

เซลล์บุผนังหลอดเลือดในโรคเบาหวาน วชิราวดี มาลากุล

Vascular endothelium in diabetes mellitus Wachirawadee Malakul

ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จ.พิษณุโลก 65000

Department of Physiology, Faculty of Medical Sciences, Naresuan University, Phitsanulok 65000

*Corresponding Author. E-mail address: wachirawadeem@hotmail.com (W. Malakul)

Received 23 September 2010; accepted 4 August 2011

บทคัดย่อ

เซลล์บุผนังหลอดเลือดมีหน้าที่สำคัญในการควบคุมการทำงานของหลอดเลือดหลายอย่าง อาทิเช่น ควบคุมแรงตึงตัวของหลอดเลือด, การอักเสบของหลอดเลือด และการแข็งตัวของเลือด ซึ่งหากเกิดความผิดปกติของเซลล์บุผนังหลอดเลือดจะถือว่าเป็นอาการเริ่มต้นของโรคหลอดเลือดแดงแข็งตัว (atherosclerosis) และมีความสำคัญในการก่อให้เกิดโรคแทรกซ้อนทางหลอดเลือดในผู้ป่วยโรคเบาหวานได้ ความผิดปกติของเซลล์บุผนังหลอดเลือดในโรคเบาหวานเกิดได้จากหลายกลไก ได้แก่ การกระตุ้นวิถีทาง protein kinase C (PKC), เพิ่ม polyol pathway flux, กระตุ้นการสร้าง advanced glycation end products (AGEs) โดยไม่ใช้เอนไซม์ และการเพิ่มภาวะออกซิเดชัน ดังนั้นบทความนี้จึงสรุปถึงกลไกที่สำคัญของความผิดปกติของเซลล์บุผนังหลอดเลือดในเบาหวานเพื่อเป็นแนวทางในการรักษาหรือพัฒนายาเพื่อการป้องกันหรือรักษาโรคแทรกซ้อนทางหลอดเลือดที่อาจเกิดขึ้นได้ในผู้ป่วยเบาหวาน

คำสำคัญ: เซลล์บุผนังหลอดเลือด เบาหวาน ภาวะออกซิเดชัน

Abstract

The endothelium plays a key role in the regulation of numerous vascular functions, including vascular tone, vascular inflammation, and coagulation. Dysfunction of the vascular endothelium is thought to be an early event in the beginning of atherosclerosis and important in the vascular complications in diabetes mellitus. There are many mechanisms that contribute to endothelial dysfunction in diabetes include the activation of protein kinase C (PKC) pathways, increased polyol pathway flux, accelerated non-enzymatic formation of advanced glycation end products (AGEs), and increased oxidant stress. Therefore, this article summarizes the important mechanisms of endothelial dysfunction in diabetes, which lead to the therapeutic application or drug development for the treatment or prevention of vascular complications that may occur in diabetic patients.

Keywords: Endothelial cells, Diabetes mellitus, Oxidative stress

บทนำ

โรคเบาหวาน เป็นภาวะที่มีน้ำตาลในเลือดสูงกว่าปกติ ซึ่งเป็นโรคเรื้อรังและพบได้ทั่วโลก โดยพบว่าประชากรโลกที่ป่วยด้วยโรคนี้มีอัตราเพิ่มขึ้นทุกปี ซึ่งในปี 2000 จะมีประชากรโลกที่ป่วยด้วยโรคนี้ 171 ล้านคน และ คาดว่าจะเพิ่มขึ้นเป็น 366 ล้านคนในปี 2030 (Schalkwijk & Stehouwer, 2005) โรคเบาหวานแบ่งได้ 2 ชนิด คือ โรคเบาหวานชนิดที่ 1 หรือ insulin-dependent diabetes (IDDM) เป็นภาวะที่มีความผิดปกติของตับอ่อน (pancreas) ที่ไม่สามารถผลิตฮอร์โมนอินซูลิน (insulin) ได้และ โรคเบาหวานชนิดที่ 2 หรือ non-insulin dependent diabetes (NIDDM) เป็นภาวะที่ตับอ่อนสามารถสร้างฮอร์โมนอินซูลินได้ แต่ไม่เพียงพอ หรือ ร่างกายไม่สามารถใช้อินซูลินที่ผลิตขึ้นมาได้อย่างเหมาะสม หรือเรียกว่าเป็นภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลิน (insulin resistance) โดยปกติน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ร่างกายเพื่อใช้เป็นพลังงานภายใต้การควบคุมของฮอร์โมนอินซูลิน แต่ในผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน ฮอร์โมนอินซูลินไม่สามารถทำงานได้อย่างมี

ประสิทธิภาพ ส่งผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้น ในระยะยาว น้ำตาลในเลือดที่เพิ่มสูงขึ้นจะก่อให้เกิดภาวะแทรกซ้อนที่รุนแรงได้ ดังนั้นจึงพบว่าอัตราการตายของผู้ป่วยเบาหวานมีสาเหตุหลักมาจากโรคหัวใจและหลอดเลือด จากรายงานวิจัยพบว่า อาการเริ่มต้นของโรคหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) ในโรคเบาหวานนั้นจะพบความผิดปกติของการทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือด (endothelial cell) เป็นอาการนำมาก่อน (Ding & Triggle, 2005; Tabit et al., 2010) ดังนั้น บทความนี้จะกล่าวถึงความผิดปกติและกระบวนการสำคัญที่ทำให้เกิดความผิดปกติของเซลล์บุผนังหลอดเลือดที่เป็นต้นเหตุของการเกิดโรคแทรกซ้อนของหลอดเลือดในภาวะเบาหวาน

ความผิดปกติของการทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือด (endothelial dysfunction) ในเบาหวาน

ในภาวะปกติหลอดเลือดแดงจะประกอบด้วยผนัง 3 ชั้น โดยผนังชั้นใน (intima) จะประกอบด้วยเซลล์เรียงตัวกันชั้นเดียวบุรอบภายในหลอดเลือด เรียกว่าเซลล์บุผนังหลอดเลือด ซึ่งกั้นระหว่างเลือดและเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ

ของหลอดเลือดและเป็นบริเวณแลกเปลี่ยนสารระหว่างกระแสเลือดกับเนื้อเยื่อ นอกจากนี้เซลล์บุผนังหลอดเลือดยังมีบทบาทสำคัญในควบคุมการไหลเวียนเลือดเฉพาะที่ โดยสังเคราะห์และหลั่งสารหลายชนิด แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ 1) กลุ่ม endothelium-derived contracting factor (EDCF) เช่น endothelin (ET-1) และ prostaglandins ซึ่งออกฤทธิ์ให้หลอดเลือดหดตัว และ 2) สารกลุ่ม endothelium-derived relaxing factor (EDRF) เช่น nitric oxide (NO), prostacyclin ซึ่งออกฤทธิ์ขยายหลอดเลือด ต้านการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด และต้านการอักเสบ และ 3) สารกลุ่ม endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF) ซึ่งออกฤทธิ์ขยายหลอดเลือด (Cooke, 2000; Widlansky et al., 2003) ในภาวะปกติ NO อาจถือว่าเป็นสารหลักที่หลั่งจากเซลล์บุผนังหลอดเลือด ทำให้หลอดเลือดขยายตัวในระดับหนึ่ง ต้านการแข็งตัวของเลือดและต้านการอักเสบ เซลล์บุผนังหลอดเลือดยังควบคุมกระบวนการห้ามเลือดและสลายลิ่มเลือด โดยสังเคราะห์โปรตีนหรือสารที่ทำให้เกิดการแข็งตัวของเลือด เช่น factor V, factor VIII และ tissue factor จึงช่วยห้ามเลือดเมื่อมีบาดแผลเกิดขึ้น และยังสร้าง heparin sulfate ที่การกระตุ้น antithrombin III และสร้าง tissue-type plasminogen activator (t-PA) เพื่อกระตุ้นการสลายลิ่มเลือด และต้านการแข็งตัวของเลือด นอกจากนี้ยังมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ โดยควบคุมการแสดงออกของ adhesion molecules และการหลั่งสาร cytokines ที่กระตุ้นให้เกิดการเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาวมาเกาะที่เยื่อผนังหลอดเลือด แล้วเคลื่อนที่ผ่านผนังหลอดเลือดไปยังบริเวณที่มีการบาดเจ็บและก่อให้เกิดการอักเสบในที่สุด รวมทั้งยังมีบทบาทในการควบคุมการเจริญเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด โดยการสร้างและหลั่ง growth factors เช่น platelet-derived growth factor (PDGF), basic fibroblast growth factor (bFGF), และ insulin like growth factor-1 (IGF-1) ซึ่งกระตุ้นการเจริญเติบโตและแบ่งตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด, สร้าง glycoprotein เช่น transforming growth factor beta (TGF- β) ที่กระตุ้นการแบ่งตัวของ fibroblast ขณะที่สารบางตัวจากเซลล์บุผนังหลอดเลือดจะออกฤทธิ์ตรงข้ามคือยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ เช่น NO และ prostacyclin

จากที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่า เซลล์บุผนังหลอดเลือดมีหน้าที่สำคัญในการควบคุมสมดุลการทำงานของหลอดเลือด ซึ่งหากมีพยาธิสภาพเกิดขึ้นกับหลอดเลือดจนทำให้เซลล์บุผนังหลอดเลือดทำงานผิดปกติไป สมดุลการทำงานดังกล่าวก็เสียไป ก่อให้เกิดความผิดปกติ ดังนี้

1. การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแมทริกซ์ภายนอกเซลล์ (extracellular matrix)

ในภาวะเบาหวาน พบว่าเนื้อเยื่อรองรับฐาน (basement membrane) จะหนาตัวขึ้นและมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างซึ่งเป็นผลจากการทำงานของ transforming growth factor

beta (TGF- β) เป็นผลให้เกิดความผิดปกติของหลอดเลือด เช่น มีการเกาะของเม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือดที่บริเวณผิวของเซลล์บุผนังหลอดเลือดและมีการลดการทำงานของสาร NO นอกจากนี้ยังทำให้สารที่มีโมเลกุลใหญ่ต่างๆ เช่น albumin และ lipoprotein สามารถเคลื่อนผ่านเซลล์บุผนังหลอดเลือดมาสะสมในหลอดเลือดจนก่อให้เกิดโรคหลอดเลือดแข็งได้ (Bakker et al., 2009)

2. ความผิดปกติของแรงดึงตัวของหลอดเลือด

ลักษณะสำคัญของความผิดปกติของเซลล์บุผนังหลอดเลือดนั้นคือการที่หลอดเลือดแดงหดตัวมากขึ้น ส่งผลให้เกิดการจำกัดการขนส่งสารอาหารหรือฮอร์โมนทางกระแสเลือดไปยังอวัยวะต่างๆ ซึ่งความผิดปกติที่เกิดขึ้นเป็นผลจากการขาดสมดุลการสร้างสารกลุ่ม EDCF และสารกลุ่ม EDRF โดยลดการหลั่งสารที่มีฤทธิ์ขยายหลอดเลือด เช่น NO โดยปกติ สาร NO จะถูกสร้างโดยเอนไซม์ nitric oxide synthase (eNOS) ซึ่งเปลี่ยน L-arginine เป็น NO และ L-citrulline ในเซลล์บุผนังหลอดเลือดและจะเคลื่อนที่ไปออกฤทธิ์ที่เซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด โดย NO จะกระตุ้นเอนไซม์ soluble guanylyl cyclase (GC) ที่เปลี่ยน GTP เป็น cyclic guanosine monophosphate (cGMP) การเพิ่มขึ้นของ cGMP (รูปที่ 1) จะยับยั้งการเคลื่อนที่ของแคลเซียมไอออนเข้าในเซลล์ และลดปริมาณแคลเซียมไอออนภายในเซลล์ และยังกระตุ้นการเปิดของ K^+ channel ที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลให้เกิดภาวะ hyperpolarization และทำให้เกิดการขยายตัวของหลอดเลือด (Marletta, 1993) แต่ในภาวะเบาหวาน สารอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้นจะทำปฏิกิริยากับสาร NO จนเกิดสารอนุมูลอิสระที่เรียกว่า peroxynitrite ซึ่งถือเป็นสารอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์แรงกว่าเดิม ทำให้การทำงานของสาร NO ลดลง (รูปที่ 1) รวมทั้ง สาร peroxynitrite นี้ยังเปลี่ยนแปลงการทำงานของ eNOS และ GC ในเซลล์กล้ามเนื้อหลอดเลือด ส่งผลให้ลดการสร้างของสาร NO และลดการตอบสนองของเนื้อเยื่อต่อสาร NO อีกด้วย (Pacher et al., 2007) นอกจากนี้ในภาวะเบาหวานเซลล์บุผนังหลอดเลือดจะหลั่งสารที่ออกฤทธิ์ให้หลอดเลือดหดตัว เช่น endothelin ออกมาเพิ่มขึ้น ซึ่งผลโดยรวมจะทำให้หลอดเลือดตีบ เกิดการหดเกร็งของหลอดเลือด (vasospasm) และเกิดการแข็งตัวของหลอดเลือด (arterial stiffness)

3. กระบวนการอักเสบของผนังหลอดเลือด

เซลล์บุผนังหลอดเลือดปกติจะมีคุณสมบัติต้านการเกิดภาวะหลอดเลือดแข็ง โดยลดการกระตุ้นสารหรือยีนที่ทำให้เกิดการอักเสบและยับยั้งการแสดงออกของ adhesion molecules (adhesion molecules expression) บนเซลล์บุผนังหลอดเลือด ทำให้ลดจำนวนเม็ดเลือดขาวที่เคลื่อนผ่านเซลล์บุผนังหลอดเลือดเข้าสู่ระหว่างชั้นผนังหลอดเลือด ทำให้ลดการการอักเสบของหลอดเลือด (Cooke, 2000)

แต่ในภาวะเบาหวานปริมาณอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้นจะ

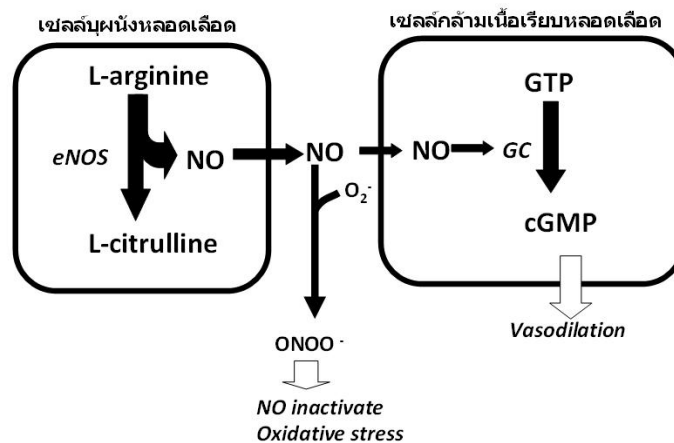
ส่งผลกระตุ้นการทำงานของโปรตีนที่เรียกว่า nuclear factor kappa-B (NF- κ B) ซึ่งเป็น redox-sensitive transcription factor ที่กระตุ้นยีนที่ทำให้เกิดการอักเสบ นอกจากนี้ยังกระตุ้นการแสดงออกของ adhesion molecules เช่น vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), intercellular adhesion molecules-1 (ICAM-1) และ E-selectin บนผิวของเซลล์บุผนังหลอดเลือดซึ่งจะจับกับตัวรับกลุ่ม “integrins” บนผิวของเซลล์เม็ดเลือดขาว ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาวและเซลล์ต่างๆ ที่ทำให้เกิดการอักเสบของผนังหลอดเลือด รวมทั้งยังกระตุ้น chemotactic factors เช่น macrophage colony stimulating factor และ macrophage colony-stimulating factor และ tumor necrosis factor-beta (TNF- β) เพื่อดึงดูดให้เม็ดเลือดขาวในกระแสเลือดเคลื่อนที่เข้ามาใกล้เซลล์บุผนังหลอดเลือด ซึ่งการแสดงออกของ adhesion molecules หรือ chemotactic factors จะบ่งชี้ถึงการเกิดกระบวนการอักเสบของผนังหลอดเลือดและอาจก่อให้เกิดภาวะหลอดเลือดแข็งตัว (King, 2008; Shoelson et al., 2006) จากงานวิจัยในสัตว์ทดลองที่เหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวาน

นั้น พบว่า มีการเพิ่มขึ้นของ leukocyte adhesion molecules ที่เซลล์บุผนังหลอดเลือดและพบการเกิดรอยโรคของโรคหลอดเลือดแข็งตัว (Bakker et al., 2009)

4. การเกิดลิ่มเลือด

การเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระจะทำให้ความสามารถของเซลล์บุผนังหลอดเลือดในการต้านการแข็งตัวของเลือดเสียไป โดยจะลดการสร้าง tissue-type plasminogen activator (t-PA) ที่มีฤทธิ์สลายลิ่มเลือด และเพิ่มสร้าง plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) ที่มีฤทธิ์ต้านการสลายลิ่มเลือด ทำให้มีอัตราเร็วของการเกิดลิ่มเลือดในหลอดเลือดเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดการอุดตันของหลอดเลือดได้ง่ายขึ้น (Bakker et al., 2009)

จากที่กล่าวมาแล้วข้างต้น จะเห็นได้ความผิดปกติของเซลล์บุผนังหลอดเลือด ไม่ว่าจะเป็น การอักเสบ การแข็งตัวของหลอดเลือดหรือหลอดเลือดตีบ ล้วนแล้วแต่เป็นปัจจัยสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคหลอดเลือดแข็งซึ่งถือว่าเป็นภาวะแทรกซ้อนทางหลอดเลือดที่สำคัญและพบได้มากในผู้ป่วยเบาหวาน



รูปที่ 1 แสดงการสร้างและการออกฤทธิ์ของสาร nitric oxide (NO) (eNOS, nitric oxide synthase, GC, soluble guanylyl cyclase, O_2^- , superoxide anion, $ONOO^-$, peroxynitrite)

ความผิดปกติของเซลล์บุผนังหลอดเลือดกับโรคหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis)

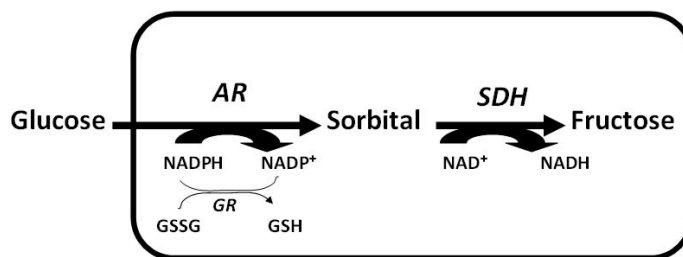
ในภาวะที่มีพยาธิสภาพ เช่น โรคเบาหวาน ไขมันในเลือดสูง หรือความดันโลหิตสูง ล้วนแล้วแต่ทำให้ปริมาณอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้น ก่อให้เกิดการทำลายเซลล์บุผนังหลอดเลือด ซึ่งเซลล์บุผนังหลอดเลือดที่ผิดปกติ จะเพิ่มการซึมผ่านของสารที่มีโมเลกุลใหญ่ เช่น low density lipoprotein (LDL) ไปสะสมในช่องว่างระหว่างเซลล์บุผนังหลอดเลือดและเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ การเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระจะออกซิไดส์ LDL ให้กลายเป็น oxidized LDL นอกจากนี้เซลล์บุผนังหลอดเลือดที่ผิดปกติยังเพิ่มการแสดงออกของ adhesion molecules ทำให้เม็ดเลือดขาว monocytes ในกระแสเลือดเคลื่อนที่มายึดเกาะกับเซลล์บุผนังหลอดเลือด แล้วเคลื่อนที่เข้าไปในผนังหลอดเลือด เปลี่ยนเป็น macrophage จากนั้น macrophage จะจับกิน

oxidized LDL จนกลายเป็น foam cell (ซึ่งภายในเต็มไปด้วยไขมัน) สะสมในช่องว่างระหว่างเซลล์บุผนังหลอดเลือดและเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ เกิดการอักเสบของหลอดเลือดและมีการกระตุ้นให้การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่บริเวณเซลล์บุผนังหลอดเลือด รวมทั้งยังหลั่ง growth factor เพิ่มมากขึ้น ทำให้เซลล์กล้ามเนื้อเรียบเปลี่ยนแปลงรูปร่างและเคลื่อนที่ไปที่ช่องว่างระหว่างผนังเซลล์ ซึ่งผลทั้งหมดทำให้หลอดเลือดหนาตัวขึ้นจนกลายเป็นแผ่นป็นนูนที่เรียกว่า atherosclerotic plaque เมื่อ atherosclerotic plaque มีการสะสมไขมันและเซลล์อื่นๆ มากขึ้น โดยมี fibrous tissue มาล้อมรอบ atherosclerotic plaque จะแข็งแรงขึ้น กลายเป็น atherosclerotic lesion ทำให้เกิดโรคหลอดเลือดหัวใจและโรคหลอดเลือดตามมา (Dandona, 2002; Sima et al., 2009)

กลไกที่เซลล์บุผนังหลอดเลือดทำงานผิดปกติ (endothelial dysfunction) ในเบาหวาน

1. ภาวะน้ำตาลในเลือดสูง

ในภาวะปกติกระบวนการเมแทบอลิซึมของน้ำตาลกลูโคสเกิดขึ้นผ่าน glycolytic pathway แต่ในภาวะกลูโคสในเลือดสูงเรื้อรัง (chronic hyperglycemia) น้ำตาลกลูโคสจะถูกกำจัดผ่าน polyol pathway ด้วย ซึ่ง polyol pathway นี้ ประกอบด้วยสองขั้นตอนหลัก คือ ขั้นตอนแรกเป็นการเปลี่ยนกลูโคสเป็นซอร์บิทอล (sorbitol) โดยเอนไซม์ aldose reductase (AR) ร่วมกับการเปลี่ยน NADPH เป็น NADP⁺ และขั้นตอนที่สองเปลี่ยนซอร์บิทอลเป็นฟรุคโตส (fructose) โดยเอนไซม์ sorbitol dehydrogenase (SDH) ร่วมกับการเปลี่ยน NADP⁺ เป็น NADH โดยขั้นตอนนี้จะเกิดได้ช้า (รูปที่ 2) จึงเกิดการสะสมของซอร์บิทอลในเนื้อเยื่อมากขึ้นก่อให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่อได้ เช่น



รูปที่ 2 แสดงกระบวนการเมแทบอลิซึมของน้ำตาลกลูโคสผ่านทาง sorbitol pathway (AR, aldose reductase, SDH, sorbitol dehydrogenase, GSSG, oxidized glutathione disulfide, GSH, reduced glutathione และ GR, glutathione reductase)

2. การเกิด advanced glycosylated end-products (AGEs)

ในภาวะเบาหวานน้ำตาลกลูโคสที่เพิ่มสูงขึ้นจะจับกับโปรตีนภายในเซลล์ เรียกว่าปฏิกิริยานี้ว่า non-enzymatic glycation ซึ่งทำให้โครงสร้างของโปรตีนนั้นเปลี่ยนแปลงไปจนกลายเป็น Schiff base ซึ่งไม่ค่อยเสถียร จากนั้นจะกลายเป็น Amadori product และจะเป็น advanced glycosylated end-products (AGEs) ในที่สุด (Avogaro et al., 2008) สาร AGEs มีผลเปลี่ยนแปลง basement membrane ให้หนาตัวขึ้น โดยเฉพาะ collagen type I และ IV จึงลดความยืดหยุ่นของหลอดเลือดและส่งผลให้หน้าที่ของเซลล์บุผนังหลอดเลือดเสียไป ลดการทำงานของสาร NO นอกจากนี้ AGEs ยังจับกับตัวรับ RAGE (receptor for AGE) บนเยื่อหุ้มเซลล์ที่บริเวณต่างๆ รวมทั้งเซลล์บุผนังหลอดเลือด ซึ่งเพิ่มสภาพการซึมผ่านของหลอดเลือด (vascular permeability) และเพิ่มปริมาณของอนุมูลอิสระ และกระตุ้นให้เม็ดเลือดขาวและเซลล์บุผนังหลอดเลือดสร้าง adhesion molecules มากขึ้น (Devangelio et al., 2007) สาร AGEs ยังทำให้ LDL ในกระแสเลือดเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่ายขึ้น ซึ่งจะเปลี่ยน LDL เป็น oxidized LDL และเคลื่อนที่ผ่านเซลล์บุผนังหลอดเลือดเข้าไปสะสมในช่องว่างระหว่างเซลล์บุผนังหลอดเลือดและเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดและก่อให้เกิดโรคหลอดเลือดแข็งตามมา (Avogaro et al., 2008)

การค้างของซอร์บิทอลในเส้นประสาท ทำให้เพิ่มความดันออสโมติกส่งผลให้เส้นประสาทเกิดการบวมและโครงสร้างในเส้นประสาทเสีย ทำให้เกิดต้อกระจกขึ้น (Schalkwijk & Stehouwer, 2005)

นอกจากผลในการเพิ่มของซอร์บิทอลแล้ว ยังมีผลลดระดับ NADPH ซึ่งส่งผลให้เอนไซม์ต่างๆ ที่ต้องอาศัย NADPH ทำงานลดลง เช่น การทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ glutathione ซึ่งต้องอาศัย NADPH เป็น cofactor ของเอนไซม์ glutathione reductase (GR) ซึ่งจะเปลี่ยน oxidized glutathione disulfide (GSSG) ไปเป็น reduced glutathione (GSH) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นการลดลงของ NADPH จะทำให้สารต้านอนุมูลอิสระ GSH ลดลง (รูปที่ 2) จึงเพิ่ม oxidative stress ส่งผลให้มีการทำลายเซลล์ต่างๆ รวมทั้งเซลล์บุผนังหลอดเลือด

3. การเพิ่มปริมาณของอนุมูลอิสระ

การเพิ่มขึ้นของปริมาณอนุมูลอิสระในหลอดเลือดนั้นเป็นกลไกสำคัญที่ทำให้เกิดความผิดปกติของเซลล์บุผนังหลอดเลือด (Fatehi-Hassanabad et al., 2010) เนื่องจากน้ำตาลในเลือดที่เพิ่มสูงขึ้นจะกระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระ superoxide anion ซึ่งจะส่งผลลด NO bioavailability โดย superoxide anion จะทำปฏิกิริยากับ NO ได้เป็นสาร peroxynitrite จึงลดประสิทธิภาพการทำงานของสาร NO (Pacher et al., 2007) รวมทั้งสาร peroxynitrite นั้นถือว่าเป็นสารอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์แรง ซึ่งสามารถรบกวนการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์และสาร peroxynitrite นี้ยังเปลี่ยนแปลงการทำงานของ eNOS และ guanylyl cyclase ในเซลล์กล้ามเนื้อหลอดเลือด ส่งผลให้ลดการสร้างของสาร NO และลดการตอบสนองของเนื้อเยื่อต่อสาร NO อีกด้วย (Beckman & Koppenol, 1996; Fatehi-Hassanabad et al., 2010) จากรายงานวิจัยพบว่า การให้สารต้านอนุมูลอิสระสามารถช่วยฟื้นฟูการทำงานของเยื่อบุผนังหลอดเลือดในโรคเบาหวานได้ (Jariyapongskul et al., 2007; Woodman & Malakul, 2009)

สำหรับการเกิดอนุมูลอิสระในภาวะเบาหวานนั้นอาจแบ่งเป็น

1) การเกิดอนุมูลอิสระแบบไม่ขึ้นกับการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งเป็นผลจากน้ำตาลกลูโคสเกิด auto-oxidation จนเกิด superoxide anion และเกิดจากการจับของน้ำตาล

กับโปรตีน ทำให้โปรตีนเปลี่ยนแปลงสภาพเป็น advanced glycosylated end-products (AGEs) ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น AGEs สามารถออกฤทธิ์โดยตรงในการเปลี่ยนแปลงการทำงานของโปรตีนต่างๆ ภายในเซลล์ และยังออกฤทธิ์ผ่านตัวรับ RAGE ที่ผนังเซลล์ ซึ่งจะส่งสัญญาณผ่านเข้าไปในเซลล์ ทำให้เกิดอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น

2) การเกิดอนุมูลอิสระแบบขึ้นกับการทำงานของเอนไซม์ ในภาวะปกติมีเอนไซม์หลายตัวที่ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ superoxide anion เช่น เอนไซม์ nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase (NADPH oxidase) ที่ผนังเซลล์ของหลอดเลือด NADPH oxidase เป็นเอนไซม์ที่ออกซิไดส์ NADPH (reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) ทำให้ oxygen เปลี่ยนเป็น superoxide anion เริ่มแรก พบ เอนไซม์ NADPH oxidase ในเม็ดเลือดขาว neutrophil ซึ่งทำหน้าที่ในการสร้าง superoxide anion เพื่อทำลายสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย ต่อมาพบว่าเอนไซม์ NADPH oxidase ในเซลล์ที่ไม่ได้เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายด้วย เช่น เซลล์บุผนังหลอดเลือดและเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด ซึ่ง superoxide anion ที่เกิดจากเอนไซม์ NADPH oxidase ในเซลล์เหล่านี้จะออกฤทธิ์โดยตรงในการขยายหลอดเลือด และออกฤทธิ์ทางอ้อมโดยทำปฏิกิริยากับสาร NO จนกลายเป็นสาร peroxynitrite จึงลดการทำงานของสาร NO ส่งผลให้หลอดเลือดหดตัว รวมทั้งเอนไซม์ NADPH oxidase ยังกระตุ้นการแสดงออกของยีนที่ก่อให้เกิดการอักเสบ (proinflammatory genes) ดังนั้นในภาวะที่มีเอนไซม์ NADPH oxidase เพิ่มขึ้น จะส่งผลให้ปริมาณอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้นจนก่อให้เกิดความเสียหายกับเซลล์ (Fatehi-Hassanabad et al., 2010) จากรายงานวิจัยพบว่าเอนไซม์ NADPH oxidase เป็นตัวการสำคัญที่ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระในหลายโรคภัย อาทิเช่น โรคความดันโลหิตสูง (Zalba et al., 2005) การอักเสบ (Li & Shah, 2004) และโรคเบาหวาน (Delbosc et al., 2005; Frey et al., 2009; Gao & Mann, 2009)

นอกจากเอนไซม์ NADPH oxidase แล้ว เอนไซม์ nitric oxide synthase (NOS) ก็สามารถก่อให้เกิดอนุมูลอิสระได้ โดยปกติเอนไซม์ NOS จะมี 3 ชนิด คือ endothelial NOS (eNOS), neuronal NOS (nNOS) และ inducible NOS (iNOS) ซึ่งเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดจะเปลี่ยน L-arginine เป็น NO และ L-citrulline โดย eNOS และ nNOS จะพบในภาวะปกติซึ่งจะผลิต NO ในปริมาณไม่มากนัก (Beckman & Koppenol, 1996; Pacher et al., 2007) สำหรับในเซลล์บุหลอดเลือดนั้นมักพบเอนไซม์ eNOS มากกว่าชนิดอื่นและต้องอาศัย co-factor คือ tetrahydrobiopterin ในการเปลี่ยน L-arginine เป็น NO หากขาด tetrahydrobiopterin หรือ L-arginine จะทำให้ eNOS เปลี่ยนเป็นสร้าง superoxide anion และ hydrogen oxide แทน เรียกสภาวะนี้ว่า NOS uncoupling ในภาวะที่มีอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น จะทำให้ปริมาณ tetrahydrobiopterin ลดลง ทำให้เกิด eNOS uncoupling ได้ง่ายขึ้น (Pacher et al., 2007)

4. การกระตุ้น Protein kinase C

Protein kinase C (PKC) เป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับระบบของการส่งสัญญาณภายในเซลล์โดยที่ PKC จะถูกกระตุ้นโดย second messenger ซึ่งก็คือ diacylglycerol (DAG) ที่บริเวณ plasma membrane ปกติ DAG จะถูกสังเคราะห์จาก phosphatidylinositides (PI) โดย phospholipase C หรือ จาก phosphatidylcholine โดย phospholipase D หรือ จาก phosphatidic acid ในภาวะที่มีน้ำตาลในเลือดสูงหรือเบาหวาน DAG จะถูกสังเคราะห์จากกระบวนการ glycolysis โดยน้ำตาลกลูโคสที่เพิ่มสูงขึ้นจะถูกขนส่งเข้าสู่เซลล์หลอดเลือดโดยอาศัยตัวขนส่งชนิด glucose transporter type 1 (GLUT-1) จากนั้นน้ำตาลกลูโคสจะเข้าสู่กระบวนการสลายน้ำตาล glycolysis ส่งผลเพิ่ม glyceraldehyde-3 phosphate (G-3-P) ซึ่งจะถูกเปลี่ยนเป็น phosphatidic acid และเปลี่ยนเป็น DAG ในที่สุด (รูปที่ 3) โดยปกติ PKC แบ่งออกเป็นอย่างน้อย 12 ชนิด โดยในหลอดเลือดมักพบชนิด PKC- α และ แต่ในภาวะที่มีน้ำตาลในเลือดสูง มักจะกระตุ้น PKC- β ซึ่งก่อให้เกิดความผิดปกติของเซลล์บุผนังหลอดเลือดหลายอย่าง (Das Evcimen & King, 2007) เช่น

- กระตุ้น vascular endothelial growth factor (VEGF) ทำให้ความสามารถในการซึมผ่านของหลอดเลือดผิดปกติ และยังกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบและเคลื่อนที่มาสะสมที่ช่องว่างระหว่างผนังหลอดเลือด
- ยับยั้ง PI 3 kinase และ Akt จึงลดการทำงานของ eNOS และยังเพิ่มการสังเคราะห์ ET-1 ส่งผลเพิ่มการหดตัวของหลอดเลือด จึงลดการไหลเวียนเลือด
- กระตุ้น TGF- β เพิ่มการสร้างคอลลาเจน ทำให้เนื้อเยื่อรองรับฐานหนาตัวขึ้น
- กระตุ้น PAI-1 จึงลดการสลายลิ่มเลือด
- กระตุ้น NF-K B ส่งผลกระตุ้นการแสดงออกของยีนที่ก่อให้เกิดการอักเสบ

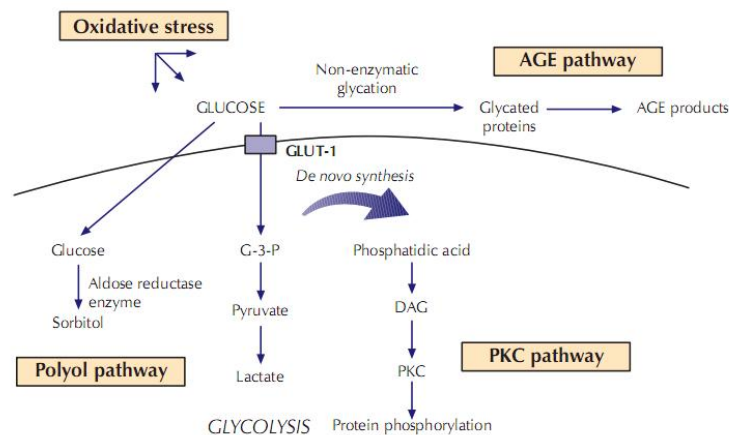
มีรายงานวิจัย พบว่าการยับยั้ง PKC- β สามารถเพิ่ม NO bioavailability และยังลดการอักเสบของเซลล์บุหลอดเลือดในสัตว์ทดลองที่มีภาวะเบาหวาน (Kouroedov et al., 2004; Naruse et al., 2006)

การวัดและประเมินความผิดปกติของเซลล์บุผนังหลอดเลือดในคน

การทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือดอาจไม่สามารถวัดได้โดยตรงในคน แต่สามารถประเมินการทำงานได้ทางอ้อมหลายวิธี เช่น การวัดการคลายตัวของหลอดเลือดแบบขึ้นกับเซลล์บุผิวหลอดเลือด (endothelium-dependent vasodilation) การวัดปริมาณของ endothelium derived regulatory proteins ในพลาสมา (ตารางที่ 1) หรือ อาวัดความแข็งตัวของหลอดเลือด (arterial stiffness) และความหนาตัวของผนังหลอดเลือดชั้น intima และชั้น media ของหลอดเลือด carotid artery อย่างไรก็ตามการประเมินการทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือดด้วยวิธีดัง

กล่าวอาจไม่เที่ยงตรงนัก เช่น การวัดปริมาณโปรตีนบางตัวในพลาสมา ถ้าพบว่ามีปริมาณสูงขึ้นอาจไม่สามารถบ่งชี้ได้อย่างแน่ชัดว่าเกิดจากความผิดปกติของเซลล์บุผนังหลอดเลือด เพราะสามารถสร้างจากเซลล์อื่นได้ด้วยเช่นกัน เช่น

PAI-1 สามารถสร้างได้จากเซลล์บุผนังหลอดเลือด เซลล์ตับ เซลล์ไขมันและเซลล์กล้ามเนื้อหลอดเลือด ดังนั้นอาจต้องใช้วิธีทดสอบหลายอย่างพร้อมกันเพื่อความแม่นยำ (Schalkwijk & Stehouwer, 2005)



รูปที่ 3 แสดงกระบวนการเมแทบอลิซึมของน้ำตาลกลูโคสผ่านทาง AGE pathway, PKC pathway และ Polyol pathway (Idris & Donnelly, 2006)

ตารางที่ 1 การประเมินความผิดปกติของเซลล์บุผนังหลอดเลือดแบบทางอ้อมในคน (Schalkwijk & Stehouwer, 2005)

การประเมินผล	การแปลผลความผิดปกติของเซลล์บุผนังหลอดเลือด
-การลดลงของ endothelial dependent vasodilation	-ลดการสร้างสารขยายหลอดเลือดหรือเพิ่มการสร้างสารหดหลอดเลือด
-เพิ่มปริมาณ endothelin ในพลาสมา	-เพิ่มการสร้างสารหดหลอดเลือด
-เพิ่มปริมาณ t-PA และ PAI-1 ในพลาสมา	-ลดการสลายลิ่มเลือด
-เพิ่มปริมาณ soluble E-selectin และ soluble VCAM-1 ในพลาสมา	-เพิ่มการเกาะของเม็ดเลือดขาวที่เซลล์บุผนังหลอดเลือด และเคลื่อนที่เข้าไปสะสมในผนังหลอดเลือด
-เพิ่มปริมาณ soluble ICAM-1 ในพลาสมา	-กระตุ้นการอักเสบ
-เพิ่ม cellular type IV collagen fragments	-เปลี่ยนแปลงการสร้าง extracellular matrix
-พบ microalbuminuria	-เพิ่มการซึมผ่านของสารโมเลกุลใหญ่

บทสรุป

ผู้ป่วยโรคเบาหวานถือว่ามีโอกาสเสี่ยงสูงมากต่อการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณน้ำตาลในเลือดและอนุมูลอิสระที่เพิ่มสูงขึ้น การกระตุ้น PKC ในภาวะเบาหวานล้วนแล้วแต่ทำให้การทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือดเสียไป เช่น การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของหลอดเลือด หลอดเลือดหดตัวมากขึ้น กระตุ้นการอักเสบและการเกิดลิ่มเลือดในหลอดเลือด ซึ่งความผิดปกตินี้ถือว่าเป็นอาการเริ่มต้นของโรคหลอดเลือดแข็ง ดังนั้นการรู้ถึงกระบวนการสำคัญที่ทำให้เกิดหลอดเลือดแข็งในเบาหวานจะมีประโยชน์ในการพัฒนาและการรักษาเพื่อป้องกันกาเกิดโรคแทรกซ้อนทางหลอดเลือดในผู้ป่วยเบาหวานได้

เอกสารอ้างอิง

Avogaro, A., de Kreutzenberg, S. V., & Fadini, G. (2008). Endothelial dysfunction: causes and

consequences in patients with diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 82, S94-S101.

Bakker, W., Eringa, E. C., Sipkema, P., & van Hinsbergh, V. W. (2009). Endothelial dysfunction and diabetes: roles of hyperglycemia, impaired insulin signaling and obesity. *Cell and Tissue Research*, 335, 165-189.

Beckman, J. S., & Koppenol, W. H. (1996). Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *American Journal of Physiology*, 271, C1424-C1437.

Cooke, J. P. (2000). The endothelium: a new target for therapy. *Vascular Medicine*, 5, 49-53.

- Dandona, P. (2002). Endothelium, inflammation, and diabetes. *Current Diabetes Reports*, 2, 311–315.
- Das Evcimen, N., & King, G. L. (2007). The role of protein kinase C activation and the vascular complications of diabetes. *Pharmacological Research*, 55, 498–510.
- Delbosc, S., Paizanis, E., Magous, R., Araiz, C., Dimo, T., Cristol, J. P., et al. (2005). Involvement of oxidative stress and NADPH oxidase activation in the development of cardiovascular complications in a model of insulin resistance, the fructose-fed rat. *Atherosclerosis*, 179, 43–49.
- Devangelio, E., Santilli, F., Formoso, G., Ferroni, P., Bucciarelli, L., Michetti, N., et al. (2007). Soluble RAGE in type 2 diabetes: association with oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 43, 511–518.
- Ding, H., & Triggle, C. R. (2005). Endothelial cell dysfunction and the vascular complications associated with type 2 diabetes: assessing the health of the endothelium. *Journal of Vascular Health and Risk Management*, 1, 55–71.
- Fatehi-Hassanabad, Z., Chan, C. B., & Furman, B. L. (2010). Reactive oxygen species and endothelial function in diabetes. *European Journal of Pharmacology*, 636, 8–17.
- Frey, R. S., Ushio-Fukai, M., & Malik, A. B. (2009). NADPH oxidase-dependent signaling in endothelial cells: role in physiology and pathophysiology. *Antioxidants and Redox Signaling*, 11, 791–810.
- Gao, L., & Mann, G. E. (2009). Vascular NAD(P)H oxidase activation in diabetes: a double-edged sword in redox signalling. *Cardiovascular Research*, 82, 9–20.
- Idris, I., & Donnelly, R. (2006). Protein kinase C beta inhibition: A novel therapeutic strategy for diabetic microangiopathy. *Diabetes and Vascular Disease Research*, 3, 172–178.
- Jariyapongskul, A., Rungjaroen, T., Kasetsuwan, N., Patumraj, S., Seki, J., & Niimi, H. (2007). Long-term effects of oral vitamin C supplementation on the endothelial dysfunction in the iris microvessels of diabetic rats. *Microvascular Research*, 74, 32–38.
- King, G. L. (2008). The role of inflammatory cytokines in diabetes and its complications. *Journal of Periodontology*, 79, 1527–1534.
- Kouroedov, A., Eto, M., Joch, H., Volpe, M., Luscher, T. F., & Cosentino, F. (2004). Selective inhibition of protein kinase C β 2 prevents acute effects of high glucose on vascular cell adhesion molecule-1 expression in human endothelial cells. *Circulation*, 110, 91–96.
- Li, J. M., & Shah, A. M. (2004). Endothelial cell superoxide generation: regulation and relevance for cardiovascular pathophysiology. *American Journal of Physiology*, 287, R1014–1030.
- Marletta, M. A. (1993). Nitric oxide synthase structure and mechanism. *The Journal of Biological Chemistry*, 268, 12231–12234.
- Naruse, K., Rask-Madsen, C., Takahara, N., Ha, S. W., Suzuma, K., Way, K. J., et al. (2006). Activation of vascular protein kinase C- β inhibits Akt-dependent endothelial nitric oxide synthase function in obesity-associated insulin resistance. *Diabetes*, 55, 691–698.
- Pacher, P., Beckman, J. S., & Liaudet, L. (2007). Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological Reviews*, 87, 315–424.
- Schalkwijk, C. G., & Stehouwer, C. D. (2005). Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction. *Clinical Science*, 109, 143–159.
- Shoelson, S. E., Lee, J., & Goldfine, A. B. (2006). Inflammation and insulin resistance. *The Journal of Clinical Investigation*, 116, 1793–1801.
- Sima, A. V., Stancu, C. S., & Simionescu, M. (2009). Vascular endothelium in atherosclerosis. *Cell and Tissue Research*, 335, 191–203.
- Tabit, C. E., Chung, W. B., Hamburg, N. M., & Vita, J. A. (2010). Endothelial dysfunction in diabetes mellitus: molecular mechanisms and clinical

implications. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 11, 61–74.

Widlansky, M. E., Gokce, N., Keaney, J. F., Jr., & Vita, J. A. (2003). The clinical implications of endothelial dysfunction. *Journal of the American College of Cardiology*, 42, 1149–1160.

Woodman, O. L., & Malakul, W. (2009). 3',4'-Dihydroxyflavonol prevents diabetes-induced endothelial dysfunction in rat aorta. *Life Sciences*, 85, 54–59.

Zalba, G., San Jose, G., Moreno, M. U., Fortuno, A., & Diez, J. (2005). NADPH oxidase-mediated oxidative stress: genetic studies of the p22(phox) gene in hypertension. *Antioxidants and Redox Signaling*, 7, 1327–1336.