



Black Raspberry Improved Lipid Profiles and Vascular Endothelial Function in Patients with Metabolic Syndrome: A Subgroup Analysis of Statin Naïve Participants

Hee Jun Myung*, Han Saem Jeong*, Tae Yeon Hwang, Kyoung Ho Go, Juwon Kim, Woori Cho, Yoon Kyung Choi, Jiae Park, Soon Jun Hong

Department of Cardiology, Cardiovascular Center, Korea University Anam Hospital, Seoul, Korea

*These authors equally contributed to the manuscript.

복분자가 대사증후군 환자의 혈중 지질과 혈관내피세포 기능에 미치는 긍정적인 효과: 스타틴을 복용하지 않은 환자 하위분석

명희준*, 정한샘*, 황태연, 고경호, 김주원, 조우리, 최윤경, 박지애, 홍순준

고려대학교 안암병원 심혈관센터 순환기내과

Objective: Black raspberry (*Rubus occidentalis*) has been known for its anti-inflammatory and anti-oxidant effects and for improving vascular endothelial function in patients at high-risk for cardiovascular disease. We investigated short-term effects of black raspberry on lipid profiles, vascular endothelial function and circulating endothelial progenitor cells in statin naïve participants with metabolic syndrome.

Methods: Patients with metabolic syndrome (n=51) without lipid lowering medications were prospectively randomized into the black raspberry group (n=26, 750 mg/day) and placebo group (n=25) during the 12-week follow-up. Lipid profiles, brachial artery flow-mediated dilatation (baFMD) and inflammatory cytokines such as IL-6, TNF- α , C-reactive protein, adiponectin, sICAM-1, sVCAM-1 were measured at baseline and at 12-week follow-up. Central blood pressure and augmentation index were also measured at baseline and at 12-week follow-up.

Results: Decreases from baseline in total cholesterol levels (-22.7 ± 34.3 mg/dL vs. 0.0 ± 34.7 mg/dL, $p < 0.05$, respectively) and total cholesterol/HDL ratio (-0.34 ± 0.68 vs. 0.17 ± 0.56 , $p < 0.05$, respectively) were significantly greater in the black raspberry group when compared to the placebo group. Decreases from baseline in IL-6 (-0.5 ± 1.4 pg/mL vs. -0.1 ± 1.1 pg/mL, $p < 0.05$, respectively) and TNF- α levels (-5.4 ± 4.5 pg/mL vs. -0.8 ± 4.0 pg/mL, $p < 0.05$, respectively) were significantly greater in the black raspberry group. Increases from the baseline in adiponectin levels (2.9 ± 2.1 μ g/mL vs. -0.2 ± 2.5 μ g/mL, $p < 0.05$) were significant in the black raspberry group. Increases in baFMD at 12-week follow-up were significantly greater in the black raspberry group when compared to the placebo group (2.9 ± 3.6 mm vs. 1.0 ± 3.9 mm, $p < 0.05$, respectively). Radial augmentation indexes were significantly decreased in the black raspberry group when compared to the placebo group ($-2 \pm 10\%$ vs. $4 \pm 13\%$, $p < 0.05$).

Conclusion: The use of black raspberry significantly decreased serum total cholesterol levels, inflammatory cytokines, and augmentation index, thereby improving vascular endothelial function in statin naïve participants with metabolic syndrome during the 12-week follow-up. (J Lipid Atheroscler 2016 June;5(1):49-59)

Key Words: Black raspberry, Metabolic syndrome, Lipid, Endothelial function, Augmentation index

Received: April 16, 2016
Revised: May 16, 2016
Accepted: May 20, 2016

Corresponding Author: Soon Jun Hong, Department of Cardiology, Cardiovascular Center, Korea University Anam Hospital, 126-1, 5ka, Anam-dong, Sungbuk-ku, Seoul 136-705, Korea
Tel: +82-2-920-5445, Fax: +82-2-927-1478, E-mail: psyche94@gmail.com

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.

서 론

복분자(*Rubus occidentalis*)는 장미과 (Rosaceae)의 일종으로, 한국에서 전립선 및 요로계 질환에서 치료제로 사용되어왔다.¹ 복분자의 추출물은 플라보노이드, 타닌, 페놀릭 산, 유기산과 타이로졸, 레스베라트롤 (flavonoids, tannins, phenolic acids, organic acids and tyrosol and resveratrol) 등의 자연적 성분을 포함하고 있다.² 이러한 약학적 성분들은 활성 산소의 생성을 억제하고 유도성 산화질소 합성효소(inducible nitric oxide synthase, iNOS)와 내피성 산화질소 합성효소(endothelial nitric oxide, eNOS)를 증가시켜 항염증, 항산화, 항동맥경화 효과를 가지는 것으로 알려져 있다.³⁻⁶ 타이로졸, 레스베라트롤의 성분은 JNK (c-Jun N-terminal kinase) 활성화를 통제하여 단백질 분해와 대식세포를 통해 LDL (low-density lipoprotein) 콜레스테롤의 흡수를 낮춘다. 레스베라트롤은 혈관확장을 증진시키고, LDL 콜레스테롤의 산화를 예방하며, 폴리페놀릭 합성물(polyphenolic compounds)과 같은 콜레스테롤 합성을 막는 것이 확인되었다.⁷⁻⁹

대사증후군은 고지혈증, 인슐린 저항성, 고혈압, 비만 등이 혼재되어있는 질환의 집단으로, 심혈관 질환 위험도가 높다.¹⁰ 그렇기 때문에 중심동맥압, 대동맥 증대 지수, 전신적 염증과 같은 개개인의 심혈관 질환 위험도를 관리하는 것은 매우 중요하다. 위험도를 예측할 수 있는 인자들 중, 중심동맥압은 말초동맥압보다 좀 더 심혈관 질환에 연관 있는 것으로 알려져 있으며 동맥 경직도는 심혈관 질환의 위험도를 평가하기 위한 유럽 고혈압/심장 학회 치료지침에 포함될 만큼 잘 알려진 인자 중 하나이다. 최근에는 혈관내피 전구세포가 손상된 혈관내피나 허혈성 손상이 있는 조직에서 회복을 촉진시키는 것으로 알려졌으며, 혈관내피 전구세포의 수가 심혈관 질환을 예측하는 새로운 지표로 부각되고 있다. 산화 스트레스는 산화 질소의 감소를 유발하고 결과적으로 혈관 수축, 혈소판 응집, 혈관내 염증과 동맥 경직도를 증가시키는 혈관내피 세포의 기능 이상으로 이어진다. 따라서 대사증후군의 관리는 그로 인한 합병증을 예방하는 중요한 효과가 있다. 몇몇 연구에서 복분자가 혈압, 혈중 지질, 혈관 기능을 호전시키는 것이 증명되었으며,¹¹⁻¹³ 본 연구자들은 이전 세 선행 연구를 통해 복분자의 지질 강하효과, 혈관내피 전구세포 및 혈관내피세포 기능에 미치는 긍정적 효과를 살펴본 바 있다.¹⁴⁻¹⁶ 이번 후속 연구에서는 대사증후군을 가진 환자 중 스타틴(statins)을 복용하지 않고 있는 환자들에서

도 복분자 투여가 혈중 지질과 혈관내피세포 기능, 중심동맥압, 대동맥 증대지수(Augmentation index) 및 혈관내피 전구세포에 미치는 단기적 효과를 연구하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 연구 대상

18세에서 75세까지 대사증후군을 가진 환자를 대상으로 연구를 진행하였다. 대사증후군은 다음 5가지 조건 중 3가지 이상을 만족시킬 경우 대사증후군 환자로 정의되었다:

1. 복부 둘레 ≥ 90 cm(남성) 또는 ≥ 85 cm(여성)
2. 중성지방(triglyceride) ≥ 150 mg/dL
3. HDL (high-density lipoprotein) 콜레스테롤 < 40 mg/dL (남성) 또는 < 50 mg/dL (여성)
4. 수축기 혈압 ≥ 130 mmHg, 이완기 혈압 ≥ 85 mmHg
5. 공복혈당 ≥ 100 mg/dL

2013년 3월부터 2013년 7월까지 고려대학교 안암병원 심혈관센터에서 총 152명의 대사증후군 환자들이 선별되었다. 포함기준에 해당되지 않는 환자($n=23$), 사전동의를 하지 않은 환자($n=52$)는 제외되었다. 가족성 고콜레스테롤혈증, 간기능 장애(aspartate aminotransferase 또는 alanine aminotransferase 가 상한치의 2배 이상), 크론병이나 수술로 인한 소화기계 질환, 알코올 중독, 스테로이드나 호르몬 치료중인 환자, 혈중 크레아티닌 > 2.0 mg/dL, 기대여명 1년 미만인 환자들도 제외되었다. 또한 지질강하제를 복용 중인 환자($n=26$) 또한 제외되었다. 연구 대상 환자는($n=51$)은 12주 동안 복분자 투여군($n=26$, 750 mg/day)과 위약군($n=25$)으로 무작위 배정되었고 전향적 연구가 시행되었다. 건조된 복분자를 정상적인 제조 과정에 따라 복분자 파우더를 포함한 캡슐로 만들었고, 각각의 복분자 캡슐에는 187.5 mg의 건조된 복분자 파우더가 포함되었다. 위약 캡슐은 외양은 같게 만들었으나 셀룰로오스(cellulose), 이소말토(iso-malto), 옥수수 가루가 포함되어 있었다.

임상적 검사는 시작점과 12주 후로 예정되었다. 두 군간 총 콜레스테롤, 중성지방, HDL 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤, 지질단백질(a), 아포지질단백질 A-I, 아포지질단백질 B와 비율을 비교하였다. Interleukin (IL)-6, tumor necrosis factor (TNF)- α , high sensitive C-reactive protein (hsCRP), 아디포넥틴(adiponectin), soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1),

soluble vascular cell adhesion molecule-1 (sVCAM-1)와 같은 염증 지표, 상완 동맥의 혈류중재 확장반응(baFMD), 경동맥 내중막 두께(carotid intima media thickness, CIMT)도 비교하였으며 중심동맥압, 대동맥 증대지수와 혈관내피 전구세포 수치 또한 비교하였다. 이 연구의 1차 평가변수(primary endpoint)는 12주 동안 대사증후군을 가진 환자에서 복분자 투여가 혈중 지질에 미치는 단기적인 효과를 살펴보는 것이며, 2차 평가변수(secondary endpoint)는 복분자 투여가 혈관 내피세포 기능, 대동맥 증대지수와 혈관내피전구세포에 미치는 단기적인 효과를 비교하는 것이었다.

환자들은 컴퓨터에 의해 무작위로 작성된 리스트에 따라 무작위 배정 번호를 받았고 이때 연구에 환자들을 배정하거나 검사를 시행한 사람과는 접촉이 없도록 하였다. 연구자들과 환자들은 최종 결과가 얻어질 때까지 무작위 배정 결과를 알 수 없었다. 모든 환자들은 대사증후군을 조절하기 위한 “고혈압 치료 식단”(Dietary Approaches to Stop Hypertension, DASH)을 따르도록 하고 산딸기 류의 음식은 섭취하지 않도록 교육하였다. 2주마다 전화 통화로 복분자 캡슐이 얼마나 남아있는지 확인하여 환자가 지시를 잘 따르고 있는지 검사하였다. 경과 관찰 기간 동안 남아있는 복분자 캡슐의 양을 확인하였고 85% 이상 복용한 환자는 순응도가 있는 것으로 판단하였다. 본 연구는 고려대학교 임상시험심사위원회의 승인을 받았고 연구 참여자 본인이나 법정 후견인으로부터 사전동의를 받아 진행되었다.

2. 복분자 추출물 준비과정

복분자는 대한민국의 전라북도 고창군에서 수확되었다. 복분자 과육은 환류 냉각기(reflux condenser)를 이용하여 100°C의 물에서 2회에 걸쳐 추출되었다. 또한 추가로 25, 50, 75% 에탄올을 통해 환류 냉각기에서 10배로 농축되었다. 이후 추출물은 여과 및 농축 과정을 거친 후 동결 건조를 실시하였다. 복분자 추출물 내의 폴리페놀 성분은 Folin-Denis 법으로, 플라보노이드 성분은 Davis 법으로 측정하였다. 엘라그 산(ellagic acid)은 원료의 적정성 식별을 위한 표지로 활용되었다.²⁵ 엘라그 산(A analytical standard, purity 95%, Sigma Co. St. Louis, MO, USA)은 메탄올에 희석하여 고성능 액체 크로마토그래피를 통해 분석을 실시하였다. 복분자 추출물 캡슐 1정은 복분자 분말 62.5%, 마그네슘 스테아레이트(magnesium stearate) 1.5%, 실리카(silica) 1.5%, 이소말토스(isomaltose) 34.5%로 구성되어

있었다. 위약 캡슐은 외관상 동일하나 이소말토스 97%, 마그네슘 스테아레이트 1.5%, 실리카 1.5%로 구성되었다. 이 중 이소말토스는 옥수수 분말에서 조제하였다. 100 g의 복분자에는 탄수화물 9.6 g, 섬유질 5.3 g, 당분 4.9 g, 단백질 1.4 g, 지질 0.5 g, 칼슘 29 mg, 철분 0.62 mg, 마그네슘 20 mg, 인 22 mg, 비타민C 21 mg, 티아민(thiamine) 0.02 mg, 리보플라빈(riboflavin) 0.03 mg, 니아신(niacin) 0.6 mg, 엽산 25 µg, 비타민A 11 µg, 베타 카로틴(β-carotene) 128 µg, 비타민 A 214 IU, 비타민 E 1.17 mg, 감마 토코페롤(γ-tocopherol) 1.34 mg, 시아니딘(cyaniding) 100 mg, 펠라르고니딘(pelargonidin) 0.4 mg, 카테킨(catechin) 37.1 mg, 에피카테킨(epicatechin) 4.7 mg, 퀘르세틴(querceetin) 3.6 mg, 미리세틴(myricetin) 0.7 mg, 프로안토시아닌(proanthocyanidins) 19.5 mg의 영양분이 포함되어 있었다. 복분자 분말의 추가적인 제조 과정과 특성에 대해서는 이전 연구에서 논의하였다.¹⁴

3. 혈관내피전구세포의 측정

밤 동안 금식 시행 후 말초혈액을 헤파린 처리된 튜브에 4cc 채취하였다. Ficoll-Paque Plus (17-1440-03; Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, USA)를 이용하여 1시간 동안 밀도 기울기 원심분리를 통해 말초혈액의 단핵세포를 분리하였고 검사 시행 전까지 4°C에서 보관하였다. 유세포분석(flow cytometric analysis)을 위해, 세포는 2% 소태아혈청(fetal bovine serum, FBS)을 포함한 인산 완충 식염수(phosphate buffered saline, PBS)에 세척하였다. 이후 2% FBS를 포함한 PBS에 1:100으로 희석한 anti CD34-FITC (348053; BD Pharmingen, San Diego, CA, USA)와 anti-KDR-PE (FAB357P; R&D Systems, Minneapolis, MN, USA), 또는 anti-CD34-FITC와 anti-CD117-PE (555714; BD Pharmingen), 또는 anti-CD34-FITC와 anti-CD133-PE (130-080-801; Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany) monoclonal antibody에 20분간 4°C에서 이중 염색을 실시하였다. anti CD A 음성 대조군 또한 FITC mouse IgG1 isotype control (555909; BD Pharmingen)과 PE mouse IgG1 isotype control (349043; BD Pharmingen) antibody에 염색되었다. 2% PBS를 포함한 PBS에 세척한 이후, 세포를 재부유시켜 유세포 분석기(flow cytometry)를 통해 분석하였다. 이중 염색을 대해서 보정하기 위해 두 개의 형광 채널이 활용되었다. 샘플 당 3,000개

의 세포가 FACS Vantage SE flow sorter (BD Biosciences, San Jose, CA, USA)에서 분석되었고, 죽은 세포와 잔여물은 세포의 분산되는 성질을 이용하여 제거되었다. 이를 통한 자료는 CellQuest Pro software (BD Biosciences) 프로그램을 통해 분석하였다. CD34+KDR+ 또는 CD34+CD117+나 CD34+CD133+인 이중 양성 세포들은 혈관내피 전구세포로 정의되었다. 양성인 세포들은 백혈구 내에서의 퍼센트 분율과 1 mL whole blood 내에서의 절대적인 수로 표현되었다.

4. 상완 동맥 혈류중재 확장반응 측정

동맥의 직경 측정은 10-Mhz 선형 배열 탐촉자(linear array transducer)를 가진 초음파 장비를 통해(Vivid 7, GE Vingmed Ultrasound, Horten, Norway) ECG-gated, vessel end - diastole B-mod 영상이 활용되었다. 관찰자에 따른 변동성을 줄이기 위해 숙련된 의사가 동일한 검사 프로토콜과 기술을 통해 모든 환자의 측정을 시행하였다. 탐촉자의 적당한 위치가 정해지면 전주와(antecubital fossa)를 표시하고 검사 시간 동안 같은 팔 자세를 유지하도록 하였다. 누운 자세에서 10분간 휴식 후 왼쪽 상완 동맥을 검사하였다. 휴식 시 상완 동맥 직경을 기록한 후 측정 혈관에서 말단에 위치하는 전완부에 커프를 감고 250 mmHg까지 압력을 올렸다. 커프 압력은 총 5분간 유지되었고, 60초 동안의 reactive hyperemia 후 측정된 상완동맥 직경과 커프 압력을 뺀 때 측정된 직경을 비교하여 내피 세포 의존성 혈관 확장을 계산하였다. 15분간 휴식 상태 유지 후, 상완 동맥 측정을 반복하였고 이러한 측정값들의 평균을 도출하였다.

5. 경동맥 내중막 두께 측정

모든 환자들은 두 그룹으로 무작위 배정 실시 후 시작점과 12주 후에 경동맥 초음파 검사를 시행하였다. 왼쪽과 오른쪽의 경동맥에 대해 10-MHz 선형 배열 탐촉자로 영상 검사를 이용하였으며(Vivid 7, GE Vingmed Ultrasound, Horten, Norway) 총경동맥(common carotid artery), 외경동맥(external carotid artery), 내경동맥(internal carotid artery) 벽에 대한 Standardized longitudinal B-mode 영상을 촬영하였다. 총경동맥은 총경동맥 분지(common carotid bifurcation site)에서 몸쪽으로 10-20 mm 부위로, 외경동맥과 내경동맥은 말단으로 10 mm까지의 부위로 정의하였다. 최대 내중막 두께(intima-media thickness, IMT)는 좌측과 우측 총경동맥, 외경동맥, 내경동맥의

최대 내중막 두께 평균값으로 결정하였다. 또한 측정 시, 사전에 모든 임상적인 정보를 차단한 판독자에 의해 측정을 위한 전용 소프트웨어(IntimaScope, Media Cross Co., Tokyo, Japan)가 사용되었다.

6. 맥파 속도 및 발목 상완 지수 검사

모든 환자들은 시작점과 12주 후에 상완 발목 맥파 속도(brachial-ankle pulse wave velocity, baPWV) 검사를 시행하여 비교하였다. 환자는 누운 자세에서 5분간 휴식을 취한 후 체적변 동기록기(volume-plethysmographic apparatus)를 사용하여 상완 발목 맥파 속도를 측정하였다(model BP-203RPE II; Colin, Komaki, Japan). 이 장치는 좌측과 우측의 상완과 발목의 혈압 및 상완 발목 맥파 속도를 동시에 기록하며, 두 군의 상완 발목 맥파 속도의 변화량을 비교할 수 있었다. 발목 상완 지수(ankle brachial index, ABI)는 상완 동맥 및 족배 동맥(dorsalis pedis artery)과 후경골동맥(posterior tibial artery)의 수축기 혈압을 측정하였다. 이후 측정된 각각의 하지의 수축기 혈압을 상완 동맥의 혈압으로 나누어 발목 상완 지수를 계산하였다.

7. 중심동맥압과 대동맥 증대지수의 측정

중심동맥압의 측정은 Omron HEM-9000AI (cSBP-Omron)을 통해 시행하였으며 제조사의 매뉴얼에 따라 이루어졌다. 혈압 측정은 전자식 자동혈압계로 시행하였다. 대동맥 증대지수는 상완의 수축기 혈압과 이완기 혈압을 이용하여 계산하였다. 첫 번째 혈압의 정점과 두 번째 혈압의 정점의 차이를 맥압으로 나누어 증대지수를 계산하였다(augmentation index= $\Delta P/PP$). 첫 번째 혈압의 정점은 혈액이 대동맥에서 박출될 때 측정되고 두 번째 혈압의 정점은 혈액이 대동맥 분지에서 반사될 때 나타난다. 모든 자료는 보관되어 검사를 마친 이후 분석되었다.

8. 실험실 검사

hsCRP, IL-6, TNF- α 와 같은 염증 지표들은 연구 시작 시점과 12주후에 측정되었다. 8시간 또는 밤 동안 금식 후 환자들의 정맥혈에서 혈액 채취하였으며 혈장을 분리하기 위해 원심분리 후 -80°C의 온도에서 보관하였다. TNF- α 는 0.5 pg/mL까지 검출 가능한 샌드위치형 효소면역측정법(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)으로 검사하였고(ALPCO Diagnostics, Salem, NH, USA) 검출되지 않는 TNF- α 는 0.4 pg/mL로 기록하

Table 1. Baseline patient characteristics

Variable	Black Raspberry (n=26)	Placebo (n=25)	p value
Age (yrs)	56.4±9.2	60.7±10.4	0.124
Men	11 (42.3%)	12 (48.0%)	0.683
Height (m)	1.61±0.08	1.62±0.09	0.522
Weight (kg)	67.4±16.2	65.2±11.9	0.587
Body mass index (kg/m ²)	25.9±4.6	24.7±3.9	0.316
Waist (cm)	82.5±8.7	81.7±7.1	0.722
Risk Factors			
Hypertension	17 (65.4%)	13 (52.0%)	0.332
Type 2 Diabetes	5 (19.2%)	4 (16.0%)	1.000
Hyperlipidemia	13 (50.0%)	10 (40.0%)	0.473
Smoker	3 (11.5%)	3 (12.0%)	1.000
Alcohol	11 (45.8%)	9 (36.0%)	0.484
Medications at baseline			
Aspirin	4 (15.4%)	3 (12.0%)	1.000
Clopidogrel	4 (15.4%)	3 (12.0%)	1.000
ACE inhibitor	1 (3.8%)	2 (8.0%)	0.610
ARB	8 (30.8%)	10 (40.0%)	0.490
Beta blocker	3 (11.5%)	2 (8.0%)	1.000
Calcium channel blocker	8 (30.8%)	7 (28.0%)	0.828
Diuretics	1 (3.8%)	1 (4.0%)	1.000

Values are presented as mean±standard deviation or number (%).

였다. IL-6 또한 0.16 pg/mL까지 검출 가능한 샌드위치형 효소면역측정법으로 검사하였다(ALPCO Diagnostics, Salem, NH, USA). 한편 hsCRP는 비탁계(nephelometer)를 이용하여 정량하였고(Dade Behring Inc., Newark, DE, USA) 아디포넥틴은 0.78 ng/mL까지 검출 가능한 방사성면역측정법(radioimmunoassay)으로 측정하였다(Linco Research, Inc. St. Charles, MO, USA). 또한 sICAM-1, sVCAM-1은 효소면역측정법을 통해 측정하였다(R & D Systems, Minneapolis, Minnesota, USA). 총 콜레스테롤, 중성지방, HDL 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤은 B.M Hitachi 747 임상 화학 분석기로 검사하였고 혈당은 포도당 산화 효소법(glucose oxidase method)으로 측정하였다.

9. 통계 분석

연속적인 변수를 가지는 자료는 평균값으로 표현하였고 범주적인 변수를 가지는 자료는 해당하는 환자의 수와 퍼센트 비율로 나타내었으며 이때 카이 제곱 검정을 활용하였다. 시작점으로부터의 변화량은 연구 시작 시 얻은 값에서 치료 이후에 얻은 값을 빼어 계산하였다. 두 그룹간의 결과는 비대응 표본 T 검정을 통해 비교하였고, 치료 전과 후의 결과는 대응 표본 T 검정을 통해 비교하였다. 정규분포를 보이지 않는 변수들은 로그 변환을 거쳤고 p 값은 0.05 미만 시 유의미하다고 보았다. 이러한 통계적

분석에는 SPSS 소프트웨어(version 20.0)가 활용되었다.

결 과

1. 연구 환자의 임상적 특성

선별검사를 거친 116명의 환자 중 조건에 맞는 환자들(n=51)은 전향적, 무작위 배정으로 복분자 투여군과(n=26, 750 mg/d equivalent of 4 capsules/d) 위약군으로(n=25) 나누어졌다. 이후 2013년 8월부터 2014년 11월까지 12주의 연구기간 동안 추적 검사를 실시하였다. 연령이나 체질량지수와 같은 기본적인 임상적 특성은 두 군이 비슷하게 나타났다(Table 1). 또한 고혈압, 제2형 당뇨병, 고지혈증, 흡연력과 같은 위험 인자들과 약물 복용력에서도 두 군간 유의한 차이는 보이지 않았다(Table 1).

2. 혈중 지질의 변화

시작점과 비교하였을 때 총 콜레스테롤의 감소와(-22.7±34.3 mg/dL vs. 0.0±34.7 mg/dL, $p<0.05$) 총 콜레스테롤/HDL 콜레스테롤 비율의 감소는(-0.34±0.68 vs. 0.17±0.56)는 복분자 투여군에서 위약군보다 유의하게 높게 나타났다(Table 2). 시작점과 비교하였을 때 중성지방 변화는 복분자 투여군과 위약군에서 14.3±48.2 mg/dL vs. 20.2±48.4 mg/dL로 증가하는 모습

Table 2. Changes in lipid profiles

Variable	Black Raspberry (n=26)		Placebo (n=25)	
	Baseline	12 Week F/U	Baseline	12 Week F/U
Total Cholesterol (mg/dL)	206.8±35.3	182.8±27.2*	196.0±33.0	192.5±31.9
Changes from Baseline (mg/dL)		-22.7±34.3 [†]		0.0±34.7
Triglyceride (mg/dL)	154.7±47.2	163.8±54.2	127.4±65.0	148.2±67.3
Changes from Baseline (mg/dL)		14.3±48.2		20.2±48.4
HDL-Cholesterol (mg/dL)	52.0±14.1	50.2±12.2	54.0±13.6	50.6±10.5*
Changes from Baseline (mg/dL)		-2.0±6.1		-3.5±7.2
LDL-Cholesterol (mg/dL)	101.3±17.5	93.3±19.4	98.7±19.2	97.2±19.0
Changes from Baseline (mg/dL)		-7.3±21.5		1.1±20.8
Lipoprotein (a) (mg/dL)	14.6±12.5 [†]	13.9±12.6 [†]	27.0±24.7	26.3±27.2
Changes from Baseline (mg/dL)		-1.2±5.3		-2.0±6.3
Apolipoprotein A-I (mg/dL)	142.6±23.5	137.2±23.6	132.0±20.0	133.7±16.6
Changes from Baseline (mg/dL)		-5.3±17.3		1.1±7.5
Apolipoprotein B (mg/dL)	96.6±20.4	97.7±17.7	94.7±15.9	93.8±19.2
Changes from Baseline (mg/dL)		2.4±18.9		1.0±18.7
LDL/HDL Ratio	2.04±0.51	1.94±0.52	1.92±0.57	2.00±0.50
Changes from Baseline		-0.12±0.42		0.11±0.35
Triglyceride/HDL Ratio	3.11±1.16	3.54±1.62*	2.71±2.10	3.25±2.01*
Changes from Baseline		0.50±1.01		0.48±1.00
Total cholesterol/HDL Ratio	4.12±0.83	3.82±0.82*	3.79±0.96	3.92±0.88
Changes from Baseline		-0.34±0.68 [†]		0.17±0.56
Apolipoprotein B/A-I Ratio	0.69±0.16	0.73±0.16	0.74±0.18	0.72±0.18
Changes from Baseline		0.04±0.17		0.00±0.13

Values are presented as mean±standard deviation or number (%).

* $p<0.05$ compared with baseline, [†] $p<0.05$ compared with placebo group

Table 3. Changes in inflammatory parameters during the 12-week follow-up

Variables	Black Raspberry (n=26)		Placebo (n=25)	
	Baseline	12 Week Follow-Up	Baseline	12 Week Follow-Up
IL-6 (pg/mL)	1.4±0.9	0.9±0.6* [†]	1.5±1.5	1.4±1.2
Changes from Baseline (pg/mL)		-0.5±1.4 [†]		-0.1±1.1
TNF- α (pg/mL)	18.3±4.7	12.7±4.0* [†]	15.9±7.1	15.0±6.2
Changes from Baseline (pg/mL)		-5.4±4.5 [†]		-0.8±4.0
C-reactive protein (mg/L)	1.3±1.6	1.2±2.0	2.0±2.9	1.8±2.2
Changes from Baseline (mg/L)		-0.1±1.4		-0.3±3.8
Adiponectin (μ g/mL)	3.9±4.3 [†]	6.9±4.1*	6.4±6.5	6.1±6.6
Changes from Baseline (μ g/mL)		2.9±2.1 [†]		-0.2±2.5
sICAM-1 (ng/mL)	643±365	621±587 [†]	501±399	489±278
Changes from Baseline (ng/mL)		-19±102		-11±114
sVCAM-1 (ng/mL)	1080±552	1055±490	1002±477	1088±498
Changes from Baseline (ng/mL)		-23±379		81±401

Values are presented as mean±standard deviation or number (%).

* $p<0.05$ compared with baseline, [†] $p<0.05$ compared with placebo group

을 보였으나 통계적 유의성은 관찰되지 않았다.

3. 12개월 간 염증 지표의 변화

IL-6의 감소와(-0.5±1.4 pg/mL vs. -0.1±1.1 pg/mL, $p<$

0.05) TNF- α 의 감소는(-5.4±4.5 pg/mL vs. -0.8±4.0 pg/mL, $p<0.05$) 복분자 투여군에서 위약군과 비교하였을 때 유의하게 큰 폭으로 나타났다(Table 3). 아디포넥틴의 증가의(2.9±2.1 μ g/mL vs. -0.2±2.5 μ g/mL, $p<0.05$) 경우 복분자 투여군에서

Table 4. Changes in flow-mediated dilation during the 12-week follow-up

Variables	Black Raspberry (n=26)		Placebo (n=25)	
	Resting	Reactive Hyperemia	Resting	Reactive Hyperemia
Baseline				
Brachial Artery Diameter (mm)	39.3±5.6	42.1±6.3*	39.3±8.2	42.1±8.6*
Changes in Diameter (mm)		2.8±2.4		2.9±2.5
12 Week Follow-Up				
Brachial Artery Diameter (mm)	35.9±7.0	38.8±7.1*	39.3±7.5	40.1±8.0
Changes in Diameter (mm)		2.9±3.6 [†]		1.0±3.9

Values are presented as mean±standard deviation or number (%).

* $p<0.05$ compared with baseline, [†] $p<0.05$ compared with placebo group

Table 5. Changes in baPWV, carotid IMT and ankle brachial index during the 12-week follow-up

Variables	Black Raspberry (n=26)		Placebo (n=25)	
	Baseline	12 Week Follow-Up	Baseline	12 Week Follow-Up
Right Average IMT (mm)	0.74±0.19	0.74±0.23	0.72±0.17	0.71±0.15
Changes from Baseline (mm)		-0.01±0.11		-0.02±0.13
Left Average IMT (mm)	0.75±0.19	0.73±0.17	0.71±0.12	0.72±0.14
Changes from Baseline (mm)		-0.03±0.13		0.00±0.17
Right PWV (cm/s)	1475±348	1446±253	1419±256	1434±296
Changes from Baseline (cm/s)		-38±267		8±160
Left PWV (cm/s)	1487±354	1458±269	1439±253	1436±264
Changes from Baseline (cm/s)		-37±238		-9±142
Right ABI	1.15±0.09	1.16±0.10	1.13±0.07	1.13±0.07
Changes from Baseline		0.00±0.11		0.00±0.08
Left ABI	1.12±0.06	1.11±0.10	1.11±0.06	1.09±0.07
Changes from Baseline		-0.01±0.09		-0.02±0.07

Values are presented as mean±standard deviation or number (%).

* $p<0.05$ compared with baseline, [†] $p<0.05$ compared with placebo group

baPWV; brachial artery pulse wave velocity, PWV; pulse wave velocity, IMT; intima-media thickness, ABI; ankle-brachial index

유의하게 큰 변화를 나타냈다. 그러나 hsCRP의 변화는 두 군 모두 비슷하였다(Table 3).

하였을 때 의미있게 감소한 것을 확인할 수 있었다(-2±10% vs. 4±13%, $p<0.005$) (Table 6).

4. 상완 동맥 혈류중재 확장 반응과 동맥경화도

연구 시작 시 상완 동맥 혈류중재의 변화는 두 그룹 모두 비슷하나(2.8±2.4 mm vs. 2.9±2.5 mm, $p=0.991$) 12개월 이후의 상완 동맥 혈류중재의 변화는 복분자 투여군에서 위약군보다 유의하게 크게 나타났다(2.9±3.6 mm vs. 1.0±3.9mm, $p<0.05$) (Table 4). 그러나 연구 기간 동안 경동맥 내중막 두께, 발목 상완 지수는 두 군간에 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 5).

5. 중심동맥압과 대동맥 증대지수의 변화

수축기 혈압, 이완기 혈압, 중심동맥압에는 유의한 변화가 없었다. 그러나 대동맥 증대지수는 복분자 투여군에서 위약군과 비교

6. 12주 동안의 혈관내피전구세포 변화

시작점에서 두 군간의 CD34/KDR+, CD34/CD117+, CD34/D133+ 혈관내피 전구세포는 비슷하였다. 12주 후 CD34/KDR+, CD34/CD117+, CD34/CD133+ 세포는 복분자 투여군과 위약군 모두 의미있는 차이를 보이지 않았다(Table 7).

고 찰

본 연구는 복분자가 혈중 지질과 혈관 내피세포 기능, 중심동맥압, 대동맥 증대지수, 혈중 내피 선조 세포에 미치는 영향을 연구한 전향적, 무작위 배정, 이중맹검 연구라는 점에서 의의가 있다.

Table 6. Changes in central blood pressure and radial augmentation index

Variables	Black Raspberry (n=26)		Placebo (n=25)	
	Baseline	12 Week Follow-Up	Baseline	12 Week Follow-Up
Systolic blood pressure (mmHg)	130±18	125±14	124±13	119±11
Changes from Baseline (mmHg)		-5±13		-5±12
Diastolic blood pressure (mmHg)	77±12	74±10	73±10	72±11
Changes from Baseline (mmHg)		-3±10		-1±10
Central Systolic blood pressure (mmHg)	133±21	129±16	129±16	123±12
Changes from Baseline (mmHg)		-4±24		-5±15
Heart Rate (bpm)	71±11	68±12	67±9	69±10
Changes from Baseline (bpm)		-3±10		1±9
Radial augmentation index (%)	80±10	78±11	79±12	82±17
Changes from Baseline (%)		-2±10 [†]		4±13

Values are presented as mean±standard deviation or number (%).

* $p<0.05$ compared with baseline, [†] $p<0.05$ compared with placebo group

Table 7. Changes in circulating endothelial progenitor cells during the 12-week follow-up

Variables	Black Raspberry (n=26)		Placebo (n=25)	
	Baseline	12 Week Follow-Up	Baseline	12 Week Follow-Up
CD34/KDR+ cells (/uL)	280±284	106±82*	175±134	75±53*
Changes from Baseline (/uL)		-181±295		-105±142
CD34/CD117+ cells (/uL)	510±721	566±484	281±393	380±191
Changes from Baseline (/uL)		36±821		96±520
CD34/CD133+ cells (/uL)	55±30	51±46	81±58	58±51*
Changes from Baseline (/uL)		-4±59		-32±51

Values are presented as mean±standard deviation or number (%).

* $p<0.05$ compared with baseline, [†] $p<0.05$ compared with placebo group

12주간 매일 복분자 750 mg 복용 결과 총 콜레스테롤과 IL-6 나 TNF- α 와 같은 염증 지표를 유의하게 감소시켰고 아디포넥틴을 증가시켜서 상완 동맥 혈류중재 확장반응을 향상시키는데 기여하였다. 또한 대동맥 증대지수를 감소시켰다. 상완 동맥 혈류중재 확장반응 증가는 초기 동맥경화를 일으킬 수 있는 혈관내피세포 기능의 이상을 의미하고, 동맥경화를 가속화 시키는 총 콜레스테롤 및 LDL 콜레스테롤과 염증 지표를 상승시킨다.¹⁷ 복분자 투여가 혈중 지질과 상완 동맥 혈류중재 확장반응을 개선시키고 대동맥 증대지수를 호전시킨 본 연구는, 복분자가 심혈관 질환의 위험이 높은 대사증후군 환자에서 혈관내피세포의 기능을 효과적으로 향상시킬 수 있다는 점을 보여주고 있다.

복분자에는 다량의 아스코르빅 산, 안토시아닌, 플라보노이드, 페놀릭 산, 타이로솔, 레스베라트롤이 포함되어 있으며 타니스, 카테킨, 에피카테킨과 비타민 A, B1, C, E도 풍부하다. 아스코르빈 산은 H₂O₂의 자유 라디칼 활성(free radical activity)을 억제하여 상당한 항산화 효과를 나타낸다.¹⁸ 안토시아닌은 페놀릭 합성물에

서 가장 풍부한 성분으로 마찬가지로 항산화 효과를 가지고 있다.¹⁹ 복분자의 강력한 항산화 효과는 과육 내에 포함된 높은 안토시아닌과 페놀릭 합성물에 상응한다.²⁰ 또한 안토시아닌은 항산화 효과 이외에도 항염증 효과, LDL콜레스테롤의 산화 예방, 혈소판 응집을 억제하는 효과가 있다.^{21,22} 타이로솔과 레스베라트롤의 성분은 산화 LDL 콜레스테롤의 흡수를 낮추는 것으로 이미 입증되었다.^{23,24} 이외에도 레스베라트롤은 혈관 확장을 촉진시키고 콜레스테롤 생성을 억제시키는 효과도 있다.⁷⁻⁹ 또한 카테킨은 IL-6와 IL-8의 발현을 낮춰 항염증 효과를 보인다.²⁵ 또한 관상동맥에서 산화질소를 통한 혈관확장 효과를 보이는 것으로도 보고되었다.²⁶ 한편, 복분자에 포함된 플라보노이드는 혈관내피의 기능이상인 있는 환자에서 내피세포와 혈류에 의한 혈관확장을 향상시키는 효과가 있다.²⁷ 따라서 복분자는 콜레스테롤 생성을 억제하고 항산화 효과 및 항염증 효과, 혈관확장을 촉진시켜 혈관내피세포의 기능 이상을 호전시키는 효과가 있을 것으로 생각된다. 뿐만 아니라 플라보노이드는 산화질소와 혈관내피의 산화질소 생성효소의

생체이용률을 증가시킨다.^{28,29} 복분자의 폴리페놀 합성물은 산화 질소의 생성 및 혈관내피의 cGMP의 누적량을 늘리는 효과가 있다고 하며,²⁵ 한 실험적 연구에서는 폴리페놀 합성물이 혈관내피의 산화질소에 의한 관상동맥의 확장을 일으킬 수 있는 것으로 보고되었다.²⁶ 특히 페놀 합성물 중에 하나인 안토시아닌(anthocyanin)은 항염증 및 항산화 기능, 혈관 기능을 향상시키고 산화질소 및 eNOS를 증대시킨다.^{19,30,31} 여러 연구에서 안토시아닌이 대동맥 증대지수와 같은 동맥 경직도, 맥파 속도, 수축기 혈압, 중심동맥압을 호전시켜 심혈관 질환의 위험도와 관련된 사망률을 낮추는 것으로 확인되었다.³²⁻³⁴

본 연구에서는 복분자의 복용이 총 콜레스테롤과 총 콜레스테롤/HDL 콜레스테롤 비율을 유의하게 감소시켰기에 이로인한 효과를 보일 것으로 기대된다.³⁵ 활성화된 대식세포는 IL-1 β , IL-6, and TNF- α 를 포함한 염증성 사이토카인을 분비한다.^{36,37} 과도한 염증성 사이토카인은 조직 손상과 산화질소의 생체이용률을 감소시키고 활성산소의 생성을 증가시킨다. 활성산소는 산화질소의 활동을 직접 감소시키고 유도성 산화질소 합성효소의 발현을 바꾼다.³⁸ 본 연구에서 복분자 투여군에서의 IL-6와 TNF- α 의 감소는 산화질소의 생체이용률을 증가시키고 상완 동맥 혈류증대 확장반응을 개선시켰을 것이다. 산화질소의 생체이용률 감소는 단핵구와 림프구를 혈관내피에 부착되게 하는 sVCAM-1를 증가시킨다. 본 연구에서는 sVCAM-1과 sICAM-1의 유의한 변화가 없었는데 이는 아마도 세포 부착분자(adhesion molecules)가 발현을 확인하기에 연구 기간이 짧았던 것이 원인으로 생각된다. 혈관 평활근 내에서 생성된 CRP는 단핵구에서 IL-1, IL-6, TNF- α 를 분비하도록 자극하여 동맥경화 과정에 참여한다.³⁹ 그러나 본 연구에서는 관찰 기간 동안 두 군에서 hsCRP의 유의한 변화는 없었다. 우리가 추측하기에 hsCRP는 IL-6와 TNF- α 이외에도 다양한 요인에 의하여 영향을 받고, 따라서 IL-6와 TNF- α 와 같은 염증 지표의 증가가 혈관내피세포 기능의 이상을 좀더 잘 반영할 것으로 생각된다. 반면에 복분자 투여군에서 염증성 사이토카인의 감소 및 TNF- α 의 신호의 억제제는 아디포넥틴의 직접적인 항동맥경화 효과를 증명하였다.

본 연구에는 몇 가지 한계점이 존재한다. 본 연구는 복분자가 혈중 지질과 혈관내피세포 기능에 미치는 영향에 대해 시행한 전향적, 무작위 배정, 이중맹검 연구이다. 그러나 임상적으로 심혈관 질환에 대한 효과를 평가하기에는 연구에 참여한 총 환자의 수가 상대적으로 적다. 또한, 이번 연구는 복분자 투여 하위연구로

진행되어 연구 대상자 수가 적어 충분히 그 효과를 입증하는데 한계가 있다. 이전 연구에서 LDL 콜레스테롤의 유의미한 감소를 입증하였으나, 이번 연구에서 LDL 콜레스테롤이 감소는 하였지만 통계적 유의성이 보이지 않은 것은 절대적인 수의 감소 때문일 가능성이 높을 것으로 추정된다. 복분자에는 폴리페놀릭 합성물을 포함한 다양하고 이로운 성분이 포함되어있다. 그러나 이러한 성분과 혈중지질, 혈관 내피세포에 미치는 효과간의 정확한 메커니즘에 대해서는 좀 더 연구가 필요하다.

결론적으로, 대사증후군 환자에게 12주간 복분자 투여는 혈중 지질을 개선시키고 염증성 사이토카인을 호전시킨다. 그리하여 대동맥 증대지수 등으로 대표되는 혈관내피세포 기능을 증진시키는데 기여한다.

감사의 글

본 연구는 전북 고창군과 고창 복분자 연구소에서 시행한 2011년 지역 농식품 선도 클러스터 육성사업비의 지원을 받아 수행되었음.

이해관계의 표시

어떠한 상업적 연관성이나 이해충돌이 없으며, 모든 저자들은 이에 대한 해당사항이 없음.

REFERENCES

- Kim EJ, Lee YJ, Shin HK, Park JH. Induction of apoptosis by the aqueous extract of *Rubus coreanum* in HT-29 human colon cancer cells. *Nutrition* 2005;21:1141-1148.
- Wang SY, Lin HS. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *J Agric Food Chem* 2000;48:140-146.
- Lim JW, Hwang HJ, Shin CS. Polyphenol compounds and anti-inflammatory activities of Korean black raspberry (*Rubus coreanus* Miquel) wines produced from juice supplemented with pulp and seed. *J Agric Food Chem* 2012;60:5121-5127.
- Wallerath T, Deckert G, Ternes T, Anderson H, Li H, Witte K, et al. Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin present

- in red wine, enhances expression and activity of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 2002;106:1652-1658.
5. Zhao C, Kim HK, Kim SZ, Chae HJ, Cui WS, Lee SW, et al. What is the role of unripe *Rubus coreanus* extract on penile erection? *Phytother Res* 2011;25:1046-1053.
 6. Yang HM, Oh SM, Lim SS, Shin HK, Oh YS, Kim JK. Antiinflammatory activities of *Rubus coreanus* depend on the degree of fruit ripening. *Phytother Res* 2008;22:102-107.
 7. Ou HC, Chou FP, Sheen HM, Lin TM, Yang CH, Huey-Herng Sheu W. Resveratrol, a polyphenolic compound in red wine, protects against oxidized LDL-induced cytotoxicity in endothelial cells. *Clin Chim Acta* 2006;364:196-204.
 8. Chen CK, Pace-Asciak CR. Vasorelaxing activity of resveratrol and quercetin in isolated rat aorta. *Gen Pharmacol* 1996;27:363-366.
 9. Rakici O, Kiziltepe U, Coskun B, Aslamaci S, Akar F. Effects of resveratrol on vascular tone and endothelial function of human saphenous vein and internal mammary artery. *Int J Cardiol* 2005;105:209-215.
 10. Opie LH. Metabolic syndrome. *Circulation* 2007;115:e32-e35.
 11. McNulty LS, Collier SR, Landram MJ, Whittaker DS, Isaacs SE, Klemka JM, et al. Six weeks daily ingestion of whole blueberry powder increases natural killer cell counts and reduces arterial stiffness in sedentary males and females. *Nutr Res* 2014;34:577-584.
 12. Ash MM, Wolford KA, Carden TJ, Hwang KT, Carr TP. Unrefined and refined black raspberry seed oils significantly lower triglycerides and moderately affect cholesterol metabolism in male Syrian hamsters. *J Med Food* 2011;14:1032-1038.
 13. Lee SM, Choi Y, Sung J, Kim Y, Jeong HS, Lee J. Protective effects of black rice extracts on oxidative stress induced by tert-butyl hydroperoxide in hepg2 cells. *Prev Nutr Food Sci* 2014;19:348-352.
 14. Jeong HS, Kim S, Hong SJ, Choi SC, Choi JH, Kim JH, et al. Black raspberry extract increased circulating endothelial progenitor cells and improved arterial stiffness in patients with metabolic syndrome: a randomized controlled trial. *J Med Food* 2016;19:346-352.
 15. Jeong HS, Hong SJ, Cho JY, Lee TB, Kwon JW, Joo HJ, et al. Effects of *Rubus occidentalis* extract on blood pressure in patients with prehypertension: randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial. *Nutrition* 2016;32:461-467.
 16. Jeong HS, Hong SJ, Lee TB, Kwon JW, Jeong JT, Joo HJ, et al. Effects of black raspberry on lipid profiles and vascular endothelial function in patients with metabolic syndrome. *Phytother Res* 2014;28:1492-1498.
 17. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340:1111-1115.
 18. Wang SY, Jiao H. Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. *J Agric Food Chem* 2000;48:5677-5684.
 19. Seeram NP, Nair MG. Inhibition of lipid peroxidation and structure-activity-related studies of the dietary constituents anthocyanins, anthocyanidins, and catechins. *J Agric Food Chem* 2002;50:5308-5312.
 20. Viljanen K, Kylli P, Kivikari R, Heinonen M. Inhibition of protein and lipid oxidation in liposomes by berry phenolics. *J Agric Food Chem* 2004;52:7419-7424.
 21. Shafiee M, Carbonneau MA, Urban N, Descomps B, Leger CL. Grape and grape seed extract capacities at protecting LDL against oxidation generated by Cu²⁺, AAPH or SIN-1 and at decreasing superoxide THP-1 cell production. A comparison to other extracts or compounds. *Free Radic Res* 2003;37:573-584.
 22. Demrow HS, Slane PR, Folts JD. Administration of wine and grape juice inhibits in vivo platelet activity and thrombosis in stenosed canine coronary arteries. *Circulation* 1995;91:1182-1188.
 23. Vivancos M, Moreno JJ. Effect of resveratrol, tyrosol and beta-sitosterol on oxidised low-density lipoprotein-stimulated oxidative stress, arachidonic acid release and prostaglandin E2 synthesis by RAW 264.7 macrophages. *Br J Nutr* 2008;99:1199-1207.
 24. Bhandary B, Lee GH, So BO, Kim SY, Kim MG, Kwon JW, et al. *Rubus coreanus* inhibits oxidized-LDL uptake by macrophages through regulation of JNK activation. *Am J Chin Med* 2012;40:967-978.
 25. Nakanishi T, Mukai K, Yumoto H, Hirao K, Hosokawa

- Y, Matsuo T. Anti-inflammatory effect of catechin on cultured human dental pulp cells affected by bacteria-derived factors. *Eur J Oral Sci* 2010;118:145-150.
26. Ndiaye M, Chataigneau T, Andriantsitohaina R, Stoclet JC, Schini-Kerth VB. Red wine polyphenols cause endothelium-dependent EDHF-mediated relaxations in porcine coronary arteries via a redox-sensitive mechanism. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;310:371-377.
27. Stein JH, Keevil JG, Wiebe DA, Aeschlimann S, Folts JD. Purple grape juice improves endothelial function and reduces the susceptibility of LDL cholesterol to oxidation in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1999;100:1050-1055.
28. Karim M, McCormick K, Kappagoda CT. Effects of cocoa extracts on endothelium-dependent relaxation. *J Nutr* 2000;130:2105S-2108S.
29. Basu A, Fu DX, Wilkinson M, Simmons B, Wu M, Betts NM, et al. Strawberries decrease atherosclerotic markers in subjects with metabolic syndrome. *Nutr Res* 2010;30:462-469.
30. Graf D, Seifert S, Jaudszus A, Bub A, Watzl B. Anthocyanin-rich juice lowers serum cholesterol, leptin, and resistin and improves plasma fatty acid composition in fischer rats. *PLoS One* 2013;8:e66690.
31. Garcia-Diaz DF, Johnson MH, de Mejia EG. Anthocyanins from fermented berry beverages inhibit inflammation-related adiposity response in vitro. *J Med Food* 2015;18:489-496.
32. Suzuki A, Yamamoto N, Jokura H, Yamamoto M, Fujii A, Tokimitsu I, et al. Chlorogenic acid attenuates hypertension and improves endothelial function in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 2006;24:1065-1073.
33. Jennings A, Welch AA, Fairweather-Tait SJ, Kay C, Minihane AM, Chowienzyk P, et al. Higher anthocyanin intake is associated with lower arterial stiffness and central blood pressure in women. *Am J Clin Nutr* 2012;96:781-788.
34. Mink PJ, Scrafford CG, Barraj LM, Harnack L, Hong CP, Nettleton JA, et al. Flavonoid intake and cardiovascular disease mortality: a prospective study in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2007;85:895-909.
35. Nagasawa SY, Okamura T, Iso H, Tamakoshi A, Yamada M, Watanabe M, et al. Relation between serum total cholesterol level and cardiovascular disease stratified by sex and age group: a pooled analysis of 65 594 individuals from 10 cohort studies in Japan. *J Am Heart Assoc* 2012;1:e001974.
36. Lawrence T, Willoughby DA, Gilroy DW. Anti-inflammatory lipid mediators and insights into the resolution of inflammation. *Nat Rev Immunol* 2002;2: 787-795.
37. Bosca L, Zeini M, Través PG, Hortelano S. Nitric oxide and cell viability in inflammatory cells: a role for NO in macrophage function and fate. *Toxicology* 2005;208:249-258.
38. Stocker R, Keaney JF Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev* 2004;84:1381-1478.
39. Verma S, Devaraj S, Jialal I. Is C-reactive protein an innocent bystander or proatherogenic culprit? C-reactive protein promotes atherothrombosis. *Circulation* 2006;113:2135-2150.