

공복혈당장애 성인에서 엽산 또는 아스코르브산의 보충급여가 혈장 호모시스테인 수준과 산화 스트레스에 미치는 영향

황미리 · 신민호¹⁾ · 이정애¹⁾ · 권순석²⁾ · 임현숙[†]

전남대학교 생활과학대학 식품영양학과, ¹⁾전남대학교 의과대학 예방의학교실, ²⁾화순전남대학교병원 전남지역암센터

Effects of Folic Acid or Ascorbate Supplementation on Plasma Homocysteine Levels and Oxidative Stress in Korean Adults with Impaired Fasting Glucose

Mir-Ri Hwang, Min-Ho Shin¹⁾, Jung-Ae Rhee¹⁾, Sun-Seog Kweon²⁾, Hyeon-Sook Lim[†]

Department of Food and Nutrition, Chonnam National University, Gwangju, Korea

¹⁾Department of Preventive Medicine, Chonnam National University, Medical School, Gwangju, Korea

²⁾Jeonnam Regional Cancer Center, Hwasun Chonnam National University Hospital, Hwasun, Korea

Abstract

Impaired fasting glucose (IFG) is one of significant risk factors of developing diabetes. The persons with IFG are, thus, an important target group for primary prevention of diabetes. It is well known that plasma homocysteine concentration may be increased in poor folate nutritional status. Elevated level of plasma homocysteine is considered as a marker of enhanced oxidative stress. In addition, the protective effect against oxidative stress may be diminished in poor anti-oxidative nutrient status as vitamin C. It is, therefore, important to maintain adequate nutritional status of folate and vitamin C in the patients with type 2 diabetes or IFG. This study was performed to determine the effects of supplementation of folic acid or vitamin C on plasma concentrations of homocysteine, oxidized LDL, and lipids and on the activity of plasma anti-oxidative enzyme in patients with IFG. A total of 97 patients with IFG were participated voluntarily with written consents. They were divided into one of the four experimental groups; Control (C), Folate-supplemented (F), Ascorbate-supplemented (A), and Folate plus ascorbate-supplemented (FA). The subjects in C were taken placebo, those in F were supplemented 1 mg of folate, those in A were received 1,000 mg of vitamin C, and those in FA were given 1 mg of folate plus 1,000 mg of vitamin C daily for 4 weeks. No change in plasma concentrations of vitamin C, lipids, and oxidized LDL and the activity of GSH-Px were observed in vitamin C-supplemented group (A + FA) and folate-supplemented group (F + FA) compared to the placebo group (C + A). Only the folate-supplemented group (F + FA) had significantly increased average serum folate concentration and lowered plasma homocysteine concentration compared to the placebo group (C + A). Thus, it should be recommended the patients with IFG to increase folate intake through diets and, if it is not sufficient, to take folic acid supplements to prevent the development of complications induced by hyperhomocysteinemia as well as oxidative stress. (*Korean J Community Nutrition* 13(2) : 263~275, 2008)

KEY WORDS : impaired fasting glucose · folic acid · vitamin C · homocysteine

서론

당뇨병은 인슐린 호르몬의 작용력 부족으로 발생하는 만성 질환이다(Bennett 1990). 제2형 당뇨병 환자에서는 고혈압, 동맥경화증, 심근경색증 등 대혈관 질환이나 신증, 신경병증, 망막증 등의 미세혈관 질환이 만성 합병증으로 발생하기 쉽다(Stevens 등 1995). 이는 당뇨병에서 대사 이상으로 나타나는 고혈당, 고인슐린혈증 및 고지혈증을 비롯해 비만이 대혈관은 물론 미세혈관에 문제를 일으키기 때문이다.

접수일: 2008년 4월 1일 접수

채택일: 2008년 4월 18일 채택

*This work was supported by the Korea Research Foundation Grant funded by Korea Government (MOEHRD, Basic Research Promotion Fund. (KRF-2005-0590)

[†]Corresponding author: Hyeon-Sook Lim, Department of Food and Nutrition, Chonnam National University, 300 Yongbong-dong, Buk-gu, Gwangju 500-757, Korea

Tel: (062) 530-1332, Fax: (062) 530-1339

E-mail: limhs@jnu.ac.kr

내당능장애 (impaired glucose tolerance: IGT)는 아직 당뇨병의 임상 증상을 나타내지는 않으나 혈당 수준이 정상보다 증가되어 있는 상태를 말한다. 즉 공복혈당이 115 mg/dL 이상이고 140 mg/dL 미만이며 동시에 75 g 포도당 섭취 2시간 후의 혈당이 140~200 mg/dL 사이일 때라고 정의되어 왔다 (WHO 1985). 미국당뇨병학회 (American Diabetes Association: ADA)는 1997년 보다 엄격해진 당뇨병의 진단 기준을 제시하면서 IGT에 상응하는 공복혈당장애 (impaired fasting glucose: IFG)라는 새로운 범주를 제안하였다 (ADA 2003). 즉 당뇨병의 진단 기준이었던 공복혈당 농도 140 mg/dL 이상을 126 mg/dL 이상으로 낮추었고, 110~125 mg/dL를 IFG라고 정의하였다. 이후 2003년에는 정상 공복혈당의 기준을 100 mg/dL 미만으로, 공복혈당장애의 기준을 100~125 mg/dL로 더욱 엄격하게 정의하였다.

IGT 또는 IFG는 당뇨병 이전의 상태 (prediabetic)로 당뇨병에 대한 중요한 위험 요인이다 (Edelstein 등 1997; Capes 등 2001). IGT를 가진 사람은 정상인 보다 고인슐린혈증을 나타내는 비율이 높으며 인슐린저항성을 보인다 (Lu 등 1996). IGT에서 당뇨병으로 진행 될 가능성은 신체질량지수 (body mass index: BMI)나 허리-엉덩이둘레 비율과 관련이 있으며 성별이나 당뇨병의 가족력과는 상관없이 없다 (Edelstein 등 1997).

IGT의 경우도, 당뇨병에서처럼 심각 하지는 않지만, 만성 미세혈관 합병증이 발생한다. 즉 비록 낮은 수준이지만 고혈당과 혈압의 상승, 고밀도 지단백-콜레스테롤 (high density lipoprotein-cholesterol; HDL-C)의 감소, 중성지방 (triacylglyceride; TG)의 증가 등 (Oiao 등 1998) 심·혈관 질환의 발생 위험이 증가되어 있기 때문이다 (Yudkin 등 1990). 따라서 IGT나 IFG를 적절히 관리하는 것은 당뇨병 발생의 예방에 필수적이며 또한 심·혈관 질환의 위험을 감소시키는 방안이라 하겠다.

호모시스테인 (homocysteine: Hcy)은 필수 아미노산인 메치오닌의 중간대사산물로서 체내에서 재메틸화 (remethylation)와 황전환 (transsulfuration) 작용에 의하여 대사된다 (Ueland 등 1993). McCullly 등 (1969)은 호모시스테인 농도로 사망한 환자에서 동맥경화증을 발견한 후 호모시스테인이 혈관 질환과 관련성이 있음을 제기하였다. 이후 Hcy이 혈관의 동맥경화를 유발하는 독립인자라고 알려졌다. 최근의 여러 연구들은 당뇨병 환자에서 고호모시스테인혈증이 동맥경화성 질환을 유발시킨다는 증거를 밝혔다 (Al-Obaidi 등 2000; McKinley 2000; Medina 등 2000). 혈장 Hcy 농도에 영향을 미치는 인자로는 유전, 연령, 성별,

인종, 흡연, 신장 기능 또는 비타민 섭취상태 등이 있다. 유전적 소인으로 cystathionine- β -synthase 결핍, methylene-tetrahydrofolate reductase (MTHFR)의 C677T 유전자 다형성 또는 methionine synthase 결핍 등이 알려져 있다. Hcy 대사에 관여하는 비타민 B₁₂, 비타민 B₆ 또는 엽산의 결핍은 고호모시스테인혈증을 유발하는데, 이중에서도 엽산의 영향이 가장 크다 (Nygard 등 1998).

혈중 Hcy 농도의 증가는 혈관 내피세포의 손상, 평활근 세포의 증식, 저밀도 지단백 (low density lipoprotein; LDL)의 변성, 산화 스트레스의 증가 등을 야기해 혈관 내피세포의 손상과 기능장애를 유발하여 동맥경화증을 일으키는 것으로 추정된다 (Nygard 등 1995; Moghadasian 등 1997; Van guldener 등 2000). 고호모시스테인혈증이 유리라디칼의 생성을 촉진시킨다는 가설이 많은 연구에서 지지되고 있다. 과잉의 유리라디칼은 LDL 입자의 변형을 유도하여 죽상경화반의 생성을 촉진하는 것으로 보인다 (Witium 등 1994; Ross 등 1996). 이러한 점은 혈장 Hcy 농도는 산화 LDL (oxidized LDL)의 농도와 양의 상관관계를 보이며 (McCully 1993), 고호모시스테인혈증을 가진 환자에게서 지질과산화물이 증가하거나 (Aukrus 등 1997), LDL의 산화 감수성이 높아진다고 하는 (Blom 등 1995; Yoshida 등 1997) 여러 연구들에 의해 지지된다.

체내 항산화 방어체계로 유리라디칼을 물 (H₂O)과 과산화수소 (H₂O₂)로 환원시키는 항산화 효소체계와 이미 생성된 유리라디칼에 의한 산화연쇄반응을 차단하는 항산화 비타민이 있다. 이중 비타민 C는 대표적인 항산화제로 세포외액에 주로 존재하며, 체내에서 유리라디칼이나 일중항산소를 직접적으로 제거하고, 세포막 지질의 산화연쇄반응을 차단하며, 수소 공급자로서 비타민 E와 glutathione의 재생산에 관여하며 (Davie 등 1992; Sies 등 1995), 가장 먼저 소실되는 경향을 보인다. 당뇨병 환자의 혈액에 비타민 C 농도가 유의하게 저하된 점이 확인되면서 (Som 등 1981) 당뇨병에 있어서 비타민 C 영양의 중요성이 인식되었다.

엽산 보충이 혈장 Hcy 수준을 낮춘다는 점은 잘 알려져 있다. 즉 1 mg 이상의 약리적 수준의 엽산 보충이 효과적이라는 연구결과도 있고 (Brattstrom 등 1996; Chauvear 등 1997; Racek 등 2005), 1 mg 미만의 저용량도 효과를 나타낸다는 연구결과도 있다 (Clarke 등 1998; Jacques 등 1999; Rydiewicz 등 2002). 12개의 엽산보충과 관련된 연구결과를 메타-분석한 한 연구는 0.5~5 mg의 모든 보충 수준에서 혈장 Hcy 농도가 25% 정도 저하된다고 하였다. 이외에 엽산 보충이 혈장에 malondialdehyde (MDA) 수준을 낮추고 glutathione 등 항산화물질의 농도를 높이나

superoxide dismutase(SOD)나 glutathione peroxidase (GSH-Px) 활성에는 영향을 끼치지 않는다는 보고도 있다 (Racek 등 2005). 한편 항산화 영양소인 비타민 C가 항산화 상태에 영향을 끼친다는 연구결과도 있다. 즉 Sargeant 등(2000)은 혈장 비타민 C 농도는 HbA_{1c} 농도와 역 상관을 보이며, 혈장 비타민 C 농도가 20 µmol/L 올라가면 고혈당 위험이 1/3 정도 줄어든다고 하였다. 국내에서도 비타민 C의 보충이 당뇨병 환자에서 공복혈당과 HbA_{1c} 농도를 감소시킨다는 보고가 있었다(Kang 등 1999; Park 등 2003). Kang 등(1999)은 하루 1,000 mg의 비타민 C 보충은 혈장 thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) 수준을 감소시킨다는 점도 밝혔다.

IGT나 IFG를 가진 사람을 대상으로 엽산이나 비타민 C의 보충이 혈장 Hcy 수준이나 항산화 상태에 어떤 영향을 끼치는 지에 관해 수행된 연구는 국내외에 거의 없다. 이에 본 연구에서는 IFG를 지닌 성인들에게 엽산과 비타민 C를 단독 또는 병합 보충하였을 때 혈장의 엽산과 비타민 C 농도가 어떻게 변화되는지 또한 혈장 Hcy 및 산화 LDL 농도와 지질 양상 및 항산화 효소의 활성에는 어떠한 영향을 끼치는지 규명하고자 하였다.

조사대상 및 방법

1. 연구대상자

본 연구의 대상자를 선정하기 위해 광주시의 동구보건소에 건강검진을 받으러 온 46~79세 성인 남녀 총 남녀 총 1171명(남자 397명, 여자 774명)의 공복혈당 수준과 혈장 Hcy 농도를 측정하였다. 이들 중에서 공복혈당 수준이 ADA(2003)의 IFG 진단 기준인 100~125 mg/dL이고, 혈장 Hcy 농도가 전체 검진대상자의 50~95%ile에 해당하는 9~15.9 µmol/L인 사람들을 본 연구대상자로 선정하였다. 지난 3개월간 영양보충제나 건강보조제를 복용하지 않은 사람 중 서면동의에 응해 본 연구에 자발적으로 참여한 연구대상자는 121명이었다. 이들 중에서 4주간 시험물질 섭취를 완료하고 모든 조사에 응한 97명(남자 61명, 여자 36명)을 본 연구의 최종 연구대상자로 삼았다. 최종 연구대상자의 연령 분포는 50세부터 75세이었다.

2. 시험설계

본 시험은 이중맹검위약법(double-blind placebo method)으로 진행되었다. 본 연구의 시험군은, Table 1과 같이, 대조군(Control group; C), 엽산 보충군(Folate-supplemented group; F), 비타민 C 보충군(Ascorbate-

Table 1. Experimental groups

Exptl group	Control	Folic acid	Ascorbic acid	Folic acid & ascorbic acid
Abbreviation	C	F	A	FA
Folic acid (mg)	0	1	0	1
Ascorbic acid (mg)	0	0	1000	1000

C: Control group, F: Folate-supplemented group, A: Ascorbate-supplemented group, FA: Folate plus ascorbate-supplemented group

supplemented group; A) 및 엽산과 비타민 C 병합보충군(Folate plus ascorbate-supplemented group; FA)의 4개 군으로 구분하였으며, 연구대상자 121명을 각 군에 무작위로 배치하였다. C군에게는 위약을, F군에게는 엽산(폴린정, 1,000 µg 엽산, 한국유나이티드 제약, 서울) 1,000 µg을, A군에게는 비타민 C(과립, 1,000 mg 비타민 C, 고려은단, 서울) 1000 mg을, FA군에는 상동 엽산 1,000 µg과 상동 비타민 C 1,000 mg을 매일 4주 동안 보충 섭취하도록 하였다. 시험기간 동안 일상적인 식사와 생활 습관을 유지하도록 하였다. 시험물질의 보충 전에 연구대상자의 체위 측정, 체조성 측정, 혈압 측정 및 채혈을 시행하였으며 시험물질의 보충 후에 한 번 더 채혈하였다. 혈액 시료를 이용해 혈청의 엽산과 비타민 C 및 지질 양상과 산화 LDL 농도를 측정하였고, 혈당과 혈중 당화혈색소(glycated hemoglobin: HbA_{1c})를 정량하였으며, 혈장에서 Hcy 농도와 GSH-Px 활성을 분석하였다.

3. 신체계측

신장계로 신장을 측정된 후, Inbody 520(Bio-electrical impedance fatness analyzer, (주)바이오패스, 한국)을 이용하여 체중, 체지방량 및 체지방 분포를 측정하였고, 이들 값으로부터 체질량 지수(body mass index: BMI) (kg/m²)를 산출하였다. 혈압은 30분 이상 안정을 취하도록 한 후에, 스탠드식 혈압계(Baumanometer, WA Baum Co. Inc, Copiague, NY, USA)를 이용하여 수축기 혈압(systolic blood pressure: SBP)과 확장기 혈압(diastolic blood pressure: DBP)을 5분 간격으로 두 번 측정하여 평균을 취하였다.

4. 영양섭취상태 조사

식사섭취상태는 시험기간 중에 비연속 3일간 전화 면접법으로 24시간 회상법(24-hour dietary recall method)에 따라 조사하였다. 이때 음식의 눈대중표와 식품모형을 설명 하면서 섭취량의 추정을 정확하게 하고자 하였다. 이들 자료

로부터 컴퓨터 프로그램(CAN-Pro 3.0, The Korean Nutrition Society 2005)을 이용해 에너지와 각 영양소의 섭취량을 구하였다. 이를 각 연구대상자의 성별과 연령에 따라 해당 영양섭취기준과 비교하였다.

5. 혈액 시료의 채취 및 분석

혈액은 12시간 이상 공복상태에서 상완정맥에서 채취하였다. 이때 혈청 분리용과 혈장 분리용 혈액을 구분하였으며 혈장을 얻기 위해서는 EDTA로 처리된 시험관을 사용하였다. 채혈 후 일부 혈액은 즉시 -70°C 에 냉동 보관하였고, 나머지는 4°C 에서 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈청 또는 혈장을 분리하여 분석 시까지 역시 냉동 보관하였다.

혈청 중의 HbA_{1c} 농도는 당화 혈색소 분석용 kit(Variant II HbA_{1c} T, Bio-Red Laboratories, Munich, Germany)를 사용하여 HPLC(Variant II TURBO, Bio-Red, Germany)로 측정하였다. 혈당, 중성지방, 혈청 총 콜레스테롤(total-cholesterol; T-C)과 HDL-C 농도는 자동생화학분석기(7600-110 Automatic Analyzer, Hitachi, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. LDL-C 농도는 Friedwald 식(Friedwald 등 1972)을 이용하여 계산하였고, 동맥경화지수는 Lauer 공식(Lauer 등 1998)에 의해 산출하였다.

혈청 엽산 농도는 ion capture assay(ICA)법을 활용하여 automatic Abbott AxSYM system(Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA)을 이용하여 측정하였고, 혈청 비타민 C 농도는 Okamura 방법(Okamura 1980)을 이용하여 측정하였다.

혈장 Hcy 농도는 상동 automatic Abbott AxSYM system을 사용하여 측정하였고, 혈장의 산화 LDL 농도는 enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)법을 활용한 산화 LDL 분석용 kit(Mercodia Inc., Uppsala, Sweden)를 사용하여 측정하였다.

혈장 GSH-Px 활성은 enzyme colorimetric assay법을 활용한 GSH-Px 분석용 kit(ABL, Hamburg, Germany)를 사용하여 측정하였다.

DNA는 연구대상자의 혈액에서 추출한 백혈구로부터 QIAamp DNA blood mini kit(Qiagen, Valencia, CA, USA)를 이용하여 분리하였다. 5,10-methylene tetrahydrofolate reductase(MTHFR) C677T의 유전자형 분석은 locked nucleic acids(LNA)를 포함하고 있는 dual labelled probe를 이용해 real-time PCR을 수행하였다. Real-time PCR은 Rotor-gene 3000 multiplex system(Corbett Research, Sydney, Australia)을 이

용하여 95°C 에서 5분간 pre-denaturation 과정을, 95°C 에서 5초간 denaturation 과정을, 그리고 62°C 에서 45초간 annealing과 hybridization 과정을 40회 반복 수행하였다. 증폭된 생성물에서 polymorphic site와 probe 간의 match와 mismatch의 차이에 의해 발현되는 형광물질을 모니터링 함으로써 CC, CT 또는 TT로 유전자형을 구분하였다.

6. 통계처리

모든 결과의 통계 처리는 SPSS(Window 12.0) package(SPSS, Chicago, IL, USA)를 이용하여 분석하였다. 본 연구결과 남녀 간에 반응이 유의하게 다르지 않아 남녀 데이터를 혼합하였다. 또한 엽산과 비타민 C의 병합 보충이 각각의 단독 보충에 비해 유의성 있는 상호작용 효과를 나타내지 않아 엽산과 비타민 C 각각의 보충 효과만을 검증하였다. 이를 위해 4개의 시험군을 Table 2와 같이 재배치하였다.

즉 엽산의 보충 효과를 알아보기 위해 4개의 시험군을 엽산 비보충군(엽산을 보충 받지 않은 대조군; C-I)과 엽산 보충군(엽산을 보충 받은 군; F-I)으로 구분하였다. 즉 엽산이 보충되지 않은 C군과 A군을 C-I군으로 하였고, 엽산이 보충된 F군과 FA군을 F-I군으로 구분해 통계처리 하였다. 비타민 C의 보충 효과를 알아보기 위해서는 4개의 시험군을 비타민 C 비보충군(비타민 C를 보충 받지 않은 대조군; C-II)과 비타민 C 보충군(비타민 C를 보충 받은 군; A-II)으로 구분하였다. 즉 비타민 C가 보충되지 않은 C군과 F군을 C-II군으로 하였고, 비타민 C가 보충된 A군과 FA군을 A-II군으로 구분하여 통계처리 하였다.

모든 분석항목의 데이터는 평균과 표준오차 또는 백분율로 제시하였다. 엽산이나 비타민 C 보충에 따른 효과의 검증은 각 분석항목별로 성별과 연령, BMI 및 보충 전 해당 분석항목의 농도를 보정한 후 보충군과 대조군 간 평균의 변화의

Table 2. Rearrangement of the experimental groups for statistical analysis

Rearranged group	For folic acid effect		For ascorbic acid effect	
	C-I	F-I	C-II	A-II
Original group	C + A	F + FA	C + F	A + FA

C: Control group, F: Folate-supplemented group, A: Ascorbate-supplemented group, FA: Folate plus ascorbate-supplemented group

C-I: not folate-supplemented group

F-I: folate-supplemented group

C-II: not ascorbate-supplemented group

A-II: ascorbate-supplemented group

차이를 다중회귀분석 (multiple linear regression model) 의 한 방법인 공분산분석을 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다. 일부 정규분포를 보이지 않은 데이터는 로그 변환하여 처리하였다.

결 과

1. 연구대상자의 일반사항

본 연구대상자의 일반사항은 Table 3과 같았다. C-I 군과 F-I군 간에 평균 연령과 체중, 신장, BMI, 체지방율 및 수축기와 확장기 혈압 모두 유의한 차이가 없었다. 또한 C-II군과 A-II군 간에도 역시 모두 유의하게 다르지 않았다.

2. 영양섭취상태

본 연구대상자들이 섭취한 에너지와 단백질 및 비타민 C와 엽산은 Table 4와 같았다. 에너지와 단백질, 비타민 C와 엽산 섭취량 모두 C-I군과 F-I군 간에 유의하게 다르지 않았고 또한 C-II군과 A-II군 간에도 유의성 있게 다르지 않았다.

4개 시험군마다 에너지 섭취량은 1500 kcal/d 전후로 에너지필요추정량(EER)의 77~81% 선으로 부족하였고, 단백질 섭취량은 60 g/d 전후로 평균필요량(EAR)의 152~162% 선으로 충분하였다. 비타민 C는 시험군마다 100 mg/d 전후를 섭취했으며 이는 EAR의 127~142%로 상당히 양호한 편이었다. 반면에 엽산 섭취량은 260 µg DFE/d 전후로 EAR의 79~84%로서 부족한 편이었다.

Table 3. Age, anthropometry, and blood pressure of the subjects

	C-I (n = 50)	F-I (n = 47)	C-II (n = 47)	A-II (n = 50)
Male/Female (n)	32/18	29/18	28/19	33/17
Age (yr)	67.5 ± 0.9	66.3 ± 1.1	65.6 ± 1.1	68.2 ± 0.8
Weight (kg)	62.5 ± 1.2	64.9 ± 1.6	62.0 ± 1.3	65.3 ± 1.5
Height (cm)	160.4 ± 1.0	160.5 ± 1.3	159.3 ± 1.2	161.6 ± 1.1
BMI (kg/m ²)	24.2 ± 0.3	25.0 ± 0.4	24.3 ± 0.3	24.9 ± 0.4
Body fat (%)	30.2 ± 0.9	31.7 ± 1.0	31.2 ± 1.0	30.7 ± 0.9
SBP (mmHg)	126.8 ± 15.4	124.9 ± 14.9	125.3 ± 15.1	126.4 ± 15.3
DBP (mmHg)	79.4 ± 9.2	77.5 ± 8.8	78.6 ± 8.9	78.4 ± 9.1

Values are mean ± standard error.

There is no significant difference between C-I and F-I and between C-II and A-II by multiple linear regression at $p < 0.05$.

BMI: body mass index, SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure

C-I: not folate-supplemented group

F-I: folate-supplemented group

C-II: not ascorbate-supplemented group

A-II: ascorbate-supplemented group

Table 4. Daily nutrient intakes of the subjects

	C-I (n = 50)	F-I (n = 47)	C-II (n = 47)	A-II (n = 50)
Energy (kcal)	1488.0 ± 31.0	1512.0 ± 29.0	1469.0 ± 28.0	1528.0 ± 32.0
% EER	78.3 ± 1.6	79.7 ± 1.3	77.1 ± 1.4	80.7 ± 1.5
Protein (g)	59.5 ± 2.2	60.4 ± 1.9	57.8 ± 2.1	61.9 ± 2.0
% EAR	155.7 ± 5.4	158.4 ± 4.5	151.6 ± 4.9	162.0 ± 4.9
Vit C (mg)	106.2 ± 5.4	97.0 ± 5.6	106.8 ± 5.5	97.1 ± 5.5
% EAR	141.6 ± 7.1	127.3 ± 7.4	140.7 ± 7.3	129.5 ± 7.3
Folate (µg DFE)	265.9 ± 19.6	253.5 ± 17.2	268.9 ± 18.2	251.7 ± 18.9
% EAR	83.1 ± 6.1	79.2 ± 5.3	84.0 ± 5.7	78.6 ± 5.9

Values are mean ± standard error.

There is no significant difference between C-I and F-I and between C-II and A-II by multiple linear regression at $p < 0.05$.

C-I: not folate-supplemented group

F-I: folate-supplemented group

C-II: not ascorbate-supplemented group

A-II: ascorbate-supplemented group

3. 혈청 엽산 및 비타민 C 농도

시험물질 보충 전과 후 본 연구대상자들의 혈청 엽산 및 비타민 C 농도는 Table 5와 같았다.

C-I군과 F-I군의 경우 엽산 보충 전에 두 군 간에 혈청 엽산과 비타민 C 농도 모두 유의한 차이가 없었다. 엽산을 보충한 후에 F-I군은 C-I군에 비해 혈청 엽산 농도가 유의하게 증가하였다. 그러나 비타민 C 농도는 유의성 있게 변하지 않았다.

C-II군과 A-II군의 경우 비타민 C 보충 전에는 두 군 간에 혈청 엽산과 비타민 C 농도 모두 유의한 차이가 없었다. 비타민 C를 보충 후에도 두 군 사이에 혈청 엽산과 비타민 C 농도 모두 유의하게 다르지 않았다. 그러나 A-II군은 C-II군에 비해 비타민 C 농도가 증가하는 추세를 보였다(p = 0.08).

4. 혈당과 당화 혈색소 농도 및 혈장 산화 LDL 농도와 GSH-Px 활성도

시험물질 보충 전과 후 본 연구대상자들의 공복혈당과 당화 혈색소 농도 및 혈장 산화 LDL 농도와 GSH-Px 활성은 Table 6과 같았다.

C-I군과 F-I군 간에는 물론 C-II군과 A-II군 사이에도 엽산 또는 비타민 C 보충 전과 후 모두 공복혈당과 당화 혈색소 농도 및 혈장의 산화 LDL 농도와 GSH-Px 활성 모두 유의하게 다르지 않았다. 다만 비타민 C 보충 후에 A-II군의 산화 LDL 농도가 C-II군보다 감소하는 추세를 보였다(p = 0.07).

5. 혈장 Hcy 농도와 지질 양상 및 동맥경화지수

시험물질 보충 전과 후 본 연구대상자들의 혈장 Hcy 농도와 지질 양상 및 동맥경화지수는 Table 7과 같았다.

Table 5. Serum concentrations of folate and vit C of the subjects before and after supplementation

		C-I		p-value	C-II		p-value
		(n = 50)	F-I (n = 47)		(n = 47)	A-II (n = 50)	
Folate (ng/ml)	before	8.5 ± 2.4	9.1 ± 2.5	0.00	8.9 ± 0.3	8.7 ± 0.3	0.36
	after	8.3 ± 2.6	14.0 ± 1.2		10.8 ± 0.4	11.4 ± 0.4	
Vit C (mg/dL)	before	0.40 ± 0.02	0.38 ± 0.01	0.12	0.41 ± 0.17	0.37 ± 0.15	0.08
	after	0.53 ± 0.02	0.44 ± 0.02		0.43 ± 0.02	0.53 ± 0.02	

Values are mean ± standard error.
 p-Values are calculated by multiple linear regression for difference between control and supplementation group after adjusting sex, age, body mass index, and baseline value.
 C-I: not folate-supplemented group
 F-I: folate-supplemented group
 C-II: not ascorbate-supplemented group
 A-II: ascorbate-supplemented group

Table 6. Glucose, HbA_{1c} and oxidized LDL concentration and glutathione peroxidase activity of the subjects before and after supplementation

		C-I		p-value	C-II		p-value
		(n = 50)	F-I (n = 47)		(n = 47)	A-II (n = 50)	
FBS (mg/dL)	before	106.3 ± 6.4	107.6 ± 6.1	0.55	108.1 ± 6.3	105.9 ± 6.1	0.45
	after	107.1 ± 1.3	108.3 ± 1.4		106.9 ± 1.4	108.4 ± 1.3	
HbA _{1c} (%)	before	5.3 ± 0.3	5.3 ± 0.3	0.33	5.4 ± 0.3	5.3 ± 0.4	0.78
	after	5.1 ± 0.0	5.1 ± 0.0		5.1 ± 0.0	5.1 ± 0.0	
Oxi-LDL (U/L)	before	51.0 ± 1.5	46.8 ± 1.6	0.71	50.3 ± 1.5	47.7 ± 1.6	0.07
	after	49.1 ± 1.0	48.2 ± 1.0		50.8 ± 1.0	46.6 ± 1.0	
GSH-Px (nmol/min/mL)	before	157.2 ± 0.5	155.9 ± 0.4	0.57	160.6 ± 4.8	152.9 ± 4.1	0.91
	after	157.9 ± 4.0	161.1 ± 4.1		159.8 ± 4.1	159.2 ± 4.0	

Values are mean ± standard error.
 p-Values are calculated by multiple linear regression for difference between control and supplementation group after adjusting sex, age, body mass index, and baseline value.
 FBS: fasting blood sugar, HbA_{1c}: glycated hemoglobin, Oxi-LDL: oxidized LDL, GSH-Px: glutathione peroxidase
 C-I: not folate-supplemented group
 F-I: folate-supplemented group
 C-II: not ascorbate-supplemented group
 A-II: ascorbate-supplemented group

C-I군과 F-I군의 경우 엽산 보충 전에는 두 군 사이에 혈장 Hcy 농도와 지질 양상 및 동맥경화지수 모두 유의한 차이가 없었다. 엽산을 보충한 후에 F-I군은 혈장 Hcy 농도가 C-I군에 비해 유의하게 낮아졌다. 그러나 지질 양상과 동맥경화지수는 유의성 있게 변하지 않았다.

C-II군과 A-II군의 경우는 비타민 C 보충 전과 후에 모두 혈장 Hcy 농도와 지질 양상 및 동맥경화지수 모두 두 군 사이에 유의한 차이가 없었다. 비타민 C를 보충한 후에도 모두 유의성 있게 변하지 않았다.

본 연구대상자들의 MTHFR C677T 다형성은 Fig. 1과

같았다. 4개 군별로 CC형은 28~45%이었고, CT형은 42~64%이었으며, TT형은 8~14%이었다. 엽산 보충 후 C-I군과 F-I군의 혈장 Hcy 농도의 변화를 MTHFR C677T의 유전자형에 따라 구분한 결과는 Fig. 2와 같았다. C-I군의 경우 CC형, CT형 및 TT형 각각 +0.3%와 +0.4% 및 +0.9%로 상승한 반면, F-I군에서는 CC형, CT형 및 TT형 각각 -0.0%와 -1.2% 및 -2.3%로 감소하였다. 비록 유의성은 없었으나 CC형 보다 CT형 또는 TT형에서 더 낮아지는 추세를 보였다(p = 0.07).

Table 7. Plasma homocysteine concentrations, serum lipid concentrations and atherogenic index of the subjects before and after supplementation

		C-I		p-value	C-II		p-value
		(n = 50)	(n = 47)		(n = 47)	(n = 50)	
Hcy (μmol/L)	before	11.1 ± 0.2	10.9 ± 0.2	0.00	10.8 ± 0.2	11.1 ± 0.3	0.56
	after	11.6 ± 2.3	9.8 ± 2.1		10.6 ± 2.6	10.8 ± 2.2	
T-C (mg/dL)	before	198.5 ± 5.4	207.1 ± 6.8	0.19	204.8 ± 5.4	200.6 ± 5.4	0.78
	after	188.9 ± 4.3	180.6 ± 4.5		185.6 ± 4.5	183.8 ± 4.3	
LDL-C (mg/dL)	before	117.8 ± 5.5	123.5 ± 5.8	0.14	121.5 ± 6.2	119.7 ± 5.1	0.50
	after	106.0 ± 4.5	96.3 ± 4.7		98.9 ± 4.7	103.4 ± 4.5	
HDL-C (mg/dL)	before	49.8 ± 1.4	51.3 ± 1.8	0.35	50.8 ± 1.5	50.3 ± 1.7	0.91
	after	50.3 ± 1.1	48.7 ± 1.1		49.4 ± 1.1	49.6 ± 1.1	
TG (mg/dL)	before	134.6 ± 1.7	142.1 ± 1.6	0.59	143.9 ± 1.6	133.0 ± 1.7	0.16
	after	143.0 ± 1.6	154.2 ± 1.6		161.9 ± 1.7	136.6 ± 1.5	
Atherogenic index	before	3.1 ± 0.1	3.2 ± 0.1	0.82	3.2 ± 0.2	3.1 ± 0.1	0.74
	after	2.9 ± 0.1	2.8 ± 0.1		2.9 ± 0.1	2.8 ± 0.1	

Values are mean ± standard error.

p-Values are calculated by multiple linear regression for difference between control and supplementation group after adjusting sex, age, body mass index, and baseline value.

Hcy: homocysteine, T-C: total-cholesterol, LDL-C: low density lipoprotein-cholesterol, HDL-C: high density lipoprotein-cholesterol, TG: triglyceride, Atherogenic index = (T-C - HDL-C)/HDL-C

C-I: not folate-supplemented group

F-I: folate-supplemented group

C-II: not ascorbate-supplemented group

A-II: ascorbate-supplemented group

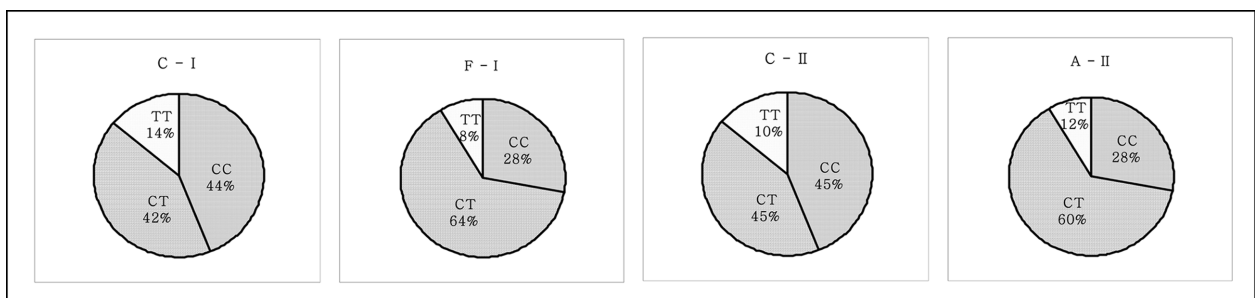


Fig. 1. Distribution of MTHFR C677T genotypes of the subjects.

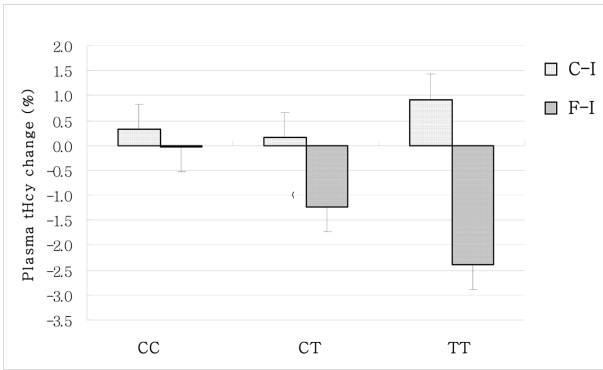


Fig. 2. Interaction between folate-supplement and MTHFR C677T genotypes on homocysteine levels.

There was no significant interaction between folate-supplement and MTHFR C677T genotypes on homocysteine levels ($p = 0.07$). C-I: not folate-supplemented group
F-I: folate-supplemented group

고찰

1. 엽산 및 비타민 C 섭취상태

본 연구대상자들의 비타민 C의 섭취는 해당 EAR을 충족하는 수준이었던 반면에 엽산 섭취는 해당 EAR에 미치지 못하였다. 이러한 영양섭취상태는 본 연구대상자와 동일한 성별과 연령의 2005년 국민건강영양조사 결과에 비해 비타민 C 섭취는 높은 편이었고 엽산 섭취는 부족한 편이었다. 내당능장애 가능성이 있는 중년 남성(Yang 등 2000)이나 제2형 당뇨병 환자(Chang 등 2000)에서 비타민 C 섭취가 충분하다는 점은 이미 보고된 바 있다. 제2형 당뇨병 환자에서 엽산 섭취가 부족하다는 점도 확인되었는데 이들의 엽산 섭취가 대조군보다 낮았으며 조사 당시의 엽산 권장량인 250 µg/d에 미치지 못하였다(Chang 등 2000).

2. 혈청 엽산 농도

본 연구대상자들의 혈청 엽산 농도는 엽산 보충 전에 C-I군과 F-I군의 평균은 모두 정상 범위를 보였다. 그러나 혈청 엽산 농도가 3 ng/mL 이하인 경우를 결핍상태로 3~4.9 ng/mL를 한계결핍상태로 평가할 때(Herbert 1987), C-I군과 F-I군 모두에서 결핍상태를 보인 대상자는 없었으나 각각 8.0%와 2.1%의 대상자가 한계결핍상태에 있었다.

시험기간 4주 후에 C-I군의 평균 혈청 엽산 농도는 다소 저하되었고 한계결핍상태의 대상자가 8.0%에서 14.0%로 증가하였다. 그러나 엽산을 보충 섭취한 F-I군의 경우 혈청 엽산 농도가 크게 증가하였고 대상자 전원이 정상 범위를 보

였다. 혈청 엽산 농도가 단기간의 엽산섭취상태를 반영하는 지표인 점(Chanarin 1979)을 생각할 때 매일 1 mg의 엽산을 4주간 보충 섭취하는 것은 혈청 엽산 농도를 높이기에는 충분한 양과 기간이라고 생각된다. 미국의 노인 인구집단은 40% 정도가 엽산결핍상태를 보이며, 독일과 네덜란드, 벨기에 등 유럽의 노인 인구집단도 5~19%에서 정상 미만의 엽산 농도를 나타내며 고호모시스테인혈증을 보인다(Selhub 등 1993). 본 연구대상자들의 엽산영양상태는 비교적 양호한 편이었다. 한국의 20~60대 성인 남녀에 관한 일 연구에서는 13.2%가 결핍 수준의 혈청 엽산 농도를 나타내었고, 36.3%는 한계결핍상태를 나타낸바 있다(Min 2001).

3. 혈장 비타민 C 농도

비타민 C 영양상태는 혈장 비타민 C 농도가 0.2 mg/dL 미만이면 결핍으로 판정하며, 0.2~0.29 mg/dL를 중등도의 위험상태로 평가한다(Gibson 1990). 이를 기준으로 평가하면, 비타민 C 보충 전 본 연구대상자들의 혈장 비타민 C 농도는 C-II군과 A-II군의 평균 모두 정상 범위를 보였다. 그러나 C-II군과 A-II군 각각 12.7%와 21.2% 및 10.6%와 23.4%의 대상자가 결핍상태와 중등도 위험상태이었다. 한편 바람직한 정상 수준의 하한으로 0.5 mg/dL 이상(Breskins 등 1985)을 적용하면, C-II군과 A-II군의 평균 혈장 비타민 C 농도는 모두 바람직한 정상 수준 이하에 해당된다. 국내에서 발표된 몇몇 혈장 비타민 C 농도에 관한 연구를 보면 도시 지역 성인의 경우는 0.67 mg/dL이었고(Woo 1999), 제2형 당뇨병 환자는 0.32 mg/dL(Park 등 2003)이었다. 이들이 동일한 연구가 아니어서 직접 비교하기 어려우나, 제2형 당뇨병 환자의 혈장 비타민 C 농도가 정상인에 비해 낮음을 알려준다. 공복혈당장애를 지닌 본 연구대상자의 혈장 비타민 C 농도가, 비타민 C 섭취가 EAR을 초과하는 충분한 양이었음에도 불구하고, 상동(Woo 1999) 정상인의 경우에 비해 또는 상동(Breskins 등 1985) 바람직한 정상 수준의 하한보다 낮게 나온 점은 제2형 당뇨병 환자처럼 공복혈당장애자도 혈장 비타민 C 농도가 낮은 경향을 보이는 것이 아닐까 하는 점을 시사한다.

시험기간 4주 후에 C-II군의 혈장 비타민 C 농도는 변화가 없었으나 결핍상태나 중등도 위험상태에 처한 대상자 비율은 10.6% 및 17.0%로 다소 감소하였다. 그러나 비타민 C를 보충 섭취한 A-II군의 혈장 비타민 C 농도는, 비록 유의성은 없었으나($p = 0.08$), 상승하는 추세를 보여 결핍상태나 중등도 위험상태에 처한 대상자 비율이 2.1% 및 8.5%로 크게 감소하였다. 비타민 C의 보충이 혈장 비타민 C 농도에 미치는 영향에 대해서는 대상자의 상태에 따라 다소 상이

한 연구결과가 발표된 바 있다. 정상 여자노인에게 하루 1000 mg 비타민 C를 4주간 복용한 연구에서는 혈장 비타민 C 농도가 유의성 있게 증가했다(Lim 등 2006). 반면에 제2형 당뇨병 환자에게 4주간 매일 1000 mg의 비타민 C를 복용시켰을 때는 유의성 있는 변화가 없었으나 1주 간의 휴지기를 가진 뒤에 3000 mg의 비타민 C를 다시 4주간 복용시킨 후에는 유의하게 증가하였다(Park 등 2003). 이러한 선행 연구와 본 연구의 결과를 고려할 때 제2형 당뇨병 환자나 공복혈당장애자는 정상인에 비해 비타민 C 필요량이 높아 혈장 비타민 C 농도를 증가시키는데 1000 mg 이상의 비타민 C가 요구되는 것이 아닐까 추측된다.

4. 공복혈당 농도

본 연구대상자들의 시험물질 섭취 전 공복혈당 농도는, 공복혈당장애자들을 연구대상자로 선정하였으므로, 각 시험군 별로 105.9~108.1 mg/dL 범위에 있었다. 4주 동안 엽산을 보충 섭취한 효과는 물론 비타민 C를 보충 섭취한 효과도 공복혈당 농도에 모두 나타나지 않았다. 혈장 비타민 C 농도가 20 $\mu\text{mol/L}$ 상승하면 고혈당 위험이 1/3 정도 감소한다는 연구결과가 있고(Sargeant 등 2000) 또한 비타민 C 보충이 당뇨병 환자에서 공복혈당 수준을 유의하게 감소시켰다는 보고들이 있다(Kang 등 1999; Park 등 2003). 그러나 본 연구에서는 비타민 C의 보충 섭취가 혈장 비타민 C 농도를 증가시키지 않았고 혈당 강하 효과도 없었다. 앞서 서술한바, 하루 1,000 mg의 4주간 비타민 C 보충은 공복혈당 장애자에서 혈장 비타민 C 농도의 증가를 통한 공복혈당 농도 강하 효과를 나타내기에 부족한 양이거나 짧은 기간이 아니었을까 생각된다.

5. HbA_{1c} 농도

혈액 중에 존재하는 HbA_{1c}는 장기간에 걸친 혈당의 변화를 나타내주는 신뢰성과 재현성 있는 지표이다(Varillo 등 1983). HbA_{1c}의 정상 범위는 4~6%로 본 연구대상자들의 평균 HbA_{1c} 수준은 모든 군에서 정상 범위에 해당하였다. 이는 본 연구대상자들의 공복혈당 농도가 크게 높은 수준이 아니었던 점으로 미루어 아직 HbA_{1c} 농도가 증가하지 않은 상태라고 해석된다. 혈장 비타민 C 농도와 HbA_{1c} 농도 간에 역 상관관계가 있다는 보고가 있고(Sargeant 등 2000) 또한 당뇨병 환자에서 비타민 C 보충이 HbA_{1c} 농도를 유의하게 감소시켰다는 연구결과들이 있다(Kang 등 1999; Park 등 2003). 그러나 본 연구에서는 혈장 비타민 C 농도와 HbA_{1c} 농도 간에 유의한 관련성이 없었고 또한 비타민 C의 보충 섭취가 HbA_{1c} 농도를 감소시키는 효과도 없

었다. 이는 앞서 설명한대로, 본 연구대상자들의 공복혈당 농도가 크게 높지 않았던 점과 HbA_{1c} 농도가 정상 범위에 있던 점 및 비타민 C의 보충에 따른 혈장 비타민 C 농도의 증가 효과가 없었던 점들로 미루어 이해된다.

6. 혈장 산화 LDL 농도

엽산 또는 비타민 C를 4주간 보충 섭취한 후, 혈장 산화 LDL 농도는 모든 시험군에서 유의성 있게 변하지 않았다. 다만 비타민 C를 보충 섭취한 A-II군의 경우만 산화 LDL 농도가 다소 저하되어 C-II군보다 낮은 경향을 보였다($p = 0.07$).

혈장의 산화 LDL은 고호시스테인혈증 시에 유리라디칼 생성이 촉진되어 증가된다(Fonseca 등 1999). 그러므로 고호시스테인혈증은 직접적으로 혈관 내피세포에 독성을 미칠 뿐만 아니라 LDL을 산화시킴으로써 간접적으로도 혈관 내피세포의 기능장애를 초래한다고 할 수 있다(Nappo 등 1999). 비타민 C나 엽산 또는 기타 항산화 비타민의 보충이 혈장 내 지질과산화물의 농도를 낮추었다는 여러 연구결과가 있다. 즉 합병증을 동반하지 않은 제2형 당뇨병 환자에게 4주에 걸친 1,000 mg의 비타민 C나 400 IU의 비타민 E나 또는 두 가지 비타민의 병합 보충은 혈장의 TBARS 수준을 모두 유의하게 감소시켰으며, 이 중에서 비타민 C가 46%를 저하시켜 그 효과가 가장 컸다(Kang 등 1999). 관상동맥 질환자에게 650 μg 의 엽산과 비타민 C를 포함한 종합 비타민제를 15일 동안 복용시킨 결과 산화 LDL이 유의하게 감소하였다(Daniel 등 2000). 고호모시스테인혈증과 고지혈증을 동반한 사람들에게 5 mg의 엽산 또는 항산화종합비타민제를 2달 동안 복용시킨 연구에서는 두 가지 모두 혈장의 MDA 농도를 유의하게 감소시켰다(Racek 등 2005). 이들 연구에서 비타민 C 보충이 혈장의 지질과산화물 수준을 낮추거나 산화 LDL 농도를 감소시킨 것은 비타민 C의 직접적인 항산화작용에 의한 결과라고 이해되며, 엽산의 경우는 엽산의 보충으로 혈장 호모시스테인 농도가 저하되고, 이로 인해 유리라디칼 생성이 억제되어, 간접적으로 지질과산화물이나 산화 LDL의 감소를 가져왔다고 해석된다. 그러나 본 연구에서는 엽산과 비타민 C 모두 혈장 산화 LDL 농도를 저하시키는 효과를 나타내지 않았다. 당뇨병 환자의 경우 고혈당에 의해 항산화효소가 불활성화 되고, 포도당의 자동산화(autoxidation)로 산소라디칼의 활성이 증가하므로 지질의 과산화가 촉진된다고 알려져 있다(Asayama 등 1994). 본 연구의 대상자들은 선행연구들에서와 같이 고혈당이나 고호모시스테인혈증의 상태가 뚜렷하지 않았으며, 혈장 산화 LDL 농도도 높지 않은 상태라서 엽산 또는 비타민 C의 보충이 지

질의 과산화를 방지하는 효과를 뚜렷하게 보이지 않았을 것이라고 추측된다. 다만 비타민 C 보충군에서 산화 LDL 농도가 감소하는 추세를 보인 점 ($p = 0.07$)으로 미루어 비타민 C의 보충 용량이 증가되거나 보충 기간이 더 길면 유의성 있는 효과를 기대할 수 있을 것이라 생각된다.

7. 혈장 GSH-Px 활성

당뇨병 환자는 대조군에 비해 항산화효소들의 활성이 저하되어 있다는 증거는 여러 선행 연구에서 보고되었다(Yu 등 1993; Lee 등 1996; Kedziora-Kornatowska 등 1998). 아울러 당뇨병 환자 중에서도 합병증을 동반한 경우 적혈구의 GSH-Px나 SOD의 활성도가 현저히 낮다는 점도 확인된 바 있다(Ha 등 1999). 고지혈증과 고호모시스테인혈증이 있는 사람들에게 5 mg의 엽산 또는 항산화종합비타민제를 각각 또는 병합해서 8주 동안 복용시킨 결과, glutathione 등의 항산화물질 농도는 증가했지만 적혈구의 SOD와 GSH-Px 활성에는 변화가 없었다(Racek 등 2005). 그러나 당뇨병 환자에게 3주 동안 60 mg의 β -carotene을 공급한 연구에서는 적혈구 GSH-Px 활성이 증가했다(Yishai 등 1999). 본 연구에서는 4주간의 시험물질 섭취 후 혈장 GSH-Px 활성이 모든 시험군에서 변하지 않았다. 이러한 결과는 혈장 GSH-Px 활성이 정상인 공복혈당장애자에서 엽산이나 비타민 C의 보충 급여는 혈장 GSH-Px 활성을 더 이상 증가시키지 않는다는 점을 보여준다.

8. 혈장 Hcy 농도

본 연구대상자의 시험물질 보충 전 혈장 Hcy 농도는 9~15.9 $\mu\text{mol/L}$ 이었으며 모든 시험군의 평균 농도는 정상 범위로 각 시험군 간에 유의한 차이가 없었다. 시험물질 섭취 후 엽산을 보충 섭취한 F-I군은 C-I군에 비해 유의하게 낮은 혈장 Hcy 농도를 보였다. 이러한 결과는, 엽산이 혈장 Hcy를 저하 시키는 약제로 비타민 B₆나 비타민 B₁₂보다 효과적이라는 점을 생각할 때(Chauveau 등 1996) 1 mg 엽산의 보충 급여가 영향을 발휘한 것이라고 판단된다. 엽산의 보충량에 대한 증거는 다양한데 매일 1~10 mg의 약리적 수준이 효과적이라는 결과가 있기도 하고(Brattstrom 등 1996; Chauveau 등 1996; Racek 등 2005), 1 mg 미만의 저용량도 효과적이라는 주장도 있다(Jacques 등 1999; Ryledwicz 등 2002). Clarke 등(1998)은 엽산과 비타민 B₁₂ 또는 비타민 B₆를 보충한 12개의 연구결과를 메타-분석하여, 엽산은 0.5~5 mg의 거의 모든 보충 수준에서 혈중 Hcy 농도를 약 25% 감소시키며, 엽산 보충 전의 혈장 Hcy 수준이 높은 경우에는 감소의 정도가 더 크다고 결론 내렸다.

유전적인 요인으로 Hcy 대사에 관여하는 효소인 MTHFR의 C677T 돌연변이에서, 동형접합체(TT)는 MTHFR의 활성이 낮고 혈장 Hcy 농도가 정상 유전자형(CC)에 비해 20~30% 높다(Frosset 등 1995). 본 연구에서는 시험물질 보충 전 TT형 대상자들의 혈장 Hcy 농도가 CC형이나 CT형보다, 유의성은 없었으나, 높은 경향이였다. 4주간 엽산을 보충 섭취한 후 F-I군에서의 혈장 Hcy 농도의 감소 폭이, 비록 통계적 유의성은 없었으나, TT형 대상자에서 가장 컸고, 다음으로 CT형이었으며, CC형에서는 감소하지 않았다. 이때 엽산을 보충 섭취하지 않은 C-I군에서는 CC형, CT형 및 TT형 모두 상승하는 추세를 보였다. 이러한 본 연구결과는 엽산 보충이 특히 TT의 유전자형을 가진 공복혈당장애자에서 혈장 Hcy 농도를 낮추는데 도움이 된다는 점을 시사한다.

9. 혈청 지질 양상

본 연구대상자들의 시험물질 복용 전 혈청 T-C 농도는 C-I군을 제외한 나머지 세 군의 평균 모두 고콜레스테롤혈증 기준치 ($\geq 200 \text{ mg/dL}$)를 상회하였다. C-I군의 경우도 200 mg/dL에 근접하였다. 고콜레스테롤혈증($\geq 240 \text{ mg/dL}$)을 보인 대상자는 시험군마다 14.0~25.5%이었다. 혈청 LDL-C 농도는 각 군의 평균은 정상 범위 이내였으나 고LDL혈증($\geq 160 \text{ mg/dL}$)을 나타낸 대상자는 시험군마다 14.8~18.0%이었다. 혈청 HDL-C 농도는 각 군의 평균은 정상 범위 이내였으나 저HDL혈증($< 40 \text{ mg/dL}$)을 나타낸 대상자는 시험군마다 12.8~18.0%이었다. 혈청 TG 농도는 각 군의 평균 모두 정상 범위 이내였으나 고중성지방혈증($\geq 200 \text{ mg/dL}$)을 나타낸 대상자는 시험군마다 22.0~23.4%이었다. 본 연구대상자의 이러한 혈청 지질 양상은 Kown 등(2002)이 보고한 공복혈당장애군과 비슷한 수준이었으나 TG 농도는 다소 낮은 편이었다. 이는 혈청 TG 농도가 혈당과 양의 상관관계를 보인다는 점(Yang 등 2000)을 생각할 때, 본 연구대상자들의 공복혈당 농도(107 mg/dL)가 상동 문헌(Kown 등 2002)의 대상자들보다 낮았던 점으로 이해된다.

본 연구에서는 엽산이나 비타민 C의 보충이 혈액 지질 농도 변화에 별다른 영향을 끼치지 않았다. 항산화비타민의 보충이 혈액의 지질 농도에 미치는 영향에 대해서는 상반된 견해가 있다. 즉 고혈압 환자에서 비타민 C의 보충이 지단백 양상을 개선했다는 보고(Koh 1984)가 있는 반면에 정상인에게 매일 비타민 E를 1,600 mg씩 12주 간 보충했는데 오히려 혈장의 T-C와 LDL-C 농도가 증가했다는 보고(Reaven 등 1993)도 있다. 그러나 엽산이나 비타민 C가

직접적으로 콜레스테롤이나 TG 대사에 관여한다는 않는다는 점은 본 연구결과를 지지한다.

요약 및 결론

본 연구는 공복혈당장애를 지닌 사람들에게 엽산과 비타민 C를 단독 또는 병합 보충하였을 때 혈장의 엽산과 비타민 C 농도가 어떻게 변화되는지 또한 혈장 Hcy와 산화 LDL 농도 및 지질 양상이나 항산화 효소의 활성에는 어떠한 영향을 끼치는지 규명하고자 하였다. 이를 위해 50세 이상 성인 남녀 공복혈당장애자 121명에게 4주간 매일 1 mg의 엽산이나 1,000 mg의 비타민 C 또는 두 가지 모두를 보충 섭취하도록 하였다. 이들 중 모든 조사 자료가 얻어진 97명의 자료를 분석하였다. 이때 엽산과 비타민 C의 병합 보충이 유의성 있는 차이를 나타내지 않아 통계적으로 엽산과 비타민 C 각각의 보충 효과를 검증하였다. 또한 남녀 간에 반응이 유의하게 다르지 않아 남녀 데이터를 혼합하였으며, 유의성 검증은 각 조사 항목마다 성별에 따른 차이를 배제하여 수행하였다.

1. 엽산 비보충군(C-I)과 엽산 보충군(F-I) 간에 평균 연령, 체중, 신장, BMI 및 체지방율의 유의한 차이가 없었으며, 또한 비타민 C 비보충군(C-II)과 비타민 C 보충군(F-II) 사이에도 역시 유의하게 다르지 않았다.

2. 에너지와 단백질, 비타민 C와 엽산 등 영양섭취상태도 엽산 비보충군(C-I)과 엽산 보충군(F-I) 간에는 물론 비타민 C 비보충군(C-II)과 비타민 C 보충군(F-II) 사이에도 유의하게 다르지 않았다. 모든 시험군에서 에너지와 엽산 섭취가 부족한 편이었고 단백질과 비타민 C 섭취는 양호하였다.

3. 엽산 보충군의 혈청 엽산 농도는 성별과 연령, BMI 및 보충 전 엽산 농도를 보정한 후 엽산 비보충군에 비하여 유의하게 증가하였다. 한편, 비타민 C 보충군의 혈청 비타민 C 농도는 성별과 연령, BMI 및 보충 전 비타민 C 농도를 보정한 후 비타민 C 비보충군에 비해, 비록 유의하지는 않았으나, 증가하는 경향을 보였다($p = 0.08$).

4. 엽산 보충군의 혈장 Hcy 농도는 성별과 연령, BMI 및 보충 전 혈장 Hcy 농도를 보정한 후 엽산 비보충군에 비하여 유의성 있게 감소되었다. 엽산 보충에 따른 혈장 Hcy 농도의 저하 효과는 MTHFR C677T 유전자형에 따라, 비록 유의성은 없었으나($p = 0.07$), 다른 경향을 보였다. 즉 엽산 비보충군의 경우 CC, CT 및 TT 유전자형에 따라 각각 +0.3%와 +0.4% 및 +0.9% 상승한 반면 엽산 보충군에서는 각각 -0.0%와 -1.2% 및 -2.3% 감소하였다.

5. 본 연구결과는 공복혈당장애자에게 매일 1,000 μ g의 엽산을 4주간 보충 급여하면 혈청 엽산 농도가 증가하고, 혈

장 Hcy 농도가 낮아진다는 점을 알려주었다. 그러나 매일 1,000 mg의 비타민 C를 보충 급여하면 혈장의 비타민 C 농도가 유의성 있게 증가하지 않으며, 혈장 Hcy 농도의 저하 효과도 없음을 확인해주었다. 아울러 엽산과 비타민 C의 병용 급여가 각각의 보충 급여에 따른 효과를 증가시키지 않는다는 점도 보여주었다.

그러므로 공복혈당장애자에서 심혈관 질환의 예방을 위해서는 비타민 C 1,000 mg보다는 엽산 1 mg을 보충 급여하는 것이 효과적일 것이라고 판단된다. 공복혈당장애를 보이는 본 연구대상자들이 식사를 통해 비타민 C는 충분히 섭취한 반면 엽산 섭취가 부족했던 점도 엽산의 보충 급여가 필요하다는 점을 뒷받침한다.

이외에 공복혈당, 혈중 HbA_{1c} 농도, 혈청 지질 양상 및 혈장의 GSH-Px 활성이나 산화 LDL 농도에는 엽산이나 비타민 C 모두 보충 급여에 따른 유의성 있는 영향이 나타나지 않았다. 엽산이나 비타민 C 보충이 이들을 개선하는 효과가 없는 것인지 아니면 본 연구에서 사용한 보충량이나 보충기간이 충분하지 않았거나 연구대상자 수가 제한되어 통계력이 약했기 때문인지 확실하지 않다. 향후 공복혈당장애자들을 대상으로 한 대규모의 장기간에 걸친 연구를 통해 엽산이나 비타민 C 또는 기타 항산화제의 보충이 공복혈당장애의 상태에서 산화 스트레스를 낮추고, 심·혈관 질환의 위험인자를 제거하며, 당뇨병으로의 이환을 예방할 수 있는가에 대한 연구가 필요할 것이라고 사료된다.

참고 문헌

- Al-Obaidi MK, Stubbs PJ, Collinson P, Conroy R, Graham I, Noble MI (2000): Elevated homocysteine levels are associated with increased ischemic myocardial injury in acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol* 36(4): 1217-1222
- Asayama K, Nakane T, Uchida N, Hayashibe H, Dobashi K, Nakazawa S (1994): Serum antioxidant states in streptozotocin-induced diabetic rat. *Horm metab Res* 26(7): 313-315
- Aukrus P, Berge RK, Müller F, Ueland PM, Svardsdal AM, Froland SS (1997): Elevated plasma levels of reduced homocysteine in common variable immunodeficiency-a marker of enhanced oxidative stress. *Eur J Clin Invest* 27(10): 723-730
- Bennett PH (1990): Epidemiology of diabetes mellitus. In: Rifkin H, Porte D, eds: *Diabetes Mellitus Theory and Practice*, 4th Ed. pp. 357-377, Elsevier, New York
- Blom HJ, Kleinveld HA, Boers GH, Demacker PN, Hak-Lemmers HL, Te Poele-Pothoff MT, Trijbels JM (1995): Lipid peroxidation and susceptibility of low-density lipoprotein to in vitro oxidation in hyperhomocysteinemia. *Eur J Clin Invest* 25(3): 149-154
- Brattstrom L (1996): Vitamins as homocysteine-lowering agents. *J Nutr* 126(4): 1276S-1280S

- Breskins MW, Thrahms CM, Worthington-Roberts B, Label RF, Kosolowski B (1985): Supplement use: vitamin intakes and biochemical indexes in 40 to 108 month-old children. *J Am Diet Assoc* 85(1): 49-59
- Capes S, Anand S (2001): What is type 2 diabetes? In: Gerstein HC, Haynes RB, eds: Evidence-Based Diabetes Care. pp. 151-163, Hamilton, Ont. Decker
- Chanarin I (1979): Folate in blood, cerebrospinal fluid and tissues. In: Chanarin I. ed: The Megablastic Anemias. p. 187, Oxford: Blackwell Scientific Publications
- Chang NS, Kim JM, Park SW, Cho YW, Kwon OO (2000): Folate intake and plasma homocysteine levels in the elderly patients with NIDDM. *Korean J Nutr* 33(3): 250-256
- Chauveau P, Chadeaux B, Coudé M, Aupetit J, Kamoun P, Jungers P (1996): Long-term folic acid (but not pyridoxine) supplementation lowers elevated plasma homocysteine level in chronic renal failure. *Miner Electrolyte Metab* 22(1-3): 106-109
- Clarke R, Frost C, Leroy V, Collins R (1998): Homocysteine lowering trialists' collaboration. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomized trials. *Br Med J* 316(7135): 894-898
- Daniel Bunout, MD, Argelia Garrido, MSc, Myriam Auazo, BQ, Ronald Kauffman, MD, Paz Venegas, RD, Pia de la Maza, MD, MSc, Margarita Petermann, MSc, and Sandra Hirsch, MD, MSc (2000): Effects of supplementation with Folic acid and antioxidant vitamins on homocysteine levels and LDL oxidation in coronary patients. *Nutr* 16(2): 107-110
- Davie SJ, Gould BJ, Yudkin (1992): Effect of Vitamin C on glycosylation of protein. *Diabetes* 41(2): 167-73
- Edelstein SL, Knowler WC, Bain RP, Andres R, Barrett-Connor EL, Dowse GK, Haffner SM (1997): Predictors of progression from impaired glucose tolerance to NIDDM: An analysis of six prospective studies. *Diabetes* 46(4): 701-710
- Fonseca VA, Stone A, Munshi M, Baliga BS, Aljada A, Thusu K, Fink L, Dandona P (1997): Oxidative stress in diabetic macrovascular disease: does homocysteine play a role? *South Med J* 90(9): 903-906
- Friedwald WT, Levy RI (1972): Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18(6): 499-502
- Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, heppard CA, Matthews RG, Boers GJH, den Heijer M, Kluijtmans LAJ, van den Heuvel LP, Rozen R (1995): A candidate genetic risk factors for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 10(1): 111-113
- Gibson RS (1990): Principles of Nutritional Assessment. pp. 378-379, Oxford University Press, New York
- Ha AW, Kim HM (1999): The study of lipid-peroxidation, antioxidant enzymes, and the antioxidant vitamins in NIDDM patients with microvascular-diabetic complications. *Korean J Nutr* 32(1): 17-23
- Herbert V (1987): The 1986 Herman Award Lecture. Nutrition science as a continually unfolding: the folate and vitamin B-12 paradigm. *Am J Clin Nutr* 46(3): 387-402
- Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, Wilson PW, Rosenberg IH (1999): The effect of Folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. *N Engl J Med* 340(19): 1449-1454
- Kang NE, Kim WK (1999): Effects of antioxidant Vitamins supplementation on antioxidative status and plasma lipid profiles in Korean NIDDM patients. *Korean J Nutr* 32(7): 775-780
- Kwon SJ, Kim EK (2002): Anthropometry, blood pressure, serum lipid levels and nutrient intakes in people with impaired fasting glucose and with diabetes. *Korean J Nutr* 35(3): 303-313
- Koh ET (1984): Effects of vitamin C on blood parameters of hypertensive subjects. *J Oklahoma State Med Assoc* 77(6): 177-182
- Kedziora-Kornatowska KZ, Luciak M, Blaszczyk J, Pawlak W (1998): Lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in erythrocyte of patients with NIDDM with or without diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 13(11): 2829-2832
- Lauer RM, Clarke WP, Lee J (1998): Factors affecting the relationship between childhood and adult cholesterol levels. The Muscatine study. *Pediatrics* 82(3): 309-318
- Lee MH, Lee DS, Ihm SH, YU JM (1996): Level of plasma lipid hydroperoxides in NIDDM patients. *Korean J Diabetes* 20(2): 124-133
- Lim JY, Kim OH, Kim JH (2006): Effects of antioxidant supplementation on lipid profiles in elderly women. *Korean J Community Nutr* 11(1): 133-142
- Lu J, Pan C, Tian H (1996): Study of insulin sensitivity and its related factors in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus and impaired glucose tolerance. *Chinese J Intern Med* 35(10): 678-681
- McCully KS (1993): Chemical pathology of homocysteine I. Atherogenesis. *Ann Clin Lab Sci* 23(6): 477-493
- McCully KS (1969): Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 56(1): 111-128
- McKinley MC (2000): Nutritional aspects and possible pathological mechanisms of hyperhomocysteinaemia: an independent risk factor for vascular disease. *Proc Nutr Soc* 59(2): 221-237
- Medina MA, Amores-Sánchez MI (2000): Homocysteine: an emergent cardiovascular risk factor? *Eur J Clin Invest* 30(9): 754-762
- Min HS (2001): Folate status and plasma homocysteine concentration of Korean adults. *Korean J Nutr* 34(4): 393-400
- Nappo F, De Rosa N, Marfella R, De Lucia D, Ingresso D, Perna AF, Farzati B, Giugliano D (1999): Impairment of endothelial functions by acute hyperhomocysteinemia and reversal by antioxidant vitamins. *JAMA* 281(22): 2113-2118
- Nygård O, Refsum H, Ueland PM, Vollset SE (1998): Major lifestyle determinants of plasma total homocysteine distribution: The Hordaland homocysteine study. *Am J Clin Nutr* 67(2): 263-270
- Oiao Q, Rajala U, Keinanen-Kiukkaanniemi S (1998): Hypertension, hyperinsulinaemia and obesity in middle-aged Finns with Impaired glucose tolerance. *J Hypertension* 12(4): 265-269
- Okamura M (1980): An improved method for determination of L-ascorbic acid and L-dehydroascorbic acid in blood plasma. *Clinica Chimica Acta* 103(3): 259-268
- Park, HS, Lee, YM (2003): Effects of vitamin C supplementation on blood sugar and antioxidative status in type 2 diabetes mellitus

- patients. *J Korean Acad Nurs* 33(2): 170-178
- Racek J, Rusnáková H, Trefil L, Siala KK (2005): The Influence of folate and antioxidants on homocysteine levels and oxidative stress in patients with hyperlipidemia and hyperhomocysteinemia. *Physiol Res* 54(1): 87-95
- Reaven PD, Khow A, Beltz WF, Parthasarathy S, Witztum JL (1993): Effect of dietary antioxidant combinations in human. Protection of LDL by vitamin E but not by beta carotene. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 13(4): 590-600
- Ross R (1986): The pathogenesis of atherosclerosis an update. *N Engl J Med* 314(8): 488-500
- Rydlewicz A, Simpson JA, Taylor RJ, Bond CM, Golden MHN (2002): The effect of Folic acid supplementation on plasma homocysteine in an elderly population. *QJM* 95(1): 27-35
- Sargeant LA, Wareham NJ, Bingham S, Day NE, Luben R, Oakes S, Welch A, Khaw KT (2000): Vitamin C and hyperglycemia in the European prospective investigation into Cancer Norfolk (EPIC - Norfolk) study: a population-based study. *Diabetes Care* 23(6): 726-732
- Selhub J, Jacques PF, Wilson PW, Rush D, Rosenberg IH (1993): Vitamin status and intakes as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 270(22): 2693-2698
- Sies H, Stahl W (1995): Vitamin E and Vitamin C and carotenoid as antioxidants. *Am J Clin Nutr* 62(6): 1315s-1321s
- Som S, Basu S, Mukherjee D, Deb S, Choudhury PR, Mukherjee S (1981): Chatterjee SN, Chatterjee IB. Ascorbic acid metabolism in diabetes mellitus. *Metabolism* 30(6): 572-577
- Stevens MJ, Feldman EL, Greene DA (1995): The etiology of diabetic neuropathy: The combined roles of metabolic and vascular defect. *Diabetic Med* 12(7): 1566-1579 1995
- Targher G, Bertolini L, Zenari L, Cacciatori V, Muggeo M, Faccini G, Zoppini G (2000): Cigarette smoking and plasma total homocysteine levels in young adults with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 23(4): 524-528
- The Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus (2003): Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 26(1): S5-S20
- The Expert Committee on Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus (1997): Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 20(1): 1183-1197
- The Korean Nutrition Society (2005): CAN-Pro 3.0. Seoul
- The Korean Nutrition Society (2005): Dietary Reference Intake For Korean. Seoul
- Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, Malinow MR, Andersson A, Allen RH (1993): Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications. *Clin Chem* 39(9): 1764-1779
- Van Guldener C, Stehouwer CD (2000): Hyperhomocysteinemia, vascular pathology, and endothelial dysfunction. *Semin Thromb Hemos* 26(3): 281-289
- Varillo AR, Ade T, Golia R, Nunziata V (1983): The relationship between glycosylated haemoglobin levels and various degrees of glucose intolerance. *Diabetologia* 24(5): 391-393
- Witium TL, Lancet (1994): The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet* 344(8925): 793-795
- Woo HO (1999): Vitamin C concentration in whole blood and plasma among residents living in southern central part of Korea. Thesis of Gyeongsang National University
- World Health Organization (1985): WHO Study Group on Diabetes mellitus. Technical Report Series 727. Geneva
- World Health Organization Regional Office for the Western Pacific (WPRO), the International Association for the Study of Obesity (IASO) and the International Obesity Task Force (IOTF) (2000): The Asia-Pacific Perspective: Redefining Obesity and Its Treatment. Geneva
- World Health Organization (2003): The Expert Committee on Diabetes mellitus. Technical Report Series 646. Geneva
- Yang YJ, Kim JY (2000): The nutritional status of middle aged Korean men exhibiting impaired glucose tolerance and their blood lipid profile. *Korean J Nutr* 33(1): 59-67
- Yishai L, Haya Z, Ami BA, Yoram K, Michael A (1999): β -Carotene affects antioxidant status in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Pathophysiology* 6(3): 157-161
- Yoshida H, Ishikawa T, Nakamura H (1997): Vitamin E/lipid peroxide ratio and susceptibility of LDL to oxidative modification in NIDDM. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17(7): 1438-1446
- Yudkin JS, Alberti KG, McLarty DG, Swai AB. Impaired glucose tolerance (1990): *Br Med J* 301(6749): 397-402
- Yu BJ, Bae HY, Lee BR (1993): The activity of erythrocyte antioxidant enzymes in diabetes mellitus, *Korean J Intern Med* 44(6): 766-774