ความสัมพันธ์ของภาวะเครียดออกซิเดชั่นและภาวะไขมันในเลือดสูง

กนกวรรณ จารุกำจร[1*] วิลัดดา สินทร[1] ชรินญา พิมพ์สอน[2]

[1]กลุ่มวิจัยฤทธิ์ทางยาของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติโดยเทคโนโลยีชีวภาพทางเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

[2]บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทคัดย่อ

เนื่องจากระดับไขมันในเลือดสูงมีรายงานความสัมพันธ์กับปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันและภาวะเครียดออกซิเดชั่นของหลอดเลือด ดังนั้น การทบทวนความสัมพันธ์ระหว่างภาวะเครียดออกซิเดชั่นและภาวะไขมันในเลือดสูงจึงเป็นข้อมูลสนับสนุนแนวทางการศึกษากลไกการเกิดโรคในระดับอณูชีววิทยา เพื่อป้องกันหรือลดภาวะความไม่สมดุลของระบบต้านออกซิเดชั่น อันจะเป็นการลดอุบัติการณ์ของโรคไขมันในเลือดสูง และ/หรือพัฒนาการของการเกิดโรคแทรกซ้อนต่างๆ

ภาวะเครียดออกซิเดชั่น (oxidative stress) เกิดจากความไม่สมดุลระหว่างอนุมูลอิสระกับระบบต้านออกซิเดชั่นในร่างกาย ส่งผลให้ดีเอ็นเอ โปรตีน ไขมัน ถูกทำลายโดยปฏิกิริยาออกซิเดชั่น ภาวะไขมันในเลือดสูงเป็นโรคหนึ่งที่เกิดจากความผิดปกติของขบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายร่วมกับพฤติกรรมการบริโภคอาหารที่มีไขมันปริมาณมากเป็นเหตุให้เกิดภาวะที่มีระดับคอเลสเตอรอลในเลือดสูง (hypercholesterolemia) ซึ่งชักนำให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้นและทำให้การทำงานของระบบต้านอนุมูลอิสระลดลง ส่งผลเพิ่มความเสี่ยงของการเกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆ อาทิ โรคความดันเลือดสูง โรคหัวใจและหลอดเลือด และโรคเบาหวาน เป็นต้น

คำสำคัญ: ระบบต้านอนุมูลอิสระ คอเลสเตอรอลในเลือดสูง อนุมูลอิสระ โรคไขมันในเลือดสูง ภาวะเครียดออกซิเดชั่น

***ผู้รับผิดชอบบทความ**

รศ.ดร. กนกวรรณ จารุกำจร

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

E-mail: kanok_ja@kku.ac.th

The Relation of Oxidative Stress and Hypercholesterolemia

Kanokwan Jarukamjorn[1*], Wiladda Sinthorn[1], Charinya Pimson[2]
[1]Research Group for Pharmaceutical Activities of Natural Products using Pharmaceutical Biotechnology (PANPB), Faculty of Pharmaceutical Sciences, National Research University-Khon Kaen University
[2]Graduate School, Khon Kaen University

Abstract

High cholesterol level has been correlated with lipid peroxidation and oxidative stress of vessels. Therefore, review on the relation of oxidative stress and hypercholesterolemia could bring supportive information for studying of the pathogenesis at molecular level in order to prevent or descend the imbalance of antioxidative system to diminish the incidence of hypercholesterolemia and/or incurrent complications.

Oxidative stress is an imbalance between production of free radicals and antioxidative system in the body, resulted in damage of DNA, protein, and fat by lipid peroxidation process. Hypercholesterolemia is a metabolic disorder disease associated with behavior of high fat diet consumption, subsequently leading to high cholesterol in vessels which triggers free radical formation and decreases antioxidant capability. These have been implicated as a risk factor for complication symptoms such as hypertension, cardiovascular disease, or diabetes mellitus, etc.

Keywords: antioxidant system, cholesterolemia, free radical, hypercholesterolemia, oxidative stress

[*]**Corresponding author**
Assoc. Prof. Dr. Kanokwan Jarukamjorn
Faculty of Pharmaceutical Sciences, National Research University-Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand
E-mail: kanok_ja@kku.ac.th

บทนำ

ภาวะเครียดออกซิเดชั่นเกิดจากความไม่สมดุลของปฏิกิริยารีดอกซ์ในร่างกาย เป็นสาเหตุหนึ่งของโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง อาทิ โรคเบาหวาน โรคไขมันในเลือดสูง และโรคไขมันเกาะตับ เป็นต้น และในทางกลับกันภาวะโรคสามารถส่งผลให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่นที่รุนแรงขึ้นและซ้ำเติมให้โรคมีพัฒนาการที่รุนแรงเพิ่มขึ้นได้เช่นกัน

ภาวะไขมันในเลือดสูงเป็นปัจจัยเสี่ยงหนึ่งของโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง ได้แก่ โรคหลอดเลือดแข็งตัว (atherosclerosis) ซึ่งนำไปสู่โรคหัวใจขาดเลือด อันนับเป็นสาเหตุอันดับต้นๆ ของการเสียชีวิต ภาวะไขมันในเลือดสูงเกิดจากหลายสาเหตุ อาทิ กรรมพันธุ์ การรับประทานอาหารที่มีไขมันสูง โดยเฉพาะไขมันจากเนื้อสัตว์ โรคของต่อมไร้ท่อบางชนิด เช่น เบาหวาน ธัยรอยด์ และโรคของต่อมหมวกไตบางอย่าง โรคตับ โรคไตบางชนิด หรือการใช้ยาบางชนิด เช่น สเตียรอยด์ ฮอร์โมนเพศ (ยาคุมกำเนิด) เป็นต้น รวมถึงการตั้งครรภ์ การดื่มแอลกอฮอล์ และการขาดการออกกำลังกาย[1]

เนื่องจากระดับไขมันในเลือดสูงมีรายงานความสัมพันธ์กับปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันและภาวะเครียดออกซิเดชั่นของหลอดเลือด[2] โดยเฉพาะหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงหัวใจ ดังนั้น จึงมุ่งทบทวนความสัมพันธ์ระหว่างภาวะเครียดออกซิเดชั่นและภาวะไขมันในเลือดสูง เพื่อเป็นข้อมูลนำไปสู่การศึกษากลไกการเกิดโรคที่ชัดเจนในระดับอณูชีววิทยา เพื่อการป้องกันหรือลดภาวะความไม่สมดุลของระบบต้านออกซิเดชั่น อันจะเป็นแนวทางในการลดอุบัติการณ์การเกิดโรคแทรกซ้อนและพัฒนาคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยโรคไขมันในเลือดสูงอีกทางหนึ่ง

ไขมันในเลือด

คอเลสเตอรอล (cholesterol) เป็นไขมันที่ประกอบด้วยสเตียรอยด์ (steroid) ลิปิด (lipid) และแอลกอฮอล์ พบในเยื่อหุ้มเซลล์ของทุกเนื้อเยื่อในร่างกาย ส่วนใหญ่ถูกสังเคราะห์ขึ้นภายในร่างกายโดยตับและลำไส้หรือโดยการได้รับจากอาหารที่รับประทานเข้าไปโดยเฉพาะไขมันจากสัตว์ คอเลสเตอรอลจะสะสมมากในเนื้อเยื่อของอวัยวะที่สร้าง เช่น ตับ ไขสันหลัง สมอง และผนังหลอดเลือดแดง คอเลสเตอรอลเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเซลล์ต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเซลล์สมอง[3,4] แต่คอเลสเตอรอลที่มากเกินจะไปสะสมตามผนังหลอดเลือดแดงทั่วร่างกาย เช่น หลอดเลือดสมอง หลอดเลือดหัวใจ ทำให้เส้นเลือดแข็งตัวและเกิดการตีบ/ตัน คอเลสเตอรอลละลายในน้ำได้น้อยมาก เนื่องจากโมเลกุลมีไขมันเป็นส่วนประกอบจำนวนมาก ดังนั้นการเคลื่อนย้ายคอเลสเตอรอลในกระแสเลือดจึงต้องการเกาะกับไลโปโปรตีน (lipoprotein) โดยไลโปโปรตีนขนาดใหญ่ที่สุดที่ทำหน้าที่ขนส่งคอเลสเตอรอลและไขมันอื่น เช่น ไตรกลีเซอไรด์จากลำไส้เล็กไปยังตับ คือ ไคโลไมครอน (chylomicron) ในตับอนุภาคไคโลไมครอนจะจับกับไตรกลีเซอไรด์และคอเลสเตอรอลกลายเป็นไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ (low density lipoprotein หรือ LDL) ทำให้ไตรกลีเซอไรด์และคอเลสเตอรอลสามารถเคลื่อนย้ายไปยังเซลล์อื่นๆ ของร่างกายได้ ส่วนไลโปโปรตีนความหนาแน่นสูง (high density lipoprotein หรือ HDL) จะทำหน้าที่นำคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์จากเซลล์ต่างๆ ทั่วร่างกายกลับมาที่ตับเพื่อกำจัดต่อไป[5]

ไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride หรือ TG) เป็นไขมันชนิดหนึ่งที่สร้างขึ้นได้เองภายในร่างกายจาก

การรับประทานอาหารจำพวกน้ำตาลและแป้ง TG มีความสำคัญทางด้านโภชนาการหลายประการ นับตั้งแต่ให้พลังงาน ช่วยในการดูดซึมวิตามิน เอ ดี อี และเค และช่วยทำให้รู้สึกอิ่มท้องอยู่นาน ร่างกายเก็บสะสม TG ไว้เพื่อให้พลังงานเมื่อจำเป็น การมีระดับ TG ในเลือดสูงและ/หรือร่วมกับการมีระดับคอเลสเตอรอลสูงจะเพิ่มโอกาสของโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ[6]

LDL เป็นไลโปโปรตีนโมเลกุลเชิงซ้อนที่มี TG ได้แก่ ไตรกลีเซอรอล (triacylglycerol) และ/หรือคอเลสเตอรอลเอสเทอร์ 1 (cholesteryl esters) อยู่บริเวณแกนกลาง อะโปโปรตีน (apoproteins) ฟอสโฟลิปิด (phospholipid) และอันเอสเทอร์ลิฟายด์คอเลสเตอรอล (unesterified cholesterol) ล้อมรอบอยู่บริเวณผิวชั้นนอก จากการจัดเรียงโครงสร้างในลักษณะนี้ส่งผลให้ไลโปโปรตีนมีส่วนที่มีขั้วอยู่บริเวณผิวจึงสามารถละลายในพลาสมาและถูกนำส่งไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ ได้[7] LDL ถูกออกซิไดซ์ได้ง่าย การเกิดออกซิเดชั่นของ LDL หมายถึงการเกิดเปอร์ออกซิเดชั่น (peroxidation) ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว การเกิดไฮดรอกซิเลชั่น (hydroxylation) ของคอเลสเตอรอล และการเกิดออกซิเดชั่นของกรดอะมิโนในอะโปไลโปโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของ LDL ทำให้มี LDL อยู่ในรูปที่ถูกออกซิไดซ์ (oxidized LDL หรือ OLDL) ในกระแสเลือด โดยปกติเซลล์ของเนื้อเยื่อต่างๆ จะนำเอา LDL เข้าสู่เซลล์ในปริมาณจำกัดเท่าที่เซลล์ต้องการเท่านั้น ดังนั้นถ้าระดับ LDL สูงในกระแสเลือดจะทำให้มี LDL ส่วนเกินสะสมอยู่ในกระแสเลือดจึงมีโอกาสเกิด OLDL เพิ่มมากขึ้น ซึ่ง OLDL นี้จะถูกทำลายได้โดยเซลล์มาโครฟาจ์ (macrophage) โดยการนำ OLDL เข้าสู่เซลล์ผ่านสคาเวนเจอร์รีเซฟเตอร์ (scavenger receptor) ซึ่งสคาเวนเจอร์รีเซฟเตอร์สามารถจับ OLDL ได้โดยไม่จำกัดปริมาณ เซลล์มาโครฟาจ์ที่จับ OLDL เข้าไปมากๆ จะมีคอเลสเตอรอลปริมาณมากในเซลล์ เซลล์จึงมีลักษณะคล้ายกับมีฟองอยู่เต็มเซลล์ เรียกเซลล์ที่มีลักษณะดังกล่าวว่า เซลล์โฟม (foam cell) [8] ซึ่งเซลล์เหล่านี้มักจะไปเกาะที่ผนังเส้นเลือดฝอยและสะสมเกิดเป็นแผ่นพลาค (plaque) ที่ผนังเส้นเลือดฝอยทำให้เกิดโรคหลอดเลือดแข็งตัว (atherosclerosis) ถ้าสะสมมากจนอุดตันเส้นเลือดฝอยที่ไปเลี้ยงกล้ามเนื้อหัวใจจะทำให้เกิดอาการหัวใจวาย (heart attack) ได้[9]

ภาวะเครียดออกซิเดชั่น (Oxidative stress)

ภาวะเครียดออกซิเดชั่นคือภาวะที่มีอนุมูลอิสระ (free radical) ในร่างกายมากจนสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายมีปริมาณไม่เพียงพอส่งผลให้เกิดการทำลายออกซิเดชั่น (oxidative damage) ต่อดีเอ็นเอ โปรตีน ไขมันและโมเลกุลขนาดต่างๆ[10] โรคบางโรคมีสาเหตุจากการที่ดีเอ็นเอ โปรตีน และไขมัน ถูกทำลายด้วยกระบวนการออกซิเดชั่น ในขณะที่บางโรคนั้นภาวะเครียดออกซิเดชั่นไม่ได้เป็นสาเหตุเบื้องต้นแต่เป็นผลสืบเนื่องจากกระบวนการของโรคที่ส่งผลให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อ อาทิ การติดเชื้อ (infection) การบาดเจ็บ (trauma) หรือการได้รับสารพิษ (toxins) ซึ่งเป็นต้นเหตุของการสร้างและสะสมอนุมูลอิสระที่ก่อให้เกิดพยาธิสภาพของโรค ภาวะไม่สมดุลของปฏิกิริยารีดอกซ์ในร่างกายมีผลรบกวนการแสดงออกของยีนและภาวะของโรคต่างๆ อาทิ โรคระบบหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular diseases) โรคมะเร็ง (cancer) โรคเบาหวาน

(diabetes) โรคระบบประสาท (neurological diseases) โรคระบบภูมิคุ้มกัน (immune diseases) โรคตา (eye diseases) และภาวะชราภาพ (aging process)[2]

อนุมูลอิสระ (free radical) หมายถึง สาร หรือโมเลกุลใดๆ ที่มีอิเลคตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electron) ที่ชั้นนอกสุดทำให้มีความไวต่อการทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นๆ[11] สารหรือโมเลกุลใดจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระหรือไม่นั้นขึ้นกับปฏิกิริยาทางเคมีที่มีการรับหรือสูญเสียอิเลคตรอนหรืออาจเกิดจากการแตกหัก (hemolytic fission) ที่อาศัยพลังงานจากความร้อนหรือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่ให้อิเลคตรอนออกมา อนุมูลอิสระสามารถเกิดได้แม้ในสภาวะการทำงานปกติของร่างกายในกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการใช้ออกซิเจน ได้แก่ การทำงานของเอนไซม์บางชนิดในร่างกาย การขนส่งอิเลคตรอนในไมโตรคอนเดรีย การแสดงออกของยีน การกระตุ้นนิวเคลียร์ทรานสคริปชั่นแฟคเตอร์ (nuclear transcription factor) การเกิดปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี (antigen- antibody reaction) ตลอดจนการทำงานของแมคโครฟาจ ภาวะชราภาพของร่างกาย (aging) หรือพยาธิสภาพของโรคต่างๆ นอกจากนี้การได้รับสารจากภายนอกร่างกาย (xenobiotics) หรือกระบวนการเมแทบอลิซึมผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (oxidative metabolism) ก็สามารถเหนี่ยวนำการสร้างอนุมูลอิสระได้[11-14]

อนุมูลอิสระแบ่งออกเป็นหลายประเภท ได้แก่ ***รีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์ (reactive oxygen species หรือ ROS)*** เช่น ซุปเปอร์ออกไซด์แรดิคอล (superoxide radical) ไฮดรอกซิลแรดิคอล (hydroxyl radical) ซิงเกลตออกซิเจน (singlet oxygen) บางครั้งอาจไม่จัดให้ซิงเกลตออกซิเจนเป็นอนุมูลอิสระ แต่โดยคุณสมบัติแล้วซิงเกลตออกซิเจนก็สามารถทำให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์ได้ เช่น ในขบวนการโฟโต้เซนซิไทเซชัน (photosensitization) ***ซัลเฟอร์เซนเตอร์แรดิคอล (sulfur-centered radical)*** เช่น ไทอิลแรดิคอล (thiyl radical หรือ$RS^{\bullet}$) ซึ่งสามารถรวมตัวกับโมเลกุลของออกซิเจนได้และสามารถออกซิไดซ์ NADPH ได้ รวมถึงสามารถทำให้เกิดอนุมูลอิสระชนิดอื่นๆ ได้แก่ $HO^{\bullet}$, $O_2^{\bullet}$ และ***คาร์บอนเซนเตอร์แรดิคอล (carbon-centered radical)*** เกิดจากโมเลกุลของพันธะ C-H เกิดการแตกหักได้คาร์บอนที่มีอิเลคตรอนอิสระ (carbon radical) ที่สามารถรวมตัวกับโมเลกุลของออกซิเจนได้ และสามารถออกซิไดซ์ NADPH ได้[15]

การทำลายเซลล์ต่างๆ ของร่างกายจากอนุมูลอิสระส่งผลทำให้เซลล์เสียสภาพทั้งโครงสร้างและการทำงาน โดยอาจเสียสภาพแค่เพียงบางส่วนไปจนกระทั่งสูญเสียสภาพโดยถาวร โดยอนุมูลอิสระมักจะทำลายที่เซลล์ไขมัน โปรตีน และ ดีเอ็นเอ ผ่านกระบวนการสำคัญ ดังนี้

1. ลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น เป็นการทำลายไขมันไม่อิ่มตัว (polyunsaturated lipid) ผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นและเกิดอนุมูลอิสระ ได้แก่ กรดไขมันไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (fatty acid hydroperoxides) และสารประกอบอัลดีไฮด์ (aldehydes)[15]

2. การทำลายดีเอ็นเอ อนุมูลอิสระสร้างความเสียหายแก่ดีเอ็นเอและนิวคลีโอโปรตีน (nucleoproteins) ด้วยกลไกต่างๆ ทั้งโดยทางตรงจากการทำปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระหรือโดยทางอ้อมจากการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์บาง

ชนิด เช่น แคลเซียมไอออนดีเพนเดนท์เอนโดนิวคลีเอส (Ca^{2+}-dependent endonuclease) ส่งผลให้เกิดปรากฏการณ์ต่างๆ เช่น การทำลายลำดับเบส (base lesion) การทำลายโครงสร้างของน้ำตาลที่เป็นส่วนประกอบของดีเอ็นเอ (sugar lesion) การแตกหักของดีเอ็นเอสายเดี่ยว (single stranded breaks) และการจับตำแหน่งผิดพลาดของดีเอ็นเอและโปรตีน (DNA-protein cross-links)[16]

3. การทำลายโปรตีน โปรตีนเป็นเป้าหมายสำคัญหนึ่งที่มักจะถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระ แม้ว่าความเสียหายที่เกิดขึ้นอาจไม่รุนแรงถึงขั้นทำให้เซลล์เสียสภาพเช่นเดียวกับการทำลายไขมันและดีเอ็นเอ แต่หากโปรตีนที่ถูกทำลายนั้นมีคุณสมบัติที่จำเพาะต่อการทำงานของเซลล์ เช่น เอนไซม์ต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากตำแหน่งของกรดอะมิโนที่ถูกทำลายเป็นตำแหน่งที่มีความสำคัญต่อการออกฤทธิ์ (active site) ของเอนไซม์เหล่านั้น จะทำให้เอนไซม์สูญเสียคุณสมบัติและส่งผลให้เซลล์เสื่อมสภาพได้ โดยกรดอะมิโนที่มีแนวโน้มที่จะถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระได้มากที่สุด คือ เมไธโอนีน (methionine) และซีสเทอีน (cystein) เนื่องจากเป็นกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์ (sulfur) เป็นองค์ประกอบ[17]

ระบบการต้านออกซิเดชั่น (antioxidation system) เป็นระบบที่สิ่งมีชีวิตใช้ป้องกันตนเองจากความเป็นพิษของอนุมูลอิสระโดยออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระหรือจับกับอนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระสูญเสียความไวในการเข้าทำปฏิกิริยา[13, 18] ได้แก่ เอนไซม์ที่ลดปริมาณอนุมูลอิสระโดยการกำจัดอนุมูลอิสระ เช่น ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (superoxide dismutase หรือ SOD) คะตาเลส (catalase หรือ CAT) กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase หรือ GPx) โปรตีนที่ลดปริมาณโปรออกซิแดนซ์ (pro-oxidant) ซึ่งเป็นตัวเร่งการสร้างอนุมูลอิสระหรือโปรตีนที่ช่วยป้องกันชีวโมเลกุล (biomolecules) เช่น ฮอร์โมนต่างๆ จากการทำลายเซลล์โดยอนุมูลอิสระหรือสารโมเลกุลขนาดเล็กที่มีส่วนช่วยในการลดปริมาณอนุมูลอิสระโดยการกำจัดอนุมูลอิสระ เช่น กลูตาไธโอน (glutathione) วิตามินอี (α-tocopherol) และวิตามินซี (ascorbic acid) เป็นต้น

เมื่อเกิดอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออนขึ้นภายในเซลล์ เอนไซม์ SOD จะทำการเปลี่ยนอนุมูลอิสระดังกล่าวเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) ซึ่งจะถูกเปลี่ยนไปเป็นออกซิเจน (O_2) และน้ำ (H_2O) ต่อไปด้วยเอนไซม์ CAT และ GPx ตามลำดับ สมรรถนะของเอนไซม์เหล่านี้ในแต่ละอวัยวะภายในร่างกายจะตอบสนองต่อภาวะเครียดออกซิเดชั่นได้แตกต่างกัน[19] ยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์และสมรรถนะของเอนไซม์ในระบบต้านภาวะเครียดออกซิเดชั่นจะเพิ่มสูงขึ้นในภาวะไขมันในเลือดสูง ภาวะเครียดออกซิเดชั่นนอกจากจะเกี่ยวข้องกับพัฒนาการของโรคแล้วยังส่งผลต่อการเกิดภาวะแทรกซ้อนอื่นๆ ด้วย[4]

ความสัมพันธ์ของภาวะไขมันในเลือดสูงและภาวะเครียดออกซิเดชั่น

การเพิ่มขึ้นของปริมาณไขมันคอเลสเตอรอลในเลือดจะรบกวนระบบโครงสร้างของหลอดเลือดและการสร้างผนังหลอดเลือด ตลอดจนการทำงานของหลอดเลือดในการบีบตัวหรือขนส่งกระแสเลือด หรือทำให้เกิดการอักเสบเสียหายของผนังหลอดเลือด เมื่อการทำงานของเยื่อบุผนังหลอดเลือดเสียไปหรือเสื่อมสภาพจะส่งผลให้เกิดการ

สะสมของไขมันในผนังหลอดเลือดเกิดเป็นแผ่นพลาค ทำให้การขนส่งเลือดผิดปกติ[20, 21] หรือเกิดการอุดตัน (occlusion) และกลายเป็นก้อน emboli[22] พร้อมกับกระบวนการซ่อมแซมแผลบริเวณผนังของหลอดเลือด (healing)[23] ทำให้เกิดภาวะขาดเลือด (ischemia) มาเลี้ยง ณ บริเวณนั้น เมื่อมีเลือดส่งเข้ามายังเซลล์ที่ขาดเลือดอีกครั้งจะส่งผลให้เซลล์เกิดการบาดเจ็บที่เรียกว่า รีเปอร์ฟิวชั่น (reperfusion injury)[24] นำไปสู่การสูญเสียการทำงานของหลอดเลือด[25] นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของปริมาณไขมันในหลอดเลือดที่กระตุ้นภาวะเครียดออกซิเดชั่นจะนำไปสู่การอักเสบและลดความยืดหยุ่นของหลอดเลือดทำให้หลอดเลือดเปราะและแตกง่าย[26]

ความไม่สมดุลของระบบต้านอนุมูลอิสระที่มีการผลิตอนุมูลอิสระจำพวกซุปเปอร์ออกไซด์แรดิคอล ไฮดรอกซิลแรดิคอล และลิปิดแรดิคอล (lipid radicals) จำนวนมากจะส่งผลให้เซลล์ถูกทำลายและรบกวนการทำหน้าที่ของเซลล์ในอวัยวะต่างๆ ในขณะที่โมเลกุลอื่นๆ เช่น เปอร์ออกซีไนไตรท์ (peroxynitrite) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) และกรดไฮโปคลอรัส (hypochlorous acid) จัดเป็นอนุมูลอิสระที่ถูกผลิตขึ้นภายในท่อหลอดเลือด (vasculature) โดยแมคโครฟาจจากการซ่อมแซมเยื่อบุผนังหลอดเลือดด้านใน (endothelial) ที่บาดเจ็บ/เสียหายจากการที่เซลล์กล้ามเนื้อเรียบภายในหลอดเลือดถูกทำลาย[27] ภาวะไขมันในเลือดสูงจะเพิ่มปริมาณการผลิตอนุมูลอิสระ 3 ชนิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งได้แก่ ระบบเอ็นเอดีพีเอชออกซิเดส (NADPH oxidase หรือ NOX) แซนทีนออกซิเดส (xanthine oxidase หรือ XO) และไมอีโลเปอร์ออกซิเดส (myeloperoxidase) ปฏิกิริยาของ NOX และไมอีโลเปอร์ออกซิเดสเป็นการเหนี่ยวนำการเกิดอนุมูลอิสระจากกระบวนการกำจัดสิ่งแปลกปลอมของแมคโครฟาจโดยการดึงออกซิเจนมาใช้เป็นจำนวนมากนำไปสู่การถ่ายทอดอิเลคตรอนให้กับโมเลกุลของออกซิเจนและผลิตเป็นโมเลกุลของซุปเปอร์ออกไซด์ในเยื่อบุผิวชั้นนอก (outer membrane) ของแมคโครฟาจ[28] ในขณะที่ไมอีโลเปอร์ออกซิเดสในแกรนูลของแมคโครฟาจทำให้เกิดอนุมูลไฮโปคลอรัส (hypochlorus, $HOCl^{\bullet}$)[29,30] ส่วน XO เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชั่นที่มีผลกระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระภายในร่างกาย ได้แก่ กระบวนการสลายเบสพิวรีน (purine) โดยเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนไฮโปแซนธีน (hypoxanthine) เป็นแซนธีน (xanthine) และเปลี่ยนจากแซนธีนไปเป็นกรดยูริกพร้อมๆ กับเคลื่อนย้ายอิเลคตรอนให้ออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{\bullet-}$) ในขณะที่ไมอีโลเปอร์ออกซีเดสที่เกิดจากนิวโตรฟิลด์และโมโนไซต์จะผลิตกรดไฮโปคลอรัสที่เป็นพิษ (toxic hypochlorous acid) เป็นเหตุให้การผลิตไนตริกออกไซด์ (NO) ลดลงและส่งผลให้มีการผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ออกมาเป็นจำนวนมาก[31] NO เป็นสารที่ผลิตจากเซลล์บุผิวหลอดเลือดหรืออีดีอาร์เอฟ (EDRF) ที่มีความจำเป็นในกระบวนการขยายหลอดเลือด[32] และจัดเป็นอนุมูลอิสระชนิดหนึ่งที่เป็นสารประกอบไนโตรโซ (nitroso compound) ที่สร้างมาจากแอลอาร์จินีน (L-arginine) ซึ่งเข้าสู่เซลล์ได้โดยกระบวนการที่อาศัยตัวพาเฉพาะที่เยื่อหุ้มเซลล์บุผิวหลอดเลือดแอลอาร์จินีนทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้เป็น NO โดยอาศัยไนตริกออกไซด์ซินเทส (nitric oxide synthase หรือ NOS) ส่งผลให้เกิดออกซิเดชั่นของแอลอาร์

จินีนที่ปลายไนโตรเจนของกวานิดีน (guanidine-nitrogen)[33] ในภาวะที่อินดิวซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส (inducible nitric oxide synthase หรือ iNOS) ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดขึ้นในแมคโครเฟจ (macrophage) จะช่วยสร้าง NO เพื่อให้เซลล์มีคุณสมบัติในการกำจัดจุลชีพและเซลล์ที่ผิดปกติได้ แต่การที่ iNOS ถูกเหนี่ยวนำเกินพอดีจะทำให้หมู่ไธออลและไทโรซิลของนิวคลิอิกอะดิโนไรโบซิลนิวคลิโอทิเดส (nucleic adenoribosyl nucleotidase) เสียคุณสมบัติไป โดย NO ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำนี้เป็นอันตรายต่อเซลล์เพราะเป็นการยับยั้งห่วงโซ่การหายใจและวงจรเครบส์ (respiratory chain and Krebs cycle)[34] ซึ่งเป็นกระบวนการสร้างพลังงานที่สำคัญที่สุดของเซลล์ก่อให้เกิดการตายของเซลล์ตามมาได้ นอกจาก NO จะมีอิทธิพลต่อหลอดเลือดในอวัยวะต่างๆ อันส่งผลต่อความต้านทานการไหลและการไหลของเลือดในอวัยวะนั้นๆ แล้ว NO ยังหลั่งจากเซลล์ของอวัยวะนั้นๆ ได้ด้วย โดยมีบทบาทต่อเซลล์บุผิวห้องหัวใจและเซลล์บุผิวนอกของหัวใจให้หลั่ง NO เพื่อช่วยเพิ่มแรงบีบตัวของกล้ามเนื้อหัวใจโดยตรง ดังนั้นความผิดปกติของเซลล์บุผิวนี้จะทำให้หัวใจบีบตัวได้ด้วยแรงน้อยลง[35] ดังนั้น ความผิดปกติในการสร้างและการทำงานของ NO จึงมีความเกี่ยวพันกับความผิดปกติในหลอดเลือด ได้แก่ โรคหลอดเลือดมีไขมันเกาะผนังหลอดเลือดหนา เกล็ดเลือดรวมตัวกันง่าย เกิดลิ่มในหลอดเลือดได้ง่ายความดันเลือดสูง เซลล์ถูกทำลายเนื่องจากขาดพลังงาน การควบคุมเลือดไปเลี้ยงอวัยวะต่างๆ ผิดปกติ (โดยเฉพาะกล้ามเนื้อลาย ไต หัวใจ และสมอง) โรคไตและโรคความดันเลือดสูงในปอด (pulmonary hypertension) อย่างไรก็ตามความผิดปกติเหล่านี้มิได้เกิดจากการคัดหลั่งและ/หรือการออกฤทธิ์ของ NO เพียงอย่างเดียว แต่เกิดจากการเสียสมดุลของสารอื่นๆ ในภาวะที่ NO ทำงานไม่ได้ ในเชิงสัมพัทธ์จึงช่วยเสริมให้สารที่มีฤทธิ์ตรงกันข้ามมีฤทธิ์ที่เด่นขึ้นจนเป็นอันตรายต่อร่างกายในที่สุด เช่น การขาด NO อาจทำให้เอนโดธิลิน 1 (endothelin-1) มีฤทธิ์เด่นขึ้นนำไปสู่ความต้านทานการไหลของเลือดที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความดันเลือดสูงและการเกิดลิ่มในหลอดเลือด เป็นต้น นอกจากนี้ความผิดปกติของ NO ยังทำให้การออกฤทธิ์ของสารบางชนิดผิดปกติไปด้วย เช่น แบรดีไคนิน (bradykinin) และฮีสตามีน (histamine) มีฤทธิ์ลดลงหรือหายไปเมื่อขาด NO เป็นต้น[36] เมื่อเซลล์บุผิวหลอดเลือดถูกกระตุ้นด้วยปัจจัยเฉพาะ เช่น ทีเอ็นเอฟ-แอลฟา (tumor necrosis factor-α หรือ TNF-α) จากขบวนการอักเสบจะทำให้การแสดงออกของวีซีเอเอ็ม (vascular cell adhesion moleculeหรือ VCAM) ซึ่งเป็นโมเลกุลที่กระตุ้นให้เม็ดเลือดแดงมาเกาะที่ผนังหลอดเลือดมากขึ้น เมื่อเซลล์บุผิวหลอดเลือดถูกทำลายอย่างเรื้อรังจากภาวะคอเลสเตอรอลในเลือดสูง LDL และ OLDL จะกระตุ้น VCAM จากการเร่งของไลโซฟอสฟาทิดิลโคลีน (lysophosphatidylcholine)[37] ซึ่งเป็นองค์ประกอบหนึ่งของ LDL และจะแสดงออกเป็นรอยโรคที่เซลล์บุผิวหลอดเลือด (fatty streak lesion) ในช่วงต้น ก่อให้เกิดการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดง และกลายเป็นลิ่มเลือดทำให้เลือดที่ไหลแบบสม่ำเสมอ (laminar flow) เปลี่ยนเป็นการไหลป่วน (turbulent flow) เกิดการรวมตัวของเกล็ดเลือดและเกิดลิ่มในหลอดเลือดได้ อีกทั้งเซลล์บุผิวหลอดเลือดและเม็ดเลือดขาวจะสร้างและหลั่ง ROS ออกมาส่งผลให้เกิดความไม่สมดุลของระบบต้านอนุมูลอิสระนำไปสู่การเกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่น

และส่งผลให้มีการหลั่งไซโทไคน์จากเซลล์ต่างๆ เช่น ทีจีเอฟบีตา (TGF-β หรือ transforming growth factor β) อินเทอร์ลิวคิน (interleukins) และ TNF-α ออกมาซ้ำเติมการอักเสบของร่างกายเพิ่มขึ้น[9, 38]

การเปลี่ยนแปลงของยีนและเอนไซม์ของระบบต้านภาวะเครียดออกซิเดชั่นในภาวะไขมันในเลือดสูงที่ผ่านมามีรายงานการศึกษาทั้งในสัตว์ทดลองและทางคลินิกในมนุษย์ อาทิ รายงานการศึกษาการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่นในผู้ป่วยที่มีภาวะไขมันในเลือดสูง ในปี 2008 Yang และคณะ[39] ที่พบความสัมพันธ์ของปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde หรือ MDA) ซึ่งเป็นกากผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน ที่เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยภาวะไขมันในเลือดสูงที่มีปริมาณไขมันในเลือดเพิ่มมากขึ้นอย่างชัดเจน สอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของสมรรถนะของเอนไซม์ SOD และ CAT ร่วมกับการลดลงของปริมาณกลูตาไธโอนรวม (total glutathione) และอัตราส่วนของ GSH/GSSG ในซีรั่มของหนูแรท สายพันธุ์ Sprague-Dawley ที่ถูกชักนำภาวะไขมันในเลือดสูงด้วยอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูง[40] และการเพิ่มขึ้นของระดับ MDA ในซีรั่ม ตับ และสมองของหนูแรท สายพันธุ์ Sprague-Dawley ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะไขมันในเลือดสูง[41, 42] ร่วมกับการเพิ่มขึ้นของสมรรถนะของเอนไซม์ SOD ในตับและสมองของหนูแรท

อย่างไรก็ตาม กลับพบรายงานการลดลงของสมรรถนะของเอนไซม์ SOD, CAT, GPx และกลูตาไธโอนเอสทรานเฟอร์เรส (glutathione S-transferase หรือ GST) ในหนูแรทที่ถูกเหนี่ยวนำภาวะไขมันเลือดสูงโดยการให้อาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูง (HCD) เป็นเวลานาน4 สัปดาห์[43] ในทำนองเดียวกัน ปี 2006 Pandya และคณะ[44] พบการเพิ่มขึ้นของระดับ MDA ในซีรั่มของหนูแรทสายพันธุ์ Sprague-Dawley ที่ถูกชักนำภาวะไขมันในเลือดสูงด้วย HCD นาน10 สัปดาห์ในขณะที่สมรรถนะของเอนไซม์ SOD และ CAT ลดลงทั้งนี้อาจเนื่องจากเอนไซม์เหล่านี้ถูกนำไปใช้ในการต้านอนุมูลอิสระที่เพิ่มมากขึ้น จึงตรวจวัดสมรรถนะการทำงานที่ลดลงของเอนไซม์เหล่านี้ในกระแสเลือด เช่นเดียวกับการศึกษาของ Csont และคณะในปี 2007[45] ที่พบการลดลงของสมรรถนะของเอนไซม์ SOD ในซีรั่มของหนูไมซ์ที่ถูกเหนี่ยวนำภาวะไขมันในเลือดสูงด้วย HCD เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ในขณะที่ปริมาณของ MDA และซุปเปอร์ออกไซด์รวมถึงการแสดงออกของโปรตีน NOX1 ซึ่งเป็นโปรตีนที่ควบคุมการผลิต NO ในหลอดเลือดมีระดับสูงขึ้น[31] ซึ่งบ่งชี้ถึงการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่นในหนูไมซ์ที่ถูกชักนำภาวะไขมันในเลือดสูง ภาวะไขมันในเลือดสูงจากอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูงส่งผลให้ไขมันสะสมในร่างกาย ซึ่งจะไปกระตุ้นให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่นและส่งผลให้เกิดโรคหลอดเลือดหัวใจจากการทำงานของเกล็ดเลือดที่ผิดปกติได้[46] นอกจากนี้ยังพบการแตกหักของดีเอ็นเอ (DNA-fragmentation) ในเซลล์ตับของหนูแรทที่ได้รับ HCD นาน 8 สัปดาห์ด้วย[47]

บทสรุป

โรคแทรกซ้อนในผู้ป่วยไขมันในเลือดสูงมีสาเหตุสำคัญประการหนึ่งจากภาวะเครียดออกซิเดชั่นในร่างกายของผู้ป่วยที่ส่งผลให้เกิดโรคต่างๆ ตามมา เช่น โรคความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน โรคไขมันสะสมในตับ เป็นต้น ประเทศไทยพบ

อุบัติการณ์การเกิดโรคไขมันในเลือดสูงเพิ่มมากขึ้นทุกปีจากความนิยมในการบริโภคอาหารที่เปลี่ยนแปลงไปและการขาดการออกกำลังกาย โดยผู้ป่วยมักจะไม่แสดงอาการใดๆ จึงมักนำสู่โรคต่างๆ ที่รุนแรงเพิ่มมากขึ้น การป้องกันการเกิดโรค การวินิจฉัยและการติดตามการรักษาจึงเป็นสิ่งที่จำเป็นมากเพื่อชะลอ/หยุดพัฒนาการของโรค ภาวะไขมันในเลือดสูงส่งผลยับยั้งกระบวนการออกซิเดชั่นของกรดไขมันอิสระ เป็นเหตุให้ตับไม่สามารถย่อยสลายไขมันออกจากเซลล์ได้จึงเกิดไขมันสะสมในเลือดและเซลล์ตับ กระตุ้นการสร้าง ROS จากกระบวนการหายใจในไมโตรคอนเดรียมากขึ้นและการทำลายสารต้านอนุมูลอิสระก่อให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่นและตามมาด้วยการกระตุ้นปฏิกิริยาลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น

จากการทบทวนวรรณกรรมพบการแสดงออกและระดับการทำงานที่เปลี่ยนแปลงไปของเอนไซม์ในระบบต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นดัชนีบ่งชี้การเกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่นในผู้ป่วยไขมันในเลือดสูงและสัตว์ทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำภาวะไขมันในเลือดสูง ตลอดจนการปรับตัวของร่างกายเพื่อตอบสนองภาวะเครียดออกซิเดชั่นด้วยกลไกต่างๆ โดยการกระตุ้นให้ร่างกายผลิตเอนไซม์/สารต้านอนุมูลอิสระต่างๆ ได้แก่ SOD, CAT, GPx, GST หรือ GSH เพิ่มมากขึ้น ดังนั้นการศึกษากลไกการเกิดโรคที่ชัดเจนในระดับอณูชีววิทยาจะนำไปสู่วิธีป้องกันหรือลดภาวะความไม่สมดุลของระบบต้านออกซิเดชั่น ตลอดจนแนวทางในการลดอุบัติการณ์การเกิดโรคแทรกซ้อนในผู้ป่วยโรคไขมันในเลือดสูงอันส่งผลพัฒนาคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยที่มีภาวะไขมันในเลือดสูงให้ดีขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. Pöss J, Custodis F, Werner C *et al*. Cardiovascular disease and dyslipidemia: beyond LDL. *Curr Pharm Des* 2011; 17(9): 861-70.
2. Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2004; 44(4): 275-95.
3. Otaegui-Arrazola A1, Menéndez-Carreño M, Ansorena D, *et al*. Oxysterols: A world to explore. *Food Chem Toxicol* 2010; 48(12): 3289-303.
4. Barriuso B, Ansorenaa D, Calvob MI, *et al*. Role of *Melissa officinalis* in cholesterol oxidation: Antioxidant effect in model systems and application in beef patties. *Food Res Int* 2015; 69: 133–40.
5. Goldstein JL, Brown MS. Familial hypercholesterolemia: pathogenesis of a receptor disease. *Johns Hopkins Med J* 1978; 143(1): 8-16.
6. Suzuki A, Nagasakab H, Ochic Y, *et al*. Peripheral leukocyte anomaly detected with routine automated hematology analyzer sensitive to adipose triglyceride lipase deficiency manifesting neutral lipid storage disease with myopathy/triglyceride deposit cardiomyovasculopathy. *Mol Genet Metab Rep* 2014; 1: 249–53.
7. Dergunov AD, Smirnova EA, Merched M, *et al*. Structural peculiarities of the binding of

very low density lipoproteins and low density lipoproteins to the LDL receptor in hypertriglyceridemia: role of apolipoprotein E. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1481(1): 29–40.

8. Esterbauer H1, Gebicki J, Puhl H, *et al*. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med* 1992; 13(4): 341-90.
9. Zhang Y, Yang X, Bian F, *et al*. TNF-α promotes early atherosclerosis by increasing transcytosis of LDL across endothelial cells: crosstalk between NF-κB and PPAR-γ. *J Mol Cell Cardiol* 2014; 72: 85-94.
10. Kregel KC, Zhang HJ. An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007; 292(1): R18-36.
11. Aruoma OI. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *J Am Oil Chem Soc* 1998; 75(2): 199-212.
12. Machlin LJ, Bendich A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J* 1987; 1(6): 441-5.
13. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Review oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 7915-22.
14. Chidambaram J, Carani VA. *Cissus quadrangularis* stem alleviates insulin resistance, oxidative injury and fatty liver disease in rats fed high fat plus fructose diet. *Food Chem Toxicol* 2010; 48: 2021–9.
15. Marnett LJ. Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology* 2002; 7(181-182): 219-22.
16. Salas VM, Corcoran GB. Calcium-dependent DNA damage and adenosine 3',5'-cyclic monophosphate-independent glycogen phosphorylase activation in an in vitro model of acetaminophen-induced liver injury. *Hepatology* 1997; 25(6): 1432-8.
17. Rice-Evans CA, Gopinathan V. Oxygen toxicity, free radicals and antioxidants in human disease: biochemical implications in atherosclerosis and the problems of premature neonates. *Essays Biochem* 1995; 29: 39-63.
18. Daiponmak W, Senakun C, Siriamornpun S. Antiglycation capacity and antioxidant activities of different pigmented Thai rice. *Int J Food Sci Tech* 2014; 49: 1805-10.
19. Szymonik-Lesiuk S, Czechowska G, Stryjecka-Zimmer M, et al. Catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activities in various rat tissues after carbon tetrachloride intoxication. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2003; 10(4): 309-15.
20. Hayakawa H, Raij L. Relationship between hypercholesterolaemia, endothelial dysfunction and hypertension. *J Hypertens* 1999; 17: 611-9.

21. Choudhury RP, Fuster V, Fayad ZA. Molecular, cellular and functional imaging of atherothrombosis. *Nat Rev Drug Discov* 2004; 3: 913-25.
22. Kang J, Albadawi H, Patel VI, et al. Apolipoprotein $E^{-/-}$ mice have delayed skeletal musclehealing after hind limb ischemia-reperfusion. *J Vasc Surg* 2008; 48: 701-8.
23. Stapleton PA, Goodwill AG, James ME, *et al*. Differential impact of familial hypercholesterolemia and combined hyperlipidemia on vascular wall and network remodeling in mice. *Microcirculation* 2010; 17: 47-58.
24. Huijgen R, Vissers MN, Defesche JC, *et al*. Familial hypercholesterolemia: current treatment and advances inmanagement. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2008; 6: 567-81.
25. Stapleton PA, Goodwill AG, James ME, *et al*. Altered mechanisms of endothelium-dependent dilation in skeletal muscle arterioles with genetic hypercholesterolemia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007; 293: R1110-9.
26. Stokes KY, Cooper D, Tailor A, *et al*. Hypercholesterolemia promotes inflammation and microvascular dysfunction: role of nitric oxide and superoxide. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 1026-36.
27. Ogita H, Liao J. Endothelial function and oxidative stress**.** *Endothelium* 2004; 11(2): 123-32.
28. Babior BM. NADPH oxidase. *Curr Opin Immunol* 2004; 16(1): 42-7.
29. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase**.** *Proc Assoc Am Physicians* 1999; 111(5): 383-9.
30. Schulz E, Münzel T. NOX5, a new "radical" player in human atherosclerosis?. *J Am Coll Cardiol* 2008; 52(22): 1810-12.
31. Forstermann U, Munzel T. Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: from marvel to menace. *Circulation* 2006; 113: 1708-14.
32. Förstermann U. Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease. *Pflugers Arch* 2010; 459(6): 923-39.
33. Arrebola-Moreno AL, Laclaustra M, Kaski JC. Noninvasive assessment of endothelial function in clinical practice. *Rev Esp Cardiol* 2012; 65: 80-90.
34. Balakumar P, Kaur T, Singh M. Potential target sites to modulate vascular endothelial dysfunction: current perspectives and future directions. *Toxicology* 2008; 245: 49-64
35. Bridges EM, Harris AL. The angiogenic process as a therapeutic target in cancer. *Biochem Pharmacol* 2011; 81: 1183-91.
36. Goodrich LR, Nixon AJ. Medical treatment of osteoarthritis in the horse-a review. *Vet J* 2006**;** 171: 51-69.

37. Rosenblat M, Oren R, Aviram M. Lysophosphatidylcholine (LPC) attenuates macrophage-mediated oxidation of LDL. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 344(4): 1271-7

38. Reddy KB, Howe PH. Transforming growth factor β1-mediated inhibition of smooth muscle cell proliferation is associated with a late G1 cell cycle arrest. *J Cell Physiol* 1993; 156(1): 48-55.

39. Yang RL, Shi YH, Hao G, *et al*. Increasing oxidative stress with progressive hyperlipidemia in human: relation between malondialdehyde and atherogenic index. *J Clin Biochem Nutr* 2008; 43: 154-8.

40. Bansal MP, Jaswal S. Hypercholesterolemia induced oxidative stress is reduced in rats with diets enriched with supplement from *Dunaliella salina* algae. *Am J Biom Sci* 2009; 1(3): 196-204.

41. Green CO, Wheatley AO, McGrowder DA, *et al*. Modulation of antioxidant enzymes activities and lipid peroxidation products in diet-induced hypercholesterolemic rats fed ortanique peel polymethoxylated flavones extract. *Appl Biomed* 2012; 10: 91–101

42. Devaki M, Nirupama R, Yajurvedi HN. Chronic stress-induced oxidative damage and hyperlipidemia are accompanied by atherosclerotic development in rats. *Stress* 2013; 16(2): 233-43.

43. Olorunnisola OS, Bradley G, Afolayan AJ. Protective effect of *Tulbaghia violacea* rhizome extract against hypercholesterolemia-induced oxidative stress in Wistar rats. *Molecules* 2012; 17(5): 6033-45.

44. Pandya N, Santani D, Jain S. Antioxidant activity of ezetimibe in hypercholesterolemic rats. *Indian J Pharmacol* 2006; 38(3): 205-6.

45. Csont T, Bereczki E, Bencsik P, et al. Hypercholesterolemia increases myocardial oxidative and nitrosative stress thereby leading to cardiac dysfunction in apoB-100 transgenic mice. *Cardiovasc Res* 2007; 76(1): 100-9.

46. Ferroni P, Basili S, Falco A, *et al*. Oxidant stress and platelet activation in hypercholesterolemia. *Antioxid Redox Signal* 2004; 6(4): 747-56.

47. Kamesh V, Sumathi T. Effect of *Bacopa monniera* in attenuating hepatic oxidative stress in hypercholesterolemic induced rats. *Asian J Pharm Clin Res* 2012; 5(3): 90-5.