

비타민 E 보충섭취가 폐경기 여성의 혈장 항산화 영양상태 및 DNA 손상 개선에 미치는 영향*

김창숙¹⁾ · 강해진²⁾ · 이순희²⁾ · 박유경²⁾³⁾ · 강명희¹⁾⁸⁾

한남대학교 생명나노과학대학 식품영양학과,¹⁾ 경희대학교 동서의학대학원 의학영양학과,²⁾ 경희대학교 임상영양연구소³⁾

The Effect of Alpha-tocopherol Supplementation on the Improvement of Antioxidant Status and Lymphocyte DNA Damage in Postmenopausal Women*

Kim, Chang-Suk¹⁾ · Kang, Hae Jin²⁾ · Lee, Soon-Hee²⁾ · Park, Yoo Kyoung²⁾³⁾ · Kang, Myung-Hee¹⁾⁸⁾

Department of Food & Nutrition,¹⁾ Daedeok Valley Campus, Hannam University, Daejeon 305-811, Korea

Department of Medical Nutrition,²⁾ Graduate School of East-West Medical Science,

Kyung Hee University, Yongin 446-701, Korea

Research Institute of Clinical Nutrition,³⁾ Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

ABSTRACT

The purpose of this project was to evaluate whether vitamin E supplementation could improve the antioxidant status and lymphocyte DNA damage in Korean postmenopausal women. This was double blinded, placebo-controlled trial. Thirty-five subject were randomized to receive either placebo 400 mg/capsule or natural α -tocopherol 400 IU/capsule, 2 times a day for 6 weeks. We measured plasma vitamin C, α -tocopherol, γ -tocopherol, α -carotenoid, β -carotenoid, lycopene concentration and tail length, %DNA in tail, tail moment in lymphocyte DNA damage index. Vitamin E supplementation group had significantly increased plasma vitamin C ($p < 0.05$), α -tocopherol ($p < 0.000$), whereas γ -tocopherol ($p < 0.000$) and tail length ($p < 0.05$) were significantly decreased. However, placebo supplementation group also had significantly increased plasma vitamin C ($p < 0.05$). In conclusion, our study shows that vitamin E supplementation to Korean postmenopausal women may partially improve antioxidant status and lymphocyte DNA damage. (*Korean J Nutr* 2007; 40(8): 708~718)

KEY WORDS : vitamin E supplementation, antioxidant status, lymphocyte DNA damage, postmenopausal.

서 론

인간은 나이가 들면서 인체 내 산화 촉진 물질과 산화 억제 물질들의 균형이 깨어져 산화 스트레스가 증가하게 되며, 산화스트레스는 체내에서 DNA 손상을 초래할 뿐 아니라 암과 심혈관질환과 같은 노화관련 만성질환의 발생과 관련이 있는 것으로 알려져 있다.¹⁾ 특히 폐경기 여성들은 자유라디칼에 대해 항산화 작용이 있는 여성호르몬 분비가 서서히 변화되기 시작하면서 혈중 지질농도의 증가와 함께

체내 항산화력이 감소하며, 폐경 여성의 이러한 변화는 심혈관계 질환의 발병 기전에서 중요한 역할을 한다.²⁾

비타민 E는 *in vitro*와 *in vivo*에서 모두 항산화제로 작용하는 것으로 알려져 있다. 폐경기 여성의 혈청 비타민 C와 E 수준이 높을수록 혈청 과산화지질 농도가 유의적으로 감소함이 보고되었고,³⁾ 혈청 항산화 비타민 농도는 혈청 malondialdehyde (MDA) 농도와 음의 상관관계가 있어 심혈관계 질환의 위험을 감소시키는데 기여하므로⁴⁾ 항산화 영양상태의 균형을 위한 보강으로 비타민 E와 같은 항산화 물질을 보충 섭취시키는 영양중재 시도는 폐경여성의 산화 스트레스를 줄여주어 DNA 손상을 감소시키고 심혈관질환을 예방하는 전략의 하나로 생각해 볼 수 있다.

1990년도 이후 비타민 E에 관한 4개의 큰 영양중재연구가 시도되었는데, 영국에서 관상동맥질환 환자에게 400 IU와 800 IU의 RRR- α -tocopherol을 투여한 후 심근경색

접수일 : 2007년 11월 19일

채택일 : 2007년 12월 10일

*This research was supported by grants from Hannam University in 2007.

⁸⁾To whom correspondence should be addressed.

E-mail : mhkang@hnu.kr

발생율이 47~77% 감소하는 결과를 보인 CHAOS (Cambridge Heart Antioxidant Study) 연구⁵⁾에서만 강한 긍정적 결과를 보였을 뿐, 핀란드의 흡연자에게 50 mg/day의 α -tocopherol과 20 mg/day의 β -carotene을 주어 폐암 발생율을 보는 연구인 ATBC (Alpha-Tocopherol Beta-Carotene) 연구,⁶⁾ 이탈리아 사람들을 대상으로 all-rac- α -tocopherol 형태로 300 mg/day의 비타민 E를 투여한 GISSI-Prevention 연구,⁷⁾ 그리고 55세 이상의 심장병 전력을 가진 19개국의 9,000명의 환자를 대상으로 400 IU/day의 비타민 E를 4.5년간 투여한 HOPE (Heart Outcomes Prevention Evaluation) 연구⁸⁾들은 긍정적인 결과가 나타나지 않았다. 따라서 현재로서는 심장병을 예방하기 위해 비타민 E를 보충 투여하는 것을 권장할 만한 충분한 자료가 마련되지 않고 있다고 볼 수 있다.

폐경기 여성을 대상으로 항산화 비타민을 보충 섭취시킨 후 항산화 영양상태의 변화 및 관상심장 질환의 위험을 살펴본 영양중재 연구들도 많이 수행되었는데, Salonen 등⁹⁾은 핀란드에서 수행되고 있는 ASAP (Antioxidant Supplementation in Atherosclerosis Prevention) 연구에서 45~59세의 남성과 폐경기 여성을 대상으로 하루에 91 mg (136 IU)의 비타민 E와 250 mg의 비타민 C를 3년 동안 보충 섭취 시킨 결과 폐경기 여성에게서는 큰 효과가 없었던 반면, 흡연남성에게 비타민 C와 E를 복합 투여한 경우에만 경동맥의 죽상경화 진행을 감소시켰다고 보고하였다.

대규모 영양중재 연구 외에 비타민 E를 단독으로 투여한 후 항산화 상태를 보는 연구도 수행되어 왔다. 90명의 건강한 성인에게 200 IU의 비타민 E를 8주 동안 투여하였을 때 혈중 비타민 E 수준이 증가하였으며,¹⁰⁾ 건강한 성인에게 각각 200 mg/day와 400 mg/day의 비타민 E를 50일 간 투여한 결과, 두 용량 모두 LDL 및 HDL 산화민 감성을 감소시키는 효과가 나타났다.¹¹⁾ McAululty 등¹²⁾은 운동선수에게 비타민 E (α -tocopherol)를 보충섭취 시키면 혈장 α -tocopherol을 비롯한 혈장 항산화 상태가 유의적으로 증가함을 보고하였다. 국내에서 비타민 E를 사용한 중재연구들도 대부분 운동선수를 대상으로 비타민 E의 보충섭취가 운동 후 증가하는 활성산소를 감소시키는지를 본 연구가 많으며^{13,14)} 노인¹⁵⁾에게 비타민 E를 400 IU/day를 4주 간 투여한 후 혈중 비타민 E 수준이 증가하고 thiobarbituric acid reactive species (TBARS) 농도가 감소하였음을 보고하였다.

신체 항산화 영양상태의 불균형으로 산화 스트레스가 증가하면 세포의 DNA손상이 나타난다.¹⁶⁾ 비타민 E를 투여하였을 때 신체 산화적 DNA 손상이 감소하는지를 알아본

연구들이 보고되었으며, Kan 등¹⁷⁾은 투석환자에게 비타민 E를 600 mg/day 용량으로 14주 동안 투여한 결과, 대조군에 비해 임파구 DNA 손상이 심했던 투석환자의 DNA 손상이 감소하는 것을 관찰하였다. 그러나 Brennan 등¹⁸⁾의 연구에서는 800 mg/day의 비타민 E를 42일간 건강한 비흡연자에게 보충투여 하였을 때, H₂O₂-유도 DNA 손상은 감소되었으나 endogenous DNA 손상은 변화가 없었으며, 건강한 비흡연 성인 184명에게 비타민 E를 400 IU/day 수준으로 2달 동안 투여하였으나 노의 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) 수준으로 본 산화적 DNA 손상 정도는 개선되지 않았다는 연구결과도 보고되어¹⁶⁾ 연구자들에 따라 산화적 손상 개선 효과가 상반되게 나타나는 결과를 볼 수 있었다.

Single-cell microgel electrophoresis assay (Comet assay)는 세포내 DNA 손상을 알아내기 위해 고안된 방법으로서 깨어진 DNA 조각이 전기영동에 의해 끌려가는 정도를 현미경 상에서 보는 방법이며 그 모습이 혜성 (comet)과 같다고 하여 comet assay라고 부른다. Ozcagli 등¹⁹⁾은 호르몬 요법을 받는 폐경 여성들의 DNA 손상 정도를 측정할 결과 호르몬의 섭취는 comet assay로 본 폐경 여성의 임파구 DNA 손상 정도를 증가시키며 그 증가 정도는 호르몬의 종류에 따라 다르다고 보고하였다. 그러나 아직까지 폐경기 여성을 대상으로 비타민 E를 보충 섭취케 한 후에 항산화 영양상태와 함께 산화적 DNA 손상 정도를 본 연구는 국내외적으로 아직까지 보고되지 않고 있다.

따라서 본 연구는 폐경으로 인한 여성호르몬 분비의 변화로 각종 질병에 노출되어 있는 폐경기 여성들을 대상으로 하는 인체 영양중재 연구로써 비타민 E의 주요 성분인 α -tocopherol의 투여가 폐경여성의 신체 내 α -tocopherol의 영양상태 및 DNA 손상 개선에 어떤 영향을 미치는지 알아보려는 목적으로 시도 되었다.

재료 및 방법

연구대상자 선정 및 비타민 E 보충섭취

본 연구는 double-blind randomized placebo-controlled trial로서 폐경기 여성 46명을 대상으로 무작위로 비타민 E 보충섭취군과 위약군으로 나누어 2005년 7월 6일부터 2005년 8월 17일까지 경희대학교 동서의학대학원에서 6주 동안 수행되었다. 실험대상자는 서울특별시 동대문구 주민문화센터에 등록된 사람 중에서 모집하였으며 대상자 선정기준은 시험 참가에 앞서 시험의 목적, 내용의 특성에 대하여 충분히 설명을 듣고 서면 동의한 폐경이후

의 건강한 여성으로서 선천성 질환 혹은 만성질환이 없어야 하며, 병적증상이나 소견이 없는 자로 하였다. 본 실험 대상자 중에서 비타민 E에 과민 반응력이 있는 자, Hormone Replacement Therapy (HRT)를 받고 있는 여성, 상습적인 알코올 섭취자 (3 unit/day 이상인자) 혹은 약물 남용자, 위장관 절제술을 받은 경험이 있는 자, 최근 1년 이내에 다른 연구용 약물을 복용한 경험이 있는 자, 인체시험 중 시험결과에 영향을 미칠 수 있다고 판단되는 항생제 종류의 약물을 복용하는 자는 대상자에서 제외하였다. 처음에 46명의 대상자로 실험을 시작하였으나 실험기간 동안 보충제를 제대로 섭취하지 않은 사람과 발목부상으로 인한 소염제 섭취자, 중도 포기한 사람 등을 제외하고 비타민 E 보충섭취군 17명, 위약군 18명 등 총 35명의 폐경기 여성 (나이 48~74세)을 최종 대상자로 삼았으며 중도탈락률은 22%였다.

대상자들에게 자필 동의서를 받았으며, 실험기간 동안 항산화 지표에 영향을 줄 만한 식사나 식품에 대한 섭취를 제한하도록 교육하였다. 총 6주 동안 비타민 E 보충섭취군에게는 비타민 E 캡슐 (α -tocopherol 성분 400 IU/capsule)을, 위약군에게는 대두유로 만든 위약 캡슐 (400 mg/capsule)을 하루 2회 섭취하도록 하였다. 위약 캡슐의 대두유에 들어있는 비타민 E 함량은 0.105 IU/capsule로서 하루 총 섭취량으로는 0.21 IU가 되므로 무시할 만한 양이었다. 보충제는 시험담당자가 2주 분량을 섭취 일지와 함께 분배하였으며 보충제를 매일 섭취할 수 있도록 지도하였다. 또한 2주와 4주에 제품을 배달함과 동시에 불편한 사항과 문의사항을 조사하고 순응도를 검사하였다.

비타민 E 보충 섭취 전과 후 2번에 걸쳐 채혈하였으며 채혈 일에 영양소 섭취량과 신체계측조사가 동일하게 수행되었고 보충 섭취 후에는 식품섭취빈도조사도 함께 수행되었다. 본 인체시험 계획서는 한남대 인체시험심의위원회 (IRB)의 심의를 통과하였다.

일반사항 및 식이섭취 조사

조사자의 일반사항으로 조사대상자의 나이, 영양제 복용 여부, 흡연여부, 흡연량, 흡연력, 알코올 섭취 여부, 알코올의 종류와 섭취량, 운동 여부, 운동 시간과 횟수, 폐경 나이와 기간에 대한 내용을 설문지를 통해 조사하였다.

보충제 섭취 전과 후에 대상자의 수축기와 이완기 혈압을 혈압계를 사용하여 측정하였고, 신장계로 신장을, 전자저울로 체중을 측정하여 BMI (body mass index)를 계산하였으며 허리와 엉덩이 둘레로부터 WHR (waist hip ratio)을 계산하였다.

식이섭취 조사는 보충제 섭취 전, 후에 1대 1 면담법을 통한 24시간 회상법으로 실시하였다. 면담은 사전에 훈련받은 시험담당자들에 의해 실시되었으며, 대상자들의 분량을 회상하는데 도움을 주기 위해 food model 및 사진으로 보는 음식의 눈 대증량을 제시하여 섭취한 모든 음식의 종류와 섭취량이 가능한 정확하게 조사될 수 있도록 하였다. 조사 결과로부터 한국영양학회 부설 영양정보센터에서 제작한 CAN program 2.0 version을 이용하여 영양소 섭취량을 구하였다.

대상자의 지난 한달 동안 섭취한 flavonoids 및 carotenoids 함량을 조사하기 위해 식품섭취빈도조사 설문지를 이용하였다. 대상자에게 본 연구실에서 2001년에 개발한 반정량적 식품섭취빈도 조사지²⁰⁾를 분배하여 간단한 주의사항을 안내한 후, 자가 작성 하도록 하였다. 조사 대상자의 1일 평균 flavonoids 및 carotenoids 섭취량은 조사대상자별로 각 식품의 1회 섭취량과 섭취빈도 값을 곱하여 개인의 1일 평균 식품 섭취량을 계산한 다음, 식품별 flavonoids 함량 database²¹⁾를 이용하여 계산하였다.

채혈

보충제 섭취 전과 섭취 후 2번에 걸쳐서 채혈하였다. 공복에 실험 대상자로부터 10 ml를 채혈하여 heparinated sterile tube (Vacutainer, Becton Dickinson Co.) 2개에 전혈 (whole blood)을 담아 실험실에 가져온 후, DNA 손상 측정을 위한 Comet 분석용 전혈은 따로 담고, 나머지는 1,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 상층의 PRP (platelet-rich plasma)를 취한 뒤 다시 3,000 rpm에서 30분간 원심 분리하여 상층의 PDP (platelet-deficient plasma)를 모아 혈장과 혈구를 분리하였다. 혈장은 분석 항목별로 각각 분주한 후 분석 전까지 -80°C 냉동고에 보관하였다.

혈장 항산화 비타민 분석

혈장 α -tocopherol, γ -tocopherol 및 carotenoids는 ethanol (Merck Co.)로 단백질을 제거하고 n-hexane (Fisher Co.)으로 지방을 추출한 후 rotary evaporator로 hexane을 증발시키고, mobile phase (metanol : dichloromethane = 85 : 15) (Fisher Co.)에 녹여 HPLC로 측정하였다. HPLC 분석조건은 Table 1에 제시하였다.

대상자들의 혈장 ascorbic acid는 2,4-dinitrophenylhydrazine method에 의해 UV/VIS spectrometer로 분석하였다. 혈장을 metaphosphoric acid (Junsei Co.)로 처리하여 단백질을 침전시키고 ascorbic acid를 안정화시켰다. Ascorbic acid는 copper-sulfate (Sigma Co.)로 처리하면 dehydroascorbic acid로 산화된 뒤 diketogluconic

Table 1. HPLC apparatus and conditions

Column	Merck, LiChrospher 100 RP-18 (5 μ m)
Pump	Shimadzu LC-10AT
Flow rate	0.8 ml/min
Detector	Shimadzu SPD-10A
Wavelength	tocopherols- 295 nm, carotenoids- 450 nm
Integrator	Shimadzu C-R6A Chromatopac
Mobile phase	Methanol : Dichloromethane = 85 : 15 (v/v)

acid로 가수분해되며, 이를 2,4-dinitrophenylhydrazine (Aldrich Co.)으로 처리하면 안정한 적갈색물의 osazone 이 형성되는데 이것을 520 nm에서 측정하여 혈장 ascorbic acid의 농도를 분석하였다.

임파구 DNA 손상 측정을 위한 Comet assay

전처리 과정을 마친 lymphocytes 20 μ l을 취하여 low melting agarose gel (LMA) (Sigma Co.)과 섞은 후 normal melting agarose (NMA) (Sigma Co.)가 미리 처리된 slide 위로 고루 분산되게 한 후 cover glass로 덮어 4°C 냉장보관 후, gel이 굳으면 LMA 용액 75 μ l로 한 겹 더 덮은 후 cell lysis를 위해 미리 준비해 둔 차가운 alkali lysis buffer에 slide를 담가 저온, 암실에서 1시간 동안 침지 시키어 DNA의 double strand를 풀어주었다. Lysis가 끝난 slide를 electrophoresis tank에 배열하고 4°C의 차가운 buffer를 채워 unwinding 시킨 후 20분간 전기영동을 실시하였다. 전기영동이 끝난 후 tris 완충용액 (pH 7.4)으로 충분히 세척하고 ethidium bromide (Sigma Co.)로 핵을 염색하여 형광현미경 (Leica, Germany) 상에서 관찰하고 CCD camera (Nikon, Japan)를 통해 보내진 각각의 세포핵 image는 comet image analyzing system (kinetic image 4.0, UK)이 설치된 컴퓨터상에서 분석하였다. 임파구의 DNA 손상 및 비타민 E 투여에 의한 손상억제 정도는 핵으로부터 이동한 DNA 파편의 거리인 TL (tail length), TD (% DNA in tail), 그리고 TL과 TD를 곱한 값인 TM (tail moment) 등 3가지 분석 지표로 살펴보았다. 이 3가지 지표로 분석된 데이터들을 TM값을 기준으로 데이터 간의 차이가 6 이상이 되는 outlier들을 제거하여 이를 최종 데이터로 삼았다.

자료의 처리

모든 자료는 SPSS-PC⁺ 통계 package (version 12.0)를 사용하여 처리하였다. 각 항목에 따라 백분율과 평균치 \pm 표준오차 (SE)를 구하였고 각 군별 유의성 검증을 위해서 Student t-test를 사용하였다. 각 군에서 시험시작 전인 0주와 보충 섭취 6주 후의 평균치 차이는 Paired t-test

(dependent t-test)를 통하여, 그리고 같은 시점에서의 보충섭취군과 위약군의 평균치 차이는 Independent t-test를 사용하여 유의성을 검증하였다. 모든 통계적 유의성은 $\alpha = 0.05$ 수준에서 평가하였다.

결 과

조사 대상자들의 일반적인 사항

조사 대상자의 일반 특성은 Table 2와 같다. 본 연구 대상자는 모두 폐경기 여성으로 무작위로 비타민 E 보충섭취군과 위약군으로 나뉘었으며 대상자의 평균 나이는 50~74세이었다. 대상자는 모두 비흡연자였고 77~78%가 음주를 하고 있었으며 대상자의 음주량은 2.6~4.1 drinks/day로 두 군 간의 유의적 차이는 없었다. 규칙적으로 운동을 하는 사람은 72~77%, 평균 운동량은 29~34 min/day로 두 군 간의 차이는 없었다. 대상자들의 폐경 나이는 위약군에서 조금 낮았으나 폐경기간은 두 군 간에 차이를 보이지 않았다. 6주간의 보충섭취 후 조사 대상자의 체중, BMI, WHR, 체지방 등은 보충섭취 전에 비해 차이를 보이지 않았다.

조사 대상자들의 영양소 섭취 실태

대상자의 영양소 및 flavonoids와 carotenoids 섭취실태를 조사한 결과, 비타민 E 보충군 및 위약군 모두 보충섭취 전 후의 영양소 및 flavonoids와 carotenoids 섭취량에 유의적인 변화를 보이지 않았다 (Table 3, 4).

비타민 E 보충섭취 후 혈장 항산화 비타민 수준의 변화

위약군의 혈장 α -tocopherol 수준은 비타민 E 보충섭취 전후에 변화를 보이지 않았으나, 비타민 E 보충섭취군에서는 보충섭취 전 2653 \pm 88.27 μ l/dl에 비해 보충섭취 후 6784 \pm 458.0 μ l/dl로 증가하였으며 ($p < 0.000$), 6주 섭취 후에 두 군을 비교해 보았을 때도 보충섭취군의 혈장 α -tocopherol수준이 위약군에 비해 유의적으로 높았다 ($p < 0.000$, Fig. 1).

혈장 γ -tocopherol은 위약군에서는 보충섭취 전, 후에 변화를 보이지 않았지만 비타민 E 보충섭취군에서는 보충섭취 전 (191.0 \pm 14.79 μ l/dl)에 비해 보충섭취 후 (93.54 \pm 15.38 μ l/dl)에 감소하였으며 ($p < 0.000$), 6주 섭취 후에 두 군을 독립적인 t-test로 비교해 보았을 때도 보충섭취군의 혈장 γ -tocopherol 수준이 위약군에 비해 유의적으로 낮았다 ($p < 0.000$).

혈장 α -carotene, β -carotene, lycopene 수준은 비타민 E 보충섭취군과 위약군 모두 보충섭취 전, 후에 변화를

Table 2. General characteristics of the subjects

Variables	Placebo group (n = 18)		VE supplemented group (n = 17)	
	0 week	6 week	0 week	6 week
Age (years)	57.39 ± 1.51		59.18 ± 1.49	
Age at menopause (years)	50.11 ± 1.07		52.82 ± 0.64 ^{*1)}	
Years since menopause	7.36 ± 1.29		6.52 ± 1.39	
Height (cm)	154.89 ± 0.97		153.50 ± 1.52	
Weight (kg)	56.86 ± 1.44	56.77 ± 1.44	59.25 ± 1.75	59.57 ± 1.76
BMI (kg/m ²) ²⁾	23.69 ± 0.55	23.66 ± 0.56	25.27 ± 0.64	25.27 ± 0.66
WHR ³⁾	0.83 ± 0.01	0.83 ± 0.01	0.85 ± 0.01	0.85 ± 0.01
Body fat (%)	32.64 ± 0.67	32.77 ± 0.86	32.22 ± 1.11	32.62 ± 0.94
Smoking n (%)	0		0	
Drinking habits				
Drinker n (%)	14 (77.8%)		13 (76.5%)	
Drinking ⁴⁾ /day	4.12 ± 1.27		2.59 ± 0.76	
Exercise habits				
Regular exercises n (%)	13 (72.2%)		13 (76.5%)	
Exercise time (min/day)	33.57 ± 9.20		28.61 ± 6.08	

All values are means ± S.E.

1) Significantly different between vitamin E and placebo group at week 0, p < 0.05 by independent t-test.

2) Body mass index

3) Waist/hip ratio

4) One drinking is a dose of alcoholic beverage that delivers half ounce of pure alcohol (1 drink = 8–12 oz of hard liquor)

Table 3. Nutrient intakes of the subjects before and after vitamin E supplementation

Nutrients	Nutrient intake			
	Placebo group (n = 18)		VE supplemented group (n = 17)	
	0 week	6 week	0 week	6 week
Energy (kcal)	1444 ± 101.4	1459 ± 92.26	1634 ± 101.9	1597 ± 121.8
Protein (g)	78.05 ± 6.40	79.14 ± 6.00	95.98 ± 6.15	92.00 ± 6.96
Fat (g)	45.09 ± 6.40	45.30 ± 6.52	63.53 ± 8.21	59.44 ± 8.43
Carbohydrate (g)	221.9 ± 16.38	221.6 ± 14.14	239.5 ± 17.55	238.6 ± 18.76
Fiber (g)	6.44 ± 0.61	6.20 ± 0.66	6.78 ± 0.73	6.82 ± 0.75
Calcium (mg)	561.9 ± 59.02	526.4 ± 62.57	600.0 ± 64.06	569.7 ± 59.80
Iron (mg)	16.67 ± 1.12	16.49 ± 1.10	19.36 ± 1.38	19.13 ± 1.33
Sodium (mg)	3277 ± 288.2	3072 ± 282.2	3482 ± 332.9	3352 ± 364.9
Zinc (mg)	6.24 ± 0.50	6.46 ± 0.49	8.40 ± 0.70 ^{*1)}	8.25 ± 0.78
Vitamin B ₁ (mg)	1.19 ± 0.11	1.28 ± 0.12	1.31 ± 0.17	1.29 ± 0.18
Vitamin B ₂ (mg)	0.85 ± 0.07	0.88 ± 0.07	0.96 ± 0.09	0.95 ± 0.09
Vitamin B ₆ (mg)	2.33 ± 0.69	2.11 ± 0.49	1.95 ± 0.29	1.89 ± 0.20
Niacin (mg)	13.39 ± 1.60	13.60 ± 1.26	17.94 ± 2.15	17.22 ± 2.08
Folate (μg)	197.7 ± 24.24	184.6 ± 22.96	255.1 ± 31.61	263.0 ± 34.26
Cholesterol (mg)	206.8 ± 36.06	207.7 ± 35.96	186.0 ± 32.79	175.3 ± 36.52
Total fatty acid (g)	18.15 ± 5.72	19.28 ± 5.91	29.24 ± 7.48	29.01 ± 7.57
Vitamin A (μg RE)	762.7 ± 103.0	669.8 ± 108.9	845.2 ± 151.9	787.8 ± 155.0
Retinol (μg)	55.59 ± 12.61	51.33 ± 10.68	67.30 ± 12.53	60.58 ± 12.85
β-carotene (μg)	3654 ± 522.0	3206 ± 548.5	4332 ± 899.1	4102 ± 911.9
Vitamin C (mg)	108.8 ± 13.04	96.47 ± 13.39	113.9 ± 16.73	110.7 ± 17.30
Vitamin E (mg α-TE)	7.26 ± 0.82	7.17 ± 0.85	7.06 ± 0.83	6.85 ± 0.83

All values are means ± S.E.

1) Significantly different between vitamin E and placebo group at week 0, p < 0.05 by independent t-test

보이지 않았고, 6주 섭취 후 두 군 간에도 차이를 보이지 않았다 (Table 5). 혈장 비타민 C는 위약군과 비타민 E 보충섭취군 모두 보충섭취 전 (각각 1.43 ± 0.07 mg/dl, 1.50 ± 0.07 mg/dl)에 비해 보충섭취 후 (각각 2.31 ± 0.29 mg/dl, 2.84 ± 0.45 mg/dl) 유의적으로 증가하였으며 (p < 0.05), 6주 보충섭취 후 두 군 간의 유의적 차이는

보이지 않았다(Fig. 2).

비타민 E 보충섭취의 DNA 손상 억제 효과

비타민 E를 보충섭취하기 전 baseline 상태에서 비타민 E 보충섭취군과 위약군의 TD (% DNA in tail), TM (tail moment), TL (tail length)로 본 DNA 손상정도는 차이를 보이지 않았으나, 6주 동안의 비타민 E 보충섭취 후 비타민 E 보충섭취군의 TL로 본 DNA 손상정도 (52.25 ± 0.86 um)가 보충섭취 전 (56.03 ± 1.33 um)에 비해 유의적으로 감소하였으나 (p < 0.05, Fig. 3), DNA 손상의 다른 지표인 DNA in tail (%)과 TM으로 본 DNA 손상정도는 보충섭취 전후에 차이를 보이지 않았다 (자료 미제시). 또 6주 보충섭취 후의 두 군 간의 DNA 손상 정도는 모든 지표에서 변화를 보이지 않았다.

Table 4. Flavonoids and carotenoids intake of the subjects before and after vitamin E supplementation based on food frequency questionnaire (unit: mg)

Variables	Placebo group (n = 18)	VE supplemented group (n = 17)
Isoflavone		
Daidzein	14.84 ± 2.36	19.20 ± 2.70
Genistein	19.77 ± 3.17	25.75 ± 3.62
Isoflavone subtotal	34.61 ± 5.53	44.96 ± 6.32
Other flavonoids		
Quercetin	24.48 ± 3.63	35.87 ± 6.70
Kaempferol	14.83 ± 1.52	14.61 ± 1.65
Myricetin	2.68 ± 0.48	2.55 ± 0.28
Apigenin	0.05 ± 0.01	0.07 ± 0.01
Luteolin	0.34 ± 0.06	0.46 ± 0.07
Flavonoids total	76.99 ± 9.90	98.51 ± 12.07
Carotenoids		
α-carotene	1.04 ± 0.31	1.08 ± 0.23
β-carotene	5.25 ± 1.07	7.16 ± 1.50
β-cryptoxanthin	0.55 ± 0.13	0.38 ± 0.04
Lutein & Zeaxanthin	1.75 ± 0.36	2.29 ± 0.43
Lycopene	18.04 ± 2.70	19.61 ± 2.62
Carotenoids total	26.64 ± 3.60	30.51 ± 3.74

All values are means ± S.E.

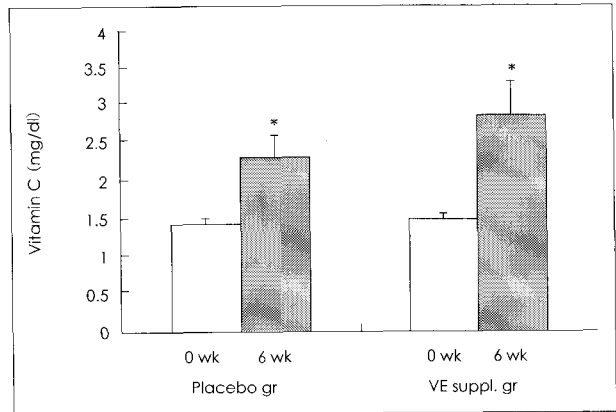


Fig. 2. Plasma vitamin C levels of the subject before and after the vitamin E supplementation. *: Significantly different from week 0 and week 6, p < 0.05 by paired t-test.

Fig. 1. Plasma α- and γ-tocopherol levels of the subject before and after vitamin E supplementation. *: Significantly different from week 0 and week 6, p < 0.000 by paired t-test. †: Significantly different between vitamin E and placebo group at week 6, p < 0.000 by independent t-test.

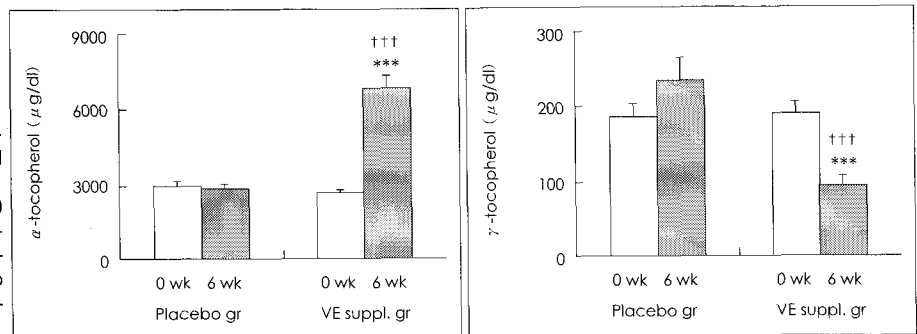


Table 5. Plasma carotenoids levels of the subjects before and after vitamin E supplementation

Variables	Placebo group (n = 18)		VE supplemented group (n = 17)	
	0 week	6 week	0 week	6 week
Carotenoids (μg/dl)				
α-carotene	14.61 ± 1.83	13.47 ± 1.57	13.44 ± 2.22	12.42 ± 1.61
β-carotene	91.29 ± 9.26	80.24 ± 7.87	91.54 ± 12.66	79.37 ± 9.67
Lycopene	22.99 ± 5.57	26.81 ± 5.72	30.38 ± 8.23	31.82 ± 7.45

All values are means ± S.E.

임파구 세포에 H₂O₂를 처리한 후 손상된 DNA를 본 경우, 비타민 E를 보충섭취하기 전 baseline 상태에서 비타민 E 보충섭취군과 위약군의 TD, TM, TL로 본 DNA 손상정도는 차이를 보이지 않았으며, 6주 동안의 비타민 E 보충섭취 후에도 비타민 E 보충섭취군과 위약군의 TD, TM, TL로 본 DNA 손상정도는 유의적 차이를 보이지 않았다 (Table 6).

비타민 E 보충섭취 후 혈압의 변화

6주 동안의 비타민 E 섭취 후 혈압의 변화는 Fig. 4와 같다. 확장기 혈압은 위약군과 비타민 E 섭취군 모두 비타민 E 섭취 전후에 차이가 나타나지 않았으나 수축기 혈압은 비타민 E 섭취군에서 섭취 전 131.8 ± 3.00 mmHg,에

서 섭취 후 124.12 ± 3.54 mmHg로 5.8% 유의적으로 낮아졌다 (p < 0.05).

고 찰

비타민 E는 세포막에 존재하는 불포화지방산이 과산화되는 것을 막는 항산화제로서, 비타민 E의 여러 형태 중 α-tocopherol이 잠재적 항산화 활성이 가장 높은 것으로 알려져 왔다. 하지만 일부 *in vivo* 실험에서 지질과산화물에 대한 γ-tocopherol의 항산화 활성도가 α-tocopherol 보다 높다는 연구결과^{22,23)}가 보고되어 비타민 E의 주된 공급형태이면서도 그 동안 상대적으로 소홀히 취급되어 왔던 γ-tocopherol에 대한 관심도 증가하고 있다. 비타민 E의 보충섭취는 산화적 스트레스를 감소시키미 보고됨에 따라²⁴⁾ 본 연구는 비타민 E (α-tocopherol)의 보충섭취가 산화스트레스가 증가되어 있는 폐경기 여성의 혈장 항산화 비타민을 상승시키고 임파구 산화적 DNA 손상을 보호하는 효과가 있는지를 알아보려고 하여 수행되었다.

본 연구에서는 비타민 E 보충섭취군과 위약군에게 보충제 (비타민 E군; α-tocopherol 800 IU/day, 위약군; 대두유 800 mg/day)를 6주간 보충섭취 시킨 후, 보충섭취 전과 후의 혈장 비타민 E 영양 상태를 비교해 본 결과, 위약군의 혈장 α-tocopherol 수준은 섭취 전후에 변화가 없었으나 비타민 E 보충섭취군의 혈장 α-tocopherol 수준은 섭취 후 유의적으로 증가하였다. 혈장 α-tocopherol 수준이 보충섭취 후 유의적으로 증가한 것은 20대 여자 운동선

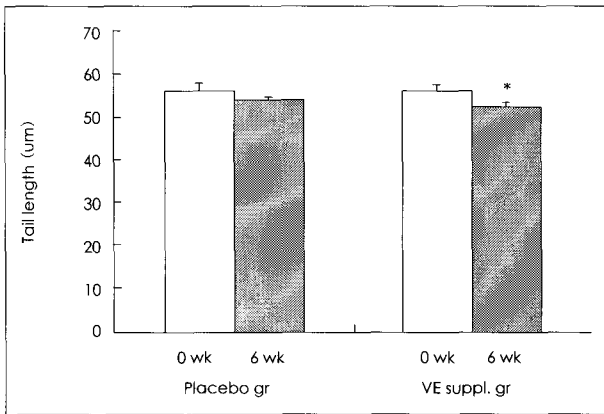


Fig. 3. Lymphocyte DNA damage as evaluated by the Comet assay before and after vitamin E supplementation. *: Significantly different from week 0 and week 6, p < 0.05 by paired t-test.

Table 6. Lymphocyte DNA damage using H₂O₂ treatment before and after vitamin E supplementation

Variables	Placebo (n = 18)		Vitamin E (n = 17)	
	0 week	6 week	0 week	6 week
H ₂ O ₂ comet				
Tail length (um)	61.23 ± 1.24	62.79 ± 0.92	62.26 ± 1.17	60.73 ± 1.30
DNA in tail (%)	41.36 ± 1.36	44.81 ± 0.89	42.36 ± 1.77	41.92 ± 1.31
Tail moment	26.53 ± 1.27	28.91 ± 0.85	27.58 ± 1.49	26.48 ± 1.30

All values are means ± S.E.

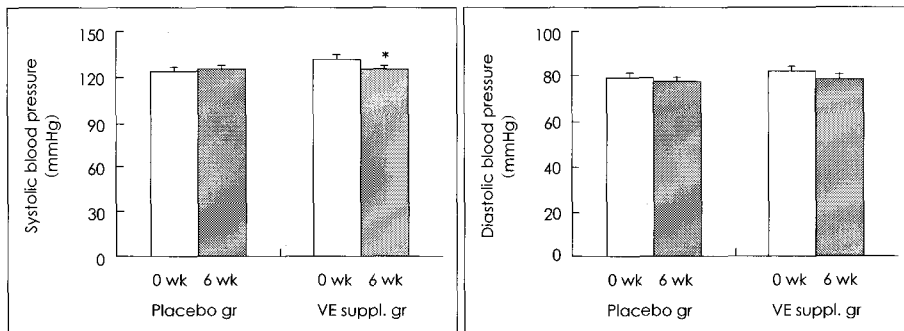


Fig. 4. Systolic and diastolic blood pressure of the subject before and after vitamin E supplementation. *: Significantly different from week 0 and week 6, p < 0.05 by paired t-test.

수에게 4주간 비타민 E 400 IU/day를 복용시킨 후 혈장 α -tocopherol이 유의적으로 증가하였다는 연구,¹³⁾ 그리고 38명의 운동선수에게 8주 동안 비타민 E를 보충섭취시켰을 때 혈장 α -tocopherol이 증가하였다는 McAnulty 등의 연구¹²⁾와도 일치하는 결과이다. Naziroglu 등²⁵⁾은 폐경기 여성과 당뇨가 있는 폐경기 여성에게 호르몬요법과 비타민 C와 E를 보충해 준 결과, 항산화 수준을 향상시키고 지질과 포도당 대사를 조절해 주는 것으로 나타났다. 그러나 이 연구에서는 호르몬 요법과 항산화 비타민 투여효과를 구별하지 않았을 뿐 아니라 비타민 C와 E를 함께 투여하였으므로 이런 효과가 비타민 E만을 투여한 결과와는 다를 것으로 생각된다.²⁶⁾

자연적인 비타민 E의 형태는 α -, β -, γ - and δ -tocopherols, 그리고 α -, β -, γ - and δ -tocotrienols가 있다. 비타민 E의 자연급원이라고 표시되어 있는 RRR- α -tocopherol은 식물성 기름에 들어있는 γ -tocopherol을 methylating 하여 생성된 것으로서 자연에 들어있는 형태는 아니며 α -tocopherol을 많이 섭취하면 다른 형태의 비타민 E 대사가 촉진된다.²⁷⁾ 전형적인 미국인 식사에 들어있는 주된 (70%) 비타민 E 형태는 γ -tocopherol이며²⁸⁾ γ -tocopherol과 그 대사물질들은 모두 생리활성을 가지고 있으므로,²⁹⁾ α -tocopherol 보충투여로 인해 혈중 γ -tocopherol 수준이 감소하며 이로써 α -tocopherol의 효능이 손상 받을 수 있을 것이라는 가정을 세울 수 있다.³⁰⁾ 즉 한가지 항산화제를 다량 보충 섭취시킬 경우 체내 다른 항산화제에 의한 자연적 항산화 균형을 혼란시키어 신체 항산화 균형이 깨지게 되고 오히려 pro-oxidative 상태를 야기할 수 있다.^{11,12,31)} 본 연구에서 비타민 E 보충섭취 후에 α -tocopherol 보충섭취군의 γ -tocopherol 혈장 수준이 감소한 것은 아마도 이런 이유 때문인 것으로 생각된다. 선행 연구¹¹⁾에서도 α -tocopherol을 투여하였을 때 γ -tocopherol의 혈장 농도가 유의적으로 감소하였다.

Unmethylated tocopherol인 γ -tocopherol에 대해서는 아직도 연구가 많지 않으나 γ -tocopherol은 α -tocopherol 가 할 수 없는 기능으로써 5-nitro- γ -tocopherol을 생성함으로써 활성질소종 (reactive nitrogen species RNS)을 제거하는 기능을 가지는 것으로 생각된다.²⁹⁾ 최근 연구³²⁾에 의하면 식사로 γ -tocopherol을 먹을 경우 α -tocopherol 보다 혈전을 감소시키는데 훨씬 더 효율적이었다고 한다. 앞으로 자연적인 신체 항산화 시스템과 이 시스템을 상승시킬 수 있는 물질 간의 상호역할을 이해하기 위해서는 좀 더 많은 기초연구가 진행되어야 할 것이다.

본 연구에서 비타민 C의 섭취량은 차이가 없었으나 혈

장 비타민 C는 보충섭취 후 위약군과 비타민 E 보충섭취군에서 모두 유의적으로 증가하였으며 비타민 E 군이 더 큰 폭으로 증가하였다. 이와 같은 결과는 비흡연 여자 노인 20명에게 각각 비타민 C (L-아스코르빈산 1,000 mg), 비타민 E(d- α -tocopherol 400 IU) 및 위약을 4주간 보충섭취시킨 후 항산화 영양상태를 본 결과, 위약군, 비타민 C 보충군, E 보충군 모두 각각 혈장 비타민 C가 유의적으로 증가하였다는 연구³³⁾와 일치하는 결과이다. 비타민 E는 항산화제로 작용하는 과정 중 불포화지방산의 불포화기가 과산화 형태로 되는 대신 비타민 E가 과산화 비타민 E로 전환되며, 전환된 과산화 비타민 E는 비타민 C의 도움으로 비타민 E로 재 전환된다.^{16,34)} 다시 말해, 체내에서 비타민 C는 이용된 비타민 E의 재생을 도와줄 뿐 아니라 그 자체가 항산화제 역할을 한다. 따라서 본 연구에서 비타민 E 보충섭취 후 혈장 비타민 C가 증가한 것은 비타민 E 섭취로 혈장 α -tocopherol이 충분히 공급됨에 따라 혈장 비타민 C를 절약해 준 것으로 추정해 볼 수 있다. 그러나 위약군의 경우도 혈장 비타민 C 수준이 증가하였는데 이는 플라시보 효과에 의한 것으로 추정되며 앞으로 비타민 E 보충섭취에 의한 혈장 비타민 C 수준의 변화에 대한 연구가 여러 연구집단을 대상으로 더 폭넓게 수행되어야 하리라고 본다.

기존의 선행 연구 중에 *in vivo*와 *in vitro* 연구를 통틀어 비타민 E 영양 상태와 DNA 손상 정도를 관련지어 본 연구는 많지 않다. 본 연구실에서 수행한 *in vitro* 연구 결과, 농도에 따라 효과의 차이는 있지만 대체적으로 α -tocopherol은 임파구 DNA 손상 보호효과가 있음을 관찰하였다.³⁵⁾ Kan 등¹⁷⁾은 투석환자에게 14주간 비타민 E를 보충 섭취시킨 결과, 보충섭취 전 비타민 E 보충군이 위약군에 비해 DNA 손상정도가 유의적으로 높기는 했으나 보충섭취 후 비타민 E 보충군의 DNA 손상이 유의적으로 감소했다고 보고하였다. 또한 비타민 E를 투여한 것은 아니나 항산화 성분을 함유하고 있는 식품을 공급한 여러 연구³⁶⁻³⁸⁾에서 임파구 DNA 손상 보호효과가 보고되었다.

따라서 본 연구에서도 이와 같은 효과를 기대하였으며 800 IU의 α -tocopherol을 6주간 보충섭취시킨 후 TL값으로 본 임파구 DNA 손상이 위약군에 비해 비타민 E 보충섭취군에서 유의적으로 감소하였다. 그러나 DNA 손상의 다른 지표인 TM, TD 및 H₂O₂ 처리를 한 TL, TM, TD 값으로 본 임파구 DNA 손상은 보충섭취 전과 후의 유의적 차이를 보이지 않았다. 이와 같은 결과는 혈장 항산화 상태와 연관 지어 생각해 볼 때, 비타민 E의 보충섭취 후 혈장 α -tocopherol 수준은 매우 높은 수준으로 증가하였

으나 이와는 대조적으로 혈장 γ -tocopherol 수준이 유의적으로 감소하여 비타민 E 공급을 통한 DNA 손상 보호효과가 보다 두드러지게 나타나지 않은 것으로 추정해 볼 수 있을 것이다.

본 연구에서 보충섭취 전과 후의 혈압을 비교해 본 결과, 비타민 E 보충 섭취군에서 보충섭취 후 수축기 혈압이 유의적으로 감소하였다. 이와 같은 결과는 남자 대학생에게 비타민 E 400 IU/day를 4주간 보충 섭취시킨 후 수축기와 이완기 혈압이 유의적으로 감소하였고³⁹⁾ 비흡연 여자 노인에게 d- α -tocopherol 400 IU/day를 4주간 복용시킨 후 수축기와 이완기 혈압이 유의적으로 감소하였다는 연구들³³⁾과 일치하는 결과이다. 비타민 E는 혈관 내피세포의 nitric oxide 의존성 혈관 기능을 보호하는 작용을 하므로^{40,41)} 비타민 E의 보충섭취가 혈압을 감소시켰을 것으로 추정된다. Rasool 등⁴²⁾은 건강한 폐경기 여성에게 위약과 비타민 E 400 IU를 10주 동안 보충 투여한 결과, 혈압과 pulse wave velocity에 아무런 변화가 나타나지 않는 것으로 보아 동맥경화에 아무런 효과가 없음을 보고하였다.

결론적으로, 본 연구에서 비타민 E를 하루 800 IU/day 공급하였을 때 폐경기 여성의 혈압을 감소시키고 혈장 α -tocopherol 수준을 증가시키며 임파구 DNA 손상을 감소시킴으로서 폐경기 여성의 항산화 상태가 향상되는 유익한 결과를 보였다. 본 연구에서 사용한 α -tocopherol은 800 IU/day였는데, 비타민 E를 공급하는 여러 연구^{12,13,15)}에서 400~1,000 IU/day를 투여하는 정도까지는 항산화 상태나 자유라디칼에 의한 DNA 손상 및 지질과산화 정도가 개선되는 효과가 나타났음을 보고하고 있으므로 본 연구에서의 비타민 E의 공급량은 항산화 상태 개선에는 적절했다고 할 수 있다. 그러나 2005년에 제정된 한국인영양섭취기준 (KDRIs)⁴³⁾에서 제시하는 상한섭취량 (UL)이 800 IU일 뿐 아니라 본 연구에서 비타민 E 보충섭취 후 혈장 내 γ -tocopherol 수준이 감소된 것으로 보아 비타민 E의 과잉 섭취로 인해 항산화 개선효과가 방해받을 가능성도 생각해 볼 수 있다. 기존의 다양한 선행연구들을 토대로 현재 비타민 E의 혈장 항산화 상태나 DNA 손상 개선효과가 대두되고 있으나, 앞으로 혈장 비타민 E 수준을 α -tocopherol과 γ -tocopherol로 나누어 각 기능에 따라 판정하는 연구를 통하여 비타민 E 영양상태가 충분한 정상 성인의 경우에도 비타민 E의 보충 투여가 건강에 유익한지, 또는 비타민 E의 과잉 투여가 가져올 수 있는 영향 등에 대한 영양중재연구가 보다 더 다양하고 깊이 있게 수행되어야 할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 비타민 E의 보충섭취가 폐경기 여성의 항산화 영양상태 및 임파구 DNA 손상을 개선할 수 있는지를 알아보고자 수행되었으며, 이중맹검법으로 실시되었고 플라시보를 위약군으로 하였다. 폐경기 여성 35명을 대상으로 6주 동안 비타민 E 보충섭취군에게는 비타민 E 캡슐 (α -tocopherol 성분 400 IU/capsule)을, 위약군에게는 대두유로 만든 위약 캡슐 (400 mg/capsule)을 하루 2회 섭취하도록 하였으며, 이 때 두 군의 분류는 무작위로 하였다. 항산화 영양상태를 알아보기 위해 혈장 vitamin C, α -tocopherol, γ -tocopherol, α -carotenoid, β -carotenoid, lycopene 농도를 측정하였고, 임파구 DNA 손상정도를 알아보기 위해서는 Comet assay를 이용하여 tail length, %DNA in tail, tail moment를 측정하였다. 비타민 E 보충섭취군에서는 혈장 vitamin C ($p < 0.05$)와 α -tocopherol ($p < 0.000$) 농도가 유의적으로 증가하였고, γ -tocopherol ($p < 0.000$) 농도와 tail length ($p < 0.05$)는 유의적으로 감소하였다. 반면, 위약군에서는 혈장 vitamin C ($p < 0.05$)의 농도만이 유의적으로 증가하였다. 결론적으로, 본 연구는 비타민 E의 보충섭취가 혈장 항산화 상태 및 DNA 손상에 대해 부분적인 개선 효과가 있음을 보여주었다.

Literature cited

- 1) Benzi IF. Evolution of antioxidant defence mechanisms. *Eur J Nutr* 2000; 39: 53-61
- 2) Stampfer MJ, Hennekens CH, Manson JE, Colditz GA, Rosner B, Willett WC. Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in women. *N Engl J Med* 1993; 328: 1444-1449
- 3) Jung KA, Kim SY, Choi YJ, Woo JI, Chang YK. The Nutritional Status of Antioxidant Vitamins in Relation to Serum MDA Level in Postmenopausal Women. *Korean J Nutr* 2001; 34(3): 330-337
- 4) Kim SY, Jung KA. Correlation of the Nutritional Status of Antioxidant Vitamins and Serum Lipids and MDA Levels in Postmenopausal Women. *J East Asian Soc Dietary Life* 2006; 16(1): 145-155
- 5) Stephens NG, Parsons A, Schofield PM, Kelly F, Cheeseman K, Mitchinson MJ. Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS). *Lancet* 1996; 23: 347(9004): 781-786
- 6) ATBC (alpha-tocopherol, beta-carotene) Cancer Prevention Study Group. The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. *N Engl J Med* 1994; 330: 1029-1035
- 7) GISSI-Prevention Investigators. Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial

- infraction; Results of the GISSI-Prevention Trial. *Lancet* 1999; 354: 447-455
- 8) HOPE Study Investigators. Vitamin E supplementation and cardiovascular events in high-risk patients. *N Engl J Med* 2000; 342: 154-160
 - 9) Salonen JT, Nyyssonen K, Salonen R, Lakka HM, Kaikkonen J, Porkkala-Sarataho E, Voutilainen S, Lakka TA, Rissanen T, Leskinen L. Antioxidant Supplementation in Atherosclerotic Prevention (ASAP) study: a randomized trial of the effect of vitamins E and C on 3-year progression of carotid atherosclerosis. *J Intern Med* 2002; 248(5): 377-386
 - 10) McGavin JK, Mann JI, Skeaff CM, Chisholm A. Comparison of a vitamin E-rich diet and supplemental vitamin E on measures of vitamin E status and lipoprotein profile. *Eur J Clin Nutr* 2001; 55: 555-561
 - 11) Arrol S, Mackness MI, Durrington PN. Vitamin E supplementation increases the resistance of both LDL and HDL to oxidation and increases cholesteryl ester transfer activity. *Atherosclerosis* 2000; 150(1): 129-134
 - 12) McAnulty SR, McAnulty LS, Nieman DC, Morrow JD, Shooter LA, Holmes S, Heward C, Henson DA. Effect of alpha-tocopherol supplementation on plasma homocysteine and oxidative stress in highly trained athletes before and after exhaustive exercise. *J Nutr Biochem* 2005; 16: 530-537
 - 13) Kim WK, Kim HY, Kim MJ, Kim SH. Effects of Vitamin E Supplementation on Antioxidant Status and Immune Responses in Female Athletes. *Korean J Nutr* 1999; 32(7): 781-786
 - 14) Oh BS. The Effect of Antioxidants Supplementation on Cell Membrane Damage Index (LDH, MDA) and Anti-Inflammatory Immunity Reaction Substance (IL-1, IL-2) in Middle Long Distance Runners of Track and Field. *Korean J Physiol Educ* 1999; 38(4): 387-400
 - 15) Kim WK. Originals: Effects of Vitamin E Supplementation on Immune Response and Antioxidant defense Parameters in Healthy Korean Elderly Women. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 1999; 28(4): 924-933
 - 16) Huang HY, Helzlsouer KJ, Appel LJ. The effects of vitamin C and vitamin E on oxidative DNA damage: results from a randomized controlled trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9(7): 647-652
 - 17) Kan E, Undeger U, Bali M, Basaran N. Assessment of DNA strand breakage by the alkaline COMET assay in dialysis patients and the role of Vitamin E supplementation. *Mutat Res* 2002; 520(1-2): 151-159
 - 18) Brennan LA, Morris GM, Wasson GR, Hannigan BM, Barnett YA. The effect of vitamin C or vitamin E supplementation on basal and H₂O₂-induced DNA damage in human lymphocytes. *Br J Nutr* 2000; 84(2): 195-202
 - 19) Oscagli E, Sardas S, Biri A. Assessment of DNA damage in postmenopausal women under hormone replacement therapy. *Maturitas* 2005; 51: 280-285
 - 20) Park YK, Kim YA, Park EJ, Kang MH. Estimated carotenoids intake in Korean adults using food-frequency questionnaire association with smoking, drinking and other life-style factors. *Nutr Sci* 2001; 4(2): 98-103
 - 21) Park YK, Kim YA, Park EJ, Kim JS, Kang MH. Estimated Flavonoids Intake in Korean Adults Using Semiquantitative Food-frequency Questionnaire. *Korean J Nutr* 2002; 35(10): 1081-1088
 - 22) Kang MH, Yun JS. The Effects of Exercise on the Vitamin C and E Intakes and Their Plasma Levels of Vitamin C, α -tocopherol and γ -tocopherol in Young Male Adults. *Korean J Nutr* 2001; 34(3): 306-312
 - 23) Cooney RV, Franke AA, Harwood PJ, Hatch-Pigott V, Custer LJ, Mordan LJ. Gamma-tocopherol detoxification of nitrogen dioxide superiority to alpha-tocopherol. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90(5): 1771-1775
 - 24) Ble-Castillo JL, Carmona-Diaz E, Mendez JD, Larios-Medina FJ, Medina-Santillan R, Cleva-Villanueva G, Diaz-Zagoya JC. Effect of α -tocopherol on the metabolic control and oxidative stress in female type 2 diabetics. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2005; 59: 290-295
 - 25) Naziroglu M, Simsek M, Simsek H, Aydilek N, Ozcan Z, Atilgan R. The effects of hormone replacement therapy combined with vitamins C and E on antioxidants levels and lipid profiles in postmenopausal women with Type 2 diabetes. *Clin Chim Acta* 2004; 344: 63-71
 - 26) Huang HY, Caballero B, Chang S, Alberg A, Semba R, Schneyer C, Wilson RF, Cheng TY, Prokopowicz G, Barnes GJ 2nd, Vassy J, Bass EB. Multivitamin/mineral supplements and prevention of chronic disease. *Evid Rep Technol Assess (Full Rep)* 2006; 139: 1-117
 - 27) Hosomi A, Arita M, Sato Y, et al. Affinity for alpha-tocopherol transfer protein as a determinant of the biological activities of vitamin E analogs. *FEBS Lett* 1997; 409(1): 105-108
 - 28) Swanson JE, Ben RN, Burton GW, Parker RS. Urinary excretion of 2,7,8-trimethyl-2-(beta-carboxyl) -6-hydroxychroman is a major route of elimination of gamma-tocopherol in humans. *J Lipid Res* 1999; 40(4): 665-671
 - 29) Jiang Q, Elson-Schwab I, Courtemanche C, Ames BN. Gamma-tocopherol and its major metabolite, in contrast to alpha-tocopherol, inhibit cyclooxygenase activity in macrophages and epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97(21): 11494-11499
 - 30) Huang HY, Appel LJ. Supplementation of diets with alpha-tocopherol reduces serum concentrations of gamma- and delta-tocopherol in humans. *J Nutr* 2003; 13(10): 3137-3140
 - 31) Kontush A, Finckh B, Karten B, Kohlschutter A, Beisiegel U. Antioxidant and prooxidant activity of α -tocopherol in human plasma and low density lipoprotein. *J Lipid Res* 1996; 37: 1436-1448
 - 32) Saldeen T, Li D, Mehta JL. Differential effects of alpha- and gamma-tocopherol on low density lipoprotein oxidation, superoxide activity, platelet aggregation and arterial thrombogenesis. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34: 1208-1215
 - 33) Lim JY, Kim OH, Kim JH. Effects of Antioxidant Supplementation on Lipid Profiles in Elderly Women. *Korean J Comm Nutr* 2006; 11(1): 133-142
 - 34) Park SM, Yu JG, Lee JY. Analysis of Factors to Influence Requirements of Vitamin E and Vitamin C in Young and Healthy Men and Women. *Korean J Nutr* 1998; 31(4): 729-738
 - 35) Jeon EJ, Park YK, Kim JS, Kang MH. Comparison of the Protective Effect of Antioxidant Vitamins and Fruits or Vegetable Juices on DNA Damage in Human Lymphocyte Cells Using the

- Comet Assay. *Korean J Nutr* 2004; 37(6): 440-447
- 36) Park EJ, Kim JS, Jeon EJ, Kim HY, Park YK, Kang MH. The Effects of Purple Grape Juice Supplementation on improvement of Antioxidant Status and Lymphocyte DNA Damage in Korean Smokers. *Korean J Nutr* 2004; 37(4): 281-290
- 37) Kim HY, Park YK, Kim TS, Kang MH. The Effect of Green Vegetable Drink Supplementation on Cellular DNA Damage and Antioxidant Status of Korean Smokers. *Korean J Nutr* 2006; 39(1): 18-27
- 38) Kim JS, Kim HY, Park YK, Kim TS, Kang MH. The Effects of Green Vegetable Juice (*Angelica Keiskei*) Supplementation on Plasma Lipids and Antioxidant Status in Smokers. *Korean J Nutr* 2003; 36(9): 933-941
- 39) Kim HA, Song KH. Comparison of Attitudinal Beliefs regarding Smoking and Antioxidant Vitamins Status in the College Male Smokers and Non-smokers. *Korean J Food Culture* 2002; 17(3): 329-336
- 40) Kim KJ, Lee HJ, Park YK, Kang MH. Association between Plasma Tocopherol Levels and Related Factors in Middle-Aged Korean Men. *Korean J Nutr* 2006; 39(8): 1-13
- 41) Traber MG, Sokol RJ, Kohlschutter A, Yokota T, Muller DP, Dufour R, Kayden HJ. Impaired discrimination between stereoisomers of α -tocopherol in patients with familial isolated vitamin E deficiency. *J Lipid Res* 1993; 34: 201-210
- 42) Rasool AH, Rehman A, Wan Yusuf WN, Rahman AR. Vitamin E and its effect on arterial stiffness in postmenopausal women- a randomized controlled trial. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2003; 41(12): 587-592
- 43) The Korean Nutrition Society. Dietary Reference Intakes for Koreans (KDRIs). Seoul: KookJin Pub; 2005. p.98-104