

일부 남녀 대학생에서 혈장 호모시스테인 농도와 산화 스트레스 지표와의 상관관계*

김정신¹ · 박은주² · 민혜선¹ · 강명희^{1§}

한남대학교 대덕밸리캠퍼스 생명나노과학대학 식품영양학과,¹ 경남대학교 생명과학부 식품영양학과²

Relationships of Plasma Homocysteine Concentration and Oxidative Stress Markers in Korean Collage Students*

Kim, Jung Shin¹ · Park, Eunju² · Min, Hyesun¹ · Kang, Myung-Hee^{1§}

¹Department of Food and Nutrition, Daeduk Valley Campus, Hannam University, Daejeon 305-811, Korea

²Department of Food and Nutrition, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

ABSTRACT

Elevated plasma concentration of total homocysteine (ptHcy) is known as an independent risk factor of cardiovascular disease (CVD) and oxidative stress is also commonly implicated in CVD. An association between ptHcy and oxidative stress has recently been suggested. The study objective is to examine the relationship between ptHcy and oxidative stress markers in 103 healthy college students (62 males and 41 females). Plasma levels of ptHcy, oxidative stress markers (conjugated diene, erythrocyte catalase, TRAP, lymphocyte DNA damage), antioxidant vitamins (α -tocopherol, γ -tocopherol, carotenoids), and lipid parameters (total cholesterol, triglyceride, HDL cholesterol) were determined. The results show that the concentration of ptHcy was significantly higher in male subjects ($22.17 \pm 2.14 \mu\text{mole/L}$) than in female subjects ($12.28 \pm 0.45 \mu\text{mole/L}$). There was a negative association between ptHcy and plasma β -carotene in male subjects ($p < 0.05$), but no correlation between ptHcy and other plasma antioxidant vitamin levels in either gender. However, there were the negative correlations between ptHcy and plasma α -carotene or β -carotene, and a positive correlation between ptHcy and lymphocyte DNA damage. A significantly low level of α -carotene or β -carotene was found in male subjects with elevated ptHcy ($\geq 15 \mu\text{mol/L}$), as compared to those with lower plasma homocysteine. These study results confirmed the views on the association between plasma homocysteine and oxidative stress markers in humans and support the hypothesis that homocysteine promotes the oxidative environment by counteracting the antioxidant defense mechanism. (Korean J Nutr 2010; 43(5): 443~452)

KEY WORDS: plasma homocysteine, oxidative stress, plasma β -carotene, lymphocyte DNA damage, college students.

서론

호모시스테인은 합황 아미노산인 메티오닌 (methionine) 이 대사되는 중에 생기는 물질로서¹⁾ 심혈관질환의 독립적인 위험인자이며,²⁾ 혈장 총 호모시스테인 수준이 올라가면 흡연, 고혈압, 고지혈증 등 심혈관질환 위험인자의 영향력이 증가한다.³⁾ 그러나 동맥경화와 심혈관질환의 병인에 있

어서 호모시스테인의 정확한 역할은 아직도 논쟁 중이다.⁴⁾ 혈장 총 호모시스테인 (p-tHcy) 농도가 심혈관질환 위험을 증가시키는 병리-생리적 기전을 밝히려는 노력이 많이 시도되고 있으나, p-tHcy이 혈관 기능장애를 일으키는 원인인지 혹은 혈관 기능장애의 부차적 지표인지는 아직 밝혀지지 않고 있다.⁵⁾ 이러한 논쟁은 세포에서 산화 스트레스에 따라 영향을 받는 호모시스테인의 대사가 복잡하기 때문일지도 모른다.⁶⁾

최근 p-tHcy 농도는 심혈관질환의 위험인자인 동시에 산화 스트레스, 혹은 내피 기능장애와도 관련 있음이 보고되고 있으며,⁷⁾ 이에 따라 호모시스테인이 프로-옥시던트 (pro-oxidant)로 작용한다는 산화적 활성 기전도 제안되고 있다.⁸⁾ Ventura 등⁹⁾은 호모시스테인 농도가 $>20 \mu\text{mol/L}$

접수일 : 2010년 9월 10일 / 수정일 : 2010년 9월 16일

채택일 : 2010년 9월 28일

*This research was supported by grants of the Hannam University in 2010.

[§]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: mhkang@hnu.kr

이상인 노인 환자의 경우 슈퍼옥사이드 음이온 생산이 높음을 보여 호모시스테인이 활성산소종 (ROS, reactive oxygen species)의 생산을 유도하는 결과로부터 호모시스테인과 산화스트레스 사이에 강하고 독립적인 상관성이 있음을 보고하였다.

그 동안 p-tHcy와 심혈관질환 위험인자 사이의 관련성에 대한 여러 기전이 제시되었다.¹⁰⁾ 그 중 하나가 호모시스테인이 프로-옥시던트로 작용한다는 Hcy의 산화적 활성화 전이다.⁸⁾ 호모시스테인은 *in vitro*에서 과산화수소 (H_2O_2)를 생성함으로써 프로-옥시던트 활성을 유도하며, 이 슈퍼옥사이드 음이온은 산화질소 (NO, nitric oxide)가 있으면 강력한 산화제인 과산화아질산염 (peroxynitrite)을 생성하는 것이 보고되었다.¹¹⁾ 또 다른 연구에서 혈장 호모시스테인의 증가는 H_2O_2 생성을 증가시키고 주요 항산화 효소들인 glutathione peroxidase, superoxide dismutase (SOD), catalase의 활성을 감소시키며 이로써 산화 스트레스가 증가함이 관찰되었다.¹²⁾ 그러나 호모시스테인의 이러한 프로-옥시던트 역할 기전은 주로 *in vitro* 연구결과로부터 제시된 것이며¹³⁾ 이런 결과들이 *in vivo* 조건에서도 나타나는지에 대해서는 아직 확실치 않다.

Voutilainen 등¹⁴⁾은 혈장 호모시스테인 농도가 올라갈 때 지질 과산화가 증가함을 관찰함으로써 *in vivo*에서 산화 스트레스와 고호모시스테인혈증 (hyperhomocysteinemia)과의 관련성을 증명하였다. Kanani 등¹⁵⁾은 비타민 C를 보충해 주었을 때 호모시스테인으로 유발될 수 있는 내피세포 손상을 예방할 수 있었는데 이는 비타민 C는 활성산소종 (ROS)의 잠재적 제거자 (scavenger)이기 때문에 슈퍼옥사이드 음이온에 의한 NO의 비활성화를 예방할 수 있기 때문이라고 하였다. 비타민 E의 보충도 인체에서 고호모시스테인혈증에 의해 야기된 내피세포 손상을 예방함이 보고되었으며,¹⁶⁾ 항산화제인 멜라토닌 (melatonin)은 하이드록시 라디칼 (hydroxyl radicals)을 제거해 줌으로써 체대동맥에 대한 호모시스테인의 수축성 효과를 감소시킴도 관찰되었다.¹⁷⁾ 이러한 *in vivo* 연구들은 대부분 유전적 요인으로 인해 p-tHcy 농도가 예외적으로 무척 높은 대상자에 대한 연구이거나, 혹은 일시적으로 p-tHcy를 늘리기 위해 갑자기 높은 농도의 메티오닌을 투여한 연구들이므로 다소 제한점이 있기는 하나, 고호모시스테인혈증은 산화 스트레스와 관련된 기전에 의해 내피세포 관련 혈관확장을 손상시키며, 결국 호모시스테인이 내피세포에 해로운 영향을 주는 기전이 산화 스트레스라는 관점을 지지하는 것이다.

반면, 노인을 대상으로 연구하였을 때 혈장 호모시스테인 농도와 지질 과산화나 항산화 시스템 사이에 관련성이

없었으며,¹⁸⁾ 그 외 다른 인구집단을 대상으로 한 역학조사 결과들도 대상자의 p-tHcy와 항산화 지표들 사이에 상관성을 발견하지 못하였다.^{10,19)} Dudman 등²⁰⁾은 고호모시스테인혈증 환자를 대상으로 관찰한 결과 지질 과산화 수준이 올라가지 않았고 혈관의 손상도 산화 스트레스 기전에 의해 일어난 것이 아님을 밝혔다. 이와 같이 현재까지 *in vivo*로 수행되는 인구집단 대상 연구에서 호모시스테인으로 유도된 내피 기능의 저해와 산화 스트레스 사이에 어떤 관련성이 있는지에 대해서는 아직도 일관된 견해가 확립되지 않고 있다.²¹⁾ 한편 국내에서는 주로 혈장 호모시스테인 수준과 엽산, 비타민 B군과의 관련성을 본 연구들^{22,23)}이 수행되고 있을 뿐, 혈장 호모시스테인 수준과 산화 스트레스 지표들과의 관련성을 본 연구는 아직까지 보고된 바 없다.

따라서 본 연구는 *in vivo*에서도 신체 내 산화 스트레스가 호모시스테인으로 인해 유도될 수 있다는 가정 하에 우리나라 건강한 남녀 대학생을 대상으로 혈장 호모시스테인 수준과 여러 산화 스트레스 지표 요인을 측정 후 혈장 호모시스테인 농도가 신체 항산화 상태 혹은 항산화 손상과 어떻게 관련되어 있는지 보려는 목적으로 시도되었다.

재료 및 방법

대상자 선정 및 설문지

본 연구는 대전지역에 거주하는 19~28세의 건강한 남녀 대학생 109명 (남자 대학생 66명, 여자 대학생 43명)을 대상으로 실시되었다. 설문지의 내용은 나이, 건강상태 등 일반사항, 흡연에 관한 사항, 운동에 관한 사항, 알코올 섭취 여부 등으로 구성하였다. 흡연에 관한 사항은 흡연여부, 흡연량, 흡연력, 금연기간 등을 조사하였고, 운동에 관한 사항은 운동의 규칙성, 운동 횟수, 운동량, 운동 강도 및 종류에 대한 내용을 조사하였다. 설문지를 통하여 대상자의 인구학적 특성, 건강상태 및 생활습관 (흡연, 음주, 운동 등)을 조사하였으며, 회수된 설문지를 검토하여 설문지 대답이 불성실한 사람과 비타민 영양제를 복용하고 있는 사람은 대상자에서 제외하였다.

생활습관 및 신체계측 조사

나이, 성별을 조사하고 생활습관으로는 흡연여부, 알코올 섭취 여부, 운동여부를 설문지를 통해 조사하였다. 대상자들의 흡연상태로는 흡연력과 흡연량을 조사하였으며, 이 자료로부터 1년에 한 갑 (20개피)의 담배를 피우는 것으로 환산한 흡연력 (pack years)을 구하였다. 음주습관은 술의 종류와 섭취량을 조사한 후에, 하루에 섭취하는 알코올

의 증량으로 환산하였다. 대상자들의 운동습관은 일주일에 규칙적인 운동을 몇 회나 하는지, 한번 운동할 때의 운동 시간은 얼마나 되는지를 질문지로 조사하여 1일 운동시간으로 환산하였다. 신장은 신장계로, 체중은 체중계로 측정하였고, 체지방량과 체지방율은 생체 임피던스 측정기 (Bio-space Co., Ltd. In body 2.0)을 이용하여 측정하였으며 측정된 지표로부터 WHR (waist-hip circumference ratio) 및 BMI를 구하였다.

재 혈

총 109명의 대상자로부터 본인의 동의를 얻어 채혈을 하였다. 대상자들은 채혈하기 전 8시간 이상 음식물을 먹지 않도록 지도하였으며 채혈 당일 아침식사 전에 이틀로부터 약 10 mL의 혈액을 제공받아 분석에 사용하였다. 대상자들의 혈액은 아침식사 전에 12 mL 정도 채혈 후 2 개의 서로 다른 시험관에 분주하였다. Comet assay를 위해서는 헤파린 처리된 100 μ L sterile tube에 전혈 (whole blood)을 담고, 나머지 혈액은 lithium-heparin polystyrene tube에 담아 1,000 rpm에서 10분간 원심 분리한 후 얻어진 platelet-rich-plasma는 ascorbic acid 측정을 위해 분리하였다. 분리하고 남은 platelet-rich-plasma는 다시 3,000 rpm에서 15분간 원심 분리한 후 항산화 비타민 및 TRAP 분석을 위해 -80°C 냉동고에 보관하였다. 적혈구는 isoosmotic phosphate buffered saline으로 처리한 후 질소를 채운 뒤 항산화 효소 분석을 위해 -80°C 냉동고에 보관하였다.

혈장 항산화 비타민 측정

대상자들의 혈장 α -tocopherol, γ -tocopherol 및 carotenoids는 ethanol로 단백질을 제거하고 n-hexane으로 지방을 추출한 후 rotary evaporator로 hexane을 증발시키고, mobile phase (metanol: dichloromethane = 85 : 15)에 녹여 HPLC로 측정하였고²⁴⁾ HPLC 분석 조건은 Table 1에 제시하였다.

혈장 호모시스테인 농도 분석

혈장 호모시스테인 농도는 Araki와 Sako의 HPLC법²⁵⁾

을 일부 수정한 방법²⁶⁾을 이용하여 분석하였다. 혈장 호모시스테인의 티올기와 ammonium 7-fluorobenzo-2-oxa-1,3 diazole-4-sulphonate를 반응시켜 높은 형광성을 나타내면서 안정한 성질의 형광물질을 형성시켰다. ODS Hypersil analytical column (250 \times 4.6 mm, I.D. 5 μ m, Thermo-Keysone, Runcorn, Great Britain)을 이용하여 분리한 후 RF-10AXL fluorescence detector (Shimadzu, Kyoto, Japan)로 정량하였다.

혈장 총 유리기 포집 항산화능 측정

최근에 개발된 혈장 총 유리기포집 항산화능 (TRAP, total radical-trapping antioxidant potential) 측정법은 혈장 내 α -tocopherol, ascorbate, urate, protein sulfhydryl groups 등의 항산화제들의 복합된 활성을 측정하여 혈장의 총 유리기 포집 항산화능을 나타내므로 시간과 노력을 절약할 수 있는 매우 유용한 방법이다. 혈장 중 TRAP은 Rice-Evans and Miller의 inhibition assay 법²⁷⁾에 따라 분석하였다. 이 방법은 ABTS (2, 2'-azinobis (3-ethylbenzothiazol-5-yl) dihydrochloride, 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 라디칼 양이온의 흡광도를 측정하는데 기초를 두고 있으며 그 흡광도의 억제 정도는 샘플 (0.84% plasma)에 들어 있는 항산화능에 비례하게 된다. 샘플을 6분 동안 30°C 에서 배양한 후 UV/VIS 분광광도계로 740 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 혈장의 TRAP 농도는 trolox의 검량곡선 (calibration curve)을 이용하여 계산하였으며 TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity, mM)로 표현하였다.

적혈구 Catalase 활성도 측정

적혈구내 항산화 효소인 catalase의 분석은 UV/VIS 흡광광도계에 의해 측정하였다.²⁸⁾ 카탈라아제의 활성은 용혈된 적혈구에 50 mM phosphate buffer (pH 7)와 과산화수소를 첨가한 후 과산화수소의 감소량을 240 nm에서 30 초간 측정하였다.

Alkaline comet assay를 이용한 임파구 산화적 DNA 손상도 측정

Alkaline comet assay는 선행연구²⁹⁾에서와 같이 Singh³⁰⁾의 방법을 수정, 보완하여 실시하였다. 임파구는 신선한 전혈 70 μ L을 1 mL의 PBS에 섞은 후 Histopaque 1077를 이용하여 분리해 내었다. 임파구 DNA에 산화적 스트레스를 가하기 위해 200 μ M H_2O_2 를 사용하였다. Alkali lysis

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)

buffer를 사용하여 DNA의 이중 나선을 풀어주었으며 lysis 가 끝난 slide를 전기영동 buffer로 40분 동안 unwinding 시켜 DNA의 alkali labile sites가 드러나게 한 후 25 V/300 ± 3 mA의 전압을 걸어 20분간 전기영동을 실시하였다. 20 µL/mL 농도의 ethidium bromide로 핵을 형광 염색하고 cover glass로 덮은 뒤 형광현미경 (Leica, Germany)으로 관찰하면서 CCD 카메라 (Nikon, Japan)를 통해 보내진 각각의 세포핵 이미지를 Komet 4.0 comet image analyzing system (Kinetic Imaging, UK)이 설치된 컴퓨터 상에서 분석하였다. 임파구의 DNA 손상 정도는 핵으로부터 이동한 DNA 파편의 거리 (tail length, TL) 또는 tail length에 tail내 함유된 DNA%를 곱해준 tail moment (TM) 값을 측정하여 나타내었으며 각 대상자 당 2개의 슬라이드를 만들어 각각 50개씩 총 100개의 임파구에서 DNA 손상 정도를 측정하였다.

혈장 지질 수준 분석

혈장 총 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤 및 중성지방 수준은 (주)인화제약의 kit 시약을 이용하여 Photometric Autoanalyzer (Biotron Scientific instruments BTR 815)로 측정하였다. LDL 콜레스테롤은 Friedwald식을 이용하여 계산하였다.³¹⁾

혈장 Conjugated diene (CD) 분석

CD형성은 지질의 과산화 현상으로 생기는 컷 물질이므로³²⁾ LDL 산화 정도를 보기 위해 혈장 CD 수준을 분석하였다. 혈장 (1 mg/mL EDTA)에 trisodium citrate buffer (pH 5.05, 5N HCl, 50,000 IU/L heparin)를 넣어 LDL을 침전시키고 Na-phosphate buffer (pH 7.4, 0.9% NaCl)로 녹였다. 다음으로는 chloroform : methanol (2 : 1) 3 mL을 첨가하고 증류수를 1 mL 넣은 후 지용성 부분만 취

하여 회전증발기로 증발시켰다. 이것을 cyclohexane 1 mL로 녹인 후 234 nm에서 흡광광도계로 분석하였다.³³⁾

자료의 통계처리 및 각 요인과의 상관관계 분석

모든 자료는 MS의 excel database system을 이용하여 입력한 후 SPSS-PC+ 통계 package (version 10.0)를 사용하여 처리하였다. 각 항목에 따라 백분율과 평균치 ± 평균오차 (SE)를 구하였으며 두 군 간의 평균치 비교는 Student t-test로 검증하였다. 변수들 간의 이변량 상관관계는 Pearson's correlation coefficient인 r 계수로 검증하였다.

결 과

대상자의 일반사항 및 생활습관

설문지를 통하여 일반 인구특성 및 흡연 등 생활습관을 조사하고 신체계측 조사 (신장, 체중, BMI, WHR 및 체지방량 등)를 실시한 결과는 Table 2와 같다. 전체 대상자는 103명이었으며 남자 62명, 여자 41명이었다. 평균 나이는 남자 24.3세, 여자 21세였으며 BMI, 허리-엉덩이 둘레 비 및 허리둘레 등은 남녀 모두 정상 범위 안에 속하였다. 전체 대상자 중 흡연자 비율은 남자 94.6%, 여자 4.9%였으며, 하루에 한 갑 (20개피) 피우는 것으로 환산한 남자흡연자의 흡연력 (pack-years)은 4.7년이었다. 음주자 비율은 남자 90.9%, 여자 78.6%였으며 평균 음주량은 일주일당 알코올 섭취량으로 계산하였을 때, 남자 138.3 g, 여자 45.2 g이었다. 규칙적으로 운동을 하고 있는 사람은 남자 36.5%, 여자 7.1%였으며 운동을 하는 사람의 하루 평균 운동시간은 남자 26.8분, 여자 9.3분이었다.

혈장 호모시스테인, 지질과산화 수준 및 지질 양상

Table 3에는 대상자의 혈장 호모시스테인과 지질 과산화

Table 2. Characteristics of the subjects by sex (mean ± SE; n = 103)

Characteristics	Male	Female
Number of subjects	62	41
Age, years (range)	24.3 ± 0.3 (19 - 28)	21.0 ± 0.1 (20 - 23)
BMI, kg/m ²	22.3 ± 0.3	21.2 ± 0.3
WHR (waist-hip ratio)	0.82 ± 0.01	0.72 ± 0.00
Waist circumference (cm)	76.1 ± 0.9	66.8 ± 0.6
Percentage of smokers	54.8%	2.4%
Number of cigarettes smoked/day ¹⁾	14.6 ± 1.5	- ³⁾
Number of years of smoking	6.0 ± 0.5	-
Number of pack-years ²⁾	4.7 ± 0.7	-
% of alcohol drinkers (consumption of alcohol, g/week)	90.9% (138.3 ± 22.8)	78.6% (45.2 ± 11.2)
% of undertaking regular exercise (exercise time, min/day)	36.5% (26.8 ± 3.7)	7.1% (9.3 ± 2.6)

1) The average tar content of the cigarettes smoked by volunteers in the range of 6.0 - 7.0 mg/cigarette 2) Pack-years = (cigarettes smoked/day) × years smoked/20 3) Data is not available

수준, 그리고 혈장 지질 양상이 나와 있다. 남자의 혈장 호모시스테인 농도는 $22.2 \pm 2.1 \mu\text{mole/L}$ 로써 여자 ($12.3 \pm 0.5 \mu\text{mole/L}$)에 비해 유의적으로 높았으며 ($p < 0.01$), 지질 과산화의 결과로 생성되는 conjugated diene (CD) 수준은 여자 ($8.6 \pm 0.33 \mu\text{mole/L}$)에 비해 남자 ($7.8 \pm 0.26 \mu\text{mole/L}$)에서 다소 낮은 경향을 보였으나 유의적인 차이는 보이지 않았다. 혈장 중성지방 농도는 남자 ($104.7 \pm 6.9 \text{ mg/dL}$)에 비해 여자 ($87.0 \pm 4.1 \text{ mg/dL}$)에게서 유의적으로 낮았으나 ($p < 0.05$) 나머지 혈장 총 콜레스테롤, LDL- 및 HDL-콜레스테롤 수준은 성별 차이를 보이지 않았다.

혈장 항산화 비타민 및 유리기 포집 항산화능 (TRAP) 수준

대상자의 혈장 항산화 비타민 및 유리기 포집 항산화능 (total radical-trapping antioxidant potential, TRAP) 수준을 본 결과는 Table 4와 같다. 남자의 경우 혈장 α -Tocopherol (혈장 α -Tocopherol/total cholesterol 및 α -Tocopherol/triglyceride 포함), 혈장 γ -tocopherol/triglyceride 및 β -carotene 수준은 여자에 비해 유의적

로 낮은 반면 ($p < 0.01$) 혈장 lycopene 수준은 여자에 비해 남자에서 높았다 ($p < 0.05$). 나머지 항산화 비타민들은 성별차이를 보이지 않았다. 신체 내 유리기 포집 항산화 능력을 나타내주는 혈장 TRAP 농도는 성별 차이를 보이지 않았다.

적혈구 Catalase 수준 및 임파구 DNA 손상

대상자의 적혈구 catalase 활성도 및 임파구 DNA 손상을 본 결과는 Table 4와 같다. 적혈구 catalase 활성은 남자 ($38.8 \pm 0.57 \text{ k/g Hb}$)에서 여자 ($42.7 \pm 0.62 \text{ k/g Hb}$)에 비해 유의적으로 낮았다 ($p < 0.01$). 임파구 DNA 손상 정도는 tail length (TL)로 보았을 때는 차이가 없었으나 tail moment (TM)로 보았을 때 여자 ($99.96 \pm 3.30 \mu\text{m}$)에 비해 남자 ($107.20 \pm 4.90 \mu\text{m}$)에서 유의적으로 높았다 ($p < 0.01$).

혈장 호모시스테인 수준과 항산화 관련요인과의 관계

혈장 호모시스테인 농도와 항산화 지표들과의 상관관계를 본 결과는 Table 5와 같다. 남자에서 혈장 호모시스테인과 β -carotene 수준 사이에 역의 상관관계 ($r = -0.293, p < 0.05$)가 나타났을 뿐, 그 외 남녀 대상자 모두에서 혈장 호모시스테인 수준과 나머지 혈장 항산화 비타민 수준 사이에 아무런 상관성을 볼 수 없었다. 남녀 대상자의 혈장 호모시스테인 수준은 혈장 TRAP, 과산화지질 정도를 나타내주는 혈장 CD, 적혈구 catalase 활성도 및 임파구 DNA 손상도와도 아무런 유의적인 상관성을 보이지 않았다.

그러나 남자와 여자를 모두 합하여 혈장 호모시스테인 수준과의 상관성을 본 결과, 혈장 호모시스테인 수준과 혈장 α -carotene ($r = -0.203, p = 0.04$) 및 β -carotene

Table 3. Plasma total homocysteine, lipid profiles, and conjugated diene concentration of the subjects by sex (Mean \pm SE; n = 103)

	Male (n = 62)	Female (n = 41)
Homocysteine ($\mu\text{mol/L}$)	22.2 ± 2.1	$12.3 \pm 0.5^{**}$
Total cholesterol (mg/dL)	161.3 ± 5.6	161.2 ± 3.8
LDL-cholesterol (mg/dL)	98.7 ± 4.6	92.8 ± 3.4
HDL-cholesterol (mg/dL)	49.8 ± 1.6	51.5 ± 2.2
Triglyceride (mg/dL)	104.7 ± 6.9	$87.0 \pm 4.1^*$
Conjugated diene ($\mu\text{mole/L}$)	7.8 ± 0.3	8.6 ± 0.3

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$

Table 4. Plasma concentration of antioxidant vitamins, TRAP, erythrocyte catalase activity, and lymphocyte DNA damage of the subject by sex (Mean \pm SE; n = 103)

	Male (n = 62)	Female (n = 41)
Plasma α -Tocopherol ($\mu\text{g/dL}$)	1344.8 ± 49.8	$1639.4 \pm 62.4^{**}$
α -Tocopherol/Total cholesterol	8.8 ± 0.4	$10.4 \pm 0.4^*$
α -Tocopherol/Triglyceride	14.7 ± 0.9	$20.4 \pm 1.0^{**}$
Plasma γ -tocopherol ($\mu\text{g/dL}$)	171.4 ± 9.3	187.7 ± 8.3
γ -tocopherol/Total cholesterol	1.1 ± 0.1	1.2 ± 0.1
γ -tocopherol/Triglyceride	1.9 ± 0.1	$2.4 \pm 0.1^*$
Plasma lycopene ($\mu\text{g/dL}$)	12.7 ± 0.8	$10.3 \pm 0.8^*$
Plasma α -carotene ($\mu\text{g/dL}$)	6.0 ± 0.3	7.0 ± 0.4
Plasma β -carotene ($\mu\text{g/dL}$)	17.9 ± 1.2	$31.0 \pm 2.5^{**}$
Plasma TRAP (mmol/L)	1.4 ± 0.0	1.3 ± 0.0
Erythrocyte catalase (k/g Hb)	38.8 ± 0.6	$42.7 \pm 0.6^{**}$
Lymphocyte DNA damage (TM, μm)	39.6 ± 3.3	$27.0 \pm 1.7^{**}$
Lymphocyte DNA damage (TL, μm)	107.2 ± 4.9	100.0 ± 3.3

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$

Table 5. Correlation coefficients between plasma homocysteine concentration and antioxidant parameters of the subjects

	Male (n = 62)		Female (n = 41)		Total (n = 103)	
	r	p	r	p	r	p
Plasma α -Tocopherol	0.014	NS	-0.072	NS	-0.115	NS
Plasma γ -tocopherol	-0.110	NS	0.053	NS	-0.127	NS
Plasma α -Carotene	-0.205	NS	-0.005	NS	-0.203*	0.04
Plasma β -Carotene	-0.293*	0.022	0.059	NS	-0.294**	0.003
Plasma lycopene	-0.051	NS	0.001	NS	-0.02	NS
Plasma TRAP	0.046	NS	0.115	NS	0.094	NS
Plasma conjugated diene	-0.140	NS	0.204	NS	-0.151	NS
Erythrocyte catalase	-0.042	NS	-0.164	NS	-0.181	NS
Lymphocyte DNA damage	0.157	NS	0.207	NS	0.234*	0.022

*: p < 0.05, **: p < 0.01

Table 6. Plasma concentrations of antioxidants, conjugated diene, erythrocyte catalase and lymphocyte DNA damage in regard to hyperhomocysteinemia by sex (mean \pm SE; n = 103)

	Male		Female		Total	
	p-Hcy < 15 μ mol/L (n = 29)	p-Hcy \geq 15 μ mol/L (n = 33)	p-Hcy < 15 μ mol/L (n = 33)	p-Hcy \geq 15 μ mol/L (n = 8)	p-Hcy < 15 μ mol/L (n = 62)	p-Hcy \geq 15 μ mol/L (n = 42)
	Plasma α -Tocopherol (μ g/dL)	1384 \pm 81	1310 \pm 61	1625 \pm 70	1695 \pm 142	1510 \pm 55
Plasma γ -tocopherol (μ g/dL)	176.2 \pm 11.3	166.9 \pm 14.6	188.9 \pm 9.3	182.6 \pm 19.2	182.9 \pm 7.2	170.1 \pm 12.2
Plasma α -Carotene (μ g/dL)	6.7 \pm 0.4	5.4 \pm 0.4*	6.8 \pm 0.5	7.4 \pm 0.6	6.8 \pm 0.3	5.8 \pm 0.4*
Plasma β -Carotene (μ g/dL)	21.1 \pm 1.9	15.0 \pm 1.4*	29.7 \pm 2.3	35.7 \pm 8.6	25.7 \pm 1.6	19.1 \pm 2.4*
Plasma TRAP (mmol/L)	1.3 \pm 0.0	1.3 \pm 0.1	1.3 \pm 0.0	1.3 \pm 0.0	1.3 \pm 0.2	1.3 \pm 0.0
Plasma conjugated diene (μ mol/L)	8.1 \pm 0.5	7.5 \pm 0.3	8.4 \pm 0.3	9.3 \pm 1.0	8.2 \pm 0.3	7.8 \pm 0.3
Erythrocyte catalase (K/g Hb)	38.9 \pm 0.9	38.7 \pm 0.7	42.8 \pm 0.7	41.9 \pm 1.5	41.0 \pm 0.6	39.4 \pm 0.7
Lymphocyte DNA damage (Tail moment)	38.4 \pm 5.1	38.2 \pm 4.5	25.4 \pm 1.7	29.8 \pm 4.2	31.7 \pm 2.7	36.4 \pm 3.7

*: p < 0.05

($r = -0.294$, $p = 0.003$) 수준 사이에 유의적인 역의 상관관계가 나타났으며, 혈장 호모시스테인 수준과 임파구 DNA 손상도인 tail moment 사이에는 유의적인 정의 상관관계가 나타났다 ($r = -0.234$, $p = 0.022$) (Table 5).

Table 6에는 혈장 호모시스테인 수준을 고호모시스테인 혈중 수준인 $\geq 15 \mu\text{mol/L}$ 와 정상 수준인 $< 15 \mu\text{mol/L}$ 수준³⁴⁾으로 나누어 성별로 혈장 항산화 비타민 농도, TRAP, CD, 적혈구 catalase 및 임파구 DNA 손상도 등을 본 결과가 제시되어 있다. 남자에서 혈장 호모시스테인 수준 15 $\mu\text{mol/L}$ 이상인 사람들의 혈장 α -carotene ($5.4 \pm 0.4 \mu\text{g/dL}$) 및 β -carotene ($15.0 \pm 1.4 \mu\text{g/dL}$) 수준이 혈장 호모시스테인 수준 15 $\mu\text{mol/L}$ 미만인 사람들의 α -carotene ($6.7 \pm 0.4 \mu\text{g/dL}$) 및 β -carotene ($21.1 \pm 1.9 \mu\text{g/dL}$) 수준에 비해 유의적으로 낮았다 ($p < 0.05$). 나머지 산화 스트레스 지표들은 혈장 호모시스테인 수준에 따른 차이를 보이지 않았다. 그러나 여자에서는 호모시스테인 수준에 따라 각 변수들 간에 아무런 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 남자와 여자를 모두 합하여 전체 대상자를 분석하여

본 결과에서도 혈장 호모시스테인 수준 15 $\mu\text{mol/L}$ 이상인 사람들의 혈장 α -carotene ($5.8 \pm 0.4 \mu\text{g/dL}$) 및 β -carotene ($19.1 \pm 2.4 \mu\text{g/dL}$) 수준이 혈장 호모시스테인 수준 15 $\mu\text{mol/L}$ 미만인 사람들의 α -carotene ($6.8 \pm 0.3 \mu\text{g/dL}$) 및 β -carotene ($25.7 \pm 1.6 \mu\text{g/dL}$) 수준에 비해 유의적으로 낮았다 ($p < 0.05$).

고 찰

최근 혈장 총 호모시스테인 농도가 높은 것은 서로 다른 기전들에 의해 혈관의 장애와 연결되어 있으며³⁵⁾ 그 기전 중 하나로 호모시스테인으로 유도된 산화 스트레스로 인해 혈관 생리에 장애를 초래한다는 가정이 제시되어 왔다.¹²⁾ 그러나 이를 입증하기 위한 연구로 혈장 호모시스테인 수준을 항산화 지표들과 관련하여 본 연구는 국내외적으로 많지 않다. 특히 현재까지 우리나라 성인 집단에 있어서 혈장 호모시스테인 수준을 산화 스트레스 관련 지표들과의 관련성을 중심으로 분석한 논문은 아직 보고된 바 없다.

본 연구에서 여자에 비해 남자에서 혈장 호모시스테인 수준이 유의적으로 높았는데 (Table 3) 이는 혈장 호모시스테인 수준은 대규모 인구집단 연구에서 여자보다 남자에서 더 높았다는 보고⁴⁾ 및 남자에서 혈장 호모시스테인이 높은 것은 근육량의 차이와 성호르몬의 차이에 기인한다는 Giltay 등의 보고³⁶⁾와 일치한다.

혈장 항산화 상태, 즉 혈장 α -tocopherol, β -carotene, TRAP (total radical-trapping antioxidant potential) 수준과 항산화 효소활성도, 그리고 임파구 DNA 손상도 등은 산화/항산화 상태의 균형을 측정하는 유용한 지표이다.^{29,37)} 본 연구에서 남자 대상자의 혈장 α -tocopherol, γ -tocopherol/triglyceride 및 β -carotene 수준, 그리고 적혈구 catalase 수준이 여자에 비해 유의적으로 낮았을 뿐 아니라 산화 스트레스가 많을 때 높아지는 임파구 DNA 손상 정도는 여자에 비해 높아 혈장 호모시스테인이 높은 남자의 항산화 상태가 전반적으로 낮은 것을 볼 수 있었다 (Table 4, 5).

본 연구에서 하나 특이한 점은 대상자를 남자와 여자로 나누어 분석하였을 때는 남자에서 혈장 호모시스테인 수준과 혈장 β -carotene 수준 사이에 유의적인 역의 상관성 ($p < 0.05$)이 나타났을 뿐, 혈장 α -carotene 수준 및 임파구 DNA 손상 정도와 혈장 호모시스테인 사이에는 상관성이 나타나지 않았으나 남녀를 합하여 전체 대상자를 분석하였을 때는 혈장 호모시스테인과 혈장 β -carotene 뿐 아니라 α -carotene 수준 (역의 상관관계, $p < 0.05$) 및 혈장 호모시스테인과 임파구 DNA 손상정도 (정의 상관관계, $p < 0.05$) 사이의 상관성도 유의적으로 나타났다는 점이다 (Table 5). 본 연구에서 남녀 간에 혈장 호모시스테인 수준이 큰 차이를 보였으므로 전체 대상자를 분석한 결과보다는 성별로 나누어 분석한 결과가 오히려 더 의미가 있을 것이다. 그러나 일반적으로 상관성 분석에서 통계적인 유의성을 보였다고 해도 상관계수의 값이 0.3보다 낮을 경우 그 의미를 해석하기에 어려움이 있다. 따라서 본 연구에서 혈장 호모시스테인 수준과 산화 스트레스 지표와의 상관성을 보는 다른 방법으로 대상자의 혈장 호모시스테인 수준에 따라 고호모시스테인혈증 수준 (15 $\mu\text{mol/L}$ 이상)과 정상 수준 (15 $\mu\text{mol/L}$ 미만)으로 나누어 산화 스트레스 지표들의 수준을 비교 분석해 보았다. 남자와 전체대상자에서 모두 혈장 호모시스테인이 높은 대상자에게서 정상인에 비해 혈장 α -carotene 및 β -carotene 수준이 유의적으로 낮게 나타났다 ($p < 0.05$) (Table 6). 이로써 혈장 호모시스테인 수준과 α -carotene 및 β -carotene 수준사이의 상관성이 있음을 확인할 수 있었다. Huerta 등¹⁸⁾은 혈장 tHcy 수준과 항산화 비타민 농도 사이에 상관성이 없음을 관찰하여

본 연구에서와는 다른 결과를 얻었다.

혈장 호모시스테인이 관상심장병의 위험을 증가시키는 것은 분명하나 그 기전에 대해서는 아직까지 잘 밝혀지지 않고 있으며 최근 혈장 호모시스테인과 항산화 상태와의 관련성이 제기되고 있다.^{35,38)} 최근 호모시스테인이 산화적 환경을 촉진하는 기전으로 두 가지 가설이 제안되었다. 첫 번째 가설은 *in vitro* 실험³⁹⁾ 혹은 동물실험³⁵⁾ 결과들을 기초로 하여 호모시스테인이 직접 ROS를 발생시키거나 유도함으로써 산화적 환경을 촉진한다는 것이며, 다른 하나의 가설은 호모시스테인이 항산화 작용을 방해함으로써 산화적 환경을 촉진한다는 것이다.¹⁸⁾

첫 번째 가설처럼 만약 호모시스테인이 직접 ROS를 유도하거나 발생시킨다면 먼저 지질과산화 수준이 올라갈 것이다. 그러나 젊은 대학생들을 대상으로 한 본 연구결과 지질과산화를 나타내주는 혈장 CD 수준과 혈장 호모시스테인과의 상관성이 나타나지 않았다 (Table 6). Huerta 등¹⁸⁾도 혈장 호모시스테인이 높은 대상자에게서 혈장 MDA (malondialdehyde) 수준이 높아지지 않아 지질 과산화와 관련이 없음을 보고하였으며, 이런 결과는 다른 선행연구에서도 관찰된 바 있다.¹⁰⁾ 이와 같이 첫 번째 가설이 증명되지 않은 이유는 이 가설이 주로 *in vitro* 연구³⁹⁾나 동물실험³⁵⁾ 결과로부터 온 것이기 때문이다. *In vivo* 항산화 시스템이 아닐 경우에는 자유 라디칼 발생이 세포의 생리 환경을 거의 반영하지 않으며,⁴⁰⁾ 동물실험³⁵⁾에서 사용한 메티오닌 부하 시험도 사람의 고호모시스테인혈증을 나타내는 수준으로까지 매우 높은 용량 (100 mg/kg 체중)을 투여하여 일시적으로 고호모시스테인혈증을 유도하였는데 이는 오랫동안 스트레스 상황을 이기도록 적응하면서 진화해온 생물체에 있어서 장기간 고호모시스테인혈증 상태를 나타내는 타당한 생리 모델로 보기 어렵다.¹⁸⁾ 따라서 이런 선행연구결과들은 인체에 적용하기에 무리가 있으며 매우 주의 깊게 재평가되어야 할 것이다.

혈장 호모시스테인 수준이 높은 남자에서 몇몇 산화 스트레스 지표들이 좋지 않게 나타나 산화적 환경이 촉진되는 것으로 나타난 본 연구결과로 볼 때, 호모시스테인이 항산화 작용을 방해함으로써 산화적 환경을 촉진한다는 두 번째 가설이 인체에서는 더 타당한 것으로 보인다. 이와 같은 결과는 심순환계 질환자에게서 산화 스트레스와 혈장 호모시스테인 수준 사이에 상관성이 있다는 선행 연구결과들^{41,42)}과도 일치하는 결과이며, Moat 등⁴³⁾도 혈장 항산화 활성도와 혈장 호모시스테인 사이에 역의 상관성이 있음을 보고하였다.

그러나 이와는 반대로 혈장 호모시스테인이 증가하였을

때 혈장 glutathione peroxidase의 활성도와 그 이성체의 단백질 농도도 같이 증가하였고, 적혈구 SOD와 p-tHcy 사이의 약한 관련성이 관찰되었다는 보고,⁴⁴⁾ 그리고 Wilcken 등⁴⁵⁾이 호모시스테인요증 (homocystinuria) 환자에서 SOD 활성과 p-tHcy 사이에 정의 상관관계를 보고한 결과들은 증가된 혈장 호모시스테인에 의해 야기된 산화적 환경에 대한 적응 반응을 나타내 주고 있다.

대부분의 호모시스테인은 엽산과 비타민 B₁₂의 도움을 받아 메티오닌으로 전환된다. 그러나 엽산이 부족하면 이 과정이 잘 일어나지 않으므로 세포로부터 호모시스테인이 방출되어 혈장 tHcy 농도가 올라간다. 그러나 산화 스트레스가 과다한 상황이 되면 이에 대한 보상으로서 redox에 민감한 trans-sulfuration 경로가 확대되어 호모시스테인을 사용하여 내재성 항산화제인 glutathione을 생산할 수 있으며,⁴⁶⁾ 이와 같은 상황은 엽산이 부족함에도 불구하고 혈장 호모시스테인의 증가를 미연에 방지하는 일종의 적응 작용으로 생각된다.⁶⁾ Rogers 등⁶⁾은 동물실험을 통해 산화 스트레스가 증가한 상황에서 엽산 부족과 혈장 호모시스테인과의 관계를 알아본 결과, 정상 상황에서는 혈장 호모시스테인이 엽산결핍의 정확한 예측지표였으나 산화 스트레스가 증가되는 상황에서는 혈장 호모시스테인이 엽산 결핍을 예측해 주지 못함을 관찰하였다. 따라서 앞으로 혈장 호모시스테인의 가치를 정확하게 해석하기 위해 세포 산화 스트레스 정도를 평가하는 실험방법이 요구된다. 그러나 산화 스트레스와 호모시스테인혈증 (homocysteinemia)은 서로 관련이 있다기보다 서로 독립적인 심순환계 위험요인으로 작용한다는 지적도 있으므로¹⁸⁾ 현 상태에서 호모시스테인으로 유도된 산화 스트레스 가설은 조금 더 상세하게 연구되어야 할 필요가 있을 것이다.

본 연구의 결과를 해석하는데 있어서 몇 가지 제한점이 있다. 첫째, 본 연구는 대상자 수가 많지 않았으며 나이가 많지 않은 대학생으로 제한되었다는 점을 들 수 있다. 특히 항산화 상태는 흡연의 영향을 많이 받을 수 있는데, 본 연구에서 흡연자의 대부분이 남자 대학생이었다는 것이 흡연의 영향을 분석하는데 방해요인으로 작용하였다. 둘째, 본 연구에서 혈장 호모시스테인과 산화 스트레스 지표 사이의 관련성을 보기 위해 임파구 DNA 손상을 포함한 다양한 산화 스트레스 지표들, 즉 적혈구 catalase, 혈장 α -tocopherol, γ -tocopherol, α -carotene, β -carotene, TRAP 및 CD 수준 등을 보았으나 혈장 호모시스테인과 밀접한 관계에 있는 혈청 엽산을 측정하지 않았다는 점이다. 순환하는 엽산의 형태인 5-MTHF는 과산화아질산염 라디칼 (peroxynitrite radical)을 제거하거나 혈관벽의 슈퍼옥사이드

생산을 감소시킴으로써⁴⁷⁾ 직접적인 항 동맥경화 효과를 보이는 것이 보고되고 있다. 따라서 산화 스트레스와의 관련성 및 기전을 설명하기 위해 혈장 엽산을 측정하였다면 더욱 좋았을 것이다. 아직도 인체의 *in vivo* 산화 스트레스 상태를 측정하는 표준화된 방법이 확립되어 있지 않은 상태이긴 하나, 현재 본 연구에서 사용한 산화 스트레스 지표들은 인체의 산화 스트레스 상태, 혹은 지질과산화 상태를 대표하기에 충분하다고 여겨진다. 특히 최근 인체에서의 민감한 산화 스트레스 생체지표로 주목받고 있어 인체 항산화 영양상태 모니터링 연구에 주요하게 사용되고 있는 임파구 DNA 손상정도를 comet assay법으로 분석하여 관찰해 본 것은 본 연구의 장점이라고 생각된다. 다만 DNA 손상정도의 경우, 전체 집단으로 볼 때는 혈장 호모시스테인 수준과 유의적인 정의 상관관계를 보였으나, 남녀로 구분하여 보았을 때는 DNA 손상도가 혈장 호모시스테인 수준에 따라 달라지지 않은 것 (Table 8, 9)으로 나타났는데 이 부분에 대해서는 앞으로 더욱 많은 수의 대상자와 더욱 정교한 실험 방법으로 연구해 보아야 할 필요가 있을 것이다. 마지막으로 본 연구는 젊은 대학생들을 대상으로 하여 매우 제한적으로 호모시스테인 수준과 산화 스트레스 지표들을 분석하였으므로 이 결과를 혈장 총 호모시스테인 농도가 높은 것이 어떻게 인구집단의 산화 스트레스 지표에 영향을 주는지를 예측하는데 곧 바로 적용하기에는 무리가 있을 것이다.

결론적으로 본 연구는 단면적 (cross-sectional) 분석 연구이므로 혈장 호모시스테인 수준과 산화 스트레스 지표와의 인과관계를 말하기는 어려우나, 혈장 호모시스테인 수준과 항산화 지표와의 상관성이 부분적으로 나타난 것으로 보아 산화/항산화 상태에 대한 호모시스테인의 효과를 말해 주고 있다고 볼 수 있다. 즉 인체에서 호모시스테인이 항산화 작용을 방해함으로써 산화적 환경을 촉진하는 것으로 여겨진다. 최근, 혈장 총 호모시스테인 농도가 높을 경우 인체 대동맥 내피 세포에 유착된 단핵세포와 T-cell이 증가하였으며,⁴⁸⁾ 이는 콜레스테롤과 중성지방 생합성을 위한 유전자 발현을 촉진시킴으로써 콜레스테롤 대사 조절 곤란을 일으켜서 혈관장애가 생긴다는 연구결과들이 추가로 보고되고 있으므로,^{49,50)} 혈장 호모시스테인 수준과 산화 스트레스 지표와의 관련성을 입증하기 위해서는 좀 더 세밀하고 다양한 기전적 차원에서의 후속연구가 요구된다.

요약 및 결론

최근 심혈관계 질환의 독립적인 위험인자로 관심이 모아지고 있는 혈장 호모시스테인 수준은 신체 내 산화 스트레

스 상태와도 관련이 있음이 제시되고 있다. 본 연구는 건강한 남녀 대학생 103명 (남자 62명, 여자 41명)을 대상으로 혈장 호모시스테인 수준을 측정된 후 이에 영향을 미치는 산화 스트레스 요인을 파악하고자 하는 목적으로 시도되었다. 혈장 호모시스테인 농도는 fluorescence detector를 사용하는 HPLC 방법으로 정량하였고, 혈장 지질과산화 정도를 알아보기 위해 conjugated diene (CD) 농도를 측정하였다. 혈장 항산화 비타민 수준은 HPLC에 의해, 임파구 DNA 손상도는 comet assay에 의해 분석하였다. 남자의 혈장 호모시스테인 농도는 $22.17 \pm 2.14 \mu\text{mole/L}$ 로써 여자 ($12.28 \pm 0.45 \mu\text{mole/L}$)에 비해 유의적으로 높았다 ($p < 0.01$). 혈장 호모시스테인 농도와 항산화 지표들과의 상관관계를 본 결과 남자에서 혈장 호모시스테인과 β -carotene 수준 사이에 역의 상관관계 ($p < 0.05$)가 나타났을 뿐, 그 외 남녀 대상자 모두에서 혈장 호모시스테인 수준과 나머지 혈장 항산화 비타민 수준 사이에 아무런 상관성을 볼 수 없었다. 그러나 전체 대상자에서 상관성을 본 결과, 혈장 호모시스테인 수준과 혈장 α -carotene ($p < 0.05$) 및 β -carotene ($p < 0.01$) 수준 사이에 역의 상관관계가 나타났으며, 혈장 호모시스테인 수준과 임파구 DNA 손상도 사이에는 유의적인 정의 상관관계가 나타났다 ($p < 0.05$). 혈장 호모시스테인 농도가 $15 \mu\text{mol/L}$ 이상인 남자에서 혈장 α -carotene 및 β -carotene 수준이 호모시스테인 수준이 낮은 남자에 비해 유의적으로 낮았다. 이로부터 혈장 호모시스테인 수준과 산화 스트레스 지표들 간에 부분적으로 유의적인 상관성이 있음을 확인할 수 있었으며 이는 호모시스테인이 신체 내에서 항산화 작용을 방해함으로써 산화적 환경을 촉진시키는 것으로 생각된다.

Literature cited

- Haynes WG. Hyperhomocysteinemia, vascular function and atherosclerosis: effects of vitamins. *Cardiovasc Drugs Ther* 2002; 16(5): 391-399
- Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Eng J Med* 1998; 338(15): 1042-1050
- Veekamp MJ, de Graaf J, den Heijer M, Blom HJ, Stalenhoef AF. Plasma homocysteine in subjects with familial combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 2003; 166: 111-117
- Semmler A, Moskau S, Stoffel-Wagner B, Weller M, Linnebank M. The effect of MTHFR c.677C>T on plasma homocysteine levels depends on health, age and smoking. *Clin Invest Med* 2009; 32(6): E310-E314
- Tomlinson DR, Lang D, Lewis MJ. Homocysteine, B vitamins, and cardiovascular disease. *N Eng J Med* 2006; 355(2): 209-211
- Rogers EJ, Chen S, Chan A. Folate deficiency and plasma homocysteine during increased oxidative stress. *N Eng J Med* 2007; 357(4): 421-422
- McDowell IF, Lang D. Homocysteine and endothelial dysfunction: a link with cardiovascular disease. *J Nutr* 2000; 130(suppl): 369S-372S
- Bellamy MF, McDowell IF. Putative mechanisms for vascular damage by homocysteine. *J Inher Metab Dis* 1997; 20(2): 307-315
- Ventura E, Durant R, Jausent A, Picot MC, Morena M, Badiou S, Dupuy AM, Jeandel C, Cristol JP. Homocysteine and inflammation as main determinants of oxidative stress in the elderly. *Free Radic Biol Med* 2009; 46: 737-744
- Moat SJ, Hill MH, McDowell IFW, Pullin CH, Ashfield-Watt P, Clark ZE, Whiting JM, Newcombe RG, Lewis MJ, Powers HJ. Reduction in plasma total homocysteine through increasing folate intake in healthy individuals is not associated with changes in measures of antioxidant activity or oxidant damage. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57: 483-489
- Loscalzo J. The oxidant stress of hyperhomocyst(e)inemia. *J Clin Invest* 1996; 98: 5-7
- Rodrigo R, Passalacqua W, Araya J, Orellana M, Rivera G. Implications of oxidative stress and homocysteine in the pathophysiology of essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003; 42(4): 453-461
- Hirano K, Ogihara T, Miki M, Yasuda H, Tamai H, Kawamura N, Mino M. Homocysteine induces iron-catalysed peroxidation of low-density lipoprotein that is prevented by alpha-tocopherol. *Free Radic Res* 1994; 21: 267-276
- Voutilainen S, Morrow JD, Roverts LJ 2nd, Alfthan G, Alho H, Nyyssonen K, Salonen JT. Enhanced in vivo lipid peroxidation at elevated plasma total homocysteine levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1263-1266
- Kanani PM, Sinkey CA, Browning RL, Allaman M, Knapp HR, Haynes WG. Role of oxidant stress in endothelial dysfunction produced by experimental hyperhomocyst(e)inemia in humans. *Circulation* 1999; 100(11): 1161-1168
- Raghuveer G, Sinkey CA, Chenard C, Stumbo P, Haynes WG. Effect of vitamin E on resistance vessel endothelial dysfunction induced by methionine. *Am J Cardiol* 2001; 88: 285-290
- Okatani Y, Wakatsuki A, Reiter RJ. Protective effect of melatonin against homocysteine-induced vasoconstriction of human umbilical artery. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 277: 470-475
- Huerta JM, Gonzalez S, Fernandez S, Patterson AM, Lasheras C. No evidence for oxidative stress as a mechanism of action of hyperhomocysteinemia in humans. *Free Radic Res* 2004; 38(11): 1215-1221
- Sebekiva K, Krajcovicova-Kudlackova M, Blazicek P, Parrak V, Schinzel R, Heidland A. Functional hyperhomocysteinemia in healthy vegetarians: no association with advanced glycation end products, markers of protein oxidation, or lipid peroxidation after correction with vitamin B(12). *Clin Chem* 2003; 49: 983-986
- Dudman NPB, Wilcken DEL, Stocker R. Circulation lipid hydroperoxide levels in human hyperhomocysteinemia. *Arterioscler Thromb* 2003; 13: 512-516
- Topal G, Brunet A, Millanvoye E, Boucher J, Rendu F, Devynck

- M, David-Duflho M. Homocysteine induces oxidative stress by uncoupling of NO synthase activity through reduction of tetrahydrobiopterin. *Free Radic Biol Med* 2004; 36(12): 1532-1541
- 22) Lim HS, Heo YR. The relationship between risk factors for cardiovascular disease and levels of plasma total homocysteine, folate and vitamin B12 in Koreans. *J Food Sci Nutr* 2001; 6(1): 73-78
 - 23) Lim MY, Nam YS, Kim SS, Chang NS. Vitamin B status and serum homocysteine levels in infertile women. *Korean J Nutr* 2004; 37(2): 115-122
 - 24) Genser D, Kang MH, Vogelsang H, Elmadfa I. Status of lipid-soluble antioxidants and TRAP in patients with crohn's disease and healthy controls. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53: 675-679
 - 25) Araki A, Sako Y. Determination of free and total homocysteine in human plasma by HPLC with fluorescence detection. *J Chromatogr* 1987; 422: 43-52
 - 26) Min H, Im ES, Seo JS, Mun JA, Burri BJ. Effects of chronic ethanol ingestion and folate deficiency on the activity of 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase in rat liver. *Alcohol Clin Exp Res* 2005; 29(12): 2188-2193
 - 27) Rice-Evance C, Miller NJ. Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Methods in Enzymology* 1994; 234: 279-293
 - 28) Aebi H. Catalase. In: Bergmeyer HU, ed. *Methods of enzymatic analysis*. Verlag Chemie; Weinheim; 1974. p.673-678
 - 29) Kang MH, Lee HJ, Kim MK, Sung MK, Kwon O, Park YK. Changes in lymphocyte DNA damage and antioxidant status after supplementing propolis to Korean smokers: A placebo-controlled, double-blind cross-over trial. *Korean J Nutr* 2009; 42(5): 442-452
 - 30) Singh PN, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 1988; 175: 184-191
 - 31) Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18: 499-502
 - 32) Ahotupa M, Vasankari TJ. Baseline diene conjugation in LDL lipids: An indicator of circulating oxidized LDL. *Free Radic Biol Med* 1999; 27(11-12): 1141-1150
 - 33) Ahotupa M, Ruutu M, Mäntylä E. Simple methods of quantifying oxidation products and antioxidant potential of low density lipoproteins. *Clin Biochem* 1996; 29(2): 139-144
 - 34) Kang SS, Wong PW, Malinow. Hyperhomocyst(e)inemia as a risk factor for occlusive vascular disease. *Annu Rev Nutr* 1992; 12: 279-298
 - 35) Durand P, Prost M, Loreau N, Lussier-Cacan S, Blache D. Impaired homocysteine metabolism and atherothrombotic disease. *Lab Invest* 2001; 81: 645-672
 - 36) Giltay EJ, Hoogeveen EK, Elbers JM, Gooren LJ, Asscheman H, Stehouwer CD. Effects of sex steroids on plasma total homocysteine levels: a study in transsexual males and females. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 550-553
 - 37) Lasheras C, Huerta JM, Gonzalez S, Brana AF, Patterson AM, Fernandez S. Independent and interactive association of blood antioxidants and oxidative damage in elderly people. *Free Radic Res* 2002; 36: 875-882
 - 38) Streck EL, Vieira PS, Wannmacher CM, Dutra-Filho CS, Wajner M, Wyse AT. In vitro effect of homocysteine on some parameters of oxidative stress in rat hippocampus. *Metab Brain Dis* 2003; 18: 147-154
 - 39) Heydrick SJ, Weiss N, Thomas SR, Cap AP, Pimentel DR, Loscalzo J, Keaney JF Jr. L-Homocysteine and L-homocysteine stereospecifically induce endothelial nitric oxide synthase-dependent lipid peroxidation in endothelial cells. *Free Radic Biol Med* 2004; 36: 632-640
 - 40) Jacobsen DW. Hyperhomocysteinemia and oxidative stress: time for a reality check? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1182-1184
 - 41) El Kossi MM, Zakhary MM. Oxidative stress in the context of acute cerebrovascular stroke. *Stroke* 2000; 31: 1889-1892
 - 42) Moselhy SS, Demerdash SH. Plasma homocysteine and oxidative stress in cardiovascular disease. *Dis Markers* 2003; 19: 27-31
 - 43) Moat SJ, Bonham JR, Powers HJ. The role of plasma aminothiols as a component of the plasma antioxidant defence system and its relevance to homocysteine-mediated vascular disease. *Clin Sci* 2001; 100: 73-79
 - 44) Moat SJ, Bonham JR, Cragg RA, Powes HJ. Elevated plasma homocysteine elicits an increase in antioxidant enzyme activity. *Free Radic Res* 2000; 33: 171-179
 - 45) Wilcken DE, Wang ZI, Adachi T, Hara H, Duarte N, Green K, Wilcken B. Relationship between homocysteine and superoxide dismutase in homocystinuria: possible relevance to cardiovascular risk. *Arterioscler Thromb Vas Biol* 2000; 20: 1199-1202
 - 46) Tchantchou F. Homocysteine increase folate oxidative brain homocysteine metabolism and various consequences of folate deficiency. *J Alzheimers Dis* 2006; 9: 421-427
 - 47) Antoniadou C, Shirodaria C, Warrick N, Cai S, DeBono J, Lee J, Leeson P, Neubauer S, Ratnatunga C, Pillai R, Refsum H, Channon KM. 5-Methyltetrahydrofolate rapidly improves endothelial function and decreases superoxide production in human vessels: effects on vascular tetrahydrobiopterin availability and endothelial nitric oxide synthase coupling. *Circulation* 2006; 114(11): 1193-1201
 - 48) Koga T, Claycombe K, Meydani M. Homocysteine increases monocyte and T-cell adhesion to human aortic endothelial cells. *Atherosclerosis* 2002; 161: 365-374
 - 49) Li H, Lewis A, Brodsky S, Rieger R, Iden C, Goligorsky MS. Homocysteine induces 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase in vascular endothelial cells: a mechanism for development of atherosclerosis? *Circulation* 2002; 105: 1037-1043
 - 50) Werstuck GH, Lentz SR, Dayal S, Hossain GS, Sood SK, Shi YY, Zhou J, Maeda N, Krisans SK, Malinow MR, Austin RC. Homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress causes dysregulation of the cholesterol and triglyceride biosynthetic pathways. *J Clin Invest* 2001; 107(10): 1263-1273