

고지혈증인 폐경 후 여성에서 이소플라본 보충이 혈청 지질 농도 및 항산화능에 미치는 영향*

이종호¹⁾ · 김은미^{2)§} · 채지숙¹⁾ · 장양수³⁾ · 이진희⁴⁾ · 이 근⁴⁾

연세대학교 식품영양학과,¹⁾ 강북삼성병원 영양실,²⁾

연세대학교 의과대학 심장내과학교실,³⁾ CJ(주) 식품연구소⁴⁾

The Effect of Isoflavone Supplement on Plasma Lipids & Antioxidant Status in Hypercholesterolemic Postmenopausal Women *

Lee, Jong Ho¹⁾ · Kim, Eun Mi^{2)§} · Chae, Jey Sook¹⁾ · Jang, Yang Soo³⁾ · Lee, Jin Hee⁴⁾ · Lee, Geun⁴⁾

Department of Food and Nutrition,¹⁾ Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

Department of Dietetic,²⁾ Kangbuk Samsung Hospital, Seoul 110-746, Korea

Department of Cardiology,³⁾ College of Medicine, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

Nutraceuticals & Functional Foods Division,⁴⁾ CJ Foods R&D, CJ Corp., Seoul 152-050, Korea

ABSTRACT

Postmenopausal women are at an increased risk of developing coronary artery disease. This is due to primarily dyslipidemia accompanying the loss of estrogen secretion. Soy isoflavones are known to have weak estrogenic effects. The purpose of this study is to investigate whether isoflavone supplement improves the risk of cardiovascular disease in hypercholesterolemic postmenopausal women. Subjects consisted of 39 Korean postmenopausal women with hypercholesterolemia (total cholesterol \geq 200 mg/dl or LDL cholesterol \geq 130 mg/dl). Subjects were divided into 2 groups; placebo group (PG), isoflavone supplement group (IG). During 12 weeks, subjects were given placebo and 80mg isoflavone daily. Anthropometric measurement, blood sample analysis and dietary intake measurement were taken at baseline and after 12 weeks. After 12 weeks, systolic blood pressure was decreased significantly ($p < 0.01$) and plasma HDL cholesterol level was increased significantly ($p < 0.05$) in IG. But there were no significant changes in plasma total cholesterol, LDL cholesterol and triglyceride levels after isoflavone supplementation. There was a negative correlation between initial plasma HDL cholesterol level and the extent of plasma HDL cholesterol reduction in IG ($r = -0.572$, $p = 0.012$). Atherogenic index (AI), total-/LDL- cholesterol ratio and LDL/HDL cholesterol ratio were improved significantly after isoflavone supplementation. In subjects whose initial plasma LDL cholesterol level were above 160 mg/dl, plasma malondialdehyde (MDA) level were decreased and total antioxidant status (TAS) were increased significantly after isoflavone supplement ($p < 0.05$). However there were no significant changes in flow-mediated dilator (FMD), the marker of endothelium-dependent vasodilation and nitroglycerine-mediated dilator (NMD), the marker of endothelium-independent vasodilation and the extent of DNA damage after isoflavone supplement. In conclusion, these results indicate that isoflavone supplement may decrease the risk of cardiovascular disease via improving blood pressure, HDL cholesterol level and AI in hypercholesterolemic postmenopausal women. Furthermore, in case of subjects with elevated LDL cholesterol level, isoflavone supplementation may have more antiatherogenic effects via improving antioxidant status. (*Korean J Nutrition* 36(6) : 603~612, 2003)

KEY WORDS : isoflavone, menopause, hypercholesterolemia, plasma lipids, antioxidant capacity, lipid peroxidation, endothelial function.

접수일 : 2003년 2월 21일

채택일 : 2003년 6월 30일

*This work was supported by grant No. R04-2000-000-00074-0 from the Basic Research Program of the Korea Science & Engineering Foundation.

§To whom correspondence should be addressed.

서 론

여성호르몬이 심혈관계질환의 위험으로부터 보호 효과가 있으며, 폐경 후 여성은 에스트로겐 분비 감소에 따라 심혈관계 질환이 병발될 위험이 높아짐이 잘 알려져 있다. 여러 연구들에서 폐경 후 여성에서 혈청 지질 농도가 증가하며 에스트로겐 투여시 혈청 지질 농도가 개선되고, 폐경 후 호르몬치료를 받는 여성이 호르몬 치료를 받지 않는 여성보다 관상동맥 질환의 발병이 적음을 보고하고 있다.¹⁻⁵⁾ 고콜레스테롤혈증 등의 관상동맥질환 위험요인은 혈관내피세포의 기능에 영향을 미치는데, 이 과정에는 산화적 스트레스 (oxidative stress)가 관여하는 것으로 생각된다.⁶⁻⁸⁾ 폐경 후 여성에서의 에스트로겐 투여는 심혈관계 질환의 위험을 감소시키는 효과가 있으나 호르몬 치료에 따른 암 발생 위험의 증가를 비롯한 여러 가지 부작용 때문에 이를 기피하는 경우가 많다.⁹⁾

대두 섭취가 혈청 지질 농도 및 혈관 내피세포 기능을 개선하고 산화적 스트레스를 줄이는 등의 효과가 있음이 실험동물 및 사람을 대상으로 한 여러 연구들에서 보고되고 있다. 대두 중의 어떠한 성분이 이러한 영향을 미치는 지에 대해서는 여러 가지 의견이 있으나, 대두 중의 이소플라본에 대해 특히 많은 관심이 대두되고 있다. 이소플라본은 에스트로겐과 구조 및 기능이 유사하여 폐경 후 여성에서 이상지혈증 (dyslipidemia)을 완화시키는 등의 효과가 있음이 여러 연구에서 보고되고 있다.⁹⁻¹⁵⁾

현재까지 이루어진 이소플라본의 보충이 혈중 지질 수치 및 항산화능에 미치는 영향에 대한 연구들은 대부분 서구인을 대상으로 시행되었다. 이소플라본의 효능이 인종 및 식사 패턴을 비롯한 여러 가지 요인에 따라 달라질 수 있을 것으로 생각되나, 우리 나라 사람을 대상으로 한 이소플라본 보충 효과에 대한 연구는 많지 않은 실정이다. 폐경 후 여성에서 대두 성분, 특히 이소플라본의 생리적 효능에 대한 관심이 높음을 고려할 때 우리 나라 여성을 대상으로 한 연구가 필요하다고 하겠다.

본 연구에서는 고콜레스테롤혈증이 있는 폐경 후 여성들에게 대두 이소플라본을 보충한 후 혈청 지질 농도, 항산화능 및 혈관 내피 세포 기능에 미치는 영향을 조사하여, 이소플라본 보충이 이들에서 심혈관계 질환 위험도를 개선하는데 효과가 있는지를 살펴보고자 하였다.

연구방법

1. 연구 대상자 및 연구 내용

고콜레스테롤혈증 (총 콜레스테롤 ≥ 220 mg/dl 또는 LDL

콜레스테롤 ≥ 130 mg/dl)이 있는 폐경 후 여성 39명을 대상으로 2001년 10월부터 2002년 5월까지 연구를 시행하였다. 관상동맥경화증 환자의 경우 좌주관부 협착 및 개구부 협착이 있거나 단일 혈관질환으로서 이것이 심근경색과 관련된 혈관인 경우는 대상에서 제외하였으며, 혈청 지질, 골대사 및 칼슘 대사에 영향을 주는 약물을 복용하는 자와 지난 6개월간 호르몬 치료를 받은 자도 대상에서 제외시켰다. 대상자를 무작위로 두 군으로 나누어 각각 위약 (17명)과 이소플라본 제제 (22명)를 1일 2회로 나누어 하루 4캡슐을 12주간 복용하도록 하였다.

연구 시작 시 (0주)와 종료 시 (12주)에 인체계측 (체중, 체지방, 허리둘레), 혈압 측정, 혈청 지질 농도 검사, 지질 과산화물 검사 (혈청 malondialdehyde; MDA, 요중 8-iso-prostaglandin F_{2a} ; 8-iso-PGF_{2a}), 항산화능 검사 (plasma total antioxidant capacity, TAS), 상완동맥 혈관 심초음파 검사를 시행하였으며, comet assay를 이용하여 DNA 손상정도를 관찰하였다.

이소플라본 제제 (CJ(주)) 1일 분량에는 80 mg의 이소플라본이 함유되어 있으며, 연구 기간동안 식사는 연구 시작 전과 동일하게 하도록 하였다.

2. 혈청 지질 농도 측정

검사 당일 아침 공복시 정맥에서 채혈하였으며 혈청 총 콜레스테롤과 중성지방, HDL 콜레스테롤은 자동분석기 (Auto-analyzer Hitachi 7600-100, Hitachi, Japan)를 이용하여 효소법으로 측정하였고, LDL 콜레스테롤은 Friedewald의 공식 [LDL 콜레스테롤 (mg/dl) = 총 콜레스테롤 - HDL 콜레스테롤 - (중성지방/5)]¹⁶⁾을 이용하여 계산하였다.

3. 지질 과산화물 농도 측정

혈청 malondialdehyde (MDA)는 Buckingham의 방법을 이용하여 측정하였다.¹⁷⁾ 혈장 50 μ l에 1/12 N H₂SO₄ 4 ml, 10% phosphotungstic acid 0.5 ml를 가하여 혼합한 후 실온에서 5분간 방치하였다. 혼합액을 원심분리 (330 rpm, 15분간) 한 후 침전물에 1/12 N H₂SO₄ 2 ml, 10% phosphotungstic acid 0.3 ml를 가하여 강하게 섞고, 다시 원심분리 (330 rpm, 15분간)하여 침전물에 증류수 5 ml와 1% thiobarbituric acid 2 ml를 가하여 90~95°C에서 20분간 incubate하였다. 이를 냉각시킨 후 n-butanol을 가하여 휘젓고 원심분리 (330 rpm, 15분간)하여 상층의 butanol을 luminescence spectrometer (Aminco Bowman Series)를 이용하여 excitation 500 nm, emission 553 nm에서 fluorescence intensity를 측정하고 표준용액과 비교하여 비색정량하였다.

요중 8-iso-PGF_{2α}는 효소면역측정법을 이용하여 측정하였다.¹⁸⁾ 검체에 BHT를 첨가한 후 (분석시까지 -20℃에 보관) 소변 8 ml에 증류수를 1.6 ml 첨가하고 formic acid로 pH를 4 이하로 조정한 후 4℃에서 15분간 균등화시켰다. Methanol 5 ml과 증류수 5 ml로 Sep-Pak C18 cartridge를 preconditioning 시킨 후 시료를 넣고, 증류수 10 ml와 acetonitrile-water (15 : 85, v/v)로 세척하여 hexane-ethyl-acetate-propanol (30 : 65 : 5, v/v) 4 ml로 추출하였다. 이를 NH₂ cartridge에 loading시킨 후, hexane-ethyl acetate (30 : 70, v/v) 10 ml, acetonitrile-water (9 : 1, v/v) 10 ml, acetonitrile 10 ml로 차례로 세척하였다. Ethyl acetate-methanol-acetic acid (10 : 85 : 5, v/v) 5 ml로 추출하여 N₂로 건조시키고 분석할 때까지 -20℃에 보관하였다. 추출한 8-epi-PGF_{2α}는 Bioxytech 8-Isoprostane™ Assay kit (OXIS International, Inc)를 이용하여 650 nm에서 absorbance를 측정하였다.

4. Total antioxidant status 및 DNA 손상 정도 측정

Total antioxidant status (TAS)는 RANDOX의 kit를 사용하여 Auto Chemistry Analyzer Express Plus (Chiron Diagnostics Co., MA, USA)로 측정하였다.¹⁹⁾ ABTS^R (2,2'-azino-di-(3-ethyl benzthiazoline sulphonate))를 peroxidase 및 H₂O₂와 배양하여 ABTS^{R+}에 의해 안정한 청록색 분자인 양이온이 형성되면 600 nm에서 측정하였다. 검체에 함유된 항산화물질의 농도에 비례하여 발색이 억제되는데, Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl-chroman-2-carboxylic acid), (+) α-tocopherol analog를 이용한 표준용액과 비교하여 정량하였다. 활성도의 단위는 mM/l로 표시하였다.

DNA 손상정도 확인을 위해 Singh의 방법²⁰⁾을 수정보완하여 alkaline comet assay를 시행하였다. PBS (phosphate buffered saline)에 전혈을 섞어 lymphocyte separation solution (Histopaque-1077) 위에 놓고 원심분리 (1450 rpm, 4분)한 후 임파구를 분리하였다. 이를 다시 PBS를 넣어 원심분리하고 세척하여 분리된 임파구로 agarose를 사용하여 slide를 만들고 lysis solution에 담가 한시간 동안 lysis시켰다. Slide는 electrophoresis buffer에 담가 unwinding시키고, horizontal gel electrophoresis tank에서 전기영동시킨 후 ethidium bromide로 염색하고, 형광현미경 (Leica, Germany)으로 관찰하였다. Image analyzer software (Komet 5)를 이용하여 slide당 50개 세포에서 tail DNA (%), tail length (μm), tail moment (tail distance × tail DNA (%)/100)를 측정하였다.

5. 상완동맥의 vasodilator response 측정

Linear phased array ultrasound transducer (10-MHz, GE Vigmid, USA)를 사용하여 전주완 위 부분의 상완동맥을 촬영하였다. 검사 전 10분 이상 누워 안정을 취하도록 하고, lumen의 표피와 상완동맥의 기준 직경을 측정하였는데, media와 adventitia 사이의 전방부에서 후반부까지를 2D image로 이완기에 측정하였다. Reactive hyperemia는 팔 위 부분에 pneumatic cuff를 감아 inflation과 deflation을 유도하였다. 혈압을 5분간 250 mmHg까지 상승시켜 말초 혈관에 국소 허혈을 유도한 후 cuff를 제거하고 15초 이내에 상완동맥의 직경을 측정하였고, 이를 이용하여 혈관 내피세포에 의존적인 혈관 이완능 (endothelium-dependant vasodilation)을 나타내는 flow-mediated dilator (FMD) response를 계산하였다. Cuff 제거 후 상완동맥 상태가 baseline으로 돌아오면 다시 상완동맥 직경을 측정하였고, 0.6 mg의 nitroglycerine을 혀 밑에 넣고 3분 경과 후 직경의 변화를 관찰하여 혈관 내피세포에 비의존적인 혈관 이완능 (endothelium-independant vasodilation)인 nitroglycerine-mediated dilator (NMD) response의 변화율을 구하였다.

6. 자료의 통계처리

연구 자료는 Window용 SPSS package (Statistical Package for the Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 통계 처리하였고, 모든 측정치는 평균 ± 표준오차 (Mean ± S.E.)로 표시하였으며, 검정 시에는 p < 0.05일 때를 통계적으로 유의하다고 보았다.

위약군과 이소플라본 보충군 대상자들의 특성에 차이가 있는지를 확인하기 위해 independent t-test를 시행하였다. 이소플라본 보충에 따른 효과를 확인하기 위해 각각의 군에 대해 이소플라본 제제 복용 전과 복용 후 유의적 변화가 있는지를 paired t-test를 시행하여 검정하였다. 혈청 LDL 콜레스테롤 농도에 따라 이소플라본 보충효과에 차이가 있는지를 확인하기 위해 초기 혈중 LDL 콜레스테롤이 160 mg/dl 이상과 미만의 두 군으로 구분하여 이소플라본 제제 복용 전후의 효과를 비교하고 각각에 대해 paired t-test를 시행하였다.

결과 및 고찰

1. 대상자의 일반 특성

전체 대상자의 평균 연령은 59.1 ± 0.04세, 평균 신장과 체중은 각각 156.2 ± 0.02 cm, 58.1 ± 1.23 kg, 체질량

지수 (BMI)는 $23.8 \pm 0.48 \text{ kg/m}^2$, 체지방률은 $32.0 \pm 1.14\%$ 이었으며, 위약군과 이소플라본 제제 복용군 간에 유의적인 차이는 없었다. 폐경 후 경과기간은 평균 10.0 ± 0.09 년이었다. 전체 연구 대상자들의 평균 허리둘레는 $89.0 \pm 1.50 \text{ cm}$ 로 아시아 태평양지역의 여성 복부비만 판정기준²¹⁾인 80 cm 보다 컸으며 두 군간에 유의적인 차이가 없었다. 전체 대상자의 평균 수축기 혈압은 $133.7 \pm 3.29 \text{ mmHg}$, 이완기 혈압은 $76.3 \pm 2.02 \text{ mmHg}$ 으로 두 군간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 전체 대상자의 38.5%가 고혈압에 해당하였으며, 고혈압 환자의 비율은 두 군간에 유의적인 차이가 없었다 (Table 1).

2. 이소플라본 보충에 따른 변화

1) 인체 계측 결과 및 혈압

두 군 모두에서 초기와 비교했을 때 12주 후 체중과 이

Table 1. General characteristics of subjects

	Placebo group (n = 17)	Isoflavone supplement group (n = 22)
Age	61.1 ± 1.57	57.6 ± 1.08
Height (cm)	155.4 ± 1.68	156.9 ± 1.02
Weight (kg)	58.2 ± 2.05	58.0 ± 1.54
BMI ¹ (kg/m ²)	24.1 ± 0.70	23.6 ± 0.68
PIBW ² (%)	117.3 ± 3.43	114.1 ± 3.50
Waist (cm)	90.4 ± 2.08	88.0 ± 2.12
Body fat (%)	32.5 ± 1.83	31.5 ± 1.48

Mean \pm S.E.

*: $p < 0.05$ compared with placebo group.

¹ Body mass index

² % Ideal body weight

상체중 백분율, BMI의 유의적인 변화는 관찰되지 않았다. 위약군의 경우 혈압에 변화가 없었으나 이소플라본 보충군은 초기에 비해 수축기 혈압이 유의적으로 저하되었다 (Table 2). 특히 이소플라본 제제 복용 전 평균 수축기 혈압이 $136.6 \pm 4.56 \text{ mmHg}$ 로 경계역 고혈압이었으나, 12주 동안 이소플라본 제제 복용 후 $128.6 \pm 4.02 \text{ mmHg}$ 으로 낮아져 정상 수준 내로 혈압이 개선되었다.

이소플라본 보충에 의한 혈압 개선 효과는 심혈관계 질환 예방에 유익한 영향을 미칠 수 있을 것으로 생각된다. 이소플라본 보충시 혈압 개선 효과가 있음이 동물실험들에서 보고되고 있으나,^{22,23)} 사람을 대상으로 한 연구들에서는 서로 다른 결과를 보고하고 있다. Washburn 등²⁴⁾은 주폐경기 (perimenopausal) 여성에게 1일 68 mg의 이소플라본 보충시 이완기 혈압이 저하되었고, Teede 등²⁵⁾은 이소플라본 보충시 수축기 혈압과 이완기 혈압이 모두 저하되었다는 결과를 보고하였다. 이소플라본의 이러한 혈압 개선 효과는 혈관 기능을 개선시킴에 따른 것으로 생각된다.²²⁾ 그러나 Hodgson 등²⁶⁾의 연구에서는 이소플라본 보충시 대상자들의 혈압에 유의적인 변화가 없었다고 보고되었다.

2) 혈청 지질 농도

두 군 모두에서 혈중 총 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤 중성지방 농도에 유의적인 변화가 없었다. 혈중 HDL 콜레스테롤은 위약군에서는 유의적인 변화가 없었으나 이소플라본 보충군의 경우 초기 $42.1 \pm 2.18 \text{ mg/dl}$ 에서 12주 후 $46.5 \pm 1.94 \text{ mg/dl}$ 로 유의적으로 증가되었다 (Table 2) 이소플라본 보충시 HDL 콜레스테롤의 증가 정도는 초기의

Table 2. Changes in anthropometric data, blood pressure & plasma lipid profiles

	Placebo group (n = 17)		Isoflavone supplement group (n = 22)	
	0 week	12 week	0 week	12 week
Weight (kg)	58.2 ± 2.05	59.2 ± 1.90	58.0 ± 1.54	58.1 ± 1.54
BMI (kg/m ²)	24.1 ± 0.70	24.5 ± 0.69	23.6 ± 0.68	23.6 ± 0.68
Blood pressure				
Systolic (mmHg)	129.4 ± 4.69	131.8 ± 4.33	136.6 ± 4.56	$128.6 \pm 4.02^{**}$
Diastolic (mmHg)	74.9 ± 2.41	73.9 ± 1.82	77.4 ± 3.10	76.1 ± 2.72
Plasma lipids				
Total cholesterol (mg/dl)	231.0 ± 7.50	219.5 ± 8.93	229.1 ± 3.78	230.3 ± 6.14
LDL cholesterol (mg/dl)	161.9 ± 4.73	151.2 ± 4.73	159.8 ± 3.73	155.1 ± 5.80
HDL cholesterol (mg/dl)	53.5 ± 2.36	53.5 ± 2.84	42.1 ± 2.18	$46.5 \pm 1.94^*$
Triglyceride (mg/dl)	147.9 ± 12.3	132.5 ± 44.4	136.2 ± 11.9	143.6 ± 15.1
Atherogenic index ¹	3.43 ± 0.24	3.26 ± 0.26	4.76 ± 0.32	$4.13 \pm 0.25^*$
Total/HDL cholesterol	4.43 ± 0.24	4.26 ± 0.26	5.76 ± 0.32	$5.13 \pm 0.25^*$
LDL/HDL cholesterol	3.00 ± 0.18	2.85 ± 0.24	4.07 ± 0.25	$3.47 \pm 0.20^{**}$

Mean \pm S.E.

¹ atherogenic index = (total cholesterol - HDL cholesterol) / HDL cholesterol

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ compared with baseline value in each group.

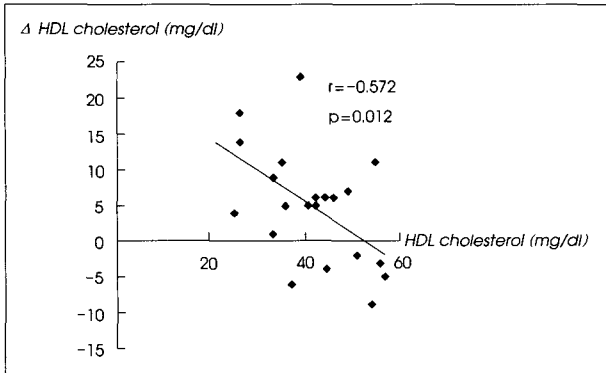


Fig. 1. Correlation between baseline HDL cholesterol & ΔHDL cholesterol levels in isoflavone supplement group

HDL 콜레스테롤 농도와 유의적인 음의 상관관계 ($r = -0.575, p = 0.012$)를 보였다 (Fig. 1). 동맥경화지수 (atherogenic index ; AI), 총 콜레스테롤/HDL 콜레스테롤 및 LDL 콜레스테롤/HDL 콜레스테롤 농도비는 위약군에서는 유의적인 변화가 없었으나, 이소플라본 보충군의 경우 유의적으로 감소되어 (Table 2), 이소플라본 보충이 혈액 내 지질대사를 개선하는 효과가 있음을 추측할 수 있다.

이소플라본 보충이 혈중 지질 농도에 미치는 영향에 대한 선행 연구들을 보면 연구자에 따라 약간씩 다른 결과를 보이고 있다. Baum 등²⁷⁾은 고지혈증이 있는 폐경 후 여성에게 24주간 National Cholesterol Education Program에서 제시하는 Step I diet (지방 ≤ 열량의 30%, 포화지방 ≤ 열량의 10%, 콜레스테롤 ≤ 300 mg, 단순당제한, 섬유소 권장)를 하면서 이소플라본 56 mg과 90 mg을 보충한 결과, Step I diet만 시행했을 때에 비해 non-HDL 콜레스테롤과 HDL 콜레스테롤 및 총 콜레스테롤/HDL 콜레스테롤 농도비가 유의적으로 개선되었음을 보고하였다. Non-HDL 콜레스테롤은 총 콜레스테롤에서 HDL 콜레스테롤을 뺀 값으로서, non-HDL 콜레스테롤의 상승시 심장질환의 위험도가 증가되는 것으로 보고되고 있다.²⁸⁾ Uesugi 등¹⁵⁾은 폐경 후 일본 여성에게 1일 61.8 mg의 이소플라본을 5주간 보충시킨 결과 혈중 총 콜레스테롤 및 LDL 콜레스테롤이 유의하게 감소하였음을 보고하였고, Owen과 Baghurst²⁹⁾는 폐경 후 여성에게 3개월간 1일 75 mg의 이소플라본을 보충했을 때 LDL 콜레스테롤이 유의적으로 감소하였음을 보고하였다. Choi 등³⁰⁾은 우리나라 주폐경기 (perimenopausal) 및 폐경 후 여성에게 1일 200 mg의 이소플라본을 12주 동안 보충한 결과 총 콜레스테롤 및 LDL 콜레스테롤이 유의적으로 감소하였고, HDL 콜레스테롤이 미약하나마 유의적으로 증가하였음을 보고하였다.

반면 일부 연구에서는 이소플라본 보충이 혈청 지질 농

도에 아무런 영향을 미치지 않았음을 보고하고 있다. Nestel 등은 주폐경기와 폐경 후 여성³¹⁾ 및 폐경 후 여성³²⁾에게 이소플라본을 보충시 혈청 지질 농도에 유의적인 변화가 없었음을 보고하였고, Samman 등³³⁾은 폐경 전 여성을 대상으로 1일 86 mg의 이소플라본을 2개월간 보충시킨 결과 혈중 총 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤 및 중성지방 농도에 유의적인 변화가 없음을 보고하였다. Gardner 등¹⁴⁾이 고콜레스테롤혈증이 있는 폐경 후 여성에게 이소플라본 80 mg을 4주간 보충한 연구 및 Dewell 등³⁴⁾이 고콜레스테롤혈증이 있는 폐경 후 여성에게 1일 150 mg의 이소플라본을 6개월간 보충한 연구에서 혈중 지질 농도에 유의적인 변화가 없었음이 보고되었으며, Howes 등³⁵⁾의 연구에서도 이와 유사한 결과가 나타났다.

연구자에 따라 이소플라본 보충시 혈청 지질 농도의 개선 효과에 차이를 보이는 것은 보충 방법, 용량, 식사조성, 기간, 연구 대상 및 비만도, 초기 혈청 지질 농도 등을 비롯한 대상자의 특성에 차이가 있기 때문으로 생각된다. Anderson 등³⁶⁾이 이소플라본 보충이 혈청지질 농도를 개선하는 효과가 있는 지 알아보기 위해 메타분석을 시행한 결과 폐경 후 여성의 경우 phytoestrogen 보충방법에 따라 혈중 총 콜레스테롤이 9.3~22%, LDL 콜레스테롤이 11.3~12.9%, 중성지방이 10.5% 감소되었고, HDL 콜레스테롤이 22% 증가되는 것으로 나타났다. 또한 이 연구에서 이소플라본이 대두 단백 섭취시 보이는 혈중 지질 농도 개선 효과의 약 60% 정도를 설명하는 것으로 확인되었다. 본 연구의 경우 식사 패턴을 조절하지 않은 상태에서 12주간의 이소플라본 보충이 혈중 지질 농도에 미치는 효과를 분석하였으므로 그 효과가 식사 조정을 동반한 다른 연구들에 비해 미약한 면이 있을 것으로 생각된다. 선행 연구 중식이 단백질 일부를 대두 단백질로 대체하는 등의 식사조정을 하면서 이소플라본을 보충한 연구에서는 비교적 저용량으로도 혈중 지질 농도의 뚜렷한 개선 효과를 보고하고 있다. 대상자들의 초기 혈중 지질 농도 역시 이소플라본 보충 효과에 영향을 미칠 것으로 생각되는데, 초기 혈중 지질 농도가 높을수록 이소플라본의 보충 효과가 더 높은 것으로 나타났다.³⁶⁾ 본 연구 대상자들이 비록 고콜레스테롤혈증에 속하기는 하지만 혈중 총 콜레스테롤 평균 농도를 감안할 때, 고콜레스테롤혈증 환자를 대상으로 한 다른 연구들에 비해 낮은 수준이었다는 것이 본 연구에서 혈중 지질 농도 개선 효과가 다른 연구에서처럼 뚜렷하게 보이지 않은 이유의 하나로 생각된다.

앞에서 제시했듯이 몇몇 연구에서 이소플라본 보충시 혈중 HDL 콜레스테롤이 증가됨을 보고하고 있는데, Baum 등²⁷⁾

은 이소플라본 보충시 HDL 콜레스테롤과 HDL₃ 콜레스테롤이 증가함을 확인하였다. HDL₃ 콜레스테롤 증가는 Slotte 등³⁹에 의해 설명되었듯이 말초세포에서의 콜레스테롤 흡수 (uptake) 증가와 관련이 있을 수 있다.

선행 연구들에서 폐경 후 여성에서의 혈중 HDL 콜레스테롤 감소는 LDL 콜레스테롤 상승보다 심혈관계질환 발생에 더 밀접한 영향을 미치며,³⁹ 또한 심혈관계질환의 발병에 관여하는 가장 중요한 지표로 알려져 있다.⁴⁰ HDL 콜레스테롤 감소는 남성에 비해 여성에서 심혈관계질환에 더 많은 영향을 미치는데, HDL 콜레스테롤이 1 mg/dl 증가하면 관상동맥질환의 위험을 약 3%, 심혈관계 질환에 의한 사망률을 4.7% 정도 감소시키는 것으로 보고된 바 있다.⁴¹ 본 연구에서 폐경 후 여성들이 1일 80 mg의 이소플라본 제제 복용시 혈중의 다른 지질 농도에는 변화가 없었지만 HDL 콜레스테롤이 초기에 비해 약 10.5% 증가된 것은 이소플라본 보충으로 심혈관계질환에 대한 위험을 감소시킬 수 있음을 시사한다.

3) 지질 과산화물 농도, 항산화능 및 DNA 손상정도

연구 대상자들의 혈중 LDL 콜레스테롤의 초기 농도는 MDA와는 양의 상관관계를 ($r = 0.3, p = 0.034, \text{Fig. 2}$) 보였는데, 이러한 결과는 LDL 콜레스테롤 농도의 증가가 지질 과산화물 생성 증가 등의 산화적 스트레스 증가와 관련이 있음을 보여준다.

혈중 MDA 및 요중 8-epi-PGF_{2α}는 이소플라본 보충시 초기에 비해 감소된 것으로 나타났으나 유의적인 변화는 아니었다 (Table 3). 혈중 LDL 콜레스테롤의 초기 농도에

따라 두 군으로 분류해 본 결과, 혈중 LDL 콜레스테롤이 160 mg/dl 이상인 군에서 12주간의 이소플라본 보충 후 혈중 MDA가 유의적으로 감소하였고, 비록 변화 정도가 크지는 않았으나 TAS가 유의적으로 증가하였다 (Table 4) 반면 LDL 콜레스테롤이 160 mg/dl 미만인 군에서는 이소플라본 제제 복용 후 변화를 보이지 않았다. 한편 LDL 콜레스테롤의 산화에 대한 민감도를 나타내는 MDA/LDL 콜레스테롤 비는⁴² LDL 콜레스테롤이 160 mg/dl 이상인 군에서 이소플라본 보충시 감소되는 것으로 나타났으나 유의적인 변화는 아니었다.

대두의 주요 이소플라본인 genistein은 쥐에서 항산화효소의 활성을 증진시키는 것으로 보고되었으며, in vitro 실험

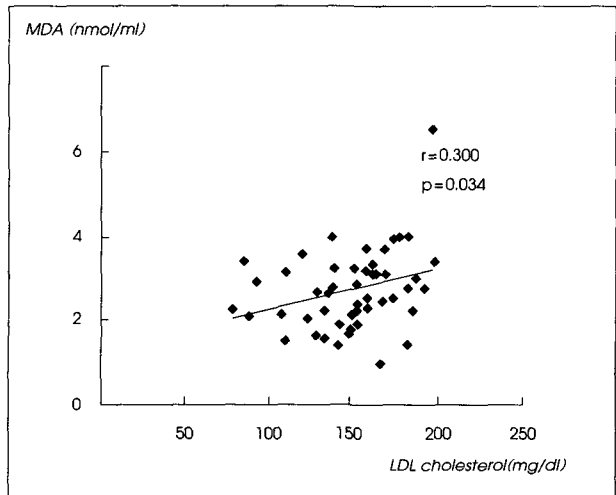


Fig. 2. Correlation between plasma LDL cholesterol concentrations & plasma malondialdehyde levels.

Table 3. Changes in concentrations of lipid peroxidation products

	Placebo group (n = 17)		Isoflavone supplement group (n = 22)	
	0 week	12 week	0 week	12 week
Plasma MDA (nmol/ml)	2.83 ± 0.35	2.63 ± 0.30	2.75 ± 0.09	2.55 ± 0.11
Urinary 8-epi-PGF _{2α} (ng/mg creatinine)	278.7 ± 42.1	264.3 ± 40.8	320.0 ± 40.4	300.0 ± 26.9

Mean ± S.E.

Table 4. Changes in concentrations of lipid peroxidation products & total antioxidant status according to plasma LDL cholesterol levels at baseline in isoflavone supplement group

	LDL cholesterol < 160 mg/dl (n = 11)		LDL cholesterol ≥ 160 mg/dl (n = 11)	
	0 week	12 week	0 week	12 week
Plasma MDA ¹ (nmol/ml)	2.50 ± 0.15	2.62 ± 0.20	2.91 ± 0.11	2.47 ± 0.11*
Urinary 8-epi-PGF _{2α} (ng/mg creatinine)	260.7 ± 45.9	289.2 ± 29.1	379.3 ± 62.9	313.8 ± 46.7
MDA/LDL cholesterol	0.65 ± 0.03	0.71 ± 0.06	6.65 ± 0.03	5.95 ± 0.05
TAS ² (mmol/l)	1.55 ± 0.02	1.59 ± 0.04	1.50 ± 0.02	1.53 ± 0.02*

Mean ± S.E.

*: p < 0.05 compared with baseline value in each group.

¹ Malondialdehyde

² Total antioxidant status

험과 in vivo 실험에서 H₂O₂의 생성을 억제하는 효과가 있는 것으로 보고되었다.⁴³⁾ Wiseman 등⁴⁴⁾은 성인 남녀에게 1일 56 mg의 이소플라본을 17일간 보충시 요중 체내 지질 과산화산물 지표인 8-epi-PGF_{2α}가 유의적으로 감소하였음을 보고하였으며, Tikkanen 등⁴⁵⁾은 이소플라본 보충이 지단백의 산화에 대한 저항성을 증가시킴을 보고하였다. Bazzoli 등⁴⁶⁾은 1일 110 mg의 이소플라본을 성인 여성에게 4주간 보충한 결과 혈중 MDA의 유의적 감소와 TAS의 유의적 증가가 관찰되었음을 보고하였다. 우리 나라 여성을 대상으로 한 Choi 등³⁰⁾의 연구에서는 1일 200 mg의 이소플라본을 12주간 보충시 TAS가 현저히 개선된 것으로 나타났다. 반면 Hodgson 등²⁶⁾의 연구에서는 이소플라본 보충이 지질 과산화물 생성 및 총 항산화능에 별다른 효과를 미치지 않는다고 보고하고 있는데, 특히 경계역 고혈압의 성인 남녀에게 이소플라본 보충시 요중 8-epi-PGF_{2α}에 별다른 영향을 미치지 않았음을 보고하였다.

본 연구에서 12주간 이소플라본을 보충시 혈중 LDL 콜레스테롤이 160 mg/dl 이상인 군에서 혈중 MDA가 유의적으로 감소된 결과를 볼 때 혈중 LDL 콜레스테롤 농도가 높은 경우 이소플라본 보충이 산화적 스트레스를 감소시키

는데 좀 더 도움이 될 수 있을 것으로 생각된다. LDL 콜레스테롤의 초기 농도가 높은 대상자들에서만 이러한 결과를 보인 것은 이들에서의 산화적 스트레스가 증가와 관련이 있을 것으로 생각된다.

최근에 DNA 손상정도를 측정하기 위해 comet assay가 이용되고 있는데, comet assay를 이용하여 DNA 손상 정도를 측정된 결과 tail DNA, tail moment는 이소플라본 보충 전후에 유의적인 차이를 보이지 않았으나 tail length는 보충 12주 후 증가하여, 본 연구에서는 이소플라본 보충이 DNA 손상 정도를 개선하는데 영향을 미치지 못한 것으로 나타났다 (Table 5). 산화적 스트레스는 DNA 손상을 초래할 수 있는데, Sierens 등⁴⁷⁾이 in vitro 실험에서 사람의 임파구를 이소플라보노이드로 처리시 다른 항산화제로 처리했을 때 보다 산화적 스트레스에 의한 DNA 손상이 적었음을 보고한 바 있다. 사람에게 이소플라본을 보충 후 comet assay를 이용하여 이소플라본 보충이 DNA 손상 정도에 미치는 영향을 살펴본 연구는 많지 않은 실정으로 향후 이 부분에 대한 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

4) 상완동맥 혈관 확장능

상완동맥의 혈관 확장 검사 결과 FMD와 NMD, nitric oxide synthase 활성에 의존하는 혈관 이완능의 평가 지표인 FMD/NMD는 두 군 모두에서 초기와 비교할 때 유의적인 변화를 보이지 않았다 (Table 6). 대상자의 초기 혈중 LDL 콜레스테롤 농도에 따라 분류했을 때에도 이소플라본 제제 복용 전후 혈관 확장 기능은 유의적인 변화를 보이지 않았다 (Table 7).

Table 5. Changes in comet assay data in isoflavone supplement group

	0 week	12 week
Tail DNA (%)	7.40 ± 0.57	7.47 ± 0.48
Tail length (μm)	38.3 ± 2.67	47.2 ± 4.61*
Tail moment ¹	4.76 ± 0.74	4.87 ± 0.63

Mean ± S.E.

*: p < 0.05 compared with baseline value.

Table 6. Changes in endothelium-dependent & independent vasodilation

	Placebo group (n = 17)		Isoflavone supplement group (n = 22)	
	0 week	12 week	0 week	12 week
FMD ¹ (%)	9.03 ± 2.94	6.89 ± 1.37	8.48 ± 1.22	7.34 ± 0.85
NMD ² (%)	9.63 ± 1.45	11.52 ± 1.39	16.10 ± 1.57	14.12 ± 0.82
FMD/NMD	0.70 ± 0.17	0.73 ± 0.16	0.54 ± 0.06	0.52 ± 0.04

Mean ± S.E.

¹ Flow-mediated dilator

² Nitroglycerine-mediated dilator

Table 7. Changes in endothelium-dependent & independent vasodilation according to plasma LDL cholesterol levels at baseline in isoflavone supplement group

	LDL cholesterol < 160 mg/dl (n = 11)		LDL cholesterol ≥ 160 mg/dl (n = 11)	
	0 week	12 week	0 week	12 week
FMD ¹ (%)	9.37 ± 1.91	7.78 ± 0.86	7.59 ± 1.57	6.89 ± 1.43
NMD ² (%)	17.6 ± 2.18	15.4 ± 0.97	14.6 ± 2.27	12.8 ± 1.25
FMD/NMD	0.58 ± 0.11	0.51 ± 0.06	0.51 ± 0.09	0.53 ± 0.07

Mean ± S.E.

¹ Flow-mediated dilator

² Nitroglycerine-mediated dilator

에스트로겐 투여가 상완동맥의 내피세포 확장 기능을 유의적으로 개선시키는 효과가 있는 것으로 일부 연구에서 보고된 바 있으며, 몇몇 연구에서는 이소플라본 보충이 FMD에 영향을 미치는 것으로 보고하였다.^{48,49)} 그러나 Simon 등⁵⁰⁾은 건강한 폐경 후 여성을 대상으로 1일 80 mg의 식물성 에스트로겐 제제를 복용시킨 후 내피세포의 기능을 측정할 결과 FMD와 NMD 모두에서 유의적인 변화가 없음을 보고하였으며, Nestel 등³²⁾도 유사한 결과를 보고한 바 있다. 본 연구에서는 이소플라본 보충시 FMD의 유의적인 개선이 관찰되지 않았는데, 대상자들의 초기 FMD 수준이 건강한 성인을 대상으로 한 연구에서 보고된 FMD 수준⁵¹⁾과 거의 유사하였다는 것이 이소플라본 보충 후에 뚜렷한 개선 효과가 나타나지 않은 한 요인으로 작용했을 것으로 생각된다.

요약 및 결론

본 연구는 고콜레스테롤혈증이 있는 폐경 후 39명의 여성을 두 군으로 나누어 각각 위약 (17명)과 이소플라본 80 mg 제제 (22명)를 12주간 복용하도록 한 후 혈청 지질 농도 및 항산화능 등 심혈관계 질환과 관련된 지표의 개선에 효과가 있는지를 살펴보았다. 식사 조정에 따른 효과를 배제하고 이소플라본 보충에 따른 효과를 관찰하기 위해 대상자들의 식사에 대해서는 별도의 조정을 하지 않았다. 연구 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 위약군의 경우 혈압의 변화가 없었으나 이소플라본 보충군에서는 수축기 혈압이 이소플라본 보충 후 유의적으로 감소되었다 ($p < 0.001$).

2) 위약군에서는 혈중 총 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤에 유의적인 변화가 없었으나, 이소플라본 보충군에서는 HDL 콜레스테롤이 유의적으로 증가하였다 ($p < 0.05$). 그러나 총 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤 및 중성지방 농도는 변화를 보이지 않았다. 이소플라본 보충군에서 HDL 콜레스테롤의 개선 정도는 초기의 혈중 HDL 콜레스테롤 농도와 유의적인 음의 상관관계를 보였다 ($r = -0.575$, $p < 0.01$). 또한 동맥경화지수, 총 콜레스테롤/HDL 콜레스테롤 ($p < 0.05$) 및 LDL 콜레스테롤/HDL 콜레스테롤 농도비 ($p < 0.01$)가 이소플라본 보충시 유의적으로 감소되었다.

3) 이소플라본 보충군 중 초기 혈청 LDL 콜레스테롤이 160 mg/dl 이상인 군에서는 이소플라본 보충 후 혈중 MDA가 유의적으로 감소하였다 ($p < 0.05$).

4) 대상자들의 FMD와 NMD는 이소플라본 보충 후에도

유의적인 변화를 보이지 않았으며, DNA 손상정도 역시 개선효과를 보이지 않았다.

이상의 결과에서 고콜레스테롤혈증이 있는 폐경 후 여성을 대상으로 1일 80 mg의 이소플라본을 12주간 보충시 수축기 혈압이 저하되고, 혈중 HDL 콜레스테롤이 증가하였으며, 동맥경화지수, 총 콜레스테롤/HDL 콜레스테롤 및 LDL 콜레스테롤/HDL 콜레스테롤 농도비가 감소하는 등 심혈관계질환의 위험도를 줄이는 효과가 있음을 본 연구에서 확인할 수 있었다. 또한 LDL 콜레스테롤이 높은 대상자에서 12주간 1일 80 mg의 이소플라본 보충으로 혈중 지질 과산화물이 감소함으로써 이소플라본 보충이 이들에서 산화적 스트레스를 낮추는데 기여하는 것으로 추측된다.

우리 나라에서 폐경 후 여성 및 고콜레스테롤혈증 환자를 대상으로 한 이소플라본 보충 효과에 대한 연구가 아직 많지 않아, 고콜레스테롤혈증이 있는 폐경 후 여성들에서 이소플라본 보충이 심혈관계질환의 위험 요인에 대한 개선 효과를 단정하기는 어렵다. 그러나 본 연구 결과를 볼 때 다른 식사내용을 조정하지 않고 1일 80 mg 정도의 이소플라본 제제를 일정기간 복용 시 혈중 콜레스테롤이 높은 폐경 후 여성에서 심혈관계질환과 관련하여 어느 정도 유의한 효과가 있을 것으로 기대된다. 그러나 본 연구 결과에서 보았듯이 초기 혈청 지질 농도와 같은 개인차가 이소플라본 보충 효과에 영향을 미칠 수 있으므로 심혈관계 질환 예방에 유효한 이소플라본의 보충량 및 보충 대상 등을 설정하기 위해서는 향후 다양한 측면에서 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

■ 감사의 글

본 연구는 CJ(주) 식품연구소에서 실험제품과 실험비의 일부를 지원 받았으며, 이에 그간의 도움에 감사드립니다.

Literature cited

- 1) van der Schouw YT, van der Graaf Y, Steyerberg EW, Eijkemans JC, Banga JD. Age at menopause as a risk factor for cardiovascular mortality. *Lancet* 347: 714-718, 1996
- 2) Joakimsen O, Bonna KH, Stensland-Bigge E, Jacobsen BK. Population-based study of age at menopause and ultrasound assessed carotid atherosclerosis: The Tromso Study. *J Clin Epidemiol* 53 (5): 525-530, 2000
- 3) de Aloysio D, Gambacciani M, Meschia M, Pansini F, Modena AB, Bolis PF, Massobrio M, Maiocchi G, Peruzzi E, Icarus Study Group. The effect of menopause on blood lipid and lipoprotein levels. *Atherosclerosis* 147: 147-153, 1999
- 4) Bonithon-Kopp C, Scarabin PY, Dame B, Malmejac A, Guize L. Menopause-related changes in lipoproteins and some other cardio-

- vascular risk factors. *Int J Epidemiol* 19: 42-48, 1990
- 5) Ariyo, Villablanca AC. Estrogens and lipids. Can HRT designer estrogens and phytoestrogens reduce cardiovascular risk marker after menopause? *Postgrad Med* 111: 23-30, 2002
 - 6) Levine GN, Keaney JF Jr, Vita JA. Cholesterol reduction in cardiovascular disease: Clinical benefits and possible mechanisms. *N Engl J Med* 332: 512-521, 1995
 - 7) Glasser SP, Selwyn AP, Ganz P. Atherosclerosis: Risk factors and the vascular endothelium. *Am Heart J* 131: 379-384, 1996
 - 8) Vogel RA. Coronary risk factors, endothelial function, and atherosclerosis: A review. *Clin Cardiol* 20: 426-432, 1997
 - 9) Lissin LW, Cooke JP. Phytoestrogens and cardiovascular health. *J Am Coll Cardiol* 35: 1403-1410, 2000
 - 10) Sirtori CR, Lovatu MR, Manzoni C, Monetti M, Pazzucconi F, Gatti E. Soy and cholesterol reduction: Clinical experience. *J Nutr* 125: 598S-605S, 1995
 - 11) Potter SM. Overview of proposed mechanisms for the hypocholesterolemic effect of soy. *J Nutr* 125: 606S-611S, 1995
 - 12) Tikkanen MJ, Adlercreutz H. Dietary soy-derived isoflavone phytoestrogens: Could they have a role in coronary heart disease prevention? *Biochem Pharmacol* 60: 1-5, 2000
 - 13) Clarkson TB. Soy, soy phytoestrogens and cardiovascular disease. *J Nutr* 132: 566S-569S, 2002
 - 14) Gardner CD, Newell KA, Cherin R, Haskell WL. The effect of soy protein with or without isoflavone relative to milk protein on plasma lipids in hypercholesterolemic postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 73: 728-735, 2001
 - 15) Uesugi T, Fukui Y, Yamori Y. Beneficial effects of soybean isoflavone supplementation on bone metabolism and serum lipids in postmenopausal Japanese women: A four-week study. *J Am Coll Nutr* 21: 97-102, 2002
 - 16) Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 449-502, 1972
 - 17) Buckingham KW. Effect of dietary polyunsaturated/saturated fatty acid ratio and dietary vitamin E on lipid peroxidation in the rat. *J Nutr* 115: 1425-1435, 1985
 - 18) Nourooze-Zadeh J, Copaul NK, Barrow S, Mallet AI, Anggard EE. Analysis of F2 isoprostanes as indicators of non-enzymatic lipid peroxidation in vivo by gas chromatography-mass spectrometry development of a solid-phase extraction procedure. *J Chromatogr B Biomed Appl* 667: 199-208, 1995
 - 19) Ronald L, Prior C, Gouhua C. In vivo total antioxidant capacity: Comparison of different analytical methods. *Free Radic Biol Med* 27: 1173-1181, 1999
 - 20) Singh PN, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 175: 184-191, 1988
 - 21) Korean Society for the Study of Obesity. Diagnosis and treatment of obesity-Guideline for Asia · Pacific, 2000
 - 22) Martin DS, Breitkopf NP, Eyster KM, Williams JL. Dietary soy exerts an antihypertensive effect in spontaneously hypertensive female rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 281: R553-560, 2001
 - 23) Wu J, Ding X. Hypotensive and physiological effect of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides derived from soy protein on spontaneously hypertensive rats. *J Agric Food Chem* 49: 501-506, 2001
 - 24) Washburns S, Burke GL, Morgan T, Anthony M. Effect of soy protein supplementation on serum lipoprotein, blood pressure, and menopausal symptom in perimenopausal women. *Menopause* 6: 7-13, 1999
 - 25) Teede HJ, Dalais FS, Kotsopoulos D, Liang UL, David S, Mcgrath BP. Dietary soy has both beneficial and potentially adverse cardiovascular effects: A placebo-controlled study in men and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 3053-3060, 2001
 - 26) Hodgson JM, Puddey IB, Croft KD, Mori TA, Rivera J, Beilin LJ. Isoflavonoids do not inhibit in vivo lipid peroxidation in subjects with high-normal blood pressure. *Atherosclerosis* 145: 167-172, 1999
 - 27) Baum JA, Teng H, Erdman JW Jr, Weigel RM, Klein BP, Persky VW, Freels S, Surya P, Bakhit RM, Romos E, Shay NF, Potter SM. Long-term intake of soy protein improves blood lipid profiles and increases mononuclear cell low-density-lipoprotein receptor messenger RNA in hypercholesterolemic, post menopausal women. *Am J Clin Nutr* 68: 545-551, 1998
 - 28) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Cholesterol in Adults. Summary of the third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. *JAMA* 285: 2486-2498, 2001
 - 29) Owen A, Baghurst P. The effect of isoflavone supplementation on serum lipids in post menopausal women. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 27: A232, 2000
 - 30) Choi Y, Yoon S, Lee MJ, Lee SK, Lee BS. Dose response relationship of isoflavone supplementation on plasma lipid profiles and total antioxidant status in perimenopausal and postmenopausal women. *Kor J Nutr* 34: 322-329, 2001
 - 31) Nestel PY, Yamashita T, Sasahara T, Pomeroy S, Dart A, Komesaroff P, Owen A, Abbey M. Soy isoflavones improve systemic compliance but not plasma lipids in menopausal and premenopausal women. *Arteriosclerosis, Thrombosis Vascular Biol* 17: 3392-3398, 1997
 - 32) Nestel PJ, Pomeroy S, Kay S, Komesaroff P, Behresing J, Cameron JD, West L. Isoflavones from red clover improve systemic arterial compliance but not plasma lipids in menopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 84: 895-898, 1999
 - 33) Samman S, Wall PML, Chan GSM, Smith SJ, Petocz P. The effect of supplementation with isoflavone on plasma lipids and oxidisability of low density lipoprotein in premenopausal. *Atherosclerosis* 147: 277-283, 1999
 - 34) Dewell A, Hollenbeck CB, Bruce B. The effects of soy-derived phytoestrogen on serum lipids and lipoproteins in moderately hypercholesterolemic postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 118-121, 2002
 - 35) Howes JB, Sullivan D, Lai N, Nestel P, Pomeroy S, West L, Eden JA, Howes LG. 5 The effects of dietary supplementation with isoflavones from red clover on the lipoprotein profiles of post menopausal women with mild to moderate hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 152: 143-147, 2000

- 36) Anderson JW, Johnstone BM, Cook-newell ME. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *N Engl J Med* 333: 276-82, 1995
- 37) Kurowska EM, Jordan J, Spence JD, Wetmore S, Piche LA, Radzikowski M, Dandona P, Carroll KK. Effects of substituting dietary soybean protein and oil for milk protein and fat in subjects with hypercholesterolemia. *Clin Invest Med* 20: 162-170, 1997
- 38) Slotte JP, Oran JF, Bierman EL. Binding of high density lipoprotein to cell receptors promotes translocation of cholesterol from intracellular membranes to the cell surface. *J Biol Chem* 262: 12904-12907, 1987
- 39) Jacobs DR Jr, Mebane IL, Bangdiwala SI, Criqui MH, Tylor HA. High density lipoprotein cholesterol as a predictor of cardiovascular disease mortality in men and women: the follow-up study of the Lipid Research Clinics Prevalence Study. *Am J Epidemiol* 131: 32-47, 1990
- 40) Castelli WP. Cardiovascular disease in women. *Am J Obstet Gynecol* 158: 1553-1567, 1988
- 41) Godon DJ, Probstfield JL, Garrison RJ, Castelli WP, Knoke JD, Jacobs DR Jr, Bandiwala S, Tyroler HA. High density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. *Circulation* 79: 8-15, 1989
- 42) Lind L, Sarabi M, Millgard J. Methodological aspects of the evaluation of endothelium-dependent vasodilatation in the human forearm. *Clin Physiol* 18: 81-87, 1998
- 43) Petrakis NL, Barnes S, King EB. Stimulatory influence of soy protein isolate on breast secretion in pre and post menopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 5: 785-794, 1996
- 44) Wiseman H, O'Reilly JD, Adlercreutz, H, Mallet AI, Bowey EA, Rowland IR, Sanders TAB. Isoflavone phytoestrogens consumed in soy decrease F2-isoprostane concentrations and increase resistance of low-density lipoprotein to oxidation in humans. *Am J Clin Nutr* 72: 395-400, 2000
- 45) Tikkanen MJ, Wahala K, Ojala S, Vihma V, Adlercreutz H. Effect of soybean phytoestrogen intake on low density lipoprotein oxidation resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 3106-3110, 1998
- 46) Bazzoli DL, Hill S, di Silvestro R. Soy protein antioxidant actions in active, young adults women. *Nutr Res* 22: 807-817, 2002
- 47) Sirens J, Hartley JA, Campbell MJ, Leatham AJC, Woodside JV. Effect of phytoestrogen and antioxidant supplementation on oxidative damage assessed using the comet assay. *Mutation Res* 485: 169-176, 2001
- 48) Al-Khalili F, Eriksson M, Landgren BM, Schenck-Gustafsson K. Effect of conjugated estrogen on peripheral flow-mediated vasodilation in post menopausal women. *Am J Cardiol* 82: 215-218, 1998
- 49) Lieverman EH, Gerhard MD, Uehata A, Walsh BW, Selwyn AP, Ganz P, Yeung AC, Creager MA. Estrogen improves endothelium-dependent, flow-mediated vasodilation in post menopausal women. *Ann Intern Med* 121: 936-941, 1994
- 50) Simons LA, von Konigsmark M, Simons J, Celermajer DS. Phytoestrogens do not influence lipoprotein levels or endothelial function in healthy, postmenopausal women. *Am J Cardiol* 85: 1297-1301, 2000
- 51) Celermajer DS, Adams MR, Clarkson P, Robinson J, McCredie R, Donald A, Deanfield JE. Passive smoking and impaired endothelium arterial dilatation in healthy young adults. *N Engl J Med* 334: 150-4, 1996