

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษากลไกความผิดปกติของภาวะเครียดกระตุ้นต่อการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียม โดยมีสมมุติฐานว่า reactive oxygen species (ROS) และ reactive nitrogen species (RNS) มีผลต่อการเกิดความผิดปกติในการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียม โดยใช้ไลโปโปรตีนชนิดความหนาแน่นต่ำที่ถูกออกซิไดซ์ (oxLDL) ขนาด 40 และ 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่มีระดับการเกิดออกซิเดชัน 3 ระดับคือ เกิดออกซิเดชันระดับต่ำ (mildly) กลาง (moderately) และ สูง (fully) กระตุ้นการแสดงออกของตัวรับ LOX-1 ในระบบการเพาะเลี้ยงของหลอดเลือดแดงของสายรก พร้อมกับการศึกษาการแสดงออกของ eNOS การหลั่งไนตริก ออกไซด์ (NO) การทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเทส (superoxide dismutase, SOD) การทำงานของ p38 mitogen - activated protein kinase (p38 MAPK) และการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของหลอดเลือด ขณะเดียวกันได้ใช้ desferoxamine (DFO) เป็น ferric chelator ของปฏิกิริยา Haber-Weiss และ ethylenediamineacetic acid (EDTA) เป็น ferrous chelator ในปฏิกิริยา Fenton's reaction ของ ROS รวมทั้งใช้ butylated hydroxytoluene (BHT) เป็นตัวกำจัด peroxy radical ของการเกิดออกซิเดชันของ oxLDL

จากการศึกษาพบว่า การแสดงออกของตัวรับ LOX-1 เพิ่มขึ้นตามขนาดและระดับออกซิเดชันของ oxLDL อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รวมทั้งในกลุ่มที่ได้รับ DFO, EDTA และ BHT ก่อนด้วยเช่นกัน แสดงว่าแหล่งที่ให้ ROS ภายในเซลล์เอนโดทีเลียมมาจากการทำงานของเอนไซม์ในหลอดเลือด เช่น NAD(P)H oxidase ไม่ใช่มาจากการเร่งปฏิกิริยาของเหล็ก (metal transition catalyst) เป็นที่น่าสังเกตว่า การแสดงออกของตัวรับ LOX-1 เพิ่มขึ้นมากอย่างชัดเจน ซึ่งสันนิษฐานว่าเป็นผลจากทั้ง ROS และ RNS ร่วมกัน และจากผลการลดการแสดงออกของ eNOS ในขนาดที่กระตุ้นด้วย oxLDL ขนาด 40 และ 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระดับออกซิเดชันปานกลาง และสูง รวมทั้งการลดการหลั่งของไนตริกออกไซด์ (NO) ในขณะที่ SOD ลดระดับลง แสดงให้เห็นว่ามีการสร้าง peroxynitrite จากปฏิกิริยาของ $O_2^{\bullet-}$ และ NO และ peroxynitrite รวมทั้ง ROS นี้เองจะไปทำลาย โปรตีน ไขมัน เยื่อหุ้มเซลล์ รวมทั้งไปกระตุ้นการแสดงออกของตัวรับ LOX-1 ทำลายการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียม ดังจะเห็นว่าการลดการสร้าง NO และลดการแสดงออกของ eNOS มีการส่งสัญญาณรีดอกซ์ให้มีการกระตุ้นการสร้าง p38 MAPK มากขึ้นซึ่งเป็นโปรตีนไคเนสที่มีความไวต่อสัญญาณรีดอกซ์ เป็นที่น่าสังเกตว่าการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมยังคงเป็นปกติ ถ้ากระตุ้นด้วย oxLDL ขนาด 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระดับออกซิเดชัน

ต่ำ จะเห็นการแสดงออกของ eNOS เพิ่มขึ้น และยังมีการสร้างและการหลั่ง NO และเมื่อศึกษาโครงสร้างของหลอดเลือดพบว่า ทั้งในกลุ่มปกติ และกลุ่มทดลองที่ให้ oxLDL 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระดับออกซิเดชันต่ำ พบว่าเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดปกติ และมีการจัดเรียงตัวปกติ แต่ในกรณีที่มีการสูญเสียการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียม ซึ่งจะพบในกลุ่มการทดลองที่มี NO และการแสดงออกของ eNOS ลดลง โดยพบว่าเซลล์เอนโดทีเลียมจะถูกทำลาย การจัดเรียงตัวของคอลลาเจนและไฟโบรบลาสเพิ่มขึ้น พบการแทรกตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ และการเรียงตัวผิดปกติไป

เป็นที่น่าสังเกตว่า การเพิ่มระดับของค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของ p38 MAPK ขึ้นกับขนาดและระดับการถูกออกซิเดชันของไลโปโปรตีนชนิดความหนาแน่นต่ำ ค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของ p38 MAPK เมื่อให้ DFO, EDTA และ BHT ก่อนการทดลอง ระดับของค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของ p38 MAPK ลดลงเล็กน้อย โดยเฉพาะในกลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นด้วย oxLDL ที่ระดับออกซิเดชันสูงเต็มที่ ซึ่งบ่งชี้ว่า p38 MAPK เป็นโปรตีน ที่มีความไวต่อการกระตุ้นผ่าน สัญญาณรีด็อกซ์

สรุปได้ว่า oxLDL กระตุ้นตัวรับ LOX-1 โดยผ่าน ROS และ RNS ร่วมกัน มีผลต่อการทำลายเซลล์เอนโดทีเลียมอย่างเห็นได้ชัดเจน และเกิดขึ้นเฉพาะ oxLDL ในขนาดตั้งแต่ 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ขึ้นไป และที่ระดับออกซิเดชันปานกลาง และสูง