

High Sensitivity CRP, Fibrinogen and Homocysteine in Relation to Carotid Intima-media Thickness in Acute Ischemic Stroke

Won Goo Lee, Kwangsoo Kim

Department of Neurology, Kosin University College of Medicine, Busan, Korea

급성허혈뇌졸중에서 경동맥 내막-중막 두께에 대한 고감도 C-반응단백질, 섬유소원 및 호모시스테인의 관계

이원구·김광수

고신대학교 의과대학 신경과학교실

Objective: To evaluate the relationship of high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), fibrinogen and homocysteine to carotid intima-media thickness (IMT) in acute ischemic stroke.

Methods: Subjects were 347 patients with acute cerebral infarction. The carotid arterial wall thickness was measured using high resolution B-mode ultrasound. The serum levels of hs-CRP, fibrinogen and homocysteine were measured by latex-enhanced turbidimetric immunoassay, clot scattering method, and chemiluminescence immunoassay respectively. Univariate regression analysis was performed to evaluate the relationship between these levels and carotid IMT.

Results : In patients with acute ischemic stroke, carotid IMT was significantly correlated with increased serum levels of hs-CRP and fibrinogen ($P < 0.05$, $P < 0.01$, respectively). However association between serum homocysteine and carotid IMT was not statistically significant.

Conclusions: Increased serum levels of hs-CRP and fibrinogen may be correlated with carotid IMT. Measurement of serum hs-CRP and fibrinogen may be helpful for predicting degrees of atherosclerosis in acute ischemic stroke.

Key Words: Acute ischemic stroke, Carotid intima-media thickness, Fibrinogen, High sensitivity C-reactive protein, Homocysteine

뇌혈관의 동맥경화증은 허혈뇌졸중의 가장 큰 원인이다. 동맥혈관의 내막두께는 고령, 고혈압, 이상지질혈증 등 죽상경화의 위험인자가 있는 경우에 증가한다.¹ 경동맥 내막-중막 두께(intima-media thickness, IMT)는 조기 죽상경화의 표지자이며, 뇌졸중의 독립위험인자로 알려져 있다. IMT는 동맥벽의 내막경계와 중막과 외막의 경계가 형성하는 두개의 고음영선 사이의 거리이다.

경동맥초음파검사는 경동맥협착을 쉽고 안전하고 경제적으로 진단할 수 있고, 반복적으로 시행할 수 있어

죽상경화를 조기에 진단할 수 있다는 장점을 가지고 있다. 경동맥 IMT는 고해상도 B양식 초음파를 이용하여 측정할 수 있다. 초음파를 이용하여 측정한 IMT는 조직검사를 통해 측정한 IMT와 직접적인 관련성이 있으며, 검사자간에 재현성이 높다는 점에서 임상연구에 널리 이용되고 있다.^{2,3} 경동맥 IMT와 심뇌혈관질환의 위험인자와의 관련성에 관한 연구들은 고혈압, 고지혈증, 당뇨병, 흡연 등이 경동맥 IMT의 증가와 관련이 있다고 한다. 또한 경동맥 IMT의 증가는 향후 심뇌혈관질환의 발생을 예측

Corresponding Author: Kwangsoo Kim, Department of Neurology, Kosin University College of Medicine, #262 Gamcheonro, Seogu, Busan 602-703, Korea
TEL: 051) 990-6274 FAX: 051) 990-3077 E-mail: nekim@ns.kosinmed.or.kr

Received: July 30, 2011
Revised: August 30, 2011
Accepted: November 20, 2011

할 수 있는 독립위험인자이다.⁴

죽상경화의 발생과정에 급성염증인자인 C-반응단백질과 호모시스테인이 관련이 있다. 섬유소원과 C-반응단백질은 죽상경화의 과정에서 염증반응을 일으킨다. 그리고 호모시스테인은 황을 포함하는 필수아미노산인 메티오닌의 대사과정 중 생성되는 중간산물로 인체의 거의 모든 조직에서 생성된다. 호모시스테인은 혈관에서 일어나는 죽상경화의 중요한 위험인자이다.⁵

본 연구는 급성허혈뇌졸중에서 고감도 C-반응단백질(high sensitivity C-reactive protein, hs-CRP), 섬유소원, 호모시스테인 등의 혈청농도를 알아보고, 경동맥 IMT에 대한 hs-CRP, 섬유소원 및 호모시스테인 혈청농도의 관계를 평가하고자 하였다.

연구대상 및 방법

1. 대상

급성허혈뇌졸중으로 진단되어 치료를 받은 환자들을 연구대상으로 하였다. 급성허혈뇌졸중환자들 중 경동맥 초음파검사를 시행하지 못하였거나 심장성색전증으로 인한 허혈뇌졸중환자는 연구대상에서 제외하였다.

2. 방법

병력기록지를 통하여 환자의 정보를 후향적으로 수집하였으며, 허혈뇌졸중 급성기에 hs-CRP, 섬유소원, 호모시스테인 등의 혈장농도를 측정하였다. 혈청 호모시스테인, hs-CRP 및 섬유소원 농도의 측정을 위해 정맥혈 10 ml를 채취하여 500 rpm으로 5분간 원심분리를 하여 얻어진 혈청을 따로 분리하여 사용하기 전까지 -20℃에서 냉동 보관하였다가 검사시 실온에서 녹여 사용하였다.

1) 경동맥 내막-중막 두께 측정

경동맥의 IMT는 고해상도 B양식 초음파(Prosound SSD-4000SV, Aloka Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. 경동맥 IMT는 내경동맥과 외경동맥의 분지부로부터 10 mm 아래쪽 총경동맥 부위에서 혈관의 내강과

내막의 경계선으로부터 중막과 외막의 경계까지의 거리로 정하였다.

2) 고감도 C-반응단백질의 측정

혈청 hs-CRP의 농도는 latex-enhanced turbidimetric immunoassay (CRP-LATEX II “SEIKEN”)을 이용하여 측정하였다. 혈장 hs-CRP가 0.5 mg/dL 이상인 경우 증가한 것으로 판정하였다.

3) 섬유소원 혈청치 측정

혈청 섬유소원의 농도는 응괴산란법(clot scattering method)을 이용하여 측정하였다. 혈청 섬유소원 농도가 400 mg/dL 이상은 증가로 판정하였다.

4) 호모시스테인 혈청치 측정

혈청 호모시스테인치의 정량은 ADVIA Centaur[®] XP Immunoassay System (Siemens, Germany)을 이용하여 화학발광면역측정법(chemiluminescence immunoassay)으로 측정하였다. 자동 화학발광면역분석기는 직접 화학발광을 이용한 경쟁적 억제 방법을 기본으로 한다. S-adenosyl-L-Homocysteine hydrolase와 dithiothreitol (DTT)의 존재하에 37℃에서 30분간 항온반응을 하는 동안 환자의 혈청내 호모시스테인은 검체의 결합단백으로부터 분리되어 S-adenosyl-homocysteine (SAH)로 전환된다. 전처리된 검체와 alkaline phosphatase-labeled anti-SAH 항체가 37℃에서 30분간(1 cycle) 항온반응하면서 항원-항체결합반응을 진행한다. 비반응물질은 원심세척을 통해 제거되고 기질을 분주한다. 화학발광기질은 alkaline phosphatase 존재하에 5분간 발광반응을 진행하며 반응의 발광정도는 Luminometer로 측정하여 검체농도로 연산된다. 혈청 호모시스테인치의 정상범위는 4-15.4 μ mol/L이다.

3. 통계분석

통계분석은 SPSS 통계프로그램(Version 17.0, SPSS Inc., Chicago, USA)을 이용하였다. 경동맥 IMT와 hs-CRP, 섬유소원 및 호모시스테인과의 상관관계는 일도량회귀분석으로 평가하였다. 통계적 유의성은 $P < 0.05$ 를 기준으로 하였다.

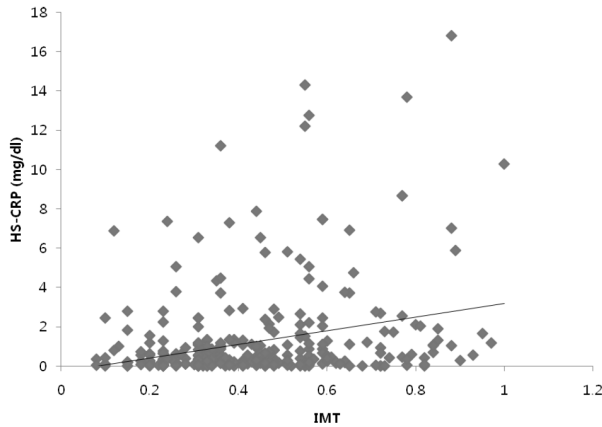


Fig. 1. The correlation between carotid artery IMT and serum HS-CRP level in patients with acute ischemic stroke. $R^2 = 0.0728$, $P = 0.01$. IMT; Intima-Media thickness, HS-CRP; High sensitivity C-reactive protein

결 과

1. 임상적 특성

급성허혈뇌졸중환자 347명의 연령분포는 26-89세로 평균 66.7 ± 11.7 세였다. 이들 환자들의 경동맥 IMT는 평균 0.43 ± 0.19 mm였다. 혈중 hs-CRP 농도는 평균 1.23 ± 2.37 mg/dL, 섬유소원의 혈청농도는 평균 298.62 ± 84.70 mg/dL, 호모시스테인의 혈청농도는 13.80 ± 5.12 μ mol/L였다.

2. 경동맥 내막-중막 두께와 고감도 C-반응단백 질과의 관계

경동맥 IMT와 hs-CRP 혈청농도 간에 유의한 양의 상관관계가 있었다($P = 0.01$) (Fig. 1).

3. 경동맥 내막-중막 두께와 섬유소원과의 관계

경동맥 IMT와 섬유소원 혈청농도 간에 유의한 양의 상관관계가 있었다($P < 0.01$) (Fig. 2).

4. 경동맥 내막-중막 두께와 호모시스테인과의 관계

경동맥 IMT와 호모시스테인 혈청농도 사이에는 유의

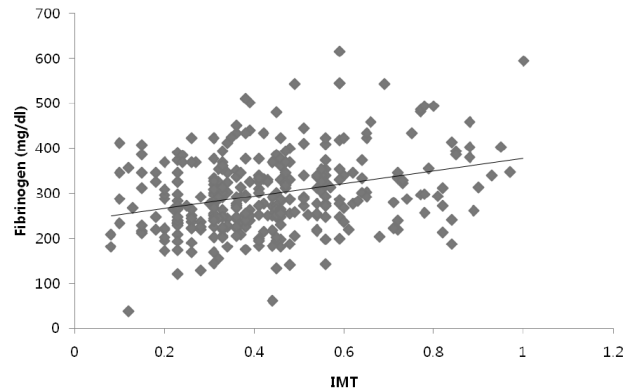


Fig. 2. The correlation between carotid artery IMT and serum fibrinogen level in patients with acute ischemic stroke. $R^2 = 0.0909$, $P < 0.01$. IMT; Intima-Media thickness

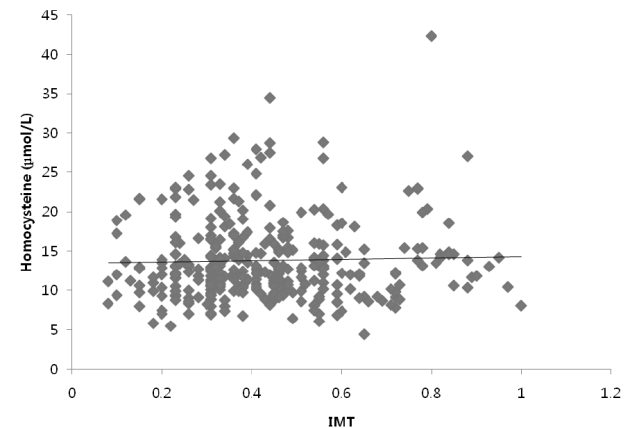


Fig. 3. The correlation between carotid artery IMT and serum homocysteine level in patients with acute ischemic stroke. $R^2 = 0.001$, $P = 0.57$. IMT; Intima-Media thickness

한 상관관계가 없었다($P = 0.57$) (Fig. 3).

고 찰

본 연구는 급성허혈뇌졸중에서 경동맥 IMT는 hs-CRP와 섬유소원의 혈청농도와 유의한 상관관계가 있음을 보였다. 그러나 경동맥 IMT와 호모시스테인 사이에는 유의한 상관관계가 없었다.

CRP는 급성손상, 감염, 과민반응, 염증질환, 악성종양 등에 반응하여 증가하는 급성반응단백질이다. CRP는 interleukin-6 등 염증사이토카인의 자극에 의해 간에서 대부분 합성된다. 그 외 죽상경화관, 혈관, 심장, 신장,

지방세포, 신경세포에서도 합성된다.⁶⁻⁸ CRP는 급성염증의 지표로 이용되고 있으며, 10.0 mg/L 이상을 증가로 판정한다. 1990년대부터 0.3 mg/L 이하까지 측정할 수 있는 새로운 검사방법이 개발되었는데, 이를 high sensitivity CRP (hs-CRP)라 한다.⁹ 혈관내 염증반응은 뇌경색의 발생과 진행에 중요한 역할을 한다.¹⁰ 특히 혈중 CRP의 농도는 동맥경화질환의 원인이 되고, 예후를 결정하는 중요한 인자이다.^{11,12} 경동맥 IMT의 증가와 hs-CRP와의 관계는 대체로 독립적인 연관성보다는 hs-CRP의 증가는 경동맥 죽상경화의 원인이 되는 다른 인자들에 영향을 미침으로써 경동맥 IMT의 증가에 간접적인 작용을 한다.¹³ 본 연구는 혈청 hs-CRP가 높을수록 경동맥 IMT가 유의하게 더 두꺼웠다. 그러므로 hs-CRP 혈청농도의 증가가 경동맥 죽상경화의 위험인자로 생각된다.

섬유소원은 혈액응고인자로 활성화된 트롬빈(thrombin)에 의해서 촉매가 되어 가용성섬유소 단량체가 형성되고 섬유소덩이를 형성한다. 항트롬빈III (antithrombin III)는 트롬빈과 factor Xa에 대한 억제물질이며, factor XIIa, XIa, IXa에 대해서도 억제작용을 한다. 항트롬빈III는 트롬빈의 작용을 억제함으로써 섬유소덩이의 형성을 억제하는 역할을 한다. 트롬빈의 활성화와 관계가 되는 항트롬빈III는 혈액응고계의 활성화와 밀접한 관계가 있고, 트롬빈의 활성화 정도에 따라 섬유소원의 활성화 정도가 결정이 된다.^{14,15} 혈청 섬유소원의 증가는 허혈뇌졸중의 독립위험인자로 작용하고, 혈장의 주요 혈액응고단백으로 혈액의 점도를 결정하며, 혈소판의 응집에 중요한 보조인자로 작용하여 동맥혈전을 형성한다.^{16,17} 섬유소원은 혈소판의 응집에 혈소판들 사이에 작용하는 물질로 섬유소덩이로 변화하여 혈소판의 표면에 강력한 응집효과를 나타낸다. 이러한 작용으로 인하여 섬유소원이 뇌경색의 위험인자로 제시되고 있으며, 급성뇌경색에 영향을 미친다.¹⁸⁻²¹ Park 등²²은 2형 당뇨병환자에서 혈중 섬유소원의 증가가 죽상경화와 관계가 있다고 하였다. 본 연구도 섬유소원의 혈청농도가 경동맥 IMT와 유의한 상관관계가 있음을 보였다. 즉 섬유소원의 혈청농도가 높을수록 경동맥 IMT가 더 두꺼웠다. 그러므로 혈중 섬유소원은 죽상경화

의 표지자로 생각된다.

호모시스테인은 B 비타민군에 속하는 cobalamin, 비타민 B₆, 엽산 등이 관여하는 메티오닌의 대사를 통해 만들어지는 아미노산이다. 호모시스테인은 재메틸화와 황전환의 2가지 경로 중 하나를 통해 대사된다. 재메틸화 과정에서 호모시스테인은 methionine synthase에 의해 메티오닌으로 재합성되며, 이 과정에 비타민 B₁₂ (cobalamin)가 보조인자로 N5-methyl-tetrahydrofolate가 메틸기 공여자로 작용하고 N5,N10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)가 촉매로 작용한다. 메티오닌이 충분하거나 시스테인 합성이 필요할 때, 호모시스테인은 황전환작용의 경로로 들어간다. 이 과정에서 호모시스테인은 세린과 작용하여 비타민 B₆-의존적 효소인 cystathionine beta-synthase에 의해 cystathionine으로 전환되고, cystathionine은 gamma-cystathionase에 의해 glutathione의 전구물질인 시스테인과 alpha-ketobutyrate로 가수분해되며 시스테인은 최종적으로 황산염으로 전환되어 소변으로 배설된다.²³ 호모시스테인의 대사에 필요한 엽산, 비타민 B₁₂, 비타민 B₆ 등과 같은 비타민의 섭취결핍은 고호모시스테인혈증을 초래할 수 있다. 호모시스테인은 자가산화를 통해 homocystine, mixed disulfides, homocysteine thiolactone 등을 생성하고, 자가산화 과정에서 superoxide anion, hydrogen peroxide, hydroxyl radical, thiol free radical 등을 포함한 활성산소종이 생성된다. 호모시스테인은 glutamate 결합부위에 대한 촉진제로서의 기능과 N-methyl-D-aspartate (NMDA) 수용체의 glycine 결합부위에 길항제로서의 기능을 가지고 있다. 뇌졸중과 같은 glycine의 농도가 증가된 환경에서 호모시스테인은 NMDA 수용체의 과자극을 통한 신경독작용을 가진다. 혈장내 호모시스테인은 뇌졸중, 알츠하이머병, 뇌전증, 우울증, 외상후스트레스증후군 등 여러 신경정신과질환들에서 증가한다.^{24,25} 호모시스테인은 혈관내피세포에 작용하여 내피세포를 직접 파괴할 뿐만 아니라 아라키돈산의 대사를 변화시켜 혈소판의 혈관 응집력을 증가시키고 항혈전 응고인자의 활성도를 낮추어 죽상경화를 일으킨다.²⁶ Mazza 등²⁷은 합병증이 없

는 2형 당뇨병 환자 130명을 대상으로 혈장 호모시스테인과 경동맥 IMT와의 관계를 알아본 결과 호모시스테인은 경동맥 IMT와 상관관계가 없다고 하였다. 본 연구도 호모시스테인의 혈청농도와 경동맥 IMT간에 유의한 상관관계가 없었다. 호모시스테인이 경동맥 IMT와 유의한 상관관계가 없는 것으로 보아 호모시스테인은 초기 혈관변화에는 관여하지 않으며, 큰 혈관의 합병증과 미세혈관병증이 진행되는 과정에 관여하는 것으로 생각된다.

결론

급성허혈뇌졸중에서 경동맥 IMT는 hs-CRP와 섬유소원 혈청농도가 높을수록 더 두꺼웠다. 그러나 호모시스테인 혈청농도는 경동맥 IMT와 유의한 상관관계가 없었다. 그러므로 혈청 hs-CRP와 섬유소원의 측정은 급성허혈뇌졸중에서 죽상경화의 정도를 평가하는데 도움을 주는 표지자로 생각된다.

참고문헌

- O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Savage PJ, Borhani NO, Kittner SJ, et al. Thickening of the carotid wall. A marker for atherosclerosis in the elderly? Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *Stroke* 1996;27:224-31.
- Wong M, Edelstein J, Wollman J, Bond MG. Ultrasonic-pathological comparison of the human arterial wall. Verification of intima-media thickness. *Arterioscler Thromb* 1993;13:482-6.
- Riley WA, Barnes RW, Applegate WB, Dempsey R, Hartwell T, Davis VG, et al. Reproducibility of noninvasive ultrasonic measurement of carotid atherosclerosis. The Asymptomatic Carotid Artery Plaque Study. *Stroke* 1992;23:1062-8.
- O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK Jr. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 1999;340:14-22.
- Genest JJ Jr, Malinow MR. Homocyst(e)ine and coronary artery disease. *Curr Opin Lipidol* 1992;3:295-9.
- Yasojima K, Schwab C, McGeer EG, McGeer PL. Generation of C-reactive protein and complement components in atherosclerotic plaques. *Am J Pathol* 2001;158:1039-51.
- Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Nakamura T, Nishida M, Kumara M. Reciprocal association of C-reactive protein with adiponectin in blood stream and adipose tissue. *Circulation* 2003;107:671-4.
- Yasojima K, Schwab C, McGeer EG, McGeer PL. Human neurons generate C-reactive protein and amyloid P: upregulation in Alzheimer's disease. *Brain Res* 2000;887:80-9.
- Myers GL, Rifai N, Tracy RP, Roberts WL, Alexander RW, Biasucci LM, et al. CDC/AHA workshop on markers of inflammation and cardiovascular disease: Application to clinical and public health practice: Report from the laboratory science discussion group. *Circulation* 2004;110:e545-9.
- Di Napoli M, Schwaninger M, Cappelli R, Ceccarelli E, Di Gianfilippo G, Donati C. Evaluation of C-reactive protein measurement for assessing the risk and prognosis in ischemic stroke: a statement for health care professionals from the CRP Pooling Project member. *Stroke* 2005;36:1316-29.
- Chamorro A. Role of inflammation in stroke and atheromatosis. *Cerebrovasc Dis* 2004;17(Suppl 3):1-5.
- Di Napoli M, Papa F, Bocola V. C-reactive protein in ischemic stroke: an independent prognostic factor. *Stroke* 2001;32:917-24.
- Hee CS, Chang KH, Woo AC, Keun CH, Soo CB, Chung YS. Is high-sensitivity C-reactive protein associated with carotid atherosclerosis in healthy Koreans? *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2005;12:548-54.
- Ji HS. *Clinical Pathology*, 2nd ed, Seoul: Korea Medical Publishing Co; 1996. p213-22.
- Tohgi H, Kawashima M, Tamura K, Suzuki H. Coagulation-fibrinolysis abnormalities in acute and chronic phases of cerebral thrombosis and embolism. *Stroke* 1990;21:1663-7.
- Cortellaro M, Boschetti C, Cofrancesco E, Zanussi C, Catalano M, de Gaetano G. The PLAT Study. a multidisciplinary study of hemostatic function and conventional risk factors in vascular disease patients. *Atherosclerosis* 1991;90:109-18.
- He M, Wen Z, He X, Xiong S, Liu F, Xu J. Observation on tissue factor pathway and some other coagulation parameters during the onset of acute cerebrocardiac thrombotic disease. *Thromb Res* 2002;107:223-8.
- Takano K, Yamaguchi T, Kato H, Omae T. Activation of coagulation in acute cardiothrombotic stroke. *Stroke* 1991;22:12-6.
- Feinberg WM, Bruck DC, Ring ME, Corrigan JJ Jr. Hemostatic markers in acute stroke. *Stroke* 1989;20:592-7.
- Berge E, Friis P, Sandset PM. Hemostatic activation in acute

- ischemic stroke. *Thrombs Res* 2001;101:13-21.
21. Ince B, Bayram C, Harmanci H, Ulutin T. Hemostatic markers in ischemic stroke of undetermined etiology. *Thromb Res* 1999;96:169-74.
 22. Park TS, Rhee KH, Lim SH, Lee SH, Baek HS, Chung GH. Relationships between the intimal-medial thickness of carotid artery measured by high resolution B-mode ultrasound imaging and the atherosclerotic risk factors in NIDDM patients. *Korean Diabetes J* 1996;20:145-52.
 23. Diaz-Arrastia R. Homocysteine and neurologic disease. *Arch Neurol* 2000;57:1422-7.
 24. Tiemeier H, van Tuijl HR, Hofman A, Meijer J, Kiliaan AJ, Breteler MM. Vitamin B12, folate, and homocysteine in depression: the Rotterdam Study. *Am J Psychiatry* 2002;159:2099-101.
 25. Fava M, Borus JS, Alpert JE, Nierenberg AA, Rosenbaum JF, Bottiglieri T. Folate, vitamin B12, and homocysteine in major depressive disorder. *Am J Psychiatry* 1997;154:426-8.
 26. Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Eng J Med* 1998;338:1042-50.
 27. Mazza A, Motti C, Nulli A, Marra G, Gnasso A, Pastore A, et al. Lack of association between carotid intima-media thickness and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism or serum homocysteine in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 2000;49:718-23.