

포도주스의 보충섭취가 흡연성인의 혈압, 혈장지질 및 자유 라디칼 생성에 미치는 영향*

김정신** · 김혜영** · 박유경** · 박은주*** · 강명희**§

한남대학교 이과대학 식품영양학과, ** 경남대학교 생명과학부***

The Effects of Purple Grape Juice Supplementation on Blood Pressure, Plasma Lipid Profile and Free Radical Levels in Korean Smokers*

Kim, Jung-Shin** · Kim, Hae-Young** · Park, Yoo Kyoung** · Park, Eunju*** · Kang, Myung-Hee**§

Department of Food and Nutrition, ** Hannam University, Daejeon 306-791, Korea

Division of Life Sciences, *** Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

ABSTRACT

Flavonoids contained in grapes are potent antioxidants that may protect against oxidative stress and reduce the risk of chronic diseases related with free radical damage. In this study we investigated the effect of daily grape juice supplementation on blood pressure (BP), plasma lipid profiles and the generation of free radicals in 67 healthy volunteers (29 smoker, 38 nonsmokers). The daily 480 ml of grape juice supplementation for 8 weeks resulted in a significant decrease in diastolic BP by 6.5% in smokers and systolic and diastolic BP by 11.2 and 3.7% in non-smokers. Plasma total cholesterol, HDL- and LDL-cholesterol levels in smokers and total cholesterol in non-smokers were significantly increased after the intervention. Plasma triglycerides and conjugated dienes were not affected by grape juice supplementation. Levels of free radical determined by reading the lucigenin-perborate ROS generating sources, decreased significantly by 18% compared to the beginning of the study. The results indicated that the consumption of grape juice may reduce BP and free radical generation in smokers, which was possibly exerted by flavonoids. Our findings suggested that the grape juice has protective effect on chronic disease due to the overproduction of free radical in smokers. (*Korean J Nutrition* 37(6): 455~463, 2004)

KEY WORDS : grape juice, supplementation, free radical, smokers, blood pressure, lipid profil.

서론

흡연자의 신체 내에서는 광범위한 해로운 활성을 가진 자유 유리기가 많이 생성되며 이에 따라 활성산화물질(reactive oxygen species, ROS)의 생산이 비정상적으로 높아진다. 체내에 항산화계의 방어한계를 넘어설 정도의 ROS가 축적되면, oxidative stress 현상이 일어나며 그 결과로 심순환계 질환의 위험이 증가할 뿐 아니라 암 발생의 초기단계인 DNA의 손상이 증가하고 이는 세포의 돌연변이를 유발하여 암으로 발전시킨다.¹⁻³⁾ 따라서 흡연자

의 항산화 영양 상태 및 DNA 손상 정도를 monitoring하여 이들에게 항산화제 등을 보충하는 영양중재연구는 매우 중요하며 선진 외국에서는 이러한 노력이 많이 시도되어 왔다.⁴⁻⁸⁾ 그러나 이제까지의 항산화 영양소의 보충으로 흡연자의 암 예방 효과를 조사하는 임상실험연구들은 vitamin C, vitamin E 및 β -carotene을 권장량보다 몇 배, 많게는 몇 십 배 많은 양을 보충하는 것이 대부분이었고 그 결과는 DNA 손상을 억제하거나 암을 예방하는데 그리 큰 효과가 없음이 밝혀졌다.^{4,5)} 항산화 영양소의 보충보다는 오히려 채소나 과일의 풍부한 섭취가 암 예방과 밀접한 관계가 있음이 많은 역학조사를 통해 밝혀졌고 꽃양배추, 브로콜리와 같은 십자화과 야채 또는 토마토, 양파 및 전곡류 (whole grains), 키위주스 등을 보충한 intervention 연구에서 DNA 손상을 방지할 수 있는 효과를 얻었음이 보고되고 있다.⁶⁻⁸⁾ 또 역학조사와 임상연구 보고에 의하면 폴리페놀이 많이 들어있는 과일과 야채를 섭취하면 심순

접수일 : 2004년 4월 7일

채택일 : 2004년 7월 16일

*This study was supported by a grant of the Korea Health 21 R&D Project, Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea (00-PJ1-PG3-22000-0049).

§To whom correspondence should be addressed.

환계 질환이나 여러 종류의 암의 위험을 줄일 수 있다.^{9,10)} 이에 따라 최근 많은 연구자들이 vitamin C, vitamin E 및 β -carotene과 같은 정제된 단일 항산화제 보다는 항산화제가 풍부한 천연 야채나 과일의 섭취를 권장하고 있으며 이는 항산화 영양소 외에 야채나 과일에 함유된 flavonoids 등의 phytochemical이 효과적으로 항산화 작용을 하기 때문이라고 보고하고 있다.

최근 산화 스트레스는 관상심장질환과 관련이 있을 뿐 아니라 혈압과도 관련이 있는 것이 동물모델 뿐 아니라 인체실험에서도 보고되고 있다.^{11,12)} 인체는 항산화 효소 및 저분자의 항산화제를 통하여 ROS에 대한 방어 시스템을 유지하고 있으며 과일과 야채 등에는 항산화 비타민이 풍부할 뿐 아니라 flavonoids도 많이 들어있으므로 항산화제의 좋은 공급원이 된다. Tea polyphenol, catechin 등의 flavonoids는 ROS를 제거하며¹³⁾ 전이 금속 이온과 킬레이트를 형성한다.¹⁴⁾ 또 차에 들어있는 flavonoids는 superoxide 라디칼과 NO로부터 형성되는 peroxynitrite와 nitric oxide (NO)를 소거하며,¹⁵⁾ 내피세포에서 유도된 NO의 생물학적 이용효능을 감소시킨다. Black tea 구성성분인 theaflavins은 inducible NO synthase 합성을 저해함으로써 peroxynitrite의 형성을 감소시킬 수 있으며,¹⁶⁾ 더 나아가 역학조사에서 녹차 polyphenols은 심혈관계 질환을 보호하는 효과가 있음도 보고되고 있다.^{17,18)} 따라서 최근에는 항산화 식품 및 식품 중 polyphenols가 고혈압과 같은 심혈관계 질환 위험요인들에 대해 어떤 생리활성 효과를 가지는지에 대해 관심이 집중되고 있다.

포도에는 catechin, epicatechin, quercetin, anthocyanins 등의 flavonoids가 다량 함유되어 있으며 이들은 *in vitro*와 동물실험에서 각각 항산화, 항염증 및 혈소판응집 저해 등의 효과를 보임이 보고되었다.^{13,19)} Bagchi 등²⁰⁾은 포도 씨 proanthocyanidin 추출물에 자유 라디칼 제거능, 항괴사 효과, cytochrome P450 2E1 저해 및 항발암 활성 등이 있음을 밝혔다. 포도주스의 생리활성에 관한 인체연구도 수행되었는데 Folts,²¹⁾ Keevel 등²²⁾은 포도주스의 섭취가 건강한 성인의 혈소판 응집활성을 저해함을 보고하였으며, Vinson 등²³⁾ 및 O'Byrne 등²⁴⁾은 건강한 성인에게 적색 포도주스를 1~2주일간 섭취시켰을 때 LDL lag time의 증가를 보고하였다. 건강에 유익한 이런 효과들은 포도주스를 관상심장 질환자에게 섭취시켰을 때에도 나타나, 관상심장 질환자에게 14주동안 포도주스를 먹었을 때 LDL lag time이 증가하였다.²⁵⁾ 관상심장 질환자에게 포도주스를 섭취시키면 내피세포 기능이 개선되고 LDL 산화가 예방됨으로 인해 관상심장질환의 위험

이 잠재적으로 감소되는 것으로 생각된다.^{21,25)} 그러나 현재까지 포도주스를 섭취시킨 후 직접적으로 DNA 손상 정도나 총 유리기 생성 수를 측정한 연구는 보고된 바 없을 뿐 아니라 흡연자에게 항산화제를 투여한 후, 혈장 유리 라디칼 생성 정도를 biomarker로 삼아 항산화 영양상태 개선 효과를 본 영양중재연구도 국내외 적으로 보고 된 바 없다.

따라서 본 연구는 포도주스 속의 polyphenolic compounds가 free radical scavenger로 작용하여 혈장의 free radical release를 감소시킨다는 가정을 가지고, 건강한 흡연자에게 항산화 식품인 포도주스를 8주간 섭취시킬 때 혈장 free radical 생성에 변화가 생기는지, 또 혈압과 혈중 지질 양상에 대한 보호 효과가 있는지 알아보려는 목적으로 시도되었다.

연구방법

1. 대상자 선정 및 설문지, 식이섭취 조사, 혈압 측정

본 연구는 대전 지역에 거주하는 19~57세 사이의 건강한 남녀 67명을 대상으로 실시되었다. 설문지의 내용은 나이, 건강 상태 등 일반 사항, 신장과 체중, 흡연에 관한 사항, 운동에 관한 사항, 비타민 영양제 복용 여부, 알코올 섭취 여부 등으로 구성되었다. 흡연에 관한 사항은 흡연여부, 흡연량, 흡연력, 금연 기간 등을 조사하였으며, 3년 이상의 흡연력을 가진 사람만 포함시켰다.

운동에 관하여는 운동의 규칙성, 운동 횟수, 운동량, 운동 강도 및 종류에 대한 내용을 조사하였다. 회수된 설문지를 검토하여 설문지 대답이 불충실한 사람과 비타민 영양제를 복용하고 있는 사람은 대상자에서 제외하고 최종 대상자 67명을 선정하였다. 설문지를 통하여 대상자의 인구학적 특성, 건강상태 및 생활습관 (흡연, 음주, 운동 등)을 조사하였다. 영양중재 전과 후에 신장계와 줄자를 이용하여 신장 및 WHR (waist-hip ratio)을 측정하였고, 혈압계로 혈압을 측정하였으며, 체중, BMI (body mass index), 체지방량 등의 신체계측조사는 생체임피던스 측정기 (Biospace Co, Ltd. Inbody 2.0)를 이용하여 측정하였다. 영양소 섭취상태 및 식습관은 1대 1 면담하는 방식으로 24시간 회상법 및 식품섭취 빈도조사를 이용하여 조사하였으며 영양소 섭취량은 한국영양학회에서 제작한 CAN program과 한국인 영양권장량²⁶⁾을 이용하여 구하였다.

2. 포도주스 보충 투여

대상자에게 100% 천연 포도주스 (국내 M사 S제품)를 매일 두 번에 걸쳐 총 480 ml씩을 8주동안 섭취하도록 지

도하였으며 실험기간동안 포도주스 섭취 이전의 식이 양상을 유지하도록 지시하였다. 투여 전에 식이 섭취 조사, 인체측정조사 및 1차 채혈 (0주)을 실시하고, 투여 후 2차 채혈 (8주)하여 혈장 유리 라디칼 생성 정도 및 혈장 지질 수준을 측정하였다.

3. 혈액 채취

총 67명의 성인 대상자로부터 본인의 동의를 얻어 채혈을 하였다. 대상자들은 채혈하기 전 8시간 이상 음식물을 먹지 않도록 지도하였으며 대상자들의 혈액은 아침식사 전에 10 ml 정도 채혈 후 lithium-heparinic polystyrene에 담아 1000 rpm에서 10분간 원심 분리하고 남은 platelet-rich-plasma는 다시 3000 rpm에서 15분간 원심 분리한 후 -80°C 냉동고에 보관하면서 혈장 총 유리 라디칼 및 혈장 지질 수준 분석에 사용하였다.

4. 혈장 지질 수준 분석

혈장 총 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤 및 중성지방 수준은 (주)인화제약의 kit 시약을 이용하여 Photometric Autoanalyzer (Biotron Scientific instruments BTR 815)로 측정하였다. LDL 콜레스테롤은 Friedwald식을 이용하여 계산하였다.²⁷⁾

5. 혈장 conjugated diene (CD) 분석

CD형성은 지질의 과산화 현상으로 생기는 첫 물질이므로²⁸⁾ LDL 산화정도를 보기 위해 혈장 CD 수준을 분석하였다. 혈장 (1 mg/ml EDTA)에 trisodium citrate buffer (pH 5.05, 5N HCl, 50000 IU/L heparin)를 넣어 LDL을 침전시키고 Na-phosphate buffer (pH 7.4, 0.9% NaCl)로 녹였다. 다음으로는 chloroform : methanol (2 : 1) 3 ml을 첨가하고 증류수를 1 ml 넣은 후 지용성 부분만 취하여 rotary evaporator로 증발시켰다. 이것을 cyclohexane 1 ml로 녹인 후 234 nm에서 spectrophotometer로 분석하였다.²⁹⁾

6. 혈장 total free radical 생성량 분석

대상자들의 혈장 내 total free radical 수준은 그 원리가 간단하면서도 정확하여 임상에서 널리 쓰이고 있는 high sensitivity detector (3.3×10^{-15} W/cm² count)가 설치된 ultra-weak chemiluminescence (CL) analyzer system (Biotech Co. Ltd.)을 사용하여 측정하였다. 먼저 500 μ L의 혈장에 CL substrate (lucigenin-perborate, ROS generating mixture)를 넣고 5분간의 incubation을 한 후에 총 photon count를 5분에 걸쳐 측정하면 그 합산한 값을 결과치로 하여 total count/600 sec으로 표현하였다. Detector의 정확성을 유지하기 위해 매일 ¹⁴C-light source의 10,000 count/sec로 보정하였다.³⁰⁾

7. 자료의 통계처리 및 각 요인과의 상관관계 분석

모든 자료는 MS의 excel database system을 이용하여 입력한 후 SPSS-PC+ 통계 package (version 7.0)를 사용하여 처리하였다. 각 항목에 따라 백분율과 평균치 ± 평균오차 (SE)를 구하였으며 흡연군과 비흡연군의 평균치 비교는 Student t-test로, 포도주스 섭취 전과 8주 섭취 후의 평균치에 대한 유의적인 차이는 Paired t-test를 통해 검증하였다. 변수들 간의 이변량 상관관계는 Pearson's correlation coefficient인 r 계수로 검증하였다.

연구 결과

1. 대상자의 일반사항 및 항산화 영양소 섭취상태 변화

대상자를 흡연군과 비흡연군으로 나누어 설문지를 통하여 일반 인구 특성, 건강상태 및 생활습관 (흡연, 음주, 운동 등), 신체계측 조사 (신장, 체중, BMI, WHR 및 체지방량 등)를 실시한 결과는 Table 1에 제시되었다. 중재연구 시작과 포도주스 섭취 이후에 흡연자와 비흡연자 변수 간에 유의적인 차이가 없었다. 8주간의 중재기간 이후에 체중, BMI, WHR 등의 신체계측치에 유의적인 변화가 나타

Table 1. Anthropometric parameters of the subjects before the 8 week grape juice supplementation trial

Variables	Smoker (n = 29)		Nonsmoker (n = 38)	
	0 wk	8 wk	0 wk	8 wk
Age (yrs)	32.4 ± 1.72 ¹⁾		34.7 ± 1.8	
Height (cm)	172.4 ± 0.8		167.8 ± 1.1	
Weight (kg)	66.8 ± 1.9	66.8 ± 1.8	66.1 ± 1.7	66.3 ± 1.7
BMI (kg/m ²)	22.5 ± 0.6	22.5 ± 0.6	23.4 ± 0.4	23.5 ± 0.4
WHR ²⁾	0.84 ± 0.0	0.84 ± 0.0	0.86 ± 0.0	0.86 ± 0.0
%overweight ³⁾	103.4 ± 2.8	103.6 ± 2.8	109.3 ± 1.9	109.5 ± 1.9
Smoking habits (packyrs) ⁴⁾	8.6 ± 1.1		0	

1) Values are Mean ± S.E, 2) WHR: waist/hip ratio, 3) %overweight: analyzed using Inbody 3.0 (Biospace Co. Ltd), 4) packyrs = (cigarettes smoked/day × years smoked)/20

나지 않았다 (Table 1). 포도주스 섭취 전에 비해 8주 간의 포도주스 섭취 후 대상자의 항산화 영양소 섭취량은 Table 2에 나와 있다. 대상자의 에너지의 섭취는 권장량 보다 적었으며 비타민 A, C, E의 섭취는 흡연자와 비흡연자 모두, 그리고 포도주스 섭취 전후에 모두 권장량에 비해 충분한 양 섭취 하였다. 엽산의 경우, 흡연군과 비흡연군 모두 섭취 후의 평균 섭취량이 권장량에 비해 다소 부족한 것으로 나타났으나 섭취 전 섭취량에 비해 유의적인 차이는 보이지 않았다. 대상자의 비타민 A, C, E 및 엽산 섭취량은 흡연자와 비흡연자 간에, 혹은 섭취 전과 후에 항산화 영양소 섭취량에 유의적인 차이를 보이지 않았다.

2. 혈압의 변화

포도주스 섭취 전 후에 대상자의 수축기 혈압과 이완기 혈압을 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. 먼저 흡연군의 경우 포도주스 섭취 후의 수축기 혈압은 섭취 전에 비해 큰 차이를 보이지 않았으나 이완기 혈압은 포도주스 섭취 전 79.7 ± 1.8 mmHg에서 섭취 후에 74.5 ± 2.0 mmHg를 보여 6.5% 정도 유의적으로 감소하였다 (p < 0.01). 이에 비해 비흡연군에서는 이완기 혈압이 포도주스 섭취 전 (81.1 ±

1.6 mmHg)에 비해 섭취 후(72.7 ± 2.5 mmHg)에 11.2% 정도 현저하게 감소하였을 뿐만 아니라 (p < 0.001) 이완기 혈압도 섭취 전 (120.5 ± 2.3 mmHg)에 비해 섭취 후 (116.0 ± 2.2 mmHg)에 3.7% 감소하였다 (p < 0.05). 그러나 이 수치들은 모두 정상범위 이내였다.

3. 혈청지질 및 conjugated diene 수준의 변화

대상자들의 혈청 지질수준은 Table 3에 제시하였다. 먼저 포도주스 섭취 전의 baseline에서 흡연군과 비흡연군을 비교해 보면, 흡연군 (148.9 ± 20.1 mg/dl)의 중성지방 수준이 비흡연군 (101.8 ± 7.9 mg/dl)에 비해 유의적으로 높게 나타난 반면, 흡연군 (49.0 ± 1.7 mg/dl)의 HDL-콜레스테롤 수준은 비흡연군 (43.9 ± 1.5 mg/dl)에 비해 유의적으로 낮은것으로 나타났으며 (p < 0.05), 두 군 모두 정상범위의 수치를 보였다. 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 (LDL-C) 및 혈장 CD 수준은 흡연자와 비흡연자 간에 차이를 보이지 않았다.

Baseline에 비해 8주간의 포도주스 섭취 후 혈장 지질의 변화를 보면, 흡연군에서는 총 콜레스테롤 (0주: 149.9 ± 5.1 vs. 8주: 159.2 ± 5.7 mg/dl, p < 0.05), LDL-C (0주:

Table 2. Daily intake of antioxidant nutrients and cholesterol before and after grape juice supplemented for 8 weeks

Variables	Smoker (n = 29)		Nonsmoker (n = 38)	
	0 wk	8 wk	0 wk	8 wk
Energy (kcal)	1687 ± 96	1749 ± 94	1750 ± 82	1660 ± 73
Vitamin A (RE)	622 ± 94	706 ± 96	866 ± 123	748 ± 83
Retinol (µg/d)	80 ± 18	150 ± 37	164 ± 51	65 ± 10
β-Carotene (µg/d)	3210 ± 529	3011 ± 463	4073 ± 669	3713 ± 505
Vitamin C (mg/d)	120 ± 29	81 ± 17	100 ± 12	92 ± 10
Vitamin E (mg/d)	10.5 ± 1.6	11.3 ± 1.1	11.8 ± 1.3	12.0 ± 1.0
Folate (µg/d)	243 ± 35	193 ± 16	244 ± 24	218 ± 16
Cholesterol (mg/d)	245 ± 36	387 ± 73	301 ± 39	241 ± 31

Values are Mean ± S.E

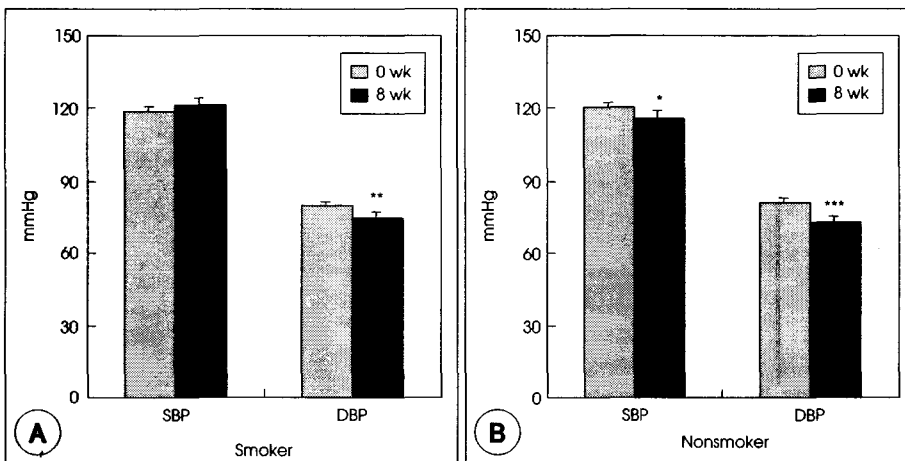


Fig. 1. Changes in blood pressure of smoker and nonsmoker. SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure. *, **, ***: represent p < 0.05, p < 0.01, p < 0.001 by paired t-test respectively.

78.5 ± 4.8 vs. 8주: 85.3 ± 4.5 mg/dl, p < 0.05) 및 HDL-C (0주: 43.9 ± 1.5 vs. 8주: 46.7 ± 2.0 mg/dl, p < 0.05) 수준이 유의적으로 증가하였으며, 비흡연군에서는 총 콜레스테롤 수준이 baseline (154.1 ± 5.48 mg/dl)에 비해 포도주스 섭취 후 (160.5 ± 5.3 mg/dl)에 유의적으로 증가하였다 (p < 0.05). 그러나 대상자의 모든 혈장 지질 수치는 정상범위 내에 있었다. LDL의 산화정도를 나타내는 혈장 CD 수준은 포도주스 섭취 후에 변화를 보이지 않았다.

4. 혈장 total free radical 생성량 변화 및 관련요인

대상자의 혈장 내 총 유리 라디칼의 생성량을 chemiluminescence로 측정하여 본 결과는 Fig. 2에 나와 있다. 8주간의 포도주스 섭취 후에 혈장 유리라디칼의 평균 생성량이 18.0% 유의적으로 감소 (0주: 25,387 ± 195 vs. 8주: 20,812 ± 259 counts/600 sec, p = 0.04)하는 것을 볼 수 있었다. 한편 혈장 총 유리라디칼 생성량과 다른 요인들 간의 상관관계를 본 결과는 Table 4와 같다. 포도주스 섭취 후, 흡연군의 유리라디칼 생성량은 운동시간(r =

0.711, p < 0.001)과 정의 상관관계를 보였으며, 비흡연군의 유리라디칼 생성량은 0 week에서 혈장 중성지방 수준 (r = 0.478, p < 0.05), 그리고 포도주스 섭취 8주 후에 대상자의 신장(r = 0.500, p < 0.05)과 정의 상관관계를 보였다. 대상자 전체를 놓고 볼 때, 유리라디칼 생성량은 운동시간 (r = 0.411, p < 0.05) 및 혈장 중성지방 수준 (r = 0.369, p < 0.05)과 정의 상관관계를 보였으며 그 외의 요

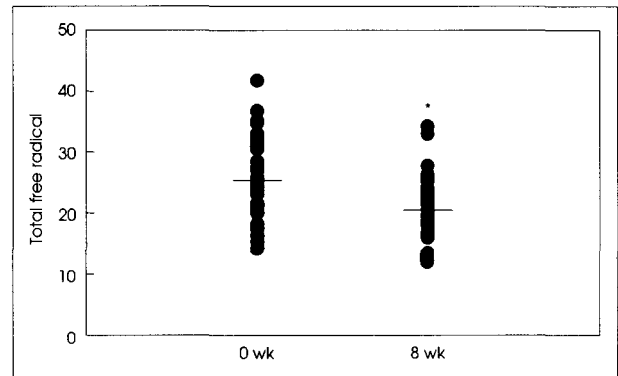


Fig. 2. Total free radical (TFR) counts in subjects after the 8 weeks of intervention. *: p < 0.05 by paired t-test.

Table 3. Changes of plasma lipid profiles, CD level during 8 week trial

Variables	Smoker (n = 29)		Nonsmoker (n = 38)	
	0 wk	8 wk	0 wk	8 wk
Triglyceride (mg/dl)	148.9 ± 20.1 ^a	142.8 ± 12.6	101.8 ± 7.9 ^b	117.0 ± 8.1
Total-chol (mg/dl)	149.9 ± 5.1	159.2 ± 5.7*	154.1 ± 5.4	160.5 ± 5.3*
LDL-chol (mg/dl)	78.5 ± 4.8	85.3 ± 4.5*	86.0 ± 5.0	88.5 ± 4.8
HDL-chol (mg/dl)	43.9 ± 1.5 ^a	46.7 ± 2.0*	49.0 ± 1.7 ^b	48.7 ± 1.9
CD (μmol/L)	60.8 ± 2.9	61.4 ± 3.4	67.4 ± 3.8	65.3 ± 2.3

Values are Mean ± S.E. *: significantly different at p < 0.05 by paired t-test.

a, b: represents significant difference between baseline smokers and nonsmokers by independent t-test at p < 0.05

Table 4. Correlation coefficient r¹⁾ between plasma free radical level and other variables before and after grape juice supplementation

Variables	Plasma total free radical level					
	Total (n = 33)		Smoker (n = 13)		Non Smoker (n = 20)	
	0 wk	8 wk	0 wk	8 wk	0 wk	8 wk
Height	0.199	0.112	0.030	-0.202	0.332	0.500*
Exercise, time/day	0.011	0.411*	0.096	0.711**	-0.066	-0.257
Blood pressure (BP)						
Systol-BP	0.200	0.152	-0.101	0.009	0.336	0.433
Diastolic-BP	0.083	-0.007	-0.364	0.020	0.380	-0.058
Plasma lipid profiles						
Triglyceride	0.191	0.369*	0.087	0.450	0.478*	0.083
Total-chol	-0.036	0.145	0.053	0.188	-0.087	0.193
LDL-chol	-0.029	0.13	-0.061	0.102	-0.003	0.344
HDL-chol	-0.215	-0.336	0.236	-0.438	-0.446	-0.393
Conjugated Diene (CD)	0.203	0.254	0.570	0.475	0.032	0.161

1) Pearson's correlation coefficient r

*: p < 0.05

인들 간에는 유의적인 상관관계가 나타나지 않았다.

고 찰

최근 10여년 동안 포도나 적포도주 섭취의 health benefit에 대한 관심이 높아져 가고 있으며, 1990년대 초에는 프랑스인의 흡연이나 지방 섭취량이 3배나 높음에도 불구하고 심장질환 발생률이 다른 지역에 비해 현저히 낮은 것은 지역적인 특산물인 포도나 그 산물인 적포도주의 다량 섭취로 인한 것이라는 연구 결과가 보고되었다.³¹⁾ 이는 포도에 다량 포함되어 있으면서 강한 항산화력을 가진 polyphenol 류의 효과에 기인한 것으로 간주되고 있으며, 실제로 *in vitro* 연구에서는 포도에 포함되어 있는 polyphenol이 low density lipoprotein (LDL) oxidation을 막는 것이 보고되었으며,²³⁾ 특히 포도내의 polyphenol 중 resveratrol (2, 3', 5-trihydroxystilbene)을 추출하여 세포에 처리하면 세포의 산화 스트레스를 막아 DNA 손상이 감소된다는 연구 또한 보고 된 바 있다.³²⁾ 이외에도 *in vivo* 연구로, 건강한 성인 7명에게 포도주스를 7일동안 투여하였을 때 포도주스의 섭취가 LDL의 산화를 지연시킨다고 보고되었다.³³⁾ 따라서 본 연구에서는 일정기간 동안 포도주스를 섭취하는 것이 흡연자의 혈압, 혈장 지질 양상 및 혈장 유리 라디칼 수준에 영향을 주는지를 알고자 하여 수행되었다.

본 연구 대상자들에게 천연 포도주스를 하루에 480 ml 씩 8주간 보충 섭취시킨 후에 대상자들의 열량섭취량 및 기타 영양소 섭취량이나 식습관에 변화가 나타나지 않았으며, 비만도, 복부비만도, 체중 등 신체계측치에도 아무런 변화가 없었다. 그러나 포도주스 섭취 후에 대상자의 혈압은 변화가 있었다. 즉 흡연자의 경우는 포도주스 섭취 후 이완기 혈압이 감소하였으며, 비흡연자는 수축기와 이완기 혈압이 모두 감소하였다. 현재까지 포도주스를 인체에 공급하고 혈압의 변화를 본 연구는 거의 없으며 최근 Davis³⁴⁾가 적색 포도주스를 고혈압 성인 남자 80명에게 공급하였을 때 수축기 혈압을 유의적으로 낮춘다는 것을 관찰하여 보고하였다. Osman 등³⁵⁾은 포도주스를 개와 원숭이에게 공급하였을 때 혈소판 응집 정도는 감소하였으나 혈압은 변화를 보이지 않았다고 보고하였다.

포도주스 섭취 후 대상자의 혈청지질 성분의 변화를 보면, 기대와는 달리 포도주스 섭취 후에 흡연자 및 비흡연자의 혈장 콜레스테롤 수준이 오히려 증가하였다. 특히 흡연자에게서 혈장 중성지방은 변화가 없는데 비해 total cholesterol, LDL cholesterol 및 HDL-cholesterol 수

준이 유의적으로 증가하였다. 이와 같은 결과는 O'Byrne 등²⁴⁾이 건강한 성인에게 2주 동안 적색 포도주스를 하루에 10 mL/kg씩 공급하였을 때, plasma triacylglycerols 수준이 증가하였음을 관찰한 보고와는 다른 결과였다. 그러나 본 연구에서나 O'Byrne 등²⁴⁾의 연구에서나 모두 혈장 중성지방의 농도는 정상범위를 넘지 않는 수준이어서 이 결과에 큰 의미를 부여하기는 어렵다고 본다. Vinson 등²³⁾은 건강한 성인 남녀에게 포도주스를 1주일 동안 공급한 후 LDL 산화가 지연되는 것을 관찰하였으며, 관상 심장질환 환자들에게 적색 포도주스를 섭취케 하였을 때 LDL-cholesterol 산화에 대한 보호 작용이 강화되었다.³⁶⁾ 앞으로 우리나라 산 적색 포도주스의 섭취가 혈청지질 성분 뿐 아니라 LDL-cholesterol 산화를 감소 및 lag-time 증가에 어떤 영향을 주는지에 대한 보다 광범위한 연구가 더 이루어져야 하리라고 본다.

본 연구에서 8주 동안의 포도주스 보충 섭취 후 흡연자와 비흡연자 모두에게 있어서 혈장 자유라디칼 생성 정도가 18% 감소하는 것으로 나타났다. O'Byrne 등²⁴⁾은 15명의 건강한 성인에게 2주 동안 적색 포도주스를 하루에 10 mL/kg씩 공급한 결과, 혈청 산소라디칼 absorbance capacity가 증가하고 혈장의 단백질 carbonyl 농도는 20% 정도 감소함을 관찰하여 본 연구 결과와 유사한 결과를 보고하였다. 전 세계적으로 건강한 흡연자에게 포도주스를 보충 섭취케 한 후 혈장 자유라디칼 생성 정도를 관찰한 연구는 아직 보고되지 않고 있으며 이런 시점에서 본 연구결과 포도주스 섭취로 인해 흡연자의 혈장 자유라디칼 생성정도가 의미 있는 수준으로 감소한 것은 매우 고무적인 연구결과라고 할 수 있다. 자유라디칼의 생성이 높아지면 이는 세포와 단백질을 공격하여 DNA 손상을 일으키고 나아가 암을 발생시킬 위험성을 증가시키며, 실제로 포도주스 섭취 후에 임파구 DNA 수준이 증가되는 것이 관찰되었다.³⁷⁾ 즉, 포도주스 섭취 전에 훨씬 많이 생성되었던 대상자의 혈장 자유라디칼 수준이 8주 동안 하루에 2컵씩의 포도주스 섭취 후 유의적으로 감소되는 것으로 보아, 포도주스를 하루 2컵정도 섭취한다면 흡연자의 산화 스트레스 수준을 감소시킴으로써 심장질환의 위험을 감소시키고 나아가 암을 예방할 수 있을 가능성을 제시할 수 있었다.

적색 포도주스는 α -tocopherol 보다도 더 많은 항산화 효과를 가지고 있는 flavonoids의 좋은 급원식품이다. 포도주스에는 quercetin, kaempferol and myricetin 등 flavonoids가 함유되어 있으며 이들은 *in vitro* 실험에서 혈소판 응집을 방해하는 역할을 하는 것이 알려져 있다.

포도주스보다 flavonoids를 적게 가지고 있는 오렌지 주스와 자몽주스는 주로 naringin, luteolin and apigenin glucoside의 형태로 flavonoids가 들어있는데 포도주스가 *in vitro* 연구에서 좋은 혈소판 응집 저해효과를 보인 것에 비해 오렌지 주스와 자몽주스는 혈소판 응집효과가 빈약하였다.³⁵⁾ 따라서 포도주스에 들어있는 flavonoids는 항산화 효과 뿐 아니라 항혈소판 작용을 함으로써 심순환계 질환에 대한 보호작용을 나타내는 것으로 생각된다. Kim 등³⁸⁾과 Park 등³⁹⁾은 심혈관질환자에게 포도주스를 8주간 공급하였을 때 항산화 영양상태가 향상되었을 뿐 아니라 임파구 DNA 손상 정도도 감소하는 것을 관찰하였다. 더 나아가 급성적인 심장질환들은 혈소판-유래 nitric oxide (NO) 생산이 감소하는 것과 관련이 있는데, 포도주스의 섭취는 혈소판의 응집을 감소시키고 혈소판-유래 NO 생산을 증가시키는 것이 보고되었으며,⁴⁰⁾ 이러한 결과는 포도주스에 있는 flavonoids의 항산화제 절약 작용 혹은 직접적인 효과로 인한 결과라고 생각된다.

본 연구결과 나타난 포도주스의 혈장 자유라디칼 생성 억제효과가 혈압, 혈장 지질 및 기타요인들과 어떤 상관관계를 가지고 있는지 알아본 결과, 혈압 수준 및 혈장 콜레스테롤 수준과는 아무런 상관관계가 나타나지 않았으나 혈장 중성지방과는 정의 상관관계를 보였다. 즉 혈장 자유라디칼 수준은 혈장 중성지방 수준이 높을수록 증가하는 것으로 나타났다. 이와같은 결과는 흡연자에게서 혈장 중성지방이 증가할수록 임파구 DNA 손상이 증가하는 것을 보고한 Park and Kang의 결과⁴¹⁾와 일치한다. 한편 대상자의 자유라디칼 생성량은 운동시간과 정의 상관관계를 보여 과도한 운동이 자유라디칼의 생성을 증가시킨다는 선행 연구들^{42,43)}과 일치하는 결과를 보였다.

이상의 결과에서 8주 동안의 포도주스 섭취는 흡연자의 혈장 자유라디칼 생성정도를 억제시키는 것을 관찰함으로써 국내외적으로 최초로 포도주스 섭취에 의한 인체 자유라디칼 생성정도 변화를 monitoring하는데 중요한 자료를 제공하였다. 또 8주간의 포도주스의 보충 섭취 후 나타난 대상자의 혈압 수준의 감소를 통해 포도주스의 보충 섭취는 궁극적으로 흡연자의 질병 위험요인을 감소시키는 것을 알 수 있었다. 그러나 인체의 자유라디칼 생성과 혈장 지질양상과의 관계는 민감하게 나타나지 않았으며 앞으로 LDL 산화 정도에 미치는 영향을 포함하여 이 두요인의 상관성에 관한 연구가 광범위하게 이루어져야 하리라고 본다. 또한 앞으로 혈장 자유라디칼 수준 감소로 본 포도주스의 암 예방효과에 대하여 보다 자세한 기전을 밝히는 연구가 요구된다. 본 연구 결과는 앞으로 다양한 자유

라디칼 손상 및 DNA 손상 관련 임상실험과 영양중재실험을 시작하는데 널리 활용될 수 있을 것으로 기대한다.

요약 및 결론

본 연구에서는 19~57세의 건강한 성인 흡연자 29명과 비흡연자 38명을 대상으로 항산화 식품인 포도주스를 8주간 섭취시킬 때 혈장 유리 라디칼 생성에 변화가 생기는지, 또 혈압과 혈중지질 양상에 대한 보호효과가 있는지를 알아보았다. 연구 결과, 하루에 2컵씩 8주간의 포도주스 보충 섭취 후에 흡연자의 이완기 혈압이 6.5% 정도 유의적으로 감소하였으며 ($p < 0.01$) 비흡연자의 수축기 및 이완기 혈압도 각각 11.2% ($p < 0.001$), 3.7% ($p < 0.05$)로 유의적인 감소를 보였다. 포도주스 섭취 후, 흡연자의 혈장 총-콜레스테롤 및 HDL-C, LDL-C 수준, 그리고 비흡연자의 혈장 총콜레스테롤 수준은 유의적으로 증가하였으나 중성지방 및 혈장 CD 수준은 변화가 없었다. 포도주스 섭취 전에 비해 섭취 후에 대상자의 혈장 total free radical 수준은 18% 정도 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). 본 연구에서 포도주스를 섭취한 후에 흡연자의 혈압이 낮아지고 흡연자의 산화 스트레스로 인한 total free radical 수준이 효과적으로 감소되었는데 이와같은 작용은 포도주스 내에 다량 함유되어 있다고 알려져 있는 항산화 물질들에 기인한 것으로 생각된다. 이로써 흡연자에 있어 포도주스 섭취는 흡연자에게 그 위험성이 증가하는 각종 자유라디칼로 인한 손상 및 암 등의 만성질환을 예방하는 효과가 있을 가능성을 제시할 수 있다.

Literature cited

- 1) McGill HC Jr. The cardiovascular pathology of smoking. *Am Heart J* 125: 250-257, 1998
- 2) Poulsen HE, Prieme H, Loft S. Role of oxidative DNA damage in cancer initiation and promotion. *Eur J Cancer Prev* 7: 9-16, 1998
- 3) Wogan GN. Detection of DNA damage in studies on cancer etiology and prevention. *IARC Sci Publ* 89: 32-51, 1988
- 4) The α -Tocopherol, β -Carotene Cancer Prevention Study Group: The effect of vitamin E and β -Carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. *N Eng J Med* 330: 1029-1035, 1994
- 5) Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, Glass A, Keogh JP, Meyskens FL Jr., Valanis B, Williams JH Jr., Barnhart S, Cherniack MG, Brodtkin CA, Hammar S. Risk factors for lung cancer and for intervention effects in CARET, the Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial. *J Natl Cancer Inst* 88: 1550-1559, 1996

- 6) Collins BH, Horka A, Hotten PM, Riddoch C, Collins AR. Kiwifruit protects against oxidative DNA damage in human cells and in vitro. *Nutr Cancer* 39(1): 148-153, 2001
- 7) Riso P, Pinder A, Santangelo A, Porrini M. Does tomato consumption effectively increase the resistance of lymphocyte DNA to oxidative damage? *Am J Clin Nutr* 69: 712-712, 1999
- 8) Pool-Zobel BL, Bub A, Muller H, Wollowski I, Rechkemmer G. Consumption of vegetables reduces genetic damage in humans: first results of a human intervention trial with carotenoid-rich foods. *Carcinogenesis* 18(9): 1847-1850, 1997
- 9) Hertog MG, Kromhout D, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, Fidanza F, Giampaoli S, Janssen A, Menotti A, Nedeljkovic S, Pekkarinen M, Simic BS, Toshima H, Feskens EJ, Hollman PC, Katan MB. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Arch Intern Med* 155: 381-386, 1995
- 10) Hertog MG, Feskens EJ, Hollman PC, Katan MB, Kromhout D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* 342: 1007-1011, 1993
- 11) Russo C, Olivieri O, Girelli D, Faccini G, Zenari LM, Lombardi S, Corrocher R. Anti-oxidant status and lipid peroxidation in patients with essential hypertension. *J Hypertens* 16: 291-303, 1998
- 12) Tagami M, Yamagata K, Ikeda K, Fujino H, Nara Y, Nakagawa K, Kubota A, Numano F, Yamori Y. Genetic vulnerability of cortical neurons isolated from stroke-prone spontaneously hypertensive rats in hypoxia and oxygen reperfusion. *Hypertens Res* 22: 23-29, 1999
- 13) Rice-Evans CA, Muller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med* 20: 933-956, 1996
- 14) Brown JE, Khodr H, Hider RC, Rice-Evans CA. Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties. *Biochem J* 330: 1173-1178, 1998
- 15) Pannala AS, Rice-Evans CA, Halliwell B, Singh S. Inhibition of peroxynitrite-mediated tyrosine nitration by catechin polyphenols. *Biochem Biophys Res Commun* 232: 164-168, 1997
- 16) Sarkar A, Bhaduri A. Black tea is a powerful chemopreventor of reactive oxygen and nitrogen species: comparison with its individual catechin constituents and green tea. *Biochem Biophys Res Commun* 284: 173-178, 2001
- 17) Sato Y, Nakatsuka H, Watanabe T, Hisamichi S, Shimizu H, Fujisaku S, Ichinowatari Y, Ida Y, Suda S, Kato K, Ikeda M. Possible contribution of green tea drinking habits to the prevention of stroke. *Tohoku J Exp Med* 157: 337-343, 1989
- 18) Riemersma RA, Rice-Evans CA, Tyrrell RM, Clifford MN. Tea flavonoids and cardiovascular health. *Q J Med* 94: 277-282, 2001
- 19) Demrow HS, SLane PR, Folts JD. Administration of wine and grape juice inhibits *in vivo* platelet activity and thrombosis in stenosed canine coronary arteries. *Circulation* 91: 1182-1188, 1995
- 20) Bagchi D, Bagchi M, Stohs SJ, Das DK, Ray SD, Kuszynski CA, Joshi SS, Pruess SG. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology* 148: 187-197, 2000
- 21) Folts JD. Antithrombotic potential of grape juice and red wine for preventing heart attacks. *Pharm Biol* 36: 1-7, 1998
- 22) Keevil JG, Osman HE, Reed JD, Folts JD. Grape juice, but not orange juice or grapefruit juice, inhibits human platelet aggregation. *J Nutr* 130: 53-56, 2000
- 23) Vinson JA, Yang JH, Proch J, Liang X. Grape juice, but not orange juice, has *in vitro*, *ex vivo*, and *in vivo* antioxidant properties. *J Medicinal Food* 2: 167-171, 2000
- 24) O'Byrne DJ, Devaraj S, Grundy SM, Jialal I. Comparison of the antioxidant effects of concord grape juice flavonoids and α -tocopherol on markers of oxidative stress in healthy adults. *Am J Clin Nutr* 76: 1367-1374, 2002
- 25) Stein JH, Keevil JG, Wiebe DA, Aeschlimann S, Folts JD. Purple grape juice improves endothelial function and reduces the susceptibility of LDL cholesterol to oxidation in patients with coronary artery disease. *Circulation* 100: 1050-1055, 1999
- 26) *Recommended dietary allowances for Koreans*, 7th revision, Korean Nutrition Society, 2000
- 27) Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 499-502, 1972
- 28) Ahotupa M, Vasankari TJ. Baseline diene conjugation in LDL lipids: An indicator of circulating oxidized LDL. *Free Radic Biol Med* 27(11-12): 1141-1150, 1999
- 29) Ahotupa M, Ruutu M, Mäntylä E. Simple methods of quantifying oxidation products and antioxidant potential of low density lipoproteins. *Clin Biochem* 29(2): 139-144, 1996
- 30) Ionescu JG, Weber D, Bradford R. Clinical applications of free radical assessment in blood, serum and plasma samples by enhanced chemiluminescence. II. Antioxidative activity and therapy approaches with drugs and natural compounds. *J Biomed Lab Sci* 12(2): 61-69, 2000
- 31) Ulbright TLV, Southgate DAT. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet* 338: 985-992, 1991
- 32) Sgambato A, ardito R, Faraglia B, Boninsegna A, Wolf FI, Cittadini A. Resveratrol, a natural phenolic compound, inhibits cell proliferation and prevents oxidative DNA damage. *Mutation Res* 496: 171-180, 2001
- 33) Day AP, Kemp HJ, Bolton C, Hartog M, Stansbie D. Effect of concentrated red grape juice consumption on serum antioxidant capacity and low-density lipoprotein oxidation. *Ann Nutr Metab* 41(6): 353-357, 1997
- 34) David M. Concord grape juice reduces blood pressure in men with high systolic blood pressure. *EB 2003 Abstracts The FASEB J* 17(5): A1110, 2003
- 35) Osman HE, Maalej N, Shanmuganayagam D, Folts JD. Grape juice but not orange or grapefruit juice inhibits platelet activity in dogs and monkeys. *J Nutr* 128(12): 2307-2312, 1998
- 36) Folts JD. Potential health benefits from the flavonoids in grape products on vascular disease. *Adv Exp Med Biol* 505: 95-111, 2002
- 37) Kang MH, Park E, Kim SM, Kim JS. Grape juice consumption protects DNA damage in human peripheral lymphocytes. *FASEB Meeting Experimental Biology 2002, New Orleans, Louisiana, USA*, A996, 2002
- 38) Kim SM, Park YK, Seong IW, Kang MH. Changes in antioxidant status and lipid profiles after grape juice supplementation to

- patients with cardiovascular disease (CVD). *9th Asian Congress of Nutrition, New Dehli, India*, 340: 2003
- 39) Park YK, Kim SM, Seong IW, Kang MH. Purple grape juice supplementation reduces lymphocyte DNA damage in coronary artery disease patients. *Experimental Biology 2003, San Diego, California, USA*, LB 369, 2003
- 40) Freedman JE, Parker C, Li L, Perlman JA, Frei B, Ivanov V, Deak LR, Iafrafi MD, Folts JD. Select flavonoids and whole juice from purple grapes inhibit platelet function and enhance nitric oxide release. *Circulation* 103(23) : 2792-2798, 2001
- 41) Park E, Kang M-H. Smoking and high plasma triglyceride levels as risk factors for oxidative DNA damage in the Korean population, *Annals of Nutrition & Metabolism* 48(1) : 36-42, 2004
- 42) Ji LL. Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proc Soc Exp Biol Med* 222(3) : 283-292, 1999
- 43) Powers SK, Hamilton K. Antioxidants and exercise. *Clin Sports Med* 18(3) : 525-536, 1999