제2형 당뇨병환자에서 경동맥 내중막비후의 위험인자로서 인슐린저항성, 항산화체계 및 호모시스테인의 관계

연세대학교 대학원

의과학사업단

윤 용 석

제2형 당뇨병환자에서 경동맥 내중막비후의 위험인자로서 인슐린저항성, 항산화체계 및 호모시스테인의 관계

지도 허 갑 범 교수

이 논문을 박사 학위논문으로 제출함

2000년 12월 일

연세대학교 대학원

의과학사업단

윤 용 석

윤용석의 박사 학위논문을 인준함

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

연세대학교 대학원

2000년 12월 일

감사의 글

하나의 완성은 또 다른 시작과 더불어 끝없는 선택과 도전의 과정을 요구하기에 미래를 계획하고 준비함에 있어서 한 페이지를 넘길 수 있다는 기쁨이 마음속에 충만함을 느낍니다. 어떤 목표를 향해서 나아갈 수 있다는 것 자체만으로도 커다란 행복임과 동시에 축복이라고 생각되며, 학위라는 일종의 형식적인 절차를 통과한다는 측면보다는 창의력이 요구되는 연구를 수행해 낼 수 있는 경험의 축적과 많은 선생님들과의 인간적·학문적 교류 및 이에 대한 감사함이 더욱 큰 의미로 다가옵니다. 연구를 계획하기 시작한 시점부터 본 논문을 완성하기까지 항상 깊은 관심을 갖고 세심한 지도와 격려를 아끼지 않으신 허갑범 교수님과 이현철 교수님께 진심으로 감사를 드립니다. 또한 연구방향의 설정 및 방법론적 측면에서 많은 도움을 주신 이종호 교수님, 송영득 조교수님과, 논문의 완성까지 세심한 조언으로 이끌어 주신 안용호 교수님, 송경순 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 아울러 본 연구를 수행함에 있어서 연구 설계 및 자료 분석에 전문적인 조언과 지식을 주신 남정모 조교수님과 강명근, 강대룡 선생님께 더 많은 발전이 함께 하시길 기원하며, 실무 및 자료 관리에 늘 성실한 도움을 주신 식품영양학과 대학원 학생분들 및 당뇨병센터 직원분들의 친절에 다시 한번 감사드립니다. 지난 과정동안 경험했던 모든 순간들이 소중한 추억으로 다가옴을 감사드리며, 부족한 본인을 위해 항상 기도하시고 도움을 주신 사랑하는 어머님과 누님, 동생 내외분께도 감사를 드리고 하늘에서나마 지켜보고 계신 아버지께 이 논문을 드립니다.

저 자 씀

차 례

그 림 차 례

표 차 례

국문요약

제2형 당뇨병환자에서 경동맥 내중막비후의 위험인자로서 인슐린저항성, 항산화체계 및 호모시스테인의 관계

동맥경화증에 의한 대혈관질환은 제2형 당뇨병 사망의 가장 중요한 원인으로 인슐린저항성과 고혈당, 고혈압, 이상지질혈증, 혈액응고 장애 등 관련인자의 복합적 작용에 의하여 발생한다. 최근 기존의 위험인자들이 산화스트레스를 증가시킴에 따라 세포내 신호전달체계 및 염증성 반응이 자극되어 동맥경화증이 야기되는 기전이 제시되어, 동맥경화증의 고 위험군에서 체내 항산화체계를 강화하여 치료 및 예방에 적용하고자 하는 시도가 활발히 진행되고 있다. 또한, 새로운 위험인자로 기대되고 있는 호모시스테인(homocysteine)의 혈관손상기전에 산화스트레스가 매개하는 것으로 알려짐에 따라, 단백질대사와 관련한 음식, 효소 유전자, 보조 활성인자 등을 포함한 광범위한 접근이 이루어지고 있다.

본 연구는 정상인, 제2형 당뇨병, 관상동맥질환 환자를 대상으로 인슐린저항성과 호모시스테인 및 항산화비타민의 관계를 분석하고 경동맥 내중막두께와의 연관성을 평가하여, 이들이 동맥경화증에 관여하는 역할 및 상호관계를 알아보고자 하였다.

1. 인슐린감수성 지표인 포도당 이용률(total glucose disposal rate)은 정상인에 비하여 제2형 당뇨병 및 관상동맥질환군에서 현저히 낮았다. 제2형 당뇨병군에서 레티놀(retinol), β-카로틴(carotene), 크립토잔틴(cryptoxanthin), 관상동맥질환군에서 β-카로틴과 크립토잔틴 농도가 정상군에 비하여 유의하게 낮게 관찰되었다.

2. 레티놀, β-카로틴, 크립토잔틴, α/γ-토코페롤(tocopherol)과 포도당 이용률은 나이, 체질량지수, 공복 혈당 및 호모시스테인 농도를 보정한 후에도 유의한 양의 상관관계를 보였으며, 공복 호모시스테인 농도와 포도당 이용률의 관계는 나이, 체질량지수, 흡연, 음주, 비타민 B_{12}, 엽산, 혈청 크레아티닌 농도를 보정한 후에도 유의함을 확인할 수 있었다. 그러나 공복 호모시스테인과 항산화비타민 농도의 독립적인 연관성은 관찰할 수 없었다.

3. 대상자에서 2시간 동안 고 인슐린혈증(100 μU/mL)을 유도하여 각 군 및 포도당 이용률의 삼분위당 항산화비타민과 호모시스테인 농도의 변화를 관찰한 결과, 정상군과 포도당 이용률 상위 삼분위 군에서 레티놀, α/β-카로틴, 크립토잔틴, α/γ-토코페롤 농도가 현저히 감소하였으나, 당뇨병 및 관상동맥질환군, 포도당 이용률의 중등도 및 하위 삼분위군의 대다수에서 유의한 변화를 관찰할 수 없었다.

4. 경동맥 평균 및 최대 내중막두께는 나이 및 체질량지수를 보정한 후에도 제2형 당뇨병 및 관상동맥질환 유무, 총 콜레스테롤, 공복 호모시스테인 및 포도당 이용률과 유의한 관계를 보였다. 나이, 체질량지수, 공복 혈당을 보정한 후에도 레티놀, β-카로틴 및 크립토잔틴은 경동맥 평균 및 최대 내중막두께와 유의한 음의 상관관계를

보였다.

5. 다중회귀분석 결과 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 유전자($C_{677}T$) 동형접합자(VV)는 인슐린 저항성과 독립적으로 공복 호모시스테인 농도의 증가와 관계함을 알 수 있었으나, 경동맥 내중막두께와 연관성은 관찰할 수 없었다. Methionine synthase (MS)의 G 대립 유전자($A_{2756}G$)와 공복 호모시스테인 및 경동맥 내중막두께의 연관성은 관찰되지 않았다.

이상의 결과로, 제2형 당뇨병 및 관상동맥질환 환자에서 경동맥 내중막두께의 위험인자로 관찰되는 호모시스테인 증가 및 항산화비타민 감소가 인슐린 저항성과 밀접히 연관되어 있음을 알 수 있었다. 따라서 향후, 호모시스테인 농도를 낮추거나 항산화체계를 강화하는 임상 중재에 인슐린저항성의 역할을 신중히 고려하여야 할 것으로 생각한다.

핵심되는 말: 인슐린저항성, 호모시스테인, 항산화비타민, 경동맥 내중막두께

제2형 당뇨병환자에서 경동맥 내중막비후의 위험인자로서 인슐린저항성, 항산화체계 및 호모시스테인의 관계

＜지도 허 갑 범 교수＞

연세대학교 대학원 의과학사업단

윤 용 석

I. 서 론

최근 급격히 변화하는 식생활 및 생활환경의 변화와 노인연령층의 증가에 따라 고혈압, 제2형 당뇨병, 심혈관질환 등 만성 및 퇴행성 질환의 유병률 및 사망률이 크게 증가하여 국민 보건적 핵심관리분야로 주목받고 있다.[1] 제2형 당뇨병은 고혈당, 인슐린저항성, 지질대사이상, 각종 사이토카인(cytokine) 및 혈관활성 호르몬의 변화 등을 야기하여 동맥경화반 발생 및 진행을 가속화하는 만성 대사질환이다.[2,3] 인슐린저항성은 제2형 당뇨병의 주요 병인일 뿐 아니라, 정상인에서도 고혈압, 복부비만, 이상지질혈증 등 대사성증후군 구성요소의 근간을 이루어 동맥경화증 위험인자의 공통분모로 알려져 있다.[4] 그러나, 인슐린 저항성이 동맥경화에 관여하는 기전은 아직 명확히 정립되어 있지 않다. 최근까지 알려진 기전으로, 인슐린저항성과 이의 보상으로 발생하는 고 인슐린혈증이 간의 초저밀도 지단백(very low density lipoprotein, VLDL) 합성을 촉진하여 고 중성지방혈증(hypertriglyceridaemia) 및 고밀도 지단백(high density lipoprotein, HDL) 감소를 야기하고, 크기가 작고 밀도가 높은 저밀도 지단백(low density lipoprotein, LDL)의 증가와 산화 저밀도지단백의 증가를 초래하는 것으로 알려져 있다.[5-7] 또한 plasminogen activator inhibitor (PAI)-1의 증가를 동반하여 혈전형성을 증가시키고,[8] 평활근 세포의 기질 생산 등을 촉진하는 것으로 알려져 있으며,[9,10] 세포내 신호전달체계인 PI-3 kinase 활성도가 감소하여 혈관 확장억제, 평활근 세포의 성장 및 이동, 접착 물질(adhesion molecule) 발현 등 nitric oxide (NO) 관련 항 동맥경화작용의 장애를 야기하는 것으로 보고되고 있다.[11,12] 인슐린저항성에 따라 보상적으로 발생하는 고 인슐린혈증은 교감신경계 활성도 증가,[13] 신장 소디움 배설 억제,[14] 세포내 양이온 이동[15] 및 혈관 평활근 세포의 비후를[16,17] 통하여 고혈압 발생을 촉진하거나 PDGF (platelet derived growth factor) 등 성장인자들의 작용을 항진시켜 대혈관질환 발생에 관여한다.[18] 또한, 직접

적으로 세포내 mitogen-activated protein kinase 체계의 활성화를 통하여 혈관세포 증식, 기질 합성 등을 야기하여 동맥경화반의 발생과 진행에 기여할 것으로 추측되고 있다.[19] 그러나, 인슐린이 포도당 뿐 아니라, 지방 및 단백질의 대사에 밀접히 작용하므로, 인슐린과 인슐린저항성이 혈관내 환경에 미치는 영향은 보다 광범위할 것으로 추측된다. 따라서 인슐린저항성을 조기 평가하고 및 이를 정상화함은 대혈관질환의 위험인자를 포괄적으로 관리할 수 있는 가장 효과적인 방편이 될 것으로 기대되고 있다.

최근 기존의 동맥경화증 위험인자들이 세포내 산화스트레스를 증가시켜 신호전달체계 및 염증반응을 변화하여 동맥경화반 형성에 작용한다는 결과가 보고되어, 산화스트레스 증가와 이를 방어하는 체내 항산화체계의 역할에 관심이 집중되고 있다.[20] 산화스트레스는 불포화 지방산의 메틸렌 탄소로부터 수소원자를 빼낼 만큼 충분한 반응성을 가진 화학종에 의하여 개시되며, 고혈당, 흡연, 스트레스, 약물 등에 의하여 야기될 뿐 아니라 미토콘드리아의 전자전달계, 대식세포의 리소좀 등에서 정상적으로 발생할 수 있다.[21,22] 산화스트레스가 동맥경화에 관여하는 기전은 내막세포 단백질의 redox state를 변화시켜 주요 신호전달체계를 자극하는 것으로 추측되고 있다.[23-25] 특히, 산화 변형된 저밀도 지단백은 내피세포의 사이토카인(monocyte chemotactic protein-1, macrophages colony-stimulating factor)분비를 자극하여 단핵세포를 내피하층으로 이동시켜 포말세포의 전구세포를 형성하며, 청소수용체(scavenger receptor)를 통하여 대식세포에 섭취되어 동맥경화의 초기 병변인 지방 선조 발생을 촉진하는 것으로 보고되었다.[26-29] 당뇨병의 경우 산화스트레스에 의한 당 및 지질의 과산화물이 현저히 증가하며 당뇨병성 혈관 합병증과 밀접히 관여하는 것으로 알려져 있다. 따라서 산화스트레스의 증가와 관련한 당뇨병성 대사상태에 대하여 활발한 연구가 진행되고 있으며,[30-32] 반응성 산소종을 중화시키는 항산화제로서 레티놀, 토코페롤, 카로틴 등 항산화비타민의 효과에 적지 않은 기대가 부여되고 있다.

최근 대규모 역학연구에서 대혈관질환과 독립적 관련 요인으로 주목받고 있는 호모시스테인(homocysteine, Hcy) 역시 산화스트레스를 통하여 혈관병변에 작용하는 것으로 알려져 관심이 집중되고 있다.[33,34] 호모시스테인은 메티오닌(methionine)이 시스테인(cysteine)으로 대사되는 중간과정에 발생하는 아미노산으로, methionine synthase (MS)에 의하여 다시 메티오닌으로 대사되는 re-methylation과정과 cystathionine β-synthase (CBS)에 의하여 시스테인으로 대사되는 trans-sulfuration과정에 의하여 대사되며, 대사의 주기전인 re-methylation과정에 엽산과 비타민 B_{12}가 보조인자로 관여한다(Fig. 1).[35] 이에 따라, 그 동안 동맥경화증의 병인에서 제외되어 왔던 아미노산계 영양소의 역할에 새로운 관심이 부여되었고 엽산 및 비타민 B_{12} 보충의 효과와 호모시스테인 대사에 관여하는 효소 활성 및 유전자 변형에 대하여 다각적인 접근이 이루어지고 있다.[36,37] 특히 re-methylation과정을 담당하는 MS ($A_{2756}G$)와 5,10-methylenetetrahydro folate reductase (MTHFR, $C_{766}T$)의 이형성이 적지 않은 수에서 관찰되어 관심이 집중되고 있다.[38-40] 당뇨병환자의 경우 유병기간이 증가할수록 호

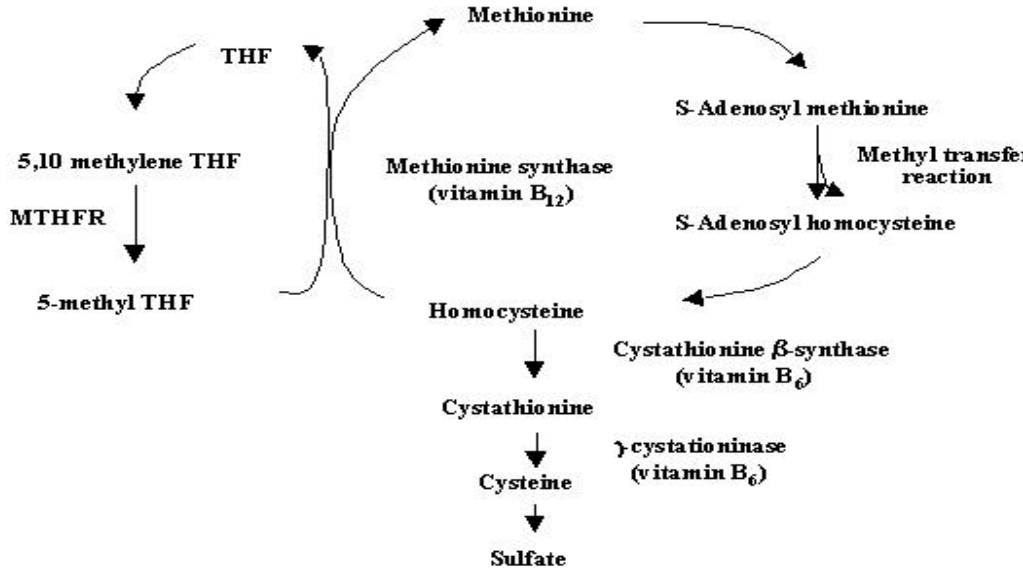

Fig. 1. Homocysteine metabolism. THF: tetrahydrofolate. MTHFR: 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase.

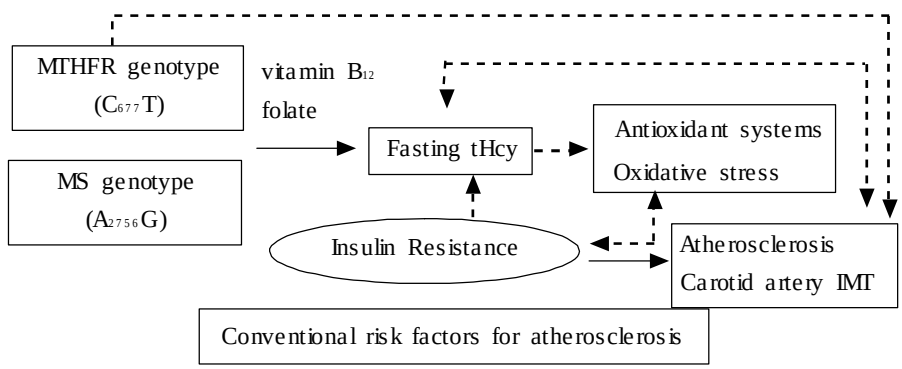

Fig. 2. Theoretical relationship of homocysteine with antioxidants, insulin resistance and atherosclerosis. MTHFR: 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. MS: methionine synthase. tHcy: total homocysteine. IMT: intima-media thickness.

모시스테인 농도가 증가하며, 당뇨병성 혈관합병증 및 관련 사망률과 밀접하게 연관되는 것으로 보고되고 있으나 그 세부기전은 명확히 규명되지 않고 있다(Fig. 2).[41-43] **또한, 호모시스테인 감소를 통하여 대혈관질환의 예방 효과가 증명되지 않아 생리학적 농도 범위에서 혈관병변에 대한 고유작용에 의문이 증가하고 있다.**

본 연구자는 정상인, 제2형 당뇨병 및 관상동맥질환 환자를 대상으로 인슐린저항성, 호

모시스테인, 항산화비타민의 상호 연관성 및 경동맥 내중막두께와의 관계를 조사하고, 호모시스테인 대사와 관련한 효소유전자(MTHFR, MS) 다형성과 영향인자를 분석하여 이들이 동맥경화증에 미치는 역할을 평가하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 대상

1999년 3월부터 2000년 2월까지 신촌 세브란스병원 당뇨병센터 및 심혈관센터에 방문한 35세 이상 남자로 제2형 당뇨병환자 26예, 관상동맥질환 환자 16예 및 내과질환의 병력이 없는 45 65세의 정상인 12예를 대상으로 하였다. 제2형 당뇨병은 NDDG (National diabetes data group)[44] 진단기준에 따라 진단하였으며, 당뇨병의 유병기간은 평균 4.9 (±0.9)년이었다. 당뇨병환자 11예는 식사 및 운동 요법으로, 15예는 경구 혈당강하제로 치료 중이었고, 대혈관합병증의 소견은 관찰되지 않았다. 관상동맥질환 환자는 관상동맥촬영상 혈관 내경이 50% 이상 협착된 곳이 한군데 이상 발견된 비당뇨병환자를 대상으로 하였다. 대상자는 모두 최근 6주간 체중이 일정하고(5% 미만) 전신질환의 치료병력이 없었으며, 특별한 식사요법, 항산화비타민 및 지질 강하제 복용 등을 시행하지 않는 경우로 신장기능은 정상이었다.[45]

2. 연구방법

혈당 강하제 및 기타 약제 복용을 3일간 중단하고 12시간 금식한 상태에서 신체 계측 및 기초 생화학검사, 정상혈당클램프검사를 시행하였다. 정상혈당클램프검사법을 이용하여 체내 인슐린감수성 지표인 포도당 이용률과, 고 인슐린혈증 전후의 항산화비타민 및 호모시스테인 농도 변화를 측정하였다. 경동맥 내중막두께는 정상혈당클램프검사 직후에 측정하였고, 호모시스테인, 항산화비타민 및 malondialdehyde 분석은 검체를 −70°C에서 보관 후 채취 3개월 내에 시행하였다.

가. 임상적 소견 및 기초 생화학검사

대상자의 뇌혈관질환, 심장혈관질환 및 말초혈관질환의 병력, 흡연 및 음주력, 항 고혈압제 사용여부, 비타민 복용여부 등은 문진을 통하여 조사하였다. 신체 계측치로 허리 대 엉덩이 둘레비(waist hip ratio, WHR)와 체질량지수(body mass index, BMI)를 계산하였고, 전기저항법(body fat analyzer, Model TBF-10, Tanita Co., Tokyo, Japan)으로 체지방분율(body fat proportion)을 측정하였다. 혈당은 포도당산화법을 이용한 혈당측정기(glucose analyzer, Beckman Co., Fullerton, CA, U.S.A)로 측정하였다. 혈중 콜레스테롤과 중성지방은 효소법(Hitachi 736-40 automatic analyzer, Hitachi Ltd., Tokyo, Japan)으로, 고밀도 지단백은 dextran sulfate와 $MgCl_2$을 이용한 침전법으로 측정하였고, 저밀도 지단백은 Friedewald 식으로 계산하였다.

PAI-1은 단일클론항체(mouse monoclonal anti-human PAI-1 antibody, Biopool, Ventura, California, U.S.A)를 이용한 효소면역법(enzyme-linked immunosorbent assay)으로, fibrinogen은 응고법(ACL-3000, Instrumentation Laboratory, Milano, Italy)을 이용하여 측정하였다.

나. 정상혈당클램프검사

De Fronzo 등이 개발한 방법[46]에 따라 인슐린을 초기 점화용량으로 10분간 투여 후 40 mU/m^{2}의 속도로 일정하게 주입하여 혈중 인슐린 농도를 100 μU/dL로 2시간 동안 유지하였다. 이에 따라 감소하는 혈당을 5분 간격으로 측정하여, 혈당이 감소하는 속도에 비례하여 20% 포도당을 투여함으로서 혈당을 90 mg/dL로 유지하였다. 인슐린감수성 지표는 마지막 20분 동안의 포도당 이용률(M: mg/kg · min)을 이용하였다. 혈장 호모시스테인, 항산화비타민 및 과산화물 측정을 위한 혈액 채취는 정상혈당클램프검사 시작전과 마지막 120분에 시행하였다. 혈장 인슐린은 이중항체 방사면역법(Diagnostic Products, Los Angeles, U.S.A)으로 측정하였으며 측정내 변이계수(intraassay CVs)는 3.1%, 측정간 변이계수(interassay CVs)는 4.9%였다.

다. 호모시스테인 분석

호모시스테인 분석은 Anderson 등의 방법[47]을 변형하여 시행하였다. 혈액 채취 후 EDTA로 처리된 용기에 넣어 2,300 rpm에서 30분간 원심분리한 후 혈장을 추출하였다. 혈장 500 μL에 pH 9.0으로 조절된 borate 완충액과 dithiothreitol (DTT)를 첨가하여 호모시스테인의 황(sulfur)기를 환원시키고, 내적 기준물(internal standard)인 L-norleucine (Sigma Chemical Co. St. Louis, U.S.A)과 20% sulphosaicylic acid (SSA)를 첨가하여 단백질을 침전시킨 후 3300 rpm에서 15분간 원심분리하였다. 분리된 상층액을 취하여 0.2 μm 여과막(membrane filter, Waters, Milford, MA, U.S.A)으로 거른 후 100 μL를 postcolumn ninhydrin reaction system의 Bio20 autoloader amino acid analyzer (Pharmacia Biotech, Cambridge, England)에 주입하여 분석하였다. 유속은 완충액 20 mL/hr, ninhydrin 25 mL/hr로 유지하였으며, 얻어진 호모시스테인 피크(peak)를 적분하여 함량을 계산하였다. 표준용액으로 DL-호모시스테인(Sigma Chemical Co. St. Louis, U.S.A)을 동일한 조건하에서 분석하여 보유시간(retention time)을 확인하였고, 같은 보유시간에서 측정되는 물질과 구별하기 위하여 검체에 표준물질을 첨가하여 분석 후 비교하였다. 호모시스테인 함량은 첨가된 L-norleucine의 회수율로 보정하였다.

라. 항산화비타민 및 malondialdehyde 측정

항산화비타민으로 혈청 레티놀(retinol), α/β-카로틴(carotene), 크립토잔틴(cryptoxanthin), 리코펜(lycopene), α/γ-토코페롤(tocopherol) 농도를 측정하였다. 채혈 후 바로 빛을 차단하고 혈청을 분리한 후 −70°C에 보관하였고, 자외선이 차단된 상태에서 분석하였다. 500 μL의 혈청과 chloroform : methanol (2 : 1, v/v) 4.5 mL을 혼합하고 내적 기준물로 tocopheryl acetate를 첨가한 후, 0.9% NaCl를 투여하여 다시 혼합하였다. 혼합액을 4°C, 2,500 rpm에서 10분간 원심분리한 뒤, chloroform층을 취하여 혼합액에 포함된 $CHCl_3$를 질소가스로 휘발

시켰다. 동시에 수액층은 2.5 mL의 hexane을 가하여 혼합 후 4°C, 2,500 rpm에서 10분간 원심분리한 뒤, hexane층을 chloroform extract에 부가하고 질소가스로 휘발시켰다. 추출물을 375 μL ethanol로 재용해한 후, 50 μL을 high performance liquid chromatography system (HPLC)에 주사하여 분석하였다. HPLC system은 reverse phase system 방식으로, Alliance Waters 2690 separating module, Waters 996 Photodiode array detector, Waters TM474 scanning fluorescence detector, C18 Symmetry 3.9×15 cm column (Waters, Milford, MA, U.S.A)으로 구성하였다. 이동상은 용매 A (CH_3CN : THF : d-H_2O=50 : 20 : 30, v/v/v)와 용매 B (CH_3CN : THF : d-H_2O=50 : 44 : 6, v/v/v)를 이용하였고, 유속은 1.2 mL/min로 유지하였다. 대상물질의 피크를 판별하기 위하여 각 표준용액을 HPLC로 분석하여 보유시간을 구하였고, 각각의 보유시간에 대응되는 피크에 표준물질을 첨가하여 동일 피크임을 확인하였다. 또한 자외선 스펙트럼(UV spectrum)을 이용하여 각각의 피크에 대한 최대 흡광도를 측정하여 재확인하였다.[48,49] 정량분석은 millenium analysis system (Waters, Milford, MA, U.S.A)으로 시행하였고 내적 기준물인 tocopheryl acetate의 회수율로 보정하였다. 혈청 레티놀, 카로틴 및 토코페롤의 값은 혈청 콜레스테롤 및 중성지방농도(mmol)로 보정하여 표시하였다.

지질 과산화물인 malondialdehyde (MDA) 농도 측정을 위하여 혈장 50 μL에 1/12 *N* H_2SO_4 4 μL, 10% phosphotungstic acid 0.5 mL을 가하여 혼합한 후, 실온에서 5분간 방치하였다. 혼합액을 3,300 rpm에서 15분간 원심분리하여 그 침전물에 1/12 *N* H_2SO_4 2 mL과 10% phosphotungstic acid 0.3 mL을 강하게 혼합하고 다시 원심분리한 뒤, 침전물에 증류수 5 mL과 1% thiobarbituric acid 2 mL을 가하여 90 95°C에서 20분간 유지시켰다. 검체를 냉각시킨 후 n-butanol 5 mL을 가하여 1분간 혼합 후 원심분리하고, 상층의 butanol층으로 발광 분광광도계(luminescence spectrophotometer, Amino Bowman Series, NY, U.S.A)를 이용하여 측정하였다. 비색정량은 excitation 500 nm, emission 553 nm에서 형광 강도(fluorescence intensity)를 측정한 후 표준용액과 비교하였다.[50]

마. 유전자 다형성 분석

MTHFR ($C_{677}T$) 및 MS ($A_{2756}G$) 유전자 다형성 분석을 위하여 대상환자의 전혈을 EDTA가 첨가된 튜브에 채혈하여 원침한 뒤 Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega Co., U.S.A)로 DNA를 추출하였다. 추출한 DNA 표본의 농도를 분광광도계(spectrophotometer)로 측정한 뒤, 각 유전자 부위에 작용하는 시발체 세트(primer set)로 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)을 시행하여 증폭하였다. 중합효소연쇄반응은 초기 DNA변성(initial denaturation)을 94°C에서 60초간 시행 후, 62°C에서 60초 동안 시발체 아닐링을 시키고 72°C에서 60초 동안 연장반응을 시행하는 과정을 35회 반복하였다. MTHFR 유전자 이형성 분석은 시발체인 sense primer (5'-TGA AGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3')와 antisense primer (5'-AGGACGGTGCGGTGAGAG TG-3')로 677번 염기가 포함된 198 염기쌍을 증폭

한 후, 677번 염기가 cytosine에서 thymine으로 치환되는 부위에 작용하는 Hinfl 제한효소 (Boehringer Mannheim, Germany)로 37°C에서 12시간 처리하여, 8% polyacylamide gel로 전기영동한 후 ethidium bromide로 염색하여 변이상태를 관찰하였다. MTHFR 유전자 이형성 ($C_{677}T$)은 Hinfl 제한효소에 의하여 175 bp, 23 bp의 DNA 조각으로 나누어지므로, 전기영동상 198 bp 밴드만 있는 경우는 정상(AA), 198 bp와 175 bp 밴드가 있는 경우는 이형접합자 (AV), 175 bp 밴드만 있는 경우는 변형 동형접합자(VV)로 판독하였다.[51] MS 유전자 이형성 ($A_{2756}G$)은 sense primer (5'-CATGGAAGAATATGAAGATATTAGAC-3')와 antisense primer (5'-GAACTAGAA GACAGAAATTCTCTA-3')로 2,756번 염기가 포함된 189 염기쌍을 증폭하였고, 2,756번 adenine이 guanine으로 치환된 부위에 작용하는 HaeIII 제한효소(Boehringer Mannheim, Germany)로 처리하여, 전기영동상 189 bp 밴드만 있는 경우는 정상(DD), 159 bp와 30 bp 밴드가 있는 경우는 이형접합자(DG), 175 bp 밴드가 있는 경우는 변형 동형접합자(GG)로 판독하였다.[52] 총 검체의 10%는 정상(AA, DD), 이형접합자(DG, AV), 동형접합자 (VV, GG)의 대조군을 선정하여 검사하였다.

바. 경동맥 내중막두께 측정

경동맥 내중막두께(intima-media thickness, IMT)는 고해상도 B-mode 초음파 기기(Toshiba SSA-270A, Toshiba, Japan)의 7.5 MHz 선상 탐촉자를 이용하여 한 명의 검사자에 의해 측정하였다. 좌측과 우측 경동맥의 종단면을 따라 내경동맥과 외경동맥으로 분리되는 분지점의 근위부에 위치한 총경동맥 원벽(far wall)에서 내중막비후도가 최고인 지점을 최고치로 정하고, 동지점을 중심으로 근위 10 mm, 원위 10 mm 위치에서 내중막두께를 측정하여 5군데의 산술평균치를 계산하였다. 경동맥 내중막두께 측정이 예정된 부위가 석회화되었거나 혈관 내강으로 돌출 되어 초음파상 이질성(heterogeneity)을 보이는 죽전의 양상인 경우는 죽전이 포함되지 않은 근위부에서 측정을 시행하였다. 경동맥 내중막두께는 원벽의 내막에 해당되는 첫 번째 방향적선과 중막과 외막의 경계를 나타내는 두 번째 반향적선 사이의 거리를 캘리퍼의 일종인 Digimatic (Mitutoyo CD-15B, Japan)을 이용하여 측정하였다.[53,54]

사. 통계 분석

통계적 분석은 SPSS for Window (6.0)을 이용하였고, 결과는 평균±표준오차로 표시하였다. 각 집단 및 인슐린 저항성의 삼분위에 따른 임상지표, 호모시스테인, 항산화비타민 및 관련 인자의 차이는 1요인 분산분석(one-way ANOVA)으로 판별 후 LSD (least significant difference)방법으로 비교하였다. 항산화비타민 및 과산화물, 포도당 이용률, 경동맥 내중막두께와의 연관성은 부분상관분석(partial correlation analysis)으로 관련 변수들을 단계별 보정하여 평가하였다. 고 인슐린혈증 전후의 호모시스테인, 항산화비타민의 차이는 윌콕슨 부호순위 검정(Wilcoxon's signed rank test)으로 검정하였으며, 공복 호모시스테인 농도 및 경동맥 내중막두께를 독립변수로 다중회귀분석을 시행하였다. 통계결과의 유의수준은 p값

이 0.05 미만으로 하였다.

III. 결 과

1. 임상적 특성

평균 나이는 정상인 51.1 (±2.0)세, 제2형 당뇨병 환자 48.6 (±1.8)세, 관상동맥질환 환자 56.1 (±2.4)세로 관상동맥질환 환자에서 다소 증가되어 있었고(p=0.036), 체질량지수는 정상인에서 비교적 낮았다(p=0.092). 포도당 이용률은 정상인 8.4±0.4 mg/kg · min, 제2형 당뇨병 환자 3.7±0.4 mg/kg · min, 관상동맥질환 환자 4.2±0.4 mg/kg · min으로 당뇨병 및 관상동맥질환 환자에서 인슐린감수성이 현저히 낮음을 관찰할 수 있었다(p<0.001)(Table 1). 당뇨병 환자의 경우 레티놀, β-카로틴, 크립토잔틴, 관상동맥질환 환자의 경우 β-카로틴,

Table 1. Clinical and biochemical characteristics

	Normal control (n=12)	Type 2 DM (n=26)	CHD (n=16)
Age (years)	51.1±2.0	48.6±1.8	56.1±2.4*
Body mass index (kg/m^2)	21.6±2.0	25.2±0.4‡	25.9±0.6‡
Waist hip ratio	0.92±0.01	0.93±0.09	0.95±0.01
Smoking, n (%)	9 (75.0)	20 (76.9)	14 (87.5)
Alcohol, n (%)	6 (50.0)	14 (53.8)	7 (43.8)
Hypertension, n (%)	2 (16.7)	2 (7.7)	9 (56.3)
Body fat proportion (%)	22.5±1.4	25.5±0.9	25.8±1.3
Total cholesterol (mg/dL)	174.0±7.5	207.8±10.7	204.6±6.4
Triglyceride (mg/dL)	151.2±30.3	198.5±20.1	199.0±34.6
LDL-cholesterol (mg/dL)	99.0±7.1	127.2±6.4	120.6±8.9
HDL-cholesterol (mg/dL)	44.8±2.7	45.2±1.5	43.8±2.1
Fibrinogen (mg/dL)	300.5±34.8	310.1±16.0	432.0±38.4‡
PAI-1 (ng/mL)	22.5±4.1	27.3±3.0	23.8±4.0
Fasting blood sugar (mg/dL)	98.3±3.6	141.6±6.2¶	93.4±4.2
Creatinine (mg/dL)	1.0±0.1	1.1±0.1	1.1±0.1
Glucose disposal rate (mg/kg · min)	8.4±0.4	3.7±0.4¶	4.2±0.4¶
Fasting total homocysteine (μmol/mL)	8.9±0.7	11.9±1.0	11.5±0.9
Vitamin B_{12} (pg/mL)	557.0±72.9	728.5±58.6	557.4±49.5
Folate (ng/mL)	9.1±1.3	6.7±0.8	6.5±1.0
Insulin (μU/mL)	7.6±0.7	10.4±0.8	11.5±2.1

*: p<0.05, ‡: p<0.01, ¶: p<0.001 compared with normal control group.
DM: diabetes mellitus. CHD: coronary heart disease. PAI: plasminogen activator inhibitor.

크립토잔틴 농도가 정상인에 비하여 현저히 감소되어 있었다($p<0.001$, $p=0.05$)(Table 2). 지질 과산화물인 MDA는 집단간의 차이를 관찰할 수 없었다.

2. MTHFR 및 MS 유전자 다형성

MTHFR 유전자 다형성 분석($C_{677}T$)을 실시한 52예 중 정상(AA) 12예(35.5%), 이형접합자(AV) 29예(46.8%), 변형 동형접합자(VV) 11예(21.7%)가 관찰되었다. 변형 동형접합자는 정

Table 2. The serum concentrations of retinol, carotenoids, tocopherols and malondialdehyde in normal control, type 2 DM and CHD groups

Lipid-corrected levels	Normal control (n=12)	Type 2 DM (n=26)	CHD (n=16)
Retinol (μg/mmol)	447.64±58.73	247.19±27.20¶	333.00±59.18
α-carotene (μg/mmol)	5.76±1.26	5.04±1.01	5.43±0.98
β-carotene (μg/mmol)	67.13±14.46	32.69±5.87‡	40.04±7.42*
Cryptoxanthin (μg/mmol)	152.11±24.98	60.04±9.92¶	57.97±22.37¶
Lycopene (μg/mmol)	89.91±20.79	68.12±16.26	76.83±20.26
α-tocopherol (μg/mmol)	0.88±0.16	0.68±0.064	0.88±0.15
γ-tocopherol (μg/mmol)	0.025±0.0065	0.017±0.0021	0.020±0.0041
Malondialdehyde (μmol/mL)	3.69±0.71	4.23±0.60	4.21±0.86

*: $p<0.05$, ‡: $p<0.01$, ¶: $p<0.001$ compared with normal control group.
DM: diabetes mellitus. CHD: coronary heart disease.

Table 3. Clinical characteristics by methylenetetrahydrofolate reductase genotypes

	Genotype		
	AA (n=12)	AV (n=29)	VV (n=11)
Normal control, n (%)	1 (8.3)	8 (66.7)	3 (25.0)
Type 2 DM, n (%)	17 (65.4)	8 (30.8)	1 (3.8)
CHD, n (%)	12 (75.0)	3 (18.8)	1 (6.2)
Fasting tHcy (μmol/mL)	10.6±0.9	10.1±0.7	13.6±1.5*
Vitamin B_{12} (pg/mL)	619.3±85.2	695.0±51.7	529.6±79.8
Folate (ng/mL)	7.4±1.0	7.0±0.6	5.9±1.5
Creatinine (mg/dL)	1.1±0.04	1.1±0.03	1.1±0.05
Total glucose disposal rate (mg/kg · min)	5.0±0.5	5.1±0.5	4.5±0.7

*$p<0.05$, MTHFR: Methylenetetrahydrofolate reductase.
DM: diabetes mellitus. CHD: coronary heart disease.

상 또는 이형접합자에 비하여 공복 호모시스테인 농도가 유의하게 높았으나, 비타민 B_{12}, 엽산, creatinine 농도 및 포도당 이용률은 유의한 차이가 없었다(p=0.017)(Table 3). MS유전자 다형성($A_{2756}G$)은 정상(DD) 37예(69.9%), 이형접합자(DG) 14예(26.4%), 변형 동형접합자

Table 4. Clinical characteristics by methionine synthase genotypes

	Genotype		
	DD (n=37)	DG (n=14)	GG (n=2)
Normal control, n (%)	9 (75.0)	3 (25.0)	0 (0)
Type 2 DM, n (%)	3 (11.5)	16 (61.6)	7 (21.9)
CHD, n (%)	8 (57.2)	5 (35.7)	1 (7.1)
Fasting tHcy (μmol/mL)	11.1±0.7	11.4±1.0	9.6±5.2
Vitamin B_{12} (pg/mL)	653.3±40.6	602.8±92.2	693.5±123.5
Folate (ng/mL)	7.1±0.6	7.6±1.4	6.4±2.4
Creatinine (mg/dL)	1.1±0.04	1.0±0.05	1.0±0.1
Total glucose disposal rate (mg/kg · min)	5.2±0.4	4.5±0.6	2.6±1.2

MS: methionine synthase. DM: diabetes mellitus. CHD: coronary heart disease.

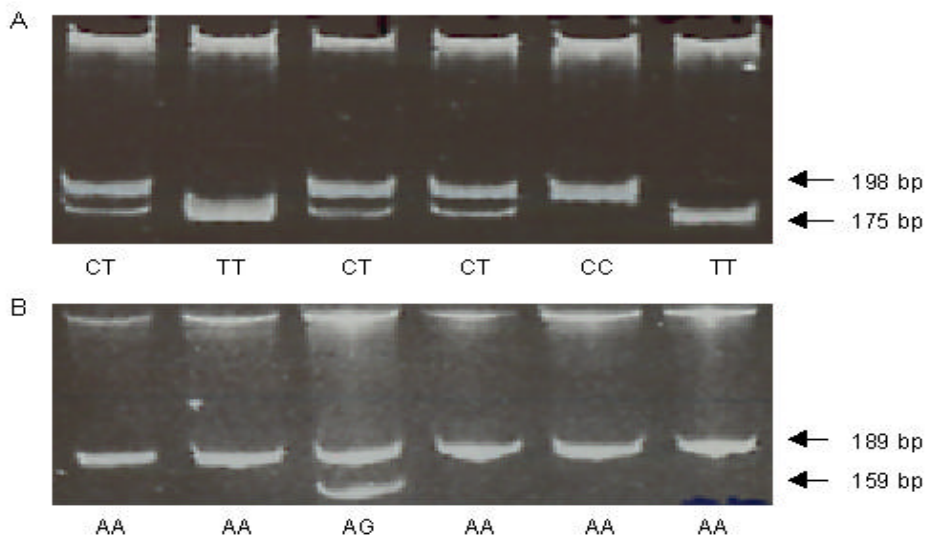

Fig. 3. Restriction enzyme analysis for the substitution of 677 cytosine to thymine of methylenetetrahydrofolate reductase gene (A) and of 2756 adenine to guanine of methionine synthase gene (B).

(GG) 2예(3.7%)가 발견되었고, 각 유전자형별로 호모시스테인 및 관련인자의 유의한 차이는 관찰할 수 없었다(Table 4)(Fig. 3).

3. 인슐린저항성과 호모시스테인, 항산화비타민의 관계

가. 포도당 이용률과 항산화비타민

포도당 이용률의 상위 삼분위군에 비하여 하위 삼분위군에서 레티놀, β-카로틴, 크립토잔

Table 5. The serum concentrations of retinol, carotenoids, tocopherols and malondialdehyde in each tertile of total glucose disposal rate (GDR)

Lipid-corrected levels	GDR tertile (mg/kg · min)		
	I (1.11 3.79)	II (3.87 5.54)	III (6.00 11.65)
Retinol (μg/mmol)	224.11±26.83‡	320.52±43.04	455.30±56.11
α-carotene (μg/mmol)	4.13±0.57	6.17±1.50	5.65±0.97
β-carotene (μg/mmol)	25.09±6.04*	44.46±7.18	58.00±10.89
Cryptoxanthin (μg/mmol)	34.45±3.03‡	81.06±11.98*	124.15±19.40
Lycopene (μg/mmol)	47.60±6.82	92.57±26.67	86.46±15.97
α-tocopherol (μg/mmol)	0.69±0.10	0.74±0.12	0.92±0.12
γ-tocopherol (μg/mmol)	0.015±0.023‡	0.020±0.039	0.024±0.044
Malondialdehyde (μmol/mL)	4.84±0.84	3.49±0.67	4.02±0.62

*: $p<0.05$, ‡: $p<0.001$ compared with levels of GDR terile III.

Table 6. Correlation coefficients of total glucose disposal rate with retinol, carotenoids, tocopherols and malondialdehyde

Lipid-corrected levels	Model 1		Model 2	
	r	*p*-value	r	*p*-value
Retinol (μg/mmol)	0.513	<0.001	0.411	0.003
α-carotene (μg/mmol)	0.110	0.426	0.102	0.487
β-carotene (μg/mmol)	0.405	0.002	0.339	0.017
Cryptoxanthin (μg/mmol)	0.589	<0.001	0.467	0.001
Lycopene (μg/mmol)	0.188	0.174	0.173	0.234
α-tocopherol (μg/mmol)	0.295	0.030	0.324	0.023
γ-tocopherol (μg/mmol)	0.268	0.050	0.267	0.064
Malondialdehyde (μmol/mL)	−0.062	0.659	−0.182	0.212

Model 1: simple correlation. Model 2: partial correlation adjusted by age, BMI, fasting blood sugar, and fasting total homocysteine.

Table 7. Correlation coefficients of log transformed fasting total homocysteine with retinol, carotenoids, tocopherols and malondialdehyde

Lipid-corrected levels	Model 1		Model 2		Model 3	
	r	*p*-value	r	*p*-value	r	*p*-value
Retinol (μg/mmol)	−0.064	0.646	0.038	0.809	0.202	0.150
α-carotene (μg/mmol)	−0.056	0.689	0.182	0.908	−0.010	0.941
β-carotene (μg/mmol)	−0.210	0.132	−1.135	0.469	−0.042	0.769
Cryptoxanthin (μg/mmol)	−0.327	0.017	−0.313	0.041	−0.098	0.488
Lycopene (μg/mmol)	0.114	0.418	−0.043	0.786	−0.037	0.794
α-tocopherol (μg/mmol)	−0.060	0.671	−0.101	0.521	0.078	0.581
γ-tocopherol (μg/mmol)	−0.139	0.321	−0.175	0.261	−0.028	0.842
Malondialdehyde (μmol/mL)	0.074	0.600	0.195	0.210	−0.052	0.715

Model 1: simple correlation. Model 2: partial correlation adjusted by age, body mass index, fasting blood sugar, vitamin B_{12}, folate, and creatinine. Model 3: partial correlation adjusted by total glucose disposal rate.

틴, γ-토코페롤 농도가 유의하게 낮았고, α-토코페롤 또한 낮은 경향이 관찰되었다(Table 5). **그러나 각 군당** MDA**의 유의한 차이는 관찰되지 않았다.**

포도당 이용률은 레티놀, β-카로틴, 크립토잔틴, α-토코페롤, γ-토코페롤과 유의한 양의 상관관계를 보였으며, 나이, 체질량지수, 공복혈당 및 호모시스테인을 보정한 후에도 레티놀, β-카로틴, 크립토잔틴, γ-토코페롤과 독립적인 상관관계가 관찰되었다. 그러나 총 포도당 이용률과 MDA**의 연관성은 관찰되지 않았다**(Table 6).

나. 호모시스테인과 항산화비타민

공복 호모시스테인 농도는 크립토잔틴 이외의 항산화비타민 및 MDA**와 유의한 상관관계를 보이지 않았으며, 포도당이용률로 보정한 후에는 상관관계의 유의성이 관찰되지 않았다**(Table 7).

다. 포도당 이용률과 호모시스테인 및 관련인자

공복호모시스테인 농도의 자연로그값은 나이, 체질량지수, 흡연, 음주, 비타민 B_{12}, **엽산, 혈청 크레아티닌 농도 등을 보정한 후에도 중성지방, 포도당 이용률 및** MTHFR **변형 동형접합자**(VV)**와 유의한 관계를 보였으며**(Table 8), **다중회귀분석 결과 포도당제거율과** MTHFR **변형 동형접합자**(VV)**가 공복호모시스테인 농도와 독립적인 관련인자임을 확인할 수 있었다**(Table 9).

4. 고 인슐린혈증에 따른 호모시스테인 및 항산화비타민의 변화

정상혈당클램프법으로 2**시간 동안 고 인슐린혈증을 유도하여 전후의 호모시스테인, 항**

Table 8. β coefficients of log transformed fasting total homocysteine in linear regression analysis

	Model 1		Model 2		Model 3	
	β	*p*-value	β	*p*-value	β	*p*-value
Age (years)	−0.004	0.454	−	−	−	−
Body mass index (kg/m^2)	0.022	0.343	−	−	−	−
Smoking (yes or no)	0.030	0.813	0.005	0.967	−	−
Alcohol (yes or no)	0.112	0.282	0.103	0.332	−	−
Vitamin B_{12} (10 pg/mL)	−0.001	0.958	−0.001	0.980	−	−
Folate (ng/mL)	−0.017	0.181	−0.013	0.351	−	−
Creatinine (mg/dL)	0.299	0.265	0.333	0.226	−	−
Total cholesterol (10 mg/dL)	0.024	0.053	0.022	0.091	0.019	0.188
Triglyceride (10 mg/dL)	0.010	0.020	0.009	0.039	0.010	0.049
LDL-cholesterol (10 mg/dL)	0.012	0.427	0.010	0.831	0.006	0.739
HDL-cholesterol (10 mg/dL)	−0.004	0.954	0.014	0.541	−0.021	0.789
Glucose disposal rate (mg/kg · min)	−0.066	0.001	−0.078	0.001	−0.086	0.003
MTHFR genotype [VV (vs AA or AV)]	0.295	0.023	0.286	0.029	0.354	0.035
MS genotype [GG or DG (vs DD)]	0.011	0.927	0.013	0.912	0.052	0.688

Model 1: simple linear regression. Model 2: adjusted by age and body mass index. Model 3: adjusted by age, body mass index, smoking, alcohol, vitamin B_{12}, folate, and creatinine.
MTHFR: methylenetetrahydrofoalte reductase. MS: methionine synthase.

Table 9. Multiple linear regression analysis, entering log transformed fasting total homocysteine as the dependent variable and fasting triglyceride, glucose disposal rate and MTHFR genotype as independent variables

	β	*p*-value
Total glucose disposal rate (mg/kg · min)	−0.053	0.008
MTHFR genotype [VV (vs AA or AV)]	0.262	0.028
Triglyceride (10 mg/dL)	0.005	0.212

MTHFR: methylenetetrahydrofolate reductase.

산화비타민의 변화를 관찰한 결과, 정상군의 경우 레티놀, α-카로틴, β-카로틴, 크립토잔틴, α-토코페롤, γ-토코페롤 등이 유의하게 감소하였다. 관상동맥질환군은 레티놀, 크립토잔틴, 리코펜이 유의하게 감소하였으나, 감소정도는 정상군에 비하여 낮음을 확인할 수 있었다(Table 2, 10). **당뇨병환자군의 경우 고 인슐린혈증 전후에 항산화비타민 농도의 유의한 변화를 관찰할 수 없었다. 포도당 이용률의 각 삼분위를 기준으로 나누어 항산화비타민의 변화를 비교한 결과, 인슐린예민도가 높은 상위 삼분위의 경우 크립토잔틴, 레티놀, α-**

Table 10. Changes of total homocysteine, retinol, carotenoids and tocopherols after 2-hour hyperinsulinemia in normal control, type 2 DM and CHD groups

Change of levels after 2-hour hyperinsulinemia	Normal control (n=12)	Type 2 DM (n=26)	CHD (n=16)
Total homocysteine (μmol/mL)	−0.42±0.79	0.60±1.17	−0.39±0.83
Retinol (μg/mmol)	132.58±38.25‡	−0.44±14.26	80.64±29.75*
α-carotene (μg/mmol)	2.17±0.84*	0.96±0.88	0.35±0.67
β-carotene (μg/mmol)	24.90±9.81*	0.54±2.71	6.72±4.14
Cryptoxanthin (μg/mmol)	40.26±11.23‡	−4.05±3.81	10.94±4.08*§
Lycopene (μg/mmol)	30.74±16.10	6.12±12.09	13.35±6.13*
α-tocopherol (μg/mmol)	0.19±0.063*	−0.13±0.18	0.074±0.087
γ-tocopherol (μg/mmol)	0.0071±0.0028*	−0.00040±0.0033	0.0030±0.0025

*: $p<0.05$, ‡ : $p<0.01$ compared with baseline levels, § : $p<0.01$ compared with normal control groups.
CHD: coronary heart disease. DM: diabetes mellitus.

Table 11. Changes of total homocysteine, retinol, carotenoids and tocopherols after 2-hour hyperinsulinemia in each tertile of total glucose disposal rate (GDR)

Change of levels after 2-hour hyperinsulinemia	GDR tertile (mg/kg · min)		
	I (1.11 3.79)	II (3.87 5.54)	III (6.00 11.65)
Total homocysteine (μmol/mL)	−0.53±1.67	1.56±2.31	−0.80±2.56
Retinol (μg/mmol)	14.92±10.89	45.45±28.05	99.07±34.20‡
α-carotene (μg/mmol)	0.030±0.62	1.75±1.21	1.36±0.63*
β-carotene (μg/mmol)	1.19±2.95	6.84±4.37	15.32±7.27*
Cryptoxanthin (μg/mmol)	1.47±1.94	4.23±6.06	25.02±9.55‡
Lycopene (μg/mmol)	1.58±2.95	19.55±4.37	20.09±7.24
α-tocopherol (μg/mmol)	−0.24±0.27	0.083±0.034*	0.16±0.045‡
γ-tocopherol (μg/mmol)	−0.0031±0.0046	0.0039±0.0020	0.0062±0.0020‡

*: $p<0.05$, ‡ : $p<0.01$, compared with baseline levels.

토코페롤, γ-토코페롤, α-카로틴, β-카로틴이 유의하게 감소하였으나, 중, 하위 삼분위의 대부분에서 유의한 변화가 없음을 확인할 수 있었다(Table 5, 11).

5. 경동맥 내중막두께와 인슐린저항성, 호모시스테인 및 항산화비타민의 관계

경동맥 평균 및 최대 내중막두께는 정상인에 비하여 제2형 당뇨병 및 관상동맥질환 환자에서 현저하게 높았다($p<0.001$). **포도당 이용률의 삼분위를 기준으로 비교한 결과, 인슐**

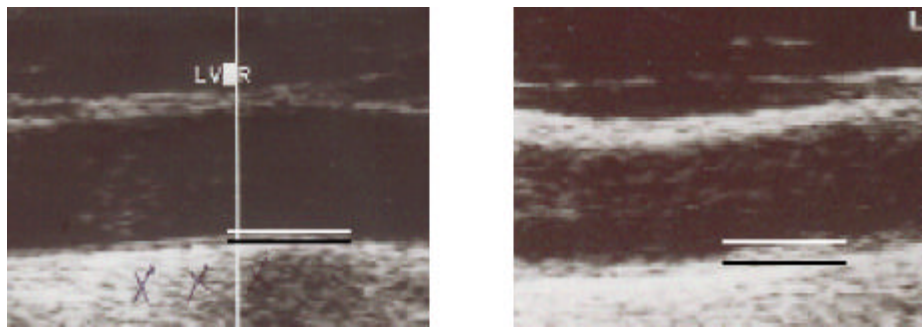

Fig. 4. High resolution ultrasonography for the measurement of intima-media thickness of carotid arteries in normal control (A) and type 2 DM subjects (B).

Table 12. Mean and maximum intima-media thickness of carotid arteries in study groups and each tertile of total glucose disposal rate

		Mean IMT (mm)	Maximal IMT (mm)
Groups (n)			
Control	(n=12)	0.58±0.033	0.66±0.027
Type 2 DM	(n=26)	0.82±0.026*	0.96±0.047*
CHD	(n=16)	0.88±0.047*	1.00±0.062*
GDR tertile (mg/kg · min) (n)			
I (1.11 3.79)	(n=17)	0.91±0.023‡	1.02±0.052‡
II (3.87 5.54)	(n=17)	0.84±0.043‡	0.89±0.065‡
III (6.00 11.65)	(n=18)	0.61±0.025	0.66±0.023

*: $p<0.001$ compared with normal control group. †: $p<0.001$ compared with GDR tertile III.
DM: diabetes mellitus. CHD: coronary heart disease. IMT: intima-media thickness. GDR: total glucose disposal rate.

린감수성인 높은 3삼분위에서 감수성이 낮은 1삼분위로 갈수록 경동맥 평균 및 최대 내중막두께가 유의하게 증가함을 확인할 수 있었다($p<0.001$)(Fig. 4)(Table 12).

경동맥 평균 및 최대 내중막두께는 나이와 체질량지수를 보정한 후에도 제2형 당뇨병 및 관상동맥질환, 총 콜레스테롤, 공복 호모시스테인, 포도당 이용률과 유의한 관계를 보였으나, MTHFR 유전자 변형 동형접합자(VV) 및 MS 유전자 G 대립유전자(DG, GG)와는 연관성을 관찰할 수 없었다(Table 13). 다중회귀분석 결과 포도당 이용률과 경동맥 평균 및 최대 내중막두께의 독립적인 연관성을 관찰할 수 있었다($p=0.001$, $p=0.003$). 경동맥 평균 내중막두께는 나이, 체질량지수, 공복 혈당을 보정한 후에도 레티놀, β-카로틴, 크립토잔틴 및 γ-토코페롤과 유의한 음의 상관관계를 보였고 경동맥 최대 내중막두께는 레티놀 및

Table 13. β coefficients of intima-media thickness of carotid arteries in linear regression analysis after adjusting age and body mass index

	Mean IMT		Maximum IMT	
	β	*p*-value	β	*p*-value
Body fat composition (%)	−0.036	0.563	−0.024	0.778
Waist hip ratio	−1.850	0.766	0.979	0.911
Type 2 DM (yes or no)	2.320	<0.001	2.951	0.001
CHD (yes or no)	2.601	<0.001	2.790	0.003
Fasting glucose (10 mg/dL)	0.060	0.409	0.093	0.360
Triglyceride (10 mg/dL)	0.027	0.189	0.053	0.071
Total cholesterol (10 mg/dL)	0.130	0.024	0.201	0.012
DL-cholesterol (10 mg/dL)	0.126	0.080	0.173	0.085
HDL-cholesterol (10 mg/dL)	0.136	0.655	0.166	0.694
Fibrinogen (10 mg/dL)	0.018	0.435	0.003	0.417
PAI-1 (ng/mL)	0.019	0.418	0.025	0.922
Total homocysteine (μmol/mL)	0.139	0.020	0.171	0.041
Vitamin B_{12} (10 pg/mL)	0.010	0.244	0.013	0.301
Folate (ng/mL)	−0.058	0.361	−0.084	0.340
Creatinine (mg/dL)	0.045	0.706	0.428	0.801
Total glucose disposal rate (mg/kg · min)	−0.058	<0.001	−0.699	<0.001
MTHFR genotype [VV (vs AA or AV)]	−0.151	0.803	−0.617	0.479
MS genotype [GG or DG (vs DD)]	0.255	0.629	0.224	0.762

β: regression coefficients per 0.1 mm change in variable. IMT: intima-media thickness. DM: diabetes mellitus. CHD: coronary heart disease. PAI: plasminogen activator inhibitor. MTHFR: methylenetetrahydrofolate reductase. MS: methionine synthase.

크립토잔틴과 유의한 음의 상관관계를 보였으나(Table 14), **포도당 이용률로 보정된 후에는 상관관계의 유의성을 관찰할 수 없었다**.

IV. 고 찰

인슐린저항성은 제2형 당뇨병의 병인일 뿐 아니라, 비만, 고혈압, 이상지질혈증 등 죽상경화증의 위험인자에서 공통적으로 관찰되는 병적 대사상태이다.[18] **초기에 이해되었던 인슐린 저항성의 개념은 '체내 표적세표에서 인슐린의 당 대사 조절 작용의 감소로 인하여 인슐린 요구량이 증가되는 상태'로 지칭되었으나,**[55] **인슐린의 다양한 기능과 관련 대사에 대한 인식이 넓어짐에 따라 만성 및 퇴행성질환의 근간으로 인정되고 있다. 따라서 인슐린 저항성과 이를 보상하는 고 인슐린혈증을 중심으로 동맥경화증의 다양한 작용기전을 규명**

Table 14. Correlation coefficients of intima-media thickness of carotid arteries with retinol, carotenoids, tocopherols and malondialdehyde

Lipid corrected levels	Mean carotid IMT				Maximum carotid IMT			
	Model 1		Model 2		Model 1		Model 2	
	r	*p*-value	r	*p*-value	r	*p*-value	r	*p*-value
Retinol (μg/mmol)	−0.379	0.005	−0.273	0.055	−0.378	0.005	−0.286	0.044
Cryptoxanthin (μg/mmol)	−0.516	<0.001	−0.480	<0.001	−0.465	<0.001	−0.433	0.002
α-tocopherol (μg/mmol)	−0.222	0.107	−0.210	0.143	−0.242	0.078	−0.219	0.127
γ-tocopherol (μg/mmol)	−0.279	0.041	−0.291	0.367	−0.227	0.099	−0.230	0.108
α-carotene (μg/mmol)	−0.119	0.393	−0.125	0.386	−0.083	0.548	−0.084	0.564
β-carotene (μg/mmol)	−0.311	0.022	−0.318	0.024	−0.265	0.053	−0.273	0.056
Lycopene (μg/mmol)	−0.174	0.208	−0.190	0.186	−0.160	0.248	−0.170	0.327
Malondialdehyde (μmol/mL)	0.123	0.379	0.206	0.151	0.101	0.470	0.175	0.306

Model 1: simple correlation. Model 2: partial correlation adjusted by age, body mass index, and fasting blood sugar. IMT: intima media thickness.

하고자 하는 움직임이 계속되고 있다.[56-59] 인슐린저항성이 대혈관질환 위험요인의 공통 분모로 인정되는데 반하여, 산화스트레스의 증가는 동맥경화증 발생의 공통 기전으로 제시되어 적지 않은 관심이 집중되고 있다.[60] 특히 당뇨병의 경우 고혈당 자체가 산화스트레스를 증가시키는 주요인자이므로, 증가된 산화스트레스에 의한 조직손상이 당뇨병성 만성합병증 발생의 공통 경로로 제안되어, 이를 방지하는 항산화체계에 대하여 적극적인 연구가 요구되고 있다.[61,62] 그러나 산화스트레스 및 항산화체계의 이상은 고혈당뿐 아니라 고혈압, 복부비만 및 다양한 체내 대사와 관계하는 것으로 알려져 세부 작용기전 규명을 위한 활발한 연구가 진행되고 있다.[63,64] 본 연구 결과, 심혈관질환의 병력이 없는 당뇨병의 경우 관상동맥질환과 같이 항산화비타민 농도가 현저히 낮음을 관찰할 수 있었다. 항산화비타민의 농도는 나이, 체질량지수, 공복 혈당 및 호모시스테인 농도를 보정한 후에도 포도당 이용률과 유의한 상관관계를 보여, 인슐린 저항성 및 관련 대사상태가 혈중 항산화비타민 감소와 밀접히 관계함을 짐작할 수 있었다. 이는 당뇨병에서 흔히 관찰되는 산화스트레스의 증가에 고혈당뿐 아니라 인슐린 저항성이 관계함을 시사하며, 그 동안 보고된 산화스트레스와 동맥경화증 위험인자의 관계에 인슐린저항성의 역할이 잠재되어 있음을 짐작하게 한다.[65-67] 또한, 고 인슐린혈증에 의한 항산화비타민의 농도변화가 주로 인슐린예민도가 양호한 정상군 또는 포도당 이용률의 상위 삼분위군에서 관찰되어 인슐린이 항산화비타민 대사 및 조절에 직접 관여함을 확인할 수 있었다. 항산화제와 인슐린 저항성의 관계는 1996년 미국영향학회에서 항산화작용에 관여하는 크롬(chromium), 아연(zinc), 비타민 C 등이

인슐린저항성을 완화한다고 제안된 후 관심 분야로 부각되었고,[68,69] 항산화제인 α-lipoic acid가 당뇨병성 신증 치료 뿐 아니라 산화적 포도당 대사 및 글리코겐 합성을 증가시켜 인슐린예민도를 증가시키는 것으로 알려져 있으나,[70] 인슐린 저항성이 항산화비타민 대사에 관여하는 명확한 기전은 알려진 바 없다. 최근, 정상인에서 인슐린저항성지표와 지질과산화물의 역상관관계와 항산화비타민과의 양의 상관관계가 보고되어 본 연구결과를 긍정적으로 뒷받침하고 있으나,[71] 주로 음식을 통한 항산화비타민 섭취 감소가 인슐린저항성의 일차적인 원인으로 추정하고 있으며 인슐린 및 인슐린저항성의 영향을 긍정적으로 고려하지 않고 있다.[72] 그러나, 다 기관 공동 연구 결과 총 열량 및 체질량지수로 보정한 항산화비타민 섭취량이 인슐린저항성과 무관함이 관찰되었고,[73] 본 연구에서 혈중 인슐린 증가에 따른 항산화비타민 농도 변화가 확인되었으므로, 인슐린저항성을 산화스트레스의 이차적 결과로 단정할 수 없음을 알 수 있었다. 산화스트레스 및 항산화체계에 인슐린저항성이 작용하는 기전은 다음과 같은 가설로 짐작할 수 있다. 첫째, 인슐린저항성과 관련 대사상태가 체내 산화스트레스 증가를 야기할 수 있다. 일부에서 인슐린저항성과 미토콘드리아의 양적, 기능적 이상이 연관되어 있는 것으로 보고되었고[74] 미토콘드리아의 전자전달계는 반응성 산소종 생성과 밀접한 관계가 있으므로,[21] 인슐린저항성의 증가와 기초 대사의 감소에 따라 미토콘드리아의 산화스트레스 생성이 항진되어 항산화비타민의 소모를 가중시킬 수 있다.[75] 둘째, 인슐린은 혈관세포에서 PI-3 kinase 경로를 통하여 NO 생성을 자극하므로,[61,76] 인슐린저항성에 의하여 지단백의 산화 억제 기능을 가진 NO의 생성이 감소하여 간접적으로 산화스트레스 증가를 야기할 수 있다. 셋째, 인슐린저항성과 동반되는 고 인슐린혈증이 항산화비타민의 감소에 관여할 수 있다. 고 인슐린혈증이 항산화비타민 대사에 미치는 영향은 명확하지 않으나, 인슐린 증가에 따른 체내 영양소의 대사 및 세포내 신호전달과정에서 반응성 산소종이 생성될 가능성이 있으며,[77,78] 지용성 비타민의 대사에 인슐린이 작용할 수 있다. 결과에서 항산화비타민의 농도 감소로 체내 산화스트레스의 양의 증가를 짐작함은 일부 오류를 야기할 수 있다. 물론 산화 스트레스의 생성량을 직접 측정하는 방법이 이상적이지만, 자유라디칼은 높은 반응성, 짧은 반감기, 매우 낮은 농도로 인하여 생체 내에서 직접 정량하기 어려우므로, 당산화물 또는 지질 과산화물의 양으로 산화손상의 정도를 유추하거나 항산화제의 소모 및 감소정도로 간접 평가할 수 있다.[61] 체내 항산화체계는 superoxide dismuatase, glutathion peroxidase family 등 자유라디칼을 제거하는 효소계통 물질, transferrin, ceruloplasmin, haemoglobin 등 자유라디칼 반응의 금속 물질 사용을 최소화하는 단백질, heat shock protein과 같이 산화적 손상을 막는 단백질 및 반응성 산소종을 제거하는 저분자 물질로 나누어진다.[79,80] 그러나, 대부분은 독성학적 또는 실험적 환경과 관련된 물질이므로, 음식물을 통하여 섭취되어 반응성 산소종 제거에 관여하는 항산화비타민의 역할에 관심이 집중하고 있다. 항산화비타민은 개인에 따른 차이는 존재하지만, 특별한 식사요법 또는 영양결핍을 시행하지 않는 경우 체내에서 일정한 범위로 유지되며,

혈청 농도는 심혈관질환과 강한 역상관관계를 보이므로 산화스트레스의 증가를 간접적으로 반영할 수 있다.[81,82] 지용성 항산화비타민이 킬로미크론을 통하여 체내에 유입되어 간세포에서 초저밀도 지단백에 포장된 후, 고밀도 지단백 및 저밀도 지단백으로 옮겨가므로, 고 인슐린혈증 후 항산화비타민의 급격한 감소를 인슐린에 의한 혈액내 지질 변화의 결과로 판단할 수 있다.[83,84] 그러나, 분석에 이용한 항산화비타민 농도는 고 인슐린혈증에 의하여 변화한 혈청 지질치를 보정한 값이고, 당뇨병 및 심혈관질환군에서 고 인슐린혈증에 후에 중성지방 농도가 유의하게 감소함에도 불구하고 항산화비타민이 변화는 미소하므로 지질치 변화에 의한 간접적 영향으로 설명하기는 어려울 것으로 생각된다. 항산화비타민 중 레티놀, 크립토잔틴, β-카로틴 등과 심혈관질환, 당뇨병, 경동맥 내중막두께 및 인슐린 저항성의 밀접한 관계가 관찰되는데 반하여, 리코펜, α-카로틴 등은 관련성이 미약함을 관찰할 수 있었다. 이러한 현상으로 항산화비타민이 각각 선택적인 환경과 대사 경로에 따라 작용함을 짐작할 수 있으나, 유의한 관계를 보이는 항산화비타민의 경우 혈액내 농도가 상대적으로 높아 변화 여부를 민감하게 관찰할 수 있음을 감안하여야 하겠다. 지질의 과산화물인 MDA가 관련 위험인자와 유의한 관계를 보이지 않은 이유는 MDA가 비 특이적인 과산화물의 일부이므로 반응가능한 지질치 보유량에 따라 생성정도가 상이할 수 있어, 대상자간의 비교보다는 동일인에서 중재 후 변화여부를 평가에 이용하는 것이 바람직 할 것으로 생각한다.[85] 본 연구에서 항산화비타민 농도와 경동맥내중막 두께의 상관관계는 포도당 이용률을 보정한 후 유의하지 않음을 알 수 있어 동맥경화증에 대한 인슐린저항성의 독립적인 관계를 확인할 수 있었다. 이러한 현상은 항산화비타민의 영향이 인슐린저항성과의 다중공선성에 의하여 과보정되었을 가능성과 측정 자료의 특성에 따라 야기 될 수 있으나, 동맥경화증의 병인기전에서 인슐린저항성과 항산화제의 상호 인과적 관계를 강하게 강조하고 있다. 최근 항산화비타민 투여가 심혈관질환의 일, 이차 예방에 미치는 효과에 대하여 적지 않은 임상 연구가 진행되고 있으므로, 혈관병변에 대한 항산화비타민의 독립적인 역할과 인슐린 저항성과의 상호작용을 신중이 고려하여 평가하여야 하겠다.[86-88]

호모시스테인과 대혈관질환의 독립적인 관계는 심혈관질환 예방을 위한 보건학 및 임상영양학적 지침에 적지 않은 변화를 야기하고 있다. 지질 섭취 제한과 콜레스테롤 조절을 중심으로 진행되어온 기존의 틀에서 단백질 및 아미노산계통의 영양소까지 관심이 확장되었으며, 비타민 B_{12}과 엽산 섭취를 강화하고자 하는 움직임이 진행되고 있다.[89,90] 특히, 혈중 호모시스테인 농도 증가를 야기하는 메티오닌은 일반적인 육류, 콩, 계란 등에 널리 포함되어 있으므로, 지질 섭취 뿐 아니라 과다한 단백질 섭취 제한에 대하여 의문이 제기되고 있고,[91] 공복 호모시스테인 농도가 당뇨병성 대혈관질환에 의한 사망과 밀접히 관계하므로 선별 검사의 필요성과 수정 가능한 생활습관 변화에 관심이 집중되고 있다. 그러나 혈관병변에 대한 호모시스테인 가설에 적지 않은 논란이 잔존하고 있다. 첫째, 호모시스테인 농도 증가와 관련한 식생활 습관은 단백질 섭취보다는 지방 섭취, 커피, 흡연 등 기존

동맥경화증의 위험 요인과 밀접히 관련됨을 발견할 수 있으며,[92,93] 둘째, 고 호모시스테인혈증으로 혈관병변을 유도한 기존의 동물 실험 연구는 정상 호모시스테인 농도보다 10 20배 높은 농도에서 시행하였으므로 이러한 관계를 생리학적 농도까지 확장하여 해석하기 어렵고,[94] 셋째, 혈관병변에 대한 호모시스테인의 작용기전은 thiol기가 쉽게 산화되어 반응성 산소종을 형성하는 것으로 알려져 있으나, 같은 thiol기를 포함하는 시스테인은 호모시스테인보다 높은 농도임에도 불구하고 혈관질환과 유의한 관계가 관찰되지 않고 있다.[35] 넷째, 호모시스테인 농도 증가를 야기하는 MTHFR 이형성($C_{677}T$) 변형 동형접합자(VV)는 많은 선행연구에서 심혈관질환과 관계가 미흡한 것으로 보고되어 명확한 작용기전 규명이 어려운 형편이다.[95-97] 또한, 동맥경화증은 광범위한 혈관손상을 동반하므로 이의 복원을 위하여 비타민 B_{12}와 엽산의 소모가 증가하고 이차적으로 호모시스테인 증가가 발생할 수 있어 정확한 병인 기전과 인과관계 규명이 필요한 실정이다.[98] 본 연구에서 나이, 성별, 체질량지수, 비타민 B_{12}, 엽산, 크레아티닌 농도, 유전자 이형성(MTHFR (C677T), MS (A2756G)) 등 관련인자를 보정한 후에도 공복 호모시스테인 농도와 포도당 이용률의 독립적인 음의 연관성이 관찰되어 호모시스테인 대사에 인슐린 저항성이 밀접히 관여함을 알 수 있었다. 호모시스테인 대사의 trans-sulfuration과정을 담당하는 CBS 이형성은 exon 8번에 68염기쌍이 삽입된 844ins68 변형과, T833C G919A 변형이 보고되어 있으나, 844ins68 변형은 호모시스테인 농도와 무관하거나 methionine 부하 후 농도와 관계하는 것으로 알려져 있고, $T_{833}C$, $G_{919}A$ 변형은 매우 드물어 본 연구 결과에 큰 영향을 미치지 않을 것으로 생각된다.[99,100] 이러한 결과는 선행연구에서 보고되었던 호모시스테인 농도 증가와 지방섭취, 고혈압, 콜레스테롤 등 기존 심혈관질환 위험인자의 관계를 적절히 설명할 수 있으며, 관상동맥질환 환자에서 발견되는 고 호모시스테혈증의 47%가 음식섭취, 신장 기능 이상, 유전자 변형과 무관하며 원인이 명확하지 않음을 지적한 기존의 보고들에 해결 가능한 답변을 제시하고 있다.[101] 따라서 심혈관질환과 MTHFR 이형성의 관계가 미흡한 이유 또한 인슐린저항성의 역할을 이해함에 따라 쉽게 설명할 수 있다. 최근 정상인 및 비만 아동에서 공복 호모시스테인 농도와 인슐린농도의 독립적인 상관관계가 관찰되어 인슐린 저항성과 호모시스테인의 연관성을 간접적으로 시사하였으나,[102,103] 인슐린저항성 지표와의 관계를 직접 평가한 일부 보고들이 상반되는 결과를 제시하여 논란이 계속되고 있다.[104-106] 그러나, 인슐린저항성과 호모시스테인 모두가 기존 동맥경화증 위험요인들과 유사한 연관성을 보일 뿐 아니라 인슐린이 단백질의 동화작용에 밀접히 작용하므로 이들의 연관 가능성을 강하게 의심할 수 있다. 호모시스테인이 나이, 성별, 체질량지수 및 체지방량, 식사습관 뿐 아니라, 관련 효소 유전자 이형성, 보조 인자, 신장 기능 등 다양한 요인에 영향을 받으므로, 관련인자들의 적절한 보정과 함께 인슐린저항성을 변화하는 중재를 통하여 인과관계를 규명하여야 할 것으로 생각한다. 결과에서 경동맥 내중막두께와 공복 호모시스테인 농도의 양의상관관계와 MTHFR 이형성과 공복 호모시스테인 농도의 독립적인 연관성이 관

찰되었으나, 경동맥 내중막두께와 MTHFR 이형성은 유의한 관계가 관찰되지 않았다. 이러한 현상은 심혈관질환에서 관찰되는 호모시스테인 농도의 증가가 인슐린 저항성의 부수현상일 가능성을 시사하므로, 인슐린저항성을 고려하지 않고 비타민 B_{12}와 엽산 보충을 통하여 호모시스테인 감소를 유도하는 임상시도에 적지 않은 제한점을 도출할 수 있다. 또한, 호모시스테인과 항산화비타민의 연관성이 관찰되지 않아 산화스트레스를 통한 호모시스테인의 혈관손상기전에 부정적인 의견을 제시한 일부 연구[107]와 함께 의심을 가중시키고 있다. 그러나, 선천성 호모시스테인뇨증 환자의 경우 광범위한 혈관손상으로 조기 사망하며 산화기전 이외의 호모시스테인의 작용을 배제할 수 없으므로, 고 호모시스테인 혈증이 혈관질환에 관여하는 독립적인 역할은 부정하기는 어려울 것으로 생각한다.[108,109] 따라서, 생리학적 농도에서 호모시스테인의 주요 혈관손상기전에 대하여 명확한 규명이 진행되어야 할 것으로 생각한다. 본 연구에서 2시간 동안 고 인슐린혈증을 유도한 결과 호모시스테인 농도의 유의한 차이가 관찰되지 않아, 인슐린과 호모시스테인 대사의 직접적인 관련성을 확인할 수 없었다. 그러나, 아미노산계 영양소에 대한 인슐린의 작용이 포도당 및 지질에 비하여 비교적 둔감하므로 변화 평가를 위한 시간이 다소 부족하였을 가능성도 배제할 수 없다.[110] 일부 연구에서 3시간 동안 더 많은 양의 인슐린(300 $mU/m^2 \cdot min$)을 주입하여 호모시스테인 농도가 다소 감소함을 보고하였으나, 인슐린 농도가 생리학적 범위를 크게 벗어났고 대상자의 수가 적어 관계 규명에 제한이 있음을 알 수 있다.[111] 호모시스테인과 인슐린 및 인슐린저항성의 관계는 심혈관질환의 예방 지침과 임상중재에 적지 않은 영향을 부여할 수 있다. 따라서, 비타민 B_{12} 및 엽산 섭취를 통한 중재 외에도 인슐린저항성 호전을 통한 호모시스테인 감소여부를 평가하고, 인슐린저항성과 독립적인 호모시스테인 감소의 효과를 조사하여야 하겠다.

대혈관질환의 예방 및 관리에 중심적 요인으로 인슐린 저항성이 주목되어온 이유는, 다양하고 복합적으로 얽혀있는 동맥경화증 위험 요인들을 포괄적으로 연결하는 중심축의 상당 부분을 인슐린저항성이 자리잡고 있기 때문으로 생각된다. 결론적으로, 인슐린저항성은 동맥경화증에 대한 호모시스테인 및 항산화체계의 역할에 밀접히 연관되어 있으므로 이들을 이용한 임상적 중재의 효과 및 고유 기전 규명에 인슐린저항성을 신중히 고려하여야 할 것으로 생각한다.

V. 결　　론

본 연구자는 인슐린저항성, 호모시스테인 및 항산화비타민이 동맥경화증에 미치는 영향 및 상호작용을 평가하기 위하여 정상인 제2형 당뇨병 및 관상동맥질환 환자를 대상으로 포도당 이용률과 호모시스테인, 항산화비타민의 연관성을 조사하고, 경동맥 내중막두께와의 관계를 분석하여 다음과 같은 결과를 알 수 있었다.

1. 인슐린감수성 지표인 포도당 이용률은 정상인에 비하여 제2형 당뇨병 및 관상동맥질환군에서 현저히 낮았다. 제2형 당뇨병군에서 레티놀, β-카로틴, 크립토잔틴, 관상동맥질환군에서 β-카로틴, 크립토잔틴농도가 정상군에 비하여 유의하게 낮게 관찰되었다.

2. 레티놀, β-카로틴, 크립토잔틴, α/γ-토코페롤과 포도당 이용률은 나이, 체질량지수, 공복 혈당 및 호모시스테인 농도를 보정한 후에도 유의한 양의 상관관계를 보였으며, 공복 호모시스테인 농도와 포도당 이용률의 관계는 나이, 체질량지수, 흡연, 음주, 비타민 B_{12}, 엽산, 혈청 크레아티닌 농도를 보정한 후에도 유의함을 확인할 수 있었다. 그러나 공복 호모시스테인과 항산화비타민 농도의 독립적인 연관성은 관찰할 수 없었다.

3. 대상자에서 2시간 동안 고 인슐린혈증(100 μU/mL)을 유도하여 각 군 및 포도당 이용률의 삼분위당 항산화비타민과 호모시스테인 농도의 변화를 관찰한 결과, 정상군과 포도당 이용률 상위 삼분위 군에서 레티놀, α/β-카로틴, 크립토잔틴, α/γ-토코페롤이 현저히 감소하였으며, 당뇨병 및 관상동맥질환군, 포도당 이용률의 중등도 및 하위 삼분위군의 대다수에서 유의한 변화를 관찰할 수 없었다.

4. 경동맥 평균 및 최대 내중막두께는 나이 및 체질량지수를 보정한 후에도 제2형 당뇨병 및 관상동맥질환 유무, 총 콜레스테롤, 공복 호모시스테인 및 포도당 이용률과 유의한 관계를 보였다. 나이, 체질량지수, 공복 혈당을 보정한 후에도 레티놀, β-카로틴, 크립토잔틴은 경동맥 평균 및 최대 내중막두께와 유의한 음의 상관관계를 보였다.

5. 다중회귀분석 결과 MTHFR 유전자($C_{677}T$) 동형접합자(VV)는 인슐린 저항성과 독립적으로 공복 호모시스테인 농도의 증가와 관계함을 알 수 있었으나, 경동맥 내중막두께와 연관성은 관찰할 수 없었다. MS의 G 대립 유전자($A_{2756}G$)와 공복 호모시스테인 및 경동맥 내중막두께는 유의한 연관성이 관찰되지 않았다.

이상의 결과로, 제2형 당뇨병 및 관상동맥질환 환자에서 경동맥 내중막두께의 위험인자로 관찰되는 호모시스테인 증가 및 항산화비타민 감소가 인슐린 저항성과 밀접히 연관되어 있음을 알 수 있었다. 따라서 향후, 호모시스테인 농도를 낮추거나 항산화체계를 강화하는 임상 중재에 인슐린저항성의 역할을 신중히 고려하여야 할 것으로 생각한다.

참 고 문 헌

1. 김일순. 한국인 5대 사망원인 질환의 현황 및 추이. 대한의학협회지 1995;38:132-45.
2. Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study. JAMA 1979;241:2025-38.
3. King GL. The role of hyperglycemia and hyperinsulinemia in causing vascular dysfunction in diabetes. Ann Med 1996;28:427-32.
4. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. Diabetes 1998;37:1595-607.

5. Haffner SM, Valdez RA, Hazuda HP, Michell BD, Morales PA, Stern MP. Prospective analysis of the insulin resistance syndrome (Syndrome X). Diabetes 1992;41:715-22.
6. Reaven GM, Chen IY-D, Jeppesen J, Krauss RM. Insulin resistance and hyperinsulinemia in individuals with small, dense, low density lipoprotein particles. J Clin Invest 1993; 92:141-6.
7. Austin MA, Selby JV. LDL subclass phenotypes and the risk factors of the insulin resistance syndrome. Int J Obes 1995;19:S22-6.
8. Vague P, Juhan-Vague I, Aillaud MF, Badier C, Viard R, Alessi MC, et al. Correlation between blood fibrinolytic activity, plasminogen activator inhibitor 1 level, plasma insulin level, and relative body weight in normal and obese subjects. Metabolism 1986;35:250-3.
9. Goldstein RH, Poliks CF, Pilch PF, Fine A. Stimulation of collagen formation by insulin and insulin-like growth factors I in cultures of human lung fibroblasts. Endocrinology 1989;124:964-70.
10. Larson DM, Haudenschild CC. Activation of smooth muscle cell outgrowth from BB/Wor rat aortas. Diabetes 1988;37:1380-5.
11. De Cartesian R, Libby P, Peng HB, Thannickal VJ, Rajavashisth TB, Gimbrone MA Jr, et al. Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecule and proinflammatory cytokines. J Clin Invest 1995;6:60-8.
12. Zeng G, Quon MJ. Insulin-stimulated production of nitric oxide is inhibited by wortmannin. Direct measurement in vascular endothelial cells. J Clin Invest 1996;98:894-8.
13. Rowe JW, Young JB, Minaker KL, Stevens AL, Pallotta J, Landsberg L. Effect of insulin and glucose infusions on sympathetic nerve system activity in normal man. Diabetes 1981; 30:219-25.
14. Baum M. Insulin stimulate volume absorption in the rabbit proximal convoluted tubule? J Clin Invest 1987;79:1104-9.
15. Drazin B, Sussman KE, Eckel R, Kao M, Yost T, Sherman NA. Possible role of cytosolic free calcium concentration in mediating the insulin resistance of obesity and hyperinsulinemia. J Clin Invest 1988;82:1848-51.
16. Stout RW, Bierman EL, Ross R. Effect of insulin on the proliferation of cultured primate arterial smooth cells. Circ Res 1975;36:319-27.
17. Kaiser N, Tur-Sinai A, Hasin M. Binding, degradation, and biological activity of insulin in vascular smooth muscle cells. Am J Physiol 1985;249:E292-8.
18. De Fronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance. A multifactorial syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia and atherosclerotic cardiovascular diseases. Diabetes Care 1991;14:173-94.
19. Hachiya HL, Halban PA, King GL. Intracellular pathways of insulin transport across vascular

endothelial cells. Am J Physiol 1988;225:C459-64.
20. Wilztum JL. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. Lancet 1994;344:793-5.
21. Freeman BA, Carpo JD. Biology of disease. Free radicals and tissue injury. Lab Invest 1982;47:412-26.
22. Kawamura M, Heinecke JW, Chait A. Pathophysiological concentrations of glucose promote oxidative modification of low density lipoprotein by a superoxide-dependent pathway. J Clin Invest 1994;94:771-8.
23. Yan SD, Schmit AM, Anderson GM, Zhang J, Brett J, Zou YS, et al. Enhanced cellular oxidant stress by the interaction of advanced glycosylation end products with their receptors/ binding proteins. J Biol Chem 1994;269:9889-97.
24. Takakara N, Kashiwagi A, Nishio Y, Harada N, Kojima H, Maegawa H, et al. Oxidized lipoproteins found in patients with NIDDM stimulate radical-induced monocyte chemoattractant protein-1 mRNA expression in cultured human endothelial cells. Diabetologia 1997;40:662-70.
25. Gibbons GH, Dzau VJ. Molecular therapies for vascular disease. Science 1996;272:689-93.
26. Steinberger D, Pathasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol: modification of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. N Eng J Med 1989; 320:915-20.
27. Rajavashisth TB, Andalibi A, Territo MC, Berliner JA, Novab M, Fogelmen AM, et al. Induction of endothelial cell expression of granulocyte and macrophage colony-stimulating factors by modified low-density lipoproteins. Nature 1990;344:254-7.
28. Kahn BR, Parthasarathy SS, Alexander RW, Medford RML. Modified low density lipoprotein and its constituents augment cytokine-activated vascular cell adhesion molecule-1 gene expression in human endothelial cells. J Clin Invest 1995;95:1262-70.
29. Ohlsson BG, Englund MC, Karlsson AL, Knutsen E, Erixon C, Skribeck H, et al. Oxidized low density lipoprotein inhibits lipopolysaccharide-induced binding of nuclear factor-B to DNA and the subsequent expression of tumor necrosis factor and interleukin-1β in macrophage. J Clin Invest 1996;98:78-89.
30. Lyons TJ. Lipoprotein glycation and its metabolic consequences. Diabetes 1992;41:S67-73.
31. Fu M-X, Requena JR, Jenkins AJ, Lyons TJ, Baynes JW, Thorpe SR. The advanced glycation end products, N-(carboxymethyl)lysine, is a product of both lipid peroxidation and glycoxidation reactions. J Biol Chem 1996;271:9982-6.
32. Semenkovich CF, Heinecke JW. The mystery of diabetes and atherosclerosis. Time for a new plot. Diabetes 1996;46:327-34.
33. Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. JAMA 1995;274:1049-57.
34. Nygard O, Nordrehaug JE, Refusum H, Ueland PM, Farstad M, Vollset ST. Plasma homo-

cysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. N Eng J Med 1997; 337:230-6.
35. Mudd SH, Levy HL, Skovby F. Disorders of transsulfuration. In: Scriber C, Beaudet A, Sly W, Valle D, editors. Metabolic Basis of Inherited Disease. New York: McGrawHill; 1995. p.1279-327.
36. Brattstrom L. Vitamins as homocysteine-lowering agents. J Nutr 1996;126:S1276-80.
37. Tucker KL, Mahnken B, Wilson PWF, Jacques P, Selhub J. Folic acid fortification of the food supply. Potential benefits and risks for the elderly population. JAMA 1996;276:1879-85.
38. Kang SS, Passen EL, Ruggie N, Wong PW, Sora H. Thermolabile defects of methylenetetrahydrofolate reductase in coronary artery disease. Circulation 1993;88:1463-9.
39. **강문수, 양동호, 최종순, 하권수, 홍세용. 한국인에서** 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase **유전자 다형성에 관한 연구. 대한내과학회지** 1999;56:41-6.
40. Morita H, Kurihara H, Sugiyama T, Hamada C, Kurihara Y, Shindo T, et al. Polymorphism of the methionine synthase gene: association with homocysteine metabolism and late onset vascular disease in the Japanese population. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1999;19:298-302.
41. Munshi MN, Stone A, Fink L, Honseca V. Hyperhomocysteinemia following a methionine load in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus and macrovascular disease. Metabolism 1996;45:133-5.
42. Hoogeveen EK, Kostense PJ, Beks PJ, Mackaay AJC, Jakobs C, Bouter LM, et al. Hyperhomocystenemia is associated with an increased risk of cardiovascular disease, especially in non-insulin-dependent diabetes mellitus, A population-based study. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1998;18:133-8.
43. Stehouwer CDA, Gall MA, Hougaard P, Jakobs C, Parving HH. Plasma homocysteine concentration predicts mortality in non-insulin-dependent diabetic patients with and without albuminuria. Kidney Int 1999;55:308-14.
44. National Diabetes Data Group. Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. Diabetes 1979;28:1039-57.
45. Wollensen F, Brattstrom L, Refsum H, Ueland PM, Berglund L, Berne C. Plasma total homocysteine and cysteine in relation to glomerular filtration rate in diabetes mellitus. Kidney Int 1999;55:1028-35.
46. De Fronzo RA, Tobin JD, Anres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. Am J Physiol 1979;6:E214-33.
47. Anderson A, Battstrm L, Isaksson A, Israelsson B, Hultberg B. Determination of homocysteine in plasma by ion-exchange chromatography. Scand J Clin Lab Invest 1989;49:445-9.
48. Yeum KJ, Lee-Kim YC, Yoon S, Lee KY, Park IS, Lee KS, et al. Similar metabolites formed from β-carotene by human gastric mucosal homogenates, linoleic acid hydroperoxide. Arch

Biochem Biophys 1995;321:167-74.
49. McCrehan WA. Determination of retinyl esters and retinol in serum or plasma by normal phase liquid. Methods in Enzymol 1986;189:172-81.
50. Buckingham KW. Effect of dietary polyunsaturated/saturated fatty acid ratio and dietary vitamin E on lipid peroxidation in the rat. J Nutr 1985;115:1425-35.
51. Fosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetra-hydrofolate reductase. Nat Genet 1995;10:111-3.
52. Leclere D, Campeau E, Goyette P, Adjalla CE, Christensen B, Ross M, et al. Human methionine synthase: DNA cloning and identification of mutations in patients of the cb/G complementation group of folate/cobalamin disorders. Hum Mol Genet 1996;5:1867-74.
53. Salonen R, Haapanem A, Salonen JT. Measurement of intima-media thickness of common carotid arteries with high-resolution B-mode ultrasonography: inter and intraobserver variability. Ultrasound Med Biol 1991;17:225-30.
54. **고영국, 박석원, 김대중, 안철우, 남수연, 남재현 등. 인슐린비의존형 당뇨병에서 고해상도 B-mode 초음파로 측정한 경동맥 내중막두께와 죽상동맥경화증 위험인자들과의 관계. 당뇨병** 1999;23:234-42.
55. Berson SA, Yalow RS. Insulin antagonist and insulin resistance. In: Ellenberg M, Rifkin H, editors. Diabetes Mellitus: Theory and Practice. 1st ed. New York: McGraw Hill; 1970. p.388-423.
56. Solymoss BC, Marcil M, Chaour M, Gilfix BM, Poitras AM, Campeau L. Fasting hyperinsulinemia, insulin resistance syndrome, and coronary artery disease in men and women. Am J Coll Cardiol 1995;76:1152-6.
57. Shinozaki K, Suzuki M, Ikebuchi M, Hara Y, Harano Y. Demonstration of insulin resistance in coronary artery disease documented with angiography. Diabetes Care 1996;19:1-7.
58. Suzuki M, Shinozaki K, Kanazawa A, Hara Y, Hatori M, Harano Y. Insulin resistance as an independent risk factor for carotid wall thickness. Hypertension 1996;28:593-8.
59. **허갑범, 박석원, 이현철, 이종호. 한국인의 인슐린저항성증후군. 대한내분비학회지** 1999;14:1-13.
60. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. N Eng J Med 1999;340:115-26.
61. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complication in diabetes. Diabetes 1991;40:405-12.
62. Giugliano D, Cerielle A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. Diabetes Care 1996;19:257-67.
63. Ohrvall M, Tengblad S, Bessby B. Lower tocopherol serum levels in subjects with abdominal obesity. J Int Med 1993;234:53-60.
64. Griendling KK, Minieri CA, Ollerenshaw JD, Alexander RW. Angiotensin II stimulates

NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cell. Circ Res 1994;74:1141-8.
65. Gazino M, Hennekens CH. Antioxidant vitamins, diabetes and cardiovascular disease. Clin Diabetes 1994;12:88-92.
66. Griendling KK, Alexander WR. Oxidative stress and cardiovascular disease. Circulation 1997;96:3264-5.
67. **장양수, 조은영, 이종호, 정남식. 관상동맥경화증 환자에서 체지방분포와 항산화제의 변화. 순환기** 1999;29:55-66.
68. Preuss HG. The insulin system: influence of antioxidants. J Am Coll Nutr 1998;17:101-2.
69. Cunningham JJ. Zinc, insulin and diabetes. J Am Coll Nutr 1998;17:109-15.
70. Jacob S, Streeper RS, Fogt DL, Hokama JY, Tritschler HJ, Dietz GJ. The antioxidant alpha-lipoic acid enhance insulin-stimulated glucose metabolism in insulin-resistant rat skeletal muscle. Diabetes 1996;45:1024-9.
71. Facchini FS, Humphreys MH, DoNascimeneto CA, Abbasi F, Reaven GM. Relation between insulin resistance and plasma concentration of lipid hydroperoxide, carotenoids, and tocopherols. Am J Clin Nutr 2000;72:766-9.
72. Ford ES, Will JC, Bowman BA, Narayan KMV. Diabetes mellitus and serum carotenoids: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. Am J Epidemiol 1999;149:168-76.
73. Sanchez-Lugo L, Mayer-Davis EJ, Howard G, Selby JV, Ayad MF, Rewers M, et al. Insulin sensitivity and intake of vitamins E and C in African American, Hispanic, and non-Hispanic white men and women: the Insulin Resistance and Atherosclerosis Study (IRAS). Am J Clin Nutr 1997;66:1224-31.
74. Lee HK. Evidence that the mitochondrial genome is the thrifty genome. Diabet Res Clin Pract 1999;42:127-35.
75. Baynes JW, Thrope SR. The role of oxidative stress in diabetic complications. Current Opinion Endocrinol 1996;3:277-84.
76. Scherrer U, Randin D, Vollenweider P, Vollenweider L, Nicod P. Nitric oxide release accounts for insulin's vascular effects in humans. J Clin Invest 1994;94:2511-5.
77. Sundaresan M, Yu ZX, Ferrans VJ, Irani K, Finkel T. Requirement for generation of H_2O_2 for platelet-derived growth factor signal transduction. Science 1995;270:298-301.
78. Suzuki YJ, Forman HJ, Sevanian A. Oxidants as stimulators of signal transduction. Free Radic Biol Med 1991;22:269-85.
79. Sies H. Strategies of antioxidant defense. Eur J Biochem 1993;215:213-9.
80. Halliwell B. Antioxidant characterization; methodology and mechanism. Biochem Pharmacol 1995;49:1341-8.
81. Buring JE, Hannekens CH. Antioxidant vitamins and cardiovascular disease. Nutr Rev 1997;

55:S53-60.
82. Tibble DL. Antioxidant consumption and risk of coronary heart disease: emphasis on vitamin C, vitamin E, and β-carotene. Circulation 1999;99:591-5.
83. Rock CL, Jacob RA, Bowen PE. Update on the biological characteristics of the antioxidant nutrients: vitamin C, vitamin E, and the carotenoids. J Am Diet Asso 1996;96:693-702.
84. Traber MG, Sies H. Vitamin E in humans: demand and deliverly. Annu Rev Nutr 1996; 16:321-47.
85. Buczynski A, Wachowicz B, Kedziora-Kornatowska K, Tkaczewski W, Kediziora J. Changes in antioxidant enzyme activities, aggregability and malondialdehyde concentration in blood platelet from patients with coronary heart disease. Atherosclerosis 1993;100:223-8.
86. Stampfer MJ, Hennekens CH, Manson JE, Colditz GA, Rosner B, Willet WC. Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in women. N Eng J Med 1993;328:1444-9.
87. Rimm EB, Stamfer MJ, Ascherio A, Giovannucoi E, Colditz GA, Willett WC. Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in men. N Eng J Med 1993;328:1450-6.
88. Yusuf S, Dagenais G, Pogue J, Boch J, Sleight P. Vitamin E supplementation and cardiovascular events in high-risk patients. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. N Eng J Med 2000;342:154-60.
89. Mailnow MR, Nieto FJ, Kruger PB, Duell DL, Hess RA, Gluckman PC, et al. The effects of folic acid supplumentation on plasma total homocysteine are modulated by multivitamin use and methylenetetrahydrofolate reductase genotype. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1997; 17:1157-62.
90. Brouwer IA, Dusseldorp MV, West CE, Meyboom S, Thomas CMG, Duran M. Dietary folate from vegetable and citrus fruit decrease plasma homocysteine concentration in humans in a dietary controlled trial. J Nutr 1999;129:1135-9.
91. Guttormsen AB, Schneede J, Fiskerstrand T, Ueland PM, Refsum HM. Plasma concentrations of homocysteine and other aminothiol compounds are related to food intake in healthy human subjects. J Nutr 1994;124:1934-41.
92. Shimakawa T, Nieto FJ, Mallinow MR, Chambless LE, Schreiner PJ, Szklo M. Vitamin intake: A possible determinant of plasma homocysteine among middle-aged adults. Ann Epidemiol 1997;7:285-93.
93. Oshaug A, Bugge KH, Refsum H. Diet, an independent determinant for plasma total homocysteine. A cross sectional study of Norwegian workers on platforms in the North Sea. Eur J Clin Nutr 1998;52:7-11.
94. Lentz SR. Homocysteine and vascular dysfunction. Life Sci 1997;61:1205-15.
95. Bockxmeer FM, Mamotte CDS, Vasikaran SD, Taylor RR. Methylenetetrahydro folate reductase gene and coronary artery disease. Circulation 1997;95:21-3.
96. Christensen B, Frosst P, Lussier-Cacan S, Selhub J, Goyette P, Rosenblatt DS, et al. Cor-

relation of a common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene with plasma homocysteine in patients with premature coronary artery disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1997;17:569-73.
97. 오기원, 이원영, 안유배, 송기호, 유순집, 윤건호 등. 한국인 당뇨병성 대혈관합병증 환자에서의 methylenetetrahydrofolate reductase 유전자 다형성. 당뇨병 1999;23:625-34.
98. Kuller LH, Evan RH. Homocysteine, vitamin, and cardiovascular disease. Circulation 1998; 98:196-9.
99. Tsai MY, Welge BG, Hanson NQ, Bignell MK, Vessey J, Schwichtenberg K, et al. Genetic causes of hyperhomocysteinemia in patients with premature occlusive coronary artery diseases. Atherosclerosis 1999;143:163-70.
100. Wang XL, Duarte N, Cai H, Adachi T, Sim AS, Cranney G, et al. Relationship between total plasma homocysteine, polymorphisms of homocysteine metabolism related enzyme, risk factors and coronary artery disease in the Australian hospital-based population. Atherosclerosis 1999;146:133-40.
101. Tsai MY, Bignell M, Yang F, Welge BG, Graham KJ, Hanson NQ. Polygenic influence on plasma homocysteine: association of two prevalent mutations, the 844ins68 of cystathionine β-synthase and A2756G of methionine synthase, with lowered plasma homocysteine levels. Atherosclerosis 2000;149:131-7.
102. Bar-On H, Kidron M, Friedlander Y, Ben-Yuhuda A, Selhub J, Rosenberg H, et al. Plasma total homocysteine levels in subjects with hyperinsulinemia. J Int Med 2000;247:287-94.
103. Gallistl S, Erwa W, Sudi K, Borkenstein M, Mangge H. Insulin is an independent correlate of plasma homocysteine levels in obese children and adolescents. Diabetes Care 2000;23: 1348-52.
104. Giltray EJ, Hoogeveen EK, Elbers JMH, Gooren LJG, Asscheman H, Stehouwer CDA. Insulin resistance is associated with elevated plasma total homocysteine levels in healthy, non-obese subjects. Atherosclerosis 1998;139:197-8.
105. Abbasi F, Facchini F, Humphreys MH, Reaven GM. Plasma homocysteine concentrations in healthy volunteers are not related to differences in insulin-mediated glucose disposal. Atherosclerosis 1999;146:175-8.
106. Sheu WHH, Lee WJ, Chen YT. Plasma homocysteine concentrations and insulin sensitivity in hypertensive subjects. AJH 2000;13:14-20.
107. Fonseca VA, Stone A, Munshi A, Baliga BS, Aljada A, Thusu K, et al. Oxidative stress in diabetic macrovascular disease: Does homocysteine play a role? South Med J 1996; 90:903-6.
108. Stehouwer CDA, Jakobs C. Abnormalities of vascular function in hyperhomocysteinemia: relationship to atherothrombotic disease. Eur J Pediatr 1998;157:S107-11.
109. Stein JH, Mcbride PE. Hyperhomocysteinemia and atherosclerotic vascular disease. Arch

Intern Med 1998;158:1301-6.
110. Kimball SR, Vary TC, Jefferson LJ. Regulation of protein synthesis by insulin. Annu Rev Physiol 1994;56:321-48.
111. Fonseca VA, Mudaliar S, Schmidt B, Fink LM, Kern PA, Henry RR. Plasma homocysteine concentrations are regulated by acute hyperinsulinemia in nondiabetic but not type 2 diabetic subjects. Metabolism 1998;47:686-9.

Abstract

Relationships between insulin resistance, homocysteine, antioxidant system and carotid artery intima media thickness in patients with type 2 diabetes mellitus

Yong Seok Yun

Brain Korea 21 Project for Medical Science
The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Professor Kap Bum Huh)

Insulin resistance is a main pathogenesis of type 2 diabetes and common phenomenon of risk factors for atherosclerosis. Evidence has accumulated indicating that generation of reactive oxygen species, namely oxidative stress, may play an important role in the process of vascular disease. Therefore, role of antioxidants, such as tocopherol, carotenoids and retinol, has been carefully considered in the primary or secondary prevention of cardiovascular disease. Recently, independent association of total homocysteine level (tHcy) with cardiovascular disease has been observed in some prospective epidemiological studies. The process of tHcy to vascular lesion were also suggested to be the generation of reactive oxygen species by oxidation of homocysteine. This study was performed to evaluate the inter-relationships of insulin resistance with tHcy and antioxidants, and to analyze the association of carotid artery intima-media thickness measured by high resolution B-mode ultrasonography with insulin resistance, antioxidants and tHcy in normal controls and patients with type 2 diabetes mellitus (DM) or coronary heart disease (CHD). The results are summarized as follows:

1. Total glucose disposal rate (GDR), index of insulin sensitivity, and fasting levels of retinol, β-carotene and cryptoxanthin were lower in DM and CHD groups than those in normal controls.

2. Fasting levels of antioxidants, such as retinol, β-carotene, cryptoxanthin, α/γ-tocopherol were positively correlated with GDR, independent of age, body mass index (BMI), fasting glucose and homocysteine levels.

3. Fasting levels of tHcy were negatively related with GDR, when adjusting age, BMI, smoking habit, alcohol drinking, vitamin B_{12}, folate and creatinine levels. However, there was no independent relationships between tHcy and antioxidants.

4. The levels of antioxidants, retinol, α/β-carotene, cryptoxanthin, α/γ-tocopherol were

significantly decreased after 2-hour hyperinsulinemia (100 μU/mL) in normal controls and upper tertile of GDR, while the levels of tHcy were not significantly changed.

5. Mean and maximal carotid artery intima-media thickness were significantly related with the presence of type 2 DM or CHD, total cholesterol, GDR, antioxidant vitamins, and fasting tHcy, when adjusting age and BMI. However those relationships were not significant, when adjusting GDR.

6. Multiple regression analysis showed that methyenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) variant homozygote (VV) and GDR were independent factors associated with fasting tHcy level. MTHFR polymorphism was not related with carotid intima-media thickness.

These data provide evidence that insulin resistance is closely associated with homocysteine and antioxidants, and has strong influence on the relation of homocysteine and antioxidants to carotid artery intima-media thickness in patients with type 2 DM and coronary heart disease. Therefore, proper consideration of insulin resistance should be taken in the evaluation of role of homocysteine and antioxidant system.

Key Words: insulin resistance, homocysteine, antioxidants, carotid artery intima-media thickness