

ระดับ 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine ที่เพิ่มขึ้นเป็นสารบ่งชี้ การเกิดการทำลาย ดีเอ็นเอจากภาวะ Oxidative stress ในผู้ป่วยเบาหวาน Elevated Urinary 8-hydroxy Deoxyguanine Levels as a Marker of Oxidative DNA Damage in Type 2 Diabetes Mellitus Patients

ดวงชีวัน เทศสมบุรณ์, อรทัย ตั้งวรสิทธิชัย และ สุรพล ตั้งวรสิทธิชัย

หน่วยวิจัยโรคเรื้อรัง ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

Duengchewan Thedsomboon, Orathai Tangvarasittichai, Surapon Tangvarasittichai

Chronic Diseases Research Unit, Department of Medical Technology,

Faculty of Allied Health Sciences, Naresuan University

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาระดับ 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) ในปัสสาวะใช้เป็นสารบ่งชี้ภาวะการทำลายดีเอ็นเอจากภาวะเครียดทางออกซิเดชั่น (Oxidative stress) ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 และความสัมพันธ์ของระดับ 8-OHdG กับสารบ่งชี้ทางชีวเคมีอื่นๆ ในผู้ป่วยโรคเบาหวาน

วิธีการ: ทำการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างจำนวนทั้งสิ้น 112 ราย เป็นผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 จำนวน 51 ราย [อายุเฉลี่ย = 58.0 (53.0-65.0) ปี] และกลุ่มควบคุมที่มีสุขภาพดี 61 ราย [อายุเฉลี่ย = 63.0 (54.0-68.0) ปี] ทำการตรวจหาระดับ 8-OHdG ในปัสสาวะและสารชีวเคมีอื่นๆ ในเลือด ระดับ 8-OHdG ตรวจด้วยวิธี Competitive ELISA และตรวจระดับของ Malondialdehyde (MDA) ในรูปของ thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) ซึ่งจะใช้เป็นสารบ่งชี้ภาวะเครียดทางออกซิเดชั่น

ผลการวิจัย: จากการศึกษาพบว่า ระดับของ 8-OHdG ในปัสสาวะและระดับของ MDA ในเลือดของผู้ป่วยโรคเบาหวานสูงมากกว่าในกลุ่มควบคุมที่มีสุขภาพดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) และพบว่าระดับของ 8-OHdG ในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคเบาหวานมีความสัมพันธ์กับระดับของ TC, LDL-C และ MDA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ขณะที่กลูโคสในเลือดมีความสัมพันธ์กับ TC TG และ HDL-C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

สรุปผล: จากการศึกษาพบว่า เกิดมีภาวะการทำลายของดีเอ็นเอจากภาวะเครียดทางออกซิเดชั่นเพิ่มสูงขึ้นในผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ซึ่งระดับของ 8-OHdG ในปัสสาวะและระดับของ MDA ในเลือดที่เพิ่มสูงขึ้นใช้เป็นสารบ่งชี้ภาวะเครียดทางออกซิเดชั่น จะเข้าไปมีส่วนร่วมในการเกิดโรคของภาวะแทรกซ้อนในผู้ป่วยโรคเบาหวาน

คำสำคัญ : 8-Hydroxydeoxygaunosine (8-OHdG), ภาวะเครียดทางออกซิเดชั่น, โรคเบาหวานชนิดที่ 2

Abstract

Objective: To investigate the elevation of urinary 8-Hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG), as a biomarker of oxidative DNA damage in Type 2 diabetes patients (T2D) and the association with the conventional cardiovascular risk factors.

Methods: We examine the level of urinary 8-OHdG and the other blood biochemical markers in both 51 T2D patients [58.0 (53.0–65.0) yrs] and 61 healthy controls [63.0 (54.0–68.0) yrs]. Urinary 8-OHdG was determined by a competitive ELISA method. Serum malondialdehyde (MDA) was determined as thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) as a marker of lipid peroxidation.

Results: Both serum levels of MDA and urinary 8-OHdG was significantly higher in T2D patients than healthy controls ($P < 0.001$). Glucose level was significantly correlated with TC, TG levels and inverse correlated with HDL-C levels ($p < 0.05$). Urinary 8-OHdG was significantly correlated with MDA, TC and LDL-C ($p < 0.05$).

Conclusion: Our results showed that oxidative DNA damage and oxidative stress were occurred in T2D patients. These may be the good biomarker for oxidative stress event that may implicate in various pathological complication conditions in T2D patients.

Keywords : 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG), oxidative stress, type 2 diabetes mellitus

บทนำ

โรคเบาหวานชนิดที่ 2 เป็นโรคเรื้อรังที่เป็นปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุขของโลกรวมทั้งประเทศไทย สถานการณ์โรคเบาหวานปัจจุบันมีอุบัติการณ์เพิ่มมากขึ้น จากข้อมูลสมาพันธ์เบาหวานโลก (International diabetes federation; IDF) ได้รายงานสถานการณ์ ผู้เป็นโรคเบาหวานทั่วโลกแล้ว 285 ล้านคนและได้ประมาณการณ์ว่าจะมีจำนวนผู้เป็นเบาหวานทั่วโลกเพิ่มมากกว่า 439 ล้านคน ในปี พ.ศ. 2573 หากไม่มีการดำเนินการในการป้องกันและควบคุมอย่างมีประสิทธิภาพ¹

การศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการเกิดโรคเบาหวานทั้งชนิดที่ 1 และ 2 จะมีระดับน้ำตาลที่สูงขึ้น รวมถึงมีการเกิดโรคแทรกซ้อนของโรคเบาหวานต่าง ๆ นั้น

มีความเกี่ยวเนื่องกับการเพิ่มขึ้นของสารอนุมูลอิสระ (free radicals) และภาวะเครียดทางออกซิเดชัน (Oxidative stress)² นอกจากนี้ยังพบว่าโรคเบาหวานมีความสัมพันธ์อย่างมากกับการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด³

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นและทำให้เกิดมีภาวะ oxidative stress ได้แก่ hydroxyl radical, superoxide radical, hypochlorite ion, และพวก non-radical hydrogen peroxide อนุมูลอิสระเหล่านี้จะเข้าไปทำลายพวก macromolecule ในร่างกาย เช่น โปรตีน ไขมัน และ DNA โดยปกติร่างกายหรือเซลล์จะมีกลไกการป้องกันการเกิดภาวะ oxidative stress⁴ โดยที่ร่างกายหรือเซลล์จะมีระบบต่อต้านสารอนุมูลอิสระ (Antioxidant) หรือ

defense mechanisms เช่น Vitamin C และ Vitamin E, superoxide dismutase, catalase, และ glutathione peroxidase เป็นตัวที่จะมาช่วยในการจัดการหรือลดสารอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นได้ โดยร่างกายจะพยายามรักษาความสมดุลระหว่างสารอนุมูลอิสระ และ antioxidant แต่เมื่อใดก็ตามที่ความสมดุลนี้เสียไปจะทำให้เกิดภาวะเครียดทางออกซิเดชั่น และตามมาด้วยการเกิดพยาธิสภาพต่างๆ ตามมา

8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) เป็นสารบ่งชี้เมื่อเกิดภาวะเครียดทางออกซิเดชั่น เกิดโดยสารอนุมูลอิสระเข้าทำลาย DNA ทำให้เกิด hydroxylation ที่ตำแหน่งที่ 8 ของ Guanine base ใน สาย DNA ตามกลไกปกติของร่างกาย สาย DNA ที่ผิดปกติจะถูกซ่อม (repaired) โดยการตัด guanine base ที่ถูกเปลี่ยนแปลงไปนี้ออกไป ซึ่ง guanine base ที่ถูกเปลี่ยนแปลงไป และถูกตัดออกนี้ คือ 8-OHdG ซึ่งจะพบ 8-OHdG นี้มากในตำแหน่งที่เกิดการทำลายมาก และ 8-OHdG จะถูกส่งผ่านเข้าสู่ระบบไหลเวียนและถูกขับออกสู่ระบบทางเดินปัสสาวะในที่สุด⁵

จากการศึกษาพบว่า การเกิด oxidative hydroxylation ของ Guanine ตำแหน่งที่ 8 เป็นบริเวณที่เกิดขึ้นได้ง่าย และเป็นบริเวณที่ทำให้เกิดเป็นรอยแผลการกลายพันธุ์ (mutagenic lesion) ขึ้นใน DNA และเป็นตัวสำคัญของการเกิดการกลายพันธุ์ (mutagenesis) และการเกิดโรคมะเร็ง (Carcinogenesis)⁶ ขึ้นได้เมื่อสาย DNA ไม่ถูกซ่อมแซมในส่วนนี้ ดังนั้น จึงพบ 8-OHdG ในกลุ่มที่มีการเกิดโรคมะเร็งมาก⁷ และยังมีการแสดงให้เห็นถึงการพบว่ามีรอยบริเวณที่เกิด oxidized DNA อยู่ในระดับสูงในเซลล์ที่เกิดโรคมะเร็ง⁸ และยังพบว่า ในก้อนเนื้ออกมีการสร้างสารพวก hydrogen peroxide จำนวนมากและทำให้มีระดับของ 8-OHdG เพิ่มขึ้นจำนวนมากในก้อนมะเร็งชนิดต่างๆ⁹ และยัง

พบว่าการสะสมจากการเกิดมี 8-OHdG มากทั้งใน DNA ของนิวเคลียสและของไมโทคอนเดรีย ที่เป็นผลมาจากการทำลายของสารอนุมูลอิสระที่มีสร้างขึ้นมาเรื่อยๆ เป็นผลให้มีการเกิดภาวะ Chronic inflammation เช่นในพวก rheumatoid arthritis และโรคเบาหวาน และจากการศึกษาทดลองพบว่า ภาวะเครียดทางออกซิเดชั่นจะแสดงบทบาทสำคัญของการเกิดโรคที่เป็นภาวะแทรกซ้อนต่างๆ ขึ้นในผู้ป่วยโรคเบาหวานทั้งชนิดที่ 1 และ 2¹⁰ และยังมีการใช้ 8-OHdG เป็นสารบ่งชี้ของภาวะการเกิด oxidative DNA damage ในผู้ป่วยโรคเบาหวานด้วย¹¹ ยังมีข้อมูลที่แสดงถึงการเกิด over expression ของการสร้างเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการซ่อม DNA และร่วมกับการเพิ่มขึ้นของ proliferating cell nuclear antigen แสดงให้เห็นว่ามีการเกิดการทำลาย และมีการเพิ่มการซ่อมแซม DNA จากภาวะเครียดทางออกซิเดชั่นเพิ่มสูงขึ้นใน atherosclerotic plaques¹² นอกจากนี้เรายังตรวจพบว่ามีระดับ 8-OHdG เพิ่มขึ้นในโรคต่างๆ เป็นจำนวนมาก เช่น bladder, prostate cancer, cystic fibrosis, atopic dermatitis rheumatoid arthritis, Parkinson's disease, Alzheimer's disease และ Huntington's disease¹³⁻¹⁹

การศึกษาที่ผ่านมา พบว่า การเกิดโรคเบาหวานทั้ง ชนิดที่ 1 และ 2 หรือการมีระดับน้ำตาลในเลือดที่เพิ่มสูงขึ้น รวมถึงการเกิดโรคแทรกซ้อนของโรคเบาหวานนั้นมีความเกี่ยวเนื่องกับการเพิ่มขึ้นของสารอนุมูลอิสระ และภาวะเครียดทางออกซิเดชั่น² และเป็นที่ทราบกันดีว่าโรคเบาหวานมีความสัมพันธ์อย่างมากกับการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด³ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงทำการศึกษาในระดับ 8-OHdG ในปัสสาวะซึ่งเป็น oxidative markers ในกลุ่มผู้ป่วยเบาหวาน และศึกษาหาความสัมพันธ์ของปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดและหัวใจ กับ oxidative markers

วิธีการวิจัย

วัสดุและวิธีการ

1. การเก็บตัวอย่าง

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างผู้ที่มีประวัติได้รับการวินิจฉัย และการรักษาด้วยโรคเบาหวานจากสถานพยาบาลต่างๆ ในเขตจังหวัดพิษณุโลกจำนวนทั้งสิ้น 51 ราย และผู้ที่มีสุขภาพดีไม่มีประวัติการวินิจฉัยว่าเป็นโรคใดๆ และไม่ได้รับการรักษาด้วยโรคใดๆ อยู่เลยจำนวนทั้งสิ้น 61 ราย ที่เข้าร่วมตรวจสอบสุขภาพในโครงการตรวจสอบสุขภาพผู้สูงอายุ ประจำปี พ.ศ. 2553 โดยคณะสหเวชศาสตร์ ร่วมกับองค์การบริหารส่วนจังหวัดพิษณุโลก โดยทำการเจาะเก็บตัวอย่างเลือดและปัสสาวะหลังการงดอาหารและเครื่องดื่ม 8-12 ชั่วโมง จากนั้นทำการปั่นแยกซีรัมและปัสสาวะเพื่อใช้ในการตรวจทางชีวเคมีต่างๆ ต่อไป

2. การตรวจร่างกายทั่วไปและการตรวจสารชีวเคมีในเลือด

ทำการชั่งน้ำหนัก วัดส่วนสูง และวัดเส้นรอบเอว และการวัดความดันโลหิต จะต้องให้ผู้รับการตรวจนั่งพักอย่างน้อย 5 นาทีในท่านั่งตรง โดยทำการวัดสองครั้งแล้วใช้ค่าเฉลี่ยจากการวัดนั้นในผู้ที่เข้ารับตรวจสอบสุขภาพทุกคน การวัดความดันโลหิตนี้ใช้เครื่องอัตโนมัติ Terumo digital blood pressure monitor, ES-P100 (Terumo Corporation, Japan)

นำซีรัมที่ได้มาทำการตรวจสารชีวเคมีในเลือด ได้แก่ Glucose, Uric acid, Total Cholesterol, Triglyceride, และ HDL-cholesterol โดยใช้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Hitachi 912 (Roche Diagnostic, Switzerland) ส่วนระดับของ LDL-cholesterol นั้นจะได้จากคำนวณโดยสูตรของ Friedewald's²⁰

การตรวจวิเคราะห์หาระดับของ 8-OHdG ด้วยวิธี competitive ELISA ตามหลักการของ Chiou และคณะ²¹ โดยขั้นตอนสุดท้าย อ่านค่าดูด

กลืนแสงที่ 450 นาโนเมตร

การตรวจวิเคราะห์หาระดับของ Malondialdehyde (MDA) ตามหลักวิธีการตรวจของสุรพล ตั้งวรสิทธิชัย และคณะ²² โดยการตรวจหาออกมาในรูปของ Thiobarbituric acid reactive substance เป็นสารสีชมพู วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร

3. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่น่าเสนอแสดงเป็นมัธยฐาน และพิสัยระหว่างควอไทล์ (Interquartile range) และการเปรียบเทียบข้อมูลระหว่างกลุ่มด้วยสถิติ Mann-Whitney test และวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ด้วยสถิติ Spearman rank correlation test โดยมีระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ ข้อมูลทั้งหมดถูกวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 13.0 (SPSS, Chicago, IL)

ผลการวิจัย

ในกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานมีดัชนีมวลกาย เส้นรอบเอว ความดันโลหิต ระดับน้ำตาล กรดยูริก ระดับของ TC, TG และระดับของ LDL-C สูงกว่ากลุ่มผู้ที่มีสุขภาพดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) รวมถึงมีระดับของ MDA และ 8-OHdG ที่สูงขึ้นมากกว่ากลุ่มผู้ที่มีสุขภาพดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มคนปกติ ($p < 0.05$) และกลับพบว่าระดับของ HDL-C ในผู้ป่วยเบาหวานต่ำกว่าในกลุ่มผู้ที่มีสุขภาพดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 1

ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของสารชีวเคมีในเลือด และองค์ประกอบต่างๆ ที่เกี่ยวข้องในผู้ป่วยโรคเบาหวาน พบว่า ระดับของกลูโคสจะสัมพันธ์กับระดับของ TC, TG และ HDL-C (ด้วยค่า $r = 0.318$, $p = 0.023$, $r = 0.425$, $p = 0.002$ และ $r = -0.306$, $p = 0.029$ ตามลำดับ) ขณะที่ระดับของ 8-OHdG จะสัมพันธ์กับระดับของ MDA TC และ LDL-C (ด้วยค่า $r = 0.802$, $p < 0.001$, $r = 0.369$, $p = 0.008$

ตารางที่ 1 แสดงและเปรียบเทียบภาวะโดยทั่วไปและผลการตรวจทางชีวเคมีของทั้งผู้ป่วยโรคเบาหวาน และกลุ่มผู้มีสุขภาพดี

Parameters		Healthy Subject (n=61)	T2DM (n=51)	P-value
Age	(year)	58.0 (53.0-65.0)*	63.0 (54.0-68.0)*	0.083
BMI	(kg/m ²)	21.8 (20.3-23.9)	25.8 (23.7-28.6)	<0.001
WC	(cm)	77.0 (71.0-80.0)	88.0 (81.0-96.0)	<0.001
SBP	(mmHg)	113.0 (104.0-126.5)	135.0 (124.0-155.0)	<0.001
DBP	(mmHg)	73.0 (65.5-79.0)	83.0 (76.0-93.0)	<0.001
Glucose	(mg/dl)	92.0 (87.5-95.5)	142.0 (129.0-176.0)	<0.001
Uric acid	(mg/dl)	4.6 (3.9-5.8)	6.2 (5.6-7.8)	<0.001
Total Cholesterol	(mg/dl)	186.0 (166.5-194.0)	213.0 (179.0-257.0)	<0.001
HDL-C	(mg/dl)	63.2 (51.9- 78.3)	52.7 (43.2-61.1)	<0.001
LDL-C	(mg/dl)	100.5 (82.1-113.7)	119.0 (93.5-142.9)	<0.001
Triglyceride	(mg/dl)	83.0 (65.0-111.5)	172.0 (120.0-261.0)	<0.001
MDA	(umol/L)	5.1 (4.4-7.0)	8.75 (6.3-11.2)	<0.001
8-OHdG	(ng/ml)	5.14 (2.39-7.65)	24.11 (9.41-33.25)	<0.001

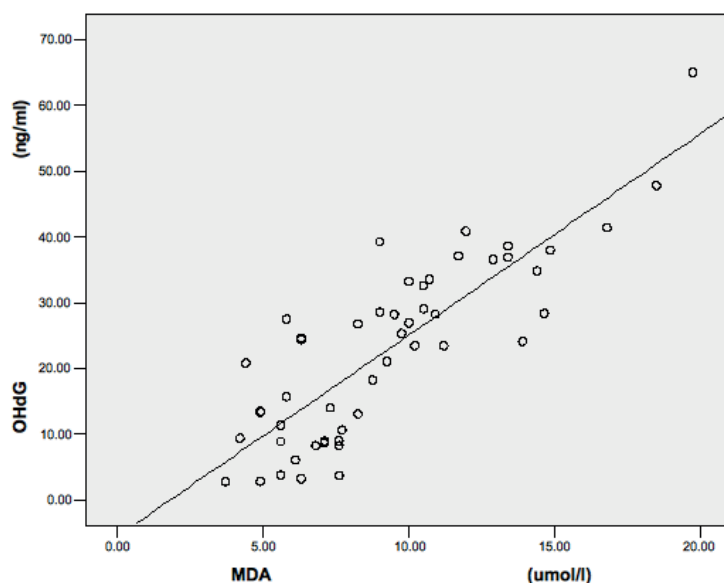
* = Median (interquartile)

BMI = body mass index, WC = waist circumference, SBP = systolic blood pressure, DBP = diastolic blood pressure, HDL-C = high density lipoprotein cholesterol, LDL-C = low density lipoprotein cholesterol, MDA = malondialdehyde, 8-OHdG = 8-hydroxydeoxyguanine

ตารางที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ ระหว่าง 8-OHdG และระดับ glucose กับสารชีวเคมีอื่นที่เป็นสารบ่งชี้โรคหัวใจและหลอดเลือดในผู้ป่วยโรคเบาหวาน

Variables		r	p-value
8-OHdG	MDA	0.802	<0.001
	TC	0.369	0.008
	LDL-C	0.290	0.039
Glucose	TC	0.318	0.023
	TG	0.425	0.002
	HDL-C	-0.306	0.029

8-OHdG= 8-hydroxydeoxyguanine, MDA= malondialdehyde, TC =total cholesterol, HDL-C= high density lipoprotein cholesterol, TG= triglyceride, LDL-C= low density lipoprotein cholesterol



รูปที่ 1 รูปแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง 8-OHdG กับ MDA ในผู้ป่วยโรคเบาหวาน

และ $r = -0.290$, $p = 0.039$, ตามลำดับ) ค่าความสัมพันธ์ระหว่าง 8-OHdG กับ MDA ดังแสดงในรูปที่ 1

อภิปรายผล

จากการศึกษานี้พบว่า ในผู้ป่วยโรคเบาหวาน มีระดับความดันโลหิต ดัชนีมวลกาย เส้นรอบเอว ที่ค่อนข้างจะสูง ซึ่งก็ยังมีระดับที่สูงกว่าในคนปกติ แม้ว่าจะได้รับการรักษาโรคเบาหวานอยู่แล้วก็ตาม ซึ่งก็อาจเป็นสาเหตุให้ผู้ป่วยโรคเบาหวานเหล่านี้มีความเสี่ยงสูงต่อภาวะแทรกซ้อนต่างๆ ที่อาจเกิดขึ้น โดยเฉพาะโรคหัวใจและหลอดเลือด และเมื่อพิจารณาถึงระดับของ MDA และ 8-OHdG ในผู้ป่วยเบาหวาน มีระดับที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สูงขึ้น จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ผู้ป่วยโรคเบาหวานมีภาวะเครียดทางออกซิเดชันเพิ่ม และทำให้เกิดการทำลายดีเอ็นเอจากภาวะเครียดทางออกซิเดชันที่เกิดขึ้นมากขึ้น โดยตรวจพบระดับของ 8-OHdG สูงมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)^{3, 11}

เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่า สารอนุมูลอิสระสามารถที่จะไปทำลายดีเอ็นเอ และภายหลังเมื่อมีการแบ่งเซลล์ต่อไปโดยที่เซลล์นั้นไม่ได้ถูกซ่อมแซม ซึ่งก็อาจทำให้เกิดมีการกลายพันธุ์อันเกิดจากความผิดพลาดจากการซ่อมแซมขึ้นได้ การกลายพันธุ์หลักที่เกิดขึ้นจากสารอนุมูลอิสระนั้นมักเกิดขึ้นในบริเวณของเบส Guanine และทำให้เกิด $G \rightarrow T$ transversion^{23, 24} ซึ่งอาจเกิดขึ้นได้กับยีนชนิดต่างๆ เช่น Oncogenes หรือ tumor suppressor genes ซึ่งอาจเป็นผลที่ทำให้เกิดขึ้นได้ของขั้นตอน initiation/progression ของการเกิดมะเร็งได้²⁵ ที่เป็นแบบ Multistage carcinogenesis ซึ่งเป็นที่ยอมรับแล้วว่า อนุมูลอิสระจะเข้าไปร่วมในขั้นตอนดังกล่าว²⁶ โรคที่ร่วมกับการเกิดภาวะเครียดทางออกซิเดชัน เช่น โรคมะเร็งและโรคเบาหวานนี้ แสดงถึงการเกิดมี Pro-oxidative shift ในระบบ redox แล้วทำให้เกิดความไม่สมดุลของการจัดการกลูโคส ทำให้เราทราบว่า กล้ามเนื้อไมโทคอนเดรีย นั้นเป็นบริเวณหลักของการสร้างอนุมูลอิสระมากขึ้น ซึ่งภาวะนี้คือ mitochondrial oxidative stress²⁷ ในปัจจุบันมีคำเตือนมากมาย

เกี่ยวกับบทบาทสำคัญของภาวะเครียดทางออกซิเดชั่นไปมีส่วนทำให้เกิดโรคหรืออาการต่างๆ ทางคลินิก เช่น โรคเบาหวาน การติดเชื้อไวรัสโรคเบาหวาน โรคหลอดเลือดแดงตีบตัน ภาวะ Chronic inflammation และ ischemia-reperfusion injury²⁸⁻³¹ จากการศึกษาความสัมพันธ์พบว่าระดับกลูโคส จะมีความสัมพันธ์กับระดับของ TC TG และ HDL-C ที่อาจเป็นปัจจัยร่วมของการเกิดโรคเบาหวาน และยังเป็นสาเหตุให้ผู้ป่วยโรคเบาหวานมีปัจจัยเสี่ยงสูงต่อการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด ส่วนความสัมพันธ์ของ 8-OHdG กับ MDA, TC และ LDL-C แสดงถึงการเกิดภาวะเครียดทางออกซิเดชั่นนั้นจะเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดตีบตัน (atherosclerosis) และโรค coronary artery disease (CAD) เช่นเดียวกับการศึกษาที่ผ่านมา^{3, 12} มีการศึกษาอื่น ๆ ที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่า ระดับ Triglyceride อาจจะเป็นตัวกระตุ้นให้เกิด ROS และทำให้กระบวนการทาง Antioxidant เสียไป นอกจากนี้บางรายงานระบุว่าระดับ Triglyceride มีอิทธิพลในการเกิดภาวะเครียดทางออกซิเดชั่นมากกว่า Glucose และ Cholesterol³²

ในผู้ป่วยโรคเบาหวานนี้แม้ได้รับการรักษาและพยายามควบคุมระดับน้ำตาลไว้ให้ต่ำ และป้องกันไม่ให้เกิดมีความผิดปกติของระดับไขมันในร่างกาย แต่ก็ยังพบว่า ผู้ป่วยโรคเบาหวานเหล่านี้ยังมีโอกาสเกิดภาวะโรคแทรกซ้อนต่างๆ ขึ้นได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคหัวใจและหลอดเลือดในการศึกษานี้เราพบว่าผู้ป่วยเบาหวานนี้ยังคงเกิดมีภาวะเครียดทางออกซิเดชั่นสูงขึ้น และเราพบว่าภาวะดังกล่าวมีบทบาทสำคัญในการเกิดพยาธิสภาพในผู้ป่วยโรคเบาหวาน โดยอนุมูลอิสระเกิดมีการสร้างขึ้นอย่างไม่เหมาะสมจากกระบวนการต่างๆ ในร่างกาย เช่น การสลายน้ำตาลกลูโคส และการเกิด protein glycation เป็นผลทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนในผู้ป่วยโรคเบาหวานขึ้นได้²³ นอกจากนี้ยังพบว่า การเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระเป็นตัวกระตุ้น และเกิดการทำลาย

เอนโดทีเลียมเซลล์ เกิดเป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือดแข็งตีบตัน (atherosclerosis) และโรค coronary artery disease (CAD) จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าผู้ป่วยเบาหวานทั้งแบบชนิดที่ 1 (IDDM) และชนิดที่ 2 (NIDDM) มีความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะเครียดทางออกซิเดชั่น³⁴ โดยจะพบมีระดับของ Oxidative biomarkers เพิ่มขึ้นทั้งระดับของ 8-OHdG^{34, 35} และ MDA^{35, 36} โดยมีการผลิตอนุมูลอิสระจำนวนมากและมีการลดลงของกระบวนการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) แต่อย่างไรก็ตามผลของภาวะเครียดทางออกซิเดชั่นในกลุ่มเบาหวานก็มีความแตกต่าง ซึ่งเป็นไปได้ที่มีความเกี่ยวข้องกับอายุของผู้ป่วยและระยะเวลาในการป่วยเป็นโรคเบาหวาน ระดับการควบคุมเบาหวาน³⁷ รวมถึงชุดทดสอบที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ระดับภาวะเครียดทางออกซิเดชั่น³⁸

สรุป

การศึกษาแสดงให้เห็นว่า ผู้ป่วยโรคเบาหวานมักเกิดมีภาวะเครียดทางออกซิเดชั่นที่เพิ่มสูงขึ้นสามารถใช้ระดับของ MDA และระดับของ 8-OHdG เป็นสารบ่งชี้ภาวะ Oxidative damages ที่เกิดขึ้นในผู้ป่วยโรคเบาหวานซึ่งอาจร่วมกับมักมีการเกิดภาวะโรคแทรกซ้อนต่างๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจและหลอดเลือดผู้ป่วยเบาหวาน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณกองบริหารงานวิจัย และคณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่สนับสนุนเงินทุนในการศึกษาวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract* 2010; 87: 4-14.

2. Wu L, Chiou CC, Chang PY, Wu J. Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics. *Clin Chim Acta* 2004; 339: 1-9.
3. Sowers JR, Epstein M, Frohlich ED. Diabetes, Hypertension, and Cardiovascular Disease : An Update. *Hypertension* 2001; 37: 1053 - 1059.
4. Evans MD, Dizdaroglu M, Cooke MS. Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. *Mutat Res* 2004; 567: 1-61.
5. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*. 2009; 27:120-139.
6. Klungland A, Rosewell I, Hollenbach S, Larsen E, Daly G, Epe B, Seeberg E, Lindahl T, Barnes DE. Accumulation of premutagenic DNA lesions in mice defective in removal of oxidative base damage. *PNAS* 1999; 96: 13300 - 13305.
7. Cooke MS, Evans MD, Herbert KE, Lunec J. Urinary 8-oxo-2'-deoxyguano-sine--source, significance and supplements. *Free Radic Res*, May 2000; 32: 381-397.
8. Toyokuni S, Okamoto K, Yodoi J, Hiai H. Persistent oxidative stress in cancer. *FEBS Lett* 1995; 358: 1-3.
9. Szatrowski TP, Nathan CF. Production of large amounts of hydrogen peroxide by human tumor cells. *Cancer Res* 1991; 51: 794-798.
10. Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB. 3rd Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxicol* 2003; 17: 24-38.
11. Kanauchi M, Nishioka H, Hashimoto T. Oxidative DNA damage and tubulo interstitial injury in diabetic nephropathy. *Nephron* 2002; 91: 327-329.
12. Martinet W, Knaapen MWM, De Meyer GRY, Herman AG, Kockx MM. Elevated levels of oxidative DNA damage and DNA repair enzymes in human atherosclerotic plaques. *Circulation* 2002; 106: 927-932.
13. Maria A, Lezza S, Mecocci P, Cormio A, Beal MF, Cherubini A, et al. Mitochondrial DNA 4977 bp deletion and OH8dG levels correlate in the brain of aged subjects but not Alzheimer's disease patients. *FASEB J* 1999; 13: 1083.
14. Alam ZI, Jenner A, Daniel SE, Lees AJ, Cairns N, P Cantatore, U Senin, Gadaleta MN. Oxidative DNA damage in the parkinsonian brain: an apparent selective increase in 8-hydroxyguanine levels in substantia nigra. *J Neurochem* 1997; 69: 1196-203.
15. Chiou CC, Chang PY, Chan EC, Wu TL, Tsao KC, Wu JT. Urinary 8-hydroxy deoxyguanosine and its analogs as DNA marker of oxidative stress: development of an ELISA and measurement in both bladder and prostate cancers. *Clin Chim Acta* 2003; 334: 87-94.
16. Trzeciak AR, Nyaga SG, Jaruga P, Lohani A, Dizdaroglu M, Evans MK. Cellular repair of oxidatively induced

- DNA base lesions is defective in prostate cancer cell lines, PC-3 and DU-145. *Carcinogenesis* 2004; 25: 1359-1370.
17. Brown RK, McBurney A, Lunec J, Kelly FJ. Oxidative damage to DNA in patients with cystic fibrosis. *Free Radic Biol Med* 1995; 18: 801-806.
 18. Tsuboi H, Kouda K, Takeuchi H, Takigawa M, Masamoto Y, Takeuchi M, Ochi H. 8-hydroxy -deoxy -guanosine in urine as an index of oxidative damage to DNA in the evaluation of atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1998; 138: 1033-1035.
 19. Rall LC, Roubenoff R, Meydani SN, Han SN, Meydani M. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) as a marker of oxidative stress in rheumatoid arthritis and aging: effect of progressive resistance training. *J Nutr Biochem* 2000; 11: 581-584.
 20. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18: 499-502.
 21. Chiou CC, Chang PY, Chan EC, Wu TL, Tsao KC, Wu J, et.al. Urinary 8-hydroxy deoxyguanosine and its analogs as DNA marker of oxidative stress: development of an ELISA and measurement in both bladder and prostate cancers. *Clin Chim Acta* 2003; 334: 87-94.
 22. Tangvarasittichai S, Poonsub P, Tangvarasittichai O, and Sirigulsatien Viruch. Serum levels of malondialdehyde in type 2 diabetes mellitus Thai subjects. *Siriraj Med J* 2009; 6: 20-23.
 23. Higinbotham KG, Rice JM, Diwan BA, Kasprzak KS, Reed CD, Perantoni AO. GGT to GTT Transversions in codon 12 of the K-ras oncogene in rat renal sarcomas Induced with nickel subsulfide or nickel subsulfide/iron are consistent with oxidative damage to DNA. *Cancer Res* 1992; 52: 4747-4751.
 24. Du MQ, Carmichael PL, Phillips DH. Induction of activating mutations in the human c-Ha-ras-1 proto-oncogene by oxygen free radicals. *Mol Carcinog* 1994; 11: 170-175.
 25. Ames BN, Shigenaga MK, Gold LS. DNA lesions, inducible DNA repair, and cell division: three key factors in mutagenesis and carcinogenesis. *Environ Health Perspect* 1993; 101 (Suppl 5): 35-44.
 26. Moller P and Wallin H. Adduct formation, mutagenesis and nucleotide excision repair of DNA damage produced by reactive oxygen species and lipid per-oxidation product. *Mutat Res* 1998; 410: 271-290.
 27. Dröge W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiol Rev* 2002; 82: 47-95.
 28. Apel K and Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol* 2004; 55: 373-399.
 29. Bergamini CM, Gambetti S, Dondi A,

- Cervellati C. Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage. *Curr Pharm* 2004; 10: 1611-1626.
30. Reddy MB and Clark L. Iron, oxidative stress, and disease risk. *Nutr Rev* 2004; 62: 120-124.
 31. Shah AM and Channon KM. Free radicals and redox signalling in cardiovascular disease. *Heart* 2004; 90: 486-487.
 32. Michiaki M, Kazuhiko K, Shun I, Nobuyuki T. The Relationship between Urinary 8-Hydroxy deoxyguanosine and Metabolic Risk Factors in Asymptomatic Subjects. *Med Princ Pract* 2011; 20: 187-190.
 33. Dandona P, Thusu K, Cook S, Snyder B, Makowski J, Armstrong D, Nicotera T. Oxidative damage to DNA in diabetes mellitus. *Lancet* 1996; 347: 444-445.
 34. Nishikawa T, Sasahara T, Kiritoshi S, Sonoda K, Senokuchi T, Matsuo T, Kukidome D. Evaluation of urinary 8-hydroxydeoxy-guanosine as a novel biomarker of macrovascular complications in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26: 1507-1512.
 35. Hayder A and Herbert FJ. Oxidative DNA damage and obesity in type 2 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol* 2011; 164: 899-904.
 36. Moussa SA. Oxidative stress in diabetes mellitus. *Romanian J Biophys* 2008; 18: 225-236.
 37. Song F, Jia W, Yao Y, Hu Y, Lei L, Lin J, Sun X, Liu L. Oxidative stress, anti-oxidant status and DNA damage in patients with impaired glucose regulation and newly diagnosed Type 2 diabetes. *Clin Sci* 2007; 112: 599-606.
 38. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev* 2009; 27: 120-139.