

รายงานผลการวิจัย
ทุนพัฒนานักวิจัย

การเปลี่ยนแปลงทางเมตาบอลิก, ปัจจัยทางพันธุกรรมที่เกี่ยวข้อง
และความสัมพันธ์กับภาวะดื้ออินซูลินในคนไทย
(Metabolic Syndrome, Genetic Determinants and
Their Relationship to Insulin Resistance in Thai Subjects)

ผ.ศ. น.พ. พงศ์อมร บุนนาค
ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์
ร.พ. รามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

รายงานผลการวิจัย

ทุนพัฒนานักวิจัย

การเปลี่ยนแปลงทางเมตาบอลิก, ปัจจัยทางพันธุกรรมที่เกี่ยวข้อง

และความสัมพันธ์กับภาวะดื้ออินซูลินในคนไทย

(Metabolic Syndrome, Genetic Determinants and

Their Relationship to Insulin Resistance in Thai Subjects)

ผ.ศ. น.พ.พงศ์อมร บุนนาค

ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์

ร.พ.รามาริบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยที่ให้การ
สนับสนุนการวิจัยครั้งนี้รวมทั้งให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อการวิจัย

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์พงศ์อมร บุนนาค, พ.บ.

ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ ร.พ.รามธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

ผู้ร่วมโครงการวิจัย

1. นางสาวสุวรรณี ชั้นประเสริฐ โยธิน วท.ม. (โภชนศาสตร์)
สำนักงานวิจัย คณะแพทยศาสตร์ ร.พ.รามธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล
2. นางอัญญา คงสุขใส วท.บ. (พยาบาล)
ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ ร.พ.รามธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล
3. นางสาวศรินารถ อนันตาวระ วท.ม. (กายวิภาคศาสตร์)
สำนักงานวิจัย คณะแพทยศาสตร์ ร.พ.รามธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล
4. นางสาวเพ็ญพรรณ พยัคติกุล วท.บ. (ชีววิทยา)
สำนักงานวิจัย คณะแพทยศาสตร์ ร.พ.รามธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล
5. รองศาสตราจารย์บุญส่ง องค์กรพัฒนกุล, พ.บ.
ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ ร.พ.รามธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล
6. ศาสตราจารย์รัชตะ รัชตะนาวิน, พ.บ.
ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ ร.พ.รามธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล
7. ศาสตราจารย์กอบชัย พัววิไล, พ.บ.
ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ ร.พ.รามธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

บทคัดย่อ

การเปลี่ยนแปลงทางเมตาบอลิก, ปัจจัยทางพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องและความสัมพันธ์กับภาวะดื้ออินซูลินในคนไทย

หัวหน้าโครงการวิจัย: พงศ์อมร นูนนาค, พ.บ.

ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ ร.พ.รามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

การเปลี่ยนแปลงทางคลินิกและเมตาบอลิกหลายๆ อย่าง เช่น ความดันโลหิตสูง, โรคอ้วน, ความทนกลูโคสผิดปกติ หรือโรคเบาหวาน และระดับไขมันที่ผิดปกติ มักพบร่วมกัน และพบได้บ่อยขึ้นในผู้ที่เป็นโรคหัวใจและหลอดเลือด ภาวะดื้ออินซูลิน หรือการมีระดับอินซูลินในเลือดสูงมักพบในคนเหล่านี้ ทำให้มีผู้เรียกกลุ่มอาการเหล่านี้ว่า กลุ่มอาการที่เกี่ยวข้องกับภาวะดื้ออินซูลินหรือกลุ่มอาการทางเมตาบอลิก คณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับอินซูลิน หรือดัชนีที่แสดงภาวะดื้อของอินซูลินต่อการเปลี่ยนแปลงทางคลินิกหรือเมตาบอลิก รวมถึงปัจจัยทางพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องในคนไทยทั้งสิ้น 221 ราย (ชาย 103 ราย, หญิง 118 ราย) โดยอาสาสมัครทุกรายได้รับการทดสอบความทนกลูโคสโดยการรับประทานกลูโคส 75 กรัม ในเพศชาย พบว่าดัชนีที่แสดงภาวะดื้อต่ออินซูลินมีความสัมพันธ์กับดัชนีความหนาของร่างกาย, ระดับน้ำตาล, ระดับอินซูลินที่เวลาต่างๆ, ระดับไขมันไตรกลีเซอไรด์ และเส้นรอบเอว ในเพศหญิง ยังพบความสัมพันธ์นี้กับระดับความดันโลหิตด้วย อย่างไรก็ตาม เมื่อนำค่าดัชนีความหนาของร่างกายมาพิจารณาด้วย พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างอินซูลิน และระดับความดันโลหิตไม่มีนัยสำคัญทางสถิติอีกต่อไป จึงสรุปได้ว่าระดับอินซูลินมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงทางเมตาบอลิกหลายอย่างในคนไทย แต่ความสัมพันธ์บางอย่างอาจเกี่ยวข้องกับดัชนีความหนาของร่างกาย สำหรับปัจจัยทางพันธุกรรมที่อาจมีความสัมพันธ์กับภาวะดื้ออินซูลินที่นำมาศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ การศึกษา polymorphism ของ glycogen synthase gene (GYS 1), lipoprotein lipase gene (LPL), insulin receptor substrate-I gene (IRS-I) และ glycogen-associated regulatory subunit of protein-phosphatase-1 (PPP1R3) โดยวิธี polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) ผลการศึกษาพบว่าความถี่ของ allele ของ GYS1 *Xba* I, GYS 1 *Mla* III, LPL *Hind* III, IRS-1 *Bst*NI และ PPP1R3 *Dde* I เท่ากับร้อยละ 0.7, 8.2, 17.3, 1.2 และ 61.3 ซึ่งค่อนข้างแตกต่างจากที่มีรายงานในต่างประเทศ ถึงแม้ GYS *Xba* I gene polymorphism จะพบได้น้อยแต่ก็พบว่ามีความสัมพันธ์กับระดับอินซูลิน LPL gene polymorphism มีความสัมพันธ์เฉพาะกับระดับไตรกลีเซอไรด์ ส่วน polymorphism ของยีนที่พบบ่อยและพบว่ามีความสัมพันธ์กับตัวแปรทางเมตาบอลิกหลายตัวโดยเฉพาะในเพศหญิง คือ PPP1R3 polymorphism ซึ่งยีนนี้อาจมีความเกี่ยวข้องกับภาวะดื้ออินซูลินในคนไทย

คำหลัก : อินซูลิน, ภาวะดื้ออินซูลิน, กลุ่มอาการทางเมตาบอลิก, พันธุกรรม, ความดันโลหิตสูง, โรคหลอดเลือดแดงแข็ง

Abstract

Metabolic Syndrome, Genetic Determinants and Their Relationship to Insulin Resistance in Thai Subjects

Principle Investigator: Pongamorn Bunnag, MD

Department of Medicine, Ramathibodi Hospital, Mahidol University

Several clinical and metabolic abnormalities, i.e. central obesity, hypertension, impaired glucose tolerance or diabetes and dyslipidemia often cluster together and are commonly found in patients with atherosclerotic cardiovascular disease. Hyperinsulinemia and insulin resistance are often evident in subjects with these metabolic abnormalities, so called insulin resistance or metabolic syndrome. In the present study, we looked into the correlations between serum insulin or index of insulin sensitivity and various clinical and metabolic abnormalities. Subjects consisted of 103 males and 118 females. Oral glucose tolerance test was performed in all subjects. Homeostasis model assessment of insulin sensitivity was used to determine insulin sensitivity. In males, HOMA-S was found to be significantly correlated with BMI, plasma glucose, insulin, triglycerides and waist circumference. Male subjects in the highest quartile of HOMA-S also had significantly higher systolic blood pressure compared to those in the lowest quartile. In females, HOMA-S was significantly correlated with BMI, blood pressure, plasma glucose, insulin, triglycerides, HDL-cholesterol, waist circumferences and waist-hip ratio. However, after adjustment for BMI, correlation between HOMA-S and blood pressure in women was no longer statistically significant. We therefore concluded that correlations between serum insulin or index of insulin sensitivity with certain metabolic abnormalities also existed in Thai subjects. Some of these correlations seem to be at least in part dependent on obesity. Genetic studies included analysis of glycogen synthase (GYS 1; 2 loci using *Xba* I and *Nla* III), lipoprotein lipase (LPL), insulin receptor substrate-1 (IRS-1) and glycogen-targeting subunit of protein phosphatase 1 (PPP1R3) gene polymorphisms using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. Allele frequencies of these genes were 0.7%, 8.2%, 17.3%, 1.2% and 61.3% respectively, which were quite different from those reported from other studies. The frequency of *Xba* I GS gene polymorphism was low but may be associated with insulin resistance. LPL gene polymorphism was associated with only serum triglyceride levels. PPP1R3 polymorphism was common in Thai population and this genetic polymorphism was associated with various features of insulin resistance, especially in women.

KEY WORDS: insulin, insulin resistance, metabolic syndrome, genetic, hypertension, atherosclerosis

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	i
คณะผู้วิจัย	ii
บทคัดย่อ	iii
1. บทนำ	1
2. วิธีการวิจัย	3
3. ผลการวิจัย	5
4. บทวิจารณ์	11
5. เอกสารอ้างอิง	13
6. Research Output	17
7. Manuscripts and abstracts	18

1. บทนำ

โรคความดันโลหิตสูงและโรคหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) เป็นโรคที่พบบ่อยในเวชปฏิบัติ และเป็นสาเหตุสำคัญของภาวะทุพพลภาพและการเสียชีวิตในคนไทย จากการศึกษาในหลายรายงาน พบว่าผู้ป่วยเหล่านี้มักมีลักษณะและการเปลี่ยนแปลงทางเมตาบอลิกหลายอย่างที่พบร่วมกัน เช่น ความอ้วน โดยเฉพาะ abdominal obesity, การมีความทนกลูโคสที่ผิดปกติ (impaired glucose tolerance) หรือเป็นโรคเบาหวาน และการมีระดับไขมันที่ผิดปกติ โดยเฉพาะการมีระดับไตรกลีเซอไรด์ที่สูงและระดับ HDL-cholesterol ที่ลดต่ำลง การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับภาวะดื้ออินซูลิน (insulin resistance)⁽¹⁾ และได้มีผู้เรียกกลุ่มอาการเหล่านี้ว่า insulin resistance syndrome หรือกลุ่มอาการทางเมตาบอลิก (metabolic syndrome)⁽²⁻⁴⁾

ภาวะดื้ออินซูลินเป็นผลจากความบกพร่องในการออกฤทธิ์ของอินซูลินในการนำน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ โดยเฉพาะเซลล์กล้ามเนื้อและไขมัน ซึ่งเชื่อว่าจะเกิดเนื่องจากปัจจัยทั้งทางด้านพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม การเกิดภาวะดื้ออินซูลินทำให้ร่างกายต้องมีการหลั่งอินซูลินเพิ่มขึ้น ทำให้เกิดภาวะ hyperinsulinemia ตามมา มีหลักฐานที่สนับสนุนว่าระดับอินซูลินที่สูงขึ้น หรือภาวะดื้ออินซูลินนี้ อาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเมตาบอลิกหลายๆ อย่าง รวมทั้งการเกิดโรคความดันโลหิตสูงในบางเชื้อชาติ Reaven ได้รวมเรียกกลุ่มอาการเหล่านี้ว่า syndrome X หรือ insulin resistance syndrome⁽²⁾ Kaplan ได้เน้นให้เห็นว่า ผู้ป่วยที่มีกลุ่มอาการเหล่านี้ มีอัตราตายที่สูงกว่าคนทั่วไป (deadly quartet ประกอบด้วย abdominal obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, hypertension)⁽³⁾ De Fronzo ได้ให้ความเห็นว่า โรคต่างๆ เหล่านี้ ไม่ว่าจะเป็นโรคอ้วน, โรคเบาหวานชนิดไม่พึ่งอินซูลิน หรือโรคความดันโลหิตสูงก็ตาม เป็นโรคที่มีความเกี่ยวเนื่องกัน และอาจมีปัจจัยร่วม คือภาวะดื้ออินซูลิน⁽⁴⁾ ในปัจจุบัน ขอบเขตของ insulin resistance syndrome ได้รวมถึงการเปลี่ยนแปลงทางเมตาบอลิกหลายๆ อย่างที่พบในผู้ป่วย ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงของระดับไขมันในเลือด โดยพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของ VLDL-triglyceride สูงขึ้น และมีการลดลงของ HDL-cholesterol ลดต่ำลง, มีปริมาณของ small, dense LDL เพิ่มขึ้น, มีปริมาณของไลโปโปรตีนขนาดใหญ่ที่มีไตรกลีเซอไรด์เป็นส่วนประกอบสำคัญเพิ่มขึ้นโดยเฉพาะในเวลาหลังอาหาร, มีการเพิ่มขึ้นของระดับ fibrinogen และ von willebrand factor, มีระดับกรดไขมันในเลือดสูงขึ้น และมีการเพิ่มขึ้นของ plasminogen activator inhibitor, type1 (PAI-1) เพิ่มขึ้น ซึ่งสิ่งเหล่านี้ล้วนเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญต่อการเกิดโรคของหลอดเลือด⁽⁵⁾

ภาวะ metabolic syndrome นี้ อาจมีอุบัติการณ์แตกต่างกันไปในแต่ละเชื้อชาติ ตัวอย่างเช่น มีการศึกษาพบความสัมพันธ์ระหว่างภาวะดื้ออินซูลินและระดับความดันโลหิตในคนผิวขาว แต่ไม่พบความสัมพันธ์นี้ในคนผิวดำหรือ Pima Indians^(6,7) ซึ่งแสดงว่าอาจมีปัจจัยทางพันธุกรรมเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย สำหรับในคนไทย มีการศึกษาในญี่ปุ่น พบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างระดับอินซูลินและความดันโลหิต ถึงแม้ผู้ป่วยจะมีความทนกลูโคสปกติ⁽⁸⁾ สำหรับในประเทศไทย ยังไม่มีการศึกษาเปรียบเทียบระดับความดันโลหิตหรือการเปลี่ยนแปลงทางเมตาบอลิกกับระดับอินซูลินหรือภาวะดื้ออินซูลินอย่างชัดเจน มีการศึกษาภาคตัดขวาง

ถึงระดับไขมันในเลือดในคนไทย พบว่าความชุกของการมีระดับไตรกลีเซอไรด์สูงกว่าปกติ และระดับ HDL-cholesterol ต่ำกว่าปกติ พบได้ค่อนข้างสูง คือ ร้อยละ 4-22 และร้อยละ 20-30 ตามลำดับ⁽⁹⁻¹²⁾ การศึกษาที่จังหวัดขอนแก่น พบว่าความชุกของโรคความดันโลหิตสูงเพิ่มขึ้นในผู้ป่วยโรคเบาหวานและในผู้ป่วยที่มีความทนกลูโคสผิดปกติโดยเฉพาะในเพศหญิง⁽¹³⁾ เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงทางเมตาบอลิกเป็นสิ่งที่พบได้ค่อนข้างสูงในคนไทย จึงควรจะได้มีการศึกษาถึงปัญหานี้โดยละเอียด

การวัดความดื้อต่ออินซูลินโดยตรงต้องใช้วิธีการที่เรียกว่า euglycemic clamp technique ซึ่งมีวิธีที่ยุ่งยาก และสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายมาก ในทางปฏิบัติจึงมักใช้การวัดระดับอินซูลินจากการทดสอบความทนกลูโคสเป็นดัชนีที่บอกถึงความดื้อต่ออินซูลิน อย่างไรก็ตาม วิธีนี้ยังมีข้อจำกัดหลายประการ เนื่องจากระดับอินซูลินยังขึ้นกับการดูดซึมกลูโคสจากทางเดินอาหารและการทำงานของตับอ่อนด้วย

ในเรื่องปัจจัยทางพันธุกรรมที่มีผลต่อภาวะดื้อต่ออินซูลิน ได้มีผู้ทำการศึกษากันค่อนข้างมาก แต่ผลที่ได้ก็มีความแตกต่างกันในแต่ละเชื้อชาติ ปัจจัยทางพันธุกรรมที่ศึกษามากเกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ของอินซูลิน โดยเฉพาะ signal transduction ที่เกิดขึ้นหลังจากที่อินซูลินจับกับตัวรับ (receptor) แล้ว⁽¹⁴⁾ ยีนที่มีผู้สนใจศึกษา ได้แก่ ยีนที่เกี่ยวข้องกับ insulin receptor substrate-1 และ insulin receptor substrate-2 ซึ่งเป็น mediator ที่สำคัญในการออกฤทธิ์ของอินซูลิน^(15,16) และยีนที่เกี่ยวข้องกับขบวนการสร้างไกลโคเจน เช่น glycogen synthase^(17,18) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีผู้ทำการศึกษายีนอื่นที่เกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ของอินซูลินในแง่เมตาบอลิซึมของไขมัน เช่น lipoprotein lipase gene ซึ่งเกี่ยวข้องกับการ hydrolysis ของไตรกลีเซอไรด์^(19,20) ซึ่งการออกฤทธิ์ของเอนไซม์นี้จะถูกกระตุ้นโดยอินซูลิน และ β_3 -adrenergic receptor gene ซึ่งเกี่ยวข้องกับการปริมาณไขมันในร่างกาย⁽²¹⁻²⁴⁾

ในปัจจุบัน อาจสรุปได้ว่า สาเหตุที่มีภาวะดื้อต่ออินซูลินเกิดขึ้นยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่มีหลักฐานว่าความผิดปกตินี้ เป็นความผิดปกติชนิดปหุณภูมิ และมีปัจจัยทางพันธุกรรมเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย การศึกษาทางอณูชีววิทยา พบว่ามี candidate genes หลายตัวที่น่าจะมีความเกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ของอินซูลิน แต่ผลที่ได้ยังมีความแตกต่างกันในแต่ละรายงาน

การศึกษาเกี่ยวกับภาวะดื้อต่ออินซูลินและการเปลี่ยนแปลงทางเมตาบอลิกนี้ นับว่าเป็นสิ่งที่มีความสำคัญ เพราะเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญต่อการเกิดโรคหลอดเลือดแข็งและความดันโลหิตสูง เนื่องจากภาวะ metabolic syndrome นี้ อาจมีความแตกต่างกันในแต่ละเชื้อชาติ จึงจำเป็นที่เราควรมีข้อมูลของคนไทยเราเอง เพื่อจะได้ทราบถึงขอบเขตของปัญหานี้และจะได้หาแนวทางในการป้องกันและการรักษาที่เหมาะสมต่อไป

2. วิธีการวิจัย

1. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างระดับอินซูลินและการเปลี่ยนแปลงทางเมตาบอลิก และระดับความดันโลหิตในคนไทย
2. เพื่อศึกษาถึงปัจจัยทางพันธุกรรมต่อภาวะดื้ออินซูลิน และการเปลี่ยนแปลงทางเมตาบอลิกในคนไทย

2. ขั้นตอนการวิจัย

การวิจัยนี้ทำในอาสาสมัครอายุ 40 ปีขึ้นไป จำนวนทั้งสิ้น 221 ราย โดยอาสาสมัครเหล่านี้ต้องไม่มีประวัติได้รับยาที่อาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางเมตาบอลิกหรือระดับอินซูลิน เช่น ยาขับปัสสาวะ หรือ ยาลดความดันโลหิตบางตัว

ขั้นตอนการวิจัยประกอบด้วย

1. การซักประวัติ, ตรวจร่างกาย รวมทั้งการวัดความดันโลหิต และการวัดสัดส่วนรอบเอวต่อสะโพก (waist-hip ratio; WHR) ซึ่งเป็นดัชนีที่บ่งถึง abdominal obesity
2. การตรวจทางห้องปฏิบัติการประกอบด้วย การทดสอบความทนกลูโคส (oral glucose tolerance test; OGTT), การวัดระดับน้ำตาลและอินซูลิน, และการวัดระดับไขมัน

การทำการทดสอบความทนกลูโคส ทำโดยให้อาสาสมัครงดอาหารในคืนก่อนวันทำการทดสอบ ทำการเจาะเลือดวัดระดับน้ำตาลในตอนเช้า หลังจากนั้นให้ผู้ป่วยรับประทานกลูโคส 75 กรัม และทำการเจาะเลือดซ้ำเพื่อวัดระดับน้ำตาลที่ 30, 60, 90 และ 120 นาที ตามลำดับ

ในการเจาะเลือดครั้งแรก จะมีการวัดระดับไขมัน (total cholesterol, triglycerides, HDL-C) ด้วย และในการเจาะเลือดทุกครั้งจะมีการวัดระดับอินซูลินควบคู่ไปกับการวัดระดับน้ำตาล

การวัดระดับไขมันใช้วิธี enzymatic colorimetric method

การวัดระดับอินซูลิน ทำโดยวิธี radioimmunoassay โดยใช้ kits ของบริษัท CIS Biotechnology (France)

3. การตรวจทาง genetics โดยการศึกษา polymorphism ของยีนที่มีความเกี่ยวข้องกับภาวะดื้อต่ออินซูลิน โดยวิธี polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) ได้แก่ polymorphism ของ glycogen synthase gene,^(17,18) lipoprotein lipase gene,^(19,20) insulin receptor substate-1 gene^(15,16) และ glycogen-associated subunit of protein phosphatase I (PPP1R3) gene^(25,26)

ใช้ DNA จาก peripheral blood leucocytes การสกัด DNA ทำโดยใช้ Chelex[®] 100⁽²⁷⁾

Restriction enzymes ที่ใช้สำหรับ PCR product แต่ละตัวมีดังนี้

glycogen synthase gene ใช้เอนไซม์ *Xba* I และ *Nla* III

lipoprotein lipase gene ใช้เอนไซม์ *Hind* III

insulin receptor subunit-1 gene ใช้เอนไซม์ *Bst*NI

glycogen-associated subunit of protein phosphatase 1 (PPP1R3) gene ใช้เอนไซม์ *Dde* I

Product ที่ได้นำมาแยกบน 2% agarose gel electrophoresis

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยอาศัยโปรแกรม SPSS-PC การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต่างๆ รวมทั้งปัจจัยทางพันธุกรรมอาศัย Pearson และ Spearman Rho's correlation การวิเคราะห์เปรียบเทียบระหว่างค่าตัวแปรต่างๆ ในอาสาสมัครที่มีความทนกลูโคสต่างๆ กัน อาศัย one-way analysis of variance.

3. ผลการวิจัย

1. การศึกษาภาวะดื้อต่ออินซูลินและการเปลี่ยนแปลงทางเมตะบอลิก

จำนวนอาสาสมัครทั้งหมด 221 ราย เป็นชาย 103 ราย หญิง 118 ราย อายุเฉลี่ย 52.6 ± 9.6 ปี ค่าดัชนีความหนาของร่างกายเฉลี่ย 24.3 ± 3.2 กก./ม² ความดันซิสโตลิกเฉลี่ย 128.4 ± 18.7 มม.ปรอท ความดันไดแอสโตลิกเฉลี่ย 81.2 ± 9.5 มม.ปรอท สัดส่วนเส้นรอบเอวต่อเส้นรอบสะโพกเฉลี่ย 0.85 ± 0.07

การทดสอบความทนกลูโคส พบว่าค่าเฉลี่ยของระดับน้ำตาลที่ 0, 30, 60, 90 และ 120 นาที เท่ากับ 89.9 ± 14.7 , 160.1 ± 32.6 , 181.8 ± 48.0 , 173.9 ± 51.3 และ 153.7 ± 52.2 มก./ดล. และค่าเฉลี่ยของอินซูลินที่เวลาเดียวกันเท่ากับ 21.1 ± 9.7 , 102.4 ± 64.3 , 126.9 ± 88.6 , 146.4 ± 107.8 และ 142.3 ± 112.2 $\mu\text{U/ml}$ ตามลำดับ จากเกณฑ์การวินิจฉัยโรคเบาหวานโดยองค์การอนามัยโลกในปี 1998 พบว่า มีอาสาสมัคร 82 ราย (ร้อยละ 37.1) ที่มีความทนกลูโคสผิดปกติ (impaired glucose tolerance, IGT) และ 36 ราย (ร้อยละ 16.3) ที่เป็นโรคเบาหวาน

การศึกษาระดับไขมันในเลือด พบว่า ค่า โคลเลสเตอรอล เฉลี่ย 219.4 ± 16.2 มก./ดล., ค่า ไตรกลีเซอไรด์ เฉลี่ย 138.2 ± 95.7 มก./ดล., ค่า HDL-cholesterol เฉลี่ย 49.2 ± 12.5 มก./ดล. และค่า LDL-cholesterol จากการคำนวณเฉลี่ย 143.5 ± 32.7 มก./ดล.

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระดับอินซูลินที่เวลาต่างๆ และการเปลี่ยนแปลงทางเมตะ-บอลิก

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าค่าอินซูลินที่จุดเริ่มต้นมีความสัมพันธ์กับค่าอินซูลินที่เวลา 30, 60, 90 และ 120 นาที รวมถึงพื้นที่ใต้กราฟของอินซูลินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) นอกจากนี้ค่าอินซูลินที่จุดเริ่มต้นยังมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระดับน้ำตาลที่ 0, 30, 60, 90 และ 120 นาที ด้วย ($P < 0.01$)

ในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างอินซูลินและตัวแปรทางเมตะบอลิกต่างๆ ได้ทำการคำนวณหาความดื้อต่ออินซูลินโดยอาศัย Homeostasis model assessment of insulin sensitivity (HOMA-S)⁽²⁸⁾ พบว่าทั้งค่าอินซูลินที่วัดที่เวลาต่างๆ และค่า insulin sensitivity ที่คำนวณจาก HOMA-S มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับตัวแปรต่างๆ ทางเมตะบอลิกหลายตัว โดยค่า HOMA-S มีความสัมพันธ์ที่ชัดเจนกว่าค่าอินซูลินที่เวลาอื่น ตารางที่ 1 และ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง quartile ของ HOMA-S กับตัวแปรทางเมตะบอลิกต่างๆ จำแนกตามเพศ ในเพศชาย พบว่าค่า HOMA-S มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับดัชนีความหนาของร่างกาย, กลูโคส, อินซูลิน, ไตรกลีเซอไรด์ และเส้นรอบเอว ในเพศหญิงพบว่าค่า HOMA-S มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับดัชนีความหนาของร่างกาย, ความดันโลหิตทั้งซิสโตลิกและไดแอสโตลิก, กลูโคส, อินซูลิน, ไตรกลีเซอไรด์, HDL-cholesterol, เส้นรอบเอว และสัดส่วนเส้นรอบเอวต่อสะโพก

อย่างไรก็ตาม เมื่อนำค่าดัชนีความหนาแน่นร่างกายมาพิจารณาด้วย ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่างค่า HOMA-S และความดันโลหิตอีกต่อไป

การวิเคราะห์โดยการแบ่งกลุ่มอาสาสมัครเป็น 2 กลุ่มตามระดับอินซูลินที่จุดเริ่มต้น พบว่ากลุ่มที่มีค่าอินซูลินสูงมากกว่า 90th percentile ขึ้นไป (ค่าอินซูลินมากกว่า 33.04 μ U/ml) มีค่าความดันโลหิตซิสโตลิกสูงกว่า ($P = 0.02$), ค่า BMI สูงกว่า ($P < 0.01$), เส้นรอบเอวมากกว่า ($P < 0.01$), สัดส่วนเส้นรอบเอวต่อสะโพกมากกว่า ($P < 0.01$), ระดับน้ำตาลขณะอดอาหารสูงกว่า ($P = 0.01$), และระดับ ไตรกลีเซอไรด์ สูงกว่า ($P < 0.05$) อาสาสมัครที่มีระดับอินซูลินต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับค่า HDL-cholesterol พบว่ากลุ่มที่มีค่าอินซูลินสูงมีค่า HDL-cholesterol ต่ำกว่ากลุ่มที่มีค่าอินซูลินต่ำกว่า (45.6 ± 12.1 vs. 49.6 ± 12.5 มก./ดล.) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ได้ทำการวิเคราะห์เพื่อหาความชุกของ metabolic syndrome โดยอาศัยเกณฑ์ที่แนะนำโดยองค์การอนามัยโลกในปี 1998⁽²⁹⁾ พบว่า ความชุกของ metabolic syndrome ในประชากร กลุ่มนี้เท่ากับร้อยละ 11.8 ซึ่งใกล้เคียงกับที่มีรายงานในชาวตะวันตก โดยพบว่าภาวะ dyslipidemia และ abdominal obesity เป็นดัชนีที่มีความสัมพันธ์กับภาวะ metabolic syndrome ที่วินิจฉัยโดยอาศัยเกณฑ์ที่แนะนำโดยองค์การอนามัยโลกมากที่สุด

การศึกษาเปรียบเทียบระหว่างอาสาสมัครที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นเบาหวาน, impaired glucose tolerance หรือมีความทนกลูโคสปกติ พบว่าผู้ที่เป็นเบาหวานมีอายุ, ดัชนีความหนาแน่นร่างกาย, ความดันซิสโตลิก, เส้นรอบเอว และสัดส่วนเส้นรอบเอวต่อสะโพกสูงกว่าผู้ที่เป็น impaired glucose tolerance และอาสาสมัครปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าผู้ที่เป็นเบาหวานมีค่าอินซูลินที่ 0, 60, 120 นาที และค่า โคเลสเตอรอล สูงกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 3) อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่า ไตรกลีเซอไรด์และ HDL-cholesterol ในอาสาสมัครทั้ง 3 กลุ่ม

2. การศึกษาปัจจัยทางพันธุกรรมที่มีความสัมพันธ์ต่อภาวะดื้อต่ออินซูลิน

ปัจจัยทางพันธุกรรมที่อาจมีความสัมพันธ์กับภาวะ insulin resistance ที่นำมาศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ การศึกษา polymorphism ของ glycogen synthase gene (GYS 1), lipoprotein lipase gene (LPL), insulin receptor substrate-I gene (IRS-I) และ glycogen-associated regulatory subunit of protein-phosphatase-1 gene (PPP1R3) โดยวิธี PCR-RFLP

2.1 Polymorphism ของ glycogen synthase gene ซึ่งตัดด้วยเอนไซม์ *Xba*I และ *Nla* III พบว่า ความถี่ของ allele ของ GYS1 *Xba*I พบได้น้อยมากในคนไทย คือเพียงร้อยละ 0.7 ซึ่งต่ำกว่าที่มีรายงานในต่างประเทศมาก ดังนั้น GYS1 *Xba*I polymorphism จึงไม่น่าจะเป็นปัจจัยที่สำคัญของภาวะดื้ออินซูลินในคนไทย อย่างไรก็ตาม พบว่าผู้ที่มี polymorphism ของยีนนี้ทุกราย มีค่า fasting insulin อยู่ใน 4th quartile ซึ่งสูงกว่าผู้ที่ไม่ใช่ polymorphism ของยีนนี้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.03$)

สำหรับความถี่ของ allele ของ GYS 1 *Nla* II พบว่าเท่ากับร้อยละ 8.2 ซึ่งใกล้เคียงกับในรายงานอื่น แต่อย่างไรก็ตาม พบความสัมพันธ์ของ polymorphism นี้ กับภาวะดื้ออินซูลินเฉพาะในคนที่มีความทนกลูโคสปกติเท่านั้น และไม่พบความสัมพันธ์กับตัวแปรทางเมตาบอลิกอื่น

2.2 Polymorphism ของ lipoprotein lipase gene ซึ่งตัดด้วยเอนไซม์ *Hind*III พบว่า ความถี่ของ allele ของยีนนี้ พบได้ร้อยละ 17.3 และพบมีความสัมพันธ์ของ polymorphism นี้กับไตรกลีเซอไรด์ ($P=0.05$) แต่ไม่พบความสัมพันธ์กับตัวแปรทางเมตาบอลิกอื่น

2.3 Polymorphism ของ insulin receptor substrate-1 gene ซึ่งตัดด้วยเอนไซม์ *Bst*IV I พบว่า ความถี่ของ allele ของยีนนี้ พบได้ค่อนข้างน้อย คือเพียงร้อยละ 1.2 และพบว่า polymorphism ของยีนนี้ มีความสัมพันธ์กับระดับไตรกลีเซอไรด์ ($P = 0.04$), และความดันโลหิต ($P = 0.01$) เฉพาะในผู้ที่มีความทนกลูโคสผิดปกติเท่านั้น

2.4 Polymorphism ของ Glycogen-associated regulatory subunit of protein-phosphatase-1 (PPP1R3) ซึ่งตัดด้วยเอนไซม์ *Dde* I พบว่ามีความชุกที่สูงมาก ความถี่ของ allele เท่ากับร้อยละ 61.3 ซึ่งคล้ายคลึงกับรายงานที่มาจากประเทศญี่ปุ่นและ polymorphism ของยีนนี้มีความสัมพันธ์กับตัวแปรทางเมตาบอลิกหลายตัว ได้แก่ ดัชนีความหนาแน่นร่างกาย ($P = 0.02$), ระดับไตรกลีเซอไรด์ ($P < 0.01$), และความทนกลูโคสที่ผิดปกติ ($P = 0.03$)

ตารางที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่าง quartile ของ HOMA-S และลักษณะทางคลินิก และตัวแปรทางเมตาบอลิก
ต่างๆ ในเพศชาย

ตัวแปร	Quartile of HOMA-S				P value	
	1 st	2 nd	3 rd	4 th	ไม่ปรับ	ปรับตาม BMI
อายุ (ปี)	54.2 ± 9.9	56.6 ± 10.8	52.2 ± 9.3	50.9 ± 10.1	NS	NS
BMI (กก/ม ²)	22.9 ± 1.7	23.3 ± 2.6	24.2 ± 3.1	26.1 ± 2.4	< 0.01	-
ความดันซิสโตลิก(มม ปรอท)	123.9 ± 13.4	133.8 ± 21.1	130.8 ± 16.8	133.7 ± 18.4	NS	NS
ความดันไดแอสโตลิก(มม ปรอท)	80.4 ± 7.1	84.9 ± 10.5	80.0 ± 9.0	84.9 ± 9.8	NS	NS
น้ำตาลที่ baseline (มก/ดล)	86.6 ± 9.6	87.4 ± 6.9	93.2 ± 9.0	104.1 ± 30.3	< 0.01	< 0.01
น้ำตาลที่ 1 ชม. (มก/ดล)	172.8 ± 41.3	178.3 ± 38.4	187.4 ± 41.3	219.7 ± 68.5	< 0.01	< 0.01
น้ำตาลที่ 2 ชม. (มก/ดล)	133.4 ± 37.2	143.2 ± 39.4	140.2 ± 38.2	183.7 ± 81.5	0.03	0.02
อินซูลินที่ baseline (μU/ml)	11.4 ± 3.0	18.5 ± 2.3	23.8 ± 3.3	36.7 ± 10.1	< 0.01	< 0.01
อินซูลินที่ 1 ชม. (μU/ml)	99.1 ± 43.8	120.8 ± 68.8	154.3 ± 76.1	218.9 ± 167.7	< 0.01	< 0.01
อินซูลินที่ 2 ชม. (μU/ml)	112.4 ± 66.9	113.6 ± 69.2	144.9 ± 105.3	215.6 ± 208.9	< 0.01	0.09
โคเลสเตอรอล (มก/ดล)	220.3 ± 29.2	225.5 ± 45.2	216.0 ± 39.1	202.5 ± 33.9	NS	NS
ไตรกลีเซอไรด์ (มก/ดล)	143.7 ± 73.7	133.3 ± 57.0	191.6 ± 201.9	183.9 ± 97.3	0.04	NS
HDL-cholesterol (มก/ดล)	42.3 ± 9.3	46.1 ± 11.7	43.7 ± 12.2	40.9 ± 8.0	NS	0.04
เส้นรอบเอว (ซม)	83.1 ± 6.3	83.9 ± 6.8	87.2 ± 7.2	90.4 ± 7.1	< 0.01	NS
สัดส่วนเส้นรอบเอวต่อสะโพก	0.89 ± 0.05	0.88 ± 0.05	0.91 ± 0.05	0.90 ± 0.04	NS	NS

ตารางที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่าง quartile ของ HOMA-S และลักษณะทางคลินิก และตัวแปรทางเมตาบอลิก
ต่างๆ ในเพศหญิง

ตัวแปร	Quartile of HOMA-S				P value	
	1 st	2 nd	3 rd	4 th	ไม่ปรับ	ปรับตาม BMI
อายุ (ปี)	53.2 ± 11.3	50.1 ± 7.1	50.4 ± 7.8	54.1 ± 9.9	NS	NS
BMI (กก/ม ²)	22.8 ± 3.0	24.1 ± 3.2	25.1 ± 3.3	25.8 ± 4.3	< 0.01	-
ความดันซิสโตลิก(มม ปรอท)	118.6 ± 18.7	129.7 ± 19.0	126.3 ± 19.7	130.9 ± 18.4	0.03	NS
ความดันไดแอสโตลิก(มม ปรอท)	74.3 ± 9.3	83.6 ± 8.2	80.7 ± 10.6	81.1 ± 7.6	0.03	NS
น้ำตาลที่ baseline (มก/ดล)	82.8 ± 6.4	86.4 ± 10.0	86.1 ± 6.8	94.0 ± 13.3	< 0.01	< 0.01
น้ำตาลที่ 1 ชม. (มก/ดล)	161.3 ± 35.1	169.0 ± 44.0	173.2 ± 46.0	196.2 ± 42.7	< 0.01	< 0.01
น้ำตาลที่ 2 ชม. (มก/ดล)	142.4 ± 36.2	152.9 ± 38.5	150.5 ± 46.5	181.0 ± 64.6	0.06	0.05
อินซูลินที่ baseline (μU/ml)	10.1 ± 3.4	16.4 ± 1.9	21.7 ± 2.0	30.7 ± 5.8	< 0.01	< 0.01
อินซูลินที่ 1 ชม. (μU/ml)	79.7 ± 34.0	86.5 ± 37.4	141.9 ± 80.0	122.8 ± 52.5	< 0.01	< 0.01
อินซูลินที่ 2 ชม. (μU/ml)	89.2 ± 35.0	125.1 ± 66.7	170.7 ± 116.6	167.4 ± 103.9	< 0.01	< 0.01
โคเลสเตอรอล (มก/ดล)	223.6 ± 30.9	219.7 ± 27.9	221.6 ± 39.4	224.8 ± 40.0	NS	NS
ไตรกลีเซอไรด์ (มก/ดล)	102.2 ± 45.9	107.4 ± 39.0	125.4 ± 64.5	129.7 ± 66.3	0.04	NS
HDL-cholesterol (มก/ดล)	58.0 ± 10.3	57.2 ± 13.2	51.4 ± 12.1	50.9 ± 9.9	0.01	0.03
เส้นรอบเอว (ซม)	75.2 ± 6.5	79.1 ± 7.5	78.1 ± 6.5	84.3 ± 8.8	< 0.01	0.02
สัดส่วนเส้นรอบเอวต่อสะโพก	0.81 ± 0.06	0.81 ± 0.06	0.81 ± 0.05	0.85 ± 0.06	0.02	0.08

ตารางที่ 3 ลักษณะทางคลินิกและตัวแปรทางเมตาบอลิกในอาสาสมัครที่มีความทนกลูโคสปกติ (normal glucose tolerance, NGT), ความทนกลูโคสผิดปกติ (impaired glucose tolerance, IGT) และอาสาสมัครที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นเบาหวานโดยการทดสอบความทนกลูโคสโดยการรับประทานกลูโคส 75 กรัม

ตัวแปร	NGT	IGT	DM
จำนวน (%)	103 (46.6)	82 (37.1)	36 (16.3)
อายุ (ปี) ^{a,b,c}	49.9 ± 8.4	53.4 ± 9.3	58.8 ± 10.9
ร้อยละที่เป็นเพศหญิง	48.5	54.9	63.9
BMI (กก/ม ²) ^{b,c}	23.8 ± 2.8	24.0 ± 3.2	26.6 ± 3.8
ความดันซิสโตลิก(มมปรอท) ^{b,c}	126.0 ± 18.3	128.2 ± 18.9	136.2 ± 18.1
ความดันไดแอสโตลิก(มมปรอท)	80.6 ± 9.4	81.1 ± 9.7	83.0 ± 9.3
อินสุลินที่ baseline (μU/ml) ^{b,c}	20.5 ± 9.3	19.6 ± 8.2	26.3 ± 12.1
อินสุลินที่ 1 ชม. (μU/ml)	136.0 ± 75.9	110.4 ± 62.5	138.3 ± 150.0
น้ำตาลที่ 2 ชม. (μU/ml) ^{a,b,c}	106.1 ± 65.3	157.1 ± 94.7	212.6 ± 191.1
HOMA-S ^{b,c}	4.4 ± 2.1	4.3 ± 2.0	6.9 ± 3.7
โคเลสเตอรอล (มก/ดล) ^c	213.3 ± 35.9	223.7 ± 34.2	227.2 ± 39.4
ไตรกลีเซอไรด์ (มก/ดล)	124.9 ± 111.6	146.0 ± 79.9	158.2 ± 73.8
HDL-cholesterol (มก/ดล)	50.1 ± 12.5	49.2 ± 13.2	46.4 ± 10.5
เส้นรอบเอว (ซม) ^{b,c}	81.2 ± 7.7	81.8 ± 9.0	87.6 ± 7.3
สัดส่วนเส้นรอบเอวต่อสะโพก ^{b,c}	0.84 ± 0.07	0.85 ± 0.07	0.89 ± 0.05

a ; P < 0.05 ระหว่าง NGT และ IGT

b ; P < 0.05 ระหว่าง IGT และ DM

4. บทวิจารณ์

การศึกษานี้เป็นการหาความสัมพันธ์ระหว่างภาวะดื้อต่ออินซูลินและการเปลี่ยนแปลงทางเมตาบอลิกในคนไทย โดยการใช้ระดับอินซูลินที่เวลาต่างๆ จากการทำ oral glucose tolerance test รวมถึงพื้นที่ใต้กราฟของอินซูลิน และการคำนวณ homeostasis model เป็นดัชนีที่บ่งชี้ถึงภาวะดื้อต่ออินซูลิน พบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างค่าอินซูลินที่เวลาต่างๆ และค่าที่ได้จากการคำนวณอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในทางปฏิบัติเพื่อความสะดวก อาจใช้เฉพาะค่าอินซูลินในขณะอดอาหารเป็นดัชนีที่บ่งชี้ถึงภาวะดื้อต่ออินซูลินได้ดีพอควรในกรณีที่ความสามารถในการหลั่งอินซูลินจากตับอ่อนยังเป็นปกติ

การศึกษานี้พบความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรทางเมตาบอลิก ได้แก่ ดัชนีความหนาของร่างกาย, สัดส่วนเส้นรอบเอวต่อสะโพก, ระดับไขมัน (ไตรกลีเซอไรด์ และ HDL-cholesterol) และระดับอินซูลินที่วัดในระหว่างการทำ oral glucose tolerance test คล้ายคลึงกับที่มีรายงานในต่างประเทศ พบว่าความชุกของ metabolic syndrome เมื่อใช้เกณฑ์ในการวินิจฉัยที่แนะนำโดยองค์การอนามัยโลกเท่ากับร้อยละ 11.8 ซึ่งใกล้เคียงกับที่มีรายงานในต่างประเทศ⁽²⁹⁾ โดยพบว่าภาวะ dyslipidemia และ abdominal obesity เป็นดัชนีที่มีความสัมพันธ์กับภาวะ metabolic syndrome มากที่สุด

ความสัมพันธ์ระหว่างภาวะดื้อต่ออินซูลิน, ความอ้วน และระดับไขมันที่ผิดปกติ เชื่อว่ามีความเกี่ยวข้องกับ visceral obesity⁽³⁰⁻³²⁾ ภาวะดื้อต่ออินซูลินที่เกิดขึ้นที่เซลล์ไขมันทำให้มีการเพิ่มขบวนการสลายไขมัน ทำให้ได้กรดไขมันอิสระออกมา ซึ่งกรดไขมันอิสระที่ได้จาก visceral fat นี้ จะเข้าสู่ตับโดยผ่านทาง portal circulation และนำไปใช้ในการสร้างไตรกลีเซอไรด์ เป็นผลให้ระดับไตรกลีเซอไรด์สูงขึ้น ในขณะที่เดียวกัน กรดไขมันอิสระนี้จะมีผลทำให้การออกฤทธิ์ของอินซูลินที่เซลล์กล้ามเนื้อและตับลดลง (Randle cycle) ทำให้ภาวะดื้อต่ออินซูลินเป็นมากขึ้น⁽³³⁻³⁴⁾ ในทางปฏิบัติ การวัดเส้นรอบเอว หรือสัดส่วนเส้นรอบเอวต่อสะโพกเป็นดัชนีที่บ่งชี้ถึงปริมาณ visceral fat และผู้ที่มี visceral fat มากจะมีลักษณะอ้วนแบบที่เรียกว่า central หรือ abdominal obesity ซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวานและโรคหัวใจและหลอดเลือด

ความสัมพันธ์ระหว่างระดับอินซูลินและความดันโลหิต ยังมีการศึกษาที่ให้ข้อขัดแย้งกันอยู่มาก⁽³⁵⁻³⁶⁾ การศึกษาพบว่าระดับอินซูลินหรือภาวะดื้อต่ออินซูลินมีความสัมพันธ์กับระดับความดันโลหิตในหลายเชื้อชาติ เช่น ในคนผิวขาวหรือคนญี่ปุ่น แต่ไม่พบความสัมพันธ์นี้ชัดเจนในคนผิวดำหรือ Pima Indians⁽⁶⁻⁸⁾ ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าระดับอินซูลินมีความสัมพันธ์กับความดันโลหิตในคนไทย แต่มีตัวแปรรบกวนน้ำหนักตัวเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย

การศึกษานี้ยังพบอีกว่าผู้ที่มีความทนกลูโคสผิดปกติหรือเป็นเบาหวาน มีระดับอินซูลินสูงกว่าคนปกติ ซึ่งหมายความว่า คนเหล่านี้น่าจะมีภาวะดื้ออินซูลินมากกว่าคนปกติ นอกจากนี้ยังพบความผิดปกติอื่นซึ่งเป็นลักษณะของ metabolic syndrome เพิ่มขึ้นในผู้ที่เป็นเบาหวาน เช่น มีน้ำหนักตัวมากกว่า, ความดันโลหิตสูงกว่าและเส้นรอบเอวมากกว่าคนปกติ นอกจากนี้ ผู้ที่เป็นเบาหวานยังมีแนวโน้มที่จะมีระดับไขมัน

ไตรกลีเซอไรด์สูงขึ้นและระดับ HDL-cholesterol ต่ำลงด้วย ข้อมูลที่ได้ยังแสดงให้เห็นว่าภาวะดื้ออินซูลินจะเป็นมากขึ้นเมื่อผู้ป่วยผ่านจากภาวะปกติสู่ภาวะ impaired glucose tolerance และเป็นเบาหวานในที่สุด

การศึกษาปัจจัยด้านพันธุกรรมพบว่า ความถี่ของ allele ของยีนที่เกี่ยวข้องกับภาวะดื้ออินซูลินในคนไทยค่อนข้างแตกต่างจากที่มีรายงานในต่างประเทศ^(15-20,25,26) และยีนที่มีบทบาทสำคัญต่อภาวะดื้ออินซูลินในคนไทยก็อาจมีความแตกต่างจากที่มีรายงานในต่างประเทศ ถึงแม้ว่า *XbaI* glycogen synthase polymorphism ในคนไทยจะมีความสัมพันธ์กับระดับอินซูลินเช่นเดียวกับที่มีรายงานในต่างประเทศ แต่ความสำคัญของยีนนี้ไม่น่าจะมีมากนักในคนไทย เนื่องจาก ความถี่ของ allele ของยีนนี้พบได้น้อยมากในคนไทย คือ เพียงร้อยละ 0.7 เท่านั้น ส่วน polymorphism ของยีนที่พบบ่อยในคนไทย คือ Glycogen-associated regulatory subunit of protein-phosphatase-1 (PPP1R3) polymorphism ซึ่งสูงกว่าที่พบในชาวตะวันตกมาก และใกล้เคียงกับที่มีรายงานในประเทศญี่ปุ่น^(25,26) ซึ่งยีนนี้มีแนวโน้มที่จะมีความเกี่ยวข้องกับภาวะดื้ออินซูลินในคนไทย

สิ่งหนึ่งที่ยังเป็นเรื่องที่ยังไม่มีคำตอบชัดเจนในเรื่อง metabolic syndrome คือ ภาวะดื้ออินซูลินเป็น independent risk factors ต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจหรือไม่ การศึกษาที่มีในปัจจุบันยังให้ผลที่ค่อนข้างขัดแย้งกัน⁽³⁷⁻⁴⁹⁾ ถึงแม้ว่าจะมีการศึกษาที่เป็น prospective study หลายการศึกษาที่พบว่าภาวะดื้ออินซูลินเป็น independent risk factors ต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ แต่ก็ยังมีหลายศึกษาที่พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างอินซูลินและการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจจะหายไปเมื่อนำปัจจัยอื่น เช่น น้ำหนักตัว หรือระดับไขมันมาพิจารณาด้วย อาจเป็นไปได้ว่าความสัมพันธ์ระหว่างอินซูลินและปัจจัยอื่นทางเมตะบอลิกเป็นไปอย่างใกล้ชิดจนไม่สามารถพิจารณาแยกจากกันได้ หรืออาจเป็นเนื่องจากปัจจัยทางเชื้อชาติและพันธุกรรมที่ต่างกันในแต่ละการศึกษาก็ได้ การศึกษาครั้งนี้คงไม่สามารถให้คำตอบในเรื่องนี้ได้ในประเทศไทย แต่ก็เป็นที่น่าสนใจที่จะทำการศึกษาต่อในเรื่องนี้ เนื่องจากจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในแง่ของการหาทางป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจในอนาคตต่อไป

5. เอกสารอ้างอิง

1. Reaven GM, Lithell H, Landsberg L. Hypertension and associated metabolic abnormalities- the role of insulin resistance and the sympathoadrenal system. *N Eng J Med* 1996;334:374-81.
2. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37:1595-607.
3. Kaplan NM. The deadly quartet: upper body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch Intern Med* 1989;149:1514-20.
4. DeFronzo RA, Ferannini E. Insulin resistance: a multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* 1991;14:173-94.
5. Davidson MB. Clinical implications of insulin resistance syndromes. *Am J Med* 1995;99:420-26.
6. Ferannini E, Buzzigoli G, Bonadonna R, et al. Insulin resistance in essential hypertension. *N Eng J Med* 1987;15:350-7.
7. Saad M, Lillioja S, Myomba BL, et al. Racial differences in the relation between blood pressure and insulin resistance. *N Eng J Med* 1991;324:733-9.
8. Miura K, Nakagawa H, Nishijo M , et al. plasma insulin and blood pressure in normotensive Japanese men with normal glucose tolerance. *J Hypertens* 1995;13:427-32.
9. Yipintsoi SP, Yipintsoi T. Atherpmatous risk factors from selected population in southern thailand. *Intern Med* 1994;10:1-7.
10. Sitthi-Amorn C, Chandraprasert S, Bunnag S, et al. The prevalence and risk factors of hypertension in Klong Toey slum and Klong Toey government apartment houses. *Int J Epidemiol* 1989;18:89-94.
11. Tanphaichitr V, Kulapngse S, Pakpeankitvatana R, et al. Prevalence of obesity and its associated risks in urban Thais. In: Oomura Y, Tarui S, Inoue S, Shimazu T, eds. *Progress in Obesity Research* 1990. London: John Libbey, 1991:649-54.
12. Viseshakul D, Chaivatsu C, SoonthornSima P, et al. Health screening survey to determine risk factors of cardiovascular diseases in a selected Thai population. A study in 1331 Thai Government Saving Banks clerks. *J Med Assoc Thai* 1979;62:550-60.
13. Bhuripanyo K, Laopaiboon M, Bhuripanyo P, et al. Abnormal glucose tolerance and blood pressure in Khon Kaen. *J Med Assoc Thai* 1992;75:529-35.
14. Moller DE, Bjorback C, Vidal-Puig A. Candidate genes for insulin resistance. *Diabetes Care* 1996;19:396-400.

15. Almind K, Bjorbaek C, Vestergaard H, Hasnsen T, Echwald S, Pedersen O. Amino acid polymorphisms of insulin receptor substrate-1 in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1993;342:828-32.
16. Imai Yumi, Fusco A, Suzuki Y, et al. Variant sequences of insulin receptor substrate-1 in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79:1655-8.
17. Groop LC, Kankuri M, Schalin-Jantti C, et al. Association between polymorphism of the glycogen synthase gene and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Eng J Med* 1993;328:10-4.
18. Shimomura H, Sanke T, Ueda k, et al. A missense mutation of the muscle glycogen synthase gene (M416V) is associated with insulin resistance in the Japanese population. *Diabetologia* 1997;40:947-52.
19. Mitchell RJ, Earl L, Bray P, Fripp YJ, Williams J. DNA polymorphisms at the lipoprotein lipase gene and their association with quantitative variation in plasma high-density lipoproteins and triacylglycerides. *Human Biology* 1994;66:383-97.
20. Ahn YI, Hamman RF, Ferrell RE, Kamboh MI. Association of lipoprotein lipase gene variation with the physiological components of the insulin-resistance syndrome in the population of the San Luis Valley, Colorado. *Diabetes care* 1993;16:1502-6.
21. Giacobino J-P. Beta-3 adrenoceptor: an upadte. *Eur J Endocrinol* 1995;132:377-85.
22. Widen E, Lehto M, Kanninen T, et al. Association of a polymorphism in the β_3 -adrenergic receptor gene with features of the insulin resistance syndrome in Finns. *N Eng J Med* 1995;333:348-51.
23. Walston J, Silver K, Bogardus C, et al. Time of onset of non-insulin dependent diabetes mellitus and genetic variation in the β_3 -adrenergic receptor gene. *N Eng J Med* 1995;33:343-7.
24. Clement K, Vaisse C, Manning BSJ, et al. Genetic variation in the β_3 -adrenergic receptor and an increased capacity to gain weight in patients with morbid obesity. *N Eng J Med* 1995;333:332-5.
25. Hansen L, Fjordvang H, Rasmussen SK, et al. Mutational analysis of the coding regions of the genes encoding protein kinase B- α and - β , phosphoinositide-dependent protein kinase-1, phosphatase targeting to glycogen, protein phosphatase inhibitor-1, and glycogenin. *Diabetes* 1999;48:403-7.
26. Shen GQ, Ikegami H, Kawaguchi Y, et al. Asp905Tyr polymorphism of the gene for the skeletal muscle-specific glycogen-targeting subunit of protein phosphatase I in NIDDM. *Diabetes Care* 1998;7:1086-9.
27. Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R. Chelex^R100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques* 1991;10:506-13.

28. Haffner SM, Miettinen H, Stern MP. The homeostasis model in the San Antonio Heart Study. *Diabetes Care* 1997;20:1087-92.
29. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998;15:539-53.
30. Fujioka S, Matsuzawa Y, Tokinaga K, et al. Contribution of intra-abdominal fat accumulation to the impairment of glucose and lipid metabolism in human obesity. *Metabolism* 1987;36:54-9.
31. Abate N. Insulin resistance and obesity: the role of fat distribution pattern. *Diabetes Care* 1996;19:292-4.
32. Garg A. insulin resistance in the pathogenesis of dyslipidemia. *Diabetes Care* 1996;4:387-9.
33. Ferannini E, Barrett EJ, Bevilacqua S, et al. Effects of fatty acids on glucose production and utilization in man. *J Clin Invest* 1983;72:1737-47.
34. Groop LC, Saloranta C, Shank M, et al. The role of free fatty acid metabolism in the pathogenesis of insulin resistance in obesity and non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;72:96-107.
35. Asch S, Wingrad DL, Barrett-Conner EL. Are insulin and hypertension independently related? *Ann Epidemiol* 1991;1:231-44.
36. Denker PS. Fasting serum insulin levels in essential hypertension. A meta-analysis. *Arch Intern Med* 1992;152:1649-51.
37. Pyorala K. Relationship of glucose tolerance and plasma insulin to the incidence of coronary heart disease: results from two population studies in Finland. *Diabetes Care* 1979;2:131-41.
38. Pyorala K, Savolainen E, Kaukola S, et al. Plasma insulin as coronary disease risk factor: relationship to other risk factors and predictive value during 9 1/2 year follow-up of the Helsinki Policeman study population. *Acta Med Scand* 1985;701 (suppl):38-52.
39. Welborn TA, Wearne K. Coronary heart disease incidence and cardiovascular mortality in Busselton in reference to glucose and insulin concentrations. *Diabetes* 1979;2:154-60.
40. Ducimetiere P, Eschwege E, papoz L, et al. Relationship of plasma insulin levels to the incidence of myocardial infarction and coronary heart disease mortality in a middle-aged population. *Diabetologia* 1980;19:205-10.
41. Fontbonne A, Charles MA, Thibault N, et al. Hyperinsulinemia as a predictor of coronary heart disease mortality in a healthy population: the Paris Prospective Study, a 15-year follow up. *Diabetologia* 1991;34 ;356-61.

42. Despres J-P, Lamarge B, Mauriege P, et al. Hyperinsulinemia as an independent risk factor for ischemic heart disease. *N Eng J Med* 1996;334:952-7.
43. Hargreaves AD, Logan RL, Elton RA, et al. Glucose tolerance, plasma insulin, HDL-cholesterol and obesity; 12-year follow-up and development of coronary heart disease in Edinburgh men. *Atherosclerosis* 1992;94:61-9.
44. Welin L, Eriksson H, Larsson B, et al. Hyperinsulinemia is not a major coronary risk factor in elderly men: the study of men born in 1913. *Diabetologia* 1992;35:766-72.
45. Ferrara A, Barrett-Conner E, Edelstein SL. Hyperinsulinemia does not increase the risk of fatal cardiovascular disease in elderly men or women without diabetes: the Rancho Bernado Study, 1984 to 1991. *Am J Epidemiol* 1994;140:857-69.
46. Bonora E, Willeit J, Kiechl S, et al. U-shaped and J-shaped relationships between serum insulin and coronary heart disease in the general population. The Bruneck Study. *Diabetes Care* 1998;21:221-30.
47. Folsom AR, Rasmussen MI, Chambless LE, et al. Prospective associations of fasting insulin, body fat composition, and diabetes with risk of ischemic stroke. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. *Diabetes Care* 1999;22:1077-83.
48. Stern MP. The insulin resistance syndrome: the controversy is dead, long live the controversy! *Diabetologia* 1994;37:956-8.
49. Wingard DL, Barrett-Conner EL, Ferrara A. Is insulin really a heart disease risk factor? *Diabetes Care* 1995;18:1299-1304.

6. Research Output

1. Bunnag P, Chanprasertyotin S, Kongsuksai A, Ongphiphadhanakul B, Rajatanavin R, Puavilai G. Correlation of serum insulin and features of metabolic syndrome in Thais. Accepted for publication in J Med Assoc Thai.
2. Bunnag P, Chanprasertyotin S, Payaktikul P, Kongsuksai A, Ongphiphadhanakul B, Rajatanavin R, Puavilai G. Genetic determinants of insulin resistance in Thais. JAFES 2000;18 (suppl):67.
3. Bunnag P, Chanprasertyotin S, Piaseu N, Kongsuksai A, Ongphiphadhanakul B. Correlations between serum insulin and features of metabolic syndrome in Thais. Program of the 15th Annual Academic Meeting of the Royal College of Physicians of Thailand, Cha-am 1999, p.193.
4. Bunnag P, Chanprasertyotin S, Payaktikul P, Kongsuksai A, Ongphiphadhanakul B, Rajatanavin R, Puavilai G. Genetic factors influencing metabolic syndrome in Thais. In preparation.

7. Manuscripts and Abstracts

1. Correlation between serum insulin and features of metabolic syndrome in Thais

P Bunnag, M.D.*, S Chanprasertyothin, M.Sc.**, A Kongsuksai, B.Sc*,

B Ongphiphadhanakul, M.D.*, R Rajatanavin, M.D.*, G Puavilai, M.D.*

Department of Medicine* and Research Center**, Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

Accepted for publication in J Med Assoc Thai

Running title: Insulin and metabolic syndrome in Thais

Keywords: insulin resistance, metabolic syndrome, atherosclerosis, HOMA-S

Supported by the Thailand Research Fund

Abstract

Several clinical and metabolic abnormalities, i.e. central obesity, hypertension, impaired glucose tolerance or diabetes and dyslipidemia often cluster together and are commonly found in patients with atherosclerotic cardiovascular disease. Hyperinsulinemia and insulin resistance are often evident in subjects with these metabolic abnormalities, so called insulin resistance or metabolic syndrome. In the present study, we looked into the correlations between serum insulin or index of insulin sensitivity and various clinical and metabolic abnormalities. Subjects consisted of 103 males and 118 females. Oral glucose tolerance test was performed in all subjects. Homeostasis model assessment of insulin sensitivity was used to determine insulin sensitivity. In males, HOMA-S was found to be significantly correlated with BMI, plasma glucose, insulin, triglycerides and waist circumference. Male subjects in the highest quartile of HOMA-S also had significantly higher systolic blood pressure compared to those in the lowest quartile. In females, HOMA-S was significantly correlated with BMI, blood pressure, plasma glucose, insulin, triglycerides, HDL-cholesterol, waist circumferences and waist-hip ratio. However, after adjustment for BMI, correlation between HOMA-S and blood pressure in women was no longer statistically significant. We therefore concluded that correlations between serum insulin or index of insulin sensitivity with certain metabolic abnormalities also existed in Thai subjects. Some of these correlations seem to be at least in part dependent on obesity.

บทคัดย่อ

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างซีรั่มอินสุลินและการเปลี่ยนแปลงทางเมตะบอลิกในคนไทย

พงศ์อมร บุนนาค, พ.บ., สุวรรณิ์ ชัยประเสริฐ โยธิน, วท.ม., อัญญา คงสุขใส, วท.บ.,

บุญส่ง องค์กรพัฒนกุล, พ.บ., รัชตะ รัชตะนาวิน, พ.บ., กอบชัย พัววิไล, พ.บ.

การเปลี่ยนแปลงทางคลินิกและเมตะบอลิกหลายๆ อย่าง เช่น ความดันโลหิตสูง, โรคอ้วน, ความทนกลูโคสผิดปกติ หรือโรคเบาหวาน และระดับไขมันที่ผิดปกติ มักพบร่วมกัน และพบได้บ่อยขึ้นในผู้ที่เป็นโรคหัวใจและหลอดเลือด ภาวะคือต่ออินสุลิน หรือการมีระดับอินสุลินในเลือดสูงมักพบในคนเหล่านี้ ทำให้มีผู้เรียกกลุ่มอาการเหล่านี้ว่า กลุ่มอาการที่เกี่ยวข้องกับภาวะคือต่ออินสุลินหรือกลุ่มอาการทางเมตะบอลิก คณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับอินสุลิน หรือดัชนีที่แสดงความคือของอินสุลินต่อการเปลี่ยนแปลงทางคลินิกหรือเมตะบอลิกในคนไทยทั้งสิ้น 221 ราย (ชาย 103 ราย, หญิง 118 ราย) โดยอาสาสมัครทุกรายได้รับการทดสอบความทนกลูโคสโดยการรับประทานกลูโคส 75 กรัม ในเพศชาย พบว่าดัชนีที่แสดงความคือต่ออินสุลินมีความสัมพันธ์กับดัชนีความหนาของร่างกาย, ระดับน้ำตาล, ระดับอินสุลินที่เวลาต่างๆ, ระดับไขมันไตรกลีเซอไรด์ และเส้นรอบเอว ในเพศหญิง ยังพบความสัมพันธ์นี้กับระดับความดันโลหิตด้วย อย่างไรก็ตาม เมื่อนำค่าดัชนีความหนาของร่างกายมาพิจารณาด้วย พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างอินสุลิน และระดับความดันโลหิตไม่มีนัยสำคัญทางสถิติอีกต่อไป ดังนั้น จึงสรุปได้ว่าระดับอินสุลินมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงทางเมตะบอลิกหลายอย่างในคนไทย แต่ความสัมพันธ์บางอย่างอาจเกี่ยวข้องกับดัชนีความหนาของร่างกาย

INTRODUCTION

Cluster of clinical and metabolic abnormalities, i.e. central obesity, hypertension, impaired glucose tolerance and dyslipidemia (increased VLDL-triglycerides and decreased HDL-cholesterol) are commonly found in patients with atherosclerotic cardiovascular disease [1]. Insulin resistance, i.e. resistance to insulin action, which usually refers to defects in insulin-mediated glucose disposal, has been shown in many studies to be linked to these metabolic and clinical features [2,3]. Reaven [4] has coined the term “syndrome X” to describe these clinical and metabolic features and has hypothesized that insulin resistance is the basis of this syndrome. However, there seems to be some inconsistencies of these correlations among different populations. The correlation between insulin and coronary heart disease seems to be more controversial and both cross-sectional and prospective studies have yielded contradictory results [2]. This study therefore looked into the associations between serum insulin and other features of clinical and metabolic abnormalities, or the so called metabolic syndrome in Thai population.

SUBJECTS AND METHODS

Subjects

Subjects included adult males and females, aged 40 years old or more, who had no underlying diseases and did not receive any medications which may affect insulin sensitivity or lipid profile. The body weight and height were measured while the subjects were fasting and on light clothes. The blood pressure was measured with a standard mercury sphygmomanometer in the sitting position after the subjects had been rest for at least 15 minutes and the mean values of two measurements taken at 10-min intervals were used. The waist circumference was measured at umbilical level. The hip circumference was measured at the widest part over buttocks or trochanter region.

Oral glucose tolerance test

Oral glucose tolerance test was performed in all subjects with 75 grams of glucose. The test was done in the morning between 8-10 AM after an overnight fast. Samples were collected every 30 minutes for measurements of glucose and insulin. Baseline samples were also collected for measurements of serum cholesterol, triglycerides and HDL-cholesterol.

Laboratory assessment

Plasma glucose was measured by glucose oxidase method using Beckman Glucometer 2. Serum insulin was measured by radioimmunoassay (CIS Biotechnology). Assessment of insulin sensitivity was calculated from homeostasis model assessment (HOMA-S) using fasting glucose and insulin values as

described previously [5]. Serum total cholesterol (TC), HDL-cholesterol (HDL-C) and triglycerides (TG) concentrations were determined by colorimetry.

Statistical analysis

Data were expressed as mean $\pm$ SD. Correlations among variables were analysed using Pearson and Spearman Rho's correlation. Comparisons among variables in subjects with different glucose tolerance status were done using one-way analysis of variance.

RESULTS

There were 221 subjects included in this study, 103 males and 118 females. The mean age $\pm$ SD was 52.6 ± 9.6 years. The body mass index (BMI) was 24.3 ± 3.2 kg/m². The systolic blood pressure (SBP) was 128.4 ± 18.7 mmHg, diastolic blood pressure (DBP) 81.2 ± 9.5 mmHg, waist circumference (WC) 82.5 ± 8.5 cm, waist-hip ratio (WHR) 0.85 ± 0.07 . The mean serum cholesterol level was 219.4 ± 16.2 mg/dl, triglycerides 138.2 ± 95.7 mg/dl, HDL-C 49.2 ± 12.5 mg/dl. The mean calculated LDL-C was 143.5 ± 32.7 mg/dl. The mean plasma glucose and insulin levels from oral glucose tolerance test were shown in table 1. Fasting insulin levels and HOMA-S have been shown to be significantly correlated with postload insulin at all points measured, including area under the curve of insulin ($P < 0.01$). Fasting insulin and HOMA-S were also significantly correlated with fasting and 1 hour-postload glucose ($P < 0.01$).

Both fasting insulin and HOMA-S were significantly correlated with various parameters associated with features of insulin resistance syndrome, namely body mass index, blood pressure, plasma glucose, triglycerides, HDL-cholesterol and index of central obesity, i.e. waist circumference and waist hip ratio, with HOMA-S showing stronger correlations than fasting insulin or insulin measured at other time-points. We therefore chose HOMA-S to represent index of insulin sensitivity in our study. Table 2 and 3 showed correlations between HOMA-S, dividing into quartile, with various parameters of metabolic syndrome in males and females. In males, HOMA-S has been shown to be significantly correlated with BMI, plasma glucose, insulin, triglycerides and waist circumference. Male subjects in the highest quartile of HOMA-S also had higher systolic blood pressure compared to those in the lowest quartile ($P = 0.01$). In females, HOMA-S was significantly correlated with BMI, blood pressure (both systolic and diastolic), plasma glucose, triglycerides, HDL-C, waist circumference and waist-hip ratio. However, after adjustment for BMI, correlation between HOMA-S and blood pressure in women no longer existed.

Table 4 demonstrated clinical and metabolic parameters of subjects with normal glucose tolerance (NGT), impaired glucose tolerance (IGT) or diabetes mellitus after 75-gram glucose load. According to the

World Health Organization Provision Criteria [6], there were 82 subjects (37.1%) who had IGT and 36 (16.3%) who fulfilled the criteria for diabetes. Subjects who had diabetes were significantly older and had significantly higher BMI, systolic blood pressure, waist circumference and waist-hip ratio than those with either NGT or IGT ($P < 0.05$). Moreover, subjects with diabetes had higher fasting and 120-minute postload insulin than the other two groups ($P < 0.05$). Although the subjects with diabetes had higher triglycerides and lower HDL-cholesterol levels compared to those with IGT or normal glucose tolerance, these did not reach statistical significance.

DISCUSSION

The results of the present study demonstrated the association between hyperinsulinemia and several clinical and metabolic parameters associated with atherosclerotic cardiovascular disease. These results were in accordance with several other studies done in various ethnic groups [2]. However, the strength of associations between various components of metabolic syndrome was somewhat different. In our study, we use homeostasis model assessment of insulin sensitivity (HOMA-S) as an index of insulin sensitivity. This model has been shown to be useful to assess insulin sensitivity, especially in epidemiological studies [5]. We have demonstrated the correlations between HOMA-S and various components of metabolic syndrome, i.e. body mass index, blood pressure, dyslipidemia (increased triglycerides and decreased HDL-cholesterol levels), plasma glucose (both fasting and post glucose load) and index of central obesity (waist circumference and waist hip ratio), many of which showed stronger correlations in females than in males. When the data were compared between subjects in the lowest and highest quartile of HOMA-S, the difference between these parameters became more apparent. The correlation between HOMA-S and body mass index was highly significant in both sexes and address the close relationship between insulin and obesity. Our study also demonstrated the correlation between serum insulin and blood pressure, especially in women. However, the correlation was not statistically significant when BMI were taken into account.

The relationship between insulin resistance, obesity and dyslipidemia seems to be at least in part dependent upon the degree of visceral adiposity[7-9]. Decreased insulin action on adipocytes increases lipolysis, thereby releasing free fatty acids. Free fatty acids released from visceral fat can enter directly into portal circulation and serve as substrate for both hepatic triglyceride synthesis and gluconeogenesis [10,11]. Free fatty acids in turn can affect insulin sensitivity both at hepatic level and at muscular level via Randle cycle [11]. Recent evidence also suggested that leptin, a hormone produced by adipocytes, was also significantly associated with insulin resistance [12]. In clinical practice, waist circumference and waist-hip

ratio may be used as an index of visceral or central obesity and these two parameters have been found in most studies, including ours, to be closely correlated with insulin resistance.

The relationship between insulin resistance and hypertension is somewhat more controversial. Insulin levels have been shown to be significantly correlated with blood pressure in many ethnic groups, including Caucasians and Japanese population, but the correlation was weak in African Americans or Pima Indians[13-19]. In some studies, the correlation was independent of obesity, while in others obesity seemed to play an important role. In our study, the correlation between insulin and blood pressure seemed to be at least in part dependent on obesity.

Our study also demonstrated that subjects with impaired glucose tolerance or had diabetes mellitus were more insulin resistant than those with normal glucose tolerance. Both fasting and post-glucose load insulin levels were highest in those who had diabetes mellitus. Subjects with diabetes mellitus also had other features of insulin resistance, i.e. higher BMI, blood pressure, waist circumference and waist hip ratio. They also tended to have higher triglyceride and lower HDL-cholesterol levels, but this does not reach statistical significance. These data suggested that insulin resistance becomes increasingly more severe from subjects with normal glucose tolerance through impaired glucose tolerance and diabetes.

Perhaps one of the mostly debated issue about insulin resistance is whether insulin resistance or hyperinsulinemia is an independent risk factor for atherosclerotic cardiovascular disease. Many prospective studies have been done to look into this question but have come to different conclusions [20-30]. Some studies have found that insulin was an independent risk factor while others have found that the association of insulin and coronary heart disease was no longer present when other factors, namely lipids and body mass index were taken into consideration. Differences in ethnic groups and methods to assess insulin sensitivity may also contribute to these inconsistent results [31,32]. Whether insulin resistance is an independent risk factor of coronary heart disease in Thai population needs to be further investigated.

Table 1 Plasma glucose and serum insulin levels at baseline and after 75 grams oral glucose tolerance test

Variables	Time (minutes)				
	0	30	60	90	120
Glucose (mg/dl)	89.9 ± 14.7	160.1 ± 32.6	181.8 ± 48.0	173.9 ± 51.3	153.7 ± 52.2
Insulin (μU/ml)	21.1 ± 9.7	102.4 ± 64.3	126.9 ± 88.6	146.4 ± 107.8	142.3 ± 112.2

Table 2 Correlations between quartile of HOMA-S and various clinical and metabolic parameters in males

Variables	Quartile of HOMA-S				P value	
	1 st	2 nd	3 rd	4 th	Not adjusted	Adjusted for BMI
Age (yr)	54.2 ± 9.9	56.6 ± 10.8	52.2 ± 9.3	50.9 ± 10.1	NS	NS
BMI (kg/m ²)	22.9 ± 1.7	23.3 ± 2.6	24.2 ± 3.1	26.1 ± 2.4	< 0.01	-
SBP (mmHg)	123.9 ± 13.4	133.8 ± 21.1	130.8 ± 16.8	133.7 ± 18.4	NS	NS
DBP (mmHg)	80.4 ± 7.1	84.9 ± 10.5	80.0 ± 9.0	84.9 ± 9.8	NS	NS
FPG (mg/dl)	86.6 ± 9.6	87.4 ± 6.9	93.2 ± 9.0	104.1 ± 30.3	< 0.01	< 0.01
1 h-PG (mg/dl)	172.8 ± 41.3	178.3 ± 38.4	187.4 ± 41.3	219.7 ± 68.5	< 0.01	< 0.01
2 h-PG (mg/dl)	133.4 ± 37.2	143.2 ± 39.4	140.2 ± 38.2	183.7 ± 81.5	0.03	0.02
Fasting insulin (μU/ml)	11.4 ± 3.0	18.5 ± 2.3	23.8 ± 3.3	36.7 ± 10.1	< 0.01	< 0.01
1 h-insulin (μU/ml)	99.1 ± 43.8	120.8 ± 68.8	154.3 ± 76.1	218.9 ± 167.7	< 0.01	< 0.01
2 h-insulin (μU/ml)	112.4 ± 66.9	113.6 ± 69.2	144.9 ± 105.3	215.6 ± 208.9	< 0.01	0.09
TC (mg/dl)	220.3 ± 29.2	225.5 ± 45.2	216.0 ± 39.1	202.5 ± 33.9	NS	NS
TG (mg/dl)	143.7 ± 73.7	133.3 ± 57.0	191.6 ± 201.9	183.9 ± 97.3	0.04	NS
HDL-C (mg/dl)	42.3 ± 9.3	46.1 ± 11.7	43.7 ± 12.2	40.9 ± 8.0	NS	0.04
WC (cm)	83.1 ± 6.3	83.9 ± 6.8	87.2 ± 7.2	90.4 ± 7.1	< 0.01	NS
WHR	0.89 ± 0.05	0.88 ± 0.05	0.91 ± 0.05	0.90 ± 0.04	NS	NS

Table 3 Correlations between quartile of HOMA-S and various clinical and metabolic parameters in females

Variables	Quartile of HOMA-S				P value	
	1 st	2 nd	3 rd	4 th	N o t adjusted	Adjusted for BMI
Age (yr)	53.2 ± 11.3	50.1 ± 7.1	50.4 ± 7.8	54.1 ± 9.9	NS	NS
BMI (kg/m ²)	22.8 ± 3.0	24.1 ± 3.2	25.1 ± 3.3	25.8 ± 4.3	< 0.01	-
SBP (mmHg)	118.6 ± 18.7	129.7 ± 19.0	126.3 ± 19.7	130.9 ± 18.4	0.03	NS
DBP (mmHg)	74.3 ± 9.3	83.6 ± 8.2	80.7 ± 10.6	81.1 ± 7.6	0.03	NS
FPG (mg/dl)	82.8 ± 6.4	86.4 ± 10.0	86.1 ± 6.8	94.0 ± 13.3	< 0.01	< 0.01
1 h-PG (mg/dl)	161.3 ± 35.1	169.0 ± 44.0	173.2 ± 46.0	196.2 ± 42.7	< 0.01	< 0.01
2 h-PG (mg/dl)	142.4 ± 36.2	152.9 ± 38.5	150.5 ± 46.5	181.0 ± 64.6	0.06	0.05
Fasting insulin (μU/ml)	10.1 ± 3.4	16.4 ± 1.9	21.7 ± 2.0	30.7 ± 5.8	< 0.01	< 0.01
1 h-insulin (μU/ml)	79.7 ± 34.0	86.5 ± 37.4	141.9 ± 80.0	122.8 ± 52.5	< 0.01	< 0.01
2 h-insulin (μU/ml)	89.2 ± 35.0	125.1 ± 66.7	170.7 ± 116.6	167.4 ± 103.9	< 0.01	< 0.01
TC (mg/dl)	223.6 ± 30.9	219.7 ± 27.9	221.6 ± 39.4	224.8 ± 40.0	NS	NS
TG (mg/dl)	102.2 ± 45.9	107.4 ± 39.0	125.4 ± 64.5	129.7 ± 66.3	0.04	NS
HDL-C (mg/dl)	58.0 ± 10.3	57.2 ± 13.2	51.4 ± 12.1	50.9 ± 9.9	0.01	0.03
WC (cm)	75.2 ± 6.5	79.1 ± 7.5	78.1 ± 6.5	84.3 ± 8.8	< 0.01	0.02
WHR	0.81 ± 0.06	0.81 ± 0.06	0.81 ± 0.05	0.85 ± 0.06	0.02	0.08

Table 4 Clinical and metabolic parameters in subjects with normal glucose tolerance (NGT), impaired glucose tolerance (IGT) or diabetes after 75-gram oral glucose tolerance test

Parameters	NGT	IGT	DM
Number of subjects(%)	103 (46.6)	82 (37.1)	36 (16.3)
Age (yr) ^{a,b,c}	49.9 ± 8.4	53.4 ± 9.3	58.8 ± 10.9
% female	48.5	54.9	63.9
BMI (kg/m ²) ^{b,c}	23.8 ± 2.8	24.0 ± 3.2	26.6 ± 3.8
Systolic BP (mmHg) ^{b,c}	126.0 ± 18.3	128.2 ± 18.9	136.2 ± 18.1
Diastolic BP (mmHg)	80.6 ± 9.4	81.1 ± 9.7	83.0 ± 9.3
Fasting insulin (μU/ml) ^{b,c}	20.5 ± 9.3	19.6 ± 8.2	26.3 ± 12.1
1 h-insulin (μU/ml)	136.0 ± 75.9	110.4 ± 62.5	138.3 ± 150.0
2 h-insulin (μU/ml) ^{a,b,c}	106.1 ± 65.3	157.1 ± 94.7	212.6 ± 191.1
HOMA-S ^{b,c}	4.4 ± 2.1	4.3 ± 2.0	6.9 ± 3.7
Cholesterol (mg/dl) ^c	213.3 ± 35.9	223.7 ± 34.2	227.2 ± 39.4
Triglycerides (mg/dl)	124.9 ± 111.6	146.0 ± 79.9	158.2 ± 73.8
HDL-C (mg/dl)	50.1 ± 12.5	49.2 ± 13.2	46.4 ± 10.5
WC (cm) ^{b,c}	81.2 ± 7.7	81.8 ± 9.0	87.6 ± 7.3
WHR ^{b,c}	0.84 ± 0.07	0.85 ± 0.07	0.89 ± 0.05

a ; P < 0.05 between NGT and IGT

b ; P < 0.05 between IGT and DM

c ; P < 0.05 between NGT and DM

REFERENCES

1. DeFronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance: a multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* 1991;14:173-94.
2. Stern MP. The insulin resistance syndrome. In: Alberti KGMM, Zimmet P, DeFronzo RA, Keen H, eds. *International Textbook of Diabetes Mellitus*. London: John Wiley & Sons, 1997; 255-83.
3. Modan J, Halkin H, Almog S, et al. Hyperinsulinemia: a link between hypertension, obesity and glucose intolerance. *Hypertension* 1985;75:809-17.
4. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37:1595-607.
5. Haffner SM, Miettinen H, Stern MP. The homeostasis model in the San Antonio Heart Study. *Diabetes Care* 1997;20:1087-92.
6. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998;15:539-53.
7. Fujioka S, Matsuzawa Y, Tokinaga K, et al. Contribution of intra-abdominal fat accumulation to the impairment of glucose and lipid metabolism in human obesity. *Metabolism* 1987;36:54-9.
8. Abate N. Insulin resistance and obesity: the role of fat distribution pattern. *Diabetes Care* 1996;19:292-4.
9. Garg A. Insulin resistance in the pathogenesis of dyslipidemia. *Diabetes Care* 1996;4:387-9.
10. Ferrannini E, Barrett EJ, Bevilacqua S, et al. Effects of fatty acids on glucose production and utilization in man. *J Clin Invest* 1983;72:1737-47.
11. Groop LC, Saloranta C, Shank M, et al. The role of free fatty acid metabolism in the pathogenesis of insulin resistance in obesity and non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;72:96-107.
12. Donahue RP, Prineas RJ, Donahue RD, et al. Is fasting leptin associated with insulin resistance among nondiabetic individuals? *Diabetes Care* 1999;22:1092-6.
13. Ferrannini E, Buzzigoli G, Bonadonna R, et al. Insulin resistance in essential hypertension. *N Eng J Med* 1987;317:350-7.
14. Pollare T, Lithell H, Berne C. Insulin resistance is a characteristic feature of primary hypertension independent of obesity. *Metabolism* 1990;39:167-74.
15. Collins VR, Dowse GK, Finch CF, et al. An inconsistent relationship between insulin and blood pressure in three Pacific Island populations. *J Clin Epidemiol* 1990;43:1369-78.

16. Saad MF, Lillioja S, Nyomba BL, et al. Racial differences in the relation between blood pressure and insulin resistance. *N Eng J Med* 1991;324:733-9.
17. Miura K, Nakagawa H, Nishijo M, et al. Plasma insulin and blood pressure in normotensive Japanese men with normal glucose tolerance. *J Hypertens* 1995;13:427-32.
18. Asch S, Wingrad DL, Barrett-Conner EL. Are insulin and hypertension independently related? *Ann Epidemiol* 1991;1:231-44.
19. Denker PS. Fasting serum insulin levels in essential hypertension. A meta-analysis. *Arch Intern Med* 1992;152:1649-51.
20. Pyorala K. Relationship of glucose tolerance and plasma insulin to the incidence of coronary heart disease: results from two population studies in Finland. *Diabetes Care* 1979;2:131-41.
21. Pyorala K, Savolainen E, Kaukola S, et al. Plasma insulin as coronary disease risk factor: relationship to other risk factors and predictive value during 9 1/2 year follow-up of the Helsinki Policeman study population. *Acta Med Scand* 1985;701 (suppl):38-52.
22. Welborn TA, Wearne K. Coronary heart disease incidence and cardiovascular mortality in Busselton in reference to glucose and insulin concentrations. *Diabetes* 1979;2:154-60.
23. Ducimetiere P, Eschwege E, papoz L, et al. Relationship of plasma insulin levels to the incidence of myocardial infarction and coronary heart disease mortality in a middle-aged population. *Diabetologia* 1980;19:205-10.
24. Fontbonne A, Charles MA, Thibault N, et al. Hyperinsulinemia as a predictor of coronary heart disease mortality in a healthy population: the Paris Prospective Study, a 15-year follow up. *Diabetologia* 1991;34 :356-61.
25. Despres J-P, Lamarge B, Mauriege P, et al. Hyperinsulinemia as an independent risk factor for ischemic heart disease. *N Eng J Med* 1996;334:952-7.
26. Hargreaves AD, Logan RL, Elton RA, et al. Glucose tolerance, plasma insulin, HDL-cholesterol and obesity; 12-year follow-up and development of coronary heart disease in Edinburgh men. *Atherosclerosis* 1992;94:61-9.
27. Welin L, Eriksson H, Larsson B, et al. Hyperinsulinemia is not a major coronary risk factor in elderly men: the study of men born in 1913. *Diabetologia* 1992;35:766-72.
28. Ferrara A, Barrett-Conner E, Edelstein SL. Hyperinsulinemia does not increase the risk of fatal cardiovascular disease in elderly men or women without diabetes: the Rancho Bernado Study, 1984-to 1991. *Am J Epidemiol* 1994;140:857-69.

29. Bonora E, Willeit J, Kiechl S, et al. U-shaped and J-shaped relationships between serum insulin and coronary heart disease in the general population. The Bruneck Study. *Diabetes Care* 1998;21:221-30.
30. Folsom AR, Rasmussen MI, Chambless LE, et al. Prospective associations of fasting insulin, body fat composition, and diabetes with risk of ischemic stroke. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. *Diabetes Care* 1999;22:1077-83.
31. Wingard DL, Barrett-Conner EL, Ferrara A. Is insulin really a heart disease risk factor? *Diabetes Care* 1995;18:1299-1304.
32. Stern MP. The insulin resistance syndrome: the controversy is dead, long live the controversy! *Diabetologia* 1994;37:956-8.

2. Genetic determinants of insulin resistance in Thais*

P Bunnag, S Chanprasertyotin**, P Payaktikul, A Kongsuksai, B Ongphiphadhanakul, R Rajatanavin,
G Puavilai

Department of Medicine, and **Research Center, Ramathibodi Hospital, Mahidol University,
Bangkok 10400, Thailand

JAFES 2000;18 (suppl):67

Insulin resistance is associated with various clinical and metabolic abnormalities. The spectrum of insulin resistance or metabolic syndrome varies and both genetic and environmental factors can have effects on development of insulin resistance. We studied the genetic determinants of insulin resistance in Thais. Subjects included 103 males and 118 females aged ≥ 40 years. OGTT was performed in all subjects. Glucose, insulin and lipid profile were measured. Genetic studies included analysis of glycogen synthase (GS)(2 loci using *Xba* I and *Nla* III), lipoprotein lipase(LPL), insulin receptor substrate-1 (IRS-1) and glycogen-targeting subunit of protein phosphatase 1 (PPP1R3) gene polymorphisms using PCR and RFLP. Allele frequencies of these genes were 0.7%, 8.2%, 17.3%, 1.2% and 61.3% respectively. All heterozygous carriers of *Xba* I GS gene were in the highest quartile of fasting insulin ($p < 0.05$). Polymorphic variants of LPL gene were significantly correlated with triglyceride levels. Significant correlations were observed between variants of PPP1R3 with body mass index and triglyceride levels. Among women with impaired glucose tolerance or diabetes, there was also significant correlation between PPP1R3 variants with serum cholesterol levels and waist hip ratio.

Conclusion Allele frequencies of various gene polymorphisms potentially associated with insulin resistance in Thai population were different from those reported previously. The frequency of *Xba* I GS gene polymorphism was low but may be associated with insulin resistance. LPL gene polymorphism was associated with only serum triglyceride levels. Gene frequency of PPP1R3 was high and this genetic polymorphism was associated with various features of insulin resistance, especially in women.

* Supported by the Thailand Research Fund

3. Correlations between Serum Insulin and Features of Metabolic Syndrome in Thais[†]

Pongamorn Bunnag, Suwannee Chanprasertyotin*, Noppawan Piaseu, Atana Kongsuksai, Boonsong Ongphiphadhanakul

Department of Medicine and *Research Center, Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital, Mahidol University

Metabolic syndrome is a cluster of metabolic abnormalities frequently encountered in patients with atherosclerotic cardiovascular disease. These abnormalities are found in many studies to be closely linked to hyperinsulinemia and insulin resistance. We studied the parameters of metabolic syndrome and looked into their correlations with insulin resistance in Thais.

Subjects and Methods: Adult subjects (103 males and 118 females) with no underlying medical illness nor taking drugs which may affect insulin sensitivity were recruited. Physical examinations, including anthropometric measurements were performed. Oral glucose tolerance test (OGTT) with 75 grams glucose was performed in each subject, with samples collected for insulin and other metabolic profile at baseline and 30, 60, 90 & 120 minutes post ingestion. Fat mass was also determined by dual-energy X-ray absorptiometry.

Results: Fasting insulin showed significant correlations with insulin levels at 30, 60, 90, 120 minutes and area under the curve of insulin during OGTT ($P < 0.001$). Fasting insulin also had significant correlations with plasma glucose during OGTT ($P < 0.01$). Analyses of correlations among fasting insulin and metabolic components revealed that fasting insulin had significant positive correlations with body mass index (BMI) ($R = 0.38$, $P < 0.01$), waist circumferences ($R = 0.43$, $P < 0.01$), waist-hip ratio ($R = 0.27$, $P < 0.01$), systolic blood pressure ($R = 0.17$, $P = 0.01$), diastolic blood pressure ($R = 0.18$, $P < 0.01$), serum triglycerides ($R = 0.22$, $P < 0.01$) and had significant negative correlations with HDL-cholesterol ($R = -0.21$, $P < 0.01$). Comparisons among subjects diagnosed as normal, impaired glucose tolerance (IGT) or diabetes by OGTT criteria revealed that subjects with diabetes were significantly older, had higher BMI, systolic blood pressure, waist circumferences and waist-hip ratio than those with IGT or normal ($P < 0.05$). Fasting insulin and insulin levels at 60 and 120 minutes during OGTT were also higher in subjects with diabetes compared to the other two groups ($P < 0.05$).

Conclusions: Our study confirmed the correlations between insulin and features of metabolic syndrome in Thais. These correlations support the notion that insulin may have some important role in the process of atherosclerosis.

[†] This study was supported by the Thailand Research Fund