

# ChondroT 투여가 FeCl<sub>3</sub>로 유발된 혈전에 미치는 영향

김지훈\* · 김선길\* · 김주일\* · 윤창석\* · 최지민\* · 나창수<sup>†</sup> · 김선종\*  
동신대학교 한의과대학 한방재활의학과교실\*, 동신대학교 한의과대학 경락경혈학회<sup>†</sup>

## The Effects of ChondroT on Thrombus in FeCl<sub>3</sub>-induced Rats

Ji Hoon Kim, K.M.D.\*, Sun Gil Kim, K.M.D.\*, Joo Il Kim, K.M.D.\*, Chang Suk Yoon, K.M.D.\*,  
Ji Min Choi, K.M.D.\*, Chang Su Na, K.M.D.<sup>†</sup>, Seon Jong Kim, K.M.D.\*

Departments of Rehabilitation Medicine of Korean Medicine\*, Meridian and Acupoint<sup>†</sup>, College of Korean Medicine, Dongshin University

RECEIVED June 11, 2020  
REVISED June 24, 2020  
ACCEPTED June 26, 2020

### CORRESPONDING TO

Seon Jong Kim, Department of Rehabilitation Medicine of Korean Medicine, College of Korean Medicine, Dongshin University, Mokpo Oriental Hospital of Dongshin University, 313 Baengnyeong-daero, Mokpo 58665, Korea

TEL (061) 280-7905  
FAX (061) 280-7788  
E-mail mofoster@hanmail.net

Copyright © 2020 The Society of Korean Medicine Rehabilitation

**Objectives** This study was designed to investigate the effects of ChondroT on thrombus in FeCl<sub>3</sub>-induced rats.

**Methods** We exposed FeCl<sub>3</sub> to rat's carotid artery to induce thrombus. Specimens were divided in 5 groups: Intact, Control, ASA10 (aspirin 10 mg/kg), CT100 (ChondroT 100 mg/kg), and CT200 (ChondroT 200 mg/kg), each n=6. We investigated thromboxane, platelet activating factor (PAF), histological change, lipid metabolism, transaminase, leukocyte, erythrocyte and thrombocyte level.

**Results** In ASA10, CT200 groups, there was significant decrease in both thromboxane level and total cholesterol level, compared to control group and there were significant histological changes of blood vessel, compared to control group. In CT200 group, there was significant decrease in PAF level, compared to control group (p<0.05). In ASA10, CT200 groups, triglycerides level tended to decrease, compared to control group.

**Conclusions** Based on these results, it could be suggested that ChondroT was effective on thrombus in FeCl<sub>3</sub>-induced rats, and further study is needed to conduct a rigorous clinical research. (J Korean Med Rehabil 2020;30(3):45-56)

**Key words** ChondroT, Thrombosis, Herbal medicine, FeCl<sub>3</sub>

## 서론»»»»

혈액은 적절한 순환을 유지하고, 뇌를 포함한 중요한 장기 및 조직에 산소, 영양분 공급과 노폐물 제거를 위해 필수적이다. 혈액의 순환을 통해 우리의 몸은 항상성과 각 장기의 기능을 유지할 수 있다<sup>1)</sup>. 또한 혈액의 응고반응을 통해 출혈로부터 인체를 보호할 수 있으며, 최근에는 이러한 응고반응이 면역반응과 밀접한 연관이 있는 것으로 밝혀져 면역 매개 응고가 손상에 대한 반응 요소로 간주되기도 한다. 이에 혈전은 혈관 벽의

손상에 대한 과도한 면역반응으로 볼 수 있다<sup>2)</sup>.

형성된 혈전은 떨어져 나와 동맥-동맥 색전성 뇌경색을 일으켜 두개강내 혈관을 막을 수 있으며, 총경동맥(common carotid artery)이나 내경동맥(internal carotid artery)의 근위부에서 가장 흔하게 나타난다. 경동맥의 협착의 정도가 심할수록 뇌졸중 또는 transient ischemic attack의 위험률이 높아진다<sup>3)</sup>.

이러한 혈전의 생성은 혈액 순환에 장애를 일으켜 뇌졸중, 협심증 등의 뇌심혈관계 질환을 야기할 수 있으며<sup>4)</sup>, 2018년에 발표된 자료에 의하면 심장 질환은 인구

10만 명당 사망률 62.4명, 뇌혈관질환은 10만 명당 사망률 44.7명으로 각각 2위, 4위를 차지하는 위험한 질환이다<sup>5)</sup>. 따라서 혈액의 원활한 순환을 위한 관리가 더욱 중요하다고 할 수 있다.

한편 최근 임상에서는 관절염 치료에 비수술적 처치로 비스테로이드성 항염증제(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)나 acetaminophen 등이 가장 흔히 사용되고 있는데<sup>6)</sup>, 비스테로이드성 항염증제(NSAIDs)는 prostacyclin pathway를 방해하는 기전으로 인해 혈전을 유발하는 부작용이 보고되고 acetaminophen은 장복할 경우 소화기계의 장애 및 레이증후군, 구토, 의식장애 등의 부작용을 일으킬 수 있음이 보고되어 보다 안전한 치료제의 연구가 필요하다 할 수 있다<sup>7-9)</sup>.

ChondroT는 현재 관절염 치료제로 개발 중인 한약제제로 羌活, 當歸, 威靈仙, 金銀花, 黃柏으로 구성되어 있다. Bae 등<sup>10)</sup>과 Jeong 등<sup>11)</sup>의 연구에서 ChondroT는 동물모델에서 염증 억제와 연골세포 보호 효과가 있었고, Won 등<sup>12)</sup>의 연구에서는 ChondroT의 진통 효과 기전을 밝혔다. 또한 Lim 등<sup>13)</sup>과 Jeong<sup>14)</sup>의 연구에서 ChondroT의 Sprague Dawley (SD) rat 단회 및 반복 경구 투여 연구에서 2,000 mg/kg/day까지 무독성량(No Observed Adverse Effect Level)이 확인되었으며, Kim 등<sup>15)</sup>의 연구에서 ChondroT 구성 약제와 ChondroT의 항응고 효과가 연구된 바 있다.

FeCl<sub>3</sub>로 경동맥의 혈전을 유발한 rat는 약물의 항응고 효과를 평가하기 위해 개발된 모델로 FeCl<sub>3</sub>이 혈관 외막에 작용하여 혈관 외막이 산화적인 스트레스에 노출되면 완전 박리 손상, 내피 손상, 혈소판 응집이 일어나 혈전의 생성이 유발된다<sup>16,17)</sup>. 그 외 혈전을 유발하기 위한 모델로 endotoxin을 이용한 방법도 존재하나 계절적 변동성을 억제하고 경동맥 혈전 유발을 위해 FeCl<sub>3</sub>로 유발된 혈전 유발 동물모델을 선택하였다<sup>16,18)</sup>.

이에 본 연구에서 ChondroT 투여가 FeCl<sub>3</sub>로 유발된 혈전에 미치는 영향을 관찰하기 위해 thromboxane, platelete activating factor (PAF)의 활성도, 지질대사물질, transaminase, erythrocytes, leukocytes, thrombocytes 함량의 변화, 경동맥 조직의 조직학적 변화 등을 관찰하여 다음과 같은 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법 >>>>

### 1. 재료

#### 1) 동물

체중이 약 150-160 g인 SD계의 6주령 rat를 실내 온도 24-26°C, 습도 40-60%로 유지시킨 사육장 내에서 물과 사료를 충분히 섭취하게 하면서 적응시킨 후 실험에 사용하였다(동물실험계획 승인번호: 2019-06-03).

#### 2) 약재

羌活(Osterici Radix), 金銀花(Lonicerae Folium), 當歸(Angelicae Gigantis Radix), 威靈仙(Clematidis Radix), 黃柏(Phellodendri Cortex)를 (주)옴니허브(대구, 한국)에서 구입하여 사용하였으며, 아스피린(acetylsalicylic acid, ASA)를 (주)한미약품(서울, 한국)에서 구입하여 사용하였다.

지표 성분 확인을 위해 high-performance liquid chromatography를 이용하였으며, chlorogenic acid, total de-cursin, berberine chloride의 3종 지표성분의 함량을 확인하였다.

#### 3) 시료 추출

羌活, 金銀花, 當歸, 威靈仙, 黃柏을 6:4:4:4:3의 비율로 배합한 복합 시료 ChondroT를 준비하였다. 복합 시료 ChondroT 총량을 105 g으로 정하였고, 열수추출법을 통해 정제수 1,000 mL에 넣어 3시간 동안 추출하였다. 50 mL로 농축된 시료를 동결 건조하여 분말을 얻었으며, 분말을 희석하여 실험에 사용하였다.

### 2. 실험 방법

#### 1) FeCl<sub>3</sub>을 이용한 경동맥 혈전 유발

실험동물의 경동맥에 FeCl<sub>3</sub>을 적신 filter paper를 접촉시켜 혈관 내에 혈전을 유발하는 방법을 이용하였다. 실험동물의 마취를 유도하기 위해 2% isoflurane와 질소와 산소를 7:3으로 혼합한 기체를 이용하여 모든 실험동물에게 흡입마취를 시행하여 마취를 유도하고, rat의 체온 유지를 위해 수술이 진행되는 동안 수술 pad의 온도를 37°C로 유지하였다. 실험동물의 정중 경부를 절

개하고 미주신경이 손상되지 않도록 주의하여 우측 경동맥을 노출시킨 후 40% FeCl<sub>3</sub>을 적신 filter paper (1.5×3 mm)를 3분간 접촉시켰다(Fig. 1).

## 2) 시료 투여 방법

전자저울(㈜카스, 양주, 한국)을 이용하여 체중을 측정하였고, 양성대조군은 acetylsalicylic acid 10 mg/kg을 경구 투여하였고, 실험군은 ChondroT 100 mg/kg, ChondroT 200 mg/kg을 경구 투여하였고, 대조군은 동량의 완충액(생리식염수, saline)을 경구 투여하였다.

## 3) 군 분리

어떠한 처치도 하지 않은 정상군(Intact, n=6), FeCl<sub>3</sub>을 이용한 경동맥 혈전 유발 후 saline을 투여한 대조군(Control, n=6), FeCl<sub>3</sub>을 이용한 경동맥 혈전 유발 후 acetylsalicylic acid 10 mg/kg 투여한 양성대조군(ASA10, n=6), FeCl<sub>3</sub>을 이용한 경동맥 혈전 유발 후 ChondroT 100 mg/kg 투여한 실험군(CT100, n=6), FeCl<sub>3</sub>을 이용한 경동맥 혈전 유발 후 ChondroT 200 mg/kg 투여한 실험군(CT200, n=6)으로 분리하였다.

## 4) Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)에 의한 thromboxane 측정

Thromboxane 측정은 Rat Thromboxane (BIOMATIK, Wilmington, DE, USA)를 사용하여 측정하였다. Rat

Thromboxane이 coating된 microplate에 Rat Thromboxane standard, serum 50 µL를 첨가 후 Biotinylated Detection Ab 50 µL 추가 후 plate cover로 tapping 한 후에 1분간 mixing하고 37°C에 45분 방치하였다. Washing solution 350 µL로 3회 washing 후 HRP-avidin 100 µL를 첨가하고 plate cover를 덮고 37°C에 30분 방치하였다. Washing solution 400 µL로 5회 washing 후 Substrate Reagent 90 µL를 첨가하고 plate cover를 덮고 37°C에(dark상태) 15분간 방치하였다. 발색반응을 중지시키기 위해 Stop solution 50 µL를 plate에 넣은 후 microplate reader (EZ Read 400; Biochrom, Cambridge, UK)를 사용하여 450 nm에서 optical density (OD)를 측정하였다. Standard curve를 만들어 sample의 thromboxane 양을 분석하였다.

## 5) ELISA에 의한 PAF 측정

PAF 측정은 Rat PAF (BIOMATIK)를 사용하여 측정하였다. Rat PAF가 coating된 microplate에 Rat PAF standard, serum 100 µL를 첨가하고 plate cover로 tapping한 후에 1분간 mixing하고 37°C에 2시간 방치하였다. Biotinylated antibody 100 µL를 첨가하고 plate cover를 덮고 37°C에 1시간 방치하였다. Washing solution 400 µL로 3회 washing 후 HRP-avidin 100 µL를 첨가하고 plate cover를 덮고 37°C에 1시간 방치하였다. Washing solution 400 µL로 5회 washing 후 TMB Substrate 90 µL를 첨가하고 plate cover를 덮고 37°C에(dark 상태) 30분간 방치하였다. 발색반응을 중지시키기 위해 Stop solution 50 µL를 plate에 넣은 후 microplate reader (EZ Read 400; Biochrom)를 사용하여 450 nm에서 OD를 측정하였다. Standard curve를 만들어 sample의 PAF 양을 분석하였다.

## 6) 경동맥 적출 및 병리 조직학적 관찰

모든 실험동물은 경동맥 혈전 유발 과정을 거친 다음 혈전 생성 시간을 측정한 후 희생시켰다. 손상된 경동맥 적출 시 최소한의 출혈을 위해 혈관 양쪽을 suture thread를 이용해 단단히 묶은 후 경동맥 3~4 mm를 적출하였다. 광학현미경용 조직표본을 제작하기 위해 고정액(Bouin solution)에 24시간 고정시키고 통상적인 조직 처리 과정을 거쳐 파라핀에 포매한 후 절편(4 µm 두께)을 제작하였다. Hematoxylin-Eosin 염색을 통해 혈관 조직의 조

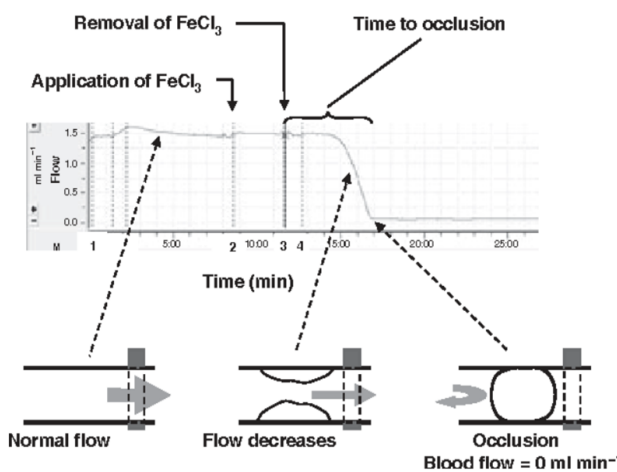


Fig. 1. Blood flow in the carotid artery of a wild type mouse after a FeCl<sub>3</sub> induced injury and calculation of time to occlusion.

직학적 변화를 관찰하였다.

### 7) 지질대사 측정

분리된 혈청으로 지질대사 측정 항목인 total cholesterol (TCHO), high-density lipoprotein-cholesterol (HDLC), triglyceride (TG)는 각각 TCHO-PIII Slide (Fujifilm Corporation, Tokyo, Japan), HDL-C-PIII Slide (Fujifilm Corporation), TG-PIII Slide (Fujifilm Corporation)를 사용하였으며, Fuji Dri-Chem Clinical Chemistry Analyzer (DRI-Chem 4000ie; Fujifilm Corporation)으로 측정하였다.

### 8) 간 기능 측정

분리된 혈청으로 간 기능 측정 항목인 glutamic oxaloacetic transmine (GOT; aspartate aminotransferase [AST]), glutamic pyruvic transmine (GPT; alanine transaminase [ALT])는 각각 GOT-AST PIII Slide (Fujifilm Corporation), GPT-ALT PIII Slide (Fujifilm Corporation)를 사용하였으며, Fuji Dri-Chem Clinical Chemistry Analyzer (DRI-Chem 4000ie; Fujifilm Corporation)으로 측정하였다.

### 9) 채혈 및 혈청 분리

채혈에 의하여 얻어진 혈액 중 약 100  $\mu$ L를 ethylenediaminetetraacetic acid-bottle에 넣은 후 곧바로 Multispecies Hematology Analyser (HEMAVET<sup>®</sup>950; The Americas Drew Scientific Inc., Oxford, CT, USA)에 주입하여 white blood cell (WBC), red blood cell (RBC), hemoglobin (HB), hematocrit (HCT), mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin, mean corpuscular hemoglobin concentration, platelet (PLT), leukocytes, erythrocytes를 측정하였으며, 나머지 혈액은 VS-6000CFi ((주)비전과학, 서울, 한국)에서 20분간 3,000 rpm으로 시행하여 혈청을 분리하였다.

## 3. 통계처리

본 실험에서 얻어진 측정값은 Excel statistic program (Microsoft, Redmond, WA, USA)을 이용하여 평균과 표준오차(mean $\pm$ standard error)로 나타내었으며, SPSS 21.0 ver. for Windows (IBM Co., Armonk, NY, USA)를 사용

하여 각 군 간의 통계학적 분석을 하였다. 비모수적 방법인 Mann-Whitney U test를 시행하여  $\alpha=0.05$  수준과  $\alpha=0.01$  수준에서 유의성을 검정하였다.

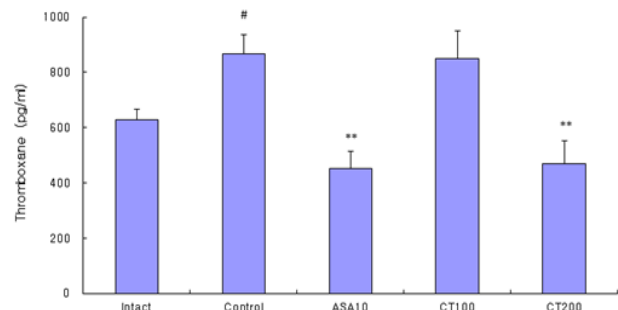
## 결과»»»»

### 1. Thromboxane 활성화에 미치는 영향

ChondroT 용량별 투여가 FeCl<sub>3</sub> 유발 혈전 rat의 thromboxane 활성화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군은 626.8 $\pm$ 41.0 pg/mL, 대조군은 865.7 $\pm$ 72.3 pg/mL을 나타내어 정상군에 비하여 대조군은 유의한 증가를 나타내었고, ASA10군은 451.3 $\pm$ 63.5 pg/mL, CT100군은 851.2 $\pm$ 100.3 pg/mL, CT200군은 468.8 $\pm$ 84.8 pg/mL을 나타내었다. ASA10군, CT200군에서 대조군과 비교하였을 때 유의하게 감소하였다( $p<0.01$ )(Fig. 2, Table I).

### 2. PAF 활성화에 미치는 영향

ChondroT 용량별 투여가 FeCl<sub>3</sub> 유발 혈전 rat의 PAF 활성화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군은 2.12 $\pm$ 0.19 pg/mL, 대조군은 2.98 $\pm$ 0.33 pg/mL을 나타내어 정상군에 비하여 대조군은 유의한 증가를 나타내었고, ASA10군은 2.09 $\pm$ 0.51 pg/mL, CT100군은 3.36 $\pm$ 0.75 pg/mL,



**Fig. 2.** Effect of ChondroT administration on the thromboxane level in rat model of FeCl<sub>3</sub> induced carotid arterial thrombosis. Values are presented as mean $\pm$ standard error. Intact: no treatment, Control: 40% FeCl<sub>3</sub> and saline, ASA10: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of acetylsalicylic acid 10 mg/kg, CT100: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 100 mg/kg, CT200: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 200 mg/kg. # $p<0.05$  versus Intact group, \*\* $p<0.01$ , versus Control group.

CT200군은 2.10±0.23 pg/mL을 나타내었다. CT200군은 대조군과 비교하였을 때 유의하게 감소하였다(p<0.05) (Fig. 3, Table I).

### 3. 경동맥 혈관 조직학적 변화

ChondroT 용량별 투여가 FeCl<sub>3</sub> 유발 혈전 rat의 경동맥 혈관의 조직학적 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 대조군의 혈관은 정상군에 비하여 혈관 내 교원섬유 부분의 손상이 두드러졌고, 혈전 형성도 현저하였으며, 대조군에 비하여 ASA10군과 CT200군의 혈관 내 교원섬유 부분의 손상은 억제되었고, 혈전 형성도도 감소되었다(Fig. 4).

### 4. 지질대사에 미치는 영향

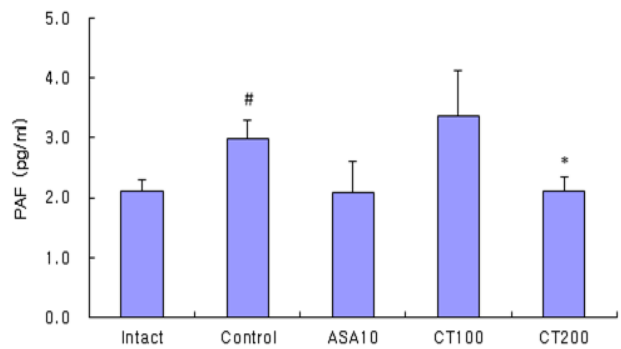
#### 1) TG 함량

ChondroT 용량별 투여가 FeCl<sub>3</sub> 유발 혈전 rat의 TG 함량에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군은 103.5±9.9 mg/dL, 대조군은 132.3±37.3 mg/dL를 나타내었고, ASA10군은 59.4±6.9 mg/dL, CT100군은 135.4±22.6 mg/dL, CT200군은 114.6±36.3 mg/dL를 나타내었다. ASA10군과 CT200군은 대조군과 비교하였을 때 감소하는 경향을 보였다 (Fig. 5, Table II).

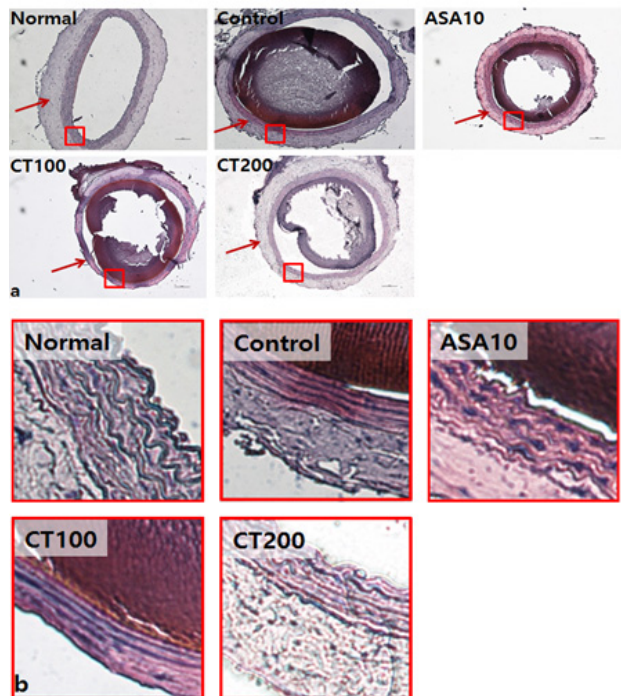
**Table I.** Changes on Thromboxane and PAF Contents after ChondroT Administration in Rat Model of FeCl<sub>3</sub> Induced Carotid Arterial Thrombosis

Group	Thromboxane (pg/mL)	PAF (pg/mL)
Intact	626.8±41.0	2.12±0.19
Control	865.7±72.3 <sup>#</sup>	2.98±0.33 <sup>#</sup>
ASA10	451.3±63.5 <sup>**</sup>	2.09±0.51
CT100	851.2±100.3	3.36±0.75
CT200	468.8±84.8 <sup>**</sup>	2.10±0.23 <sup>*</sup>

Values are presented as mean±standard error. PAF: platelet activating factor, Intact: no treatment, Control: 40% FeCl<sub>3</sub> and saline, ASA10: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of acetylsalicylic acid 10 mg/kg, CT100: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 100 mg/kg, CT200: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 200 mg/kg. <sup>#</sup>p<0.05 versus Intact group, <sup>\*</sup>p<0.05, versus Control group, <sup>\*\*</sup>p<0.01, versus Control group.



**Fig. 3.** Effect of ChondroT administration on the PAF level in rat model of FeCl<sub>3</sub> induced carotid arterial thrombosis. Values are presented as mean±standard error. PAF: platelet activating factor, Intact: no treatment, Control: 40% FeCl<sub>3</sub> and saline, ASA10: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of acetylsalicylic acid 10 mg/kg, CT100: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 100 mg/kg, CT200: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 200 mg/kg. <sup>#</sup>p<0.05 versus Intact group, <sup>\*</sup>p<0.05, versus Control group.



**Fig. 4.** Effect of ChondroT administration on histological changes of blood vessels in rat model of FeCl<sub>3</sub> induced carotid arterial thrombosis. Blood vessels were stained using Hematoxylin-Eosin (Original magnification: ×100). → (red arrow): collagen fibers, □ (red rectangle): 7 enlarged source. Intact: no treatment, Control: 40% FeCl<sub>3</sub> and saline, ASA10: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of acetylsalicylic acid 10 mg/kg, CT100: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 100 mg/kg, CT200: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 200 mg/kg.

## 2) TCHO 함량

ChondroT 용량별 투여가 FeCl<sub>3</sub> 유발 혈전 rat의 TCHO 함량에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군은 66.3±2.4 mg/dL, 대조군은 67.8±2.2 mg/dL를 나타내었고, ASA10군은 61.0±1.2 mg/dL, CT100군은 63.0±4.3 mg/dL, CT200군은 58.6±2.1 mg/dL를 나타내었다. ASA10군과 CT200군은 대조군과 비교하였을 때 유의하게 감소하였다(p<0.05) (Fig. 6, Table II).

## 3) HDLC 함량

ChondroT 용량별 투여가 FeCl<sub>3</sub> 유발 혈전 rat의 HDLC 함량에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군은 42.7±2.4 mg/dL, 대조군은 43.7±1.4 mg/dL를 나타내었고, ASA10군은 38.8±1.4 mg/dL, CT100군은 42.8±3.7 mg/dL, CT200군은 37.8±2.2 mg/dL를 나타내었다. 대조군과 비교하였을 때 각 실험군은 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 7, Table II).

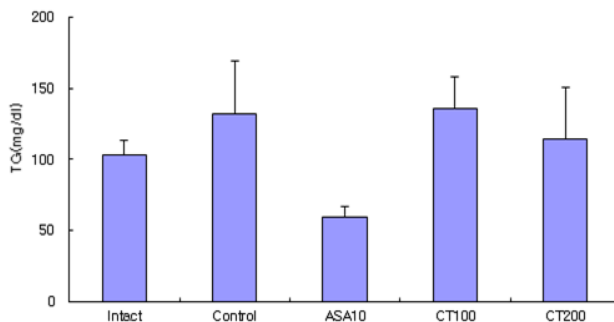
**Table II.** Changes on the Serum TG, TCHO and HDLC Contents after ChondroT Administration in Rat Model of FeCl<sub>3</sub> Induced Carotid Arterial Thrombosis

Group	TG (mg/dL)	TCHO (mg/dL)	HDLC (mg/dL)
Intact	103.5±9.9	66.3±2.4	42.7±2.4
Control	132.3±37.3	67.8±2.2	43.7±1.4
ASA10	59.4±6.9	61.0±1.2*	38.8±1.4
CT100	135.4±22.6	63.0±4.3	42.8±3.7
CT200	114.6±36.3	58.6±2.1*	37.8±2.2

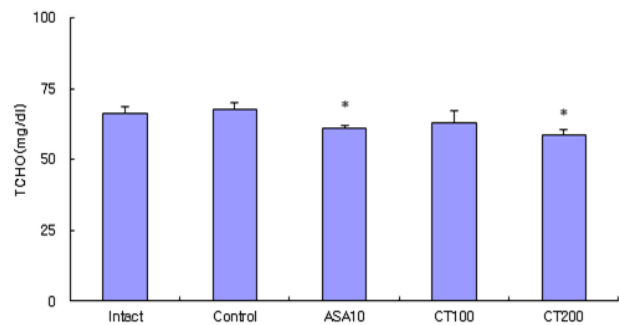
Values are presented as mean±standard error.

TG: triglyceride, TCHO: total cholesterol, HDLC: high-density lipoprotein-cholesterol, Intact: no treatment, Control: 40% FeCl<sub>3</sub> and saline, ASA10: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of acetylsalicylic acid 10 mg/kg, CT100: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 100 mg/kg, CT200: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 200 mg/kg.

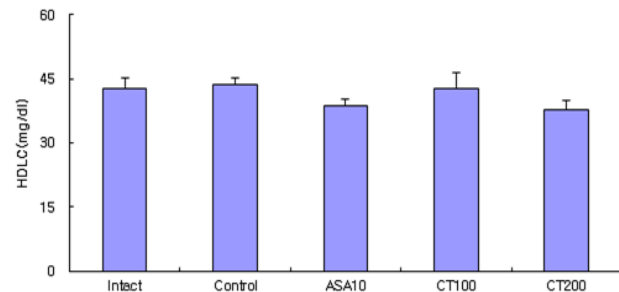
\*p<0.05, versus Control group.



**Fig. 5.** Effect of ChondroT administration on the TG level in rat model of FeCl<sub>3</sub> induced carotid arterial thrombosis. Values are presented as mean±standard error. TG: triglyceride, Intact: no treatment, Control: 40% FeCl<sub>3</sub> and saline, ASA10: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of acetylsalicylic acid 10 mg/kg, CT100: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 100 mg/kg, CT200: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 200 mg/kg.



**Fig. 6.** Effect of ChondroT administration on the TCHO level in rat model of FeCl<sub>3</sub> induced carotid arterial thrombosis. Values are presented as mean±standard error. TCHO: total cholesterol, Intact: no treatment, Control: 40% FeCl<sub>3</sub> and saline, ASA10: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of acetylsalicylic acid 10 mg/kg, CT100: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 100 mg/kg, CT200: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 200 mg/kg. \*p<0.05, versus Control group.



**Fig. 7.** Effect of ChondroT administration on the HDLC level in rat model of FeCl<sub>3</sub> induced carotid arterial thrombosis. Values are presented as mean±standard error. HDLC: high-density lipoprotein-cholesterol, Intact: no treatment, Control: 40% FeCl<sub>3</sub> and saline, ASA10: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of acetylsalicylic acid 10 mg/kg, CT100: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 100 mg/kg, CT200: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 200 mg/kg.

## 5. Transaminase 함량에 미치는 영향

### 1) AST 함량

ChondroT 용량별 투여가 FeCl<sub>3</sub> 유발 혈전 rat의 AST 함량에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군은 67.7±2.9 U/L, 대조군은 74.0±4.2 U/L을 나타내었고, ASA10군은 64.8±3.2 U/L, CT100군은 80.2±5.8 U/L, CT200군은 70.4±6.1 U/L을 나타내었다. 대조군과 비교하였을 때 각 실험군은 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 8, Table III).

### 2) ALT 함량

ChondroT 용량별 투여가 FeCl<sub>3</sub> 유발 혈전 rat의 ALT 함량에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군은 26.3±0.7 U/L, 대조군은 26.8±2.7 U/L을 나타내었고, ASA10군은 24.6±1.3 U/L, CT100군은 29.2±2.1 U/L, CT200군은 26.6±1.1 U/L을 나타내었다. 대조군과 비교하였을 때 각 실험군은 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 9, Table III).

## 6. Leukocytes 변화

ChondroT 용량별 투여가 FeCl<sub>3</sub> 유발 혈전 rat의 leukocyte 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, WBC lymphocytes, monocytes, eosinophils의 경우 대조군에 비교하였을 때 각 실험군은 유의한 차이를 나타내지 않았으나,

**Table III** Changes on the Serum Transaminase Contents after ChondroT Administration in Rat Model of FeCl<sub>3</sub> Induced Carotid Arterial Thrombosis

Group	AST (U/L)	ALT (U/L)
Intact	67.7±2.9	26.3±0.7
Control	74.0±4.2	26.8±2.7
ASA10	64.8±3.2	24.6±1.3
CT100	80.2±5.8	29.2±2.1
CT200	70.4±6.1	26.6±1.1

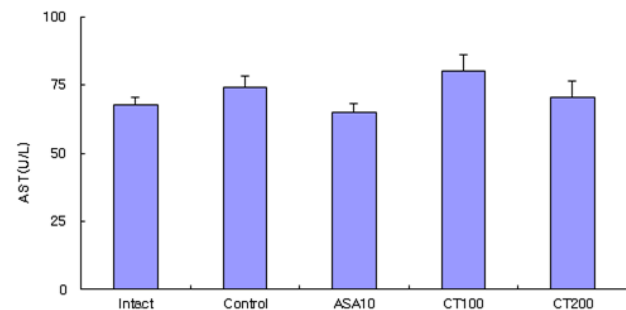
Values are presented as mean±standard error.

AST: aspartate aminotransferase, ALT: alanine transaminase, Intact: no treatment, Control: 40% FeCl<sub>3</sub> and saline, ASA10: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of acetylsalicylic acid 10 mg/kg, CT100: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 100 mg/kg, CT200: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 200 mg/kg.

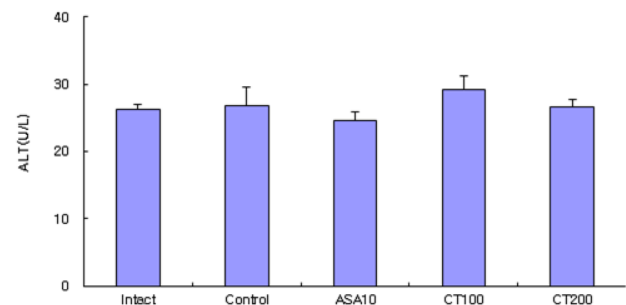
neutrophils의 경우 대조군에 비교하였을 때 CT100군에서 유의하게 감소하였다( $p<0.01$ )(Fig. 10, Table IV).

## 7. Erythrocytes 및 thrombocytes 변화

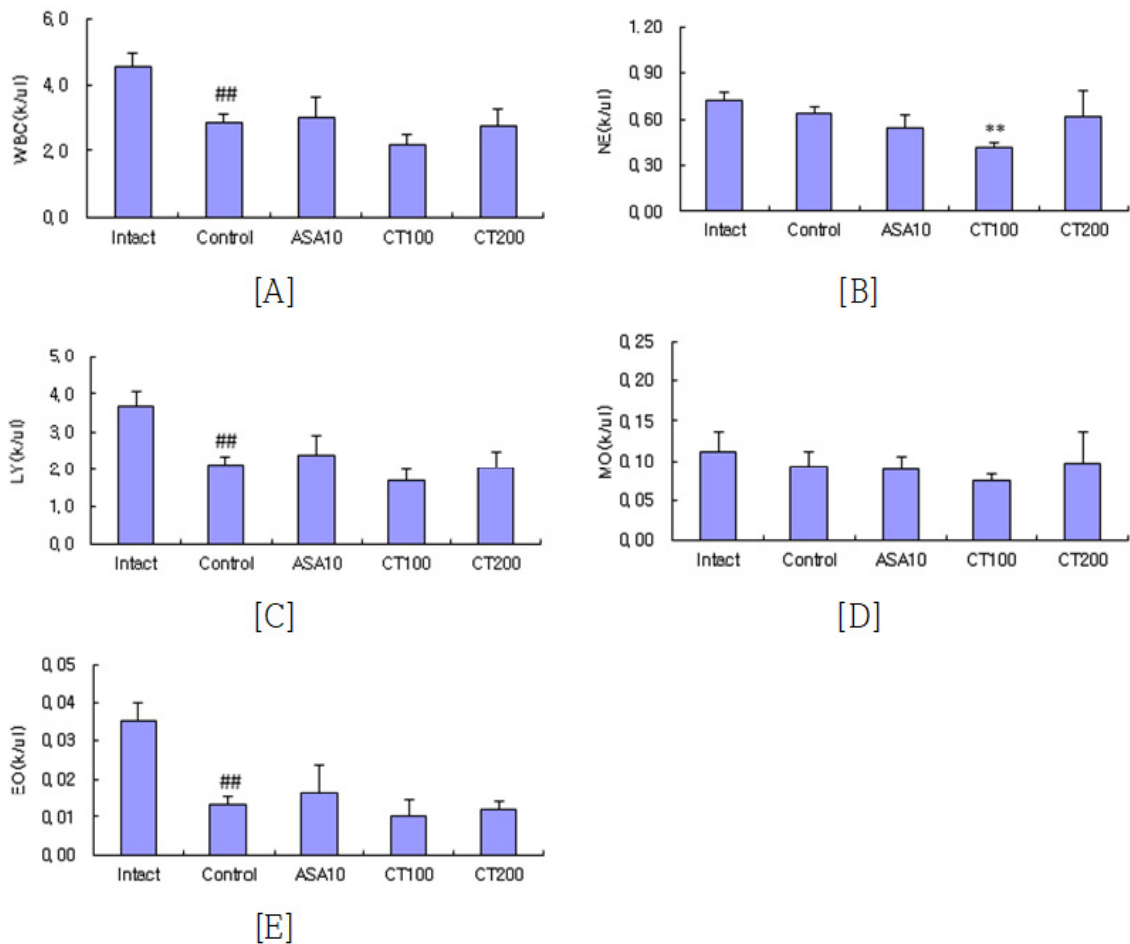
ChondroT 용량별 투여가 FeCl<sub>3</sub> 유발 혈전 rat의 erythrocytes 및 thrombocytes 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 대조군과 비교하였을 때 RBC, HCT, HB, PLT의 경우 각 실험군은 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 11, Table V).



**Fig. 8.** Effect of ChondroT administration on the AST level in rat model of FeCl<sub>3</sub> induced carotid arterial thrombosis. Values are presented as mean±standard error. AST: aspartate aminotransferase, Intact: no treatment, Control: 40% FeCl<sub>3</sub> and saline, ASA10: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of acetylsalicylic acid 10 mg/kg, CT100: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 100 mg/kg, CT200: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 200 mg/kg.



**Fig. 9.** Effect of ChondroT administration on the ALT level in rat model of FeCl<sub>3</sub> induced carotid arterial thrombosis. Values are presented as mean±standard error. ALT: alanine transaminase, Intact: no treatment, Control: 40% FeCl<sub>3</sub> and saline, ASA10: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of acetylsalicylic acid 10 mg/kg, CT100: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 100 mg/kg, CT200: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 200 mg/kg.



**Fig. 10.** Effect of ChondroT administration on the Leukocytes level in rat model of FeCl<sub>3</sub> induced carotid arterial thrombosis. (A) White blood cell (WBC), (B) neutrophils (NE), (C) lymphocytes (LY), (D) monocytes (MO), (E) eosinophils (EO). Values are presented as mean±standard error. Intact: no treatment, Control: 40% FeCl<sub>3</sub> and saline, ASA10: 40% FeCl<sub>3</sub> and ad ministration of acetylsalicylic acid 10 mg/kg, CT100: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 100 mg/kg, CT200: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 200 mg/kg. <sup>##</sup>p<0.01 versus Intact group, <sup>\*\*</sup>p<0.01 versus Control group.

**Table IV.** Changes on the Blood WBC, Neutrophils, Lymphocytes, Monocytes, Eosinophils Contents after ChondroT Administration in Rat Model of FeCl<sub>3</sub> in Duced Carotid Arterial Thrombosis

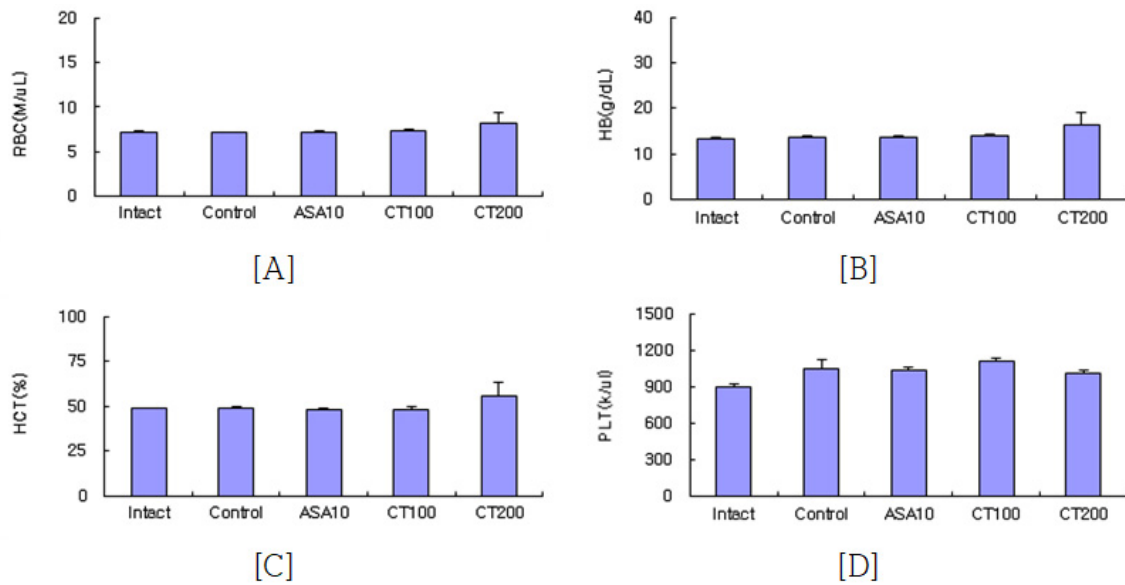
Group	WBC (K/μL)	Neutrophils (K/μL)	Lymphocytes (K/μL)	Monocytes (K/μL)	Eosinophils (K/μL)
Intact	4.54±0.43	0.72±0.05	3.66±0.38	0.11±0.02	0.04±0.005
Control	2.87±0.24 <sup>##</sup>	0.64±0.04	2.12±0.21 <sup>##</sup>	0.09±0.02	0.01±0.002 <sup>##</sup>
ASA10	3.03±0.59	0.54±0.09	2.38±0.49	0.09±0.02	0.02±0.007
CT100	2.19±0.33	0.41±0.03 <sup>**</sup>	1.69±0.31	0.08±0.01	0.01±0.004
CT200	2.77±0.50	0.62±0.17	2.04±0.42	0.10±0.04	0.01±0.002

Values are presented as mean±standard error.

WBC: white blood cell, Intact: no treatment, Control: 40% FeCl<sub>3</sub> and saline, ASA10: 40% FeCl<sub>3</sub> and ad ministration of acetylsalicylic acid 10 mg/kg, CT100: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 100 mg/kg, CT200: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 200 mg/kg.

<sup>##</sup>p<0.01 versus Intact group, <sup>\*\*</sup>p<0.01 versus Control group.





**Fig. 11.** Effect of ChondroT administration on the erythrocytes and thrombocytes level in rat model of FeCl<sub>3</sub> induced carotid arterial thrombosis. (A) Red blood cell (RBC), (B) hemoglobin (HB), (C) hematocrit (HC), (D) platelet (PLT). Values are presented as mean±standard error. Intact: no treatment, Control: 40% FeCl<sub>3</sub> and saline, ASA10: 40% FeCl<sub>3</sub> and ad ministration of acetylsalicylic acid 10 mg/kg, CT100: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 100 mg/kg, CT200: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 200 mg/kg.

**Table V.** Changes on the Blood RBC, HB, HCT, PLT Contents after ChondroT Administration in Rat Model of FeCl<sub>3</sub> Induced Carotid Arterial Thrombosis

Group	RBC (M/ $\mu$ L)	HB (g/dL)	HCT (%)	PLT (K/ $\mu$ L)
Intact	7.23±0.11	13.37±0.26	48.45±0.52	901.7±23.7
Control	7.13±0.07	13.78±0.19	48.85±0.87	1,046.5±77.5
ASA10	7.18±0.08	13.73±0.31	48.30±0.83	1,043.8±24.7
CT100	7.30±0.13	13.85±0.28	48.20±1.22	1,111.3±24.7
CT200	8.18±1.19	16.46±2.52	55.24±7.94	1,018.6±23.2

Values are presented as mean±standard error.

RBC: red blood cell, HB: hemoglobin, HCT: hematocrit, PLT: platelet, Intact: no treatment, Control: 40% FeCl<sub>3</sub> and saline, ASA10: 40% FeCl<sub>3</sub> and ad ministration of acetylsalicylic acid 10 mg/kg, CT100: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 100 mg/kg, CT200: 40% FeCl<sub>3</sub> and administration of ChondroT 200 mg/kg.

## 고찰

골관절염의 치료는 통증 경감 및 관절 강직의 해결을 목적으로 비수술적 치료와 수술적 치료로 나눌 수 있으며, 특히 비수술적 치료 중 약물치료는 naproxen, ibuprofen, celecoxib 등의 비스테로이드성 항염증제(NSAIDs)를 통해 cyclooxygenase (COX)가 prostaglandin, thromboxane과 같은 prostanoids의 형성을 억제하여 통증과 염증을 줄인다<sup>19,20</sup>. 하지만 비스테로이드성 항염증제

(NSAIDs)가 COX를 억제하는 효과로 인해 위장관, 심혈관, 신장의 부작용이 있어 복용량과 복용 기간에 제한이 있다<sup>9</sup>. 또한 인체는 혈관, 혈소판 및 세포, 혈장 응고라는 세 가지 체계에 의해 지혈과 혈전 형성의 항상성을 유지하는데 prostacyclin은 혈관내피세포에서 arachidonic acid를 COX와 peroxidase의 작용을 통해 prostaglandin H<sub>2</sub>로 전환 후 prostaglandin I 합성 과정을 통해 이성질화를 거쳐 만들어지는 데 이 과정에서 비스테로이드성 항염증제(NSAIDs)가 영향을 미쳐 혈전이 유발

될 수 있다<sup>21,22)</sup>.

본 연구에 사용된 ChondroT는 羌活, 當歸, 威靈仙, 金銀花, 黃柏의 조합으로 이루어진 한약제제로 관절염 치료제로 개발 중에 있으며, 羌活은 祛風除濕止痛散寒의 효능을 가지고 있어 關節疼痛를 치료하고, 當歸는 補血和血, 調經止痛하는 효능을 가지고 있어 혈액순환 개선에 유효하다. 祛風濕藥과 함께 쓰게 되면 風濕痺痛를 치료할 수 있으며, 威靈仙은 祛風濕止痛藥에 속하여 祛風除濕 효과와 通絡止痛 효과를 겸하여 풍습으로 인한 통증 질환을 치료할 수 있고, 金銀花는 清熱解毒의 효과로 항염증 작용을 하고, 또한 黃柏은 清熱燥濕의 효능이 있어 瘡瘍腫毒, 濕疹瘙癢, 濕熱瀉痢 등의 질환을 치료할 수 있는 항염증 효과가 있다<sup>23)</sup>.

이에 본 연구에서는 관절염 치료제로 개발 중인 ChondroT가 인체의 혈액순환 및 응고 작용에 어떠한 영향을 미치는지 파악하기 위해 FeCl<sub>3</sub>로 유도된 혈전에 대조군과 acetylsalicylic acid 10 mg/kg 투여한 양성 대조군(ASA10), FeCl<sub>3</sub>을 이용한 경동맥 혈전 유발 후 ChondroT 100 mg/kg 투여한 실험군(CT100), FeCl<sub>3</sub>을 이용한 경동맥 혈전 유발 후 ChondroT 200 mg/kg 투여한 실험군(CT200)를 비교하여 thromboxane와 PAF 활성화도, 지질대사, transaminase, leukocytes, erythrocytes, thrombocytes의 함량을 수치화하여 관찰하였고 혈관의 조직학적 변화를 관찰하였다.

ChondroT 투여가 thromboxane과 PAF의 활성화도에 미치는 영향을 관찰하였을 때, 대조군에 비해 ASA10군과 CT200군에서 thromboxane의 활성화도가 유의미하게 감소하였고, PAF의 활성화도는 CT200군에서 유의미하게 감소하였다(Table I). Thromboxane은 혈소판 응집을 유도하고 세포의 응집력을 강하게 해주는 물질이며, thromboxane의 감소는 혈관 내 응집 효과의 저하를 유발한다<sup>24,25)</sup>. 또한 PAF는 급성 염증반응을 일으키는 인지질 매개체로 혈소판 응집을 유도하는 중요한 역할을 할 뿐 아니라 단핵구, 대식세포를 활성화시키며 혈관 투과성을 증가시키고 저혈압, 심박출량 감소, 자궁 수축 등의 다양한 작용을 하게 된다<sup>26,27)</sup>.

ChondroT 투여가 경동맥 혈관의 조직학적 변화를 관찰하였을 때, FeCl<sub>3</sub>로 인해 대조군에서는 혈전이 형성되어 혈관 내부를 막고 있으며, 교원섬유의 손상도 눈에 띄게 나타나지만 ASA10군과 CT200군에서 혈관 내

교원섬유 부분의 손상이 억제되고 혈전 형성도도 감소되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4).

또한 지질대사 물질인 TG의 상승은 동맥경화, 인슐린 저항성, 고콜레스테롤혈증 등의 병리적 변화와 밀접한 연관성을 가지고 있으며<sup>28)</sup>, 내피세포의 산화적인 손상과도 밀접한 연관성을 가지고 있다<sup>29)</sup>. 특히 혈중 low density lipoprotein (LDL)-cholesterol의 상승으로 인해 내피세포층에 LDL-cholesterol이 쌓여 산화적 스트레스가 상승하게 된다<sup>30)</sup>. 또한 고콜레스테롤혈증(hypercholesterolemia), 고트리글리세라이드혈증(Hypertriglyceridemia)은 각각 죽상동맥경화증(atherosclerosis), 췌장염(pancreatitis)을 유발하고, 특히 죽상동맥경화증은 혈액순환 장애를 일으켜 심근경색, 협심증 등의 질환을 유발하게 되므로 임상적으로 중요하다 볼 수 있다<sup>31)</sup>. 이에 혈관 내 지질대사 물질의 감소는 혈관 내벽의 손상 가능성이 줄어들어 혈관 내 응고반응을 억제할 수 있다<sup>32)</sup>.

ChondroT 투여가 지질대사에 미치는 영향을 관찰하였을 때, ASA10군과 CT200군에서 대조군에 비해 TCHO의 유의미한 감소(p<0.05)를 확인할 수 있었다(Table II). TG 함량은 ASA10군과 CT200군에서 감소의 경향이 보이지만 유의미한 결과를 확인할 수 없었다.

기존의 혈전 치료제인 heparin 치료는 ALT, AST 등의 상승, 혈소판감소증, 고칼륨혈증 등의 부작용이 보고된 바 있으며<sup>33)</sup>, 상용되고 있는 sulfapyrazone도 간기능 저하 및 피부발진 등의 부작용이 보고된 바 있다<sup>34)</sup>. 반면 이번 연구에서 CT100, CT200군에서는 ALT, AST 함량의 유의미한 변화는 없었다.

따라서 본 연구를 통해 ChondroT가 200 mg/kg에서 기존 연구에서 밝혀진 관절염 치료 효과와 더불어 thromboxane, PAF 활성화도 감소, 지질대사물질 함량의 감소에 유의미한 영향을 미친다는 것을 관찰할 수 있었고, 혈관 내 교원섬유 손상 억제, 혈전 형성도 감소와 같은 조직학적 변화도 관찰할 수 있었다. 이번 연구를 통해 ChondroT가 관절염 치료제로 사용되는 acetaminophen이나 비스테로이드성 항염증제(NSAIDs)를 대체할 수 있는 한약제제가 되길 기대해 본다. 하지만 이번 연구의 한계로는 단회 투여 실험으로 반복 투여 시의 변화를 파악할 수 없었고 아직 임상단계에서 항응고 효과가 보고된 바 없었다. 이에 저자는 본 연구를 통해 추후 반복 투여 연구 및 임상단계의 항응고 효과에 대한 추가

적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## 결론»»»»

ChondroT 용량별 투여가 FeCl<sub>3</sub>로 유발된 혈전에 미치는 영향을 혈소판 thromboxane, PAF와 지질대사, 경동맥 조직학적 변화, 혈청 및 혈액학적 변화를 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Thromboxane 활성은 대조군과 비교하였을 때 CT200군에서 유의하게 감소하였다.
2. PAF 활성은 대조군과 비교하였을 때 CT200군이 유의하게 감소하였다.
3. 경동맥 혈관의 조직학적 변화는 대조군과 비교해 보았을 때 CT200군의 혈관 내 교원섬유 부분 손상은 억제되었고, 혈전 형성은 감소를 보였다.
4. 혈청 지질 중 TCHO 함량은 대조군과 비교하였을 때 CT200군이 유의하게 감소하였다.
5. 혈청 transaminase 함량은 대조군과 비교하였을 때 각 실험군은 유의한 차이를 나타내지 않았다.
6. 혈액 leukocyte 중 neutrophil의 경우 대조군과 비교하였을 때 CT100군에서 유의하게 감소하였다.
7. 혈액 erythrocytes 및 thrombocytes의 경우 대조군과 비교하였을 때 각 실험군은 유의한 차이를 나타내지 않았다.

## References»»»»

1. Planas JH, Muhammad W. Trauma primary survey. StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing, 2019.
2. Kleinegris MC, Ten Cate-Hoek AJ, Ten Cate H. Coagulation and the vessel wall in thrombosis and atherosclerosis. *Pol Arch Med Wewn.* 2012;122(11):557-66.
3. Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J. *Harrison's principles of internal medicine.* 18th ed. Newyork:Mcgraw-Hill Book Co. 2011:3222-3.
4. Xu W, Wang TY, Becker RC. Hematologic diseases: from within the heart. *Revista Española de Cardiología (English Edition).* 2011;64(7):606-13.
5. Statistics Korea. 2018 Official cause of death statistics. Daejeon:Statistics Korea. 2018:1-14.

6. Zhang W, Moskowitz RW, Nuki G, Abramson S, Altman RD, Arden N, Bierma-Zeinstra S, Brandt KD, Croft P, Doherty M, Dougados M, Hochberg M, Hunter DJ, KwohK, Lohmander LS, Tugwell P. OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis, part I: critical appraisal of existing treatment guidelines and systematic review of current research evidence. *Osteoarthritis and Cartilage.* 2007;15(9):981-1000.
7. Pavlidis P, Bjarnason I. Aspirin induced adverse effects on the small and large intestine. *Current Pharmaceutical Design.* 2015;21(35):5089-93.
8. Schrör K. Aspirin and reye syndrome. *Pediatric Drugs.* 2007;9(3):195-204.
9. Harirforoosh S, Asghar W, Jamali F. Adverse effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs: an update of gastrointestinal, cardiovascular and renal complications. *J Pharm Pharm Sci.* 2013;16(5):821-47.
10. Bae KJ, Jeong JW, Choi CH, Won JY, Kim TG, Kim YR, Na CS, Kim SJ. Antiosteoarthritic effects of ChondroT in a rat model of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2018;2018:8565132.
11. Jeong JW, Bae KJ, Kim SG, Kwak DW, Moon YJ, Choi CH, Kim YR, Na CS, Kim SJ. Anti-osteoarthritic effects of ChondroT in a rat model of collagenase-induced osteoarthritis. *BMC Complement Altern Med.* 2018;18(1):131.
12. Won JY, Jeong JW, Na CS, Kim SJ. Analgesic effects of ChondroT in collagenase-induced osteoarthritis rat model. *J Korean Med Rehabil.* 2016;26(3):17-30.
13. Lim YH, Jeong JW, Kim SG, Kim JH, Kim SJ. DRF and single dose oral toxicity study of ChondroT in rat. *J Korean Med Rehabil.* 2018;28(2):61-72.
14. Jeong JW. Repeated dose 13-week oral toxicity study of ChondroT in Sprague-Dawley rats [dissertation]. Naju: Dongshin University; 2018.
15. Kim SG, Jeong JW, Lim YH, Kim JH, Na CS, Kim SJ. A study on the anti-condensing effect of ChondroT components. *J Korean Med Rehabil.* 2018;28(2):47-60.
16. Kurz KD, Main BW, Sandusky GE. Rat model of arterial thrombosis induced by ferric chloride. *Thromb Res.* 1990;60(4):269-80.
17. Zhu Y, Carmeliet P, Fay WP. Plasminogen activator inhibitor-1 is a major determinant of arterial thrombolysis resistance. *Circulation.* 1999;99(23):3050-5.
18. Schoendorf TH, Rosenberg M, Beller FK. Endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation in non-pregnant rats. *Am J Pathol.* 1971;65(1):51-8.
19. Hawkey CJ. COX-1 and COX-2 inhibitors. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2001;15(5):801-20.
20. Honda T, Kabashima K. Prostanoids in allergy. *Allergol*

- Int. 2015;64(1):11-6.
21. Korean Stroke Society. Stroke. 2nd rev. ed. Seoul: Panmuneducation. 2017:265.
  22. Mubarak KK. A review of prostaglandin analogs in the management of patients with pulmonary arterial hypertension. *Respir Med.* 2010;104(1):9-21.
  23. Korean Medicine University Herbology Editing Commission. Herbology. Seoul:Younglimsa. 2011:159, 221, 241, 305, 631.
  24. Bjorkman DJ. The effect of aspirin and nonsteroidal anti-inflammatory drugs on prostaglandins. *Am J Med.* 1998;105(1B):8S-12S.
  25. Pluchart H, Khouri C, Blaise S, Roustit M, Cracowski JL. Targeting the prostacyclin pathway: beyond pulmonary arterial hypertension. *Trends Pharmacol Sci.* 2017; 38(6):512-23.
  26. Koltai M. Platelet activating factor (PAF). *Drugs* 1991;42(1):9-29.
  27. Prescott SM, Zimmerman GA, McIntyre TM. Platelet-activating factor. *Journal of Biological Chemistry.* 1990; 265(29):17381-4.
  28. Wallace JP, Johnson B, Padilla J, Mather K. Postprandial lipaemia, oxidative stress and endothelial function: a review. *Int J Clin Pract.* 2010;64(3):389-403.
  29. Alipour A, Elte JW, van Zaanen HC, Rietveld AP, Cabezas MC. Postprandial inflammation and endothelial dysfunction. *Biochem Soc Trans.* 2007;35(Pt 3):466-9.
  30. Navab M, Berliner JA, Watson AD, Hama SY, Territo MC, Lusis AJ, Shih DM, Van Lenten BJ, Frank JS, Demer LL, Edwards PA, Fogelman AM. The Yin and Yang of oxidation in the development of the fatty streak. A review based on the 1994 George Lyman Duff memorial lecture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996;16(7): 831-42.
  31. Tietge UJ. Hyperlipidemia and cardiovascular disease: inflammation, dyslipidemia, and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 2014;25(1):94-5.
  32. Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, Kasper DL. Harrison's principle of international medicine. 13th ed. Newyork:Mcgraw-Hill Book Co. 1997:1189-93.
  33. Monreal M, Lafoz E, Salvador R, Roncales J, Navarro A. Adverse effects of three different forms of heparin therapy: thrombocytopenia, increased transaminases, and hyperkalaemia. *Eur J Clin Pharmacol.* 1989;37(4):415-8.
  34. Harker LA, Harlan JM, Ross R. Effect of sulfinpyrazone on homocysteine-induced endothelial injury and arteriosclerosis in baboons. *Circ Res.* 1983;53(6):731-9.