

한국인의 요중 크레아티닌 농도에 관한 연구 - 국민건강영양조사 4기 자료 이용 -

정경식 · 김남수 · 이병국[†]
순천향대학교 환경산업의학연구소

Urinary Creatinine Concentration in the Korean Population in KNHANES IV, 2009

Kyung-Sick Jung, Nam-Soo Kim, and Byung-Kook Lee[†]

Institute of Environmental and Occupational Medicine, Soonchunhyang University, Asan, Korea

ABSTRACT

Objectives: Biomonitoring is used to assess human environmental exposures. Urinary biomonitoring data are typically adjusted to a constant creatinine concentration to correct for variable dilutions among spot samples. Our objective was to investigate urinary creatinine concentrations by region, gender, age and lifestyle.

Methods: We studied urinary creatinine concentrations in 6,286 Koreans aged 20 years old and older who participated the fourth Korea National Health and Nutrition Survey (KNHANES IV) in 2009. Urinary creatinine concentration analysis used the Jaffe method.

Results: The average urinary creatinine concentration of 6,286 Koreans was 158.99 mg/dl. The urinary creatinine concentration was significantly higher among men (184.97 mg/dl) than women (130.02 mg/dl). In both men and women, urinary creatinine concentrations were significantly different according to age group ($p < 0.01$). Whereas the urinary creatinine concentration of men significantly differed with smoking in adjusted comparison analysis, that of women significantly differed by education level. Ninety-two percent of urinary creatinine concentration was included within WHO guidelines effective range ($30 \text{ mg/dl} \leq \text{urinary creatinine concentration} \leq 300 \text{ mg/dl}$). In multiple regression analysis, creatinine was influenced by gender, age and body mass index (BMI).

Conclusions: The urinary creatinine value obtained from representative samples of adult Koreans aged 20 year and older in KNHANES IV 2009 could be used as a reference value for other nationally studied surveys, such as abandoned metal mine surveys and surveys for industrial complexes.

Key words: Biomonitoring, Urinary creatinine concentration, KNHANES IV

I. 서 론

생체지표물질(Biomarker)은 유해물질의 노출이나 질병의 진행과 연관이 있는 생체내의 화학적, 분자 생물학적 또는 세포내의 측정 가능한 물질을 일컫으며, 이는 노출과 용량의 지표로서 인체노출평가에 접

점 더 많이 활용되고 있다.

미국의 경우, EPA 주관으로 CDC(Centers for Disease Control)의 NCEH(National Center for Environmental Health)와 NIEHS(National Institute of Environmental Health Sciences) 등이 참여하여 '95년부터 인체노출평가조사 NHEXAS(National

[†]Corresponding author: Institute of Environmental and Occupational Medicine, Soonchunhyang University, Asan 336-745, Korea, Tel: +82-41-529-1211, Fax: +82-41-529-1232, E-mail: bklee@sch.ac.kr

Received: 07 December 2011, Revised: 13 January 2012, Accepted: 23 February 2012

Human Exposure Assessment Survey)를 실시중이며 환경오염물질 및 유해물질노출 분포와 질환과의 상관성 등을 조사한다. 일일 음식섭취량 설문, 일일 생활행태 조사 등의 다양한 부수적 조사를 병행하고 있으며 혈액, 요 중금속, 농약류 등 120여 물질을 측정하고 있다. 또한 CDC에서 국민건강영양조사 NHANES(National Human and Nutrition Examination Survey)를 3단계 I단계('71-'75), II단계('76-'80), III단계('88-'94)로 나누어 실시하고 있으며 '99년부터는 “환경화학물질 노출에 대한 국가 보고서”의 작성을 시작하여 현재 4번째 보고서까지 발표되었다.^{1,2)}

독일은 영양조사와 연계하여 환경조사 GerES (German Environmental Survey)를 지속적으로 실시해 오고 있다. '85년도부터 시작하여 현재 4단계 (GerES IV)가 완료 되었으며, 독일 일반국민의 환경오염물질 노출로 인한 인체부담(body burden)의 생체지표물질(biomarker) 분석과 분포를 알기 위해 실시하고 있다.^{3,4)}

유럽의 경우 유럽위원회(EU)가 유럽의 환경보건전략의 보건영역을 환경정책 중심에 두는 통합적 방법을 제안하여 2004년 “환경과 보건 실행계획 전략(The European Environment and Health Action Plan 2004-2010)”을 채택하였다.

이 중 Action 3의 체제하에서 당사국간의 밀접한 협력에 의해 인체모니터링(Human Biomonitoring, HBM)에 대한 일관된 접근법을 개발하고 있다.⁵⁾

우리나라는 '05년 보건복지부의 “국민건강영양조사”와 연계하여 “국민 혈중의 중금속농도조사” 연구사업을 수행하였고 '07, '08년에는 환경부가 독자적으로 “국민생체 시료 중 유해물질 실태조사” 사업을 수행하여 연령별, 성별, 거주지역에 따른 중금속 수준의 차이를 파악함으로써 전국 규모의 국민들에 대한 혈중 중금속의 평균 수준 및 분포에 관한 자료를 확보 하였으며,^{6,7)} 2009년부터는 환경보건법에 근거하여 국민 환경 보건기초조사의 명칭으로 실시하고 있다.⁸⁾

위의 연구들은 모두 인체내 오염물질의 양을 정확히 알기 위해 생체지표물질을 이용해야 하는데, 생체지표물질 중 요는 중금속과 같은 다양한 유기 화합물에 대한 유용한 생체지표물질로써 다양한 물질을 포함하고 있으며,⁹⁾ 체내에서 대사된 물질이 대부분 최종적으로 배출되는 경로이기 때문에 생체모니

터링을 위하여 가장 많이 사용되는 생체시료이다. 특히 생체시료 중 요는 혈액이나 두발, 또는 기타 검체에 비하여 시료채취가 간편할 뿐 아니라 전처리 방법에 따른 결과의 변동 폭도 작아서 생물학적 모니터링에 널리 이용되고 있다.¹⁰⁾

체내에 축적된 중금속 등 여러 오염물질들을 평가하기 위하여 요 시료를 사용하여 오염물질 노출을 평가하고 있는데 특히 요의 다양한 성분 중에서도 크레아티닌 농도를 가장 많이 사용한다. 크레아티닌은 근육, 뇌, 심장 등에 존재하여 에너지를 보관하는 역할을 하는 크레아틴이 대사된 물질로 요소 질소나 요산과 마찬가지로 체내에서 에너지로서 사용된 단백질의 노폐물이다. 크레아티닌은 근육 내에서 에너지로 사용된 후, 혈중으로 유출되어 신장으로부터 배설된다. 이것은 다른 경로가 없이 단지 신장을 통해서만 배출이 되어 신장의 배설 기능을 평가하는데 가장 간단하고 좋은 지표이며, 많은 연구에서 보정하지 않은 요중 대사물질 보다는 요중 크레아티닌으로 보정된 오염물질의 농도가 혈액, 혈청, 혈장 중에 함유된 노출물질의 농도와 상관관계를 가지고 있다고 보고하고 있다.¹¹⁻¹³⁾

하지만 요중 크레아티닌은 체내 오염물질 평가에 있어서 중요한 생체지표물질이지만 성, 연령, 직업, 생활습관, 근육량, 고기섭취량, 환경 등 다양한 변수에 의해 차이를 나타낼 수 있다.¹⁴⁻²²⁾ 특히 연령증가로 인해 면역체계가 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있는 질환들의 발생률이 노년층에서 높으며,²³⁾ 중금속 오염 지역에서 고 연령층에 접근할수록 오염물질의 양이 누적되기 때문에 크레아티닌의 농도는 생체내 오염물질의 농도를 결정하는 중요한 보정 물질이다. 즉, 크레아티닌 보정에 따라 생체내 오염물질의 양이 과소 또는 과대 평가될 수 있기 때문에 생체내 오염물질의 보정에 있어 가장 기본적인 물질이다.

따라서 본 연구에서는 한국인의 크레아티닌 농도에 대한 경향을 알아보기 위해 2009년에 질병관리본부에서 이루어진 국민건강영양조사 4기(Korean National Health and Nutritional Examination Survey, KNHANES IV, 2009) 자료를 통해 성, 연령, 지역, 교육수준, 흡연 및 음주여부에 따른 20세 이상 한국인의 요중 크레아티닌 농도에 대해 연구하였으며, 본 연구결과를 통해 요중 크레아티닌 유효농도범위 설정에 활용될 수 있는 기초자료를 제공하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 연구대상 및 시료채취

국민건강영양조사 4기 3차년도 연구는 질병관리본부에서 수행하여 공개된 자료로 연구기간은 2009년 1~12월에 이루어졌으며, 연구대상 지역은 한국의 16개 지역으로 자료는 건강면접조사, 건강행태, 검진조사, 영양조사 자료로 구성되어 있다. 이 중 검진조사에 참여한 인구는 총 10,078명으로 요중 크레아티닌이 분석된 대상자는 6,377명이었으며, 건강면접조사에서 20세 미만 대상자와 교육수준, 음주 및 흡연여부에 무응답한 91명을 제외한 6,286명을 연구대상자로 선정하여 이에 대한 자료를 이용하였다.

크레아티닌 분석을 위해 요 채취시 24시간 모아서 채취하는 방법과 현장 채취방법(grap or spot urine sample)이 있는데 24시간 채취 방법은 실제로 대상자를 입원시키거나 교육하는 방법으로 실제로 매우 어려웠던터 많은 문제가 발생한 가능성이 높은 문제점을 가지고 있어 대부분의 생체모니터링에서 현장 요 채취방법을 사용하고 있다.^{11,22,24} 또한 요 시료를 냉동 보관할 경우 크레아티닌은 크레아티닌 자체의 안정성으로 인해 농도 변화가 크지 않고 24시간 소변 채취가 완벽하지 않은 경우도 있다.²⁵⁻²⁷

따라서 국민건강영양조사에서도 현장 채취방법을 사용하여 시료를 채취하여 분석하였다.

2. 분석방법

일반적으로 시행되고 있는 크레아티닌 측정법인 아페(Jaffe)반응법은 80년 이상 사용되어온 측정법으로 크레아티닌 농도와 비례하여 형성되는 크레아티닌-피크레이트 복합체를 특정파장에서 측정하는 비교적 간단한 방법으로, 검사가 간편하고 비용이 저렴하여 널리 이용되고 있다.²⁸

본 연구에서도 아페법을 이용하여 네오딘 의학연구소에서 Automatic Analyzer 7600(Hitachi, JAPAN)으로 시약은 CREA(Roche, USA)를 이용하여 분석하였다. 본 기관은 정기적으로 국내 정도관리로는 임상화학분과, 요검정학분과, 국외로는 미국병리학회(CAP)의 정도관리를 받고 있으며 요중 크레아티닌의 경우 2009년 5월, 10월 두차례 미국병리학회(CAP)의 정도관리에 통과하였다.

3. 통계처리

자료의 통계분석은 SAS 9.2(SAS Institute, Cary, NC)를 사용하였다. 국민건강영양조사는 복합표본설계에 의한 우리나라 국민을 대표하는 표본선정을 했기 때문에 층화변수, 집락변수 및 가중치를 고려한 Survey Design을 고려한 통계방법을 적용하였다. 각 변수에 따른 산술평균(표준편차), 95% 신뢰구간을 계산하여 t-test를 하였으며, 성, 연령 등의 인구학적 특성을 보정하여 보정평균 및 95% 신뢰구간을 계산하여 t-test를 하였다. 또한 각 변수에 따른 요중 크레아티닌의 농도를 구하기 위해 다 변량 회귀분석을 하였으며, 통계적 유의성 검정수준은 $p < 0.05$, $p < 0.01$ 로 하였다.

인구집단은 6개 집단으로(20~29, 30~39, 40~49,

Table 1. Summary of the general characteristics

Characteristic	N (%)
Sex	
Male	2,878(45.8)
Female	3,408(54.2)
Age group (years)	
20 - 29	760(12.1)
30 - 39	1,168(18.6)
40 - 49	1,253(19.9)
50 - 59	1,131(18.0)
60 - 69	1,080(17.2)
≥70	894(14.2)
Smoking status	
Current smoker	1,462(23.3)
Past smoker	1,252(19.9)
Non smoker	3,572(56.8)
Drinking status	
Drinker	3,336(53.1)
Non drinker	2,950(46.9)
Residence area	
Urban	4,618(73.5)
Rural	1,668(26.5)
Education	
Less than elementary school	1,828(29.1)
Middle school	723(11.5)
High school	2,130(33.9)
College or higher	1,605(25.5)
BMI (kg/m²)	
<18.5	258 (4.1)
18.5 ≤ BMI < 25.0	3,966(63.1)
≥25.0	2,062(32.8)

50~59, 60~69, 70세 이상) 나뉘었으며, 교육수준은 4개 집단(대졸 또는 그 이상, 고졸, 중졸, 초졸 이하), 흡연여부는 3개 집단(현재 흡연, 과거 흡연, 비흡연자), 음주여부는 2개 집단(음주, 비음주자), 지역구분은 2개 집단(도시지역; 동, 농촌지역; 읍·면)으로 구분하였다.

III. 결 과

Table 1은 성, 연령, 흡연, 음주여부, 거주지역, 교육수준, 체질량지수 분포를 나타낸 것이다.

Table 2는 연령, 흡연 및 음주여부, 거주지역, 교육수준, 체질량지수 분포별 요중 크레아티닌의 농도를 나타낸 것이다. 전체 요중 크레아티닌 농도는 158.99 mg/dl, 각 연령에 따른 요중 크레아티닌 농도는 20대가 211.27 mg/dl로 다른 연령대와 비교하였을 때 유의한 차이로 높았으며($p < 0.01$), 연령이 증가함에 따라 요중 크레아티닌 농도는 감소하는 경향을 나타냈고 성, 연령 등 인구학적 특성을 보정하였을 때도 보정전과 같은 경향을 나타냈다. 흡연에 따른 요중 크레아티닌 농도는 현재 흡연자가 186.14 mg/dl로 유의하게 높았으며($p < 0.01$), 보정 후에도 현재

Table 2. Urinary creatinine concentrations (mg/dl) in the Korean population aged ≥ 20 years from the KNHANES IV (2009) study

	Sample size	Means (95%CI)	
		Crude	Adjusted ^b
Total, age ≥ 20 years	6,286	158.99 (155.29-162.69)	-
Age group (years)			
20 - 29 ^a	760	211.27 (202.27-220.27)	202.57 (193.16-211.98)
30 - 39	1,168	176.57 (169.83-183.31)**	169.39 (161.18-177.59)**
40 - 49	1,253	157.24 (151.55-162.92)**	153.67 (146.08-161.26)**
50 - 59	1,131	137.93 (132.67-143.19)**	138.77 (131.62-145.91)**
60 - 69	1,080	119.30 (114.44-124.17)**	125.28 (118.18-132.38)**
≥ 70	894	107.04 (101.92-112.16)**	117.68 (110.39-124.97)**
Smoking status			
Current smoker ^a	1,462	186.14 (180.17-192.11)	155.14 (147.76-162.51)
Past smoker	1,252	164.45 (158.38-170.52)**	146.18 (138.93-155.48)*
Non smoker	3,572	142.19 (137.44-146.93)**	152.36 (145.85-158.86)
Drinking status			
Drinker ^a	3,336	171.92 (167.77-176.08)	151.42 (145.46-157.38)
Non drinker	2,950	140.44 (135.54-145.34)**	151.03 (145.03-157.04)
Residence area			
Urban ^a	4,618	162.66 (158.55-166.78)	153.31 (149.55-160.19)
Rural	1,668	144.17 (135.57-152.76)**	149.15 (142.55-158.64)
Education			
Less than elementary school ^a	1,828	116.09 (111.82-120.35)	146.83 (140.49-153.17)
Middle school	723	135.14 (128.58-141.70)**	145.07 (136.98-153.16)
High school	2,130	172.75 (167.29-178.21)**	154.21 (147.45-160.96)*
College or higher	1,605	179.89 (174.37-185.40)**	158.80 (152.01-165.59)**
BMI(kg/m²)			
<18.5 ^a	258	176.43 (164.15-188.71)	156.89 (144.94-168.84)
18.5 \leq BMI < 25.0	3,966	157.86 (153.67-162.06)**	146.86 (142.25-151.46)
≥ 25.0	2,062	158.88 (154.25-163.51)**	149.93 (144.83-155.04)

^aReference for comparisons of mean in each classification variables.

^bAdjusted for all demographic and lifestyle variables in the table.

** $p < 0.01$; * $p < 0.05$; CI confidence interval.

흡연자가 155.14 mg/d로 높았지만 비흡연자와는 유의한 차이를 나타내지 않았다.

음주여부에서는 음주자가 171.92 mg/d로 유의하게 높았고($p < 0.01$), 지역에 따라서는 도시지역이 162.66 mg/d로 유의하게 높았지만($p < 0.01$) 보정 후에는 유의한 차이가 없었다. 교육수준에 따라서는 대졸이상이 179.89 mg/d로 유의하게 높았고($p < 0.01$), 교육수준이 증가할수록 농도도 증가하는 경향을 나타냈으며 보정 후에도 비슷한 경향을 나타냈다. 체질량지수의 경우 저체중에서 176.43 mg/d로 유의하게 높았으며($p < 0.01$), 보정 후에도 156.89 mg/d로

가장 높았지만 유의한 차이는 없었다.

Table 3과 4는 성별에 따른 요중 크레아티닌의 농도를 나타낸 것으로 남성이 184.97 mg/d, 여성은 130.02 mg/d, 보정 후에는 남성 175.73 mg/d, 여성 126.73 mg/d로 남성, 여성 모두 보정전과 보정 후 연령이 증가함에 따라 요중 크레아티닌 농도는 감소하는 경향을 나타냈다($p < 0.01$). 흡연여부에서는 남성 흡연자가 192.33 mg/d, 여성 흡연자가 140.87 mg/d, 보정 후에는 남성 177.01 mg/d, 여성 129.30 mg/d이었으며, 남성의 경우 보정전과 보정 후 현재 흡연자가 과거 흡연자보다 유의하게 높았다(각각,

Table 3. Urinary creatinine concentrations (mg/dl) in the Korean male aged ≥ 20 years from the KNHANES IV(2009) study

	Sample size	Means (95%CI)	
		Crude	Adjusted ^b
Male	2,878	184.97 (180.52-189.43)	175.73 (169.46-182.00)
Age group (years)			
20 - 29 ^a	398	228.30 (217.47-239.12)	223.33 (210.27-236.39)
30 - 39	542	199.48 (190.39-208.58)**	194.02 (181.89-206.16)**
40 - 49	571	182.23 (174.63-189.83)**	178.96 (167.60-190.31)**
50 - 59	505	166.49 (158.98-173.99)**	166.10 (155.78-176.42)**
60 - 69	481	144.26 (136.61-151.92)**	147.28 (137.06-157.49)**
≥ 70	381	126.83 (120.02-133.65)**	131.49 (121.51-141.46)**
Smoking status			
Current smoker ^a	1,246	192.33 (186.13-198.54)	177.01 (168.26-185.76)
Past smoker	1,066	168.93 (162.41-175.44)**	167.98 (159.48-176.47)*
Non smoker	566	194.12 (183.94-204.30)	175.60 (163.84-187.37)
Drinking status			
Drinker ^a	2,083	187.96 (183.06-192.87)	174.10 (165.85-182.35)
Non drinker	795	175.74 (168.17-183.32)**	172.96 (163.77-182.16)
Residence area			
Urban ^a	2,117	187.20 (182.23-192.17)	172.33 (164.80-179.86)
Rural	761	175.91 (165.41-186.40)	174.73 (164.09-185.38)
Education			
Less than elementary school ^a	575	150.14 (142.32-157.96)	171.29 (160.70-181.88)
Middle school	343	154.77 (144.18-165.36)	164.83 (152.45-177.21)
High school	1,062	195.47 (188.71-202.23)**	177.25 (167.68-186.83)
College or higher	898	194.90 (188.15-201.65)**	180.74 (171.07-190.42)
BMI (kg/m²)			
<18.5 ^a	99	184.32 (162.62-206.03)	172.68 (153.38-191.98)
18.5 \leq BMI < 25.0	1,751	183.34 (177.88-188.81)	171.56 (165.81-177.31)
≥ 25.0	1,028	187.74 (181.92-193.56)	176.35 (169.29-183.40)

^aReference for comparisons of mean in each classification variables.

^bAdjusted for all demographic and lifestyle variables in the table.

** $p < 0.01$; * $p < 0.05$; CI confidence interval.

Table 4. Urinary creatinine concentrations (mg/dl) in the Korean female aged ≥ 20 years from the KNHANES IV(2009) study

	Sample size	Means (95%CI)	
		Crude	Adjusted ^b
Female	3,408	130.02(125.78-134.26)	126.73 (120.08-133.38)
Age group (years)			
20 - 29 ^a	362	187.67 (175.01-200.32)	180.76 (167.86-193.66)
30 - 39	626	147.64 (140.19-155.08)**	142.51 (132.37-152.65)**
40 - 49	682	128.19 (121.20-135.19)**	125.89 (115.07-136.72)**
50 - 59	626	107.35 (101.91-112.78)**	109.20 (99.03-119.37)**
60 - 69	599	97.09 (92.26-101.93)**	102.10 (91.39-112.80)**
≥ 70	513	93.50 (87.97- 99.04)**	101.30 (90.46-112.15)**
Smoking status			
Current smoker ^a	216	140.87 (127.20-154.54)	129.30 (116.90-141.69)
Past smoker	186	137.20 (123.67-150.72)	123.09 (109.30-136.87)
Non smoker	3,006	128.63 (124.25-133.01)	128.50 (122.25-134.75)
Drinking status			
Drinker ^a	1,253	138.46 (132.69-144.24)	126.72 (117.77-135.66)
Non drinker	2,155	124.30 (119.16-129.44)**	127.21 (118.94-135.47)
Residence area			
Urban ^a	2,501	135.20 (130.45-139.95)	133.01 (126.83-140.99)
Rural	907	109.32 (101.32-117.32)**	120.91 (110.87-132.67)**
Education			
Less than elementary school ^a	1,253	98.28 (94.05-102.52)	120.74 (112.32-129.16)
Middle school	380	115.18 (107.63-122.73)**	125.11 (113.99-136.22)
High school	1,068	142.90 (136.05-149.75)**	129.25 (120.00-138.49)
College or higher	707	156.14 (147.91-164.37)**	132.75 (121.02-144.21)*
BMI (kg/m²)			
<18.5 ^a	159	171.42 (156.50-186.34)	137.37 (121.18-152.56)
18.5 \leq BMI < 25.0	2,215	131.78 (126.57-136.99)**	121.81 (114.90-128.72)*
≥ 25.0	1,034	117.97 (112.79-123.16)**	121.70 (114.19-129.21)

^aReference for comparisons of mean in each classification variables.

^bAdjusted for all demographic and lifestyle variables in the table.

** $p < 0.01$; * $p < 0.05$; CI confidence interval.

Table 5. Percentage of each age group in KNHANES IV whose urinary creatinine concentrations (mg/dl) fell outside the WHO guideline range (<30 mg/dl or >300 mg/dl)

	Total			Male			Female		
	N	<30	>300	N	<30	>300	N	<30	>300
All	6,286	2.3	5.5	2,878	0.4	8.7	3,408	3.9	2.8
20 - 29	760	0.2	2.1	398	0.0	2.9	362	0.3	1.5
30 - 39	1,168	0.4	1.6	542	0.1	2.7	626	0.6	0.6
40 - 49	1,253	0.5	1.0	571	0.2	1.7	682	0.8	0.4
50 - 59	1,131	0.4	0.5	505	0.0	0.9	626	0.8	0.1
60 - 69	1,080	0.5	0.2	481	0.1	0.4	599	0.8	0.1
≥ 70	894	0.3	0.1	381	0.0	0.1	513	0.6	0.1

$p < 0.01$, $p < 0.05$). 음주여부에서는 남성 음주자는 187.96 mg/dl, 여성 음주자가 138.46 mg/dl로 남성, 여성 모두 비음주자보다 유의하게 높았으며(각각, $p < 0.01$, $p < 0.01$), 보정 후에는 남성 음주자가 174.10 mg/dl, 여성 음주자가 126.72 mg/dl를 나타냈다. 거주지역에 따라서는 도시지역에 사는 남성이 187.20 mg/dl, 여성이 135.20 mg/dl로 농촌지역 거주자보다 높았고 보정 후에는 남성이 172.33 mg/dl, 여성이 133.01 mg/dl로 여성의 경우 보정전과 보정 후 모두 유의한 차이가 있었다(각각, $p < 0.01$, $p < 0.01$). 교육 수준에 따라서는 남성이 고등학교 졸업자가 195.47 mg/dl로 가장 높았으며, 여성의 경우 대학교 졸업자가 156.14 mg/dl로 가장 높았고 교육수준이 증가할 수록 요중 크레아티닌 농도도 유의하게 높았다 ($p < 0.01$). 체질량지수에 따른 요중 크레아티닌 농도는 과체중의 남성이 187.74 mg/dl로 높았으며 보정 후에도 과체중에서 176.35 mg/dl로 높았고, 여성의 경우 저체중에서 171.42 mg/dl, 보정 후에는 137.37 mg/dl로 모두 저체중에서 높게 나타나 남성과 상반된 결과를 나타냈다.

WHO에서는 요중 크레아티닌의 유효 농도 범위를 30~300 mg/dl로 규정하고 있어 본 연구에서는 이에 대한 분포를 Table 5에 제시하였다. 전체 연구대상자 6,286명 중 유효범위에 해당되는 대상자는 5,796명(92.2%)이며 30 mg/dl 미만의 대상자는 144명(2.3%), 300 mg/dl를 초과하는 대상자는 346명(5.5%)으로 조사되었다. 특히 20대의 남성, 여성 모두에서 300 mg/dl 이상의 대상자가 가장 많았다.

Table 6은 연구대상자에 대해 요중 크레아티닌을 모델의 종속변수로 하고 영향을 미칠 수 있는 독립 변수들을 선택하여 이에 대한 다중회귀분석 결과를 나타냈다. 모델 1은 크레아티닌에 영향을 미칠 수 있는 연속형 변수인 연령과 체질량지수를 독립변수로 한 것으로 모델의 설명력(R^2)은 14%이었으며, 연령, 체질량지수 모두 크레아티닌에 유의한 영향을 미치는 요인으로 나타났다(각각, $p < 0.01$, $p < 0.01$). 즉 요중 크레아티닌 농도는 연령이 증가됨에 따라 감소하며, 체질량지수가 1 kg/m² 증가함에 따라 요중 크레아티닌 농도도 1.35 mg/dl 만큼 증가하여 Barr 등¹¹⁾의 연구결과(1.30 mg/dl)와 비슷한 수준을 나타냈다.

모델 2는 범주형 변수인 성, 연령, 흡연 및 음주여부, 거주지역, 교육수준을 독립변수로 한 다중회귀분

Table 6. Coefficients of the independent variables from the multiple regression model of urinary creatinine concentrations

	Independent variable		
	Coefficient±SE	p-Value	R ²
Model 1			0.14
Intercept	224.86±9.98	<0.01	
Age	-2.14±0.09	<0.01	
BMI	1.35±0.38	<0.01	
Model 2			0.22
Intercept	91.32±6.11	<0.01	
Sex			
Male	50.03±3.91	<0.01	
Female	0.00±0.00	NA	
Age group(years)			
20 - 29	88.02±6.44	<0.01	
30 - 39	55.13±5.13	<0.01	
40 - 49	38.58±4.56	<0.01	
50 - 59	22.67±3.91	<0.01	
60 - 69	9.73±3.24	<0.01	
≥70	0.00±0.00	NA	
Smoking status			
Current smoker	4.89±4.87	0.32	
Past smoker	-6.05±4.38	0.17	
Non smoker	0.00±0.00	NA	
Drinking status			
Drinker	-0.54±2.90	0.85	
Non drinker	0.00±0.00	NA	
Residence area			
Urban	5.94±4.15	0.15	
Rural	0.00±0.00	NA	
Education			
Less than elementary school	-8.76±4.38	<0.05	
Middle school	-13.36±5.12	<0.01	
High school	-3.91±3.36	0.25	
College or higher	0.00±0.00	NA	

석 결과를 나타낸 것으로 모델의 설명력(R^2)은 22%이었으며, 성, 연령에 따라 유의한 영향을 미치는 요인으로 나타났다(각각, $p < 0.01$, $p < 0.01$), 교육수준에 따라서는도 초등학교 졸업이하와 중학교 졸업자에서 유의한 영향을 미치는 요인으로 나타났다(각각, $p < 0.05$, $p < 0.01$).

IV. 고 찰

요중 크레아티닌은 생체내 오염물질의 수준을 평가하는데 결정적인 역할을 하며, 알부민/크레아티닌 비율은 미세단백뇨 고혈압 환자를 감지하는데 계산되는 방법으로 질병여부를 판정하는데도 사용되고 소변의 불순물을 감지할 수도 있어 오랜 기간 동안 사용되었다.²⁹⁻³²⁾ 특히 요중 카드뮴이 골밀도와 혈압과 관계가 있다고 보고되고 있어³³⁻³⁵⁾ 이러한 경우 인체 내 요중 카드뮴의 수준을 파악하는 것이 중요한데 이 때 요중 카드뮴의 최종 농도값은 요중 크레아티닌으로 보정하기 때문에 인체내 오염물질의 수준 및 질병 유무를 파악하는데 있어 요중 크레아티닌의 역할은 더욱 중요하다고 할 수 있다.

이러한 요중 카드뮴, 비소 등 체내 중금속 농도를 측정하기 위해서는 소변 시료를 채취해야 하는데 요는 혈액이나 두발 등의 검체에 비해 시료 채취가 간편하며 통증을 유발하지 않아 널리 이용되고 있다.

요의 크레아티닌 농도 분석에 사용되는 시료는 일반적으로 24시간 동안 모은 요를 사용하는 것이 정확한 것으로 알려져 있지만 실제로 24시간동안 요를 수집한다는 것은 매우 번거로운 일이며 대규모의 집단 연구시 더욱 어려운 일이다. 따라서 24시간 요 대신 일시 요를 이용하여 생물학적 모니터링의 대상으로 이용하고 있으며, 많은 연구에서 요중 크레아티닌으로 보정된 물질의 농도가 보정되지 않은 물질의 농도보다 더 상관성이 높다고 보고되고 있다.^{12,15)}

수집된 요는 다양한 방법에 의해서 크레아티닌이 분석이 되는데 임상분석에서 가장 일반적으로 사용되는 방법이 야페(Jaffe)반응법으로 혈액 중 크레아티닌은 물질간 간섭작용이 있지만 요중 크레아티닌은 간섭작용이 나타나지 않는다.^{14,36)} 또한 요의 비중이 크레아티닌과 상관성이 높기 때문에 오염물질을 보정하는데 사용될 수 있다고 제안하고 있으며,^{37,38)} NIOSH(National Institute for Occupational Safety and Health)의 경우 납, 페놀 등의 화학물질에 대해 요의 비중을 이용하여 보정할 수 있도록 제안하기도 하였다.³⁹⁾ 하지만 세노관 장애로 인해 용질의 재흡수가 감소되면 비중을 이용한 보정은 신뢰할 수 없게 되며,²⁷⁾ Elkins 등⁴⁰⁾은 소변에 많은 양의 당이나 단백질이 포함되어 있는 경우 비중으로 보정하게 되면 잘못된 결과를 도출할 수 있다고 하였다. 이와

달리 Spierto 등²⁵⁾은 다양한 온도조건과 보관기간에 따른 요중 크레아티닌의 농도 변화를 알아본 결과 보관기간이 길어지고 온도가 올라감에 따라 요중 크레아티닌의 농도는 감소하지만 30일 동안 냉동 보관할 경우 요중 크레아티닌의 농도 변화는 거의 없어 크레아티닌의 안정성을 확인하였으며, Soliman 등²⁶⁾의 연구에서도 요중 크레아티닌의 안정성으로 인해 장기간 냉동보관을 한 후 분석이 이루어져도 큰 오차를 보이지 않았다.

크레아티닌의 형성비율은 몸속의 크레아틴이 약 2% 정도가 크레아티닌으로 매일 24시간 전환되며, 이 비율은 나이가 증가할수록 감소한다.²⁷⁾ 또한 남성이 여성보다 높은 크레아티닌을 가지고 있고,^{41,42)} 나이가 증가함에 따라 근육과 사구체여과율의 감소로 인해 크레아티닌의 농도가 감소된다.^{43,44)} 즉 요중 크레아티닌 농도는 기본적으로 남성이 여성보다 높고 연령이 증가할수록 감소되지만 인종, 근육량, 고기섭취, 생활습관 등에 의해 차이를 나타내고⁴⁵⁾ 다양한 요인에 의한 영향을 받기 때문에 오염물질의 농도가 과대 또는 과소평가 되지 않도록 이에 대한 구체적인 유효범위가 필요하다.

본 연구에서는 국민건강영양조사 자료를 통해 한국인의 다양한 요인에 따른 크레아티닌 농도 수준을 확인하고자 성, 연령, 흡연 및 음주여부, 거주지역, 교육수준, 체질량지수를 고려하여 요중 크레아티닌 농도를 산출하였으며, 한국인의 요중 크레아티닌 농도는 남성이 여성보다 높아 선행연구와 같은 경향을 보였다.^{6,7,11,18,24,29)} 또한 남성과 여성 모두 연령이 증가함에 따라 크레아티닌의 농도가 감소하는 경향을 나타내었으며 인구학적 특성 및 생활습관을 보정한 후에도 보정전과 같은 경향을 나타내어 선행연구와 같은 경향을 보였다.^{6,7,11,18,24)}

Barr 등¹²⁾이 연구한 미국국민건강영양조사에서의 다양한 인종에 대한 요중 크레아티닌 농도 중 Non-Hispanic black계의 요중 크레아티닌 농도와(165.4 mg/dl, 95% CI : 162.3-168.5 mg/dl) 우리나라 성인의 농도가(158.99 mg/dl, 95% CI : 155.29-162.69 mg/dl) 비슷한 수준을 보여 우리나라의 식습관이 과거와 달리 서양화가 되어가면서 육류 섭취의 증가로 인해 비슷한 수준으로 보이는 것으로 판단된다. 우리나라 남성의 요중 크레아티닌 농도도(184.97 mg/dl, 95% CI : 180.52-189.43 mg/dl) Non-Hispanic

black 계의 남성과(181.9 mg/dl, 95% CI : 177.3-186.4 mg/dl) 비슷하였으며, 여성의 경우(130.02 mg/dl, 95% CI : 125.78-134.26 mg/dl)는 Mexican American 계의 여성과(117.6 mg/dl, 95% CI : 114.3-120.9 mg/dl) 가장 비슷하였다. 하지만 다른 인종과 비교할 때 많게는 약 40 mg/dl 이상의 차이를 보여 요중 크레아티닌이 기본적으로 인종에 따라서 차이가 난다는 것을 확인할 수 있었다. 또한 성, 연령, 근육량, 생활습관, 식습관 등 다양한 요인에 의해 영향을 받았으며, 연령이 증가함에 따라서는 인종에 상관없이 요중 크레아티닌의 농도가 감소한다는 것을 확인할 수 있었다.

미국 교통부에서는 약물남용에 대해 생체모니터링 할 경우에 크레아티닌의 농도가 20 mg/dl 이하인 경우에는 반드시 비중을 측정하도록 권고하고 있으며¹⁸⁾ 세계보건기구에서는 크레아티닌 농도의 유효범위를 30~300 mg/dl로 규정하여 보정에 사용하도록 하고 있다. 본 연구에서도 세계보건기구의 요중 크레아티닌 유효농도범위를 적용시켰을 때 총 연구대상자 중 92.2%가 세계보건기구 유효농도범위에 포함되었으나 2.3%는 30 mg/dl 미만이었으며 5.5%는 300 mg/dl 초과하는 농도범위에 포함되었다. 특히, 300 mg/dl 초과자는 20대 연령대가 가장 많이 분포하고 있어, Barr 등¹¹⁾의 연구결과와 동일하였다. 또한 요중 크레아티닌에 영향을 미칠 수 있는 성, 연령, 흡연 및 음주여부, 거주지역, 교육수준을 이용하여 다중회귀분석시 성, 연령이 유의한 영향을 미치는 독립변수로 나타났으며 체질량지수의 경우 1 kg/m² 증가시 요중 크레아티닌 농도는 1.35 mg/dl씩 증가하여 기존의 연구조사¹¹⁾ 결과인 1.30 mg/dl와 비슷한 수준이었다.

Lee²⁴⁾와 Mage 등³¹⁾은 요중 크레아티닌은 성, 연령, 인종에 따라 달라질 수 있기 때문에 동일한 농도범위를 가지고 모든 연구 집단에 적용시키는 것은 문제가 있다고 하였으며, 요중 대사물질 보정시 대상자를 어린이집단, 청년집단, 청장년집단으로 구분하고, 그 집단에 적합한 농도범위를 적용하는 것이 적합하다고 권고하고 있다. 비록 본 연구결과와 Non-Hispanic black계의 요중 크레아티닌 농도가 비슷한 수준을 나타냈으나 환경, 생활습관이 다른 외국의 규정을 우리나라에 그대로 적용시키는 것은 문제가 있으며 20대 연령층에서는 요중 크레아티닌 농도 300

mg/dl를 초과하는 자가 많이 분포하기 때문에 외국의 규정을 적용시키게 되면 보정물질로 사용할 수 없게 된다.

따라서 외국의 규정을 우리나라 인구에 적용시키기 보다는 우리나라 자체적인 요중 크레아티닌의 연령별 유효농도범위 설정이 필요하며, 이에 앞서 농도범위 설정에 영향을 줄 수 있는 성, 연령, 체질량지수 이외에 생활습관 및 식생활, 하루 중 시료채취 시간에 따른 크레아티닌 농도의 변동, 유아 및 임신 여부, 폐금속광산이나 산단지역 등 측정대상 및 대상지역의 특성에 대한 차이 등 다양한 영향요인에 대한 연구가 선행되어야 할 것이다.

V. 결 론

본 연구는 2009년에 이루어진 국민건강영양조사 4기(Korean National Health and Nutritional Examination Survey, KNHANES IV, 2009) 자료를 통해 성, 연령, 지역, 교육수준, 흡연 및 음주여부에 따른 요중 크레아티닌 농도에 대해 연구하였으며, 결론은 다음과 같다.

20세 이상 한국인 6,286명의 요중 크레아티닌 농도는 158.99 mg/dl이었으며, 각 연령에 따른 요중 크레아티닌 농도는 20대가 다른 연령대와 비교하였을 때 모두 유의한 차이로 높았으며, 연령이 증가함에 따라 감소하는 경향을 보였고, 남성이 여성보다 높았다. 흡연여부에서는 남성의 경우 현재흡연자와 과거흡연자의 요중 크레아티닌 농도가 보정전과 보정 후 모두 유의한 차이를 보였다. 지역에 따른 비교에서는 여성의 경우 보정전과 보정 후 모두 도시지역이 농촌지역 보다 유의하게 높았다. 또한 교육수준에 따라서는 여성의 교육수준이 높을수록 요중 크레아티닌의 농도가 유의하게 높았다. WHO의 요중 크레아티닌의 유효 농도범위(30~300 mg/dl)를 적용시킨 결과 전체 연구대상자 6,286명 중 490명(7.8%)이 유효범위에서 벗어났으며, 다중회귀분석 결과 성, 연령, 체질량지수가 크레아티닌 농도에 영향을 미치는 요인으로 나타났다.

이상의 결과는 한국인의 요중 크레아티닌 농도에 대한 기초자료를 제공하였다는데 의의가 있다. 하지만 본 연구결과만을 이용하여 한국인의 요중 크레아티닌 유효농도범위를 설정하는데는 한계가 있다. 이

후 연구에서는 성, 연령, 체질량지수, 음주 및 흡연 등의 변수 이외에도 식품섭취형태, 일중 시료채취시간에 따른 크레아티닌 농도의 변동, 유아 및 임신여부, 폐금속광산이나 산단지역 등 측정대상 및 대상 지역의 특성에 대한 차이 등으로 인한 크레아티닌 농도의 변화 등 다양한 연구를 통해 오염물질의 농도가 과대 또는 과소평가 되지 않도록 이에 대한 구체적인 유효범위를 설정하는 것이 필요하다.

참고문헌

1. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention. Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. 2009.
2. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention. NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey). Available <http://www.cdc.gov/nchs/nhanes.htm> [accessed 29 July 2011].
3. Federal Environment Agency (Umwelt Bundes Amt). German Environmental Survey for Children 2003/06 GerES IV Human Biomonitoring. Federal Environment Agency (Umweltbundesamt), Dessau-Roßlau, Robert Koch-Institut (RKI). Berlin; 2008.
4. Becker K, Conrad A, Kirsch N, Kolossa-Gehring M, Schulz C, Seiwert M, et al. German Environmental Survey (GerES) : Human biomonitoring as a tool to identify exposure pathways. *Int J Hyg Environ Health*. 2007; 210: 267-269.
5. Angerer J, Ewers U, Wilhelm, M. Human biomonitoring: State of the art. *Int J Hyg Environ Health*. 2007; 210: 201-228.
6. National Institute of Environmental Research. Research of toxic substance in biomarkers of residents in Korea. Seoul: Ministry of Environmental; 2007.
7. National Academy of Environmental Science. Research of toxic substance in biomarkers of residents in Korea. Seoul: Ministry of Environmental; 2008.
8. Ministry of Environmental Korea. Environmental Health Law; 2010.
9. World Health Organization. Biological monitoring of chemical exposure in the workplace. GENEVA; 1996.
10. Kim H, Kim SM, Cho SH Urinary creatinine adjustment for determination of urinary cadmium. *J Preventive Med*. 1991; 24(3): 459-461.
11. Barr DB, Wilder LC, Caudill SP, Gonzalez AJ, Needham LL, Pirkle J. Urinary creatinine concentrations in the U.S. population: implications for urinary biologic monitoring measurements. *Environ Health Perspect*. 2005; 113(2): 192-200.
12. Hill RH Jr, Ashley DL, Head SL, Needham LL, Pirkle JL. p-Dichlorobenzene exposure among 1,000 adults in the United States. *Arch Environ Health*. 1995; 50(4): 277-280.
13. Shealy DB, Barr JR, Ashley DL, Patterson DG, Jr Camann DE, Bond AE. Correlation of environmental carbaryl measurements with serum and urinary 1-naphthol measurements in a farmer applicator and his family. *Environ Health Perspect*. 1997; 105(5): 510-513.
14. Boeniger MF, Lowry LK, Rosenberg J. Interpretation of urine results used to assess chemical exposure with emphasis on creatinine adjustments: a review. *Am Ind Hyg Assoc J*. 1993; 54(10): 615-627.
15. To-Figueras J, Sala M, Otero R, Barrot C, Santiago-Silva M, Rodamilans M. Metabolism of hexachlorobenzene in humans: association between serum levels and urinary metabolites in a highly exposed population. *Environ Health Perspect*. 1997; 105(1): 78-83.
16. Moriguchi J, Ezaki T, Tsukahara T, Fukui T, Ukai H, Okamoto S, et al. Decreases in urine specific gravity and urinary creatinine in elderly women. *Int Arch Occup Environ Health*. 2005; 78(6): 438-445.
17. Nortier J, Bernard A, Roels H, Deschodt-Lanckman M, Gueuning C, Lauwerys R. Urinary neutral endopeptidase in workers exposed to cadmium: interaction with cigarette smoking. *Occup Environ Med*. 1997; 54(6): 432-436.
18. Barbanel CS, Winkelman JW, Fischer GA, King AJ. Confirmation of the department of transportation criteria for a substituted urine specimen. *Occup Environ Med*. 2002; 44(5): 407-416.
19. Barr DB, Thomas K, Curwin B, Landsittel D, Raymer J, Lu C, Donnelly KC, Acquavella J. Biomonitoring of exposure in farmworker studies. *Environ Health Perspect*. 2006; 114(6): 936-942.
20. Hall MV, Leathard HL, Coley J. Urinary hormone levels during the natural menstrual cycle: the effect of age. *J Endocrinol*. 2001; 170: 157-164.
21. Davies KM, Heaney RP, Rafferty K. Decline in muscle mass with age in women: a longitudinal study using an indirect measure. *Metabolism*. 2002; 51: 935-939.
22. Suwazono Y, Akesson A, Alfvén T, Jarup L, Vahter

- M. Creatinine versus specific gravity-adjusted urinary cadmium concentrations. *Biomarkers*. 2005; 10(2-3): 117-126.
23. Han SK, Lee KY, Choi HS, Chung HS, Kim YW, Shim YS, et al. The alteration of cell-mediated immunity in geriatric population. *Korean J Med*. 1994; 46(4): 772-780.
 24. Lee JH, Ahn RM. Relevance of gender, age and the body mass index to changes in urinary creatinine concentration in Korea adults. *J Environ Hlth Sci*. 2010; 36(3): 215-221.
 25. Spierto FW, Hannon WH, Gunter EW, Smith SJ. Stability of urine creatinine. *Clinica Chimica Acta*. 1997; 264: 227-232.
 26. Soliman SA, Abdel-Hay MH, Sulaiman MI, Tayeb OS. Stability of creatinine, urea and uric acid in urine stored under various conditions. *Clinica Chimica Acta*. 1986; 160: 319-326.
 27. Carrieri M, Trevisan A, Bartolucci GB. Adjustment to concentration-dilution of spot urine sample: correlation between specific gravity and creatinine. *Int Arch Occup Environ Health*. 2001; 74: 63-67.
 28. Ohira SI, Kirk AB, Dasgupta PK. Automated measurement of urinary creatinine by multichannel kinetic spectrophotometry. *Analytical Biochemistry*. 2009; 384: 238-244.
 29. Arndt T. Urine-creatinine concentration as a marker of urine dilution: Reflections using a cohort of 45,000 sample. *Forensic Sci Int*. 2009; 186: 48-51.
 30. Park JH. Exposure assessment of biological agents in indoor environmental. *Korean J Environ Health Sci*. 2009; 35(4): 239-248.
 31. Mage DT, Allen RH, Gondy G, Smith W, Barr DB, Needham LL. Estimating pesticide dose from urinary pesticide concentration data by creatinine correction in the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES-III). *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*. 2004; 14: 457-465.
 32. Derhasching U, Kittler H, Woisetschlager C, Bur A, Herkner H, Hirschl MM. Microalbumin measurement alone or calculation of the albumin/creatinine ratio for the screening of hypertension patients?. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2002; 17: 81-85.
 33. Shin MA, Paek DM, Yoon CS. The relationship between the bone mineral density and urinary cadmium concentration of residents in an industrial complex. *Environ Res*. 2011; 111: 101-109.
 34. Swaddiwudhipong W, Mahasakpan P, Limpatanachote P, Krinratun S. Correlations of urinary cadmium with hypertension and diabetes in persons living in cadmium-contaminated villages in north-western Thailand. *Environ Res*. 2010; 110: 612-616.
 35. Al-Saleh I, Shinwari N, Mashhour A, Mohamed Gel-D, Ghosh MA, Shammasi Z, Al-Nasser A. Cadmium and mercury levels in Saudi women and its possible relationship with hypertension. *Biol Trace Elem Res*. 2006; 112: 13-29.
 36. Spencer K. Analytical reviews in clinical biochemistry. *Ann Clin Biochem*. 1986; 23: 1-25.
 37. Moore RR, Jr, Hirata-Dulas CA, Kasiske BL. Use of urine specific gravity to improve screening for albuminuria. *Kidney Int*. 1997; 52: 240-243.
 38. Parikh CR, Gyamlani GG, Carvounis CP. Screening for microalbuminuria simplified by urine specific gravity. *Am J Nephrol*. 2002; 22: 315-319.
 39. National Institute for Occupational Safety and Health. Criteria for a recommended standard-occupational exposure to benzene. DEHW, Cincinnati, Ohio, USA; 1974, p.109-112.
 40. Elkins HB, Pagnotto LD, Smith HL. Concentration adjustment in urinalysis. *Am Ind Hyg Assoc J*. 1974; 35: 559-565.
 41. Bjornsson TD. Use of serum creatinine concentrations to determine renal function. *Clin Pharmacokinetics*. 1979; 4: 200-222.
 42. Tuner WJ, Cohn S. Total body potassium and 24-hour creatinine excretion in healthy males. *Clin Pharm Ther*. 1975; 18: 405-412.
 43. Freeman NC, Wainman T, Liroy PJ, Stern AH, Shupack SI. The effect of remediation of chromium waste sites on chromium levels in urine of children living in the surrounding neighborhood. *J Air Waste Manag Assoc*. 1995; 45: 604-614.
 44. O'Rourke MK, Lizardi PS, Rogan SP, Freeman NC, Aguirre A, Saint CG. Pesticide exposure and creatinine variation among young children. *J Expo Anal Environ Epidemiol*. 2000; 10: 672-681.
 45. Worsfold M, Davie MW, Haddaway MJ. Age-related change in body composition, hydroxyproline, and creatinine in normal women. *Calcif Tissue Int*. 1999; 64: 40-44.