

난소절제 흰쥐에 있어 붕소 보충이 지질패턴과 항산화능에 미치는 영향*

최 미 경**·강 명 화***

청운대학교 식품영양학과, ** 호서대학교 식품영양학과***

Effects of Boron Supplementation on Lipid Profiles and Antioxidant Capacities in the Ovariectomized Rats *

Choi, Mi-Kyeong**·Kang, Myung-Hwa***

Department of Human Nutrition & Food Science, ** Chungwoon University, Hongseong, Chungnam 350-701, Korea
Department of Food Science & Nutrition, *** Hoseo University, Chungnam 336-796, Korea

ABSTRACT

The purpose of this research was to investigate the effect of the boron supplementation on lipid profiles and antioxidant capacities in ovariectomized (OVX) rats. Rats were divided into 3 groups and fed diet with intake levels of boron (0.5 ppm, 50 ppm, 100 ppm) for 4 weeks. The half of rats in each group was ovariectomized and the others were sham-operated. And rats were fed same diets for 8 weeks after operation. Feed intake and weight gain were significantly increased by increasing boron intake and higher in OVX group than those in sham-operated. FER was significantly higher in OVX group than that of sham-operated. There were no significant differences in serum lipid profiles among the groups. The contents of hepatic total lipid were significantly higher in OVX group than those of sham-operated and the lowest in high-boron group. Hepatic GST activity was significantly decreased by ovariectomy and the lowest in very high-boron group. Hepatic catalase activity was the lowest in high-boron group of OVX. Hepatic TBARS level of high-boron group was the lowest in sham-operated groups. Hepatic TBARS level induced by AAPH was significantly decreased by increase of boron supplementation. Taken together, this results suggest that the boron supplementation have the potential role for improving lipid profiles and antioxidant capacities in OVX rats. (*Korean J Nutrition* 38(9) : 698~705, 2005)

KEY WORDS : boron supplementation, ovariectomized rat, lipid profile, antioxidant capacity.

서 론

과거에는 미량무기질에 대한 연구가 부족했으나 미량무기질의 양을 측정할 수 있게 되면서 최근에는 영양이나 의학적으로 미량무기질의 기능과 질병과의 관계에 대한 관심이 높아지고 있다. Pauling¹⁾은 우리 몸에는 72종의 무기질이 필요하다고 지적한 바 있으며, 실제로 인체에서는 50종 이상의 무기질이 발견되었다. 그러나 무기질의 결핍이 사망을 유발하거나 생애주기를 방해하는 것을 입증할 수 없고 생화학적 기능이 밝혀지지 않는다면 그 무기질은 필수영양소로

간주하지 않는다. 붕소 (Boron: B)는 섭취 부족이 척추동물에서 생식과 성장발달을 방해하는 것으로 밝혀져 필수영양소로 간주되고 있는 미량무기질이다.

붕소는 1920년대 초 식물의 성장에 필수적인 미량무기질로 보고된²⁾ 이후 비타민 D가 결핍된 닭에 있어 붕소의 보충이 성장과 골 강도를 강화시켰다는 Hunt와 Nielsen의 연구³⁾에 의해 동물에서도 그 필요성이 입증되기 시작하였다. 그 후 동물⁴⁻⁶⁾과 인체 실험⁷⁻¹⁰⁾에서 붕소는 골격대사, 특히 칼슘, 마그네슘, 비타민 D와 상호 작용하여 뼈의 무기질화와 그 형성에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀졌다.

이와 같은 연구 결과가 제시되면서 AIN-93^{11,12)}에서는 설치류 실험동물의 성장과 유지를 위해 보다 균형 잡힌 식이로서 다양한 영양소를 추가하면서 붕소도 새롭게 추가하였다. 인체실험을 통해서도 붕소의 무기질 대사와의 관련성, 골격영양을 위한 역할 등이 지속적으로 규명되고 있으며, 붕소에 대한 연구가 비교적 활발하여 필수영양소로서의 자료

접수일 : 2005년 9월 6일

채택일 : 2005년 11월 17일

*This work was supported by 2005 research grant of Chungwoon University.

[§]To whom correspondence should be addressed.

E-mail : mkchoi@chungwoon.ac.kr

를 확보한 미국에서는 영양섭취기준량 (dietary reference intakes)으로 붕소의 상한 섭취량 (tolerable upper intake level)을 설정해 놓았다.¹³⁾

붕소에 대한 연구로서 Nielsen 등¹⁴⁾은 폐경 후 여성에게 붕소 부족식이 후 하루 3 mg의 붕소를 보충했을 때 혈장 에스트로젠과 그의 전구체인 테스토스테론이 유의하게 증가하였고 그에 따라 칼슘의 소변 중 배설량이 유의하게 감소하였다고 보고하였다. 이와 같이 붕소가 스테로이드 호르몬에 미치는 영향이 보고 되면서 골다공증, 관절염, 심혈관계질환, 당 관련 질환 등 다양한 만성질환의 예방과 치료에 있어 붕소의 역할에 관심이 증가하고 있다.¹⁵⁾ 특히 붕소와 심혈관계질환의 관계에 관한 연구로는 붕소 보충이 혈전과 혈액응고를 저하시키고,^{16,17)} 토끼의 경우 붕소가 혈액응고를 예방했다고 한다.¹⁸⁾ Hall 등¹⁹⁾은 흰쥐에게 붕소를 보충시킨 14일 후부터 혈청 콜레스테롤과 중성지방 함량이 유의하게 감소하였다고 한다.

최근 혈중 지질 패턴의 변화 및 농도의 증가로 만성질환이 증가하는 추세이고, 체내 지질의 과량 축적은 다양한 질환의 발생과 진행을 촉진시키는 것으로 알려져 있다. 특히 폐경 이후 여성은 에스트로젠 분비가 감소하면서 혈중 지질이 급격히 증가하여 이로 인한 질환 발생이 크게 증가하기 때문에 식이로서 체내 지질과 과산화를 조절하기 위한 많은 연구들²⁰⁻²²⁾이 진행되고 있다. 선행 연구들을 고려할 때 붕소의 보충은 스테로이드 호르몬 작용을 통해 폐경 후 여성의 혈중 지질 개선에 유용한 역할을 할 것으로 생각되지만, 아직 까지 이에 대한 연구는 매우 부족한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 난소절제 흰쥐에 붕소의 보충이 혈중 지질패턴과 항산화체계에 미치는 영향을 살펴봄으로써 심혈관계질환을 중심으로 하는 만성질환의 예방과 치료를 위한 미량무기질의 효과를 규명하여 영양관리 방안을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물은 체중 약 150 g의 6주령 Sprague Dawley 중 암컷 흰쥐 (대한바이오링크, 충북)를 이용하였다. 60마리의 실험동물을 임의배치법으로 20마리씩 3군으로 나눠 정상, 고, 과다의 붕소 수준으로 조합한 실험식으로 4주간 사육하였다. 각 군별 체중에 따라 난괴법에 의해 받은 난소절제수술을 하였고 나머지 받은 대조군으로서 sham-operation을 실시한 후 다시 각 실험식으로 8주간 사육하였다.

실험식사와 탈이온수는 자유급식방법으로 급여하였다. 사

육 및 실험에 사용한 모든 기구들은 무기질의 오염을 방지하기 위하여 EDTA (ethylene diamine tetraacetic acid) 용액에, 초자기구일 경우에는 질산원액에 24시간 이상 담갔다가 탈이온수로 3번 이상 세척하고 건조기에서 습기를 제거한 다음에 사용하였다. 사육실의 환경은 온도 24 ± 2°C, 상대습도 60 ± 5%로 유지하였고, 명암은 12시간 주기로 조절하였다.

2. 실험식이

실험식은 정제식이로서 조성은 AIN-93¹¹⁾을 참고로 하였으며, 배합 구성은 Table 1과 같다. 일부 연구²³⁾에서 350 ppm의 붕소 섭취에서도 부작용이 나타나지 않았으며, 1170 ppm에서 불임이 나타났다는 보고가 있고 Krasovskii 등²⁴⁾은 체중 kg당 20 mg의 붕소를 6개월 장기 복용했을 때 독성이 나타나지 않았다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서는 AIN-93¹¹⁾의 정상 붕소 수준 0.5 ppm을 기준으로 하여 선행연구의 안전성을 고려하여 100배, 200배에 해당하는 50 ppm, 100 ppm을 고보충군, 과다보충군으로 설정하였다. 실험식이 조성 중 무기질은 붕소를 제외한 혼합물을 조제하였고, 붕소는 결정체 (boron crystalline, Aldrich, San Francisco)를 사용하였다.

3. 실험동물의 희생 및 시료 채취

식이섭취량과 체중은 매주 1회 일정 시간에 측정하였으며, 식이섭취량에 대한 오차를 최소한으로 줄이기 위하여 허실량도 측정하여 보정하였다. 12주간의 사육 종료 전 3일 동안 실험동물을 대사장에 옮겨 소변과 대변을 채취하였다. 채취한 대변과 소변은 총량을 측정하고 소변은 원심분리 하여

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

Ingredients	AB ¹⁾	HB	VHB
Corn starch	507.2597	507.2597	507.2597
Casein	200.0000	200.0000	200.0000
Sucrose	100.0000	100.0000	100.0000
Soybean oil	70.0000	70.0000	70.0000
Cellulose	50.0000	50.0000	50.0000
Mineral mixture (B free) ²⁾	35.0000	35.0000	35.0000
Vitamin mixture ³⁾	10.0000	10.0000	10.0000
L-Cystine	3.0000	3.0000	3.0000
Choline bitartrate	2.5000	2.5000	2.5000
T-butylhydroquinone	0.0140	0.0140	0.0140
Calcium phosphate	6.8770	6.8770	6.8770
Calcium carbonate	7.4200	7.4200	7.4200
Potassium phosphate	0.0000	0.0000	0.0000
Potassium citrate	7.9293	7.9293	7.9293
Boron	0.0005	0.0500	0.1000

1) AB, HB, and VHB are the simpler form for adequate boron, high boron, and very high boron, respectively

2) AIN-93 mineral mixture (boron free)

3) AIN-93 vitamin mixture

상등액을 분리하였다. 사육 종료 후 12시간을 절식시키고 ethyl ether로 마취시킨 후 heart puncture에 의해 혈액과 간장을 채취하였다. 채취한 혈액은 혈청을 분리하고 간장과 함께 분석할 때까지 -70°C 에서 보관하였다.

4. 시료의 분석

1) 일반 성분 및 지질함량 분석

혈청 총콜레스테롤, 중성지질, HDL-콜레스테롤 함량은 효소법에 의한 kit를 이용하여 측정하였으며, LDL-콜레스테롤은 Friedwald 법²⁵⁾에 의해 계산하였다. 혈청 총콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤 함량을 이용하여 동맥경화지수를 산출하였다. 간장은 Folch 법²⁶⁾으로 지질을 추출하여 총지질 함량을 측정하고, 추출한 지질 중의 콜레스테롤과 중성지질 함량을 혈청 지질 분석과 같은 방법으로 측정하였다.

2) 항산화효소활성 측정

간조직에 0.1 mM PBS를 가하여 homogenizer로 균질화한 후, 3500 rpm에서 30분간 원심분리하여 상등액을 얻었다. 이 상등액을 이용하여 Simons와 Johnson의 방법²⁷⁾에 따라 glutathione (GSH) 함량을 측정하고, Johansson과 Borg 법²⁸⁾에 의해 catalase 활성을 측정하였으며, Flohe의 방법²⁹⁾을 이용하여 glutathione peroxidase 활성을 측정하였다. GST (glutathione-S-transferase) 활성은 원액의 간 균질액을 사용하여 Habig 등의 방법³⁰⁾에 의해 측정하였다.

3) 간조직의 지질과산화도 및 산화에 의한 감주성 측정

간조직의 지질과산화물도는 Buege와 Aust의 방법³¹⁾에 근거한 2-thiobarbituric acid (TBA)법을 사용하여 간조직 내 malondialdehyde (MDA) 함량으로 환산하기 위해 표준 시약으로 1, 1, 3, 3-tetraethoxypropane을 사용하여 1 mg

protein의 양에 따라 생성된 TBARS 값으로 나타내었다.

균질화 된 간조직의 단백질양³²⁾을 2 mg/mL로 맞춘 후 5 mM AAPH (2, 2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride) 용액을 가하여 37°C water bath (Memmert Instrument Co., Germany)에서 2시간 동안 반응 시킨 후 Buege와 Aust의 방법³¹⁾에 근거한 2-thiobarbituric acid (TBA)법을 사용하여 간조직 내 malondialdehyde (MDA) 함량으로 환산하기 위해 표준시약으로 1, 1, 3, 3-tetraethoxypropane을 사용하여 1 mg protein의 양에 따라 생성된 TBARS 값으로 나타내었다.

5. 통계분석

본 연구를 통해 얻어진 모든 결과는 SAS program을 이용하여 평균과 표준편차를 구하였다. 난소절제 유무와 보론의 섭취수준이 종속변수에 미친 영향은 2×3 ANOVA test를 실시하였고, 유의한 영향이 나타났을 때 각 군별 차이는 Duncan's multiple range test로 $\alpha = 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 체중증가량, 사료섭취량 및 사료효율

난소절제와 붕소의 보충수준에 따른 체중증가량, 사료섭취량, 사료효율에 대한 결과는 Table 2와 같다. 사육 전 체중과 난소절제 전 4주간의 체중증가량은 각 군간 유의한 차이가 없었다. 난소절제 후 체중증가량과 사료섭취량은 난소절제군이 비절제군보다 유의하게 높았으며, 사료섭취량은 난소 비절제, 절제군 모두 보론 과다보충군이 높았다. 사료효율은 난소 절제군이 비절제군보다 유의하게 높았다.

Table 2. Body weight gain, feed intake, and feed efficiency ratio of the experimental groups

Groups		Initial body weight (g)	Body weight gain (g/wk, for 4 wks)	Body weight gain (g/wk, for 8 wks)	Feed intake (g/day, for 8 wks)	FER ¹⁾ (for 8 wks)
B (ppm)						
Sham operation	0.5	125.20 ± 5.11 ²⁾	17.78 ± 2.74	4.01 ± 1.35 ^{3b)}	12.66 ± 0.08 ^{d)}	0.05 ± 0.02 ^{b)}
	50	125.04 ± 4.37	18.40 ± 1.89	4.73 ± 0.85 ^{b)}	12.91 ± 0.28 ^{cd)}	0.05 ± 0.01 ^{b)}
	100	125.25 ± 4.11	17.83 ± 1.90	5.19 ± 1.45 ^{b)}	13.17 ± 0.63 ^{c)}	0.06 ± 0.02 ^{b)}
Ovariectomy	0.5	124.98 ± 5.26	16.39 ± 2.20	12.95 ± 2.56 ^{a)}	15.07 ± 0.36 ^{ab)}	0.12 ± 0.03 ^{a)}
	50	125.85 ± 5.86	17.03 ± 2.34	12.69 ± 4.20 ^{a)}	14.73 ± 0.63 ^{b)}	0.12 ± 0.04 ^{a)}
	100	125.04 ± 5.42	16.75 ± 1.82	12.39 ± 2.44 ^{a)}	15.35 ± 0.86 ^{a)}	0.12 ± 0.02 ^{a)}
Operation		N.S. ⁴⁾	N.S.	p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001
B		N.S.	N.S.	N.S.	p < 0.05	N.S.
Operation × B		N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

1) Feed efficiency ratio = body weight gain (g/day)/feed intake (g/day)

2) Mean ± standard deviation

3) Values with different superscripts within a column are significantly different at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test

4) Not significant

폐경 후 체중증가 현상을 관찰하기 위하여 난소절제 후 체중증가량과 사료섭취량의 변화를 살펴보았을 때 Kalu 등³³⁾은 난소절제 시 과식하여 체중이 증가하였다고 보고하였으며, 난소절제로 인한 에스트로겐 분비저하는 식이섭취량 변화 없이 체중증가 자체를 유도한다는 보고^{34,35)}도 있다. 본 연구에서는 성장기의 6주령 쥐를 4주간 사육하였을 때 군별 차이 없이 주별 16~18 g의 급격한 체중증가를 보였으나 성장이 완만해지는 10주령이 되는 4주 이후에 난소 비절제군은 주별 5 g 정도의 체중증가를 보인 반면 난소절제군은 12 g의 급격한 체중증가를 유지하였다. 이와 같은 체중증가는 사료섭취량이 난소절제군에서 유의하게 높은 결과를 통해 식이섭취 증가가 체중증가에 크게 기여한 것으로 생각된다.

2. 혈청과 간장의 지질패턴

난소절제와 붕소의 보충수준에 따른 혈청 지질패턴에 대한 결과는 Table 3과 같이 각 구간 유의한 차이가 없었다. 난소절제와 붕소의 보충수준에 따른 간장의 지질패턴에 대

한 결과는 Table 4와 같다. 간장의 무게는 난소 절제군이 비절제군보다 유의하게 높았으며, 총 지질 함량은 난소 절제군이 비절제군보다 높았고 붕소 고보충군이 적정군이나 과다보충군보다 낮았다.

여성은 폐경 후 관상동맥질환 발병율이 증가하는데, 이는 혈중 지질 농도의 변화를 초래하는 에스트로겐으로부터 기인하는 것으로 알려져 있다.³⁶⁾ 즉 에스트로겐의 감소는 총콜레스테롤, 중성지질, LDL-콜레스테롤을 증가시키고 HDL-콜레스테롤을 감소시킴으로써 심혈관질환을 증가시키는 것으로 보고 되었다.³⁷⁾

붕소의 다양한 생리기능 중 심혈관계질환과의 관계를 살펴보는 연구들이 제시되고 있다. 붕소 보충으로 혈전과 혈액응고가 저하되었으며¹⁷⁾ 토끼에 있어 혈액응고 결손이 예방되었고¹⁸⁾ 흰쥐에 있어 혈청 콜레스테롤과 중성지질 함량이 유의하게 감소하였다고 한다.¹⁹⁾ 이와 같은 연구결과를 설명할 수 있는 연구로서 Nielsen 등⁷⁾은 폐경 후 여성에게 붕

Table 3. Serum lipids of the experimental groups (unit: mg/dL)

Groups		Total cholesterol	Triglyceride	HDL-cholesterol	LDL-cholesterol	AI ¹⁾
B (ppm)						
Sham operation	0.5	82.20 ± 21.14 ²⁾	47.00 ± 7.21	52.00 ± 10.44	20.80 ± 21.94	0.61 ± 0.41
	50	75.80 ± 15.72	55.40 ± 19.96	48.60 ± 12.14	16.12 ± 5.32	0.57 ± 0.14
	100	74.80 ± 13.48	52.80 ± 5.54	48.60 ± 12.14	19.04 ± 25.05	1.02 ± 0.60
Ovariectomy	0.5	99.00 ± 26.93	58.00 ± 18.75	46.40 ± 17.11	41.00 ± 16.36	1.23 ± 0.57
	50	77.67 ± 5.85	44.83 ± 8.13	47.17 ± 6.94	21.53 ± 5.79	0.66 ± 0.17
	100	91.00 ± 23.36	59.00 ± 16.82	65.00 ± 15.89	19.48 ± 9.63	0.50 ± 0.18
Operation		N.S. ³⁾	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
B		N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Operation × B		N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

1) Atherogenic index = (total cholesterol - HDL-cholesterol) / HDL-cholesterol
 2) Mean ± standard deviation
 3) Not significant

Table 4. Hepatic lipid profiles of the experimental groups

Groups		Liver weight (g)	Total lipid (g/g)	Total cholesterol (mg/g)	Triglyceride (mg/g)
B (ppm)					
Sham operation	0.5	4.40 ± 0.40 ^{1) b2)}	0.31 ± 0.02 ^{ab)}	9.63 ± 1.36	41.88 ± 5.74
	50	4.77 ± 0.25 ^{ab)}	0.16 ± 0.08 ^{c)}	11.83 ± 1.89	59.50 ± 12.63
	100	4.65 ± 0.57 ^{ab)}	0.27 ± 0.10 ^{abc)}	11.17 ± 2.77	60.31 ± 30.94
Ovariectomy	0.5	5.02 ± 0.29 ^{ab)}	0.37 ± 0.10 ^{a)}	10.89 ± 2.18	85.97 ± 34.07
	50	5.17 ± 0.56 ^{a)}	0.23 ± 0.14 ^{bc)}	11.87 ± 1.92	87.26 ± 33.93
	100	5.34 ± 0.71 ^{a)}	0.39 ± 0.08 ^{a)}	10.17 ± 0.91	51.16 ± 16.13
Operation		p < 0.01	p < 0.05	N.S. ³⁾	N.S.
B		N.S.	p < 0.01	N.S.	N.S.
Operation × B		N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

1) Mean ± standard deviation
 2) Values with different superscripts within a column are significantly different at α = 0.05 by Duncan's multiple range test
 3) Not significant

소 부족식이 후 하루 3 mg의 붕소를 보충했을 때 혈장 에스트로겐과 그의 전구체인 테스토스테론이 유의하게 증가하였으며, 그 기전을 설명하기 위해서는 지속적인 연구가 필요하다 하겠다. 따라서 붕소 보충은 폐경 후 저하되는 에스트로겐 작용을 보완하여 심혈관계질환의 발생을 줄일 수 있는 것으로 추정할 수 있다.¹⁰⁾

Naghii와 Samman³⁸⁾은 본 연구의 보충 수준과 유사한 2 mg/day의 붕소를 4주간 보충하였을 때 혈장 HDL₃-콜레스테롤은 유의하게 감소하였으나 HDL-콜레스테롤, 총콜레스테롤, 중성지질은 유의한 차이가 없었다고 보고하였다. 그 후 연속되는 연구³⁹⁾에서 8명의 정상 성인 남자에게 하루 10 mg의 붕소를 4주간 보충했을 때 혈장 지질패턴에 유의한 변화가 없었다고 하였다. 8주간 붕소를 보충한 본 연구에서도 혈청 지질패턴에는 변화가 없었으나 간장의 총지질 함량은 50 ppm에서 유의하게 감소하였고 100 ppm의 붕소 보충군은 적정 군과 유의한 차이를 보이지 않아 붕소 고보충군에서 간장의 총 지질 저하효과가 나타났다.

3. 간조직의 항산화효소 활성

본 연구에서는 총지질의 저하효과를 보인 간조직에서 붕소 보충이 항산화효소 활성과 지질과산화도에 미치는 영향을 살펴보았으며, 항산화효소 활성에 대한 결과는 Table 5와 같다. GSH 함량과 GSH-Px 활성은 난소절제와 보론의 보충수준에 따른 각 군간 유의한 차이가 없었다. GST 활성은 난소 절제군이 비절제군 보다 낮았고 붕소의 과다보충군이 적정 및 고보충군보다 유의적으로 낮았다. Catalase 활성은 난소 절제군에서 붕소 과다보충군이 적정 및 고보충군보다 유의적으로 낮게 나타났다.

폐경 후 여성의 관상동맥성 질환의 발병율이 증가하는 것은 혈중 지질의 변화와 함께 LDL 산화가 중요한 인자로 알

려져 있으며, 이와 같은 결과는 폐경 후 여성에게 호르몬 투여⁴⁰⁾나 식물성 에스트로겐이라 불리우는 이소플라본을 투여했을 때^{20,41)} 혈액 중 지질함량이 개선되었으며 LDL 산화가 저하되었다는 연구를 통해 입증되었다. 본 연구에서도 난소 절제 시 GST 활성이 감소한 것은 산화적 손상으로 발생한 지질과산화물과 GSH의 결합을 촉진시키는데 사용되어 낮아졌거나 궁극적으로 난소 절제로 인한 에스트로겐 생성 저하가 항산화능을 저하시킨 것으로 사료된다. 따라서 폐경 후 여성에서 혈중 지질 함량이나 항산화능을 개선할 수 있는 적극적인 대처나 이에 대한 활발한 연구가 요구된다.

붕소 보충에 따른 항산화효소 변화를 보면 붕소 보충에 따라 GSH와 GSH-Px 활성은 유의한 차이가 없었으나 붕소의 과다보충 시 GST와 catalase 활성이 적정군보다 오히려 유의하게 감소하였다. 그러나 붕소의 고보충군은 적정군과 유의한 차이는 없었지만 효소 활성이 증가한 것으로 나타났다. 특히 catalase 활성은 붕소의 보충이 난소절제와 상호작용 하여 폐경 이후로 해석할 수 있는 난소 절제군에서 유의한 영향을 미치는 것으로 나타났다. Catalase는 H₂O₂를 H₂O로 환원시키거나 methanol, ethanol, formic acid 및 phenol과 같은 hydrogen donor의 산화에 관여하는 효소로서 지방산화에 의해 생성된 유리기를 제거하는 것으로 알려져 있다.⁴²⁾ 본 연구에서 50 ppm의 붕소 보충 시 유의하지는 않았지만 효소 활성이 증가되었으며 특히, 난소절제 시 catalase 활성 증가로 과산화수소를 무독화 하는데 영향을 미친 것으로 사료된다.

4. 간조직의 지질과산화도 및 산화에 의한 감주성

난소절제와 붕소의 보충수준에 따른 간조직의 지질과산화물 생성량을 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. 간 조직의 과산화물의 생성정도는 난소 비절제군에서 붕소 고보충군이 적

Table 5. Antioxidative enzyme activities and GSH contents in hepatic cytosol of the experimental groups

Groups		GSH ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	GST (mU/mg protein/min)	GSH-Px (nmol/NADPH oxidized/min)	Catalase (mU/mg protein)
B (ppm)					
Sham operation	0.5	315.90 \pm 35.04 ¹⁾	0.05 \pm 0.01 ^{ab2)}	9.00 \pm 1.25	192.70 \pm 37.86 ^{cd}
	50	395.13 \pm 97.02	0.05 \pm 0.01 ^c	13.22 \pm 4.33	229.04 \pm 12.35 ^{bc}
	100	336.74 \pm 13.24	0.04 \pm 0.01 ^{bc}	11.06 \pm 0.62	231.95 \pm 23.16 ^{bc}
Ovariectomy	0.5	325.38 \pm 13.09	0.04 \pm 0.01 ^{ab}	11.38 \pm 0.91	251.37 \pm 40.98 ^{ab}
	50	309.49 \pm 18.68	0.04 \pm 0.01 ^b	11.13 \pm 1.06	280.75 \pm 19.25 ^c
	100	352.09 \pm 29.55	0.03 \pm 0.01 ^c	10.48 \pm 1.04	175.86 \pm 35.81 ^d
Operation		N.S. ³⁾	p < 0.01	N.S.	N.S.
B		N.S.	p < 0.01	N.S.	p < 0.05
Operation \times B		N.S.	N.S.	N.S.	p < 0.01

1) Mean \pm standard deviation

2) Values with different superscripts within a column are significantly different at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test

3) Not significant

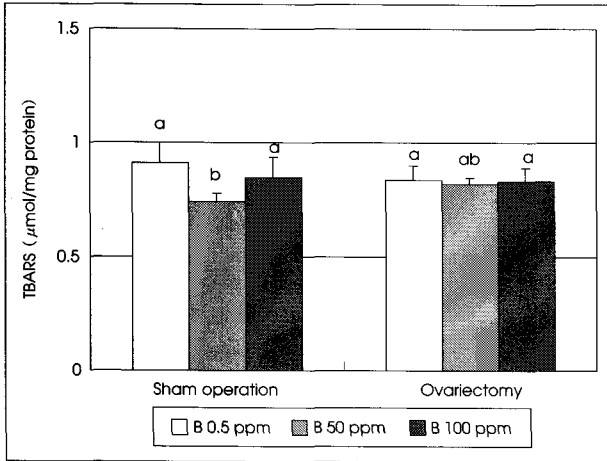


Fig. 1. Effect of boron supplementation on hepatic lipid peroxidation in ovariectomized rats. Different alphabets in bars are significantly different at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test.

정준이나 과다보충군보다 유의적으로 낮았다.

생체 내 과산화물 생성의 원인이 여러 가지 독성화합물과 약물에 의한 간 손상 때문이라는 학설이 인정되고 이러한 것들은 세포내 산화 스트레스, 즉 free radical 생성 증가 및 항산화 효과의 감소에 의한 것으로 보고되고 있다.⁴³⁾ 특히 지질은 Fe²⁺ 등과 같은 금속이온의 존재 하에서 peroxy radical 또는 alkoxy radical로 산화 또는 환원되는 과정에서 지질과산화물을 증가시키는 요인으로 지적되고 있다.⁴³⁾

붕소가 지질과산화물의 생성에 미치는 영향에 대한 연구에서 Nielsen 등¹⁴⁾은 폐경 후 여성에 있어 하루 3 mg의 붕소를 보충했을 때 17-β estradiol과 estradiol의 전구체인 testosterone이 유의하게 증가하여 붕소가 지질과산화물의 생성에 영향을 미칠 가능성을 제시하였다. 이후 Samman 등³⁹⁾은 흰쥐에게 2 mg/day의 붕소를 4주간 보충했을 때 혈장 estradiol과 testosterone 농도는 증가하였으나 LDL 산화와 MDA 생성에는 유의한 변화가 없었다고 보고하였다. 본 연구에서는 붕소 보충에 따른 호르몬 변화를 관찰하지는 않았지만 간조직의 TBARS 함량이 50 ppm 붕소군에서 가장 낮아 지질과산화물의 생성이 억제된 결과를 보였다.

AAPH는 수용성 계열에서 열수 반응에 의해 peroxy radical을 발생하여 과산화지질 생성량을 증가시키는 산화 촉진제이다.⁴⁴⁾ 붕소 보충수준에 따른 흰쥐의 간조직을 AAPH로 산화를 유도시킨 후 간조직에 생성된 과산화물 함량을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. AAPH 유도 산화된 간조직의 지질과산화물의 생성은 붕소 보충수준 증가에 따라 감소하였으며 특히, 과다보충군이 적정군이나 고보충군보다 유의하게 낮았다. 일반적인 상태에서는 고보충군의 TBARS가 유의하게 낮았으나 AAPH 유도 산화된 상태에서는 과다보충

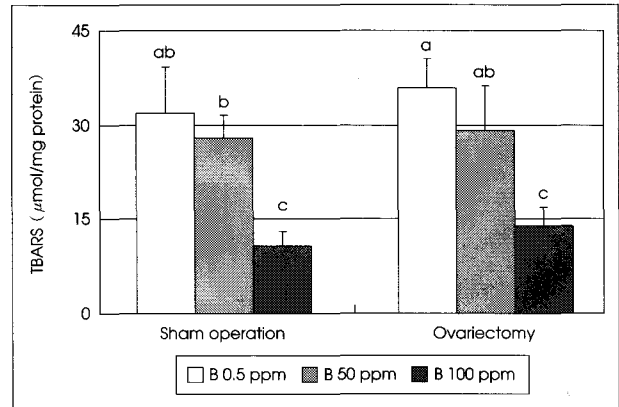


Fig. 2. Effect of boron supplementation on hepatic lipid peroxidation induced by AAPH in ovariectomized rats. Different alphabets in bars are significantly different at $\alpha = 0.05$ by Duncan's multiple range test.

군의 TBARS가 낮은 결과는 보다 높은 산화상태에서는 고농도의 붕소가 지질과산화물 생성에 대한 억제효과를 갖는 것으로 해석된다. 최근 다수의 연구결과 참깨 리그난 중 sesamol을 급여 받은 흰쥐의 간조직 중 AAPH에 의한 산화 유도 시 지질과산화물이 유의적으로 억제된 것으로 보고된 바 있고⁴⁵⁾ sesaminol 또한 같은 종류의 산화제인 2, 2'-azobis (2,4-dimethylvaleronitrile; AMVN)에 의한 산화를 억제시켜 peroxy radical에 의한 과산화지질 생성량을 억제시킨 것으로 보고되었다.⁴⁴⁾ 일반적으로 금속 이온은 산화를 촉진시킨다고 알려져 있으나⁴²⁾ 붕소는 장에서 붕산 (BH₃O₃)의 형태로 흡수되어 체내 존재하기 때문에 다른 무기이온들과는 달리 산화 촉진 작용은 일어나지 않은 것으로 생각된다. 그러나 이에 대한 정확한 결론과 본 연구에서 나타난 붕소의 지질과산화물의 생성 및 산화 감수성 저하효과를 설명하기 위해서는 앞으로 지속적이고 세부적인 기전연구가 요구된다.

요약 및 결론

난소절제 흰쥐에 있어 붕소의 보충이 혈중 지질패턴과 항산화체계에 미치는 영향을 살펴보고자 적정 (0.5 ppm), 고 (50 ppm), 과다 (100 ppm)의 붕소 보충수준에 따라 4주간 사육하고 난소절제 후 다시 8주간 사육한 후 혈청과 간장의 지질패턴, 간장의 항산화효소 활성 및 지질과산화물 생성과 산화에 의한 감수성을 비교, 분석한 결과는 다음과 같다. 난소절제 전 4주간의 체중증가량은 각 군간 유의한 차이가 없었으나 난소절제 후 체중증가량은 난소 절제군이 유의하게 높았으며, 사료섭취량은 난소 절제군이 비절제군보다 높았고 난소 비절제, 절제군 모두 붕소 과다보충군이 유

의하게 높았다. 사료효율은 난소 절제군이 비절제군 보다 유의하게 높았다. 난소절제와 붕소의 보충수준에 따른 혈청 지질 함량은 각 군간 유의한 차이가 없었다. 간장의 총지질 함량은 난소 절제군이 비절제군보다 높았고 붕소 고보충군이 적정군이나 과다보충군보다 유의하게 낮았다. 간조직의 GSH 함량과 GSH-Px 활성은 난소절제와 보론의 보충수준에 따른 각 군간 유의한 차이가 없었다. GST 활성은 난소 절제군이 비절제군 보다 낮았으며 붕소 과다보충 시 유의하게 감소하였다. Catalase 활성은 난소 절제군에서 붕소 과다보충군이 적정 및 고보충군보다 유의하게 낮았다. 간조직의 TBARS 함량은 난소 비절제 군에서 붕소 고보충군이 적정군이나 과다보충군보다 유의하게 낮았으며, AAPH로 산화 유도된 간조직의 TBARS 함량은 과다보충군이 유의하게 감소하였다. 이상의 연구결과를 종합할 때 50 ppm의 붕소 보충 시 간조직의 총지질 함량과 TBARS 함량이 감소하고 100 ppm 보충 시 간조직의 GST 및 catalase 활성과 AAPH로 산화 유도된 간조직의 TBARS 함량이 유의하게 감소되어 붕소 보충이 과산화 지질 생성 억제와 함께 항산화 효소 반응에 관여하는 것으로 나타났다.

Literature cited

- Pauling L. Fifty years of progress in structural chemistry and molecular biology. *Daedalus* 99: 988-1014, 1970
- Warrington K. The effect of boric acid and borax on the broad bean and certain other plants. *Ann Bot* 37: 629-672, 1923
- Hunt CD, Nielsen FH. Interaction between boron and cholecalciferol in the chick. In: McHowell J, Gawthorne JH, White CL. eds. Trace elements in man and animals. pp.597-600. Australian Academy of Science Canberra, Australia, 1981
- Elliot MA, Edwards HM. Studies to determine whether an interaction exists among boron, calcium, and cholecalciferol on the skeletal development of broiler chickens. *Poult Sci* 71 (4): 677-690, 1992
- Wilson JH, Ruszler PL. Effects of boron on growing pullets. *Biol Elem Res* 56 (3): 287-294, 1997
- Chapin RE, Ku WW, Kenney MA, McCoy H. The effects of dietary boric acid on bone strength in rats. *Biol Trace Elem Res* 66 (13): 395-399, 1998
- Nielsen FH, Gallagher SK, Johnson LK, Nielsen EJ. Boron enhances and mimics some effects of estrogen therapy in postmenopausal women. *J Trace Elem Exp Med* 5: 237-246, 1992
- Meacham SL, Taper LJ, Volpe SL. Effect of boron supplementation on blood and urinary calcium, magnesium, and phosphorus, and urinary boron in athletic and sedentary women. *Am J Clin Nutr* 61: 341-345, 1995
- Hunt CD, Herbel JL, Nielsen FH. Metabolic responses of postmenopausal women to supplemental dietary boron and aluminum during usual and low magnesium intake: boron, calcium, and magnesium absorption and retention and blood mineral concentrations. *Am J Clin Nutr* 65: 803-813, 1997
- Volpe SL, Taper LJ, Meacham S. The relationship between boron and magnesium status and bone mineral density in the human: a review. *Magnes Res* 6: 291-296, 1993
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American institute of nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 123: 1939-1951, 1991
- Reeves PG. Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. *J Nutr* 127 (5): 838S-841S, 1997
- Food and Nutrition Board. Institute of Medicine. Dietary reference intakes. National Academy Press, Washington D.C., 2001
- Nielsen FH, Hunt CD, Mullen LM, Hunt JR. Effect of dietary boron on mineral, estrogen, and testosterone metabolism in postmenopausal women. *FASEB J* 1: 394-397, 1987
- Naghill M, Samman S. The role of boron in nutrition and metabolism. *Progress Food Nutrition Sci* 17: 331-349, 1993
- Knabb RM, Kettner CA, Timmermans PBMWM, Reilly TM. In vivo characterization of a new synthetic thrombin inhibitor. *Thromb Haemostas* 67: 56-59, 1992
- Tapparelli C, Metternich R, Ehrhardt C, Zurini M, Claeson G, Scully MF, Stone SR. In vitro and in vivo characterization of a neutral boron-containing thrombin inhibitor. *J Biol Chem* 268: 4734-4741, 1993
- Elsair J, Merad R, Denine M, Reggabi M, Alamir B, Benali S, Azzouz M, Khelfat K. Boron as a preventive antidote in acute and subacute fluoride intoxication in rabbits: Its action on fluoride and calcium-phosphorus metabolism. *Fluoride* 13: 129-138, 1980
- Hall HI, Spilvogel BF, Griffin TS, Docks EL, Brotherton RJ. The effects of boron hypolipidemic agents on LDL and HDL receptor binding and related enzyme activities of rat hepatocytes, aorta cells, and human fibroblasts. *Res Comm Chem Pathol Pharmacol* 65: 297-317, 1989
- Kim DY, Jung SH, Lee JH, Park JY, Yoon S, Yang JY, Kang HS, Ann ES. Effects of a combined treatment of isoflavone diet and aerobic exercise on blood lipids profiles, nitric oxide, and paraoxonase in ovariectomized rats. *Korean J Exercise Nutrition* 8: 355-360, 2004
- Kim WY, Kim MH. The change of lipid metabolism and immune function caused by antioxidant material in the hypercholesterolemic elderly women in Korea. *Kor J Nutr* 38: 67-75, 2005
- Lim HJ, Cho KH, Choue R. The effects of functional tea (Mori Folium, Lycii Fructus, Chrysanthemi Flos, Zizyphy Fructus, Sesamum Semen, Raphani Semen) supplement with medical nutrition therapy on the blood lipid levels and antioxidant status in subjects with hyperlipidemia. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 42-56, 2005
- Weir RJ, Fisher RS. Toxicologic studies on borax and boric acid. *Toxicol Appl Pharmacol* 23: 351-364, 1972
- Krasovskii GN, Varshavskaya SP, Borisov AI. Toxic and gonadotropic effects of cadmium and boron relative to standards for these substances in drinking water. *Environ Health Perspect* 13: 69-75, 1976
- Friedwald WT, Levy RT, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without

- the use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 499-502, 1972
- 26) Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-509, 1957
 - 27) Simons SS, Johnson DF. Reaction of O-phthal-aldehyde and thiols with primary amines: Fluorescence properties of 1-alkyl (and aryl) rho-2-alkylisoindoles. *Ann Biochem* 90: 705-725, 1978
 - 28) Johansson LH, Borg LA. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. *Anal Biochem* 174: 331-336, 1988
 - 29) Flohe L. Determination of glutathione peroxidase. CRC Handbook of free radicals and antioxidations in biomedicine, pp.281-286, 1992
 - 30) Habig WH, Pabst MP, Jakoby WB. Glutathione S-transferase. *J Biol Chem* 249: 7130-7139, 1974
 - 31) Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymology* 52: 302-306, 1978
 - 32) Winster AL, Minchin FR. Modification of the Lowry assay to measure proteins and phenols in covalently bound complexes. *Anal Biochem* 346: 43-48, 2005
 - 33) Kalu DN, Liu CC, Hardin RR, Hollis BW. The aged rat model of ovarian hormone deficiency bone loss. *Endocrinology* 124: 7-16, 1989
 - 34) Lee YS, Kim EM. Effect of ovariectomy and calcium intake on femur and lumbar compositions and bone related factors in adults rats. *Kor J Nutr* 34: 532-540, 2001
 - 35) O'Loughlin PD, Morris HA. Oophorectomy acutely increases calcium excretion in adult rats. *J Nutr* 133: 2277-2280, 2003
 - 36) Barrett-Connor E, Bush TL. Estrogen and coronary heart disease in women. *J Am Med Assoc* 265: 1861-1867, 1991
 - 37) Haddock BL, Hopp HP, Mason JJ, Blix G. The effect of hormone replacement therapy and exercise on cardiovascular disease risk factors in postmenopausal women. *Sports Med* 29: 39-49, 2000
 - 38) Naghii MR, Samman S. The effect of boron on plasma testosterone and plasma lipids in rats. *Nutr Res* 17: 523-532, 1997
 - 39) Samman S, Naghill MR, Lyons Wall PM, Verus AP. The nutritional and metabolic effects of boron in humans and animals. *Biol Trace Elem Res* 66: 227-235, 1998
 - 40) Min YK, Jang HC, Lee KW, Han IK, Kim CJ. The effect of hormone replacement therapy for 2 months on serum lipids and apolipoprotein (a) levels in postmenopausal women. *Kor J Intern Med* 44: 238-247, 1993
 - 41) Lee JM, Hong SJ, Lee MJ, Yoon S. The effects of isoflavone supplementation on serum PSA, lipid profile, antioxidant and immune system in postate cancer patients. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1294-1301, 2004
 - 42) Johansson LH, Borg LA. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. *Analytical Biochem* 174: 331-336, 1988
 - 43) Rulido R, Bravo L, Saura-Calixto F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing antioxidant power assay. *J Agric Food Chem* 48: 3396-3402, 2000
 - 44) Kang MH, Katsuzaki H, Osawa T. Inhibition of 2, 2', azobis (2, 4-dimethylvaleronitrile)-induced lipid peroxidation by sesaminols. *Lipids* 33: 1031-1036, 1998
 - 45) Lee MS, Kim HW, Bang SW, Kang MH. Antioxidative effects and its metabolites in rats fed sesamol. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 21-26, 2005