

## 황반원공 환자에서 유리체내 ascorbic acid 농도

진 회 승 · 권 오 웅

= 요약 =

사람의 방수에는 혈청보다 훨씬 높은 농도의 ascorbic acid가 존재하며 방수내 ascorbic acid는 항산화제로 작용하여 유해한 free radical로부터 안조직을 보호하고 자외선을 흡수하는 것으로 알려져 있다. 안구내 대부분을 차지하는 유리체에도 ascorbic acid가 높은 농도로 존재하며 사람에서는 특히 더 높게 유지되는 것으로 알려져 있으나 그것의 역할이나 질병과의 관계는 거의 알려진 바가 없다. 이에 저자는 7명의 황반원공 환자에서 혈청, 방수 및 유리체를 채취하여 high performance liquid chromatography 방법으로 ascorbic acid 농도를 측정 하였다. 실험결과 혈청의 ascorbic acid 농도는 평균  $24.1 \pm 13.7 \mu\text{g/ml}$ 이었고, 방수내의 ascorbic acid 농도는 평균  $144.0 \pm 34.9 \mu\text{g/ml}$ , 유리체내의 농도는 평균  $110.2 \pm 34.6 \mu\text{g/ml}$  이었다. 이는 안구내 ascorbic acid 농도가 혈청의 약 5~6배로 정상인 보다 훨씬 낮은 것으로 나타났으며 특히 유리체의 ascorbic acid 농도의 감소가 두드러졌다. 이상의 결과에서 황반원공 환자에서 유리체내 ascorbic acid가 정상보다 낮음을 알 수 있었다 (한안지 37:491~495, 1996).

= Abstract =

### The Concentration of Ascorbic acid in Vitreous of Macular Hole Patients

Hee-Seung Chin, M.D., Oh-Weong Kwon, M.D.

The concentration of ascorbic acid in human aqueous is greater than that of blood. The function of ascorbic acid in aqueous humor is an antioxidant which contributes in absorption of ultraviolet and protection of ocular tissue from free radical damage. Ascorbic acid is also found in vitreous and the concentration is very high in human. However the function is yet not verified. The purpose of this study is to measure the ascorbic acid concentration of vitreous in macular

<접수일 : 1995년 12월 12일, 심사통과일 : 1996년 3월 7일>

연세대학교 의과대학 안과학교실, 시기능 개발연구소

Department of Ophthalmology, Severance Hospital, College of Medicine, Yonsei University, Seoul, Korea  
Institute of Vision Research

본 논문의 요지는 1995년 4월 21일 제 74회 대한안과학회 춘계 학술대회에서 구연 발표되었음

hole patients. Seven patients who underwent trans pars plana vitrectomy for macular hole were selected and small amount of serum, aqueous humor and vitreous were taken. The concentration of ascorbic acid was measured from serum, aqueous humor and vitreous by high performance liquid chromatography. The average concentrations of ascorbic acid were  $24.1 \pm 13.7 \mu\text{g}/\text{ml}$  in serum,  $144.0 \pm 34.5 \mu\text{g}/\text{ml}$  in aqueous humor and  $110.2 \pm 34.6 \mu\text{g}/\text{ml}$  in vitreous. The concentration of ascorbic acid in vitreous was 5~6 times higher than in serum but slightly lower than in aqueous humor. In conclusion the ascorbic acid concentration of vitreous in macular hole patients was lower than normals (J Korean Ophthalmol Soc 37:491~495, 1996).

**Key Words :** Ascorbic acid, Macular hole, Vitreous

Ascorbic acid 는 체내에서 쉽게 dehydroascorbic acid로 산화되어 강력한 환원제로 역할을 하며 신체내에서 각종 반응에 필수적인 역할을 한다. 또한 우리의 눈에서도 ascorbic acid는 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 정상인에서 안구내의 방수와 유리체에는 혈중농도에 비해 훨씬 높은 농도의 ascorbic acid가 존재하는 것으로 알려져있으며 보고자에 따라 그 범위가 다양하여 방수에는 혈중농도보다 10~69배 까지 높은 농도로 존재한다고 알려져있다<sup>1,2,3</sup>. 이처럼 안구 내에 높은 농도로 존재하는 ascorbic acid의 역할은 항산화제로 작용하여 유해한 free radical로부터 안조직을 보호하고 자외선을 흡수하며<sup>4,5</sup> 염증반응을 감소시키는 것으로<sup>6</sup>, 실제로 백내장이나 녹내장 환자에서 안구내 ascorbic acid의 감소를 관찰한 많은 보고들이 있었다<sup>7,8,9,10</sup>. 황반원공은 아직 그 원인이 정확히 밝혀져있지는 않지만 유리체-망막의 견인이 주요인으로 생각되며<sup>11</sup> 그외에도 호르몬, 외상, 고도근시, 망막혈관의 변화, 광선 등 많은 요인이 관여하는 것으로 추정된다<sup>12,13,14</sup>. 아직까지 사람의 유리체내에서의 ascorbic acid에 관한 연구는 별로 없으며 특히 망막 질환과 유리체내의 ascorbic acid 농도의 연구는 전무하다고 할 수 있다. 이에 저자들은 황반원공 환자에서 혈청, 방수 및 유리체내의 ascorbic acid의 농도를 측정하여 황반원공과 유리체내의 ascorbic acid와의 관계에 대해 알아보하고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

1994년 4월부터 1994년 12월 까지 연세대학교

의과대학 세브란스병원에 내원하여 황반원공으로 진단받고 유리체 절제술을 시행받은 환자 7명을 대상으로 각 환자에서 초자체 절제술을 시행하기 직전에 혈청, 방수 및 유리체를 채취하였다.

### 2. 방법

#### 가. 재료의 채취

혈액, 방수 및 초자체를 수술실에서 유리체 절제술을 위한 주입관을 삽입하기 직전에 채취하였다. 혈액은 약 5ml를 채취하여 3000rpm에서 10분간 원심 분리하여 혈청을 분리했다. 방수는 28G 주사침을 이용하여 약 0.1~0.2ml를 채취했으며 유리체는 18G 주사침을 이용하여 약 0.2~0.3ml를 채취하였다.

#### 나. 재료의 보관

채취한 재료는 모두 각 재료의 양과 동량의 10% metaphosphoric acid를 혼합하여 ascorbic acid를 고정시키고 자외선으로부터 보호하기 위해 은박지로 용기를 싼 후 -70℃ 냉동실에 보관하였다.

#### 다. 재료의 분석

##### (1) 측정 기기

Ascorbic acid 농도는 High performance liquid chromatography (HPLC, Waters Associates, USA) 기기로 측정하였다. 펌프는 M-6000 A, 시료 주입기는 M-U6K universal injector, 검출기는 Series 440 absorbance detector, 기록기는 M730 data module을 사용하였다. UV 검출기 파장은 245nm로 하였고, 감도는 0.02aufs로 고정하였다. 이동상의 속도는 1ml/min, 기록 용지의 속도는 0.5cm/min로 하였다.

(2) Ascorbic acid의 분석법

생화학적으로 활성인 L-ascorbic acid만을 측정하였다.

이동상(mobile phase)은 0.8% trimetaphosphoric acid를 사용하였으며, 정지상(stationary phase)은 u-Bondapak C18 column(Waters Associates, USA)을 사용하였다. 표준시료는 L-ascorbic acid(Sigma, St. Louse, MO, USA)를 10% trimetaphosphoric acid에 1.4mg/10ml로 녹인후 14µg/ml로 희석하여 사용하였다.

결 과

대상환자 7명의 연령은 26세 부터 59세까지로 평균 40세였으며 남자가 3명, 여자가 4명이었다.(Table). 이들의 혈청내의 ascorbic acid 농도는 최저 9.1µg/ml에서 최고 50.3µg/ml로 평균 24.1±11이였으며 이는 정상인의 혈청농도와 비슷하였다. 방수내 ascorbic acid 농도는 최저 98.9µg/ml에서 최고 184.5µg/ml로 평균 144.0±34.5µg/ml로 혈청농도의 약 6배로 나타났으며 이는 정상인에서 10배이상 높게 유지되는 것에비해 크게 감소되어있었다. 유리체내의 ascorbic acid 농도는 58.2µg/ml까지로 평균 110.2±34.6µg/ml으로 혈청의 약 4.6 배 높은것으로 나타나서 정상인에 비해 크게 감소되어 있었다. 7명의 환자에서 혈청의 ascorbic acid 농도와 방수 및 유리체의 ascorbic acid 농도는 통계학적으로 서로 상관관계를 갖지 못하는 것으로 나타났으나(Spearman's rank correlation, p>0.5) 방수내의 농도와 유리체내의 농도 사이에는 일정한

상관관계를 갖는 것으로 나타났다(Spearman's rank correlation, p<0.05)(Fig.).

Fig. 혈청과 방수의 ascorbic acid농도

고 찰

Ascorbic acid는 포도당과 비슷한 화학적 구조를 갖는 6탄 화합물로서 좌선상 이성체(L-form)만이 활성물질로서 신체내에서 비타민C로서 역할을 하게 된다. Ascorbic acid는 생체내에서 쉽게 dehydroascorbic acid로 산화되면서 강력한 환원제로서의 기능을 하게된다. 우리의 몸속에서 ascorbic acid는 많은 역할을 하는 것으로 알려져 있는데, collagen 합성, 부신피질에서 corticosteroid의 합성, follic acid의 변환, microsome의 약물대사, tyrosine의 대사, 철 및 구리의 환원 등 각종 신체 반응에 관여하는 것으로 알려져있다. 안구내에서도 ascorbic acid는 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 자외선 등에 의해서 생기는 안구내 free radical을 중화해주며<sup>4,5)</sup> 염증반응시 다형핵 백혈구에서 나오는 peroxydase의 활동을 억제시켜 염증반응을 감소시키는 등 안조직의 보호에 아주 중요한 역할을 하는 것으로 알려져있다<sup>6)</sup>. 이처럼 안구조직 보호에 중요한 역할을하는 ascorbic acid의 안구내 농도는 혈중농도에비해 매우 높게 유지되는 것으로 알려져있는데 보고자에따라 그 범위가 매우 다양하여 혈중농도의 10~69배까지 높게 존재한다고 알려져 있다<sup>1,2,3,15)</sup>. 이처럼 안구내에 높은 농도로 유지되는 기전은 모양체 및 망막상피세포의 능동적 수송에서 기인하는 것으로 알려져있다<sup>16,17,18)</sup>. 그러나 모든 동물에서 다 높은 농도로 존재하는 것이 아니고 주

Table. 혈청, 방수 및 초자체내의 ascorbic acid농도 (µg/ml)

환자(성별/나이)	혈청	방수	초자체
1. 남/50	13.2	105.5	91.2
2. 여/26	9.1	184.5	154.5
3. 남/62	16.8	130.9	81.9
4. 남/59	27.9	98.9	58.2
5. 여/41	50.3	142.9	124.6
6. 여/58	22.9	163.2	118.1
7. 여/49	28.7	182.1	143.2
평균	24.1±13.7	144.0±34.4	110.2±34.6

행성 동물에는 안구내에 매우 높은 농도로 존재하지만 야행성 동물에서는 혈중농도와 비슷하게 존재하는 것으로 알려져있어<sup>5)</sup> 안구내의 ascorbic acid가 광선으로부터 안조직을 보호하는데 매우 중요한 역할을 한다는 사실을 뒷받침해주고 있다. 안구내, 특히 방수의 ascorbic acid의 역할에 대해서는 많은 연구가 진행되고있고 여러 질환과 관련이 있을 것으로 생각된다. 동물실험에서 ascorbic acid가 광선에 의한 안조직 손상을 막을 수 있다고하며 ascorbic acid를 주사후에 강렬한 빛에 노출시킨 쥐에 있어서는 망막에서의 ascorbic acid의 농도가 높아지고 rhodopsin의 손실이 ascorbic acid를 주사받지 않은 쥐에 비하여 적었다는 보고도 있다<sup>19)</sup>. 따라서 안구내의 ascorbic acid가 감소하게되면 항산화제의 기능이 저하되어 광선에 의한 free radical이 증가하고 안구내 염증반응이 활성화되어 안조직의 손상이 촉진된다. 실제로 백내장이나 녹내장 환자에서 안구내의 ascorbic acid의 농도가 감소되어 있는 것을 관찰한 많은 보고들이 있었다<sup>7,8,9,10)</sup>. 그러나 실제로 사람에서 방수나 유리체를 채취하는 일이 쉽지않기 때문에 사람의 안구내 ascorbic acid의 농도를 측정하는 연구는 그리 많지 않다. 1960년 Long이 발표한 바에 따르면 정상인에서 안구내 ascorbic acid의 농도는 방수에선 약 160 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 혈청의 16배, 유리체에선 360 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 혈청의 36배 정도나 높다고하였다<sup>16)</sup>. 황반원공의 원인은 아직 뚜렷이 밝혀져있지는 않지만 유리체-망막 전인이 주 요인으로 생각된다<sup>11)</sup>. 그러나 무엇이 유리체-망막 전인을 유발시키는지에 대해 확실히 알려져있지않으며 이외에도 호르몬, 고도근시, 외상, 망막혈관의 변화된 광선에 의한 손상 등이 한 원인이 될 수 있다는 주장들이 있다. 유리체의 화학적성분 변화가 유리체-망막 전인을 일으키는 데 관여할 것이라는 주장도 있으며 또 어떤 원인에서건 망막이 변성되어 쉽게 손상을 받게 변화하여 황반원공이 잘생길 수 있다는 주장도있다<sup>12,13,14)</sup>. 본 연구에 의하면 황반원공 환자에서 혈청의 ascorbic acid의 농도는 평균 24.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었으며 방수와 유리체의 ascorbic acid 농도는 각각 144.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 110.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 혈청의 농도에 비해 6배 및 5배 높은 것으로 나타났다. 이는 정상인에 비해 혈청의 농도는 정상인과 차이가 없었으나 안구내 ascorbic acid

농도는 많이 감소되어있음을 보여준다. 특히 방수보다 오히려 유리체내에서 더 낮은 경향을 나타내어 정상인과는 전혀 다른 양상을 나타냈다. 본 연구에서 환자2와 환자3에서처럼 혈중농도가 비교적 낮은 경우에서도 방수나 유리체내의 농도는 상대적으로 높게나타나기도 했으며 환자4나 환자5에서처럼 비교적 높은 혈중농도에도 불구하고 안구내의 농도는 상대적으로 낮은 경우도 있었다(Fig.). 즉 본 연구 대상 환자에서는 ascorbic acid의 혈중농도와 안구내 농도와는 특별한 상관관계가 없었으나(Spearman's rank correlation,  $p>0.05$ ), 안구내의 방수와 유리체의 ascorbic acid농도는 혈청의 농도와는 관계없이 서로 일정한 상관관계를 갖으며(Spearman's rank correlation,  $p<0.05$ ) 감소되어 있었다. 이처럼 정상적인 혈중 농도에도 불구하고 방수와 유리체내의 농도가 낮았던 것은 안구내의 ascorbic acid 농도의 감소가 전체적인 혈중농도의 감소에서 기인한 것이 아니라 안구내의 선택적 농동수송의 이상이나 기타 다른원인에의해서 선택적으로 안구내의 ascorbic acid의 농도만이 감소하였음을 나타낸다. 이처럼 낮은 유리체내 ascorbic acid는 망막의 손상을 촉진했을 것으로 생각되며 이는 유리체-망막 전인에 의해 쉽게 황반원공이 생기는데 기여했을 것으로 생각된다. 또한 유리체는 99%가 수분이고 1%는 hyaluronic acid와 collagen으로 구성되어있고, 유리체내의 ascorbic acid 농도의 감소는 이러한 유리체의 화학적 성분에 영향을 줄 것으로 생각되고 그것이 유리체 전인의 한 요인으로 작용할 수 있다고 생각된다. 물론 재료 채취의 어려움 등으로 연구 대상의 수가 많지않아 일반화시키기엔 어려움이 있으나 일곱 예 모두에서 유리체내의 ascorbic acid의 농도가 감소된 경향을 보여줌으로써 낮은 유리체내의 ascorbic acid 농도가 유리체 및 망막에 영향을 주어 황반원 공의 발생을 촉진했을 것으로 생각된다. 아직 무엇때문에 안구내 ascorbic acid의 농도가 감소했는지는 알 수 없고, 또 ascorbic acid 농도의 감소가 먼저인지 황반원공이 안구내 ascorbic acid 농도의 감소를 초래하였는지는 알 수 없다. 앞으로 이 부분에 대한 연구와 정상인에서의 유리체내 ascorbic acid 농도에 관한 연구가 더 진행되어야 할 것으로 생각된다.

## REFERENCES

- 1) Becker B : *Chemical composition of human aqueous humor. Arch Ophthalmol* 57:793-800, 1957.
- 2) Davson H : *The eye, 1st ed. London, Academic Press, 1962, pp83-94.*
- 3) Fox RR, Lam KW, Lewen R, Lee PF : *Ascorbate concentration in tissues from normal and buphthalmic rabbits. J Heredity* 73: 109-111, 1982.
- 4) Varma SD, Kumar S, Richards RD : *Light-induced damage to ocular lens cation pump: prevention by vitamin C. Proc Natl Acad Sci* 76:3504-3506, 1979.
- 5) Reiss GR, Werness PG, Zollman PE, Brubaker RF : *Ascorbic acid level in the aqueous humor of nocturnal and diurnal mammals. Arch Ophthalmol* 104:735-755, 1986.
- 6) Williams RN, Paterson CA : *A protective role for ascorbic acid during inflammatory episode in the eye. Exp Eye Res* 42:211-218, 1986.
- 7) Chandra DB, Varma R, Ahmad S, Varma SD : *Vitamin C in the human aqueous humor and cataract. Int J Vit Res* 56:165-168, 1986.
- 8) Lohmann W, Wunderling M, Schmehl W : *Nuclear cataract and ascorbic acid. Naturwissenschaften* 73:266-267, 1986.
- 9) Jampel HD : *Ascorbic acid is cytotoxic to dividing human Tenon's capsule fibroblast: a possible contributing factor in glaucoma filtering surgery success. Arch Ophthalmol* 108:1323-1325, 1990.
- 10) Yue BY, Higginbotham EJ, Chang IL : *Ascorbic acid modulates the production of fibronectin and laminin by eye trabecular meshwork. Exp Cell Res* 187:65-68, 1990.
- 11) Gass JDM : *Idiopathic senile macular hole. Arch Ophthalmol* 106:629-639, 1988
- 12) Aeberg TM : *Macular hole: a review. Surv Ophthalmol* 15:139-162, 1970.
- 13) Morgan CM, Schatz H : *Idiopathic macular hole. Am J Ophthalmol* 99:437-445, 1988.
- 14) James M, Feman SS : *Macular holes. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 95:917-924, 1988.
- 15) Long C : *Biochemist's hand book, Chemical composition of animal tissue. Van Nostrand, New Jersey, 1961, pp706-715.*
- 16) Moses RA, Hart WM Jr : *Adler's physiology of the eye. 8th ed. St. Louis, CV Mosby, 1987, pp212-222.*
- 17) Bito : *The physiology and pathophysiology of intraocular fluids. Exp Eye Res (Suppl)* 34:273-289, 1977.
- 18) Khatami M, Lawrence E, Strann, John HR : *Ascorbate transport in cultured cat retinal pigment epithelial cells. Exp Eye Res* 43:607-615, 1986.
- 19) Organisciak DT, Wang HM, Li ZY, Tso MO : *The protective effect of ascorbate in retinal light damage of rats. Invest Ophthalmol Vis Sci* 26:1580-1588, 1985.