

한국인 백내장환자의 항산화 체계에 관한 연구*

고영숙 · 홍영재** · 정혜연 · 김수연 · 이양자[§]

연세대학교 식품영양학과, 연세대학교 의과대학 안과학교실**

A Study on Antioxidant System in Cataract Patients*

Ko, Young Sook · Hong, Young Jae** · Chung, Hae-Yun
Kim, Soo Yeon · Lee-Kim, Yang Cha[§]

Department of Food & Nutrition, College of Human Ecology, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea
Department of Ophthalmology,** College of Medicine, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

ABSTRACT

Cataracts are the leading cause of blindness worldwide and are characterized by increased opacity of the lens that significantly diminishes visual acuity. It has been suggested that increased risk of lens opacities are associated with age, exposure to sunlight, diabetes, smoking, and poor nutrition. Antioxidant nutrients have been demonstrated to protect the lens membrane and protein against damage due to oxidative stress. The purpose of this study was to investigate the antioxidant system in the blood of cataract patients. The status of the blood antioxidant system was evaluated based on the levels of antioxidant vitamins and minerals as well as glutathione peroxidase (GSH-Px) and malondialdehyde (MDA) activity in 34 patients with cataracts (17 male and 17 female) and 45 control subjects (20 male and 25 female). After adjusting for age, the results showed significantly lower levels of antioxidant vitamins such as lycopene (M: $p < 0.05$, F: $p < 0.01$), zeaxanthin (F: $p < 0.01$), γ -tocopherol (F: $p < 0.01$) and ascorbic acid (M: $p < 0.05$) in the cataract patients than in the control subjects. In contrast, the concentration of cryptoxanthin (F: $p < 0.05$) showed a significantly higher value in the cataract patients. The serum level of the antioxidant mineral Zn (M: $p < 0.01$) was found to be significantly lower in the cataract patients while the ratio of Cu/Zn appeared significantly higher (M: $p < 0.05$). Significantly higher (M: $p < 0.01$, F: $p < 0.05$) concentrations of MDA in serum was found in the cataract patients as compared to the control subjects. GSH-Px activity was significantly lower (F: $p < 0.05$) in the cataract patients. In conclusion, the antioxidant system may play an important role in cataract creation. Further studies are needed to clarify the mechanisms underlying these findings and to establish preventive measures with an emphasis on antioxidant nutrition for cataract patients. (*Korean J Nutrition* 35(2) : 229~236, 2002)

KEY WORDS: cataract, antioxidant vitamins, antioxidant minerals, antioxidant enzyme (GSH-Px), malondialdehyde.

서론

최근 경제성장과 건강관리에 따른 평균 수명의 증가로 노인 인구가 점차 증가하고 시각 체계의 퇴행성변화에서 산화기전의 작용이 밝혀짐에 따라 노인성 안질환의 방지를 위한 항산화 영양소의 역할에 대한 관심이 증가되고 있다.¹⁾ 산화적 손상과 시각 저하가 백내장 (cataract)과 노인성 황반변성 (age-related macular degeneration)에서 중요한 역할을 하는 것으로 지적되면서 이 분야의 연구가 활발히 진행되고 있다.^{2,3)}

미국에서, 백내장 유병율은 65세 연령에서 5%정도, 75세 이상의 연령에서 40%로 보고되고 있으며 백내장 수술비용이

접수일 : 2001년 8월 28일

채택일 : 2002년 1월 21일

*This study was supported by the Brain Korea 21 Project.

[§]To whom correspondence should be addressed.

전체 의료 예산의 12%를 차지한다.^{4,5)} 특히 개발도상국에서는 선진국에 비해 백내장의 발병율이 높고 젊은 연령에서부터 나타나므로 사회적·의료적인 비용 증가에 크게 영향을 미치는 질환이다.⁶⁾ 우리나라의 경우 전국민을 대상으로 한 백내장의 역학적인 연구가 미비한 상태이다. Kim 등⁷⁾의 연구에 의하면 안질환의 빈도중에서 백내장이 30.7%로 가장 높고, 시력저하와 관계있는 질환에서 전체의 44.7%를 차지하며 실명안의 56%가 백내장인 것으로 보고되었다. 성별 이환율은 여자가 남자보다 높다.^{8,9)} Kim 등¹⁰⁾의 연구에서 40세 이상의 검사인 384안중 66.7%가 노인성 백내장이었고 연령별 이환율의 분포는 256안중 40대 33.3%, 50대 64.4%, 60대 69.6%, 70대 92.9% 80대가 100%로 노령화할수록 백내장의 출현이 더 높은 것으로 보고하였다. 또한 인구의 고령화로 연도별로도 증가되는 양상을 보이고 있다.¹¹⁾

백내장에서는 연령의 증가는 물론 빛의 과다 노출, 당뇨,

흡연, 불충분한 영양상태 등과 같은 위험인자와 관련이 있는 것으로 알려지고 있다.^{12,13)} 망막에 상을 맺게 하는 수정체의 대부분이 단백질로 이루어져 있고, 이 단백질은 수정체의 수명처럼 최소로 교체된다. 또한 수정체는, superoxide, singlet oxygen, hydroxyl radicals을 포함한 reactive oxygen species (ROS)를 형성하는 빛과 산소에 만성적으로 노출되어 있다.¹⁴⁾ 이로 인해 손상된 단백질이 침착·축적되면 혼탁해져서 백내장이 발생할 수 있다.^{15,16)} 이 ROS에 의한 수정체의 혼탁은 세포막을 공격하여 세포막의 integrity를 감소시킴으로써 나타나는 수정체의 삼투압 불균형과 수정체내 단백질의 산화인 두 개의 과정으로 설명되기도 한다.¹⁷⁾ 이러한 산화적 손상을 예방하기 위하여 항산화 영양소의 역할이 중요하게 강조되므로, 본 연구에서는 한국인 백내장환자의 혈액에서 지질과산화물의 지표인 malondialdehyde (MDA) 농도와 항산화 체계에 관련된 효소 (glutathione peroxidase) 활성, 비타민 (lutein, zeaxanthin, β -cryptoxanthin, β -carotene, α -carotene, lycopene, α -tocopherol, γ -tocopherol) 농도, 무기질 (Cu, Zn, Se, Mn) 농도를 측정하고 이를 정상인의 혈액 농도와 비교함으로써 항산화 체계가 수정체의 산화적 손상에 미치는 영향에 대해서 알아보고자 시도되었다.

연구방법

1. 연구대상자

본 연구에 참여한 연구대상자는 2000년 1월부터 5월까지 수술을 위해 S병원 안과에 내원한 백내장 환자 34명 (남자 17명, 여자 17명)과 같은 기간에 S대학교와 S병원의 교직원 정기건강 검진 대상자중 건강한 정상 성인 45명 (남자 20명, 여자 25명)이었다. 설문조사를 통해 각종 비타민의 복용여부를 조사하여 혈액 채취 1달 이내에 비타민을 복용한 적이 있는 환자는 대상에서 제외하였다.

연구 대상자에게 설문지를 통한 직접 면접에 의해서 성별, 연령, 신장, 체중 등을 조사하였고 또한 과거 또는 현재의 질병력, 영양제의 복용 여부, 음주 및 흡연에 관한 일반 사항을 조사하였다. 측정된 신장과 체중을 이용하여 체질량 지수 (body mass index: BMI)를 산출하였다.

2. 혈중 지표 분석

1) 혈청 항산화 비타민 농도

(1) 지용성 비타민 농도

혈청 시료 250 μ l에 3 ml의 chloroform : methanol 혼

합액 (2 : 1, v/v)을 가한 후 internal standard인 echinenone과 tocopherol acetate을 각각 375 μ l씩 첨가하였다. Vortex로 1분간 잘 섞은 후 식염수 0.5 ml를 가하고 4°C, 2500 rpm에서 10분간 원심분리하여 하층액 (chloroform층)을 모았다. 이 하층액을 vacuum evaporator를 이용해 질소가스로 건조시켰다. 남은 상층액 부분에 hexane 1.5 ml를 가하여 역시 1분간 vortex한 후 4°C, 2500 rpm에서 10분간 원심분리를 했다. 원심분리한 상층액을 취하여 건조시킨 샘플에 첨가한 후 질소가스로 건조시켜 얻은 비타민 추출물에 ethanol 190 μ l를 가하여 vortex mixer로 잘 용해시킨 후 그 중 50 μ l를 HPLC system에 주입하였다. Photodiode array (PDA) detector의 파장을 carotenoids 분석을 위해서는 450 nm에서, tocopherol 분석을 위해서는 fluorescence detector를 연결하여 동시에 분석하였다.¹⁸⁾ 이 모든 실험 과정은 자외선이 차단된 상태에서 실시하였다.

Carotenoids와 tocopherol의 peak 규명을 위해서는 이들 각각의 표준용액을 HPLC 방법으로 분석하여 retention time을 구하고, 시료의 peak와 비교하였다. Lutein, zeaxanthin, β -cryptoxanthin, α -carotene, β -carotene, lycopene, α -tocopherol 및 γ -tocopherol의 정량을 위해 실험 직전에 각각의 비타민의 standard를 ethanol에 용해시켜 표준용액을 만들었다. 각 표준용액을 농도를 달리하여 HPLC system으로 측정하여 표준 곡선 (standard curve)을 구하였다. 각 vitamin 양은 HPLC chromatogram의 peak area와 대응되는 standard의 response factor에 의해 계산하고, 혈청으로부터 vitamin의 extraction 및 sample의 취급과정에서 손실되는 양은 internal standard인 echinenone과 tocopherol acetate의 회수율로 보정하였다.

(2) 혈장 비타민 C 농도

혈장 비타민 C의 정량은 Macrae의 방법¹⁹⁾을 수정, 보완하여 사용하였다. 혈장 100 μ l에 internal standard (isoascorbic acid)와 1% (w/v) metaphosphoric acid (MPA)를 포함한 10% (v/v) cold perchloric acid 100 μ l를 첨가하였다. 그 뒤 2분 동안 단백질을 제거하기 위해 원심분리를 실시하였다. 분리된 상층액을 취하여 200 μ l buffer (0.015% MPA를 포함한 20 mM ammonium dihydrogenorthophosphate)를 첨가하고 1분간 12,000 rpm에서 원심분리한 후 상층액 10 μ l를 HPLC system에 주입하여 정량하였다. 비타민 C의 농도는 254 nm에서 PDA detector로 분석하고 분석의 정확성을 기하기 위해 fluorescence

detector를 연결하였다. 비타민 C의 peak 규명을 위해 표준용액을 HPLC로 분석하여 retention time을 구하고 standard ascorbic acid를 동일한 양의 전처리 용액에 농도를 증가시키며 용해시켜 HPLC system으로 측정하여 얻은 표준곡선으로부터 농도를 계산하였다. 혈장으로부터 비타민 C의 extraction 및 sample 취급과정에서 손실되는 양은 internal standard인 isoascorbic acid의 회수율로 보정하였다.

2) 혈청 무기질 농도

혈청의 무기질 농도는 Perkin-Elmer사의 AAS 4110ZL을 사용하여 측정하였으며 pyrolytic coated THGA tube (L'vov Platform형)와 Ar gas (99.99%)를 사용하였다. 주입된 시료의 양은 20 µl이며, peak area로 흡광도를 구하였다. 바탕보정법은 Zeeman background²⁰⁾ 형식을 사용하였으며, slit width는 2.0 nm로 설정하였다. Electrodeless discharge lamp를 사용하였으며, 선택 파장은 196.0 nm였다. 실험 전처리 과정으로 Se, Mn, Cu분석은 혈청의 점성을 없애기 위해, 혈청 0.1 ml에 계면활성제인 0.2% Triton X-100 0.9 ml를 첨가하여 10배 희석액을 만들었고, Zn분석은 혈청 0.01 ml에 계면활성제인 0.2% Triton X-100 0.99 ml를 첨가하여 100배 희석액을 만들었다. 표준용액은 Perkin-Elmer사 (1000 mg/L)에서 구입했으며, matrix modifier로 5 µg Pd/5 µl을 사용하였다. 전처리의 모든 기자재들은 10% HNO₃ 용액에 24시간, 3차 증류수 (Milipore, Milli-Q puls)에 24시간 침지 후, 3차 증류수로 3번 헹구어 자연 상태에서 완전히 건조시켰다.

3) 혈청 glutathione peroxidase (GSH-Px) 활성

GSH-Px 활성은 Paglia²¹⁾와 Deagen²²⁾의 방법을 수정하여, hydrogen peroxide를 기질로 이용한 coupled enzyme procedure로 측정하였다. 혈장 20 µl에 증류수를 가하여 100 µl로 채운 후, 0.8 ml reaction mixture (4.5 mM EDTA, 4.7 mM sodium azide를 포함한 0.125 M phosphate buffer pH 7.0과 2.8 nmol NADPH, 49.9 nmole reduced glutathione, 0.67 units glutathione reductase를 함유)를 첨가한 다음 0.25 mM H₂O₂ 0.1 ml을 가하여 반응을 일으킨 즉시 Beckman spectrophotometer를 이용하여 파장 340 nm에서 산화형 glutathione (GSSG)의 형성에 따른 NADPH의 흡광도 감소 속도를 3분 동안 측정하였다. GSH-Px의 존재하에 H₂O₂의 첨가에 의하여 환원형 glutathione (GSH)이 생성되고, reaction mixture내 glutathione reductase와 NADPH가 개입되어 GSSG가 다시

GSH로 환원되는 속도를 흡광도의 변화를 통해서 관찰함으로써 GSH-Px의 활성이 산출되었다. Enzyme 1 unit은 혈청 1 ml당 1분 동안 산화된 NADPH의 nmoles로 나타내었고, specific activity는 1 mg albumin에 해당하는 enzyme unit으로 환산하였다.

4) 혈청 malondialdehyde (MDA) 농도

Buckingham의 방법을²³⁾ 이용하여 sample의 4배의 0.1 M Na₂PO₄ buffer (pH 7.4)를 가하여 3분간 균질화시킨 후, 이 균질액 (20% homogenate) 50 µl에 1/12 N H₂SO₄ 4 ml과 10% phosphotungstic acid 0.5 ml을 가하여 혼합한 후 실온에서 5분간 방치하였다. 이 혼합액을 원심분리 (4000 rpm, 10분간)한 후 침전물에 1/12 N H₂SO₄ 2 ml과 10% phosphotungstic acid 0.3 ml을 가한 후 강하게 섞어 주었다. 이 혼합액을 강하게 원심분리 (4000 rpm, 10분간)하고, 침전물에 증류수 5 ml과 1% thiobarbituric acid (TBA 1.5 g를 10 ml의 c-NaOH에 용해시킨 후 50 ml의 증류수를 첨가하고 perchloric acid로 pH 7.4로 맞추고 증류수로 100 ml까지 채운 다음 7% perchloric acid 50 ml를 가한 용액) 2 ml을 가한 후 90~95°C에서 20분간 incubation시켰다. 이를 냉각시킨 후 n-butanol 5 ml을 가한 후 vortex하여 원심분리 (4000 rpm, 10분간)하고 상층의 butanol층을 luminescence spectrophotometer (Amico Bowman series)을 이용하여 excitation 500 nm, emission 553 nm에서 fluorescence intensity를 측정한 후 표준용액과 비교하여 비색 정량하였다.

3. 통계처리

본 연구의 모든 자료는 Strategic Application System (SAS) package를 사용하여 통계분석을 실시하여 평균값 ± 표준오차로 나타내었다. 연령을 통제하고 각 군간의 차이에 대한 검정을 위하여 Ancova에 의해 p < 0.05, p < 0.01 및 p < 0.001 수준에서 유의성 여부를 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 조사대상자의 일반적인 사항

연구대상자의 평균연령은 정상군과 환자군에서 남자는 각각 52.5 ± 1.28세, 58.7 ± 3.19세 여자는 각각 48.0 ± 0.89세, 53.3 ± 3.02세였다. 체질량지수 (BMI)는 정상군과 환자군에서 남자는 24.7 ± 0.59, 22.6 ± 0.75 여자는 각각 23.2 ± 3.15, 22.9 ± 0.66로 나타났고 이는 일반적인 정상기준 범위인 20.0~25.0 kg/m²에 속하였다 (Table 1).

2. 항산화 비타민의 농도

1) 지용성 비타민 농도

Table 2에 의하면 정상군과 환자군의 비교에서 남녀 모두에서 혈청 lycopene (M: $4.60 \pm 0.76 \mu\text{g/dl}$ vs $2.00 \pm 0.33 \mu\text{g/dl}$, $p < 0.05$, F: $8.24 \pm 1.14 \mu\text{g/dl}$ vs $3.81 \pm 0.79 \mu\text{g/dl}$, $p < 0.01$) 농도가 환자군에서 유의적으로 낮음이 특이하다. 그리고 여자의 경우, zeaxanthin ($18.4 \pm 1.57 \mu\text{g/dl}$ vs $11.8 \pm 1.36 \mu\text{g/dl}$, $p < 0.01$)과 γ -tocopherol ($1.33 \pm 0.10 \mu\text{g/ml}$ vs $0.88 \pm 0.12 \mu\text{g/ml}$, $p < 0.01$) 농도가 유의적으로 환자군에서 낮았으나 cryptoxanthin ($51.4 \pm 3.43 \mu\text{g/dl}$ vs $75.9 \pm 11.0 \mu\text{g/dl}$, $p < 0.05$) 농도는 환자군에서 유의적으로 높게 나타나 다른 양상을 보였다.

Jacques, Chylack²⁴의 연구에서 혈장 전체 carotenoids 농도가 낮은 경우 백내장 발병율이 높아짐을 보고한 바 있다. Blood stream에서 운반되는 xanthophylls류인 lutein과 zeaxanthin은 수정체에서 대표적으로 발견되는 성분^{25,26}이므로 여자환자의 경우 zeaxanthin 농도가 유의적으로 낮은 것은 자유기의 산화적 손상에 대해 수정체의 방어 역할에 관여하는 것으로 생각된다. Knekt 등²⁹은 혈청 β -carotene 농도가 높은 군에서 백내장수술율이 40% 정도 감소됨을 보고하였다. β -carotene은 낮은 산소분압 (15 mmHg)에서 강한 항산화 기능을 가지는 것으로 알려졌으며, 수정체의 중심 산소분압이 약 20 mmHg 정도로 낮으므로 β -caro-

tene의 역할이 기대되나 Yeum 등²⁶과 Bates 등³⁰이 수정체에서 β -carotene이 발견되지 않음을 보고하였다. 따라서 혈액과 수정체와 관련하여 β -carotene의 연구가 더욱 필요한 것으로 사료된다. 혈청 cryptoxanthin 농도가 환자군에서 높게 나타난 것은, 한국인 망막 시신경절이 손상된 녹내장 환자에서도 유의적으로 높은 cryptoxanthin치를 나타낸 것³¹과 Lyle 등³²의 연구에서 유의적인 결과는 아니었으나 cryptoxanthin의 섭취증가에 따른 핵백내장의 이환율의 증가와 관련하여 더 자세한 연구가 이루어져야 하겠다.

α -tocopherol은 특히 눈에서 수정체의 세포막을 안정화시키고 ascorbate 재생에 영향을 주며 glutathione의 재순환을 증가시켜 방수에서 감소된 glutathione 농도 유지에 공헌한다고 보고되었다.¹⁴ Knekt 등²⁹은 혈청 비타민 E의 농도가 높은 군이 낮은 군과 비교시에 백내장으로 인한 수술율이 절반으로 감소함을 보고하였고, Vitale 등³³의 연구에서도 핵백내장의 발병율이 비타민 E의 혈장수치 저하와의 관련성이 있다고 하였으며, Lyle 등³⁴은 혈청 tocopherol (α -tocopherol + γ -tocopherol)만이 핵형백내장과 역관계가 있다고 보고하였다. γ -tocopherol은 식이내의 비타민 E의 주된 형태이고,³⁵ 라이보솜에서 peroxynitrite에 의한 lipid peroxidation으로 부터의 보호에서 α -tocopherol보다 효과적으로 작용함이 보고³⁶되었다. 또한 백내장 환자에서 수정체 내의 α -tocopherol : γ -tocopherol 비율은 3.5정도이고 혈장내의 α -tocopherol : γ -tocopherol

Table 1. Anthropometric variables of the subjects¹⁾

	Men		Women	
	Control (n = 20)	Cataract (n = 17)	Control (n = 25)	Cataract (n = 17)
Age (yr)	52.5 ± 1.28	58.7 ± 3.19	48.0 ± 0.89	53.3 ± 3.02
Height (cm)	170.1 ± 1.21	167.6 ± 1.62	157.8 ± 0.89	160 ± 1.10
Weight (kg)	71.7 ± 2.20	63.8 ± 2.37	58.0 ± 1.83	58.6 ± 1.60
BMI (kg/m ²) ²⁾	24.7 ± 0.59	22.6 ± 0.75	23.2 ± 3.15	22.9 ± 0.66

1) Value are mean ± SEM.

2) Values are body weight/height² (kg/m²).

Table 2. Serum antioxidant vitamin concentrations

	Men		Women	
	Control (n = 20)	Cataract (n = 17)	Control (n = 25)	Cataract (n = 17)
Lycopene ($\mu\text{g/dl}$)	4.60 ± 0.76	2.00 ± 0.33*	8.24 ± 1.14	3.81 ± 0.79**
Lutein ($\mu\text{g/dl}$)	33.2 ± 3.67	29.5 ± 3.68	43.0 ± 4.20	33.2 ± 3.83
Zeaxanthin ($\mu\text{g/dl}$)	13.7 ± 1.41	14.0 ± 1.83	18.4 ± 1.57	11.8 ± 1.36**
β -Carotene ($\mu\text{g/dl}$)	33.2 ± 3.15	24.4 ± 4.92	55.6 ± 5.10	45.6 ± 6.00
α -Carotene ($\mu\text{g/dl}$)	1.35 ± 0.13	1.21 ± 0.21	1.84 ± 0.16	2.59 ± 0.44
β -Cryptoxanthin ($\mu\text{g/dl}$)	33.7 ± 3.54	50.2 ± 10.4	51.4 ± 3.43	75.9 ± 11.0*
α -Tocopherol ($\mu\text{g/ml}$)	9.75 ± 0.87	8.17 ± 0.73	9.89 ± 0.46	9.88 ± 1.10
γ -Tocopherol ($\mu\text{g/ml}$)	0.90 ± 0.12	1.17 ± 0.17	1.33 ± 0.10	0.88 ± 0.12**
Ascorbic acid ($\mu\text{g/ml}$) ^a	15.5 ± 0.76	12.5 ± 0.80*	12.8 ± 0.38	13.1 ± 0.46

Value are mean ± SEM.

*: different from control at $p < 0.05$.

** : different from control at $p < 0.01$.

a: ascorbic acid was measured in plasma.

비율은 11.3으로 보고³⁰⁾된 바, 이는 수정체 내의 γ -tocopherol의 역할이 중요함을 지적해 준다. 본 연구에서는 혈청 α -tocopherol 농도에서는 환자에서 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 여자의 경우 γ -tocopherol의 혈청농도는 정상군에 비해 환자군에서 유의적으로 낮은 수치를 나타내었고 혈청 α -tocopherol : γ -tocopherol 비율은 11.2로 Bates 등³⁰⁾의 혈장내 비율과 유사하였다.

2) 혈장 비타민 C 농도

혈장 비타민 C 농도 (Table 2)는 남자의 경우 정상군 ($15.5 \pm 0.76 \mu\text{g/dl}$)에 비해 환자군 ($12.5 \pm 0.80 \mu\text{g/dl}$)에서 유의적으로 낮게 나타났다. 강력한 항산화 능력을 가진 것²⁾으로 알려진 비타민 C는 다른 혈장이나 조직보다 방수와 수정체에 높은 농도로 존재한다고 알려져 있다.³⁷⁾ 특히 Hong 등³⁸⁾의 연구에 의하면 백내장환자에서 수정체의 비타민 C농도는 혈장의 62배인 $245.5 \mu\text{g/ml}$ 로 보고되어 photooxidation에 중요한 역할을 하는 것으로 사료된다. 또한 비타민 C는 노화와 백내장 진행에 모두 관여하며 식이 섭취의 영향을 많이 받는 것으로 알려져 있다.^{24,12)} Taylor 등³⁹⁾의 결과에서 보면 RDA (120 mg/dl)의 2배 이상 섭취하는 사람에서 수정체의 비타민 C가 증가된 양상을 보였다. 그리고 산화에 의한 수정체의 손상 방지면에서 동물 실험의 증거가 있으며, 사람을 대상으로 한 연구에서 10년 이상의 비타민 C보충이 백내장 발병율을 감소시킨다고 보고하였다.⁴⁰⁾ 또한 Jacques, Chylack⁴¹⁾의 연구에서 높은 혈장 비타민 C농도가 낮은 농도에 비하여 초기 백내장의 발병율을 1/3 정도 낮추는 것으로 보고하였고 Simon, Hudes⁴²⁾는 다중회귀분석을 통하여 혈청 비타민 C가 1 mg/dl 상승하면 백내장 발병율이 26% 감소한다고 하였다. 본 연구 결과에서도 남자의 경우에서는 혈장 비타민 C 농도가 정상군에 비해 환자군에서 유의적으로 낮은 수치를 보였다. 여자의 경우는 환자와 정상인 사이에 유의적 차이가 발견되지 않았으나, 눈조직에서 비타민 C의 농도는 사람이나 동물에서 식이섭취와 관련되는 것으로 간주되며, 수정체의 비타민 C는 식이 보충에 따라 증가되므로^{43,39)} 비타민 C가 풍부한

식품의 섭취가 중요할 것으로 판단된다.

3. 혈청 무기질의 농도

Table 3에 의하면 남자의 경우 정상군에 비해 환자군에서 혈청 Zn농도 ($105.8 \pm 7.33 \mu\text{g/dl}$ vs $80.0 \pm 5.78 \mu\text{g/dl}$, $p < 0.01$)가 유의적으로 낮았으며 Cu/Zn ratio (0.98 ± 0.02 vs 1.58 ± 0.29 , $p < 0.05$)는 환자군에서 정상군보다 유의적으로 높은 수준을 보여주었다. 여자의 경우 유의적인 차이를 보이지는 않았으나 환자에서 혈청 Zn농도가 더 낮게 나타났다. 항산화 관련 효소들의 구성요소로서 무기질은 결핍시에 효소의 활성이 감소되고, 이러한 항산화 효소들의 활성 감소는 세포막의 지방산 구성성분의 변화를 초래하여 세포의 안정성을 손상시키고 free radical의 반응을 제어하는데 문제가 발생할 수 있다.^{44,45)} 특히 Zn는 렌즈의 건강 유지에 중요하고 혈장에서 Zn과 Cu의 낮은 수준이 백내장에서 보고되었으며⁶⁾ salmon에서 Zn결핍시에 백내장이 유발됨을 보고하였다.⁴⁶⁾ 본 연구에서 나타난 Zn의 농도의 유의적인 감소는 다른 결과^{47,48)}들과 유사한 양상을 나타내었다.

Cu와 Zn은 체내에서 metallothionein에 결합함에 있어서 서로 경쟁적이기 때문에 이들은 길항작용을 통하여 생체 내에서 항상성을 유지하며 여러 질환 특히 악성질환과 밀접한 관계가 있다고 밝혀져 혈청 농도의 비율이 악성질환의 진단 및 치료에 대한 평가에 도움이 된다고 제안되고 있다.⁴⁹⁾ Cu/Zn의 비율은 연령이 높아질수록 증가하며 질병이 있는 경우에 증가하는 경향을 가진다. 그러므로 본 연구는 환자군의 높은 연령과 백내장이라는 질환의 복합적인 영향을 유의적인 결과치로 관찰할 수 있었다. 그러나 이 결과 또한 남자의 경우만 유의적으로 나타났으므로 더 많은 대상의 조사 연구가 요구된다.

4. 혈청 GSH-Px의 활성

Table 4에서 혈청 GSH-Px 활성은 여자의 경우에서 환자군 ($50.1 \pm 3.90 \text{ nmole of NADPH/min/mg protein}$)이 정상군 ($60.1 \pm 2.16 \text{ nmole of NADPH/min/mg protein}$)에 비해 유의적으로 낮은 활성을 보였고 남자의 경우에는 유의

Table 3. Serum mineral concentrations

	Man		Women	
	Control (n = 20)	Cataract (n = 17)	Control (n = 25)	Cataract (n = 17)
Se ($\mu\text{g/dl}$)	12.9 ± 0.85	11.5 ± 0.72	10.8 ± 0.81	11.2 ± 1.02
Mn ($\mu\text{g/dl}$)	0.53 ± 0.12	0.32 ± 0.12	0.25 ± 0.09	0.44 ± 0.13
Cu ($\mu\text{g/dl}$)	108.9 ± 5.48	100.9 ± 5.87	106.9 ± 5.25	105.6 ± 3.68
Zn ($\mu\text{g/dl}$)	105.8 ± 7.33	$80.0 \pm 5.78^{**}$	103.7 ± 4.24	95.1 ± 6.18
Cu/Zn (ratio)	0.98 ± 0.02	$1.58 \pm 0.29^*$	1.05 ± 0.08	1.19 ± 0.09

Value are mean \pm SEM.

*: different from control at $p < 0.05$.

**: different from control at $p < 0.01$.

Table 4. Serum GSH-Px activities and MDA concentrations

	Man		Women	
	Control (n = 20)	Cataract (n = 17)	Control (n = 25)	Cataract (n = 17)
GSH-Px (nmole of NADPH/min/mg protein)	69.8 ± 8.32	52.7 ± 5.76	60.1 ± 2.16	50.1 ± 3.90*
MDA (nmole/ml)	2.69 ± 0.22	4.98 ± 0.43**	2.94 ± 0.23	3.94 ± 0.46*

Value are mean ± SEM.

*: different from control at $p < 0.05$.

** : different from control at $p < 0.01$.

적인 차이를 보이지는 않았으나 환자군에서 낮게 나타났다.

수정체에 폭넓게 분포하는 GSH는 중요한 항산화물질로 당과 함께 수정체단백질의 산화반응을 감소시키며, total protein thiols의 손실, 미토콘드리아와 세포막의 지질 과산화현상과 미토콘드리아의 transmembrane 유동성 감소 등에 의해 GSH의 감소가 일어난다.⁵⁰⁾ 본 연구에서 여자의 경우 GSH-Px의 유의적인 감소는 Reddan 등⁵¹⁾의 연구결과와 동일하고 이것은 백내장 환자에서 감소된 GSH를 GSSG로 산화시키는 역할을 하는 GSH-Px의 작용도 감소된 것으로 사료된다. 감소된 GSH-Px 활성은 GSH의 산화에 의한 H₂O₂의 해독작용을 저하시켜 세포에 유해할 수 있음을 제시해 준다. 지질 과산화과정에서 superoxide dismutase (SOD), GSH-Px와 catalase 활성 사이의 균형은 중요한 요소로 작용한다. 생체내에서 내인적 또는 외인적 요인에 의하여 생성된 superoxide radical은 SOD에 의하여 H₂O₂로 일차적으로 전환되고 생성된 H₂O₂와 과산화물은 catalase와 GSH-Px의 작용에 의하여 H₂O로 전환됨으로써 superoxide의 잠재적 유독효과로부터 보호받을 수 있다.⁵²⁾ 한 연구에서 보면 GSH-Px는 백내장환자의 렌즈에서 유의적으로 활성이 저하되나 catalase 활성은 정상과 다르게 유의적인 증가를 보였다. 이는 GSH-Px와 catalase가 SOD나 다른 원인으로부터 생성된 H₂O₂를 제거하는데, GSH-Px 활성의 감소를 보상하기 위한 catalase의 역할임을 보고한 바 있다.⁵³⁾

본 연구에서 관찰된 GSH-Px의 감소는, free radical에 관여하는 전단계 효소인 SOD와, GSH-Px와 동일 수준에서 역할을 하는 catalase의 활성과의 관계에 대한 추가적 연구를 요구한다.

5. 혈청 MDA 농도

MDA는 thiobarbituric acid (TBA)와 반응하는 산화산물의 구성성분으로서 지질과산화 정도의 지표로 이용된다. Table 4에 제시된 MDA (malondialdehyde) 농도는 남자 (2.69 ± 0.22 nmole/ml vs 4.98 ± 0.43 nmole/ml, $p < 0.01$)와 여자 (2.94 ± 0.23 nmole/ml vs 3.94 ± 0.46 nmole/ml, $p < 0.05$)의 경우 모두 정상군에 비해서 환자군에서 모두 유의적으로 높은 수치가 관찰되었다. Xue⁵⁴⁾의

연구에서 노인성 백내장환자의 혈장과 수정체에서 MDA의 유의적인 증가를 나타낸다는 결과와 유사하다. 또한 Orhan⁵⁵⁾의 연구에서도 selenite-induced rat cataract에서 MDA의 증가가 관찰되었다. 이는 백내장환자에서 산화적 스트레스로 인한 세포내 지질과산화물이 축적된 것으로 생각된다.

요약 및 결론

본 연구는 백내장환자에서 혈중 지질과산화물의 농도, 항산화 관련 비타민농도, 효소활성, 무기질농도를 측정, 비교 평가하였다.

1) 혈청 지용성 비타민중에서 lycopene (M: $p < 0.05$, F: $p < 0.01$) 농도가 남녀 환자 모두에서 정상군에 비해 유의적으로 낮았다. 여자의 경우에는 zeaxanthin ($p < 0.01$)과 γ -tocopherol ($p < 0.01$) 농도가 환자군에서 유의적으로 낮게 나타났으나 cryptoxanthin ($p < 0.05$)은 유의적으로 높게 나타나 대조적이었다. 혈장 ascorbic acid농도는 남자에서 환자군이 정상군에 비해 유의적으로 ($p < 0.05$) 낮게 나타났다.

2) 혈청 무기질의 농도에서는 남자에서 환자군이 정상군에 비해 혈청 Zn농도 ($p < 0.01$)가 유의적으로 낮은 수준을 나타내었으며 따라서 Cu/Zn ratio ($p < 0.05$)는 환자에서 유의적으로 높은 수준을 보여주었다.

3) 혈청 GSH-Px의 효소는 환자군이 정상군에 비해 낮은 활성을 보였다.

4) MDA농도는 남녀 환자 모두에서 정상군에 비해 유의적으로 높게 나타났다.

이상의 결과로 백내장 환자에서 높은 과산화지질과 저하된 항산화 방어체계를 볼 수 있다. 백내장의 발병 지연은 백내장에 관련된 장애와 경제적인 부담을 감소시킬 수 있고, 급증하는 다수의 노령인구에서 삶의 질을 향상시킬 수 있다. 그러므로 한국인 백내장환자에 있어서 항산화체계를 개선하여 질병예방에 직접적으로 공헌할 수 있는지 추가적으로 연구되어야 하겠다. 또한 그에 따른 식품내의 항산화 영양소 database 구축과 백내장과 밀접하게 관련된 수정체, 방수와 유리체내의 항산화 체계에 대한 연구도 필요하다고 사료된다.

■ 감사의 글

We thank 'F. Hoffmann-La Roche Co., Ltd' for providing vitamin standards.

We also thank Drs. Chung Mo Nam and Kyung Won Oh (Yonsei University College of Medicine, Preventive Medicine and Public Health) for their advice in statistical analysis.

Literature cited

- 1) Christen WG, Glynn RJ, Hennekens CH. Antioxidants and age-related eye disease: current and future perspectives. *Annals Epidemiol* 6: 60-66, 1996
- 2) Diplock AT, Charleux JL, Crozier-Wiili G, Kok FJ, Rice EC, Roberfrid M, Stahl W, Vina-Ribes J. Functional food science and defence against reactive oxidative species. *Br J Nutr* 80(S): 577-5112, 1998
- 3) Delcourt C, Cristol JP, Leger CL. Associations of antioxidant enzymes with cataract and age-related macular degeneration. *Ophthalmol* 106: 215-222, 1999
- 4) Christen WG. Antioxidants and eye disease. *Am J Med* 97(S): 3A-14S-17S, 1994
- 5) Bunce GE. Antioxidant nutrition and cataract in women: A prospective study. *Nutr Rev* 51: 84-85, 1993
- 6) West SK, Valmadrid CT. Epidemiology of risk factors for age-related cataract. *Surv Ophthalmol* 39: 323-334, 1995
- 7) Kim KB, Pack JC, Song BR, Koo BS. The clinical survey on the prevalence of eye diseases in elderly patients in Sungnam-Shi area. *J Kor Ophthalmol Soc* 34: 1281-1286, 1993
- 8) Kim IS, Kim WS, Lee YO, Kim JC, Shyn KH. Morphological classification of the lens opacity of age-related cataract in one area of Seoul. *J Kor Ophthalmol Soc* 31: 725-731, 1990
- 9) Ahn CS. Retrospective observations of cataract surgery patients. *J Kor Ophthalmol Soc* 17: 281-287, 1976
- 10) Kim KH. A clinicostatistical analysis of senile cataract. *J Kor Ophthalmol Soc* 24: 149-155, 1983
- 11) Ahn JE, Seo KY, Kho HJ, Kim SH, Kwon OW, Koo BS, Doo SJ, Lee HK. The change of blindness-causes in Korea. *J Kor Ophthalmol Soc* 39: 263-269, 1998
- 12) McCarty CA, Mukesh BN, Fu CL, Taylor HR. The epidemiology of cataract in Australia. *Am J Ophthalmol* 128: 446-465, 1999
- 13) Beebe DC. Nuclear cataracts and nutrition: hope for intervention early and late in life. *Invest Ophthalmol and Visual Sci* 39: 1531-1534, 1998
- 14) Taylor A, Jacques PF, Epstein EM. Relation among aging, antioxidant status, and cataract. *Am J Clin Nutr* 62(S): 1439S-1447S, 1995
- 15) Lenetsky M, Ranson N, Ortwerth BJ. The aggregation in human lens proteins blocks the scavenging of UVA-generated singlet oxygen by ascorbic acid and glutathione. *Arch Biochem & Biophys* 351: 180-188, 1998
- 16) Fu S, Dean R, Southan M, Truscott R. The hydroxyl radical in lens nuclear cataractogenesis. *J Biol Chem* 273: 28603-28609, 1998
- 17) Floren LC, Schroeder DJ, Bereskin AC. Antioxidants may retard cataract formation. *Annals Pharmacotherapy* 28: 1040-1042, 1994
- 18) Yeum KJ, Lee-Kim YC, Yoon S, Lee KY, Pack IS, Lee KS, Kim BSTang G, Russell RM, Krinsky NI. Similar metabolites formed from β -carotene by human gastric mucosal homogenates, lipoxigenase or linoleic acid hydroperoxide. *Arch Biochem & Biophys* 321: 167-175, 1995
- 19) Macrae R. HPLC in Food Analysis. 2nd ed., pp.172-179, Academic Press, Sandiego, 1988
- 20) Scott PE, Michael LM, Barrett ER, Kurt GK, Carmen SA, Joseph AW, Sharon WA. Sampling and analysis techniques for monitoring serum for trace elements. *Clin Chem* 32: 1350-1356, 1986
- 21) Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab & Clin Med* 70: 158-169, 1967
- 22) Deagen JT, Butler JA, Beilstein MA, Wharyer PD. Effects of dietary selenite, selenocysteine and selenomethionine on selenocysteine lyase and glutathione peroxidase activities and on selenium levels in rat tissues. *J Nutr* 117: 91-98, 1987
- 23) Buckingham KW. Effect of dietary polyunsaturated/saturated fatty acid ratio and dietary vitamin E on lipid peroxidation in the rat. *J Nutr* 115: 1425-1435, 1985
- 24) Jacques PF, Chylack LT Jr. Epidemiologic evidence of a role for the antioxidant vitamin and carotenoids in cataract prevention. *Am J Clin Nutr* 53(S): 352S-355S, 1991
- 25) Yeum KJ, Shang F, Schalch W, Russell RM, Taylor A. Fat-soluble nutrient concentrations in different layers of human cataractous lens. *Curr Eye Res* 19: 502-505, 1999
- 26) Phelps Brown NA, Bron AJ, Harding JJ, Dewar HM. Nutrition supplement and the eye. *Eye* 12: 127-133, 1998
- 27) Frei B. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: mechanisms of action. *Am J Med* 97(S): 3A-5S-13S, 1994
- 28) Moeller SM, Jacques PF, Blumberg JB. The potential role of dietary xanthophylls in cataract and age-related macular degeneration. *J Am Coll Nutr* 19(S): 522S-527S, 2000
- 29) Knekt P, Heliovaara M, Rissanen A, Aromaa A, Aran R. Serum antioxidant vitamins and risk of cataract. *Br Med J* 305: 1392-1394, 1992
- 30) Bates CJ, Chen SJ, Macdonald A, Holden R. Quantitation of vitamin E and a carotenoid pigment in cataractous human lenses, and the effect of a dietary supplement. *Intern J Vit & Nutr Res* 66: 316-321, 1996
- 31) Chung HY. Studies on the status of glutamate and antioxidant system in patients with retinal ganglion cell damage. Doctoral thesis, Yonsei Univ., 2001
- 32) Lyle BJ, Mares-Perlman JA, Klein BEK, Klein R, Greger JL. Antioxidant intake and risk of incident age-related nuclear cataracts in the Beaver Dam Eye Study. *Am J Epidemiol* 149: 801-809, 1999
- 33) Vitale S, West SK, Hallfrisch J, Alstob C, Wang F, Moorman C. Plasma antioxidant and risk of cortical and nuclear cataract. *Epidemiol* 4: 195-203, 1993
- 34) Lyle BJ, Mares-Perlman JA, Klein BEK, Klein R, Palta M, Bowen PE, Greger JL. Serum carotenoids and tocopherols and incidence of age-related nuclear cataract. *Am J Clin Nutr* 69: 272-277, 1999
- 35) Lehmann J, Martin HL, Lashley EL. Vitamin E in foods from high and low linoleic acid diets. *J Am Diet Assoc* 86: 1208-1216, 1986
- 36) Wolf G. γ -tocopherol: An efficient protector of lipids against ni-

- tric oxide-initiated peroxidative damage. *Nutr Rev* 55: 376-378, 1997
- 37) Richer SP, Rose RC. Water soluble antioxidants in mammalian aqueous humor: interaction with UV B and hydrogen peroxide. *Vis Res* 38: 2881-2888, 1998
 - 38) Hong YJ, Yun YS, Lee YG, Kim CY. Chemical analysis of aqueous humor in cataract and glaucoma patients. *J Kor Ophthalmol Soc* 32: 48-58, 1991
 - 39) Taylor A, Jacques PF, Nadler D, Morrow F, Sulsky SI, Shepard D. Relationship in humans between ascorbic acid consumption and levels of total and reduced ascorbic acids in lens, aqueous humor and plasma. *Curr Eye Res* 10: 751-759, 1991
 - 40) Jacques PF, Taylor A, Hankinson SE, Willett WC, Mahnen B, Lee YH, Vaid K, Lahav M. Long-term vitamin C supplement use and prevalence of early age-related lens opacities. *Am J Clin Nutr* 66: 911-916, 1997
 - 41) Jacques PF, Chylack LT Jr. Epidemiologic evidence of a role for the antioxidant vitamins and carotenoids in cataract prevention. *Am J Clin Nutr* 53(S): 352S-355S, 1991
 - 42) Simon JA, Hudes ES. Serum ascorbic acid and other correlates of self-reported cataract among older Americans. *J Clin Epidemiol* 52: 1207-1211, 1999
 - 43) Berger J, Shepard D, Morrow F, Taylor A. Relationship between dietary intake and tissue levels of reduced and total vitamin C in the guinea pig. *J Nutr* 110: 1-7, 1989
 - 44) Diplock AT. Antioxidant nutrients and disease prevention: an overview. *Am J Clin Nutr* 53: 189S-193S, 1991
 - 45) Shils ME, Olson JA, Shike M, Modern Nutrition in Health and Disease, pp.214-277, Lee & Febiger, A Waverly Company, 8th ed, 1994
 - 46) The Italian-American Cataract Study Group. Risk factors for age-related cortical, nuclear, and posterior subcapsular cataracts. *Am J Epidemiol* 133: 541-553, 1991
 - 47) Bhat KS. Plasma calcium and trace metals in human subjects with mature cataract. *Nutr Rep Int* 37: 157-163, 1988
 - 48) Barash H, Poston HA, Rumsey GL. Differentiation of soluble proteins in cataracts caused by deficiencies of methionine, riboflavin or zinc diets fed to Atlantic salmon, *Salmo salar*, rainbow trout, *Salmo gairdneri*, and lake trout, *Salvelinus namaycush*. *Cornell Vet* 72: 361-371, 1982
 - 49) Mehta SW, Erkum R. Effect of estrogen on serum and tissue levels of copper and zinc. *Adv Exp Med Biol* 258: 155-162, 1989
 - 50) Miitton KP, Trevithick JR. High-performance liquid chromatography-electrochemical detection of antioxidants in vertebrate lens: glutathione, tocopherol, and ascorbate. *Methods in Enzymol* 233: 523-539, 1994
 - 51) Reddan JR, Giblin FJ, Kadry R, Leverenz VR, Pena JT, Dziedzic DC. Protection from oxidative insult in glutathione depleted lens epithelial cells. *Exp Eye Res* 68(1): 117-127, 1999
 - 52) McCord JM, Fridorich I. Superoxide dismutase: an enzymatic function for erythrocyte hemocuprin (hemocuprein). *J Biol Chem* 252: 7329-7341, 1976
 - 53) Osman C, Yavuz B, Yuksel T, Omer A, Guler Z. Superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and xanthine oxidase in diabetic rat lenses. *Ophthalmic Res* 31: 346-350, 1999
 - 54) Xue AN, Cai QY, Wang SQ, Zhou AS, Li WX, Fu P, Chen XS. Antioxidant status in persons with and without senile lens changes. *Biomedical & Environ Sci* 9: 144-148, 1996
 - 55) Orhan H, Marol S, Hepsen IF, Sahin G. Effects of some probable antioxidants on selenite-induced cataract formation and oxidative stress-related parameters in rats. *Toxicol* 139: 219-232, 1999