 mL가 되도록 정용하여 사용하였다. 간지질 추출액의 중성지방 함량은 혈액 분석에 활용한 정량용 kit (Asan Pharmaceutical Co., Seoul, Korea)를 이용하여 측정하였다.

### 단백질 발현 분석

간 조직의 단백질을 추출하기 위해 조직 0.1g 당 1 mL의 lysis buffer (PRO-PREP protein extraction solution; Intron Biotechnology, Seoul, Korea)를 가하여 간조직을 균질화하였다. 균질액은 4°C에서 13,000 ×g로 30분 동안 원심분리한 다음 상층액을 취하였다. 상층액의 단백질은 40 µg이 되도록 정량하여 12% sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel 전기영동으로 분리하였으며, polyvinylidene fluoride (PVDF) membrane에 단백질을 이동 및 부착시켰다. PVDF membrane은 Tween 20이 포함된 phosphate-buffered saline (PBST)을 용매로 한 5% 탈지분유 용액으로 blocking한 후 anti-SREBP-1c (1:1,000; Abcam, Cambridge, MA, USA)와 anti-ChREBP (1:1,000; Abcam) 1차 항체로 4°C에서 24시간 반응시켰다. PBST로 10분간 3회 세척한 후 1:1,000으로 희석한 horseradish peroxidase-conjugated anti-rabbit (Cell Signaling, Beverly, MA, USA) 2차 항체를 사용하여 4°C에서 3시간 반응시켰다. 단백질 발현량은 enhanced luminol-based chemiluminescent kit (GE Healthcare, Chalfont, St. Giles, UK)를 사용하여 X-ray film (Fuji medical X-ray film; FUJIFILM Co., Tokyo, Japan)에 감광시켰다. 단백질 발현은 ImageJ Software (version 1.49; National institute of health, Bethesda, MD, USA)를 이용해 정량화하였다.

### 통계처리

모든 자료는 SAS ver. 9.2 (SAS Institute, Cary, NC, USA)을 이용하여 통계치를 산출하였으며, 통계 분석 결과는 평균 (mean) ± 표준편차 (standard deviation, SD)로 나타내었다. 각 군 간의 평균 차이의 검정을 위해 one-way analysis of variance을 사용하였고, 사후검정은 Tukey's test를 사용하였다 (p < 0.05).

## 결과

### 체중 및 식이섭취량

실험동물의 체중, 식이섭취량, 식이섭취효율은 **Table 2**에 나타내었다. 고과당 식이를 섭취한 동물에서 보리수 열매의 에탄올 추출물을 식이의 0.5% 및 1.0%의 수준으로 10주간 섭취하는 것은 체중과 식이섭취량 및 식이섭취효율에 유의미한 영향을 주지 않았다.

### 혈당, 인슐린 저항성, 및 지질대사 지표의 개선효과

실험동물의 혈액에서 혈당과 인슐린 저항성 관련 지표 및 지질대사 관련 지표를 측정된 결과는 **Table 3**에 제시하였다. FRU군의 공복혈당, 혈청 인슐린 및 HOMA-IR은 대조군에 비해 유의적으로 증가하여 혈당과 인슐린 저항성이 높은 상태로 나타났다 ( $p < 0.05$ ). HAO군의 공복혈당은 FRU군에 비해 유의적으로 감소하였으며 ( $p < 0.05$ ), LAO군의 공복혈당은 FRU군과 유의적인 차이가 없었다. LAO군 및 HAO군의 혈청 인슐린 농도와 HOMA-IR값은 FRU군에 비해 유의적으로 감소하였으며 ( $p < 0.05$ ), 특히 HAO군의 혈청 인슐린 농도와 HOMA-IR값은 대조군과 유의적인 차이가 없었다.

FRU군의 혈청 중성지방 및 총 콜레스테롤 농도는 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다 ( $p < 0.05$ ). LAO군 및 HAO군의 혈청 중성지방 및 총 콜레스테롤의 농도는 FRU군에 비해 유의적으로 감소하였으며 ( $p < 0.05$ ), 대조군과 유의적인 차이가 없었다. 혈청 HDL-콜레스테롤 농도는 네 군 간에 유의적인 차이가 없었다.

**Table 2.** Body weight, food intake, and feed efficiency ratio in Wistar rats

Variables	Groups			
	Control (n = 7)	FRU (n = 7)	LAO (n = 7)	HAO (n = 7)
Initial body weight (g)	140.1 ± 9.5 <sup>ns</sup>	141.1 ± 7.7	142.7 ± 9.5	141.2 ± 7.6
Final body weight (g)	332.5 ± 28.1 <sup>ns</sup>	363.4 ± 27.4	357.9 ± 27.4	345.5 ± 27.2
Weight gain (g/day)	2.75 ± 0.42 <sup>ns</sup>	3.18 ± 0.45	3.08 ± 0.36	2.92 ± 0.44
Food intake (g/day)	22.4 ± 2.3 <sup>ns</sup>	20.3 ± 2.5	21.1 ± 2.6	21.6 ± 2.5
Feed efficiency ratio (%)	12.4 ± 2.4 <sup>ns</sup>	16.0 ± 3.5	14.7 ± 1.7	13.8 ± 3.1

The values are mean ± standard deviation.

FRU, rats fed fructose diet; LAO, rats fed fructose diet containing 0.5% (low-dose) autumn olive berry extract; HAO, rats fed fructose diet containing 1.0% (high-dose) autumn olive berry extract; ns, not significant.

**Table 3.** Serum glycemic indices and lipid profiles in Wistar rats

Variables	Groups			
	Control (n = 7)	FRU (n = 7)	LAO (n = 7)	HAO (n = 7)
Serum glucose (mg/dL)	104.5 ± 16.0 <sup>a</sup>	150.6 ± 18.0 <sup>c</sup>	138.9 ± 16.8 <sup>bc</sup>	117.8 ± 19.6 <sup>ab</sup>
Serum insulin (μU/mL)	34.3 ± 5.9 <sup>a</sup>	60.6 ± 9.7 <sup>c</sup>	48.3 ± 11.0 <sup>b</sup>	46.8 ± 7.1 <sup>ab</sup>
HOMA-IR	8.9 ± 2.1 <sup>a</sup>	22.6 ± 5.1 <sup>c</sup>	16.4 ± 3.4 <sup>b</sup>	13.7 ± 3.3 <sup>ab</sup>
Serum triglyceride (mg/dL)	69.4 ± 12.1 <sup>a</sup>	108.1 ± 20.5 <sup>b</sup>	80.4 ± 14.8 <sup>a</sup>	75.5 ± 12.7 <sup>a</sup>
Serum total cholesterol (mg/dL)	59.8 ± 10.1 <sup>a</sup>	86.1 ± 10.6 <sup>b</sup>	71.2 ± 8.8 <sup>a</sup>	67.9 ± 9.9 <sup>a</sup>
Serum HDL-cholesterol (mg/dL)	30.7 ± 5.7 <sup>ns</sup>	25.2 ± 6.3	26.2 ± 5.7	27.4 ± 4.3

The values are mean ± standard deviation.

FRU, rats fed fructose diet; LAO, rats fed fructose diet containing 0.5% (low-dose) autumn olive berry extract; HAO, rats fed fructose diet containing 1.0% (high-dose) autumn olive berry extract; HOMA-IR, homeostasis model assessment for insulin resistance; HDL, high-density lipoprotein; ns, not significant.

<sup>a-c</sup>Values with different superscripts in the same row are significantly different ( $p < 0.05$ ) between groups by Tukey's test after one-way ANOVA.

**Table 4.** Hepatic triglycerides and liver function parameters in Wistar rats.

Variables	Groups			
	Control (n = 7)	FRU (n = 7)	LAO (n = 7)	HAO (n = 7)
Hepatic triglyceride (mg/g liver)	9.9 ± 2.4 <sup>a</sup>	18.3 ± 2.1 <sup>d</sup>	14.6 ± 2.7 <sup>bc</sup>	12.8 ± 2.3 <sup>ab</sup>
Serum ALT (U/L)	19.9 ± 4.3 <sup>a</sup>	40.7 ± 6.2 <sup>c</sup>	29.5 ± 3.7 <sup>b</sup>	27.5 ± 3.3 <sup>b</sup>
Serum AST (U/L)	48.1 ± 5.8 <sup>a</sup>	75.3 ± 9.2 <sup>c</sup>	66.1 ± 7.7 <sup>bc</sup>	61.8 ± 8.0 <sup>b</sup>

The values are mean ± standard deviation.

FRU, rats fed fructose diet; LAO, rats fed fructose diet containing 0.5% (low-dose) autumn olive berry extract; HAO, rats fed fructose diet containing 1.0% (high-dose) autumn olive berry extract; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; ns, not significant.

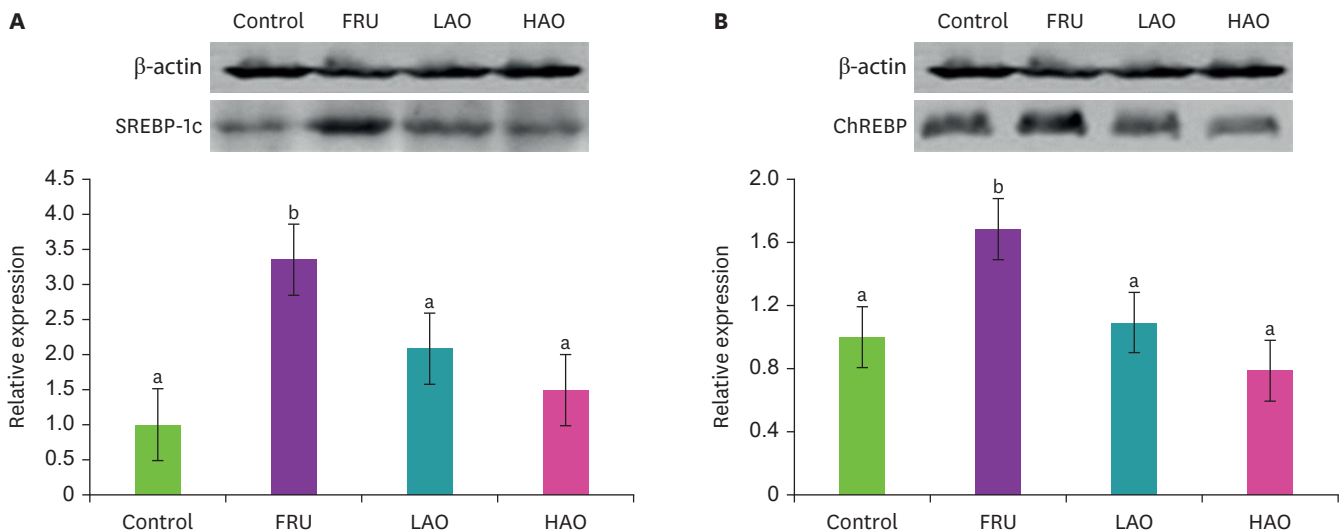
<sup>a-d</sup>Values with different superscripts in the same row are significantly different (p < 0.05) between groups by Tukey's test after one-way ANOVA.

### 간조직의 중성지방 및 간기능 개선 효과

간조직에서 중성지방 함량을 측정된 결과는 **Table 4**에 나타내었다. FRU군의 간조직 중성지방은 대조군에 비해 유의적으로 증가하였으며 (p < 0.05), LAO군 및 HAO군의 간조직 중성지방 함량은 FRU군에 비해 유의적으로 감소하였으며 (p < 0.05), HAO군과 LAO군의 간조직 중성지방은 유의적인 차이가 없었다. 실험동물의 혈청 ALT 및 AST를 측정된 결과, FRU군의 혈청 ALT 및 AST 활성은 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다 (p < 0.05). HAO군과 LAO군의 혈청 ALT는 FRU군에 비해 유의적으로 감소하였으며 (p < 0.05) 두 군 간 유의적인 차이가 없었다. HAO군의 혈청 AST 활성은 FRU군에 비해 유의적으로 감소하였으며 (p < 0.05) LAO군의 혈청 AST 활성은 FRU 및 HAO군과 유의적인 차이가 없었다.

### 간조직의 단백질 발현 조사

토종보리수 열매 추출물의 섭취가 간조직의 단백질 발현도에 미치는 영향은 **Fig. 1**에 제시하였다. FRU군의 간조직 SREBP-1c 및 ChREBP 발현은 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다 (p < 0.05). LAO군 및 HAO군의 SREBP-1c 및 ChREBP 발현은 FRU군에 비해 유의적으로 감소하였으며 (p < 0.05), 대조군과 유의적인 차이가 없었다.



**Fig. 1.** Protein expression of SREBP-1c and ChREBP of liver tissue in Wistar rats (n = 7).

Representative blot was shown and the density of (A) SREBP-1c and (B) ChREBP protein bands were quantified.

FRU, rats fed fructose diet; LAO, rats fed fructose diet containing 0.5% (low-dose) autumn olive berry extract; HAO, rats fed fructose diet containing 1.0% (high-dose) autumn olive berry extract; SREBP-1c, sterol regulatory element-binding protein-1c; ChREBP, carbohydrate-responsive element-binding.

<sup>a,b</sup>Bars that do not share a common letter are significantly different (p < 0.05) between groups by Tukey's test after one-way ANOVA.

## 고찰

본 연구는 토종보리수 열매의 비알코올성 지방간질환 개선 효과를 조사하기 위해 고과당 식이로 지방간을 유도한 흰쥐에게 토종보리수 열매 추출물을 저농도 (식이의 0.5%)와 고농도 수준 (식이의 1.0%)으로 10주간 제공하여 인슐린 저항성 및 지방간 개선 효과를 조사하였다. 과당은 간에서 해당과정의 속도조절 단계인 6-phosphofructokinase 단계를 거치지 않아 빠르게 glyceraldehyde와 dihydroxyacetone phosphate로 분해되어 간의 지방생합성을 촉진한다 [23]. 흰 쥐에게 고과당 식이를 장기간 제공 시 고혈당, 이상지질혈증, 인슐린 저항성이 유도되며, 혈청 AST와 ALT 활성이 증가와 더불어 간조직의 중성지방과 총 콜레스테롤 함량이 유의적으로 증가한다고 보고되었다 [24-26]. 따라서 고과당 식이 동물모델은 NAFLD 연구에 많이 활용된다.

본 연구에서 FRU 군은 대조군에 비해 공복혈당과 인슐린 및 HOMA-IR이 유의적으로 증가했으며, LAO와 HAO의 섭취는 고과당군에 비해 공복혈당과 HOMA-IR을 유의적으로 감소시켰다. 토종보리수 열매는 총 페놀과 리코펜 함량이 매우 풍부하다고 보고되었다 [16,27,28]. 토종보리수 열매 추출물의 폴리페놀 함량을 측정된 결과, 총 페놀 함량은 434 mg gallic acid equivalents (GAE)/100 g으로 나타났으며, 이는 크랜베리 (392 mg GAE/100 g)와 블루베리 (42 mg GAE/100 g)의 총 페놀 함량보다 높은 수준인 것으로 나타났다 [27,28]. 페놀류는 소장의  $\alpha$ -amylase와  $\alpha$ -glucosidase의 활성을 억제하여 탄수화물의 소화속도를 늦추고 식후혈당을 완화시키며 인슐린 민감도도 높인다고 제시되었다 [29]. 토종보리수 열매 에탄올 추출물의  $\alpha$ -glucosidase 저해활성을 측정된 결과, 경구혈당강하제인 아카보스 대비 91.9%로 나타나 토종보리수 열매는  $\alpha$ -glucosidase 저해활성이 우수한 것으로 나타났다 [20]. 또한, 토종보리수 열매 에탄올 추출물은 제2형 당뇨 동물 모델에서 식후혈당과 HOMA-IR을 유의적으로 개선하였다 [20]. 특히 보리수열매의 리코펜 함량은 리코펜이 풍부하다고 알려진 토마토의 10배 이상의 수준으로 높다고 보고되었다 [16]. 식수에 과당을 20% 첨가한 흰쥐에게 리코펜을 식이의 0.01% 수준으로 12주간 제공한 결과 식후 혈당과 HOMA-IR값이 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다 [30]. 따라서 페놀과 리코펜이 풍부한 토종보리수 열매는 고과당을 섭취한 흰쥐에서  $\alpha$ -glucosidase 저해활성을 나타내어 인슐린 저항성과 고혈당을 완화시킨 것으로 사료된다.

고과당 섭취는 간 조직에서 DNL을 증가시켜 중성지방 합성이 빠르게 일어난다 [23]. 간 조직의 중성지방 합성이 증가하면 혈액으로 중성지방이 풍부한 VLDL을 방출하여 혈중 중성지방 수치가 높아진다 [8]. 증가된 혈중 중성지방은 간과 근육의 중성지방 축적을 유도하여 인슐린 신호전달체계인 phosphorylated Akt/Akt를 저해하여 인슐린 저항성을 더욱 악화시킨다 [31]. 또한 고과당의 섭취는 간에서 콜레스테롤 합성을 유도하는 전사인자인 acetyl-coenzyme A acetyltransferase 2와 aldolase B enzyme을 상향조절하여 콜레스테롤 합성이 증가되고 고콜레스테롤혈증을 유도한다고 보고되었다 [32]. 흰쥐를 두 군으로 나누어 식이의 65% 수준으로 과당과 포도당을 12일간 제공한 결과, 과당을 섭취한 흰쥐군이 포도당 섭취군에 비해 혈액과 간조직의 중성지방과 총 콜레스테롤 농도가 유의적으로 증가하였다 [32]. 본 연구에서도 고과당 식이의 섭취는 대조군과 비교하여 혈중 중성지방과 콜레스테롤 수치가 유의적으로 높게 나타나 선행연구의 결과와 일치하는 것으로 나타났다. Wong 등 [33]은 대규모 전향적 코호트 연구를 통해 NAFLD 유무에 따른 심혈관계 질환의 유병률을 비교하였다. 그 결과,

NAFLD 환자는 건강한 사람에 비해 관상동맥 협착증 유병률이 약 1.3배 높게 나타났으며, 향후 경피적 관상동맥조영술의 필요성이 약 1.6배 더 높게 나타날 것으로 보고하였다 [33]. 따라서 NAFLD 환자는 혈중 지질수치를 개선하여 심혈관계 질환의 위험도를 낮추는 것이 매우 중요할 것으로 사료된다.

고지방 (식이의 40% 수준) 식이를 2주간 제공한 후, streptozotocin을 투여하여 제2형 당뇨병을 유도한 흰쥐에 있어서 토종보리수 열매 추출물을 제공한 결과, 혈중 중성지방과 low-density lipoprotein-콜레스테롤을 감소시키고 HDL-콜레스테롤을 증가시켰다 [34]. 본 연구에서도 장기간의 토종보리수 열매 추출물 섭취는 고과당 식이 섭취 동물에서 혈중 중성지방 및 총 콜레스테롤을 감소시켰다. 따라서 토종보리수 열매는 이상지질혈증 개선에 효과적인 것으로 나타났으며 그로 인한 지방간 및 심혈관계 질환의 예방에 도움이 될 것으로 사료된다.

ALT와 AST는 간손상을 평가하는 지표로서 NAFLD를 포함한 간기능 평가에 주로 활용된다 [35]. AST는 간 외의 조직인 심장과 혈액 등에도 존재하므로 ALT가 AST에 비해 간손상에 더욱 민감한 지표로 활용된다 [35]. 본 연구에서 고과당 식이를 섭취한 흰쥐는 대조군에 비해 혈청 ALT와 AST 활성이 유의적으로 증가하여 간손상이 유도된 것으로 나타났으며, 이는 고과당으로 지방간을 유도한 동물연구의 결과와 일치하게 나타났다 [26]. 알코올성 지방간을 유도한 흰쥐에게 딸보리수열매주를 8주간 섭취시킨 결과 실험군이 에탄올군에 비해 혈청 ALT 및 AST 활성이 유의적으로 감소하였으며, 이는 보리수의 페놀성 피토케미칼 성분이 간과 혈액의 지질대사를 개선하여 간손상을 지연시켰을 것으로 보고하였다 [36]. 고지방 고단순당 식이로 비만과 지방간을 유도한 흰쥐에게 페놀이 풍부한 허브티를 28일간 제공한 결과 고지방 고단순당 식이를 제공한 군에 비해 혈청 ALT 및 AST 활성이 유의적으로 감소하였다 [37]. 따라서 본 연구에서도 페놀이 풍부한 토종보리수 열매 추출물이 고과당 식이를 섭취한 흰쥐에서 간과 혈액의 지질대사를 완화하고 지방간을 개선하여 간기능 손상을 완화한 것으로 사료된다.

선행연구들에 의하면 고과당 식이를 섭취한 흰쥐는 대조군에 비해 HOMA-IR값이 증가되었고, 간조직의 중성지방 함량이 유의적으로 증가된 것으로 나타났다 [24-26]. 또한, 고과당 식이의 장기적인 섭취는 마우스의 간조직에서 지방 생합성 전사인자인 SREBP-1c와 ChREBP의 단백질 발현을 유의적으로 증가시킨 것으로 나타났다 [38]. 본 연구에서 간조직 중성지방 함량은 고과당군이 대조군에 비해 유의적으로 증가하였고, 고과당군의 간조직 SREBP-1c와 ChREBP의 단백질 발현이 대조군에 비해 유의적으로 증가하여 이는 선행연구들과 일치한 결과를 나타내었다. 인슐린 저항성으로 혈중 인슐린 농도가 높아지면 간조직의 SREBP-1c의 발현을 증가시키며, 인슐린 저항성으로 인한 고혈당은 ChREBP의 발현을 증가시켜 ACC, FAS, SCD 등의 지방합성 효소의 발현을 상향조절하여 DNL을 촉진한다[13]. 고과당 식이를 7일간 제공한 마우스는 대조군에 비해 SREBP-1c, ACC 및 FAS의 발현이 높게 나타났다 [39]. 폴리페놀과 리코펜은 간에서 지방산 생합성 전사인자를 하향조절하여 지방간을 개선한다고 알려져 있다 [38,40,41]. 고과당 식수로 지방간을 유도한 마우스에게 폴리페놀이 풍부한 비파열매 추출물을 8주간 제공한 결과, 인슐린 민감도를 개선하고 간조직의 ChREBP/SREBP-1c를 하향조절하여 지방간 개선효과를 나타내었다 [38]. 고지방식이로 비만을 유도한 마우스에게 리코펜을 12주간 제공한 결과, 간조직의 SREBP-1c를 비롯한 ACC와 FAS의 발현을 하향 조절하였다 [40]. 또한, ApoE knockout 마우스에게 고지방식이와 리코펜을 14주간 제공한 결과, 간조직의 SREBP-1c 발현을 하향조절하여 지방간 개선 효과를 나타내었다 [41].



따라서 본 연구에서 장기간 고과당 식이 섭취로 지방간을 유도한 흰쥐에서 페놀과 리코펜이 풍부한 토종보리수 열매는 고혈당과 인슐린 저항성을 완화하였으며, 간조직의 SREBP-1c 및 ChREBP 단백질 발현을 억제시켜 간 내 지방축적을 완화하여 비알코올성 지방간질환 개선 효과를 나타내었다. 향후 토종보리수 열매 섭취에 따른 산화적 스트레스와 염증 지표를 추가 연구하여 지방간염과 간섬유증의 예방효과를 규명하는 연구가 필요하다고 사료된다.

## 요약

토종보리수 열매 추출물의 비알코올성 지방간 질환 개선효과를 규명하기 위해 흰쥐에게 65% 고과당 식이와 함께 토종보리수 열매 에탄올 추출물을 식이의 0.5%, 1.0% 수준으로 10주간 제공하였다. 고과당군은 대조군에 비해 공복 혈당과 혈청 인슐린, HOMA-IR값이 유의적으로 증가하였고, 고농도 보리수 열매 추출물군의 공복혈당은 고과당군에 비해 유의적으로 감소하였다. 저농도 보리수 열매 추출물군 및 고농도 보리수 열매 추출물군의 혈청 인슐린과 HOMA-IR값은 고과당군에 비해 유의적으로 감소하였다. 혈청 중성지방 및 총 콜레스테롤 농도는 고과당군이 대조군에 비해 유의적으로 증가하였으며, 저농도 보리수 열매 추출물군 및 고농도 보리수 열매 추출물군은 고과당군에 비해 유의적으로 감소하였다. 간조직 중성지방 함량은 고과당군이 대조군에 비해 유의적으로 증가하였으며, 저농도 및 고농도 보리수 열매 추출물의 섭취는 고과당군에 비해 유의적으로 감소하였다. 혈청 ALT 및 AST 활성은 고과당군이 대조군에 비해 유의적으로 증가하였고, 저농도 및 고농도 보리수 열매 추출물군의 ALT 활성은 고과당군에 비해 유의적으로 감소하였다. 고농도 보리수 열매 추출군의 AST 활성은 고과당군에 비해 유의적으로 감소하였다. 간조직의 SREBP-1c 및 ChREBP 단백질 발현도는 고과당군이 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다. 저농도 및 고농도 보리수 열매 추출물군의 SREBP-1c 및 ChREBP 단백질 발현도는 고과당군에 비해 유의적으로 감소하였고, 대조군과 유의적인 차이가 없었다. 따라서, 고과당을 섭취한 흰쥐에서 토종보리수 열매 추출물의 섭취는 고혈당과 인슐린 저항성 상태를 개선하였고, 혈청 지질과 간조직 중성지방 함량을 감소시켰으며, 간조직의 SREBP-1c 및 ChREBP 단백질 발현을 감소시켜, 비알코올성 지방간질환 개선 효과를 나타내는 것으로 사료된다.

## REFERENCES

1. Ratziu V, Bellentani S, Cortez-Pinto H, Day C, Marchesini G. A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. *J Hepatol* 2010; 53(2): 372-384.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
2. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Clin Liver Dis (Hoboken)* 2018; 11(4): 81.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
3. Riazi K, Azhari H, Charette JH, Underwood FE, King JA, Afshar EE, et al. The prevalence and incidence of NAFLD worldwide: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2022; 7(9): 851-861.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
4. Im HJ, Ahn YC, Wang JH, Lee MM, Son CG. Systematic review on the prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in South Korea. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2021; 45(4): 101526.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)

5. Negi CK, Babica P, Bajard L, Bienertova-Vasku J, Tarantino G. Insights into the molecular targets and emerging pharmacotherapeutic interventions for nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism* 2022; 126: 154925.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
6. Pallayova M, Taheri S. Non-alcoholic fatty liver disease in obese adults: clinical aspects and current management strategies. *Clin Obes* 2014; 4(5): 243-253.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
7. Dharmalingam M, Yamasandhi PG. Nonalcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes mellitus. *Indian J Endocrinol Metab* 2018; 22(3): 421-428.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
8. Hirano T. Pathophysiology of diabetic dyslipidemia. *J Atheroscler Thromb* 2018; 25(9): 771-782.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
9. Tanase DM, Gosav EM, Costea CF, Ciocoiu M, Lacatusu CM, Maranduca MA, et al. The intricate relationship between type 2 diabetes mellitus (T2DM), insulin resistance (IR), and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *J Diabetes Res* 2020; 2020: 3920196.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
10. Deng KQ, Huang X, Lei F, Zhang XJ, Zhang P, She ZG, et al. Role of hepatic lipid species in the progression of nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Physiol Cell Physiol* 2022; 323(2): C630-C639.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
11. Petersen MC, Shulman GI. Roles of diacylglycerols and ceramides in hepatic insulin resistance. *Trends Pharmacol Sci* 2017; 38(7): 649-665.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
12. Linden AG, Li S, Choi HY, Fang F, Fukasawa M, Uyeda K, et al. Interplay between ChREBP and SREBP-1c coordinates postprandial glycolysis and lipogenesis in livers of mice. *J Lipid Res* 2018; 59(3): 475-487.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
13. Xu X, So JS, Park JG, Lee AH. Transcriptional control of hepatic lipid metabolism by SREBP and ChREBP. *Semin Liver Dis* 2013; 33(4): 301-311.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
14. Matsuzaka T, Shimano H. New perspective on type 2 diabetes, dyslipidemia and non-alcoholic fatty liver disease. *J Diabetes Investig* 2020; 11(3): 532-534.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
15. Ahmad SD, Sabir SM, Zubair M. Ecotypes diversity in autumn olive (*Elaeagnus umbellata* Thunb.): a single plant with multiple micronutrient genes. *Chem Ecol* 2006; 22(6): 509-521.  
[CROSSREF](#)
16. Fordham IM, Clevidence BA, Wiley ER, Zimmerman RH. Fruit of autumn olive: a rich source of lycopene. *HortScience* 2001; 36(6): 1136-1137.  
[CROSSREF](#)
17. Ishaq S, Rathore HA, Sabir SM, Maroof MS. Antioxidant properties of *Elaeagnus umbellata* berry solvent extracts against lipid peroxidation in mice brain and liver tissues. *Food Sci Biotechnol* 2015; 24(2): 673-679.  
[CROSSREF](#)
18. Khattak KF. Free radical scavenging activity, phytochemical composition and nutrient analysis of *Elaeagnus umbellata* berry. *J Med Plants Res* 2012; 6(39): 5196-5203.  
[CROSSREF](#)
19. Zglińska K, Niemiec T, Łozicki A, Matusiewicz M, Szczepaniak J, Puppel K, et al. Effect of *Elaeagnus umbellata* (Thunb.) fruit extract on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative and inflammatory responses in normal fibroblast cells. *PeerJ* 2021; 9: e10760.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
20. Kim JI, Baek HJ, Han DW, Yun JA. Autumn olive (*Elaeagnus umbellata* Thunb.) berry reduces fasting and postprandial glucose levels in mice. *Nutr Res Pract* 2019; 13(1): 11-16.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
21. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28(7): 412-419.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
22. Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem* 1957; 226(1): 497-509.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)

23. Teff KL, Grudziak J, Townsend RR, Dunn TN, Grant RW, Adams SH, et al. Endocrine and metabolic effects of consuming fructose- and glucose-sweetened beverages with meals in obese men and women: influence of insulin resistance on plasma triglyceride responses. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94(5): 1562-1569.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
24. Reddy SS, Ramatholisamma P, Karuna R, Saralakumari D. Preventive effect of *Tinospora cordifolia* against high-fructose diet-induced insulin resistance and oxidative stress in male Wistar rats. *Food Chem Toxicol* 2009; 47(9): 2224-2229.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
25. Mohamed MA, Ahmed MA, Abd Elbast SA, Ali NA. Rice bran oil ameliorates hepatic insulin resistance by improving insulin signaling in fructose fed-rats. *J Diabetes Metab Disord* 2019; 18(1): 89-97.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
26. Dziadek K, Kopeć A, Piątkowska E, Leszczyńska T. High-fructose diet-induced metabolic disorders were counteracted by the intake of fruit and leaves of sweet cherry in Wistar rats. *Nutrients* 2019; 11(11): 2638.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
27. Viskelis P, Rubinskiene M, Jasutiene I, Sarkinas A, Daubaras R, Cesoniene L. Anthocyanins, antioxidative, and antimicrobial properties of American cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) and their press cakes. *J Food Sci* 2009; 74(2): C157-C161.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
28. Rodrigues CA, Nicácio AE, Boeing JS, Garcia FP, Nakamura CV, Visentainer JV, et al. Rapid extraction method followed by a d-SPE clean-up step for determination of phenolic composition and antioxidant and antiproliferative activities from berry fruits. *Food Chem* 2020; 309: 125694.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
29. Williamson G, Sheedy K. Effects of polyphenols on insulin resistance. *Nutrients* 2020; 12(10): 3135.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
30. Hassan NF, Hassan AH, El-Ansary MR. Cytokine modulation by etanercept ameliorates metabolic syndrome and its related complications induced in rats administered a high-fat high-fructose diet. *Sci Rep* 2022; 12(1): 20227.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
31. Jiang L, Yao L, Yang Y, Ke D, Batey R, Wang J, et al. *Jiangzhi* Capsule improves fructose-induced insulin resistance in rats: association with repair of the impaired sarcolemmal glucose transporter-4 recycling. *J Ethnopharmacol* 2016; 194: 288-298.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
32. Ichigo Y, Takeshita A, Hibino M, Nakagawa T, Hayakawa T, Patel D, et al. High-fructose diet-induced hypertriglyceridemia is associated with enhanced hepatic expression of ACAT2 in rats. *Physiol Res* 2019; 68(6): 1021-1026.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
33. Wong VW, Wong GL, Yeung JC, Fung CY, Chan JK, Chang ZH, et al. Long-term clinical outcomes after fatty liver screening in patients undergoing coronary angiogram: a prospective cohort study. *Hepatology* 2016; 63(3): 754-763.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
34. Nazir N, Zahoor M, Nisar M, Khan I, Karim N, Abdel-Halim H, et al. Phytochemical analysis and antidiabetic potential of *Elaeagnus umbellata* (Thunb.) in streptozotocin-induced diabetic rats: pharmacological and computational approach. *BMC Complement Altern Med* 2018; 18(1): 332.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
35. Sattar N, Forrest E, Preiss D. Non-alcoholic fatty liver disease. *BMJ* 2014; 349: g4596.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
36. Kim J, Nam KS, Noh SK. Cherry silverberry (*Elaeagnus multiflora*) wine mitigates the development of alcoholic fatty liver in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2012; 41(1): 57-64.  
[CROSSREF](#)
37. Iftikhar N, Hussain AI, Chatha SA, Sultana N, Rathore HA. Effects of polyphenol-rich traditional herbal teas on obesity and oxidative stress in rats fed a high-fat-sugar diet. *Food Sci Nutr* 2022; 10(3): 698-711.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
38. Li W, Yang H, Zhao Q, Wang X, Zhang J, Zhao X. Polyphenol-rich loquat fruit extract prevents fructose-induced nonalcoholic fatty liver disease by modulating glycometabolism, lipometabolism, oxidative stress, inflammation, intestinal barrier, and gut microbiota in mice. *J Agric Food Chem* 2019; 67(27): 7726-7737.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)

39. Miyazaki M, Dobrzyn A, Man WC, Chu K, Sampath H, Kim HJ, et al. Stearoyl-CoA desaturase 1 gene expression is necessary for fructose-mediated induction of lipogenic gene expression by sterol regulatory element-binding protein-1c-dependent and -independent mechanisms. *J Biol Chem* 2004; 279(24): 25164-25171.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
40. Fenni S, Hammou H, Astier J, Bonnet L, Karkeni E, Couturier C, et al. Lycopene and tomato powder supplementation similarly inhibit high-fat diet induced obesity, inflammatory response, and associated metabolic disorders. *Mol Nutr Food Res* 2017; 61(9): 1601083.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
41. Mannino F, Pallio G, Altavilla D, Squadrito F, Vermiglio G, Bitto A, et al. Atherosclerosis plaque reduction by lycopene is mediated by increased energy expenditure through AMPK and PPAR $\alpha$  in ApoE KO mice fed with a high fat diet. *Biomolecules* 2022; 12(7): 973.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)