

한국 남성 관상동맥질환자의 혈청 항산화 무기질 수준과 효소 활성

심유진 · 김수연¹⁾ · 정은정²⁾ · 조승연³⁾ · 이양자^{1)†}

연세대학교의료원 국민고혈압사업단, ¹⁾연세대학교 식품영양과학연구소, ²⁾강남대학교 교양학부,
³⁾연세대학교 의과대학 심장내과학교실

Levels of Serum Antioxidant Minerals and Enzyme Capacities of Korean Male Patients with Coronary Artery Disease

Eugene Shim, Soo Yeon Kim¹⁾, Eun Jung Chung²⁾, Seung Yun Cho³⁾, Yang Cha Lee-Kim^{1)†}

National Hypertension Center, Yonsei University Health System, Seoul, Korea

¹⁾Research Institute of Food & Nutritional Sciences, Yonsei University, Seoul, Korea

²⁾Department of General Education, Kangnam University, Gyeonggi-do, Korea

³⁾Division of Cardiology, Yonsei Cardiovascular Center, Yonsei University Health System, Seoul, Korea

ABSTRACT

Increased oxidative stress contributes to the progression of atherosclerosis. We measured serum antioxidant mineral concentrations, capacities of serum antioxidant enzymes and fasting lipid profile in 97 male patients with coronary artery disease (CAD) and 21 male controls. Nutrient intake was assessed by the semi-quantitative food frequency method. CAD patients were divided into single-vessel disease (SVD, n = 66) and multi-vessel disease (MVD, n = 31) groups on the coronary angiography. The ratio of serum LDL- to HDL-cholesterol elevated with an increasing number of diseased vessels compared to the control (control < SVD < MVD, $p < 0.05$). Patients with SVD and MVD had higher levels of serum lipoprotein (a) than the control ($p < 0.05$). The mean intake of carbohydrate, protein and cholesterol was higher in MVD patients and the intakes of vitamins C and E were lower in MVD and SVD patients than in the control ($p < 0.05$). Serum copper (Cu) and zinc (Zn) levels were higher in MVD and SVD patients than in the control (Cu: control 75.8 ± 5.07 , SVD 99.2 ± 2.90 , MVD 100.1 ± 2.32 $\mu\text{g/dL}$, $p < 0.01$; Zn: 76.8 ± 5.36 , 119.0 ± 5.95 , 129.1 ± 2.70 $\mu\text{g/dL}$, $p < 0.01$). And the ratio of Zn to Cu was higher in SVD and MVD patients than in the control (control 0.78 ± 0.06 , SVD 0.88 ± 0.05 , MVD 0.99 ± 0.04 , $p < 0.05$). The activity of glutathione peroxidase (GSH-Px) was lower in MVD than in SVD and the control (control 35.13 ± 1.34 , SVD 35.30 ± 1.01 , MVD 31.00 ± 1.04 U/mg protein, $p < 0.05$). The ratio of the activities of superoxide dismutase (SOD) to GSH-Px was higher in MVD than in control and SVD ($p < 0.05$). In groups with CAD, serum Cu and Zn concentrations and their ratio were changed compared to the control. GSH-Px activity was decreased and the ratio of SOD to GSH-Px was increased in the patients with MVD. The balances between the activities of SOD and GSH-Px should also be considered a risk factor in CAD patients. (*Korean J Community Nutrition* 12(4): 396-404, 2007)

KEY WORDS : Coronary Artery Disease · Copper · Zinc · Antioxidant Enzyme

서론

우리나라의 주요 사망원인으로 암, 뇌혈관 질환에 이어 심장 질환이 여전히 수위를 차지하고 있다(Korea National

접수일: 2007년 7월 25일 접수

채택일: 2007년 8월 16일 채택

†Corresponding author: Yang Cha Lee-Kim, Research Institute of Food & Nutritional Sciences, Yonsei University, Seoul, Korea

Tel: (02) 2123-3118, Fax: (02) 312-5229

E-mail: ycleekim@yonsei.ac.kr

Statistical Office 2006). 심장혈관질환의 주된 원인인 죽상동맥경화증은 수년에 걸쳐 진행되는 질환으로서 병변(lesion)에서 시작하여 동맥경화병소(atheroma)를 거쳐 혈전성(thrombotic) 합병증에 이르기도 한다(Libby 2000). 특히 죽상동맥경화증의 개시와 진행 과정에서 low-density lipoprotein(LDL)이 산화되고 nitric oxide(NO)의 생체이용률이 감소하며 혈관 염증 형성 등의 반응이 일어남으로써, 혈관 내피세포의 기능 이상과 혈관 활성 저하가 발생하고 평활근 세포의 증식이 초래되며 대식세포의 접착과 혈소판 응집이 활성화될 뿐 아니라 지질 과산화가 촉진되는

등 특징적 현상들이 일어나, 결과적으로 혈관계 질환이 발생하게 된다(Maytin 등 1999). 이 모든 과정에는 산화적 스트레스(oxidative stress)가 관련되어 있는 것으로 알려져 있다(Vassalle 등 2004).

2가 양이온인 셀레늄(selenium, Se), 망간(manganese, Mn), 구리(copper, Cu), 아연(zinc, Zn) 등의 미량원소는 glutathione peroxidase(GSH-Px)와 superoxide dismutase(SOD)의 구성성분 또는 보조인자(cofactor)로서 항산화 방어체계에 관여한다. 미량 원소간의 균형과 정상 수준 유지는 체내 항산화 체계의 균형 유지에 필수적이며 나아가 심장혈관계질환의 예방을 위해서 중요한 의미가 있을 것으로 생각되며(Anderson 1996), 이를 위해 항산화 영양소로서 미량 무기질의 체내 적절한 수준 유지 및 균형된 섭취가 강조된다(Ghayour-Mobarhan 등 2005). 구리와 아연 등의 혈청 무기질 농도는 심각한 결핍상태 등 극한의 경우를 제외하고는 어느 정도 항산성을 유지할 수 있기 때문에 신체 저장량을 반영하는 가장 좋은 지표는 아니지만(Leone 등 2006) 식사 섭취량을 부분적으로 반영할 수 있다(Brown 1998; Failla 1999; Wood 2000).

인간은 자유라디칼(free radicals)로부터 신체를 보호하기 위하여 내인성 항산화 방어체계를 발전시켰다. 이 방어체계에 효소는 산화적 스트레스로부터 혈관을 보호하는 중추적 역할을 수행하는데 SOD는 superoxide anion(O_2^-)을 효율적으로 전환하여 hydrogen peroxide(H_2O_2)를 형성한다. 하지만 hydrogen peroxide 역시 높은 산화 활성을 지니고 있기 때문에 정상 생리 환경에서 이 물질은 즉시 GSH-Px와 catalase에 의하여 안전한 물질인 물(H_2O)로 전환된다. 따라서 free radicals 제거 과정에서 hydrogen peroxide의 형성과 이의 신속한 처리를 위한 SOD와 GSH-Px 간의 균형은 개별 효소의 활성보다 더 중요한 의미를 가지고 있다(Ceballospicot 등 1992). 정상적 생리환경에서는 이들 두 효소가 균형을 이루고 있으나, 어떠한 이유로 SOD의 활성이 점차 증가하거나 GSH-Px 활성이 감소하게 되면 SOD에 의해 형성된 hydrogen peroxide가 적절히 처리되지 못하고 축적되어 지질 과산화물의 형성이 증가하게 되고 세포에 돌이킬 수 없는 손상을 일으킬 수 있다(Berr 등 2004).

본 연구는 한국인 남성 관상동맥질환자의 항산화 체계와 혈중 지질 패턴에 대해 알아보고자 혈청 콜레스테롤, 중성지방, lipoprotein(a) 등 혈청 지질과, 혈청 셀레늄, 망간, 구리, 아연 등 항산화 무기질 농도 및 혈청 SOD와 GSH-Px 등 항산화 효소 활성, 지질과산화지표인 혈청 malondialdehyde(MDA) 수준을 측정하고 비교, 분석하였다. 성별에 따라, 관상동맥질환의 발생 패턴이 다르며(Castanho 등

2001) 관상동맥질환자의 혈액 무기질 농도와 효소 활성 등 항산화 체계에 차이가 있다(Vassalle 등 2007)는 보고들이 있으므로 연구 대상자는 남성으로 한정하였다.

조사대상 및 방법

1. 대상

본 연구는 허혈성 심질환이 의심되어 Y의료원에 내원한 후, 혈관조영술상 적어도 한 개 이상의 관상동맥에서 내경의 50% 이상 협착이 확인되어 관상동맥질환으로 진단받은 40~69세 남자 97명을 대상으로 하였다. 이들은 다시, 한 개 관상동맥혈관에 협착이 있는 단일혈관질환군(single-vessel disease, SVD, 66명)과 두 개 이상에 협착이 있는 다혈관질환군(multi-vessel disease, MVD, 31명)으로 분류되었다. 혈청 지질강화제를 복용 중이거나, 병변 혈관부위에 경피적 경혈관 관상동맥 풍선확장성형술 혹은 관상동맥 우회로이식술 등의 시술을 한 경우와, 병원처방을 통해 철저한 식사요법을 실시한 적이 있는 경우는 연구대상에서 제외하였다. 동일한 기간 동안 허혈성 심질환이 의심되어 방문하였으나 심전도와 혈관조영술상 정상조건을 보이고 당뇨병이나 고혈압, 심혈관질환의 현재 소견이나 과거력이 없으며 40~69세 연령 범위에 있는 남성 21명은 대조군으로 분류하였다. 총 연구 대상자 128명 중 영양조사에 응한 사람은 모두 80명이었다(대조군 16명, SVD군 42명, MVD군 22명). 혈청 무기질 농도와 혈청 항산화 지표의 상관관계 분석은 관상동맥질환으로 진단받은 97명(SVD군 66명, MVD군 31명)에 대해서 실시하였다.

2. 방법

1) 신체계측

신장과 체중을 측정하고 체질량지수(body mass index, BMI)는 체중(kg)을 신장(m)의 제곱으로 나눈 값을 사용하였다.

2) 영양소 섭취량 조사

식품섭취 빈도 조사표에 섭취량에 대한 설문을 포함하여 최근 1년간의 평소섭취에 대해 반정량적 빈도조사(semiquantitative food frequency method)를 실시하였다. 반정량적 빈도조사는 조사 방법이 비교적 간단하며 일상적인 식사 섭취와 상대적 섭취량 분석이 가능하고 1회 측정으로도 신뢰할만한 수준에서 대상자들을 섭취량에 따라 몇 개의 군으로 분류할 수 있기 때문에, 만성질환과 관련 있는 식사 요인을 찾아내는 역학 연구에서 널리 사용되고 있다

(Caan 등 1998). 24시간 회상법에 의한 기초 자료 수집을 통해 한국인의 상용음식 51가지를 선택하여 조사표를 구성하였다. 섭취 빈도는 '안 먹거나 매우 드뭄'에서 '매일 2회 이상'까지 총 8개의 범주로 구분하였다. 각 음식 또는 식품에 대한 섭취량의 단위는 200 mL 컵을 기준으로 하여 이를 세 범주로 구분하여 설문화 하였다. 각 영양소 섭취량은 식품성분표(Rural Development Administration 2001)를 근거로 산출하였다.

3) 검체의 분리

아침 공복상태에서 채취한 정맥혈을 일광 차광하고 1시간 이내에 혈청을 원심분리하였다. 분리된 시료는 -70°C 에서 냉동보관하였다.

4) 혈청 지질 및 지단백 농도 측정

혈청 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤과 중성지방은 자동분석기(Autoanalyzer Hitachi 7150, Hitachi Ltd, Tokyo, Japan)를 이용하여 효소법으로 측정하였고, high-density lipoprotein(HDL)-콜레스테롤은 침전제를 이용하여 유미지립(chylomicron), LDL, very-low-density lipoprotein(VLDL)을 침전시킨 후 상층액에 있는 HDL 중에서 콜레스테롤을 효소법으로 측정하였다. Lipoprotein(a)는 최소 검출 한계가 1.0mg/dL이고 intra-assay precision과 inter-assay reproducibility가 3.0% 이하인 two-site sandwich enzyme-linked immunosorbent assay(Behring Nephelometer System, Germany)를 이용하여 정량하였다.

5) 무기질 농도 측정

혈청 0.3 mL에 3차 증류수 2.7 mL를 첨가하여 10배의 희석액을 만들어 이중 1 mL을 안개화(nebulization) 시켜 inductively coupled plasma-mass spectrometer(ICP-MS, ELAN 5000, Perkin-Elmer, GA, USA)에 주입하였다. 기화된 시료는 플라즈마 지역에 도달하여 약 6000°K 의 절대온도에 노출되어 이온화 되고 아르곤(Ar) 기체를 따라 mass spectrometer(MS)로 들어가서 검출되었다. AN 2000 Van de Graaff accelerator(INFN-Legnaro, Italy)를 사용하여 양자에 의해 유도된 X-energy emission을 측정하여 구리, 아연, 망간, 셀레늄 등 4가지 미량원소의 혈청 농도를 구하였다.

6) Total SOD 활성도 측정

혈청 20 μL 에 ethanol 1 mL와 chloroform 1 mL를 가

하여 잘 섞은 후 원심분리하여 얻은 상층액에 Tris buffer 3 mL와 60 μL 의 pyrogallol을 순서대로 가하여 잘 섞는다. Pyrogallol은 자동산화가 개시되면 superoxide와 결합하여 흡광도를 증가시키는데, 혈청 SOD는 pyrogallol과 반응하여 산화를 억제하고 흡광도를 감소시키게 된다. Gilford spectrophotometer(STASAR III, 1220, CA, USA)를 이용하여 파장 420 nm에서 5분 동안 시료의 흡광도 증가 정도를 측정하였고, blank로서 증류수를 사용하였다. 효소 1 unit는 pyrogallol의 자동산화를 50% 방해하는 데 필요한 효소의 양으로서 산출하고 specific activity는 cytosol의 1 mg protein에 해당하는 enzyme unit로 환산하였다.

7) GSH-Px 활성도 측정

혈청 20 μL 에 증류수를 가하여 100 μL 로 희석한 후, 4.5 mmol EDTA(ethylene diamine tetra-acetic acid), 4.7 mM sodium azide를 포함한 0.125 M phosphate buffer(pH 7.0), 2.8 nM nicotinamide adenine dinucleotide phosphate(reduced form, NADPH), 49.9 nM reduced glutathione(GSH), 0.67 unit의 glutathione reductase(GR)를 함유한 반응혼합물 0.8 mL를 첨가하였다. 여기에 0.25 mM 과산화수소수 0.1 mL를 가해 산화 반응을 개시시킨 후, 즉시 spectrophotometer(Beckman)를 이용하여 파장 340 nm에서 glutathione(GSSG)의 형성에 따른 NADPH의 흡광도 감소 속도를 3분간 측정함으로써 GSH-Px의 활성을 산출하였다. GSH-Px의 존재 하에 과산화수소수를 첨가하여 형성된 산화형 GSSG는 반응혼합물 내의 NADPH를 소모시키면서 GR에 의하여 다시 GSH로 환원된다. 효소의 활성은 혈청 1 mL 당 1분 동안 산화된 NADPH의 nmol을 1 mg 알부민에 해당하는 unit로 환산하여 나타내었다.

8) MDA 농도 측정

혈청 20 μL 에 80 μL 의 0.1 M Na_2PO_4 buffer(pH 7.4)를 가하여 3분간 균질화시킨 후, 이 균질액 50 μL 에 1/12 N H_2SO_4 4 mL과 10% phosphotungstic acid 0.5 mL를 가하여 혼합한 후 실온에서 5분간 방치하였다. 이 혼합액을 원심분리(4000 rpm, 10분간) 한 후 침전물에 1/12 N H_2SO_4 2 mL과 10% phosphotungstic acid 0.3 mL를 가한 후 강하게 섞어 주었다. 이 혼합액을 다시 원심분리(4000 rpm, 10분간)하여 침전물을 모아 증류수 5 mL와 1% thiobarbituric acid(TBA 1.5 g를 10 mL의 c-NaOH에 용해시킨 후 50 mL의 증류수를 첨가한 후 perchloric acid로 pH 7.4로 맞추고 증류수로 100 mL가

지 채운 다음 7% perchloric acid 50 mL를 가한 용액) 2 mL를 가한 후 90°C에서 20분간 가열하였다. 이를 냉각시킨 후 n-butanol 5 mL를 가한 후 잘 혼합하여 원심분리 (4000 rpm, 10분간)하였다. 상층의 butanol층을 luminescence spectrophotometer (Amico Bowman series, NY, USA)를 이용하여 형광도를 측정한 후 (excitation 500 nm, emission 553 nm) 표준용액과 비교하여 비색 정량하였다.

9) 통계 분석

자료의 통계적 분석을 위해 Strategic Application System (SAS, version 9.1.3) 프로그램을 사용하였다. 대조군, SVD군, MVD군 등 세 집단 간에 변수들의 차이를 검증하기 위하여 일요인분산분석 (one-way analysis of variance, ANOVA)을 실시하였고 Student-Newman-Keuls 방법을 사용하여 집단간 다중비교를 실시하였다. 결과의 수치는 평균값 ± 표준오차 (standard error of the mean, SEM)로 표시하였다. 혈청 무기질 농도와 혈청 항산화 지표의 상관관계는 Pearson's correlation coefficients로 표시하였고 유의성 검정을 실시하였다.

결 과

1. 대상자의 일반사항

대조군과 SVD군과 MVD군의 일반사항과 혈청 지질 수준은 Table 1과 같다. 연령, BMI, 혈중 중성지방, 수축기·이완기 혈압 등은 세 집단 간에 유의한 차이가 없었다. 총 콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤 수준은 대조군에 비하여 MVD군에서 높았으며, HDL-콜레스테롤 수준은 대조군보다 MVD군과 SVD군에서 낮았다 (p < 0.05).

LDL/HDL-콜레스테롤 비는 MVD군, SVD군, 대조군의 순으로 높았으며 (대조군 2.8 ± 0.2, SVD군 3.5 ± 0.1, MVD군 4.2 ± 0.2, p < 0.05) lipoprotein(a)는 대조군에 비하여 SVD군과 MVD군에서 높았다 (대조군 31.4 ± 1.31, SVD군 40.2 ± 0.35, MVD군 42.3 ± 0.81 mg/dL, p < 0.05) (Fig. 1).

2. 영양소 섭취량

대조군과 SVD군과 MVD군의 영양소 섭취량 조사결과는 Table 2와 같다. 세 군의 에너지, 지질, 식이섬유의 섭취량에는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 탄수화물, 단백질, 콜레스테롤은 대조군에 비하여 MVD군이 많이 섭취하고 있

Table 1. General characteristics of subjects

	Control (n = 21)	SVD (n = 66)	MVD (n = 31)
Age (y)	55.6 ± 0.55	57.9 ± 0.15	58.3 ± 0.12
Body mass index (kg/m ²)	24.9 ± 0.15	24.9 ± 0.05	24.6 ± 0.04
Total cholesterol (mg/dL)	181.7 ± 1.01 ^b	191.0 ± 0.55 ^{ab}	210.5 ± 1.41 ^a
LDL-cholesterol (mg/dL)	110.9 ± 1.17 ^b	121.6 ± 0.53 ^{ab}	144.3 ± 1.21 ^a
HDL-cholesterol (mg/dL)	39.4 ± 0.66 ^a	35.4 ± 0.10 ^b	31.3 ± 0.23 ^b
Triglyceride (mg/dL)	162.1 ± 4.38	165.3 ± 1.40	175.6 ± 2.94
Systolic blood pressure (mmHg)	133.8 ± 1.11	130.0 ± 0.42	132.3 ± 0.46
Diastolic blood pressure (mmHg)	83.8 ± 0.64	83.5 ± 0.26	82.3 ± 0.29

Mean ± SEM. Values with different letters significantly differ from the others (p < 0.05). SVD: single-vessel disease, MVD: multi-vessel disease, LDL: low-density lipoprotein, HDL: high-density lipoprotein.

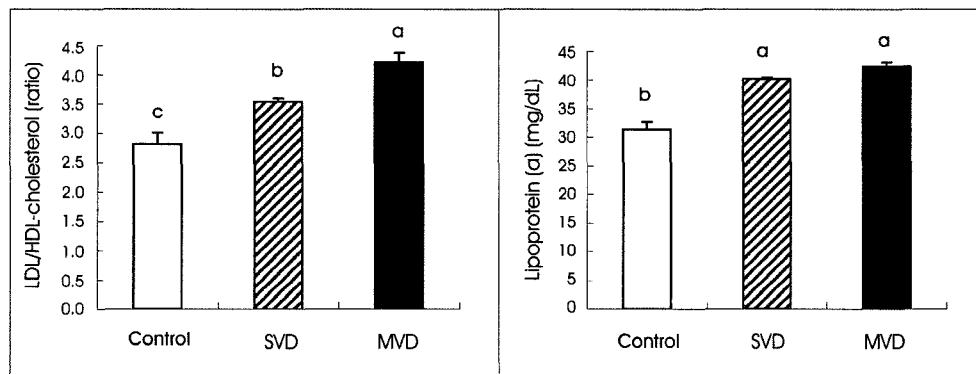


Fig. 1. The pattern of serum lipids of control and patients with coronary artery disease. Mean ± SEM. Values with different letters significantly differ from the others, p < 0.05. SVD: single-vessel disease, MVD: multi-vessel disease, LDL: low-density lipoprotein, HDL: high-density lipoprotein.

있고, 비타민 C와 E는 대조군에 비하여 SVD군과 MVD군의 섭취량이 적었다($p < 0.05$).

3. 혈청 무기질 농도

대상자의 혈청 무기질 농도는 Fig. 2와 같다. 혈청 구리와

Table 2. Daily nutrient intakes of the subjects

	Control	SVD	MVD
	(n = 16)	(n = 42)	(n = 22)
Calorie (kcal)	1825.8 ± 31.9	1964.3 ± 10.9	2079.2 ± 12.2
Carbohydrate (g)	311.0 ± 5.8 ^b	342.6 ± 1.8 ^{ab}	377.2 ± 2.0 ^a
Protein (g)	65.5 ± 1.4 ^b	71.6 ± 0.6 ^{ab}	80.5 ± 0.6 ^a
Fat (g)	35.6 ± 1.1	34.1 ± 0.5	36.4 ± 0.4
Cholesterol (mg)	142.0 ± 1.8 ^b	182.0 ± 1.0 ^{ab}	211.2 ± 1.3 ^a
Fiber (g)	4.9 ± 0.1	4.7 ± 0.04	5.1 ± 0.04
Vitamin C (mg)	59.6 ± 2.7 ^a	41.5 ± 0.4 ^b	42.9 ± 0.5 ^b
Vitamin E (mg α-TE)	499.3 ± 29.5 ^a	280.7 ± 3.8 ^b	311.2 ± 5.9 ^b

Mean ± SEM. Values with different letters significantly differ from the others ($p < 0.05$). SVD: single-vessel disease, MVD: multi-vessel disease.

아연 농도는 대조군에 비하여 SVD군과 MVD군에서 높았으며(구리: 대조군 75.8 ± 5.07 , SVD군 99.2 ± 2.90 , MVD군 $100.1 \pm 2.32 \mu\text{g/dL}$; 아연: 대조군 76.8 ± 5.36 , SVD군 119.0 ± 5.95 , MVD군 $129.1 \pm 2.70 \mu\text{g/dL}$, $p < 0.01$), 혈청 망간 농도는 대조군과 SVD군에 비하여 MVD군에서 낮았다(대조군 0.56 ± 0.058 , SVD군 0.62 ± 0.03 , MVD군 $0.37 \pm 0.02 \mu\text{g/dL}$, $p < 0.01$).

혈청 구리에 대한 아연의 비 Zn/Cu는 대조군에 비하여 SVD군과 MVD군에서 높은 것으로 나타났다(대조군 0.78 ± 0.06 , SVD군 0.88 ± 0.05 , MVD군 0.99 ± 0.04 , $p < 0.05$) (Fig. 3).

4. 혈청 항산화 효소와 지질과산화지표

SOD 활성은 세 군 간에 유의한 차이가 없었다. GSH-Px 활성은 대조군과 SVD군에 비하여 MVD군에서 낮게 나타났다(대조군 35.13 ± 1.34 , SVD군 35.30 ± 1.01 , MVD군 $31.00 \pm 1.04 \text{ U/mg protein}$, $p < 0.05$) (Fig. 4).

지질과산화지표인 MDA 농도는 세 군 간에 유의한 차이가 없었다(Table 3).

이들 두 효소의 비인 SOD/GSH-Px는 대조군과 SVD군에 비하여 MVD군에서 높게 나타났다(대조군 $0.065 \pm$

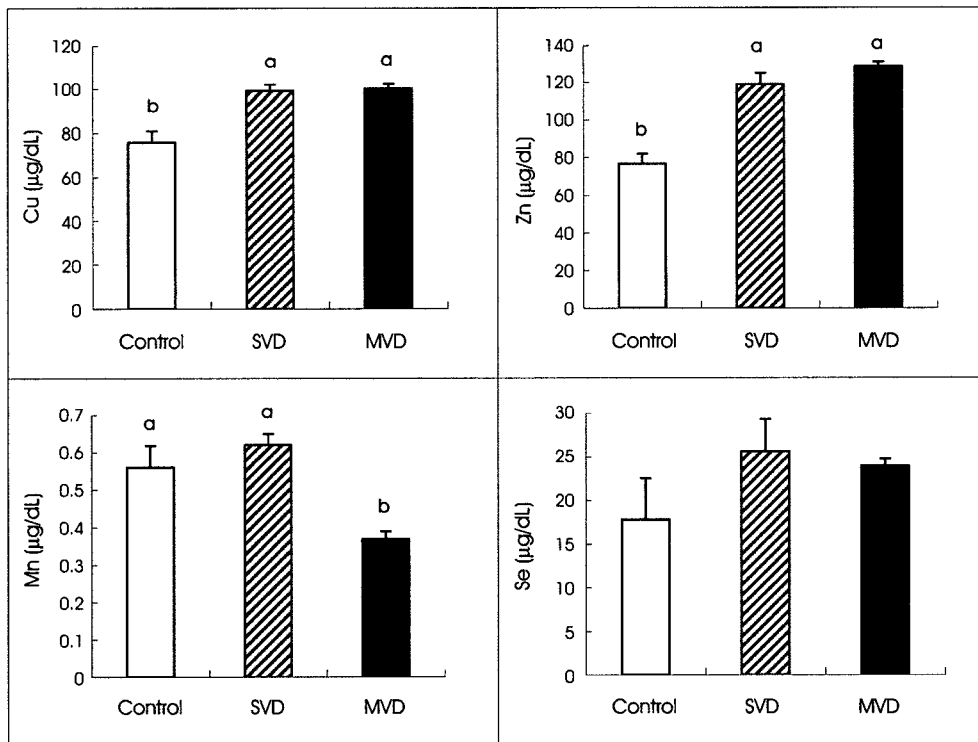


Fig. 2. Levels of serum minerals of control and patients with coronary artery disease.

Mean ± SEM. Values with different letters significantly differ from the others, $p < 0.01$. SVD: single-vessel disease, MVD: multi-vessel disease, Cu: copper, Zn: zinc, Mn: manganese, Se: selenium.

0.005, SVD군 0.064 ± 0.002 , MVD군 0.076 ± 0.002 , $p < 0.05$) (Fig 5).

5. 혈청 무기질 농도와 혈청 항산화 지표의 상관관계

관상동맥질환을 진단받은 환자에서 혈청 무기질 농도간의 상관관계는 Table 4와 같았다. 혈청 아연은 혈청 구리와 양의 상관관계를 보였고, 혈청 셀레늄은 혈청 구리 및 혈청 아

연과 양의 상관관계를 가지고 있었다($p < 0.001$).

같은 대상자에서 혈청 무기질과 혈청 항산화 지표간의 상관관계에서는 혈청 아연이 혈청 GSH-Px 활성 및 혈청 MDA 수준과 음의 상관관계를 가지고 있었고, 혈청 셀레늄이 혈청 MDA 수준과 음의 상관관계를 보였다($p < 0.05$) (Table 5).

Table 3. Concentration of serum malondialdehyde in control and patients with coronary artery disease

	Control (n = 21)	SVD (n = 66)	MVD (n = 31)	p value
MDA (mmol/L)	4.49 ± 0.04	4.39 ± 0.02	4.69 ± 0.02	NS

Mean \pm SEM. SVD: single-vessel disease, MVD: multi-vessel disease, MDA: malondialdehyde.

Table 4. Pearson's correlation coefficients between serum mineral levels in patients with coronary artery disease

	Cu	Zn	Mn	Se
Cu	1.00000	0.54762***	-0.00809	0.66833***
Zn		1.00000	0.02085	0.57580***
Mn			1.00000	-0.03070
Se				1.00000

***: $p < 0.001$. Cu: copper, Zn: zinc, Mn: manganese, Se: selenium.

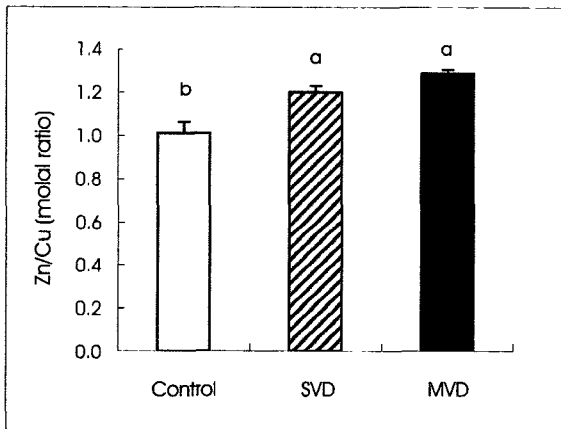


Fig. 3. The ratio of serum zinc to copper of control and patients with coronary artery disease. Mean \pm SEM. Values with different letters significantly differ from the others, $p < 0.05$. SVD: single-vessel disease, MVD: multi-vessel disease, Cu: copper, Zn: zinc.

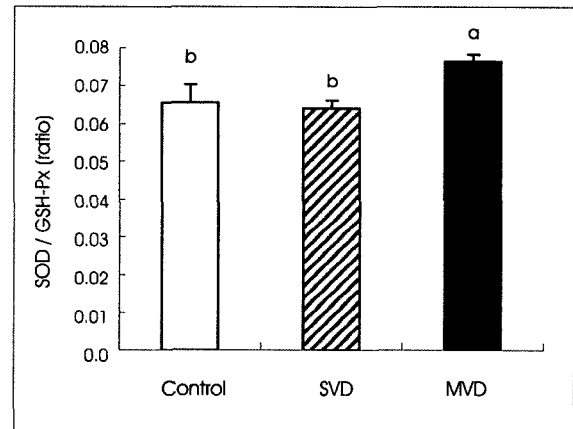


Fig. 5. The Ratio of the superoxide dismutase to glutathione peroxidase activity of control and patients with coronary artery disease. Mean \pm SEM. Values with different letters significantly differ from the others, $p < 0.05$. SVD: single-vessel disease, MVD: multi-vessel disease, SOD: superoxide dismutase, GSH-Px: glutathione peroxidase.

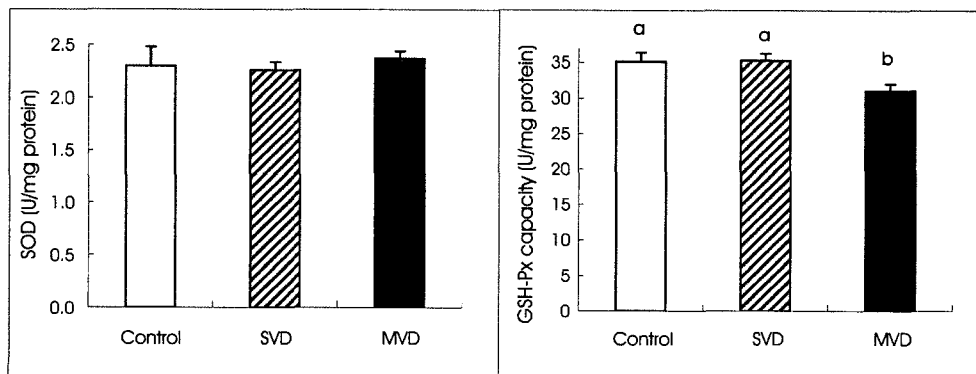


Fig. 4. Activities of antioxidant enzymes of control and patients with coronary artery disease. Mean \pm SEM. Values with different letters significantly differ from the others, $p < 0.05$. SVD: single-vessel disease, MVD: multi-vessel disease, SOD: superoxide dismutase, GSH-Px: glutathione peroxidase.

Table 5. Pearson's correlation coefficients between mineral levels and markers of antioxidant system in patients with coronary artery disease

	Cu	Zn	Mn	Se
SOD	-0.02058	-0.00409	0.09694	-0.07308
GSH-Px	-0.08167	-0.24757*	-0.19941	-0.04895
MDA	-0.21192	-0.22092*	-0.19404	-0.25128*

*: $p < 0.05$. Cu: copper, Zn: zinc, Mn: manganese, Se: selenium, SOD: superoxide dismutase, GSH-Px: glutathione peroxidase, MDA: malondialdehyde

고 찰

높은 수준의 LDL/HDL-콜레스테롤 비는 포화지방의 섭취 증가와 관련이 있으며 관상동맥질환의 위험을 높이는 것으로 알려져 있다(Blahá 등 2000). 본 연구에서 대조군보다 SVD군에서, SVD군보다 MVD군에서 LDL/HDL-콜레스테롤의 비가 높은 것으로 나타나 관상동맥질환의 발전 과정에 이 비가 중요 위험 인자로 작용하는 것으로 생각된다. 또한 lipoprotein(a)는 foam cell에서 섭취되어 죽상동맥경화증을 일으킬 수 있고(Bottalico 등 1993) 플라즈미노겐(plasminogen)과의 구조적인 유사성 때문에 피브린(fibrin)에 결합하여 항피브린 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Ezratty 등 1993). 본 연구에서도 SVD군과 MVD군에서 lipoprotein(a)의 농도가 높게 나타나 LDL/HDL-콜레스테롤 비와 더불어 관상동맥질환의 발병과 밀접하게 관련되어 있는 것으로 생각된다.

활성산소종(reactive oxygen species, ROS)에 의한 내피세포의 기능 변화는 죽상동맥경화증의 발병과 발전 과정에 중요한 개입 요소이다(Madamanchi 등 2005). 따라서 SOD와 GSH-Px, catalase 등 항산화효소에 의한 항산화 방어체계는 관상동맥질환의 예방을 위하여 매우 중요한 기전이며 망간, 구리, 아연, 셀레늄 등 항산화 무기질은 이들 효소의 구성요소 또는 보조효소로서 그 활성에 관여한다(Ghayour-Mobarhan 등 2005).

구리는 항산화효소인 CuZn-SOD의 필수 구성성분이므로 부족시 고콜레스테롤혈증, 동맥내 지질 과산화물 침착, 혈관 내피세포 기능 이상을 초래하여(Ferns 등 1997) 관상동맥질환의 위험 요인이 될 수 있다는 보고들이 있다(Klevay 2000; Kazemi-Bajestani 등 2007). 하지만 본 연구에서 혈청 구리 농도는 대조군에 비하여 SVD군과 MVD군에서 유의적으로 높아 이들 연구와 일치하지 않았다. 다른 연구들에서 과도한 수준의 구리는 전이금속(transition mineral)으로

작용하여 오히려 ROS의 형성을 촉진함으로써 LDL의 산화를 강력히 유도하여 죽종형성과 관상동맥질환의 위험을 증가시킬 수 있다는 연구들이 있으며(Esterbauer 등 1992; Ferns 등 1997; Lamb 등 2001), 혈청 구리가 심혈관질환을 비롯한 각종 질병의 염증과정에도 관여할 수 있는 것으로 보고된 바 있어(Ford 2000; Leone 등 2006) 본 연구의 결과를 부분적으로 뒷받침하고 있다. 또한 과도한 수준의 구리는 고지혈증을 유발하여 죽상동맥경화를 일으킬 수 있으며(Abiaka 등 2003; Stadler 등 2004; Leone 등 2006) 특히 대식세포의 콜레스테롤 형성 유전자를 자극하여 죽상경화증을 일으킬 수 있음이 제기된 바 있다(Svensson 등 2003).

아연의 혈청 수준은 대조군에 비하여 SVD군과 MVD군에서 더 높았다. 전이금속인 구리와는 달리 아연은 CuZn-SOD 효소의 안정화에 관여한다고 알려져 있지만(Fridovich 1972), 오히려 아연 보충제 사용이 HDL-콜레스테롤을 감소시키거나 LDL-콜레스테롤을 증가시킴으로써 심장혈관질환을 악화시킬 수 있다는 연구들도 있어(Hooper 등 1980; Freeland-Graves 등 1982; Chandra 1984) 혈청 아연 수준 및 아연 보충과 심장혈관질환과의 관련성에 대해서는 더욱 심도있는 연구가 요구된다.

혈청 구리와 아연 농도는 항상성을 유지하고 있기 때문에 신체 저장량을 반영하는 가장 좋은 지표는 아니다. 또한 식사와 혈청 수준과의 관계는 대사적, 병리적 과정과 개인의 유전적 특성 등이 관여하므로 간단히 설명하기에는 매우 복잡한 문제이다(Leone 등 2006). 하지만 구리와 아연 등 혈청 미량 원소의 영양상태를 민감하고 신뢰성 있게 판정할 수 있는 간편하고 적절한 생체 지표는 아직까지 없으며 가장 널리 사용하는 방법은 혈청 수준의 측정으로, 식사 섭취량을 부분적으로 반영할 수 있다(Brown 1998; Failla 1999; Wood 2000). 따라서 SVD군과 MVD군에서 증가된 수준의 혈청 구리와 아연의 농도는 간접적으로 섭취의 증가를 반영할 수 있다. 실제로 영양조사에서 MVD군이 대조군에 비하여 탄수화물, 단백질, 콜레스테롤은 많이 섭취하고 있었고, SVD군과 MVD군의 비타민 C와 E는 대조군에 비하여 섭취량이 적은 등 연구 대상자의 영양소 섭취량에는 차이가 있었다. 하지만 무기질 섭취량은 조사하지 않아 이와 같은 결과가 섭취 증가로 인한 결과인지 질병의 발병과정에서 대사적 변화로 인해 나타난 결과인지는 알 수 없었다.

구리와 아연의 불균형은 관상동맥질환을 일으키는 중요한 인자로서 높은 수준의 아연/구리 비가 관상동맥질환과 관련되어 있음은 여러 연구에서 공통적으로 지적된 바 있으며 특히 이들의 비가 관상동맥질환의 발병에 결정적 요인이 될 수 있음이 보고된 바 있다(Klevay 1975; Singh 등 1997;

Kazemi-Bajestani 등 2007). 본 연구에서도 SVD군과 MVD군의 Zn/Cu 비가 대조군에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타나 관상동맥질환자에서 미량무기질의 개별 농도 뿐 아니라 이들간 균형의 간접적 지표가 될 수 있는 비(ratio)도 또한 중요한 의미를 가지는 것으로 사료된다.

관상동맥질환자에서 혈청 아연은 혈청 구리와, 혈청 셀레늄은 혈청 구리 및 아연과 양의 상관관계를 가지고 있었다. 같은 대상자에서 혈청 아연은 혈청 GSH-Px 활성 및 혈청 MDA 수준과 음의 상관관계를 가지고 있었고, 혈청 셀레늄은 혈청 MDA 수준과 음의 상관관계를 보였다. 관상동맥질환자에서 변화된 항산화 체계가, 항산화 무기질 간의 상관관계와 항산화 무기질과 효소간의 상관관계에 영향을 미친 것으로 생각되며 이들간의 상관관계에 대해서는 추가적인 연구가 필요하다.

자유라디칼을 제거하여 균형을 유지하는 항산화 체계에서 항산화 효소인 SOD는 일차적 방어 기전을 담당하고 있고, 특히 Mn-SOD는 세포 내 미토콘드리아에 위치해 있기 때문에 산화적 스트레스에 대항하는 최초의 방어선이 될 수 있다(Faraci 등 2004). 따라서 대조군에 비하여 낮은 수준으로 나타난 MVD군의 망간 농도는 Mn-SOD의 활성에 영향을 미칠 수 있을 것으로 사료된다. 그러나 본 연구에서는 실제로 Mn-SOD 활성을 측정하지 않았으므로 이를 확인할 수는 없었다.

두 개 이상의 관상동맥에서 협착이 일어난 중증 관상동맥질환인 MVD군에서 낮은 GSH-Px 활성과 이로 인한 높은 SOD/GSH-Px 비가 특징적으로 나타났다. SOD와 GSH-Px 두 효소 간의 불균형은 SOD에 의해 형성된 hydrogen peroxide가 GSH-Px에 의하여 적절히 처리되지 않고 축적될 수 있음을 의미한다(Berr 등 2004). 따라서 관상동맥질환에서 높은 수준의 SOD/GSH-Px 비는 각 효소의 활성보다 더욱 민감하게 산화적 스트레스의 증가를 나타내는 지표가 될 수 있다. 증가된 산화적 스트레스는 지질 과산화 등에 관여함으로써 죽상경화증 등 관상동맥질환의 발병기전에 관여하는 것으로 알려져 있다(Vassalle 등 2004).

이상에서 대조군과 비교하여 관상동맥질환자에서 지질 패턴 및 무기질과 효소 등의 항산화 체계가 변화되어 있었다. 특히 SVD군과 MVD군에서 Cu와 Zn 농도 및 Cu/Zn 비가 변화되어 있었고 MVD군에서 GSH-Px 활성 감소 및 SOD/GSH-Px 비의 증가가 특징적이었으며, 이를 통해 관상동맥질환자의 산화적 스트레스가 증가되어 있음을 확인할 수 있었다. 추가로, 관상동맥질환의 항산화체계에서 개별 무기질 농도 및 효소 활성과 함께 이들 간의 균형은 보다 유의깊게 관찰해야 할 중요한 요소로 사료된다.

요약 및 결론

심장혈관질환의 주된 원인인 죽상동맥경화증에는 산화적 스트레스가 관련되어 있는 것으로 알려져 있다. 본 연구의 대상자는 남성으로, 대조군(21명)과 관상동맥조영술상 관상동맥질환으로 진단된 SVD군(66명), MVD군(31명)에서 혈청 항산화 무기질, 항산화 효소, 지질패턴을 분석하였으며, 반정량적 빈도조사를 통해 영양소 섭취량을 조사하였다.

1. LDL/HDL-콜레스테롤 비는 MVD군(4.2 ± 0.2), SVD군(3.5 ± 0.1), 대조군(2.8 ± 0.2)의 순으로 높았으며 lipoprotein(a) (mg/dL)는 대조군(31.4 ± 1.31)에 비하여 SVD군(40.2 ± 0.35)과 MVD군(42.3 ± 0.81)에서 높았다($p < 0.05$).

2. 탄수화물, 단백질, 콜레스테롤은 대조군에 비하여 MVD군이 많이 섭취하고 있었고, 비타민 C와 E는 대조군에 비하여 SVD군과 MVD군의 섭취량이 적었다($p < 0.05$).

3. 혈청 구리와 아연 농도($\mu\text{g/dL}$)는 대조군(구리 75.8 ± 5.07 ; 아연 76.8 ± 5.36)에 비하여 SVD군(99.2 ± 2.9 ; 119.0 ± 5.95)과 MVD군(100.1 ± 2.32 ; 129.1 ± 2.7)에서 높았으며($p < 0.01$), 혈청 구리에 대한 아연의 비 Zn/Cu도 대조군(0.78 ± 0.06)에 비하여 SVD군(0.88 ± 0.05)과 MVD군(0.99 ± 0.04)에서 높은 것으로 나타났다($p < 0.05$).

4. GSH-Px 활성(U/mg protein)은 대조군(35.13 ± 1.34)과 SVD군(35.30 ± 1.01)에 비하여 MVD군(31.00 ± 1.04)에서 낮게 나타났다($p < 0.05$). 이들 두 효소의 비인 SOD/GSH-Px는 대조군(0.065 ± 0.005)과 SVD군(0.064 ± 0.002)에 비하여 MVD군(0.076 ± 0.002)에서 높게 나타났다($p < 0.05$).

이상을 종합하여 볼 때, 대조군과 비교하여 관상동맥질환자에서 구리, 아연 등의 항산화 무기질의 농도와 비율이 변화되어 있었다. 또한 대조군과 SVD군에 비하여 MVD군에서 GSH-Px 활성은 감소하고 SOD/GSH-Px 비는 증가되어 있었는데, 항산화 효소의 개별 활성과 더불어 SOD와 GSH-Px간의 균형은 중증의 관상동맥질환에서 보다 유의깊게 관찰해야 할 중요한 요소로 사료된다.

참고 문헌

- Abiaka C, Olusi S, Al-Awadhi A (2003): Serum microminerals and the indices of lipid metabolism in an apparently healthy population. *J Clin Lab Anal* 17(2): 61-65
- Anderson RA (1996): Trace elements and cardiovascular diseases.

- Acta Pharmacol Toxicol 59 (Suppl 7): 317-324
- Berr C, Richard MJ, Gourlet V, Garrel C, Favier A (2004): Enzymatic antioxidant balance and cognitive decline in aging—the EVA study. *Eur J Epidemiol* 19(2): 133-138
- Blaha V, Solichova D, Cernohorsky D, Bratova M, Vyroubal P, Zadak Z (2000): Bioanalysis of PUFA metabolism and lipid peroxidation in coronary atherosclerosis. *J Pharm Biomed Anal* 22(3): 563-572
- Bottalico LA, Keesler GA, Fless GM, Tabas I (1993): Cholesterol loading of macrophages leads to marked enhancement of native lipoprotein(a) and apoprotein(a) internalization and degradation. *J Biol Chem* 268(12): 8569-8573
- Brown KH (1998): Effect of infections on plasma zinc concentration and implications for zinc status assessment in low-income countries. *Am J Clin Nutr* 68 (2 Suppl): 423S-9S
- Caan BJ, Slattery ML, Potter J, Quesenberry CP Jr, Coates AO, Schaffer DM (1998): Comparison of the Block and the Willett self-administered semiquantitative food frequency questionnaires with an interviewer-administered dietary history. *Am J Epidemiol* 148(12): 1137-1147
- Castanho VS, Oliveira LS, Pinheiro HP, Oliveira HC, de Faria EC (2001): Sex differences in risk factors for coronary heart disease: a study in a Brazilian population. *BMC Public Health* 1:3 (Epub)
- Ceballospicot I, Nicole A, Clement M, Bourre JM, Sinet PM (1992): Age-related changes in antioxidant enzymes and lipid peroxidation in brains of control and transgenic mice overexpressing copper-zinc superoxide dismutase. *Mutation Res* 275(3-6): 281-293
- Chandra RK (1984). Excessive intake of zinc impairs immune responses. *JAMA* 252(11): 1443-1446
- Esterbauer H, Gebickii J, Puhl H, Jurgens G (1992). The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modifications of LDL. *Free Radic Biol Med* 13(4): 341-390
- Ezratty A, Simon DI, Loscalzo J (1993): Lipoprotein(a) binds to human platelets and attenuates plasminogen binding and activation. *Biochemistry* 32(17): 4628-4633
- Failla ML (1999): Considerations for determining 'optimal nutrition' for copper, zinc, manganese and molybdenum. *Proc Nutr Soc* 58(2): 497-505
- Faraci FM, Didion SP (2004): Vascular protection: superoxide dismutase isoforms in the vessel wall. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24(8): 1367-1373
- Ferns GA, Lamb DJ, Avades TY, Taylor A (1997): The possible role of copper ions in atherogenesis: the Blue Janus. *Atherosclerosis* 133(2): 139-152
- Ford ES (2000): Serum copper concentration and coronary heart disease among US adults. *Am J Epidemiol* 151(12): 1182-1188.
- Freeland-Graves JH, Friedman BJ, Han WH, Shorey RL, Young R (1982): Effect of zinc supplementation on plasma high-density lipoprotein cholesterol and zinc. *Am J Clin Nutr* 35(5): 988-992
- Fridovich I (1975): Superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem* 44:147-149
- Ghayour-Mobarhan M, Taylor A, New SA, Lamb DJ, Ferns GA (2005): Determinants of serum copper, zinc and selenium in healthy subjects. *Ann Clin Biochem* 42(Pt 5): 364-375
- Hooper PL, Visconti L, Garry PJ, Johnson GE (1980): Zinc lowers high-density lipoprotein-cholesterol levels. *JAMA* 244(17): 1960-1961
- Kazemi-Bajestani SM, Ghayour-Mobarhan M, Ebrahimi M, Moohebbati M, Esmaeili HA, Parizadeh MR, Aghacizadeh R, Ferns GA (2007): Serum copper and zinc concentrations are lower in Iranian patients with angiographically defined coronary artery disease than in subjects with a normal angiogram. *J Trace Elem Med Biol* 21(1): 22-28
- Klevay LM (1975): Coronary heart disease: the zinc/copper hypothesis. *Am J Clin Nutr* 28(7): 764-774
- Klevay LM (2000): Dietary copper and risk of coronary heart disease. *Am J Clin Nutr* 71(5): 1213-1214
- Korea National Statistical Office (2006): Annual Report on the Cause of death Statistics
- Lamb DJ, Avades TY, Ferns GA (2001): Biphasic modulation of atherosclerosis induced by graded dietary copper supplementation in the cholesterol-fed rabbit. *Int J Exp Pathol* 82(5): 287-294
- Leone N, Courbon D, Ducimetiere P, Zureik M (2006): Zinc, copper, and magnesium and risks for all-cause, cancer, and cardiovascular mortality. *Epidemiology* 17(3): 308-314
- Libby P (2000): Changing concepts of atherogenesis. *J Intern Med* 247(3): 349-358
- Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS (2005): Oxidative stress and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25(1): 29-38
- Maytin M, Leopold J, Loscalzo J (1999): Oxidant stress in the vasculature. *Curr Atheroscler Rep* 1(2): 156-164
- Rural Development Administration (2001): Food Composition Table (6th ed)
- Singh RB, Gupta UC, Mittal N, Niaz MA, Ghosh S, Rastogi V. (1997): Epidemiologic study of trace elements and magnesium on risk of coronary artery disease in rural and urban Indian populations. *J Am Coll Nutr* 16: 62-67.
- Stadler N, Lindner RA, Davies MJ (2004): Direct detection and quantification of transition metal ions in human atherosclerotic plaques: evidence for the presence of elevated levels of iron and copper. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24(5): 949-954
- Svensson PA, Englund MC, Markström E, Ohlsson BG, Jernäs M, Billig H, Torgerson JS, Wiklund O, Carlsson LM, Carlsson B (2003): Copper induces the expression of cholesterologenic genes in human macrophages. *Atherosclerosis* 169(1): 71-76
- Vassalle C, Maffei S, Boni C, Zucchelli GC (2007): Gender-related differences in oxidative stress levels among elderly patients with coronary artery disease. *Fertil Steril* (Epub ahead of print)
- Vassalle C, Petrozzi L, Botto N, Andreassi MG, Zucchelli GC (2004): Oxidative stress and its association with coronary artery disease and different atherogenic risk factors. *J Intern Med* 256(4): 308-315
- Wood RJ (2000): Assessment of marginal zinc status in humans. *J Nutr* 130(5S Suppl): 1350S-4S