

Research Article



제2형 당뇨병 환자에서 최종당화산물과 heme oxygenase-1의 상관성

최하늘 ¹, 구다혜 ¹, 임정은 ^{1,2}

¹창원대학교 식품영양학과

²창원대학교 시니어휴먼에콜로지협동과정

Correlation of advanced glycation end products and heme oxygenase-1 in Korean diabetic patients

Ha-Neul Choi ¹, Da-Hye Koo ¹, and Jung-Eun Yim ^{1,2}

¹Department of Food and Nutrition, Changwon National University, Changwon 51140, Korea

²Interdisciplinary Program in Senior Human Ecology (BK21 Four Program), Changwon National University, Changwon 51140, Korea

OPEN ACCESS

Received: Mar 15, 2022

Revised: May 6, 2022

Accepted: May 9, 2022

Published online: Jun 9, 2022

Correspondence to


Jung-Eun Yim

Department of Food and Nutrition, Changwon National University, 20 Changwondaehak-ro, Uichang-gu, Changwon 51140, Korea.
Tel: +82-55-213-3517
Email: jeyim@changwon.ac.kr


© 2022 The Korean Nutrition Society

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.


ORCID iDs

Ha-Neul Choi 

<https://orcid.org/0000-0002-3859-7047>

Da-Hye Koo 

<https://orcid.org/0000-0003-2478-1772>

Jung-Eun Yim 

<https://orcid.org/0000-0001-8344-1386>

Funding

This research was supported by Changwon National University in 2021-2022.

Conflict of Interest

There are no financial or other issues that might lead to conflict of interest.

ABSTRACT

Purpose: Hyperglycemia accelerates the formation of advanced glycation end products (AGEs), a group of compounds formed via non-enzymatic glycation/glycoxidation. Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is related to oxidative stress, resulting in some overgeneration of AGEs. The accumulation of AGEs in T2DM patients leads to increased inflammation, DNA damage, tissue damage, progression of diabetic microvascular disease, and nephropathy. Heme oxygenase-1 (HO-1) is an intracellular enzyme that catalyzes the oxidation of heme. Expression of HO-1 in the endothelium and in muscle monocytes/macrophages was upregulated upon exposure to reactive oxygen species or oxidized low-density lipoprotein. Cells activated by oxidative stress are reported to release HO-1 in the serum. In the current study, we discuss the oxidative status according to the level of AGEs and the association of HO-1 with AGEs or urinary DNA damage marker in type 2 diabetic Korean patients.

Methods: This study enrolled 36 diabetic patients. Subjects were classified into two groups by serum AGEs level (Low AGEs group: < 0.85 ng/mL serum AGEs; High AGEs group: ≥ 0.85 ng/mL serum AGEs). Body composition was measured using bioelectrical impedance analysis. Blood and urinary parameters were measured using commercial kits.

Results: No significant differences were observed in the general characteristics and body composition between the two groups. Serum HO-1 concentration was significantly higher in the High AGEs group than in the Low AGEs group. After adjustment of age and gender, a correlation was performed to assess the association between serum HO-1 and serum AGEs or urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG). Our results indicate that serum HO-1 is positively correlated with serum AGEs and urinary 8-OHdG.

Conclusion: Taken together, our results indicate that in diabetes patients, a high level of HO-1 is associated with a high concentration of AGEs and 8-OHdG, probably reflecting a protective response against oxidative stress.

Keywords: advanced glycation end products; 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine; heme oxygenase-1; type 2 diabetes mellitus

서론

국민건강영양조사에 의하면 2018년 기준 30세 이상 한국 성인의 당뇨병 유병률은 13.8%, 65세 이상 노인의 유병률은 28%로 보고되었다. 당뇨병 전단계인 공복혈당장애의 유병률은 30세와 65세 이상 각각 26.9%, 29.6%로 보고되어 약 10명 중 3명은 공복혈당장애인 것으로 나타났다 [1]. 이렇듯 연령이 증가할수록 당뇨 발병의 위험과 당뇨 유병률이 증가하는 추세를 보이지만 당뇨병 환자 중 당화혈색소가 7.0% 미만으로 조절되는 비율은 56.9%로서, 약 절반 정도의 당뇨병 환자는 여전히 혈당조절에 어려움을 겪고 있는 것으로 나타났다 [1].

만성 고혈당 상태는 polyol pathway, protein kinase C, hexosamine biosynthetic pathway 등의 체내 경로를 통해 산화적 스트레스를 비롯한 당뇨합병증과 조직 손상을 유발한다 [2,3]. 특히 단백질의 비효소적 당화 (glycation) 과정은 당뇨합병증 발생에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 만성고혈당은 체내 단백질의 유리아미노기와 환원당의 반응기의 비효소적 공유 결합을 가속화시켜 최종당화생성물 (advanced glycated end products, AGEs)의 형성을 촉진한다 [4]. 따라서 혈당조절이 잘 되지 않는 당뇨병 환자의 경우 세포외기질에서 AGEs 양이 증가되는 것으로 보고된다 [5]. 증가된 AGEs는 세포외기질을 비롯해 세포내단백질과 혈장 단백질의 변형을 유도한다. 변형된 혈장 단백질은 대식세포, 혈관 내피 세포 및 평활근 세포의 AGE receptor (receptor for AGEs, RAGE)에 결합해 체내 활성산소종의 생성과 염증반응을 유도해 망막병증과 당뇨병성 신증 등의 당뇨합병증을 유도한다 [4,6,7]. 실제 고지혈증, 망막증, 말초신경병증을 가진 대상자들이 그렇지 않은 대상자에 비해 혈액 내 AGEs 수치가 높은 것으로 보고되었다 [8]. 또한, 제2형 당뇨 (type 2 diabetes mellitus, T2DM)환자의 혈중 AGEs 농도가 제1형 당뇨병 환자에 비해 높은 것으로 보고되어 T2DM 환자의 당뇨합병증 예방을 위해 AGEs 생성 조절이 특히 중요한 사안일 것으로 사료된다 [8]. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG)은 민감도가 높은 생체 지표로서, 체내 활성산소종으로 인해 DNA 손상과 산화반응이 증가될 시 소변으로 배출된다 [9]. T2DM 환자들은 고혈당으로 인해 AGEs와 활성산소종의 생성이 증가하고 그로 인해 DNA 손상이 유도되어 소변 내 8-OHdG가 증가되는 것으로 보고된다 [9,10]. 이러한 상태는 DNA 손상을 비롯해 염증 상태 가속, 조직 손상, 당뇨병성 미세혈관 합병증의 진행을 촉진하므로 산화적 스트레스를 예방하고 줄이는 것이 당뇨합병증 예방에 매우 중요하다.

Heme oxygenase-1 (HO-1)은 heme을 biliverdin, carbon monoxide (CO), 및 Fe²⁺로 분해하는 대표적인 산화적 스트레스 조절 효소로서, 체내 활성산소종의 증가와 glutathione 소모 등의 산화적 스트레스 상태에서 효소의 생성이 증가하게 된다 [11]. 체내 산화적 스트레스가 증가하면 HO-1 효소는 세포로부터 혈액으로 방출되어 항산화작용을 한다 [11]. 따라서 실제 내당능 장애와 당뇨병 환자의 혈중 HO-1 농도가 정상대조군에 비해 증가된 것으로 보고된다 [12,13]. 그러나, 한국인에 있어서 T2DM 환자를 대상으로 HO-1 효소활성과 산화적 스트레스 지표와의 상관성을 다각적으로 분석한 연구는 전무한 실정이다.

이렇듯 T2DM 환자에 있어서 AGEs 생성 조절을 비롯한 산화적 스트레스 조절은 환자의 예후를 결정하는 중요한 문제이나, AGEs 수준에 따른 체조성, 식이섭취, 생화학 지표를 비교분석한 연구는 드문 실정이다. 이에 본 연구에서는 국내 T2DM 환자에 있어서 AGEs 수준에 따라 두 그룹으로 나눈 후 체조성과 생화학적 지표를 비교분석하고 혈청 항산화 효소와 AGEs 및 DNA 손상지표와의 상관성을 파악하고자 한다.

연구방법

연구 디자인

본 연구는 만 18-60세 사이의 T2DM으로 진단받은 환자 36명을 모집하였다. 본 연구의 목적과 내용에 대해 충분히 이해하고 연구참여 동의서에 자발적으로 서명한 대상자를 연구에 참여시켰다. 본 연구는 후향적 연구로서, 2017년 4월부터 11월까지 모집된 연구 대상자의 생화학적 분석을 완료한 뒤, AGEs 농도에 따라 두 그룹으로 나누어 지표들의 관련성을 비교분석하였다. 혈청 AGEs의 기준은 Rasool 등의 연구팀에서 보고한 연구 결과를 바탕으로 설정하였다 [14]. 연구에서 보고된 정상대조군의 혈청 AGEs 농도인 0.85 ng/mL에 따라 두 그룹으로 나눈 후 (Low AGEs group, 0.85 ng/mL > serum AGEs; High AGEs group, 0.85 ng/mL ≤ serum AGEs) AGEs 수준에 따른 지표들의 특징을 비교 분석하였다. Low AGEs group과 High AGEs group의 평균 AGEs는 각각 0.4 ± 0.2 , 3.4 ± 1.7 ng/mL로 나타났다. 본 연구는 2017년 4월 창원 파티마병원의 생명윤리심의위원회 승인을 받은 후 2017년 11월까지 연구를 진행하였다 (IRB No. 17-04).

신체계측 및 체조성 분석

연구 대상자는 가벼운 옷차림으로 직립 자세를 유지하여 신체계측과 체조성을 분석하였다. 신장과 체중은 자동신장체중계를 이용해 소수점 두자리까지 측정하였으며 (Biospace, Seoul, Korea) BMI는 체중 (kg)에서 키의 제곱 (m^2)을 나누어 계산하였다. 허리둘레와 엉덩이둘레는 줄자를 활용하여 측정하였다. 늑골의 최하단부와 장골능 최상단부의 중간 지점에서 가볍게 숨을 내쉬 상태에서 허리둘레를 측정하였고, 엉덩이둘레는 엉덩이에서 가장 돌출된 부위를 줄자가 수평이 되도록 위치한 후 측정하였다. Waist-hip ratio (WHR)은 허리둘레를 엉덩이둘레로 나눈 값을 사용하였다. 체조성은 bioimpedance analysis (Inbody 720; Biospace Co., Ltd, Seoul, Korea)를 사용하여 분석하였으며, 체지방량, 근육량을 결과 지표로 이용하였다.

영양소 섭취량 조사

영양소 섭취량 조사는 연구대상자들의 식사일기 작성을 통해 조사하였다. 숙련된 영양사가 1인 1회분량 및 목측량에 대해 사전 교육을 실시 후 식사일기를 배부하였다. 평일 2일과 주말 1일을 포함한 총 3일을 작성하도록 사전 안내하였다. 한국영양학회에서 개발한 전문가용 CAN-Pro 5.0 (Web ver.; Korean Nutrition Society, Seoul, Korea)을 사용하여 영양소 섭취량을 분석하였다. 3일간의 영양소 섭취량의 평균값을 산출해 결과로 활용하였다.

생화학적 분석

연구대상자들은 혈액과 소변에서 생화학적 지표 분석을 위해 8시간 이상 공복을 유지한 후 10 mL의 정맥혈을 채취하였다. 혈액은 수집한 즉시 당화혈색소를 분석하였고 (Clover A1,

Infopia, Anyang, Korea), 이후 원심분리기를 이용해 혈청과 혈구로 분리한 뒤 -80°C 온도에서 보관하였다. 혈당과 총 콜레스테롤, 중성지방, high-density lipoprotein (HDL)-콜레스테롤, low-density lipoprotein (LDL)-콜레스테롤은 kit를 이용해 효소비색법으로 측정하였다 (Asan Pharmaceutical Co., Seoul, Korea). 혈청 인슐린, HO-1과 AGEs는 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit를 이용해 분석하였다. 인슐린 kit는 ALPCO Diagnostics (Uppsala, Sweden)에서 구입하였고 혈청 HO-1과 AGEs의 ELISA kit는 각각 Enzo Life Sciences (Farmingdale, NY, USA)와 LSBio (Seattle, WA, USA)에서 구입하였다. 인슐린 저항성 평가는 측정된 혈당과 인슐린 수치를 활용하여 인슐린 저항성 지수 (homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-IR)를 공식에 대입해 계산 후 판정하였다. 연구대상자들은 공복상태에서 일회성 소변 (spot urine)을 수집하여 소변 내 8-OHdG 농도를 ELISA kit으로 측정하였다 (Abcam, Cambridge, UK). Kit를 이용한 지표의 측정은 제조사가 제시한 지침에 따라 진행하였으며, spectrophotometer (SpectraMax M2; Molecular Devices, San Jose, CA, USA)를 활용하여 흡광도를 측정하였다.

통계 분석

모든 자료의 통계 분석은 SPSS/Windows 27.0 (Statistical Package for the Social Science; IBM Corp., Armonk, NY, USA)을 이용하여 통계치를 산출하였다. 모든 자료의 통계분석 결과는 평균 (mean)과 표준편차 (standard deviation, SD)로 표시하였다. 각 그룹 간의 범주형 변수는 χ^2 test를 이용하여, 신체계측, 영양소 섭취량 및 혈액학적 분석 결과 등 연속형 변수의 평균 차이는 비모수 검정방법인 Mann-Whitney U test를 이용하여 분석하였다. 전체 연구대상자의 HO-1과 혈청 AGEs, 그리고 소변 8-OHdG와의 관련성은 partial correlation coefficients를 이용하여 성별과 연령을 통제 후 분석하였다. 모든 통계분석 결과는 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

결과

연구대상자의 일반적 특성

연구대상자를 AGEs 농도에 따라 두 그룹으로 나눈 뒤 신체계측과 체조성을 분석하였다 (Table 1). 그룹별 평균 연령은 Low AGEs group이 43.3 ± 13.0 세, High AGEs group은 45.5 ± 9.1 세로 거의 유사하였다. Low AGEs group은 남녀 성비율이 50:50으로 동일하였고 High AGEs group은 남녀가 75:25 비율로 Low AGEs group에 비해 남성의 비율이 더 높았으나 두 그룹 간 성별의 유의적 차이는 없었다. BMI는 두 그룹 간 유의적 차이는 없었으나 Low AGEs group의 평균 BMI는 $26.6 \pm 7.2 \text{ kg/m}^2$, High AGEs group의 평균 BMI는 $25.5 \pm 3.9 \text{ kg/m}^2$ 로 나타나 두 그룹 모두 비만 범위에 속하였다. WHR 역시 두 그룹 모두 0.9 이상으로 복부비만으로 나타났다. 체지방량은 Low AGEs group과 High AGEs group이 각각 24.7, 20.1 kg으로 나타나 두 그룹 간 유의적 차이는 나타나지 않았다. 그룹별 평균 근육량은 Low AGEs group이 $28.1 \pm 7.3 \text{ kg}$, High AGEs group이 $28.8 \pm 5.5 \text{ kg}$ 로 거의 유사하였다.

영양소 섭취량 분석

연구대상자의 성별에 따른 영양소 섭취 상태는 Table 2에서 나타내었다. 평균 에너지 섭취량은 Low AGEs group이 $1,815.5 \pm 496.4 \text{ kcal}$, High AGEs group이 $1,610.8 \pm 482.5 \text{ kcal}$ 로 나타나 두

Table 1. Anthropometric and body composition data in diabetic patients

Characteristics	Low AGEs group (n = 12)	High AGEs group (n = 24)	p-value
Age (yrs)	43.3 ± 13.0	45.5 ± 9.1	0.893
Sex			0.131
Men	6 (50)	18 (75.0)	
Women	6 (50)	6 (25.0)	
Weight (kg)	75.1 ± 25.9	72.1 ± 13.6	0.700
Height (cm)	166.6 ± 8.1	167.9 ± 7.9	0.651
BMI (kg/m ²)	26.6 ± 7.2	25.5 ± 3.9	0.750
WC (cm)	88.3 ± 17.9	88.0 ± 10.3	0.933
HC (cm)	95.5 ± 15.5	96.4 ± 7.0	0.626
WHR	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.867
BFM (kg)	24.7 ± 16.1	20.1 ± 7.3	0.626
PBFM (%)	31.0 ± 8.2	27.4 ± 6.7	0.283
SMM (kg)	28.1 ± 7.3	28.8 ± 5.5	0.750

The differences between the two groups were evaluated using Mann-Whitney U test for continuous measures and χ^2 test for categorical variables. Values are presented as mean ± standard deviation or number (%).

AGEs, advanced glycation end products; Low AGEs group, serum AGEs levels < 0.85 ng/mL; High AGEs group, 0.85 ng/mL ≤ serum AGEs levels; BMI, body mass index; WC, waist circumference; HC, hip circumference; WHR, waist-hip ratio; BFM, body fat mass; PBFM, percent body fat mass; SMM, skeletal muscle mass.

Table 2. Average daily dietary intake of diabetic patients

Dietary intakes	Low AGEs group (n = 12)	High AGEs group (n = 24)	p-value
Energy (kcal/day)	1,815.5 ± 496.4	1,610.8 ± 482.5	0.227
C:F:P (%)	56.8:26.4:17.2	57.3:26.7:15.8	-
Fiber (g/day)	19.9 ± 6.6	18.7 ± 8.2	0.365
Vitamin A (μg RAE/day)	887.8 ± 491.5	671.8 ± 317.8	0.591
Vitamin C (mg/day)	75.4 ± 33.3	110.4 ± 81.0	0.481
Calcium (mg/day)	512.6 ± 194.7	394.4 ± 196.1	0.081
Potassium (mg/day)	2,691.3 ± 809.4	2,469.0 ± 822.5	0.365

The differences between the two groups were evaluated using Mann-Whitney U test.

AGEs, advanced glycation end products; Low AGEs group, serum AGEs levels < 0.85 ng/mL; High AGEs group, 0.85 ng/mL ≤ serum AGEs levels; C, carbohydrate; F, fat; P, protein; RAE, retinol activity equivalent.

군 간의 유의적인 차이는 없었다. Low AGEs group과 High AGEs group의 탄수화물, 지방, 단백질 등을 통한 에너지 섭취량 비율은 각각 56.8:26.4:17.2과 57.3:26.7:15.8로 나타나 두 군 모두 적정범위인 것으로 나타났다. 두 군 간의 비타민 A, 비타민 C, 칼슘 및 칼륨의 섭취량은 유의적인 차이가 없었다.

연구대상자의 혈액 및 소변의 생화학적 지표 분석

연구 대상자의 혈액과 소변 내 생화학적 지표를 분석한 결과를 Table 3에 나타내었다. 당대사와 관련된 지표들을 살펴보면, 두 그룹 간의 혈당, 인슐린, 인슐린 저항성 지표인 HOMA-IR, 및 당화혈색소는 유의적 차이가 없었다. 연구대상자들의 혈청 지질 지표를 조사한 결과, 두 그룹 간 총 콜레스테롤, 중성지방, HDL-콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤은 유의적 차이가 없었으나 HDL-콜레스테롤은 Low AGEs group과 High AGEs group 각각 30.3 ± 8.6과 33.7 ± 10.8 mg/dL로 두 그룹 모두 40 mg/dL 미만으로 매우 낮게 나타났다. 두 그룹의 총 콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤 수치는 모두 정상 범위로 나타났으며, High AGEs group의 혈청 중성지방은 경계 수준인 것으로 나타났다. 대상자들의 평균 HO-1 수치는 Low AGEs group에서 17.9 ± 4.5 ng/mL이었고, High AGEs group에서 22.7 ± 4.5 ng/mL로 나타나 High AGEs group의 수치가 Low AGEs group에 비해 유의적으로 높게 나타났다 (p = 0.009). 연구대상자의 소변의 8-OHdG를 측정된 결과, Low AGEs group이 11.7 ± 6.8 ng/mL, High AGEs group이 12.4 ± 4.0 ng/mL로 나타나 두 군 사이의 유의적인 차이는 없었다.

Table 3. Blood and urinary parameters of diabetic patients

Parameters	Low AGEs group (n = 12)	High AGEs group (n = 24)	p-value
Glucose (mg/dL)	119.5 ± 26.5	130.6 ± 33.0	0.191
Insulin (μIU/mL)	8.0 ± 4.0	6.8 ± 4.4	0.233
HOMA-IR	2.4 ± 1.3	2.1 ± 1.4	0.440
HbA1c (%)	7.8 ± 2.1	7.4 ± 1.8	0.985
TC (mg/dL)	185.0 ± 22.9	173.4 ± 39.9	0.135
TG (mg/dL)	130.0 ± 81.6	178.7 ± 115.8	0.254
HDL-C (mg/dL)	30.3 ± 8.6	33.7 ± 10.8	0.347
LDL-C (mg/dL)	58.8 ± 13.1	55.2 ± 13.2	0.234
HO-1 (ng/mL)	17.9 ± 4.5	22.7 ± 5.0	0.009
AGEs (ng/mL)	0.4 ± 0.2	3.4 ± 1.7	0.000
Urinary 8-OHdG (ng/mL)	11.7 ± 6.8	12.4 ± 4.0	0.651

The differences between the two groups were evaluated using Mann-Whitney U test.

AGEs, advanced glycation end products; Low AGEs group, serum AGEs levels < 0.85 ng/mL; High AGEs group, 0.85 ng/mL ≤ serum AGEs levels; HOMA-IR, homeostatic model assessment of insulin resistance; HbA1c, glycated hemoglobin; TC, total cholesterol; TG, triglyceride; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; HO-1, heme-oxygenase-1; 8-OHdG, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine.

HO-1 농도와 최종당화산물 및 DNA 손상 지표와의 상관관계 분석

혈청 HO-1 농도에 따른 생화학적 지표의 상관관계는 Fig. 1에 제시하였다. 전체 연구참여자를 대상으로 연령과 성별을 보정한 후 분석한 결과, 혈청 HO-1 농도가 증가할수록 혈액의 AGEs 농도와 ($r = 0.387, p = 0.035$) 소변 8-OHdG 농도가 유의적으로 증가하였다 ($r = 0.368, p = 0.045$).

고찰

대한당뇨병학회 보고에 따르면 30세 이상 성인 당뇨병 환자의 약 72%가 고콜레스테롤혈증을 동반하고 있다고 보고하였다 [1]. 이렇듯 당뇨병 환자에 있어서 심혈관질환 합병증 예방을 위해선 혈액 지질 수치의 조절과 더불어 동맥경화를 촉진할 수 있는 산화적 스트레스에 세심한 관리가 요구된다 [15]. 혈청 AGEs는 당뇨병 환자의 산화적 스트레스를 특이적으로 반영

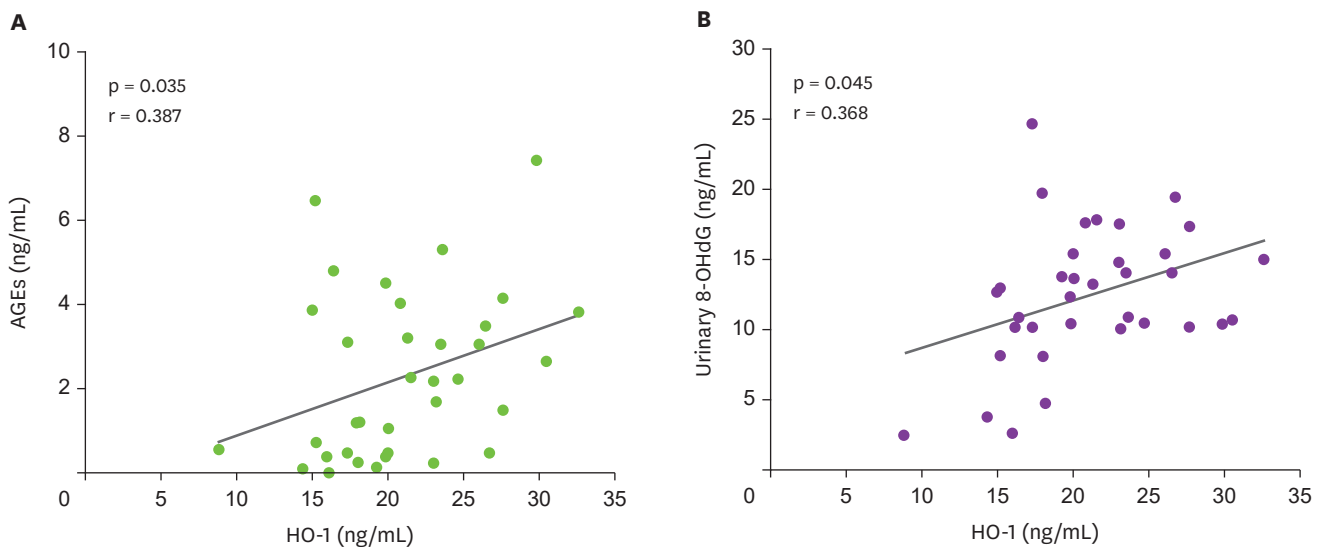


Fig. 1. Age- and sex- adjusted correlation coefficients between (A) serum HO-1 and AGEs and (B) serum HO-1 and urinary 8-OHdG in diabetic patients. HO-1, heme-oxygenase-1; AGEs, advanced glycated end products; 8-OHdG, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine.

하는 대표적인 생체 지표로서, 심혈관질환 발생을 촉진하는 주요 원인으로 알려져 있다 [14]. 따라서 당뇨병환자에 있어서 심혈관질환 예방을 위해 AGEs 수준에 따른 당뇨병 합병증 예방 지침을 마련하는 것이 중요하나 관련 결과 보고는 미비한 실정이다.

체내 AGEs 농도는 측정 방법에 따라 단위와 결과값이 매우 다양하게 제시되었다. 대사증후군 유무에 따라 두 군으로 나누어 피부에서 AGEs를 측정하는 skin autofluorescence (SAF)를 비교한 결과, 대사증후군을 가진 군 (평균 2.1 AU)은 대조군 (평균 1.9 AU)에 비해 SAF값이 유의적으로 높았으며, SAF와 HDL-C는 음의 상관관계를 나타냈다 [16]. 스텐트 삽입술을 시행한 당뇨병환자를 대상으로 혈액AGEs 농도에 따라 고농도 AGEs군 (> 170 U/mL)과 저농도AGEs군 (≤ 170 U/mL)으로 나누어 시술 합병증을 조사한 결과, 고농도AGEs군의 스텐트 내 재협착 비율이 저농도 AGEs군에 비해 유의적으로 높게 나타났다 [17]. Li 등 [5] 연구팀에서 고령의 T2DM 환자를 대상으로 혈청 AGEs 수준과 죽상동맥경화증의 상관관계를 조사하였고, 연구 대상자의 혈청 AGEs 수준이 32.9–66.7 ng/mL의 범위로 나타났다. 또한, 증가된 혈청 AGEs 수치가 죽상동맥경화증이 있는 고령의 T2DM 환자의 염증 상태와 상관성이 있음을 나타내었다. Rasool 등 [14]의 연구는 심혈관질환 환자에 있어서 혈청 AGEs를 비롯한 산화적 스트레스가 질병의 악화에 잠재적인 역할을 한다는 것을 규명하였으며, 산화적 스트레스의 조절이 심혈관질환 질병 예방이 도움이 될 것이라 보고하였다. 위 연구에서 정상대조군과 심혈관질환 군으로 나누어 AGEs 농도를 비교한 결과 대조군은 평균 0.85 ng/mL, 심혈관질환군은 2.74 ng/mL로 나타났으며, 심혈관질환 관련 지표들이 두 그룹 간 모두 유의적인 차이가 나타났다. 이렇듯 AGEs의 측정 방법과 측정 시료에 따라 단위와 값의 범위가 굉장히 다양하게 나타났다. 따라서 본 연구에서는 혈청 AGEs 범위와 단위가 유사한 Rasool 등 [14]의 연구팀에서 보고한 연구 결과를 바탕으로 그룹을 설정하였으며, 정상대조군의 혈청 AGEs 수치인 0.85 ng/mL를 기준으로 Low AGEs group과 High AGEs group으로 구분하여 관련 지표들을 비교분석 하였다.

본 연구의 Low AGEs group과 High AGEs group의 연구대상자들은 모두 복부비만을 포함하는 비만한 상태인 것으로 나타났다. 비만은 T2DM의 주요 위험요소로서, 국민 건강영양조사에 따르면 남성의 전체 비만 유병률 (BMI 25 kg/m² 이상)과 여성의 고도비만 유병률 (BMI 30 kg/m² 이상)은 꾸준히 증가하는 추세로 나타났다 [18]. 증가된 체지방은 인슐린 저항성과 췌장의 β -세포 기능 장애를 유발한다. 특히 복부비만은 간, 골격근, 췌장, 심장세포내에 이소성 지방 (ectopic fat) 증가와 높은 관련성을 가진다 [19]. 이소성 지방의 증가는 혈액 유리지방산의 농도를 증가시키고 지방 조직 내 염증반응 증가 및 아디포넥틴의 발현을 저하시켜 인슐린 저항성을 악화시킨다 [20]. Jeon 등 [21]의 연구에서 만 40세 이상의 4,992명의 한국인을 대상으로 약 6.2년간 허리둘레 다섯 단계에 따른 당뇨병의 발병 위험률을 추적 조사한 결과, 평균 허리둘레가 98.8 cm인 군에서 남자와 여자의 T2DM의 hazard ratio가 각각 9.9, 8.5로 나타났다. 따라서 비만인 T2DM 환자에게 허리둘레 감소와 체중 조절은 반드시 고려되어야 하는 부분이라고 사료된다.

연구 대상자의 혈액과 소변 내 생화학적 지표를 분석한 결과, 두 그룹 간의 당대사 관련 지표는 유의적 차이가 없었지만, 연구 대상자들의 인슐린 저항성 지수인 HOMA-IR의 경우 Kim 등 [22]의 연구에서 보고된 건강한 한국성인의 HOMA-IR 수치에 비해 두 그룹 모두 증가된 상태인 것으로 나타났다. 또한, 대부분의 연구 대상자들의 장기적인 혈당관리가 제대로 되지 않는 것으로 나타났다. 두 그룹 간의 혈액 지질 지표들을 한국인의 이상지질혈증 진단 기준과

비교해본 결과 [23], High AGEs group의 중성지방 수치는 '경계' 수준으로, 두 그룹의 HDL-콜레스테롤 수치는 매우 낮아 이상지질혈증의 위험이 높은 상태인 것으로 나타났다. T2DM 환자의 경우 고중성지방혈증이 흔히 발생하는데 이는 고혈당과 더불어 인슐린 저항성의 보상 작용으로 발생하는 고인슐린혈증이 혈액 중성지방 농도 증가와 밀접한 관련성이 있는 것으로 보고된다 [24]. 만성 고혈당과 인슐린 저항성 상태는 체내 지질 합성의 주요 전사인자인 sterol regulatory element binding protein-1c와 carbohydrate responsive element binding protein을 상향조절해 간 조직 내 중성지방의 합성을 증가시키고 고중성지방혈증을 초래한다 [25]. 또한, 인슐린 저항성은 지방조직에서 hormone-sensitive lipase의 활성을 증가시켜 혈액 내 유리지방산을 방출을 증가시킨다 [26]. 증가된 혈액 유리지방산은 간조직의 very-low-density lipoprotein (VLDL)의 생성과 혈액 중성지방 합성을 증가시킨다 [27]. 실제 대규모 코호트 연구에서 혈액 triglyceride (TG)와 HDL-콜레스테롤 수준에 따라 네 그룹으로 나눈 후 인슐린 저항성의 유병률을 관찰한 결과, 혈액 TG가 높을수록, HDL-콜레스테롤이 낮을수록 인슐린 저항성 유병률이 올라가는 것으로 보고되었다 [28]. 또한 인슐린 저항성은 Framingham risk score (FRS)의 높은 수치 (20% 이상)와 연관성이 있으며, FRS를 높이는 독립적인 위험요소로 보고되었다 [29]. 따라서, T2DM 환자에 있어서 당뇨합병증을 효과적으로 예방하기 위해선 고혈당 및 고인슐린혈증을 잘 조절하여 혈액 지질농도를 정상으로 유지하는 것이 중요하다고 사료된다.

두 그룹 간의 혈청 HO-1를 비교한 결과, High AGEs group이 Low AGEs group에 비해 유의적으로 높게 나타났으나 소변의 8-OHdG 농도는 유의적인 차이가 없었다. 전체 연구대상자의 연령과 성별을 보정 후 상관관계 분석을 실시한 결과, 혈청 HO-1이 증가할수록 혈청 AGEs 및 소변 8-OHdG의 농도가 유의적인 양의 상관성을 나타냈다. AGEs 혈관 관련 당뇨합병증에 관여하는 주요 인자로서, 체내 기질 단백질의 기능적 특성의 변형을 일으키고 RAGE와 결합해 지속적인 세포 변화를 매개한다 [30]. 생성된 AGEs는 세포외기질의 기저막에 있는 주요 분자 사이의 가교결합 (cross-link)을 형성해 세포의 구조를 영구적으로 변형하고 혈관 내피 세포 및 평활근 세포의 RAGE와 상호작용해 세포의 기능의 변화를 초래한다 [4]. RAGE에 부착된 AGEs는 기질단백질의 유연성을 떨어뜨려 혈관경화 (angiosclerosis) 증상을 유도하고 이는 심장 수축성 감소와 이완기능 장애를 유발하게 된다 [15,31]. AGEs에 의해 자극된 RAGE는 nuclear factor kappa B pathway를 활성화해 염증유발 부착 단백질과 pro-inflammatory cytokine 생성을 증가시키고, 산화적 스트레스를 증가시키며 이는 DNA 손상도 차례로 유발한다 [4,8,32]. 동맥경화 합병증을 가진 T2DM group과 합병증이 없는 T2DM group을 비교한 결과, 동맥경화를 동반한 T2DM group의 혈중 AGEs가 유의적으로 높은 것으로 나타났다 [5]. 또한 T2DM 환자들은 정상대조군에 비해 소변 내 8-OHdG 농도가 유의적으로 높았으며, 특히 당뇨병성 신증 합병이 있는 환자가 그 수치가 더 높은 것으로 보고되었다 [9,10]. 따라서, 산화적 스트레스를 비롯한 AGEs의 생성 조절은 제2형 당뇨병 환자의 예후 및 합병증관리에 매우 중요한 부분으로 볼 수 있다. HO-1은 세포 내 항산화 신호인자인 nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2)의 표적 인자로서 heme으로부터 CO, biliverdin, free iron으로 분해를 촉진한다 [11]. HO-1은 체내 pro-inflammatory cytokine의 생성을 줄이고, 산화적 스트레스로부터 세포를 보호한다 [33]. HO-1 생성은 체내의 다양한 스트레스의 반응작용으로 대식세포와 내피세포에서 생성되며, 혈액으로 방출되어 항산화 작용을 한다 [34]. 실제 T2DM 환자들의 경우 정상대조군에 비해 혈청 HO-1 농도가 유의적으로 높아져 있었으며, 혈청 HO-1과 새로 진단받은 T2DM 환자의 odds ratio가 강력한 양의 상관관계를 가진다고 보고되었다 [12]. 최종 당화산물

형태인 AGEs와 HO-1의 메커니즘을 세포수준에서 조사한 선행연구에 의하면, AGEs는 활성 산소종의 생성을 유도해 Nrf2와 HO-1 효소 발현을 증가시켜 당뇨병성 산화적 스트레스에 대한 방어작용을 한다고 보고하였다 [35]. 위 선행연구들은 혈청 HO-1과 혈청 및 소변의 산화적 스트레스 지표가 유의적인 양의 상관관계를 나타낸 본 연구 결과와 일치한 것으로 나타났다.

본 연구는 단면조사라는 점, 정상대조군이 없다는 점, 식사로 섭취하는 AGEs가 조사되지 않았다는 점, 염증지표 분석이 이루어 지지 않았다는 점에서 한계점을 지닌다. 향후 보다 많은 표본 수와 추가 지표를 분석한 대규모 연구가 필요하다고 사료된다. 그럼에도 불구하고 본 연구는 국내 최초로 한국인을 대상으로 최종당화산물의 수준에 따른 체조성과 T2DM 주요 생화학적 지표를 비교 분석하고 항산화효소와 산화적 스트레스 지표의 상관성을 규명한 연구로서, 추후 한국인의 당뇨합병증을 예측하는 지표 분석 연구의 기초자료로 활용될 수 있는 의미 있는 연구로 사료된다. 특히 당뇨병 환자를 대상으로 HO-1과 AGEs 및 8-OHdG의 상관성을 분석한 국내 첫 연구로서, 본 연구를 통해 혈청 HO-1 효소 활성은 당뇨병 환자 특이적 지표인 AGEs 뿐만 아니라 DNA 손상 지표에도 예민하게 반응하는 것을 확인하였다. 이는 추후 HO-1이 당뇨병 환자에 있어서 염증지표와 더불어 전반적인 산화적 스트레스 증가 및 감소를 예측하는 지표로 널리 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

요약

본 연구는 한국에서 최초로 시행되는 연구로서, 성인 제2형 당뇨병환자에서 혈청 AGEs의 농도에 따라 두 군으로 나눈 뒤 신체계측 및 체조성, 영양소 섭취량, 생화학적 지표를 비교 분석한 연구이다. Low AGEs group과 High AGEs group의 평균 AGEs는 각각 0.4 ± 0.2 , 3.4 ± 1.7 ng/mL로 나타났다. 항산화 효소인 HO-1은 High AGEs group이 Low AGEs group에 비해 유의적으로 높게 나타났다. 또한, 전체 연구참여자를 대상으로 연령과 성별을 보정한 후 상관관계를 분석한 결과, 혈청 HO-1 농도와 혈청 AGEs 농도 및 소변 8-OHdG 농도는 양의 상관관계를 가지는 것으로 나타났다. 본 연구를 통해 혈청 HO-1은 당뇨병환자 특이적 지표인 AGEs와 더불어 DNA 손상 지표에도 예민하게 반응하는 것을 확인하였으며, 추후 한국 당뇨병환자의 산화적 스트레스와 합병증 연구의 근거자료로 널리 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

REFERENCES

1. Jung CH, Son JW, Kang S, Kim WJ, Kim HS, Kim HS, et al. Diabetes fact sheets in Korea, 2020: an appraisal of current status. *Diabetes Metab J* 2021; 45(1): 1-10.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
2. Giri B, Dey S, Das T, Sarkar M, Banerjee J, Dash SK. Chronic hyperglycemia mediated physiological alteration and metabolic distortion leads to organ dysfunction, infection, cancer progression and other pathophysiological consequences: an update on glucose toxicity. *Biomed Pharmacother* 2018; 107: 306-328.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
3. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res* 2010; 107(9): 1058-1070.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
4. Singh VP, Bali A, Singh N, Jaggi AS. Advanced glycation end products and diabetic complications. *Korean J Physiol Pharmacol* 2014; 18(1): 1-14.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)

5. Li J, Shangguan H, Chen X, Ye X, Zhong B, Chen P, et al. Advanced glycation end product levels were correlated with inflammation and carotid atherosclerosis in type 2 diabetes patients. *Open Life Sci* 2020; 15(1): 364-372.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
6. Nowotny K, Jung T, Höhn A, Weber D, Grune T. Advanced glycation end products and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Biomolecules* 2015; 5(1): 194-222.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
7. Tóbon-Velasco JC, Cuevas E, Torres-Ramos MA. Receptor for AGEs (RAGE) as mediator of NF-κB pathway activation in neuroinflammation and oxidative stress. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2014; 13(9): 1615-1626.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
8. Indyk D, Bronowicka-Szydelko A, Gamian A, Kuzan A. Advanced glycation end products and their receptors in serum of patients with type 2 diabetes. *Sci Rep* 2021; 11(1): 13264.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
9. Xu GW, Yao QH, Weng QF, Su BL, Zhang X, Xiong JH. Study of urinary 8-hydroxydeoxyguanosine as a biomarker of oxidative DNA damage in diabetic nephropathy patients. *J Pharm Biomed Anal* 2004; 36(1): 101-104.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
10. Dong QY, Cui Y, Chen L, Song J, Sun L. Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine levels in diabetic retinopathy patients. *Eur J Ophthalmol* 2008; 18(1): 94-98.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
11. Panchenko MV, Farber HW, Korn JH. Induction of heme oxygenase-1 by hypoxia and free radicals in human dermal fibroblasts. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; 278(1): C92-C101.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
12. Bao W, Rong S, Zhang M, Yu X, Zhao Y, Xiao X, et al. Plasma heme oxygenase-1 concentration in relation to impaired glucose regulation in a non-diabetic Chinese population. *PLoS One* 2012; 7(3): e32223.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
13. Bao W, Song F, Li X, Rong S, Yang W, Zhang M, et al. Plasma heme oxygenase-1 concentration is elevated in individuals with type 2 diabetes mellitus. *PLoS One* 2010; 5(8): e12371.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
14. Rasool M, Malik A, Butt TT, Ashraf MAB, Rasool R, Zahid A, et al. Implications of advanced oxidation protein products (AOPPs), advanced glycation end products (AGEs) and other biomarkers in the development of cardiovascular diseases. *Saudi J Biol Sci* 2019; 26(2): 334-339.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
15. Smit AJ, Lutgers HL. The clinical relevance of advanced glycation endproducts (AGE) and recent developments in pharmaceuticals to reduce AGE accumulation. *Curr Med Chem* 2004; 11(20): 2767-2784.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
16. van Waateringe RP, Slagter SN, van Beek AP, van der Klauw MM, van Vliet-Ostapchouk JV, Graaff R, et al. Skin autofluorescence, a non-invasive biomarker for advanced glycation end products, is associated with the metabolic syndrome and its individual components. *Diabetol Metab Syndr* 2017; 9(1): 42.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
17. Choi EY, Kwon HM, Ahn CW, Lee GT, Joung B, Hong BK, et al. Serum levels of advanced glycation end products are associated with in-stent restenosis in diabetic patients. *Yonsei Med J* 2005; 46(1): 78-85.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
18. Shin HY, Kang HT. Recent trends in the prevalence of underweight, overweight, and obesity in Korean adults: The Korean National Health and Nutrition Examination Survey from 1998 to 2014. *J Epidemiol* 2017; 27(9): 413-419.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
19. Smith U. Abdominal obesity: a marker of ectopic fat accumulation. *J Clin Invest* 2015; 125(5): 1790-1792.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
20. Lim S, Meigs JB. Links between ectopic fat and vascular disease in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014; 34(9): 1820-1826.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
21. Jeon J, Jung KJ, Jee SH. Waist circumference trajectories and risk of type 2 diabetes mellitus in Korean population: the Korean Genome and Epidemiology Study (KoGES). *BMC Public Health* 2019; 19(1): 741.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
22. Kim TJ, Kim HJ, Kim YB, Lee JY, Lee HS, Hong JH, et al. Comparison of surrogate markers as measures of uncomplicated insulin resistance in Korean adults. *Korean J Fam Med* 2016; 37(3): 188-196.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)

23. Rhee EJ, Kim HC, Kim JH, Lee EY, Kim BJ, Kim EM, et al. 2018 Guidelines for the management of dyslipidemia in Korea. *Korean J Intern Med* 2019; 34(5): 1171.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
24. Hirano T. Pathophysiology of diabetic dyslipidemia. *J Atheroscler Thromb* 2018; 25(9): 771-782.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
25. Jideonwo V, Hou Y, Ahn M, Surendran S, Morral N. Impact of silencing hepatic SREBP-1 on insulin signaling. *PLoS One* 2018; 13(5): e0196704.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
26. Su W, Cao R, He YC, Guan YF, Ruan XZ. Crosstalk of hyperglycemia and dyslipidemia in diabetic kidney disease. *Kidney Dis (Basel)* 2017; 3(4): 171-180.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
27. Cornier MA, Dabelea D, Hernandez TL, Lindstrom RC, Steig AJ, Stob NR, et al. The metabolic syndrome. *Endocr Rev* 2008; 29(7): 777-822.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
28. Robins SJ, Lyass A, Zachariah JP, Massaro JM, Vasan RS. Insulin resistance and the relationship of a dyslipidemia to coronary heart disease: the Framingham Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31(5): 1208-1214.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
29. Vladu IM, Forțofoiu M, Clenciu D, Forțofoiu MC, Pădureanu R, Radu L, et al. Insulin resistance quantified by the value of HOMA-IR and cardiovascular risk in patients with type 2 diabetes. *Exp Ther Med* 2022; 23(1): 73.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
30. Leslie RD, Cohen RM. Biologic variability in plasma glucose, hemoglobin A1c, and advanced glycation end products associated with diabetes complications. *J Diabetes Sci Technol* 2009; 3(4): 635-643.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
31. Kass DA, Shapiro EP, Kawaguchi M, Capriotti AR, Scuteri A, deGroot RC, et al. Improved arterial compliance by a novel advanced glycation end-product crosslink breaker. *Circulation* 2001; 104(13): 1464-1470.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
32. Grindel A, Guggenberger B, Eichberger L, Pöppelmeyer C, Gschaidner M, Tosevska A, et al. Oxidative stress, DNA damage and DNA repair in Female patients with diabetes mellitus type 2. *PLoS One* 2016; 11(9): e0162082.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
33. Otterbein LE, Choi AM. Heme oxygenase: colors of defense against cellular stress. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 279(6): L1029-L1037.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
34. Kirino Y, Takeno M, Iwasaki M, Ueda A, Ohno S, Shirai A, et al. Increased serum HO-1 in hemophagocytic syndrome and adult-onset Still's disease: use in the differential diagnosis of hyperferritinemia. *Arthritis Res Ther* 2005; 7(3): R616-R624.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
35. He M, Siow RC, Sugden D, Gao L, Cheng X, Mann GE. Induction of HO-1 and redox signaling in endothelial cells by advanced glycation end products: a role for Nrf2 in vascular protection in diabetes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2011; 21(4): 277-285.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)