ระดับเอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส ในชายไทยที่สูบบุหรี่และไม่สูบบุหรี่

Superoxide Dismutase Activity in Thai Male Smokers and Nonsmokers

อัญชลี ต้นสมบูรณ์* พิศิษฐ์ นามจันทรา และ กาญจนา สุริยะพรหม

Aunchalee Tonsomboon*, Pisit Namjuntra, and Kanjana Suriyaprom

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิต ตำบลหลักหก อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี 12000

**Corresponding author, E-mail: aunchalee.t@rsu.ac.th*

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้ คือ การศึกษาผลของการสูบบุหรี่ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ Superoxide dismutase ในเลือด อาสาสมัครที่ร่วมโครงการทั้งหมดมีจำนวน 98 คน โดยแบ่งเป็นกลุ่มไม่สูบบุหรี่ 51 คน และกลุ่มที่สูบบุหรี่ 47 คน ผู้วิจัยได้ทำการเก็บตัวอย่างเลือด มาตรวจวิเคราะห์ระดับเอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส โดยใช้หลักการ Spectrophotometric method ผลการศึกษาพบว่า อายุ น้ำหนัก ส่วนสูง ดัชนีมวลกาย ความดันโลหิตซิสโทลิก และ ระดับไขมันของกลุ่มตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่ม มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ยกเว้นค่าความดันโลหิตไดแอสโทลิก ผลการตรวจวัดระดับเอนไซม์ SOD activity ในกลุ่มตัวอย่างที่ไม่สูบบุหรี่ มีค่ามัธยฐาน เท่ากับ 1740.05 U/gHb (1515.93-1964.17) และกลุ่มตัวอย่างที่สูบบุหรี่ มีค่ามัธยฐาน เท่ากับ 1271.39 U/gHb (1140.39-1402.39) และจากการวิเคราะห์โดยใช้สถิติ Mann-Whitney U test พบว่าระดับเอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส ในเลือดของกลุ่มตัวอย่างที่สูบบุหรี่มีค่าต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่สูบบุหรี่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

คำสำคัญ: *ซุปเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส ภาวะเครียดจากออกซิเดชั่น สารต้านอนุมูลอิสระ*

Abstract

The aim of this study was to investigate blood superoxide dismutase in smokers and non-smokers. There were 98 volunteers participating in this study; 51 nonsmokers and 47 smokers. Blood samples were collected and analyzed for superoxide dismutase (SOD) activity by spectrophotometric method. There were no statistically difference in age, weight, height, body mass index, systolic blood pressure and lipid profiles between the two groups, except diastolic blood pressure (DBP). The median of SOD activity (95% CI) were 1740.05 U/gHb (1515.93-1964.17) in nonsmokers and 1271.39 U/gHb (1140.39-1402.39) in the smokers. Difference in SOD activity were analyzed with Mann-Whitney U test. SOD activity in the smokers were significantly lower than those of nonsmokers (p<0.05).

Keywords: *superoxide dismutase, oxidative stress, antioxidants*

1. บทนำ

บุหรี่เป็นสาเหตุการตายที่สำคัญของประชากรโลก องค์การอนามัยโลก มีรายงานว่าประชากรโลกเสียชีวิตจากการสูบบุหรี่ปีละ 4 ล้านคน ผลจากการสำรวจพฤติกรรมการสูบบุหรี่ในคนไทยปี 2554 พบว่าประชากรที่มีอายุ 15 ปีขึ้นไป จำนวน 53.9 ล้านคน เป็นผู้ที่สูบบุหรี่ 11.5 ล้านคน หรือร้อยละ 21.4 (สำนักงานสถิติแห่งชาติ, 2554) โดยอัตราการสูบบุหรี่ของผู้ชายมากกว่าผู้หญิง 20 เท่า คือ ร้อยละ 41.7 และ 2.1 ตามลำดับ (สำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ, 2555) บุหรี่มีสารประกอบต่าง ๆ อยู่ประมาณ 4,000 ชนิด และมีสารก่อมะเร็งไม่ต่ำกว่า 60 ชนิด ได้แก่ นิโคติน ทาร์ คาร์บอนมอนอกไซด์ ไฮโดรเจนไซยาไนด์ ไนโตรเจนไดออกไซด์ แอมโมเนีย และสารกัมมันตรังสี เป็นต้น จึงเป็นที่ทราบกันดีว่า การสูบบุหรี่เป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญในการเกิดโรคต่างๆ ในจำนวนนี้ป่วยและตายด้วยโรคมะเร็งมากที่สุด ร้อยละ 37.4 ตามด้วยโรคทางเดินหายใจ ร้อยละ 29.9 โรคหัวใจและหลอดเลือด ร้อยละ 22.6 และโรคอื่นๆ ร้อยละ 9.9 (สำนักงานสถิติแห่งชาติ, 2554) นอกจากนี้อันตรายและพิษภัยของบุหรี่ไม่ได้ส่งผลกระทบแค่เพียงผู้สูบ โดยผลการวิจัยนานาชาติพบว่าผู้ที่ได้รับควันบุหรี่หรือเรียกว่าควันบุหรี่มือสองยังเป็นต้นเหตุทำให้เกิดโรคมะเร็งปอดสูงขึ้น เพิ่มความเสี่ยงการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจสูงขึ้น และเสี่ยงชีวิตหรือเป็นอัมพาตจากโรคเส้นในสมองแตกหรือตีบ (ณัฐพล อาบัลย์, 2553)

สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารประกอบที่ทนต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในเซลล์ (เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม, 2554) การสูบบุหรี่เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น ทำให้ร่างกายมีภาวะถูกออกซิไดซ์เกินสมดุล ทำให้มีผลิตผลของอนุมูลอิสระซึ่งมีความไวและอันตรายในปริมาณที่สูงมากเกินกว่าที่กระบวนการป้องกันจะต้านทานไว้ได้ ทำให้เซลล์ เนื้อเยื่อ ถูกทำลาย และก่อให้เกิดโรคต่างๆ ตามมาอีกมากมาย

การแบ่งชนิดสารต้านออกซิเดชันสามารถทำได้หลายแบบตามหลักเกณฑ์ต่างๆ แบ่งชนิดสารต้านออกซิเดชันออกเป็น 3 กลุ่ม ตามหน้าที่การทำงาน (Lobo et al., 2010) ดังนี้

1.1 Preventive antioxidants ทำหน้าที่ป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระตัวใหม่ที่จะเกิดขึ้นโดยการเปลี่ยนอนุมูลอิสระให้เป็นโมเลกุลที่มีความเสถียรก่อนที่จะไปทำปฏิกิริยากับสารอื่น ช่วยกำจัดไอออนของเหล็ก และ reactive oxygen species (ROS) สารในกลุ่มนี้ได้แก่ Glutathione peroxidase, Glutathione-s-transferase, Phospholipid hydroperoxide, Catalase (CAT), Superoxide dismutase (SOD)

1.2 Radical scavenging antioxidants ทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระหรือจับอนุมูลอิสระ เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ในขั้นตอนอินนิทิเอชันและพรอพาเกชัน ซึ่งจะทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นอย่างไม่สิ้นสุด สารในกลุ่มนี้แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อยได้แก่ กลุ่ม hydrophilic เช่น Vitamin C, uric acid, bilirubin, albumin, และ thiols ส่วนกลุ่ม สipophilic เช่น vitamin E และ ubiquinol

1.3 Repair and de novo enzymes ทำหน้าที่ในการซ่อมแซมสารชีวโมเลกุลที่เกิดความเสียหายโดยสารอนุมูลอิสระ สารในกลุ่มนี้คือ proteolytic enzymes, proteinases, proteases, peptidases, glyco- sylases และ nucleases เป็นต้น

Superoxide dismutase เป็นเอนไซม์ที่เกิดตามธรรมชาติชนิดหนึ่งที่ช่วยป้องกันไม่ให้อนุมูลอิสระ

ในรูปแบบ superoxide (ซึ่งเป็นรูปแบบอนุมูลอิสระที่พบในร่างกายเราได้บ่อยที่สุด) เข้าทำอันตรายต่อเซลล์ โดยเซลล์ส่วนมากที่หายใจโดยใช้ oxygen จะมีความเสี่ยงที่จะถูกทำลายจากอนุมูลอิสระ ที่อยู่ในรูป superoxide สูงมาก

จากรายงานพบว่าเอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส มี 3 ชนิด (ทินกร เหล่าออง และคณะ, 2556) ได้แก่ copper, zinc superoxide dismutase (Cu, Zn-SOD) พบมากในไซโตซอล manganese superoxide dismutase (MnSOD) พบในไมโตคอนเดรีย และ extra cellular superoxide dismutase (ECSOD) พบในบริเวณ extracellular matrix ทั้ง 3 ชนิดจะมีลักษณะการทำงานที่เหมือนกันโดยเร่งปฏิกิริยา dismutation ของซุปเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน ไปเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะถูกกำจัดต่อไปโดยเอนไซม์คาตาเลส (Catalase) และเอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (Glutathione peroxidase) (Rahman et al., 2006)

$$2O_2^{\cdot -} + 2H^+ \xrightarrow{\text{SOD}} H_2O_2 + O_2^-$$

มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับภาวะ Oxidative stress ในผู้ป่วยโรคปอดอุดกั้นเรื้อรัง (COPD) ผลการศึกษาพบว่า SOD activity และ Catalase activity ในเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วย COPD ที่สูบบุหรี่มีค่าต่ำกว่า กลุ่มผู้ไม่สูบบุหรี่ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Tavilani et al., นอกจากนี้ยังมีการทดสอบการเสริมวิตามิน อี ในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ แล้ววัดระดับ antioxidant enzymes activity การทดลองนี้เป็น *in vitro* model เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยปกติเม็ดเลือดแดงของกลุ่มผู้สูบบุหรี่จะมีความไวต่อการเกิด lipid peroxidation ซึ่งถูกเหนี่ยวนำโดย H_2O_2 แต่เมื่อให้วิตามินอีเสริม ผลการศึกษาพบว่า วิตามินอาจมีผลต่อการทำงานของ SOD activity และระดับ Total glutathione ส่งผลให้ความไวต่อการเกิด lipid peroxidation ในเม็ดเลือดแดงของกลุ่มผู้สูบบุหรี่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามต้องพึงระวังในแง่ของการได้รับวิตามินอีในปริมาณที่สูงเกินไป (Brown et al., 1996)

งานวิจัยที่ผ่านมายังมีรายงานเกี่ยวกับปัจจัยในเรื่องเชื้อชาติ ที่มีผลต่อการเกิดภาวะเครียดจากออกซิเดชั่น (oxidative stress) โดยคณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบในกลุ่มคนที่มีสุขภาพดี เชื้อสาย African- American และ Caucasian ผลการศึกษาพบว่า เชื้อชาติ เป็นอีกปัจจัยหนึ่ง ที่ทำให้การตอบสนองต่อภาวะ oxidative stress มีระดับแตกต่างกัน โดยคนเชื้อสาย African- American จะมีระดับของ oxidative stress biomarkers ได้แก่ SOD, Total Antioxidant Capacity (TAC) และ Protein carbonyl (PC) สูงกว่าคนเชื้อสาย Caucasian อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Feairheller et al., 2011 และ Zitouni et al., 2005) ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการทดลองใน *In vitro* endothelial cells (Kalinowski et al., 2004)

ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาและเปรียบเทียบระดับเอนไซม์ superoxide dismutase activity ในชายไทยที่สูบบุหรี่และไม่สูบบุหรี่ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐาน เกี่ยวกับการสูบบุหรี่และภาวะเครียดจากออกซิเดชั่นในคนไทยที่สูบบุหรี่ต่อไป

2. วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลของการสูบบุหรี่ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ Superoxide dismutase ในเลือด

3. อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 กลุ่มตัวอย่าง

การทดลองนี้เป็นการทดลองแบบ Cross-sectional study ทำการคัดกรองอาสาสมัครโดยใช้แบบสัมภาษณ์คัดกรองกลุ่มอาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการวิจัยจำนวนทั้งสิ้น 98 ราย โดยแบ่งกลุ่มออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มผู้ไม่สูบบุหรี่ 51 ราย และกลุ่มผู้สูบบุหรี่ 47 ราย

กลุ่มผู้สูบบุหรี่ คือผู้ที่มีคุณสมบัติดังต่อไปนี้

1) เพศชายที่มีอายุตั้งแต่ 30 ปีขึ้นไป

2) มีสุขภาพแข็งแรงสมบูรณ์

3) ไม่มีโรคประจำตัวและไม่ได้รับยาใดๆเพื่อใช้ในการรักษา

4) สูบบุหรี่เป็นประจำ และปัจจุบันยังคงสูบบุหรี่อยู่ มีค่า pack-year อย่างน้อย 0.1-20 หรือจัดอยู่ในกลุ่ม light smokers (Young-Hoon et al., 2011)

Pack-year = (จำนวนมวนที่สูบต่อวัน/20) x จำนวนปีที่สูบ

กลุ่มผู้ไม่สูบบุหรี่ คือ ผู้ที่มีคุณสมบัติดังต่อ ไปนี้

1) เพศชายที่มีอายุตั้งแต่ 30 ปีขึ้นไป

2) มีสุขภาพแข็งแรงสมบูรณ์

3) ไม่มีโรคประจำตัวและไม่ได้รับยาใดๆเพื่อใช้ในการรักษา

4) ไม่มีพฤติกรรมการสูบบุหรี่

เกณฑ์การคัดแยกอาสาสมัครออกจากโครงการ

1) บุคคลที่ได้รับยา วิตามินหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารต่างๆที่มีผลรบกวนการตรวจวัดระดับอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระภายในร่างกาย

2) ผู้ที่เป็นโรคหัวใจ ความดันโลหิตสูง เบาหวาน ไขมันในเลือดสูง โรคหลอดเลือดสมอง โรคในระบบต่อมไร้ท่อ โรคระบบภูมิคุ้มกัน โรคมะเร็ง

3.2 สารเคมี และน้ำยาทดสอบ

3.2.1 Nitrublue tetrazolium : Sigma/USA

3.2.2 Riboflavin : Sigma/USA

3.2.3 Drabkin' s solution : Sigma/USA

3.3 วิธีการทดสอบ

3.3.1 การตรวจร่างกายขั้นพื้นฐาน ประกอบ ด้วย การวัดส่วนสูง การชั่งน้ำหนัก การคำนวณมวลร่างกายรวม (BMI) และการวัดความดันเลือด

3.3.2 การตรวจระดับไขมัน (Lipid profiles) ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ COBAS 6000 รุ่น C501 (Roche)

- Total Cholesterol: Enzymatic colorimetric method (CHOD-PAP)

- Triglyceride: Enzymatic colorimetric method (GPO-PAP)

- HDL-cholesterol (HDL-c): Homogeneous enzymatic colorimetric method

- LDL-cholesterol (LDL-c): Homogeneous enzymatic colorimetric method

3.3.3 การตรวจวัดระดับ Hemoglobin ในเลือด โดยนำ EDTA blood มาปั่นแยก plasma ออก แล้วทำเป็น 50% packed red cell หลังจากนั้นดูดเลือดปริมาตร 20 uL ใส่ลงใน Drabkin' s solution ปริมาตร 5 mL ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 10 นาที แล้วนำไปวัด OD ที่ 540 nm นำไปอ่านความเข้มข้นของฮีโมโกลบินโดยเทียบจากกราฟมาตรฐาน

3.3.4 การตรวจวัดระดับเอนไซม์ Superoxide dismutase activity (Winterbourn et al., 1975)

นำส่วนเม็ดเลือดแดงที่เหลือจาก EDTA tube มาดูดชั้นเม็ดเลือดขาวทิ้งและล้างเม็ดเลือดแดงที่เหลือด้วย PBS buffer pH 7.4 แล้วให้เก็บเป็น 50% pack red blood cells (PRCs) นำ 50% PRCs ปริมาตร 0.6 mL

มาปรับให้มีฮีโมโกลบิน เท่ากับ 10 g/dL หลังจากนั้นแบ่ง 50% PRCs ปริมาตร 0.5 mL เติม Cold H_2O ปริมาตร 3.5 mL Absolute ethanol 1 mL และ chloroform 0.6 mL นำไป vortex เป็นเวลา 2 นาที หลังจากนั้นนำไปปั่นที่ 5000 rpm ที่ 4 °C เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกส่วนใสใส่ลงใน microtube นำไปปั่นอีกครั้งที่ 10000 rpm นาน 3-5 นาที หลังจากนั้นนำส่วนใสมาทำการตรวจวิเคราะห์ SOD activity โดยหลักการ spectrophoto- metric method

คำนวณค่า % Inhibition ของ SOD แล้วนำไป plot เทียบกับ Standard curve และเปลี่ยนหน่วย SOD จาก units/mL เป็น U/gHb

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

เปรียบเทียบค่า SOD activity ระหว่างกลุ่มตัวอย่างใช้สถิติทดสอบ Mann-Whitney U test เนื่องจากข้อมูลเป็นแบบ non-parametric distribution กำหนดความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อ *p-value* มีค่าน้อยกว่า 0.05

4. ผลการวิจัย

ผลการศึกษาพบว่า อายุ น้ำ หนัก ส่วนสูง ดัชนีมวลกาย ความดันโลหิตซิสโทลิก (SBP) และ ระดับไขมัน (lipid profiles) ของกลุ่มตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่ม มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ยกเว้นค่าความดันโลหิตตัวล่าง (DBP) มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ดังแสดงในตารางที่ 1

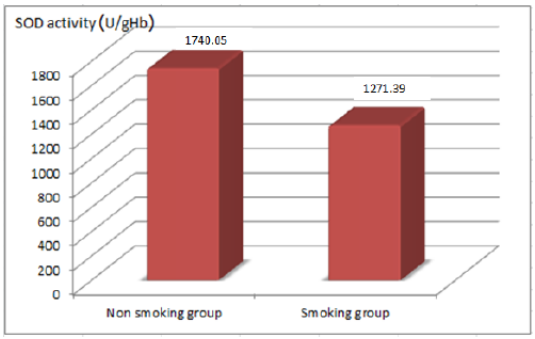
ผลการตรวจวัดระดับเอนไซม์ SOD activity ในเลือดพบว่า กลุ่มตัวอย่างที่ไม่สูบบุหรี่และกลุ่มตัวอย่างที่สูบบุหรี่ มีค่าเฉลี่ย (mean±SD) ของระดับเอนไซม์ SOD activity เท่ากับ 1706.85±478.72 U/gHb และ 1440.83±520.70 U/gHb ตามลำดับ ส่วนค่ามัธยฐาน ของระดับเอนไซม์ SOD activity ในกลุ่มตัวอย่างที่ไม่สูบบุหรี่ เท่ากับ 1740.05 U/gHb (1515.93-1964.17) และในกลุ่มตัวอย่างที่สูบบุหรี่ มีค่ามัธยฐาน เท่ากับ 1271.39 U/gHb (1140.39-1402.39) และจากการเปรียบเทียบระดับของเอนไซม์ SOD activity ในเลือดของกลุ่มตัวอย่างที่สูบบุหรี่พบว่า มีค่าต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่สูบบุหรี่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ดังแสดงใน รูปที่ 1

ตารางที่ 1 ข้อมูลทั่วไป และระดับไขมันของกลุ่มตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่ม*

พารามิเตอร์	กลุ่มไม่สูบบุหรี่ (n=51)	กลุ่มสูบบุหรี่ (n=47)	p-value#
อายุ (ปี)	44 (40.52 -47.48)	39 (36.14-41.86)	0.070
น้ำหนัก (Kg)	71 (67.52 –,74.48)	72 (68.18-75.82)	0.749
ส่วนสูง(cm)	170 (168.01-171.99)	170 (168.57-171.43)	0.445
มวลร่างกายรวม; BMI (Kg/m^2)	24.86 (23.83-25.89)	24.22 (23.17-25.27)	0.878
การออกกำลังกาย (จำนวน/ครั้ง)	4 (3.50-4.50)	4 (3.52-4.48)	0.619
Systolic Blood Pressure; SBP(mmHg)	130 (128.01-131.99)	131 (127.66-134.34)	0.512
Diastolic Blood Pressure; DBP(mmHg)	79 (77.01-80.99)	86 (83.61-88.39)	0.000
Triglyceride (mg/dL)	143 (103.20-182.80)	157 (120.26-193.74)	0.609
Total cholesterol (mg/dL)	224 (114.05-233.95)	224 (205.87-242.13)	0.685
HDL-cholesterol (mg/dL)	45 (39.53-50.47)	45 (39.27-50.73)	0.428
LDL- cholesterol (mg/dL)	143 (130.56-155.44)	131 (110.01-151.99)	0.164

* ข้อมูลแสดงในรูป median (95% CI); CI = Confidence Interval

Mann-Whitney U test



รูปที่ 1 ค่า median ของระดับเอนไซม์ SOD activity ในเลือดของกลุ่มตัวอย่างที่ไม่สูบบุหรี่และกลุ่มตัวอย่างสูบบุหรี่

5. การอภิปรายผล

Superoxide dismutase เป็นเอนไซม์สำคัญที่มีหน้าที่ในการต้านออกซิเดชั่น โดยจะทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยา dismutation ของ superoxide anion ไปเป็น

H_2O_2 หลังจากนั้น H_2O_2 จะถูกกำจัดโดยเอนไซม์ catalase และ glutathione peroxidase ต่อไป

งานวิจัยนี้ ผู้วิจัยใช้แบบสัมภาษณ์ในการคัดกรองกลุ่มอาสาสมัครเพื่อเข้าร่วมโครงการวิจัย โดยผลการศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลทั่วไปและ lipid profiles ของกลุ่มตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่ม พบว่าข้อมูลทั้งหมดมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) ยกเว้นค่าความดันโลหิตตัวล่าง (DBP) ค่าความดันโลหิตตัวล่างในกลุ่มตัวอย่างที่สูบบุหรี่ มีค่าสูงกว่าในกลุ่มตัว อย่างที่ไม่สูบบุหรี่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) มีรายงานที่ผ่านมา พบว่า นิโคตินเมื่อถูกดูดซึมเข้ากระแสเลือด มีผลโดยตรงต่อต่อมหมวกไต ทำให้มีการหลั่งสาร Epinephrine ทำให้ความดันโลหิตสูงขึ้น นิโคตินจะไปทำลายเยื่อบุชั้นในของหลอดเลือดแดง ทำให้หลอดเลือดแดงหดหรือตีบตัน (อภินันท์ ปัญญานุภาพ) หลอดเลือดส่วนปลายเหล่านี้หดตัวทำให้ความต้านทานต่อการไหลเพิ่มขึ้น จึงทำให้ปริมาณเลือดที่ไหลออกจากหลอดเลือดแดงลดลง ความต้านทานของเลือดส่วนปลายนี้เป็นตัวสำคัญในการกำหนดค่าความดันไดแอสโตลิก (Folkow et al., 1982) แต่อย่างไรก็ตามค่าความดันโลหิตตัวล่าง (DBP) ในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ ยังจัดอยู่ในเกณฑ์ปกติ (ไม่เกิน 90 mmHg) ดังนั้นจึงไม่น่าจะเป็นปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อระดับของ ระดับเอนไซม์ SOD activity ในการทดลองนี้

ผลการศึกษาเปรียบเทียบระดับของเอนไซม์ SOD activity ในเลือดของชายไทยที่สูบบุหรี่และไม่สูบบุหรี่ โดยอาศัยหลักการของ spectrophotometric method ผลการทดลองพบว่า ระดับเอนไซม์ SOD activity ในกลุ่มตัวอย่างที่สูบบุหรี่ มีค่าต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่สูบบุหรี่ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ซึ่งผลดังกล่าวเป็นไปตามสมมติฐานที่ผู้วิจัยตั้งไว้ และจากการศึกษาที่ผ่านมา ได้มีผู้ทำการวัดระดับของเอนไซม์ SOD และ glutathione peroxidase (GPx) ในกลุ่มผู้สูบยาสูบและสูบบุหรี่ พบว่า ระดับเอนไซม์ SOD ในกลุ่มควบคุม และในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ มีค่า 322.4 และ 305.5 U/mL ตามลำดับ โดยระดับเอนไซม์ SOD activity มีค่าลดลงในกลุ่มผู้สูบบุหรี่ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในครั้งนี้ กลไกที่ทำให้ SOD activity มีค่าลดลง ก็เกิดเนื่องจาก SOD เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เป็น antioxidant คอยขจัดทำลายอนุมูลอิสระต่างๆที่เกิดขึ้น โดยเร่งปฏิกิริยา dismutation ส่วนระดับเอนไซม์ GPx พบว่า มีค่าเพิ่มขึ้นในกลุ่มผู้สูบบุหรี่เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งอธิบายได้ว่าอาจเป็นกลไกการทำงานร่วมกันของ 2 เอนไซม์ เพื่อขจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น หลังจาก SOD เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยน superoxide anion ไปเป็น H_2O_2 และ SOD activity ลดลง GPx activity ที่เพิ่มขึ้น เพื่อตอบสนองในการทำหน้าที่ในการสลาย H_2O_2 ที่เกิดขึ้น (Naga et al., 2013) มีข้อมูลจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า การสูบบุหรี่เป็นระยะเวลานาน (Long-term smokers) ส่งผลให้ระบบต้านออกซิเดชั่นของร่างกายทั้ง enzymatic และ non-enzymatic antioxidants เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่าง มีนัยสำคัญ รวมถึงมีการเร่งปฏิกิริยา peroxidation เกิดขึ้นด้วย (Huda et al., 2000) ในเพศหญิงที่สูบบุหรี่จะมีระดับเอนไซม์ SOD activity ลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งในเพศชายก็ให้ผลในทำนองเดียวกัน อย่างไรก็ตามอาจมีปัจจัยอื่นที่มีผลต่อระดับ SOD activity ได้แก่ ระยะเวลาการสูบ และจำนวนบุหรี่ที่สูบต่อวัน (Codandabany et al., 2000)

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับ ผลกระทบของการสูบบุหรี่ในผู้ป่วยโรคต้อกระจก ซึ่งพบว่า SOD activity มีค่าลดต่ำลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่สูบบุหรี่ ซึ่งค่าดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับระดับของ Zinc (Zn) ที่ลดลงด้วย เนื่องจากในบุหรี่จะมีโลหะหนักเป็นส่วนประกอบคือ แคดเมียม (Cd) Cd

จะไปแทนที่ bivalent metals ต่างๆ เช่น Zn, Cu ซึ่งเป็น cofactor ของเอนไซม์ SOD ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้ อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น จะไป oxidize โปรตีนและไขมัน ซึ่งเป็นส่วนประกอบของ membrane ที่เลนส์ตา เป็นสาเหตุทำให้เกิดพยาธิสภาพที่เลนส์ตา และน่าจะมีความสัมพันธ์กับการเกิดต้อกระจก (Senile cataract) (Sulochana et al., 2002)

6. บทสรุป

ผู้วิจัยพบว่าการสูบบุหรี่ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ Superoxide dismutase ในเลือดโดยในกลุ่มตัวอย่างที่สูบบุหรี่มีระดับเอนไซม์ต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่สูบบุหรี่ ข้อมูลจากการศึกษาในครั้งนี้ ถือว่าเป็นความรู้พื้นฐานสำหรับการที่จะนำผลงานวิจัยไปพัฒนาต่อยอด เพื่อศึกษาองค์ความรู้ที่สมบูรณ์เกี่ยวกับภาวะเครียดจากออกซิเดชั่นและการสูบบุหรี่ในคนไทยต่อไป

7. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเครือข่ายวิชาชีพสุขภาพเพื่อสังคมไทยปลอดบุหรี่ ขอขอบคุณ คุณฉัตรดนัยภากร บุราโส เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลรามาธิบดี และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการคณะเทคนิคการแพทย์ ม.รังสิตทุกท่านที่มีส่วนร่วมในงานวิจัยในครั้งนี้

8. เอกสารอ้างอิง

เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม. (2554). อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์ ปีที่ 1 ฉบับที่ 1 พ.ค.-ส.ค. 2554 : 59-70.

ณัฐพล อาบัลย์. (2553). สถิติการสูบบุหรี่ของประชากรในปี2550 (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://best009.blogspot.com. (8 มีนาคม 2553).

ทินกร เหล่าออง, กนกวรรณ จารุกำจร และวรัญญา จตุพรประเสริฐ. (2556). ผลกระทบของระบบต้านอนุมูลอิสระ และภาวะเครียดออกซิเดชั่นต่อพัฒนาการของภาวะเบาหวาน. ว. เภสัชศาสตร์อีสาน 9(1): 1-14.

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ. (2555). (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://www.thaihealth.or.th/healthcontent/article/31024 (11 ตุลาคม 2555).

สำนักงานสถิติแห่งชาติ. (2554). (ออนไลน์). สืบค้นจาก:http://service.nso.go.th/nso/nsopublish/pubs/pubsfiles/sumSmoke54.pdf

อภินันท์ ปัญญานุภาพ. (2549). ปัจจัยที่ส่งผลต่อพฤติกรรม การป้องกันการสูบบุหรี่ของนักศึกษาชายในสถานศึกษาสังกัดอาชีวศึกษา จังหวัดนครปฐม (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://www.thapra.lib.su.ac.th/objects/thesis/fulltext/snamcn/Apinan_Panyanupap/fulltext.pdf. (20 กุมภาพันธ์ 2557).

Brown, KM., Morrice, PC., Arthur, JR. and Duthie G. (1996). Effects of vitamin supple mentation on erythrocyte antioxidant defence mechanisms of smoking and non-smoking men. Clin Sci (Lond). 91(1):107-11.

Codandabany U. (2000). Erythrocyte lipid peroxidation andantioxidants in cigarette smokers. Cell Biochem Funct. 18:99-102.

Feairheller, DL, Diaz, KM. Sturgeon, KM. Williamson, ST. and Brown MD. (2011). Racial Differences in the Time-Course Oxidative Stress Responses to Acute Exercise. JEPonline. 14(1):49-59.

Folkow, B. (1982). Physiological aspects of primary hypertension. Physiol. Rev. 62 (2): 347-504.

Huda D, Mustafa K, Cemil T and Basra Y. (2000). Effects of Cigarette Smoking on Blood Antioxidant Status in Short-Term and Long-Term Smokers. Turk J Med Sci.553-7.

Kalinowski, L. Dobrucki, IT. Malinski, T. (2004). Race-specific differences in endothelial function. Predisposition of african americans to vascular diseases. Circulation. 109**:** 2511-17.

Lobo, V, Patil, A., Phatak, A. and Chandra, N.(2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health Pharmacogn Rev. 4(8): 118–126.

Naga, Sirisha CV., Manohar, RM.(2013). Study of antioxidant enzymes superoxide dismutase and glutathione peroxidase levels in tobacco chewers and smokers: a pilot study. J Cancer Res Ther 9(2):210-4.

Rahman, I., Biswas, SK. and Kode, A. (2006). Oxidant and antioxidant balance in the airways and airway disease. Eur J Pharmacol. 533(1-3):222-39.

Sulochana, K.N., Punitham,R. and Ramakrishnan, S.(2002). Effect of cigarette smoking on cataract: Antioxidant enzyme and constituent mineralin the lens and blood of humans. Indian Journal of Pharmacology 34: 428-431.

Tavilani, H., Nadi, E., Karimi, J. and Goodarzi, MT. (2012). Oxidative stress in COPD patients, smokers, and non-smokers. Respir Care. 57(12):2090-4.

Winterbourn, CC., Hawkins, RE., Brian, M. and Carrell, RW.(1975). The estimation of red cell superoxide dismutase activity. J Lab Clin Med. 85(2):337-41.

Young-Hoon, Lee**.**, Min-Ho, Shin**.**, Sun-Seog, Kweon**.**, Jin-Su, Choi**.**, Jung-Ae, Rhee. and Hye-Ran, Ahn. *et al.* (2011). Cumulative smoking exposure. BMC Public Health 11:94 doi:10.1186/1471-2458-11-94.

Zitouni, K. Nourooz-Zadeh, J. Harry, D. Kerry, SM. Betteridge, DJ. and Cappuccio, FP. *et al.*, (2005). Race-specific differences in antioxidant enzyme activity in patients with type 2 diabetes: A potential association with the risk of developing nephropathy. Diabetes Care. 28: 1698-1703