Original Articles Korean Circulation J 1999;29(2):135-145

건강한 남성에서 혈장 Homocysteine 농도 및 동맥경화증 위험요소와의 상관성

연세대학교 의과대학 내과학교실,[1] 생활과학대학 식품영양학과[2]
장양수[1] · 조은영[2] · 이종호[2] · 정남식[1]

Relationship between Plasma Homocysteine Levels and Cardiovascular Risk Factors in Healthy Men

Yangsoo Jang, MD[1], Eun Young Cho, PhD[2], Jong Ho Lee, PhD[2] and Nam Sik Chung, MD[1]
[1]Division of Cardiology, Yonsei Cardiovascular Center, [2]Department of Food and Nutrition, Yonsei University, Seoul, Korea

ABSTRACT

Background : The high concentration of plasma total homocysteine is recently considered an independent risk factor for atherosclerosis. The purpose of this study was to provide reference ranges for plasma homocysteine levels and to investigate the relationship between plasma homocysteine and cardiovascular risk factors in healthy Korean men. **Methods** : Anthropometric parameters, alcohol intake, cigarette use and nutrient intake were determined in 166 healthy men within a wide age range (30 -69 yr). Serum levels of lipids, glucose and insulin levels during oral glucose tolerance test (OGTT), plasma amino acid concentrations and levels of antioxidant nutrients and enzymes were also measured. Hyperhomocysteinemia was defined as plasma homocysteine levels above the 90th percentile (≥15 μmol/L) of respective plasma homocysteine distribution in study subjects. Characteristics of hyperhomocysteinemic men (n=16) were compared to normohomocys-teinemic men (n=16) matched for age and body mass index. **Results** : Plasma total homocysteine values ranged from 2.4 to 38.1 μmol/L, a skewed, right-tailed distribution. The homocysteine levels of 25th, 50th and 75th percentile were 7.02, 9.61 and 12.4 μmol/L, respectively. The mean concentration of plasma total homocysteine was 10.7 μmol/L. Plasma total homocysteine level was positively correlated to body mass index, serum cholesterol and triglyceride levels and alcohol intake, but negatively correlated to serum β-carotene concentration. In multivariate analysis, serum triglyceride level was the strongest determinant of plasma total homocysteine concentration. There were no significant differences between two groups in waist to hip ratio, alcohol intake, cigarette use, blood pressure and serum levels of glucose and insulin during OGTT. Hyperhomocysteinemic men had significantly higher mean values of serum triglyceride (258 mg/dl), total cholesterol (226 mg/dl), and LDL-cholesterol (140 mg/dl) than normohomocysteinemic men. Hyperhomocysteinemic men showed a decrease in lipid corrected values of serum β-carotene and α-tocopherol and plasma concentrations of serine and taurine, when compared to normohomocysteinemic men. The mean intakes of vitamin B_6, folate, vitamin B_{12} and β-carotene tended to decline by 25 -30% in hyperhomocysteinemic group, when compared to normohomocysteinemic group. **Conclusion** : Our results indicate that healthy

논문접수일 : 1998년 12월 14일
심사완료일 : 1999년 3월 15일
교신저자 : 장양수, 120 - 749 서울 서대문구 신촌동 134 연세대학교 의과대학 내과학교실
전화 : (02) 361 - 7266 · 전송 : (02) 365 - 1878
E - mail : jangys1212@yumc.ac.kr

Korean men with hyperhomocys－teinemia show signs of hyperlipidemia and decreased antioxidant nutrients and these factors increase risk for coronary artery disease. In addition, hyperhomocysteinemia may affect amino acid metabolism related to homocysteine. **(Korean Circulation J 1999;29(2):135-145)**

KEY WORDS : Homocysteine · β-carotene · α-tocopherol · Cardiovascular risk factors.

서 론

혈장 총 homocysteine의 낮은 농도가 심혈관질환의 사망률을 감소시키는 반면에 homocysteine 농도가 5 μmol/L 증가할 때마다 관상동맥경화증의 위험이 50% 이상 증가되고[1] 혈청 총 콜레스테롤 농도는 20 mg/dl 씩 증가된다고 한다.[2] Homocysteine 농도의 증가시 homocysteine은 혈관내피세포에 직접적인 독성을 통해 혹은 유리기 생성을 통해서 동맥경화증의 발병에 관여하는 것으로 알려졌다.[3-5] 유리기 생성의 증가는 항산화 체계를 손상시키므로 homocysteine은 항산화 영양소 및 항산화 효소를 고갈시킬 수 있으며 항산화제의 낮은 혈장 농도는 LDL 산화를 촉진함으로써 관상동맥경화증의 유병율을 증가시킬 것이다.[6]

건강한 성인에서 혈장 총 homocysteine 농도는 약 5 14 μmol/L의 분포를 보여주며 높은 농도 쪽으로 긴 꼬리를 보여준다.[1)5)] Moderate hyperhomocysteinemia의 경계는 혈장 총 homocysteine 농도가 15 16 μmol/L로 제안되고[7)8)] 심혈관 질환이 없는 성인의 5 17%에서 나타나며 관동맥 질환 환자의 20 40%에서 나타난다.[2)8)] 혈장 homocysteine 농도가 다양한 이유는 유전인자와 영양을 포함하는 환경 및 생리요인의 영향을 반영하기 때문으로 알려졌다.[2)9)] 실제로 homocysteine 농도는 성별, 나이, 폐경 유무, 엽산 섭취, 흡연, 커피 섭취, 혈청 총 콜레스테롤 농도, 이완기 혈압 등에 의하여 변화되고 심혈관질환 환자, 신장질환 환자에서 증가되어 있는 것으로 보고되었다.[1)2)3)8)]

본 연구에서는 동맥경화증의 독립 위험인자로서 최근에 관심을 끌고 있는 혈장 총 homocysteine 농도[2)3)9-11)]를 질병이 없는 건강한 한국 성인 남성 166명에서 측정하여 homocysteine 농도의 기준치를 제시하고 혈장 총 homocysteine 농도와 나이, 흡연, 혈청 중성지방 및 지단백질 농도와 항산화 영양소를 포함하는 동맥경화증의 위험인자와의 상관성을 알아보고자 하였다. 또한 혈장 총 homocysteine 농도가 15 μmol/L 이상인 moderate hyperhomocysteinemia 남성을 hyperhomocysteinemia 군으로 분류하고 이들과 체질량지수, 나이가 일치하고 음주와 흡연량이 비슷하나 homocysteine 농도가 정상 범위에 있는 남성을 normohomocysteinemia 군으로 분류하여 두 군간의 관상동맥경화증 위험인자의 차이를 조사하여 한국 남성에서 hyperhomocysteinemia의 역할을 규명하고자 하였다. 또한 hyperhomocysteinemia가 다른 아미노산 농도의 변화에 미치는 영향을 관찰하고자 하였다.

대상 및 방법

대 상

고혈압, 당뇨병, 죽상동맥경화증의 과거력을 가지고 있지 않으며, 현재 당 및 지질 대사에 영향을 줄 수 있는 질환이 없고 약물 복용을 하지 않으며 안정된 직장 및 가정 생활을 하는 166명의 성인 남성(30대 44예, 40대 57예, 50대 52예, 60대 13예)이 본인의 동의 하에 연구에 자발적으로 참여하였다. 이들 중 혈장 총 homocysteine농도가 15 μmol/L(90th percentile) 이상인 moderate hyperhomocysteinemia 남성을 hyperhomocysteinemia 군(n=16)으로 정의하였고 이들과 체질량 지수, 나이가 일치하고 음주와 흡연량이 비슷하나 homocysteine농도가 정상범위에 있는 남성을 normohomocysteinemia군(n=16)으로 분류하였다.

방 법

인체계측 및 식품섭취 조사

인체계측으로 신장과 체중을 측정하고 체질량 지수(body mass index : BMI)는 체중(kg)을 신장(m)의 제곱으로 나눈 값을 사용하였다. 또한 대상자를 평평한 바닥에 세운채 tape으로 허리와 엉덩이 둘레를 측정하

여 복부비만의 지표로써 허리둘레에 대한 엉덩이 둘레의 비를 사용하였다. 평상시의 음식 섭취를 알아보기 위해서 간이법[12]을 사용하였고, 24시간 회상법[12]을 통해 식품섭취량을 확인하고 영양소 섭취를 분석하였다. 영양소 섭취량은 우리나라 식품 성분표[13]를 이용한 N3 Program(N-squared Co. Ltd, OR, USA)으로 분석하였다.

혈청 지질 및 지단백 농도 측정

검사 당일 아침 공복시 정맥에서 채혈하여 혈청 총 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤과 중성지방은 자동 분석기(Autoanalyzer Hitachi 7150, Hitachi Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 효소법으로 측정하였고, HDL 콜레스테롤은 침전제를 이용하여 유미지립(chylomicron), 저밀도 지단백(low density lipoprotein, LDL), 초저밀도 지단백(very low density lipoprotein, VL-DL)을 침전시킨 후 상층액에 있는 HDL 중에서 콜레스테롤을 효소법으로 측정하였다.

당부하 검사와 혈청 유리지방산 농도 측정

경구 당부하 검사는 공복시 및 75 g의 포도당을 경구 투여하고 30, 60, 120분 후에 각각 채혈하여 혈당은 포도당 산화 효소법으로, 유리지방산(free fatty acid)은 Hitachi 7150 Autoanalyzer로, C-peptide와 인슐린농도는 INC(Immuno Nucleo Cooperation, Stillwater, USA)에서 제조한 kit를 사용하여 방사면역법으로 측정하였다. 혈당 면적, 유리지방산 면적, C-peptide 면적, 인슐린 면적은 각각 혈당, 유리지방산, C-peptide, 인슐린 반응 곡선 아래 면적으로 계산하였다.

혈장 총 homocysteine 및 아미노산 분석

혈장 아미노산 및 총 homocysteine 함량은 Andersson 등의 방법을 일부 수정하여 측정하였다.[14][15] 혈장 500 μl에 pH 9.0으로 맞춘 borate buffer와 dithiothreitol을 첨가하여 homocysteine의 -S기를 환원시킨 후 internal standard인 L-norleucine(Sigma Chemical Co., St. Louis, USA)과 20% sulfosalicylic acid를 첨가하여 단백질을 침전시켜 3300 rpm에서 15분간 원심분리하였다. 분리된 상층액을 취하여 0.2 μm membrane filter(Waters, Milford, MA, USA)로 거른후 100 μl를 Pharmacia Biotech(Cambridge, England)의 post-column ninhydrin reaction system의 Bio20 autoloader amino acid analyzer에 주입하여 분석하였다. 표준용액으로 D,L-homocysteine(Sigma Chemical Co., St. Louis, USA)을 동일한 조건하에서 분석하여 homocysteine의 retention time을 확인하였으며 plasma sample에 standard D,L-homocysteine을 첨가하여 동일시간에 나오는 다른 물질과 구별하였다. 아미노산 측정을 위해서 표준 아미노산은 physiologic fluid amino acid standard 용액으로 physiological 염기성 아미노산 용액, 산성 및 중성 아미노산 용액(Sigima Chemical Co., St. Louis, USA)을 혼합하여 동일한 조건 하에서 분석한 후 각각의 아미노산 peak의 retention time을 확인하였다.

혈청 tocopherol, retinol 및 carotenoid 농도 측정

항산화 비타민과 carotenoid 분석을 위한 혈액은 채혈한 후 바로 빛을 차단하여 보관하였다. 혈청은 -70℃에 보관하였으며, 채혈 2개월 이내에 자외선이 차단된 상태에서 Yeum 등[16-18]의 방법에 따라 HPLC를 이용하여 각각의 농도를 측정하였다. HPLC system은 Alliance Waters 2690 separating module, Waters 996 Photodiode array detector, Waters ™474 scanning fluorescence detector, C18 Symmetry 3.9×15 cm column(Waters, Milford, MA, USA)으로 구성되었고, mobile phase는 solvent A(CH_3CH : THF : d-H_2O=50 : 20 : 30, v/v/v)와 solvent B(CH_3CH : THF : d-H_2O=50 : 44 : 6, v/v/v)를 이용하였다. 유속은 1.2 ml/min였고, α-tocopherol과 γ-tocopherol은 294 nm, retinol은 325 nm 그리고 α-carotene, β-carotene, cryptoxanthin은 455 nm, lycopene은 446 nm에서 분석하였다. Extraction 및 sample 취급과정에 손실되는 양은 internal standard인 tocopheryl acetate의 회수율로 보정하였다. 혈청 carotenoids, retinol 및 tocopherols의 양은 총 혈청 농도값과 혈청 콜레스테롤(mmol), 혈청 중성지방(mmol)으로 보정한 값으로도 표시하였다.[19]

항산화 효소 및 과산화물의 측정

Glutathione peroxidase(GSH-Px) 활성은 Paglia[20]와 Deagen[21]의 방법을 수정하여, hydrogen peroxide를 기질로 이용한 coupled enzyme procedure로 측정하였다. Enzyme 1 unit은 혈청 1 ml당 1분동안 산화

된 NADPH의 nmole로 나타내었고, specific activity는 1 mg albumin에 해당하는 enzyme unit으로 환산하였다. Superoxide dismutase(SOD)의 활성은 Marklund[22]와 Sheri[23]의 방법을 수정하여 pyrogallol의 autoxidation을 SOD가 억제하는 정도를 측정하였다.

Enzyme 1 unit은 pyrogallol autoxidation을 50% 방해하는데 소모되는 효소의 양으로서 산출하였고, specific activity는 1 mg albumin에 해당하는 enzyme unit으로 환산하였다. Cu, Zn-SOD enzyme unit은 total SOD enzyme unit에서 Mn SOD enzyme unit을 뺀 값을 사용하였다. Malondialdehyde 농도 측정은 Buckingham[24]의 방법을 사용하였으며, luminescence spectrophotometer(Aminco Bowman Series, NY, USA)를 이용하여 excitation 500 nm, emission 553 nm에서 fluorescence intensity를 측정한 후 표준용액과 비교하여 비색 정량하였다.

통 계

연구 결과는 Window용 SPSS package(Statistical Package for the Social Scinece, SPSS Ins., Chicago, IL, USA)를 이용하여 통계 처리하였고, 모든 측정치는 평균±표준오차로 표시하였으며, 검정 시에는 $p<0.05$일 때를 통계적으로 유의하다고 보았다. 혈장 총 homocysteine 농도와 관상동맥경화증의 위험요인간의 관계를 살펴보기 위해 이들 사이의 상관관계(Pearson's correlation coefficients)를 분석하였다. 또한 혈장 homocysteine 농도에 독립적으로 영향을 미치는 변수를 찾아내기 위해, 다중회귀 분석(multiple regression analysis)을 사용하였다. Hyperhomocysteinemia 군과 normohomocysteinemia 군간의 측정치의 평균 차이를 검증하기 위하여 Student's t-test와 Wilcoxon-rank sum test를 같이 사용하였다.

결 과

임상 양상 및 혈장 총 homocysteine 농도의 분포

연구 대상자의 평균 나이는 46.4세이었고 체질량지수는 18.1 kg/m^{2}부터 31.9 kg/m^{2}으로 다양한 비만도를 보였으며 평균은 24.0 kg/m^2 이었다(Table 1). 혈청 총 콜레스테롤, 중성지방, HDL 및 LDL 콜레스테롤의 평균 농도는 정상 범위 내에 있었으며 흡연량은 안 피우는 경우부터 1일 40개피까지 다양하였고 음주량도 안마시는 경우부터 1일 116g까지 다양하였다(Table 1). 본 연구에 참여한 166명의 혈장 총 homocysteine 농도는 Fig. 1에 나타냈으며 2.4 μmol/L에서 38.1 μmol/L까지 분포되어 있었고 25th percentile의 농도는 7.02 μmol/L, 50th percentile은 9.61 μmol/L, 75th percentile은 12.4 μmol/L이었고 평균 농도는 10.7 μmol/L이었다.

동맥경화증 위험요소와 혈장 총 homocysteine 농도와의 상관성

혈장 총 homocysteine 농도는 나이, 혈압, 허리둘레에 대한 엉덩이 둘레의 비, HDL 및 LDL 콜레스테롤

Table 1. Mean values of age, body mass index, seum lipids and cigarette and alcohol consumption in 166 healthy males

	Healthy males
Age (years)	46.4±0.76
Body mass index (kg/m^2)	24.0±0.22
Serum levels (mg/dl)	
Total cholesterol	200.3±3.19
Triglyceride	158.5±9.26
HDL cholesterol	49.9±0.88
LDL cholesterol	119.6±3.0
Smoking (cigarettes/day)	19.4±1.10
Alcohol intake (g/day)	16.9±1.90

Data are expressed in mean±SEM

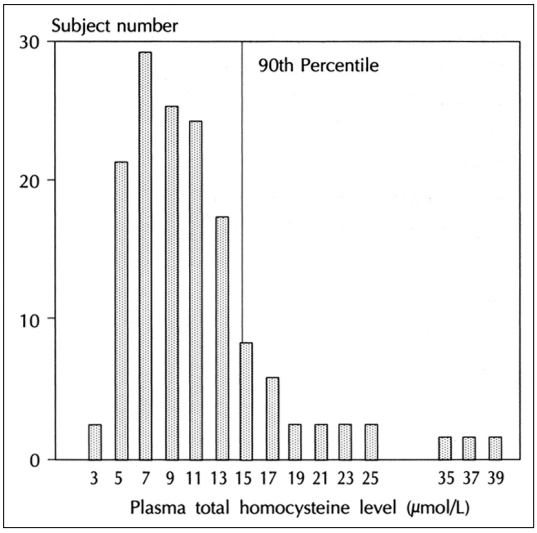

Fig. 1. Distribution of plasma levels of total homocysteine in 166 healthy males.

농도, 흡연량, β-carotene을 제외한 혈청 비타민과 carotenoid와는 상관성이 없었다(Table 2). 반면에 혈장 총 homocysteine 농도는 체질량지수, 혈청 총 콜레스테롤 농도, 알콜 섭취량(Table 2) 및 중성지방 농도와 양의 상관성을 보여주었으며 혈청 콜레스테롤과 중성지방 농도로 보정한 β-carotene 농도와 음의 상

Table 2. Pearson correlations of plasma total homocysteine concentration† with coronary artery disease risk factors and lipid-corrected carotenoid and tocopherol in 166 healthy males

	r		r		r
Age (years)	0.035	Total cholesterol (mg/dl)	0.179*	α-carotene (μg/mmol)	-0.064
BMI (kg/m^2)	0.180*	HDL cholesterol (mg/dl)	-0.071	Retinol (μg/mmol)	-0.081
Systolic blood pressrue	0.132	LDL cholesterol (mg/dl)	0.033	Cryptoxanthin (μg/mmol)	-0.118
Diastolic blood pressure	-0.084	Smoking (cigarettes/day)	0.128	Lycopene (μg/mmol)	-0.094
Waist/hip ratio	0.085	Alcohol (g/day)	0.165*	α-tocopherol (μg/mmol)	-0.153
				γ-tocopherol (μg/mmol)	-0.093

† Ln, natural logarithm *$p<0.05$

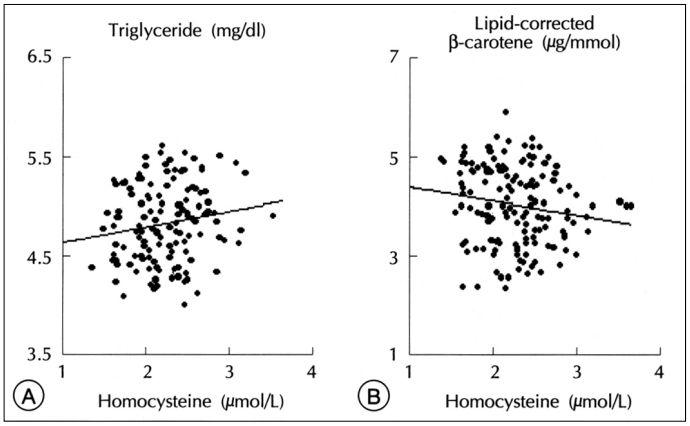

Fig. 2. Relationships by between homocysteine and triglyceride (a) and lipid-corrected β-carotene level (b) in 166 healthy males. Regression equations and r values : (a) Ln (y)=0.238 Ln (x)+4.358, r=0.210, $p<0.05$ (b) Ln (y)=4.936-0.453 Ln (x), r=-0.193, $p<0.05$.

Table 3. Age, anthropometries, cigarette and alcohol consumption, blood pressure and serum levels of glucose, free fatty acid, insulin and C-peptide in healthy males matched for age and BMI subclassed by plasma total homocysteine levels

	Normohomocysteinemia (n=16)	Hyperhomocysteinemia (n=16)
Age (years)	50 ± 2	50 ± 2
Body mass index (kg/m^2)	23.4 ± 0.58	23.4 ± 0.55
Waist/hip ratio	0.91± 0.01	0.92± 0.01
Smoking (cigarettes/day)	23.1 ± 2.82	24.4 ± 2.58
Alcohol (g/day)	31.4 ± 7.36	30.3 ± 8.60
Systolic blood pressure (mmHg)	127.2 ± 3.80	131.0 ± 4.52
Diastolic blood pressure (mmHg)	80.9 ± 3.64	81.9 ± 3.83
Fasting level		
Glucose (mg/dl)	95.6 ± 4.92	92.8 ± 2.62
Free fatty acid (μEq/L)	574.6 ± 65.3	439.9 ± 49.8
Insulin (μU/ml)	7.78± 1.34	6.95± 0.69
C-peptide (ng/ml)	1.22± 0.46	0.78± 0.04
Response area		
Glucose (mg/dl×hr)	275.0 ± 14.5	272.4 ± 10.6
Free fatty acid (μEq/L×hr)	888.2 ±169.2	865.3 ±203.6
Insulin (μU/ml×hr)	79.9 ± 18.4	88.8 ± 9.41
C-peptide (ng/ml×hr)	2.10± 0.34	2.48± 0.19

Data are expressed in mean±SEM

관성을 보여주었다(Fig. 2). 공복 혈장 총 homocysteine 농도에 영향을 줄 수 있는 변수를 알기 위해 상관성을 보여주었던 체질량지수, 혈청 총 콜레스테롤 농도, 알콜 섭취량, 중성지방 농도와 혈청 콜레스테롤과 중성지방 농도로 보정한 β-carotene 농도를 포함한 다중회귀 분석에서 혈청 중성지방 농도가 가장 중요한 변수로 나타났다(r^2=0.06, p<0.05).

Hyperhomocysteinemia 군과 normohomocysteinemia 군과의 비교

나이, 인체계측치, 흡연량, 음주량, 혈압 및 당부하 검사치

Hyperhomocysteinemia 군과 normohomocysteinemia 군의 평균 나이는 50세, 체질량 지수는 23.4 kg/m^2으로 동일하였다(Table 3). 허리와 엉덩이 둘레비, 흡연량, 알콜 섭취량 및 수축기와 이완기 혈압도 두 군간에 유의한 차이가 없었다. 공복 및 당부하 검사시 혈당, 유리지방산, 인슐린 및 C-peptide 농도도 두 군간에 차이가 없었다(Table 3).

혈청 지질 농도 및 항산화 효소 활성

Normohomocysteinemia 군과 비교하여 hyperhomocysteinemia 군에서 혈청 중성지방, 총 콜레스테롤 농도와 총 콜레스테롤과 HDL 콜레스테롤 농도의 비율이 높았다(Fig. 3). Normohomocysteinemia 군과 비교하여 LDL 콜레스테롤 농도는 hyperhomocysteinemia

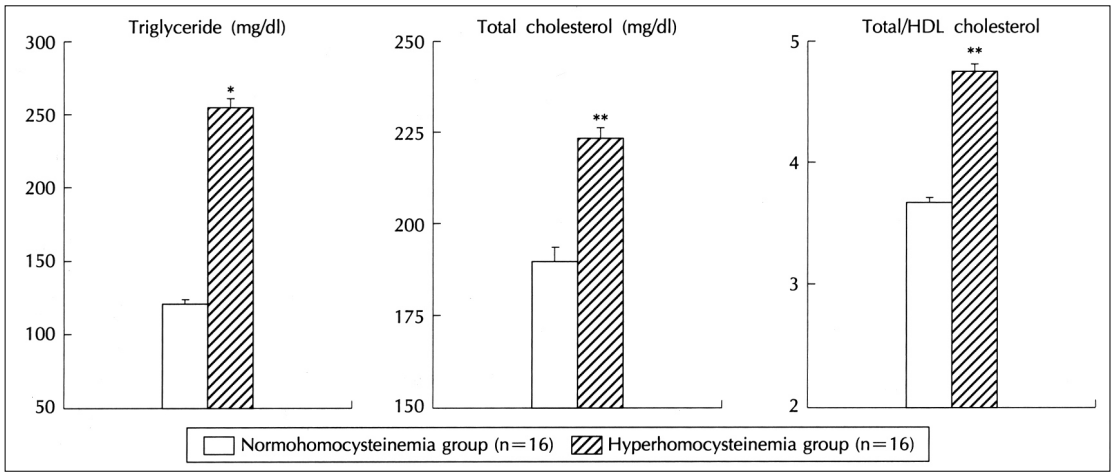

Fig. 3. Serum triglyceride and total cholesterol levels and total/HDL-cholesterol in healthy males matched for age and BMI subclassed by plasma total homocysteine levels. Data are expressed in mean±SEM. *p<0.05, **<0.01 compared with normohomocysteinemia group

Table 4. Serum levels of HDL- and LDL-cholesterol and antioxidant enzyme activities of plasma and red blood cell in healthy males matched for age and BMI subclassed by plasma total homocysteine levels

	Normohomocysteinemia (n=16)	Hyperhomocysteinemia (n=16)
HDL-cholesterol (mg/dl)	52.9 ±2.45	52.2 ±4.06
LDL-cholesterol (mg/dl)	112.1 ±4.73	140.1 ±7.88**
Atherogenic index§	2.63±0.14	3.78±0.34**
LDL/HDL-cholesterol	2.17±0.12	2.96±0.30*
Glutathione peroxidase (NADPH nmole/mg alb)	41.7 ±3.26	38.0 ±3.48
Red blood cell		
Total SOD (U/mg alb)	22.3 ±3.31	18.4 ±4.13
Mn-SOD (U/mg alb)	1.81±0.38	1.88±0.31
Cu, Zn-SOD (U/mg alb)	20.5 ±3.31	16.6 ±3.88
Malondialdehyde (nmol/ml)	4.11±0.33	4.14±0.36

§ (total cholesterol-HDL cholesterol)/HDL cholesterol SOD : superoxide dismutase
Data are expressed in mean±SEM *p<0.05, **p<0.01, compared with normohomocysteinemia group

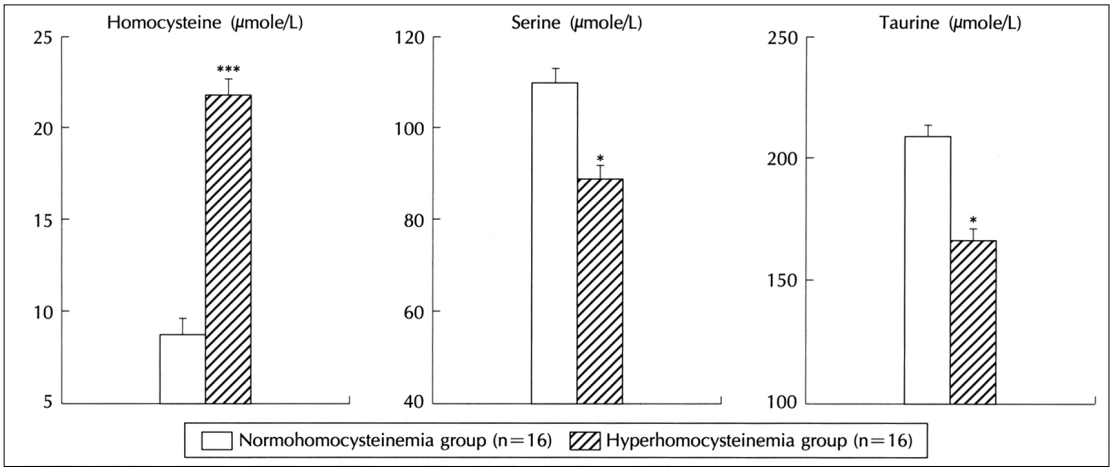

Fig. 4. Plasma levels of homocysteine, serine and taurine in healthy males matched for age and BMI subclassed by plasma total homocysteine levels. Data are expressed in mean±SEM. *p<0.05, **<0.001 compared with normohomocysteinemia group

군에서 증가하였으며 HDL 콜레스테롤은 두 군간에 차이가 없었다(Table 4). 혈장 GSH-Px 활성과 적혈구 총 SOD, Cu, Zn-SOD 활성은 normohomocysteinemia 군과 비교하여 hyperhomocysteinemia 군에서 감소하는 경향을 보였으나 유의한 차이는 아니었다. 적혈구 Mn-SOD 활성과 혈장 malondialdehyde 농도는 두 군간에 비슷하였다(Table 4).

혈청 tocopherol, retinol 및 carotenoid 농도

혈청 carotenenoid, retinol, tocopherol 농도는 두 군간에 유의한 차이가 없었다(Table 5). 혈청 총 콜레스테롤 농도와 중성지방 농도로 보정한 β-carotene 농도와 α-tocopherol 농도는 normohomocysteinemia 군과 비교하여 hyperhomocysteinemia 군에서 낮았다.

혈장 아미노산 농도

Normohomocysteinemia 군과 비교하여 hyperhomocysteinemia 군에서 혈장 serine과 taurine 농도가 낮았다(Fig. 4). 혈장 methionine, threonine, tyrosine, phenylalanine, leucine, isoleucine, valine, arginine, citrulline, ornithine, lysine, glycine, cystathionine 농도는 두 군간에 유의한 차이가 없었다(Table 6).

열량 및 영양소 섭취량

섭취 열량 및 열량중 탄수화물, 단백질, 지방이 차지하는 비율은 두 군간에 차이가 없었다(Table 7). 콜레스테롤 섭취량과 불포화지방산과 포화지방산 섭취 비율도 두 군간에 차이가 없었다. 영양소 섭취량은 1996년에 농촌진흥청에서 발간한 식품성분표 5차 개정판을

Table 5. Serum levels of carotenoid, retinol and tocopherol in healthy males matched for age and BMI subclassed by plasma total homocysteine levels

	Normohomocysteinemia (n=16)	Hyperhomocysteinemia (n=16)
Uncorrected level		
α-carotene (μg/dl)	2.36± 0.44	2.60± 0.56
β-carotene (μg/dl)	37.3 ± 7.65	21.9 ± 3.84
Retinol (μg/dl)	94.6 ±13.8	91.4 ±12.9
Cryptoxanthin (μg/dl)	44.3 ±10.2	39.3 ± 7.77
Lycopene (μg/dl)	25.5 ± 4.94	26.4 ± 7.38
α-tocopherol (μg/ml)	8.08± 1.18	8.00± 1.64
γ-tocopherol (μg/ml)	0.91± 0.12	0.82± 0.09
α/γ-tocopherol	10.4 ± 2.12	13.7 ± 4.36
Lipid-corrected level		
α-carotene (μg/mmol)	3.78± 0.66	3.19± 0.70
β-carotene (μg/mmol)	61.0 ±12.2	29.4 ± 5.15*
Retinol (μg/mmol)	152.8 ±21.6	106.8 ±14.5
Cryptoxanthin (μg/mmol)	73.3 ±16.3	48.0 ±10.4
Lycopene (μg/mmol)	42.8 ± 8.4	32.9 ±10.4
α-tocopherol (μg/mmol)	1.33± 0.20	0.85± 0.11*
γ-tocopherol (μg/mmol)	0.15± 0.02	0.11± 0.02

Lipids corrected level : each level of vitamins and carotenoids is divided by sum of cholesterol and triglyceride (mmol/L)
Data are expressed in mean±SEM
*p<0.05, compared with normohomocysteinemia group

Table 6. Plasma amino acid concentrations in healthy males matched for age and BMI subclassed by plasma total homocysteine levels

	Normohomocysteinemia (n=16)	Hyperhomocysteinemia (n=16)
Methionine	25.4 ± 3.20	27.6 ± 2.39
Threonine	106.6 ±11.5	95.3 ± 7.34
Tyrosine	55.8 ± 3.34	50.6 ± 3.22
Phenylalanine	52.2 ± 3.57	48.4 ± 3.19
Leucine	95.3 ± 7.70	95.9 ± 4.59
Isoleucine	46.5 ± 4.17	48.0 ± 2.62
Valine	170.8 ±14.0	163.3 ± 8.92
Histidne	76.2 ± 5.11	71.3 ± 4.69
Arginine	54.8 ± 6.09	55.5 ± 4.57
Citrulline	50.9 ± 3.66	49.3 ± 4.29
Ornithine	82.9 ± 7.07	79.6 ± 4.98
Lysine	158.7 ±12.5	149.6 ± 8.70
Glycine	164.5 ± 8.79	144.7 ±11.6
Cystathionine	1.36± 0.49	1.23± 0.44

Data are expressed in mean±SEM

Table 7. Daily energy and nutrient intake in healthy males matched for age and BMI subclassed by plasma total homocysteine levels

	Normohomocysteinemia (n=16)	Hyperhomocysteinemia (n=16)
Total calorie intake (Kcal/d)	2272.0±102.8	2320.5±81.8
Carbohydrate (% of TCI)	63.8±2.74	62.3±3.25
Protein (% of TCI)	18.0±1.18	16.1±1.23
Fat (% of TCI)	17.6±1.95	22.5±2.33
Cholesterol (mg/d)	178.7±73.9	183.2±53.2
P/S intake	1.25±0.19	1.28±0.22
Vitamin B_6 (mg/d)*	1.42±0.39	1.06±0.15
Folate (μg/d)*	90.3±21.0	66.7±9.02
Vitamin B_{12} (μg/d)*	3.20±0.64	2.25±0.61
Vitamin E (mg/d)*	4.56±1.35	5.94±1.13
Retinol (mg/d)*	92.4±27.4	53.2±13.6
β-carotene (mg/d)*	1668.3±423.8	1227.5±223.4
Methionine (g/d)*	1.26±0.25	1.11±0.12

TCI : total calorie intake
P/S intake : polyunsaturated/saturated fatty acids intake ratio
Data are expressed in mean±SEM
*less than actual intake due to the incomplete nutrient data in food composition tables furnished by National Rural Living Science Institute (5th ed, 1996) in Korea

사용하여 분석하였으나 일부 식품의 비타민 B_6, 엽산, 비타민 B_{12}, 비타민 E, retinol, β-carotene 및 methionine 분석량이 포함되어 있지는 않았으므로 실제 섭취량 보다 적게 산출되었을 것이다. 비타민 B_6, 엽산, 비타민 B_{12}, retinol, β-carotene 섭취량은 normohomocysteinemia 군과 비교하여 hyperhomocysteinemia 군에서 감소하는 경향을 보였으나 유의한 차이는 아니었으며 비타민 E와 methionine 섭취량은 두 군간에 비슷하였다.

고 안

본 연구에 참여한 건강한 성인 남성의 혈장 총 homocysteine 농도의 분포는 50th percentile이 9.61 μmol/L이었고 최대치가 38.1 μmol/L로 높은 농도 쪽으로 긴 꼬리를 보여주었다. 본 연구에서 보여진 혈장 총 homocysteine 농도와 혈청 총 콜레스테롤 농도, 중성지방 농도와의 양의 상관성은 혈관 질환과의 관계를 연구한 27개의 보고를 종합한 결과와 일치하였다.[2] 또한 알코올 섭취시 혈장 homocystein농도의 증가는 folate, vitamin B_6 흡수장애로 transmethylation, transsulfuration과정을 통한 homocysteine 제거과정의 손상이 부분적인 이유로 여겨지나,[25] 본 논문에서는 정확한 기전은 알수가 없었다.

혈장 총 homocysteine 농도 15 μmol/L 이상으로 분류한 hyperhomocysteinemia 군은 16명으로 참여 대상자의 10%를 차지하였고 이러한 비율은 45세 이상의 서구 남성에서 약 10%가 혈장 총 homocysteine 농도가 15 μmol/L 이상이라는 보고와 일치한다.[2] Hyperhomocysteinemia 군의 혈장 총 homocysteine의 평균 농도는 21.9 μmol/L, normohomocysteinemia 군의 평균 농도는 8.5 μmol/L이였으며 hyperhomocysteinemia 군은 혈청 중성지방의 평균 농도가 258 mg/dl, 총 콜레스테롤 226 mg/dl, LDL 콜레스테롤 140 mg/dl로 고지혈증을 보여주었다. 나이, 성별, 비만도가 두 군간에 동일하였고 복부 비만 정도, 혈압, 음주 및 흡연량, 열량 및 콜레스테롤 섭취량과 인슐린 농도가 두 군간에 차이가 없었으므로 hyperhomocysteinemia 군에서 보여진 고지혈증은 증가된 homocysteine 농도와 관련이 있는 것으로 여겨진다. 실제로 혈장 총 homocysteine 농도와 혈관 질환과의 관계를 연구한 27개의 보고를 종합한 결과는 혈장 총 homocysteine 농도가 5 μmol/L 증가마다 총 콜레스테롤 농도가 20

mg/dl씩 증가되어 심혈관질환의 위험을 증가시킨다고 한다.[2] 또한 총 homocysteine 농도가 증가할수록 LDL 콜레스테롤의 농도도 증가하는 양의 상관성을 보여주었다는 보고도 있다.[5]

혈장 총 homocysteine은 homocysteine, oxidized disulfides의 homocysteinyl moieties, homocystine과 cysteine - homocysteine의 합계이다.[2] Free 형태의 homocysteine은 2 3 μmol/L로 총 homocysteine의 소량을 차지하고 있고 다른 disulfide로 쉽게 산화되어 측정이 어려우므로 결과의 정확성에 문제가 제기되고 있다.[7][26] 반면에 free 형태의 증가는 총 homocysteine 농도의 증가로 반영되기 때문에 free 형태를 포함하는 총 homocysteine 농도의 측정이 손쉽고 믿을만한 측정 방법으로 여겨지고 있어[26] 본 연구에서도 총 homocysteine 농도를 분석하였다.

Homocysteine 농도의 증가시 thiol - disulfide exchange를 통한 산화와 환원 반응이 활성화되어 유리기 생성이 증가되며 결국 항산화 체계에 손상을 가져올 수 있을 것이다.[6][27] 본 연구에서도 normohomocysteinemia 군과 비교하여 hyperhomocysteinemia 군에서 혈청 콜레스테롤 농도와 중성지방 농도로 보정해준 β - carotene 농도와 α - tocopherol 농도가 감소하여 있었다. 두 군간에 혈청 α - tocopherol 농도에 영향을 주는 나이, 성별, 복부비만 정도, 비타민 E 섭취량이 비슷하였으므로 hyperhomocysteinemia 군에서 보여진 감소된 α - tocopherol 농도는 homocysteine 농도의 증가와 혈청 지질 및 지단백질 농도의 증가로 인한 α - tocopherol의 사용 증가가 부분적인 이유로 여겨진다.

세포막과 혈청 지단백질에 존재하는 α - tocopherol은 다른 항산화제와 비교하여 지질 과산화를 막아주는 가장 유용한 항산화제이고[28 - 30] LDL을 과산화로부터 보호하므로 α - tocopherol 농도의 감소는 심혈관 질환의 유병율 증가와 관련이 있다고 한다.[6] 비타민 E와 함께 β - carotene도 혈청 지단백질에 존재하는 지용성 항산화제이고 β - carotene은 singlet oxygen과 과산화 유리기를 효율적으로 제거한다고 알려졌다.[28] Homocysteine은 산소로부터 과산화수소의 생성을 촉매하는 것으로 알려져[8] hyperhomocysteinemia 군에서 보여졌던 β - carotene 농도의 감소는 homocysteine 농도의 증가시 β - carotene의 사용이 증가되는 것을 생각해 볼 수 있었다. 또한 본 연구에서는 혈장 homocysteine 농도가 증가할수록 β - carotene 농도가 감소하는 음의 상관성도 보여졌다.

Hyperhomocysteinemia 군에서 보여진 낮은 β - carotene 농도는 normohomocysteinemia 군과 비교하여 섭취량의 감소로도 부분적으로 설명될 수 있을 것이다. Hyperhomocysteinemia 군의 야채 및 과일 섭취량은 normohomocysteinemia 군 보다 낮았고 이는 유의하지는 않지만 약 25% 정도 더 적은 β - carotene과 엽산 섭취량으로 나타났다고 여겨진다. 본 연구의 normohomocysteinemia 군의 1일 엽산 섭취량은 평균 90 μg으로 서구 성인 남성의 섭취량인 200 μg의 절반 정도로 보여졌는데[31] 이는 실질적인 섭취량이 적기보다는 우리나라 식품 성분표에 일부 식품의 엽산을 비롯한 미량 영양소의 분석량이 포함되어 있지 않아 과소평가 되었기 때문으로 생각될 수 있다. 그러나 한국 성인 여성을 대상으로 조사한 1일 엽산 섭취량도 약 130 μg으로 서구 여성보다 적게 보고되어[32] 실질적인 섭취량이 적을 가능성을 배재할 수 없다고 하겠다. 또한 본 연구에서는 혈장 총 homocysteine 농도와 관련이 있는 것으로 알려진 hyperhomocysteinemia 군의 비타민 B_6와 B_{12}의 섭취량도[1] normohomocysteinemia 군의 70 74%로 나타났다.

일반적으로 식사 섭취 조사에서 과일, 야채, 오렌지, 과일 쥬스, 간, 두류 등이 엽산 섭취량을 잘 반영할 수 있고 비타민 B_{12}는 육류, 간, 생선, 우유 및 유제품에 주로 들어 있다.[1][33] 1일 200 μg의 엽산 섭취의 증가는 혈장 총 homocysteine 농도를 약 4 μmol/L까지 감소시키며 이는 하루에 과일 혹은 야채를 4 6 교환단위를 더 섭취함으로서 가능하다고 한다.[2] 실제로 혈장 총 homocysteine 농도가 16.3 μmol/L 이상인 남자에서 650 μg의 엽산 섭취는 혈장 총 homocysteine 농도를 42%까지 감소시켰다고 보고되었다.[2]

Hyperhomocysteinemia 군에서 normohomocysteinemia 군과 비교하여 혈장 serine 및 taurine 농도가 감소하여 혈장 homocysteine 농도의 증가는 지질 및 항산화 영양소 대사뿐 아니라 아미노산 대사에도 영향을 주는 것으로 나타났다. Serine은 homocysteine의 remethylation과 cystathionine 형성에 사용되고 homocysteine은 cysteine을 거쳐 taurine으로 대사되며 taurine은 glycine과 함께 담즙산과 결합하여 담즙산을 물에 용해시킨다.[34] Hyperhomocysteinemia 군

에서 보여지는 homocysteine 대사와 관련된 아미노산 대사에 미치는 영향과 그 역할은 본 연구에서는 알 수가 없었고 계속적으로 연구되어야 할 것으로 생각된다.

이상의 결과로 미루어 보아 건강한 성인 남성에서 hyperhomocysteinemia는 고지혈증, 항산화 영양소의 감소와 homocysteine 대사와 관련된 주변 아미노산 농도에 영향을 주는 것을 알 수 있었다. Hyperhomocysteinemia 군에서 보여진 혈장 homocysteine 농도의 증가는 homocysteine 농도에 영향을 주는 성별, 비만도, 혈압, 음주 및 흡연량을 통제하였으므로 이러한 생리 및 환경 요소로는 설명될 수 없었고 아마도 normohomocysteinemia 군보다 약 25 30% 정도 적은 엽산, 비타민 B_6와 B_{12}의 섭취량과 부분적인 관련이 있었을 것으로 여겨진다. 따라서 관상동맥경화증의 위험이 증가되는 중년 남성에서는 과일과 야채의 섭취를 늘려 엽산 및 vitamin B군의 섭취량을 증가시키는 것이 혈장 homocysteine 농도를 낮추기 위해서 필요할 것으로 사료된다.

요 약

연구배경 :

혈장 총 homocysteine 농도의 증가가 최근에 동맥경화증의 독립 위험인자로서 관심을 끌고 있다. 본 연구는 성인 남성에서 homocysteine 농도의 기준치를 제시하고 hyperhomocysteinemia가 관상동맥경화증 위험 요소에 미치는 영향을 관찰하였다.

방 법 :

질병이 없는 성인 남성 166예를 대상으로 인체계측, 음주 및 흡연량, 식품섭취를 조사하였고 혈청 지질과 당부하시 혈당, 인슐린 농도를 분석하였다. 혈장 아미노산, GSH-Px, malondialdehyde와 혈청 tocopherol, retinol, carotenoid와 적혈구의 SOD를 측정하였다. 혈장 총 homocysteine 농도와 위의 분석치들과의 상관관계를 분석하였으며 혈장 총 homocysteine 농도가 15 μmol/L 이상(>90th percentile)인 남성을 hyperhomocysteinemia 군(n=16)으로 분류하고 이들과 체질량지수, 나이가 일치하고 음주와 흡연량이 비슷한 homocysteine 농도가 정상 범위에 있는 남성을 normohomocysteinemia 군(n=16)으로 분류하여 비교하였다.

결 과 :

혈장 총 homocysteine 농도는 2.4 μmol/L에서 38.1 μmol/L까지 분포되어 있었으며 25th percentile의 농도는 7.02 μmol/L, 50th percentile은 9.61 μmol/L, 75th percentile은 12.4 μmol/L이었고 평균 농도는 10.7 μmol/L이었다. 혈장 총 homocysteine 농도는 체질량지수, 혈청 총 콜레스테롤 농도, 알콜 섭취량 및 중성지방 농도와 양의 상관성을 보여주었으며 혈청 β-carotene 농도와 음의 상관성을 보여주었다. 공복 혈장 총 homocysteine 농도에 영향을 다중회귀 분석에서 구한 결과 혈청 중성지방 농도가 가장 중요한 변수로 나타났다(r^2=0.06, $p<0.05$). Hyperhomocysteinemia 군과 normohomocysteinemia 군의 평균 나이와 체질량 지수는 동일하였으며 허리와 엉덩이 둘레비, 음주량, 흡연량, 혈압, 공복 및 당부하 검사시 혈당, 인슐린 농도도 두 군간에 차이가 없었다. Hyperhomocysteinemia 군의 혈청 중성지방의 평균 농도는 258 mg/dl, 총 콜레스테롤 226 mg/dl, LDL 콜레스테롤은 140 mg/dl로 normohomocysteinemia 군과 비교하여 증가하여 있었다. Normohomocysteinemia 군과 비교하여 hyperhomocysteinemia 군에서 혈청 총 콜레스테롤과 중성지방 농도로 보정한 β-carotene과 α-tocopherol 농도가 적었고 혈장 serine과 taurine 농도도 감소하여 있었다. 비타민 B_6, 엽산, 비타민 B_{12}, β-carotene 섭취량은 normohomocysteinemia 군과 비교하여 hyperhomocysteinemia 군에서 유의하지는 않지만 약 25 30% 정도 적은 경향을 보여주었다.

결 론 :

본 연구에 참여한 성인 남성에서 나타난 hyperhomocysteinemia는 나이, 성별, 비만도, 혈압, 음주 및 흡연량, 인슐린 농도, 혈당 농도와 관련 없이 독립적으로 고지혈증을 초래하고 β-carotene, α-tocopherol과 같은 항산화 영양소 농도를 감소시켜 동맥경화증의 위험을 증가시키고 아미노산 대사에도 영향을 주는 것으로 나타났다.

중심 단어 : Homocysteine · 동맥경화증 위험요소.

본 연구는 미국 랜보그 센터의 연구비로 수행되었음.

REFERENCES

1) Nygard O, Refsum H, Ueland PM, Vollset SE. *Major lifestyle determinants of plasma total homocysteine dis-*

tribution: The Hordaland homocysteine study. Am J Clin Nutr 1998;67:263-70.

2) Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, Motulsky AG. *A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. J Am Med Assoc 1995; 274:1049-57.*
3) Currie IC, Wilson YG, Scott J, Day A, Stansbie D, Baird RN, *et al. Homocysteine: An independent risk factor for the failure of vascular intervention. Br J Surgery 1996;83:1238-41.*
4) Woodside JV, Yarnell JWG, McMaster D, Young IS, Harman DL, McCrum EE, *et al. Effect of B-group vitamins and antioxidant vita- mins on hyperhomocysteinemia: A double-blind, randomized, factorial-design, controlled trial. Am J Clin Nutr 1998;67:858-66.*
5) Pancharumiti N, Lewis C, Sanverlich HE, Perkins LL, Go RCP, Alvarez JO, *et al. Plasma homocysteine, folate and vitamin B-12 concentrations and risk for early-onset coronary artery disease. Am J Clin Nutr 1994;59:940-948.*
6) Ohrvall M, Sundlöf G, Vessby B. *Gamma, but not alpha, tocopherol levels in serum are reduced in coronary heart disease patients. J Int Med 1996;239:111-7.*
7) Ueland PM, Mansoor MA, Guttormsen AB, Muller F, Aukrust P, Refsum H, *et al. Reduced, oxidized and protein-bound forms of homocysteine and other aminothiols in plasma comprise the redox thiol status-A possible element of the extracellular antioxidant defense system. J Nut 1996;126:1281S-4S.*
8) Duell PB, Malinow MR. Homocysteine: *An important risk factor for atherosclerotic vascular disease. Curr Opi in Lipidol 1998;8:28-34.*
9) Malinow MR, Ducimetiere P, Luc G, Evans AE, Arveiler D, Cambien F, *et al. Plasma homocystiene levels and graded risk for myocardial infarction: Findings in two populations at contrasting risk for coronary heart disease. Atheroscledosis 1996;126:27-34.*
10) Wald NJ, Watt HC, Law MR, Weir DG, Mcpartlin J, Scott JM, *et al. Homocysteine and ischemic heart disease. Arch Intern Med 1998;158:862-7.*
11) Stampfer MJ, Malinow MR, Willett WC, Newcomer LM, Upson B, Ullmann D, *et al. A prospective study of plasm homocysteine and risk of myocardial infarction in US physicians. J Am Med Assoc 1992;268:877-81.*
12) The Am Dietetic Asso. *Handbook of Clinical Dietetics, 2nd ed. pp.5-39, MA, Yale Univ Press;1992.*
13) National Rural Living Science Institute. *Korean food composition tables. 5th ed, 1996.*
14) Anderson A, Battstrm L, Isaksson A, Israelsson B, Hultberg B. *Determination of homocysteine in plasma by ion-exchange chromatography. Scand J Clin Lab Invest 1989;49:445-9.*
15) Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, Mailnow MR, Andersson A, Allen RH. *Total homocysteine in plasma or serum: Method and clinical applications. Clin Chem 1993; 39:1764-79.*
16) Yeum KJ, Lee-Kim YC, Yoon S, Lee KY, Park IS, Lee KS, *et al. Similar metabolites formed from β-carotene by human gastric mucosal homogenates, lipoxygenase or linoleic acid hydroperoxide. Arch Biochem Biophys 1995; 321:167-74.*
17) Bankson DD, Russell RM, Sadowski JA. *Determination of retinyl esters and retinol in serum or plasma by normal phase liquids chromatography, Method and applications. Clin Chem 1986;32:35-40.*
18) Mcrehan WA. *Determination retinol, α-tocopherol and β-carotene in serum by liquid chromatography. Methods in Enzymol 1986;189:172-81.*
19) Thurnham DI, Davis JA, Crump BJ, Situnayake RD, Davis M. *The use of different lipids to express serum tocopherol: Lipid ratios for the measurement of vitamin E status. Ann Clin Biochem 1986;23:514-20.*
20) Paglia DE, Valentine WN. *Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidation. J Lab & Clin Med 1967;70:158-69.*
21) Deagen JT, Butler JA, Beilstein MA, Whagner PD. *Effects of dietary selenite, selenocysteine and selenomethione o-selenocysteine lyase and glutathionine peroxidase activities and on selenium levels in rat tissues. J Nutr 1987;117:91-8.*
22) Marklund S, Marklund G. *Involvemant of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. European J Biochem 1974;47:469-74.*
23) Sheri Z, Keen CL, Hurley LS. *SOD activity and lipid peroxidation in the rats developmental correlations affected by manganese deficiency. J Nutr 1983;113:2498-504.*
24) Buckingham KW. *Effect of dietary polyunsaturated/saturated fatty acid ratio and dietary vitamin E on lipid peroxidation in the rat. J Nutr 1985;115:1425-35.*
25) Cravo ML, Glria LM, Selhub J, Nadeau MR, Camilo E, Resende MP, *et al. Hyperhomocysteinemia in chronic alcoholism: Correlation with folate, vitamin B12, and vitamin B6 ststus. Am J Clin Nutr 1996;63:220-4.*
26) Dennis PB, Malinow MR. *Homocysteinemia and vascular disease in end-stage renal disease. Kidney Int 1996;57: S11-S7.*
27) Edge R, Truscott TG. *Prooxidant and antioxidant reaction mechanisms of carotene and radical interactions with vitamins E and C Nutrition 1997;13:992-4.*
28) Stahl W, Sies H. *Antioxidant defense: Vitamin E and C and carotenoids. Diabetes 1997;46:S14-S8.*
29) Simon JA. *The clinical efficacy of vitamin E in reducing coronary heart disease. Nutrition & the MD 1997;23:1-2.*
30) Gazino M, Hennekens CH. *Antioxidant vitamins, diabetes and cardiovascular disease. Clinical Diabetes 1994;12: 88-92.*
31) Christian JL, Greger JL. *Nutrition for Living. p.116, Benjamin Cummings Co., CA, 1985.*
32) Kang MH, Chang NS. *Effect of dietary folate intakes on serum folate levels of pregnant and lactating women. K J Nutr 1993;26:433-42.*
33) The Korean Nutrition Society. *Recommended dietary allowances for Koreans. 6th Revision, 1996.*
34) Kibe A, Wake C, Kuramoto T. *Effect of dietary taurine on bile acid metabolism in guenea pigs. Lipids 1979; 15:224.*