

이소플라본과 포도종실유의 보충이 난소절제 흰쥐의 혈중지질 패턴 및 골격강도에 미치는 영향

정혜경* · 최창숙* · 이지현* · 박원중** · 강명화*§

호서대학교 자연과학부 식품영양전공,* 공주대학교 산업과학대학 식품공학과**

The Effect of Isoflavone and/or Grape Seed Oil Supplementation on Blood Lipid Profiles and Bone Strength in Ovariectomized Female Rats

Chung, Hae Kyung* · Choe, Chang Suk* · Lee, Ji Hyun* · Park, Won Jong** · Kang, Myung Hwa*§

Department of Food & Nutrition,* College of Natural Science, Hoseo University, Asan, Choongnam 336-795, Korea

Department of Food Science & Technology,** College of Industrial Science, Kongju National University,
Kongju, Choongnam 314-701, Korea

ABSTRACT

The study was performed to investigate the effects of isoflavone and/or grape seed oil supplementation on serum and liver lipid profiles and bone strength in ovariectomized female rats. Female Sprague-Dawley rats were assigned into 4 groups of ovariectomized (O), isoflavone (0.085 mg/100 g b.w/day) in ovariectomized rats, grape seed oil in ovariectomized rats and isoflavone and/or grape seed oil in ovariectomized rats. After 8 weeks, biochemical profiles of serum, liver and bone were analyzed. Total food intakes, body weight gains and FER (food efficiency ratio) were not statistically significantly different among groups. Total cholesterol, triglyceride and LDL-cholesterol levels in serum were decreased by fed of isoflavone and/or grape seed oils. However, crude lipid and total cholesterol contents in liver were not affect of isoflavone and/or grape seed oil. The hepatic glutathione contents were increased by isoflavone and/or grape seed oil fed. The hepatic glutathione-S-transferase activity in isoflavone and/or grape seed oil supplemented groups were higher than that O group. Bone (scapular and femur bone) dry weight, femur of max weight and bending strength were no significant difference among groups. Our finding suggest that isoflavone/grape seed oils might have potential role for serum lipid profiles improvement and bone strength *in vivo*. (*Korean J Nutrition* 36(7) : 667~674, 2003)

KEY WORDS : isoflavone, grape seed oil, GSH, GST, ovariectomized rat.

서 론

골다공증의 치료에는 에스트로젠을 이용한 호르몬 요법이 시행되고 있으나 자궁내막염 및 유방암과 같은 부작용 발생 때문에 에스트로젠 이외의 대체요법에 대한 연구의 필요성이 요구되고 있다. 최근 가장 관심의 대상이 된 것이 대두 속에 함유되어 있는 이소플라본인데 대두의 섭취는 호르몬 의존성 질환인 유방암, 난소암, 전립선암 및 골다공증의 발병율을 낮출 수 있다는 사실이 밝혀지면서,¹⁾ 이소플라본의 생리활성에 대한 관심이 높아졌다. 대두 속의 이소플라본은 당류와 결합되어 있고, 섭취된 후 장에서 미생

물에 의해 가수분해 되어 당과 분리된 aglycone인 제니스틴과 다이드진으로 소장에서 흡수되어 혈액으로 이동된다.²⁾ 이소플라본은 17 β -estradiol과 유사한 구조를 가지고 있고, 에스트로젠 수용체 (ER)에 작용하여 에스트로젠 대체물로 작용한다.³⁾ Draper 등⁴⁾은 coumestrol과 formononetin과 같은 다른 phytoestrogen도 자궁비대증을 보이지 않는 난소절제 흰쥐에서의 골손실을 예방하는 것으로 나타났고, 자궁에 실질적인 에스트로젠 작용을 하지 않고 골격에 선택적으로 작용한다고 보고했다. 이러한 화합물들은 선택적 에스트로젠 조절제로 불리며 골다공증의 예방에 유용한 것으로 밝혀졌다.⁵⁾ 특히, 여성의 경우, 폐경과 함께 관상동맥 심장질환의 발병율이 급격히 증가하는데, 이소플라본 섭취는 동맥경화증을 감소시키고,⁶⁾ 일본여성의 역학 조사결과 폐경기여성의 일일 이소플라본 섭취량은 평균 54.3 mg이고, 식이로 섭취된 이소플라본이 골밀도를 증가

접수일 : 2003년 5월 30일

채택일 : 2003년 7월 21일

§To whom correspondence should be addressed.

시켰다고 한다.⁷⁾

포도씨에는 (+)catechin, (-)epicatechin 그리고 (-)epicatechin-3-O-gallate와 같은 페놀성 화합물들이 풍부하며 항돌연변이성과 항바이러스성을 나타내고, 동맥경화증을 예방하는 기능이 있는 것으로 보고되었다.⁸⁾ 특히, 포도씨추출물이 동맥경화증^{9,10)}과 항궤양성작용¹¹⁾과 같은 생체내 생리활성에 효과가 있다고 밝혀지면서 포도씨가 기능성식품 소재로서 주목받게 되었다. Gorinstein 등¹²⁾에 의하면 포도씨에는 다른 지방산에 비해 linoleic acid (69.5%)가 풍부하게 함유되어 있어, 평지씨와 함께 폴리페놀함량이 높은 것으로 비교하였다. 또한, 포도종실유는 혈청내 cholesterol 농도를 낮추어 동맥경화 및 고지혈증과 같은 질환에 효과가 있고, 혈액응고방지 및 혈관확장기능이 있어 혈압을 낮추는 것으로 보고하였다.¹³⁾ 포도씨가 불포화 지방산의 함량이 높으면서도 다른 기름에 비해 비교적 쉽게 산패하지 않는데, 이는 포도씨에 함유되어 있는 항산화성분의 영향이라고 한다.¹⁴⁾ Kang 등¹⁵⁾은 서로 다른 유지를 150°C 열처리했을 때, 참깨나 들깨유 보다 포도종실유가 낮은 산패도를 나타냈다고 보고하였고, 포도종실로부터 높은 수율의 유지추출을 위한 방법도 개발되었다.¹⁶⁾ 따라서, 본 연구는 난소절제로 임의로 폐경을 유도한 흰쥐에게 이소플라본과 포도종실유를 함께 식이에 보충함으로써 혈중 지질패턴과 골격 강도에 미치는 영향을 알아보기 위해 실시되었다.

재료 및 방법

1. 사육 및 식이

SD (Sprague-Dawley)종, 6주령 암컷 24마리의 흰쥐를 (주)샘타코에서 구입하여, 일주일 동안 고행분 사료로 적응시킨 후 난소절제 수술을 통해 임의적으로 폐경을 유도하였다. 실험식은 2주간의 회복기간 후 일반식이 (O, n = 5), 일반식이 + 이소플라본 보충식이 (OI, n = 5), 일반식이 + 포도종실유 보충식이 (OG, n = 5), 일반식이 + 이소플라본 + 포도종실유 보충식이 (OIG, n = 5)로 나누어 Table 1과 같이 실험식이를 조제한 후 8주 동안 사육하였다.

이소플라본은 0.085 mg/100 g BW/day 수준으로, soya rich (이소플라본 0.04% 함유)를 식이에 혼합하여 공급하였다. 물과 사료는 자유급식 하도록 하였으며 일주일에 한번 같은 시간에 체중을 기록하고, 식이섭취량은 하루에 한번 측정하였다. 사육실의 온도는 20 ± 2°C를 유지하고 조명은 12시간 주기로 조절하였다. 식이 효율 (food efficiency ratio : FER)은 사육기간동안의 체중증가량을 같은 기간동안

Table 1. Composition of experimental diet (%)

Ingredient	Groups ¹⁾			
	O	OI	OIG	OG
Corn starch	69.8	67.675	67.675	69.8
Casein	15.0	15.0	15.0	15.0
Soya rich ⁴⁾	-	2.125	2.125	-
Corn oil	10.0	10.0	-	-
Mineral mix ²⁾	4.0	4.0	4.0	4.0
Vitamin mix ³⁾	1.0	1.0	1.0	1.0
Choline chloride	0.2	0.2	0.2	0.2
Grape seed oil	-	-	10.0	10.0

1) O: ovariectomized female rats, OI: Isoflavone supplement in ovariectomized female rats, OIG: Isoflavone and/or seed oil supplement in ovariectomized female rats, OG: Grape seed oil supplement in ovariectomized female rats

2) Mineral mixture (g/kg min. mix) according to AIN-76: Calcium phosphate, dibasic 500.0, zinc carbonate 1.6, sodium chloride 74.0, cupric carbonate 0.3, potassium citrate monohydrate 220.0, potassium iodate 0.01, potassium sulfate 52.0, sodium selenite 0.01, manganese carbonate 3.5, chromium potassium sulfate 0.55, magnesium oxide 24.0, ferric citrate 6.0, powdered to make 1000.0 g

3) Vitamin mixture (g/kg vit. mix.) according to AIN-76: Thiamine-HCl 0.6, biotin 0.02, riboflavin 0.6, cyanocobalamin 0.001, pyridoxine-HCl 0.7, retinyl acetate 0.8, nicotinic acid 3.0, DL- α -tocopherol 3.8, Ca-pantothenate 1.6, 7-dehydro-cholesterol 0.0025, folic acid 0.2, menadione 0.005, powdered to make 1000.0 g

4) Soya rich: It is contained to isoflavone 0.04%

안 섭취한 식이량으로 나누어 산출하였다.

식이 효율 (FER, %) =

$$\frac{\text{총실험기간의 체중증가량 (g)}}{\text{총실험기간의 식이섭취량 (g)}} \times 100$$

2. 시료수집 및 분석

1) 시료수집

노는 실험동물 희생 직전에 metabolic cage를 이용하여 24시간 뇨를 채취한 후, -20°C의 냉동고에 보관하면서 각종 분석에 사용하였다. 각 군들은 희생 12시간 전부터 절식시키고, ethyl ether로 마취시킨 후 복부를 절개하여 간 정맥에서 주사기를 이용하여 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 냉장온도에서 24시간 방치 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 간과 신장을 적출해내어 냉 생리식염수에 씻은 후 연결조직을 제거하고 중량을 측정하였고 분석직전까지 -80°C의 냉동고에 보관하였다.

2) 생화학적 분석

혈청 내 total cholesterol (TC), triglyceride (TG) 그리고 HDL-콜레스테롤 (HDL-C) 농도는 ADVIA 1650 (JEOL, JAPAN)를 이용하여, phospholipid (PL)은 Cobas

Mira Plus (Roche, Switzerland)에 의해 측정하였다. LDL-콜레스테롤 (LDL-C)은 Friedwald법¹⁷⁾ [LDL-콜레스테롤 = 총콜레스테롤 - (HDL-콜레스테롤 + 중성지방¹⁸⁾]에 의해 계산하였다. 측정된 결과값을 가지고 atherogenic index (=total cholesterol-HDL cholesterol/HDL cholesterol)를 측정하였다.¹⁸⁾ 혈청내 Ca 및 P함량은 효소법을 이용하고 alkaline phosphatase (ALP)활성은 Kind King 법¹⁹⁾으로 측정하였다.

3) 간조직내 지방함량 측정

간조직내 조지방 (Crude lipids, CL) 함량은 건조된 간을 Soxhlet 지방추출장치를 이용하였고 총 콜레스테롤함량은 Zak법²⁰⁾으로 측정하였다.

4) 항산화효소활성 측정

간조직에 0.1 mM PBS를 가하여 homogenizer로 균질화한 후, 3,500 rpm에서 30분간 원심분리하여 상등액을 얻었다. 이 상등액을 가지고 Simons와 Johnson²¹⁾의 방법에 따라 glutathione 함량 (GSH)을 측정하고, Habig법²²⁾에 의해 GST (glutathione-S-transferase)활성을 측정하였다.

5) 지질과산화도 측정

지질과산화물 함량의 측정은 Buege 등²³⁾의 방법에 따라 thiobarbituric acid (TBA)법을 사용하여, 간조직내 malondialdehyde (MDA)함량으로 정량화하였다. 표준 시약으로 1, 1, 3, 3-tetraethoxypropane을 사용하여 1 mg protein의 양에 따라 생성된 TBARS 값으로 나타냈다.

6) 골격강도 측정

혈액 채취 후 오른쪽 대퇴골 (femur bone)과 견갑골 (scapular bone)을 취하여, 근육, 지방, 인대 등을 제거한 상태로 습중량 (wet weight)을 측정하였다. 이 후 105 ± 5°C의 건조기에서 일정한 무게가 될 때까지 건조시켜 건중량 (dry weight)을 재고 골격의 길이 (length)는 calliper를 사용하여 측정하였다. 골강도 측정은 texture analyzer (SUN RHEO METER compac-100)를 이용하여 뼈의 최대강도 (Max weight)와 bending strength (=Breaking force/Cross-sectional area)를 측정하였다.

3. 통계처리

실험결과는 SAS program을 이용하여 각 실험군 마다 평균과 표준편차를 계산하였고, 각 실험군간의 비교는 ANOVA로 분석한 후, 유의적인 차이는 α = 0.05에서 Duncan's multiple range test에 의해 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 체중증가량, 식이섭취량 및 장기무게

난소절제 쥐에서 체중이 증가한다는 것은 난소절제 동물의 특징으로 에스트로겐의 분비감소로 인한 것으로 알려져 있는데,²⁴⁾ 본 연구의 결과에서도 각 군간의 차이 없이 실험기간 내내 꾸준히 증가하는 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. 1). 다만 OG 군에서만 6주째에 체중이 감소된 것을 볼 수 있었는데, 이것은 식이에 따른 영향이라기 보다는 8주째에 다시 체중이 증가되었기 때문에 일시적인 체중감소로 보여진다. 그리고 총식이섭취량, 체중 증가량 그리고 식이효율에 있어서도 이소플라본과 포도종실유섭취군이 일반식이군에 비하여 유의성을 나타내지 않았다 (Table 2). Ishimi 등⁵⁾과 Deyhim 등²⁵⁾의 결과에서도 체중변화에 대

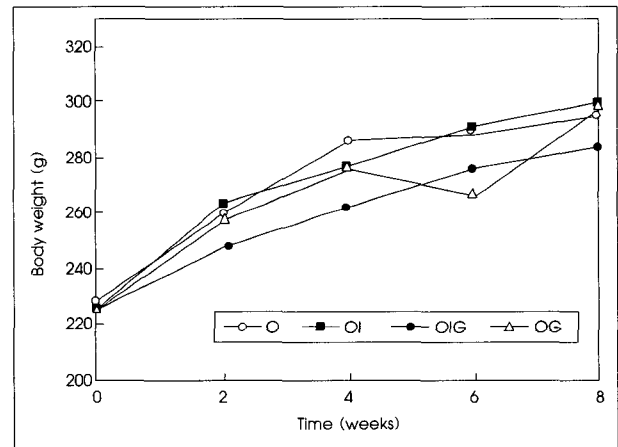


Fig. 1. Changed of body weight during the experimental periods. O: ovariectomized female rats. OI: Isoflavone supplement in ovariectomized female rats. OIG: Isoflavone and/or seed oil supplement in ovariectomized female rats. OG: Grape seed oil supplement in ovariectomized female rats.

Table 2. Total food intake, body weight gain and food efficiency ratio for 8 weeks

Group ¹⁾	Total food intake (g)	Body weight gain (g)	FER (%)
O	1148.5 ± 177.88 ²⁾	66.00 ± 7.87	5.84 ± 1.08
OI	1108.0 ± 65.43	73.80 ± 37.91	6.65 ± 3.43
OIG	1074.6 ± 161.60	58.20 ± 34.48	5.38 ± 2.85
OG	1137.0 ± 143.78	72.20 ± 3.56	6.45 ± 1.03
SF ³⁾	NS	NS	NS

1) O: ovariectomized female rats, OI: Isoflavone supplement in ovariectomized female rats, OIG: Isoflavone and/or seed oil supplement in ovariectomized female rats, OG: Grape seed oil supplement in ovariectomized female rats

2) Mean ± SD, n = 5

3) Significant factor (*: p < 0.01, **: p < 0.05, ***: p < 0.001, ****: p < 0.0001, NS: not significant)

한 이소플라본의 영향이 없었고, 난소절제로 인해 체중이 증가한 것으로 나타났다. 반면, Jeong 등²⁾은 수컷 흰쥐를 대상으로 했을 때, 식이내 이소플라본의 농도가 높을수록 식이섭취량이 감소하고, 그로 인해 체중증가가 적었다고 보고하였다. 이러한 차이는 본 실험에서 보충시킨 이소플라본의 양이 상대적으로 낮았기 때문이고, 성별의 차이로 인한 결과인 것으로 생각된다. 실험동물의 간장과 신장의 무게는 체중 100 g당 환산했을 때 중량으로 Table 3에 나타내었다. 간장과 신장의 무게는 이소플라본과 포도씨유의 급여에 따른 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

2. 혈청내 지질 패턴에 미치는 효과

혈청내 총콜레스테롤과 중성지방농도는 일반식이군이 유의적으로 높은 것으로 나타났고 포도씨유를 보충했을 때 혈청내 콜레스테롤 농도가 낮게 관찰되었다. 또한, 이소플라본을 보충한 군이 일반식이군에 비해서 낮은 것으로 나타나, 이소플라본과 포도씨유가 혈청 총 콜레스테롤 농도에 영향을 미치는 것으로 생각된다 (Table 4). 이러한 결과는 Choi 등²⁶⁾의 폐경기 여성을 대상으로 이소플라본의 섭취수준에 따른 연구결과에서도 총지질, LDL콜레스

테롤 그리고 중성지방 농도는 총콜레스테롤에서 나타난 것과 유사하게 일반식이군이 높은 경향을 보였고 이소플라본과 포도씨유 보충이 혈액지질패턴에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 그러나, 폐경기 여성을 대상으로 한 Lee 등²⁷⁾의 연구결과에서 통계적으로 유의하지는 않았지만, 이소플라본의 보충으로 총콜레스테롤과 중성지방의 농도를 낮출 뿐만 아니라, HDL콜레스테롤 농도를 유의적으로 증가시켰다고 보고하여 같은 대상과 비슷한 농도의 이소플라본을 가지고 실험한 결과에서도 다소 차이가 발생할 수 있다는 것을 알 수 있다. 이소플라본의 유도체인 ipriflavone의 투여효과를 실험한 Weon 등²⁸⁾의 결과 ipriflavone의 투여로 혈중 HDL콜레스테롤 농도를 높일 수 있다고 보고하였는데, 본 실험에서는 이소플라본의 보충이 혈청내 HDL콜레스테롤 농도에 영향을 미치지 못한 것으로 나타났다. Atherogenic index는 혈청내의 HDL콜레스테롤과 LDL콜레스테롤의 농도를 가지고 동맥경화증과 같은 심혈관계 질환의 위험도를 측정하는 것이다. 본 실험 결과는 이소플라본과 포도씨유의 보충에 따라 유의적이진 않았지만, 포도씨유 보충군의 지수가 낮은 것으로 나타나 동맥경화증 예방에 효과가 있을 것으로 추측된다. 포도씨유가 혈청 지질패턴에 영향을 미친 것으로 관찰되어, 포도씨유식이 다른 식이에 비해서 P/S 비율 및 식물성스테롤의 함량이 높기 때문에 혈청 cholesterol 농도의 증가를 억제시키는 것으로 생각된다.¹³⁾

3. 간조직내 지질패턴 및 항산화 효소활성에 미치는 효과

간조직의 지방함량과 콜레스테롤 농도는 이소플라본과 포도씨유 보충에 따른 유의적인 차이가 나타나지 않았다 (Table 5). Demonty 등²⁹⁾의 연구에서 이소플라본 보충군의 총콜레스테롤 농도가 높은 것으로 나타났으며, Jeong 등²⁾의 결과에서는 이소플라본 섭취 시 대조군에 비해 중성지방과 콜레스테롤 농도가 유의적으로 감소되었다고 보

Table 3. Liver and kidney weight per 100 g body weight of experimental groups

Group ¹⁾	Liver weight/100 g BW (g)	Kidney weight/100 g BW (g)
O	2.42 ± 0.53 ²⁾	0.59 ± 0.06
OI	2.29 ± 0.21	0.57 ± 0.08
OIG	2.25 ± 0.34	0.59 ± 0.10
OG	2.02 ± 0.24	0.53 ± 0.03
SF ³⁾	NS	NS

1) O: ovariectomized female rats, OI: Isoflavone supplement in ovariectomized female rats, OIG: Isoflavone and/or seed oil supplement in ovariectomized female rats, OG: Grape seed oil supplement in ovariectomized female rats

2) Mean ± SD, n = 5

3) Significant factor (*: p < 0.01, **: p < 0.05, ***: p < 0.001, ****: p < 0.0001, NS: not significant)

Table 4. Total cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, phospholipid, total lipids and atherogenic index in serum

Group ¹⁾	TC (mg/dl)	TG (mg/dl)	HDL-C (mg/dl)	LDL-C (mg/dl)	PL (mg/dl)	TL (mg/dl)	Atherogenic index ⁵⁾
O	109.50 ± 18.41 ^{2)a}	67.25 ± 6.40 ^{3)a)}	47.00 ± 5.83 ^a	49.05 ± 13.12 ^a	133.75 ± 19.57 ^a	310.5 ± 23.98 ^a	1.32 ± 0.13
OI	99.00 ± 10.98 ^{2)b}	55.60 ± 8.03 ^b	44.20 ± 6.26 ^a	44.80 ± 5.15 ^{ab}	132.60 ± 10.06 ^a	235.2 ± 17.91 ^c	1.25 ± 0.11
OG	80.00 ± 8.80 ²⁾	55.60 ± 7.80 ^b	34.80 ± 2.86 ^b	34.08 ± 6.31 ^b	99.60 ± 9.76 ^b	281.6 ± 16.65 ^{ab}	1.03 ± 0.10
OIG	87.60 ± 15.37 ²⁾	54.60 ± 9.45 ^b	38.20 ± 8.44 ^{ab}	38.48 ± 7.94 ^b	113.80 ± 13.83 ^b	256.0 ± 28.04 ^{bc}	1.32 ± 0.18
SF ⁴⁾	**	**	**	**	**	***	NS

1) O: ovariectomized female rats, OI: Isoflavone supplement in ovariectomized female rats, OIG: Isoflavone and/or seed oil supplement in ovariectomized female rats, OG: Grape seed oil supplement in ovariectomized female rats

2) Mean ± SD, n = 5

3) Value within a column with different superscripts are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test (NS: not significant)

4) Significant factor (*: p < 0.01, **: p < 0.05, ***: p < 0.001, ****: p < 0.0001, NS: not significant)

5) Atherogenic index = (Total cholesterol-HDL cholesterol)/HDL-cholesterol

Table 5. Crude lipid, total cholesterol and GSH contents and GST activity in hepatic tissue

Group ¹⁾	CL (mg)/0.1 g dry liver	TC (mg)/0.1 g dry liver	GSH (μ g/ml)	GST (units/mg protein/min)
O	13.52 \pm 5.48 ²⁾	773.76 \pm 0.93	344.67 \pm 95.18 ^{b3)}	0.075 \pm 0.032
OI	16.56 \pm 5.96	838.77 \pm 0.51	453.00 \pm 69.16 ^a	0.072 \pm 0.008
OG	14.80 \pm 0.66	807.64 \pm 0.47	470.00 \pm 77.84 ^a	0.075 \pm 0.005
OIG	13.36 \pm 2.28	797.79 \pm 1.24	467.33 \pm 52.98 ^a	0.074 \pm 0.016
SF ⁴⁾	NS	NS	**	NS

- 1) O: ovariectomized female rats, OI: Isoflavone supplement in ovariectomized female rats, OIG: Isoflavone and/or seed oil supplement in ovariectomized female rats, OG: Grape seed oil supplement in ovariectomized female rats
- 2) Mean \pm SD, n = 5
- 3) Value within a column with different superscripts are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test (NS: not significant)
- 4) Significant factor (*: p < 0.01, **: p < 0.05, ***: p < 0.001, ****: p < 0.0001, NS: not significant)

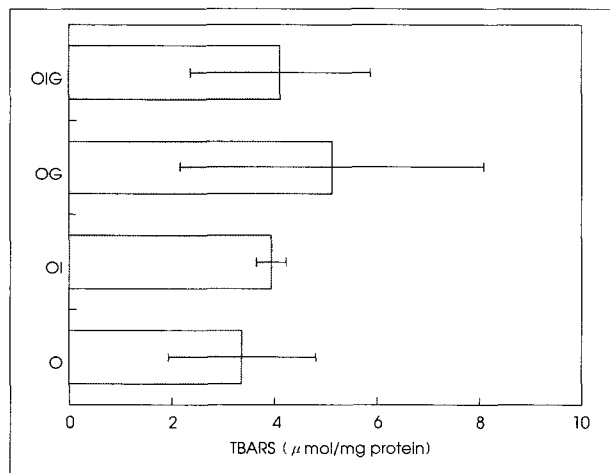


Fig. 2. Effect of isoflavone and/or grape seed oil supplementation on the TBARS formation in hepatic tissue of ovariectomized female rats. O: ovariectomized female rats, OI: Isoflavone supplement in ovariectomized female rats, OIG: Isoflavone and/or seed oil supplement in ovariectomized female rats, OG: Grape seed oil supplement in ovariectomized female rats. Each bar represents the means \pm SD, n = 5.

고하고 있어, 이소플라본의 섭취수준의 차이가 간조직중 지질패턴에 영향을 미친다고 할 수 있다. TBA법을 이용하여 간조직의 지질과산화정도를 측정한 결과 이소플라본과 포도종실유 보충에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았다 (Fig. 2). Glutathione (GSH) 함량은 일반식이군을 제외한 나머지 군들의 함량이 높았으며, 이의 대사관련 효소인 glutathione-S-transferase (GST)활성은 각 군간의 유의적인 차이를 보이지 않았다. GSH는 생체내 생성된 H₂O₂ 등의 free radical을 소거하여 항산화 효과를 나타내며, GST는 생체내에서 발암물질, 살충제, 알코올, free radical, 항암제 등과 환원형 GSH와 축합반응을 촉진시켜, 이물질을 무독화해 체외로 배설을 촉진시키는 생체내 중요한 해독효소이다. 상대적으로, GST활성에 있어서 각 군간의 유의적인 차이는 없었지만, 이소플라본과 포도종실유의 보충이 GSH함량 증가에는 유의한 효과를 보이는 것으로

Table 6. Ca, P and Ca/P ratio in serum

Group ¹⁾	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Ca/P
O	10.9 \pm 0.74 ²⁾	7.10 \pm 1.63	0.083 \pm 0.015 ^{b3)}
OI	10.3 \pm 1.00	6.84 \pm 0.68	0.078 \pm 0.009 ^b
OG	10.4 \pm 0.25	6.12 \pm 0.82	0.105 \pm 0.012 ^a
OIG	10.6 \pm 0.57	6.62 \pm 0.57	0.094 \pm 0.012 ^{ab}
SF ⁴⁾	NS	NS	**

- 1) O: ovariectomized female rats, OI: Isoflavone supplement in ovariectomized female rats, OIG: Isoflavone and/or seed oil supplement in ovariectomized female rats, OG: Grape seed oil supplement in ovariectomized female rats.
- 2) Mean \pm SD, n = 6
- 3) Value within a column with different superscripts are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test (NS: not significant)
- 4) Significant factor (*: p < 0.01, **: p < 0.05, ***: p < 0.001, ****: p < 0.0001, NS: not significant)

관찰되었다.

4. 혈중 칼슘과 인 함량 그리고 Alkaline phosphatase 활성

이소플라본과 포도종실유가 체내칼슘대사에 미치는 효과를 측정하기 위해 혈청내 칼슘과 인함량은 Table 6, alkaline phosphatase (ALP)활성은 Fig. 3에 나타내었다. ALP활성은 α 1 collagen, osteocalcin, osteopontin 및 transforming growth factor- β 1 등과 함께 골모세포를 만드는 데 중요한 인자로 알려져 있는데,³⁰⁾ 이의 활성은 대사성 골질환등 골대사 회전이 활발할 때 즉, 골격형성시 조골세포의 활동이 증가되어 골교체율이 빠를 때 혈장 내에서의 농도가 증가된다고 한다.³¹⁾ 이소플라본이 골모세포의 ALP의 활성도에 미치는 영향에서 이소플라본을 10 μ l 투여했을 때는 전체의 46%, 50 μ l 투여했을 때는 56%의 활성도가 나타나, 이소플라본이 인간의 골모세포를 자극하여 골형성에 도움이 된다고 한다.³⁰⁾ 그러나, 본 연구결과에서는 이소플라본과 포도종실유 보충에 따른 영향이 없으므로 나타났고 혈청 내 칼슘과 인의 함량에도 이소플라본과 포도종실유의 영향이 미치지 않은 것으로 관찰되었다. 폐경

기 여성에게 있어 식이칼슘이 골격대사에 미치는 영향은 여러 실험을 통해 연구되어왔고,³²⁻³⁴⁾ 또한 미량영양소인 붕소에 대한 연구도 많이 이루어졌는데, Chung 등^{35,36)}의 연구결과에서는 붕소가 ALP활성에 영향을 미치지 않았다고 보고하고 있어, 이소플라본과 포도종실유가 ALP활성에는 큰 영향을 미치지 못하는 것으로 나타났다.

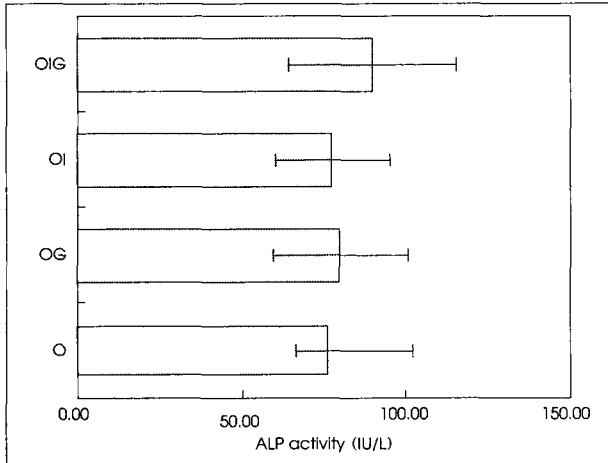


Fig. 3. Effect of isoflavone and/or grape seed oil supplementation on alkaline phosphatase activity in serum of ovariectomized female rats. O: ovariectomized female rats. OI: Isoflavone supplement in ovariectomized female rats. OIG: Isoflavone and/or seed oil supplement in ovariectomized female rats. OG: Grape seed oil supplement in ovariectomized female rats. Each bar represents the means \pm SD, n = 5.

5. 골격강도에 미치는 효과

이소플라본과 포도종실유가 골격강도에 미치는 영향을 관찰하기 위해, 좌측 대퇴골과 견갑골을 취해 길이, 습중량 그리고 건중량을 측정한 결과는 Table 7과 같다. 측정결과 대퇴골과 견갑골 모두 이소플라본과 포도종실유의 영향이 미치지 못한 것으로 나타났고, 골강도의 지표라 할 수 있는 Max weight, Bending strength 그리고 Diameter에 있어서도 각 군간의 유의적인 차이가 나타나지 않았다 (Table 8). Deyhim 등²⁵⁾도 난소절제 한 흰쥐에서 이소플라본을 0.575 mg/g dietary protein과 1.15 mg/g dietary protein의 수준의 식이를 공급했을 때, 이소플라본의 두 수준이 골격의 질적 향상에는 유의적인 영향을 미치지 못한 것으로 관찰되어, 적절한 이소플라본의 수준을 설정하는 것이 어느 무엇보다 중요한 과제임을 알 수 있다. 이소플라본 보충이 난소절제 흰쥐의 골대사에 미치는 영향을 연구한 Park 등³⁷⁾의 실험결과에서는 골강도 및 골무게 등의 골다공증에 대한 영향인자에서 이소플라본 공급에 의한 차이는 나타나지 않았다.

요약 및 결론

이소플라본과 포도종실유를 보충시킴으로써 난소절제 흰쥐의 혈중 지질패턴과 골격강도에 미치는 영향을 연구한

Table 7. Max weight, bending strength and diameter of femur bone in experimental groups

Group ¹⁾	Max weight (g)	Bending strength (g/cm ²)	Diameter (mm)
O	3729.8 \pm 581.55 ²⁾	23.57 \pm 10.46	3.04 \pm 0.22
OI	3254.6 \pm 901.61	19.75 \pm 8.46	3.02 \pm 0.18
OG	3511.6 \pm 711.24	25.22 \pm 4.41	3.16 \pm 0.26
OIG	2644.0 \pm 1419.03	17.54 \pm 12.12	3.22 \pm 0.11
SF ³⁾	NS	NS	NS

1) O: ovariectomized female rats, OI: Isoflavone supplement in ovariectomized female rats, OIG: Isoflavone and/or seed oil supplement in ovariectomized female rats, OG: Grape seed oil supplement in ovariectomized female rats
 2) Mean \pm SD, n = 5
 3) Significant factor (*: p < 0.01, **: p < 0.05, ***: p < 0.001, ****: p < 0.0001, NS: not significant)

Table 8. Length, wet weight, dry weight of scapular and femur in experimental groups

Group ¹⁾	Length (mm/100 g BW)		Wet weight (mg/100 g BW)		Dry weight (mg/100 BW)	
	Scapular	Femur	Scapular	Femur	Scapular	Femur
O	9.85 \pm 0.48 ²⁾	12.49 \pm 0.64	68.35 \pm 5.71	253.39 \pm 14.35	53.20 \pm 4.59	194.19 \pm 11.18
OI	9.24 \pm 2.36	11.36 \pm 1.36	65.32 \pm 9.44	230.53 \pm 22.37	51.79 \pm 5.87	174.53 \pm 15.34
OG	10.43 \pm 1.47	12.46 \pm 1.80	70.06 \pm 9.84	247.74 \pm 38.38	55.10 \pm 7.22	184.30 \pm 28.95
OIG	9.73 \pm 0.44	11.87 \pm 1.25	66.37 \pm 7.87	249.32 \pm 25.02	50.28 \pm 4.70	179.89 \pm 14.32
SF ³⁾	NS	NS	NS	NS	NS	NS

1) O: ovariectomized female rats, OI: Isoflavone supplement in ovariectomized female rats, OIG: Isoflavone and/or seed oil supplement in ovariectomized female rats, OG: Grape seed oil supplement in ovariectomized female rats
 2) Mean \pm SD, n = 5
 3) Significant factor (*: p < 0.01, **: p < 0.05, ***: p < 0.001, ****: p < 0.0001, NS: not significant)

결과는 다음과 같다. 혈청 내 총콜레스테롤과 중성지방 그리고 LDL콜레스테롤 농도는 난소절제 후 일반식이로 사육된 흰쥐에서 가장 높았고, 포도종실유 보충군에서 낮은 것으로 관찰되었다. Atherogenic index는 포도씨종실유 보충군이 가장 낮은 수치를 나타냈다. 간조직의 총지방과 총콜레스테롤 농도에는 이소플라본과 포도종실유가 영향을 미치지 않았고, 체내 지질과산화도에도 유사한 경향으로 나타났다. 그러나, 간 조직의 GSH 함량은 일반식이군과 비교해 포도종실유 보충군이 높은 것으로 나타나, 포도종실유가 체내에서 항산화력을 지니는 것으로 나타났다. 골격 형성 지표인 ALP활성과 칼슘함량은 이소플라본과 포도종실유 보충에 따른 영향을 받지 않는 것으로 관찰되었고 견갑골과 대퇴골의 체중에 대한 건중량, 대퇴골의 max weight와 bending strength는 각 군간의 차이가 나타나지 않았다. 결론적으로 이소플라본과 포도종실유를 함께 보충함으로써 골격강도, 혈청과 간조직 지질패턴에는 유의적인 상승효과는 나타나지 않았지만, 포도종실유를 보충함으로써 혈청 내 총콜레스테롤, 중성지방 그리고 LDL콜레스테롤 농도를 낮추고, GSH 함량을 높이는 것으로 밝혀져 포도종실유가 혈청 지질패턴의 개선과 항산화효소의 활성화에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 생각된다.

■ Acknowledgements

이 논문은 2001년 농림부에서 시행한 농림기술개발 연구비 지원에 의해 이루어진 연구결과의 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

Literature cited

- 1) Sohn HS, Lee YS, Shin HC, Chung HK. Does soybean isoflavone have adverse effects on human? *Korea Soybean Digest* 17(2): 9-19, 2000
- 2) Jeong MK, Bang NH, Seol SM, Kim WK. The effect of isoflavone on lipid metabolism and Responses in SD rats. *Korean J Nutrition* 35(6): 635-642, 2002
- 3) Fitzpatrick LA. Soy isoflavones: hope or hype? *Maturitas* 44: S21-S29, 2002
- 4) Drape CR, Edell MJ, Dick IM, Randal AG, Martin GB, Prince RL. Phytoestrogens reduce bone loss and bone resorption in oophorectomized rats. *J Nutr* 127: 1795-1799, 1997
- 5) Ishimi Y, Arai N, Wang X, Wu J, Umegaki K, Miyaura C, Takeda A, Ikegami S. Difference in effective dosage of genistein on bone and uterus in ovariectomized mice. *Biochemical and Biophysical Research Communication* 274: 697-701, 2000
- 6) Tikkanen MJ, Adlercreutz H. Dietary soy-derived isoflavone phytoestrogen. *Biochemical Pharmacology* 60: 1-5, 2000
- 7) Somekawa Y, Chiguchi M, Ishibashi T, Aso T. Soy intake related menopausal symptoms, serum lipids, and bone mineral density in postmenopausal Japanese women. *Obstet Gynecol* 97(1): 109-115, 2001
- 8) Jayaprakasha GK, Shingh RP, Sakariah KK. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation model in vitro. *Food Chemistry* 73: 285-290, 2001
- 9) Yamakoshi J, Kataoka S, Koga T, Ariga T. Proanthocyanidin-rich extract from grape seeds attenuates the development of aortic atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis* 142: 139-149, 1999
- 10) Tebib K, Rouanet JM, Besancon P. Antioxidant effects of dietary polymeric grape seed tannins in tissues of rats fed a high cholesterol-vitamin E-deficient diet. *Food Chemistry* 59(1): 135-141, 1997
- 11) Saito M, Hosoyama H, Ariga T, Kataoka S, Yamaji N. Antiulcer activity of grape seed extract and procyanidins. *J Agric Food Chem* 46: 1460-1464, 1998
- 12) Gorinstein S, Leontowicz H, Leontowicz M, Lojek A, Ciz M, Krzeminski R, Zachwieja Z, Jastrzebski Z, Delgado-Licon E, Marin-Bellos O, Trakhtenberg S. Seed oil improve lipid metabolism and increase antioxidant potential in rats fed diets containing cholesterol. *Nutrition Research* 23: 317-330, 2003
- 13) Choi HJ, Whang YH, Pek UH, Shin HS. Effect of dietary grape-seed oil on serum lipids in spontaneously hypertensive rats. *Korean J Nutrition* 23(7): 467-476, 1990
- 14) Hwang JT, Kang HC, Kim TS, Park WJ. Lipid component and properties of grape seed oils. *Korean J Food & Nutr* 12(2): 150-155, 1999
- 15) Kang HC, Lee SH, Kim JB. Quantification and physicochemical properties of grape seed lipids. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 44(3): 172-178, 2001
- 16) Kang MH, Chung HK, Song ES, Park WJ. Improved method for increasing of the oil yields in grape seed. *Korean J Food Sci Technol* 34(5): 931-934, 2002
- 17) Friedwald WT, Levy RT, Fridrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without the use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Nutr* 18: 499-502, 1972
- 18) Muramatsu K, Fukuyo M, Hara Y. Effect of green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol-fed rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 32: 613-622, 1986
- 19) Kind PRN, King EJ. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolyzed phenol with amino antipyrine. *Am J Clin Pathol* 24: 322-326, 1954
- 20) Zak B. Total and free cholesterol. In Standard method chemistry. Academic Press, New York, pp.79-89, 1968
- 21) Simons SS, Johnson, DF. Reaction of o-phthalaldehyde and thiols with primary amines: Fluorescence properties of 1-alkyl (and aryl) rhio-2-alkylisoindoles. *Ann Biochem* 90: 705-725, 1978
- 22) Habig WH, Pabst MP, Jakoby WB. Glutathione S-transferase. *J Biol Chem* 249: 7130-7139, 1974
- 23) Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology* 52: 302-306, 1978
- 24) Kim KH, Choi MJ, Lee IK. The effect of dietary calcium level on bone mineral density and bone mineral content in ovariectomized female rats. *Korean J Nutrition* 29(6): 590-596, 1996

- 25) Deyhim F, Stoecker BJ, Brusewitz GH, Arjmandi BH. The effects of estrogen depletion and isoflavone on bone metabolism in rats. *Nutrition Research* 23: 123-130, 2003
- 26) Choi Y, Toon S, Lee MJ, Lee SK, Lee BS. Does response relationship of isoflavone supplementation on plasma lipid profiles and total antioxidant status in perimenopausal and postmenopausal women. *Korean J Nutrition* 34(3): 322-329, 2001
- 27) Lee BS, Won HJ, Lee SK, Choi Y, Yoon S, Park KH, Cho DJ, Song CH. The effect of isoflavone on serum lipid profiles and bone markers in postmenopausal women. *The Korean Society of Menopause* 8(1): 59-67, 2002
- 28) Weon YJ, Chung YS, Hong KY, Park YK, Kim HS, Lee JH, Lee EJ, Lim SK, Kim KR, Lee HC, Huh KB. The effect of ipriflavone on postmenopausal osteoporosis. *J Korean Society of Endocrinology* 8(3): 259-264, 1993
- 29) Demonty I, Lamarche B, Desai Y, Jacques H. Role of soy isoflavones in the hypotriglyceridemic effect of soy protein in the rat. *J Nutritional Biochemistry* 13: 671-677, 2002
- 30) Kim WW, Lee KS, Lee SH. An immunohistochemical study on alkaline phosphatase activity in osteoblasts cultured with isoflavone. *The Korean Society of Menopause* 8(1): 3-10, 2002
- 31) Han YK, Park WK, Choi EH, Shin HH, Kim SW. A study on hormonal changes and bone densities in Korean menopausal women. *J Korean Soc Endocrinol* 4: 21-26, 1989
- 32) Chung HK, Chang NS, Lee HS, Chang YE. The effect of various types of calcium sources on calcium and bone metabolism in rats. *Korean J Nutrition* 29(5): 480-488, 1996
- 33) Chang YE, Chung HK, Chang NS, Lee HS. The effects of dietary protein and calcium levels on calcium and bone metabolism in growing rats. *Korean J Nutrition* 30(3): 266-276, 1997
- 34) Chung HK, Kim JY, Lee HS, Kim HY. The effect of dietary calcium and phosphate levels on calcium and bone metabolism in rats. *Korean J Nutrition* 30(7): 813-824, 1997
- 35) Chung HK, Lee HS, Kim JY, Kim JY. Effect of boron supplementation in rats during growth. *Korean J Nutrition* 31(6): 1039-1048, 1998
- 36) Chung HK, Lee HS, Choe CS. Effect of dietary boron supplementation and calcium levels on calcium and bone metabolism in ovariectomized female rats. *Korean J Nutrition* 34(8): 887-895, 2001
- 37) Park YH, Yoon S, Chung SY, Yang SO, Yoo TM. The effect of isoflavone supplementation on bone metabolism in ovariectomized SD rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30(4): 657-661, 2001