

# 高食鹽食餌가 白鼠肝臟中の Cholesterol 含量에 미치는 影響

金明姬·吳世宗·林鳳澤

機器分析科

## Effect of High Salt Diet on Cholesterol Content of Liver Tissue in Rats

Myung Hee Kim, Sea Jong Oh, and Bong Tack Lim

Instrumental Analysis Division.

### =Abstract=

Recent many investigator studied about an origin of essential hypertension and salt intake is pointed out an one of the important factors. Where as hypercholesterolemia is considered a primary risk factor in atherosclerosis. Total cholesterol level is affected by ACTH, Fe, Zn, Cu, exogenic cholesterol and bile acid.

This experiment was performed to studied on the liver cholesterol content affected by high salt intake.

The experimental animals were male rats weighing 130~150g. The rats were divided into 4 groups; control, 1%, 5% and 10% salt intake group. During the 4 weeks, daily amount of food intake and water were measured and body weight was measured by 5 times. The rats were sacrificed by decapitation and removed their liver. The cholesterol content of liver tissue was determined by G.L.C. and Na, K, by flame emission method of A.A.

The results obtained were as follows

1. Red blood cell counts of 5% and 1% group were lower than control group. On the other hand, R.B.C contents of 10% group was increased significantly.
2. In the liver cholesterol content of 5% group was increased about 25% compare than control one.
3. Na content of liver tissue were higher in all experimental groups than control one, especially 5% group was increased about 10% significantly.
4. K content of liver tissue did not show so much differences than control group.

### 緒 論

高血壓症을 臨床的으로 大別하면 神經系, 內分泌系, 心脈管系 및 腎臟 등의 機能不全時에 수반되는 二次性 高血壓과 나머지 대다수의 경우에 볼 수 있는 原因미 상의 本態性高血壓으로 나눌 수 있다.<sup>1)</sup> 이러한 本態性 高血壓의 原因을 究明하기 위하여 最近 10餘年 사이에 활발한 研究가 이루어지고 있는데 食鹽攝取量이 하나의 重要한 要因으로 지적되고 있다.

食鹽攝取量과 高血壓 發生에 관하여서는 1904년

Ambard와 Beaujard가 처음으로 報告한 이래 많은 實驗과 臨床研究가<sup>2,3)</sup> 이루어져 왔으며 長期間 過量の 食鹽攝取는 NaCl-induced hypertension을 招來하는 것으로 알려지고 있으나 그 機轉에 대하여서는 아직 확 실치가 않다.

한편 steroid hormone의 前驅物質인 cholesterol은 주로 肝과 腸粘膜에서 acetyl Co-A로부터 生合成되며 hypercholesterolemia는 動脈硬化症이나 間歇性心臟疾患으로 인한 高血壓과 關係가 깊다고 報告되고 있다.

4-8)

따라서 長期間 過量の 食鹽攝取가 體內 총 cholesterol

含量에 變化를 주어 그로 因하여 間接的으로 高血壓에 影響을 미치는지의 여부를 알아 보코자 本實驗을 試圖하여 다음과 같은 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

### 材料 및 方法

材料: 實驗動物은 一定한 條件下에서 飼育한 生後 2 個月 內의 體重 150g 정도되는 숫원쥐 30마리를 使用하였으며 이들을 各各 4群으로 나누어 제 1群은 對照群으로 市販되는 配合飼料를, 제 2群은 1%-NaCl을 含有한 配合飼料, 제 3群은 5%-NaCl 配合飼料, 제 4群은 10%-NaCl을 含有한 配合飼料를 給與하였으며 물은 모두 常水를 供給해 주었다. 飼育하는 동안 攝取한 飼料量과 물의 量은 每日, 體重은 5日에 한번씩 秤量하였다. 이렇게 4週日間 飼育한 後 動物을 斷頭하여 犧牲시키면서 採血하였고 肝을 摘出하여  $-20^{\circ}\text{C}$ 로 實驗時까지 保管하였다.

方法: 肝에서의 cholesterol 測定은 摘出した 肝을 1.0g 정도 取하여 homogenate한 다음 圖 1과 같은 方法으로 抽出하여 Gaschromatography (Perkin Elmer 900)

를 行하였으며<sup>9,10)</sup> 이때의 實驗條件은 表 1과 같다. 또한 肝組織中の Na 및 K의 測定은 組織 500mg을 取하여 豫備炭化 시킨다음  $600^{\circ}\text{C}$ 로 灰化시켜 이를 蒸溜水에 溶解시켜 Atomic absorption spectrophotometer (Perkin Elmer 306)에 의해 flame emission method로 測定하였다. 이때의 實驗條件은 表 2.와 같다. 그외에 血色素는 Sahli-method로, 赤血球數는 Hemocytometer로 測定하였다.

Table 1. Gaschromatographic Condition for Cholesterol Determination

Model	Perkin-Elmer 900
Detector	Flame ionization detector
Column	3%-SE 30 (60-80 mesh) on Chromosorb AW. $\phi$ 3mm $\times$ 2m stainless steel.
Col. temp.	$245^{\circ}\text{C}$
Det. temp.	$280^{\circ}\text{C}$
Inj. temp.	$260^{\circ}\text{C}$
Carrier gas	$\text{N}_2$ 40ml/min
Chart speed	5mm/min
Sample size	$5\mu\text{l}$

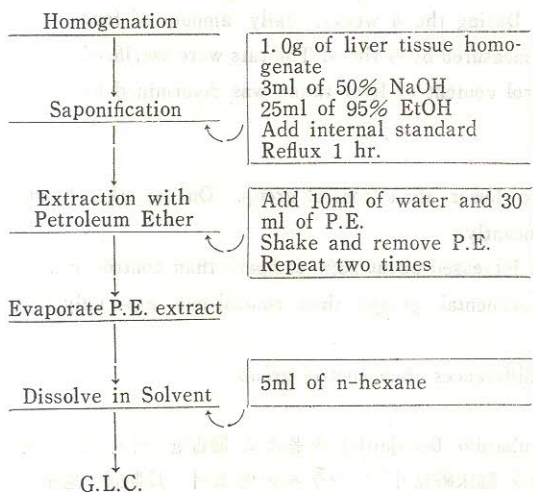


Fig. 1. Flow sheet for determination of cholesterol in liver tissue.

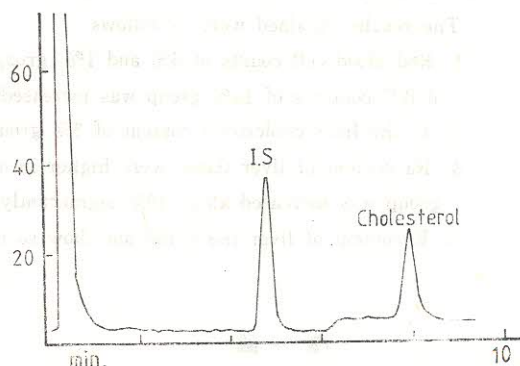


Fig. 2. Chromatogram of cholesterol on 3%-SE 30.

Table 2. Atomic Absorption Spectrophotometric Condition for Sodium and Potassium

	Wave length (nm)	Method	Fuel (l/min)	Standard Concentration	Slit
Na	vis-295	Flame Emission	Air/Acetylen (14/4)	1~10ppm	4
K	vis-383	Flame Emission	Air/Acetylen (14/4)	1~25ppm	4

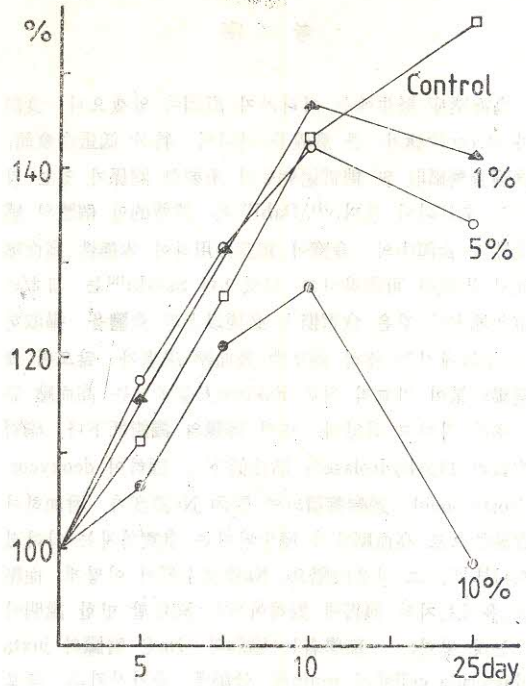
## 結 果

實驗動物을 4週間 飼育하는 동안 매일 攝取한 飼料 및 물의 量은 表 3과 같다. 즉 對照群에서는 1마리가 攝取한 飼料와 물의 量은 19.8g/day 및 17.6ml/

**Table 3.** Mean Value of Diet and Water Intake for each Rats

	Diet (g/day)	Water (ml/day)
Control	19.8	17.6
1%-group	22.9	23.2
5%-group	19.5	24.6
10%-group	13.7	26.7

day인데 비하여 1%群은 飼料攝取量이 약 12% 정도로 增加되었으며 5%群은 큰 變化가 없었고 10%群에서는 약 30%나 현저히 減少 되었다. 그러나 물의 攝取量은 對照群에 비하여 實驗群이 점차 增加하여 食鹽의 攝取量이 많아 질수록 물의 攝取量도 따라서 增加 되었으며 그 增加率은 1%群이 약 32%, 5%群이 약 40% 그리고 10%群이 52%정도이었다. 또한 이 동안의 體重의 變化는 圖 3에서 보는 바와 같이 對照群은 飼育하는 동안 계속 成長이 持續되었으나 實驗群에서는 食鹽을 投與한지 15일이 經過한 以後부터는 體重在 減少되는 共通點을 나타냈으며 15일 동안은 增加되다가 그 以後 減少되는 比率도 역시 食鹽의 投與濃度가 增加할수록 顯著하였다. 血液所見에 있어서는 表 4에서 보는 바와



**Fig. 3.** Increasing rates of body weight in rats.

다. 肝組織中の cholesterol含量 역시 表 4에서 보는바와 같이 1%群에서는 1907.2±26.34(μg/g)으로 對照群의 1791.3±34.52(μg/g)에 비하여 약 6%정도 有意的으로 增加되었고 5%群에서는 약 25%나 매우 有意的으로 增加되었다. 그러나 10%群에서는 1774.4±10.50(μg/g)으로 對照群과 大差가 없었다. 이와 함께 肝組

**Table 4.** Effect of Salt Diet on Hb. REC in Blood and Cholesterol, K, Na Contents in Liver

	No of case	Hemoglobin (g/100ml)	R B C (10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup> )	Cholesterol (μg/g)	Potassium (mg/g)	Sodium (mg/g)	K/Na
Control	6	11.17±0.13	668±4.23	1791.3±34.52	3.50±0.024	3.70±0.034	0.95±0.008
1%-group	8	11.88±0.15*	606±11.32**	1907.2±26.34*	3.87±0.092**	3.88±0.051**	0.99±0.012**
5%-group	8	11.24±0.09	609±9.63**	2230.9±19.38**	3.43±0.089	4.07±0.048**	0.86±0.028*
10%-group	8	11.80±0.16	703±14.96*	1774.4±10.50	3.13±0.057**	3.95±0.043**	0.79±0.014**

Mean±SE, \*p<0.05, \*\*p<0.01.

같이 血色素의 含量은 對照群과 實驗群 사이에 큰 差異는 없었으며 1%群이 약 7%정도 增加되었다. 赤血球數는 오히려 1%群과 5%群에서는 有意的으로 減少하는 傾向을 나타냈으나 10%群에서는 赤血球數가 增加되었다. 그러나 이는 赤血球數의 增加보다는 水分의 排泄로 因하여 血液의 濃縮現象에 의한것으로 思料된

織中の K 및 Na含量을 보면 表 4에서 보는바와 같이 특히 Na의 含量은 모든 實驗群에서 有意的으로 增加되었으며 5%群에서는 약 10% 정도나 매우 有意的으로 增加되었다. 따라서 5%群이 肝組織中の cholesterol含量과 Na含量이 가장 높았다.

## 考 察

高血壓症 發生에는 여러가지 原因이 있겠으나 食餌와 stress狀態가 큰 意義를 가지며 特別히 低蛋白食餌, 食鹽過剩攝取 및 糖質過剩등이 重要한 關係가 있는 것으로 主目되어 왔다.<sup>11)</sup> Dahl<sup>12)</sup>은 遺傳的인 個體의 感受性과 食餌中の 食鹽이 相互作用하여 本態性 高血壓症의 出現이 可能하다고 하였으며 Sasaki<sup>13)</sup>는 日本의 東北地方과 같은 食習慣上 必要以上の 食鹽을 攝取하는 地域에서는 特別히 弱年性 高血壓 患者가 많으며 食鹽攝取量이 비교적 적은 Eskimo人들에서는 高血壓 發生率이 적다고 하였다. 또한 腎臟의 機能低下나 副腎皮質의 11 $\beta$ -hydrolase의 活性低下로 因하여 deoxycorticosterone이 過剩蓄積되면 體內 Na濃도가 增加하여 實驗的으로 高血壓症이 發生된다는 事實까지는 알려졌으나<sup>14,15)</sup> 그 다음段階로 Na濃도上昇이 어떻게 血壓을 올리는지의 與否에 對하여서는 滿足할 만한 說明이 없는것 같다. 一部學者는 過剩의 Na은 腎臟의 juxta glomerula cell에서 renin의 分泌를 증가시키고 그로 因하여 renin-angiotensin system에 異常을 가져와 高血壓을 招來<sup>16)</sup>한다고 하는가 하면, Kunze등은<sup>17)</sup> 血中 Na濃도 그 自體가 大動脈弓 및 頸動脈體等에 存在하는 baroreceptor 및 chemoreceptor에 作用하여 直接高血壓을 誘發한다고 주장하기도 한다.<sup>17)</sup> 또 Dahl등은 體內Na의 蓄積은 高血壓症 誘發能力을 가진 SEH (sodium excretory hormone)의 分泌를 促進하여 血壓이 上昇되리라 하나 여기에는 SEH의 存在를 證明할 수 있는 充分한 證據가 必要하다.

한편 cholesterol은 體內 肝이나 腸에서 acetyl-Co-A로 부터 生合成되며 rate-limiting enzyme인 HMG Co-A reductase (3-hydroxy-3-methyl glutaryl Co-A reductase)에 의해 調節된다. 이 cholesterol은 free form과 ester form으로 體內에 存在하는데 bile acid나 steroid hormone의 前驅物質로서 血清內的 含量은 動脈硬化症, 高血壓 等. 心脈管系 疾患과 密接한 關係가 있으며 生合成은 外部로 부터의 cholesterol投與나 bile acid, ACTH, Iron, Copper 및 Zinc 등에 의해 影響을 받는다고 하였다.<sup>18-22)</sup> 따라서 著者들은 血中の Na濃도가 肝에서 cholesterol合成에 影響을 미치리라 生覺되어 本實驗을 試圖한 結果 모든 實驗群에서 食鹽投與 15일이 經過한 以後부터 體重이 減少하였는데 이는 腎臟에서 salt diuresis가 일어나 體液量이 줄었기 때문이며 또한 10%群에서 赤血球數가 현저히 증가된

것으로 나타났는데 이 역시 體液量의 減少로 因한 hemo concentration 結果인 것으로 思慮된다. 肝組織中の cholesterol値는 對照群이 1791.3( $\mu\text{g/g}$ )인데 비하여 庚등<sup>23)</sup>이 Zack氏 方法으로 測定한 값보다 약간 낮았으나 이는 本實驗에 使用된 動物들이 비교적 低蛋白 飼料로 飼育하였으며 測定方法의 差異에서 오는것이라 믿어진다. 特別히 5%群에서는 cholesterol 含量이 가장 높았으며 이때 肝組織中の Na含量 亦是 가장 높았다. 이러한 點으로 미루어 體內 Na의 過剩投與가 肝의 cholesterol 含量을 增加시키는 것은 確實하나 過剩의 Na으로 因하여 高血壓이 招來되고 그 結果 cholesterol 含量이 높아진 것인지 아니면 cholesterol含量이 높아져서 그로 因하여 高血壓이 나타나는지의 與否는 앞으로 더욱 研究하므로서 究明되어야 할 課題이다.

## 結 論

以上과 같은 實驗成績 및 考察을 通하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 흰쥐에서 高食鹽食餌 結果 血色素의 變化는 別로 없었으며 赤血球數는 1%群과 5%群에서는 顯著히 減少되었으며 10%群에서는 오히려 增加되었다.
  2. 肝組織中の cholesterol含量은 5%群이 對照群에 比하여 약 25% 增加되었다.
  3. 肝組織中の Na 含量은 對照群에 比하여 모든 實驗群에서 增加되었으며, 特別히 5%群에서 10%나 顯著히 增加되었으나 K의 量은 큰 變化가 없었다.
- 따라서 肝의 cholesterol 含量은 體內 Na濃도에 依해 影響을 받는 것으로 生覺된다.

## 參 考 文 獻

- 1) 金基淳: 식염과잉의 섭취 및 시상하체의 장기전격 자극에 의한 고혈압증 유발에 관한 실험적 연구. 대한생리학회지, 4(2): 47, (1970).
- 2) Grollman, A., Harrison, T.R., and Mason, M.F.: Sodium restriction in the diet for hypertension. *J.A.M.A.* 129: 533, (1945).
- 3) Meneely, G.R.: Salt, *Am. J. Med.* 16:1, (1954).
- 4) Stryer, L.: *Biochemistry*, Toppan company (Tokyo). 1st, 489, (1975).
- 5) Cantarow, A. and Latner, A.L.: *Clinical biochemistry*, 7th edd. W.B. Saunders Co., 91-145, (1975).
- 6) Nicolsi, R.J., Hojnacki, J.L. and Hayes, K.C.:

- Diet and lipoprotein influence on primate Atherosclerosis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 156: 1, (1977).
- 7) Stalmer, J., Berkson, D.M., and Majonnier, L.: Diet serum lipids, atherosclerotic coronary heart disease, and approaches to its prevention. *J. Lab. Clin. Med.*, 60:1020, (1962).
  - 8) Swell, L., and Treadwell, C.R.: Dynamic aspects of cholesterol ester metabolism in rabbit with atherosclerosis. *J. Nutr.*, 81:263, (1963).
  - 9) Heuck, C.C., Nothhelfer, A., and Schlierf, G.: Microdetermination of cholesterol in serum lipoproteins. *J. Lip. Res.*, 18:259, (1977).
  - 10) Miettinen, T.A., Ahrens, E.H., and Grundy, S. M.: Quantitative isolation and gas-liquid chromatographic analysis of total dietary and fecal neutral steroids. *J. Lip. Res.*, 6:411, (1965).
  - 11) Chasis, H., Goldring, W., and Breed, E.S.: Salt and protein restriction. *J. A. M. A.*, 142: 711, (1950).
  - 12) Dahl, L.K.: Salt intake and salt need. *New. Eng. J. Med.*, 258:1152, (1958).
  - 13) Sasaki, N.: Hypertension from an epidemiological view. *The Saishin-Igaku*, 22-1142, (1967).
  - 14) Koletsky, S.: Role of salt and renal mass in experimental hypertension. *Arch. Pathol.*, 68:11, (1959).
  - 15) Sapirstein, L.A., Brandt, W.L., and Drury, D.R.: Production of hypertension in rat by substituting hypertonic sodium chloride solution for drinking water. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 73:82, (1950).
  - 16) Michelakis, A.M.: The effect of sodium and calcium on renin release, in vitro. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 137:833, (1971).
  - 17) Kunze, D.L., Saum, W.R., and Brown, A.M.: Sodium sensitivity of baroreceptors mediates reflex changes of blood pressure and urine flow. *Nature* 267(5):75, (1977).
  - 18) Quintao, E., Grundy, S.M., and Ahrens, E.H.: Effects of dietary cholesterol on the regulation of total body cholesterol in men. *J. Lip. Res.*, 12:233, (1971).
  - 19) Sharma, R.K., and Sawhney, R.S.: Metabolic regulation of steroidogenesis in isolated adrenal cell. *J. Biochem.* 17(2):316, (1978).
  - 20) Sherman, A.R., Helen, A.G., and Zulak, I.M.: Iron deficiency hyperlipidemia in 18-day-old rat pups. *J. Nutr.*, 108:152, (1978).
  - 21) Shefer, S.: Regulatory effects of dietary cholesterol and bile acids on rat intestinal HMG CO-A reductase. *J. Lip. Res.* 14:400, (1973).
  - 22) Helwig, L.R.: Effects of varied zinc/copper ratios on egg and plasma cholesterol level in white Leghorn hens. *J. Food. Sci.* 43:666, (1978).
  - 23) 庚定鎬, 成樂應: Cholesterol 投與가 白鼠血清 및 肝組織內 各種 酵素活性에 미치는 影響. *中央醫學*, 16(1):71, (1969).