

경계성 고혈압 환자에서 혈압과 산화 스트레스 관련 지표 간의 상관성에 관한 연구

한정화¹ · 이혜진¹ · 최희정² · 윤경은³ · 강명희^{1S}

한남대학교 생명나노과학대학 식품영양학과,¹ 을지대학교병원 가정의학과,²
성균관대학교 의과대학 강북삼성병원 종합검진센터³

Association between oxidative stress and blood pressure in Korean subclinical hypertensive patients

Han, Jeong-Hwa¹ · Lee, Hye-Jin¹ · Choi, Hee Jeong² · Yun, Kyung Eun³ · Kang, Myung-Hee^{1S}

¹Department of Food & Nutrition, College of Life Science and Nano Technology, Hannam University, Daejeon 305-811, Korea

²Department of Family Medicine, Eulji University Hospital, Eulji University School of Medicine, Daejeon 302-799, Korea

³Health Screening Center, Kangbuk Samsung Hospital, Sungkyunkwan University, School of Medicine, Seoul 100-742, Korea

ABSTRACT

This study was conducted in order to investigate the association between hypertension and oxidative stress-related parameters and to evaluate these parameters in subclinical hypertensive patients and normotensive subjects living in Korea. We attempted to determine whether oxidative stress-related parameters would differ between two groups of 227 newly-diagnosed, untreated (systolic blood pressure (BP) \geq 130 mmHg and diastolic BP \geq 85 mmHg) and 130 normotensive subjects (systolic BP $<$ 120 mmHg and diastolic BP $<$ 80 mmHg). General characteristics of the subjects were collected using a simple questionnaire. From subjects' blood, degree of DNA damage in lymphocytes, the activities of erythrocyte superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase, level of plasma total radical-trapping antioxidant potential (TRAP), glutathione, and anti-oxidative vitamins, as well as plasma lipid profiles and conjugated diene (CD) were analyzed. Evaluation of the associations of oxidative stress-related parameters with blood pressure of the subjects was performed using Pearson partial correlation and multivariate logistic regression analysis after adjusting for confounding factors. Several oxidative stress-related parameters were higher in subclinical hypertensive patients than in normotensive subjects. Plasma levels of α -tocopherol, β -carotene, TRAP, and activity of GSH-px were significantly lower in subclinical hypertensive patients than in normotensive subjects. Increased levels of DNA damage, lipid peroxidation, triglyceride, total cholesterol, and LDL-cholesterol were observed in subclinical hypertensive patients. These results confirm an association between blood pressure and oxidative stress-related parameters and suggest that the pathogenic role of oxidative stress in hypertension might be significant. (Korean J Nutr 2013; 46(2): 126 ~ 136)

KEY WORDS: blood pressure, oxidative stress, antioxidative status, DNA damage, lipid profiles.

서 론

고혈압은 전 세계적으로 주요 건강문제이며, 관상심장질환의 주요 위험인자이다.¹⁾ 최근 우리나라에서도 고혈압의 발병률이 증가하고 있으며 국민건강영양조사 (제5기, 2010)에 따르면, 만 30세 이상 성인의 고혈압 유병률은 2007년 24.6%에서 2010년 28.9%로 증가하였고, 연령이 높을수록 증가율이 더 높은 것으로 나타났다.²⁾

현재까지 고혈압의 병인은 정확하게 모르지만 여러 가지 복합적인 요인들, 즉 교감신경계의 활성화, renin-angiotensin-aldosterone 시스템의 활성화, G-protein-coupled receptor signaling의 변화, 그리고 감염 등과 관련이 있음이 보고되었으며,³⁾ 이 요인들의 공통점이 산화스트레스임을 감안할 때 고혈압은 혈관의 산화스트레스 증가와 관련이 있다고 볼 수 있다. 신체에서 혈관 내피세포의 기능이상과 함께 산화스트레스가 증가하면 고혈압으로 진행될 가능성이 높아진다.⁴⁾ 실험동물과 인체 모두에서 산화스트레스가 있을 때 superoxide anion

접수일: 2013년 2월 19일 / 수정일: 2013년 3월 12일 / 채택일: 2013년 4월 12일

^STo whom correspondence should be addressed.

E-mail: mhkang@hnu.kr

© 2013 The Korean Nutrition Society

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

과 hydrogen peroxide의 생산이 증가하고, nitric oxide 합성은 감소하며, 항산화제의 생체 유용도가 감소함이 보고되었다.⁵⁾ Superoxide는 내피세포에서 유래한 내재적 혈관확장제인 nitric oxide (NO)를 빠르게 비활성화 시키어 혈관수축을 촉진시키며 이로써 산화스트레스는 내피세포 기능 이상의 원인이 될 수 있다.⁶⁾ 이와 같은 혈관내피세포의 기능이상은 고혈압, 동맥경화증, 심부전 등 심혈관계 질환의 발생에서 공통적으로 관여되는 중요한 초기 변화이다.⁷⁾

그러나 아직도 산화스트레스가 고혈압의 원인인지 결과인지에 대한 논쟁은 계속되고 있다. 현재까지 실험동물에서는 고혈압일 경우 산화스트레스가 고혈압의 병리에 일정 역할을 한다는 강력한 증거가 있는 반면 인체 연구에서 reactive oxygen species (ROS)와 고혈압 사이에 상관성, 특히 원인적인 연결이 있는지에 대해서 아직 일관된 결론을 내리지 못하고 있다.⁸⁾

그 동안 고혈압 환자와 정상인의 항산화 상태를 비교한 연구들이 보고되었으며, 고혈압 환자에서 항산화 효소활성 감소, ROS-발생 효소 활성화 및 ROS-scavengers 감소, 혈장 thio-barbituric acid reactive substances (TBARS) 수준과 8-epi-isoprostanes 증가, DNA 손상 증가 등 산화스트레스 관련 지표들의 변화가 보고되었다.⁹⁻¹¹⁾ Chen 등¹²⁾은 NHANES III (National Health and Nutrition Examination Survey) 자료를 활용하여 혈압과 혈장 항산화 비타민 수준과의 관련성을 본 결과 고혈압의 위험과 혈장 비타민 A와 E 사이에 정의 상관관계를 보인 반면 α -carotene, β -carotene 및 비타민 C 수준과는 역의 상관관계를 보임을 관찰하여 항산화 비타민의 수준이 고혈압의 발병 및 예방에 중요한 역할을 할 수 있을 가능성을 제시하였다. ROS가 혈압을 올리는 것을 제지하기 위해 밖에서 항산화제를 투여하는 노력이 시도되었으며 이렇게 할 경우 혈관의 기능이 개선되고 혈압이 낮아짐이 동물실험¹³⁾과 인체시험¹⁴⁾에서 관찰되었다. 그럼에도 불구하고 현재까지 혈압과 산화스트레스 사이의 관련성은 아직도 결론을 내리기에 충분하지 않다.

이렇게 고혈압의 병인에 있어서 산화스트레스가 중요한 기전의 하나가 될 수 있음에도 불구하고 아직 국내에서는 고혈압과 산화스트레스의 관련성에 대한 연구는 활발히 이루어지지 않고 있다. 임신성 고혈압 환자의 적혈구와 태반의 catalase, superoxide dismutase (SOD) 및 glutathione peroxidase (GSH-Px) 등의 항산화 효소를 분석한 연구¹⁵⁾와 고혈압 노인을 대상으로 α -tocopherol과 총 항산화도 (TAS) 수준을 관찰한 연구 등¹⁶⁾이 보고되고 있으나 고혈압 환자에 있어서의 산화스트레스 관련 지표들이 다양하게 비교 분석되지 않고 있는 실정이다.

따라서 본 연구는 우리나라 성인 중 경계성 고혈압 환자와

정상 혈압을 가진 건강한 성인의 산화스트레스 관련 지표를 다양하게 분석하여 비교해보고, 혈압과 산화스트레스 관련 지표들과의 관련성을 평가하여 앞으로의 우리나라에서 고혈압의 예방과 치료를 위한 기초자료로 활용하려는 목적으로 시도되었다.

연구 방법

연구대상자 선정 및 채혈

본 연구는 대전 소재 E 대학병원에서 고혈압으로 판정받은 성인 227명과 건강한 성인 130명을 대상으로 수행되었다. 연구대상자 모집을 위해 E 대학병원 종합검진센터 내에 자원자 모집을 위한 포스터를 부착하여 본 연구에 대해 홍보하였고, 종합검진센터 방문자를 대상으로 혈압을 측정하여 수축기 혈압이 130 mmHg 이상이거나 이완기 혈압이 85 mmHg 이상이면서 혈압강화제를 먹지 않고 있는 사람 중 본 연구에 적극적인 관심과 동의를 보이는 사람을 연구 대상자로 선정하였다. 본 연구는 고혈압 환자를 대상으로 하는 인체 연구이므로 수행에 앞서 한남대학교 산하 인체연구심의위원회 (IRB)의 승인을 받았다.

대상자로부터 본인의 동의를 얻어 채혈하였고, 채혈 전 최소 8시간 이상은 음식을 먹지 않도록 지도하였다. 채혈한 혈액은 10 mL heparinated sterile tube (Vacutainer Becton Dickinson Co.)에 담아 실험실에 가져온 후, comet 분석을 위한 전혈 100 μ L를 heparinated sterile tube에 별도로 담고, 나머지는 1,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 상층의 platelet-rich plasma (PRP)를 취하여 ascorbic acid 측정용 시료로 분리하여 보관하였다. 남은 혈액은 다시 3,000 rpm에서 30분간 원심 분리하여 혈장과 혈구를 분리한 후 상층의 platelet-deficient plasma (PDP)는 TRAP (total radical-trapping antioxidant potential), CD (conjugated diene), 지질 분석을 위해 보관하고, 적혈구는 iso-osmotic phosphate buffered saline (pH 7.4)을 첨가하여 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리를 세 번 반복한 뒤 buffer와 1 : 1로 희석하여 erythrocyte suspension으로 만들었다. 혈장과 적혈구는 분석 항목별로 분주하여 분석 전까지 -80°C 냉동고에 보관하였다.

대상자 일반사항 조사 및 혈압 측정

설문지를 통해 연구대상자의 성별, 나이, 흡연여부, 흡연량, 흡연력, 금연기간, 알코올 섭취 여부, 알코올의 종류와 섭취량, 운동여부와 운동시간 등의 일반사항을 조사하였다. 채혈 전에 혈압계 (BP-8800C, Colin electronics Co LTD, Japan)를 사용하여 대상자의 수축기 및 이완기 혈압을 2회 측정하

여 평균값을 구하였고, 신장계 (TBF 202, Tanita, Japan)로 신장을 측정 후 Inbody 720 (Bio-electrical Impedance Fatness Analyzer, (주)바이오스페이스, Korea)을 이용하여 체중, body mass index (BMI), body fat (%), waist-hip ratio (WHR)를 구하였다.

혈장 항산화 비타민 분석

대상자들의 혈장 ascorbic acid는 전보¹⁷⁾에서와 같이 2,4-dinitrophenylhydrazine method에 의해 UV/VIS spectrophotometer로 분석하였다. 혈장을 metaphosphoric acid로 처리하여 단백질을 침전시키고 ascorbic acid를 안정화시켰다. Ascorbic acid는 copper-sulfate로 처리하면 dehydroascorbic acid로 산화된 뒤 diketogluconic acid로 가수분해된다. 이를 2,4-dinitrophenylhydrazine으로 처리하면 안정한 적갈색물의 osazone이 형성되는데 이것을 UV/VIS spectrophotometer로 520 nm에서 측정하여 혈장 ascorbic acid의 농도를 분석하였다.

대상자들의 혈장 α -tocopherol, γ -tocopherol 및 carotenoids (α -carotene, β -carotene) 수준은 전보¹⁷⁾에서와 같이 ethanol로 단백질을 제거하고 n-hexane으로 지방을 추출한 후 rotary evaporator로 hexane을 증발시키고, mobile phase (methanol : dichloromethane = 85 : 15)에 녹여 HPLC로 측정하였다.

혈장 TRAP 수준 분석

혈장 총 유리기포집 항산화능 (Total Radical-trapping Antioxidant Potential, TRAP) 수준은 전보¹⁷⁾에서와 같이 Rice-Evans와 Miller의 inhibition assay에 따라 분석하였다. 이 방법은 ABTS [2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonate), 150 μ M]와 metmyoglobin (2.5 μ M)을 H_2O_2 (75 μ M)로 활성화시킴으로써 생성된 ferryl myoglobin radical species와의 상호 작용에 의해 형성된 ABTS radical cation의 absorbance를 측정하는데 기초를 두고 있으며 그 absorbance의 억제 정도는 sample (0.84% plasma)에 들어 있는 antioxidant capacity에 비례하게 된다. Sample을 6분 동안 30°C에서 배양한 후 UV/VIS spectrophotometer로 740 nm의 파장에서 absorbance를 측정하였다. 혈장의 TRAP 수준은 trolox의 calibration curve를 이용하여 계산하였으며 TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, mM)로 표현하였다.

전혈 Glutathione 함량 분석

전혈 glutathione은 glutathione assay kit (DIGT-250)(Bioassay Systems, USA)를 이용하여 측정하였다. 20배 희석된 전혈 120 μ L에 Reagent A 120 μ L를 처리한 후 14,000 rpm에

서 5분간 원심 분리하였다. 상층액 200 μ L를 96-well plate에 넣고 Reagent B 100 μ L를 넣은 후 25분 동안 실온에서 방치한 후 412 nm에서 ELISA plate reader로 측정하여 분석하였다.

적혈구 항산화 효소 활성 측정

대상자들의 항산화 효소 활성도는 전보¹⁸⁾에서와 같은 방법으로 구하였다. 적혈구 catalase 활성도는 용혈된 적혈구에 50 mM phosphate buffer (pH 7.0)와 hydrogen peroxide를 첨가한 후 hydrogen peroxide의 감소량을 UV/VIS spectrophotometer (Shimadzu UV-1601)에서 240 nm, 20°C에서 30초간 측정하여 구하였다.

적혈구 superoxide dismutase (SOD)를 측정하기 위해 적혈구 현탁액을 증류수로 용혈시킨 후 ethanol과 chloroform을 가하고 3,000 U/min에서 2분간 원심 분리하였다. 상층액을 여러 농도로 나누어 37°C에서 10분간 배양 후 20 μ L의 pyrogallol (1,2,3-Trihydroxybenzol)을 첨가하여 UV/VIS spectrophotometer로 320 nm에서 180초간 측정하였으며 적혈구 SOD 활성은 pyrogallol의 자동산화율 50% 억제하는 항산화능으로 정의하였다.

적혈구 glutathione peroxidase (GSH-Px) 활성도는 용혈시킨 적혈구에 glutathione, glutathione reductase, NADPH를 첨가하여 37°C에서 10분간 배양한 후에 T-butylhydroperoxide를 넣어 반응시키고 이때 감소된 NADPH의 농도를 UV/VIS spectrophotometer로 340 nm에서 90초 동안 측정함으로써 구하였다.

Alkaline comet assay를 이용한 임파구 DNA 손상 측정

Alkaline comet assay는 Singh (1998)의 방법을 수정, 보완하여 실시하였다.¹⁷⁾ 신선한 전혈 70 μ L을 900 μ L PBS에 섞은 후 Histopaque-1077 100 μ L를 사용해 임파구만을 분리하였다. 처리 과정을 마친 임파구 20 μ L를 채취하여 75 μ L의 0.7% low melting agarose gel (LMA)과 섞은 후, normal melting agarose (NMA)가 precoating 된 fully frosted slide 위로 고루 분산되게 한 후 cover glass로 덮어 4°C 냉장보관 하였다. Gel이 굳으면 cover glass를 벗기고 그 위에 다시 0.7% LMA 용액 75 μ L로 한 겹 더 덮었다. Cell lysis를 위해 미리 준비해 둔 차가운 alkali lysis buffer (2.5 M NaCl, 100 mM Na_2EDTA , 10 mM Tris)에 사용직전에 1% Triton X-100과 10% Dimethyl sulfoxide를 섞은 후 slide를 담가 저온, 암실에서 1시간 동안 침지시켜 DNA의 double strand를 풀어주었다. Lysis가 끝난 slide를 electrophoresis tank에 배열하고 냉장 보관하였던 전기영동 buffer (300 mM NaOH, 10 mM Na_2EDTA , pH > 13)를 채워 40분 동안 unwinding시켜 DNA의 알칼리에 취

약한 부위가 드러나게 한 후 25 V/300 ± 3 mA의 전압을 걸어 20분간 전기영동을 실시하였다. 전기영동이 끝난 후 Tris 완충용액 (pH 7.4)에 10분씩 담가 세척하는 과정을 3회 반복하여 slide를 건조시켰다. 20 µL/mL 농도의 ethidium bromide로 핵을 형광 염색하여 cover glass로 덮은 뒤 형광현미경 (Leica, Germany)상에서 관찰하였다. CCD camera (Nikon Japan)를 통해 보내진 각각의 세포핵 image는 comet image analyzing system (Kinetic image 4.0, UK)이 설치된 컴퓨터 상에서 분석하였다. 입과구의 DNA 손상 정도는 핵으로부터 이동한 DNA 파편의 거리인 tail length (TL), % DNA in tail (TD), 그리고 TL과 TD를 곱한 값인 tail moment (TM) 등 3가지 분석 지표로 살펴보았다.¹⁷⁾ 각 대상자 당 2개의 slide를 만들어 각각 50개씩 총 100개의 입과구에서 DNA 손상정도를 측정하였다.

혈장 지질수준 및 지질과산화

혈장 지질 성분 분석

혈장 지질 성분은 전보¹⁸⁾에서와 같은 방법으로 측정하였다. 혈장 총콜레스테롤 (TC, total cholesterol), 중성지방 (TG, triglyceride)수준은 효소법 (enzymatic method)으로 측정하였으며, HDL-콜레스테롤 (HDL-C) 및 LDL-콜레스테롤 (LDL-C) 수준은 직접법 (Elimination & Catalase)으로 SIEMENS Healthcare Diagnostics (Germany) 시약을 이용하여 Automatic Chemistry Analyzer (ADVIA 2400, SIEMENS Healthcare Diagnostics, Germany)로 분석하였다.

LDL의 conjugated diene (CD) 분석

CD는 지질의 과산화 현상으로 생기는 첫 물질이다. 혈장 LDL의 CD 수준은 혈장 (1 mg/mL EDTA)에 trisodium citrate buffer (pH 5.05, 5N HCl, 5,000 IU/L heparin)를 넣어 LDL을 침전시키고 Na-phosphate buffer (pH 7.4, 0.9% NaCl)로 녹인 후 chloroform : methanol (2 : 1) 3 mL를 첨가하고 증류수를 1 mL 넣은 후 지용성 부분만 취하여 rotary evaporator로 증발시키고 cyclohexane 1 mL로 녹인 후 UV/VIS spectrophotometer로 234 nm에서 측정하였다.

자료의 통계처리

모든 자료는 MS사의 Excel database system을 이용하여 입력한 후 statistical package for social science (SPSS-PC+, version 19.0)를 이용하여 통계처리 하였다. 각 항목에 따라 백분율과 평균치 ± 표준오차 (SE)를 구하였고 두 군 간의 평균치의 유의성은 Student's t-test로 검증하였다. 혈압과 산화스트레스 관련 지표들과의 관련성을 알아보기 위해 성별, 나이, 체중 (kg), 체지방률 (%), BMI, WHR 등의 교란요인을 보정한

후 편상관관계를 분석하였으며, 고혈압의 교차비와 산화스트레스 관련 지표들과의 관련성을 보기위해 로지스틱 회귀분석을 실시하여 고혈압의 위험도를 교차비 (Odds Ratio)로 산출하였다. 모든 통계적 유의성 검증은 α = 0.05 수준으로 하였다.

결 과

연구 대상자 일반사항

연구 대상자의 일반사항은 Table 1과 같다. 대상자 357명 중 고혈압 환자군은 227명으로 평균나이는 41.9 ± 0.6세 (나이범위 26~63세)였고, 정상군은 130명으로 40.6 ± 0.6세 (나이범위 24~59세)였다. 대상자 중 남성의 비율은 고혈압 환자군과 정상군 각각 80.2%, 76.9%였으며, 여성의 비율은 19.8%, 23.1%로 두 군 간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 체중, 체지방률 (%), BMI, WHR은 모두 정상군에 비해 고혈압 환자군에서 유의적으로 높았다 (p < 0.001). 흡연자의 비율은 정상군이 32.3%, 고혈압 환자군이 30.0%로 비슷하였으며, 평균

Table 1. General characteristics of the subjects

Variables	Normotensive subjects (n = 130)	Hypertensive patients (n = 227)
Age, yrs (range)	40.6 ± 0.6 ¹⁾ (24-59)	41.9 ± 0.6 (26-63)
Gender		
Male, n (%)	100 (76.9)	182 (80.2)
Female, n (%)	30 (23.1)	45 (19.8)
Height, cm	169.2 ± 0.7	169.3 ± 0.5
Body weight, kg	65.8 ± 0.8	73.2 ± 0.7***
Body fat, %	21.5 ± 0.5	24.8 ± 0.4***
BMI, kg/m ²	23.2 ± 0.4	25.4 ± 0.2***
Waist-hip ratio	0.86 ± 0.003	0.89 ± 0.003***
SBP ²⁾ , mmHg	112.0 ± 0.5	142.2 ± 0.6***
DBP ³⁾ , mmHg	67.4 ± 0.5	83.4 ± 0.5***
Smoking habits		
Smoker, n (%)	42 (32.3)	68 (30.0)
Cigarettes/day	15.1 ± 1.0	16.7 ± 1.2
Smoking years	20.2 ± 1.2	16.7 ± 1.0*
Pack-years ⁴⁾	14.4 ± 1.6	13.8 ± 1.7
Drinking habits		
Drinkers, n (%)	99 (76.2)	183 (80.6)
ml/day	22.1 ± 3.9	26.1 ± 2.6
Exercise habits		
Regular exercisers, n (%)	84 (64.6)	148 (65.2)
Exercise time, min/day	28.6 ± 1.9	31.8 ± 2.0

1) All values are Means ± S.E. 2) SBP: systolic blood pressure 3) DBP: diastolic blood pressure 4) Pack-years = (Cigarettes smoked/day × years smoked)/20
*: p < 0.05, ***: p < 0.001

흡연력은 정상군이 20.2 ± 1.2 년으로 16.7 ± 1.0 년을 보인 고혈압 환자군보다 유의적으로 높았다 ($p < 0.05$). 흡연량과 흡연횟수를 감안하여 1년에 한 갑 (20개피)을 피우는 것을 기준으로 계산한 흡연력 (pack years)은 고혈압 환자군 (13.8 ± 1.7 년)과 정상군 (14.4 ± 1.6 년) 사이에 차이를 보이지 않았다. 또한 대상자의 음주 비율 및 음주량은 차이를 보이지 않았고, 규칙적으로 운동하는 사람의 비율 및 운동시간도 차이가 나타나지 않았다.

고혈압 환자군과 정상군의 산화스트레스 관련 지표 비교

대상자의 혈장 항산화 비타민 수준, 적혈구 항산화 효소 활성 및 임파구 DNA 손상정도를 비교해 본 결과는 Table 2, 3 및 4와 같다. 대상자의 혈장 항산화 비타민의 수준을 보면, 고혈압 환자의 α -tocopherol, 및 β -carotene 수준, 그리고 총 항산화능을 나타내는 TRAP 수준은 정상군에 비해 유의적으로 낮은 반면 ($p < 0.001$, $p < 0.05$, $p < 0.001$), glutathione 수준은 유의적으로 높게 나타났으며 ($p < 0.001$), 혈장 비타민 C와 γ -tocopherol, α -carotene 수준은 고혈압 환자군과 정상군 간에 차이를 보이지 않았다 (Table 2). 고혈압 환자의 적혈구 SOD와 catalase 활성은 정상군에 비해 유의적으로 높은 반면 ($p < 0.001$), GSH-Px 활성은 유의적으로 낮음을 보였다 ($p < 0.05$) (Table 3). Comet assay를 통해 대상자의 임파구 DNA 손상정도를 TD, TL 및 TM 지표로 살펴본 결과는 Table 4와 같다. TD, TL 및 TM 모든 지표에서 고혈압 환자군의 DNA 손상 정도가 정상군에 비해 유의적으로 높게 나

Table 2. Plasma levels of antioxidant vitamins, glutathione and TRAP in the normal and hypertensive subjects

Variables	Normotensive subjects (n = 130)	Hypertensive patients (n = 227)
Vitamin C (mg/dL)	$1.18 \pm 0.03^{1)}$	1.21 ± 0.02
α -tocopherol (μ g/dL)	$1,717.2 \pm 80.7$	$808.5 \pm 36.1^{***}$
γ -tocopherol (μ g/dL)	109.0 ± 11.4	135.8 ± 10.5
α -carotene (μ g/dL)	78.0 ± 9.8	85.9 ± 9.0
β -carotene (μ g/dL)	158.6 ± 17.5	$113.0 \pm 9.2^*$
TRAP ²⁾ (mM)	1.469 ± 0.002	$1.459 \pm 0.002^{****}$
Glutathione (μ M)	462.5 ± 5.9	$517.7 \pm 8.7^{***}$

1) All values are Means \pm S.E. 2) TRAP: total radical-trapping antioxidant potential
*: $p < 0.05$, ***: $p < 0.001$

Table 3. Activity of erythrocyte antioxidant enzymes in the normal and hypertensive subjects

Variables	Normotensive subjects (n = 130)	Hypertensive patients (n = 227)
Catalase (k/g Hb)	$46.3 \pm 0.6^{1)}$	$49.1 \pm 0.5^{***}$
Superoxide dismutase (SOD)(U/g Hb)	$1,951.5 \pm 21.1$	$2,102.5 \pm 18.5^{***}$
Glutathione peroxidase (GSH-Px)(U/g Hb)	20.1 ± 0.8	$17.8 \pm 0.7^*$

1) All values are Means \pm S.E.
*: $p < 0.05$, ***: $p < 0.001$

타났다 ($p < 0.01$, $p < 0.001$).

고혈압 환자군과 정상군의 혈장 지질 수준 비교

대상자의 혈장 지질 수준을 비교한 결과는 Table 5와 같다. 고혈압 환자군의 혈장 triglyceride (TG), total cholesterol (TC), LDL-C 수준은 정상군에 비해 유의적으로 높았으며 ($p < 0.001$), 혈장 HDL-C 수준은 두 군 간에 차이를 보이지 않았다. 혈장에서 LDL 산화정도를 나타내는 CD (conjugated diene)수준도 정상군에 비해 고혈압 환자군에서 유의적으로 높았다 ($p < 0.001$).

혈압과 산화스트레스 관련 지표들 간의 상관관계

전체 대상자의 혈압과 산화스트레스 관련 지표들과의 상관관계를 성별, 나이, 체중 (kg), 체지방률 (%), BMI, WHR 등의 교란요인을 보정한 후 편상관관계로 살펴 본 결과는 Table 6과 같다. 대상자의 혈장 α -tocopherol과 TRAP 수준은 수축기 및 이완기 혈압 모두와 역의 상관관계를 보였으며 ($p < 0.05$), 혈장 glutathione 수준은 수축기와 이완기 혈압 모두와 정의 상관관계를 보였다 ($p < 0.01$). 수축기 및 이완기 혈압과 항산

Table 4. Levels of lymphocyte DNA damage in the normal and hypertensive subjects

Variables	Normotensive subjects (n = 130)	Hypertensive patients (n = 227)
Tail DNA (TD) ¹⁾ (%)	$6.84 \pm 0.09^{2)}$	$7.22 \pm 0.09^{**}$
Tail Length (TL) ¹⁾ (μ m)	62.7 ± 1.5	$72.7 \pm 1.7^{***}$
Tail moment (TM) ¹⁾	5.53 ± 0.17	$6.79 \pm 0.22^{***}$

1) Measured with the comet assay 2) All values are Means \pm S.E.

** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$

Table 5. Plasma lipid profiles and conjugated diene in the normal and hypertensive subjects

Variables	Normotensive subjects (n = 130)	Hypertensive patients (n = 227)
Triglyceride (mg/dL)	$115.6 \pm 5.6^{1)}$	$150.1 \pm 5.2^{***}$
Total cholesterol (mg/dL)	181.3 ± 2.6	$198.5 \pm 2.2^{***}$
HDL cholesterol (mg/dL)	50.1 ± 1.0	49.2 ± 0.7
LDL cholesterol (mg/dL)	108.9 ± 2.6	$126.6 \pm 3.4^{***}$
Conjugated diene (CD)(μ mol/L)	36.0 ± 0.8	$53.4 \pm 0.9^{***}$

1) All values are Means \pm S.E.

***: $p < 0.001$

화 효소인 적혈구 SOD 및 catalase 활성은 모두 정의 상관관계를 보였다 ($p < 0.05$). DNA 손상정도를 보는 지표 중 TL과 TM 값은 각각 이완기 혈압과 유의적인 정의 상관관계를 보였지만 ($p < 0.05$) 수축기 혈압과는 유의적인 상관관계를 보이

지 않았다. 수축기 혈압과 이완기 혈압 모두 혈장 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 및 CD 수준 사이에서 유의적인 정의 상관관계를 보였다 ($p < 0.05$).

대상자의 성별, 나이, 체중, 체지방률, BMI, WHR을 보정한

Table 6. Pearson's partial correlation coefficients between blood pressure and antioxidant-related parameters in the subjects after adjusting age, sex, body weight, body fat, BMI and WHR

Variables	SBP (mm Hg)		DBP (mm Hg)	
	r ¹⁾	p ²⁾	r	p
Plasma Vitamin C		NS ⁴⁾		NS
Plasma α -tocopherol	-0.436	0.000	-0.368	0.000
Plasma γ -tocopherol		NS		NS
Plasma α -carotene		NS		NS
Plasma β -carotene		NS		NS
Plasma TRAP	-0.210	0.000	-0.134	0.013
Blood glutathione	0.174	0.002	0.205	0.000
Erythrocyte catalase	0.223	0.000	0.140	0.009
Erythrocyte SOD	0.254	0.000	0.208	0.000
Erythrocyte GSH-Px		NS		NS
Lymphocyte tail DNA (TD) ³⁾		NS		NS
Lymphocyte tail Length (TL) ³⁾		NS	0.127	0.017
Lymphocyte tail moment (TM) ³⁾		NS	0.121	0.023
Plasma triglyceride		NS		NS
Plasma total cholesterol	0.133	0.013	0.157	0.003
Plasma HDL cholesterol		NS		NS
Plasma LDL cholesterol	0.119	0.026	0.153	0.004
Plasma conjugated diene (CD)	0.389	0.000	0.381	0.000

1) r = Pearson's partial correlation coefficients 2) p = probability 3) Measured with the comet assay 4) NS: not significant

Table 7. Odds ratios (95% CI) for hypertension associated with oxidative stress-related parameters: Multivariate Logistic Regression analysis¹⁾

Variables	p value	Odd ratios	95% confidence Interval
Plasma Vitamin C	0.279	1.520	0.712-3.242
Plasma α -tocopherol	0.000	0.997	0.997-0.998
Plasma γ -tocopherol	0.039	1.003	1.000-1.005
Plasma α -carotene	0.153	1.002	0.999-1.004
Plasma β -carotene	0.085	0.999	0.997-1.000
Plasma TRAP	0.000	0.786	0.700-0.884
Blood glutathione	0.000	1.006	1.003-1.009
Erythrocyte catalase	0.001	1.067	1.028-1.107
Erythrocyte SOD	0.000	1.003	1.001-1.004
Erythrocyte GSH-Px	0.041	0.974	0.950-0.999
Lymphocyte tail DNA (TD) ¹⁾	0.018	1.275	1.043-1.558
Lymphocyte tail Length (TL) ¹⁾	0.001	1.021	1.008-1.034
Lymphocyte tail moment (TM) ¹⁾	0.002	1.184	1.066-1.316
Plasma triglyceride	0.216	1.003	0.999-1.006
Plasma total cholesterol	0.003	1.013	1.004-1.021
Plasma HDL cholesterol	0.116	1.020	0.995-1.045
Plasma LDL cholesterol	0.014	1.011	1.002-1.019
Plasma conjugated diene (CD)	0.000	1.140	1.101-1.179

1) Values are adjusted for age, sex, body weight (kg), body fat (%), BMI (Body mass index) and WHR (Waist hip ratio)

Table 8. Pearson's partial correlation coefficients between lymphocyte DNA damage and antioxidant-related parameters in the subjects after adjusting age, sex, body weight, body fat, BMI and WHR

Variables	Tail DNA (%)		Tail Moment		Tail Length (μm)	
	$r^{(1)}$	$p^{(2)}$	r	p	r	p
Plasma Vitamin C		NS ³⁾		NS		NS
Plasma α -tocopherol		NS		NS		NS
Plasma γ -tocopherol		NS		NS		NS
Plasma α -carotene	0.216	0.000	0.219	0.000	0.217	0.000
Plasma β -carotene		NS	-0.113	0.038	-0.121	0.026
Blood glutathione	0.115	0.041	0.126	0.025	0.132	0.019
Erythrocyte catalase	-0.168	0.002	-0.199	0.000	-0.172	0.001
Erythrocyte superoxide dismutase (SOD)		NS	-0.116	0.031	-0.108	0.044
Erythrocyte glutathione peroxidase (GSH-Px)		NS		NS		NS
Plasma triglyceride		NS		NS		NS
Plasma total cholesterol	0.142	0.008	0.173	0.001	0.166	0.002
Plasma HDL cholesterol		NS		NS		NS
Plasma LDL cholesterol	0.136	0.011	0.145	0.007	0.118	0.027
Plasma conjugated diene (CD)	0.170	0.001	0.195	0.000	0.218	0.000

1) r = Pearson's correlation coefficient 2) p = probability 3) NS: not significant at $\alpha = 0.05$

후 산화스트레스 관련 지표들에 따른 고혈압 교차비를 로지스틱 회귀분석으로 본 결과는 Tabel 7과 같다. 고혈압 환자가 정상군에 비해 혈장 γ -tocopherol, glutathione, 적혈구 catalase, SOD 활성도, 임파구 DNA 손상 지표인 tail DNA, tail length, tail moment, 혈장 total cholesterol (TC), LDL-C, 혈장 CD 수준에서 유의하게 높은 교차비를 보였으며, 혈장 α -tocopherol, TRAP 수준, 적혈구 GSH-Px 활성도에서 유의하게 낮은 교차비를 보였다.

DNA 손상과 산화스트레스 관련 지표와의 상관관계

대상자의 임파구 DNA 손상과 산화스트레스 지표들과의 상관관계를 역시 성별, 나이, 체중 (kg), 체지방률 (%), BMI, WHR 등의 교란요인을 보정한 후 살펴본 결과는 Table 8과 같다. 임파구 DNA 손상 정도와 혈장 β -carotene, 적혈구 catalase 혹은 SOD 활성도와 역의 상관관계를 보였으며 ($p < 0.05$), 임파구 DNA 손상 정도와 혈장 α -carotene, glutathione, 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 혹은 CD 수준 사이에 정의 상관관계를 보였다 ($p < 0.05$). 나머지 산화스트레스 관련 지표들과는 유의적인 상관관계를 보이지 않았다.

고 찰

고혈압은 심순환계 질환, 뇌졸중, 심장장애, 신장 질환 등에 영향을 미치는 주요 위험 요인이다. 그 동안 수행된 많은 역학 연구와 임상연구들은 고혈압의 원인과 예방에 있어서 영양학적인 요인들이 중요한 역할을 한다는 것을 보여주고 있다.¹⁹⁾ 최근 ROS가 증가하면 고혈압 환자의 평활근 세포의 혈관확장

이 감소될 것이며²⁰⁾ 이로 인해 ROS-mediated 고혈압의 기전이 촉진되므로 ROS 증가는 혈압 증가에 부분적으로 기여할 수 있을 가능성이 제시되었다.²¹⁾ 고혈압과 산화스트레스 증가와 관련이 있다면 고혈압 환자의 체내에서도 ROS가 증가하여 항산화 방어 능력을 감소시키거나 항산화 효소를 포함하는 여러 생체 분자 구조에 산화적 손상을 일으키어 결국 고혈압 환자에서 정상인에 비해 산화스트레스가 증가하는데 기여할 것이다.

본 연구결과 정상인에 비해 경계성 고혈압 환자에서 여러 산화스트레스 관련 지표들이 증가하는 것이 관찰되었는데 이런 결과는 고혈압 환자의 체중, 체지방률, BMI, WHR이 정상인에 비해 유의적으로 높았던 것과 관련이 있는 것으로 보인다. 최근 비만으로 인한 산화스트레스의 증가, 또는 대사증후군과 산화스트레스의 관련성에 대한 연구결과가 많이 연구되고 있으므로²²⁾ 혈압과 산화스트레스 관련 지표들의 보다 명확한 관련성을 알기 위해 대상자의 체중, 체지방률, BMI, WHR 등의 교란요인들을 보정할 필요가 있을 것이다. 본 연구에서 혈장 β -carotene 및 α -tocopherol 수준이 정상군에 비해 경계성 고혈압 환자군에서 유의적으로 낮게 나타났으나 (Table 2), 교란요인들을 보정한 후에 이 중 α -tocopherol 수준과 혈압 사이에 역의 상관관계가 관찰되었고 (Table 6), 로지스틱 회귀분석에서도 혈장 α -tocopherol 수준이 고혈압의 위험을 낮추는 것으로 나타났다 (Table 7). 이와 같은 결과는 선행연구들과 부분적으로 일치하는 결과로서 항산화 비타민 중 특히 α -tocopherol 수준이 신체에서 ROS를 제거하고 NO synthase를 조절하는 능력을 통해 항고혈압 효과가 발휘되는 것으로

생각된다.²³⁾ 그 동안 수행된 항산화 비타민과 혈압과의 연구를 보면, 동물실험에서 항산화 비타민은 혈압을 낮추어 보고 되고 있으나,²⁴⁾ 역학연구나 영양중재 연구 등의 인체 실험 결과들은 일관성 있는 결과를 보이지 않고 있다. 역학 연구에서 정상인에 비해 고혈압 환자들의 혈청 비타민 E 수준은 감소한다는 보고²⁵⁾가 있는 반면 고혈압환자들과 정상인의 혈청 항산화 비타민 수준에 차이가 없다는 연구도 있다.²⁶⁾ 미국의 NHANES III 자료를 분석하여 조사한 연구에서는 고혈압 환자군의 혈청 비타민 A와 β -carotene, vitamin C 및 vitamin E 수준 모두 정상군보다 유의적으로 높음이 보고되었으며 혈청 비타민 A 및 비타민 E 수준과 혈압 사이에 정의 상관관계가 나타난 반면, 혈청 α -, β -carotene 및 비타민 C와 혈압 사이에 역의 상관관계가 있음을 보고하여 항산화 비타민이라도 그 종류에 따라 혈압과의 상관성이 달라질 수 있음을 제시하였다.¹²⁾ 영양중재 연구를 보면, 297명을 대상으로 한 대규모 인체실험에서 400 IU 비타민 E, 500 mg의 비타민 C, 6 mg의 β -carotene을 함유하는 비타민 캡슐을 2~4개월 간 매일 공급한 후에도 혈압은 감소하지 않았으며,²⁷⁾ 소규모 연구들에서 비타민 C를 투여한 후 혈압에 미치는 영향을 보았으나 결과가 불일치하고 있다.^{28,29)} 무작위 이중맹검 교차 시험에서 매일 500 mg의 비타민 C를 3달 동안 투여한 후에도 혈압이 떨어지지 않았으나, 내원환자의 수축기 혈압은 비타민 C 보충 후에 조금이지만 유의적으로 감소하였다.²⁸⁾ 고혈압 환자에게 비타민 E를 투여하였으나 혈압을 낮추는데 별 효과가 없다는 보고도 있다.³⁰⁾ 이와 같이 동물실험들과는 달리 인체에 있어서 항산화 비타민 수준과 고혈압과의 관련성은 일관적이지 않으며 그 결과들은 조사된 산화스트레스의 지표들 및 항산화 비타민의 종류에 따라 달라진다.³¹⁾ 따라서 인체 고혈압에서 항산화 비타민의 효과는 아직도 결론이 나지 않은 상태라고 볼 수 있으며,³²⁾ 항산화 비타민이 고혈압의 원인과 예방에 중요한 역할을 할 가능성은 제시할 수 있으나, 항산화 비타민의 영양상태가 고혈압의 원인에 기여할지도 모른다는 아이디어는 앞으로 더 연구되어야 할 과제라고 생각된다.

혈장 항산화제들의 전체적인 활성을 나타내주는 혈장 TRAP 수준은 고혈압 환자군이 정상군에 비해 유의적으로 낮게 나타났고 또한 교란요인들을 보정한 결과 혈압과 TRAP 수준 사이에 역의 상관관계가 나타났으며 로지스틱 회귀분석에서도 TRAP 수준이 증가하면 고혈압일 위험이 감소하는 것으로 보아 고혈압 환자의 경우 신체 총 항산화력이 낮아짐을 확인할 수 있었다 (Table 2, 6, 7). 이와 같은 결과는 고혈압 환자군의 TAS (Total antioxidant status) 수준이 정상인에 비해 유의적으로 낮았다는 보고,¹¹⁾ 또 신체 총 항산화 능을 나타내는 혈중 FRAP 수준이 고혈압 환자에서 유의적으로 낮

았다고 보고²¹⁾와 일치하였으며 혈액 항산화 상태가 blood pressure modulation에 있어서 얼마나 중요한가를 지적해 준다. 그러나 체내에서 산화-환원 작용을 통해 ROS의 공격으로부터 신체를 보호하는 역할을 하는 혈장 glutathione (GSH) 수준은 선행연구들^{9,21)}에서와는 달리 고혈압 환자군에서 정상군에 비해 오히려 유의적으로 높게 나타나 해석하기 어려웠으며 이에 대해서는 앞으로 더 연구가 필요할 것으로 생각된다.

신체가 ROS에 노출되면 항산화 효소의 발현이 증가하는 것이 잘 알려져 있다.³³⁾ 본 연구에서는 항산화 효소의 종류에 따라 혈압과의 상관성이 서로 다르게 나타났는데, 먼저 GSH-Px의 경우 정상군에 비해 고혈압 환자군에서 활성도가 낮았고 (Table 2) 회귀분석 결과 GSH-Px 활성도는 고혈압의 위험도를 낮추는 것으로 나타난 (Table 7) 반면, 적혈구 catalase와 SOD 활성도의 경우 혈압과의 사이에 정의 상관관계가 나타나 (Table 6) 적혈구 catalase와 SOD 활성은 고혈압의 위험도를 높이는 것으로 관찰되었다 (Table 7). Russo 등²⁵⁾은 본태성 고혈압환자에 있어서 항산화 효소 활성도가 낮음을 관찰한 반면, 본 연구에서처럼 수축기/확장기 혈압과 catalase 활성도 사이에 역의 상관성을 보였다는 연구도 보도되었다.³⁴⁾ Bessa 등⁹⁾의 연구에서는 정상인에 비해 고혈압환자에서 SOD와 GSH-Px 활성도가 감소하였으며 따라서 이 두 효소 활성도는 혈압과 각각 역의 상관관계가 나타나³⁵⁾ 본 연구결과와 부분적으로 일치함으로 보였다. 그러나 실제로 ROS의 발생 증가로 인해 산화스트레스가 증가할 때 이를 방어하기 위해 오히려 신체 내에서 항산화 효소가 더 많이 생성되어 그 수준이 증가할 수도 있을 것이므로 효소 활성도 수준을 신체 내 산화스트레스 지표로 활용하는 것에 대해 신뢰성과 의문을 제기해 볼 수 있다.^{36,37)} 몇몇 연구에서 고혈압이나 당뇨 등 산화스트레스가 증가된 상황에서 오히려 GSH-Px,³⁸⁾ catalase³⁹⁾ 및 SOD⁴⁰⁾ 등 항산화 효소들의 활성도가 증가함이 관찰되기도 하여 이와 같은 가능성을 뒷받침 하고 있다.

신체에서 산화스트레스 현상이 과도하게 일어나면 세포막에 지질과산화이 시작되고 세포막에 있는 단백질에 손상 혹은 DNA 분열 (fragmentation)이 일어나 결국 세포 DNA 손상이 나타나게 된다.⁴¹⁾ 본 연구에서 경계성 고혈압 환자군의 DNA가 정상군에 비해 유의적으로 더 많이 손상되었으며 (Table 4), DNA 손상과 혈압 사이에 정의 상관관계 (Table 6) 및 회귀분석 결과로 보아 임파구에 나타나는 DNA 손상은 혈압의 위험을 유의적으로 높이는 것을 확인할 수 있었다 (Table 7). 이와 같은 결과는 ROS로 인한 DNA 손상이 정상인보다 고혈압 환자에서 유의적으로 더 높게 나타났다는 보고들^{42,41)}과 일치한다. 정상인에 비해 고혈압환자에서 hydrogen peroxide

수준이 높음도 보고되었다.²²⁾ 산화적 손상의 특이성 지표들을 사용한 연구에서는 고혈압 환자들에게서 superoxide와 hydrogen peroxide 생산이 증가하였고, 혈압을 정상인만큼 낮추었을 때는 정상인 수준으로 떨어졌다.⁴³⁾ 그러나 산화적 손상의 특이한 지표들을 조사한 연구들에서는 일관성 있는 결과들을 도출하지 못하고 있다. 고혈압 환자에서 정상인에 비해 혈장 8-isoprostane 수준의 증가가 나타나지 않았다는 보고가 있으며,⁴⁴⁾ 혈장 혹은 뇨중 F2-isoprostane을 측정하고 고혈압환자와 대조군이 같은 수준을 보였다는 연구결과도 보고되었다.⁴⁵⁾ 주된 대사 장애로 인해 DNA 손상이 증가하는 것이거나 혹은 혈압 그 자체의 증가이거나 관계없이 본 연구에서 대상자의 수축기/이완기 혈압과 임파구 DNA 손상 정도 사이에 유의적인 정의 상관성이 나타났는데 (Table 6) 이는 DNA 손상이 혈압 상승의 위험인자임을 제시한다. 또 고혈압 환자에서 있어서 α -tocopherol 및 혈장 TRAP 수준이 낮았고, 이 수준들이 대상자의 혈압과 강력한 역의 상관성 (Table 6)을 보인 것은 혈압의 변화에 있어서 혈장 항산화 상태의 역할을 잘 설명해 준다. 나아가 대상자의 임파구 DNA 손상과 항산화 비타민 및 혈장 TRAP 수준 간에 역의 상관관계, 그리고 DNA 손상과 지질 과산화 수준 (CD) 사이에 정의 상관관계가 존재하는 것 (Table 8)은 DNA 손상 정도가 산화 스트레스의 타당한 지표가 됨을 입증해 준다.

산화스트레스로 지질 과산화 현상이 일어나고 이로 인해 생성된 CD (conjugated diene)의 수준은 고혈압 환자군에서 높을 것이다. 본 연구에서 경계성 고혈압 환자군에서 정상군에 비해 혈장 CD 수준이 높았고 혈압과 CD 수준 사이에 정의 상관관계를 보인 것을 확인할 수 있었다. 나아가 고혈압 환자군에서 혈장 TG, TC, LDL-C의 수준이 정상군에 비해 유의적으로 높게 나타났고 ($p < 0.001$) 혈압과 TC 및 LDL-C 수준 사이에 정의 상관관계를 보였으며 이 지표들은 모두 고혈압의 위험을 높이는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 지질 과산화 최종 생성물인 malondialdehyde (MDA)를 측정하고 고혈압 환자군에서 정상군에 비해 유의적으로 높았다는 보고,⁹⁾ 그리고 고혈압 환자군에서 혈중 TG, TC 및 LDL-C 수준이 높았다는 보고들^{46,47)}과 일치한다. 고지혈증도 혈관 내 산화스트레스와 관련됨이 보고되고 있으므로²²⁾ 항산화 상태가 악화된 고혈압 환자에서 지질이 증가하는 것은 예측 가능한 일일 것이다. 즉 경계성 고혈압 환자들이 정상군에 비해 혈장 지질 수준이 높기 때문에 산화스트레스가 높을 가능성도 배제할 수 없다. 그러나 본 연구에서 대상자의 혈장 TG, TC 및 LDL-C 수준을 추가로 보정한 후에도 혈장 비타민 및 CD 수준 등 산화스트레스 관련 지표들과 혈압과의 상관성이 달라지지 않는 것으로 보아 (결과 미제시) 고혈압 환자군의

산화스트레스는 지질보다는 혈압과 더 상관성을 갖는 것으로 보인다.

본 연구결과 우리나라 경계성 고혈압 환자에서 정상인에 비해 여러 산화스트레스 관련 지표들이 증가하는 것이 관찰되었지만 인체 고혈압에 있어서 산화스트레스가 어떤 역할을 하는지, 특히 그 두 요인사이의 원인적인 관련성을 위해서는 앞으로 대규모 cohort를 대상으로 하는 무작위 영양중재 연구에서 항산화 비타민과 고혈압의 위험 사이의 관련성이 확인되어야만 할 것이다. 특히 환자의 redox 상태를 평가할 수 있는 분석법이나 민감하고 특이성이 있고 신뢰할 만한 생체지표들에 대한 연구가 시급히 요구되며, ROS 대사를 조절하는 과정과 산화스트레스를 증가시키는 요인들이 밝혀진다면 자유 라디칼의 손상 작용을 줄일 수 있는 효율적인 방법을 제시할 수 있을 뿐만 아니라 고혈압을 포함하여 심순환계 혹은 신장의 손상 등 redox에 민감한 질환들을 관리하는데 활용될 수 있을 것이다.⁴⁸⁾

요약 및 결론

본 연구는 고혈압 기전에 있어 산화스트레스와의 관련성을 알아보기 위해 경계성 고혈압 환자와 정상 혈압을 가진 건강한 성인과의 산화스트레스 관련 지표를 비교해보고, 혈압과 산화스트레스 관련 지표들과의 관련성을 평가하기 위한 목적으로 수행되었다. 이를 위하여 수축기 혈압 130 mmHg 이상이고 이완기 혈압 85 mmHg 이상인면서 혈압강하제를 먹지 않는 고혈압 환자 227명과 정상 혈압인 건강한 성인 130명을 대상으로 두 군의 산화스트레스 관련 지표들이 달라지는지와 요인들 간의 상관성을 상관관계 및 로지스틱 회귀분석을 통해 분석하였다. 설문지를 통해 대상자들의 일반 사항을 조사하였고, 혈액을 채취하여 혈장 항산화 비타민, TRAP 및 glutathione 수준, 적혈구 항산화 효소 활성도, 임파구 DNA 손상 정도, 혈장 지질 및 conjugated diene 수준을 측정하였다.

본 연구결과 정상인에 비해 경계성 고혈압 환자에서 여러 산화스트레스 관련 지표들이 변화되는 것을 관찰할 수 있었다. 경계성 고혈압환자에서 혈장 α -tocopherol, β -carotene, 혈장 TRAP 수준 등이 감소하였으며 적혈구 효소 중 GSH-Px 수준이 유의적으로 감소하였다. 또 경계성 고혈압 환자에서 임파구 DNA 손상, 지질 과산화 수준 및 혈장 TG, TC, LDL-C 수준이 증가하였다. 체중관련 교란요인을 보정한 후에는 혈압과 혈장 α -tocopherol 및 혈장 TRAP 수준 사이에 역의 상관관계를, 혈압과 혈장 glutathione, 적혈구 catalase와 SOD, 임파구 DNA 손상, 혈장 TC, LDL-C 및 CD 수준과 정의 상관관계를 보였다. 이로부터 경계성 고혈압 환자의 경우 산화스

트레스 수준이 증가되어 있음과 혈압과 몇 가지 산화스트레스 관련 지표들 사이에 강력한 상관성이 있음을 확인할 수 있었으며 이와 같은 결과는 본태성 고혈압의 병태생리에 있어서 산화스트레스의 역할이 있을 가능성을 제시해 준다. 산화스트레스관련 지표들에 의해 혈압이 달라질 수 있으므로 앞으로 산화스트레스를 고혈압 치료의 새로운 목표로 삼는 것을 제시해 볼 수 있으며 이를 위해서 앞으로 고혈압 환자의 산화스트레스 상태를 임상에서 조금 더 세심하게 추적 관찰할 필요가 있을 것이다. 또 고혈압 환자의 혈압을 조절하는데 있어 항산화 영양의 중요성이 확인 되었으므로 앞으로 항산화력이 우수한 식품을 통해 고혈압 환자의 혈압을 낮춰주고, 산화스트레스 관련 지표들을 개선시키는 노력이 임상적으로 시도될 수 있을 것이다.

Literature cited

- 1) Narayan KM, Ali MK, Koplan JP. Global noncommunicable diseases--where worlds meet. *N Engl J Med* 2010; 363(13): 1196-1198
- 2) Ministry of Health and Welfare, Korea Centers for Disease Control and Prevention. Korea Health Statistics 2010: Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES V-1). Cheongwon: Korea Centers for Disease Control and Prevention; 2011
- 3) Harris DM, Cohn HI, Pesant S, Eckhart AD. GPCR signalling in hypertension: role of GRKs. *Clin Sci (Lond)* 2008; 115(3): 79-89
- 4) Ceriello A. Possible role of oxidative stress in the pathogenesis of hypertension. *Diabetes Care* 2008; 31 Suppl 2: S181-S184
- 5) Touyz RM. Reactive oxygen species, vascular oxidative stress, and redox signaling in hypertension: what is the clinical significance? *Hypertension* 2004; 44(3): 248-252
- 6) Zicha J, Dobesová Z, Kunes J. Relative deficiency of nitric oxide-dependent vasodilation in salt-hypertensive Dahl rats: the possible role of superoxide anions. *J Hypertens* 2001; 19(2): 247-254
- 7) Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J, Vogel R; International Brachial Artery Reactivity Task Force. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39(2): 257-265
- 8) Touyz RM, Yao G, Quinn MT, Pagano PJ, Schiffrin EL. p47phox associates with the cytoskeleton through cortactin in human vascular smooth muscle cells: role in NAD(P)H oxidase regulation by angiotensin II. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25(3): 512-518
- 9) Bessa SS, Ali EM, Hamdy SM. The role of glutathione S-transferase M1 and T1 gene polymorphisms and oxidative stress-related parameters in Egyptian patients with essential hypertension. *Eur J Intern Med* 2009; 20(6): 625-630
- 10) Touyz RM, Briones AM. Reactive oxygen species and vascular biology: implications in human hypertension. *Hypertens Res* 2011; 34(1): 5-14
- 11) Gur M, Yildiz A, Demirbag R, Yilmaz R, Koçyigit A, Celik H, Aksoy N. Relationship between left ventricle geometric patterns and lymphocyte DNA damage in patients with untreated essen-

- tial hypertension. *Clin Biochem* 2007; 40(7): 454-459
- 12) Chen J, He J, Hamm L, Batuman V, Whelton PK. Serum antioxidant vitamins and blood pressure in the United States population. *Hypertension* 2002; 40(6): 810-816
- 13) Chen X, Touyz RM, Park JB, Schiffrin EL. Antioxidant effects of vitamins C and E are associated with altered activation of vascular NADPH oxidase and superoxide dismutase in stroke-prone SHR. *Hypertension* 2001; 38(3 Pt 2): 606-611
- 14) Boshtam M, Raffei M, Sadeghi K, Sarraf-Zadegan N. Vitamin E can reduce blood pressure in mild hypertensives. *Int J Vitam Nutr Res* 2002; 72(5): 309-314
- 15) Han SJ, Park SH. The changes of antioxidant enzymes in the erythrocytes and placentas from patient with pregnancy-induced hypertension. *Korean J Obstet Gynecol* 1996; 39(3): 511-518
- 16) Kim JH, Kim MJ, Kwak HK. Obesity indices and plasma total antioxidant status in hypertensive elderly living in Ulsan area. *Korean J Community Nutr* 2006; 11(2): 279-288
- 17) 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
- 18) Lee HJ, Park YK, Kang MH. The effect of carrot juice, β -carotene supplementation on lymphocyte DNA damage, erythrocyte antioxidant enzymes and plasma lipid profiles in Korean smoker. *Nutr Res Pract* 2011; 5(6): 540-547
- 19) Appel LJ, Moore TJ, Obarzanek E, Vollmer WM, Svetkey LP, Sacks FM, Bray GA, Vogt TM, Cutler JA, Windhauser MM, Lin PH, Karanja N. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. DASH Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 1997; 336(16): 1117-1124
- 20) Lassègue B, Griendling KK. Reactive oxygen species in hypertension: an update. *Am J Hypertens* 2004; 17(9): 852-860
- 21) Rodrigo R, Prat H, Passalacqua W, Araya J, Guichard C, Bächler JP. Relationship between oxidative stress and essential hypertension. *Hypertens Res* 2007; 30(12): 1159-1167
- 22) Ulker S, McKeown PP, Bayraktutan U. Vitamins reverse endothelial dysfunction through regulation of eNOS and NAD(P)H oxidase activities. *Hypertension* 2003; 41(3): 534-539
- 23) Pezeshk A, Derick Dalhouse A. Vitamin E, membrane fluidity, and blood pressure in hypertensive and normotensive rats. *Life Sci* 2000; 67(15): 1881-1889
- 24) Russo C, Olivieri O, Girelli D, Faccini G, Zenari ML, Lombardi S, Corrocher R. Anti-oxidant status and lipid peroxidation in patients with essential hypertension. *J Hypertens* 1998; 16(9): 1267-1271
- 25) Tse WY, Maxwell SR, Thomason H, Blann A, Thorpe GH, Waite M, Holder R. Antioxidant status in controlled and uncontrolled hypertension and its relationship to endothelial damage. *J Hum Hypertens* 1994; 8(11): 843-849
- 26) Miller ER 3rd, Appel LJ, Levander OA, Levine DM. The effect of antioxidant vitamin supplementation on traditional cardiovascular risk factors. *J Cardiovasc Risk* 1997; 4(1): 19-24
- 27) Fotherby MD, Williams JC, Forster LA, Craner P, Ferns GA. Effect of vitamin C on ambulatory blood pressure and plasma lipids in older persons. *J Hypertens* 2000; 18(4): 411-415
- 28) Block G, Mangels AR, Norkus EP, Patterson BH, Levander OA, Taylor PR. Ascorbic acid status and subsequent diastolic and systolic blood pressure. *Hypertension* 2001; 37(2): 261-267
- 29) Palumbo G, Avanzini F, Alli C, Roncaglioni MC, Ronchi E, Cristofari M, Capra A, Rossi S, Nosotti L, Costantini C, Cavalera C. Effects of vitamin E on clinic and ambulatory blood pressure in treated hypertensive patients. Collaborative Group of the Primary Prevention Project (PPP)--Hypertension study. *Am J Hypertens* 2000; 13(5 Pt 1): 564-567

- 30) Ward NC, Croft KD. Hypertension and oxidative stress. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006; 33(9): 872-876
- 31) Kim MK, Sasaki S, Sasazuki S, Okubo S, Hayashi M, Tsugane S. Lack of long-term effect of vitamin C supplementation on blood pressure. *Hypertension* 2002; 40(6): 797-803
- 32) Bae I, Fan S, Meng Q, Rih JK, Kim HJ, Kang HJ, Xu J, Goldberg ID, Jaiswal AK, Rosen EM. BRCA1 induces antioxidant gene expression and resistance to oxidative stress. *Cancer Res* 2004; 64(21): 7893-7909
- 33) Simic DV, Mimic-Oka J, Pljesa-Ercegovac M, Savic-Radojevic A, Opacic M, Matic D, Ivanovic B, Simic T. Byproducts of oxidative protein damage and antioxidant enzyme activities in plasma of patients with different degrees of essential hypertension. *J Hum Hypertens* 2006; 20(2): 149-155
- 34) Pedro-Botet J, Covas MI, Martin S, Rubiés-Prat J. Decreased endogenous antioxidant enzymatic status in essential hypertension. *J Hum Hypertens* 2000; 14(6): 343-345
- 35) Kasapoglu M, Ozben T. Alterations of antioxidant enzymes and oxidative stress markers in aging. *Exp Gerontol* 2001; 36(2): 209-220
- 36) Kang MH, Yun JS. The effects of exercise and other relating factors on the activity of erythrocyte antioxidant enzymes and plasma TRAP levels in male college students. *Korean J Nutr* 2002; 35(1): 30-36
- 37) Vasconcelos SM, Goulart MO, Silva MA, Manfredini V, Benfato Mda S, Rabelo LA, Fontes G. Markers of redox imbalance in the blood of hypertensive patients of a community in Northeastern Brazil. *Arq Bras Cardiol* 2011; 97(2): 141-147
- 38) Kesavulu MM, Rao BK, Giri R, Vijaya J, Subramanyam G, Apparao C. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in Type 2 diabetics with coronary heart disease. *Diabetes Res Clin Pract* 2001; 53(1): 33-39
- 39) Turk HM, Sevinc A, Camci C, Cigli A, Buyukberber S, Savli H, Bayraktar N. Plasma lipid peroxidation products and antioxidant enzyme activities in patients with type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol* 2002; 39(3): 117-122
- 40) Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Lett* 1991; 281(1-2): 9-19
- 41) Yildiz A, Gür M, Yilmaz R, Demirbağ R, Celik H, Aslan M, Koçyiğit A. Lymphocyte DNA damage and total antioxidant status in patients with white-coat hypertension and sustained hypertension. *Turk Kardiyol Dern Ars* 2008; 36(4): 231-238
- 42) Lacy F, Kailasam MT, O'Connor DT, Schmid-Schonbein GW, Parmer RJ. Plasma hydrogen peroxide production in human essential hypertension: role of heredity, gender, and ethnicity. *Hypertension* 2000; 36(5): 878-884
- 43) Kumar KV, Das UN. Are free radicals involved in the pathobiology of human essential hypertension? *Free Radic Res Commun* 1993; 19(1): 59-66
- 44) Ward NC, Hodgson JM, Puddey IB, Mori TA, Beilin LJ, Croft KD. Oxidative stress in human hypertension: association with antihypertensive treatment, gender, nutrition, and lifestyle. *Free Radic Biol Med* 2004; 36(2): 226-232
- 45) Cracowski JL, Baguet JP, Ormezzano O, Bessard J, Stanke-Labesque F, Bessard G, Mallion JM. Lipid peroxidation is not increased in patients with untreated mild-to-moderate hypertension. *Hypertension* 2003; 41(2): 286-288
- 46) Gunes F, Akbal E, Cakir E, Akyurek O, Altunbas M, Ozbek M. Visfatin may be a novel marker for identifying stages of essential hypertension in advanced age patients. *Intern Med* 2012; 51(6): 553-557
- 47) Zheng M, Zeng Q, Shi XQ, Zhao J, Tang CS, Sun NL, Geng B. Erythrocytic or serum hydrogen sulfide association with hypertension development in untreated essential hypertension. *Chin Med J (Engl)* 2011; 124(22): 3693-3701
- 48) Drummond GR, Selemidis S, Griendling KK, Sobey CG. Combating oxidative stress in vascular disease: NADPH oxidases as therapeutic targets. *Nat Rev Drug Discov* 2011; 10(6): 453-471