

## 불임여성에서 엽산 보충이 혈중 호모시스테인과 비타민 B 수준에 미치는 영향\*

엄혜진 · 김기남 · 장남수<sup>§</sup>

이화여자대학교 생활환경대학 식품영양학과, 아시아식품영양연구소

### Effect of Folic Acid Supplementation on Serum Homocysteine and B Vitamins in Infertile Women\*

Eom, Hyeajin · Kim, Ki Nam · Chang, Namsoo<sup>§</sup>

Department of Food and Nutritional Sciences, Asia Food & Nutrition Research Institute,  
Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

#### ABSTRACT

Elevated homocysteine concentration is known to be related to placental abruption, spontaneous abortion, and many adverse pregnancy outcomes. The purpose of this study was to investigate the effects of folic acid supplementation (1000  $\mu$ g per day) and 5, 10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism genotype on serum homocysteine and B vitamin levels in 50 infertile women (aged  $31.2 \pm 3.2$  years). Blood sampling was performed at baseline and at the end of folic acid supplementation period. In infertile women, serum folate and vitamin B<sub>12</sub> concentrations were significantly higher in post-supplementation than those in pre-supplementation. Serum homocysteine concentration was significantly lower in post-supplementation than that in pre-supplementation. However, serum homocysteine levels were still higher in the T/T genotype than those in the C/C or C/T even after folic acid supplementation. Serum homocysteine was inversely related to serum folate in T/T homozygotes at baseline and at the end of folic acid supplementation. These results suggest that folic acid supplementation is needed for infertile women to improve their vitamin status and also to reduce the risk of hyperhomocysteinemia. These effects were different according to their MTHFR C677T genotypes. Therefore, further studies are necessary to determine the optimal level of supplementation of folic acid by MTHFR genotypes. (*Korean J Nutrition* 38(3) : 211~218, 2005)

**KEY WORDS** : serum B vitamins, serum homocysteine, folic acid supplementation, MTHFR genotype, infertile women.

#### 서 론

불임이란 피임을 시행하지 않은 부부가 정상적인 부부관계에도 불구하고 1년 이내에 임신이 되지 않거나, 임신을 한 경우라도 이를 지속할 수 없는 상태로 정의된다.<sup>1)</sup> 최근 의료 기술의 발달로 불임의 원인 규명과 함께 실제 임신율은 높아졌으나 불임 부부의 비율이 점점 증가하는 추세를 보이고 있으며, 우리나라 가임 여성 중 약 13.5%가 불임으로 보고되고 있다.<sup>2)</sup> 불임의 원인에는 여러 가지가 있으며 고호모

시스테인혈중도 불임에 영향을 미치는 것으로 여겨지고 있다.

호모시스테인의 수준이 높으면 태내 성장지연,<sup>3)</sup> 저체중아 출산<sup>4)</sup>을 비롯한 바람직하지 못한 임신결과<sup>5,6)</sup>와 자연유산,<sup>7)</sup> 태반 박리<sup>8)</sup> 등의 임신 합병증과 관련이 있다고 보고되고 있으며, 불임 여성의 경우 혈중 호모시스테인 수준이 정상 가임기 여성보다 높은 것으로 보고되고 있어,<sup>8-10)</sup> 불임 여성의 호모시스테인 수준과 이에 영향을 미치는 요인에 관한 연구가 필요한 실정이다.

호모시스테인은 합황 아미노산의 일종으로 필수 아미노산인 메티오닌으로부터 생성이 된다. 혈중 호모시스테인 수준에 영향을 미치는 요인은 호모시스테인 대사 경로를 결정하는 유전적 요인인 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 유전자의 돌연변이<sup>11)</sup>와 환경적 요인인 메티오닌, 콜린, 비타민 B<sub>2</sub>, 비타민 B<sub>6</sub>, 엽산, 비타민 B<sub>12</sub> 등의 영양상태<sup>12,13)</sup> 및 이들의 상호작용이라고 보고된 바 있다.<sup>14)</sup> 이들 비

접수일 : 2005년 1월 7일

채택일 : 2005년 3월 9일

\*This study was supported by a grant of the Korea Health 21 R & D Project, Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea (01-PJ1-PG1-01CH15-0009).

<sup>§</sup>To whom correspondence should be addressed.

타민 B<sub>2</sub>, 비타민 B<sub>6</sub>, 비타민 B<sub>12</sub>와 엽산은 각기 다른 생화학적 반응단계에서 호모시스테인 대사의 조효소로서 사용되므로 부족할 경우 호모시스테인 수준을 상승시키는 위험요인으로 작용할 수 있다.<sup>13)</sup>

최근 불임여성의 호모시스테인과 비타민 B 영양상태에 대한 연구의 일환으로, 비타민 B 영양상태가 불임에 영향을 미칠 수 있으며,<sup>16)</sup> 특히 불임여성의 경우 비타민 B군의 영양상태가 부족하다고 보고된 바 있다.<sup>17)</sup> 또한 우리나라 여성의 경우 MTHFR C677T 유전자형의 변이 비율이 높다는 연구<sup>18,19)</sup>와 불임 여성이 높은 호모시스테인 수준에 노출되어 있다는 연구에도 불구하고,<sup>8-10)</sup> 호모시스테인이 불임 여성에게 미치는 영향을 밝히기 위한 연구 중 우리 나라 불임여성을 대상으로 호모시스테인 수준과 유전자의 돌연변이의 관계를 제시한 연구와 호모시스테인의 상승원인에 대한 유전적인 요인과 영양적 요인을 함께 제시한 연구는 거의 없는 실정이다. 또한 현재 우리나라에는 불임 여성의 비타민 B<sub>2</sub>, 비타민 B<sub>6</sub>, 엽산, 비타민 B<sub>12</sub> 섭취량에 대한 보고<sup>16)</sup>와 고호모시스테인과 관련된 반복된 자연 유산에서 MTHFR 유전자 변이에 대한 분석<sup>20)</sup>이 보고되어 있으나 불임여성을 대상으로 비타민 B군을 보충하여 이들의 영양상태와 혈청 호모시스테인 수준간의 관계를 연구한 사례가 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 불임여성을 대상으로 이들의 비타민 B군의 섭취 실태를 조사하고 엽산 보충을 실시하여 MTHFR 유전자형에 따른 호모시스테인 수준 및 비타민 B군 수준 변화를 알아보았다.

## 연구 방법

### 1. 연구 대상자, 설문조사 및 식이 섭취량 조사

본 연구는 2003년 9월부터 2004년 7월까지 서울 소재 병원에서 불임으로 진단 받고 연구 수행 전 3개월간 엽산 보충제를 복용하지 않은 평균 연령 31.2 ± 3.2세 (26~40세)인 50명의 가임기 여성들을 대상으로 수행되었다. 본 연구 대상인 불임 여성은 연구 참여에 대한 사전 동의서를 작성하였고 엽산 보충제를 하루에 1 mg씩 5주간 복용하였다. 보충제 복용에 관한 확인서를 제공하여 스스로 표시하도록 하여 보충이 끝난 후 수거하고, 보충 기간동안 2회에 걸쳐 전화를 통해 복용 수행 여부를 확인하였다. 훈련된 조사자와 1:1 면담을 통해 연구대상자들의 일반사항 (연령, 직업, 학력, 소득 등), 질병 유무, 체위, 생활습관과 식이 섭취량을 조사하였다. 식이 섭취량 조사는 24시간 회상법을 이용하여 실시하였으며, 조사된 식이 섭취 자료는 Can-Pro ver. 2.0 (한국 영양학회, 서울, 한국, 2002)을 이용하여 영양소

섭취량을 분석하였다.

### 2. 생화학적 분석

연구 대상자로부터 연구를 시작하는 시점과 엽산 보충 후 5주가 되는 시점에 12시간 공복시 정맥혈을 채혈한 후, 3000 × g, 4°C에서 15분간 원심분리시켜 얻은 혈청을 분리하여 -70°C에 보관하였다가 혈청 비타민 B<sub>2</sub>, 비타민 B<sub>6</sub>, 엽산, 비타민 B<sub>12</sub>, 호모시스테인 농도를 분석하였다. 혈청 비타민 B<sub>2</sub> 농도는 Capo-Chichi 등<sup>21)</sup>의 방법에 의해 HPLC (Water 2690, U.S.A)로 분리하여 혈장 내 flavin adenine dinucleotide (FAD), flavin mononucleotide (FMN), riboflavin을 fluorescence detector (Waters 474, Waters Co, MA, USA)로 정량하였다. 혈장 비타민 B<sub>6</sub> 농도는 비타민 B<sub>6</sub> 분석용 kit (Chromsystems, Germany)를 사용하여 혈장 내 PLP를 HPLC-fluorescence detector로 분석하였다. 또한 혈장 엽산과 비타민 B<sub>12</sub> 분석은 <sup>57</sup>Co/<sup>125</sup>I radioimmunoassay method에 의해 이루어졌다. 혈장 호모시스테인 농도는 Araki 등<sup>22)</sup>의 방법을 기초로 하여, 이를 변형시켜 HPLC-fluorescence detector로 분석하였다.

### 3. MTHFR 유전자형 분석

MTHFR 유전자형을 분석하기 위하여 채취된 전혈로부터 DNA를 추출하였다. DNA 추출에는 QIAamp Blood DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany)가 이용되었으며, 전혈 채취 직후 proteinase를 처리하여 단백질을 제거하고 spin column을 사용하여 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA는 분석 직전까지 -20°C에서 보관되었다. 추출된 DNA는 primer 5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGA-3' (up)와 primer 3'-AGGACGGTGCGGTGAGTG-3' (down), 0.5 units의 Taq DNA polymerase (Takara Shuzo Co., Shiga, Japan) 및 dNTP mix를 사용하여 polymerase chain reaction (PCR, GeneAmp, USA)을 통해 증폭시켰다. Frosst 등<sup>23)</sup>의 방법에 따라 *Hinf*I (Takara Shuzo Co., Shiga, Japan) 제한효소로 처리하여 2.5% agarose gel에서 전기영동을 실시하여 MTHFR 유전자 돌연변이를 확인하였다. MTHFR 유전자형은 C/C, C/T와 T/T 형으로 구분하였다.

### 4. 통계분석

모든 자료는, SPSS program (version 11.0)를 이용해 통계 처리하였으며, 모든 혈액 분석치는 정규화를 위해 로그로 전환한 후 평균과 표준편차를 구하였다. MTHFR 유전자형에 따른 차이를 분석하기 위하여 모든 연구 대상자를 MTHFR 유전자형에 따라 C/C, C/T, T/T형의 세 군으로 나누어 혈청 비타민 B<sub>2</sub>, 비타민 B<sub>6</sub>, 엽산, 비타민 B<sub>12</sub> 및 호

**Table 1.** Age and anthropometric characteristics of the subjects

	All n = 50	MTHFR genotypes		
		C/C n = 11	C/T n = 28	T/T n = 11
Age (yr)	31.2 ± 3.2 <sup>1)2)</sup>	31.5 ± 4.2	31.1 ± 3.2	31.2 ± 2.4
Height (cm)	160.1 ± 4.0	158.0 ± 4.0	161.0 ± 3.9	161.0 ± 4.1
Weight (kg)	54.0 ± 7.0	51.0 ± 5.3	54.1 ± 6.0	57.0 ± 10.0
BMI <sup>3)</sup> (kg/m <sup>2</sup> )	21.1 ± 2.6	20.4 ± 2.0	21.1 ± 2.5	22.0 ± 3.5
Duration of marriage (yr)	4.5 ± 2.3	4.6 ± 2.8	4.4 ± 2.3	4.8 ± 2.1

1) Values are mean ± SD

2) NS: Not significant by ANOVA test (p < 0.05)

3) BMI: body mass index

모시스테인 수준, 영양소 섭취량과 권장량 대비 섭취량, 식품군에 따른 재료량의 평균을 일원배치 분산분석 (one-way ANOVA)을 이용하여 분석한 후 Duncan법 (Duncan multiple range test)을 사용하여 사후 검정하였다. 다중회귀분석을 이용하여 혈청 비타민 B<sub>2</sub>, 비타민 B<sub>6</sub>, 엽산, 비타민 B<sub>12</sub>가 혈청 호모시스테인 수준에 미치는 영향을 분석하였다. 엽산 보충 전과 보충 후의 변화는 대응 표본 T 검정 (Paired-sample t-test)을 실시하여 유의성을 검정하였다.

## 결 과

### 1. 일반사항 및 MTHFR 유전자 발현형

조사 대상자의 일반사항은 Table 1에 제시하였다. 본 연구 대상자들의 평균 연령은 31.2 ± 3.2세였으며, 이들의 평균 신장은 160.1 ± 4.0 cm, 평균 체중은 54.0 ± 7.0 kg이었다. 평균 BMI는 21.1 ± 2.6 kg/m<sup>2</sup>로 정상범위에 속하였다. 조사 대상자의 교육수준은 대졸자의 비율이 가장 높았으며, 직업을 가지지 않은 경우가 많았고, 평균 결혼 기간은 4.5 ± 2.3년이었다. 본 연구 대상자의 MTHFR C677T 변이를 분석한 결과, C/C형이 22%, C/T형이 56%, T/T형이 22%인 것으로 나타났으며, 평균 체위, 교육정도, 직업유무, 평균 결혼 기간 및 불임 기간은 MTHFR 유전자형에 따른 유의적인 차이가 없었다.

### 2. 식습관 및 영양소 섭취량

본 연구 대상자의 식습관 및 영양소 섭취 실태는 Table 2에 제시하였다. 연구 대상자의 영양소 섭취량을 분석한 결과 전체 불임 여성의 열량 섭취량은 1583.1 ± 415.8 kcal였으며, 이는 가임기 여성의 열량 권장량 대비 79.2%에 해당되는 것이었다. 단백질 섭취량은 63.5 ± 22.6 g으로 단백질 권장량을 만족시키고 있었으나, 칼슘의 섭취량이 권장량의 75%에 미치지 못하고 있었다. 그 외 비타민 B<sub>2</sub> 섭취량은 1.0 mg으로 권장량의 79.4%를 섭취했으며, 비타민 B<sub>6</sub> 섭취량은 2.0 mg으로 권장량의 139.3%로 나타났다. 엽산

섭취량은 382.9 μg DEF로 권장량의 153.1%를 섭취한 것으로 나타났다.

### 3. 엽산 보충에 따른 혈청 호모시스테인 및 비타민 B 수준 변화

본 연구 대상자의 혈청 호모시스테인 및 비타민 B 수준을 분석한 결과는 Table 3에 제시하였다. 연구 대상자의 혈중 호모시스테인 농도는 12.6 ± 4.1 μmol/L였으며, 고호모시스테인혈증의 비율은 16%로 나타났다. 혈청 엽산과 비타민 B<sub>12</sub> 농도는 12.6 ± 7.0 nmol/L와 398.2 ± 173.5 pmol/L였으며, 엽산 결핍 비율은 26%로 나타났다.

엽산 보충 후 혈청 호모시스테인 농도는 8.7 ± 2.0 μmol/L로 유의적으로 감소하였으며 (p < 0.001), 고호모시스테인혈증의 비율도 2%로 감소하였다. 혈청 엽산과 비타민 B<sub>12</sub> 농도는 엽산 보충 후 각각 23.2 ± 7.7 nmol/L와 530.8 ± 213.5 pmol/L로 유의적으로 증가하였다 (p < 0.001). 또한 엽산 보충 후 엽산 결핍으로 나타난 불임 여성은 없었다.

### 4. MTHFR 유전자형에 따른 엽산 보충의 효과

#### 1) 혈청 호모시스테인 및 비타민 B 농도 변화

연구 대상자의 혈중 호모시스테인 농도와 비타민 B 농도를 MTHFR 유전자형에 따라 비교 분석한 결과는 Table 4에 제시하였다. 엽산 보충 전에는 혈청 호모시스테인 농도 및 혈청 비타민 B 농도가 MTHFR 유전자형에 따라 유의적인 차이가 없었으나, 엽산 보충 후에는 C/C, C/T 및 T/T 유전자형의 혈청 호모시스테인 농도가 각각 7.5 ± 1.2 μmol/L, 9.2 ± 1.5 μmol/L, 8.9 ± 3.2 μmol/L로 C/T와 T/T형이 C/C형을 가진 불임 여성에 비해 유의적으로 높게 나타났다 (p < 0.05). 엽산 보충 후에는 세 군 모두 엽산 보충 전에 비해 혈청 호모시스테인 수준이 유의적으로 낮아졌다 (p < 0.001).

또한 불임 여성의 혈청 엽산 농도는 엽산 보충 후 C/C, C/T 및 T/T형이 각각 27.0 ± 7.8 nmol/L, 23.4 ± 6.6 nmol/L, 19.0 ± 8.8 nmol/L으로 유의적인 차이를 보였으며 (p < 0.05), 각 군에서 보충 전보다 보충 후 혈청 엽산 농도가 유

**Table 2.** Daily nutrient intake of the infertile women

	All n = 50	MTHFR genotypes		
		C/C n = 11	C/T n = 28	T/T n = 11
Energy (kcal)	1583.1 ± 415.8 <sup>3)</sup> ( 79.2 ± 29.8) <sup>5)</sup>	1645.5 ± 386.4 ( 82.3 ± 19.3)	1541.0 ± 411.7 ( 77.1 ± 20.6)	1429.5 ± 367.3 ( 71.5 ± 18.4)
Carbohydrate (g)	241.7 ± 68.1	247.8 ± 35.1	252.3 ± 76.8	208.8 ± 63.2
Protein (g)	63.5 ± 22.6 (115.4 ± 41.1)	76.3 ± 25.4 (138.8 ± 46.1)	58.1 ± 18.5 (105.6 ± 33.6)	64.4 ± 25.9 (117.2 ± 47.1)
Fat (g)	36.9 ± 20.8	38.3 ± 14.6	34.2 ± 13.1	38.5 ± 13.5
Calcium (mg) <sup>† 1) § 2)</sup>	474.9 ± 199.3 ( 67.95 ± 28.5)	558.4 ± 209.4 <sup>4)</sup> ( 79.8 ± 32.2) <sup>o</sup>	419.7 ± 176.8 <sup>b</sup> ( 60.0 ± 25.3) <sup>b</sup>	502.1 ± 171.4 <sup>ab</sup> ( 71.7 ± 24.5) <sup>ab</sup>
Iron (mg)	13.1 ± 3.8 ( 81.9 ± 23.9)	13.1 ± 2.8 ( 81.7 ± 17.3)	13.6 ± 4.6 ( 85.2 ± 28.6)	11.8 ± 2.2 ( 73.6 ± 14.0)
Zinc (mg) <sup>† §</sup>	8.2 ± 3.4 ( 81.6 ± 33.7)	9.5 ± 5.1 <sup>o</sup> ( 95.7 ± 50.6) <sup>o</sup>	7.6 ± 2.6 <sup>b</sup> ( 76.1 ± 25.7) <sup>b</sup>	7.2 ± 2.2 <sup>b</sup> ( 72.5 ± 21.9) <sup>b</sup>
Vitamin A (μgRE)	785.3 ± 496.4 (112.2 ± 70.9)	943.7 ± 796.9 (134.8 ± 113.8)	766.8 ± 359.8 (109.5 ± 51.4)	674.0 ± 425.3 ( 96.3 ± 60.8)
Vitamin E (mga-TE)	11.4 ± 6.8 (114.5 ± 68.2)	11.4 ± 6.8 (114.0 ± 68.6)	11.9 ± 6.7 (119.0 ± 67.2)	10.4 ± 7.6 (103.6 ± 75.6)
Vitamin C (mg)	92.3 ± 54.5 (131.9 ± 77.9)	89.6 ± 64.9 (128.0 ± 92.7)	98.1 ± 51.6 (140.2 ± 73.7)	80.2 ± 54.0 (114.5 ± 77.1)
Vitamin B <sub>1</sub> (mg)	1.0 ± 0.4 (105.0 ± 37.3)	1.1 ± 0.3 (114.6 ± 32.1)	1.0 ± 0.4 (103.6 ± 38.0)	1.0 ± 0.4 ( 98.9 ± 42.0)
Niacin (mgNE)	14.1 ± 4.8 (108.1 ± 36.6)	15.3 ± 2.8 (117.8 ± 21.8)	13.5 ± 4.4 (103.8 ± 34.2)	14.2 ± 6.8 (109.5 ± 52.6)
Vitamin B <sub>2</sub> (mg)	1.0 ± 0.4 ( 79.4 ± 32.3)	1.2 ± 0.5 ( 96.9 ± 38.6)	0.9 ± 0.4 ( 74.3 ± 30.3)	0.9 ± 0.3 ( 75.0 ± 26.9)
Vitamin B <sub>6</sub> (mg)	2.0 ± 0.7 (139.3 ± 51.0)	2.0 ± 0.6 (140.9 ± 44.0)	1.9 ± 0.7 (136.7 ± 49.9)	2.0 ± 0.9 (144.2 ± 63.6)
Folic acid (μgDEF <sup>6)</sup> )	382.9 ± 160.4 (153.1 ± 64.2)	383.7 ± 177.7 (153.5 ± 91.1)	408.1 ± 168.5 (163.2 ± 67.4)	317.8 ± 107.1 (127.1 ± 42.8)
Vitamin B <sub>12</sub> (μg)	3.2 ± 3.2	3.9 ± 3.2	2.6 ± 2.4	4.0 ± 4.8

1) † : Significantly different at p &lt; 0.05 by ANOVA test

2) § : Significantly different of %RDA at p &lt; 0.05 by ANOVA test

3) Values are mean ± SD

4) abc: different superscript letter indicates the comparison with significant differences (p &lt; 0.05)

5) % of RDA

6) DEF: Dietary folic acid equivalent

**Table 3.** Serum B vitamin and homocysteine concentrations in infertile women before and after folate supplementation

	Folate supplementation	
	Pre	Post
Homocysteine (μmol/L)	12.6 ± 4.1 <sup>1)***2)</sup>	8.7 ± 2.0
FAD (nmol/L)	45.1 ± 12.7	47.7 ± 13.7
FMN (nmol/L)	22.4 ± 15.7	22.6 ± 16.5
Riboflavin (nmol/L)	13.9 ± 12.5	13.7 ± 10.4
PLP (nmol/L)	45.4 ± 37.8	48.4 ± 35.3
Folate (nmol/L)	12.6 ± 7.0 <sup>***</sup>	23.2 ± 7.7
Vitamin B <sub>12</sub> (pmol/L)	398.2 ± 173.5 <sup>***</sup>	530.8 ± 213.5

1) Values are mean ± SD

2) \*\*\*: Significantly different pre- and post- intervention at p &lt; 0.001 by paired t-test

의적으로 상승하였다 (p < 0.01, p < 0.001, p < 0.01).

## 2) 혈청 호모시스테인 수준에 대한 비타민 B의 영향력

불임여성의 혈청 비타민 B 수준이 혈청 호모시스테인 수준에 미치는 영향을 보기 위해 다중회귀분석을 실시한 결과,

그 영향은 MTHFR 유전자형과 엽산 보충여부에 따라 다르게 나타났으며 결과는 Table 5에 제시하였다.

엽산 보충 전 혈청 비타민 B 수준이 호모시스테인 수준에 미치는 영향을 살펴본 결과, 전체 불임 여성과 MTHFR 유전자형이 T/T형인 경우 혈청 엽산 수준만이 유의한 설명변수로 나타나, 혈청 엽산 수준이 증가할수록 혈청 호모시스테인 수준이 감소하는 관계를 보였다 (p < 0.05). 이는 MTHFR 유전자형이 T/T형인 경우에만 통계적으로 유의적이었으며 (p < 0.05), 혈청 호모시스테인 수준에 대한 혈청 비타민 B 수준의 통계적 설명력은 T/T형에서 75.2%로 C/C형 18.0%와 C/T형 13.7%에 비해 높게 나타났다. 엽산 보충 후 혈청 비타민 B 수준이 호모시스테인 수준에 미치는 영향을 살펴본 결과, 혈청 리보플라빈 (p < 0.05), 엽산 (p < 0.01), 비타민 B<sub>12</sub> 수준 (p < 0.05)이 유의한 설명변수로 나타났다. MTHFR 유전자형이 T/T형인 경우에만 혈청 엽산 수준이 유의한 설명변수로 나타났다 (p < 0.05). 전체 불

**Table 4.** Serum B vitamin and homocysteine concentrations in infertile women before and after folate supplementation by the MTHFR genotype

	MTHFR genotypes										Significant factor	
	C/C (n = 11)		C/T (n = 28)				T/T (n = 11)				Pre	Post
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post				
Homocysteine ( $\mu\text{mol/L}$ )	12.1 $\pm$ 3.4 <sup>1)***2)</sup>	7.5 $\pm$ 1.2 <sup>4)</sup>	12.7 $\pm$ 4.7***	9.2 $\pm$ 1.5 <sup>o</sup>	13.0 $\pm$ 3.0***	8.9 $\pm$ 3.2 <sup>b</sup>	-	A <sup>3)</sup>				
FAD (nmol/L)	44.3 $\pm$ 6.6	44.2 $\pm$ 16.5	47.1 $\pm$ 15.9	49.5 $\pm$ 13.6	40.8 $\pm$ 6.0	46.9 $\pm$ 11.1	-	-				
FMN (nmol/L)	28.0 $\pm$ 21.2	26.0 $\pm$ 20.4	20.2 $\pm$ 11.6	20.7 $\pm$ 13.6	22.7 $\pm$ 18.3	24.2 $\pm$ 19.9	-	-				
Riboflavin (nmol/L)	11.6 $\pm$ 9.9	14.9 $\pm$ 11.0	14.3 $\pm$ 12.3	14.1 $\pm$ 11.2	15.1 $\pm$ 15.8	11.6 $\pm$ 7.8	-	-				
PLP (nmol/L)	51.8 $\pm$ 48.2	32.3 $\pm$ 17.1	41.7 $\pm$ 37.8*	55.8 $\pm$ 42.8	48.3 $\pm$ 26.7	45.7 $\pm$ 21.6	-	-				
Folate (nmol/L)	15.0 $\pm$ 9.5**	27.0 $\pm$ 7.8 <sup>a</sup>	12.7 $\pm$ 5.0***	23.4 $\pm$ 6.6 <sup>ob</sup>	9.7 $\pm$ 8.1**	19.0 $\pm$ 8.8 <sup>b</sup>	-	A				
Vitamin B <sub>12</sub> (pmol/L)	417.6 $\pm$ 171.6*	535.9 $\pm$ 288.7	387.8 $\pm$ 174.7**	533.8 $\pm$ 210.3	405.2 $\pm$ 186.8	517.8 $\pm$ 143.1	-	-				

1) Values are mean  $\pm$  SD

2) Significantly different between pre- and post- intervention by paired t-test (\*: p < 0.05, \*\*: p < 0.01, \*\*\*: p < 0.001)

3) A: Significantly different according to MTHFR genotype at p < 0.05 by ANOVA test

4) Values with a different superscript letter indicate the comparison with significant differences (p < 0.05)

**Table 5.** Coefficient from multiple regression analysis between serum homocysteine and B vitamin concentrations in infertile women according to their MTHFR genotypes

	All n = 50			MTHFR genotypes								
				C/C n = 11			C/T n = 28			T/T n = 11		
	B	SE (b)	t	B	SE (b)	t	B	SE (b)	t	B	SE (b)	t
Presupplementation												
Riboflavin	-0.01 <sup>1)</sup>	0.04	-0.25	0.05	0.16	0.29	-0.03	0.06	-0.41	0.02	0.05	0.36
Folate	-0.17 <sup>*3)</sup>	0.06	-2.69	-0.10	0.23	-0.43	-0.17	0.19	-0.91	-0.24*	0.08	-2.83
Vitamin B <sub>12</sub>	-0.05	0.09	-0.62	0.44	0.73	0.60	-0.03	0.12	-0.28	-0.08	0.14	-0.58
R <sup>2</sup> of model	22.5% <sup>2)</sup>			18.0%			13.7%			75.2%*		
Postsupplementation												
Riboflavin	-0.11*	0.03	-3.36	-0.10	0.11	-0.97	-0.06	0.04	-1.57	0.04	0.09	0.40
Folate	-0.38**	0.10	-3.87	0.02	0.44	0.04	-0.23	0.14	-1.61	-0.76*	0.21	-3.69
Vitamin B <sub>12</sub>	-0.14*	0.06	-2.36	0.01	0.17	0.04	-0.14	0.07	-1.89	-0.03	0.12	-0.23
R <sup>2</sup> of model	55.0%**			25.3%			46.0%*			91.5%*		

1) Multiple regression coefficient

2) R<sup>2</sup> of model, the percentage of variation in serum homocysteine explained by the biochemical indexes

3) \*: p < 0.05, \*\*: p < 0.01

임여성 (p < 0.01)과 MTHFR 유전자형이 C/T와 T/T형 (p < 0.05)인 경우에 통계적으로 유의적이었으며, 이들의 혈청 호모시스테인 수준에 대한 혈청 비타민 B군의 통계적 설명력은 T/T형에서 91.5%로 C/C형 25.3%와 C/T형 46.0%에 비해 높게 나타났다.

## 고찰

불임여성의 MTHFR 유전자형과 엽산 및 비타민 B 수준을 분석하여 엽산 보충 중재가 혈청 호모시스테인 수준에 어떠한 영향을 미치는 지를 알아본 결과, 엽산 보충 후 혈청 엽산, 비타민 B<sub>12</sub> 수준은 엽산 보충 전 수준에 비해 유의적으로 높아졌고, 혈청 호모시스테인 수준은 유의적으로 낮아

졌다. 본 연구 결과 엽산 보충 중재 전 전체 불임 여성 중 고호모시스테인혈증으로 판정된 사람은 16.0%였으며, 엽산 보충 중재 후 2%로 감소되었다. 본 연구 대상 불임 여성의 고호모시스테인혈증 비율은 불임 여성을 대상으로 이루어졌던 여러 연구들<sup>24-27)</sup>에서 나타난 고호모시스테인혈증의 비율과 비슷하며 이들은 불임 여성의 고호모시스테인혈증 비율이 정상 가임기 여성에 비해 유의적으로 높다고 보고하였다. 엽산 보충 전 혈청 호모시스테인 수준은 MTHFR 유전자형에 따라 유의적인 차이가 없었고, 엽산 보충 후에는 세 군의 혈청 호모시스테인 수준이 유의적으로 낮아졌음에도 불구하고 MTHFR 유전자의 C677T 이형접합성 돌연변이 (C/T)와 동형접합성 돌연변이 (T/T)가 있는 경우 C/C형에 비해 혈청 호모시스테인 수준이 유의적으로 높게 나타

났다. 혈중 엽산 수준도 엽산 보충 중재 후 C/C형과 C/T형에 비해 T/T형이 유의적으로 낮았다. 즉, T/T형의 경우 엽산 보충으로 C/C형만큼 혈중 엽산 수준이 높아지지 않았다. 혈청 엽산 수준은 엽산 섭취량이 가임기 여성 권장량보다 높음에도 불구하고 T/T형의 경우 C/C형과 C/T형에 비해 혈중 엽산 수준이 결핍으로 나타난 비율이 유의적으로 높았으며, 엽산 보충 중재 후 혈중 엽산 수준이 결핍으로 나타난 불임 여성은 없었다. 본 연구의 엽산 보충 중재 전 MTHFR 유전자형에 따른 호모시스테인 수준에 차이를 보이지 않는 결과는 MTHFR 유전자형과 호모시스테인 수준과의 관계에서 T/T형의 혈청 호모시스테인 수준이 C/C형에 비해 높다는 Jacques 등<sup>28)</sup>과 Gudnason 등<sup>29)</sup>의 연구 결과와 차이를 보였다. 이는 Kim 등<sup>30)</sup>의 연구에서 T/T형의 유전자형을 가지고 있다고 하더라도 엽산의 섭취량이 높을 경우 C/C형과 C/T형의 혈청 호모시스테인 수준과 차이를 보이지 않는다고 보고하였고, 본 연구 대상자들의 엽산 섭취량이 가임기 여성 권장량의 153.1%를 섭취하고 있기 때문으로 사료된다.

본 연구 결과, 엽산 보충 중재 후 엽산과 비타민 B<sub>12</sub> 영양상태 외에 리보플라빈 역시 MTHFR 유전자형과의 상호작용에 의해 혈청 호모시스테인 수준에 영향을 주는 것으로 나타났다. 불임 여성의 혈청 리보플라빈 수준은 혈청 호모시스테인 수준과 음의 상관관계를 나타냈으며, 이는 MTHFR 유전자형이 T/T형일 경우 가장 크게 나타났다. 최근 Sutterlin 등,<sup>31)</sup> Lussier-Cacan 등,<sup>32)</sup> Skoupy 등<sup>33)</sup>이 비타민 B<sub>2</sub>와 호모시스테인 수준 간에 음의 상관관계가 있다고 보고하여, 비타민 B<sub>2</sub>가 호모시스테인 수준을 결정하는 독립적인 인자로 밝혀졌다.

본 연구 결과 불임 여성의 평균 열량 섭취량이 가임기 여성 열량 권장량에 비해 상당히 낮았으며, 에너지 권장량의 75% 미만을 섭취하는 비율도 전체 불임 여성의 46.0%나 되었다. 비타민 B<sub>2</sub>, 비타민 B<sub>6</sub>, 엽산의 식품 섭취량과 영양보충제 복용량을 합한 비타민 B<sub>2</sub>, 비타민 B<sub>6</sub>의 섭취량은 권장량의 79.4%, 139.3%였고, 비타민 B<sub>2</sub>의 경우 50.0%가 권장량의 75% 미만을 섭취하는 것으로 나타났다. 또한 이들의 식습관 역시 우리 나라 사람들의 엽산 급원 식품인 야채와 과일류의 섭취비율이 적게 나타났다. 한편 Oh<sup>16)</sup>와 Lim<sup>17)</sup>의 불임 여성과 정상 가임 여성의 엽산 섭취 수준을 비교한 결과에서 불임 여성의 엽산 섭취량이 각각 378.0 µg과 375.7 µg으로 나타나 본 연구의 불임 여성의 엽산 섭취 수준과 비슷한 수준을 나타내었다. 본 연구 결과에서 나타난 불임 여성의 전반적인 식사 섭취량 부족은 비타민 B군과 같은 미량 영양소의 섭취 부족으로 이어져 혈중 수준에 까지 영향을 미칠 수 있으며, 이들 비타민 B 영양상태는 혈청 호모시스

테인 수준과 밀접한 관련이 있으므로 혈청 호모시스테인 수준을 높이는 원인이 될 수 있다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때, 불임 여성의 엽산 보충은 엽산과 비타민 B<sub>12</sub> 수준을 향상 시키고, 고호모시스테인혈증의 위험을 감소시키는 것으로 나타났고, 이런 효과는 MTHFR 유전자형에 따라 다르게 나타났다. T/T형에서 혈청 엽산과 호모시스테인 수준과의 관련성이 가장 크게 나타났음에도 불구하고, 혈청 호모시스테인 수준에 대한 엽산 보충의 효과가 C/C형과 C/T형에 비해 적게 나타났다. 따라서 MTHFR 유전자형 변이를 가진 집단의 적절한 엽산 보충에 대한 연구가 더욱 진행되어야 할 것이다.

## 요약 및 결론

이상의 연구 결과들을 요약하면, 불임 여성의 호모시스테인 수준은 MTHFR 유전자형과 비타민 B<sub>2</sub>, 비타민 B<sub>6</sub>, 엽산, 비타민 B<sub>12</sub> 영양상태에 영향을 받는 것으로 나타났다. 또한 엽산 보충 중재에 따른 호모시스테인 수준이 유의적으로 호전되었으며, 혈청 엽산 및 비타민 B<sub>12</sub> 수준에도 변화를 나타내었다. 이러한 영향은 불임 여성의 MTHFR 유전자형에 따라 다르게 나타났으며, 비타민 B군의 혈중 수준이 높을 수록 MTHFR의 유전적 결함이 있는 경우라고 하더라도 혈중 호모시스테인 수준이 낮게 나타나 고호모시스테인혈증으로 인한 위험을 예방할 수 있는 것으로 나타났다. 그러나 본 연구에서는 대상자들의 비타민 식이 섭취량이 엽산 보충 중재 전과 후의 혈중 수준에 직접적으로 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 이는 식품 중 비타민 함량에 관한 데이터 베이스의 부족과 더불어 대상자들의 엽산 보충 중재 전 하루의 24시간 회상법을 통한 섭취량 조사로 일상적인 비타민 섭취량을 분석하였기 때문으로 사료된다. 또한 엽산 보충 중재 전과 후 모두 식품 섭취량 조사를 실시했다면, 엽산 보충 중재 후의 혈중 수준들이 단순히 엽산 보충제에 의한 효과인지 식이 섭취량 증가에 의한 효과도 포함되어 있는지를 밝힐 수 있었을 것으로 사료된다.

본 연구 결과는 불임 여성을 대상으로 하여 MTHFR 유전자형과 비타민 B군의 보충을 통한 상호작용이 혈청 호모시스테인 수준에 미치는 영향을 동시에 살펴본 첫 번째 연구라는 점에서 의의가 있다. 그러나 좀 더 많은 수의 불임 여성을 대상으로 연구한다면 불임 여성의 비타민 B 영양상태가 유전적인 요인과의 상호작용을 통해 혈청 호모시스테인 수준에 미치는 영향과 엽산과 같은 비타민 B군의 보충을 통해 혈중 호모시스테인 대사에 영향을 미치는 다양한 효소의 유전자형 변이를 함께 분석하여 호모시스테인과 불

임의 관련성을 좀 더 확실히 규명할 수 있을 것으로 생각된다.

Literature cited

- 1) Woods NF, Fogel CI. Health Care of Woman: A Nursing Perspective St. Louis: *The CV Mosby Company*, pp.257-283, 1981
- 2) Korea Institute for Health and Social Affairs. Government responses in pursuit of population policy: Preparing for low fertility. *Policy Paper* 193: 2001-2013, 2003
- 3) Burke G, Robinson K, Refsum H, Stuart B, Drumm J, Graham I. Intrauterine growth retardation, perinatal death, and maternal homocysteine levels. *N Engl J Med* 326: 69-70, 1992
- 4) Vollset SE, Refsum H, Irgens LM, Emblem BM, Tverdal A, Gjessing HK, Monsen ALB, Ueland PM. Plasma total homocysteine, pregnancy complications and adverse pregnancy outcomes: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr* 71: 962-968, 2000
- 5) Mill JL, McPartlin JM, Kirke PN. Homocysteine metabolism in pregnancies complicated by neural tube defects. *Lancet* 345: 149-151, 1995
- 6) Rosenquist TH, Ratashak SA, Selhub J. Homocysteine induces congenital defects of the heart and neural tube: effect of folic acid. *Pro Natl Acad Sci USA* 93: 15227-15232, 1995
- 7) Wouters MG, Boers GH, Blom HJ, Trijbels FJ, Thomas CM, Borm GF, Steegers-Theunissen RP, Eskes TK. Hyperhomocysteinemia: a risk factor in women with unexplained recurrent early pregnancy loss. *Fertil Steril* 60: 820-825, 1993
- 8) Goddijn-Wessel TAW, Wouters MG, Molen EF, Spuijbroek M, Blom HJ, Boers G, Eskes TKAB. Hyperhomocysteinemia: a risk factor for placental abruption or infarction. *Eur J Obstet Gynecol* 66: 23-29, 1996
- 9) Nelen WLD, Blom HJ, Thomas CMG, Steegers EAP, Boers GHJ, Eskes TKAB. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism affects the change in homocysteine and folate concentrations resulting from low dose folic acid supplementation in women with unexplained recurrent miscarriages. *J Nutr* 128: 1336-1341, 1998
- 10) Owen EP, Human L, Carolissen AA, Harley EH, Odndaal HJ. Hyperhomocysteinemia-A risk factor for abruptio placentae. *J Inher Metab Dis* 20: 369-362, 1997
- 11) Power RW, Minich LA, Lykins DL, Ness RB, Cromblenholme WR, Roberts JM. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, folate, and susceptibility to preeclampsia. *J Soc Gynecol Invest* 6: 74-79, 1999
- 12) Mason JB. Biomarkers of nutrient exposure and status in one-carbon (Methyl) metabolism. *J Nutr* 133: 941S-947S, 2003
- 13) Shils ME, Olson JA, Shike M, Ross AC. Choline and phosphatidylcholine. In: *Modern Nutrition in Health and Disease*, 9th Ed. *Williams & Wilkins, Baltimore, MD*, p.514, 1998
- 14) Kang SS, Wong PWK, Cook HY, Norusis M, Messer JV. Protein-bound homocyst (e)ine. *J Clin Invest* 77: 1482-1286, 1986
- 15) Ueland PM, Hustad S, Schneede J, Refsum H, Vollset SE. Biological and clinical implications of the MTHFR C677T polymorphism. *Trends in Pharmacol Sci* 22: 195-201, 2002
- 16) Oh JS, Jung HJ, Kwon HC, Pack WI, Koong MK, Kim WY. Dietary behavior of infertile women in Korea. *Kor J Fertil Steril* 30(4) : 341-350, 2003
- 17) Lim MY, Nam YS, Kim SS, Chang NS. Vitamin B status and serum homocysteine levels in infertile women. *Kor J Nutr* 37(2) : 115-122, 2004
- 18) Park KS, Podskarbi T, Yoo EA, Shin YS. The C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene in Koreans. *Korean J Genetics* 20(1) : 23-28, 1998
- 19) Kim NK, Kang GD, Kim HJ, Kim JH, Nam YS, Lee S, Chung HM, Kang SH, Ahn JY, Choi BO, Hwang SG, Oh D. Genetic polymorphism of 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T and A1298C in healthy. *Korean J Genetics* 24(2) : 227-234, 2002
- 20) Nam YS, Choi JS, Ha KS, Lee JW, Oh DY. The analysis of interrelationship between homocysteine and methylenetetrahydrofolate reductase mutation in patients with recurrent spontaneous abortion. *Kor Soc Fertil Steril* 29(3) : 1-9, 2003
- 21) Capo-Chichi CD, Gueant JL, Lefebvre E, Bennani N, Lorentz E, Vidailhet C, Vidailhet M. Riboflavin and riboflavin-derived cofactors in adolescent girls with anorexia nervosa. *Am J Clin Nutr* 69: 672-678, 1999
- 22) Araki A, Sako Y. Determination of free and total homocysteine in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chromato* 422: 43-52, 1987
- 23) Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard C, Matthews R, Boers GJ, den Heijer M, Kluijtmans LA, van den Heuvel LP, Rozen RA. Candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 10: 111-113, 1995
- 24) Wouters MG, Boers GH, Blom HJ, Trijbels FJ, Thomas CM, Borm GF, Steegers-Theunissen RP, Eskes TK. Hyperhomocysteinemia: a risk factor in women with unexplained recurrent early pregnancy loss. *Fertil Steril* 60: 820-825, 1993
- 25) Van der Molen EF, Nelen WLD, Heil SG, Eskes TKA, Blom HJ. The mutation 677C→T of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene as a possible risk factor for placental vasculopathy. *Neth J Med* 52: 28, 1998
- 26) Quere I, Bellet H, Hoffer M, Janbon C, Mares P, Gris JC. A woman with five consecutive fetal deaths: case report and retrospective analysis of hyperhomocysteinemia prevalence in 100 consecutive women with recurrent miscarriages. *Fertil Steril* 69(1) : 152-154, 1998
- 27) Kupfermine MJ, Eldor A, Steinman N, Many A, Bar-Am A, Jaffa A, Faith G, Lessing JB. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med* 340: 9-13, 1999
- 28) Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison C, Eckfeldt JH, Rosenberg IH, Selhub J, Rozen R. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* 93: 7-9, 1996
- 29) Gudnason V, Stansble D, Scott J, Browron A, Nicaud V, Humphries S. C677T (thermolabile alanine/valine) polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): Its frequency and impact on plasma homocysteine concentration in different Euro-

- pean population. *Atherosclerosis* 136: 347-354, 1998
- 30) Kim KN, Kim YJ, Chang N. The interaction of the 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism with folate and vitamin B<sub>12</sub> intakes and serum homocysteine concentrations in pregnant women. *Kor J Nutr* 35(10): 1045-1052, 2002
- 31) Sutterlin M, Bussen S, Ruppert D, Steck T. Serum levels of folate and cobalamin in women with recurrent spontaneous abortion. *Human Reproduction* 12(10): 2292-2296, 1997
- 32) Lussier-Cacan S, Xhignesse M, Piolot A, Selhub J, Davignon J, Genest J Jr. Plasma total homocysteine in healthy subjects: sex-specific relation with biological traits. *Am J Clin Nutr* 64: 587-594, 1996
- 33) Skoupy S, Fodinger M, Veitl M, Perschl A, Puttinger H, Rohrer C, Schindler K, Vychytil A, Horl WH, Sunder-Plassmann G. Riboflavin is a determinant of total homocysteine plasma concentrations in end-stage renal disease patients. *J Am Soc Nephrol* 13: 1331-1337, 2002