

正常 韓國人에 있어서 過酸化脂質에 關한 研究

全南大學校 醫科大學 內科學教室

朴 世 鍾 · 朴 玉 圭

= Abstract =

A Study on the Serum Lipoperoxide Level in Normal Koreans

Se Jong Park, M.D. and Ock Kyu Park, M.D.

Department of Internal Medicine, Chonnam University Medical School, Kwangju, Korea

Serum lipoperoxide level was measured in 103 normal Koreans by TBA method. Concomitantly serum cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol and fasting blood sugar were measured for determining relationship to serum lipoperoxide.

The mean value of serum lipoperoxide level in normal Koreans was 2.41 ± 0.45 nmoles MDA/ml. Age and serum triglyceride level were significantly correlated with serum lipoperoxide level ($r=0.51$, 0.25 , $p<0.001$, $p<0.02$), whereas serum cholesterol, HDL-cholesterol and fasting blood sugar were not.

結 論

1952年 Glavind 等¹⁾이 動脈硬化症의 發病과 過酸化脂質과의 關係를 最初로 示唆한 이후 過酸化脂質이 生체에 一定한 障害를 준다는 사실은 잘 알려져 있다.

이러한 過酸化脂質은 生체內에서 脂質의 代謝過程中 지질의 一部가 과산화됨으로써 生成되며 最近에는 血液內의 過酸化脂質의 變動에 따라 血小板의 凝集이나 血管壁의 障害와 各 장기의 組織細胞內 小器官等の 장애에 關한 研究가 進行되고 있다. 특히 日本의 Yagi^{2,3)}가 米량의 血液中에서도 過酸化脂質의 檢出方法을 발표한 以來 各種질환에서 이의 變化를 報告하고 있으나 우리나라에서는 아직도 이에 對한 報告가 드물다.

著者는 TBA(thiobarbituric acid)法(Yagi 法, 螢光法)을 利用하여 정상 한국인의 血清過酸化脂質을 測定하고 이와 연령 및 다른 脂質과의 關係를 觀察하였기에 보고하는 바이다.

對象 및 方法

1. 對 象

觀察對象은 病歷 및 理學的 所見上 脂質代謝의 異狀

을 認定할 수 없었고, 肝臟, 腎臟, 脾臟, 甲狀腺 및 糖尿病等이 없었던 正常韓國人 103例(16~76歲)를 對象으로 하였으며 性別 및 연령 分布는 Table 1과 같다.

2. 方 法

採血은 前日 午後 8時부터 禁食(약 12~14時間)시키고 다음날 食前 空腹時에 肘正中靜脈에서 施行하여

Table 1. Age and Sex Distribution of the Normal Subjects

Age(Ys)	Sex		Total
	Male	Female	
11~20	4	5	9
21~30	9	10	19
31~40	16	5	21
41~50	11	8	19
51~60	10	11	21
61~70	5	5	10
71~80	2	2	4
Total	57	46	103

mean age : 41.5 ± 16.2

Table 2. Procedure for Measurement of Serum Lipoperoxide, Cholesterol, Triglyceride, High Density Lipoprotein-Cholesterol and Fasting Blood Sugar(FBS)

1. Serum Lipoperoxide (TBA Method)

Blood 0.05 ml + 0.9% NaCl 1.0 ml	→ Centrifuge (3,000 rpm, 10 min)	Supernatant 0.5 ml + 1/12 N H ₂ SO ₄ 4.0 ml + 10% Phosphotungstic Acid 0.5 ml	→ Centrifuge (3,000 rpm, 10 min)
Sediment + 1/12 N H ₂ SO ₄ 2.0 ml + 10% Phosphotungstic acid 0.3 ml	→ Centrifuge (3,000 rpm, 10 min)	Sediment + Distilled Water 4.0 ml + TBA Reagent 1.0 ml	→ Heating at 95°C for 1 hour Cooling with Tap Water *MDA(malondialdehyde)
N-Butanol 5.0 ml	→ Centrifuge (3,000 rpm, 15 min)	Fluorometric Measurement (515 nm excitation, 553 nm emission)	

2. Serum Cholesterol and Serum Triglyceride: Enzyme Method

3. HDL-Cholesterol: Sedimentation Separation-Enzyme Method

4. FBS: Glucose Oxidase Method

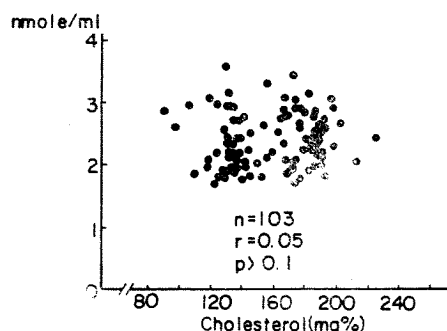


Fig. 1. The correlation between serum cholesterol and serum lipoperoxide level.

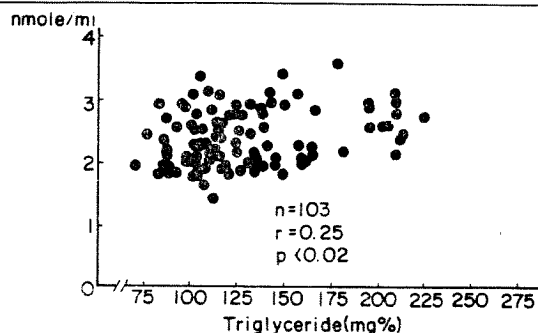


Fig. 2. The correlation between serum triglyceride and serum lipoperoxide level.

0.05 ml의 혈액을 1 ml의 생리식염수와 혼합한 후遠沈하여 이의 上清液을 使用하였으며 測定方法은 TBA法으로 螢光測定하였고(Table 2) 血清 cholesterol과 triglyceride는 酵素法으로 HDL-cholesterol은 沈澱分離酵素法으로, 空腹時 血糖은 glucose oxidase法으로 測定하였다.

觀 察 結 果

1) 血清 過酸化脂質은 男子에서 2.43 ± 0.47 nmoles MDA/ml, 女子에서 2.40 ± 0.38 nmoles MDA/ml로 男女間에 有意의인 差異는 없었고, 全體 平均値는 2.41 ± 0.45 nmoles MDA/ml 였다(Table 3).

2) 血清 cholesterol 値, HDL-cholesterol 値 및 空腹時 血糖値와 血清過酸化脂質과는 有意의인 關係가 없었다(各各 $r=0.05, -0.02, 0.1, p>0.1$)(Table 4, 5, Fig. 1, 3, 4).

3) 年齡의 增加와 血清 triglyceride 値의 增加에 따라 血清 過酸化脂質値는 有意한 增加를 보였다(各各 $r=0.51, p<0.001, p<0.02$)(Table 4, 5, Fig. 2, 5).

考 按

生體內에서 過酸化脂質의 生成은 老化現象을 비롯하여 退行性變化를 同伴하는 疾病의 原因으로 注目을 끌고 있다²⁻⁷⁾. 이러한 過酸化脂質의 生成은 脂質의 過酸化作用에 의해 일어나는데 脂質의 自動酸化는 free radicals 形成에 의하게 되며 이러한 radicals의 生成은 (1) thermal hemolysis of bonds, (2) one-electron redox formation, (3) high energy radiation and photolysis의 3가지 機轉에 의하여 일단 生成된 free radicals는 連鎖的인 反應을 일으켜 free radicals가 모두 消失될 때까지 반응이 일어난다^{8,9)}. 脂質이 酸素와 接觸하여 抗酸化劑가 消耗되고 free radicals가 蓄積

Table 3. Serum Lipoperoxide Levels in Normal Subjects

Age(Ys)	Sex(n mole MDA/ml)		Total (n mole MDA/ml)
	Male	Female	
11~20	1.95±0.07	1.98±0.14	1.97±0.12
21~30	2.08±0.30	2.23±0.35	2.16±0.34
31~40	2.40±0.42	2.24±0.26	2.36±0.39
41~50	2.52±0.38	2.62±0.30	2.56±0.35
51~60	2.52±0.51	2.53±0.27	2.53±0.40
61~70	2.81±0.31	2.38±0.26	2.59±0.36
71~80	3.15±0.30	3.08±0.23	3.12±0.27
Total	2.43±0.47	2.40±0.38	2.41±0.45

Table 4. Mean Values of Serum Cholesterol, Triglyceride, HDL-cholesterol and FBS

Cholesterol(mg%)			Triglyceride(mg%)			HDL-cholesterol(mg%)			FBS(mg%)		
Male	Female	Total	Male	Female	Total	Male	Female	Total	Male	Female	Total
151.4	168.6	159.1	131.2	131.9	131.5	38.2	39.1	38.6	95.2	101	97.8
±28.7	±29.6	±30.4	±40.6	±39.0	±40.0	±12.7	±12.4	±12.6	±15.1	±14.1	±14.9

* FBS : Fasting Blood Sugar

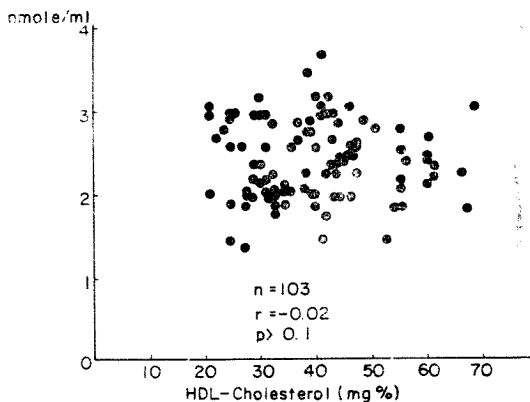


Fig. 3. The correlation between serum HDL-cholesterol and serum lipoperoxide level.

되는 時期를 酸素導入期라 하며 이 導入期를 短縮하여 酸化를 增強시키는 因子는¹⁰⁾ 온도의 상승, 방사선조사, 非極性溶媒의 使用, 表面-容量比의 增加, 脂肪酸鎖中 二重結合數의 增加, 촉매의 存在, 鐵 등 金屬의 存在 등으로 알려져 있다. 그外에 NADPH 依存性 酸素의 脂質 酸化나 活性酸素로서 Superoxide(O_2^-), 過酸化水素(H_2O_2), 一重項酸素(1O_2) 등에 의해 脂質의 過酸化가 일어난다^{10,11)}.

過酸化脂質의 測定方法은 TBA 法, ferric thiocya-

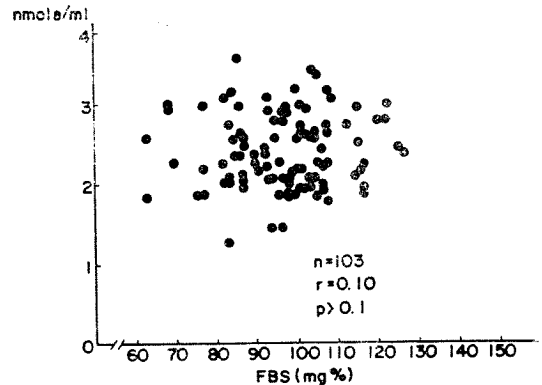


Fig. 4. The correlation between FBS and serum lipoperoxide level.

nide 法, E_{232} 法 등이 있으나 이 중에서도 TBA 法은 미량의 혈액 중에서도 비교적 正確하고 簡便하게 測定할 수 있다^{3,12)}.

이것은 과산화지질이 분해되어 malondialdehyde 나 2,4-dienals, 2-enals 를 形成하는데, TBA 와 malondialdehyde 生成物은 同一하기 때문에 이것을 測定하는 方法을 考案한 것이 TBA 法이다. 이때 문제되는 것은 血中の TBA 反應陽性物質로서 糖類, aldehyde 類, bilirubin 等이다. 이中 糖類는 硫酸과 phosphotu-

Table 5. The Correlation Coefficients of Serum Lipoperoxide Level to Other Serum Lipid, FBS and Age

	Correlation Coefficient	P Value
Cholesterol	0.05	$p > 0.1$
Triglyceride	0.25	$p < 0.02$
HDL-Cholesterol	-0.02	$p > 0.1$
FBS	0.10	$p > 0.1$
Age	0.51	$p < 0.001$

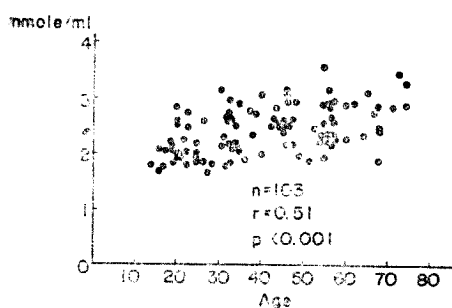


Fig. 5. The correlation between age and serum lipoperoxide level.

ngstic acid 로 처리됨으로 TBA 反應에 별 영향이 없으나 bilirubin 은 이러한 처리를 하여도 TBA 와 반응하여 450~580 nm 부근에서 폭넓게 吸收됨으로 hyperbilirubinemia 때는 比色法에 의한 限 當연히 영향을 받게 된다. 그러나 TBA 反應生成物을 n-butanol 로 처리한 후 그 抽出物을 螢光測定하면 533 nm 부근에서는 전혀 螢光이 없으므로 螢光分析을 利用한 TBA 法을 사용하면 bilirubin 의 영향도 제거시킬 수 있다¹³⁾.

正常人的 血清 過酸化脂質에 관하여 Suematsu 等⁶⁾은 男子 3.42 ± 0.94 nmoles MDA/ml, 女子 3.10 ± 0.62 nmoles MDA/ml 로 보고하였고, 朴等¹⁴⁾은 2.62 ± 0.63 nmoles MDA/ml 로 著者の 結果는 前者보다는 다소 낮고 後者와는 비슷하였다. 또한 血清 Cholesterol 值, triglyceride 值, HDL-cholesterol 値는 李¹⁵⁾, 劉¹⁶⁾, 李等¹⁷⁾의 結果와 비슷하였으며 過酸化脂質과의 상관관계에 대해서는 朴等¹⁴⁾은 血清 Cholesterol 과 total lipid 는 血清 過酸化脂質과 有意한 關係가 있었으나 血清 Triglyceride 와는 없다고 하였고 山崎等¹⁸⁾은 hypercholesterolemia 를 일으키는 閉塞性黃疸症에서 過酸化脂質은 증가된다고 하였으며 泰藹等¹⁹⁾은 cholesterol, phospholipid, triglyceride, free fatty acid

의 어떠한 것이나 有意한 상관관계는 없다고 하였고 佐藤等²⁰⁾도 血清 過酸化脂質과 血清 cholesterol 및 triglyceride 와는 유의한 상관관계가 없다고 하였다. 著者の 結果에서는 血清 triglyceride 와 有意한 關係를 보였고, 血清 cholesterol, HDL-cholesterol 과는 有意한 關係를 볼 수 없었으나 이는 脂質代謝에 이상이 없었던 正常人에서만 測定한 때문이라고 思考된다.

연령의 증가에 따라 血清 過酸化脂質도 증가한다고 알려져 있는데 山崎等¹⁸⁾은 健康人에 있어서 40歲以後에는 血清 過酸化脂質이 현저히 증가한다고 하였으며 Siakotos 等²¹⁾도 연령이 증가함에 따라 腦에서 lipofuscin 含量도 증가한다고 하였다. 著者の 結果에서도 비슷한 成績을 얻었다. 糖尿病 患者에서는 健康인에 비하여 血清 過산화지질치가 높다고 알려져 있으며, 특히 糖尿病性血管 장애를 동반할 때에는 그렇지 않은 경우보다 有意하게 血清 過酸化脂質이 증가된다고 하였다^{22~23)}.

血清 過酸化脂質의 生成은 生體內에서 여러 因子에 의해 영향을 받는데 이中에서도 연령의 증가, 放射線 또는 光線照射, 高脂血症, 消化管에서 吸收, 알코올 섭취 등에 의해서 증가되며 superoxide dismutase, glutathion peroxidase, Vit E 等에 의해 감소된다^{11, 13, 24, 25)}.

現在까지는 過酸化脂質이 細胞의 老化나 퇴행성질환과 깊은 關係가 있다고 思考되고 있으며 TBA 法에 의하여 過산화지질을 比較的 손쉽게 測定함으로써 다른 脂質과의 상관관계, 연령의 증가와의 關係등을 알 수 있었고, 특히 糖尿病이나 高血壓, 高脂質血症, 心血管系疾患 등과 같은 病的인 狀態와 같이 관찰하면 더욱 뜻 있는 結果를 얻을 수 있을 것으로 思考된다.

結 論

脂質代謝에 異狀이 없었던 正常 한국인 103例에서 TBA 法을 利用하여 血清 過酸化脂質을 測定하고 血清 cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol, FBS 및 연령과의 상관관계를 관찰하였던 바 다음과 같은 結果를 얻었다.

1) 血清 過酸化脂質値는 男子에서 2.43 ± 0.47 nmoles MDA/ml, 女子에서 2.40 ± 0.38 nmoles MDA/ml 로 男女間에 有意한 차이는 없었고 전체 平均値는 2.41 ± 0.45 nmoles MDA/ml 였다.

2) 血清 cholesterol 值, HDL-cholesterol 值 및 空腹時 血糖値와 過酸化脂質値와는 有意한 關係가 없었

다(各各 $r=0.05$, -0.02 , 0.1 , $p>0.1$).

3) 年齢의 증가 및 血清 triglyceride 値와 血清 過酸化脂質値와는 有意한 關係를 보였다(各各 $r=0.51$, 0.25 , $p<0.001$, $p<0.02$).

REFERENCES

- 1) Glavind, J., Hartmann, S., Clemunessen, J., Jessen, K.E. and Dam, H.: *Studies on the role of lipoperoxides in human pathology. II. The presence of peroxidized lipids in the atherosclerotic aorta. Acta. Pathol. Microbiol. Scand.*, 30:1, 1952.
- 2) 八木國夫: Thiobarbituric acid 螢光法による血漿または血清中の過酸化脂質定量法. *ビタミン*, 49: 403, 1975.
- 3) Yagi, K.: *A simple fluorometric assay for lipoperoxidation in blood plasma. Biochem. Med.*, 15:212, 1976.
- 4) Hiramitsu, T., Hasegawa, Y., Hirata, K., Nishigaki, I. and Yagi, K.: *Formation of lipoperoxide in retina of rabbit exposed to high concentration of oxygen. Experientia*, 15:622, 1976.
- 5) 八木國夫: 血漿 過酸化脂質の微量定量. *日本藝事新報*, 2748:100, 1976.
- 6) Suematsu, T., Kamada, T., Abe, H., Kikuchi, S. and Yagi, K.: *Serum lipoperoxide level in patients suffering from liver disease. Clin. Chim. Acta.*, 79:267, 1977.
- 7) 木畑正義, 清水能人, 三宅宣浩, 下野雅道, 正路浩二郎, 官原潔, 淵木武文, 那須祥克: 腦卒中發作時の血中 α -トコフェロールおよび TBA 反應物質について. *醫學のあゆみ*, 101:591, 1977.
- 8) Pryor, W.A.: *Free radical reactions and their importance in biochemical systems. Federation Proc.*, 32:1862, 1973.
- 9) Walling, C.: *Free radicals in solution. New York, Wiley*, p.507, 1957.
- 10) 今井陽: 自然界におけるフリーラジカル生成機構と生體への影響. *最新醫學*, 33(4):2, 1978.
- 11) Kellogg, E.W. and Fridovich, I.: *Superoxide, hydrogen peroxide and singlet oxygen in lipid peroxidation by a xanthine oxidase system. J. Biol. Chem.*, 250:8812, 1975.
- 12) Willis, E.D.: *Mechanism of lipid peroxide formation in animal tissue. Biochem. J.*, 90:667, 1966.
- 13) 大石誠子: 過酸化脂質測定法. *最新醫學*, 33(4): 8, 1978.
- 14) 朴正植, 崔允植, 李迎雨: 正常韓國人 및 各種疾患에서의 血清 過酸化脂質에 關한 研究. *순환기*, 37:p(2), 1979.
- 15) 李迎雨: 正常人 및 各種 疾患에서의 血清脂質에 關한 研究. *大韓內科學會雜誌*, 13:303, 1970.
- 16) 劉元相: 韓國人の 血清脂質에 關한 研究. *순환기*, 4(1):1, 1974.
- 17) 李禎均: 韓國人の 血清脂質에 關한 研究. *순환기*, 4(2):25, 1974.
- 18) 山崎晴一郎, 近藤重信: 生體內 過酸化脂質 濃度とその變動因子. *最新醫學*, 33(4):30, 1978.
- 19) 泰葭哉, 相原和男: 動脈硬化と過酸化脂質, 第19回日本老年醫學會ツソボジウム「過酸化脂質の臨床」, 1977年 9月 30日.
- 20) 佐藤祐造, 坂木信夫: 糖尿病と過酸化脂質. *最新醫學*, 33(4):63, 1978.
- 21) Siakotos, A.N., et al.: *Biochemical significance of age pigment in neurons. The aging brain and senile dementia*(Ed. Nandy. K. & Sherwin. I.) *Adv. in Behavioral Biology. Vol. 23, Plenum Press. N.Y.*, pp.99, 1977.
- 22) Dormandy, J.A., Hoare, E., Colley, J., Arrowsmith, D.E. and Dormandy, T.L.: *Clinical haemodynamic, rheological and biochemical findings in 126 patients with intermittent claudication. Br. Med. J.*, 4:576, 1973.
- 23) Dormandy, J.A., Hoare, E., Khattab, A.H., Arrowsmith, D.E. and Dormandy, T.L.: *Prognostic significance of rheological and biochemical findings in patients with intermittent claudication. Br. Med. J.*, 4:581, 1973.
- 24) Harmen, D.: *Free radical theory of aging. Effect of free radical reaction inhibitors on the mortality rate of male LAF mice. J. Geront.*, 23:476, 1968.
- 25) Saltzman, H.A. and Fridovich, I.: *Introduction to a protective enzyme: Superoxide dismutase. Circulation*, 48:921, 1973.