

한국 남자 흡연자의 금연과 항산화제 보충에 따른 체내 가역적·비가역적인 산화 손상도 변화의 정량적 측정연구*

김 미 경·장 문 정[§]

국민대학교 사범대학 가정교육과

The Quantitative Determination of Reversible and Irreversible Oxidative Damages Induced by Smoking Cessation and Supplementation of Antioxidative Vitamins in Korean Male Smokers*

Kim, Mikyung · Chang, Moon-Jeong[§]

Department of Home Economic Education, Kookmin University, Seoul 136-702, Korea

ABSTRACT

The effect of oral vitamin E (800IU/day) and C (500mg/day) supplementation for 10 days and/or smoking cessation for 5 days on oxidative damage to the red blood cells (RBC) of male smokers (22.2±0.2 years old) was studied. RBC were tested for their ability to protect against smoking-induced oxidative damage by measuring heme proteins (carboxyhemoglobin, hemoglobin, methemoglobin, oxyhemoglobin), hemolysis and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). Plasma levels of vitamin C, A, E, β-carotene, total cholesterol, glutamic pyruvic transaminase (GPT) and glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) were also analyzed. In experiment one, a comparison was made of heme proteins and lipid damage to RBC, plasma antioxidant status (indexed by plasma levels of vitamin C, E, A and β-carotene) between smokers (n=56) and non-smokers (n=16). No differences were found in plasma antioxidant status, heme protein damage and TBARS concentration of RBC. In experiment two, 46 fasting male smokers from experiment one were divided into 4 groups. The groups were smoking with placebo group (SP, n=14), smoking with vitamins supplementation group (SV, n=13), smoking cessation with placebo group (NSP, n=9) and smoking cessation with vitamins supplementation group (NSV, n=10). After supplementing antioxidant vitamins, significant increases were seen in plasma vitamin C (p<0.05) and vitamin E levels (p<0.05). The plasma vitamin E level was highest in the NSV group. Vitamin E and C supplementation provided some protection against heme proteins and lipid damage by lowering methemoglobin, hemolysis and TBARS concentration of RBC. Smoking cessation significantly decreased TBARS of RBC and plasma total cholesterol concentration. Supplementing vitamin E and C with smoking cessation considerably lowered plasma total cholesterol. These results point to a special association among smoking, oxidative damage and plasma antioxidant vitamin status. They indicate that increases in plasma antioxidant status can be detected after the supplementation of vitamin C and E and that smoking cessation had an additional effect on plasma vitamin E level. The present data suggest that improved antioxidant status induced by antioxidant supplementation or smoking cessation may help prevent oxidative damage in smokers. (*Korean J Nutrition* 33(2) : 167~178, 2000)

KEY WORDS: antioxidants, oxidative stress, smokers, oxidative damage, smoking cessation.

서 론

1984년에 노화, 심혈관계 질환 및 암의 예방을 위한 항산화물질¹⁾이 제시된 이래 체내에서 생성된 반응성이 강한 산소종(ROS, reactive oxygen species)이 세포의 손상을

채택일 : 1999년 10월 19일

*This study was supported by grants from Korean Foundation of Science Promotion in 1997

[§]To whom correspondence should be addressed

일으키며, ROS를 상쇄할 수 있는 항산화제의 보충과 질병 예방과의 관련연구가 다양하게 이루어져 왔다.

ROS는 체내로 유입된 산소가 대사과정에서 superoxide anion, peroxy 또는 alkoxy radical, singlet oxygen, hydrogen peroxide, nitric oxide 등으로 전환되면서 발생할 뿐만 아니라, 흡연, 또는 ozone의 흡입처럼 외부로부터 직접 유입되기도 한다.²⁾³⁾ ROS는 강한 반응력으로 인해 단백질, 세포막과 DNA의 손상을 초래한다. 특히 세포막의 구성성분인 인지질의 불포화지방산은 유리기(free radicals)

로 인한 연쇄반응으로 인해 지질 과산화물을 형성하여 세포막을 손상시킬 뿐 아니라, 생성된 지질 과산화물은 다시 세포막의 단백질의 손상을 초래한다.⁴⁾ 건강한 사람은 항산화 기능과 ROS의 생성이 비교적 균형을 이루게 되나, ROS로 인한 지속적인 손상은 노화를 촉진시키며, 연령이 증가하면서 암, 심혈관계 질환 등을 유발하게 될 뿐만 아니라, 약 100여종의 질병발생에 직·간접적으로 관여된다고 알려졌다.^{5,6)} 산소 스트레스는 영양결핍으로 체내 항산화비타민과 glutathione 농도가 감소하거나, 담배를 비롯한 독성화합물과 약물의 복용, 또는 감염시 식균작용이 일어날 때 증가할 뿐만 아니라,⁷⁾ 쥐를 이용한 동물실험에서 밝혀진 바에 의하면 유전적으로 산소 스트레스에 더 심각하게 반응하는 경우도 있다고 보고된 바 있다.⁸⁾

흡연을 통해 자유기와 관련산화물이 외부로부터 체내에 유입되며, 이로 인한 폐암의 위험성에 대한 연구는 그 동안 널리 보고되어 왔다. 흡연은 in vivo 실험에서 유리기의 형성을 유발시킬 수 있으며 이 유리기는 여러 가지의 유기물에 손상을 주기 시작할 뿐만 아니라⁹⁾ 체내 항산화 비타민 수준 및 항산화물을 감소시키게 되며 흡연이 지속되면서 더욱 빠르게 감소한다. 흡연이 DNA손상에 미치는 영향이나 녹황색 야채에 들어있는 성분들 즉 retinol, β -carotene에 의해 폐암의 위험성이 감소하였다는 보고가 많다.¹⁰⁾ 이스라엘 사람을 대상으로 한 연구에서 90분간 5~7개피의 흡연은 thiobarbituric acid reactive substances(TBARS)를 지표로 한 low density lipoprotein(LDL)의 과산화반응을 증가시켰다고 보고된 바 있다.¹¹⁾ 최근 연구에서 항산화제를 특별히 복용하지 않았음에도 불구하고 단기적인 금연이 혈장내 총 vitamin C와 γ -tocopherol의 수준을 증가시켰으나, LDL의 손상도를 나타내주는 LDL의 지질과산화물 농도는 변화가 없었다고 보고하였다.¹²⁾

산화스트레스로 인한 손상을 나타내 주는 지표로 널리 사용된 방법은 혈장, 적혈구 및 LDL의 지질 과산화물 농도를 나타내주는 TBARS(thiobarbituric acid related substances) 분석방법이 널리 사용되어 왔으며 이는 지질의 비가역적인 손상을 정량적으로 나타내 주는 지표라고 보고되었다.^{13,14)} 그러나 sialic acid와 같은 non lipid, malonaldehyde를 비롯한 기타 aldehyde나 산화된 고도 불포화 지방산값이 포함되어 부정확한 지표가 되어 비슷한 조건의 실험에서 상이한 결과를 초래하는 원인이 되어 왔다.¹⁵⁾ Brown의 연구¹²⁾에서 금연이 혈액내 항산화 비타민의 농도를 증가시켰음에도 불구하고 LDL의 과산화지질 농도의 차이가 나타나지 않았으며 지질 과산화물 농도의 변화는 산화스트레스조건의 변화에 따른 세포의 손상과 회복을 나타내

기에는 예민하지 않은 척도라고 보고하였다. 생화학적으로 일어나는 산화과정을 연구하기 위해 단백질이나 지방, 기타 다른 세포 구성성분의 손상을 양적으로 나타내고, 산화스트레스의 변화에 민감하게 반응하는 측정도구가 필요하며, 산소운반과정에서 다양한 형태로 존재할 수 있는 hemeoproteins의 농도를 측정하는 것이 그 한가지 방법이 될 수 있다. Hemeoproteins는 호흡으로 인해 지속적으로 산소에 노출되며 세포내의 산화과정에 따라 가역적으로 ferric과 ferrous 상태로 존재한다. Heme proteins가 ROS로 인해 손상을 받게되면 전자전달에 참여하는 heme의 redox 반응이 손상되고, globin 구조의 변성이 일어나며, oxyhemoglobin(ferrous hemoglobin)은 methemoglobin(ferric hemoglobin)으로 산화된다.^{15,16)} Oxyhemoglobin과 methemoglobin은 세포내 산화상태에 따라 가역적으로 존재하므로, methemoglobin의 증가는 산화스트레스로 인한 손상을 나타내주는 지표로 사용될 수 있으며, 또한 항산화 기능이 있는 영양소의 섭취 효과나 기타 관련연구에서 가역적인 손상을 나타내 줄 수 있는 지표로 사용되어 왔다.¹⁵⁾ 그러나 지금까지 주로 동물을 model로 하여 일부 연구되었으며,^{14,16)} 사람을 대상으로 heme proteins 산화물의 농도 변화를 이용하여 가역적인 손상을 정량적으로 측정하는 연구는 아직 없는 실정이다.

본 연구에서는 흡연자와 비흡연자를 대상으로 흡연으로 인한 적혈구 세포내 hemeoproteins의 손상 및 지질 손상을 비교한 뒤, 흡연자를 대상으로 단기적인 금연을 하거나, 항산화 비타민의 보충 섭취 또는 이들 비타민의 보충 섭취와 금연을 병행한 뒤 hemeoproteins를 이용한 가역적인 손상 및 지질 손상의 변화를 측정하여 흡연으로 인한 질병 발생 위험율을 감소시킬 수 있는지 연구하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상 및 실험설계

서울에 거주하는 흡연을 하는 남학생과 비흡연 남학생을 대상으로 자원자를 모집하였다. 흡연자는 하루에 평균 15개 피를 피우고 3~5년이상 흡연 경력이 있으며, 비흡연자는 흡연경험이 없거나 금연한지 1년 이상 대상자를 선택하였다. 연구대상자 모두 특별한 질병이 없는 건강한 상태이고, 건강보조식품이나 비타민, 무기질을 포함하는 영양보충제를 섭취하고 있지 않은 사람 72명(흡연자 56명, 비흡연자 16명)의 연구대상자를 선정하였다.

실험은 2단계로 나누어 수행되었으며 1단계에서는 흡연자와 비흡연자를 대상으로 흡연 여부에 따른 체내 산화 손

상도를 비교하였으며 2단계에서는 1단계에 참여하였던 연구 대상자중 흡연자만을 선택하여 4군으로 나누어 제 1군은 평상시와 같이 흡연을 계속하면서 위약(placebo)을 섭취하는 군(SP), 제 2군은 흡연을 하면서 비타민 C와 E를 보충하는 군(SV), 제 3군은 5일간 금연을 하면서 위약을 섭취하는 군(NSP), 제 4군은 금연과 비타민 C와 E 보충을 병행하는 군(NSV)의 4군으로 나누어 실시하였으며 각 군당 14명씩 총 56명이었으나 흡연군에서 1명과 금연군에서 금연준수의 어려움으로 9명이 탈락하여 실험결과는 완전히 참여한 경우에 한하여 결과분석에 사용하였다.

대상자들은 실험 첫째 날부터 비타민 보충제나 위약을 10일간 복용하였으며 금연군의 경우 실험 6일째 되는 날부터 10일째 되는 날까지 5일간 금연을 실시하였다.

비타민 보충군의 1일 비타민 섭취량은 비타민 C 500mg (에스 엘씨 캡슐, 유한양행), 비타민 E 800IU(그랑페롤 연질 캡슐, 유한양행)이었고 비타민을 보충하지 않은 군은 과당을 함유한 정제로 만든 위약을 보충 섭취하였다. 비타민 E의 섭취량은 제약회사에서 제시한 1일 복용량과 동일한 수준이었다. 흡연자들의 금연을 돕기 위하여 금연껌(노스모검, 대양물산)을 제공하였고, 매일 전화를 통해 비타민 복용 여부와 금연여부를 확인하였다.

2. 조사내용 및 방법

1) 설문지 조사

조사는 설문지를 이용하여 기초조사와 식이 섭취 조사를 실시하였다.

기초조사에서 연령, 신장, 체중을 조사하였으며, 식품을 통한 영양소 섭취량은 평상시의 영양소 섭취상태에 대한 평가를 위해 Kim과 Yang¹⁷⁾에 의해 고안된 반정량 식품섭취 빈도 조사법(semiquantitative food frequency questionnaire)을 남자대학생의 식이 섭취에 맞도록 수정·보완하여 식품 섭취량을 직접 면담 방식으로 조사하였다. 식품 섭취조사표에 각 식품의 1인 1회 분량을 3가지로 나누어 목적량을 제시하였고, 밥을 비롯한 주식의 섭취는 매일 3회, 2회, 1회로 구분하여 조사하였으며, 그외의 식품섭취는 매주 1~7회, 매일 1~4회, 먹지 않음으로 분류하여 식품섭취 빈도와 일회 섭취량에 대한 정보를 얻었다. 조사대상자의 1일 영양소 섭취량은 각 식품의 일회섭취량 및 섭취 빈도를 근거로 Ewha 3 영양소 program을 이용하여 분석하였다.

2) 혈액 채취 및 적혈구분리

모든 대상자는 10~12시간 금식한 후 공복상태에서 채취하였다. 채취한 혈액의 일부는 전혈상태로 혈액학적 조사를

당일 실시하였으며, 나머지 혈액은 즉시 원심분리하여 혈장을 얻었다.

적혈구(red blood cell, RBC)는 0.9%(9g/L) NaCl과 0.1M/L H₂PO₄/K₂PO₄, pH 7.4를 9 : 1(v/v)로 함유한 phosphate buffer 용액으로 3번 세척한 후 20%(v/v) RBC 시료를 만들어 분석에 이용하였다. RBC volume은 1,500×g에서 30분간 원심분리 후 milliliter로 나타내었다. RBC 일부는 TBARS와 총 단백질의 분석을 위하여 deep freezer(-80℃)에서 분석시까지 냉동 보관하였다.

혈장은 비타민과 혈액 성분 분석을 위하여 deep freezer(-80℃)에서 분석시까지 냉동 보관하였다.

3) 생화학적 분석

(1) 산화반응 및 heme proteins 분석¹⁸⁾¹⁹⁾

10mmol/L glucose를 함유한 Krebs-Ringer Phosphate buffer (pH 7.4)에 산소gas를 평형시킨 용액 2.5ml를 유리로 된 serum bottle에 넣고 20% RBC 용액 500μl을 주입하고 rubber septa로 막은 후 shaker 수조(120cycles/min)를 이용하여 37℃에서 2시간 배양하였다. 배양후 적혈구 용액을 5분간 1,500×g에서 원심분리 하였다. 상등액은 total released hemoglobin 측정에 사용하였으며, RBC pellet은 0.01mol/L tris(hydroxymethyl)aminomethane (Tris)-HCl buffer(pH 8.0)/1mmol/L EDTA로 용해한 후 1,500×g에서 5분간 원심분리 후 상등액을 이용하여 oxy-hemoglobin, methemoglobin, total unreleased hemoglobin 분석을 하였다.

Oxyhemoglobin은 350μl의 상등액을 증류수 350μl로 희석한 후 0.15mol/L sodium azide 40μl로 처리한 후 분광광도계(Genesis 5, Miltonloy, UV/VIS)로 620nm에서 흡광도 증가량을 관찰하여 측정하였으며 methemoglobin은 감소된 흡광도를 이용하여 측정하였다.

(2) 혈장내 항산화 비타민 농도 측정^{20 22)}

혈장 내 비타민 C, 비타민 E(α-tocopherol), 비타민 A (retinol), β-carotene 농도는 HPLC(Millikapore, USA)를 이용 분석하였고, 분석조건은 Table 1과 같다.

비타민 C는 혈장 200μl에 meta-phosphoric acid 800μl를 첨가 vortex mixer로 혼합하여 냉동시킨 검체를 해동한 후 3,500×g에서 5분간 원심 분리시켰다.

분리된 검체의 상등액을 취하여, 0.45μm membrane으로 여과한 후 20μl를 주입하여 분석하였다.

혈장 비타민 A와 E의 측정은 혈장 300μl에 retinyl acetate 100μl와 tocopheryl acetate 100μl, 에탄올 300μl를

Table 1. Chromatographic condition for HPLC

Items	Vitamin A & E	Vitamin C	β -carotene
Integrator	Waters 746	Waters 746	Waters 746
Detector	Waters 486, UV 280nm	Waters 486, UV 254nm	Waters 486, UV 450nm
Column	μ -bondapak C ₁₈	μ -bondapak C ₁₈	μ -bondapak C ₁₈
Flow rate (ml/min)	1	1	1
Mobile phase	Methanol : Water(95 : 5, v/v)	Water with 0.01M potassium phosphate and PIC Reagent	Acetonitrile : Methanol : Chloroform (45 : 45 : 10, v/v/v)

Table 2. Physical characteristics of the subjects

	Smokers	Non-smokers
Age (year)	22.2 \pm 0.2 ^{1NS2)}	22.0 \pm 0.4
Height (cm)	174.1 \pm 0.7 ^{NS}	173.4 \pm 0.5
Weight (kg)	65.9 \pm 0.6 ^{NS}	65.3 \pm 0.7
BMI ³ (kg/m ²)	22.0 \pm 0.5 ^{NS}	21.7 \pm 0.2

¹Means \pm SE ²NS: not significant ³BMI: Body Mass Index

혼합한 다음 여기에 600 μ l의 hexane을 첨가하여 1분간 vortex한 후 2,000rpm에서 5분간 원심분리 하여 유기용매 층을 얻었으며 남은 용액에 600 μ l의 hexane을 첨가하여 동일한 방법으로 상등액을 취한 후 두 과정의 상등액을 합하여 0.45 μ m membrane으로 여과한 뒤 질소 가스로 농축시키고 diethylether와 methanol(25 : 75, v/v) 혼합물 60 μ l에 녹여 20 μ l를 HPLC에 주입하였다.

β -carotene의 측정엔 혈장 250 μ l에 10mmol의 SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) 250 μ l와 0.5ml의 에탄올을 혼합하고 이에 n-heptane 0.5ml를 첨가하여 2.5분간 vortex한 후 2,500rpm에서 10분간 원심 분리하였다. 상등액 0.35ml를 취한 후 다시 n. heptane 0.5ml를 첨가 위의 과정을 반복한 후 0.45 μ m membrane으로 여과하여 질소 가스로 농축시키고 이를 100 μ l의 이동상(acetonitrile : methanol : chloroform(45 : 45 : 10))에 용해시켜 20 μ l를 HPLC에 주입하여 분석하였다.

(3) 과산화지질 농도 측정²³⁾

적혈구의 지질 과산화도는 TBARS(Thiobarbituric Acid Reactive Substance)함량으로 측정하였다. 20% RBC 용액 1ml와 PBS(phosphate : NaCl=1 : 9) 3ml를 혼합하여 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 진탕 가온한 후 4,000rpm에서 5분간 원심분리한 후 상등액 2ml를 취한 후 15%의 TCA (trichloroacetic acid) 1ml를 가하고 4,000rpm에서 5분간 원심분리하였다. 이에서 다시 상등액 2ml를 취한 후 1%의 TBA용액 0.5ml를 첨가하여 끓는 물에서 10분간 증탕한 후 이를 냉각시켜 1,1,3,3-TEP(tetraethoxy-propane)을 표준 용액으로 삼아 분광광도계를 이용, 532nm에서 흡광도를 측정하였다.

적혈구의 과산화물의 양은 총 단백질의 농도를 구하여 mg protein당 TBARS의 nmol로 표시하였다.

총 단백질의 농도는 RBC 0.1ml을 Biuret reagent(영동제약) 5ml로 희석하여 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 진탕가온한 후 분광광도계를 이용, 545nm에서 흡광도를 측정하였고 표준 용액으로는 bovine serum albumin을 사용하였다.

(4) Hematocrit, carboxyhemoglobin농도 및 혈장내 포도당, 총 콜레스테롤, GOT, GPT 활성 측정

혈장내 포도당, 총 콜레스테롤은 자동혈액분석기(EK-TACHEM DT System, DT 60 II Analyzer, Johnson & Johnson, USA)로 분석하였고, 전혈의 hematocrit, carboxyhemoglobin 농도와 혈장의 glutamic oxaloacetic transaminase(GOT), glutamic pyruvic transaminase (GPT)활성의 측정은 (주)녹십자에 의뢰하였다.

3. 통계처리

조사된 모든 자료는 SPSS win 통계 package를 사용하여 처리하였다.

모든 자료는 평균과 표준 오차를 구하였다. 흡연군과 비흡연군간의 유의성 검증은 p<0.05수준에서 student t-test로 하였으며, 항산화 비타민제 복용과 금연에 따른 효과를 비교하기 위해 ANOVA(analysis of variance)를 수행하였고, p<0.05 수준에서 유의성을 검증하였으며 각 실험군간의 유의성은 Duncan's multiple range test을 이용하여 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 실험 1 : 흡연자와 비흡연자의 체내 단백질과 지질 손상도 비교

1) 연구대상자의 일반적 사항

연구대상자의 일반적 사항은 Table 2와 같았다. 흡연군과 비흡연군의 평균 연령은 각각 22.2세, 22.0세로 군간의 차이가 없었다. 평균 신장은 흡연군이 174.1cm, 비흡연군 173.4cm이었고, 평균 체중은 흡연군 65.9kg, 비흡연군 65.

3kg이었다. 본 연구대상자들은 20~24세의 연령별 체위 기준치인 신장 172.0cm와 체중 66.0kg²⁴⁾에 비하여 두 군 모두 신장은 크고 체중은 거의 유사하였다. 흡연자의 BMI (kg/m²)가 비흡연자에 비해 낮음이 보고²⁵⁾되고 있으나 본 연구에서는 흡연군 22.0, 비흡연군 21.7로 흡연군과 비흡연군간의 차이는 볼 수 없었으며, 20~25를 정상범위로 볼 때 두 군 모두 정상범위에 속하였다. 흡연과 체중의 관계에 대한 보고에 따르면²⁶⁾, 일반적으로 흡연자는 비흡연자에 비해 체중이 낮으며, 흡연을 하던 사람이 담배를 끊으면 체중이 증가한다고 한다. 이는 흡연은 담배의 니코틴은 동화작용의 대사경로가 비흡연자보다 비효율적으로 일어나고²⁷⁾ 에너지 소비를 촉진시키는 것²⁸⁾에 비해 금연은 신체의 에너지 대사가 감소하여 체중증가를 초래하는 것으로 보고된 바 있다. Bolton-Smith²⁹⁾는 흡연자의 BMI는 비흡연자에 비해 낮으며 이는 흡연자의 체중이 비흡연자에 비해 낮았던 것과 관련이 있다고 보고한 바 있다. 그러나 본 연구에서는 흡연군과 비흡연군간의 체중의 차이가 없었으며 이는 Park과 Kang³⁰⁾의 남자 대학생들을 대상으로 한 연구에서 흡연자와 비흡연자간의 체중이 유의적인 차이를 보이지 않았던 결과와 일치하였다. Khosla와 Lowe³¹⁾는 흡연과 체중과의 관계는 나이가 영향을 미치며 젊은 흡연자의 경우 흡연력이 짧음으로 인해 흡연에 의한 체중 감소효과가 비교적 약하게 나타난다고 보고된 바 있는데 본 연구의 대상자가 흡연력이 비교적 짧고 평소 활동량이 많은 젊은 남자 대학생이기 때문에 체중의 변화를 야기하기에는 부족했던 것으로 보인다. 그렇지만 본 연구에서도 흡연군의 에너지 섭취량이 비흡연군에 비해 높은데 반해(2738.2kcal vs 2546.3kcal) BMI는 차이를 보이지 않아 흡연이 에너지 대사량을 증가시킨다는 결과를 뒷받침한다고 볼 수 있다.

2) 영양소 섭취량

본 연구대상자들의 일상 식사를 통해 섭취한 에너지와 영양소 섭취량은 Table 3과 같았다. 흡연군과 비흡연군의 영양소 섭취량은 권장량²⁴⁾에 근접하거나 상회하는 수준이었다.

1일 평균 에너지 섭취량(은 흡연군이 2,738.2kcal, 비흡연군이 2,546.3kcal로 흡연군이 비흡연군에 비해 유의적으로 높았으며, 각각 권장량의 108.2%와 100.4%를 섭취하였다. 이는 도시 지역 대학생들의 에너지 섭취가 권장량에 미달된다고 보고한 Lee 등³²⁾의 2,287kcal(권장량의 91.5%) 결과와는 달랐다.

선행 연구보고에 의하면 흡연자들의 식습관과 식품선택이 비흡연자와 달라 에너지를 비롯하여 다른 영양소의 섭취도 흡연상태에 따라 달라짐이 보고되고 있다. 에너지 및 3대 영양소 섭취량에 대하여 흡연자가 비흡연자에 비해 에너지 섭취량이 더 많았다는 보고된 바 있으며²⁵⁾ 에너지, 단백질, 지방 및 탄수화물 섭취량의 차이가 없었다³³⁾는 보고도 있다. Tillotson등³⁴⁾은 남자 성인을 대상으로 조사한 결과 흡연을 하게 되면 미각과 후각이 변하여 식품선택에 영향을 주어, 고열량식품과 포화지방의 섭취가 높아지며 이에 따라 흡연자들의 에너지 섭취량이 비흡연자들에 비해 200 kcal정도 높았으나 체중은 오히려 2kg정도 낮다고 하였다. Fisher 등³⁵⁾이 정상 성인에서 흡연과 영양소 섭취와는 관계가 없었으나 흡연자는 비흡연자보다 에너지 섭취량 중 지방이 차지하는 부분이 많았고, 총 에너지 섭취량에 비해 체중이 적었다고 한다. Wack등³⁶⁾은 니코틴이 에너지저장 효율을 낮추기 때문이라고 제안하였는데 본 연구 결과에서도 흡연군에서 에너지 섭취량이 높음에도 불구하고 BMI의 차이는 나타나지 않아 흡연이 에너지 저장효율을 낮추는 것으로

Table 3. Daily energy and nutrients intake and % RDA of the subjects

Nutrients	Smokers		Non-smokers	
	Intake	%RDA	Intake	%RDA
Energy(kcal)	2738.2 ± 53.5 ^{1)**}	108.2 ± 2.1	2546.3 ± 65.0	100.4 ± 2.6
Protein(g)	97.6 ± 2.7	124.7 ± 3.4	92.8 ± 3.0	118.4 ± 3.8
Fat(g)	85.4 ± 2.6	-	80.4 ± 3.0	-
Carbohydrate(g)	314.1 ± 5.6	-	316.2 ± 7.5	-
Vitamin C(mg)	152.9 ± 6.2*	278.1 ± 11.3	135.2 ± 6.4	245.9 ± 11.6
Vitami##/##n /#A(RE)	700.2 ± 29.3	100.0 ± 4.2	629.9 ± 35.8	90.0 ± 5.1
β-carotene(μg)	795.6 ± 31.7	-	710.3 ± 47.2	-
Vitamin E(mg)	13.7 ± 0.5	136.9 ± 4.9	12.7 ± 0.6	127.4 ± 5.6
Ca(mg)	765.5 ± 24.3	102.2 ± 3.4	705.6 ± 30.7	93.2 ± 4.4
Fe(mg)	19.0 ± 0.6	139.3 ± 4.7	18.0 ± 0.7	129.4 ± 5.4
Fiber(g)	8.6 ± 0.3**	-	7.8 ± 0.3	-

¹⁾Means ± SE

^{2)**}: Significantly different at p < 0.05 by Student's t-test between smokers and non smokers, **: p < 0.01

사료된다. Smith³⁷⁾는 흡연자의 에너지 섭취량이 비흡연자에 비해 높은 것은 알코올 섭취 때문인 것으로 해석하고 있다. 본 연구에서도 흡연군의 에너지 섭취량이 비흡연군에 비해 높았던 것도 알코올 섭취량의 차이(37.5g vs 17.5g)에 기인했으리라 생각된다. 한편 흡연자, 금연자, 비흡연자를 비교해 본 Schectman 등³⁸⁾의 연구에 의하면 금연 초기에 담배를 끊으면 단음식의 섭취증가로 인해 약간의 에너지 섭취 상승이 있고 금연기간이 증가할수록 점차 에너지 섭취량이 적어진다는 보고도 있다.

흡연군은 비흡연군에 비해 단백질, 지방섭취가 유의적이지는 않으나 많은 경향이었고, 에너지 섭취비(%)는 흡연군은 탄수화물 : 단백질 : 지방 = 53 : 16 : 31, 비흡연군은 55 : 16 : 30으로 이는 한국인 에너지 섭취비로 권장하고 있는 65 : 15 : 20와 비교할 때 두 군 모두 탄수화물 섭취는 낮고 지방 섭취는 많은 편이었다.

흡연군과 비흡연군의 비타민 C 섭취량(mg/day)은 각각 152.9, 135.2로 흡연군에서 유의적으로 높았으며 두 군 모두 권장량이상 섭취하고 있었다. 이는 흡연자의 비타민 C 섭취량이 비흡연자에 비해 낮았다는 Borton-Smith 등³⁹⁾과는 상반된 결과였고, 흡연군의 비타민 C 섭취량이 약간 높았다는 Park와 Kang³⁰⁾의 연구와는 유사한 결과였다. 비타민 A와 비타민 E 섭취량도 유의하지는 않으나 흡연군에서 섭취량이 많았으며, 이는 흡연자의 비타민 A 및 β -carotene의 섭취수준이 비흡연자보다 유의적으로 낮다고 보고한 연구³⁰⁾와 일치하지 않았다. Kallner 등⁴⁰⁾과 Stryker 등⁴¹⁾은 흡연자는 유리기에 의한 조직 손상으로 비타민 C의 필요량이 증가하므로 항산화 비타민의 섭취는 부족한 상태가 된다고 하였고, Schectman 등³⁸⁾은 흡연자의 혈청 비타민 C수준은 식이 섭취와 무관하여, 과잉 섭취와 상관없이 혈중 비타민 C수준이 낮다고 하였다.

칼슘 및 철분 섭취량도 두 군간의 유의적인 차이가 없었으며, 흡연군이 약간 높은 경향이였다. 1일 평균 섬유소의 섭취량은 흡연군 8.6g과 비흡연군 7.8g으로 흡연군이 비흡연군에 비해 유의적으로 높았다.

이상의 결과로 볼 때 전체적으로 흡연자가 비흡연자에 비해 대체로 많은 영양소 섭취를 하는 경향이였으나 유의적인 차이는 없었으며 이는 본 연구와 같이 남자대학생을 대상으로 연구한 Kim의⁴²⁾ 연구와도 일치하는 결과였다. 이와 같이 흡연자와 비흡연자간의 영양소 섭취량의 차이가 없는 것은 대상자들의 연령층이 활동이 왕성하고 식품섭취량이 비교적 많은 남자 대학생이었기 때문으로 생각된다.

Table 4. Concentrations of plasma antioxidant vitamins of the subjects

	Smokers	Non-smokers
vitamin C(mg/dl)	1.8 ± 0.2 ¹⁾	2.4 ± 0.4
vitamin A(μ g/dl)	51.0 ± 2.3	55.3 ± 2.4
vitamin E(μ g/dl)	676.3 ± 444.1	714.6 ± 308.1
β -carotene (μ g/dl)	9.8 ± 1.2	7.8 ± 0.6

¹⁾Means ± SE

3) 혈장내 항산화 비타민 농도

혈장 항산화 비타민 농도는 Table 4에 제시하였다. 혈장 비타민 C의 농도는 흡연군 1.8mg mg/dl, 비흡연군 2.4mg/dl로 유의성은 없었으나 흡연군이 비흡연군에 비해 낮은 편이었으며 이는 Schectman,³⁸⁾ Parmuk 등⁴³⁾의 연구결과 및 대부분의 흡연과 혈청 비타민 C의 농도에 대한 연구결과와 유사하였다.^{40,40)} 그 외 비타민 A와 비타민 E 수준은 흡연군이 비흡연군에 비해 낮은 경향이였고, β -carotene 농도는 흡연군이 비흡연군에 비해 약간 높은 경향이였으나 유의성은 없었다. 흡연은 비타민 C의 체내 대사를 변화시키는 것으로 알려져 있는데, 니코틴과 같은 tobacco alkaloids와 일산화탄소의 체내 유입을 초래하고 이러한 화합물들이 혈액으로부터 제거되어 호흡이나 소변으로 배설될 때 비타민 C를 필요로 하므로 흡연자는 비흡연자에 비해 비타민 C의 대사속도가 빨라져 흡연자의 비타민 C의 생리적 요구량이 비흡연자에 비해 증가한다⁴⁴⁾고 한다. 또한 니코틴은 부신 수질에서 catecholamines의 유리를 자극하는데 이 catecholamines의 합성에 비타민 C가 요구된다⁴⁴⁾. 그러므로 흡연자는 비타민 C의 대사의 증가 및 흡수율의 저하를 고려하여 섭취할 필요가 있는데, 이런 연구결과들을 기초로 하여 미국의 RDA의 경우 흡연자의 비타민 C에 대한 권장량을 100mg/day로 정상인에 비해 180%정도 높게 책정하고 있다.⁴⁰⁾

혈장 비타민 E의 농도는 흡연군이 676 μ g/dl, 비흡연군 714 μ g/dl로 두 군간의 유의적인 차이가 없었다. 혈장의 비타민 E의 농도가 800 μ g/dl 이하이면 혈장의 비타민 E가 부족한 것으로 보고된 바 있어,⁴⁵⁾ 본 연구 대상자들의 비타민 E의 농도가 정상 농도에 비해 약간 낮은 편이었다. 그러나 흡연에 의해 혈청 비타민 E와 β -carotene 농도가 감소하였다는 선행보고들^{46,47)}도 있으며 특히 노인에서 혈장 비타민 E의 수준은 흡연량과 음의 상관관계를 나타낸다고 한 보고도 있다.⁴⁶⁾ 본 연구는 이와는 달리 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 흡연자와 비흡연자와의 혈청 vitamin E의 수준차이가 없었다는 보고도 있다.⁴⁸⁾

본 연구에서 흡연군의 항산화 비타민의 섭취량이 비흡연

Table 5. Heme proteins damage and lipid peroxidation of HbO₂-containing red blood cells of the subjects

	Smokers	Non-smokers
Hemoglobin in RBC	29.3 ± 2.5 ¹²⁾	30.6 ± 4.5
Fe ⁺⁺ (%) ³⁾	99.5 ± 7.6	99.1 ± 5.6
Fe ⁺⁺⁺ (%) ⁴⁾	0.98 ± 0.04	0.95 ± 0.04
Hemolysis	4.8 ± 0.6	4.4 ± 0.7
Carboxyhemoglobin	0.83 ± 0.09 ³⁾	0.57 ± 0.12
TBARS products (nmol TBARS/mg protein)	3.0 ± 0.1	3.0 ± 0.1

¹⁾Mean ± SE

²⁾Hemoglobins in erythrocyte(RBC), grams per 100ml packed RBC

³⁾Percentage of oxyhemoglobin

⁴⁾Percentage of Methemoglobin

⁵⁾: Significantly different at p < 0.05 between smokers and non smokers by Student t-test

군에 비해 많았음에도 불구하고 두 군간의 항산화 비타민 수준의 유의성이 나타나지 않은 것은 흡연이 체내 항산화 비타민의 대사를 촉진시키고 필요량을 증가시킨 결과라고 해석된다.

4) 적혈구 세포내 heme proteins와 과산화지질 농도

본 연구대상자의 적혈구내 단백질 손상도를 나타낼 수 있는 heme proteins와 지질 손상도를 나타내주는 과산화지질 수준은 Table 5에 제시하였다. 흡연군과 비흡연군의 hemoglobin 농도는 유의적인 차이가 없었으며, 산화스트레스로 인한 heme proteins의 손상을 나타낼 수 있는 oxyhemoglobin과 methemoglobin의 수준도 두 군간의 유의성이 없었다. 그러나 carboxyhemoglobin 농도는 흡연군이 비흡연군에 비해 유의적으로 높았다. carboxyhemoglobin은 헤모글로빈이 일산화탄소와 결합하여 체내 저산소증을 야기하고 중추신경계의 장애에 의한 질식의 원인이 되는 것으로 흡연시 일산화탄소의 흡입이 증가하기 때문에 흡연자에게서 높다.¹²⁾

적혈구는 산소분자와 Fe⁺⁺가 ligand 상태로 결합되어 있으며 superoxide radical을 자생적으로 생산하는 조직이며 산소운반으로 인해 산화스트레스에 노출되어 있는 조직이다¹⁰⁾ 흡연으로 인한 heme proteins의 손상도를 측정하는 연구는 거의 없으며, 비타민 E, selenium, β-carotene, Co Q₁₀의 보충 섭취가 적혈구의 용혈작용과 적혈구 단백질 분해를 억제하여 산화적 손상을 억제하는 효과가 있는 것으로 보고한 바 있으나,¹⁴⁾ 본 연구에서 흡연으로 인한 heme proteins의 손상은 비흡연군과 유의적 차이가 없었던 것은 본 연구대상자의 연령이 비교적 젊었고 항산화비타민도 권장량이상 섭취하고 있었던 것에 기인하는 것으로 사료된다.

과산화지질 농도는 흡연군, 비흡연군 모두 3.0nmol/mg

Table 6. Hematologic characteristics of the subjects

	Smokers	Non-smokers
Glucose(mg/dl)	99.6 ± 4.4 ¹⁾	94.6 ± 2.9
Total cholesterol(mg/dl)	152.8 ± 9.0	148.6 ± 8.4
Hematocrit(%)	48.0 ± 2.9	49.6 ± 0.6
GOT ²⁾ (Unit/L)	9.2 ± 2.1	17.6 ± 1.5
GPT ³⁾ (Unit/L)	14.5 ± 1.8	14.7 ± 2.1

¹⁾Means ± SE

²⁾glutamic oxaloacetic transaminase

³⁾glutamic pyruvic transaminase

protein로 유의성이 나타나지 않았다. 생체내 과산화지질의 농도는 생체의 산화 스트레스로 인한 비가역적인 손상 지표로서 과산화지질 농도의 증가는 노화를 비롯한 퇴행성 질환의 원인으로 인식되고 있다.¹³⁾

본 실험에서 흡연군과 비흡연군 간의 적혈구 과산화지질 농도의 차이는 나타나지 않았다. 이는 본 연구에서 과산화지질 생성에 영향을 주는 항산화 비타민의 1일 섭취량이 흡연군에서 높았으나 혈액내 항산화 비타민의 수준은 흡연군과 비흡연군간의 차이가 없었던 것으로 미루어 볼 때 항산화 비타민이 흡연군의 지질과산화를 억제하는데 작용한 것으로 생각된다.

5) 연구대상자의 혈액학적 특성

Hematocrit 및 혈장 포도당, 총 콜레스테롤농도 및 GOT, GPT 활성을 Table 6에 제시하였다.

혈당은 흡연군이 99.6, 비흡연군 94.6mg/dl으로 유의성이 없었으며, 총 콜레스테롤 농도도 흡연군, 비흡연군 각각 152.8mg/dl, 148.6mg/dl로 두 군간의 유의적인 차이가 나타나지 않았다. Craig 등⁵⁰⁾은 선행연구들을 분석한 결과 비흡연자에 비해 흡연자의 총 콜레스테롤이 높았다고 보고하여 본 연구결과와는 상이하였다.

간기능의 진단에 이용되는 지표인 혈중 GOT와 GPT의 상승은 이들이 분포하고 있는 장기의 세포 변성 및 괴사를 반영하며 체내 항산화 수준이 낮아질 때 이들 지표가 높다¹⁰⁾고 보고된 바 있으나, 본 연구 대상자의 GOT와 GPT의 활성은 흡연군과 비흡연군에서 유의적 차이가 나타나지는 않았으며 이는 본 연구 대상자들이 건강한 남자대학생이었고 흡연력이 비교적 짧았기 때문이라고 생각된다.

Hematocrit도 흡연군과 비흡연군간에 유의적 차이를 나타내지는 않았고 모든 항목은 정상 범위에내었다.

2. 실험 2 : 흡연자의 항산화 비타민 보충 섭취 및 금연으로 인한 체내 손상도의 변화

1) 혈장내 항산화 비타민 농도

비타민 C와 E 보충섭취와 단기간 금연에 따른 혈장 항산

Table 7. The effects of vitamin C and E supplementation for 10days and/or smoking cessation for 5 days on the concentration of plasma antioxidant vitamins

	SP ¹⁾ (n = 14)	SV(n = 13)	NSP(n = 9)	NSV(n = 10)	Significant factor ³⁾
vitamin C(mg/ml)	1.9 ± 0.1 ^{3a}	2.3 ± 0.1 ^{3b}	2.0 ± 0.1 ^{3b}	2.5 ± 0.2 ^{3b}	V
vitamin A(μg/dl)	63.5 ± 8.1	71.8 ± 5.3	73.4 ± 4.1	72.0 ± 4.5	
vitamin E(μg/dl)	636.1 ± 26.1 ^a	841.5 ± 66.0 ^b	604.9 ± 26.7 ^a	910.3 ± 57.0 ^b	V
β-carotene(μg/dl)	6.7 ± 0.8	6.6 ± 0.5	7.2 ± 0.5	7.6 ± 0.9	

¹⁾SP: placebo intake group; SV: vitamin C & E intake group; NSP: placebo intake with smoking cessation group; NSV: vitamin C & E intake with smoking cessation group

²⁾Means ± SE

³⁾Values with different alphabets are significantly different among experimental groups at p < 0.05 by Duncan's multiple range test. Statistical significance was calculated at p < 0.05 by 2-way ANOVA; V: effect of vitamin supplementation

Table 8. The effect of vitamin C and E supplementation for 10 days and/or smoking cessation for 5 days on heme proteins damage of HbO₂-containing red blood of the subjects

	SP ¹⁾ (n = 14)	SV(n = 13)	NSP(n = 9)	NSV(n = 10)	Significant factor ³⁾
Hemoglobin in RBC ⁴⁾	30.2 ± 1.5 ²⁾	32.2 ± 1.2	31.1 ± 1.9	30.1 ± 2.1	
Fe ²⁺ (%) ⁵⁾	98.9 ± 0.2	99.1 ± 0.3	99.0 ± 0.1	99.1 ± 0.3	
Fe ³⁺ (%) ⁶⁾	1.03 ± 0.05ab	0.87 ± 0.04b	0.96 ± 0.05 ^{ab}	0.90 ± 0.03ab	V
Carboxyhemoglobin(%)	1.57 ± 0.34	1.39 ± 0.22	0.92 ± 0.19	0.90 ± 0.17	S
Hemolysis	3.9 ± 0.3b	2.8 ± 0.3a	3.2 ± 0.4 ^{ab}	2.6 ± 0.5 ^a	V

¹⁾SP: placebo intake group; SV: vitamin C & E intake group; NSP: placebo intake with smoking cessation group; NSV: vitamin C & E intake with smoking cessation group

²⁾Means ± SE

³⁾Values with different alphabets are significantly different among experimental groups at p < 0.05 by Duncan's multiple range test.

Statistical significance was calculated at p < 0.05 by 2-way ANOVA; V: effect of vitamin supplementation; S: effect of smoking cessation

⁴⁾Hemoglobins in erythrocyte(RBC), grams per 100ml packed RBC

⁵⁾percentage of oxyhemoglobin

⁶⁾percentage of methemoglobin

화 비타민 농도는 Table 7에 제시하였다.

본 실험에서 혈장 비타민 C농도는 항산화 비타민 보충 섭취의 영향이 나타나서 SP군이 1.9mg/dl, SV군 2.3mg/dl, NSP군 2.0mg/dl, NSV군 2.5mg/dl로 항산화 비타민 보충 섭취만으로도 증가하기는 했으나 유의적이지는 않았고 비타민 보충 섭취와 금연을 병행할 때 유의적으로 증가하였다. Brown¹²⁾은 남성 흡연자의 84시간 금연으로 혈장 비타민 C의 수준이 유의하게 증가하였다고 보고하였으나 본 연구에서는 5일간의 단기금연으로 인한 효과는 나타나지 않았다. Smith와 Hodges⁵¹⁾의 연구결과 금연자의 혈청 비타민 C 수준은 흡연자와 비흡연자의 중간 수준이라고 보고한 바 있는데, 본 연구 실험 1과 2를 통해 흡연자, 단기간 금연자, 비흡연자의 혈장 비타민 C의 수준을 본 결과 단기 금연자의 혈장 비타민 수준은 금연자와 비흡연자의 중간수준이었다(1.9 vs 2.0 vs 2.2).

혈장 비타민 E의 농도는 비타민 보충 섭취로 인해 유의하게 증가하였으나 단기 금연의 효과는 볼 수 없었다. 혈장 비타민 A와 β-carotene의 농도는 금연이나 비타민 보충에 의한 차이를 나타내지 않았다.

본 연구에서 단기간의 금연이 혈장 항산화 비타민의 수준 개선 효과를 나타내지 않았는데 이는 본 연구에서의 금연기

간이 혈장 항산화 비타민의 농도를 증가시키기에는 너무 짧았기 때문이라 생각되며 앞으로 금연기간을 더욱 연장하여 연구할 필요성이 있다.

2) 항산화비타민 보충섭취와 금연이 적혈구 세포내 단백질과 지질손상에 미치는 영향

Table 8에 나타난 바와 같이 금연으로 인해 carboxyhemoglobin이 감소하였는데 carboxyhemoglobin은 흡연시 일산화탄소의 흡입에 의한 것으로 대상자들의 금연이 carboxyhemoglobin의 농도를 감소시키는 데 기여했다고 생각된다.

Methemoglobin 농도는 비타민 보충섭취의 영향이 나타나서 SP군이 1.03%, SV군 0.87%, NSP군 0.96%, NSV군 0.90%로 금연으로 인해 산화스트레스 감소시 methemoglobin 생성이 감소하는 경향이었으나 항산화 비타민 복용시 통계적으로 유의한 감소가 있었다. 항산화 비타민 보충섭취가 methemoglobin 생성에 영향을 주지 않았다고 보고한 결과가 있으나¹⁹⁾ 본 연구에서 항산화 비타민 복용이 hemoglobin의 산화를 억제시키는 효과가 있는 것으로 나타났다. 흡연은 만성적인 산화스트레스를 부과하며 이에 hemoglobin은 Fe²⁺에서 Fe³⁺의 전환이 증가되는 데 항

Table 9. The effect of vitamin C and E supplementation for 10 days and/or smoking cessation for 5 days on TBARS concentration of red blood cells of the subjects

	SP ¹⁾ (n = 14)	SV(n = 13)	NSP(n = 9)	NSV(n = 10)	Significant factor ³⁾
TBARS(nmol TBARS/mg protein)	3.5 ± 0.021 ^{2b)}	1.2 ± 0.002 ^{a)}	1.4 ± 0.002 ^{ab)}	1.3 ± 0.004 ^{a)}	V, S

¹⁾SP: placebo intake group; SV: vitamin C & E intake group; NSP: placebo intake with smoking cessation group; NSV: vitamin C & E intake with smoking cessation group

²⁾Means ± SE

³⁾Values with different alphabets are significantly different among experimental groups at p < 0.05 by Duncan's multiple range test

Statistical significance was calculated at p < 0.05 by 2-way ANOVA; V: effect of vitamin supplementation; S: effect of smoking cessation

Table 10. The effect of vitamin C and E supplementation for 10 days and/or smoking cessation for 5 days on the hematologic characteristics of the subjects

	SP ¹⁾ (n = 14)	SV(n = 13)	NSP(n = 9)	NSV(n = 10)	Significant factor ³⁾
Glucose(mg/dl)	95.20 ± 5.14 ²⁾	96.00 ± 1.80	88.70 ± 4.60	91.50 ± 2.46	
Total cholesterol(mg/dl)	155.90 ± 7.11 ^{b)}	159.00 ± 4.54 ^{b)}	145.00 ± 8.69 ^{ab)}	135.42 ± 6.36 ^{a)}	
GOT ⁴⁾ (Unit/L)	14.33 ± 2.69	18.86 ± 2.74	13.43 ± 2.03	9.86 ± 3.76	S
GPT ⁵⁾ (Unit/L)	13.90 ± 2.07	12.20 ± 1.11	10.30 ± 1.25	11.25 ± 1.72	

¹⁾SP: placebo intake group; SV: vitamin C & E intake group; NSP: placebo intake with smoking cessation group; NSV: vitamin C & E intake with smoking cessation group

²⁾Means ± SE

³⁾Values with different alphabets are significant different among experimental groups at p < 0.05 by Duncan's multiple range test

Statistical significance was calculated at p < 0.05 by 2-way ANOVA; S: effect of smoking cessation

⁴⁾glutamic oxaloacetic transaminase

⁵⁾glutamic pyruvic transaminase

산화 비타민의 복용으로 체내 항산화수준이 개선되어 hemoglobin의 산화를 억제하는 것으로 사료된다. Methemoglobin의 생성증가는 hemoglobin의 산소결합능력을 감소시키며 따라서 적혈구내 유리 산소의 축적을 초래하게 된다. 따라서 항산화 비타민 보충 섭취를 통한 methemoglobin의 생성억제와 oxyhemoglobin의 증가는 적혈구 세포의 산화적 손상으로 부터의 회복을 의미하나 본 연구에서는 항산화 비타민 보충섭취가 methemoglobin의 생성을 억제시키는 효과만 있었다. 용혈도(hemolysis)는 금연에 의해 약간 감소하는 경향이었으며 항산화 비타민 보충 섭취군인 SV군과 NSV군에서 비섭취군(SP군, NSP군)에 비해 유의하게 감소되었으며 금연과 비타민 보충섭취의 상승효과는 없었다. 비타민 E는 적혈구의 용혈작용을 억제하는 것으로 알려져 있으며³²⁾ 이는 본 연구에서도 동일한 결과를 나타내었다.

본 연구에서 금연 또는 항산화 비타민 보충섭취로 유발한 산화스트레스의 감소는 ferrous hemoglobin의 증가와 ferric hemoglobin을 상대적으로 감소시켜 heme proteins의 분석은 체내 항산화 수준변화에 따른 가역적인 손상을 나타내는 지표로 사용될 수 있음을 보여 주었으며 금연보다는 항산화 비타민 복용의 효과가 큰 것으로 나타났다.

선행연구에서 산화스트레스로 인한 혈장 또는 조직내 TBARS의 농도 변화는 비가역적인 산화적 손상을 나타내는 지표로 사용되어 왔는데¹⁸⁾, Table 9에 제시된 바와 같이 본 연구에서 적혈구내 TBARS 농도는 SP군 3.5nmol/

mg protein, SV군 1.2nmol/mg protein, NSP군 1.4nmol/mg protein, NSV군 1.3nmol/mg protein으로 금연이나 항산화 비타민 보충 섭취로 인해 유의하게 감소하였다. 실험 시작 직전의 흡연자의 적혈구 TBARS 농도인 3.0nmol/mg protein에 비해서도 유의하게 감소하여 이는 산화스트레스로 인한 체내 지질의 손상도 항산화 수준 개선을 통해 가역적으로 회복될 수 있음을 의미한다. 그러나 금연과 함께 비타민의 보충 섭취의 상승효과는 없었다. Low density lipoprotein(LDL)의 산화적 변화는 동맥경화증 발생의 중요한 인자로 작용하는데, Prince 등은⁵³⁾ 흡연자는 비흡연자에 비해 LDL의 과산화물 수준이 2배 정도 높으며, LDL을 지질 과산화물 생성으로부터 보호하기 위한 비타민 E의 최소 요구량을 측정하기 위해 20명의 정상인에게 2주일간 매일 25, 50, 100, 200, 400, 800IU의 비타민 E를 연속해서 섭취시킨 결과 LDL내 비타민 E의 농도는 매일 800IU를 섭취하였을 때 증가하였으며, LDL의 최대 산화율은 매일 400, 또는 800IU의 비타민 E를 보충 섭취에 의해 유의적인 효과가 있었다고 보고하였다. Brown⁵⁴⁾은 평소 비타민 E의 섭취량이 낮은 남자 대상자에게 1일 280mg의 비타민 E를 10주간 섭취시킨 결과 혈장 과산화 지질 농도가 유의하게 감소하였고 혈소판 수가 감소하여 비타민 E 보충 금연의 유용성을 제시한 바 있다. Mezzetti 등⁵⁵⁾도 흡연자의 혈장내 비타민 C와 E 농도가 비흡연자에 비해 유의하게 낮았고 과산화 지질은 유의하게 높다고 보고한 바 있어 본 연구결과 단기간의 항산화 비타민 보충 섭취나 단기

간의 금연이 빠른 속도로 산화스트레스로 인한 체내 손상을 가역적으로 회복시킬 수 있음을 알 수 있었다.

3) 체내 항산화 비타민 보충 및 금연이 hematocrit, 혈장내 포도당, 총 콜레스테롤 및 GOT, GPT 활성에 미치는 영향

비타민 C와 E 보충과 금연에 따른 hematocrit, 혈장내 포도당, 총 콜레스테롤, 및 GOT, GPT 활성을 Table 10에 제시하였다.

본 실험 대상자들의 혈당수준은 정상범위 이내였으며 비타민 보충이나 금연에 의한 효과는 없었다. 비타민 E 첨가군에서 혈당을 낮춘다는 보고⁵³가 있으나 본 연구대상자가 젊은 남자 대학생이어서 모두 정상 혈당 수준을 유지하였기 때문에 사료된다.

혈장 총 콜레스테롤 농도는 SP군이 155.9 mg/dl, SV군 159mg/dl, NSP군 145.0 mg/dl, NSV군 135.4 mg/dl로 금연이 혈장 총 콜레스테롤을 감소시키는 경향이였다. 항산화 비타민 보충 섭취와 금연을 병행한 실험군에서 통계적으로 유의적으로 낮았으며 실험 시작 초기 농도인 152.8 mg/dl(실험 1, Table 6)에 비해 유의하게 낮아졌다.

Singh 등⁵⁶은 심근경색환자에게 항산화 비타민(비타민 A 150,000 IU, 비타민 C 1,000mg, 비타민 E 400mg 및 β -carotene 125mg)을 28일 동안 투여한 결과 GOT 활성이 45.6 IU/dl에서 25.8 IU/dl로 감소하였다고 보고한 바 GOT 활성이 높은 사람에게 항산화 비타민 보충시 감소 효과가 있음을 보여주었지만 본 실험에서는 비타민 C, E 보충 섭취 효과를 볼 수 없었고 비타민 보충 섭취와 함께 금연을 실시하였을 때 유의적이지는 않으나 GOT 농도가 낮아지는 경향을 볼 수 있었다.

결 론

본 연구는 흡연자에 대한 영양 및 건강 증진을 위한 자료를 마련하기 위하여 건강한 20대 남자 흡연자와 비흡연자의 영양소 섭취상태를 조사하고 혈장내 항산화 비타민 농도, 적혈구내 단백질 및 지질 손상도 및 혈액성분을 비교 분석하였으며, 흡연자에게 비타민 C와 E의 보충 섭취 및 금연이 흡연으로 인한 세포내 단백질 및 지질 손상의 회복에 미치는 영향을 관찰하였다. 연구 결과를 요약해 보면 다음과 같다.

1) 흡연군과 비흡연군의 영양소 섭취량은 권장량에 근접하거나 상회하는 수준이었으며 흡연군은 비흡연군에 비해 영양소 섭취량이 전반적으로 높은 경향을 나타내었다. 특히 흡연군이 비흡연군에 비해 에너지, 섬유소 섭취량($p < 0.$

01), 비타민 C 섭취량($p < 0.05$)은 유의적으로 많았으며, 알코올 섭취량도 유의하게 많았다($p < 0.01$).

2) 흡연군과 비흡연군간의 혈장 항산화 비타민 농도는 두 군간의 유의적인 차는 없었으나 흡연군이 비흡연군에 비해 낮은 경향이였다. 그러나 β -carotene의 경우에는 흡연군이 비흡연군에 비해 약간 높은 경향이였다.

3) 흡연군과 비흡연군간의 과산화지질 농도, 혈당, 총 콜레스테롤, hematocrit, methemoglobin농도 및 GOT, GPT 활성은 두 군간에 유의적인 차가 없었다. 그러나 흡연군의 carboxyhemoglobin 농도는 비흡연군에 비해 유의적으로 높아($p < 0.05$) 흡연시 일산화탄소의 흡입으로 carboxy-hemoglobin 농도가 높아짐을 확인할 수 있었다.

4) 비타민 C, E 보충과 금연 후 혈장 비타민 C와 E 농도는 유의적으로 증가하였으며 특히 혈장 비타민 C 수준은 비타민 보충 섭취만으로도 증가하는 경향이였으나 비타민 보충과 금연을 병행할 때 유의적으로 증가하였다. 혈장 비타민 A와 β -carotene의 농도는 비타민 C, E 보충이나 금연에 의한 차이를 나타내지 않았다.

5) 적혈구내 heme proteins는 금연에 의해 산화된 hemoglobin(methemoglobin)이 감소하는 경향이였으며 비타민 C와 E의 보충 섭취시 유의하게 감소하였다($p < 0.05$). 적혈구내 과산화 지질 농도는 비타민 C와 E의 보충 섭취나 금연으로 유의하게 감소하였으나 항산화 비타민보충섭취와 금연의 병행으로 인한 두 요인의 상승효과는 없었다.

6) 혈장 총 콜레스테롤 농도는 비타민 C, E 보충과 금연을 병행한 실험군에서 유의적으로 낮아졌고 흡연을 계속하거나 비타민만 보충 섭취할 경우에는 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

본 연구에서 흡연자에게 단기간 비타민 C, E 보충 섭취나 금연을 실시한 결과 혈액내 항산화 비타민 농도의 증가와 적혈구내 단백질 및 지질 손상으로 부터의 회복, 혈장 총 콜레스테롤의 농도의 감소를 볼 수 있었다.

이로써 비타민 C, E 보충 섭취시 흡연으로 인한 위험을 감소시킬 수 있으며 비록 단기간 일지라도 비타민 C, E 보충 섭취와 금연의 병행은 체내 항산화 수준을 개선하고 또한 비타민 C, E 보충 또는 금연이 적혈구내 단백질 및 지질의 손상으로부터의 회복을 시키며, 체내 지질대사를 개선시키는 효과가 있음을 알 수 있었다.

Literature cited

- 1) Gey KF. On the antioxidant hypothesis with regard arteriosclerosis.

- Biol Nutr Diet* 37: 53-91, 1984
- 2) Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antinomians and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 7915-7922, 1993
 - 3) Sies H. Strategies of antioxidative defense. *Eur J Biochem* 215: 213-219, 1993
 - 4) Halliwell B. The role of oxygen radicals in human disease with particular reference to the vascular system. *Haemostasis* 23(suppl): 118-126, 1993
 - 5) Oliver CN, Ahn B-W, Moerman EJ, Goldstein S, Stadtman ER. Age-related changes in oxidized proteins. *J Biol Chem* 262: 5488-5491, 1987
 - 6) Halliwell B. Free radicals and antioxidants and human disease, curiosity cause, or consequence. *Lancet* 344: 721-724, 1994
 - 7) Ames BN. Endogenous oxidative DNA damage, aging and cancer. *Free Rad Res Commun* 7: 121-128, 1989
 - 8) Salganik RI, Solovyva NA, Kikalov Si, Grishaeva ON, Memenova LA, Popovsky AV. Inherited enhancement of hydroxyl radical generation and lipid peroxidation in the SD strain rats results in DNA rearrangements, degenerative diseases and premature aging. *Biochem Biophys Res Commun* 19: 726-733, 1994
 - 9) Hopkin JM, Evans HJ. Cigarette-smoke induce DNA damage and lung cancer risks. *Nature* 283: 388-390, 1980
 - 10) van Antwerpen L, Theron AJ, Myer MS, Richards GA, Wolmarans L, Booysen U, van der Merwe CA, Sluis-Cremer GK, Anderson R. Cigarette smoke-mediated oxidant stress, phagocytes, vitamin C, vitamin E and tissue injury. *Ann NY Acad Sci* 686: 63-65, 1993
 - 11) Harats D, Ben-Naim M, Dabach Y, Hollander G, Havivi E, Stein O, Stein Y. Effect of vitamin C and E supplementation on susceptibility of plasma lipoproteins to peroxidation induced by acute smoking. *Atherosclerosis* 85: 47-54, 1990
 - 12) Brown A. Acute effects of smoking cessation on antioxidant status. *J Nutr Biochem* 7: 29-39, 1996
 - 13) Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and oxidative tissue injury. *Free Rad Biol Med* 9: 515-540, 1990
 - 14) de Mulder CLC, Madabush HT, Tappel AL. Protection by vitamin E, selenium, trolox, ascorbic acid palmitate, acetylcysteine, coenzyme Q, β -carotene, and (+)-catechin against oxidative damage to rat liver and heart tissue slices measured by oxidized heme proteins. *J Nutr Biochem* 6: 452-458, 1995
 - 15) Anderson HJ, Chen H, Pellet LJ, Tappel AL. Ferrous-iron-induced oxidation in chicken liver slices as measured by hemichrome formation and thiobarbituric acid-reactive substances: Effects on dietary vitamin E and β -carotene. *Free Rad Biol Med* 15: 37-48, 1993
 - 16) Winterbourn CC. Free radical production and oxidative reactions of hemoglobin. *Environ Health Perspective* 64: 321-330, 1993
 - 17) Kim WY, Yand EJ. A study on development and validation of food frequency questionnaire for Koreans. *Korean J Nutr* 3: 220-230, 1998
 - 18) Hildago FJ, Zamora R, Tappel AL. Oxidant induced haemoprotein degradation in rat tissue slices: effect of bromotrichloromethane, antioxidants and chelators. *Biochim Biophys Acta* 1037: 313-320, 1990
 - 19) Pryor QA, Stone K. Oxidants in cigarette smoke. *Ann NY Acad Sci* 686: 12-27, 1993
 - 20) Otsuda M, Kurota T, Suzuki E, Arakawa N, Inagaki C. Separative determination of ascorbic acid and erythorbic acid in animal tissues by high-performance liquid chromatography. *J Nutr Sci Vitaminol* 27: 9-15, 1981
 - 21) Bieri JG, Tolliver TJ, Catignani GL. Simultaneous determination of α -tocopherol and retinol in plasma or red cells by high pressure liquid chromatography. *Am J Clin Nutr* 32: 2143-2149, 1979
 - 22) Stahl W, Schwarz W, Sundquist AR, Sies H. Cis-trans isomers of lycopene and β -carotene in human serum and tissues. *Arch Biochem Biophys* 294: 173-177, 1992
 - 23) John AB, Steven DA. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymol* 52: 302-310, 1978
 - 24) The Korean Nutrition Society, Recommended dietary allowances for Korean, 6th ed. Jungang Moonhwas, Seoul, Korea
 - 25) Cade JE, Margetts BM. Relationship between diet and smoking-Is the diet of smokers different? *J Epidemiol Commun Health* 45: 270-272, 1991
 - 26) Blitzer PH, Rimm AA, Giefer EE. The effect of cessation of smoking on body weight in 57,032 women: cross-sectional and longitudinal analysis. *J Chron Dis* 30: 415-429, 1977
 - 27) Glauser SC, Gause EM, Reidenberg MM, Rusy BE, Tallarida RJ. Metabolic changes associated with the cessation of cigarette smoking. *Arch Environ Health* 20: 377-381, 1970
 - 28) Newsholme JC, Ivy Ac. The effects of tobacco smoking on the alimentary canal. *JAMA* 112: 249-256, 1972
 - 29) Bolton-Smith C. Antioxidant vitamin intakes in Scottish smokers and non-smokers. *Ann NY Acad Sci* 686: 347-358, 1993
 - 30) Park JA, Kang MH. Vitamin C intakes and serum levels in smoking college students. *Korean J Nutr* 29: 122-133, 1996
 - 31) Khosla T, Lowe CR. Obesity and Smoking habits by social class. *Br J Preven Soc Med* 26: 249-256, 1972
 - 32) Lee HS, Lee YK, Chen SC. Estimation of dietary fiber intake of college students. *Korean J Nutr* 24: 534-546, 1991
 - 33) Fehily AM, Phillips KM, Yarnell WG. Diet, smoking social class and body mass index in the coronary heart disease study. *Am J Clin Nutr* 40: 827-833, 1984
 - 34) Tillotson J, Gorder D, Kassim N. Nutrition data collection in the Multiple Risk Factor Intervention Trial(MRFIT). *J Am Diet Assoc* 78: 235-240, 1981
 - 35) Fisher M, Gordon T. The relation of drinking and smoking habit to diet: the lipid research clinics prevalence study. *Am J Clin Nutr* 41: 623-630, 1985
 - 36) Wack JT, Rodin J. Smoking and its effects on the systems of caloric regulation. *Am J Clin Nutr* 35: 366-380, 1982
 - 37) Fryer RE, Schwartz BS, Dorty RL. Dose-related effects of cigarette smoking on olfactory function. *JAMA* 263: 1233-1236, 1990
 - 38) Schectman G, Byrd JC, Gruchow HW. The influence of smoking on vitamin C status in adults. *Am J Public Health* 79: 2: 158-162, 1989
 - 39) Nomura AMY, Stammermann GN, Heibrun LK. Serum vitamin levels and the risk of cancer of specific sites in men of Japanese ancestry in Hawaii. *Cancer Res* 45: 2369-2372, 1985
 - 40) Kallner AB. Requirement for vitamin C based on metabolic studies. *Ann NY Acad Sci* 498: 418-423, 1987
 - 41) Stryker WS, Kaplan LA, Stein EA, Stempfner MJ, Sober A, Willett WC. The relationship of diet, cigarette smoking and alcohol consumption to plasma beta-carotene and alpha-tocopherol levels. *Am J Epidemiol* 127: 283-296, 1988
 - 42) Kim WK. Effects of vitamin C supplementation on immune status in smoking and nonsmoking male college students. *Korean J Nutr* 31: 1244-1253, 1998
 - 43) Pamuk ER, Byers T, Coates RJ, Vann JQ, Sowell AL, Gunter EW, Glass D. Effect of smoking on serum vitamin concentrations in African-American women. *Am J Clin Nutr* 59: 891-895, 1994
 - 44) Hoefel OS. Plasma vitamin C levels in smokers. *Int J Vitam Nutr Res (suppl)* 16: 127-137, 1977
 - 46) Herberth B, Chavnace M, Musse N, Mejean L, Bemhes F. Dietary intake and other determinant of blood vitamins in an elderly population. *Eur J Clin Nutr* 43: 174-186, 1989
 - 47) Durthie CG, Arthur JR, James WPT. Effect of smoking and vitamin E on blood antioxidant status. *Am J Clin Nutr* 42: 273-287, 1990

- 48) Brown KM, Morrice PC, Duthie GG. Erythrocyte vitamin E and plasma ascorbate concentrations in relation to erythrocyte peroxidation in smokers and non smokers: dose response to vitamin E supplementation. *Am J Clin Nutr* 65: 496-502, 1997
- 49) Clemens RC, Waller HD. Lipid peroxidation in erythrocytes. *Chem Phys Lipids* 45: 251-268, 1987
- 50) Craig WY, Palomaki GE, Haddow JE. Cigarette smoking and serum lipid and lipoprotein: an analysis of published data. *Br Med J* 28: 784-792, 1989
- 51) Smith JL, Hodges RE. Serum levels of vitamin C in relation to dietary and supplemental intake of vitamin C in smokers and nonsmokers. *Ann NY Acad Sci* 498: 144-152, 1987
- 52) Zamora R, Hildago F, Tappel AL. Comparative antioxidant effectiveness of dietary β -carotene, vitamin E, selenium and coenzyme Q₁₀ in rat erythrocytes and plasma. *J Nutr* 121: 50-56, 1991
- 53) Prince HMG, Duyvenvorde W, Butnh R. Supplementation with low dose vitamin E protects LDL from lipid peroxidation in men and women. *Atheroscler Thromb Vascular Biol* 15: 325-333, 1995
- 54) Brown KM, Morrice PC, Duthie GG. Vitamin E supplementation suppresses indexes of lipid peroxidation and platelet counts in blood of smokers and nonsmokers but plasma lipoprotein concentrations remain unchanged. *Am J Clin Nutr* 60:383-387, 1994
- 55) Mezzetti A, Lapenna D, Pierdomenico SD, Calafiore Am, Costantini F, Riario-Sforza G, Imbastaro T, Neri M, Cuccurullo F. Vitamin E, C, and lipid peroxidation in plasma and arterial tissue of smokers and non-smokers. *Atherosclerosis* 112: 91-99, 1995
- 56) Singh RB, Niaz MA, Rastogi SS, Rastogi S. Usefulness of antioxidant vitamins in suspected acute myocardial-infarction(the Indian experiment of infarct survival-3). *Am J Cardiol* 77: 232-26, 1996