สำนักงานวิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

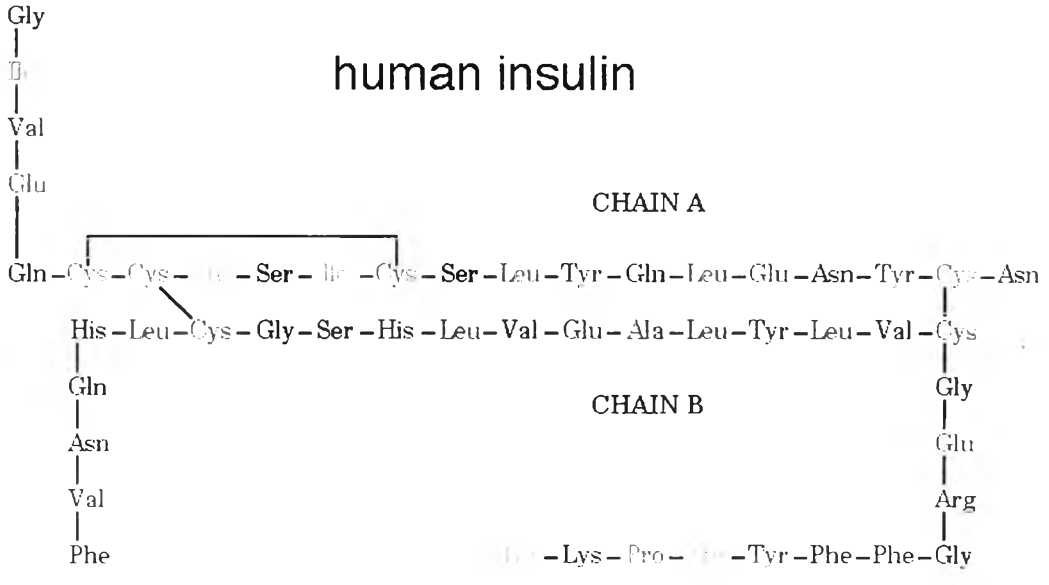
บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
ฮอร์โมนอินซูลินและภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลิน

2.1 ลักษณะและโครงสร้างทางเคมีของฮอร์โมนอินซูลิน [13,14]

ฮอร์โมนอินซูลินประกอบด้วยสายเปปไตด์ 2 สาย คือ สาย A (A chain) มีกรดอะมิโน 21 ตัว สาย B (B chain) มีกรดอะมิโน 30 ตัว เชื่อมต่อกันด้วยสาย disulfide ดังแสดงในภาพที่ 1 ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวน 51 ตัว มีน้ำหนักโมเลกุล 5802 โดยยีนอินซูลินอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 11 และการสร้างเกิดจากสายเปปไตด์ตั้งต้นคือ proinsulin

ภาพที่ 1 แสดงโครงสร้างของฮอร์โมนอินซูลิน



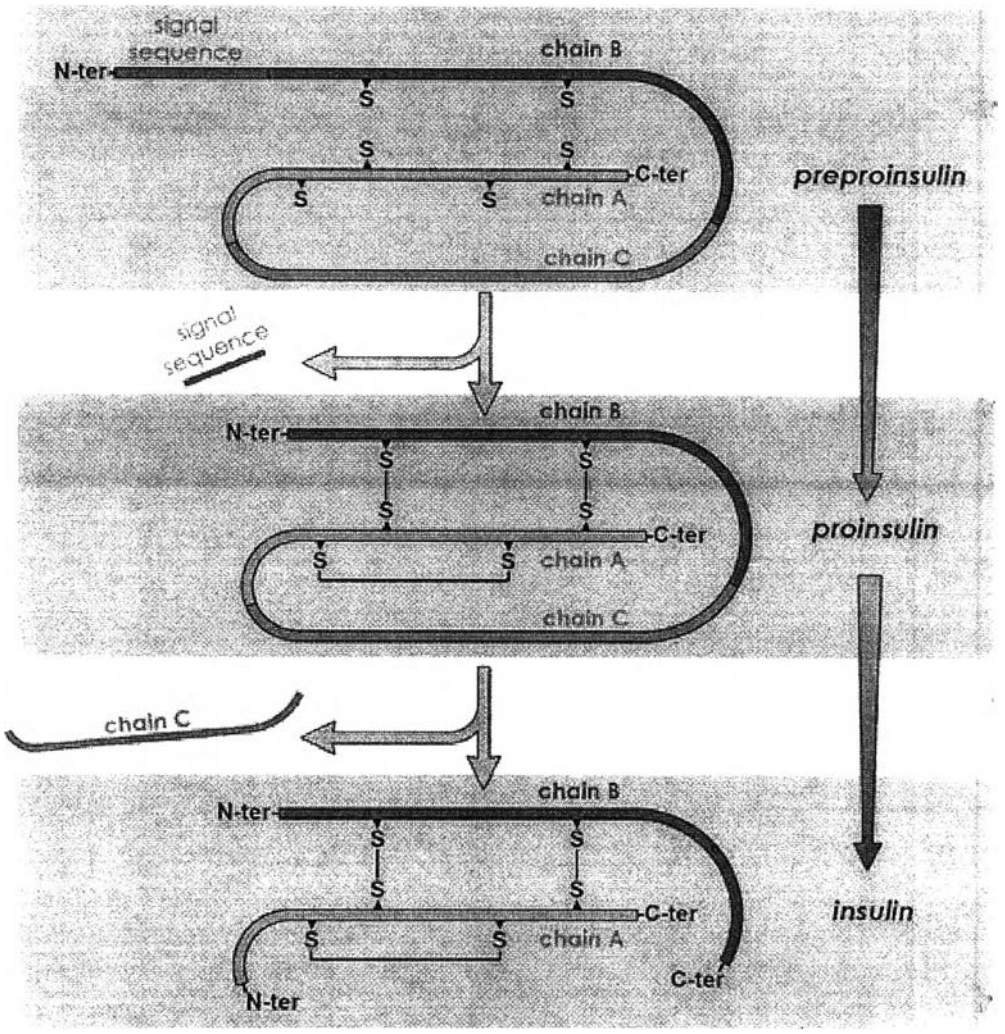
2.2. การสร้างฮอร์โมนอินซูลิน [13-16]

ในมนุษย์การควบคุมการสร้างฮอร์โมนอินซูลินและการแสดงออกของยีนอินซูลินเกิดขึ้นภายในเบต้าเซลล์ของตับอ่อน โดยกลไกการสร้างฮอร์โมนอินซูลินเริ่มจากการสร้างและเปลี่ยน preproinsulin เป็น proinsulin และ ฮอร์โมนอินซูลินในที่สุด ดังแสดงในภาพที่ 2 นอกจากนี้หน้าที่หลักของเบต้าเซลล์ยังประกอบด้วยการเก็บ (storage) และควบคุมการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน โดย

หอสมุดกลาง สำนักงานวิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เมื่อมีการกระตุ้นที่เหมาะสมเช่นเมื่อระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้น เบต้าเซลล์สามารถหลั่งฮอร์โมนอินซูลินได้ทันที

ภาพที่ 2 แสดงขั้นตอนการสังเคราะห์ฮอร์โมนอินซูลิน [17]



ขั้นตอนในการสร้างฮอร์โมนอินซูลินประกอบด้วย

2.2.1 **การสร้าง** Preproinsulin

การสร้างฮอร์โมนอินซูลินเริ่มต้นจากการสร้างสารโปรตีนตั้งต้นคือ preproinsulin ซึ่งเกิดขึ้นภายใน rough endoplasmic reticulum (RER) โดยเริ่มต้นจากการถอดรหัส (translation) ของ preproinsulin mRNA ได้เป็นโปรตีน preproinsulin ซึ่งประกอบด้วย 4 domains เรียงต่อกัน คือ ส่วนแรกเริ่มต้นจากฝั่งอะมิโน (NH_2-terminal) ประกอบด้วยกรดอะมิโน 24 ตัวเรียกส่วนนี้ว่า signal

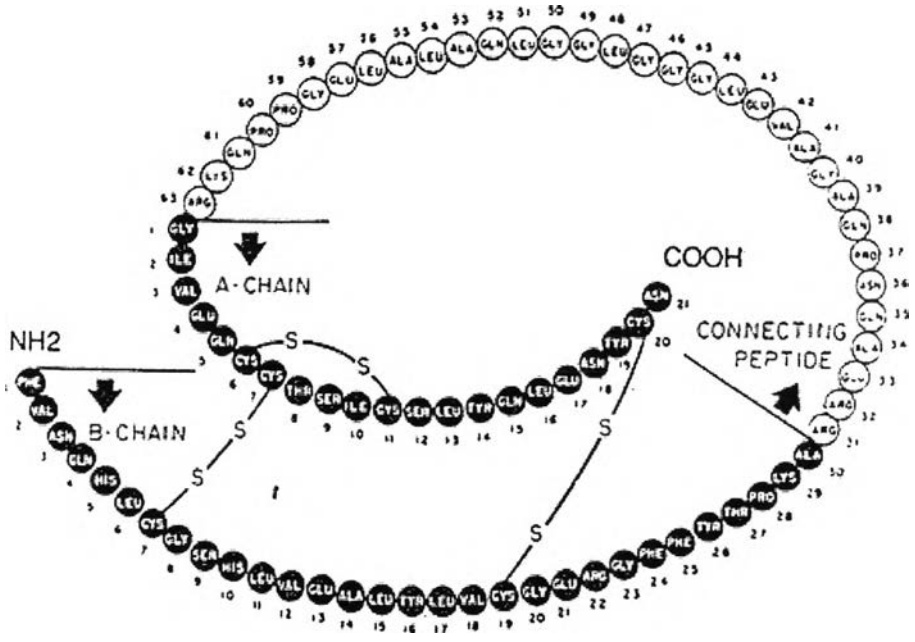
peptide ส่วนที่ 2 คือ B-chain (มีกรดอะมิโน 30 ตัว) ส่วนที่ 3 คือ C-peptide และส่วนที่ 4 คือ A-chain (มีกรดอะมิโน 21 ตัว) ตามลำดับ

เมื่อสายโปรตีน preproinsulin สร้างสมบูรณ์ signal peptide จะมีหน้าที่ในการนำสายโปรตีนที่สร้างเสร็จออกจาก RER โดยมีขั้นตอนคือ signal peptide จะไปจับกับโปรตีน signal-recognition-particle (SRP) เพื่อใช้ส่วนของ SRP เป็นตัวช่วยในการนำสายโปรตีนไปที่ผนังเซลล์เมมเบรนของ RER โดย SRP จะไปจับกับ SRP receptor ซึ่งอยู่บนผนังเซลล์เมมเบรนด์ของ RER หลังจากนั้น signal peptide ซึ่งมีคุณสมบัติในการละลายในไขมันจะนำสาย preproinsulin ผ่านเข้าผนังเซลล์เมมเบรนด์ของ RER และไปจับกับ signal sequence receptor (SSR) ภายในผนัง RER ซึ่งตัว SSR จะทำให้ preproinsulin ผ่านผนัง RER ต่อไปได้ ในขณะเดียวกันเอนไซม์ signal peptidase ภายใน RER จะตัดสาย signal peptide ออกไปทำให้เหลือเป็นสายเปปไตด์ proinsulin ซึ่งถือเป็นสารที่เกิดขึ้นในขั้นตอนสุดท้ายของ preproinsulin translation

2.2.2 การสร้าง proinsulin และ ฮอร์โมนอินซูลิน

Proinsulin เป็นโพลีเปปไตด์สายเดียวขนาด 12 กิโลดาลตัน ประกอบด้วย B-chain, A-chain และ C-peptide โดยระหว่าง B-chain และ A-chain มีสาย disulfide 2 สายเชื่อมต่อกันไว้ และที่ A-chain เองมีสาย disulfide 1 สายเชื่อมภายใน A-chain เอง ในการเปลี่ยน proinsulin เป็นฮอร์โมนอินซูลินนั้นจะมีการนำกรดอะมิโน 2 ตัวคือ Arg, Arg ที่เชื่อมระหว่าง B-chain และ C-peptide ออกไปร่วมกับนำกรดอะมิโนอีก 2 ตัวที่เชื่อมระหว่าง C-peptide และ A-chain คือ Lys, Arg ออกไปได้เป็นฮอร์โมนอินซูลินซึ่งประกอบด้วยสายเปปไตด์ A-chain และ B-chain ที่เชื่อมต่อกันด้วย disulfide 2 สาย และได้สาย C-peptide อีก 1 สาย ดังแสดงในภาพที่ 3

ภาพที่ 3 แสดงโครงสร้างของสายโพลีเปปไตด์ proinsulin



การควบคุมการสร้าง proinsulin อยู่ภายใต้การควบคุมของสารอาหาร, สารสื่อประสาท (neurotransmitters) และฮอร์โมน ซึ่งตัวที่สำคัญที่สุด คือ ระดับน้ำตาลในกระแสเลือด โดยพบว่าที่ระดับน้ำตาลช่วง 2 ถึง 4 มิลลิโมลาร์ (36 ถึง 72 มก/ดล) ทำให้เบต้าเซลล์หลั่งฮอร์โมนอินซูลินสู่กระแสเลือด และระดับน้ำตาลขนาด 10 ถึง 12 มิลลิโมลาร์ (180 ถึง 216 มก/ดล) สามารถกระตุ้นการสร้าง proinsulin ได้สูงที่สุด ในขณะที่การหลั่งฮอร์โมนอินซูลินสูงสุดสามารถกระตุ้นได้ถึงระดับน้ำตาลที่สูงมากกว่า 15 มิลลิโมลาร์ (270 มก/ดล)

หลังจากเบต้าเซลล์โดนกระตุ้นด้วยน้ำตาล เซลล์ใช้เวลาประมาณ 20 นาทีในการเริ่มสร้าง proinsulin และเมื่อครบ 60 นาที พบว่าเบต้าเซลล์สามารถสร้าง proinsulin ได้เพิ่มขึ้น 10 ถึง 30 เท่าและ การสร้าง proinsulin จะลดลงอย่างช้าๆและกลับสู่ภาวะปกติ (basal rate) หลังปลอดจากการกระตุ้นประมาณ 1 ชั่วโมง

ในภาวะปกติการที่ระดับน้ำตาลกระตุ้นการทำงานของเบต้าเซลล์มักเกิดขึ้นภายใน 2 ถึง 3 ชั่วโมง ดังนั้นในภาวะดังกล่าวกลไกการสร้าง proinsulin จะเกิดที่ระดับ translation แต่ถ้าภาวะที่มีการกระตุ้นโดยน้ำตาลนานขึ้น (มากกว่า 4 ชั่วโมง) กลไกการสร้าง proinsulin จะเกิดขึ้นที่ระดับ transcription ด้วย

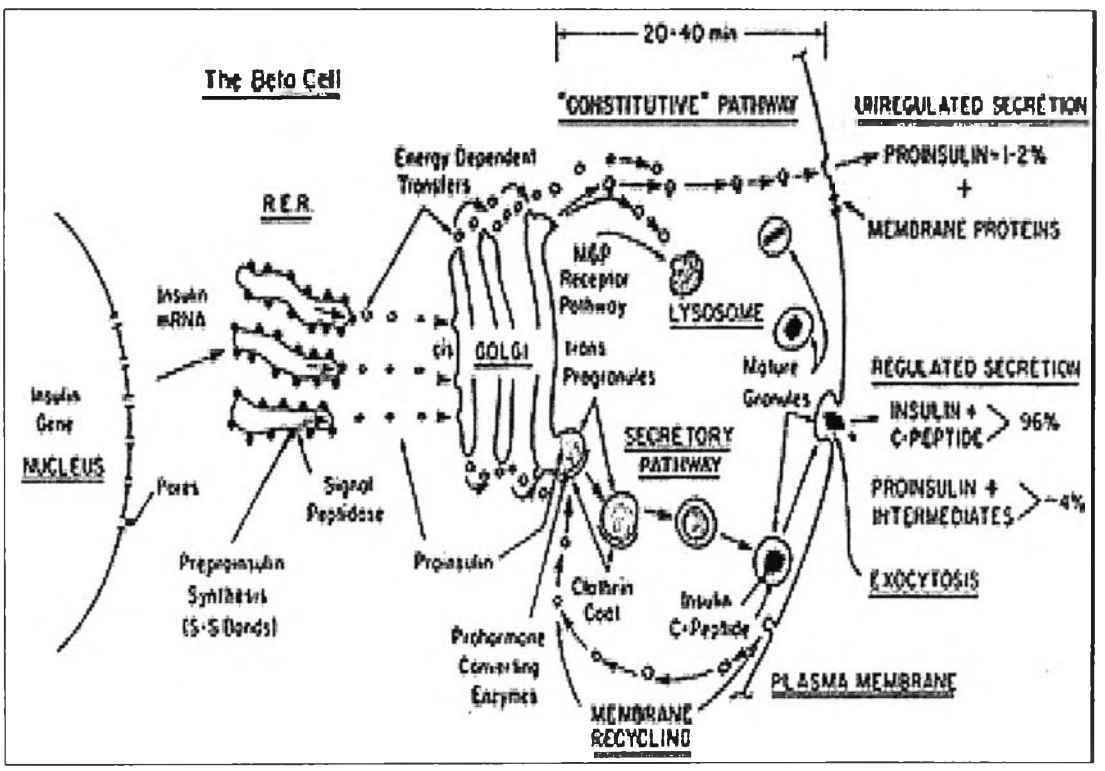
สารหรือฮอร์โมนที่สามารถกระตุ้นให้เบต้าเซลล์หลั่งฮอร์โมนอินซูลิน ได้แก่ leucine, succinate, pyruvate, inosine, guanosine, adenosine, ribose, ยา sulfonylurea, long chain fatty acid, growth hormone, glucagon และ glucagon-like peptide-1 (GLP-1)

สารหรือภาวะที่ทำให้มีการสร้าง proinsulin เพิ่มขึ้นได้แก่ Mg^{2+}, การตั้งครรภ์ และอ้วน ซึ่งเกิดเนื่องจากมีการเพิ่มขึ้นของมวลเบต้าเซลล์ หรือ islet hyperplasia

ในขณะเดียวกันการสร้างฮอร์โมนอินซูลินจะถูกยับยั้งหรือลดลงด้วยฮอร์โมน epinephrine, interleukin-1, ยา diazoxide, somatostatin, อายุที่มากขึ้น และภาวะอดอาหาร

เมื่อ proinsulin มาอยู่ใน RER lumen (ดูภาพที่ 4 ประกอบ) proinsulin จะถูกนำมายัง cis-Golgi และถูกส่งผ่านไป medial-Golgi และ trans-Golgi ตามลำดับ โดยจะอยู่ในรูป COP-coated vesicles หลังจากนั้นเมื่อ proinsulin ถูกนำมาถึง trans-Golgi network (TGN)ตัว proinsulin ที่ตำแหน่งนี้จะมีสาร clathrin หุ้มรอบและ เป็นจุดเริ่มต้นของการสร้างเบต้าแกรนูล (β-granules) ซึ่งตั้งต้นที่ immature granules ซึ่งมี proinsulin เป็นองค์ประกอบภายในเป็นหลัก และพัฒนาเป็น mature granule ซึ่งมีองค์ประกอบภายในเป็น ฮอร์โมนอินซูลินและ C-peptide

ภาพที่ 4 แสดงกลไกการสร้างและหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน

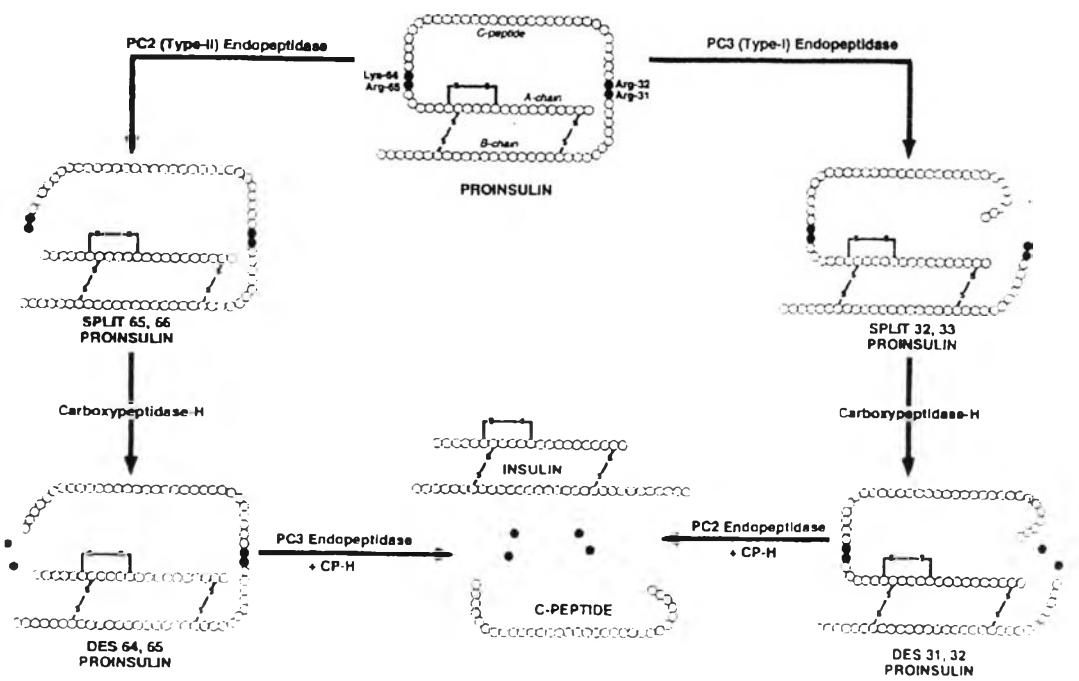


โดยขั้นตอนการเปลี่ยนจาก proinsulin เป็นฮอร์โมนอินซูลิน และ C-peptide ภายใน granule ดังแสดงในภาพที่ 5 ต้องอาศัย เอนไซม์ proinsulin conversion (PC) ซึ่งเอนไซม์ PC2 จะตัดที่ตำแหน่ง Lys^{64}-Arg^{65} ได้เป็น split 65,66 proinsulin และถูกย่อยต่อโดยเอนไซม์ carboxypeptidase-H (CP-H) ได้เป็น des 64,65-proinsulin

ในขณะที่ PC3 จะตัดกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง Arg^{31}-Arg^{32} และ ย่อยต่อด้วยเอนไซม์ CP-H ได้เป็น des-31,32 proinsulin โดยทั้ง des-64,65 proinsulin และ des-31,32 proinsulin เป็น intermediate form และจะถูกย่อยภายใน granule ต่อไป โดยเอนไซม์ PC3 ร่วมกับ CP-H หรือ PC2 ร่วมกับ CP-H ตามลำดับได้เป็น mature granule ซึ่งภายในประกอบด้วยฮอร์โมนอินซูลินและ C-peptide

เบต้าแกรนูลที่พัฒนาสมบูรณ์แล้วพร้อมที่จะจับกับเซลล์เมมเบรนของเบต้าเซลล์และปล่อยฮอร์โมนอินซูลินและ C-peptide ออกสู่กระแสเลือดภายใน 1 ชั่วโมง ซึ่งปริมาณที่ปล่อยออกหลังการกระตุ้น ในภาวะที่เบต้าเซลล์ปกติเพียง 1 ถึง 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่าค่าครึ่งชีวิตของเบต้าแกรนูลมีเวลาหลายวัน และจะถูกทำลายโดยการย่อยโดย lysosomes เรียกกลไกดังกล่าวว่า crinophagy

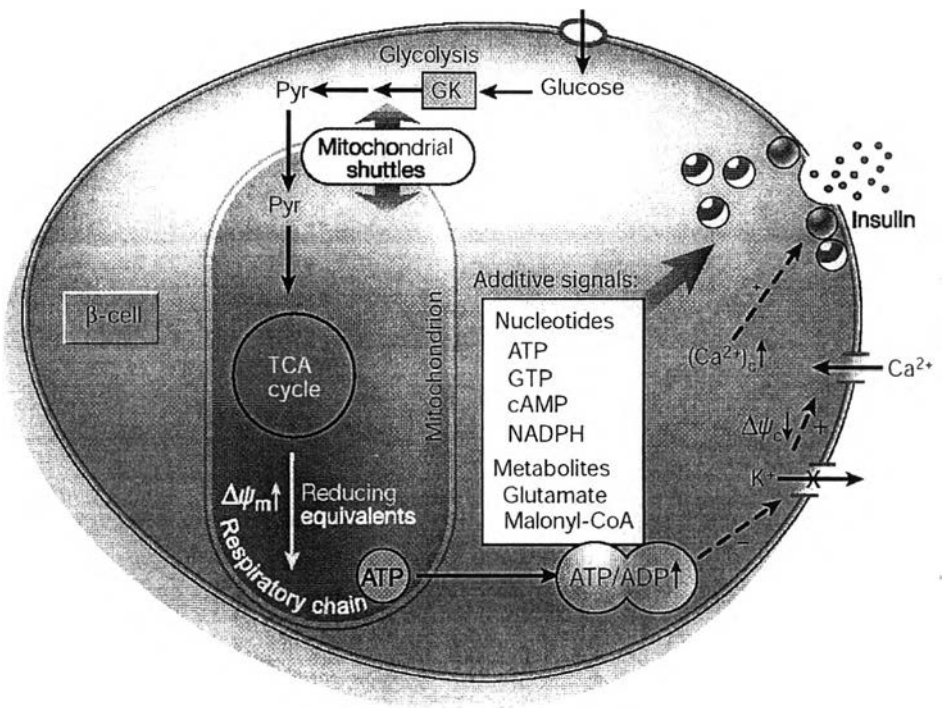
ภาพที่ 5 แสดงการเปลี่ยนฮอร์โมน proinsulin เป็น ฮอร์โมนอินซูลิน โดยเอนไซม์ต่างๆ [14]



2.3 กลไกควบคุมการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน [18-21]

ฮอร์โมนอินซูลินถูกหลั่งเข้าสู่ portal vein เป็นลักษณะ pulsatile โดยพบว่ามีสารหลายอย่างสามารถกระตุ้นการหลั่งของฮอร์โมนอินซูลินได้ แต่สารที่สำคัญที่สุด คือ น้ำตาลซึ่งจะทำให้มีการปล่อยฮอร์โมนออกเป็น 2 ช่วง (biphasic) คือช่วงที่ 1 หรือ first phase จะมีการปล่อยฮอร์โมนอินซูลินภายใน 1 นาที มีระดับสูงสุดภายใน 3 - 5 นาที และสิ้นสุดภายใน 10 นาที ช่วงที่ 2 หรือ second phase ซึ่งจะเกิดช้ากว่า โดยพบว่าเมื่อระดับของน้ำตาลในเลือดสูงขึ้นจะกระตุ้นเบต้าเซลล์ให้มีการปล่อยฮอร์โมนอินซูลินออกมาสู่กระแสเลือด โดยมีขั้นตอนดังนี้ [22] (ภาพที่ 6)

ภาพที่ 6 แสดงกลไกการควบคุมการหลั่งของฮอร์โมนอินซูลิน [22]



1. น้ำตาลกลูโคสจะจับกับ glucose transporter 2 (GLUT2) ที่ผนังของเบต้าเซลล์และถูกนำเข้าสู่เบต้าเซลล์หลังจากนั้นจะถูกเปลี่ยนเป็น glucose-6-phosphate (G-6P) โดยเอนไซม์ glucokinase (GK)
2. หน้าที่ของเอนไซม์ glucokinase คือ เป็นตัวควบคุมการนำน้ำตาลกลูโคสเข้าสู่เซลล์แปรผันตามความเข้มข้นของน้ำตาล เป็นลักษณะ sigmoid curve และไม่ถูกยับยั้งโดย G-6P
3. ขั้นตอนของการเมตาบอลิสมน้ำตาลภายในเบต้าเซลล์จะผ่านกลไก glycolysis เป็นหลัก ซึ่งจะได้ผลิตภัณฑ์เป็น pyruvate โดยพบว่าสาร pyruvate ที่เกิดขึ้นจะถูกนำเข้า

สู่ไมโตคอนเดรีย เนื่องจากภายในเบต้าเซลล์เองไม่ค่อยมีเอนไซม์ lactate dehydrogenase (LDH) ซึ่งจะเปลี่ยนสาร pyruvate เป็น lactate และขาด monocarboxylate transporter ที่ผนังเซลล์เมมเบรนซึ่งจะเป็นตัวนำสาร lactate และ pyruvate ออกจากเซลล์ เมื่อสาร pyruvate ถูกนำเข้าสู่ไมโตคอนเดรียจะถูกเอนไซม์ pyruvate dehydrogenase (PDH) เปลี่ยนสาร pyruvate ไปเป็น acetyl coenzyme A (Co A) และเอนไซม์ pyruvate carboxylase เปลี่ยนสาร pyruvate ไปเป็น oxaloacetate ในสัดส่วนพอๆกัน จากนั้น acetyl Co A จะโดนนำเข้าวงจรของกรดซิตริก (citric acid cycle) เพื่อนำไปใช้และสร้างเป็น adenosine triphosphate (ATP) ในที่สุด

4. เมื่อระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดสูงขึ้น การกระตุ้นการเกิดออกซิเดชั่นของน้ำตาลกลูโคสจะมากกว่าการเกิด glycolysis ในภาวะที่ระดับน้ำตาลสูงขึ้นจะกระตุ้นให้ระดับแคลเซียมในไซโตพลาสมสูงขึ้น และทำให้ระดับแคลเซียมในไมโตคอนเดรียสูงตามมา ซึ่งภาวะดังกล่าวจะเป็นตัวสำคัญในการกระตุ้นกลไกของ mitochondrial dehydrogenases ทำให้เพิ่มการสร้าง ATP มากขึ้นเช่นกัน ด้วยกลไกข้างต้นทั้งหมดเมื่อน้ำตาลสูงขึ้น จะทำให้สัดส่วนของ ATP / adenosine diphosphate (ADP) ในเบต้าเซลล์สูงตามมา
5. เมื่อสัดส่วนของ ATP / ADP มากขึ้นจะไปทำให้ประตูโปตัสเซียม (K^+ - ATP channel) ปิด ส่งผลให้เซลล์เมมเบรนเกิดการ depolarization และทำให้ประตูแคลเซียม (voltage dependent calcium channel) เปิด เพิ่มการนำแคลเซียมเข้าสู่เบต้าเซลล์ และกระตุ้นให้มีการหลั่งฮอร์โมนอินซูลินในที่สุด

นอกจากกลไกข้างต้นแล้วการหลั่งฮอร์โมนอินซูลินอาจผ่าน K^+-ATP channel - independent Ca^{2+}-dependent pathway และ K^+-ATP channel-independent Ca^{2+}-independent pathway กลไกอื่นที่สามารถกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนอินซูลินได้แก่ การกระตุ้น phospholipase, protein kinase C โดยการกระตุ้น adenyl cyclase และเบต้าเซลล์ protein kinase A ซึ่งกลไกสุดท้ายสามารถโดนกระตุ้นด้วยฮอร์โมน vasoactive intestinal peptide (VIP), PACAP, GLP-1 และ GIP

2.4 ปัจจัยที่ควบคุมการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน [23]

ตัวกระตุ้นหรือยับยั้งการหลั่งของฮอร์โมนอินซูลินประกอบด้วยทั้งส่วนที่เป็นสารอาหารและไม่ใช่สารอาหาร ดังนี้

1. สารอาหาร
   1.1 น้ำตาล ซึ่งได้กล่าวไว้ในช่วงต้น
   1.2 กรดอะมิโน เช่น arginine จะกระตุ้นการหลั่งเช่นเดียวกับน้ำตาล
   1.3 ไขมัน เช่น กรดไขมันทำให้การออกฤทธิ์ของฮอร์โมนอินซูลินลดลง การผลิตน้ำตาลที่ตับมากขึ้นและในระยะยาวจะลดการตอบสนองต่อน้ำตาลในการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน
2. Neural stimuli ประกอบด้วย
   2.1 Cholinergic pathway พบว่าการกระตุ้นผ่านเส้นประสาท vagus ทำให้ฮอร์โมนอินซูลินหลั่ง เช่น การเห็นอาหาร ได้กลิ่นและเมื่อรับประทานอาหาร ในขณะที่การในช่วงอดอาหาร (fasting state) หรือเมื่อระดับน้ำตาลในเลือดต่ำจะไม่มีการกระตุ้นดังกล่าว
   2.2 Adrenergic pathway พบว่าสาร catecholamines จะยับยั้งการหลั่งฮอร์โมนอินซูลินโดยผ่านทาง α2-adrenoreceptors ในขณะที่สามารถกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนอินซูลินทาง β-adrenoreceptor
3. ฮอร์โมนเปปไตด์ เมื่ออาหารผ่านเข้าสู่ระบบทางเดินอาหารสามารถหลั่งฮอร์โมนที่กระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน ได้แก่ GLP-1, leptin และ adiponectin ในขณะที่ตัว somatostatin จะยับยั้งการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน
4. ปัจจัยที่สามารถกระตุ้นขนาดของเบต้าเซลล์ มีรายงานเกี่ยวกับการเพิ่มปริมาณของเบต้าเซลล์ต่อการสัมผัสต่อฮอร์โมนในระยะยาว เช่น growth hormone, prolactin, placental lactogen และ GLP-1

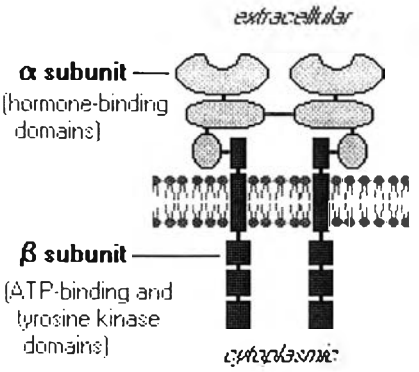
ในภาวะอดอาหารเบต้าเซลล์หลั่งฮอร์โมนอินซูลินขนาด 0.25-1.5 ยูนิตต่อชั่วโมง ซึ่งเพียงพอที่จะทำให้มีการนำน้ำตาลกลูโคสเข้าสู่เซลล์ และฮอร์โมนในปริมาณดังกล่าวสามารถป้องกันการเกิดการสลายเซลล์ไขมัน และยับยั้งการสร้างน้ำตาลใหม่ ทำให้ระดับน้ำตาลอยู่ในค่าคงที่ปกติ พบว่าปริมาณฮอร์โมนอินซูลินที่หลั่งในช่วง fasting จะมีปริมาณมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ของฮอร์โมนอินซูลินที่ร่างกายหลั่งใน 24 ชั่วโมง เมื่อฮอร์โมนอินซูลินหลั่งเข้าสู่ portal venous system ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ จะถูกทำลายโดยตับ ดังนั้นในคนที่รูปร่างผอมและแข็งแรงดีจะมีปริมาณฮอร์โมนอินซูลินในภาวะอดอาหารประมาณ 3-15 mIU/L (18-90 pmol/L)

2.5 การออกฤทธิ์ของฮอร์โมนอินซูลิน [23-26]

ฮอร์โมนอินซูลินออกฤทธิ์โดยการจับกับตัวจับที่เรียกว่า insulin receptor (ภาพที่ 7) ที่ผนังเซลล์เมมเบรน โดย insulin receptor ประกอบด้วย 4 ยูนิตย่อย คือ ชนิดแอลฟา (α subunit) 2

ยูนิต และเบต้า (β subunit) 2 ยูนิต แต่ละ α และ β subunit จะจับกันเป็น α-β dimer และแต่ละ α-β dimer เชื่อมกันด้วย disulfide bond เป็น tetramer ที่สมบูรณ์ของ insulin receptor

ภาพที่ 7 แสดงลักษณะของ insulin receptor



insulin receptor เป็น receptor ที่อยู่ในกลุ่มเดียวกันกับ Insulin like growth factor-1 (IGF-1) receptor และ insulin receptor-related receptor (IRR) ดังนั้นฮอร์โมนอินซูลินจึงสามารถจับได้ทั้ง insulin receptor และ IGF-1 receptor

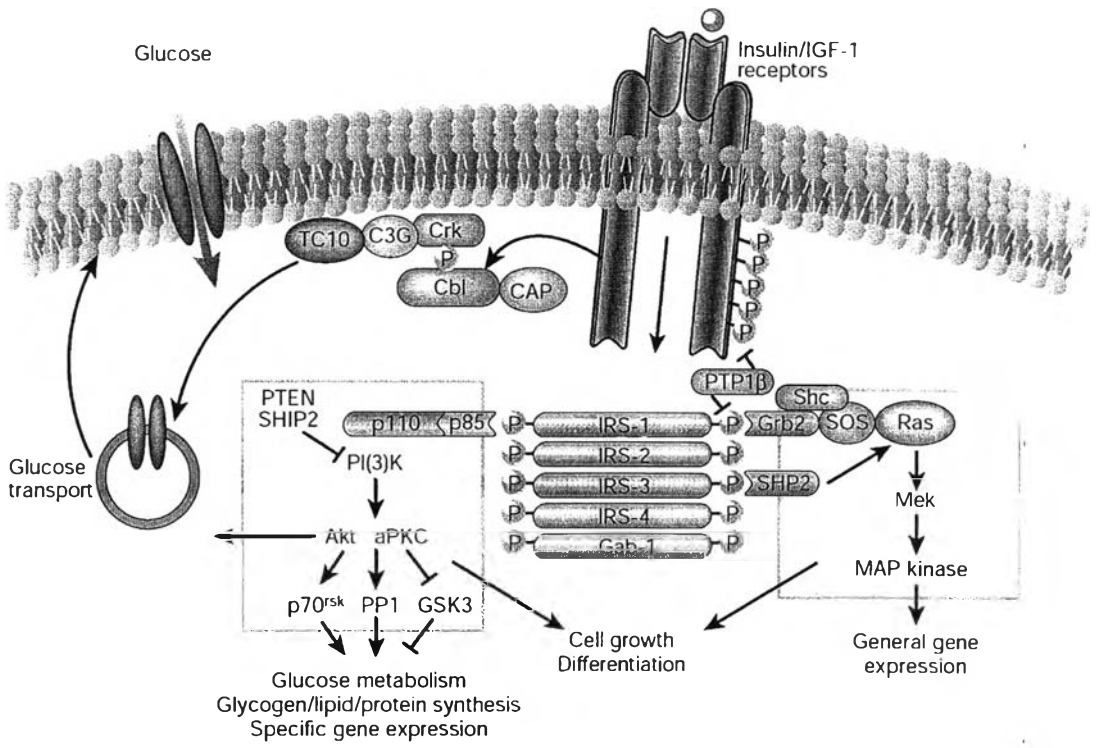
ในภาวะปกติ α subunit จะยับยั้งการทำงานของ tyrosine kinase ภายใน β subunit และเมื่อฮอร์โมนอินซูลินมีการจับกับ α subunit สามารถกระตุ้นกลไกการ phosphorylation ของ β subunit อย่างต่อเนื่องทำให้มีการกระตุ้นการทำงานของกลุ่ม tyrosine kinase โดยอาศัยโปรตีนภายในเซลล์ที่เรียกว่า insulin responsive substrate (IRS) ทั้งหมดเป็นที่มาของขั้นตอนการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนอินซูลินในการควบคุมสารต่างๆทางเมตาบอลิก (ภาพที่ 7)

ในส่วนของ IRS ประกอบด้วย IRS-1, IRS-2, IRS-3 และ IRS-4 โดย IRS-1 และ IRS-2 พบได้ในเซลล์ทั่วๆไป ในขณะที่ IRS-3 พบในเซลล์ไขมัน, ตับ, หัวใจ, ปอด, สมอง และไต ส่วน IRS-4 พบน้อยและพบใน fibroblasts เนื้อเยื่อจาก embryonic กล้ามเนื้อลาย ตับ หัวใจ ไฮโปทาลามัส และไต เมื่อ IRS ได้รับการ phosphorylation จะจับกับโปรตีนที่เฉพาะ คือกลุ่ม src-homology-2 (SH2) ซึ่งได้แก่เอนไซม์ phosphatidylinositol 3-kinase (PI 3-kinase) เอนไซม์ phosphotyrosine phosphatase (PTP2) และโปรตีนกลุ่มที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ ได้แก่ Grb2 ซึ่งจะสัมพันธ์กับกลไก rat sarcoma protein (Ras)

PI3-kinase ที่จับกับ IRS ที่ถูก phospholylate จะออกฤทธิ์ผ่านทาง serine และ threonine kinases ซึ่งโปรตีนในกลุ่มนี้เช่น Akt/protein kinase B (PKB), protein kinase C (PKC) และ PI dependent protein kinase (PIPD) ชนิดที่ 1 และ 2 (PIPD 1 และ PIPD 2) มีบทบาทในการย้าย

GLUT4 ไปยังผนังเซลล์ การสร้างไขมันและโปรตีน การยับยั้งการเกิดการสลายไขมัน และการควบคุมการสร้างน้ำตาลจากตับ ในขณะที่ส่วนของ Grb2 จะออกฤทธิ์กระตุ้น Ras และทำให้เกิดการกระตุ้นการเติบโตและแบ่งตัวของเซลล์ และการแสดงออกของยีน (ภาพที่ 8)

ภาพที่ 8 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนอินซูลิน [23]



2.6 การควบคุมระดับน้ำตาลกลูโคสโดยฮอร์โมนอินซูลิน [23]

โดยปกติร่างกายจะนำน้ำตาลเข้าสู่เซลล์เพื่อเป็นพลังงานหรือเปลี่ยนเป็นสารอาหารสำรอง เช่น ไกลโคเจน โดยอาศัยตัวนำเข้าที่ผนังเซลล์ (membrane transporters) ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิดคือ Na^+-dependent transporters ซึ่งจะพบได้ที่ผนังลำไส้และผนังท่อไต มีหน้าที่นำกลูโคสเข้าสู่เซลล์พร้อมกับโซเดียมซึ่งต้องอาศัยความแตกต่างของปริมาณโซเดียมภายนอกเซลล์กับภายในเซลล์ที่แตกต่างกัน โดยอาศัยการควบคุมของ Na^+/K^+-ATPase ส่วนของ membrane transporters อีกชนิดคือ Na^+-independent transporters โดยจะสามารถทำงานร่วมกับฮอร์โมนอินซูลินและไม่อาศัย ATP ซึ่งเรียก membrane transporters นี้ว่า glucose transporter proteins (GLUT) ประกอบด้วย GLUT1-7 โดยจะมีการกระจายตัวในเนื้อเยื่อที่แตกต่างกัน เช่นที่สมองจะมี GLUT1 เป็นหลักโดยสามารถนำน้ำตาลเข้าสู่เซลล์แม้ว่าระดับน้ำตาลในเลือดมีระดับต่ำและไม่จำเป็นต้อง

อาศัยฮอร์โมนอินซูลิน และ GLUT4 ซึ่งพบในเซลล์กล้ามเนื้อและไขมันเป็นหลัก และต้องอาศัยฮอร์โมนอินซูลินในการนำน้ำตาลเข้าสู่เซลล์

โดยในภาวะ basal state GLUT4 จะมีการหมุนเวียนระหว่างผิวเซลล์เมมเบรนกับภายในเซลล์ ฮอร์โมนอินซูลินสามารถกระตุ้นให้ GLUT4 เพิ่มขึ้นที่ผิวเซลล์เมมเบรนและลดการนำกลับเข้าสู่เซลล์

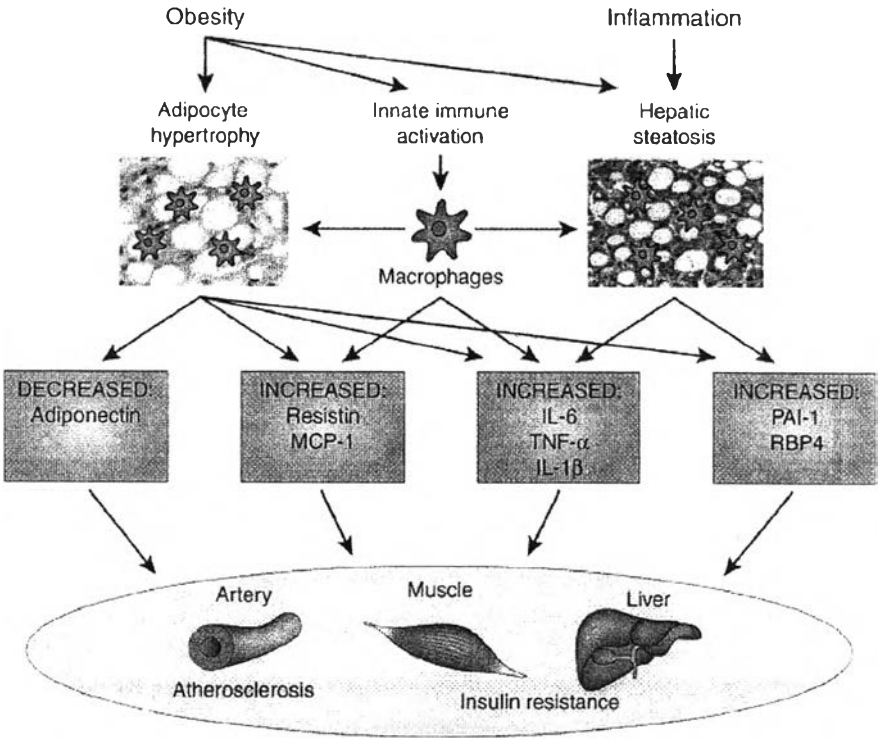
2.7 **ภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลิน** (Insulin resistance) [27,28]

ภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลินเป็นภาวะที่มีความบกพร่องในการทำงานของฮอร์โมนอินซูลิน [29] แสดงถึงการที่ฮอร์โมนอินซูลินในปริมาณปกติไม่สามารถออกฤทธิ์เพียงพอที่จะทำให้เกิดสมดุลที่เหมาะสมทางเมตาบอลิก ซึ่งพบได้ทั้งภาวะที่เป็น physiologic คือ การตั้งครรภ์และการเข้าสู่วัยรุ่น และภาวะที่มีพยาธิสภาพ โดยปกติฮอร์โมนอินซูลินมีหน้าที่ในการควบคุมการสันดาปของน้ำตาล โปรตีน ไขมัน และ กรดคีโตน มีส่วนในการทำหน้าที่ของเกล็ดเลือดและหลอดเลือด การเปลี่ยนแปลงเกลือแร่ของร่างกาย และการทำงานของระบบประสาทอัตโนมัติ ดังนั้นถ้ามีความบกพร่องในการทำงานอันใดอันหนึ่งก็มีภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลิน [29]

สาเหตุของความผิดปกติในการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนอินซูลินอาจเกิดที่ระดับที่เกี่ยวข้องกับ insulin receptor [30] เช่น ระดับก่อนจับกับ insulin receptor (prereceptor) ซึ่งพบได้น้อย ตัวอย่างในกลุ่มนี้ ได้แก่ การมีแอนตีบอดีย์ต่อฮอร์โมนอินซูลินทำให้ฮอร์โมนอินซูลินไม่สามารถจับกับ insulin receptor ได้ ระดับของ insulin receptor เกิดได้ตั้งแต่ความผิดปกติทางพันธุกรรม หรือการผิดปกติของยีนที่ควบคุมการแสดงออกหรือโครงสร้างของ insulin receptor หรือมีการกระตุ้น serine phosphorylation ทำให้การทำงานของ insulin receptor ลดลงหรือการที่ปริมาณของ insulin receptor ลดลง และ ระดับหลังจากมีการจับกับรีเซพเตอร์ (post receptor) ซึ่งสามารถเกิดได้ทุกขั้นตอนหลังจากที่ฮอร์โมนอินซูลินจับกับ insulin receptor แล้ว

นอกจากนี้สาเหตุของภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลินมีการอธิบายผ่านทฤษฎีของ humoral theory [31] โดยพบว่าสารหรือฮอร์โมนที่หลั่งออกมาจากเซลล์ไขมันหรือภาวะที่มีการอักเสบจะรบกวนการส่งสัญญาณในการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนอินซูลิน ดังแสดงในภาพที่ 9

ภาพที่ 9 แสดงสาเหตุของภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลินตามทฤษฎีของ humoral theory [31]



ภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลินพบว่ามีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคเบาหวาน [1,32] การเพิ่มขึ้นของไขมันที่เป็นความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดและหัวใจ [6], การเพิ่มขึ้นของสารที่กระตุ้นการแข็งตัวของเลือด [33] เช่น plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) และ fibrinogen การเพิ่มการทำงานของระบบประสาทซิมพาเธติก การคั่งของเกลือโซเดี่ยมในไต การเพิ่มขึ้นของ c-reactive protein (CRP) [34] การเพิ่มขึ้นของกรดยูริค [35] รวมทั้งการเพิ่มการสร้างฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน [36] ซึ่งภาวะทั้งหมดทำให้ความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็งและโรคเส้นเลือดหัวใจตีบเพิ่มมากขึ้น [35]นอกจากนี้ภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลินยังมีความสัมพันธ์กับ กลุ่มอาการ polycystic ovarian syndrome, ภาวะไขมันสะสมในตับ (fatty liver), นิ่วชนิดคอเลสเตอรอล (cholesterol gallstones), โรคหอบหืด (asthma) และ ภาวะผิดปรกติของการนอน (sleep disturbances) อีกเช่นกัน

2.8 กลุ่มอาการทางเมตาบอลิก (Metabolic syndrome) [37-41]

การศึกษากลุ่มประชากรที่มีภาวะดื้อต่อฮอร์โมนต่ออินซูลิน ร่วมกับมีลักษณะ อ้วน, ระดับน้ำตาลในเลือดที่สูง, มีโรคความดันโลหิตสูง, ระดับไขมันไตรกลีเซอไรด์สูง และ ระดับไขมัน HDL-C ต่ำ ประชากรที่มีลักษณะดังกล่าวเรียกว่ามีลักษณะกลุ่มอาการทางเมตาบอลิก โดยพบว่าประชากร

กลุ่มนี้มีความเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดและหัวใจสูงขึ้น [42] สำหรับเกณฑ์การวินิจฉัยกลุ่มประชากรที่มีอาการทางเมตาบอลิกกำหนดโดย World Health Organization (WHO) [11], European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR) [43] NCEP ATP III [10] และ International Diabetes Federation (IDF) [44] มีดังนี้คือ

1. WHO [11] กำหนดให้มีภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลินในข้อแรกร่วมกับเกณฑ์อื่นอีก 2 ข้อ
    1. (ต้องมี) โรคเบาหวานชนิดที่ 2 หรือระดับน้ำตาลในเลือดขณะอดอาหารมากกว่าหรือเท่ากับ 110 มก./ดล. (6.1 มิลลิโมล/ลิตร) หรือ มีความบกพร่องของการลดระดับน้ำตาลที่ 2 ชั่วโมงหลังการดื่มกลูโคส 75 กรัม (impaired glucose tolerance) หรือมีภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลินจากการทำ hyperinsulinemic euglycemic clamp
    2. สัดส่วนของเส้นรอบเอวต่อสะโพกมีขนาดมากกว่า 0.9 ในผู้ชายหรือ 0.85 ในผู้หญิงหรือดัชนีมวลกายมากกว่า 30 กก./ม.^{2}
    3. ระดับไขมันในเลือดชนิดไตรกลีเซอไรด์มากกว่าหรือเท่ากับ 150 มก./ดล.(1.7 มิลลิโมล/ลิตร)
    4. ระดับไขมันในเลือดชนิด HDL-C ต่ำกว่า 35 มก./ดล.(0.9 มิลลิโมล/ลิตร)ในผู้ชายหรือ 39 มก./ดล.(1.0 มิลลิโมล/ลิตร)ในผู้หญิง
    5. ความดันโลหิตสูงมากกว่าหรือเท่ากับ 140/90 มม.ปรอท หรือได้รับการรักษาด้วยยาลดความดัน
    6. ตรวจปัสสาวะมี microalbumin มากกว่าหรือเท่ากับ 20 ไมโครกรัม/นาที หรือ สัดส่วนของ albumin ต่อ creatinine ในปัสสาวะมากกว่าหรือเท่ากับ 30 มก./ก.
2. EGIR [43] กำหนดให้มีภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลินในข้อแรกร่วมกับเกณฑ์อื่นอีก 2 ข้อ
    1. (ต้องมี) ไม่รวมผู้ที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ร่วมกับมีภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลิน
    2. ขนาดของเส้นรอบเอวมากกว่า 94 ซม.ในผู้ชาย หรือ 80 ซม. ในผู้หญิง
    3. ระดับไขมันในเลือดชนิดไตรกลีเซอไรด์มากกว่าหรือเท่ากับ 177 มก./ดล.(2 มิลลิโมล/ลิตร) หรือ ระดับไขมันในเลือดชนิด HDL-C ต่ำกว่า 39 มก./ดล.(1.0 มิลลิโมล/ลิตร)
    4. ความดันโลหิตสูงมากกว่าหรือเท่ากับ 140/90 มม.ปรอท หรือได้รับการรักษาด้วยยาลดความดัน
    5. มีระดับน้ำตาลในเลือดขณะอดอาหารมากกว่าหรือเท่ากับ 110 มก./ดล.
3. NCEP ATP III [10] กำหนดให้วินิจฉัยเมื่อตรงกับเกณฑ์อย่างน้อย 3 ข้อ คือ
    1. มีระดับน้ำตาลในเลือดขณะอดอาหารมากกว่าหรือเท่ากับ 110 มก./ดล.

2. เส้นรอบเอว มีขนาดมากกว่า 102 ซม.(40 นิ้ว) ในผู้ชายหรือ 88 ซม.(35 นิ้ว) ในผู้หญิง
3. ระดับไขมันในเลือดชนิดไตรกลีเซอไรด์มากกว่าหรือเท่ากับ 150 มก./ดล.
4. ระดับไขมันในเลือดชนิด HDL-C ต่ำกว่า 40 มก./ดล.ในผู้ชายหรือ 50 มก./ดล.ในผู้หญิง
5. ความดันโลหิตสูงมากกว่าหรือเท่ากับ 130/85 มม.ปรอท หรือได้รับการรักษาด้วยยาลดความดัน

4. IDF [44] กำหนดให้มีภาวะอ้วนลงพุงในข้อแรกร่วมกับเกณฑ์อื่นอีก 2 ข้อ คือ
   1. (ต้องมี) ภาวะอ้วนลงพุงโดยวัดเส้นรอบเอว กำหนดให้ในคนเอเชีย (ยกเว้นชาวญี่ปุ่น) ผู้ชายมากกว่าหรือเท่ากับ 90 ซม.และผู้หญิงมากกว่าหรือเท่ากับ 80 ซม.
   2. ระดับไขมันในเลือดชนิดไตรกลีเซอไรด์มากกว่าหรือเท่ากับ 150 มก./ดล.(1.7 มิลลิโมล/ลิตร)
   3. ระดับไขมันในเลือดชนิด HDL-C ต่ำกว่า 40 มก./ดล.(1.0 มิลลิโมล/ลิตร)ในผู้ชายหรือ 50 มก./ดล.(1.3 มิลลิโมล/ลิตร)ในผู้หญิง
   4. ความดันโลหิตซีสโตลิกมากกว่าหรือเท่ากับ 130 มม.ปรอท หรือ ความดันโลหิตไดแอสโตลิกมากกว่าหรือเท่ากับ 85 มม.ปรอท หรือได้รับการรักษาด้วยยาลดความดัน
   5. เป็นโรคเบาหวาน หรือ มีระดับน้ำตาลในเลือดขณะอดอาหารมากกว่าหรือเท่ากับ 100 มก./ดล.

2.9 การประเมินความไวของฮอร์โมนอินซูลิน

วิธีวัดความไวของฮอร์โมนอินซูลิน [45-48] ทำได้หลายวิธีโดยวิธีที่ถือเป็นมาตรฐาน (gold standard) คือ hyperinsulinemic euglycemic clamp แต่เนื่องจากมีขั้นตอนการทำที่ยุ่งยาก จึงมีการพัฒนาวิธีที่ง่ายต่อการวัดมาใช้ โดยวิธีที่ได้รับการนิยม คือ วิธี Homeostasis Model Assessment (HOMA) [49-51]

2.9.1 Homeostasis Model Assessment (HOMA) [49-51]

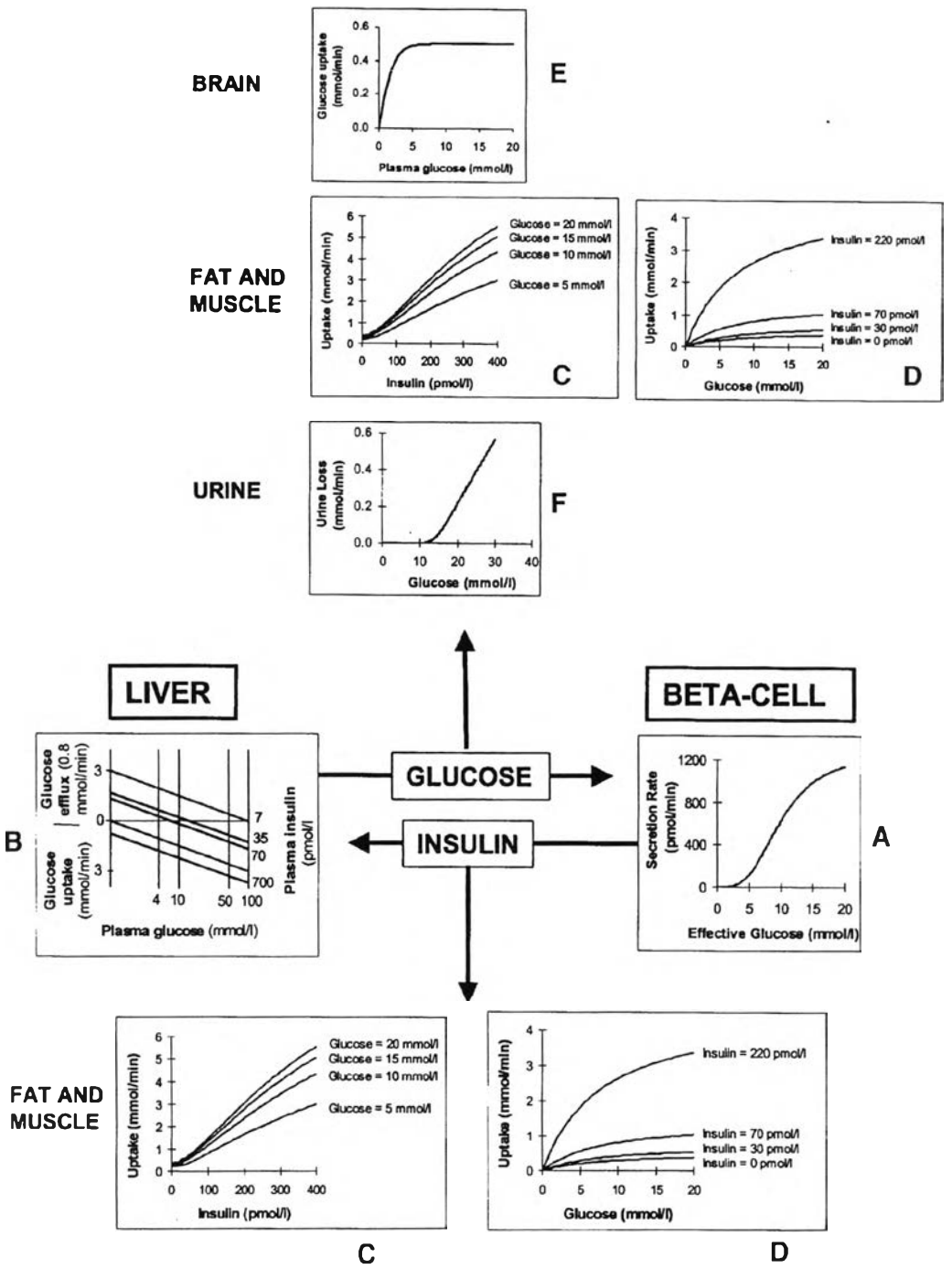
พัฒนาโดย Matthews และคณะ [50] เป็นวิธีประเมินการทำงานของเบต้าเซลล์ และภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลินในภาวะหลังอดอาหาร (basal state) โดยใช้ระดับน้ำตาลและฮอร์โมนอินซูลิน

2.9.1.1 หลักการของ HOMA

เนื่องจากในภาวะหลังอดอาหาร (basal state) ระดับน้ำตาลและฮอร์โมนอินซูลินเป็นตัวแสดงถึงจุดสมดุลระหว่างการสร้างน้ำตาลโดยตับ (hepatic glucose output) และการหลั่งของ

ฮอร์โมนอินซูลินโดยเบต้าเซลล์ ซึ่งการที่ร่างกายจะคงระดับสมดุลดังกล่าวได้จะต้องมีกลไกการควบคุม เพื่อให้เกิดสมดุลดังนี้คือ (ภาพที่ 10)

ภาพที่ 10 แสดงกลไกการควบคุมสมดุลของระดับน้ำตาลและฮอร์โมนอินซูลิน [51]



หอสมุดกลาง สำนักงานวิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จากภาพแสดงระดับน้ำตาลและฮอร์โมนอินซูลิน ในภาวะ basal state โดยภาพ 10A แสดงถึงการตอบสนองของเบต้าเซลล์ต่อระดับน้ำตาลซึ่งทำให้มีการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน โดยพบว่าในภาวะ basal อัตราการหลั่งของฮอร์โมนอินซูลินเท่ากับ 10 mlu/min (74 pmol/min) เมื่อระดับน้ำตาลในเลือดคงที่ที่ 4 มิลลิโมล/ลิตร (72 มก./ดล.) ภาพ 10B เป็นการแสดงให้เห็นการทำงานของตับในการผลิตน้ำตาล ซึ่งอยู่ภายใต้การควบคุมของระดับฮอร์โมนอินซูลินและจะเห็นว่าตับมีความสำคัญในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดทั้งในแง่การผลิตน้ำตาลและการใช้น้ำตาล (glucose efflux และ glucose uptake) ภาพ 10C และ 10D แสดงให้เห็นถึงฮอร์โมนอินซูลินมีผลในการใช้น้ำตาลโดยเซลล์กล้ามเนื้อและไขมัน นอกจากนี้สมดุลของระดับน้ำตาลในภาวะ basal ยังขึ้นกับการใช้น้ำตาลโดยสมอง (ภาพ 10E) ซึ่งพบว่าระดับน้ำตาลในช่วง basal ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ จะมีการใช้โดยสมอง และการขับทิ้งทางปัสสาวะเมื่อระดับน้ำตาลสูงเกิน 10 มิลลิโมล/ลิตร (180 มก./ดล.) (ภาพ 10F)

ดังนั้นในภาวะที่มีความบกพร่องของฮอร์โมนอินซูลินเนื่องจากเบต้าเซลล์ลดการหลั่งฮอร์โมนอินซูลิน (ภาพ 10A) หรือ ความไวในการออกฤทธิ์ของฮอร์โมอินซูลินลดลงที่เซลล์ตับ เซลล์กล้ามเนื้อลาย และเซลล์ไขมัน (ภาพ 10B, 10C, 10D) จะทำให้ระดับของ glucose และ insulin ในภาวะ basal อยู่ในสมดุลค่าหนึ่ง ซึ่งเป็นหลักการที่นำมาใช้ตรวจการทำงานของเบต้าเซลล์และการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนอินซูลิน

2.9.1.2 **รูปแบบของ HOMA**

การใช้ HOMA ในการแสดงถึงการทำงานของ Beta-cell และความไวของฮอร์โมนอินซูลินตั้งอยู่บนพื้นฐานที่ว่าการทำงานของ Beta-cell ที่ปกติเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ และความไวของฮอร์โมนอินซูลินที่ปกติ หรือการไม่มีภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลินเท่ากับ 1

ในปัจจุบัน HOMA มี 2 รูปแบบ คือ HOMA1 (Original HOMA) เป็นสูตรการคำนวณ HOMA แบบดั้งเดิมซึ่งคิดโดย Matthews และคณะ [50] โดยสมการที่ได้สร้างมาจากการคำนวณทางคณิตศาสตร์และกราฟ (ภาพที่ 11) ซึ่งสมการของ HOMA1 ประกอบด้วย 2 สมการย่อย คือ

1. HOMA1 - IR = (FPI x FPG) / 22.5
2. HOMA1 - %B = (20 x FPI) / (FPG - 3.5)

โดย - HOMA1 - IR คือ HOMA ที่ใช้คำนวณภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลิน

- HOMA1 - %B คือ HOMA ที่ใช้คำนวณการทำงานของเบต้าเซลล์
- FPI คือ ระดับฮอร์โมนอินซูลินในช่วงอดอาหารหน่วยเป็น ไมโครยูนิต/มิลลิลิตร
- FPG คือ ระดับน้ำตาลเมื่ออดอาหารหน่วยเป็น มิลลิโมล/ลิตร

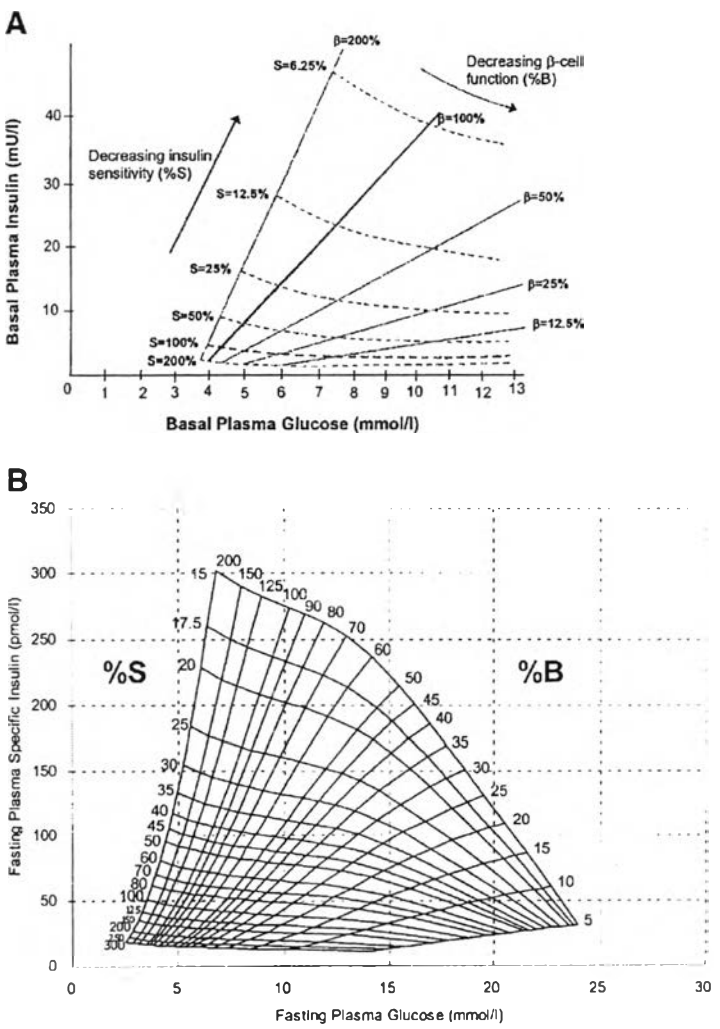
วิธีที่ 2 HOMA2 [52] ได้รับการพัฒนาขึ้นโดยใช้ computer model ในปี ค.ศ. 1996 อัน

เนื่องมาจากระดับของ FPI และ FPG ไม่ได้มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง (ภาพที่ 11) โดย HOMA2 จะมีข้อแตกต่างจาก HOMA1 คือ ลดความแปรปรวนในภาวะที่มีการดื้อต่อการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนอินซูลินที่ตับและเนื้อเยื่อเมื่อมีระดับน้ำตาลในเลือดสูง

โดยสูตรของ HOMA2 แสดงผลเป็นความไวของฮอร์โมนอินซูลิน (%S) การทำงานของเบต้าเซลล์ (%B) และภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลิน (IR) โดยแทนค่า FPI และ FPG ในโปรแกรมการคำนวณ HOMA2 ซึ่งสามารถดาวน์โหลดได้จาก www.ocdem.ox.ac.uk

ในปัจจุบันนิยมใช้ทั้ง HOMA1 และ HOMA2 โดย HOMA2 นิยมใช้ในการเปรียบเทียบกับการวัดการทำงานของเบต้าเซลล์และฮอร์โมนอินซูลินโดยวิธีอื่นและใช้ในกลุ่มที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงมากกว่า 10 มิลลิโมล/ลิตร ซึ่งไม่นิยมใช้ใน HOMA1

ภาพที่ 11 แสดงกราฟของ HOMA



2.9.1.3 **การเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อการคำนวณ** HOMA

เนื่องจากการหลั่งฮอร์โมนอินซูลินเป็นแบบ pulsatile ดังนั้นวิธีที่ดีที่สุดในการตรวจฮอร์โมนอินซูลินคือการเก็บตัวอย่างเลือด 3 ครั้งห่างกันทุก 5 นาที ซึ่งพบว่ามีความแม่นยำที่ดีกว่าการใช้ค่าฮอร์โมนอินซูลินจากการเก็บตัวอย่างเลือดเพียง 1 ครั้ง ในการใช้ค่าอินซูลินเฉลี่ยจากการเก็บเลือด 3 ครั้ง [51] เมื่อนำมาคำนวณ HOMA2 - %B และ HOMA2 - %S มีค่า Coefficients of variation (CVs) เท่ากับ 4.4 เปอร์เซ็นต์ และ 5.8 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ค่าอินซูลินเพียง 1 ค่า ซึ่งมีค่า CVs ของ HOMA2 - %B และ HOMA2 - %S เท่ากับ 7.7 เปอร์เซ็นต์ และ 10.3 เปอร์เซ็นต์ [48]

2.9.1.4 Validation of HOMA

มีการศึกษาเปรียบเทียบการใช้ HOMA ไม่ว่าจะโดยวิธีการคำนวณหรือการใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์กับวิธีมาตรฐาน (gold standard) คือ euglycemic clamp และ hyperglycemic clamp สำหรับการวัดความไวของฮอร์โมนอินซูลินและการทำงานของเบต้าเซลล์ พบมีความสัมพันธ์ที่ดีมาก คือ ค่า R (Correlation) สูงถึง 0.88 และ 0.87 ตามลำดับ ($p<0.0001$) [49-51]

2.9.1.5 **การนำค่า HOMA ไปใช้**

เนื่องจากวิธี HOMA มีการใช้อย่างกว้างขวางและได้รับการยอมรับว่ามีความน่าเชื่อถือ โดยพบว่ามีการนำไปใช้ในการศึกษาที่ได้รับการตีพิมพ์แล้วมากกว่า 500 การศึกษา [51] โดยประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ เป็นการนำไปใช้เพื่อแสดงภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลินและมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ของการศึกษาใช้ในประชากรที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน และ จากการศึกษาทั้งหมดพบว่าสามารถนำ HOMA ไปใช้ในการติดตามการเปลี่ยนแปลงการทำงานของเบต้าเซลล์และภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลินได้อย่างน่าเชื่อถือ [51] ภาวะที่ HOMA-IR ต่ำแปลว่ามีความไวของฮอร์โมนอินซูลินที่ดี ในขณะที่ HOMA-IR ที่สูงมากขึ้นบ่งบอกถึงการลดความไวของฮอร์โมนอินซูลินหรือมีการดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลินมากขึ้นเรื่อยๆ