

폐경후 여성 제2형 당뇨병 환자에서 α -lipoic Acid 투여가 혈관내피세포기능에 미치는 영향

계명대학교 의과대학 내과학교실

조호찬 · 이상준 · 김미정 · 김혜순 · 윤태승 · 김성재 · 김상현 · 허승호 · 문교철¹ · 배재훈² · 이인규

The Effect of Alpha-lipoic Acid on Endothelial Dysfunction in Postmenopausal Uncomplicated Type 2 Diabetes

Ho Chan Cho, Sang Jun Lee, Mi Jung Kim, Hye Sun Kim, Tae Sung Yun, Sung Jae Kim,
Sang Hyon Kim, Seung Ho Hur, Kyo Chul Moon¹, Jae Hoon Bae², In Kyu Lee

*Department of Internal Medicine, Department of Biochemistry¹, Department of Physiology²
Keimyung University Dongsan Medical Center, Taegu, Korea*

- Abstract -

Background: Recently, increased oxidative stress has been proposed as a major cause of vascular complications of patients with diabetes mellitus. Increased generation of oxygen free radicals in patients with diabetes mellitus could deplete cellular antioxidants and inactivate endothelial dependent vasodilating factor (EDRF), such as nitric oxide (NO). The purpose of this study was to evaluate whether the antioxidant α -lipoic acid (ALA) is effective in endothelial dysfunction of brachial artery, which induced by increased oxidative stress in postmenopausal diabetic women using high resolution ultrasound technique and initial reaction time (IRT) measurement.

Methods: We enrolled 11 menopausal women (mean age, 56.5 ± 5.1 years) with uncomplicated type 2 diabetes. All patients were taking 1200 mg of ALA (Thioctacid®, Bukwang, Korea). We measured of superoxide anion (O_2^-) in neutrophils as a marker of oxidative stress. Flow-mediated dilation (FMD) was measured using a high-resolution ultrasound.

Results: After treatment of ALA, fasting blood glucose was decreased significantly, the endothelium-dependent vasodilation of the brachial artery was increased, and O_2^- production was also decreased significantly.

접수일자: 2002년 1월 10일, 통과일자: 2002년 8월 6일, 책임저자: 이인규, 계명대학교 동산의료원 내분비내과

* 본 연구는 부광약품 공업주식회사의 지원으로 이루어졌음

Conclusion: These results show that short term ALA treatment could improve the endothelial dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus. This improvement might be related with the antioxidants effect of ALA (*J Kor Diabetes Asso* 26:24 2~252, 2002).

Key Words: Alpha-lipoic Acid, Type 2 DM, Endothelial dysfunction, Oxidative stress

서 론

당뇨병, 고혈압 및 고지혈증 등의 질환에서는 죽상 경화증과 같은 혈관 합병증의 발생 빈도가 높다¹⁻⁴⁾. 이들 질환에서는 산화 스트레스가 증가되어 있고, 증가된 산화 스트레스는 혈관 확장반응에 중요한 역할을 하는 산화질소 생산을 저하시키고, 산화질소의 불활성을 증가시켜 혈관 이상을 초래한다⁵⁻⁷⁾. 또한, 지속적인 산소 프리라디칼 생산의 증가는 산화 스트레스에 대한 방어기능을 지니는 항산화제들을 고갈시킨다⁸⁾. 이런 기전에 의해 발생하는 내피세포 기능장애는 향후 관상동맥질환의 조기 표식자로 보고되고 있다⁹⁻¹⁰⁾.

리포산은 Reed 등¹¹⁾에 의하여 처음으로 소의 간에서 분리되었다. 그 후 Rosenberg와 Culik 등¹²⁾은 리포산의 항산화 효과를 보고하였고, 이후 많은 연구가 이루어지고 있다. 최근의 연구에 의하면, 리포산은 음식물로부터 쉽게 흡수되며 여러 조직에서 환원형인 dihydrolipoic acid (DHLA)로 변환된다. 리포산과 DHLA는 서로 redox couple을 형성하여 수용성 및 지용성 환경 모두에서 여러 종류의 프리라디칼을 흡수 제거하는데, 리포산은 hydroxyl radical, hydrochlorous radical, singlet oxygen 등의 프리라디칼을 제거하고, DHLA는 superoxide radical, hydroxyl radical, hydrochlorous radical, peroxy radical 등의 프리라디칼을 제거한다. 또한 리포산은 에너지 대사에서 필수 요소인 복합효소의 조효소로 작용한다¹³⁾. 리포산 및 DHLA는 무기금속물과 chelating 형성 능력이 있어서 프리라디칼의 발생을 감소시키고 항산화제의 산화를 방지할 수 있다. 또한 산화 스트레스에 의하여 비활성화된 비타민 C, 비타민 E, glutathione 등과 같은 항산화제를 재생시키는 능력이 있다¹³⁻¹⁴⁾.

이에 저자들은 제2형 당뇨병이 있는 폐경기 여성 환자에서, 리포산 투여가 증가된 말초혈액 백혈구의 superoxide anion 생성을 억제시키고, 산화 스트레스의 증가로 초래된 혈관 내피세포 기능장애를 호전시킬 수 있는지를 알아보고자 이 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 대상

외래를 방문한 제2형 당뇨병 환자 중 당뇨병성 만성 합병증을 동반하지 않은 여성 환자 11명을 대상으로 했다. 이들 대상환자들의 제2형 당뇨병은 NDDG (National diabetes data group)의 당뇨병 진단기준, 발생 연령, 케톤산증의 병력 등의 임상적 진단기준 및 c-peptide 농도(glucagon 자극 후 0.6 nmol/L 이상)를 기준으로 진단하였다. 심각한 만성 혈관합병증이 있는 환자는 대상에서 제외하였다. 환자들의 평균 연령은 56.9±5.1세였고, 당뇨병 이환 기간은 97±60개월이었으며 경구용 혈당강하제로 혈당을 조절하고 있었다.

2. 방법

리포산 투여가 혈관내피세포 기능에 미치는 효과와 그 원인을 알아보기 위하여 리포산 투여 전후에 비침습적인 방법인 혈류매개성, 내피세포의존성 혈관 확장 반응(FMD: flow-mediated, endothelium-dependent vasodilation)을 측정하여 혈관내피세포 기능의 변화를 평가하였고, 산화 스트레스의 정도를 나타내는 말초혈액 백혈구 superoxide anion 발생량의 변화를 측정하였다.

기저치 측정 후 1주일간(1~7일) 리포산(1200 mg/일)을 경구투여하였고, 연구 2주일째(2nd week, 8~14일)는 치료 공백기를 가졌다. 연구 3주일째(3rd week,

15~21일) 같은 용량의 리포산을 반복 투여하였고, 각각 혈류매개성 내피세포의존성 혈관 확장반응과 말초혈액 백혈구 superoxide anion 발생량을 측정하였다.

3. 혈액검사

혈액검사를 위하여 정맥혈액 25 cc (1% EDTA 0.1 mL/blood 1 mL)를 채혈하였다. 항응고제를 처리한 정맥혈액 10 cc는 일반화학 검사에 이용하였고, 동혈액 15 cc는 말초 백혈구의 superoxide anion 발생량을 측정하는데 사용하였다. 혈장 포도당농도는 glucose oxidase 방법 (747 autoanalyzer, Hitachi, Japan)으로 측정하였다. 혈장 총 콜레스테롤은 효소법 (747 autoanalyzer, Hitachi, Japan)으로, 혈장 중성지방, high-density lipoprotein (HDL) 콜레스테롤농도 및 low-density lipoprotein (LDL) 콜레스테롤은 효소법 (COBAS INTEGRA 700, Roche, Swiss)으로 측정하였다. HbA_{1c}는 비색법 (COBAS INTEGRA 700, Roche, Swiss)으로, 인슐린과 C-펩타이드는 RIA법 (RIA kit, TechnoGenetics, Italy)으로 측정하였다.

4. 혈관 내피세포기능평가

내피세포 기능장애 평가는 비침습적인 방법인 상완동맥 내피세포의존성 혈관 확장반응 측정을 이용하였다. 고해상도 초음파 기계 (SONOS 5500, Hewlett Packard, 미국)를 이용하여 B-mode 하에서 7.5 MHz 탐촉자 (Hewlett Packard, 미국)로 측정하였다.

먼저 내피세포의존성 혈관 확장반응 (endothelial-dependent vasodilation: FMD)을 측정하였고, 혈관 평할근의 기질적인 병변을 알아보기 위하여 외인성 산화질소인 니트로글리세린에 대한 혈관 확장반응을 측정하였다. 이러한 외인성 산화질소에 대한 혈관 확장반응을 혈관 평할근의 내피세포비의존성 혈관 확장반응 (EID: endothelium-independent vasodilation)으로 표현하였다.

대상군은 내원 후 실내 온도가 22~23℃ 유지되는 차광이 되는 조용한 장소에서 앙아위 자세로 침대로 누워서 연속적으로 심전도 측정을 시작하고, 좌측 전완 (forearm)의 근위부 (proximal)에 혈압계 낭대 (BP cuff)를 두른 상태로 저자들이 개발한 고정 장치용 부목에 좌완을 고정시킨 후 누워서 안정을 취하였다. 안

정 후 내피세포의존성 혈관 확장반응 측정을 시작하면서 전주와 (antecubital fossa) 상방 2~5 cm 위치 부근에서 전상완동맥의 혈관 초음파 영상이 제일 선명하게 탐지되도록 초음파기계와 관련된 지표들을 조정 후 유지시켰다. 검사하는 동안 반대측 팔에 부착된 자동혈압계를 이용하여 혈압을 2분 간격으로 측정했다. 기저치 상완동맥 직경을 측정 후 좌측 전완 근위부에 감겨져 있는 혈압계의 압력을 250 mmHg까지 올려 상완동맥의 혈류를 차단했다. 5분후 혈압계의 압력을 급속히 0 mmHg로 내려 상완동맥내 과혈류 발생을 유발시켰다. 과혈류 발생 15초전부터 과혈류 발생 후 75초 동안 과혈류에 의한 상완동맥의 혈관 확장반응을 지속적으로 측정하였으며, 모든 측정과정을 고해상도 비디오를 이용하여 실시간 연속 녹화하였다. 대상자들은 계속해서 앙아위 자세로 15분간 더 누워서 안정 후 니트로글리세린 0.6 mg을 설하로 투여 후 혈관 확장반응을 보았다. 니트로글리세린 투여 10초전부터 투여 후 4분간 혈관 내경의 변화를 연속 실시간 녹화하였다. 혈관 직경의 측정은 앞쪽 면의 내막 (intima)과 중막 (media)이 만나는 접촉면 (interface)부터 반대쪽 면의 내막까지로 하였다. 가능하면 직경 측정 때 직경의 편차를 줄이기 위해 기준점을 동맥분기 등이 있는 곳에 설정하였고, 측정 시기는 심장 이완기 끝부분, 즉 심전도상 R 기시부 직전의 직경 값을 측정하였다.

녹화된 고해상도 비디오 테이프를 3초 간격으로 직경의 변화를 분석 후 최대로 확장된 직경을 이용하여 기저치 직경에 대한 늘어난 직경을 백분율로 계산하여 내피세포의존성 혈관확장반응 (FMD)을 측정하였고, 니트로글리세린에 의한 혈관 확장반응을 녹화한 비디오 테이프도 같은 방법으로 분석하여 내피세포비의존성 혈관확장반응 (EID)을 계산하였다. 또한, 분석된 자료를 바탕으로 내피세포의존성 혈관확장반응의 초기반응이 일어나기까지의 시간인 내피세포의존성 초기반응시간 (initial reaction time of FMD: IRT of FMD)과 혈관확장반응이 최대로 나타나기까지의 시간인 최대반응시간 (peak reaction time of FMD: PRT of FMD)을 구할 수 있었다. 내피세포비의존성 혈관확장반응에서도 초기반응이 일어나기까지의 시간인 내피세포비의존성 초기반응시간 (IRT of EID)과 최대반응

Table 1. Effect of Alpha-Lipoic Acid on Lipid Profile and Superoxide Anion Production in Neutrophil and Fasting Blood Glucose (n=11)

α-lipoic acid	Superoxide anion (mmol/10 ⁷ cell/min)	Fasting blood glucose (mmol/L)	Total cholesterol (mmol/L)	Triglyceride (mmol/L)	HDL- cholesterol (mmol/L)	LDL- cholesterol (mmol/L)
Baseline	8.3±1.6	8.89±3.01	3.52±0.84	3.08±1.42	0.93±0.31	1.97±0.64
1st week	6.1±1.2 [*]	6.88±2.63 [*]	3.48±0.60	2.69±1.09	0.89±0.20	2.05±0.55
2nd week	6.2±1.5	7.49±2.19	3.33±0.35	2.61±1.27	0.90±0.20	1.91±0.34
3rd week	4.2±1.8 [*]	6.82±2.26 [*]	3.22±0.93	2.56±1.28	0.82±0.23	1.89±0.72

* : p<0.05 vs baseline, † : p<0.005 vs baseline

시간(PRT of EID)을 구하였다.

5. 산화 스트레스의 정도 평가

체혈한 신선한 정맥혈액 15 mL에서 Ficoll-Paque (Amersham Pharmacia, Uppsala, Sweden) 용액을 이용하여 백혈구를 분리하였다. 이 후 trypan blue 염색을 시행하여 세포 생존율이 95% 이상인 것을 확인하고 실험에 사용하였다⁵⁾.

Superoxide anion 발생 측정은 NBT(nitro blue tetrazolium : Sigma, St. Louis, USA) 환원법을 이용하였다⁶⁾. 분리 침전된 백혈구에 phosphate buffered saline (PBS: Sigma, St. Louis, USA) 1 mL를 넣어 잘 섞은 후(강한 충격은 가하지 말 것) 2개의 2 mL 튜브(e-tube, Corning, New York, USA)에 각각 300 μL씩 넣는다. superoxide anion 발생 측정용 튜브에 0.2% NBT 및 PMA(Phorbol Myristate Acetate: Sigma, St. Louis, USA)로 만든 반응시약 300 μL를 넣고 온도 37℃의 수조에서 1시간 반응을 시킨 후, 5M HCL 120 μL를 첨가하여 반응을 종결한다. 대조군은 반응 시약 300 μL를 넣고 즉시 5M HCL 120 μL (Matsunoen Chemical, Japan)를 첨가하여 반응을 종결한다. 반응이 종결된 튜브를 2500 rpm으로 25분간 원심분리를 시행한다. 원심분리 후 상층액은 버리고 침전물에 DMSO(Dimethyl sulfoxide: Sigma, St. Louis, USA) 1 mL를 넣어 잘 녹인후 spectrophotometry (Genesis5[®], Spectronic, New York, USA)를 이용하여 560 nm에서 흡광도를 측정하여 superoxide anion 발생량을 계산하였다.

6. 통계처리

분석 결과는 평균±표준오차로 표시하였다. 대상군의 통계자료 비교는 SPSS 통계프로그램(version 9.0, USA)을 이용한 paired t-test, generalized linear method (GLM) 및 Pearson correlation을 이용하였다. p 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

결 과

1. 임상적인 특징

대상군의 검사 전 수축기 혈압은 128.2±10.0 mmHg 였고 기저치 혈중 총 콜레스테롤치는 3.52±0.84 mmol/L, 중성지방은 3.08±1.42 mmol/L, HDL-콜레스테롤은 0.93±0.31 mmol/L, LDL-콜레스테롤은 1.97±0.64 mmol/L였다. 혈중 HbA_{1c}은 10.2±3.5%였다. 리포산 투여 후 혈압과 맥박은 변화가 없었다. 또한 혈장 총 콜레스테롤, 중성지방, HDL-콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤 농도, HbA_{1c}치도 큰 변화가 없었다 (Table 1). 그러나, 공복시 혈장 포도당농도는 통계적으로 유의하게 감소하였다 (p<0.01) (Table 1). 체내 최종당화산물의 변화를 알아보기 위하여 측정한 HbA_{1c}는 리포산 치료 전후 차이가 없었다.

2. 혈관 내피세포기능

기저치대상군의 내피세포의존성 혈관 확장반응(%)은 기저치 4.2±2.1%에서 1주째 5.8±2.2%로 (p<0.05)로 향상되었고, 2주째 3.6±2.3%에서 3주째 5.5±1.9%로 향상되어 (p<0.01) (Table 2) (Fig. 1) 리포산 치료 후 의

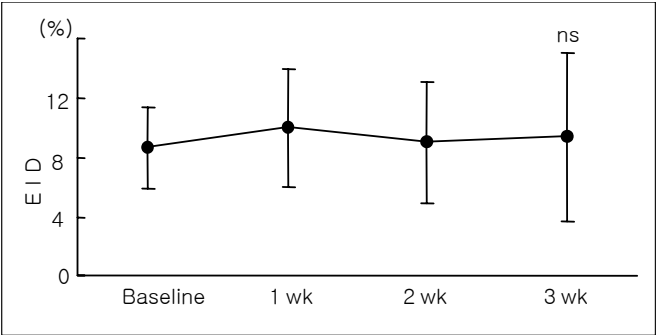
Table 2. Output of FMD and EID after α-Lipoic acid Treatment (n=11)

		Baseline	1st week	2nd week	3rd week
FMD	IRT	38.7±11.0	30.2±3.1*	37.6±14.5	25.4±2.8†
	PRT	38.7±11.0	30.3±3.1*	37.9±14.6	25.9±3.6†
	Vasoactivity (%)	4.2±2.1	5.8±2.2*	3.6±2.3	5.5±1.9†
FID	IRT	101.4±21.2	91.0±14.0	92.4±7.2	103.0±25.5
	PRT	151.8±32.0	156.9±37.1	174.3±3.0	159.6±31.3
	Vasoactivity (%)	8.6±2.6	10.0±3.9	9.0±4.1	9.3±5.6

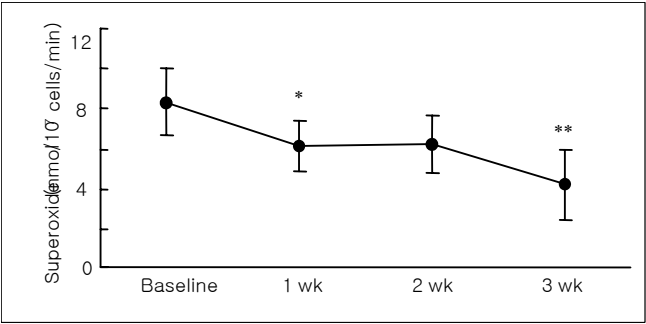
IRT: lag time to initial vasodilation of brachial artery after BP cuff release

PRT: lag time to peak vasodilation of brachial artery after BP cuff release

* : p<0.05 vs baseline, † : p<0.005 vs baseline



Effect of α-lipoic acid on endothelium-independent vasodilation (EID) (n=11). Ns : nonspecific, mean±SD



Effect of alpha-lipoic acid on formation of superoxide in neutrophils (n=11).
* : p < 0.05 vs baseline, ** : p < 0.003 vs baseline, (mean ±SD)

not shown

미있게 호전되었다. 그러나, 내피세포비의존성 혈관 확장반응은 리포산 치료 전후 차이가 없었다(not shown).

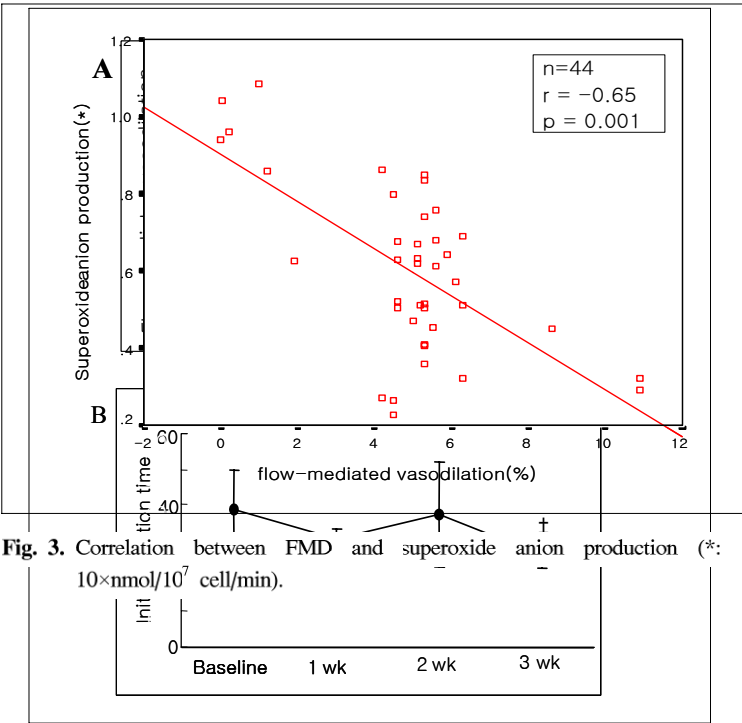


Fig. 1. Effect of α -lipoic acid on flow-mediated vasodilation (n=11)(A) and initial reaction time (IRT) (B) (n=11) (IRT: lag time to initial vasodilation of brachial artery after BP cuff release)
 *: $p < 0.05$ vs baseline, † : $p = 0.01$ vs baseline, ‡ : $p < 0.005$ vs baseline, ns : nonspecific (mean $\pm$ SD)

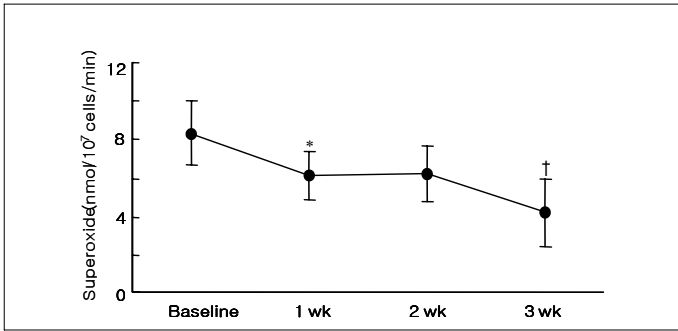


Fig. 2. Effect of alpha-alpha-lipoic acid on formation of superoxide in neutrophils (n=11).
 *: $p < 0.05$ vs baseline, † : $p < 0.003$ vs baseline, (mean $\pm$ SD)

3. 초기반응시간

내피세포의존성 혈관 확장반응의 초기반응시간은 리

포산 치료 후 의미있게 감소했다. 기저치 $38.7 \pm 11.0\%$ 에서 1주째 $30.2 \pm 3.1\%$ 로 ($p < 0.05$)로 감소되었고, 2주째 $37.6 \pm 14.5\%$ 에서 3주째 $25.4 \pm 2.8\%$ 로 감소되었다

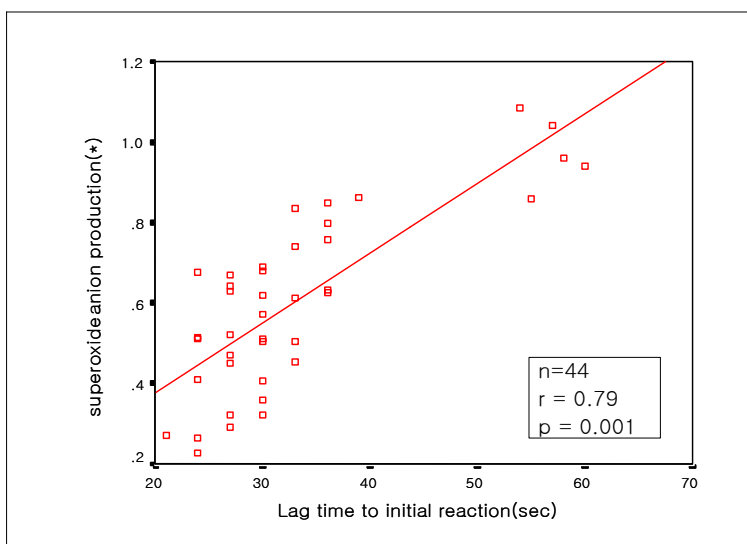


Fig. 5. Correlation between lag time to initial reaction (IRT: lag time to initial vasodilation of brachial artery after BP cuff release) and superoxide anion production (*: $10 \times \text{nmol}/10^7 \text{ cell/min}$).

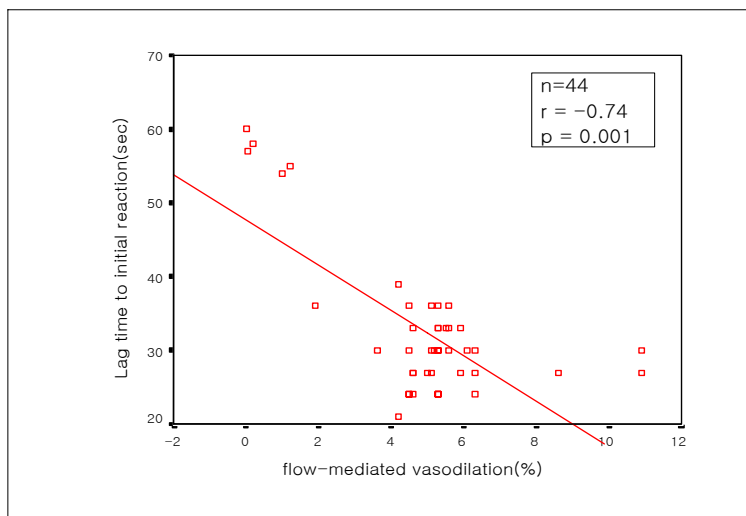


Fig. 4. Correlation between flow-mediated, endothelium-dependent vasodilation and lag time to initial reaction (IRT: lag time to initial vasodilation of brachial artery after BP cuff release).

($p < 0.01$) (Fig. 2). 그러나, 내피세포비의존성 혈관 확장반응의 초기반응시간은 리포산 치료 전후 변화가 없었다(not shown).

4. 말초 백혈구 superoxide anion 발생량 측정

말초 백혈구의 Superoxide anion 발생량은 리포산 투여 후 통계적으로 유의하게 감소하였다($p < 0.01$) (Fig. 2) (Table 1).

5. 상관관계분

내피세포의존성 혈관확장반응은 superoxide anion 발생량과 통계적으로 유의한 음의 상관관계를 나타내었고($r=-0.65$, $p<0.001$) (Fig. 3), 내피세포의존성 초기 반응시간(IRT of FMD)과도 통계적으로 유의한 음의 상관관계를 나타내었다($r=-0.74$, $p<0.001$) (Fig. 4). 또한 superoxide anion 발생량은 내피세포의존성 초기반응시간과 통계적으로 유의한 양의 상관관계를 나타내었다($r=0.79$, $p<0.001$) (Fig. 5). 내피세포의존성 혈관 확장반응은 고밀도지단백 콜레스테롤과 통계적으로 유의한 양의 상관관계를 나타내었으나($r=0.63$, $p<0.05$), 혈중 중성지방 농도와는 통계적인 상관성이 보이지 않았다.

고 찰

본 연구에서 대상자들은 superoxide anion 생성과 내피세포의존성 혈관 반응이 리포산 투여전과 비교하여 유의하게 호전됨을 볼 수 있었다.

당뇨병 환자들은 고인슐린혈증, 고혈당증, 고지혈증 및 고혈압 등과 같은 위험인자때문에 건강인에 비하여 초기에 죽상동맥경화증이 발생된다. Tesfamariam과 Graiser 등^{17,18)}은 당뇨병 환자의 경우 고혈당으로 인하여 산소 프리라디칼의 생산이 증가되고 이러한 산화 스트레스의 증가로 인하여 혈관 수축을 유발하는 시토키인의 발생증가 및 산화질소의 불활성화 등의 작용에 의하여 혈관내피세포 기능장애가 유발된다고 하였다. Ohara 등¹⁹⁾은 정상 혈관내피세포는 superoxide anion 발생을 억제하는 보호기능이 있으나 고지혈증이 유발되면 superoxide anion 발생이 증가되고, 증가된 superoxide anion은 산화질소의 혈관 보호작용을 급속히 억제하여 혈관 내피세포 기능장애가 발생한다고 보고했다. 이상에서 볼 때 당뇨병 환자에서는, 흔히 동반되는 대사성 질환들이 죽상경화증의 주요 원인인 산화 스트레스 발생을 조장시킨다. 그리고, 산화 스트레스는 혈관 내피세포에서 생산되는 산화질소를 급속히 불활성화시켜 죽상경화증의 초기 병변인 내피세포 기능장애를 유발하는 것으로 사료된다.

본 연구에서 리포산 투여 후 혈류매개성, 내피세포

의존성 혈관 확장반응의 통계적으로 유의하게 호전되었고, 말초백혈구의 superoxide anion 생산량 또한 유의하게 감소되었다. 또한 내피세포의존성 혈관확장반응과 superoxide anion 생산량은 통계적으로 유의하게 음의 상관관계를 나타내었다. Keegan 등²⁰⁾도 리포산 치료 후 산화 스트레스 감소로 인하여 내피세포의 산화질소 생성이 회복된다고 보고한 바 있다.

또한 리포산은 포도당 수송체(glucose transport) 활성화에 의하여 말초장기로 인슐린-매개성 포도당 수송의 증가와 신생 포도당 합성의 억제 등의 효과로 인하여 혈당을 감소시킨다고 알려져 있다²¹⁻²³⁾. 본 연구의 결과에서도 제2형 당뇨병 환자에서 리포산 투여 후 공복시 혈중 포도당 농도가 통계적으로 의미있게 감소되었음을 알 수 있었다.

다른 연구에 의하면, 리포산은 최종 당화산물의 생산을 억제하며 이는 산화스트레스가 감소되어 나타나는 결과로 해석하고 있다⁸⁾. 그러나, 본 연구에서는 최종당화산물, 즉 HbA_{1c}는 변화가 없었다. 이는 본 연구에 사용된 최종당화산물의 측정에 사용된 HbA_{1c}법이 체내 최종당화산물의 변화를 측정하기에 그 민감도가 떨어지고, 한편으로는 연구기간이 3주간으로 짧기 때문으로 사료된다.

죽상경화증의 초기 병소인 내피세포 기능장애의 조기 진단을 위하여, 과거에는 침습적인 진단방법을 주로 이용하였으나 재현성이 떨어지고²⁴⁾ 치료 후 추적검사가 어려웠다. 현재는 Celemajor 등¹⁰⁾에 의해 처음 고안된 고해상도 초음파를 이용하여 말초혈관 내피세포의존성 혈관확장반응을 측정하는 비침습적인 검사가 널리 이용되고 있다. 이 방법은 관상동맥의 내피세포의존성 혈관 확장반응의 장애정도와 상관관계가 우수하고 재현성이 높은 방법으로 알려져 있다¹⁰⁾. 이후 최근 10년간 고혈압, 고지혈증, 당뇨병과 같은 죽상경화증의 위험인자가 있는 환자에서 내피세포의존성 혈관확장반응을 이용하여 혈관 내피세포 기능장애를 평가하기 위한 많은 연구가 진행되었으며^{2,4)}, 이들 연구에 따르면 죽상경화증의 위험인자와 내피세포의존성 혈관 확장반응은 높은 상관관계를 보였고, 내피세포기능 평가의 도구로 우수함을 보고하였다¹⁰⁾.

그러나, 최근 고전적인 방법을 이용한 내피세포의존

성 혈관확장반응 측정의 정확성 및 재현성에 대한 문제점들이 제기되고 있다. 이런 문제점들을 살펴보면, 우선 숙련자라고 하더라도 고해상도 초음파의 탐촉자를 검사 진행하는 동안 지속적으로 같은자리에 움직임이 없이 고정하기가 힘들고 이로 인하여 발생하는 결과에 대한 신뢰성의 감소가 문제가 된다. 또한 과혈류 발생에 따른 혈관의 shear stress로 인하여 혈관 내피세포에서 발생하는 산화질소의 발생량과 산화질소에 대한 혈관 평활근의 반응시간도 차이가 있으므로, 혈관내피세포 기능을 평가하기 위한 정확한 시간을 정하는데 어려움이 많다.

본 연구에서는 고전적인 방법의 단점을 보완하기 위하여 환자의 팔과 선형 탐촉자를 고정할 수 있는 특수 장치를 이용하였고 상완동맥의 혈류매개성, 내피세포의존성 혈관확장반응을 연속 녹화 및 3초 간격으로 분석하여 결과의 신뢰성을 높였다. 또한 혈관 확장반응의 초기반응이 일어나기까지의 시간인 초기반응시간을 구할 수 있었다. 본 연구의 결과에서 초기반응시간이 혈류매개성, 내피세포의존성 혈관 확장반응과 통계적으로 유의한 음의 상관관계를 나타내었고, superoxide anion 발생량과는 통계적으로 유의한 양의 상관관계를 나타내었다. 그러므로 비침습적인 방법을 이용하여 혈관내피세포 기능장애를 평가할 때는 초기반응시간을 같이 측정하는 것이 신뢰성을 높일 수 있다고 사료된다.

이상의 결과로 볼 때 리포산 투여는 혈관내피세포 기능장애를 호전시키는데, 이는 리포산의 항산화적 방호효과와 관련이 있는 것으로 사료된다. 또한 내피세포의존성 혈관확장반응의 초기반응이 일어나기까지의 시간인 초기반응 시간을 측정하는 방법도 내피세포 기능장애를 측정하는 데 유용한 보조적 방법으로 사료된다.

요 약

연구배경: 당뇨병 환자에서 죽상경화증과 같은 혈관 합병증은 산소 프리라디칼 생산의 증가에 의한 산화 스트레스 증가에 기인한다고 보고되고 있다. 증가된 산화 스트레스는 산화질소 생산을 저하시키거나 산화질소를 불활성화시켜, 산화질소의 생물학적 활성을 감소시키고, 이로 인해 내피세포의존성 혈관 확장반응

의 장애가 발생한다고 알려져 있다. 또한 산화 스트레스에 대한 항산화제의 방호기능을 감소 또는 고갈시킨다. 리포산은 산화 스트레스를 감소시키는 천연적으로 존재하는 강력한 항산화제로 알려져 있다. 이에 저자들은 제2형 당뇨병 여성환자에게 리포산 공급에 따른 내피세포 기능 변화를 비침습적인 방법인 고해상도 초음파방법을 이용하여 알아보았다.

방법: 제2형 당뇨병 환자 중 당뇨병성 만성 합병증을 동반하지 않은 폐경기 여성 환자(평균 연령은 56.9 ± 5.1 세)를 대상으로 했다. 리포산 투여 방법은 첫 1주일간 리포산(1200 mg/일)을 투여 후 다음 1주일은 치료약물의 제거를 위하여 치료 공백기를 가졌다. 치료 공백 후 다음 1주간 같은 용량의 리포산 치료를 시행했다. 내피세포 기능 측정은 비침습적인 방법을 이용한 상완동맥의 내피세포의존성 혈관 확장반응을 측정하여 평가하였다. 산화스트레스의 정도를 평가하기 위하여 말초 백혈구의 superoxide anion 발생량을 측정하였다.

결과: 리포산 치료 후 혈장 총 콜레스테롤, 중성지방, HDL-콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤 농도에는 영향을 미치지 않았으나, 혈장 포도당농도는 통계적으로 유의하게 감소하였다. 내피세포의존성 혈관 확장반응(%)은 리포산 치료 후 증가되었으며, 기저치는 $4.2 \pm 2.1\%$, 1주째는 $5.8 \pm 2.2\%^*$, 2주째는 $3.6 \pm 2.3\%$, 3주째는 $5.5 \pm 1.9\%^*$ 였다(* $p < 0.05$, † $p < 0.01$) (Table 2) (Fig. 1). 내피세포의존성 혈관 확장반응이 일어나기까지의 시간인 초기반응시간(lag time to initial reaction)도 리포산 치료 후 의미있게 감소하였으며, 기저치는 $38.7 \pm 11.0\%$, 1주째는 $30.2 \pm 3.1\%^*$, 2주째는 $37.6 \pm 14.5\%$, 3주째는 $25.4 \pm 2.8\%^*$ 였다(* $p < 0.05$, † $p < 0.01$) (Fig. 2). 말초 백혈구의 superoxide anion 발생량은 리포산 치료 후 통계적으로 유의하게 감소하였다($p < 0.01$). 내피세포의존성 혈관 확장반응은 superoxide anion 발생량과 통계적으로 유의한 음의 상관관계를 나타내었다($r = -0.65$, $p < 0.001$). 내피세포의존성 혈관 확장반응은 내피세포의존성 혈관 확장반응의 초기반응시간과 통계적으로 유의한 음의 상관관계를 나타내었다($r = -0.74$, $p < 0.001$). 또한 내피세포의존성 혈관 확장반응의 초기반응 시간은 superoxide

anion 발생량과 통계적으로 유의한 양의 상관관계를 나타내었다 ($r=0.79$, $p<0.001$).

결론: 본 연구결과를 통해 리포산은 제 2형 당뇨병 환자에서 혈관내피세포 기능장애를 호전시킬 수 있음을 알 수 있었다. 이러한 혈관내피세포 기능장애의 호전은 리포산의 항산화적 방호기능에 의한다고 사료된다. 또한, 내피세포 기능장애를 조기에 진단하기 위하여 내피세포의존성 혈관 확장반응의 초기반응시간을 동시에 측정하는 것이 유용한 보조 진단 방법이라고 사료된다.

참 고 문 헌

- McVeigh GE, Brennan GM, Johnston GD, McDermott BJ, McGrath LT, Henty WR, Andrews JW, Hayes JR: *Impaired endothelium-dependent and independent vasodilation in patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. Diabetologia* 35:771-776, 1992
- Johnstone MT, Creager SJ, Scales KM, Cusco JA, Lee BK, Creager MA: *Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin dependent diabetes mellitus. Circulation* 88:2510-2516, 1993
- Williams SB, Cusco JA, Roddy MA, Johnstone MT, Creager MA: *Impaired nitric oxide-mediated vasodilation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. J Am Coll Cardiol* 27:567-574, 1996
- Sorensen KE, Celermajer DS, Georgakopoulos D, Hatcher G: *Impairment of endothelium-dependent dilation is an early event in children with familial hypercholesterolemia and is related to the lipoprotein(a) level. J Clin Invest* 93:50-55, 1994
- Gryglewski RJ, Palmer RM, Moncada S: *Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. Nature* 320:454-456, 1986
- Busse R, Fleming I: *Endothelial dysfunction in atherosclerosis. J Vasc Res* 33:181-194, 1996
- Mombouli J, Vanhoutte PM: *Endothelial Dysfunction: from physiology to therapy. J Mol Cell Cardiol* 31:61-74, 1999
- Packer L, Witt EH, Tritschler HJ: *alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. Free Radical Biol Med* 19:227-250, 1995
- Fish RD, Nabel EG, Selwyn AP, Ludmer PL, Mudge GH, Kirshenbaum JM, Scheon FJ, Alexander RW, Ganz P: *Responses of coronary arteries of cardiac transplant patients to acetylcholine. J Clin Invest* 81:21-31, 1988
- Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE: *Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. Lancet* 340:1111-1115, 1992
- Reed LJ, DeBusk BG, Gunsalus IC, Hornberger CS: *Crystalline alpha-lipoic acid: a catalytic agent associated with pyruvate dehydrogenase. Science* 114:93-94, 1951
- Rosenberg HR, Culik R: *Effect of alpha-lipoic acid on vitamin C and vitamin E deficiencies. Arch Biochem Biophys* 80:86-93, 1959
- Packer L: *alpha-lipoic acid; a metabolic antioxidant which regulates NF-kB signal transduction and protects against oxidative injury. Drug Metabolism reviews* 30:245-275, 1998
- Khanna S, Atalay M, Lan DE, Gul M, Roy S, Sen CK: *alpha-lipoic acid supplementation: tissue glutathione homeostasis at rest and after exercise. J Appl Physiol* 86:1191-1196, 1999
- Böyum A: *Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Scan J Clin Lab Invest* 97(Suppl.):77-89, 1968
- Yen A, Guernsey DL: *Increased c-myc RNA level associated with the precommitment state*

- during HL-60 myeloid differentiation. *Cancer Res* 46:4156-4161, 1986
17. Tesfamariam B: *Free radicals in diabetic endothelial cell dysfunction. Free Radic Biol Med* 16:383-391, 1994
 18. Graiser WF, Posch K, Eleonore F, Wascher TC, Kostner GM: *Increased superoxide anion formation in endothelial cells during hyperglycemia: an adaptive response or initial step of vascular dysfunction? Diabetes Res Clin Pract* 45:153-160, 1999
 19. Ohara Y, Peterson TE, Harrison DG: *Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. J Clin Invest* 91:2546-2551, 1993
 20. Keegan A, Cotter MA, Cameron NE: *Effects of diabetes and treatment with the antioxidant α -lipoic acid on endothelial and neurogenic responses of corpus cavernosum in rats. Diabetologia* 42:343-350, 1999
 21. Kishi Y, Schmelzer JD, Yao JK, Zollman PJ, Nickander KK, Tritschler HJ, Low PA: *α -lipoic acid: effect on glucose uptake, sorbitol pathway, and energy metabolism in experimental diabetic neuropathy. Diabetes* 48:2045-2051, 1999
 22. Khamaisi M, Rudich A, Potashnik R, Tritschler HJ, Gutman A, Bashan N: *α -Lipoic acid acutely induces hypoglycemia in fasting nondiabetic and diabetic rats. Metabolism* 48:504-510, 1999
 23. Konrad T, Vicini P, Kusterer K, Höflich A, Assadkhani A, Böhles HJ, Sewell A, Tritschler HJ, Cobelli C, Usadel KH: *α -lipoic acid treatment decrease serum lactate and pyruvate concentrations and improves glucose effectiveness in lean and obese patients with type 2 diabetes. Diabetes Care* 22:280-287, 1999
 24. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GH, Alexander RW, Ganz P: *Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. N Engl J Med* 315:1046-1051, 1986