

제2형 당뇨병 환자에게 엽산과 아스코르브산 보충이 혈장 호모시스테인 농도와 산화 스트레스에 미치는 영향*

황미리¹⁾ · 소주련²⁾ · 임현숙^{1)3)§}

전남대학교 생활과학대학 식품영양학과,¹⁾ 전북대학교 생활과학대학 식품영양학과,²⁾
전남대학교 생활과학연구소³⁾

Effects of Folic Acid and Ascorbate Supplementation on Plasma Homocysteine and Oxidative Stress in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus*

Hwang, Mi-Ri¹⁾ · Soh, Ju-Ryoun²⁾ · Lim, Hyeon-Sook^{1)3)§}

Department of Food & Nutrition,¹⁾ Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

Department of Food & Nutrition,²⁾ Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea

Human Ecology Research Institute,³⁾ Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

ABSTRACT

In patients with type 2 diabetes, oxidative stress could be increased by their metabolic changes. Elevated plasma homocysteine is considered as one of markers of enhanced oxidative stress. Due to oxidative stress, some complications like cardiovascular or renal diseases may develop in type 2 diabetes patients. Plasma homocysteine concentration may be increased if folate status were inadequate. Protective effects against oxidative stress may be diminished if the status of anti-oxidative nutrient as vitamin C was poor. It is, therefore, important to maintain adequate status of folate and vitamin C in type 2 diabetes patients. Thus, this study was performed to determine the effects of supplementation of folate and/or ascorbate on blood glycated hemoglobin (HbA_{1c}) level, serum concentrations of homocysteine and cholesterol, plasma oxidized low density-lipoprotein (LDL), concentration and plasma glutathione peroxidase (GSH-Px) activity in the patients with type 2 diabetes. A total of 92 type 2 diabetes patients participated voluntarily with written consents. They were divided into one of the four experimental groups; Control (C), Folate-supplemented (F), Ascorbate-supplemented (A), and Folate plus ascorbate-supplemented (FA). The subjects in C were taken placebo, those in F were supplemented 1 mg of folate, those in A received 1,000 mg of ascorbate, and those in FA were given 1 mg of folate plus 1,000 mg of ascorbate daily for 4 weeks. Supplementation of folate or ascorbate resulted to increase serum folate level or plasma ascorbate concentration apparently, respectively. Folate supplementation not ascorbate seemed to decrease plasma concentrations of homocysteine and oxidized LDL and reduce plasma GSH-Px activity. There might not be synergic effect of the supplementation of folate plus ascorbate. The results indicate that oxidative stress in the patients with type 2 diabetes may lower mainly by folate supplementation. (Korean J Nutr 2009; 42(2): 107~118)

KEY WORDS: folate, ascorbate, diabetes, homocysteine, oxidative stress.

서 론

제2형 당뇨병 환자에서는 동맥경화증, 고혈압, 심근경색 등 등의 대혈관 합병증이나 신증, 신경병증, 망막증 등 미세

접수일 : 2008년 12월 5일 / 수정일 : 2009년 2월 2일

채택일 : 2009년 2월 6일

*This work was supported by the Korea Research Foundation Grant funded by Korea Government (MOEHRD, Basic Research Promotion Fund (KRF-C00094).

§To whom correspondence should be addressed.

E-mail: limhs@chonnam.ac.kr

혈관 합병증의 발생률이 높다.¹⁾ 당뇨병 환자에서 관상심장 질환의 이환율이 일반인에 비해 2~4배 높고 또한 70~80%가 이들 질환으로 사망하는 것은 이러한 이유이다.^{2,3)} 이는 당뇨병과 관련된 위험요인인 고혈당, 고인슐린혈증, 고혈압, 고지혈증 또는 비만 등이 심·혈관 질환의 발생에 기여하기 때문이다. 이외에도 심·혈관 질환의 위험인자로 고호모시스테인혈증을 들 수 있다.

McCully⁴⁾는 1969년에 호모시스틴노증으로 사망한 환자에서 동맥경화증을 발견한 후 호모시스테인 (homocysteine; Hcy)이 혈관 질환과 관련성이 있음을 제기하였고, 이

후 Hcy는 혈관 내피세포의 손상을 비롯해 평활근 세포의 증식, 저밀도 지단백 (low density lipoprotein; LDL)의 변성 또는 산화 스트레스의 증가를 유발해 동맥경화를 일으키는 독립인자라고 지적되었다.^{5,6)} 혈청 Hcy 농도가 산화 LDL (oxidized LDL) 농도와 양의 상관관계를 보이며,⁷⁾ 고호모시스테인혈증을 가진 환자들에서 지질과산화물의 최종 분해산물이 증가하고,⁸⁾ LDL의 산화 감수성이 증가된다는 증거들은 고호모시스테인혈증이 유리라디칼의 생성을 촉진시킬 수 있다는 가설을 지지한다.⁹⁻¹¹⁾ 최근에 수행된 여러 연구는 당뇨병 환자에서 고호모시스테인혈증이 동맥경화성 질환을 유발시킨다는 증거를 밝혔다.^{12,13)}

Hcy 대사에 관여하는 비타민 B₁₂나 비타민 B₆ 또는 엽산이 결핍되면 고호모시스테인혈증이 유발되는데, 이 중에서도 엽산의 영향력이 상대적으로 크다.¹⁴⁾ 엽산 길항제 (methotrexate)를 복용하면 혈청 Hcy 농도가 뚜렷하게 상승한다.¹⁵⁾ 그러므로 충분한 양의 엽산을 보충·섭취한다면 혈청 Hcy 농도의 상승을 막을 수 있을 것이고 산화 스트레스의 증가로 나타나는 여러 현상들을 예방할 수 있을 것이다.

체내의 항산화 방어체제로 유리라디칼을 물과 과산화수소로 환원시켜 유리라디칼의 생성을 저지하는 항산화 효소계와, 이미 생성된 유리라디칼에 의한 연쇄 산화반응을 차단하는 항산화 비타민계가 있다. 비타민 C는 대표적인 항산화제로 세포외액에 주로 존재하며 산화 스트레스가 가해지면 가장 먼저 소실된다. 즉 비타민 C는 체내에서 유리라디칼 및 일중항산소를 직접적으로 제거하고, 세포막 지질의 산화 연쇄반응을 차단시키며, 수소 공급자로서 비타민 E와 글루타타이온 (glutathione)의 재생산에 관여한다.^{16,17)} 당뇨가 유발된 쥐의 혈장과 조직에서 비타민 C의 농도 저하와 대사이상에 대한 보고가 있었고,¹⁸⁾ 당뇨병 환자에서 유의하게 저하된 혈청 비타민 C 농도에 대한 증거¹⁹⁾ 등을 통해 당뇨병에 있어서 비타민 C의 중요성이 인식되었다.

제2형 당뇨병 환자들은 엽산 섭취량이 부족하며,²⁰⁾ 비타민 C 섭취량은 평균필요량 (Estimated Average Requirement; EAR)보다 많으나 혈중 비타민 C 농도는 비당뇨병 환자에 비해 낮다고 보고되었다.²¹⁾ 당뇨병 환자에서 이렇듯 불충분한 엽산과 불량한 비타민 C 영양상태는 혈청 Hcy 농도를 상승시켜 산화 스트레스를 더욱 가속화할 수 있으며 또한 산화 스트레스로부터의 보호 기전을 약화시켜 합병증의 발생을 촉진할 수 있다. 따라서 당뇨병 환자에서 합병증의 발생을 억제하기 위해 엽산이나 비타민 C 영양상태를 양호하게 유지하는 것은 중요하다고 할 수 있다.

본인 등²²⁾이 공복혈당장애를 지닌 성인에게 하루 1 mg의 엽산이나 1,000 mg의 비타민 C를 보충·급여한 결과,

혈청 엽산 농도는 유의하게 증가되었으나 혈장 비타민 C 농도는 증가되지 않았고, 엽산만이 혈청 Hcy 농도를 저하시키는 효과를 나타내었으며, 엽산과 비타민 C 모두 산화 스트레스의 정도에는 영향을 끼치지 않았다. 공복혈당장애자들의 경우 혈청 Hcy 농도나 혈장 지질 양상 또는 산화 스트레스 상태가 정상인과 크게 다르지 않아 기대했던 효과가 나타나지 않은 것이 아닌가 생각되었다.

이에 본 연구에서는 제2형 당뇨병 환자에서는 엽산과 비타민 C를 단독 또는 병합·보충하여 혈장의 엽산과 비타민 C 농도가 어떻게 변화되는지 또한 혈당과 당화혈색소 (glycated hemoglobin; HbA_{1c}) 농도와 혈청 Hcy와 혈청 총 콜레스테롤 (T-C)과 LDL-C 및 혈장 산화 LDL 농도와 혈장의 항산화 효소인 글루타타이온 퍼옥시다이스 (glutathione peroxidase; GSH-Px) 활성에는 어떠한 영향을 끼치는지 규명하고자 하였다.

연구방법

연구대상자

광주소재 C 대학병원에서 제2형 당뇨병으로 진단받고 혈당강하제나 인슐린을 처방받은 환자 중에서, 본 연구에 자발적으로 참여하고자 서면동의를 제출한 사람을 본 연구의 대상자로 선정하였다. 이들 중 지난 3개월간 영양보충제나 건강보조제를 복용한 사람을 제외하여, 124명이 시험물질의 섭취에 응하였다. 본 연구기간인 4주 동안 시험물질 섭취를 완료하고 모든 조사에 응한 92명을 최종 연구대상자로 삼았다.

실험설계

본 실험은 이중맹검위약법 (double-blind placebo method)으로 진행하였다. 실험군은 선행연구²²⁾와 같이 124명을 남녀 구별 없이 4개 실험군, 즉 대조군 (C), 엽산 투여군 (F), 비타민 C 투여군 (A) 및 엽산과 비타민 C 병합 투여군 (FA)으로 구분해 연구대상자를 임의로 각 군에 배치하였다 (Table 1).

C군에게는 위약을, F군에게는 엽산 (폴린정, 1 mg 엽산, 한국유나이티드 제약, 서울) 1 mg을, A군에게는 비타민 C (과립, 1,000 mg 비타민 C, 고려은단, 서울) 1,000 mg을 그리고 FA군에는 상등 엽산 1 mg과 함께 상등 비타민 C 1,000 mg를 매일 4주 동안 투여하였다. 시험물질을 복용하는 동안 일상적인 식사를 유지하도록 하였다.

혈액시료는 시험물질 투여 전과 후에 채취하였으며, 일반 사항 조사, 체위 계측 및 식품섭취상태 조사는 시험물질의

Table 1. Experimental design

Experimental group	Abbreviation	Supplementation (mg/day)	
		Folic acid	Ascorbic acid
Control	C	0	0
Folate-supplemented	F	1	0
Ascorbate-supplemented	A	0	1000
Folate plus ascorbate-supplemented	FA	1	1000

투여 전에 실시하였다.

연구대상자의 일반사항 조사 및 체위 계측

연구대상자의 일반사항으로 성별, 연령, 당뇨병 유병기간, 복용약물 및 합병증 등에 관해 설문지를 이용한 직접 면접법으로 조사하였다. 이들의 신장과 체중을 신장-체중계 (GM 1000, (주) 네이지엠텍, 서울)로 계측하였으며, 이로부터 체질량 지수 (body mass index; BMI) (kg/m^2)를 산출하였다.

연구대상자의 영양섭취상태 조사

식사섭취상태를 24시간회상법으로 직접 면접법으로 비연속 3일간 조사하였으며, 이때 음식의 눈대중표와 식품모형을 이용하여 섭취량의 추정을 정확하게 하고자 하였다. 이들 자료로부터 컴퓨터 프로그램 (CAN-Pro, 한국영양정보센터)을 이용해 에너지와 각 영양소의 섭취량을 구하였다. 각 연구대상자마다 해당 연령대의 영양섭취기준과 비교하였다.

혈액시료의 채취와 처리

혈액시료는 12시간 이상 공복상태에서 전주정맥에서 채혈해 얻었다. 이때 혈청 분리용 혈액과 혈장 분리용 혈액을 구분하였으며 혈장을 얻기 위해서는 헤파린이 처리된 시험관을 사용하였다. 일부 전혈은 냉장 보관하면서 혈당과 HbA_{1c} 분석에 사용하였고, 나머지는 혈청 또는 혈장을 각각 4℃에서 2,800 rpm으로 15분간 원심·분리하여 얻었다. 일부 혈청은 냉장·보관하면서 엽산 분석에 사용하였고, 일부 혈청은 냉동 보관하였다가 T-C, LDL-C 및 Hcy 분석에 사용하였다. 혈장 0.2 mL에 5% metaphosphoric acid 0.8 mL를 넣어 냉동·보관하였다가 ascorbic acid 분석에 사용하였으며 나머지 혈장은 냉동 보관하였다가 GSH-Px 활성과 산화 LDL 분석에 사용하였다.

분석방법

혈청 엽산 농도는 엽산 분석용 kit (Folate, Bayer, USA)를 사용하였으며 Immunology autoanalyzer (Advia centaur, Bayer, USA)로 측정하여 구하였고, 혈장 비타민 C 농도는 Okamura 방법²³⁾을 이용하여 HPLC (Shimadzu SCL-10A system, Japan)로 측정하였다.

공복 시 혈당은 자동생화학분석기 (7600-110 Automatic analyzer, Hitachi Inc., Japan)를 이용하여 분석하였다. 혈중 HbA_{1c} 농도는 당화 혈색소 분석용 kit (Variant II HbA_{1c} T, Bio-Red, Germany)를 사용하였으며, Immunoturbidimetric analyzer (Variant II Turbo, Bio-Red, Germany)로 비탁 정량하였다. 혈청 Hcy 농도는 Hcy 분석용 kit (Homocysteine, Bayer, USA)를 사용하였으며 Immunology autoanalyzer (상동)로 측정하여 구하였고, 혈청 T-C와 LDL-C 농도는 효소법에 의해 제조된 kit (Bayer Inc., USA)를 사용하였으며, 분광광도계 (ADVIA 1650, Bayer Inc., USA)를 이용하여 비색·정량하였다. 혈장 산화 LDL 농도는 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 방법으로 제조된 kit (Mercodia Inc., Sweden)를 사용하였으며 ELISA reader (Sunrise, Tecan, Austria)로 측정하여 구하였다.

혈장 GSH-Px 활성은 100 mM phosphate buffer (pH 7.0)에 3 mM GSH, 20 mM NaN₃, 0.72 U glutathione reductase 및 0.45 mM NADPH를 혼합한 후에 340 nm에서 3분 동안 분광광도계 (Advia 1650, Bayer, USA)로 흡광도 변화를 측정하였고 이어 1.5 mM의 H₂O₂를 첨가하여 혼합한 후 다시 5분간 흡광도 변화를 측정하여 산출하였다.

통계처리

본 연구에서 조사하거나 측정한 모든 항목은 평균과 표준편차 또는 백분율로 제시하였다. 각 실험군 별로 시험물질 섭취 전후의 효과는 paired t-test로 검증하였다. 남녀 각각 4개 실험군간 평균의 차이는 one-way ANOVA로 유의성을 확인한 후 Tukey's test로 사후검증을 수행하였다. 유의성은 $p < 0.05$ 수준에서 평가하였다.

결 과

일반특성과 체위

본 연구대상자의 일반특성과 체위는 Table 2와 같았다. 본 연구대상자 92명의 성별은 남녀 각각 40명과 52명이

었다. 전체 대상자의 연령은 62.1 ± 8.7 (41~75)세이었으며, 이들의 당뇨병 유병기간은 11.1 ± 9.6 (2~27)년으로 5년 미만인 34.8%이었고 20년 이상이 21.7%로 크게 분포되어 있었다. 연령과 유병기간 모두 남녀 각각 4개 실험군 간에 유의하게 다르지 않았다. 연령은 각 실험군 내에 유의한 성차가 없었으며, 유병기간도, C군을 제외하고, 역시 유의성 있는 성차를 보이지 않았다.

전체 대상자의 체중과 신장은 남녀 각각 해당 성별과 연령의 한국인 평균 체위와 근사하였으며, 남녀 각각 4개 실험군 간에 유의하게 다르지 않았다. 체중은 FA군을 제외하고 남자가 여자보다 유의하게 높았고, 신장은 모든 실험군에서 남자가 유의하게 커 성차를 보였다. BMI도 남녀 각각 4개 실험군 간에 유의하게 다르지 않았다. 그러나 각 실험군 내 유의한 성차는 일관성이 없었으나, C군에서는 여자가 높았으나, F군과 A군에서는 남자가 높았고, FA군은 다르지 않았다.

본 연구대상자 중에 남자와 여자 각각 20.0%와 4.3%가 흡연을 하고 있었다. 이들 흡연자의 흡연기간은 10년 미만이 33.3%이었고 30년 이상이 66.7%이었으며, 30년 이상 흡연자는 모두 남자 대상자이었다. 흡연량은 남녀 모두 하루에 한 갑 미만이었다. 한편 음주를 하는 대상자는 남녀

각각 50.0%와 4.3%이었다. 이들 음주자의 음주 빈도는 66.7%가 일주일에 1회 미만이었으나, 일주일에 1~2회와 거의 매일이 각각 16.7%이었다. 1회 음주량은 1~2잔이 93.3%이었고 3~4잔이 8.7%이었다.

본 연구대상자의 69.2%는 경구혈당강하제를 그리고 30.8%는 인슐린 주사를 처방받고 있었다. 이들 중 합병증을 지닌 대상자는 69.6%이었으며, 고지혈증이 43.5%, 고혈압이 39.1% 그리고 협심증이 8.7% 순이었다. 합병증을 두 가지 또는 세 가지 지닌 경우도 각각 13.0%와 4.3%이었다. 이러한 합병증으로 인해 34.8%는 혈압저하제를, 13.0%는 콜레스테롤저하제를 그리고 4.3%는 협심증 개선제를 복용하고 있었다. 이들 약물 중에서 두 종류 또는 세 종류를 복용하는 경우도 각각 39.1%와 4.3%이었다. 남녀 각각 4개 실험군 간에 또한 각 실험군 내 남녀 간에 합병증의 종류와 발생빈도 및 복용 약물의 종류와 가짓수에 특별히 다른 점은 없었다.

에너지, 단백질, 엽산 및 비타민 C 섭취상태

본 연구대상자의 에너지와 단백질, 엽산, 비타민 C 섭취 상태는 Table 3과 같았다. 에너지필요추정량 (Estimated Energy Requirements; EER) 대비 에너지 섭취 비율은 실험군 별로 남자는 79~87%이었고 여자는 66~80%이었다.

Table 2. Age, disease duration, anthropometry, and blood pressure of the subjects

	C		F		A		FA	
	Male (n = 4)	Female (n = 16)	Male (n = 20)	Female (n = 8)	Male (n = 8)	Female (n = 12)	Male (n = 8)	Female (n = 16)
Age (yr)	66.0 \pm 0.0***	57.0 \pm 6.9	58.6 \pm 12.4*	68.5 \pm 5.8	68.0 \pm 3.2	59.0 \pm 14.5	68.5 \pm 0.5*	64.2 \pm 4.0
Duration of disease (yr)	27.0 \pm 0.0***	10.2 \pm 7.8	8.0 \pm 6.5	8.0 \pm 7.4	21.0 \pm 21.3	12.3 \pm 8.7	9.0 \pm 6.4	5.7 \pm 2.9
Weight (kg)	71.0 \pm 0.0**	65.5 \pm 6.7	67.8 \pm 12.1***	53.0 \pm 3.2	73.0 \pm 10.6*	51.6 \pm 2.7	62.5 \pm 10.1	60.7 \pm 9.8
Height (cm)	173.0 \pm 0.0***	154.7 \pm 1.8	163.2 \pm 3.9***	150.5 \pm 0.5	166.5 \pm 1.6***	150.0 \pm 4.5	166.5 \pm 5.8*	155.5 \pm 2.9
BMI (kg/m ²)	23.7 \pm 0.0***	27.3 \pm 3.1	25.3 \pm 3.6*	22.7 \pm 1.2	26.2 \pm 3.3*	22.9 \pm 0.9	22.3 \pm 1.0	25.0 \pm 3.6

Values are Mean \pm SD.

Values with asterisks are significantly different between male and female within each group by Student t-test: *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001.

C: control, F: folate-supplemented, A: ascorbate-supplemented, FA: folate plus ascorbate-supplemented

Table 3. Nutrient intakes of the subjects

	C		F		A		FA	
	Male (n = 4)	Female (n = 16)	Male (n = 20)	Female (n = 8)	Male (n = 8)	Female (n = 12)	Male (n = 8)	Female (n = 16)
Energy (% EER)	85.4 \pm 7.3	79.1 \pm 8.3	78.8 \pm 8.5	79.5 \pm 4.4	87.3 \pm 7.3***	65.8 \pm 4.1	83.9 \pm 14.3	79.3 \pm 7.7
Protein (% EAR)	218.4 \pm 45.9*	161.0 \pm 41.3	151.5 \pm 31.2	135.3 \pm 15.6	211.6 \pm 39.1***	114.3 \pm 10.1	185.8 \pm 49.3***	126.5 \pm 11.0
Vit C (% EAR)	98.4 \pm 150.5	217.5 \pm 86.4*	182.3 \pm 90.1*	78.1 \pm 15.5	194.4 \pm 21.0***	126.1 \pm 41.1	155.6 \pm 19.3	200.5 \pm 124.9
Folate (% EAR)	86.1 \pm 72.9	78.7 \pm 14.6	88.1 \pm 18.1***	58.4 \pm 3.9	116.9 \pm 38.3**	73.5 \pm 9.1	81.4 \pm 7.6	84.4 \pm 26.3

Values are Mean \pm SD.

Values with asterisks are significantly different between male and female within each group by Student t-test: *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001.

C: control, F: folate-supplemented, A: ascorbate-supplemented, FA: folate plus ascorbate-supplemented, EAR: estimated average requirement

EER의 75% 미만 섭취자는 남자는 14%이었으나 여자는 24%에 달했다. 에너지 섭취량은 남녀 각각 4개 실험군 간에 유의하게 다르지 않았으며, A군에서만 남자가 여자보다 높은 성차를 보였다.

단백질의 EAR에 대한 섭취 비율은 실험군 별로 남자는 152~218%이었고 여자는 114~161% 사이에 있었다. 단백질 EAR의 75% 미만 섭취자는 없었다. 단백질 섭취량은 남녀 각각 4개 실험군 간에 유의하게 다르지 않았으나, F군을 제외한 세 군에서 남자가 여자보다 유의하게 높았다.

엽산의 EAR에 대한 섭취 비율은 실험군 별로 남자는 81~117%이었고 여자는 58~84%이었다. 엽산 EAR의 75% 미만 섭취 대상자는 남자와 여자 각각 20%와 28%이었다. 엽산 섭취량은 남녀 각각 4개 실험군 간에 유의하게 다르지 않았고, 각 실험군 내 유의한 성차는 F군에서만 나타났는데, 남자가 많았다.

비타민 C의 EAR에 대한 섭취 비율은 실험군 별로 남자는 98~194%이었고 여자는 78~201% 사이에 있었다. 비타민 C EAR의 75%를 충족하지 못한 대상자가 여자에서만 8%이었다. 비타민 C 섭취량은 남녀 각각 4개 실험군 간에 유의하게 다르지 않았으나, 각 실험군 내 남녀 간 성차는 일관성이 없었다. 즉 C군에서는 여자가 유의하게 높았으나 F군과 A군에서는 남자가 유의성 있게 높았다.

혈청 엽산 및 혈장 비타민 C 농도

본 연구대상자의 혈청 엽산과 혈장 비타민 C 농도는 Table 4와 같았다. 혈청 엽산 농도는 시험물질의 복용 전 실험군 별로 4.5~9.6 ng/mL이었으며 편차가 컸으나 남녀 각각 4개 실험군 간에 유의하게 다르지 않았다. 각 실험군 내 유의한 성차는 FA군에서만 있었는데 여자가 높았다. 시험물질의 복용으로 혈장 엽산 농도는 남녀 각각 C군은 +8.2%와 -3.1%, F군은 +141.8%와 +118.5%, A군은 +30.0%와 +9.6%, FA군은 +157.8%와 +186.3%로 달라져 실험군 별로 8.0~22.9 ng/mL가 되었다. 이러한 결과, F군과

FA군의 남녀 모두에서는 혈청 엽산 농도가 시험물질 복용 전에 비해 유의하게 증가하였다. 그러나 이러한 변화 후에도 혈청 엽산 농도는 남녀 각각 4개 실험군 간에 유의성 있게 다르지 않았으며, 각 실험군 내 유의한 성차는 A군과 FA군에서 보였는데 일관성이 없었다. 즉 A군에서는 남자가 높았고 FA군에서는 여자가 높았다.

혈장 비타민 C 농도는 시험물질의 복용 전 실험군 별로 0.38~0.58 mg/dL이었으며 남녀 각각 4개 실험군 간에 유의하게 다르지 않았다. 각 실험군 내 유의성 있는 성차도 없었다. 시험물질의 복용 후 혈장 비타민 C 농도는 남녀 각각 C군은 -14.0%와 +16.7%, F군은 +22.4%와 +36.5%, A군은 +28.6%와 +76.3%, FA군은 각각 +14.0%와 +54.5%로 변해 실험군 별로 0.49~0.71 mg/dL가 되었다. 이러한 결과, 혈장 비타민 C 농도는 C군을 제외하고 F군, A군 및 FA군의 남녀 모두에서 시험물질 복용 전에 비해 유의성 있게 증가되었다. 그러나 이러한 변화 후에도 혈장 비타민 C 농도는 남녀 각각 4개 실험군 간에 유의성 있게 다르지 않았고, 각 실험군 내 유의한 성차도 없었다.

공복혈당, 혈중 당화 혈색소 및 혈청 Hcy 농도

본 연구대상자의 혈중 HbA_{1c}와 혈청의 Hcy 농도는 Table 5와 같았다. 공복혈당 농도는 시험물질 복용 전에 실험군 별로 102.7~109.5 mg/dL로, 남녀 각각 4개 실험군 간에는 유의하게 다르지 않았으며 성차도 없었다. 시험물질의 복용으로 공복혈당 농도는 실험군 별로 -1.95~+4.0% 사이에서 다소 증가하거나 감소했다. 시험물질의 복용 전에 비해 통계적으로 유의성 있는 감소는 전혀 없었다. 따라서 시험물질의 복용 후 공복혈당 농도는 실험군 별로 100.7~111.1 mg/dL이었으며, 남녀 각각 4개 실험군 간에 유의한 차이가 없었고 성차 또한 없었다.

시험물질의 복용 전 혈중 HbA_{1c} 농도는 실험군 별로 6.3~9.0%로 남녀 각각 4개 실험군 간에 유의하게 다르지 않았다. 각 실험군 내 유의한 성차는 F군에서만 있었는데 여자

Table 4. Plasma concentrations of folate and ascorbate of the subjects before and after supplementation for 4 weeks

	Wk	C		F		A		FA	
		Male (n = 4)	Female (n = 16)	Male (n = 20)	Female (n = 8)	Male (n = 8)	Female (n = 12)	Male (n = 8)	Female (n = 16)
Folate (ng/mL)	0	8.5 ± 5.6	9.6 ± 7.2	7.9 ± 2.9 ^B	8.1 ± 1.0 ^B	7.7 ± 1.9	7.3 ± 1.3	4.5 ± 0.5 ^B	8.0 ± 2.3 ^{***B}
	4	9.2 ± 1.7	9.3 ± 1.4	19.1 ± 8.9 ^A	17.7 ± 0.7 ^A	9.7 ± 0.5 ^{***}	8.0 ± 0.9	11.6 ± 2.3 ^A	22.9 ± 7.7 ^{**A}
Ascorbate (mg/dL)	0	0.57 ± 0.10	0.48 ± 0.11	0.58 ± 0.09 ^B	0.52 ± 0.01 ^B	0.42 ± 0.00 ^B	0.38 ± 0.10 ^B	0.57 ± 0.11 ^{*B}	0.44 ± 0.10 ^B
	4	0.49 ± 0.14	0.56 ± 0.18	0.71 ± 0.27 ^A	0.71 ± 0.00 ^A	0.57 ± 0.08 ^A	0.67 ± 0.31 ^A	0.65 ± 0.10 ^A	0.68 ± 0.21 ^A

Values are Mean ± SD.

Values with asterisks are significantly different between male and female within each group by Student t-test: *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001.

Values with different large superscripts are significantly different between 0 and 4 week at p < 0.05 by paired test.

C: control, F: folate-supplemented, A: ascorbate-supplemented, FA: folate plus ascorbate-supplemented

가 높았다. 시험물질의 복용 후 혈중 HbA_{1c} 농도는 남녀 대상자 각각 C군은 +8.0%와 +4.9%, F군은 +3.0%와 -10.0%, A군은 +1.5%와 -1.6% 및 FA군은 +0.0%와 +1.3%로 변해 실험군 별로 6.2~8.5%가 되었다. 시험물질 복용 전에 비해 혈중 HbA_{1c} 농도는 F군의 여자에서만 유의하게 감소되었다. 이러한 변화 후에도 혈중 HbA_{1c} 농도는 남녀 각각 4개 실험군 간에 유의성 있게 다르지 않았고, 각 실험군 내 유의성 있는 성차도 없었다.

시험물질 복용 전에 혈장 Hcy 농도는 실험군 별로 남자는 12.1~19.8 $\mu\text{mol/L}$ 이었고 여자는 9.3~12.9 $\mu\text{mol/L}$ 이었다. 남자는 4개 실험군 간에 혈장 Hcy 농도에 유의한 차이가 없었으나 여자의 경우는 C군과 FA군이 F군에 비해 유의하게 높았다. 각 실험군 내에서는 A군을 제외한 3개 군에서 남자가 여자보다 유의하게 높아 성차를 보였다.

시험물질의 복용 후에 혈장 Hcy 농도는 남녀 대상자 각각 C군은 -6.1%와 -2.5%, F군은 -10.6%와 -0.1%, A군은 +19.0%와 -10.8%, FA군은 -22.6%와 -14.0%로 달라져 실험군 별로 남자는 11.8~18.6 $\mu\text{mol/L}$ 이었고 여자는 9.2~11.7 $\mu\text{mol/L}$ 이었다. 시험물질의 복용으로 혈장 Hcy 농도는 F군의 남자와 A군의 여자 및 FA군의 남녀 모두에서 유의성 있게 감소되었다. 그러나 A군의 남자는 오히려 유의한 증가를 보였다. 이러한 변화 후에 혈장 Hcy 농도는 남녀 각각 4개 실험군 간에 유의한 차이가 없었고, 모든 군에서 남자가 여자보다 높아 유의성 있는 성차를 보였다.

혈장 T-C와 LDL-C 및 혈장 산화 LDL 농도와 GSH-Px 활성

본 연구대상자의 혈청 T-C와 LDL-C 및 혈장 산화 LDL 농도 및 혈장 GSH-Px 활성은 Table 6과 같았다. 혈청 T-C 농도는 시험물질 복용 전에 남자 대상자는 실험군 별로

Table 5. Blood HbA_{1c} and plasma Hcy concentrations of the subjects before and after supplementation for 4 weeks

	Wk	C		F		A		FA	
		Male (n = 4)	Female (n = 16)	Male (n = 20)	Female (n = 8)	Male (n = 8)	Female (n = 12)	Male (n = 8)	Female (n = 16)
FBG (mg/dl)	0	106.6 \pm 8.9	108.8 \pm 6.4	109.5 \pm 6.3	106.0 \pm 3.5	105.5 \pm 5.9	102.7 \pm 10.3	107.4 \pm 7.0	104.5 \pm 10.1
	4	106.1 \pm 12.6	107.0 \pm 12.2	111.1 \pm 11.4	105.1 \pm 8.5	108.6 \pm 13.1	100.7 \pm 15.2	108.8 \pm 7.5	108.7 \pm 9.1
HbA _{1c} (%)	0	7.5 \pm 0.8	8.1 \pm 1.03	6.6 \pm 0.9	9.0 \pm 3.2 ^{***A}	6.7 \pm 0.9	6.3 \pm 1.0	7.0 \pm 1.4	7.6 \pm 1.9
	4	8.1 \pm 1.0	8.5 \pm 1.4	6.8 \pm 1.1	8.1 \pm 2.3 ^B	6.8 \pm 0.9	6.2 \pm 0.9	7.0 \pm 1.4	7.7 \pm 1.9
Hcy ($\mu\text{mol/L}$)	0	19.8 \pm 4.8 ^{***}	12.0 \pm 2.2 ^C	13.2 \pm 0.8 ^{****A}	9.3 \pm 0.7 ^D	12.1 \pm 1.1 ^B	11.1 \pm 1.8 ^{CD A}	19.5 \pm 6.3 ^{***A}	12.9 \pm 1.7 ^{CA}
	4	18.6 \pm 5.7 ^{***}	11.7 \pm 3.1	11.8 \pm 0.6 ^{****B}	9.2 \pm 0.7	14.4 \pm 1.6 ^{****A}	9.9 \pm 1.8 ^B	15.1 \pm 3.8 ^{***B}	11.1 \pm 1.3 ^B

Values are Mean \pm SD.

Values with asterisks are significantly different between male and female within each group by Student t-test: *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001.

Values with different small superscripts are significantly different between the four groups at p < 0.05 by Tukey's test.

Values with different large superscripts are significantly different between 0 and 4 week at p < 0.05 by paired test.

C: control, F: folate-supplemented, A: ascorbate-supplemented, FA: folate plus ascorbate-supplemented, FBG: fasting blood glucose, HbA_{1c}: glycated hemoglobin, Hcy: homocysteine

Table 6. Concentrations of serum T-C, LDL-C and plasma oxidized LDL and glutathione peroxidase activity of the subjects before and after supplementation for 4 weeks

	Wk	C		F		A		FA	
		Male (n = 4)	Female (n = 16)	Male (n = 20)	Female (n = 8)	Male (n = 8)	Female (n = 12)	Male (n = 8)	Female (n = 16)
T-C (mg/dl)	0	130.0 \pm 34.5	179.2 \pm 22.9 ^{***A}	177.4 \pm 34.4	218.5 \pm 44.3 ^{***A}	157.0 \pm 31.0	139.0 \pm 21.3	159.0 \pm 10.6	181.0 \pm 9.4 ^{***}
	4	130.0 \pm 24.5	165.0 \pm 16.1 ^{***B}	117.8 \pm 30.8	203.0 \pm 43.8 ^{***B}	147.0 \pm 10.6	145.6 \pm 46.0	162.5 \pm 6.9	189.5 \pm 37.6
LDL-C (mg/dl)	0	70.0 \pm 26.9	108.0 \pm 19.1 ^{***A}	117.8 \pm 30.8	156.0 \pm 44.9 ^{***A}	103.5 \pm 31.5	94.0 \pm 15.7	104.0 \pm 15.3	126.7 \pm 12.3 ^{***}
	4	71.0 \pm 19.3	99.0 \pm 11.5 ^{***B}	105.8 \pm 27.9	143.0 \pm 42.7 ^{***B}	87.5 \pm 15.8	99.0 \pm 13.2	101.5 \pm 10.1	130.5 \pm 31.2 [*]
Oxidized LDL (U/mL)	0	28.2 \pm 7.5 ^B	38.2 \pm 6.8 [*]	46.9 \pm 18.1 ^A	55.0 \pm 12.2	39.9 \pm 8.7	34.2 \pm 6.3 ^B	43.6 \pm 1.0	52.6 \pm 6.2 ^{***A}
	4	34.9 \pm 4.0 ^A	40.7 \pm 2.8 ^{**}	39.4 \pm 9.6 ^B	50.7 \pm 9.5 [*]	39.5 \pm 0.9	41.5 \pm 11.1 ^A	40.5 \pm 0.7	42.6 \pm 5.7 ^B
GSH-Px (nmol/ min/mL)	0	196.5 \pm 42.3 ^{**}	136.6 \pm 31.7 ^B	200.0 \pm 26.0	218.7 \pm 30.6 ^A	221.3 \pm 30.6 ^{***B}	182.8 \pm 23.8	213.6 \pm 6.0 ^A	217.8 \pm 42.9 ^A
	4	213.0 \pm 39.9 ^{**}	157.9 \pm 30.3 ^A	202.1 \pm 16.0 ^{***}	161.4 \pm 0.7 ^B	241.7 \pm 34.7 ^{***A}	186.5 \pm 34.9	199.0 \pm 24.5 ^B	201.5 \pm 23.6 ^B

Values are Mean \pm SD.

Values with asterisks are significantly different between male and female within each group by Student t-test: *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001.

Values with different large superscripts are significantly different between 0 and 4 week at p < 0.05 by paired test.

C: control, F: folate-supplemented, A: ascorbate-supplemented, FA: folate plus ascorbate-supplemented, LDL: low density lipoprotein, T-C: total-cholesterol, LDL-C: low density lipoprotein-cholesterol, GSH-Px: glutathione peroxidase

130.0~177.4 mg/dL이었으며, 여자는 139.0~218.5 mg/dL로, A군을 제외한 세 군 모두에서 여자가 유의하게 높았다. 그러나 남녀 각각 4개 실험군 간에는 유의하게 다르지 않았다. 시험물질의 복용으로 혈청 T-C 농도는 남녀 각각 C군은 -0.2%와 -7.9%, F군은 -4.6%와 -7.0%, A군은 -6.3%와 +4.7%, FA군은 +2.3%와 +4.6%로 변해 남자는 실험군 별로 130.0~169.0 mg/dL가 되었고 여자는 145.6~203.0 mg/dL가 되었다. 시험물질의 복용 전에 비해 통계적으로 유의성 있는 감소는 C군과 F군의 여자에서만 보였다. 이러한 변화 후에도 혈청 LDL-C 농도는 C군과 F군에서 여자가 유의하게 높았다.

혈청 LDL-C 농도는 시험물질 복용 전에 남자 대상자는 실험군 별로 70.0~117.8 mg/dL이었으며 여자는 94.0~156.0 mg/dL로, A군을 제외한 세 군 모두에서 여자가 유의하게 높았다. 그러나 남녀 각각 4개 실험군 간에는 유의하게 다르지 않았다. 시험물질의 복용으로 혈청 LDL-C 농도는 남녀 각각 C군은 +1.4%와 -8.4%, F군은 -10.3%와 -8.3%, A군은 -15.3%와 +5.1%, FA군은 -2.5%와 +3.1%로 변해 실험군 별로 남자는 71.0~105.8 mg/dL가 되었고 여자는 99.0~143.0 mg/dL가 되었다. 시험물질의 복용 전에 비해 통계적으로 유의성 있는 감소는 C군의 여자와 F군의 남녀 모두 그리고 A군의 남자에서 보였다. 이러한 변화 후에도 혈청 LDL-C 농도는 여전히 A군을 제외한 세 군 모두에서 여자가 유의하게 높았다.

산화 LDL 농도는 시험물질의 복용 전에 실험군 별로 28.2~55.0 U/mL이었으며 남녀 각각 4개 실험군 간에 유의하게 다르지 않았다. 각 실험군 내에서 유의한 성차는 C군과 FA군에서 보였는데, 여자가 높았다. 시험물질의 복용으로 산화 LDL 농도는 남녀 각각 C군은 +23.8%와 +6.5%, F군은 -16.0%와 -7.8%, A군은 -1.2%와 +21.3%, FA군은 -7.1%와 -19.0%로 변해 실험군 별로 34.9~50.7 U/mL가 되었다. 시험물질의 복용 전에 비해 통계적으로 유의성 있는 감소는 F군의 남자와 FA군의 여자에서만 보였다. A군과 C군의 남자에서는 오히려 증가하였다. 이러한 변화 후에도 혈장 산화 LDL 농도는 남녀 각각 4개 실험군 간에 유의성 있게 다르지 않았고, 각 실험군 내 성차는 C군과 F군에서 있었는데 여자가 유의하게 높았다.

혈장의 GSH-Px 활성은 시험물질의 복용 전에 실험군 별로 136.6~221.3 nmoL/min/mL이었으며 남녀 각각 4개 실험군 간에 유의하게 다르지 않았다. 각 실험군 내에서 유의한 성차는 FA군을 제외한 세 군 모두에서 있었는데 모두 남자가 높았다. 시험물질의 복용으로 혈장 GSH-Px 활성은 남녀 각각 C군은 +8.4%와 +16.7%, F군은 +2.3%와

-13.4%, A군은 +9.1%와 +1.2%, FA군은 -6.8%와 -5.5%로 달라져 실험군 별로 157.9~241.7 nmoL/min/mL가 되었다. 시험물질의 복용 전에 비해 F군의 여자와 FA군의 남녀에서는 혈장 GSH-Px 활성이 유의성 있게 감소되었다. 그러나 C군의 여자와 A군의 남자에서는 오히려 증가되었다. 이러한 변화에도 불구하고 혈장 GSH-Px 활성은 역시 남녀 각각 4개 실험군 간에 유의하게 다르지 않았다. 각 실험군 내에서의 성차는 FA군을 제외한 세 군에서 보였는데 역시 남자가 높았다.

고 찰

본 연구대상자의 평균 연령은 62.1세이었으며, 평균 11.1년의 당뇨병 투병기간을 가지고 있었고, 혈당강하제나 인슐린 이외에 여러 가지 합병증과 관련된 약물을 복용하고 있었다. 이들의 에너지 섭취량은 부족한 편이었으며 부족한 정도는 여자 대상자에서 더 컸다. 그러나 남녀 대상자 모두 신장과 체중 및 BMI가 한국인의 표준체위와 근사하였던 점으로 미루어 에너지 섭취량이 EER에 미치지지는 못하였으나 에너지 소비량과 균형을 유지하는 수준이었다고 생각된다. 단백질 섭취량은 남녀 대상자 모두 충분하였다.

엽산 및 비타민 C 영양상태

본 연구대상자의 엽산 섭취량은 불충분하였으며 특히 여자 대상자에서 부족한 정도가 심하였다. 국내에서 수행된 일 연구에서는 제2형 당뇨병 환자의 엽산 섭취량이 대조군보다 낮았으며 조사 당시의 엽산 권장량인 250 μ g에 미치지 못하였다고 보고한 바 있다.²⁰⁾ 본 연구결과도 제2형 당뇨병 환자의 엽산 섭취가 부족함을 확인해 주었다. 본 연구에서 엽산을 보충·섭취한 F군과 FA군의 경우 남녀 모두에서 혈장 엽산 농도가 유의성 있게 증가했다. 그러나 비타민 C의 병합 보충 효과는 없었다. 본인 등²²⁾이 공복혈당 장애자에게 4주간 매일 1 mg의 엽산을 보충한 연구에서도 혈장 엽산 농도가 유의하게 상승하였다. 혈장 엽산 농도는 단기간의 엽산 섭취상태를 반영하는 지표라고 알려져 있는데,²⁴⁾ 본 연구결과는 4주간 매일 1 mg의 엽산을 보충·섭취하면 제2형 당뇨병 환자에서 혈장 엽산 농도를 증가시킨다는 점을 알려준다.

본 연구대상자의 비타민 C 섭취량은 남자 대상자는 양호하였으나 여자 대상자의 경우 일부 불충분한 사례가 있었다. 국내에서 수행된 일 연구도 제2형 당뇨병 환자의 비타민 C 섭취량은 충분하다고 하였다.²⁰⁾ 그러나 본 연구결과는 일부 당뇨병 환자, 특히 여자의 경우 취약한 사례가 있을 수

있음을 밝혔다. 국내에서 수행된 다른 연구는 당뇨병 환자군은 대조군에 비해 혈장의 비타민 C 농도가 유의하게 낮고, 적혈구의 과산화지질 수준은 높았다고 하였다.²⁵⁾ 이들 연구자들은 산화 스트레스가 비타민 C의 소모를 증가시키므로, 당뇨병 환자는 비타민 C를 더 많이 섭취할 필요가 있다고 주장하였다. 국외에서도 산화 스트레스를 낮추기 위해서 당뇨병 환자에게 매일 200~500 mg의 비타민 C 섭취를 권장해야 한다는 주장이 있다.²⁶⁾ 본 연구에서는 비타민 C를 보충·섭취한 A군과 FA군 및 엽산을 보충·섭취한 F군의 남녀 대상자 모두에서 혈장 비타민 C 농도가 유의하게 증가했다. 이러한 결과는 제2형 당뇨병 환자에게, 이들의 비타민 C 섭취량이 불충분하더라도 하루 1,000 mg의 비타민 C 보충은 혈장 비타민 C 농도를 높이는 데 충분한 수준임을 알려준다. 국내에서 제2형 당뇨병 환자에게 4주간 매일 비타민 C를 1, 2 또는 3 g씩 복용시킨 일 연구에서는 용량 의존적으로 혈장 비타민 C 농도가 증가되었다.²⁷⁾ 엽산만을 보충·섭취한 F군에서 남녀 대상자 모두 혈장 비타민 C 농도가 증가한 본 연구결과는 흥미있다. 이는 아마도 엽산의 보충·섭취로 인해 혈장 엽산 농도가 증가해 항산화 기능이 향상되어 산화 스트레스가 감소되고 이로 인해 비타민 C의 소모가 적어져 나타난 현상이 아닐까 추측된다. 그러나 엽산의 병합 보충 효과는 없었다. 제2형 당뇨병 환자에서 산화 스트레스가 비타민 C의 소모를 증가시킨다는 점은 이미 밝혀졌으며,²⁵⁾ 고호모시스테인혈증 시에 유리라디칼 생성이 촉진되어 산화 스트레스를 증가시킨다는 점^{9,28)} 및 엽산 투여로 혈장의 Hcy 농도와 적혈구의 지질과산화물 함량이 저하된다는 점도 확인된바 있다.²⁹⁾ 이러한 선행연구 결과들은 엽산이 생체 내에서 항산화제와 유사한 효과를 발휘한다는 점을 증명한다고 볼 수 있다.

공복혈당, 혈중 HbA_{1c} 및 혈청 Hcy 농도

본 연구에서 공복혈당은 4주간 1 mg의 엽산 또는 1,000 mg의 비타민 C의 보충 및 병합 보충·섭취에 따른 영향을 전혀 받지 않았다. 이는 엽산이나 비타민 C가 공복혈당 농도에 영향을 끼치지 않는다는 점을 시사한다. 또한 본 연구 대상자들은 모두 경구혈당강하제나 인슐린을 통해 혈당 수준을 관리하고 있었다.

혈중 HbA_{1c} 농도는 4주간 1 mg의 엽산 또는 1,000 mg의 비타민 C의 보충 및 병합 보충·섭취에 따른 일관된 변화를 보이지 않았다. 혈액 중에 존재하는 HbA_{1c}는 장기간에 걸친 고혈당 상태를 나타내주는 신뢰성과 재현성이 있는 지표이다.³⁰⁾ 본 연구대상자의 HbA_{1c} 수준이 그다지 높지 않았던 점은 이들이 모두 경구혈당강하제나 인슐린을 통해

혈당 수준을 관리하고 있었기 때문일 것이다. 엽산이나 비타민 C의 보충·섭취가 혈중 HbA_{1c} 수준에 일관성 있는 영향을 끼치지 않은 본 연구결과는 본 연구대상자들의 HbA_{1c} 농도가 크게 높지 않았다는 점과 함께 본 연구에서 엽산이나 비타민 C의 투여기간인 4주가 혈중 HbA_{1c} 수준을 변화시키기에 불충분한 기간이 아니었나 생각된다. 그러나 제2형 당뇨병 환자에게 4주간 매일 비타민 C를 1, 2 또는 3 g씩 복용시킨 일 연구에서는 용량 의존적으로 혈중 HbA_{1c}의 감소 효과가 있었다.²⁷⁾

본 연구에서 혈청 Hcy 농도는, 시험물질의 복용 전에, A군을 제외한 3개 군에서 남자가 유의하게 높은 성차를 보였다. 당뇨병 환자에 있어서, 혈청 Hcy 농도에 영향을 미치는 주요 인자로 유전적 소인과 성별 이외에 폐경³¹⁾이나 엽산영양상태^{32,33)} 또는 흡연³⁴⁾ 등이 알려져 있다. 본 연구에서 혈청 Hcy 농도는 남자가 높은 성차를 보인 점은 폐경보다는 성별의 영향이 더 크다는 점을 시사해준다. 또한 남자 대상자에서 흡연자 비율이 높았던 점도 일 원인이었을 것이다. 제2형 당뇨병 환자를 대상으로 국내에서 수행된 한 연구에서 흡연에 의해 혈청 Hcy 농도가 증가하는 것으로 나타났으며 증가의 정도가 당뇨병 환자군이 대조군보다 더 컸다.²⁰⁾ 한편 C군과 FA군 여자의 혈청 Hcy 농도가 F군의 여자에 비해 유의하게 높았던 점은 고호모시스테인혈증($\geq 15 \mu\text{mol/L}$)을 지닌 연구대상자들이 정규분포를 하지 않고 이들 군에 속했기 때문이었다.

본 연구결과, 시험물질의 복용 후 F군의 남자 대상자와 FA군의 남녀 대상자 모두에서 혈청 Hcy 농도가 유의하게 저하되었다. 비록 F군의 여자 대상자에서는 저하정도가 통계적 유의성이 없었지만 A군에서는 유의한 감소 효과가 나타나지 않은 점으로 미루어, 4주간 1 mg의 엽산을 보충·섭취한 효과라고 판단된다. 이는 엽산이 혈청 Hcy 저하제로 비타민 B₆나 B₁₂보다 효과적이라는 점³⁵⁾을 지지한다. 엽산의 투여량에 대한 증거는 다양한데 매일 1~10 mg의 약리적 수준의 고용량이 효과적이라는 결과가 있기도 하고,^{32,35)} 1 mg 미만의 저용량 사용도 효과적이라는 주장도 있다.³³⁾ 본 연구결과는 1 mg 정도의 저용량 투여도 효과를 발휘한다는 내용을 지지한다. 비타민 C의 병용은, FA군의 남녀 대상자 모두에서 혈청 Hcy 농도가 유의하게 저하된 점으로 미루어, 엽산에 의한 혈청 Hcy 농도의 저하를 지원하는 것이 아닌가 생각된다. 한편 1,000 mg의 비타민 C를 4주간 보충·섭취한 A군의 남자에서 혈청 Hcy 농도가 유의하게 상승하였다. 이러한 결과는 비타민 C의 보충 섭취가 혈청 Hcy 농도를 저하시키는 효과가 없다는 점을 시사한다. 또한 이들 대상자 중 흡연자 비율이 50%로 높았던 점

이 오히려 상승을 가져온 일 원인이었을 것이라 추측된다.

고호모시스테인혈증이 혈관 내피세포의 손상과 기능장애를 일으켜 심·혈관 질환을 초래한다는 증거³⁶⁾와 혈청 Hcy 농도가 높으면 낮은 경우에 비해 미세알부민뇨증으로 진전된 경우가 5.1배 높았다는 보고³⁷⁾가 있다. 또한 이미 여러 연구에서 제2형 당뇨병에서 혈관 합병증을 동반한 환자는 혈청 Hcy 농도가 유의하게 높으며,³⁸⁾ 고호모시스테인혈증을 지닌 환자군은 정상 Hcy 농도의 환자군보다 심·혈관 질환의 발생률이 높다는 점도 확인되었다.³⁹⁾ 한 연구는 제2형 당뇨병 환자의 심·혈관 질환에 대한 위험도가 당내성이 정상인 사람에 비해 2.33배 높음을 증명하였다.⁴⁰⁾ 당뇨병 환자를 5년간 추적 조사한 한 연구에서는 사망자와 생존자를 비교한 결과, 고호모시스테인혈증을 가진 대상자들의 사망위험도가 정상 Hcy 농도를 지닌 사람보다 1.56배 높았으며, 당뇨병군은 비당뇨군보다 2.51배 높았다고 밝혔다.³⁶⁾ 이는 고호모시스테인혈증이 독립적인 사망 위험인자로 작용하며 또한 당뇨병에서 그 위험도가 더 높다는 점을 말해준다. 이러한 점들은 혈청 Hcy 농도를 정상 범위로 유지하는 일이 당뇨병 환자에 있어 합병증 발생을 예방하는데 있어 중요하다는 점을 시사한다. 그러므로 본 연구결과는 제2형 당뇨병 환자에서 남자는 여자보다 혈청 Hcy 농도가 높음으로 인해 이로 인한 심·혈관계 질환이나 신장 질환 등 합병증의 발생이나 사망위험이 높다는 점을 확인해 주었다. 또한 흡연을 하는 남자 당뇨병 환자의 경우 그 위험 정도가 더 클 수 있다는 점도 시사하였다. 흡연이 제2형 당뇨병 환자에서 혈중 HbA_{1c}나 혈청 Hcy 농도를 높이는 등 당뇨병 지표에 부정적인 영향을 끼친다는 점은 이미 확인되었다.^{41,42)}

혈청 T-C와 LDL-C 및 혈장 산화 LDL 농도와 혈장 GSH-Px 활성

본 연구에서 혈청 T-C 농도는 시험물질의 복용 후 C군과 F군의 여자 대상자에서만 유의하게 낮아졌다. 이러한 점은 엽산이나 비타민 C가 혈청 콜레스테롤 농도에 유의한 영향을 끼치지 않는다는 점을 시사한다. 한편 여자 대상자가 남자 대상자보다 혈청 T-C 농도가 높게 나온 점은, 여자 대상자 중에 95.7%가 폐경상태이었음을 고려할 때, 폐경에 따른 혈청 콜레스테롤 농도의 상승에 따른 결과라고 생각된다. 고콜레스테혈증 (≥ 240 mg/dL)을 보인 대상자는 4.3%이었는데 모두 여자들이었으며, 경계역 고콜레스테혈증 ($\geq 200\sim 239$ mg/dL)을 보인 13.0% 중에서도 여자가 8.7%로 남자의 두 배에 달하였다. 본 연구대상자 중 13.0%는 콜레스테롤 저하제를 복용하고 있었는데 이들은 모두 정상 범위의 혈청 T-C 농도를 보였다.

본 연구에서 혈청 LDL-C 농도는 시험물질의 복용 후 C군의 여자 대상자와 F군의 남녀 모두 및 A군의 여자 대상자에서 유의성 있게 저하되었다. 이러한 일관성 없는 결과는 엽산이나 비타민 C가, 혈청 T-C 농도와 마찬가지로, LDL-C 농도에도 유의한 영향을 끼치지 않는다는 점을 시사한다. 한편 여자 대상자가 남자 대상자보다 혈청 LDL-C 농도가 높게 나온 점은, 앞서 혈청 T-C 농도에서 언급한바, 폐경에 따른 영향이라고 여겨진다. 본 연구대상자 중에서 고LDL-C혈증 (≥ 130 mg/dL)을 보인 대상자는 26.1%이었는데, 여자가 남자보다 두 배 이상 높았다. 당뇨병 환자의 치료목표(≤ 100 mg/dL)를 상회하고 있는 경우는 69.6%에 달했으며, 역시 여자가 남자보다 두 배정도 많았다. 콜레스테롤 저하제를 복용하는 13.0%의 연구대상자 중 4.3%만이 정상 LDL-C 농도를 보였고, 4.3%는 100~129 mg/dL이었으며, 나머지 4.3%는 130 mg/dL 이상이었다. 콜레스테롤 저하제 복용자의 T-C 농도가 모두 정상이었었던 점을 고려할 때, T-C 농도에 비해 LDL-C 농도의 개선이 쉽지 않음을 알려준다.

혈장 산화 LDL 농도는 시험물질 복용 후 F군의 남자 대상자와 FA군의 여자 대상자에서 유의하게 감소되었다. 비록 F군의 여자 대상자와 FA군의 남자 대상자에서는 감소 정도가 통계적 유의성을 보이지 않았지만 A군에서 유의한 감소 효과가 나타나지 않은 점으로 미루어, 역시 4주간 1 mg의 엽산을 보충·섭취한 효과라고 판단된다. 비타민 C의 병용은 추가적인 영향을 보이지 않았다. 이러한 결과는 혈장 LDL의 산화를 억제하는데 있어 엽산이 비타민 C보다 효과적이 아닌가 하는 점을 시사한다. 비타민 C가 산화 스트레스를 감소시키는가에 대해서는 상반된 연구결과가 있다. 즉 스트렙토조토신(streptozotocin) 유발 당뇨 쥐에 비타민 C를 보충·급여한 일 연구는 혈장 비타민 C 농도는 정상으로 회복되었으나 산화 스트레스를 감소시키지는 못했다고 하였다.⁴⁴⁾ 그러나 제2형 당뇨병 환자에서 비타민 C의 보충이 혈장의 지질 과산화물 농도를 낮추어 산화 스트레스를 저하시켰다는 결과도 있다.^{27,45)} 고호모시스테인혈증 시에 유리라디칼의 생성이 촉진되어 산화 LDL 생성이 증가한다는 점²⁸⁾을 생각할 때, 본 연구에서 엽산을 보충·섭취한 F군과 FA군에서 혈장 Hcy 농도가 유의성 있게 저하된 결과는 이들 군에서 산화 LDL 농도가 저하된 이유를 일부 설명해준다. 그러므로 고호모시스테인혈증은 직접적으로 혈관 내피세포에 독성을 미칠⁴³⁾ 뿐만 아니라 간접적으로 혈관 내피세포의 기능장애를 초래한다고 할 수 있다. 호모시스테인의 독성 효과가 유리라디칼에 의해서 매개된다는 점은 다른 연구에서도 확인되었다.⁹⁾

항산화제로 호모시스테인에 의한 산화 스트레스의 영향을 감소시킬 수 있다는 주장이 있다. 즉 경증의 호모시스테인혈증을 지닌 대상자들에게 비타민 C와 E를 투여한 연구에서 혈액응고 활성이 저하되었고 내피세포의 점착성이 감소되었다.⁴³⁾ 합병증을 동반하지 않은 제2형 당뇨병 환자들에게 1,000 mg의 비타민 C나 400 IU의 비타민 E 보충은 혈장의 지질과산화물 함량을 낮추었고 적혈구의 카탈레이스(catalase) 활성을 저하시키는 등 항산화 상태를 호전시켰다.⁴⁵⁾ 또한 4주간 매일 비타민 C를 1, 2 또는 3 g씩 복용시킨 결과 용량 의존적으로 항산화 상태가 개선되었다.²⁷⁾ 비타민 C 보충이 고호모시스테인혈증으로 유발된 혈관 내피세포의 손상을 회복시키는 효과는 건강한 사람에서도 확인되었고,⁴⁶⁾ 엽산과 항산화 비타민 보충이 혈장의 Hcy와 산화 LDL 또는 지질과산화물의 농도를 감소시키는 효과는 고지혈증 환자에서도 확인되었다.²⁹⁾ 그런데 상동 연구에서 엽산과 항산화제의 병합 투여로 인한 부가적인 효과는 나타나지 않았다.²⁹⁾ 본 연구에서도 FA군에서 나타난 효과가 F군에서 보인 효과보다 크지 않은 점은, 앞서 서술한바, 엽산이 지질의 과산화를 방지하는데 있어 주도적이고 결정적인 역할을 하는 것이 아닌가 하는 점을 알려준다. 한편, 혈장의 산화 LDL 농도에서 일부 군에서 보인 성차는 혈장 Hcy 농도에서 나타난 성차와 반대 방향을 보여 주목된다. 이러한 결과는 혈장 Hcy 농도가 높으면 산화 스트레스가 높아져 산화 LDL 농도가 증가한다는 설²⁸⁾과 상반된다. 그러나 본 연구에서 A군을 제외하고는 여자 대상자의 혈장 LDL-C 농도가 남자보다 유의하게 높았기 때문에 산화 LDL 농도도 높게 나왔을 것이라 이해된다. 총 LDL에 대한 산화 LDL의 비율을 산출할 수 있다면 이는 혈장 Hcy 농도와 정상관을 나타낼 것이라 추측할 수 있다.

본 연구에서 혈장 GSH-Px 활성은 시험물질의 복용 후 F군의 여자 대상자와 FA군의 남녀 대상자 모두에서 감소되었다. 비록 F군의 남자 대상자의 감소정도가 통계적 유의성은 없었으나 A군의 남자 대상자와 C군의 여자 대상자에서는 혈장 GSH-Px 활성이 오히려 증가된 점으로 미루어, 역시 4주간 1 mg의 엽산을 보충·섭취한 효과라고 판단된다. 비타민 C의 병용은 부가적인 영향을 보이지 않았다. 혈장 GSH-Px 활성이 엽산의 보충 섭취로 낮아진 이유는 엽산의 작용으로 인해 산화 스트레스가 저하되었기 때문이 아닐까 추측된다. 당뇨 토끼에서 엽산 보충이 혈관 내 산화 스트레스를 감소시켰다는 증거가 있다.⁴⁷⁾ 이러한 점을 생각할 때, 앞서 엽산을 보충·섭취한 F군과 FA군에서 혈청 Hcy와 혈장의 산화 LDL 농도가 낮아진 점은 역시 이들 군에서 혈장 GSH-Px 활성이 저하된 이유를 일부 설명해준

다. 시험물질의 복용 전에 일부 군에서 남자 대상자가 여자보다 높은 GSH-Px 활성을 보인 결과도, 남자의 혈청 Hcy 농도가 높았던 점을 고려할 때, 남자가 여자보다 유리라디칼 부하가 더 많은 상태에 있었던 것이 아니었을까 추측할 수 있겠다.

요약 및 결론

본 연구는 제2형 당뇨병 환자에서 엽산과 비타민 C의 단독 또는 병합 보충·급여가 혈장의 엽산과 비타민 C 농도를 어떻게 변화시키는지 또한 공복혈당, 혈중 HbA_{1c}, 혈장 Hcy, 혈청 T-C와 LDL-C 및 산화 LDL 농도 및 혈장 GSH-Px 활성에 어떠한 영향을 끼치는지 규명하고자 하였다. 이를 위해 124명의 제2형 당뇨병 환자를 임의로 4개 실험군으로 구분하여, 4주 동안 매일, C군에게는 위약을 급여하였고, F군에게는 엽산 1 mg을, A군에게는 비타민 C 1,000 mg을 그리고 FA군에게는 엽산 1 mg과 비타민 C 1,000 mg을 함께 보충·섭취하도록 하였다. 이들 중에서 시험물질의 보충·섭취를 완료하고 모든 조사에 응한 92명을 본 연구의 최종 연구대상자로 삼았다. 이들의 당뇨병 유병기간은 평균 11.1 (2~27)년이었고, 69.2%는 경구혈당강하제를 그리고 30.8%는 인슐린 주사를 처방받고 있었다. 이들 중 69.6%는 고지혈증, 고혈압, 협심증 등의 합병증을 지니고 있었으며, 이로 인해 혈압저하제, 콜레스테롤저하제 또는 협심증 개선제를 복용하고 있었다. 이로부터 얻은 연구 결과는 다음과 같았다.

1) 본 연구대상자의 에너지 섭취량은 EER에 비해 상당히 부족하였으나 에너지 균형을 유지하고 있는 것으로 보였다. 단백질 섭취는 충분하였다. 비타민 C의 섭취는 양호한 편이었으나 엽산 섭취는 취약하였다.

2) 엽산 보충은 혈장 엽산 농도뿐만 아니라 혈장 비타민 C 농도도 유의하게 증가시켰다. 비타민 C 보충은 혈장 비타민 C 농도를 유의성 있게 증가시켰다. 엽산과 비타민 C의 병합 보충은 혈장 엽산 또는 혈장 비타민 C 농도에 부가적인 효과를 나타내지 않았다.

3) 공복혈당이나 혈중 HbA_{1c} 농도 및 혈청 T-C와 LDL-C 농도는 엽산이나 비타민 C의 보충 및 이들의 병합 보충에 유의한 영향을 받지 않았다.

4) 혈청 Hcy와 혈장 산화 LDL 농도 및 혈장 GSH-Px 활성은 엽산을 보충 받은 일부 군에서 유의성 있게 감소되었다. 그러나 비타민 C의 병합 보충에 따른 추가 영향은 나타나지 않았다. 한편 비타민 C 보충에 따른 감소 효과는 전혀 없었다.

이러한 본 연구결과는 제2형 당뇨병 환자에게 매일 1 mg의 엽산을 보충·섭취하면 혈장 Hcy 농도뿐만 아니라 산화 LDL 농도가 낮아지고, 혈장 GSH-Px 활성이 감소되어, 산화 스트레스가 낮아질 수 있다는 점을 증명하였다. 그러나 매일 1,000 mg의 비타민 C의 보충·섭취는 이러한 효과를 발휘하지 않는다는 점과 엽산과 비타민 C의 병용 보충에 따른 효과가 없다는 점도 확인하였다. 이러한 결과들은 비타민 C 보다는 엽산이 체내에서 효과적으로 항산화 기능을 수행한다는 이론을 지지한다. 따라서 제2형 당뇨병 환자는 대혈관 합병증인 심혈관계 질환이나 미세혈관 합병증인 신장 질환 등을 예방하기 위해 비타민 C 보다는 엽산을 보충·섭취하는 것이 효과적인 것이다. 제2형 당뇨병 환자의 엽산 섭취가 부족한 점도 비타민 C 보다는 엽산의 보충·섭취가 필요하다는 점을 뒷받침한다.

본 연구에서는 엽산과 비타민 C의 보충을 각각 1 mg과 1,000 mg의 한 수준씩만 검증하였고 또한 보충기간도 4주 한 기간만 검토하였으므로, 앞으로 저용량 또는 고용량의 효과와 단기간 또는 장기간의 영향에 대해 추후 연구할 필요가 있다고 본다.

Literature cited

- 1) Stevens MJ, Feldman EL, Greene DA. The etiology of diabetic neuropathy: The combined roles of metabolic and vascular defect. *Diabetic Med* 1995; 12(7): 1566-1579
- 2) Lehto S, Rönnemaa T, Pyörälä K, Laakso M. Cardiovascular risk factors clustering with endogenous hyperinsulinemia predict death from coronary heart disease in patients with Type II diabetes. *Diabetologia* 2000; 43(2): 148-155
- 3) Haffner SM, Lehto S, Rönnemaa T, Pyörälä K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998; 339(4): 229-234
- 4) McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969; 56(1): 111-128
- 5) Moghadassian MH, McManus BM, Frohlich JJ. Homocysteine and coronary heart disease: clinical evidence and genetic and metabolic background. *Arch Intern Med* 1997; 157(20): 2299-2308
- 6) van Guldener C, Stehouwer CD. Hyperhomocysteinemia, vascular pathology, and endothelial dysfunction. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26(3): 281-289
- 7) McCully KS. Chemical pathology of homocysteine I. Atherogenesis. *Ann Clin Lab Sci* 1993; 23(6): 477-493
- 8) Aukrus P, Berge RK, Muller F, Ueland PM, Svardsdal AM, Frøland SS. Elevated plasma levels of reduced homocysteine in common variable immunodeficiency-a marker of enhanced oxidative stress. *Eur J Clin Invest* 1997; 27(10): 723-730
- 9) Blom HJ, Kleinvelde HA, Boers GH, Demacker PN, Hak-Lemmers HL, Te Poele-Pothoff MT, Trijbels JM. Lipid peroxidation and susceptibility of low-density lipoprotein to in vitro oxidation in hyperhomocysteinemia. *Eur J Clin Invest* 1995; 25(3): 149-154
- 10) Paolisso G, D'Amore A, Giugliano D, Cereillo A, Varricchio M, D'Onofrio F. Pharmacological doses of vitamin E improve insulin action in healthy subjects and non-insulin dependent diabetic patients. *Am J Clin Nutr* 1993; 57(5): 650-656
- 11) Yoshida H, Ishikawa T, Nakamura H. Vitamin E/lipid peroxide ratio and susceptibility of LDL to oxidative modification in NIDDM. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17(7): 1438-1446
- 12) Al-Obaidi MK, Stubbs PJ, Collinson P, Conroy R, Graham I, Noble MI. Elevated homocysteine levels are associated with increased ischemic myocardial injury in acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36(4): 1217-1222
- 13) Medina MA, Amores-Sánchez MI. Homocysteine: an emergent cardiovascular risk factor? *Eur J Clin Invest* 2000; 30(9): 754-762
- 14) Nygård O, Refsum H, Ueland PM, Vollset SE. Major lifestyle determinants of plasma total homocysteine distribution: The Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr* 1998; 67(2): 263-270
- 15) Ubbink JB, van der Merwe A, Delpert R, Allen RH, Stabler SP, Riezler R, Vermaak WJ. The effect of a subnormal vitamin B6 status on homocysteine metabolism. *J Clin Invest* 1996; 98(1): 177-184
- 16) Davie SJ, Gould BJ, Yudkin JS. Effect of Vitamin C on glycosylation of protein. *Diabetes* 1992; 41(2): 167-173
- 17) Sies H, Stahl W. Vitamin E and vitamin C and carotenoid as antioxidants. *Am J Clin Nutr* 1995; 62(6): 1315s-1321s
- 18) Rinkins LE. Effects of alloxan diabetes on rat liver ascorbic acid. *Horm Metab Res* 1981; 13(2): 123-129
- 19) Som S, Basu S, Mukherjee D, Deb S, Choudhury PR, Mukherjee S. Ascorbic acid metabolism in diabetes mellitus. *Metabolism* 1981; 30(6): 572-577
- 20) Chang NS, Kim JM, Park SW, Cho YW, Kwon OO. Folate intake and plasma homocysteine levels in the elderly patients with NIDDM. *Korean J Nutr* 2000; 33(3): 250-256
- 21) Seo HY, Ha AW, Cho JS. The dietary intake, plasma lipid peroxidation and vitamin C in NIDDM patients. *Korean J Nutr* 2001; 34(8): 912-919
- 22) Hwang MR, Shin MH, Rhee JA, Kweon SS, Lim HS. Effects of folic acid or ascorbate supplementation on plasma homocysteine levels and oxidative stress in Korean adults with impaired fasting glucose. *Korean J Community Nutrition* 2008; 13(2): 263-275
- 23) Okamura M. An improved method for determination of L-ascorbic acid and L-dehydroascorbic acid in blood plasma. *Clin Chem Acta* 1980; 103(3): 259-268
- 24) Lim HS. Folate status in pregnant and lactating women. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 1997; 26(5): 983-992
- 25) Ha AW, Kim HM. The study of lipid-peroxidation, antioxidant enzymes, and the antioxidant vitamin in NIDDM patients with microvascular-diabetic complications. *Korean J Nutr* 1999; 32(1): 17-23

- 26) Dipolack AT. Safety of antioxidation vitamins and beta-carotene. *Am J Clin Nutr* 1995; 62 (6): 1510s-1516s
- 27) Park HS, Lee YM. Effects of vitamin C supplementation on blood sugar and antioxidative status in type 2 diabetes mellitus patients. *J Korean Acad Nurs* 2003; 33 (2): 170-178
- 28) Fonseca VA, Stone A, Munshi M, Baliga BS, Aljada A, Thusu K, Fink L, Candona P. Oxidative stress in diabetic macrovascular disease: does homocysteine play a role? *South Med J* 1997; 90 (9): 903-906
- 29) Racek J, Rusnkov H, Trefil L, Siala KK. The Influence of folate and antioxidants on homocysteine levels and oxidative stress in patients with hyperlipidemia and hyperhomocysteinemia. *Physiol Res* 2005; 54 (1): 87-95
- 30) Varillo AR, Ade T, Golia R, Nunziata V. The relationship between glycosylated haemoglobin levels and various degrees of glucose intolerance. *Diabetologia* 1983; 24 (5): 391-393
- 31) Andersson A, Brattström L, Israelsson B, Isaksson A, Hamfelt A, Hultberg B. Plasma homocysteine before and after methionine loading with regarding to age, gender, and menopausal status. *Eur J Clin Invest* 1992; 22 (2): 74-87
- 32) Brattstrom L. Vitamins as homocysteine-lowering agents. *J Nutr* 1996; 126 (4): 1276s-1280s
- 33) Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, Wilson PW, Rosenberg IH. The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. *N Engl J Med* 1999; 340 (19): 1449-1454
- 34) Targher G, Bertolini L, Zenari L, Cacciatori V, Muggeo M, Facchini G, Zppini G. Cigarette smoking and plasma total homocysteine levels in young adults with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2000; 23 (4): 524-528
- 35) Chauvear P, Chadeaux B, Coud M, Aupetit J, Kamoun P, Jungers P. Long-term folic acid (but not pyridoxine) supplementation lowers elevated plasma homocysteine level in chronic renal failure. *Miner Electrolyte Metab* 1996; 22 (1-3): 106-109
- 36) Hoogeveen EK, Kostense PJ, Jakobs C, Dekker JM, Nijpels G, Heine RJ, Bouter LM, Stehouwer CD. Hyperhomocysteinemia increases risk of death, especially in type 2 diabetes 5-year follow-up of the Hoorn Study. *Circulation* 2000; 101 (13): 1506-1511
- 37) Jager A, Kostense PJ, Nijpels G, Dekker JM, Heine RJ, Bouter LM, Donker AJ, Stehouwer CD. Serum Homocysteine levels are associated with the development of microalbuminuria: the Hoorn Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21 (1): 74-81
- 38) Araki A, Sako Y, Ito H. Plasma homocysteine concentrations in Japanese patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus: effect of parenteral methylcobalamin treatment. *Atherosclerosis* 1993; 103 (2): 149-157
- 39) Buysschaert M, Dramais AS, Wallemacq PE, Hermans MP. Hyperhomocysteinemia in type 2 diabetes: relationship to macroangiopathy, nephropathy, and insulin resistance. *Diabetes Care* 2000; 23 (12): 1816-1822
- 40) Hoogeveen EK, Kostense PJ, Beks PJ, Mackaay AJ, Jakobs C, Bouter LM, Heine RJ, Stehouwer CD. Hyperhomocysteinemia 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 (1): 133-138
- 41) Nygård O, Vollset SE, Refsum H, Stensvold I, Tverdal A, Nordrehaug JE, Ueland M, Kvåle G. Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile: the Hordaland Homocysteine Study. *JAMA* 1995; 274 (19): 1526-1533
- 42) Song IJ, Lee JA, Lim HS. Dietary and health-related lifestyle habits and blood parameters of non-insulin dependent diabetes patients. *Nutr Sci* 2005; 8 (1): 35-41
- 43) Nappo F, De Rosa N, Marfella F, De Lucia D, Ingrosso D, Perna AF, Fazati B, Giugliano D. Impairment of endothelial functions by acute hyperhomocysteinemia and reversal by antioxidant vitamins. *JAMA* 1999; 281 (22): 2113-2118
- 44) Young IS, Lightbody JH, McMaster D, Trimble ER. The effects of desferrioxamine and ascorbate on oxidative stress in the streptozotocin diabetic rat. *Free Radic Biol Med* 1995; 18 (5): 833-840
- 45) Kim NE, Kim WK. Effects of antioxidant vitamin supplementation on antioxidative status and plasma lipid profiles in Korean NIDDM patients. *Korean J Nutr* 1999; 32 (7): 775-780
- 46) Chambers JC, McGregor A, Jean-Marie J, Obeid OA, Kooner JS. Demonstration of rapid onset vascular endothelial dysfunction after hyperhomocysteinemia: an effect reversible with vitamin C therapy. *Circulation* 1999; 99 (9): 1156-1160
- 47) Shukla N, Angelini GD, Jeremy JY. The administration of folic acid reduces intravascular oxidative stress in diabetic rabbits. *Metabolism* 2008; 57 (6): 774-781