

고지방 섭취 흰쥐에서 대두 이소플라본 섭취가 혈액 내 Nitrite 함량과 항산화 효소 활성화에 미치는 영향*

이연숙[§] · 장소영 · 김기옥

서울대학교 생활과학대학 식품영양학과, 생활과학연구소

Effects of Soy Isoflavone Intake on Nitrite Content and Antioxidant Enzyme Activities in Male Rats Fed High-Fat Diet*

Lee, Yeon Sook[§] · Jang, So Young · Kim, Ki Ok

Department of Food & Nutrition, Research Institute of Human Ecology, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

ABSTRACT

This study was performed to investigate the effect of soy isoflavone on plasma nitrite concentration and the antioxidant enzyme activities of erythrocyte and the liver using adult male rats fed high fat diet. Seven-week old male Sprague Dawley rats were divided into three groups and fed high fat diet (15% beef tallow, 1% cholesterol; control: IF0) or high fat diets containing isoflavone 80 ppm (IF80) or 320 ppm (IF320) for 10 weeks. Plasma nitrite concentration as a vasodilator, and antioxidant enzyme activities in erythrocytes and the liver were measured. Plasma nitrite concentration was increased by 45% and 35%, respectively, in IF80 and IF320 than in IF0 group. Erythrocyte catalase, glutathione peroxidase (GPx) and glutathione reductase (GR) activities increased by 31%, 30% and 40% in IF320 compared to IF0 group. Especially, erythrocyte GR activity increased by 61% in IF80 group. However, catalase activity in the liver was decreased in IF80 group. GPx and GR activities in the liver were not differ among groups. The results suggest that soy isoflavone have the protective effect against risk factors related with cardiovascular disease by improving vasodilator factor, nitrite, and antioxidant enzyme activities in blood. (*Korean J Nutrition* 38(2): 89~95, 2005)

KEY WORDS : male rats, soy isoflavone, cardiovascular disease, antioxidant enzyme activities.

서 론

서구에서 심혈관계 질환은 남성과 여성 모두에게 있어 중요한 사망 원인 중의 하나로 알려져 왔다. 미국의 경우 관상 심장 질환으로 인한 사망은 5명당 1명의 비율로, 뇌졸중은 14명당 1명의 비율로 나타난 반면, 아시아 국가들은 서구에 비해 심혈관계 질환으로 인한 사망률이 현저히 낮다. 이는 식이 패턴을 비롯한 여러 생활양식의 차이에 기인하며, 특히 아시아인들에서 많은 대두식품의 섭취가 심혈관계 질환 관련 요소에 좋은 영향을 미친다고 생각되어 왔다.¹⁾ 최근 대두의 알코올을 추출 성분에는 포함된 이소플라

본이 심혈관계 질환 뿐 만 아니라 골다공증, 유방암, 전립선암과 같은 만성 질환의 위험을 낮춰주는 성분으로서 알려져 왔으며, 많은 연구가 활발하게 진행되고 있다.^{1,2)}

이소플라본은 대두에 다량 함유된 페놀 원형 화합물로, 주로 세 가지의 이소플라본이 존재한다. 즉 unconjugated aglycone 형태로 genistein, daidzein, glycitein이 있으며, conjugated glucoside 형태로 genistin, daidzin, glycitin 과 그외 acetyl glucoside, malonylglucoside, 4'-methyl derivatives 형태가 존재한다. 이소플라본은 장내 미생물에 의해 가수분해되고 탈메틸화되어 free aglycone과 demethyl product로 전환되거나 더 대사되어 흡수되는 것으로 알려져 있다. 가공하지 않은 대두에는 1.2~4.2 mg/g dry wt.의 이소플라본이 함유되어 있다.³⁾

이소플라본은 에스트로겐과의 구조적 유사성 때문에 지금까지 이소플라본의 생리적 효능에 관한 많은 연구들이 이소플라본의 에스트로젠 유사 작용에 초점을 두고 이루어져왔다.²⁾ 특히 최근 미 국립보건원 (NIH)이 에스트로젠 장

접수일 : 2004년 12월 10일

채택일 : 2005년 3월 14일

*This study was supported by a grant of the Korea Health 21 R&D Project, Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea (02-PJ1-PG-22003-0007).

[§]To whom correspondence should be addressed.

기 복용에 따른 부작용에 대한 보고⁴⁾와 함께 호르몬 대체 요법에 관한 연구 중단을 발표함에 따라 호르몬 대체 요법의 하나의 대안으로서 이소플라본에 대한 관심이 고조되었다. 실제로 여러 연구에서 에스트로겐이 결핍되는 폐경기 여성이나 난소절제 동물들을 대상으로 하였으며, 예를 들어 폐경기 고지혈증에서 혈 중 지질 함량을 개선하며,⁵⁻⁷⁾ 혈관 운동에서 확장제로 작용하는 nitrite (NO) 수준을 높이고,⁸⁻¹⁰⁾ 혈관 운동성을 향상시켜^{11,12)} 심혈관계를 보호하는 역할을 보고하였다.

한편 에스트로겐 결핍과는 별도로 유발되는 남성의 심혈관계 질환에서도 성호르몬의 감소에 기인하는 것으로 보고되었지만,^{15,16)} 이소플라본의 영향에 대해서는 거의 연구가 이루어지지 않았다.

몇몇 수컷 동물 및 남성을 대상으로 한 연구들에 의하면, 이소플라본은 고지방 식이로 유도한 남성의 고지혈증 모델에서도 여성의 폐경기 고지혈증에서와 마찬가지로 혈관벽의 동맥경화성 손상을 감소시키는 효과가 나타났다.¹³⁾ 또한 수컷 흰쥐를 대상으로 한 실험에서는 이소플라본이 대두 단백질과 협력적으로 작용하여 blood platelet sensitivity를 낮추어 심혈관계 질환에 보호 효과를 나타낼 수 있다고 보고하였다.¹⁴⁾

이소플라본의 항산화 효과에 대해서는 *in vitro*에서 세포 내 산화적 스트레스에 대한 방어효과를 보고하였으며,^{17,18)} *in vivo*에서는 혈중 지질과산화물을 저하와 간세포에서의 catalase 활성 증가를 보고하였다.^{8,19,20)} 그러나 이소플라본의 항산화 작용에 대한 메커니즘은 아직 확실히 규명되지 않았으며, 대부분의 연구들이 *in vitro* 실험들로 국한되어 *in vivo*에서의 연구는 미비한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 고지방 식이 섭취에 따른 고지혈증 유발 수컷 흰쥐에서 식이 중 이소플라본의 양을 달리 하여 이소플라본 섭취가 심혈관계 관련 요소에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다. 특히 혈장 내의 혈관 확장 요소인 NO 함량과, 적혈구 및 간 조직의 항산화 효소 활성화 등의 측정을 통해 이소플라본의 항산화 효과를 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 동물 및 식이

평균 체중 약 210 g의 7주령 된 수컷 흰쥐 (Sprague-Dawley male rats)를 서울대학교 실험동물 사육장에서 구입하여 9마리씩 완전 임의배치한 후 고지방 식이 (beef tallow 15 wt.%, cholesterol 1 wt.%)에 이소플라본 함량

을 달리 첨가하여 10주간 사육하였다. 실험군은 이소플라본 첨가 수준에 따라 이소플라본 무첨가군 (IF0), 이소플라본 80 ppm 첨가군 (IF80), 이소플라본 320 ppm 첨가군 (IF320)으로 나누었다. 이소플라본의 첨가수준은 선행 연구 결과⁵⁾를 참고로 정하였다. 실험 식이는 기본적으로 AIN-93M 패턴을 따랐으나 고지방 식이의 지방 공급으로는 우지 15%와 콜레스테롤 1%를, 이소플라본은 제니스테인 (genistein)을 90%이상 함유한 것 (태평양 주식회사 제공)을 사용하였다 (Table 1). 실험 동물은 서울대학교 실험동물 사육실 [온도 22 ± 2°C, 상대 습도 65 ± 5%, 명암 12시간 주기 (light: 06 : 00~18 : 00)]에서 사육하였다. 실험 식이와 식수는 *ad-libitum*으로 급여하였으며, 실험 기간 동안 체중과 식이 섭취량은 일주일에 두 번 일정 시간에 측정하였다.

2. 시료 채취

실험 최종일에 실험 동물을 약 12시간 절식시킨 후 염산케타민 (케타라, 유한양행)으로 마취하여 복대 동맥에서 혈액을 채취하였다. 혈액 중 일부는 일반 튜브에 채취하여 800 × g에서 10분간 원심분리 후 혈청을 얻었으며, 나머지는 EDTA 튜브에 채취하여 800 × g에서 20분간 원심분리 후 혈장과 적혈구를 분리하였다. 혈장과 buffy coat층을 제거한 적혈구는 0.9% 생리식염수를 첨가하여 800 × g에서 10분간 원심 분리하는 세척 과정을 세 차례 반복하였다. 세척된 적혈구는 0.9% 생리 식염수를 첨가하여 적혈구 현탁액이 되도록 처리하였다. 간 조직은 혈액 채취 후 즉시 적출하고 생리 식염수에 세척하여 물기를 제거한 다음 습중량을 측정하고 액체 질소로 즉시 동결시켰다. 간 조

Table 1. Composition of experimental diets (g/kg diet)

	IF0 ⁴⁾	IF80	IF320
Cornstarch	539.5	539.42	539.18
Casein	200.0	200.0	200.0
Beef tallow	150.0	150.0	150.0
Cholesterol	10.0	10.0	10.0
Cellulose	50.0	50.0	50.0
Min. Mix. ¹⁾	35.0	35.0	35.0
Vit. Mix. ²⁾	10.0	10.0	10.0
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5
Methionine	3.0	3.0	3.0
Isoflavone ³⁾	-	0.08	0.32

1) AIN-93M-MX

2) AIN-93-VX

3) Isoflavone: Genistein >90%

4) IF0: High fat diet (15% beef tallow and 1% cholesterol)

IF80: High fat diet containing isoflavone 80 ppm

IF320: High fat diet containing isoflavone 320 ppm

직에서의 항산화 효소 활성 및 지질과산화물 측정을 위해 약 5 g의 간 조직을 잘게 다진 후 20 ml의 차가운 균질 완충 용액 (154 mM KCl, 50 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA buffer, pH 7.4)과 함께 넣고 균질화한 다음 4°C, 600 × g에서 10분간 원심분리하였다. 지방층을 제거하고 중간층을 취하여 원형질 (cytoplasm) 분획을 취하였으며 일부는 따로 보관하고, 나머지는 세포질 (cytosol) 분획과 소포체 (microsome) 분획을 얻기 위해 다시 원심 분리하였다. 먼저 4°C, 12,000 × g에서 20분간 원심 분리하여 상층액만 취한 후, 다시 초고속 원심 분리기에서 4°C, 38,000 × g에서 60분간 원심 분리하여 세포질 분획 (상층액)과 소포체 분획 (pellet)으로 분리하였다. 소포체 분획은 완충 용액 (균질 완충 용액 : glycerol = 80 : 20, v/w)을 넣어 균질화하였다. 모든 시료는 생화학적 분석을 위해 -85°C에 냉동 보관하였다.

3. 시료 분석

1) 혈장 NO 함량 분석

혈장의 NO 함량은 Griess²¹⁾의 방법을 이용한 Griess Reagent System (Promega #G2930, USA)을 사용하여 Microplate reader (Bio-Rad Model 680, USA)로 nitrite를 비색 정량하여 측정하였다.

2) 적혈구 및 간 조직의 항산화 효소 활성 측정

(1) Catalase 활성도 측정

적혈구와 간 조직의 catalase 활성도는 Aebi²²⁾의 방법을 이용하여 측정하였다. 10배의 10 mM Tris-1 mM EDTA buffer를 첨가하여 용혈시킨 적혈구와 간의 원형질 분획을 phosphate 완충 용액 (50 mM, pH 7.0)으로 전체 2 ml이 되게 희석하고 30 mM H₂O₂ 0.5 ml을 첨가한 후 재빨리 섞어서 20°C, 240 nm에서 30초간 흡광도 감소를 측정하였다 (spectrophotometer, Beckman DU-650, USA). Catalase 활성도는 H₂O₂의 분자 흡광 계수 43.6 M⁻¹cm⁻¹을 이용하여 계산하였다.

(2) Glutathione Peroxidase (GPx) 활성도 측정

적혈구와 간 조직의 GPx 활성도는 Tappel²³⁾의 방법을 이용하여 측정하였다. 10배의 10 mM Tris-1 mM EDTA buffer를 첨가하여 용혈시킨 적혈구와 간의 세포질 분획에 0.25 mM GSH, 0.12 mM NADPH, 1 unit/ml GR을 포함한 50 mM Tris-0.1 mM EDTA buffer (pH 7.6)를 넣어 전체 1.65 ml가 되게 혼합한 다음 37°C에서 5분간 incubation하였다. 여기에 50 μl의 cumene hydroperoxide를

넣고 곧바로 340 nm에서 1분간 흡광도 감소를 측정하였다 (spectrophotometer, Beckman Du-650, USA). GPx 활성도는 NADPH의 분자 흡광 계수 6.22 mM⁻¹cm⁻¹을 이용하여 계산하였다.

(3) Glutathione Reductase (GR) 활성도 측정

적혈구와 간 조직의 GR 활성도는 Carlberg & Mannervik²⁴⁾의 방법을 이용하여 측정하였다. 2 mM EDTA를 함유한 0.2 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0)에 50 μl 20 mM GSSG 용액, 50 μl 2 mM NADPH 용액을 넣고 증류수를 넣어 전체 1 ml이 되게 하였다. 여기에 10배의 10 mM Tris-1 mM EDTA buffer를 첨가하여 용혈시킨 적혈구와 간의 세포질 분획을 희석하여 50 μl를 첨가하고 곧바로 30°C, 340 nm에서 흡광도 감소를 측정하였다 (spectrophotometer, Beckman Du-650, USA). GR 활성도 역시 NADPH의 분자 흡광 계수 6.22 mM⁻¹cm⁻¹을 이용하여 계산하였다.

각종 효소활성도는 적혈구의 경우, 헤모글로빈 mg 당으로 나타내고, 간 세포질의 경우 단백질 mg 당으로 나타내었다.

4. 통계 분석

실험 결과는 SAS program (SAS 6.12 version)을 이용하여 통계 처리하였으며, 모든 결과는 평균과 표준 오차 (Mean ± SE)로 나타내었다. 실험군 간의 유의성은 ANOVA test 후 p < 0.05 수준에서 Duncan's multiple range test로 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 체중증가량 및 식이섭취량

이소플라본의 섭취에 따라 체중변화 및 체중증가량은 유의적인 차이가 없었으며, 식이섭취량과 식이섭취효율도 차이를 보이지 않았다 (Table 2). 즉 고지방식 섭취로 인한 고지혈증 유발 단계에서 80 ppm 및 320 ppm의 이소플라본 보충 식이는 식이 섭취와 체중 증가에 영향을 미치지 않았다. 한편, 난소절제와 고지방 식이로 유도한 폐경성 고지혈증 모델 흰쥐에서 이소플라본 80 ppm 첨가에 의해 체중 증가량과 식이섭취효율이 감소했다고 보고한 Jang⁸⁾의 연구와는 다른 결과를 나타냈다. 그러나 수컷 토끼를 이용하여 이소플라본과 고 콜레스테롤을 급여한 Yamakoshi 등¹³⁾의 연구에서는 본 연구의 결과와 마찬가지로 이소플라본 섭취가 식이섭취 및 체중 증가에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

Table 2. Body weight, weight gain, food intake and FER (Food Efficiency Ratio) of rats fed high fat diets containing 0, 80 or 320 ppm isoflavone

Group	Initial Wt. (g)	Final Wt. (g)	Weight gain (g/d)	Food intake (g/d)	FER
IF0	205.0 ± 3.1 ^{1)NS2)}	409.4 ± 9.1 ^{NS}	2.9 ± 0.2 ^{NS}	15.9 ± 0.3 ^{NS}	0.19 ± 0.01 ^{NS}
IF80	210.1 ± 3.8	403.4 ± 8.7	2.8 ± 0.1	15.3 ± 0.3	0.18 ± 0.01
IF320	206.9 ± 4.5	418.8 ± 11.5	3.1 ± 0.2	15.9 ± 0.5	0.19 ± 0.01

1) Values are means ± SE, n = 9

2) NS: not significant

IF0: High fat diet containing isoflavone 0 ppm

IF80: High fat diet containing isoflavone 80 ppm

IF320: High fat diet containing isoflavone 320 ppm

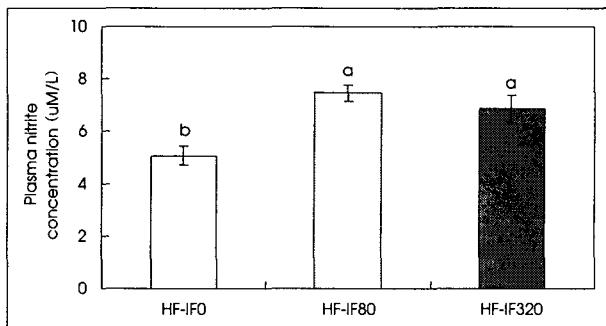


Fig. 1. The concentration of plasma nitrite in rats fed high fat diets containing 0, 80, or 320 ppm isoflavone. Values are means ± SE, n = 9. Bars with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. IF0: High fat diet containing isoflavone 0 ppm, IF80: High fat diet containing isoflavone 80 ppm, IF320: High fat diet containing isoflavone 320 ppm.

따라서 본 연구결과 고지혈증 유발 단계에서 이소플라본이 체중과 식이 섭취에 미치는 효과는 성별, 섭취 시기 및 섭취 기간과 같은 요인들에 의해서 다르게 평가됨을 시사하였다.

2. 혈장 Nitrite 농도

혈장 NO농도에 대한 이소플라본의 효과를 Fig. 1에 제시하였다.

이소플라본을 섭취한 IF80군과 IF320군의 혈장 NO농도가 IF0군에 비해 유의적으로 높게 나타났다 ($p < 0.05$). 고지방 섭취로 인한 고지혈증 유발단계에서 80 ppm 및 320 ppm의 이소플라본 섭취는 각각 45%, 35%의 혈장 NO 함량을 증가시키는 것으로 나타났다.

NO는 혈관 세포의 endothelial oxide synthase oxide (eNOS)에 의해 생성되어 혈액 중으로 분비되며, 혈관계에서 혈관을 확장시키는 vasodilator로 작용한다고 알려져 있다. 뿐만 아니라 혈소판의 활성화와 응집을 억제하며,²⁵⁾ 혈관 내피세포에 leukocyte가 유착되는 것을 감소시킨다고 보고되었다.²⁶⁾ 최근 폐경기 여성을 대상으로 한 Squadrito 등²⁷⁾의 연구에서는 대두 단백질과 함께 6개월간 매일 54 mg의 genistein을 섭취하였을 때 혈장의 NO 함량이 유의적으로 증가하는 결과를 보였고, 혈관계에서 NO와 반대

작용을 하는 endothelin-1의 함량은 유의적으로 감소하는 결과를 보였다. endothelin-1은 혈관계에서 vasoconstrictor로 작용하는 것으로 알려져 있으며, monocyte의 유착을 증가시키고, macrophage를 활성화시키며 혈관 smooth muscle cell의 증식과 이동을 증진시키는 것으로 보고되어 왔다.²⁸⁾ 폐경기 동물 모델을 이용한 Jang²⁹⁾의 연구에서도 고지방 섭취와 함께 이소플라본 첨가 식이는 혈장의 NO 함량을 증가시키고, 흉동맥의 eNOS 수준을 증가시키는 것으로 나타났다. 이상에서 제시한 바와 같이 이소플라본의 혈관 기능 개선 효과의 일부는 NO 수준의 증가에 의해서 설명될수 있지만 그 메커니즘은 아직 명확히 밝혀지지 않았으며 이소플라본의 종류와 함량, 체내 대사 과정과 관련하여 지속적인 연구가 필요할 것으로 보인다.

3. 적혈구의 항산화 효소 활성도

적혈구의 항산화 효소인 Catalase, GPx 및 GR의 활성을 Fig. 2에 제시하였다.

적혈구 내 catalase 활성과 GPx 활성은 IF0군과 IF80군 사이에는 유의적인 차이가 없었으나, IF320군에서 유의적으로 증가하였다 ($p < 0.05$). 한편 GR 활성도는 IF80군과 IF320군 모두 IF0군에 비해 유의적으로 증가하였으며, 이소플라본 섭취 군 간에는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 이러한 결과들은 적혈구의 항산화작용에 대한 이소플라본의 효과가 투여량에 따라 차이를 보이며, 상당량 이상 투여했을 때 (320 ppm) 얻어질 수 있음을 보였다.

생체 내에는 외부와 내부의 자극에 의해 끊임없이 생성되는 hydroxyl radical (OH^\cdot), superoxide anion (O_2^\cdot), hydrogen peroxide (H_2O_2)와 같은 ROS에 방어하기 위한 항산화 효소 체계가 존재한다. 이러한 항산화 효소 체계에는 catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), superoxide dismutase (SOD)와 같은 효소들이 포함된다. 이들 항산화 효소들의 활성 및 상호 작용은 체내 세포의 생존을 유지하고 지질 산화와 같은 심혈관계 위험 인자들을 제거하는 데 필수적이다. Catalase는 세포내에서 생성된 H_2O_2 를 H_2O 로 전환시킴으로

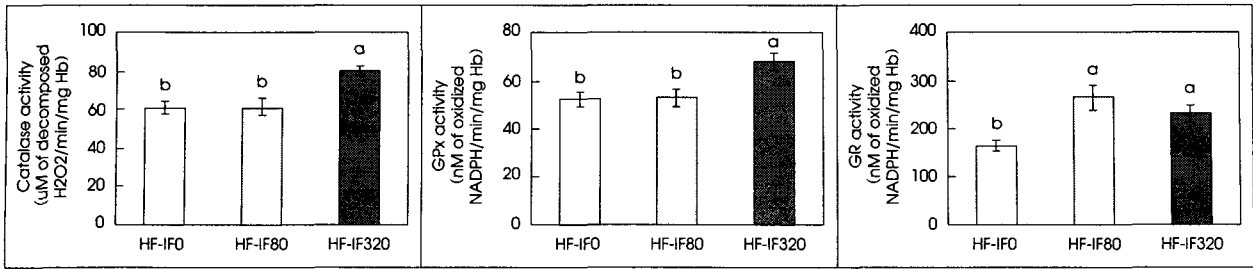


Fig. 2. The antioxidant enzymes activities in erythrocytes in rats fed high fat diets containing 0, 80, or 320 ppm isoflavone. Values are means \pm SE, n = 9. Bars with different letters are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test.

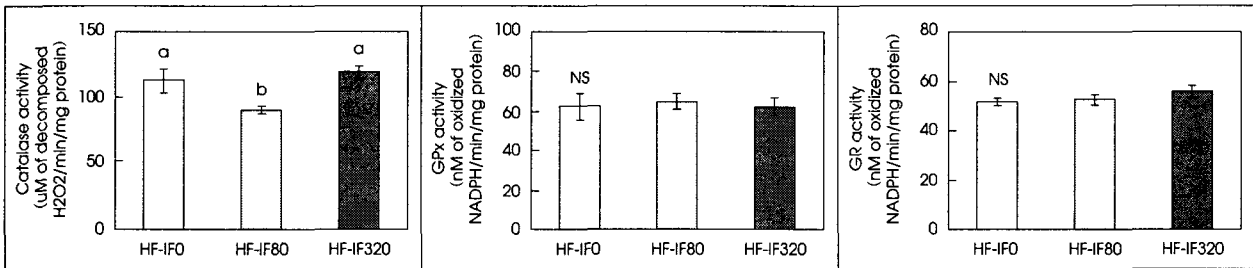


Fig. 3. The antioxidant enzymes activities in liver of rats fed high fat diets containing 0, 80, or 320 ppm isoflavone. Values are means \pm SE, n = 9. Bars with different letters are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test.

써 산화적 스트레스를 감소시키는 효소로 적혈구와 간에 주로 많이 존재한다. Glutathione peroxidase는 catalase와 마찬가지로 H₂O₂를 H₂O로 전환시켜주는 기능을 하는 동시에 lipid hydroperoxide 및 다른 organic hydroperoxide에 대해서도 자체적인 방어작용을 하는 필수적인 항산화 효소 중의 하나이다.²⁹⁾ GPx의 기능은 glutathione reductase의 기능과 함께 짝지어 이루어지는데 GR은 GPx가 기질로 사용하여 산화시킨 GSSG를 다시 GSH로 환원시켜 세포내 GSH를 공급해 주는 기능을 하는 효소이다.

본 연구에서 고지방 섭취에 따른 고지혈증 유발 단계에서의 이소플라본 320 ppm의 섭취는 적혈구 내의 catalase와 GPx의 활성도를 각각 31.2%, 30.1% 유의적으로 증가시켰는데, 이는 이소플라본이 산화적 스트레스를 억제하는 역할을 보인 것으로 해석된다.¹⁷⁾ 적혈구 내의 GR 활성도는 이소플라본 80 ppm 섭취에서도 유의적으로 (60.5%) 증가하였다. 이소플라본 첨가에 의한 적혈구 내 항산화 효소의 활성 증가는 혈액 내의 ROS에 대한 방어 작용을 증진시켜 동맥 경화와 관상동맥 질환의 위험을 감소시킬 수 있을 것으로 보인다.

4. 간 조직의 항산화 효소 활성도

간조직의 항산화효소 catalase, GPx 및 GR의 활성을 Fig. 3에 제시하였다.

간의 catalase 활성도는 이소플라본 80 ppm 첨가시 유의적으로 감소하였고, GPx 및 GR 활성도는 실험군간에

유의적인 차이가 없었다. 즉, 이소플라본 첨가는 적혈구에 서와는 달리 간 조직에서의 항산화 효소 활성을 증가시키지 못했다. Human umbilical cord의 정맥 내피 세포를 이용한 *in vitro* 실험에서 이소플라본은 세포내 GSH와 같은 항산화물질을 증가시켰는데, 이는 catalase, GPx, GR과 같은 항산화 효소의 활성을 증가시키기 때문이라고 분석된 바 있다.³⁰⁾ 그러나 rat hepatoma cell을 이용하여 daidzein의 항산화 효소계에 미치는 영향을 살펴본 Rohrdanz¹⁸⁾의 연구에서는 daidzein의 첨가가 catalase의 mRNA의 발현을 증가시켰으나 지질과산화물인 MDA의 생성 또한 증가시켜 이러한 항산화 효소의 활성 증가가 daidzein의 항산화 작용이 아닌 산화 작용에 의한 것이라 설명되었다. 본 연구에서는 고지방 섭취와 함께 이소플라본 첨가가 혈액의 산화적 스트레스는 감소시켰으나 간 조직의 산화적 방어 기능은 나타나지 않았는데, 이는 체내 항산화계에 미치는 이소플라본의 효과가 동물의 생리적 조건과 조직에 따라 또는 이소플라본의 종류와 섭취량에 따라 다르게 나타날 수 있음을 시사한 것이다. 이소플라본의 항산화 효과를 규명하기 위해서는 여러 동물의 조건에서 genistein 외에 daidzein이나 glycitein 및 이들 배당체를 이용하여 각종 조직에 따른 체계적인 연구가 필요한 것으로 사료된다.

요약 및 결론

본 연구에서는 고지방 식이섭취에 따른 고지혈증 유발단

계의 성숙한 수컷 흰쥐를 이용하여 두 수준 (80 ppm과 320 ppm)의 이소플라본의 섭취가 혈관질환 관련 요소 및 적혈구와 간의 항산화 효소계에 미치는 영향을 살펴보고자 수행되었다. 실험식이 섭취기간은 10주간으로 혈장 NO 농도, 적혈구와 간조직의 catalase, GPx 및 GR 활성도를 측정하였다. 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 고지방섭취로 인한 고지혈증 유발 단계에서 이소플라본 80 ppm과 320 ppm 첨가는 체중 증가와 식이 섭취 효율에 영향을 미치지 않았다.

2) 혈장 nitrite 농도는 이소플라본 80 ppm과 320 ppm 첨가에 의해 유의적으로 증가하였다.

3) 적혈구의 catalase 및 glutathione peroxidase 활성도는 이소플라본 320 ppm 첨가에 의해 유의적으로 증가하였으며, glutathione reductase 활성도는 이소플라본 80 ppm과 320 ppm 첨가에 의해 모두 유의적으로 증가하였다.

4) 간의 catalase 활성도는 이소플라본 80 ppm 첨가에 의해 유의적으로 감소하였으나 glutathione peroxidase와 glutathione reductase 활성도는 실험군 간에 차이가 없었다.

이상의 결과는 이소플라본의 심혈관계질환의 위험요소에 대한 개선 효과는 에스트로겐 유사 작용이외에도 혈관내 NO생성과 혈액조직의 항산화작용에 의해서 얻어짐을 분명하게 보였다. 적혈구의 항산화 효과를 얻기 위해서는 식이내 이소플라본 함량이 320 ppm이 되어야 함을 보였는데, 이는 이소플라본의 섭취량에 따라 그 효과가 달리 평가될 수 있음을 시사한다. 이소플라본의 항산화 효과는 고지혈증 뿐만 아니라 산화적인 스트레스와 관련된 노화 및 암 질환에 있어서도 긍정적인 효과를 발휘할 수 있음을 시사한다.

Literature cited

- Gilani GS, John JB, Anderson J. Phytoestrogens and Health. AOCS Press, pp.260-330, 2002
- Setchell KD, Cassidy A. Dietary isoflavones: Biological effects and relevance to human health. *J Nutr* 129 (3): 758S-767S, 1999
- Kurzer MS, Xu X. Dietary phytoestrogens. *Annu Rev Nutr* 17: 358-381, 1997
- Writing Groups for the Women's Health Initiative Investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in health postmenopausal women. Principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 288: 321-333, 2002
- Kim MS. Beneficial effect of soy isoflavone on bone loss and hyperlipidemia in ovariectomized rats. PH. D. Thesis of Graduate school. Seoul National University, Seoul, 2000
- Clarkson TB, Anthony MS, Williams JK, Honore EK, Cline JM. The potential of soybean phytoestrogens for postmenopausal hormone replacement therapy. *Proc Soc Exp Biol Med* 217: 365-368, 1998
- Kirk EA, Sutherland P, Wang SA, Chait A, Le boeuf RC. Dietary isoflavones reduces plasma cholesterol and atherosclerosis in C57BL/6 mice but not LDL receptor-deficient mice. *J Nutr* 128: 954-959, 1998
- Jang HR. The effects of soy isoflavone on the factors relating to vascular disease in ovariectomized and hyperlipidemic rats. MS Thesis of Graduate School. Seoul National University, Seoul, 2002
- Lissin LW, Cooke JP. Phytoestrogens and cardiovascular health. *Journal of the American College of Cardiology* 35: 1403-1410, 2000
- Squadrito F, Altavilla D, Squadrito G, Saitta A, Cucinotta D, Minutoli L, Deodato B, Ferlito M, Campo GM, Bova A, Caputi AP. Genistein supplementation and estrogen replacement therapy improve endothelial dysfunction induced by ovariectomy in rats. *Cardiovascular Research* 45: 454-462, 2000
- Honore EK, Williams JK, Anthony MS, Clarkson TB. Soy isoflavone enhance coronary vascular reactivity in atherosclerotic female macaques. *Fertility and Sterility* 67: 148-154, 1997
- Nestel PJ, Yamashita T, Sasahara T, Pomeroy S, Dart A, Komisaroff P, Owen A, Abbey M. Soy isoflavones improve systemic arterial compliance but not plasma lipids in menopausal and perimenopausal women. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* 17: 3392-3398, 1997
- Yamakoshi J, Piskula MK, Izumi T, Tobe K, Saito M, Kataoka S, Obata A, Kikuchi M. Isoflavone aglycon-rich extract without soy protein attenuates atherosclerosis development in cholesterol-fed rabbits. *J Nutr* 130: 1887-1893, 2000
- Peluso MR, Winters TA, Shanahan MF, Banz WJ. A cooperative interaction between soy protein and its isoflavone-enriched fraction lowers hepatic lipids in male obese Zucker rats and reduces blood platelet sensitivity in male Sprague-Dawley rats. *J Nutr* 130: 2333-2342, 2000
- Beld AW, Bots ML, Janssen JA, Pols HA, Lamberts SW, Grobbee DE. Endogenous hormones and carotid atherosclerosis in elderly man. *Am J Epidemiol* 157: 25-31, 2003
- Suzuki T, Nakamura Y, Moviya T, Sasano H. Effects of steroid hormones on vascular functions. *Microsc Res Tech* 60: 76-84, 2003
- Lee YS, Xiaowei C, Anderson J. Physiological concentrations of genistein stimulate the proliferation and protect against free radical-induced oxidative damage of MC3T3-E1 osteoblast-like cells. *Nutrition Research* 21: 1287-1298, 2001
- Rodríguez E, Ohler S, Tran-Thi QH, Kahl R. The phytoestrogen daidzein affects the antioxidant enzyme system of rat hepatoma H4IIE cells. *J Nutr* 132: 370-375, 2002
- Wiseman H, O'Reilly JD, Adlercreutz H, Mallet AI, Bowey EA, Rowland JR, Sanders T. 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
- Jenkins DJ, Kendall CW, Jackson CJ, Connelly PW, Parker T, Faulkner D, Vidgen E, Cunnane SC, Leiter LA, Josse RG. Effects of high- and low- isoflavone soyfoods on blood lipids, oxi-

- dized LDL, homocystein, and blood pressure in hyperlipidemic men and women. *Am J Clin Nutr* 76: 365-372, 2002
- 21) Griess P. Bemerkungen zu der abhandlung der H. H. Weselsky un Benedikt Ueber einige azoverbindungen. *Chem Ber* 12: 426, 1879
- 22) Aebi H. Catalase *in vitro*. *Methods Enzymol* 105: 121-126, 1984
- 23) Tappel AL. Glutathione peroxidase and hydroperoxides. *Methods Enzymol* 52: 506-513, 1978
- 24) Carlberg I, Mannervik B. Glutathione reductase. *Methods Enzymol* 113: 484-490, 1985
- 25) Ohashi Y, Kawashima S, Hirata K, Yamashita T, Ishida T, Inoue N, Sakoda T, Kurinara H, Yazaki Y, Yokoyama M. Hypotension and reduced nitric oxide-elicited vasorelaxation in transgenic mice overexpressing endothelial nitric oxide synthase. *J Clin Invest* 102: 2061-2071, 1998
- 26) Lefer AM. Nitric oxide: nature's naturally occurring leukocyte inhibitor. *Circulation* 95: 553-554, 1997
- 27) Squadrito F, Altavilla D, Morabito N, Crisafulli A, D'Anna R, Corrado F, Ruggeri P, Campo GM, Calapai G, Caputi AP, Squadrito G. The effect of the phytoestrogen genistein on plasma nitric oxide concentrations, endothelin-1 levels and endothelium dependent vailation in postmenopausal women. *Atherosclerosis* 163: 339-347, 2002
- 28) Mathew V, Hasdai D, Lerman A. The role of endothelin in coronary atherosclerosis. *Mayo Clin Proc* 71: 769-777, 1996
- 29) Mates JM, Perezgomez C, Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry* 32 (8) : 595-603, 1999
- 30) Guo Q, Rimbach G, Moini H, Weber S, Packer L. ESR and cell culture studies on free radical-scavenging and antioxidant activities of isoflavonoids. *Toxicology* 179: 171-180, 2002