

한국인 제 2형 합병증동반 당뇨병 환자에 있어 과산화지질, 항산화 효소, 및 항산화비타민에 관한 연구

하 애 화* · 김 현 만

명지대학교 생활과학부 식품영양학과, * 이주대학교 의과대학 내분비대사 내과학교실

The Study of Lipid-peroxidation, Antioxidant Enzymes, and the Antioxidant Vitamins in NIDDM Patients with Microvascular-diabetic Complications

Ha, Ae-Wha* · Kim, Hyeon-Man

Department of Foods and Nutrition,* Myongji University, Yongin 449-728, Korea

Department of Endocrinology & Metabolism, Ajou University School of Medicine, Suwon 442-749, Korea

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the extent of oxidative stress in NIDDM patients with diabetic complications and to determine the relationship between oxidative stress and diabetic complications. For this study, 139 NIDDM patients were recruited, 85 with diabetic complications and 54 without complications were recruited. The concentration of malondialdehyde(MDA) and the activities of antioxidant enzymes including catalase, superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-Px) were determined. The daily intakes and plasma concentrations of beta-carotene, lycopene, lutein and alpha-tocopherol were determined by food frequency questionnaire and by high performance liquid chromatography(HPLC), respectively. Among the antioxidant enzymes studied, only GSH-Px activity was lower in NIDDM patient, with diabetic complications than in those without complications(2.91 ± 0.80 vs 3.54 ± 0.44 U/mgHb, $p < 0.05$). Those NIDDM patients with diabetic complications had higher MDA concentrations than those without diabetic complications(1.40 ± 0.25 vs 1.25 ± 0.11 nmol/ml, $p < 0.05$). There were no significant differences in the dietary intakes of total carotenoids(2854 vs 2824 ug/day) or vitamin E(9.5 ± 3.2 vs 9.5 ± 2.0 mg/day) between NIDDM patients with and without complications. However, the plasma concentrations of beta-carotene and lycopene were significantly lower in NIDDM patients with complications than in NIDDM patients without complications(Beta-carotene : 24.2 ± 12.5 vs 33.1 ± 16.2 (ug/dl), lycopene : 2.8 ± 2.1 vs 4.3 ± 2.8 (ug/dl)). This study showed that in NIDDM patients with complications, the lipid peroxidation of erythrocytes was highly increased and the antioxidant reserves were significantly depleted, compared with NIDDM patients without complications. The lower plasma concentrations of beta-carotene and lycopene in NIDDM patients may be due to the presence of diabetic complications, not due to the lower dietary intakes of antioxidant vitamins. To define the role of carotenoids in diabetes, more experimental and clinical studies are needed. (*Korean J Nutrition* 32(1) : 17~23, 1999)

KEY WORDS : lipid peroxidation · antioxidant enzymes · carotenoids · diabetic complications.

서 론

당뇨병은 단순히 체내에서 당질대사의 이상을 초래하여 당질을 이용하지 못하는데 그치는 것이 아니고 당뇨병성 합병증을 유발시킨다. 당뇨병성 합병증은 크게 미세혈관 합병증과 대혈관 합병증으로 나누며 미세혈관 합병증으로는 당뇨병성 망막증, 당뇨병성 신증, 당뇨병성 신경병증 등이 있으며, 대혈관 합병증으로는 허혈성 심질환, 동맥경화증 등이 있다. 과거에는 당뇨병성 급성 케톤산 혈증이 당뇨병 환
채택일 : 1998년 11월 2일

자의 주 사망 원인이었으나, 의료 기술의 발달과 당뇨병 환자의 노령화로 인해 합병증으로 인한 사망률이 점점 증가하는 추세¹⁾이다. 따라서 당뇨병을 근본적으로 치료 할 수는 없겠지만 합병증의 발병 및 예방에 대한 보다 많은 연구가 필요한 때이다.

최근에 당뇨병성 합병증의 발병 기전으로 고혈당으로 인한 산화 스트레스가 제시되고 있으나, 국내의 경우 과산화 지질이나 항산화 효소의 활성도를 측정하여 합병증이 없는 순수 당뇨병 환자의 산화 스트레스를 규명한 연구가 대부분이다²⁻⁷⁾. 당뇨병성 합병증의 연구도 주로 대혈관 합병증 환자를 대상으로 수행되었다^{8,9)}. 그러나 대혈관 합병증 환자의

약 30~40%는 고지혈증을 동반하거나 항혈소판 제제를 복용하고 있고 이는, 혈중 과산화지질농도 및 항산화 비타민 농도 측정 등에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다⁹⁾.

당뇨병성 합병증과 산화 스트레스에 대한 연구는 합병증을 동반한 당뇨병환자의 산화 스트레스의 정도 측정 뿐 아니라, 체내 항산화 방어체계에 대한 구체적인 조사도 병행되어야 한다. 체내의 항산화 방어체계는 항산화 효소들과 항산화 비타민을 포함한다. 항산화 효소들은 제1방어체제로 유리 라디칼을 몰이나 과산화수소로 환원시켜 유리 라디칼의 초기 생성을 저지하며, 이미 생성된 유리 라디칼에 의한 산화 연쇄반응 차단은 제2방어체계인 vitamin E, vitamin C, carotenoids 등의 항산화 비타민에 의해 이루어진다¹⁰⁾.

혈중 항산화 비타민의 농도나 식이 섭취량은 산화 스트레스나 이로 인한 질병의 발병에 대한 간접적인 지표로 사용되어 왔다. 많은 역학 조사나 임상 실험을 통해 항산화 비타민의 식이 섭취가 부족하거나 또는 혈장의 항산화 비타민의 농도가 낮을 경우 암이나 관상동맥 심장병 등에 걸릴 위험도가 증가함을 보여주었다¹¹⁻¹⁴⁾. 한편 당뇨병성 합병증을 가진 환자에 있어 혈장 항산화 비타민 농도를 측정, 비교하거나 당뇨병성 합병증과 carotenoids에 관한 연구는 부족하다. 또한 이제까지 항산화제로서의 carotenoids에 관한 연구는 beta-carotene에만 치중되어 왔으나, 최근에는 lycopene, lutein, zeaxanthin 등의 carotenoids가 노화에 따른 근육의 퇴행¹⁵⁾, 백내장의 발생¹⁶⁾등과 관련 있다는 보고가 있으므로 당뇨병성 미세혈관 합병증환자에 있어 이러한 carotenoids를 포함한 항산화 비타민의 식이 섭취 조사나 혈장의 농도조사는 당뇨병성 합병증의 연구에 중요한 기초 자료를 제시할거라 생각되어 진다.

따라서 본 연구에서는 고지혈증 증상이 없고, 항혈소판 제제를 복용하지 않는 미세혈관 합병증을 동반한 당뇨병 환자를 대상으로 적혈구 과산화 지질을 측정하여 산화 스트레스 정도를 조사하고, 또한 여러 종류의 합병증을 동반한 군과 그렇지 않은 군들간의 산화 스트레스 정도도 비교하였다. 둘째로 적혈구 항산화 효소들의 활성도와 항산화 비타민인 Vitamin E, beta-carotene, lycopene, lutein의 혈장 농도 및 식이 섭취량을 측정하여 당뇨병성 미세혈관 합병증환자의 항산화 체계를 조사하였다.

연구 대상 및 방법

1. 연구대상자

본 연구는 1996년 12월부터 1997년 4월까지 아주대학교

내분비내과의 외래환자 중 전문의의 진단을 받은 인슐린 비 의존형 당뇨병을 가진 환자를 대상으로 하였다. 환자들은 National Diabetes Data Group의 기준에 따라 3명의 당뇨 전문의로부터 당뇨병을 진단 받았으며 당뇨병의 증세에 따라 분류되었다. 당뇨병성 미세혈관 합병증은 환자들의 임상적 소견, 신경학적 검사소견, 임상 병리적 소견, 망막촬영 등에 따라 신경병증, 망막증, 신증으로 분류하였다. 연구 대상자 중 지질의 변화를 초래할 수 있는 급성 질환 감염자는 대상에서 제외하였다. 인슐린 및 경구 혈당 강하제를 제외한 기타 약제 사용자, 비타민 복용자, 흡연자도 제외하였다.

합병증군은 합병증의 동반 수에 따라 3군으로 세분 하였다; 제1군: 신증, 신경병증, 망막증 중 어느 한 증상만 나타나는 당뇨 환자, 제2군: 2종류의 합병증 동반 당뇨 환자, 제3군: 3종류(신증, 신경병증, 망막증)합병증 모두 동반한 당뇨 환자.

연구대상자의 체중 및 신장을 측정하였고, 10시간 이상 금식 후 상지 정맥에서 혈액을 채취하여 원심 분리 후 혈청 및 혈장은 Hitachi 747 자동분석기를 이용한 일반 생화학 적 검사 및 항산화 비타민의 농도측정에 사용하였고, 적혈구는 과산화지질농도 측정과 항산화 효소 활성도 측정에 이용하였다.

2. 항산화 효소 활성도 및 과산화지질 농도 측정

적혈구는 생리 식염수에 3번 세척 후 냉각수로 6배 희석하고 그중 50ul을 효소 활성도의 측정에 사용하였다. SOD의 활성도는 Crapo등¹⁷⁾의 방법에 의해 측정하였다. 0.1mM EDTA가 함유된 50mM phosphate buffer(PH 7.8)에 0.2mM xanthine과 0.04mM cytochrome c를 넣었다. 거기에 xanthine oxidase 첨가 후, 550nm에서 흡광도 변화를 2분간 측정하였다. 이때 cytochrome c의 환원속도를 50% 억제하는 효소 량을 1 unit로 표시하였다. Glutathione peroxidase(GSH-Px)는 수정된 Flohe 방법¹⁸⁾으로 측정하였다. 100mM phosphate buffer(PH 7.0)에 3 mM GSH(glutathione), 20mM NaN₃, 0.72U glutathione reductase, 0.45mM NADPH를 혼합한 후 340nm에서 3분 동안 흡광도의 변화를 측정하고 1.5mM의 H₂O₂를 첨가하여 혼합한 후 다시 5분 동안 흡광도의 변화를 측정하였다. 효소의 활성도는 1μmol의 NADPH를 산화시키는 효소의 양을 1 unit로 하였다. Catalase 활성도 측정은¹⁹⁾ phosphate buffer에 catalase 또는 적혈구를 넣고 혼합한 후 H₂O₂를 첨가하여 240nm에서 30초간의 흡광도 변화를 측정하였다. 효소의 활성도는 다양한 농도의 catalase에 의한 표준곡선을 만들어 계산하였다.

적혈구의 과산화지질 농도는 수정된 Stocks & Dormandy의 방법²⁰⁾을 이용하여 측정하였다. 순수한 적혈구에 PBS 용액, BHT, 30% trichloroacetic acid를 첨가하여 잘 혼합한 후 2시간 동안 얼음에 보관하였다. 사료를 원심 분리하여 상층액을 1% TBA 용액과 혼합하여 끓는 물에서 가열하였다. MDA(malondialdehyde)의 농도는 532nm에서 측정된 흡수도와 600nm에서의 흡수도를 뺀 흡수도에 MDA-TBA 흡수계수($1.56 \times 10^5 \text{cm}^{-1} \text{M}^{-1}$)를 이용하여 계산하였다.

3. 항산화 비타민의 식이 섭취 조사

반 정량 빈도법(food frequency method)을 이용하여 지난 1년간의 평균 식품 섭취빈도를 조사하였다. 식품항목은 vitamin C, carotenoids, vitamin E의 함량이 많은 식품 61가지였으며, 각 식품의 섭취횟수는 7가지(전혀 먹지 않음, 7회/주, 1회/주, 2~3회/주, 4~5회/주, 1회/보름, 1회/1달)로 분류하였다. 각 식품의 1회 섭취분량은 식품모델을 이용하여 일대일 면담을 통해 조사되었고, 각 식품에 함유되어 있는 영양소의 함량은 한국인 영양 권장량에 첨부된 식품 영양 평가표 등을 이용하여 계산하였다²¹⁻²⁵⁾.

4. HPLC를 이용한 혈장의 항산화 비타민 분석

혈장 항산화 비타민의 농도는 수정된 Bieri²⁶⁾과 Craft²⁷⁾의 방법으로 HPLC로 측정하였다. 표준용액으로 lycopene, lutein, beta-carotene과 alpha-tocopherol, retinol(Sigma Chemical Co.)과 internal standard는 echinenone(Fluka chemical company)과 tocopherol acetate(Sigma Chemical Co.)를 사용하였다. 각각의 carotenoids와 retinol을 hexane에 용해시킨 후 ethanol로 희석하였고, alpha-tocopherol과 tocopherol acetate는 ethanol로 희석하였다. 희석 후 최종 농도가 1ug/ml가 되도록 다시 mobile phase로 희석하였으며, 이때 표준용액의 농도는 각각의 흡광 계수(E)를 이용하여 계산하였다.

혈장 200ul에 internal standard와 ethanol을 잘 혼합하여 원심분리후 hexane을 첨가하였다. 원심 분리하여 (2000 rpm, 10 min, 4C) 상층액만을 취하여 Speed-Vacuum Evaporator(초고속 냉각건조기)로 건조시킨 후 200ul mobile phase 용해한 후 20ul를 HPLC에 주입하였다.

5. 통 계

연구결과는 SPSS 통계프로그램을 이용하였으며 분석방법으로는 ANOVA(analysis of variance)로써 당뇨병성 합병증 군간의 차이를 분석하였고, 당뇨 합병증 군과 순수

당뇨군의 비교는 Student -t test를 이용하였다. 혈액 중 비타민 농도와 과산화 지질농도의 상관 관계 및 비타민 섭취 조사 량과의 상관관계는 회기분석을 통하여 알아보았으며 유의수준은 0.05이하로 정하였다.

연구결과

연구 대상자의 임상적 특성은 Table 1에 나타나 있다. 조사대상자를 합병증이 있는 당뇨병군(85명)과 합병증이 없는 순수 당뇨병군(54명)으로 분리하였으며 합병증 군은 1군이 23예 : 신증 8예, 신경병증 10예, 망막증 5예, 2군이 36예 : 신증 신경병증 13예, 신증 망막증 15예, 신경병증과 망막증 8예, 3가지 합병증을 모두 동반한 3군이 26예 였다. 평균연령의 분포는 35세에서 65세까지의 성인으로 당뇨 합병증 군은 평균 53세±8.9세 였고 순수 당뇨병군은 50.3±9.6세 였다. 총 콜레스테롤 농도를 제외하고는 혈액 지 단백질에는 두 군간에 유의적인 차이가 없었다. 공복시 혈당은 합병증군 168 mg/dl, 순수 당뇨병군 155mg/dl로 합병증군에 높게 나타났으며, 당화 혈색소(HbA1c) 합병증군 9.1%, 순수 당뇨병군 8.7%를 나타냈다. 유병 기간은 당뇨 합병증군 6.1년, 순수 당뇨병군 5.0년으로 두 군간의 차이는 없었다.

Catalase의 경우 당뇨 합병증군이 순수 당뇨병군에 비해 낮은 효소의 활성도를 나타내었으나 유의 적인 차이는 없었다(Table 2). 그러나 GSH-Px와 SOD의 경우 당뇨병성 합병증의 유무에 따라 유의 적인 차이를 보여 주었다(p<0.05). 특히 GSH-Px의 경우 당뇨 합병증군 2.91±0.8U/mgHb 이었고 순수 당뇨병군은 3.54±0.4U/mgHb으로 두 군간의 차이는 조사된 항산화 효소 중 가장 뚜렷하였다. 합

Table 1. The characteristics of the subjects

	NIDDM with Cx' (=85)	NIDDM without Cx (n=54)
Age (Year)	53.6 ± 9.4	50.3 ± 9.6
Ht (cm)	161.9 ± 8.2	160.3 ± 8.3
Wt (kg)	60.6 ± 9.9	64.6 ± 9.2
BMI (kg/m ²)	25.23 ± 3.1	24.21 ± 1.9
HDL (mg/dl)	47.4 ± 12.9	45.6 ± 11.7
LDL (mg/dl)	135.3 ± 46.2	119.4 ± 32.5
TG (mg/dl)	174.8 ± 80.0	151.5 ± 78.0
Cholesterol (mg/dl)	215.5 ± 51.5*	193.2 ± 33.3
Glucose (mg/dl)	168.4 ± 68	155.6 ± 46
Hb (g/dl)	13.3 ± 2.1	14.4 ± 1.3
HbA1c (%)	9.1 ± 2.8	8.7 ± 1.9
Duration (yr.)	6.1 ± 5.0	5.0 ± 4.0

'Cx=micro-diabetic complications

*Significant difference between NIIDDM with Cx and without Cx at p<0.05 level.

병증군의 경우, SOD나 GSH-Px의 효소 활성도는 제 2군과 3군이 제 1군에 비해 낮은 활성도를 나타내었으나, 제 1군과 제 3군의 GSH-Px 활성도에만 통계적인 유의성이 있었다(p<0.05).

적혈구 과산화 지질의 농도를 측정된 결과 당뇨 합병증군은 1.40±0.25nmol/ml로 순수 당뇨군의 1.25±0.24 nmol/ml 보다 유의적으로 높았다(p<0.05). 합병증군에서 3 종류이상의 합병증 동반군인 제 3군이 가장 높은 과산화 지질농도를 보여주었다(p<0.05).

당뇨병성 합병증을 가진 당뇨병 환자와 순수 당뇨환자에 있어 혈장 항산화 비타민의 농도를 조사한 결과는 Table 3에 제시되어 있다. Carotenoids 중 β-carotene과 lycopene의 경우 당뇨병성 합병증의 유무에 따른 농도 차이가 나타났다(p<0.05). β-carotene은 당뇨 합병증군과 순수 당뇨군이 각각 24.2µg/dl와 33.1µg/dl로 그 차이가 유의적이었으며, 특히 lycopene의 경우, 합병증의 유무에 따른 두 군간의 차이가 더욱 뚜렷했다(합병증군 ; 2.8µg/dl, 순수 당뇨군 ; 4.3µg/dl). 한편 retinol과 α-tocopherol의 혈장 농도는 당뇨 합병증군과 순수 당뇨군에 있어 차이가 없었다.

합병증군에서 합병증의 동반 수는 항산화 비타민의 혈장농도에 영향을 미치지 않았다. Lutein의 경우 제 3군(3 종류 이상의 합병증 동반군)에서 가장 큰 농도 저하가 나타났으나 통계적인 유의성은 없었다.

항산화 비타민의 식이 섭취량을 조사한 결과(Table 4), Vitamin E의 경우 한국 남녀 성인의 1일 권장량인 10mg/day와 비교해 볼 때 두 군 모두 권장량에 근접한 9.5mg/day를 섭취하고 있었으며 당뇨병성 합병증의 동반여부에 따른 차이는 없었으며, 합병증군에 있어 세군간의 섭취량에도 차이가 없었다. 총 carotenoids의 섭취량은 당뇨병성 합병증군과 순수 당뇨군이 각각 2.82mg/day과 2.85mg/day를 섭취하는 것으로 나타났다. 한국에서는 아직 carotenoids의 일일 권장량이 정해져 있지 않지만 미국의 권장량인 2mg/day와 비교해 볼 때, 본 연구 대상 당뇨병 환자들은 권장량 이상의 carotenoids를 섭취하고 있었다.

Carotenoids중 beta-carotene의 경우 당뇨 합병증군(2.0mg/day)이 순수 당뇨군(2.1mg/day)보다 평균 섭취량이 낮았으나 통계적인 유의성은 없었다. 당뇨 합병증군에 있어서는 제 3군의 lutein 섭취량이 제 2군과 3군에 비해

Table 2. The enzyme activities and ADA concentrations in NIDDM patients

Enzymes (U/mgHb)	NIDDM		NIDDM with Cx		
	without Cx	Group 1 ¹⁾	Group 2	Group 3	Total N
Catalase	2.71±0.71	2.44±0.73	2.70±0.74	2.98±0.81	2.64±0.80
GSH-Px	3.54±0.44*	3.07±0.85 ^a	2.77±0.81 ^b	2.74±0.68 ^b	2.91±0.80 ^b
SOD	3.14±0.39*	2.94±0.36	2.67±0.45	2.76±0.47	2.81±0.42
MDA(nmol/ml)	1.25±0.11*	1.24±0.20 ^a	1.40±0.18 ^b	1.51±0.24 ^c	1.40±0.25 ^b

1) group 1 : NIDDM patients with 1 diabetic complication

group 2 : NIDDM patients with 2 diabetic complications

group 3 : NIDDM patients with more than 3 diabetic complications

a,b : Within NIDDM with Cx, the values with different letters in a row are significantly different at p<0.05

*Significant differences between NIDDM without Cx and with Cx(total N) at p<0.05

Table 3. The plasma concentrations of antioxidant vitamins in NIDDM patients

Vitamins (ug/dl)	NIDDM		NIDDM with Cx		
	without Cx	Group 1	Group 2	Group 3	Total N
β-carotene	33.1±16.2*	21.3±10.6	28.4±17.5	25.4±10.3	24.2±12.5
Lycopene	4.3± 2.8*	2.6± 2.0	2.7± 2.3	2.9± 2.5	2.8± 2.3
Lutein	45.6±17.2	49.8±12.4 ^a	54.6±18.6	44.2±17.8 ^b	49.3±15.7
Retinol	56.2±18.4	54.3±20.0 ^a	75.4±34.0 ^b	54.8±27.1 ^a	58.5±25.3
α-tocopherol	841±283	807±263 ^a	917±281 ^b	824±325 ^a	807.1±263

*Significant differences between NIDDM without Cx and with Cx(total N) at p<0.05

Table 4. The intakes of antioxidant vitamins in NIDDM patients

Vitamins (ug/day)	NIDDM		NIDDM with Cx		
	without Cx	Group 1	Group 2	Group 3	Total N
β-carotene	2131±1560	2315±1352	1980±1170	2011±1550	2097±1346
Lycopene	570± 270	580± 195	600± 207 ^a	491± 302 ^b	557± 235
Lutein	153± 160	190± 155	162± 141	158± 150	170± 148
α-tocopherol	9540±2460	9530±2650	9120±2510	9990±2780	9546±2646

a,b : Within NIDDM with Cx, the values with different letters in a row are significantly different at p<0.05

유의 적으로 높게 나타났다($p < 0.05$).

고 찰

본 연구를 통해 미세혈관 합병증을 동반한 당뇨병 환자가 순수 당뇨병 환자보다 더 높은 산화 스트레스를 받고 있음을 알 수 있었고 특히 여러 종류의 합병증을 동반한 환자에 있어 가장 높은 과산화 지질농도는 당뇨병 환자가 산화스트레스를 많이 받을수록 여러 합병증이 동반될 가능성이 높아짐을 간접적으로 시사하고 있다. 이러한 결과는 대조군에 비해 당뇨에 걸린 쥐들의 신장과 망막에 있어서의 높은 과산화 지질의 농도와 당뇨병성 합병증이 동반된 경우 이러한 차이가 더욱 뚜렷한 것으로 보고하였던 몇몇 동물실험의 연구결과들²¹⁾²⁸⁻³²⁾과 일치한다.

당뇨병성 합병증환자에 있어 높은 지질 과산화는 결핍된 체내 항산화 물질들에 의한 산화 스트레스의 증가 때문인 것으로 생각된다. 대조군에 비해 당뇨병 환자의 저하된 항산화 효소들의 활성도는 이미 여러 연구에서 보고 된 바 있고⁵⁻⁷⁾ 본 연구에서도 합병증환자의 혈중 항산화 방어체계에 있어 특히 항산화 효소인 GSH-Px와 SOD의 활성도가 현저히 떨어져 있었다($p < 0.05$). 또한 조사된 항산화 비타민 중 혈중 beta-carotene과 lycopene의 농도는 합병증군에서 유의적으로 낮게 나타났다($p < 0.05$).

당뇨 합병증군에서의 낮은 혈장 carotenoids의 농도가 식이 섭취량에 기인한 것인가를 규명하기 위해 항산화 비타민의 식이 섭취를 조사하였다. 본 연구대상 당뇨병환자들은 일일 권장량에 근접한 양의 carotenoids를 식품에서 섭취하고 있었고, 그 섭취량도 당뇨병성 합병증의 동반여부에 따른 두 군간에 유의적인 차이가 없었다. 따라서 당뇨병성 합병증환자의 낮은 혈장 beta-carotene과 lycopene의 농도는 식이 섭취량과는 관련이 없음을 알 수 있었다. 또한 항산화 비타민의 혈장농도에 영향을 미칠 수 있는 요인들, 항산화 비타민 영양제 섭취, 흡연, 고지혈증등을 배제하였기 때문에 당뇨병성 미세혈관 합병증 환자의 낮은 혈장 carotenoids농도는 당뇨병으로 인한 산화 스트레스의 결과로 생성된 높은 과산화 지질에 대한 길항작용 때문이라 생각된다. 이러한 결과는 당뇨병성 합병증의 높은 산화 스트레스와 결핍된 항산화 방어체계의 관련성을 뒷받침 해 주고 있다.

당뇨병성 미세혈관 합병증과 carotenoids의 혈장농도에 관한 연구는 많지 않을 뿐 아니라 그 결과도 다양하다³⁶⁾³⁷⁾. Davie등은³⁶⁾ NIDDM 환자의 유의적으로 낮은 beta-carotene의 농도가 백내장의 발병과 상관관계가 있음을 보여 주었고 Singh등은³⁷⁾ NIDDM 환자중 신경증이 있는 환자

와 그렇지 않은 경우 혈장의 beta-carotene의 농도에 차이가 없음을 보여 주었다.

그러나 미세혈관 합병증에서 carotenoids의 투여는 합병증의 증세를 호전시키는데 매우 효과적인 것으로 보고되었다. 즉, 당뇨 쥐에 beta-carotene의 투여는 당뇨 쥐의 신장의 항산화 체계를 향상시키고 과산화지질의 생성을 저지시키는데 효과적임을 보여주었고³⁸⁾, 최근 연구에서³⁹⁾⁴⁰⁾ 항산화 비타민의 투여가 당뇨 백서의 신경전달속도 향상에 효과적이었고, 특히 beta-carotene이 미세혈관의 기능 향상에 있어 vitamin E 보다 효과적인 항산화제임을 보고하였다. 이러한 연구들은 본 연구와 같이 당뇨병성 미세혈관 합병증에 있어 carotenoids의 중요성을 강조 하고 있다.

당뇨병 환자의 높은 산화 스트레스와 결핍된 항산화 방어 체계는 당뇨병성 합병증의 발병 위험을 증가시키므로, 항산화제가 중요한 역할을 하리라 생각되며 특히 당뇨병성 미세혈관 합병증에 있어 항산화 비타민으로서 carotenoids에 관한 보다 많은 관심과 연구가 필요한 것으로 사려된다.

요약 및 결론

당뇨병을 근본적으로 예방할 수는 없지만 당뇨병으로 인한 합병증은 예방되거나 지연시킬 수 있는 것으로 보고되고 있다. 당뇨병성 합병증과 산화 스트레스에 관한 연구는 합병증을 동반한 당뇨병환자의 항산화 효소뿐 아니라 항산화 비타민에 대한 연구도 포함 되어야 한다. 따라서 본 연구는 합병증을 동반하거나, 85세, 동반하지 않은, 54세, 인슐린 비 의존형 당뇨병 환자들 대상으로 하여 적혈구 malondialdehyde(MDA)농도와 항산화 효소인 catalase, superoxide dismutases(SOD) 및 glutathione peroxidase(GSH-Px) 활성도를 측정하였다. 대상자의 항산화 비타민 식이 섭취 평가방법은 반 정량 빈도법(food frequency method)을 이용하여 하루 평균 섭취량을 조사하였고, 혈장에 있는 항산화 비타민들의 농도는 HPLC(high performance liquid chromatography)에 의해 측정하였다.

조사된 항산화 효소 중 특히 GSH-Px와 SOD의 경우 당뇨병성 합병증의 유무에 따라 유의적인 차이를 보여 주었다($p < 0.05$) GSH-Px의 경우 당뇨 합병증군 2.91 ± 0.8 U/mgHb이었고 순수 당뇨군은 3.54 ± 0.4 U/mgHb으로 두 군간의 차이는 조사된 항산화 효소 중 가장 뚜렷하였다. 합병증군의 경우, SOD와 GSH-Px의 효소 활성도는 제 2군(2종류의 합병증 동반군)과 3군(3 이상의 합병증 동반군)이 제 1군(1종류의 합병증 동반군)에 비해 낮은 활성도를 나타내었다. 적혈구 과산화 지질의 농도를 측정할 결과

당뇨 합병증군은 $1.40 \pm 0.25 \text{ nmol/ml}$ 으로 순수 당뇨병군의 $1.25 \pm 0.24 \text{ nmol/ml}$ 보다 유의 적으로 높았다 ($p < 0.05$). 합병증군에서 3 종류이상의 합병증 동반군인 제3군이 가장 높은 과산화 지질농도를 보여주었다 ($p < 0.05$).

Carotenoids 중 β -carotene과 lycopene의 경우 당뇨 합병증군이 순수 당뇨병군에 비해 유의적으로 저하된 혈장 농도를 나타냈다 ($p < 0.05$). 그러나 합병증군에서 합병증의 동반 수는 항산화 비타민들의 혈장농도에 영향을 미치지 않았다. Retinol과 α -tocopherol의 ruddn 당뇨 합병증군과 순수 당뇨병군에 있어 차이가 없었다. 항산화 비타민의 섭취량을 조사한 결과 vitamin E의 경우 대상자 모두 권장량에 근접한 9.5 mg/day 를 섭취하고 있었으며 당뇨병성 합병증의 동반여부에 따른 차이는 없었다. 총 carotenoids의 섭취량 또한 당뇨 합병증군과 순수 당뇨병군이 각각 2.82 mg/day 과 2.85 mg/day 으로 두군간에 차이가 없었다.

결론적으로 당뇨병성 미세혈관 합병증 환자의 경우 순수 당뇨병자보다 더 높은 적혈구 과산화지질과 저하된 항산화 방어체계를 볼 수 있었다. 당뇨병으로 인해 과다 생성된 과산화 지질은 혈액을 통해 순환하면서 혈관 내피세포의 기능을 손상시켜 합병증의 발병 가능성을 증가시키므로 당뇨병 환자의 carotenoids가 함유된 식품의 섭취 증가는 당뇨병으로 인한 높은 산화 스트레스의 위험을 낮추는데 도움이 될 것이라 생각한다. 본 연구는 미세혈관 합병증을 동반한 당뇨병 환자의 혈액 carotenoids의 농도를 측정할 기초자료이며 앞으로 더 많은 동물실험과 임상 연구를 통한 carotenoids의 기능 규명이 필요하다 생각된다.

■ 감사의 글

본 연구를 위해 도움을 주신 아주대학교병원 내분비 내과 학교실, 이관우 교수님, 정윤석 교수님, 노혜림, 임상병리과 광연식 교수님, 신옥현 팀장님, 내분비검사실 임현채씨 및 종합검진센터의 협조에 감사드립니다. 본 연구는 한국 학술진흥재단의 학술연구조성비에 의하여 연구됨.

Literature cited

- Ganda OP. Pathogenesis of macrovascular disease in the human diabetic. *Diabetes* 29 : 931-937, 1980
- Wolff SP. Diabetes mellitus and free radicals. *Br Med Bull* 49 : 642-652, 1993
- Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 40 : 405-411, 1991
- Baynes JW, Thorpe SR. The role of oxidative stress in diabetic complications. *Current Opinion in Endocrine* 3 : 277-284, 1996
- Jang HC, Min YK, Han IK. Increased membrane lipid peroxidation of erythrocytes in NIDDM. *Korean J Diabetes* 16(4) : 309-316, 1992
- Lee MH, Lee DS, Ihm SH, Yu JM. Level of plasma lipid hydroperoxides in NIDDM patients. *Korean J Diabetes* 20(2) : 124-133, 1996
- Yu BJ, Bae HY, Lee BR. The activity of erythrocyte antioxidant enzymes in diabetes mellitus. *Korean J Intern Med* 44(6) : 766-774, 1993
- Alan JS. Free radical mechanisms and vascular complications of diabetes mellitus. *Diabetes Review* 2 : 7-10, 1993
- Fuller CJ, Chandalia M, Garg A, Grundy AM, Jialal I. RRR- α -tocopherol acetate supplementation at pharmacologic doses decreases low-density-lipoprotein oxidative susceptibility but not protein in patients with diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr* 63 : 753-759, 1996
- Packer L. The role of anti-oxidative treatment in diabetes mellitus. *Diabetologia* 36 : 1212-1213, 1993
- Arnaud J, Fortis I, Blachier A, Kia D, Favier A. Simultaneous determination of retinol, α -tocopherol, and β -carotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. *J Chromatog* 572 : 103-116, 1991
- Block G. Health habits and history questionnaire : diet history and other risk factors. Bethesda, MD National Cancer Institute, 1989
- Malone WF. Studies evaluating antioxidants and β -carotene as chemopreventives. *Am J Clin Nutr* 53 : 305S-313S, 1991
- Shumid K. Antioxidant vitamins and β -carotene : effects on immunocompetence. *Am J Clin Nutr* 53 : 383S-385S, 1991
- Snodderly DM. Evidence for protection against age-related macular degeneration by carotenoids and antioxidant vitamins. *Am J Clin Nutr* 62(suppl) : 1450S-60S, 1995
- Taylor A, Jacques PF, Epstein E. Relation among aging, antioxidant status, and cataract. *Am J Clin Nutr* 62(suppl) : 48S-61S, 1995
- Crapo CH, MacCord JM, Fridovich I. Preparation and assay of superoxide dismutase. *Methods Enzymol* 53 : 382-290, 1978
- Flohe L, Wolfng A, Gunzler WA. Assay of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol* 105 : 114-130, 1984
- Aebi H. Catalase, methods of enzymatic analysis, Bergmeyer HU, Bergmeyer J, Grahl(eds), 3rd ed. Verlag Chemie 3 : 273, 1983
- Stocks J, Dormandy TL. The antioxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide. *Br J Haematol* 20 : 95-111, 1971
- Khachik F, Beecher GR, Goli MB. Separation, identification, and quantification of carotenoids in fruits, vegetables, and human plasma by high performance liquid chromatography. *Pure Appl Chem* 63 : 71-80, 1991
- Mangels AR, Holden JM, Beecher GR, Forman M, Lanza E. Carotenoid content of fruits and vegetables : An evaluation of analytic data. *JADA* 93 : 284-296, 1993
- McLaughlin PJ, Weihrauch JL. Vitamin E content of foods. *JADA* 75 : 647-665, 1979
- Sinclair AJ, Taylor JL, Girling AJ, Barnett AH. Low plasma ascorbate levels in patients with type2 diabetes Mellitus consuming adequate dietary Vitamin C. *Diabetic Med* 11 : 893-898, 1994
- Recommended dietary allowances for Korean, 6th revision, The Korean Nutrition society Seoul, 1996
- Bieri JG, Brown ED, Smith JC. Determination of individual carotenoids in human plasma by high performance liquid chromatography. *J Lip Chromato* 8(3) : 473-484, 1985
- Craft NE, Brown ED, Smith JC. Effects of storage and handling conditions on concentrations of individual carotenoids retinol and tocopherol in plasma. *Clin Chem* 34(1) : 44-48, 1988
- Hunt JV, Smith C CT, Wolff SP. Auto oxidative glycosylation and possible involvement of peroxides and free radical in LDL modification by glucose. *Diabetes* 39 : 1420-24, 1990
- Ceriello A, Giugliano D, Quatraro A, Donzella C, Dipalo G, Lefebvre Pj. Vitamin E reduction of protein glycosylation in diabetes. New prospect for prevention of diabetic complications. *Diabetes Care* 14 : 68-72, 1991

- 30) Lyons TJ. Glycation and oxidation : a role in the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Cardiol* 71 : 26B-31B, 1993
- 31) Jain SK, Levine SN, Duett J, Hollier B. Elevated lipid peroxidation levels in red blood cells of streptozotocin-treated diabetic rats. *Metabolism* 39 : 971, 1990
- 32) Cross CE. Oxygen radicals and human diseases *Ann Intern Med* 107 : 526-545, 1986
- 33) Krinsky NI. Antioxidant functions of carotenoids. *Free Radic Biol Med* 7 : 617-35, 1989
- 34) Kohlmeier L, Hastings SB. Epidemiological evidence of a role of carotenoids in cardiovascular disease prevention. *Am J Clin Nutr* 62 (suppl) : 1370-6S, 1995
- 35) Poppel G, Goldbohm RA. Epidemiological evidence for beta-carotene and cancer prevention. *Am J Clin Nutr* 62(suppl) : 1420S-6S, 1995
- 36) Davie SJ, Gould BJ, Yudkin JS. Effect of Vitamin C on glycosylation of proteins. *Diabetes* 41 : 167-173, 1992
- 37) Singh RB, Niaz MA, Sharma JP, Kumar R, Bishnoi I, Begom R. Plasma levels of antioxidant vitamins and oxidative stress in patients with acute myocardial infarction. *Acta Cardiologica* 5 : 441-452, 1994
- 38) Cameron NE, Cotter MA, Maxfield EK. Antioxidant treatment prevents the development of peripheral nerve dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia* 36 : 299-304, 1993
- 40) Cotter MA, Love A, Watt MJ, Cameron NE, Dines KC. Effects of natural free radical scavengers on peripheral nerve and neuro-vascular function in diabetic rats. *Diabetologia* 38 : 1285-1294, 1995