



บทบาทของ ROS ในภาวะหลอดเลือดแข็งและสารต้านอนุมูลอิสระ

นุชจิรา พงศ์นิมิตประเสริฐ

สาขาชีวการแพทย์และสารสนเทศศาสตร์ทางสุขภาพ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ นครปฐม

ติดต่อผู้พิมพ์: pongnimit_n@su.ac.th

บทคัดย่อ

สิ่งมีชีวิตต้องการออกซิเจนในการดำรงชีวิต และสารประกอบออกซิเดชัน เช่น reactive oxygen species (ROS) และ reactive nitrogen species (RNS) ในเซลล์ถูกผลิตขึ้นจากโมเลกุลของออกซิเจนซึ่งเป็นผลมาจากการเผาผลาญแบบแอโรบิก ROS สามารถจำแนกได้เป็นอนุมูลอิสระ (radicals; free radicals) และ non-radicals (จะมีอิเล็กตรอนเป็นคู่) โดยที่อนุมูลอิสระจะเป็นโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวหนึ่งอิเล็กตรอนหรือมากกว่า จึงมีความว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยา โดยรับอิเล็กตรอนจากสารอื่น ๆ โกล้เคียงส่งผลให้ตนเองเสถียรขึ้น แต่ทำให้สารอื่นที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนกลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่และจะเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่นต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ การสร้างอนุมูลอิสระ (ROS) จำนวนมากจะก่อให้เกิดการบาดเจ็บของเซลล์ ซึ่งเป็นกลไกสำคัญที่ก่อให้เกิดพยาธิสภาพต่าง ๆ เช่น ความดันโลหิตสูง เบาหวาน ไขมันในเลือดสูง หัวใจวายและภาวะหลอดเลือดแข็ง ภาวะหลอดเลือดแข็งจะเกี่ยวข้องกับความเสื่อมสภาพของไขมันและการแข็งตัวของหลอดเลือด เป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบเรื้อรังที่มีการหนาตัวและแข็งขึ้นของหลอดเลือด ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของโรคหลอดเลือดหัวใจและโรคหลอดเลือดสมองรวมทั้งโรคกล้ามเนื้อหัวใจตาย เป็นที่ยอมรับกันว่า ROS มีบทบาทสำคัญในการเกิดภาวะหลอดเลือดแข็ง เป็นการทำลายสมดุลของเซลล์เยื่อหลอดเลือด (endothelial cells) ซึ่งมีขั้นตอนที่สำคัญ คือ การเกิด fatty streak การชักนำให้เกิด atheroma และการเกิด atherosclerotic plaques นำไปสู่หลอดเลือดอุดตัน สารต้านอนุมูลอิสระเป็นโมเลกุลที่สามารถทำให้เป็นกลางของการเกิดออกซิเดชันของ ROS ก่อนที่จะไปทำปฏิกิริยากับชีวโมเลกุลของเซลล์ทำให้เกิดการเปลี่ยนโครงสร้างหรือการทำงาน สารต้านอนุมูลอิสระเป็นระบบป้องกัน ซึ่งแบ่งได้เป็น 2 ระดับ คือ primary defense mechanism: เป็นกลไกการป้องกันที่ยับยั้งความเสียหายจากออกซิเดชันโดยตรงโดยขจัดอนุมูลอิสระก่อนที่มันจะทำให้เกิดความเสียหายต่อโมเลกุลภายในเซลล์ และ secondary defense mechanism (chain-breaking defense): ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี และกรดยูริก

คำสำคัญ: ROS, ภาวะหลอดเลือดแข็ง, สารต้านอนุมูลอิสระ

รับต้นฉบับ: 27 มกราคม 2566; แก้ไข: 20 มีนาคม 2566; ตอรับตีพิมพ์: 22 มีนาคม 2566

THE ROLE OF ROS IN ATHEROSCLEROSIS AND ANTIOXIDANT

Nushjira Pongnimitprasert

Department of Biomedicine and Health Informatics, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Sanamchandra Palace
Campus, Nakhon Pathom
Corresponding author: pongnimit_n@su.ac.th

ABSTRACT

Living organisms require oxygen to sustain their existence, and oxidative compounds such as reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) in cells are produced from molecular oxygen as a consequence of aerobic metabolism. ROS can be classified as either free radicals (radicals) or non-radicals (paired with electrons). Free radicals are molecules with one or more lone pairs of electrons. Therefore, they have the agility to react by receiving electrons from other substances nearby, resulting in self-stabilization. This causes other substances that lose or gain electrons to become new free radicals and will react with other substances in a chain reaction. Generating a large number of free radicals (ROS) causes cell injury, which is an important mechanism that causes various pathologies such as high blood pressure, diabetes mellitus, hypercholesterolemia, heart attack and atherosclerosis. Atherosclerosis is associated with the deterioration of lipids and hardening of the arteries. It is a disease associated with chronic inflammation, thickening and hardening of the blood vessels which is the main cause of coronary heart disease and stroke, including myocardial infarction. It is recognized that ROS plays an important role in atherosclerosis. This disrupts the equilibrium of vascular endothelial cells, which are important steps involved in fatty streak formation, atheroma induction and atherosclerotic plaques leading to thrombosis. Antioxidants are molecules that can neutralize the oxidation of ROS before they interact with cellular biomolecules, causing structural or functional changes. Antioxidants are a defense system. They are divided into two levels; 1) primary defense mechanism, a defense mechanism that directly inhibits oxidative damage by repelling free radicals before they cause molecular damage within cells. 2) secondary defense mechanism (chain-breaking defense) includes vitamin C, vitamin E and uric acid.

Keywords: ROS, atherosclerosis, antioxidants

Received: 27 January 2023; Revised: 20 March 2023; Accepted: 22 March 2023

บทนำ

ภาวะหลอดเลือดแข็ง (atherosclerosis) เป็นโรคอีกเสบเรื้อรังซึ่งเป็นสาเหตุหลักของโรคหัวใจและหลอดเลือดและโรคหลอดเลือดสมอง (stroke) ในมนุษย์ นำไปสู่การตายและการเจ็บป่วยไปทั่วโลก^{1,2} เป็นภาวะที่ผนังหลอดเลือดแดงมีการหนาตัวและแข็ง โดยสัมพันธ์กับอายุที่มากขึ้น รวมทั้งส่งผลเสียที่สำคัญต่อระบบหัวใจและหลอดเลือดและโรคอื่น ๆ โดยพบว่าระดับคอเลสเตอรอลที่มากกว่า 150 mg/dL เป็นสาเหตุหลักต่อการพัฒนาของภาวะหลอดเลือดแข็ง³ reactive oxygen species (ROS) สามารถทำให้เกิดความเสียหายต่อการทำงานระดับเซลล์ของชีวโมเลกุล เช่น ไขมัน, โปรตีน, คาร์โบไฮเดรต ส่งผลให้เกิด lipid peroxidation และ LDL oxidation การเกิดออกซิเดชันของ lipoproteins นับเป็นระยะเริ่มต้นของการพัฒนาไปเป็นภาวะหลอดเลือดแข็ง²

ROS และภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชัน

สิ่งมีชีวิตต้องการออกซิเจนในการดำรงชีวิต และสารประกอบออกซิเดชัน เช่น ROS และ reactive nitrogen species (RNS) ในเซลล์ถูกผลิตขึ้นจากโมเลกุลของออกซิเจนซึ่งเป็นผลมาจากการเผาผลาญแบบแอโรบิก⁴ ROS สามารถจำแนกได้เป็นอนุมูลอิสระ (radicals; free radicals) และ non-radicals (จะมีอิเล็กตรอนเป็นคู่) โดยที่อนุมูลอิสระจะเป็นโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวหนึ่งอิเล็กตรอนหรือมากกว่า จึงมีความว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยา โดยรับอิเล็กตรอนจากสารอื่น ๆ ใกล้เคียงส่งผลให้ตนเองเสถียรขึ้น แต่ทำให้สารอื่นที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่และจะเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่นต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ โมเลกุลชีวภาพส่วนใหญ่จะเป็น non-radicals โดยทั่วไปอนุมูลอิสระจะมีปฏิกิริยามากกว่าและมีความเสถียรน้อยกว่า non-radicals⁴⁻¹⁰ ROS/RNS ได้แก่ hydroxyl radical ($\text{OH}^\cdot$), superoxide radical anion ($\text{O}_2^{\cdot-}$), hydrogen peroxide (H_2O_2), nitric oxide ($\text{NO}^\cdot$), nitrogen

dioxide (NO_2), peroxy ($\text{RO}_2^\cdot$), peroxyxynitrite ($\text{OONO}^\cdot$), hypochlorous acid (HOCl) อนุมูลอิสระสามารถเป็นโมเลกุลที่ควบคุมกระบวนการทางชีวภาพ เช่น lymphocytes และ fibroblasts จะผลิต $\text{O}_2^\cdot$ จำนวนเล็กน้อยในฐานะสารควบคุมการเจริญเติบโต (growth regulators) ส่วนเซลล์อื่น ๆ ที่ไม่ใช่ phagocytes เช่น เซลล์เยื่อหลอดเลือด (endothelial cells) และ arterial smooth muscle cells สามารถถูกกระตุ้นให้สร้าง $\text{O}_2^\cdot$ ได้เช่นกัน^{7,10,11}

ROS สามารถทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ส่งผลให้เกิดความเสียหายแก่องค์ประกอบต่าง ๆ ของเซลล์ในร่างกาย เช่น ทำลายโครงสร้าง DNA การเปลี่ยนสภาพโปรตีนรวมทั้งไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ การสร้างพันธะ covalent กับโปรตีนหรือเอนไซม์บางชนิดทำให้การทำงานของโปรตีนหรือเอนไซม์นั้นผิดปกติ การสร้างอนุมูลอิสระจำนวนมากจะก่อให้เกิดการบาดเจ็บของเซลล์ ซึ่งเป็นกลไกสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ เช่น ความดันโลหิตสูง เบาหวาน ไขมันในเลือดสูง หัวใจวายและภาวะหลอดเลือดแข็ง การเกิดอนุมูลอิสระเป็นกระบวนการ physiological reactions มากมาย ซึ่งสิ่งมีชีวิตจะจัดการกับโมเลกุลอนุมูลอิสระเหล่านี้เพื่อให้การทำงานของเซลล์เป็นปกติ อนุมูลอิสระจะถูกกำจัดโดยสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินอี วิตามินซี carotenoids, flavonoids และเอนไซม์ เช่น superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) หรือ catalase (Cat) ซึ่งจะเปลี่ยน ROS ให้เป็นสารประกอบที่มีความเสถียรมากขึ้น^{6,12} ในกรณีที่มีการเสียสมดุลของการผลิตอนุมูลอิสระสร้างมากเกินไปทั้ง ROS และ RNS ซึ่งเกินความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระหรือเอนไซม์จึงไม่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระที่มีเป็นจำนวนมากได้ ทำให้เกิดภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชัน (oxidative stress) ส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์^{6,13} ภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชันเนื่องจากการผลิต ROS มากเกินไปสัมพันธ์กับภาวะหลอดเลือดแข็ง¹

แหล่งของการเกิด ROS ภายในเซลล์จะได้มาจาก ไมโทคอนเดรีย นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์ที่ทำให้เกิดออกซิเดชัน ได้แก่ nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase (NADPH-Oxidase: NOX), xanthine oxidase (XO), lipoxygenase (LOX), cyclooxygenase (COX), myeloperoxidase (MPO), nitric oxide synthase (NOS) และ endothelial nitric oxide synthase (eNOS) ที่เกิดใน macrophages, เซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด (vascular smooth muscle cells (VSMCs)) และเซลล์เยื่อบุหลอดเลือด โดยที่เอนไซม์เหล่านี้จะเกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ, การผลิต ROS/RNS และออกซิเดชันของ LDL ROS สามารถทำให้เกิดความเสียหายต่อการทำงานของชีวโมเลกุล เช่น ไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต^{3,10,14} นอกจากนี้พบว่าเอนไซม์ต่าง ๆ ที่กล่าวมาแล้วนั้นจะแสดงบทบาทที่แตกต่างกันในการเกิดภาวะหลอดเลือดแข็ง NOX จะแสดงส่วนหนึ่งในการเกิด Ox-LDL และการเพิ่มจำนวนของ VSMCs ส่วน XO จะผลิต H_2O_2 และ O_2^- ใน macrophages และ VSMCs สำหรับ eNOS จะสร้าง NO^{3,14,15}

ภาวะหลอดเลือดแข็ง

ผนังหลอดเลือดประกอบด้วย 3 ชั้น ชั้นนอกสุด (tunica adventitia) เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่จะให้รูปร่างแก่หลอดเลือด ชั้นกลาง (tunica media) จะประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบที่จะหดหรือคลายตัวเพื่อปรับให้เลือดไหลไปเลี้ยงได้ทั่วร่างกาย ส่วนชั้นใน (tunica intima) เป็นชั้นของ endothelium ซึ่งจะทำให้ความสมบูรณ์ของโครงสร้างและการทำงาน ทำหน้าที่เป็นตัวป้องกันสำหรับผนังหลอดเลือดและการไหลเวียนของเลือด นอกจากนี้ยังควบคุมสมดุลของหลอดเลือดด้วย โดยเกิดจากการหลั่งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเซลล์ endothelium ที่จะทำให้หลอดเลือดคลายตัว (vasodilation) และหลอดเลือดหดตัว (vasoconstriction) NO ซึ่งผลิตจาก eNOS ในเซลล์เยื่อบุหลอดเลือด จะมีบทบาททำให้กล้ามเนื้อหลอดเลือด

คลายตัว อย่างไรก็ตามในกรณีเกิดการอักเสบ พบว่า inducible nitric oxide synthase (iNOS) ซึ่งทำงานไม่มากนักในสภาวะปกติ จะไปกระตุ้นใน macrophages และเซลล์กล้ามเนื้อเรียบแล้วเกิดเป็น O_2^- ภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชันจะมีการเพิ่มขึ้นของ ROS จะทำให้มีการลดลงของจำนวน NO เป็นสาเหตุให้เสียสมดุลของหลอดเลือด เพิ่มปัจจัยการหดตัวของหลอดเลือด ทำให้เกิดความเสียหายต่อ endothelium ก่อให้เกิดการทำงานของเซลล์เยื่อบุหลอดเลือดเสียไป ซึ่งมีบทบาทอย่างมีนัยสำคัญต่อการเกิดภาวะหลอดเลือดแข็ง^{14,16}

ภาวะหลอดเลือดแข็งเป็นโรคเกี่ยวกับหลอดเลือด เป็นสาเหตุให้เกิดการตายและความเจ็บป่วยไปทั่วโลก เป็นโรคที่มีการอักเสบเรื้อรัง³ โดยที่ endothelium ซึ่งเป็นแนวกันระหว่างเลือดและเนื้อเยื่อ สามารถควบคุม vascular tone ผ่านทางปัจจัยที่ทำให้หลอดเลือดหดตัว (vasoconstrictors factors) ที่ได้จาก endothelium (endothelin, prostaglandin F2a และ thromboxane A2) และปัจจัยทำให้หลอดเลือดคลายตัว (vasodilators factors) ที่ได้จาก endothelium (prostaglandin I2 และ NO) ภาวะหลอดเลือดแข็งจะเกี่ยวข้องกับความเสื่อมสภาพของไขมัน (fatty degeneration) และการแข็งตัวของหลอดเลือด^{1,3,13,15} ที่มีการหนาตัวและแข็งขึ้นของหลอดเลือด ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของโรคหลอดเลือดหัวใจและโรคหลอดเลือดสมอง รวมทั้งโรคกล้ามเนื้อหัวใจตาย (myocardial infarction)^{2,14,17} กระบวนการนี้จะกระทบกับหลอดเลือดแดงขนาดกลางและขนาดใหญ่ จะมีลักษณะเป็นก้อนหนาที่ขอบ subintima (บริเวณที่อยู่ใต้ชั้น intima) ที่รูก้ำเข้าไปในหลอดเลือดแดง ซึ่ง vascular bed แต่ละอันจะถูกกระทบโดยกระบวนการนี้ รอยโรคที่มองเห็นได้ของภาวะหลอดเลือดแข็งในระยะแรก ก็คือ fatty streak อันเนื่องมาจากการสะสมของ foam cells ที่มีไขมันสะสมในชั้น intima ของหลอดเลือดแดง ซึ่งเกิดจากการเกาะยึดของ monocytes กับ endothelium และเคลื่อนย้ายเข้าไปใน subendothelial space และ

เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็น macrophages โดยที่เซลล์เหล่านี้จะกิน LDL และเปลี่ยนแปลงไปเป็น foam cells เซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด จะเคลื่อนย้ายจากตัวกลาง (media) เข้าไปใน intima เกิดการเพิ่มจำนวนและกลายไปเป็น atherosclerotic plaques ซึ่งเป็นสัญลักษณ์ของภาวะหลอดเลือดแข็ง ในที่สุดรอยโรคอาจมีวิวัฒนาการให้มีไขมันในปริมาณมาก ถ้าเกิดไม่เสถียร การเกิด endothelium หรือ plaque ที่ทับซ้อนกัน หรือ plaque rupture อาจส่งผลให้หลอดเลือดแดงอุดตันได้¹³ การพัฒนาของภาวะหลอดเลือดแข็งเป็นกระบวนการหลายปัจจัย ซึ่งมีทั้งเพิ่มระดับของคลอเลสเตอรอล ในพลาสมาและการเพิ่มจำนวนของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ^{7,18}

แม้ว่า fatty steak lesions จะมีขนาดใหญ่พอที่จะขัดขวางการไหลเวียนของเลือด แต่ภาวะแทรกซ้อนทางคลินิกที่สำคัญที่สุดคือการอุดตันเฉียบพลันอันเนื่องมาจากการเกิดลิ่มเลือดอุดตัน (thrombus) หรือลิ่มเลือด (blood clot) ส่งผลให้กล้ามเนื้อหัวใจตายหรือโรคหลอดเลือดสมอง พบว่า อายุ เพศ ความอ้วน การสูบบุหรี่ ความดันโลหิตสูง เบาหวาน ไขมันในเลือดผิดปกติถือเป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิดภาวะหลอดเลือดแข็งที่ส่งเสริมให้สูญเสียการทำงานของ endothelium ของกล้ามเนื้อเรียบและกระบวนการสร้างและสลายของผนังหลอดเลือด ปัจจัยเสี่ยงเหล่านี้จะเกี่ยวข้องกับการเพิ่มการผลิตอนุมูลอิสระที่เรียกกันว่า ROS¹³ โรคที่แสดงออกของภาวะหลอดเลือดแข็ง ได้แก่ โรคหลอดเลือดหัวใจ (coronary heart disease), ischemic attack, peripheral artery disease, หัวใจวาย และเสียชีวิต¹⁴

บทบาทของ ROS ในภาวะหลอดเลือดแข็ง

เป็นที่ยอมรับกันว่า ROS/RNS และภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชัน มีบทบาทสำคัญในการเกิดโรคมากมายรวมทั้งภาวะหลอดเลือดแข็ง^{19,20} เป็นการทำลายสมดุลของเซลล์เยื่อหลอดเลือด โดยในภาวะปกติจะมีความสมดุลระหว่างปัจจัยที่ทำให้หลอดเลือดหดตัวและ

ปัจจัยทำให้หลอดเลือดคลายตัว เมื่อสมดุลเกิดการเปลี่ยนแปลงจะเกิด endothelial dysfunction^{1,21}

โดยที่ภาวะหลอดเลือดแข็งจะมีการคลั่งของไขมันและการอักเสบของเซลล์ เช่น macrophage, T-lymphocytes และ mast cells ในการทำให้เกิดความเสียหายต่อผนังหลอดเลือดแดงและ intima ซึ่งมีขั้นตอนที่สำคัญ คือ การเกิด fatty steak นำไปสู่การชักนำให้เกิด atheroma และการเกิด atherosclerotic plaques เป็นสาเหตุของหลอดเลือดอุดตัน (atherothrombosis)^{2,3,22} เซลล์เยื่อหลอดเลือดจะไวต่อการทำให้เกิดการบาดเจ็บจาก ROS และ lipid hydroperoxides โดยที่ lipid hydroperoxides จะพบใน plasma lipoproteins (ซึ่งเป็นผลจากการทานอาหารที่มีไขมันและทานวิตามินที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระเข้าไปน้อย) การทำให้เกิดการบาดเจ็บต่อเซลล์เยื่อหลอดเลือดเป็นผลจากการจับของ monocytes ในระบบไหลเวียน ซึ่งพัฒนาไปเป็น macrophages ภายในผนังหลอดเลือด โดยที่ macrophages แสดงบทบาทสำคัญต่อการเกิดรอยโรคหลอดเลือด (atherosclerotic lesion) จากการหลั่ง O_2^- , H_2O_2 และ hydrolytic enzymes นอกจากนี้ macrophages ยังทำให้มีการหลั่ง platelet-stimulating factors และการยึดติดของเกล็ดเลือดต่อ epithelium ที่บาดเจ็บอาจเป็นสาเหตุการหลั่งของสารอื่น ๆ ที่ไปเสริมการเพิ่มจำนวนของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ macrophages มีตัวรับสำหรับ LDL แต่ถ้าหาก LDL เกิด lipid peroxidation มันจะถูกจำได้โดยตัวรับของ macrophage ที่รู้จักกันว่า scavenger receptors (ซึ่งอาจจะมากกว่าหนึ่งชนิด) โดยที่ LDL จะจับกับตัวรับเหล่านี้ LDL ที่ถูกออกซิเดชันมีความเกี่ยวข้องกับกลไกอื่น ๆ ในการพัฒนาไปเป็นภาวะหลอดเลือดแข็ง¹³ ส่งผลให้เกิดการสะสมอย่างรวดเร็วของคลอเลสเตอรอลภายใน macrophage และอาจเปลี่ยนไปเป็น foam cell⁵ ซึ่งเป็นพิษต่อเซลล์เยื่อหลอดเลือด โดยไปมีผลยับยั้งการเคลื่อนไหวของ macrophages ในเนื้อเยื่อและยับยั้งหลอดเลือดคลายตัวอันเนื่องจาก NO¹⁹ การสะสมของ

foam cells ที่อยู่ข้างใต้ endothelium ของหลอดเลือดแดงเป็นพื้นฐานของการเกิด fatty streak นำไปสู่โรคที่เกี่ยวข้องกับหลอดเลือด^{7,19} ดังนั้นการเกิดออกซิเดชันของ LDL, ไขมันและ apolipoprotein B 100 ทำให้ LDL เป็น pro-atherogenic รวมทั้งการเกิดออกซิเดชันของ high density lipoprotein (HDL) ทำให้สูญเสียคุณสมบัติการเป็น anti-atherogenic อีกด้วย^{19,23}

การเกิด up-regulation ของ adhesion molecules เช่น intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), platelet-endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1), integrins และ selectins (L, E และ P) เป็นสาเหตุการยึดติดและการสะสมของเซลล์ภูมิคุ้มกัน (monocytes, macrophages, platelets และ T lymphocytes) บนผนังของ endothelium¹³ นำไปสู่การหลั่งของ pro-inflammatory cytokines, surface receptors (ตัวรับที่พื้นผิว) และ proteinase enzymes^{13,22} ซึ่งไม่จำกัดเพียง interleukins, interferons, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), monocyte chemoattractant protein-4 (MCP-4) และ cyclooxygenase-2 (COX-2) หลังจากนั้น endothelium จะยอมให้เกิดการแทรกผ่านของอนุภาคไขมันและเซลล์ภูมิคุ้มกัน ซึ่งนำไปสู่สภาวะที่ macrophages จะกลืนอนุภาคของ oxidized-LDL และ modified lipoproteins จึงก่อให้เกิดเป็น foam cells นำไปสู่การเพิ่มการผลิต cytokine ที่ก่อให้เกิดการอักเสบ (รูปที่ 1) การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่ทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนจะไปกระตุ้นชั้นของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดเกิดการเพิ่มจำนวนและเคลื่อนย้าย เป็นผลให้เกิดภาวะหลอดเลือดหดตัวเฉพาะที่ (vasoconstriction), มีการสะสมของคอลลาเจนและ matrix, เกิดการผลิต fibrous cap และเซลล์ภูมิคุ้มกันและเกิดการดึงดูดเกล็ดเลือดส่งผลให้เกิดการกระตุ้น¹³

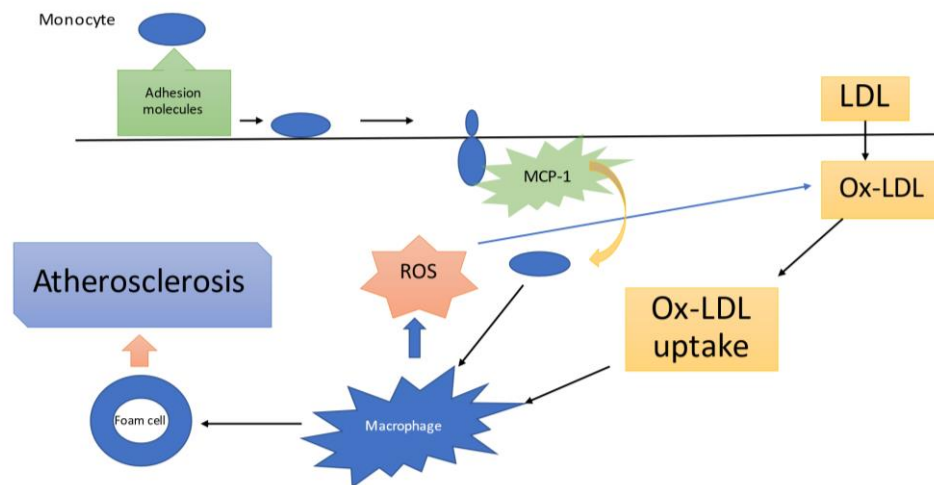
พบว่า fibrous atherosclerotic plaque cap (ซึ่งประกอบด้วยเนื้อเยื่อไฟเบอร์ที่เต็มไปด้วยคอลลาเจน, เซลล์กล้ามเนื้อเรียบ, macrophages และ T lymphocytes) เกิดขึ้นระหว่างการเคลื่อนย้ายของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบจาก media ไปยัง intima vascular layers และชักนำให้เกิดการผลิตของเหลวนอกเซลล์ (extracellular matrix) ใน การเกิด atheroma โดยทำให้เกิดบาดแผล (atheromatous lesions) ที่พัฒนาจาก macrophages และการลดลงของการไหลเวียนเลือดในหลอดเลือด นอกจากนี้ atherosclerotic plaque ยังเกิดจากองค์ประกอบของ fibrous cap โดยที่ macrophages และ T lymphocytes จะหลั่ง metalloproteinase และ TNF- α ที่ชอบของแผ่น plaque ซึ่งพัฒนามาเพื่อให้เกิดการแตกของของเหลวนอกเซลล์ของ fibrous cap และยับยั้งการสร้างคอลลาเจนในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ นำไปสู่การทำลาย fibrous cap และเนื้อในของการเกิดลิ่มเลือดที่สัมผัสกับกระแสเลือดทำให้เกิดกระบวนการการแข็งตัวของเลือด เกิดลิ่มเลือด การเกาะตัวของเกล็ดเลือดและการเกิดลิ่มเลือด ซึ่งจะไปอุดตันหลอดเลือดแดงอย่างสมบูรณ์^{2,24,25}

จากการศึกษาใน apolipoprotein E knock-out (apoE^{-/-}) mice ซึ่งเป็น heterozygous สำหรับ superoxide dismutase (SOD2^{+/-}) knockout จะมีการพัฒนาเพิ่มขึ้นกลายเป็นภาวะหลอดเลือดแข็ง²⁰

สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระเป็นโมเลกุลที่สามารถทำให้เป็นกลางของการเกิดออกซิเดชันของ ROS ก่อนที่จะไปทำปฏิกิริยากับชีวโมเลกุลของเซลล์ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหรือการทำงาน สารต้านอนุมูลอิสระเป็นระบบป้องกัน (defense systems) ซึ่งแบ่งได้เป็น 2 ระดับ^{2,26} ดังนี้

1. Primary defense mechanism: เป็นกลไกการป้องกันที่ยับยั้งความเสียหายจากออกซิเดชันโดยตรงโดยขจัดอนุมูลอิสระก่อนที่มันจะทำให้เกิดความเสียหายต่อ

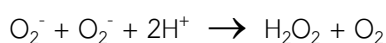


รูปที่ 1 ภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชันในภาวะหลอดเลือดแข็ง การเพิ่มขึ้น ROS จะเกี่ยวข้องกับภาวะหลอดเลือดแข็ง ROS จะทำให้เกิดการเปลี่ยน low-density lipoprotein (LDL) ไปเป็น oxidized low-density lipoprotein (Ox-LDL) แล้วไปมีผลกระตุ้น monocyte ในระบบไหลเวียนให้เคลื่อนตัวไปที่ subendothelial space เป็นสาเหตุเกิดการบาดเจ็บต่อเซลล์เยื่อหลอดเลือด Ox-LDL จะถูกเก็บกินโดย macrophages แล้วกลายไปเป็น foam cells นำไปสู่การเกิด atherosclerotic plaque¹³

โมเลกุลภายในเซลล์ เอนไซม์ภายในจะมีบทบาทสำคัญใน
ขั้นตอนนี้ ในระดับนี้มี 4 ขั้นตอนด้วยกัน² คือ

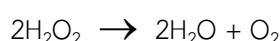
Superoxide dismutase (SOD) ซึ่งมี 2 รูปแบบ
ได้แก่ tetrameric Mn-SOD พบในไมโทคอนเดรีย อีก
รูปแบบหนึ่ง คือ dimeric Cu/Zn-SOD พบในไซโตซอล
โดยที่ SOD จะเปลี่ยน O_2^- ให้กลายเป็น H_2O_2 :

SOD



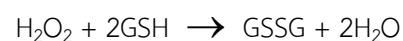
H_2O_2 จะถูกเปลี่ยนโดยเอนไซม์ catalase (Cat)
และ GPx ให้กลายเป็นน้ำและโมเลกุลของออกซิเจน:

Cat



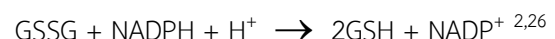
Glutathione peroxidase (GPx) เป็นเอนไซม์ที่จะ
เร่งปฏิกิริยาการเกิดรีดักชันของ H_2O_2 ให้กลายเป็นน้ำโดย
การใช้ glutathione (GSH):

GPx



Glutathione disulfide (GSSG) ถูกรีดิวซ์กลับเป็น
GSH โดย GSH reductase:

GSH reductase



2. Secondary defense mechanism (chain-breaking defense): ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี และกรด
ยูริก ซึ่งจะขจัดอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังมี nuclear
enzyme ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งในการซ่อมแซม DNA²

โดยทั่วไปแล้วสารต้านอนุมูลอิสระจะแบ่งเป็น 2
กลุ่ม คือ สารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นเอนไซม์และสารต้าน
อนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์ สารต้านอนุมูลอิสระที่เป็น
เอนไซม์จากภายในร่างกาย ได้แก่ SOD, Cat, GPx และ
thioredoxin reductase (TrxR) สำหรับสารต้านอนุมูล

อิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์จากภายในร่างกาย ได้แก่ GSH, กรดยูริก, bilirubin, coenzyme Q (CoQ/CoQH₂) และ lipoic acid ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์จากภายนอกในร่างกาย เช่น α -tocopherol (วิตามินอี), ascorbic acid (วิตามินซี), วิตามินบี, carotenoids และ polyphenols มีรายละเอียดดังนี้²

1) สารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นเอนไซม์จากภายในร่างกาย:

a) SOD จะทำให้ O₂⁻ เป็นกลาง ป้องกันการเกิด peroxyneutrite และการเกิดรีดักชันของ transition-metal ions SOD จะไปเร่งปฏิกิริยา O₂⁻ ให้กลายเป็น H₂O₂ และ O₂ ทำให้ช่วยลดขนาดของรอยโรคหลอดเลือดแข็ง โดยการลดระดับของ F₂-isoprostanes และ isofurans ในหลอดเลือดแดงใหญ่ผ่านการยับยั้ง MCP-1 และ VCAM-1 (ซึ่งเป็น adhesion molecules) จากการศึกษาใน apoE^{-/-} mice การเพิ่มขึ้นอย่างมากของ SOD และ Cat จะช่วยลด H₂O₂ ส่งผลให้ช่วยลดภาวะหลอดเลือดแข็ง

b) Cat มีอยู่ใน peroxisomes และทำการเปลี่ยน H₂O₂ ให้กลายเป็นน้ำ นอกจากนี้ยังช่วยชักนำให้เกิดการลดในการเพิ่มจำนวนของ VSMC Cat จะป้องกันและต่อต้านภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชันในภาวะหลอดเลือดแข็ง จากการทดลองพบว่า Cat อาจช่วยฟื้นฟูภาวะหลอดเลือดแข็งในแบบจำลองของหนูถีบจักรที่ให้อาหารที่มีไขมันสูง (high-fat diet mice models)

c) GPx เป็นเอนไซม์ selenocysteine ที่ไปรีดิวซ์ peroxide โดยเฉพาะ lipid hydroperoxides ไปเป็นแอลกอฮอล์ กลไกที่สำคัญของ GPx ในการป้องกันและรักษาภาวะหลอดเลือดแข็งจากการยับยั้ง H₂O₂ ที่เกิดจากการแสดงออกของ MCP-1 และ VCAM-1 นอกเหนือจากฤทธิ์ด้านการอักเสบ จากการศึกษา apoE^{-/-} mice พบว่าการเพิ่มของ GPx จะยับยั้งการเพิ่มจำนวนของ adhesion molecules, monocytes และ pro-atherogenic processes อื่น ๆ^{2,12,20}

d) TrxR กลไกการออกฤทธิ์ของ thioreductase เกิดขึ้นจาก redox regulation ในการส่งสัญญาณและการมีชีวิตรอดของเซลล์ การเพิ่ม NO bioavailability และการลดลงของภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชันและการเกิดบาดแผล^{2,12,20}

2) สารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์จากภายในร่างกาย:

a) GSH เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็น tripeptide ขนาดเล็กและละลายในน้ำที่พบได้ในเซลล์ และเป็น co-factor ของสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นเอนไซม์ เช่น GPx GSH มีฤทธิ์ไปปรับเปลี่ยนผลของภาวะหลอดเลือดแข็งใน aortic arch โดยการไปไล่ hydroxide (OH), hypochlorous acid (HOCl) และ peroxyneutrite (ONOO⁻)

b) CoQ จะพบใน cellular membrane เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ขอบไขมันที่มีคุณสมบัติด้านการอักเสบและ CoQ10 เป็นรูปแบบหลักที่พบในมนุษย์ CoQ จะยับยั้งการออกซิเดชันของไขมันและโปรตีนและรีดิวซ์การเปลี่ยน α -tocopheroxyl radical ไปเป็น α -tocopherol นอกจากนี้ไปไล่ peroxy radicals ช่วยทำให้การทำงานของ endothelium ดีขึ้น

c) Bilirubin ออกฤทธิ์ยับยั้งออกซิเดชันของโปรตีนทำให้การกระตุ้นและความผิดปกติของ endothelium รวมทั้งการเพิ่มจำนวนของ SMC ลดลงยับยั้ง leukocyte adhesion ต่อเซลล์เยื่อหลอดเลือด

d) กรดยูริก กรดยูริกเป็นผลพลอยได้จาก purine catabolism มีสองสารตั้งต้นด้วยกัน คือ hypoxanthine และ xanthine จะถูกเปลี่ยนโดยเอนไซม์ตัวเร่งปฏิกิริยาคือ xanthine oxidase (XO) กลไกของกรดยูริกจะเพิ่มการผลิต cytokine ไล่ OH และ HOCl ซึ่งเป็นตัวไปกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองทางการอักเสบ, เพิ่ม SMC ทำให้เกิดความผิดปกติของ endothelium

e) Lipoic acid จะถูกสร้างโดยไมโทคอนเดรียเป็น cofactor สำหรับ mitochondrial α -ketoacid dehydrogenases (เช่น pyruvate dehydrogenase

complex) ซึ่งจะยับยั้งการพัฒนาของรอยโรคหลอดเลือด นอกจากนี้ยังไปขัด ONOO⁻, HOCl และ peroxy radicals ภายใต้ออกฤทธิ์ของ lipoic acid คือ การลด endothelial dysfunction, inflammatory markers และไปเพิ่มฤทธิ์ของ eNOS²

3) สารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์จากภายนอก ร่างกาย (สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติ):

a) วิตามินอี ป้องกันการเกิดภาวะหลอดเลือดแข็งโดยการขจัดอนุมูลอิสระใน VSMC ลดออกซิเดชันของ LDL โดยการยับยั้งของ Cluster Differentiating 36 (CD36) และการ expression ของ Scavenger receptor class B type I (SR-BI) ใน VSMC ลดการเพิ่มจำนวน VSMC ผ่านทางการยับยั้งของ protein kinase C (PKC) ป้องกันการเกิด foam cells ลดการหลั่ง cytokines และ matrix ภายนอกเซลล์ใน VSMC ป้องกันการแทรกซึมของ mononuclear cell ลดการอักเสบ ขจัดความไม่เสถียรของ fibrous plaque ยับยั้ง apoptosis ของ VSMC ปรับเปลี่ยนการถ่ายทอดสัญญาณและ gene expression ใน VSMC เพิ่ม expression ของ connective tissue growth factor (CTGF) ใน VSMC ป้องกันความผิดปกติของ endothelium ที่สัมพันธ์กับคลอเลสเตอรอล ปรับเปลี่ยนเซลล์เยื่อหลอดเลือด และ expression ของ VCAM-1 และ ICAM-1 ป้องกัน lysophosphatidylcholine (LPC) ที่ชักนำให้เกิดความผิดปกติของ endothelium ปรับเปลี่ยน monocytes, macrophages, T-cells และ mast cells เพิ่ม expression ของ phospholipase A₂ (PLA₂), cyclooxygenase และ prostacyclin (PGI₂) ที่ขยายหลอดเลือดในเซลล์เยื่อหลอดเลือด ยับยั้งการเกิดการอุดตันของหลอดเลือด

b) วิตามินซี เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายในน้ำและมีความสามารถไปขัด peroxy radicals และ HOCl นอกจากนี้ยังมีส่วนร่วมของ vasomotor function ที่ขึ้นกับ NO การเพิ่มฤทธิ์ของ NOS (การผลิต NO) ปรับปรุงการทำงานของ endothelial dysfunction และ

ทำให้หลอดเลือดคลายตัว ยับยั้ง cyclooxygenase ลด cell-cell adhesion ทำให้เกิดการรั่วไหลของสารต้านอนุมูลอิสระภายในร่างกาย ได้แก่ วิตามินอี ยังทำให้เกิดการกีดกันการเกาะกลุ่มกันของ leukocyte และการยึดติดต่อ endothelium และไปขัด ROS (เช่น O₂⁻, HOCl)

c) วิตามินเอและ carotenoids จะไปขัดอนุมูลอิสระและป้องกัน LDL peroxidation β-carotene จะลดระดับของคลอเลสเตอรอลโดยยับยั้ง HMG-CoA reductase (3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A reductase) นอกจากนี้ carotenoids ยังเพิ่ม LDL receptor activity ของ macrophage และลด LDL ในระบบไหลเวียน ลดการอักเสบ ลดภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชัน ลด endothelial dysfunction

d) Polyphenols สารประกอบนี้แบ่งได้หลายกลุ่ม ได้แก่ flavonoids, phenolic acids (เช่น caffeic acid, gallic acid), stilbenes (เช่น resveratrol) และ lignans (เช่น secoisolariciresinol) flavonoids เป็นกลุ่มใหญ่สุดแบ่งออกได้เป็น flavonols (เช่น quercetin), flavones (เช่น apigenin, luteolin), flavanones (naringenin, hesperetin), flavan-3-ols (catechin และ oligomers: proanthocyanidins), isoflavones (เช่น genistein) และ anthocyanins (เช่น delphinidin, cyanidin)

กลไกของ polyphenols จะเกี่ยวข้องกับกีดขวางการสร้าง ROS, ขจัด ROS, เพิ่ม expression ของ eNOS และสร้าง NO หรือลดการเกิดออกซิเดชันของ NO โดยการเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียมอิสระภายในเซลล์และโดยกระตุ้นตัวรับแอสโตรเจนในเซลล์ของ endothelium, ปิดกั้นฤทธิ์ของ XO และ protein kinase C เพื่อป้องกันการผลิต O₂⁻, ป้องกันเซลล์ endothelium ของหลอดเลือดและ NO จากการเกิดออกซิเดชัน นอกจากนี้ยังลดการกระตุ้นยีนที่ไวต่อปฏิกิริยา redox, เพิ่มการผลิต vasodilatory factors, ยับยั้ง angiogenesis, ลดการเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือดและความดันโลหิตสูง²

บทสรุป

ROS จากกระบวนการต่าง ๆ ในการดำเนินชีวิตจะเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคมามากมายรวมทั้งภาวะหลอดเลือดแข็ง โดยมีการเสียสมดุลอันเนื่องจากผลิตอนุมูลอิสระ (ROS) ที่มากเกินไปความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระจะกำจัดได้ทำให้เกิดภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชัน ถือเป็นปัจจัยสำคัญในพยาธิสภาพของการเกิดภาวะหลอดเลือดแข็งจะเกี่ยวข้องกับความเสื่อมสภาพของไขมันและการแข็งตัวของหลอดเลือด มีการหนาตัวและแข็งขึ้นของหลอดเลือด โดยมีสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้เป็นกลางของการเกิดออกซิเดชันของ ROS ก่อนที่จะไปทำปฏิกิริยากับชีวโมเลกุลของเซลล์ทำให้เกิดการเปลี่ยนโครงสร้างหรือการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระเป็นระบบป้องกันเพื่อลดภาวะของหลอดเลือดแข็งได้

เอกสารอ้างอิง

- Matei D, Buculei I, Luca C, Corciova C-P, Andritoi D, Fuior R, et al. Impact of non-pharmacological interventions on the mechanisms of atherosclerosis. *Int J Mol Sci.* 2022;23:1-26.
- Malekmohammad K, Sewell RDE, Rafieian-Kopaei M. Antioxidants and atherosclerosis: Mechanistic aspects. *Biomolecules.* 2019;9:1-19.
- Frak W, Wojtasiriska A, Lisiriska W, Miynarska E, Franczyk B, Rysz J. Pathophysiology of cardiovascular diseases: new insights into molecular mechanisms of atherosclerosis, arterial hypertension, and coronary artery disease. *Biomedicines.* 2022;10:1-17.
- Verma S, Singh P, Khurana S, Ganguly NK, Kukreti R, Saso L. Implications of oxidative stress in chronic kidney disease: a review on current concepts and therapies. *Kidney Res Clin Pract.* 2021;40(2):183-193.
- Halliwell B. Current Status Review: Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J Exp Path.* 1989;70:737-757.
- Kulesza KA, Oniszczyk A, Oniszczyk T, et al. The influence of common free radicals and antioxidants on development of Alzheimer's disease. *Biomed Pharmacother.* 2016;78:39-49.
- Mimic-Oka J, Simic DV, Simic TP. Free radicals in cardiovascular diseases. *Med Biol.* 1999;6(1):11-22.
- Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol.* 2001;54:176-186.
- Khan F, Butler R. Free radicals in cardiovascular disease. *Proc R Coll Physicians Edinb.* 1998;28:102-110.
- Bahorun T, Sooratte MA, Luimon-Ramma V, et al. Free radicals and antioxidants in cardiovascular health and disease. *Internet J Med Update.* 2006;1(2):25-41.
- Vogiatzi G, Tousoulis D, Stefanadis C. The role of oxidative stress in atherosclerosis. *Hellenic J Cardiol.* 2009;50:402-409.
- Park J-G, Oh GT. The role of peroxidases in the pathogenesis of atherosclerosis. *BMB Rep.* 2011;44(8):497-505.
- Bonomini F, Tengattini S, Fabiano A, et al. Atherosclerosis and oxidative stress. *Histol Histopathol.* 2008;23:381-390.
- Demirbas AB, Yesilkaya B. Oxidative stress, atherosclerosis and dietary recommendations. *Akd Med J.* 2022;8(1):101-108.
- Chen X, Guo X, Ge Q, Zhao Y, Mu H, Zhang J. ER stress activates the NLRP3 inflammasome: A novel mechanism of atherosclerosis. *Oxid Med Cell Longev.* 2019:1-18.
- Tucker WD, Arora Y, Mahajan K. Anatomy, Blood Vessels. *StatPearls [Internet].* 2022 [cited on 20 March 2023]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470401/>
- Yang X, Li Y, Ren X, et al. Oxidative stress-mediated atherosclerosis: mechanisms and therapies. *Front Physiol.* 2017;8:1-15.
- Lewis Y. Atherosclerosis and antioxidants. *Sci J Lander Coll Arts Sci.* 2010;3(1):58-69.
- Niki E. Do free radicals play causal role in atherosclerosis? Low density lipoprotein oxidation and vitamin E revisited. *J Clin Biochem Nutr.* 2011;48(1):3-7.
- Poznyak AV, Grechko AV, Orekhova VA, Chegodaev YS, Wu W-K, Orekhov AN. Oxidative stress and antioxidants in atherosclerosis development and treatment. *Biology (Basel).* 2020;9(60):1-14.
- Perrotta I, Aquila S. The role of oxidative stress and autophagy in atherosclerosis. *Oxid Med and Cell Longev.* 2015:1-10.

22. Edae KC, Tofik E. Biomarkers of oxidative stress and its role in atherosclerosis development. *Biomed J Sci Tech Res.* 2020;32(1):24659-24669.
23. Toledo-Ibelles P, Mas-Oliva J. Antioxidants in the fight against atherosclerosis: Is this a dead end? *Curr Atheroscle Rep.* 2018;20(36):1-12.
24. Scheicher E, Friess U. Oxidative stress, AGE, and atherosclerosis. *Kidney Int.* 2007;72:S17-S26.
25. Yamada N. Atherosclerosis and oxidative stress. *Japan Med Assoc J.* 2001;44(12):529-534.
26. Kumar S, Pandey AK. Free radicals: Health implications and their mitigation by herbals. *Br J Med Med Res.* 2015;7(6):438-457.