Original Articles Korean Circulation J 1999;29(1):55-66

관상동맥경화증 환자에서 체지방분포와 항산화체계의 변화

연세대학교 의과대학 내과학교실,[1] 생활과학대학 식품영양학과[2]
장양수[1] · 조은영[2] · 이종호[2] · 정남식[1]

Changes in Body Fat Distribution and Antioxidant System in Patients with Coronary Heart Disease

Yang Soo Jang, MD[1], Eun Young Cho, PhD[2], Jong Ho Lee, PhD[2] and Nam Sik Chung, MD[1]

[1]Division of Cardiology, Yonsei Cardiovascular Center, [2]Department of Food and Nutrition, Yonsei University, Seoul, Korea

ABSTRACT

Background: Changes in body fat distribution and antioxidant status can be shown in patients with coronary heart disease (CHD) and these changes may be more pronounced in CHD patients with than those without diabetes. This study was undertaken to determine the discrimination of body fat distribution, hormones and antioxidants among healthy male and CHD male patients with and without diabetes. **Methods**: An oral glucose tolerance test was performed in 64 healthy males and 56 CHD male patients. CHD group was subdivided into patients with and without diabetes. Adipose tissue and muscle areas were calculated from computed tomography scans made at four body levels, L1, L4 and mid portion of thigh and calf. Fasting serum levels of lipids, hormones and antioxidants and plasma level of homocysteine were determined. **Results**: 28% of healthy males, 33% of CHD patients without diabetes and 15% of CHD patients with diabetes were current smokers. 56% of healthy males, 30% of CHD patients without diabetes and 46% of CHD patients with diabetes supplemented their diet with synthetic vitamin preparation. There were no differences among groups in means of age, body mass index and blood pressure. While CHD patients without diabetes showed an increase in visceral fat area at only L1 level, CHD patients with diabetes showed an increase at both L1 and L4 levels, compared with healthy males. CHD patients with diabetes showed the lowest mean value of HDL-cholesterol and testosterone. The mean response area of insulin and C-peptide during OGTT was higher in CHD patients without diabetes than healthy males. CHD patients with and without diabetes showed higher plasma level of homocysteine and lower serum levels of IGF-1, superoxide dismutase (SOD) and β-carotene, compared with healthy males. Serum levels of cryptoxanthin and lycopene were lower in CHD patients with diabetes than healthy males. **Conclusion**: Visceral fat accumulation, an increase in insulin and homocysteine levels and a decrease in IGF-1, SOD and β-carotene levels in CHD patients indicate a difference in body fat distribution, hormones and antioxidant systems between CHD patients and healty males. In addition, a further increase in visceral fat and a decrease in the serum levels of HDL-cholesterol, testosterone and carotenoids in CHD patients with diabetes show the increased risk in the simultaneous presence of CHD and diabetes. Thus, the life-style modification of these CHD patients such as quitting smoking, reducing abdominal fat and taking antioxidant-rich foods is recommended. **(Korean Circulation J 1999;29(1):55-66)**

KEY WORDS: Coronary heart disease · Visceral fat · Antioxidant system.

논문접수일 : 1998년 11월 20일
심사완료일 : 1999년 3월 8일
교신저자 : 장양수, 120 - 752 서울 서대문구 신촌동 134번지 연세대학교 의과대학 내과학교실
전화 : (02) 361 - 3122 · 전송 : (02) 364 - 9605
E - mail : jhleeb@bubble.yonsei.ac.kr

서 론

관상동맥경화증의 위험요소에는 고혈압, 당뇨병, 흡연, 혈청 콜레스테롤 농도의 증가 외에도 복부비만, 항산화 체계의 손상, 고인슐린혈증 등과 같은 다양한 환경 요인과 유전 인자가 밝혀지고 있다.[1] 고인슐린혈증은 인슐린 저항성이 있는 경우 나타나는 것으로 관상동맥경화증에 대한 위험을 증가시키고,[2-4] 인슐린 저항성은 복부 내장지방 축적과 밀접한 관련이 있으므로[5] 비만도 자체 보다는 체지방의 중심성 분포가 관상동맥경화증의 발병과 관련이 있는 것으로 알려졌다.[6] 실제로 관상동맥경화증 환자에서 성별, 나이, 비만도가 비슷한 질병이 없는 성인과 비교하여 엉덩이 둘레에 대한 허리둘레의 비가 높은 복부비만과 고인슐린혈증이 보고되고 있다.[7][8] 복부비만은 고인슐린혈증외에도 성장호르몬, insulin like growth factor-Ⅰ(IGF-Ⅰ) 농도의 감소와 관련이 있으며 특히 남성에서는 testosterone, free testosterone 농도의 감소시 복부지방이 축적된다고 한다.[9]

엉덩이 둘레에 대한 허리둘레의 비가 높은 체지방 분포의 중심성 경향을 보이는 서구 성인에서 혈청 α-tocopherol 농도의 감소가 보고되었는데,[10] α-tocopherol은 지용성 항산화제로서 carotenoid, glutathione-peroxidase(GSH-Px), superoxide dismutase(SOD) 등의 다른 항산화제 및 항산화 효소 등과 함께 산화 스트레스로부터 혈청 지단백질과 혈관 벽을 보호한다.[11][12] 그러므로 낮은 항산화 상태는 지질을 과산화시키고 동맥경화증 발병에 관여하게 되어,[12][13] 동맥경화증 환자에서 혈장과 조직의 항산화제 농도가 낮고 심근경색증 환자에서 지방 세포의 β-carotene 농도가 낮다고 보고되고 있다.[14]

항산화제의 고갈은 유리기 생성을 증가시키며, 유리기 생성의 증가는 혈장 homocysteine 농도의 증가시에도 나타난다. Homocysteine은 혈관내피세포에 직접적인 독성 효과를 통해서 혹은 유리기 생성을 통한 LDL의 산화를 촉진함으로써 동맥경화증의 발병과 진행에 관여하는 것으로 알려졌다.[15-17] 일반적으로 중등도 고 homocysteine혈증의 경계는 혈장 총 homocysteine 농도가 15 16 μmol/L이며 관동맥질환을 갖는 환자의 20 40%에서 고 homocysteine혈증이 발생한다.[15][18]

관상동맥경화증의 위험은 질병이 없는 성인 남성과 비교하여 당뇨병 남자 환자에서 2 3배가 더 높으며,[14] 이는 당뇨병 환자에서 고혈압, 이상지혈증, 복부비만, 인슐린 저항성과 같은 위험 요인이 많을 뿐 아니라 당화과정(glycosylation) 후 산화 과정이 따르므로 산화 스트레스에 예민하고 항산화체계가 손상되었기 때문으로 알려져 있다.[14] 또한 인슐린 저항성과 복부 비만을 보이는 관상동맥경화증 환자에서 인슐린 비의존형 당뇨병의 유병율이 높을 것으로 추정되고 있다.

우리나라에서는 심혈관계 질환의 유병율 및 사망률이 점차 증가하는 추세에 있음에도 불구하고, 내장지방의 축적, 고인슐린혈증, 항산화체계 및 혈장 homocysteine 농도 등이 우리나라 심혈관계 질환의 발병과 진행에 어떻게 작용하는지에 대한 광범위한 연구가 미흡한 실정이다. 본 연구는 관동맥조영술상 관상동맥경화증을 진단받은 환자를 대상으로 당부하 검사를 시행하여 당뇨병 유무에 따라 비당뇨-관상동맥경화증 군과 당뇨-관상동맥경화증 군으로 나누고 질병이 없는 비슷한 나이와 비만도를 가진 대조군과 비교하여 고인슐린혈증과 함께 항산화체계, homocysteine 및 지질 대사에 이상이 있는지를 조사하고자 하였다. 또한, 체지방 및 근육 분포, 흡연정도, 비타민 섭취 상태를 조사하여 대조군과 비교해 봄으로서 관상동맥경화증 환자에서의 차이점을 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

대 상

본 연구는 연세대학교 의과대학 세브란스 병원에서 관상동맥조영술상, 적어도 한 혈관 이상에서 내경의 50% 이상 협착이 확인된 관상동맥경화증 남자 환자 56명을 대상으로 하였으며 급성심근경색증은 제외하였다. 관상동맥경화증 환자 중 경구 당부하 검사 결과 공복 혈당이 140 mg/dl 이상이거나, 공복 혈당치가 140 mg/dl 미만이나 당부하 후 2시간의 혈당치가 200 mg/dl 이상이며, 30분, 60분, 90분의 혈당치 중 1회 이상이 200 mg/dl 이상인 당뇨병 환자가 26명이었다. 당부하 검사로 당뇨병으로 판정된 26명의 관상동맥경화증 환자 중 24명은 당뇨병으로 진단받은 적이 없었고 2명만 당뇨병으로 진단받은 적이 있었으며 그중 1명은 혈당강하제를 사용하고 있었다. 또한 56명 환자 중 37명은 과거에 심근경색증의 경험이 있었다. 대조군으로는 당뇨병이나 고혈압, 심혈관 질환의 과거력이 없으면서, 연구 당

시 심전도상 정상소견을 보이고 관상동맥경화증 환자와 비슷한 나이와 비만도의 건강한 남성 64명의 자발적인 참여로 이루어졌다.

방 법

인체계측 및 체지방 분포 조사

인체계측으로 신장과 체중을 측정하고 체질량 지수(body mass index : BMI)는 체중(kg)을 신장(m)의 제곱으로 나눈 값을 사용하였다. 또한 대상자를 평평한 바닥에 세운 채 허리둘레와 엉덩이 둘레를 측정하여 복부비만의 지표로써 엉덩이 둘레에 대한 허리둘레의 비를 사용하였다.

컴퓨터 단층촬영에 의한 상복부, 하복부 및 대퇴부 및 종아리 지방과 근육량 측정

컴퓨터 단층촬영은 CT(Hispeed Advantage, GE medical system, USA)를 이용하여 요추중 1번(상복부)과 4번(하복부)에 해당하는 척추의 가운데를 횡단하여 이 부위에서 Hounsfield number -150 -50에 속하는 부위를 측정하여 총복부지방 면적을 구하였다. 복부와 배부의 복막을 경계로 안쪽을 내장지방면적(visceral fat area), 바깥쪽을 피하지방 면적(subcutaneous fat area)으로 하여 그 면적을 구하였다. 대퇴 중간부위와 종아리의 가장 굵은 부위를 횡단하여 Hounsfield number -49~+100에 속하는 면적을 대퇴 근육면적(thigh muscle area)과 종아리 근육 면적(calf muscle area)으로 하고, Hounsfield number -150 -50에 속하는 부위를 측정하여 대퇴지방 면적(thigh fat area)과 종아리 지방 면적(calf fat area)으로 하였다.

혈청 지질 및 지단백 농도 측정

검사 당일 아침 공복시 정맥에서 채혈하여 혈청 총 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤과 중성지방은 자동 분석기(Autoanalyzer Hitachi 7150, Hitachi Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 효소법으로 측정하였고, HDL 콜레스테롤은 침전제를 이용하여 유미지립(chylomicron), 저밀도 지단백(low density lipoprotein ; LDL), 초저밀도 지단백(very low density lipoprotein ; V-LDL)을 침전시킨 후 상층액에 있는 HDL 중에서 콜레스테롤을 효소법으로 측정하였다.

당부하 검사

경구 당부하 검사는 공복 및 75 g의 포도당을 경구 투여하고 30, 60, 120분 후에 각각 채혈하여 혈당은 포도당 산화 효소법으로, C-peptide와 인슐린농도는 INC(Immuno Nucleo Cooperation, Stillwater, USA)에서 제조한 kit를 사용하여 방사면역법으로 측정하였다. 혈당 면적, C-peptide 면적, 인슐린 면적은 각각 혈당, C-peptide, 인슐린 반응 곡선 아래 면적으로 계산하였다.

혈청 호르몬 농도 측정

혈청 성호르몬 결합단백질(sex hormone-binding globulin) 농도는 Orion Diagnostica(Finland)에서 제조한 kit를 사용하여 면역 방사법으로 측정하였다. Testosterone은 Immuchem direct testosterone kit(ICN Biomedical, Inc. Comp., USA)를 사용하여 면역방사법으로 측정하였다. 유리 androgen 지수(free androgen index)는 총 testosterone 농도(nmol/L)를 성호르몬 결합단백질 농도(nmol/L)로 나눈 값의 백분율을 사용하였다.[19] 혈청 IGF-1은 Diagnostic Systems Laboratories(Texas, USA)에서 제조한 kit를 이용하여 면역방사계수 측정법(immunoradiometric assay, IRMA)으로 측정하였다.

혈장 총 homocysteine 분석

혈장 총 homocysteine 함량은 Anderson 등의 방법을 수정하여 측정하였다.[20)21)] 혈장 500 μl에 pH 9.0으로 맞춘 borate buffer와 dithiothreitol을 첨가하여 homocysteine의 -S기를 환원시킨 후 internal standard인 L-norleucine(Sigma Chemical Co., St. Louis, USA)과 20% sulphosaicylic acid를 첨가하여 단백질을 침전시켜 3300 rpm에서 15분간 원심분리하였다. 분리된 상층액을 취하여 0.2 μm membrane filter(Waters, Milford, MA, USA)로 거른후 100 μl를 Pharmacia Biotech (Cambridge, England)의 post-column ninhydrin reaction system의 Bio20 autoloader amino acid analyzer에 주입하여 분석하였다. 표준용액으로 DL-homocysteine(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 동일한 조건하에서 분석하여 homocysteine의 retention time을 확인하였으며 plasma sample에 standard DL-homocysteine을 첨가하여 동일시간에 나오는 다른 물질과 구별하였다.

혈청 tocopherol, retinol 및 carotenoid 농도 측정

항산화 비타민과 carotenoid 분석을 위한 혈액은 채혈한 후 바로 빛을 차단하여 보관하였다. 혈청은 -70℃에 보관하였으며, 채혈 2개월 이내에 자외선이 차단된 상태에서 Yeum 등[22-24]의 방법에 따라 HPLC를 이용하여 각각의 농도를 측정하였다. HPLC system은 Alliance Waters 2690 separating module, Waters 996 Photodiode array detector, Waters ™474 scanning fluorescence detector, C18 Symmetry 3.9×15 cm column(Waters, Milford, MA, USA)으로 구성되었고, mobile phase는 solvent A(CH_3CH : THF : d-H2O =50 : 20 : 30, v/v/v)와 solvent B(CH_3CH : THF : d-H2O=50 : 44 : 6, v/v/v)를 이용하였다. 유속은 1.2 ml/min었고, α-tocopherol과 γ-tocopherol은 294 nm, retinol은 325 nm 그리고 α-carotene, β-carotene, cryptoxanthin은 455 nm, lycopene은 446 nm에서 분석하였다. Extraction 및 sample 취급과정에 손실되는 양은 internal standard인 tocopheryl acetate의 회수율로 보정하였다. 혈청 carotenoids, retinol 및 tocopherols의 양은 총 혈청 농도 값과 혈청 콜레스테롤(mmol), 혈청 중성지방(mmol)으로 보정한 값으로도 표시하였다.[25]

혈청의 항산화 효소 및 과산화물의 측정

GSH-Px 활성은 Paglia[26]와 Deagen[27]의 방법을 수정하여, hydrogen peroxide를 기질로 이용한 coupled enzyme procedure로 측정하였다. Enzyme 1 unit은 혈청 1 ml당 1분동안 산화된 NADPH의 nmole로 나타냈고, specific activity는 1 mg albumin에 해당하는 enzyme unit으로 환산하였다. SOD의 활성은 Marklund[28]와 Sheri[29]의 방법을 수정하여 pyrogallol의 autoxidation을 SOD가 억제하는 정도를 측정하였다. Enzyme 1 unit은 pyrogaroll autoxidation을 50% 방해하는데 효소의 양으로서 산출하였고, specific activity는 1 mg albumin에 해당하는 enzyme unit으로 환산하였다. 지질과산화물인 malondialdehyde 농도 측정은 Buckingham[30]의 방법을 사용하였으며, luminescence spectrophotometer(Aminco Bowman Series, NY, USA)를 이용하여 excitation 500 nm, emission 553 nm에서 fluorescence intensity를 측정한 후 표준용액과 비교하여 비색 정량하였다.

통 계

연구 결과는 Window용 SPSS package(Statistical Package for the Social Scinece, SPSS Ins., Chicago, IL, USA)를 이용하여 통계 처리하였고, 모든 측정치는 평균±표준오차로 표시하였으며, 검정시에는 $p<0.05$일 때를 통계적으로 유의하다고 보았다. 대조군(64명)과 비교하여 비당뇨-관상동맥경화증 군(30명)과 당뇨-관상동맥경화증 군(26명)의 평균 차이를 검증하기 위하여 Student's t-test를 실시하였다. 또한 관상동맥경화증 환자를 과거 심근경색증 유무에 따라 두 군으로 나누고 두 군 간의 평균 차이는 Student's t-test를 실시하여 검증하였다.

결 과

대조군과 당뇨병 유무에 따른 관상동맥경화증 환자군과의 비교

음주, 흡연 및 비타민 복용 여부

대조군 64명 중 18명(28%), 비당뇨-관상동맥경화증 군 30명 중 10명(33%)과 당뇨-관상동맥경화증 군 26명중 4명(15%)이 현재 담배를 피우고 있었다. 과거에 흡연을 하다가 최근 1년 전에 담배를 끊었다고 보고한 대상자의 수는 대조군에서 13명(20%), 비당뇨-관상동맥경화증 군에서 11명(37%), 당뇨-관상동맥경화증 군에서 14명(47%)이었다. 알콜은 대조군에서 37명(58%), 비당뇨-관상동맥경화증 군에서 14명(47%), 당뇨-관상동맥경화증 군에서 10명(38%)이 마시고 있었다. 대조군에서는 36명(56%), 비당뇨-관상동맥경화증 군에서 9명(30%), 당뇨-관상동맥경화증 군에서 12명(46%)이 종합 비타민 및 건강보조 식품을 복용하고 있었다.

나이, 비만도, 혈압 및 컴퓨터 단층촬영상 지방과 근육면적

나이, 체질량 지수, 혈압은 대조군과 비교하여 비당뇨-관상동맥경화증 군, 당뇨-관상동맥경화증 군에서 유의한 차이가 없었으나 엉덩이 둘레에 대한 허리둘레의 비는 대조군과 비교하여 당뇨-관상동맥경화증 군에서 높았다(Table 1). L1수준의 내장지방 면적과 피하지방면적에 대한 내장지방면적의 비는 대조군과 비교하여 비당뇨-관상동맥경화증 군과 당뇨-관상동맥경화증 군에서 증가되어 있었으며, L4수준의 내장지방 면적은 당

뇨 - 관상동맥경화증 군에서 증가되어 있었다(Fig. 1).

혈청 지질 및 당부하 검사상 혈당, 인슐린, C - peptide 농도

대조군과 비교하여 비당뇨 - 관상동맥경화증 군, 당뇨 - 관상동맥경화증 군에서 혈청 HDL 콜레스테롤 농도는 낮았고, 혈청 HDL 콜레스테롤에 대한 총 콜레스테롤의 비는 높았다(Fig. 2). 혈청 중성지방, LDL과 총 콜레스테롤 농도는 대조군과 비교하여 비당뇨 - 관상동맥경화증 군과 당뇨 - 관상동맥경화증 군에서 유의한 차이가 없었다(Table 2). 공복 및 당부하 후 혈당은 대조군과 비교하여 당뇨 - 관상동맥경화증 군에서 높았으며, 당부하 후 인슐린과 C - peptide 반응면적은 대조군과 비교

Table 1. Age, anthropometries, blood pressure and fat and muscle areas at different levels of body in healthy males and CHD patients with and without diabetes

	Control (n=64)	CHD without DM (n=30)	CHD with DM (n=26)
Age	52.9±0.93	53.2±1.37	55.0±1.50
Body mass index (kg/m^2)	24.3±0.37	24.8±0.46	25.1±0.40
Waist hip ratio	0.92±0.01	0.93±0.01	0.95±0.01*
Systolic BP (mmHg)	126.8±2.66	132.8±2.43	134.4±2.82
Diastolic BP (mmHg)	86.2±2.71	82.6±2.38	84.5±2.03
1st lumbar (L1) vertebra			
Total fat (cm^2)	216.1±10.6	241.6±12.0	243.7±12.0
Visceral fat (cm^2)	139.3±7.40	164.6±8.75*	169.6±10.3*
Subcutaneous fat (cm^2)			
4th lumbar (L1) vertebra	76.8±4.20	77.0±4.43	74.1±4.10
Total fat (cm^2)	252.0±9.25	257.4±9. 80	271.4±11.1
Visceral fat (cm^2)	120.6±5.46	120.1±5.59	137.9±8.6*
Subcutaneous fat (cm^2)	131.4±5.30	137.3±7.40	133.5±6.10
Mid thigh			
Fat (cm^2)	41.9±1.56	41.8±2.51	1.2±2.20
Muscle (cm^2)	141.5±2.41	139.9±3.31	140.5±3.76
Calf			
Fat (cm^2)	14.3±0.53	14.1±0.89	13.5±0.73
Muscle (cm^2)	77.2±1.49	75.9±2.38	76.7±2.37

Data are expressed as mean±SEM *p<0.05, compared with control

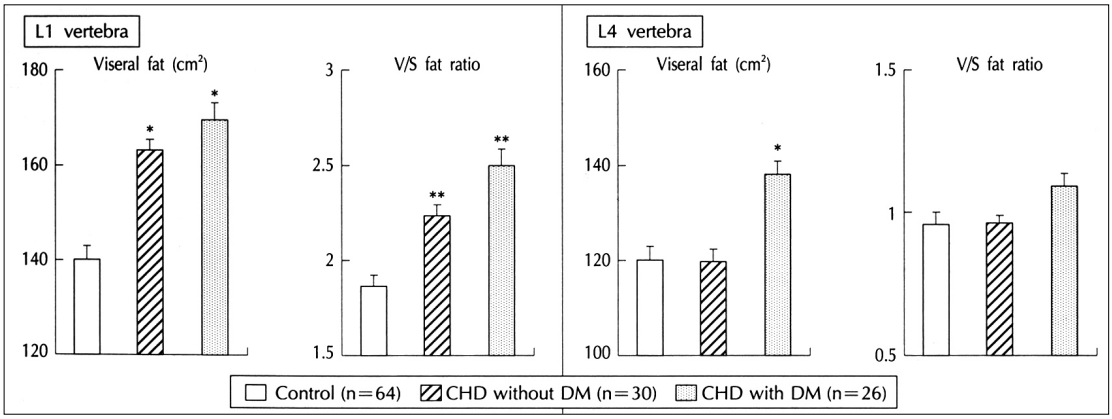

Fig. 1. Visceral fat areas and visceral/subcutaneous fat area at L1 and L4 levels in healthy males and CHD patients with and without diabetes. Data are expressed as mean±SEM *p<0.05, **<0.01, compared with control

하여 비당뇨-관상동맥경화증 군에서 증가하여 있었다 (Table 2).

혈청 호르몬 및 항산화 효소 수준과 혈장 총 homocysteine 농도

대조군과 비교하여 혈청 testosterone 농도는 당뇨-관상동맥경화증 군에서 낮았으며 IGF-1 농도는 비당뇨-관상동맥경화증 군과 당뇨-관상동맥경화증 군에서 낮았다(Table 3). 혈청 성호르몬 결합 단백질 및 malondialdehyde 농도와 GSH-Px 활성, 유리 androgen 지수는 대조군과 비교하여 비당뇨-관상동맥경화증 군, 당뇨-관상동맥경화증 군에서 유의한 차이가 없었다. 대조군과 비교하여 비당뇨-관상동맥경화증 군과 당뇨-관

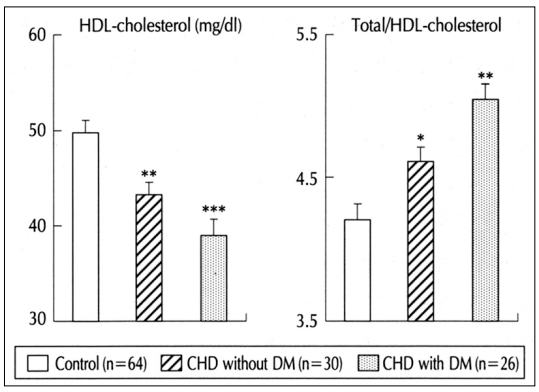

Fig. 2. Serum HDL-cholesterol level and Total/HDL-cholesterol in healthy males and CHD patients with and without diabetes. Data are expressed as mean±SEM
*p<0.05, **p< 0.01, ***p<0.001, compared with control

Table 2. Serum lipids, glucose, insulin, C-peptide and responses on 75g oral glucose tolerance test in healthy males and CHD patients with without diabetes

	Control (n=64)	CHD without DM (n=30)	CHD with DM (n=26)
Triglyceride (mg/dl)	148.1±8.66	157.6±14.3	158.7±21.1
Total cholesterol (mg/dl)	198.8±4.77	189.5±6.42	185.6±6.89
LDL cholesterol (mg/dl)	119.5±3.98	115.4±6.11	115.1±6.96
Atherogenic Index†	3.16±0.13	3.63±0.20*	4.05±0.26**
LDL/HDL cholesterol	2.52±0.11	2.81±0.16	3.12±0.22*
Fasting level			
Glucose (mg/dl)	98.1±1.76	98.8±3.07	124.3±6.03***
Insulin (μU/ml)	8.28±0.65	8.56±0.77	10.8±1.87
C-peptide (ng/ml)	0.85±0.04	0.97±0.08	1.03±0.11
Response area			
Glucose (mg/dl×hr)	292.2±6.79	307.4±8.91	416.7±14.7***
Insulin (μU/ml×hr)	84.6±4.42	132.3±22.5*	89.7±10.2
C-peptide (ng/ml×hr)	3.24±0.25	4.58±0.60*	3.69±0.63

Data are expressed as mean±SEM† (total cholesterol-HDL cholesterol)/HDL cholesterol
*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, compared with control

Table 3. Sex hormones, antioxidant enzyme activities in healthy males and CHD patients with and without diabetes

	Control(n=64)	CHD without DM (n=30)	CHD with DM (n=26)
Testosterone (ng/ml)	5.31±0.19	4.99±0.32	4.47±0.35*
SHBG (nmol/L)	52.8±2.60	55.7±5.38	48.1±3.88
Free androgen index	39.7±2.74	35.3±2.40	34.0±2.42
IGF-1 (ng/ml)	142.4±7.68	72.3±15.5***	77.4±17.1***
Glutathione peroxidase (NADPH nmole/mg alb)	38.9±1.23	38.9±1.49	35.9±1.59
Malondialdehyde (nmol/ml)	4.32±0.19	4.45±0.41	4.56±0.45

Data are expressed as mean±SEM SHBG : sex hormone-binding globulin, IGF-1 : insulin like growth factor-1
*p<0.05, ***p<0.001, compared with control

상동맥경화증 군에서 혈장 homocysteine 농도는 높았으며 혈청 총 SOD 활성은 낮았다(Fig. 3).

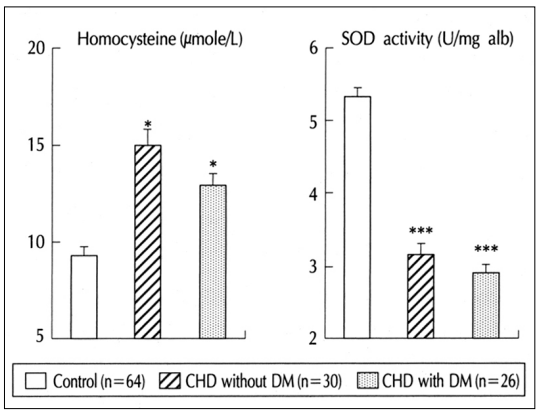

Fig. 3. Plasma homocysteine and serum total SOD activity level in healthy males and CHD patients with and without diabetes. Data are expressed as mean±SEM
*p<0.05, ***p<0.01, compared with control

혈청 tocopherols, retinol 및 carotenoids 농도

혈청 β-carotene 농도는 대조군과 비교하여 비당뇨-관상동맥경화증 군과 당뇨-관상동맥경화증 군에서 약 30% 적었다(Fig. 4). 혈청 cryptoxanthin과 lycopene 농도는 비당뇨-관상동맥경화증 군에서 약 15%, 당뇨-관상동맥경화증 군에서 40%가 낮았다. 혈청 α-carotene, retinol, α- 및 γ-tocopherol 농도는 대조군과 비교하여 비당뇨-관상동맥경화증 군, 당뇨-관상동맥경화증 군에서 유의한 차이가 없었다(Table 4). 혈청 중성지방 농도와 콜레스테롤 농도로 수정한 혈청 retinol, carotenoid, tocopherols 농도도 수정하지 않

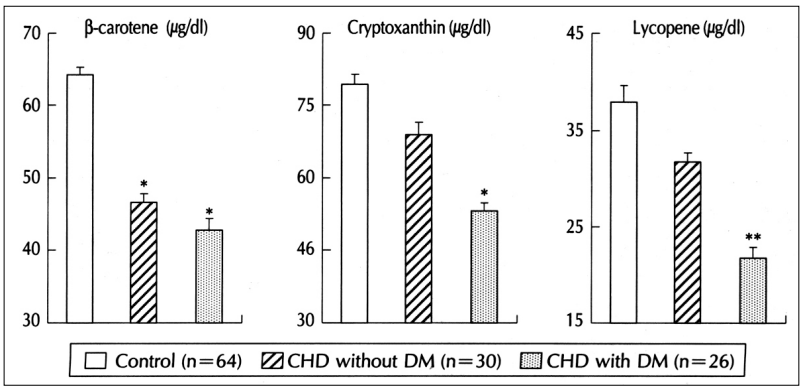

Fig. 4. Serum levels of carotenoids in healthy males and CHD patients with and without diabetes. Data are expressed as mean ±SEM
*p<0.05, **p<0.01, compared with control

Table 4. Seum concentrations of retinol, tocopherol and carotenoid in healthy males and CHD patients with and without diabetes

	Control(n=64)	CHD without DM (n=30)	CHD with DM (n=26)
Uncorrected levels			
α-carotene (μg/dl)	3.45±0.33	3.23±0.41	2.65±0.44
Retinol (μg/dl)	129.8±11.1	140.5±11.1	118.1±11.5
α-tocopherol (μg/ml)	10.6±0.81	11.1±1.26	12.9±1.35
γ-tocopherol (μg/ml)	1.27±0.13	1.39±0.25	1.22±0.20
Lipid-corrected levels			
α-carotene (μg/mmol)	5.31±0.51	4.98±0.64	4.10±0.80
β-carotene (μg/mmol)	99.4±9.41	73.7±10.3	66.6±9.39*
Retinol (μg/mm ol)	206.9±21.5	217.8±20.2	183.6±19.2
Cryptoxanthin (μg/mmol)	124.2±13.0	106.8±12.6	82.1±13.4*
Lycopene (μg/mmol)	61.2±6.59	50.0±9.36	34.9±6.78*
α-tocopherol (μg/mmol)	1.68±0.14	1.75±0.22	2.03±0.24
γ-tocopherol (μg/mmol)	0.20±0.02	0.22±0.04	0.19±0.03

Data are expressed as mean±SEM
Lipids corrected level : each level of vitamins and carotenoids is divided by sum of cholesterol and triglyceride(mmol/L)
*p<0.05, compared with control

은 원래의 농도와 비슷한 양상을 보여주었다.

과거 심근경색증 유무에 따른 관상동맥 경화증 환자의 비교

심근경색증 경험이 있었던 환자군 37명 중 19명(51%)이 현재 당뇨병을 갖고 있었으며, 심근경색증이 없었던 환자군은 19명 중 7명(37%)이 현재 당뇨병을 갖고 있었다. 과거 심근경색증 경험이 있었던 환자군은 심근경색증이 없었던 환자군과 비교하여 나이, 체질량 지수, 혈청 지질, 성호르몬 및 IGF-1 농도, 항산화 효소 활성, 혈장 homocysteine 농도에 유의한 차이가 없었다(Table 5). 심근경색증군에서 심근경색증이 없었던 군과 비교하여 혈청 α-carotene 농도는 30%, β-carotene 농도는 34%, lycopene은 50% 정도 적었다(Fig. 5). 혈청 retinol, cryptoxanthin과 α- 및 γ-tocopherol 농도는 과거 심근경색증의 유무에 따라 차이가 없었다(Table 5). α/γ-tocopherol 비율은 심근경색증이 있었던 관상동맥경화증 환자에서 증가하는 경향을 보였으나 유의한 차이는 아니었다. 혈청 중성지방 농도와 콜레스테롤 농도로 수정한 혈청 retinol, carotenoids, tocopherols 농도도 수정하지 않은 원래의 농도와 비슷한 양상을 보여주었다.

Table 5. Age, body mass index, serum levels of lipids and hormones, serum antioxidant enzyme activities and plasma homocysteine levels in CHD patients with and without previous MI

	Non MI (n=19)	MI (n=37)
Age	56.3±1.72	53.6±1.26
Body mass index (kg/m^2)	25.5±0.62	24.6±0.33
Triglyceride (mg/dl)	154.1±17.6	160.2±16.5
Total cholesterol (mg/dl)	195.2±8.51	183.8±5.51
HDL cholesterol (mg/dl)	43.0±2.03	39.6±1.81
LDL cholesterol (mg/dl)	121.3±8.24	112.1±5.46
Total/HDL-cholesterol	4.72±0.28	4.89±0.19
Testosterone (ng/ml)	4.42±0.33	4.93±0.32
SHBG (nmol/L)	51.6±6.10	52.7±4.29
Free androgenic index	34.4±3.41	34.9±1.93
IGF-1 (ng/ml)	71.0±18.8	107.3±19.3
GSH-Px (NADPH nmole/mg alb)	38.3±2.39	37.3±1.16
Serum SOD (U/mg alb)	3.44±0.27	3.65±0.20
Malondialdehyde (nmol/ml)	4.32±0.52	4.59±0.37
Total homocysteine (μmol/L)	13.9±2.63	14.1±1.48

Data are expressed as mean±SEM
SHBG : sex hormone-binding globulin
IGF-1 : insulin like growth factor-1
GSH-Px : glutathione peroxidase
SOD : superoxide dismutase

고 안

본 연구의 결과로 미루어 보아 관상동맥경화증 환자는 비슷한 나이와 비만도의 건강한 남성과 비교하여 내장지방 축적이 증가되어 있고 관상동맥경화증과 인슐린 비의존형 당뇨병이 동시에 보여질 경우에는 더욱 많은 내장지방 축적이 동반되는 것을 알 수 있었다. 이러한 것은 대조군과 비교하여 비당뇨-관상동맥경화증 군에서 L1 수준의 내장지방 면적만 증가하였던 반면에 당뇨-관상동맥경화증 군에서는 L1, L4 수준의 내장지방 면적이 모두 증가하였던 것으로 나타났다.

내장지방 축적은 인슐린 저항성을 유발하므로 당질 대사를 정상으로 유지하기 위해서 췌장의 베타 세포는 더 많은 인슐린을 분비하여 고인슐린혈증을 초래하며 고인

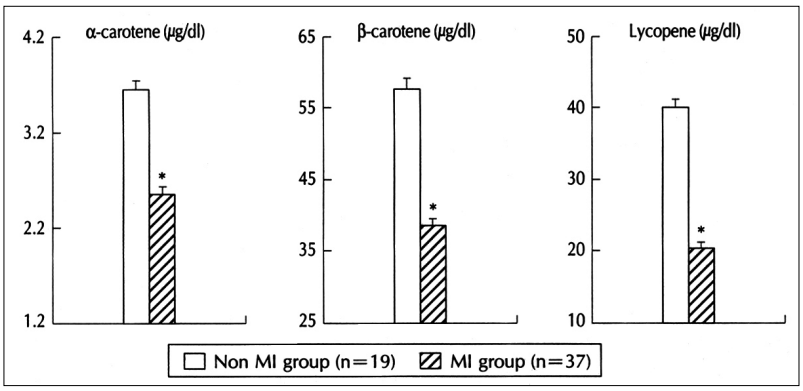

Fig. 5. Serum levels of carotenoids in CHD patients with and without previous MI. Data are expressed as mean±SEM
*p<0.05, compared with non MI group

Table 6. Serum concentrations of vitamins and carotenoid in CHD patients with and without previous MI

	Non MI (n=19)	MI (n=37)
Uncorrected levels		
Retinol (μg/dl)	143.9±13.6	123.1±9.95
Cryptoxanthin (μg/dl)	73.3±9.77	54.9±6.18
α-tocopherol (μg/ml)	12.8±1.70	11.4±1.10
γ-tocopherol (μg/ml)	1.67±0.35	1.13±0.16
α/γ-tocopherol	8.82±1.27	13.8±2.40
Lipid-corrected levels		
α-carotene (μg/mmol)	5.78±0.85	3.15±0.61
β-carotene (μg/mmol)	92.5±13.6	58.8±7.36*
Retinol (μg/mmol)	220.6±25.1	192.5±17.1
Cryptoxanthin (μg/mmol)	74.9±16.7	85.4±10.9
Lycopene (μg/mmol)	63.0±13.5	32.7±5.11**
α-tocopherol (μg/mmol)	2.01±0.29	1.81±0.19
γ-tocopherol (μg/mmol)	0.25±0.05	0.18±0.03

Data are expressed as mean±SEM
Lipids corrected level : each level of vitamins and carotenoids is divided by sum of cholesterol and triglyceride (mmol/L)
*p<0.05, **p<0.01, compared with non MI group

슐린혈증은 인슐린저항성을 악화시키고 상체 부위에 지방을 더욱 축적시킨다.[4] 내장지방의 과다한 축적은 인슐린 저항성을 극복할 만큼 인슐린 분비가 충분하지 않은 상대적인 인슐린 결핍을 초래시키며 결국 내당능장애, 인슐린비의존형 당뇨병으로 점진적인 이행 단계를 밟게 된다.[31-33] 인슐린비의존형 당뇨병 환자는 정상적인 당질대사를 갖는 경우와 비교하여 심한 인슐린 저항성을 보이고 인슐린비의존형 당뇨병에서 고혈당은 고인슐린혈증을 유지하지 못하는 경우에 발생한다. 본 연구의 비당뇨-관상동맥경화증 군에서는 대조군과 비교하여 당부하시 C-peptide 반응 면적은 41%, 인슐린 반응 면적은 56% 증가하여 내장지방 축적을 극복하기에 인슐린 분비가 충분하였다. 반면에 내장지방 면적이 가장 넓은 당뇨-관상동맥경화증 군은 인슐린 분비가 내장지방 축적으로 인한 인슐린 저항성을 극복할 만큼 충분하지 못했던 것이 인슐린비의존형 당뇨병이 발생된 부분적인 이유로 여겨진다.

인슐린저항성은 당질대사뿐 아니라 lipoprotein lipase의 활성도와 지단백 대사에도 비정상적인 인슐린 작용을 보여준다.[4] 인슐린 저항성으로 인한 lipoprotein lipase 활성의 감소는 중성지방이 풍부한 지단백의 제거를 지연시켜 HDL 콜레스테롤 형성을 감소시킨다. 또한 인슐린 저항성인 경우에는 HDL 콜레스테롤의 이화작용이 증가되어 HDL 콜레스테롤 농도가 감소되는 것으로 알려졌다. 혈청 HDL 콜레스테롤 농도는 인슐린 저항성 외에도 testosterone 농도와 관련이 있으며 남성에서 혈청 testosterone 농도가 증가할수록 HDL 콜레스테롤 농도가 증가하는 양의 관계가 보여지고 이는 간의 lipase 활성의 조절에 의해서 이루어진다고 한다.[34)35)] 본 연구에서도 HDL 콜레스테롤 농도가 가장 낮은 당뇨-관상동맥경화증 군에서 혈청 testosterone 농도도 가장 적었다.

남성에서 testosterone은 내장지방 세포의 β 수용체를 증가시키고 hormone sensitive lipase 활성을 증가시킴으로서 지방 이동을 증가시킨다.[9] 또한 성장호르몬은 피하지방 세포보다 내장지방 세포에서 효과가 크고 testosterone 존재 하에서 내장지방의 가수분해를 더욱 증가시킨다고 알려졌다. 본 연구의 대조군과 비교하여 비당뇨-관상동맥경화증 군에서 성장호르몬의 분비를 반영하는 IGF-1 농도가 감소하여 있었으며 당뇨-관상동맥경화증 군에서는 testosterone과 IGF-1 농도가 모두 감소되어 있었다. 이러한 호르몬 농도의 차이는 비당뇨-관상동맥경화증 군과 당뇨-관상동맥경화증 군과의 내장지방 면적의 차이를 부분적으로 설명할 수 있을 것이다.

비당뇨-관상동맥경화증 군에서 혈장 총 homocysteine의 평균 농도가 15.1 μmol/L로 중등도 고 homocysteine 혈증을 보여주었고 당뇨-관상동맥경화증 군에서 13.0 μmol/L로 경도의 고 homocysteine 혈증을 보여주었다. Homocysteine은 직접적인 독성을 통해 혹은 유리기 생성을 통해 혈관내피세포를 손상시킨다.[15] 유리기 생성의 증가는 산화스트레스를 초래하고 항산화 체계를 고갈시키므로[13)15)] homocysteine과 항산화 방어 체계 사이의 관계는 증가된 유리기 생성의 결과로서 항산화제를 고갈시킬 수 있을 것이다.[15] 본 연구에서도 대조군과 비교하여 homocysteine 농도가 높은 비당뇨-관상동맥경화증 군과 당뇨-관상동맥경화증 군에서 혈청 총 SOD 활성이 감소되어 있었다. SOD는 체내 항산화 방어기전의 선두에서 산화 대사물인 superoxide anion의 dismutation을 촉매한다.[13)36)] 항산화 방어 체계는 우선적으로 SOD, GSH-Px 등을 포함하는 항산화 효소의 활성에 의존한 후 세포의 cytoplasm과 lipid membrane에 비타민 E, C, carotenoid의 적절

한 농도를 필요로 한다고 알려졌다.[37]

Carotenoid 중에서 동맥경화증과의 관련성에 대해 많이 알려진 β-carotene은 지용성 항산화제이고 LDL, HDL과 같은 지단백질에 농축되어 있으며 동맥경화 plaques에 축적된다.[38][39] 혈청 β-carotene의 높은 농도는 콜레스테롤이 혈관내피세포로 유입되는 것을 감소시킴으로서 혈관내피세포의 손상을 예방하고 죽상경화병변의 형성을 방해한다고 한다.[39][40] 혈청 β-carotene 농도는 carotenoid의 섭취량, 성별, 나이, 체질량지수와 흡연을 포함하는 생리요인 및 생활방식과 관련이 있다.[41][42] 본 연구의 비당뇨-관상동맥경화증 군의 β-carotene 농도의 감소는 관상동맥경화증 질환 자체뿐 아니라 현재의 흡연, carotenoid 섭취량의 감소 등이 부분적인 원인이었을 것 같다. 그러나 당뇨-관상동맥경화증 군에서 보여진 β-carotene, cryptoxanthin, lycopene 농도의 감소는 비당뇨-관상동맥경화증 군과 비교하여 흡연비율이 적고 종합비타민 복용이 높았으므로 흡연과 carotenoid 섭취보다는 당뇨병으로 인한 산화 스트레스의 증가가 주된 원인이었을 것으로 여겨진다. 실제로 당뇨병 환자에서 고혈당으로 인한 당화 물질(glycosylation products)의 존재시에 유리기의 형성이 증가되며 당화 과정 후에 산화 과정이 따르기 때문에 산화 스트레스가 증가된다고 알려졌다.[14]

산화 스트레스로 인하여 LDL에 함유된 불포화지방산의 과산화 과정이 일어나고 이 경우 비타민 E뿐 아니라 ubiquinol이 손실되며 lycopene, cryptoxanthin, lutein 등의 carotenoid가 손실된다.[43] 이러한 하나 하나가 LDL의 산화를 방어하는데 적게 기여할지 모르나 모두를 합치면 상당량 기여할 수 있으므로 한 영양소 보다는 혼합된 항산화 물질들이 LDL의 산화를 막을 수 있을 것이다.[43] 혈청 β-carotene 농도는 건강한 성인과 비교하여 관상동맥경화증 환자에서 감소되고 심근경색증 경험이 있었던 환자에서는 더욱 감소된다고 한다.[14] 본 연구에서도 심근경색증의 경험이 있었던 환자에서 심근경색증이 없었던 관상동맥경화증 환자와 비교하여 α- 및 β-carotene, lycopene의 혈청 농도가 감소되어 있었다. 또한 본 연구의 심근경색증 경험이 있었던 환자군에서 carotenoid 농도의 감소는 이들에서 높은 당뇨병 이환율(51%)로도 부분적으로 설명될 수 있는 것이다.

이상의 결과로 미루어 보아 관상동맥경화증 환자는 질병이 없는 성인 남성과 비교하여 내장지방의 축적과 당부하시 인슐린 분비의 증가가 보여진다는 것을 알 수 있었다. 또한 혈장 homocysteine 농도의 증가와 β-carotene 농도의 감소는 관상동맥경화증 질환 자체뿐 아니라 현재 흡연과 비타민 섭취량의 감소 등이 부분적인 이유로 여겨졌다. 한편 관상동맥경화증과 인슐린 비의존형 당뇨병이 동시에 나타나는 경우에는 내장지방의 과다한 축적이 동반되며 HDL 콜레스테롤 농도의 감소뿐 아니라 비정상적인 내분비 양상과 항산화 체계의 손상을 보여주고 이러한 결과는 당뇨병으로 인한 산화 스트레스의 증가가 원인이었을 것으로 생각된다.

항상 일관성 있는 결과가 발표되는 것은 아니지만 일반적으로 항산화제의 많은 섭취는 심혈관 질환으로 인한 사망률을 낮추고[44] 항산화 상태의 고갈이 심혈관 질환의 위험을 증가시키며 동맥경화증 환자에서 질환의 진행을 촉진할 수 있다고 한다.[13] 또한 관상동맥경화증 환자에서 충분한 양의 항산화제 섭취는 관상동맥경화증의 진행을 지연시킨다는 보고도 있다.[6] 항산화제가 동맥경화증을 일부라도 예방하고 진행을 지연시킬 수 있다면 관상동맥경화증 환자뿐 아니라 심혈관 질환의 위험도가 높은 우리나라 성인 남성과 당뇨병 환자에게 이로울 것으로 생각되어 이에 대한 연구가 계속되어야 할 것이다. 또한 항산화제 투여뿐 아니라 금연, 복부 비만의 감소 및 항산화 영양소가 풍부한 다양한 식품섭취 등과 같은 전반적인 식생활 패턴의 개선이 동맥경화증의 예방을 통한 건강한 삶을 유지하는데 도움을 줄 수 있을 것이다.[14]

요 약

연구배경 :

관상동맥경화증 환자에서 체지방 분포, 내분비 기능과 항산화 체계가 변화되며 이러한 것은 당뇨병이 있는 관상동맥경화증 환자에서 더욱 심하게 나타날 것이다. 본 연구는 관상동맥경화증 환자를 당뇨병 유무에 따라 나누고 정상 성인 남성과 비교하여 복부지방 분포, homocysteine 및 지질대사, 내분비 기능과 항산화체계의 차이를 관찰하였다.

방 법 :

관상동맥경화증 남자 환자 56예, 질병이 없는 성인 남성 64예를 대상으로 당부하 검사를 시행하여 대조군(64예), 비당뇨-관상동맥경화증 군(30예)과 당뇨-관

상동맥경화증 군(26예)으로 나누었다. 컴퓨터 단층 촬영으로 L1, L4 수준에서 복부 피하 및 내장 지방 면적, 대퇴부 및 종아리의 근육과 피하지방 면적을 측정하였고 당부하시 혈당, 인슐린, C - peptide 농도를 분석하였다. 혈청 지질, testosterone, IGF - 1, tocopherol, retinol, carotenoid, GSH - Px, SOD와 malondialdehyde를 측정하였으며, 혈장 total homocysteine을 분석하여 대조군과 비당뇨 - 관상동맥경화증 군, 당뇨 - 관상동맥경화증 군간의 차이를 비교하였다.

결 과 :

대조군의 28%, 비당뇨 - 관상동맥경화증 군의 33%, 당뇨 - 관상동맥경화증 군의 15%가 현재 담배를 피우고 있었으며, 대조군의 56%, 비당뇨 - 관상동맥경화증 군의 30%, 당뇨 - 관상동맥경화증 군의 46%가 종합비타민을 복용하고 있었다. 나이, 체질량지수, 혈압은 대조군과 비교하여 비당뇨 - 관상동맥경화증 군과 당뇨 - 관상동맥경화증 군간에 유의한 차이가 없었다. L1수준의 내장지방 면적은 대조군과 비교하여 비당뇨 - 관상동맥경화증 군과 당뇨 - 관상동맥경화증 군에서 넓었으며, L4수준의 내장지방 면적은 당뇨 - 관상동맥경화증 군에서만 넓었다. 혈청 HDL콜레스테롤과 testosterone 농도는 대조군과 비교하여 당뇨 - 관상동맥경화증 군에서 낮았으며, 당부하 후 인슐린과 C - peptide 반응면적은 대조군과 비교하여 비당뇨 - 관상동맥경화증 군에서 높았다. 대조군과 비교하여 혈청 IGF - 1 농도는 비당뇨 - 관상동맥경화증 군과 당뇨 - 관상동맥경화증 군에서 낮았다. 대조군과 비교하여 비당뇨 - 관상동맥경화증 군과 당뇨 - 관상동맥경화증 군에서 혈장 homocysteine 농도는 높았으며 혈청 총 SOD 활성과 β - carotene 농도는 낮았고 대조군과 비교하여 혈청 cryptoxanthin과 lycopene 농도는 당뇨 - 관상동맥경화증 군에서만 낮았다.

결 론 :

본 연구에 참여한 관상동맥경화증 환자에서 건강한 성인 남성과 비교하여 내장지방 축적, 고인슐린혈증, 혈장 homocysteine 농도의 증가와 혈청 SOD 활성, IGF - 1, β - carotene 농도의 감소가 관찰되었다. 또한 관상동맥경화증과 당뇨병이 동시에 있는 경우 내장지방이 더욱 많이 축적되어 있었고 혈청 HDL 콜레스테롤, testosterone과 carotenoid 농도의 감소도 관찰할 수 있었다. 따라서 관상동맥경화증 환자는 금연, 복부비만의 감소 및 항산화제 섭취의 증가 등을 포함하는 전반적인 life - style modification에 대한 교육이 필요할 것이다.

중심 단어 : 심혈관질환 · 내장지방 · 항산화체계.

본 연구는 미국 랜보그 센터의 연구비로 수행되었음.

REFERENCES

1) Hercberg S, Galan P, Preziosi P, Alfarez MJ, Vazquez C. *The potential role of antioxidant vitamins in preventing cardiovascular diseases and cancers. Nutr 1998;14:513-20.*
2) Huh KB, Lee HC, Lim SK, Song YD, Park EJ, Yoon JY, *et al. Relationship between serum insulin level and cardiovascular risk factors in middle-aged Koreans with normal glucose tolerance. Kor J Med 1995;49:819-28.*
3) Colman E, Toth MJ, Katzel LI, Fonong T, Gardner AW, Poehlman ET. *Body fatness and waist circumference are independent predictors of the age-associated increase in fasting insulin levels in healthy men and women. Int J Ob 1995;19:798-803.*
4) Desprs J-P, Marette A. *Relation of components of insulin resistance syndrome to coronary disease risk. Curr Opi in Lipidol 1994;5:274-89.*
5) Cefalu WT, Wang ZQ, Werbel S, Bell-Farrow A, Crouse Ⅲ JR, Hinson WH, *et al. Contribution of visceral fat mass to the insulin resistance of aging. Metab 1995;44:954-9.*
6) Zamboni M, Armellini F, Cominacini L, Turcato E, Todesco T, Bissoli L, *et al. Obesity and regional body-fat distribution in men: Separate and joint relationships to glucose tolerance and plasma lipoproteins. Am J Clin Nutr 1994;60:682-7.*
7) Cha BS, Song YD, Paik IK, Lee JH, Kim KR, *et al. Hyperinsulinemia in patients with coronary heart disease. J Kor Diabetes Assoc 1996;20:291-302.*
8) Hauner H, Bognar E, Blum A. *Body fat distribution and its association with metabolic and hormonal risk factors in women with angiographically assessed coronary artery disease. Evidence for the presence of a metabolic syndrome. Atherosclerosis 1994;105:209-16.*
9) Bjrntorp P. *The regulation of adipose tissue distribution in humans. Int J Ob 1996;20:291-302.*
10) hrvall M, Tengblad S, Bessby B. *Lower tocopherol serum levels in subjects with abdominal obesity. J Int Med 1993;234:53-60.*
11) Clinton SK. *Lycopene: Chemistry, biology, and implications for human health and disease. Nutr Rev 1998;56: 35-51.*
12) Bonithon-Kopp C, Coudray C, Berr C, Touboul PJ, Fve JM, Favier A, *et al. Combined effects of lipid peroxidation and antioxidant status on carotid atherosclerosis in a population aged 59 71 year: The Eva Study, Am J Clin Nutr 1997;65:1121-7.*
13) Buczynski A, Wachowicz B, Kdziora-Kornatowska K, Tkaczewski W, Kdiziora J. *Changes in antioxidant enzyme activities, aggregability and malondialdehyde concentration in blood platelets from patients with coronary heart disease. Atherosclerosis 1993;100:223-8.*
14) Gazino M, Hennekens CH. *Antioxidant vitamins, diabetes and cardiovascular disease. Clinical Diabetes 1994;12:88-92.*

15) Currie IC, Wilson YG, Scott J, Day A, Stansbie D, Baird RN, *et al. Homocysteine: An independent risk factor for the failure of vascular intervention. Br J Surgery 1996; 83:1238-41.*
16) Woodside JV, Yarnell JWG, McMaster D, Young IS, Harman DL, McCrum EE, *et al. Effect of B-group vitamins and antioxidant vitamins on hyperhomocysteinemia: A double-blind, randomized, factorial-design controlled trial. Am J Clin Nutr 1998;67:858-66.*
17) Pancharumiti N, Lewis C, Sanverlich HE, Perkins LL, Go RCP, Alvarez JO, *et al. Plasma homocysteine, folate and vitamin B12 concentrations and risk for early-onset coronary artery disease. Am J Clin Nutr 1994;59:940-8.*
18) Duell PB, Malinow MR. *Homocysteine: An important risk factor for atherosclerotic vascular disease. Curr Opi in Lipidol 1998;8:28-34.*
19) Carter GD, Holland SM, Alahband-Zadeh J, Rayman G, Dorrington-Ward P, Wise PH. *Investigation of hirsutism; Testosterone is not enough. Ann Clin Biochem 1983;20: 262-3.*
20) 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.*
21) Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, Mailnow MR, Andersson A, Allen RH. *Total homocysteine in plasma or serum: Method and clinical applications. Clin Chem 1993; 39:1764-79.*
22) Yeum K-J, Lee-Kim YC, Yoon S, Lee KY, Park IS, Lee KS, *et al. Similar metabolites formed from β-carotene by human gastric mucosal homogenates, lipoxygenase or linoleic acid hydroperoxide. Arch Biochem Biophys 1995;32 1:167-74.*
23) Bankson DD, Russell RM, Sadowski JA. *Determination of retinyl esters and retinol in serum or plasma by normal phase liquids chromatography, Method and applications. Clin Chem 1986;32:35-40.*
24) McCrehan WA. *Determination of retinol, α-tocopherol and β-carotene in serum by liquid chromatography. Methods in Enzymol 1986;189:172-81.*
25) Thurnham DI, Davis JA, Crump BJ, Situnayake RD, Davis M. *The use of different lipids to express serum tocopherol: Lipid ratios for the measurement of vitamin E status. Ann Clin Biochem 1986;23:514-20.*
26) Paglia DE, Valentine WN. *Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidation. J Lab & Clin Med 1967;70:158-69.*
27) Deagen JT, Butler JA, Beilstein MA, Whagner PD. *Effects of dietary selenite, selenocysteine and selenomethione oselenocysteine lyase and glutathionine peroxidase activities and on selenium levels in rat tissues. J Nutr 1987;117:91-8.*
28) Marklund S, Marklund G. *Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem 1974;47:469-74.*
29) Sheri ZC, Keen CL, Hurley LS. *SOD activity and lipid peroxidation in the rats developmental correlations affected by manganese deficiency. J Nutr 1983;113:2498-504.*
30) 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.*
31) Schade DS, Boyle. *Insulin resistance: Its role in health and disease. Clinical Diabetes 1992;10:3-6.*
32) Frayn KN. *Insulin resistance and lipid metabolism. Curr Opi in Lipidol 1993;4:197-204.*
33) Reaven GM. *The role of insulin resistance and hyperinsulinemia in coronary heart disease. Metabolism 1992;41: 16-26.*
34) Semmens J, Rouse I, Belin LJ, Masarei RL. *Relationship of plasma HDL-cholesterol to testosterone, estradiol and sex hormone-binding globulins in men and women. Metabolism 1983;32:429-32.*
35) Lichtenstein MJ, Yarnell JWG, Elwood PC, Beswick AD, Sweetnam PM, Marks V, *et al. Sex hormone, insulin, lipids and prevalent ischemic heart disease. Am J Epidemiol 1987;126:647-57.*
36) Zentella A, Gmez EO. I*nvited comment. Nutr Rev 1997; 55:549-51.*
37) Allard JP, Aghdassi E, Chau J, Salit I, Walmsley S. *Oxidative stress and plasma antioxidant micrornutrients in humans with HIV infection. Am J Clin Nutr 1998;67:143-7.*
38) Gazino M, Hennekens CH. *Antioxidant vitamins, diabetes and cardiovascular disease. Clinical Diabetes 1994;12: 88-92.*
39) Stahl W, Sies H. *Antioxidant defense: Vitamin E and C and carotenoids. Diabetes 1997;46:S14-8.*
40) Buring JE, Hannekens CH. *Antioxidant vitamins and cardiovascular disease. Nutr Rev 1997;55:S53-60.*
41) Vogel S, Contosis JH, Tucker KL, Wilson PWF, Schaer EJ, Lammi-Keefe CJ. *Plasma retinol and plasma and lipoptein tocopherol and carotenoid concentrations in healthy elderly participants of the Framingham Heart Study. Am J Clin Nutr 1997;66:950-8.*
42) Kaplan LA, Stein EA, Willett WC, Stampfer MJ, Stryker WS. *Reference range of retinol, tocopherols, lycopene and alpha- and beta-carotene in plasma by simultaneous high-perfermance liquid chromatographic analysis. Clin Physiol Biochem 1987;5:297-304.*
43) Halliewll B. *Antioxidants and human disease: A general introduction. Nutr Rev 1997;55:S44-52.*
44) Reunanen A, Knekt P, Aaran RK, Aromaa A. *Serum antioxidants and risk of non-insulin dependent diabetes mellitus. Eur J Clin Nutr 1998;52:89-93.*