

염모제 도포방법에 따른 인체 적혈구의 산화스트레스 비교

김영철*, 심미자¹, 권정숙²

계명대학교 공중보건학과, ¹경도대학 피부미용학과, ²안동대학교 식품영양학과

Comparison of Oxidative Stress in Red Blood Cells Induced by Hair Dyeing Application to Young Women

Young-Chul Kim*, Mi-Ja Sim¹ and Chong-Suk Kwon²

Dept. of Public Health, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

¹Dept. of Beauty Aesthetics, Gyeongdo Provincial College, Kyungsangbuk-do 757-800, Korea

²Dept. of Food and Nutrition, Andong National University, Kyungsangbuk-do 760-749, Korea

ABSTRACT

To ascertain the effects of hair dyeing application on oxidative stress in human, a mixture of permanent black colored hair dye with the same amount of oxidant containing 6% hydrogen peroxide was used. A hair dyeing with contacting the scalp (conventional dyeing) and a hair dyeing with 3 to 4 mm away from the scalp (alternative dyeing) were applied to each 15 young healthy women. Blood was taken from the brachial vein at two sampling times, just before and 6 hours after the hair dyeing, and antioxidant enzyme activities and antioxidant contents were measured in red blood cells. After dyeing, malondialdehyde (MDA) contents for conventional dyeing group was shown to a tendency of more increased than alternative dyeing group. After dyeing, reduced glutathione (GSH) contents for conventional dyeing group was shown to a tendency of more decreased than alternative dyeing group. After dyeing, superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities were significantly decreased in conventional dyeing group ($p < 0.01$), however, SOD and CAT activities were not significantly decreased in alternative dyeing group. After dyeing, there was no significant decrease in glutathione peroxidase (GPX) activity both for conventional dyeing group and alternative dyeing group. Therefore, after dyeing, the degree of oxidative stress in red blood cells for alternative dyeing group was appeared to be lower than conventional dyeing group.

Key words : hair dyeing, oxidative stress, antioxidant enzymes, antioxidant, red blood cells

서론

생활수준의 향상과 더불어 미적 가치를 증대시키

※ To whom correspondence should be addressed.

Tel: +82-53-580-5931, E-mail: yckim@kmu.ac.kr

는 수단과 패션의 일부로서 염모제 사용은 지속적인 증가와 함께 일반화되고 있는 추세이며 최근에는 청소년과 유치원생들까지도 머리 염색을 하기에 이르렀다. 염모제는 염색지속형태에 따라 일시적, 반영구적, 영구적 염모제로 나뉘어지는데 이 중 영구적 염모제가 가장 널리 사용되고 있다. 영구적 염

모제는 7~12개의 aromatic amine류 및 phenol류 성분을 함유하고 있으며 과산화수소와 혼합되어 사용된다 (Marzulli and Green, 1978; Larsen *et al.*, 1992). 영구적 염모제는 실험동물에서 유전자를 변이 시키거나 암을 발생시키는 성분들인 phenylenediamine, nitrophenylenediamine, aminonitrophenol, diaminotoluene 및 diaminoanisole 등을 함유하고 있으며 (Ames *et al.*, 1975; Burnett, 1980; Chung *et al.*, 1995), 특히 *p*-phenylenediamine (PPD), 2,5-diaminotoluene 및 2,5-diaminoanisole은 과산화수소와 혼합 사용할 경우 실험동물에서 강한 돌연변이원성 또는 발암성을 나타낸다 (Ames *et al.*, 1975; Rojanapo *et al.*, 1986; Watanabe *et al.*, 1990).

사람을 대상으로 한 역학조사에서도 염모제의 사용은 특정암의 발병 위험률을 높이는 것으로 나타났다. 염모제를 사용한 여성은 염모제를 사용하지 않은 여성보다 myeloma, multiple lymphoma 및 lymphocytic leukemia의 발병 위험률이 높은 것으로 조사되었고 (Zahm *et al.*, 1992), Gago-Dominguez 등 (2001)은 염모제를 사용하지 않은 여성보다 영구적 염모제를 한 달에 최소한 한번씩 1년 이상 사용한 여성에서 방광암 발병 위험률이 2.1배, 15년 이상 사용한 여성에서 3.3배, 10년 이상 업무에 종사한 미용사나 이발사에서는 5배 증가하였다고 보고하였다. 그리고 이 연구에서 영구적 염모제 사용자 중 흡연자는 비흡연자에 비해 방광암 발병 위험률이 3배 높은 것으로 조사되었다. Tzonou 등(1993)의 연구에서도 일년에 1회에서 4회 염색한 여성은 전혀 염색한 적이 없는 여성에 비해 난소암 발병 위험률이 1.7배, 일년에 5회 이상 염색하는 여성은 2.2배 높은 것으로 조사되었다. 최근의 인체실험연구에서도 염모제 사용 전에 비해 사용 후에 DNA 손상이 유의하게 증가하였다고 보고되어 (조진아, 2000; Kim *et al.*, 2004) 염모제 사용으로 인한 인체 안전성에 대한 의혹은 초미의 관심사가 되고있다.

일반적으로 xenobiotics에 의한 생체세포의 손상은 xenobiotics 자체뿐만 아니라 독성 중간대사산물과 대사과정 중 생성되는 활성산소들(reactive oxygen species: ROS)에 의해 야기되는 것으로 알려져 있다 (Freeman and Crapo, 1982; Ryu *et al.*, 1999). Picardo 등(1996)은 인체 피부각질세포에 염모제 성분인 PPD를 처리한 *in vitro* 실험에서 항산화 효소인 superoxide dismutase (SOD)와 catalase (CAT)의

활성도와 항산화물질인 reduced glutathione (GSH)의 함량이 감소하였으며 이는 PPD의 자가 산화과정에서 생성된 ROS에 의한 산화스트레스 때문인 것으로 보고하였고, Gichner (2003)는 CAT deficient tobacco cell과 wild type tobacco cell에 PPD 또는 과산화수소를 처리한 *in vitro* 실험결과 CAT deficient cell에서 DNA 손상이 wild type cell에 비해 높게 나타나 항산화 효소 활성도가 세포의 DNA 손상과 관련이 있음을 보고하였다. 또한 흰쥐에 PPD 또는 PPD와 과산화수소 혼합도포시 피부세포의 손상과 함께 ROS 생성제 및 해독계에 관여하는 효소들의 활성변동을 초래하였다는 보고가 있다 (이상희, 2003). 그러나 아직까지 염모제를 인체에 직접 사용하여 세포의 DNA 손상정도를 항산화 효소 활성변동 또는 산화스트레스와 관련지어 연구한 보고는 접한바 없다.

이에 본 연구는 최근의 본 실험실에서의 연구결과 인체립프구의 DNA 손상을 초래하는 것으로 보고되어진 기존의 염모제 두피적축 도포시술과 그리고 기존의 도포방법보다 인체립프구의 DNA 손상을 적게 초래하는 것으로 보고되어진 대안의 두피적축 도포시술을 인체에 적용한 후 적혈구에서 산화스트레스 정도를 비교 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 연구대상

경북에 거주하는 젊은 여성을 대상으로 실험내용과 방법을 구두나 전화를 통하여 설명한 후 본 연구에 동의를 한 사람 중에서, 흡연력이 없고 최근 6개월간 약물 및 비타민 복용을 하지 않았고 모발염색 경험이 없는 15세에서 21세 사이의 건강한 여성 30명을 선발하여 2003년 6월 13일에서 동년 7월 28일 기간동안에 본 연구를 위한 염색을 1회 실시하였다.

2. 염색 및 채혈

국내에서 시판되는 영구적 염모제 중에서 성분이 알려진 A회사의 동일제품의 흑색 염모제에 6%의 과산화수소가 함유된 산화제 동일량을 혼합하여 통상적으로 시술하고 있는 기존의 두피적축 도포시술 (15명, 17.2±1.3세)과 두피에서 3~4 mm 떨

Table 1. Composition of the hair dye used in the experiment

Ingredients	%
<i>p</i> -Phenylenediamine	1.8
<i>p</i> -Amionophenol	0.3
<i>m</i> -Amionophenol	0.1
Resorcinol	1.0
Aqueous ammonia	2.5
Deionized water	50.0
The others	44.3

어진 대안의 두피미접촉 도포시술(15명, 16.8 ± 1.5 세)을 적용하였다. 10~15분 동안 염색을 실시한 후 40분 동안 상온에서 자연 방치한 다음 샴푸와 린스로 세척하였다. 본 실험에 사용된 염모제의 성분은 Table 1과 같으며 Table 1에서 기타 성분은 산화방지제, 점증제, 계면활성제, 점도보존제, 이온영양제, 보습제, 철분보충제, 유연제, 향 등으로 구성되어 있다. 혈액은 염색직전과 염색 후 6시간에 상완정맥에서 10~20 ml를 채혈하여 heparin으로 처리된 진공시험관에 취하였다. 혈액 10 ml를 원심분리(2200 × g, 15분, 4°C)하여 적혈구를 취한 후, 0.9% NaCl로 3회 세척하여 -80°C 냉동고에 보관하였다가 검사시료로 사용하였다.

3. Malondialdehyde (MDA) 함량 측정

적혈구의 과산화지질 함량은 Yagi(1984)의 방법에 따라 측정하였다. 1, 1, 4, 4 - tetramethoxypropane을 표준물질로 하여 생성된 MDA의 양을 532 nm에서 spectrophotometer (U-3010, Hitachi)로 흡광도를 측정하였고 함량 단위는 $\mu\text{mole/g Hb}$ 으로 나타내었다.

4. Reduced glutathione (GSH) 함량 측정

적혈구의 GSH 함량은 Hissin과 Hilf(1976)의 방법에 따라 측정하였다. 증류수로 희석한 적혈구의 hemolysate를 100 μg 의 *o*-phthalaldehyde와 반응시켜 생성된 형광을 형광광도계(F-4500, Hitachi)로 excitation 350 nm, emission 420 nm에서 측정하였고 함량 단위는 mmole/g Hb 으로 나타내었다.

5. Superoxide dismutase (SOD) 활성도 측정

적혈구의 SOD 활성도는 Flohe와 Otting(1984)의

방법으로 측정하였다. 적혈구를 증류수로 5배 희석한 hemolysate를 9000 × g에서 15분간 원심분리한 후 상등액을 0.05 M phosphate buffered saline (PBS, pH 7.8)으로 희석하여 시료로 사용하였다. Xanthine 42 μM , xanthine oxidase 0.005 U 및 cytochrome C 16.8 μM 을 희석한 시료와 함께 혼합하여 25°C, 550 nm에서 cytochrome C (Fe^{3+})의 환원을 방해하는 정도를 spectrophotometer (U-3010, Hitachi)로 측정하였다. 활성도 단위는 cytochrome C (Fe^{3+})의 환원을 50% 방해하는 SOD량을 1 unit로 하여 분당 활성 정도를 hemoglobin량으로 보정한 U/g Hb으로 나타내었다.

6. Catalase (CAT) 활성도 측정

적혈구의 CAT 활성도는 Aebi(1984)의 방법에 따라 측정하였다. 적혈구를 증류수로 5배 희석한 hemolysate를 9000 × g에서 15분간 원심분리한 후 상등액을 0.05 M PBS (pH 7.0)로 희석하여 시료로 사용하였다. 시료 2 ml과 0.03 M H_2O_2 1 ml를 혼합하여 240 nm에서 흡광도 변화를 30초 동안 spectrophotometer (U-3010, Hitachi)로 측정하였다. 활성도 단위는 1초 동안의 H_2O_2 소거 속도를 k 값으로 환산하여 hemoglobin량으로 보정한 k/g Hb으로 나타내었다.

7. Glutathione peroxidase (GPX) 활성도 측정

적혈구의 GPX 활성도는 Paglia와 Valentine(1967)의 방법으로 측정하였다. 적혈구를 증류수로 5배 희석한 hemolysate를 9000 × g에서 15분간 원심분리하고 hemoglobin을 transformation solution으로 cyanomethemoglobin으로 전환시킨 후 0.25 M PBS (pH 7.0)로 희석하여 시료로 사용하였다. 시료를 1 mM GSH, 0.25 mM NADPH, 0.24 U glutathione reductase, 1.2 mM *t*-butylhydroperoxide와 혼합하여 37°C에서의 흡광도 변화를 340 nm에서 spectrophotometer (U-3010, Hitachi)로 측정하였다. 활성도 단위는 1분 동안 산화된 NADPH의 양을 hemoglobin량으로 보정한 $\mu\text{mole NADPH oxidized/min/g Hb}$ 으로 나타내었다.

8. 통계처리

실험 결과의 자료분석은 SPSSWIN (v10.0)통계

프로그램을 사용하였다. 두피접촉 도포군 및 두피미접촉 도포군에 있어서 염모제 도포시술전과 시술후의 수치 값 차이 검정은 paired t-test로 분석하였고, 염모제 도포시술 후 두피접촉 도포군과 두피미접촉 도포군 사이의 수치 값 차이 검정은 t-test로 분석하였다.

결 과

1. 적혈구의 MDA 함량 변동

염색 후 두피접촉 도포군은 염색 전에 비해 약 8% 증가하였고 두피미접촉 도포군은 염색 전에 비해 약 7% 감소하였으나 두 군 모두에서 염색 전에 비해 유의한 차이를 나타내지 않았다. 염색 후 두피접촉 도포군과 염색 후 두피미접촉 도포군 사이에도 유의한 차이가 없었다 (Table 2).

2. 적혈구의 GSH 함량 변동

염색 후 두피접촉 도포군의 경우 염색 전에 비해 약 4% 감소하였고 염색 후 두피미접촉 도포시술의 경우에는 염색 전에 비해 약 2% 증가하였으나 두 군 모두에서 염색 전에 비해 유의한 차이가 없었다. 염색 후 두피접촉 도포군과 염색 후 두피미접촉 도포군 사이에도 유의한 차이가 없었다 (Table 2).

3. 적혈구의 SOD 활성도 변동

염색 후 두피접촉 도포군은 염색 전에 비해 약 30% 유의하게 감소하였고 ($p < 0.01$) 두피미접촉 도포군은 염색 전에 비해 약 7% 감소하였으나 유의한 차이가 없었다. 염색 후 두피접촉 도포군은 염색 후 두피미접촉 도포군에 비해 유의하게 낮게 나타났다 ($p < 0.05$). 두피접촉 도포시술이 두피미접촉 도포시술에 비해 적혈구의 SOD 활성을 많이 감소시키는 것으로 나타났다 (Table 3).

4. 적혈구의 CAT 활성도 변동

염색 후 두피접촉 도포군은 염색 전에 비해 약 18% 유의하게 감소하였고 ($p < 0.01$) 두피미접촉 도포군은 염색 전에 비해 약 4% 감소하였으나 유의한 차이가 없었다. 염색 후 두피접촉 도포군은 염

Table 2. Effects of hair dyeing application on the red blood cell malondialdehyde and reduced glutathione contents in young women

Groups	Variables	Before dyeing	After dyeing
Conventional dyeing	MDA ¹⁾	51.37±23.45	55.64±11.51
	GSH ²⁾	6.79±0.80	6.51±1.29
Alternative dyeing	MDA	59.59±24.50	55.36±9.89
	GSH	6.34±0.88	6.48±1.24

Each value represents the mean±S.D. of 15 young women.

Unit: ¹⁾mmole/g Hb, ²⁾μmole/g Hb

Table 3. Effects of hair dyeing application on the red blood cell antioxidant enzyme activities in young women

Groups	Variables	Before dyeing	After dyeing
Conventional dyeing	SOD ¹⁾	2590±878	1821±616**
	CAT ²⁾	392.3±65.4	321.2±108.3**
	GPX ³⁾	13.22±3.02	12.45±2.10
Alternative dyeing	SOD	2799±580	2598±660 [#]
	CAT	350.1±52.9	336.2±111.6 [#]
	GPX	13.19±2.05	12.78±2.46

Each value represents the mean±S.D. of 15 young women. The value with an asterisk is significantly different from before dyeing value by paired t-test (**; $p < 0.01$). The value with a sharp note is significantly different from the conventional dyeing value by t-test ([#]; $p < 0.05$). Unit: ¹⁾U/g Hb, ²⁾k/g Hb, ³⁾μmole NADPH oxidized/min/g Hb

색 후 두피미접촉 도포군에 비해 유의하게 낮게 나타났다 ($p < 0.05$). 두피접촉 도포시술이 두피미접촉 도포시술에 비해 적혈구의 CAT 활성을 많이 감소시키는 것으로 나타났다 (Table 3).

5. 적혈구의 GPX 활성도 변동

염색 후 두피접촉 도포군은 염색 전에 비해 약 6% 감소하였고 두피미접촉 도포군은 약 3% 감소하였으나, 두 군 모두에서 염색 후와 염색 전 사이에는 유의한 차이가 없었다. 두피접촉 도포시술과 두피미접촉 도포시술 모두 적혈구의 GPX 활성을 감소시키는 것으로 나타났다 (Table 3).

고 찰

염모제 성분은 인체의 피부와 모낭, 피지선 등을 통해 흡수되어 acetylation 포함 반응을 거쳐 주로

소변으로 배출된다. 모발에 도포된 염모제 성분은 모발을 통하여 진피에 있는 피지선이나 모낭까지 흡수되어 진피 결합조직에 있는 혈관이나 림프관으로의 확산을 통해 전신순환계로 들어가고, 두피에 도포된 염모제 성분은 표피의 각질층을 통해 진피에 흡수되어 전신순환계로 들어간다 (Wolfram and Maibach, 1985; Steiling *et al.*, 2001; Genina *et al.*, 2002). *p*-Toluenediamine의 경우 인체피부에 도포시 N, N'-diacetyl-*p*-toluenediamine으로 대사되어 3일 후까지 소변에서 검출되고 5~8시간 후에 가장 고농도로 검출되며 (Kiese and Rauscher, 1968), PPD는 흰쥐피부에 도포시 N, N'-diacetyl-*p*-phenylenediamine으로 대사 되어 소변으로 약 70%, 대변으로 약 30% 배출된다 (Mitsuo and Yasushi, 1979; Wang and Tsai, 2003). 영구적 염모제 성분인 PPD와 영구적 염모제의 산화제로서 사용되는 과산화수소는 그 자체의 독성뿐만 아니라 독성 중간대사산물과 대사과정 중 생성되는 free radical이나 ROS에 의해 생체세포의 손상 및 DNA의 손상을 야기하며 (Anderson *et al.*, 1994; Kasamatsu *et al.*, 1996; Cebulska-Wasilewska *et al.*, 1998; Gichner, 2003), PPD는 과산화수소와 혼합 사용할 경우 Bandrowski's base와 같은 산화형 PPD를 생성하여 PPD보다 강한 돌연 변이성 또는 발암성을 나타낸다 (Corbett, 1973). 생체조직에 존재하는 xanthine oxidase (XO)는 free radical이나 ROS의 주요 생성계로 알려져 있으며 (Manson *et al.*, 1983; Im *et al.*, 1985; Parks and Granger, 1986), PPD 또는 PPD와 과산화수소 혼합물을 흰쥐에 피부 도포시 XO의 활성이 높아져 이들 물질이 생체 내에서 free radical이나 ROS의 생성을 활성화시킴으로써 피부조직의 손상을 가져온다 (이상희, 2003). 일반적으로 염모제의 인체 유전독성정도는 영구적 염모제가 반영구적 및 일시적 염모제 보다 어두운색 염모제가 밝은색 염모제 보다 높게 나타나고, 염모제를 처음 사용한 나이가 어릴수록 사용빈도와 사용기간이 길수록 그리고 흡연을 하는 사람에서 높게 나타난다 (Zahm *et al.*, 1992; Gago-Dominguez *et al.*, 2001). DNA 손상 정도는 여러 가지 인자에 의해 영향받을 수 있으며, 흡연, 비타민복용, 감염성 질병, 계절, 연령, 성별 및 운동정도 등, 체내 항산화능력의 차이에 따라 DNA 손상 정도가 달라질 수 있다 (Singh *et al.*, 1990; Moller *et al.*, 2000).

본 실험실에서의 최근 연구결과, tail length (TL)와 tail extent moment (TEM)에 의한 비교 모두에서 두피미접촉 도포시술이 두피접촉 도포시술에 비해 인체림프구의 DNA 손상을 적게 초래하는 것을 확인하였다 (Kim *et al.*, 2004). 이에 본 연구는 흡연력이 없고, 최근 6개월간 약물 및 비타민을 복용하지 않았고 모발염색 경험이 없는 건강한 젊은 여성 (15~21세)을 연구대상자로 선정하여 동일제품의 흑색 영구적 염모제를 6%의 과산화수소가 함유된 동일량의 산화제와 혼합하여 두피접촉 도포와 두피미접촉 도포방법으로 1회 시술한 후 염색 전과 염색 후 6시간에 혈액을 채취하여 적혈구내 항산화효소 활성도 및 항산화제 함량 측정에 의하여 산화스트레스 정도를 관찰함으로써 림프구의 DNA 손상정도와 비교 검토하였다. 염모제 시술방법에 따른 림프구의 DNA 손상정도의 차이가 free radical이나 ROS 발생정도 차이에 기인된 것인지 알아보기 위해 free radical이나 ROS에 의한 세포막 손상시 증가하는 것으로 알려진 MDA 함량을 측정하였다. 두피접촉 도포시술이 두피미접촉 도포시술에 비해 MDA 함량에서 통계적으로 유의한 차이는 없었으나 상대적인 비교에서 많이 증가시키는 것으로 나타나 두피접촉 도포시술이 두피미접촉 도포시술보다 free radical이나 ROS를 많이 생성시킬 수 있음을 가늠케 하였다. 일반적으로 세포나 DNA에 손상이 일어날 경우 free radical이나 ROS의 생성계와 해독계의 불균형과 같은 산화스트레스가 초래되는 것으로 알려져 있다 (Chow and Tappel, 1974; Leibovitz and Siegel, 1980; Picardo *et al.*, 1996; Townsend *et al.*, 2003). 이에 본 연구에서는 염모제 시술방법에 따른 인체세포의 DNA 손상정도의 차이를 산화 스트레스정도와 관련하여 비교 검토하기 위해 free radical이나 ROS의 해독에 관여하는 항산화제 효소의 활성도 변동과 항산화제 함량 변동을 알아보았다. SOD 활성도의 경우 염색 후 두피접촉 도포군은 염색 전에 비해 유의하게 감소하였으나 염색 후 두피미접촉 도포군은 염색 전에 비해 유의한 차이를 보이지 않았다. 또한 염색 후 두피접촉 도포군은 염색 후 두피미접촉 도포군에 비해 유의하게 낮게 나타나 두피접촉 도포시술이 두피미접촉 도포시술보다 SOD 활성을 많이 감소시킴을 확인하였다. 이러한 실험결과는 두피접촉 도포시술이 두피미접촉 도포시술보다

superdioxide anion radical ($O_2 \cdot^-$)을 많이 증가시켜 염색 후 두피접촉 도포군에서 $O_2 \cdot^-$ 를 해독하기 위해 SOD의 활성이 많이 감소된 것으로 생각된다. CAT 활성도에서도 염색 후 두피접촉 도포군은 염색 전에 비해 유의하게 감소하였으나 염색 후 두피접촉 도포군은 염색 전에 비해 유의한 차이를 보이지 않았다. 또한 염색 후 두피접촉 도포군은 염색 후 두피접촉 도포군에 비해 유의하게 낮게 나타나 두피접촉 도포시술이 두피미접촉 도포시술보다 CAT 활성을 많이 감소시킴을 확인하였다. 본 연구 결과에서 나타난 두피접촉 도포시술자의 적혈구에서 SOD와 CAT 활성 감소는 *in vitro* 실험에서 인체 피부각질세포에 PPD를 폭로시켰을 때 SOD와 CAT 활성이 감소하였다는 Picardo 등 (1996)의 연구와 PPD 또는 과산화수소를 처리한 *in vitro* 실험에서 CAT deficient cell의 DNA 손상이 wild type cell에 비해 높게 나타났다는 Gichner (2003)의 연구에서도 관찰되었다. GPX 활성의 경우는 염색 후 두피접촉 도포시술군과 두피미접촉 도포군 모두에서 염색 전에 비해 GPX 활성이 감소하였으나 염색 전에 비해 유의한 차이가 없었다. 이러한 실험결과들로부터 염모제 피술자에서 과산화수소의 해독과정에는 CAT의 역할이 GPX의 역할보다 클 것으로 판단되어지나 이는 추후 더 자세히 연구 검토되어야 할 것으로 생각된다. GSH 함량의 경우 염색 후 두피접촉 도포군과 두피미접촉 도포군 모두에서 염색 전에 비해 유의한 차이를 보이지 않았다. 이상의 실험결과를 고려해볼 때 두피접촉 도포 피술자에서 두피미접촉 도포 피술자보다 전신순환계에 들어온 염모제 유해성분들 (PPD와 과산화수소 등)의 양이 많았기 때문에 이들 유해성분들의 대사과정에서 독성 중간대사산물, free radical 및 ROS가 많이 생성되었고 이로 인하여 인체 내 산화스트레스 정도를 높게 초래함으로써 이에 대한 방어과정에서 항산화 효소의 활성이 많이 감소된 것으로 생각된다.

본 연구결과 선행연구에서 보고한 염모제의 두피미접촉 도포시술이 기존에 널리 사용되고 있는 두피접촉 도포시술에 비해 인체털프구의 DNA 손상을 적게 나타낸 것은 두 도포시술간의 산화스트레스 정도의 차이에서 초래된 결과로 생각되며, 따라서 염모제 도포에 따른 인체 유전독성을 줄이기 위해서는 두피미접촉 도포시술을 대안의 두발염색

시술방법으로 적극 권장하는 것이 바람직할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 이상희. *p*-Phenylenediamine이 피부조직에 미치는 영향, 박사학위논문, 계명대학교, 2003.
- 조진아. 염색 피술자에서의 단세포염색법 (comet assay)을 이용한 DNA 손상의 변화, 석사학위논문, 고려대학교, 2002.
- Aebi H. Catalase *in vitro*, *Methods in Enzymol.* 1984; 105: 121-126.
- Ames BN, Kammen HO and Yamasaki, E. Hair dyes are mutagenic: Identification of a variety of mutagenic ingredients, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1975; 72: 2423-2427.
- Anderson D, Yu TW, Phillips BJ and Schmeizer P. The effect of various antioxidants and other modifying agents on oxygen-radical-generated DNA damage in human lymphocytes in the comet assay, *Mut. Res.* 1994; 307: 261-271.
- Burnett C. Evaluation of toxicity and carcinogenicity of hair dyes, *J. Toxicol. Environ. Health* 1980; 6: 247-257.
- Cebulska-Wasilewska A, Nowak D, Niedzwiedz W and Anderson D. Correlations between DNA and cytogenetic damage induced after chemical treatment and radiation, *Mut. Res.* 1998; 421: 83-91.
- Chow CK and Tappel AL. Response of glutathione peroxidase to dietary selenium in rats, *J. Nutr.* 1974; 104: 444-451.
- Chung K-T, Murdock CA, Stevens Jr SE, Li Y-S, Wei C-I, Huang T-S and Chou MW. Mutagenicity and toxicity studies of *p*-phenylenediamine and its derivatives, *Toxicol. Lett.* 1995; 81: 23-32.
- Corbett JF. Role of *m*-difunctional benzene derivatives in oxidative hair dyeing, I. Reaction with *p*-diamines, *J. Soc. Cosmet. Chem.* 1973; 24: 103-134.
- Flohe L and Otting F. Superoxide dismutase assays, *Methods in Enzymol.* 1984; 105: 93-104.
- Freeman BA and Crapo JD. Biology of disease: Free radicals and tissue injury, *Lab. Invest.* 1982; 47: 412-426.
- Gago-Dominguez M, Castelao JE, Yuan J-M, Yu MC and Ross RK. Use of permanent hair dyes and bladder-cancer risk, *Int. J. Cancer* 2001; 91: 575-579.
- Genina EA, Bashkatov AN, Sinichkin YP, Kochubey VI, Lakodina NA, Altschuler GB and Tuchin VV. *In vitro* and *in vivo* study of dye diffusion into the human skin

- and hair follicles, *J. Biomed. Optics* 2002; 7: 471-477.
- Gichner T. DNA damage induced by indirect and direct acting mutagens in catalase-deficient transgenic tobacco cellular and acellular comet assays, *Mut. Res.* 2003; 535: 187-193.
- Hissin PJ and Hilf R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues, *Anal. Biochem.* 1976; 74: 214-226.
- Im M, Manson PN, Bulkley GB and Hoopes JE. Effects of superoxide dismutase and allopurinol in survival of acute island skin flaps, *Ann. Surgery* 1985; 201: 357-359.
- Kasamatsu T, Kohda K and Kawazoe Y. Comparison of chemically induced DNA breakage in cellular and sub-cellular systems using the comet assay, *Mut. Res.* 1996; 369: 1-6.
- Kiese M and Rauscher E. The absorption of *p*-toluenediamine through human skin in hair dyeing, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1968; 13: 325-331.
- Kim Y-C, Sim M-J and Kwon C-S. Effects of hair dyeing application on the DNA damage in human lymphocytes, *J. Environ. Toxicol.* 2004; 19: 101-107.
- Larsen WG, Jackson EM, Barker MO, Bednarz RM, Engasser PG, O'Donoghue MN and Strauss JS. A primer on cosmetics, *J. Am. Acad. Dermatol.* 1992; 27: 469-484.
- Leibovitz BE and Siegel BV. Aspects of free radical reaction in biological system: Aging, *J. Gerontol.* 1980; 35: 45-56.
- Manson PN, Anthenelli RM, Im MJ, Bulkley GB and Hoopes JE. The role of oxygen free radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps, *Ann. Surgery* 1983; 198: 87-90.
- Marzulli FN and Green S. Hair dye toxicity, *J. Environ. Path. Toxicol.* 1978; 1: 509-530.
- Mitsuo N and Yasushi T. Distribution, excretion and metabolism of *p*-phenylenediamine in rats, *Yakugaku Zasshi* 1979; 99: 1149-1153.
- Moller P, Knudsen LE, Loft S and Wallin H. The comet assay as a rapid test in biomonitoring occupational exposure to DNA-damaging agents and effect of confounding factors, *Cancer Epidemiol. Biomarkers & Prevention* 2000; 9: 1005-1015.
- Paglia DE and Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase, *J. Lab. Clin. Med.* 1967; 70: 158-169.
- Parks DA and Granger D. Xanthine oxidase: Biochemistry, distribution physiology, *Acta Physiol.* 1986; 58: 87-99.
- Picardo M, Zompetta C, Grandinetti M, Ameglio F, Santucci B, Faggioni A and Passi S. Paraphenylene diamine, a contact allergen, induces oxidative stress in normal human keratinocytes in culture, *Brit. J. Dermatol.* 1996; 134: 681-685.
- Rojanapo W, Kupradinum P, Tepsuwan A, Chutimataewin S and Tanyakaset M. Carcinogenicity of an oxidation product of *p*-phenylenediamine, *Carcinogenesis* 1986; 7: 1997-2002.
- Ryu JI, Yoon CG and Shin JK. Effect of circadian rhythms on the toluene metabolism in rats, *Kor. J. Biomed. Lab. Sci.* 1999; 5: 67-74.
- Singh NP, Danner DB, Tice RR, Brant L and Schneider EL. DNA damage and repair with age in individual human lymphocytes, *Mut. Res.* 1990; 237: 123-130.
- Steiling W, Kreutz J and Hofer H. Percutaneous penetration/dermal absorption of hair dyes *in vitro*, *Toxicol. in Vitro* 2001; 15: 565-570.
- Townsend DM, Tew KD and Tapiero H. The importance of glutathione in human disease, *Biomed. Pharmacotherapy* 2003; 57: 145-155.
- Tzonou A, Polychronopoulou A, Hsieh C-C, Rebelakos A, Karakatsani A and Trichopoulos D. Hair dyes, analgesics, tranquilizers and perineal talc application as risk factors for ovarian cancer, *Int. J. Cancer* 1993; 55: 408-410.
- Wang L-H and Tsai S-J. Simultaneous determination of oxidative hair dye *p*-phenylenediamine and its metabolites in human and rabbit biological fluids, *Anal. Biochem.* 2003; 312: 201-207.
- Watanabe T, Hirayama T and Fukui S. The mutagenic modulating effect of *p*-phenylenediamine on the oxidation of *o*- or *m*-phenylenediamine with hydrogen peroxide in the Salmonella test, *Mut. Res.* 1990; 245: 15-22.
- Wolfram LJ and Maibach HI. Percutaneous penetration of hair dyes, *Arch. Dermatol. Res.* 1985; 277: 235-241.
- Yagi K. Assay for blood plasma or serum, *Methods in Enzymol.* 1984; 105: 328-331.
- Zahm SH, Weisenburger DD, Babbitt PA, Saal RC, Vaught JB and Blair A. Use of hair coloring products and the risk of lymphoma, multiple myeloma, and chronic lymphocytic leukemia, *Am. J. Pub. Health* 1992; 82: 990-998.