

방사선 조사가 체내 아스코베이트(비타민 C)농도에 미치는 영향

경상대학교 의과대학 치료방사선과학교실, 소아과학교실* 경상대학교 암연구소

채 규 영 · 윤 회 상*

= Abstract =

Effect of Radiotherapy on the Ascorbate (Vitamin C) Levels in Whole Blood and Plasmas

Gyu Young Chai, MD. and Sang Yoon, M.D.*

Department of Therapeutic Radiology and Pediatrics*, Gyeongsang National University, College of Medicine, Gyeongsang Institute of Cancer Research, Chinju, Korea

The role of ascorbate as an antioxidant in the prevention and cure of disease that result from free radicals has been of considerable interest and controversy lately.

As an antioxidant, we can expect it to protect against radiation damage caused by free radicals that are produced when radiation, especially sparsely ionizing radiation, interacts with living tissues. The plasma and whole blood concentration of ascorbate was analyzed before and just after the radiation therapy for the purpose of estimating the consumption amount of ascorbate during radiotherapy. Whole blood ascorbate was decreased from 1.82 mg/dl to 1.58 mg/dl, plasma ascorbate was decreased from 1.13 mg/dl to 1.08 mg/dl, and urine ascorbate was decreased from 9.33 mg/dl to 6.96 mg/dl after radiotherapy. Although the difference was not significant statistically, further human study should be followed to define the role of ascorbate as a radioprotector.

Key Words: Ascorbate, Radioprotector, Radiotherapy.

서 론

엑스선 또는 감마선과 같은 전리방사선에 의한 생물 화학적 작용은 그 대부분이 물분자의 전리에 의해 발생 되는 free radical에 의한 것임은 이미 잘 알려진 사실이다^{1,2}. Free radical은 높은 전자 친화력 때문에 분자 구조의 화학결합에 쉽게 손상을 가할 수 있다. Free radical은 전리방사선 뿐만 아니라 흡연과 같은 다른 여러가지 자극에 의해서도 생성되며 이렇게 형성된 free radical은 인체내에서 여러 형태의 생화학적 반응을 일으키고 많은 경우 인체에 유해한 병리적 현상을 유발한다.

한편 신체는 이러한 독성물질의 생성에 대해 다양한 방호기제를 형성하고 있는데 그러한 방호기제의 많은 부분을 소위 free radical scavenger가 담당하고 있다.

Free radical scavenger는 크게 효소, 지용성 화합물, 수용성 화합물, 고분자 항산화물질로 분류된다. 효소에 속하는 것으로는 superoxide dismutase, GSH peroxide등이 대표적이고 지용성 화합물로는 비타민 E, 베타카로틴 등이 있다. 수용성 화합물에 속하는 scavenger는 아스코베이트 포도당 등이 있고 고분자 항산화물에 속하는 것으로는 알부민 등을 그 예로 들 수 있다.

아스코베이트는 잘 알려져 있는대로 체내에서 합성

이 되지 않는 수용성 화합물로서 항산화 작용이 있어³⁻⁵⁾ 다량의 free radical이 형성되는 방사선 치료 환자에서 scavenger로서의 역할이 중요할 가능성이 있다.

이에 저자는 방사선 치료전후 전혈, 혈장, 소변내 아스코베이트 농도를 비교함으로써 전리방사선에 의해 생성된 free radical의 scavenger로서의 활동정도를 간접적으로 파악해 보고, 현재까지의 문헌보고들을 아울러 검토해 아스코베이트의 방사선 보호제로서의 가능성에 대해 검토해 보고자 한다.

대상 및 방법

1. 대 상

1991년 3월 1일 부터 6월 30일 까지 경상대학교 병원 치료방사선과에서 근치적 목적으로 방사선 치료를 시행받은 환자를 대상으로 하였다. 방사선치료 시행 하루전과 방사선치료 전과정 종료직후 환자의 혈장, 전혈, 소변내 아스코베이트 농도를 비교하기로 하고 60명에 대하여 혈액 및 소변 검체를 채취하였다. 이 중 27명은 검체의 처리 잘못으로 결과를 얻지 못하고 33명에 대한 결과 분석만이 가능하였다. 결과 분석이 가능하였던 33명의 특성은 Table 1과 같다. 남자 16명, 여자 17명으로 남녀비는 거의 1에 가까웠으며, 연령별로는 50대가 가장 많았고 중앙치는 54세 였다. 치료부위별로는 골반부(14명), 두경부(11명), 흉위부(8명)의 순으로 분포되어 있다.

Table 1. Characteristics of Study Populations

Characteristics	Number
Sex	
male	16
female	17
Age in Years	
over 70	6
60~69	5
50~59	12
40~49	5
30~39	3
under 30	2
Treatment Site	
Pelvis	14
Thorax	8
Head & Neck	11

2. 비타민 C 농도의 측정

2, 4 dinitrophenyl hydrazine법을 이용하여 전체 아스코베이트(ascorbic acid and oxidation products)량을 측정하였다.

혈장 1.0 ml에 MPA 2.0 ml, 소변 0.2 ml에 MPA 3.0 ml을 혼합하여 10분간 원심분리한 후 혈장은 nitrocellulose (pore size: 0.45 um)에 양압을 가하여 여과시킨 액 1.2 ml을 얻었고 소변은 여과과정을 거치지 않고 부유액 1.2 ml을 얻었다. 여기에 DTC (DNPH/thiourea/Copper sulfate) 시약 0.4 ml을 첨가하고 3시간 동안 37°C로 유지되는 항온수조에 보관한 후 10분간 찬물에 식혔다. 그리고 12M 황산용액 2.0 ml을 첨가하여 혼합한 후 분광광도계 (spectrophotometer)를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 값을 표준용액에서 측정한 값과 비교하여 검체의 비타민 C량을 산출하였다.

통계분석은 paired t test를 사용하여 유의성을 검증하였다.

결 과

방사선치료 전후의 환자들의 전혈, 혈장, 소변내의 아스코베이트 농도의 평균치는 Table 2와 같다. 전혈 농도는 방사선치료전 1.82 mg/dl, 방사선치료후 1.58 mg/dl이었고, 혈장농도는 방사선치료전 1.12 mg/dl, 방사선치료후 1.08 mg/dl, 소변내 농도는 방사선치료전 9.33 mg/dl, 치료후 6.96 mg/dl이었다.

전혈, 혈장, 소변내 농도 모두 치료전후 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 2).

Table 2. Whole Blood, Plasma and Urine Ascorbate Levels before and Just after Radiotherapy (mg/dl)

	전혈	혈장	소변
before RT**	1.82±0.99	1.13±0.66	9.33±11.6
after RT	1.58±1.19	1.08±0.68	6.96±6.76
P 값	p>0.05	p>0.05	p>0.05

*S.D.: Standard deviation

**RT: Radiotherapy

고 찰

아스코베이트의 방사선보호제로서의 역할에 관심이 모아지기 시작한 것은 2차 대전 직후 부터이다. 아스코베이트는 수용성 물질로서 세포내액과 세포외액에 넓게 분포하고 있으며 superoxide와 hydroxy radical을 직접 제거하며, 스트레스에 의해 자극된 neutrophil로부터 분비되는 산화물질을 중화한다.

사람에서는 L-gluconogamma lactone 또는 L-galactonogamma lactone에서 L-ascorbic acid로 변환시키는 효소가 없어서 비타민 C가 합성되지 않으므로 필요한 만큼 외부에서 보충해 주어야 한다. 십이지장 또는 공장을 통하여 흡수된 아스코베이트는 혈장뿐 아니라 백혈구, 적혈구 등 세포성분에도 다량의 아스코베이트가 함유되어 있다. 아스코베이트는 정맥으로 주입하였을 경우에는 섭취량의 85%가, 경구 섭취하였을 경우에는 섭취량의 30%가 신장을 통해 배출된다⁶⁾. 따라서 정상적인 아스코베이트의 섭취가 이루어지고 있다고 가정할 경우 아스코베이트의 섭취가 많을수록 소변을 통해 배출되는 아스코베이트의 양도 비례적으로 증가하게 된다. 따라서 아스코베이트의 소변내 농도는 아스코베이트의 섭취량을 예측하는 지표라 할 수 있을 것이다. 그러나 다량의 free radical이 형성되는 경우에서와 같이 체내의 아스코베이트의 수요가 증가될 경우 흡수되는 아스코베이트의 양이 증가될 것이므로 소변으로 배출되는 비율도 줄어들 것이다.

혈장, 전혈, 소변내의 아스코베이트를 측정함으로써 간접적으로 환자체내의 아스코베이트 소모 정도를 짐작해 볼 수 있겠으나 실제 free radical의 제거작용은 주로 조직내에서 일어날 것이므로 혈장, 전혈 보다는 조직내의 아스코베이트 농도를 측정하는 것이 더욱 타당하다.

Packer등은 pulse radiolysis를 이용하여 아스코베이트와 vitamin E의 조직내에서의 free radical과의 작용을 직접 관찰하여 아스코베이트와 vitamin E는 free radical에 대한 항산화제로 작용함에 있어 상호간에 synergistic하게 작용한다고 보고하였다⁷⁾.

아스코베이트가 free radical을 억제함으로써 free radical에 의해 생성되는 세포내 변형을 방지할 수 있고 따라서 일종의 돌연변이 현상이라 할 수 있는 암화

작용도 억제할 수 있을 것이라는 가정은 충분히 가능성이 있으며 실제 아스코베이트의 암예방효과에 대한 많은 보고가 있었다⁸⁻¹¹⁾.

한편 이미 형성된 암에 대한 아스코베이트의 항암효과에 대해서도 몇몇 학자들의 주장이 있었으나 논의의 여지가 대단히 많다. 반면 항암치료에 있어 항암치료에 의한 독성억제제로서의 아스코베이트의 역할에 대해서 많은 관심이 모아지고 있다. Hirosho등은 동물실험을 통해 아스코베이트가 adriamycin에 의한 심장근의 손상을 차단시킨다는 보고를 하였다. Marcus등은 interleukin-2를 사용한 치료시 괴혈병을 유발시킬 수 있을 만큼 아스코베이트의 농도가 저하된 경우가 있었고 이는 interleukin-2에 의해 아스코베이트가 파괴되어 나타나는 현상으로 아스코베이트의 파괴는 치료에 의한 부작용에 크게 기여할 수 있다고 보고하였다¹²⁾.

방사선치료시 아스코베이트가 방사선보호제로서의 역할이 있는지 그리고 실제 방사선 치료를 받은 환자에서 체내 아스코베이트가 얼마나 소모되는지에 대해선 연구보고가 거의 없는 편이다. 다만 동물실험을 통하여 아스코베이트의 방사선 보호제로서의 역할을 확인해 본 연구보고들이 간간이 있었다. Patt¹³⁾등은 전신조사한 쥐의 실험을 통해 아스코베이트의 투여로써 생존기간의 연장은 없었다고 하였다. Yusipov와 Stone¹⁴⁾은 방사선 조사전에 아스코베이트를 투여했을 경우엔 보호 효과가 없었고 조사후 투여했을 경우엔 보호 효과를 나타냈다고 하였다. Shapiro¹⁵⁾등은 아스코베이트를 투여함으로써 특정 효소에 대한 방사선 손상을 줄일 수 있었다고 보고하였다. 저자들은 아스코베이트가 매우 쉽게 산화되기 때문에 물분자로 부터 생성된 free radical을 소모시킴으로써 보호효과를 나타낸다고 하였다. Kalnins¹⁶⁾은 아스코베이트의 투여로써 기니아피그의 송곳니와 턱뼈에서의 방사선 손상이 줄었으며 보호효과는 아스코베이트의 투여량과 연관이 있다고 하였다. 그러나 Bacq¹⁷⁾나 Tewfik¹⁸⁾등은 아스코베이트의 투여에 의해서 유의한 방사선손상 보호효과를 확인할 수 없었다고 보고하였다. El-Nahs¹⁹⁾등은 쥐에 대하여 방사선 조사후 나타나는 염색체 이상의 발현율로써 아스코베이트의 방사선 보호효과를 확인하여 보았다. 염색체 이상의 발현율은 방사선 조사만 시행한 경우 50%, kg당 아스코베이트를 100 mg 투여한 경우엔 37%, kg당 아스코베이트를 300 mg 투여한 경우엔

42%로써 아스코베이트의 투여에 의하여 염색체 이상의 발현율이 유의하게 감소하였다고 보고하였다. Narra²⁰⁾ 등은 ¹³¹I를 투여 후 정자생성능으로써 아스코베이트의 방사선 보호효과를 알아보았다. 그들의 보고에 의하면 아스코베이트를 투여한 경우 spermhead의 D₃₇이 투여하지 않을 경우에 비해 2.2배로 증가하였다. 저자들은 이 실험 결과로부터 다량의 방사성 동위원소가 발생하는 방사능사고의 경우 아스코베이트의 투여가 중요한 역할을 할 수 있을 가능성이 있다고 하였다.

그러면 방사선에 의한 손상을 아스코베이트를 투여함으로써 회복시킬 수 있을 것인가?

Carrie²¹⁾, Ellis²²⁾, Clausen²³⁾ 등이 방사선 치료에 의해 나타난 방사선중후군, 백혈구 감소증 등을 회복시키는 데 양호한 효과를 나타낸다고 보고하였지만 대단위 환자군을 대상으로 한 임상보고는 거의 찾아보기가 힘들다. Cramer²⁵⁾는 방사선 조사시 나타나는 일련의 제반 증상들이 히스타민 증독증에서 나타나는 증상들과 유사함을 관찰하고 방사선 중후군은 방사선 조사에 의해 모세혈관의 벽이 손상을 입어 혈관으로부터 히스타민과 유사한 물질이 유출됨으로써 나타나는 것이라고 하였다. 한편 Ellis²²⁾는 히스타민 분해 효소를 근육 주사함으로써 방사선중후군을 완화시킬 수 있었다고 보고하였다. 아스코베이트는 히스타민을 분해하는 성질을 갖고 있어 방사선중후군에 대해 치료적 효과가 있을 것을 예상할 수는 있다.

앞서 언급한대로 인체에서 아스코베이트가 방사선 보호효과를 나타내는가에 관해선 연구보고가 전무하고 방사선 치료후의 체내 아스코베이트 농도의 변화에 관한 보고만 몇 편이 있을 뿐이다. 방사선 조사 후 혈액 또는 조직 내의 아스코베이트 농도의 변화에 대하여 현재까지 발표된 문헌의 수는 매우 미약하다. Ellis²²⁾ 등이 1947년 발표한 것이 이 분야에 관한 최초의 보고인데 이들은 방사선 치료를 시행받은 35명의 환자의 혈장내 아스코베이트 농도를 측정하여 32명에서는 감소하였고, 3명에선 증가하였다고 보고하였다. 이들은 이후 동물실험을 통하여 방사선 조사후 혈청, 신장, 근육내의 아스코베이트 농도가 감소하는 것을 다시 확인하였다. 1962년 Dolgova²⁶⁾는 guinea pig에서 급성방사선 손상 후 아스코베이트 결핍이 초래된 것을 확인하였고 결핍은 혈액, 뇌, 내분비기관에서 가장 심하였다고 보고하였다. 1985년 Schreurs²⁷⁾는 자궁경부암으로 방사

선치료를 시행받은 환자들에서 혈액내 아스코베이트 농도가 유의하게 감소됨을 보고하였다. 이 보고에선 아스코베이트와 함께 비타민 E, 비타민 B₁₂가 감소됨도 보고하였다.

본 연구결과에서는 방사선치료 전후의 전혈, 혈장, 소변 내 아스코베이트의 농도의 변화에 있어 통계학적으로 유의성을 가질만한 수준의 차이를 나타내지는 않았지만 대체로 치료후 환자들의 체내 아스코베이트의 농도가 떨어지고 있는 경향을 보여주고 있어 이는 방사선 치료가 인체내에서 아스코베이트를 소모시키는 자극이 되고 있음을 암시해 주고 있다 할 것이다. 소모되어 버린 이유가 방사선에 의해 아스코베이트가 파괴되어 버린 것인지 또는 본 저자들이 가정한 것 처럼 전리 방사선에 의해 생성된 free radical들을 제거하기 위해 소모된 것인지는 정확히 판단하기 어렵지만 두가지 효과가 모두 기여했을 것이고 주로는 radical scavenger의 역할 때문에 소모되었을 것이라고 생각된다. Kenny²⁸⁾ 나 Vaughan²⁹⁾ 등은 electron spin resonance signal을 이용해 아스코베이트에 전리방사선이 조사되었을 경우 ascorbate free radical이 형성됨을 확인하였다.

방사선 치료에 의한 아스코베이트의 영향이라든지 아스코베이트가 방사선치료를 받는 환자들에 미치는 영향 모두에 있어 인체내 연구결과가 거의 없는 상태에서 저자들은 매우 초보적이고 간접적인 임상실험을 통해 그 일단을 관찰해 보고자 했으나 본 실험 결과를 통해 어떠한 결론을 내리기는 무리라고 생각된다

향후 인체에서 아스코베이트의 투여가 실제 방사선 보호효과를 나타내는지는 여러가지 방사선생물학적 지표를 이용하여 확인해 보아야 하겠고 만일 방사선 보호제로서의 가능성이 확인된다면 체내 투여시 정상조직과 암조직내에서의 분포양상 및 대사양상이 어떠한 차이를 나타내는지, 그리고 보호제로서 요구되는 실 투여량을 확인하는 연구들이 계속 이어져야 할 것이다.

REFERENCES

1. Weiss J: Some aspects of the chemical and biological of radiations. Trans Faraday Soc 43:314-316, 1947
2. Schaich KM: Free radical initiation in proteins and

- amino acids by ionizing and ultraviolet radiations and lipid oxidation. I. Ionizing radiation: *CRC Crit Rev. Food Sci Natv* 13:89-105, 1980
3. **Mirvish SS:** Effects of vitamin C and E on nitroso compound formation, carcinogenesis and cancer. *Cancer* 58(Suppl):1842-1850, 1986
 4. **Frei B, Stocker R, Ames BN:** Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 85:9748-9752, 1988
 5. **Kyrtopoulos SA:** Ascorbic acid and the formation of N-nitroso compounds: possible role of ascorbic acid in cancer prevention. *Am J Clin Nutr* 45:1344-1350, 1987
 6. **Wilhelm Friedrich:** Vitamin C in 'Vitamins', Walter de Gruyter, Berlin, New York, pp 931-999, 1988
 7. **Packer JE, Slater TF, Wilson RL:** Direct observation of a free radical interaction between vitamin E and vitamin C, *Nature* 278:737-738, 1979
 8. **Borek C:** Radiation and chemically induced transformation: Free radicals, antioxidants and cancer. *Br J Cancer* 55(Suppl VIII):74-86, 1987
 9. **Black G:** Vitamin C and cancer prevention: the epidemiologic evidence. *Am J Clin Nutr* 53:2705-2825, 1991
 10. **Haenszel W, Kurihara M, Segi M:** Stomach cancer among Japanese in Hawaii. *J Natl Cancer Inst* 49:969-988, 1992
 11. **Sugimura T, Sato S:** Mutagens-carcinogens in food. *Cancer Res* 43(Suppl):2415-2421, 1983
 12. **Palca J:** Vitamin C gets a little respect. *Science* 254:374-376, 1991
 13. **Patt HM, Swift MN, Tyree EB, et al:** Adrenal response of total body X-radiation. *Am J Physiol* 150:480-483, 1947
 14. **Yusipov VS:** The role of ascorbic acid in radiation sickness. *Med Radiol* 4:78-81, 1959
 15. **Shapiro B, Kollman G, Friedman H:** Protection by ascorbic acid against radiation damage in vitro: *J Albert Einstein Med Cent* 15:63-67, 1967
 16. **Kalnias V:** The effect of X-ray irradiation upon the mandibles of guinea pigs treated with large and small dosages of ascorbic acid. *J Dent Res* 32:177-180, 1953
 17. **Bacq ZM, Fischer P:** The action of various drugs on the suprarenal response of the rat of total body X-irradiation. *Radiat Res* 7:365-369, 1957
 18. **Tewfik HH, Tewfik FA, Riley EF:** The influence of ascorbic acid on survival of mice following whole body X-irradiation. *Int J Vitam Nutr Res (Suppl)* 23:265-271, 1982
 19. **El-Nahas SM, Mattar FE, Mohamed AA:** Radioprotection effect of vitamin C and E. *Mutation Research* 301:143-147, 1993
 20. **Narra VR, Howell RW, Sastry KSR, et al:** Vitamin C as a radioprotector against iodine-131 in vivo. *J Nucl Med* 34:637-640, 1993
 21. **Carrie C:** Zur therapie der roentgenstrahlen leukopenie. *Strahlentherapie* 63:183-186, 1983
 22. **Ellis F:** Volume dosage in deep X-ray therapy. I. The estimation of volume dosage in deep X-ray therapy for clinical purposes. *Br J Radiol* 15:174-178, 1942
 23. **Clausen A:** Behandlung von Rontgenleukopenie mit C-vitamin. *Acta Radiol* 23:95-98, 1942
 24. **Wallace W:** Studies in radiation sickness II. Vitamin B, and C and the small intestinal change in radiation sickness. *South Med J* 34:170-173, 1941
 25. **Cramer H:** Studien zur biologischen wirkung der Roentgenstrahlen. *Strahlen therapie* 28:431-435, 1928
 26. **Dolgova ZY:** Ascorbic acid exchange during the action of X rays on the organism. *Med Radiol* 7d, 67-70, 1962
 27. **Sehreus WHP, Odink J, Egger RJ, et al:** The influence of radiation and chemothera-pig on the vitamin status of cancer potients. *Int J Vitam Nutr Res* 55:425-430, 1985
 28. **Kenny P, Commonar B:** Transitory free radicals in irradiated animal tissues. *Nature (London)* 223:1229-1332, 1969
 29. **Vaughaa WN, Henry JI, Commoner B:** Radiosensitivity and the ascorbic acid electron spin resonponce doublet. *Biochem Biophys Acta* 329:159-165, 1973