รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

ความแตกต่างระหว่างเพศของ sodium-potassium-adenosine triphosphatase activity และ oxygen-increased insulin sensitivity (Gender differences in sodium-potassium-adenosine triphosphatase activity and oxygen-increased insulin sensitivity)

โดย นพ.สุภมัย สุนทรพันธ์

มีนาคม 2555

สัญญาเลขที่ RSA5280017

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ
ความแตกต่างระหว่างเพศของ sodium-potassium-adenosine triphosphatase activity และ oxygen-increased insulin sensitivity

นพ.สุภมัย สุนทรพันธ์

ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการเรื่อง “ความแตกต่างระหว่างเพศของ sodium-potassium-adenosine triphosphatase activity และ oxygen-increased insulin sensitivity” สำเร็จลุล่วงได้เป็นอย่างดี ก็ด้วยความร่วมมือของหลายฝ่าย

คณะวิจัยขอขอบคุณคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ซึ่งมีรองศาสตราจารย์นายแพทย์สุเมธ พีรวุฒิ คณบดีคณะแพทยศาสตร์เป็นประธาน ที่ได้อนุมัติให้ทำงานวิจัยนี้และได้ให้ข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ต่อการวิจัย และขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์นายแพทย์อานุภาพ เลขะกุล หัวหน้าภาควิชาอายุรศาสตร์ ที่เปิดโอกาสให้คณะผู้วิจัยได้ใช้ข้อมูลและสถานที่ของภาควิชาฯ

ขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยที่อนุมัติงบประมาณอุดหนุนวิจัยเป็นค่าใช้จ่ายของโครงการวิจัยนี้ และขอขอบคุณ คุณชลนภา อานแก้ว เจ้าหน้าที่บริหารโครงการอาวุโส ที่ให้ความร่วมมือในการประสานงานแก่คณะผู้วิจัยอย่างดียิ่งตลอดมา

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณอาสาสมัครและผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการทุกท่าน ที่ให้ความร่วมมือและสละเวลามาร่วมโครงการ

รองศาสตราจารย์นายแพทย์สุภมัย สุนทรพันธ์ และคณะผู้วิจัย

2555

ABSTRACT

Project Code: RSA5280017

Project Title: Gender difference in sodium-potassium-adenosine triphosphatase activity

Investigator: Supamai Soonthornpun*, Worawong Setasuban*, Panudda Musigawon**

Department of *Medicine, **Pathology, Faculty of Medicine, Prince of Songkla University.

E-mail Address: ssupamai@medicine.psu.ac.th

Project Period: 3 years

Our recent study demonstrated that the subjects with a history of thyrotoxic periodic paralysis (TPP) were more obese and had lower insulin sensitivity than those with a history of thyrotoxicosis without TPP. Based on these findings, we hypothesized the sequences of pathogenesis of TPP as the following: 1) Patients with thyrotoxicosis who have pre-existing insulin resistance develop hyperinsulinemia after being exposed to a precipitating cause. 2) The additive effect of high thyroid hormone levels and hyperinsulinemia over-activates the Na^+/K^+-ATPase (NKA) pump, thus producing hypokalemic paralysis. 3) Hypokalamia decreases insulin secretion, and hyperinsulinemia is attenuated. 4) Activation of the NKA pump decreases, and the hypokalemic paralysis becomes self-limited. Nevertheless, there is still no good explanation for the high prevalence of TPP in males. Gender difference in stimulation of NKA by thyroid hormone might be one of possible explanation.

Objective: To demonstrate difference in NKA activity between males and females.

Materials and Methods: 41 (21 females, 20 males) healthy subjects and 40 (22 females, 18 males) patients with untreated thyrotoxicosis were studied. Fasting venous blood samples were collected for erythrocyte ghost membrane preparation. NKA activity was measured with a Hitachi 717 automated analyzer according to the method of Vásárhelyi et al. Student t tests were used to seek significant difference between groups.

Results: The patients with thyrotoxicosis had NKA activity significantly lower than healthy subjects in both genders. In healthy subjects, the NKA activity was not different between gendersม while in the patients with thyrotoxicosis, the NKA activity was significantly lower in males.

Conclusion: The lower NKA activity in males was demonstrated among thyrotoxicosis patients but not among healthy subjects. These findings indicate that stimulation of NKA by thyroid hormone is different between genders.

Keywords: Gender difference, Na^+/K^+-ATPase, thyroid hormone

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: RSA5280017

ชื่อโครงการ: ความแตกต่างระหว่างเพศของ sodium-potassium-adenosine triphosphatase activity

ชื่อนักวิจัย: สุภมัย สุนทรพันธ์*, วรวงษ์ เสตสุบรรณ*, ปนัดดา มุสิกวัณณ์**

ภาควิชา*อายุรศาสตร์, **พยาธิวิทยา, คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

E-mail Address: ssupamai@medicine.psu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 3 ปี

การศึกษาของคณะผู้วิจัยที่ผ่านมาพบว่า ผู้ป่วยที่มีประวัติเป็น thyrotoxic periodic paralysis (TPP) จะอ้วนและมีความไวอินซูลินต่ำกว่าผู้ที่มีประวัติเป็นไทรอยด์เป็นพิษแต่ไม่เป็น TPP ผลการศึกษานี้ทำให้มีสมมุติฐานของพยาธิกำเนิดของ TPP ดังนี้ 1) ผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษที่มีภาวะดื้ออินซูลินอยู่ก่อนมีระดับอินซูลินในเลือดสูงหลังจากได้รับปัจจัยกระตุ้น 2) ระดับฮอร์โมนไทรอยด์ที่สูงร่วมกับระดับอินซูลินในเลือดสูงจะกระตุ้น Na^+/K^+-ATPase (NKA) pump, ทำให้เกิด hypokalemic paralysis. 3) ระดับโปแตสเซียมในเลือดต่ำจะลดการหลั่งอินซูลิน ทำให้ระดับอินซูลินในเลือดลดลง 4) เมื่อการกระตุ้น NKA pump ลดลง ภาวะ hypokalemic paralysis ก็จะหายได้เอง อย่างไรก็ตาม จะไม่มีคำอธิบายอุบัติการณ์ของ TPP ที่พบในเพศชายเป็นส่วนใหญ่ ความแตกต่างระหว่างเพศในการกระตุ้น NKA โดยฮอร์โมนไทรอยด์อาจเป็นคำอธิบายที่เป็นไปได้

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาความแตกต่างของ NKA activity ระหว่างเพศชายและเพศหญิง

วัสดุและวิธีการ: อาสาสมัครสุขภาพสมบูรณ์จำนวน 41 คน (เพศหญิง 21 คน และเพศชาย 20 คน) และผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษที่ยังไม่ได้รับการรักษาจำนวน 40 คน (เพศหญิง 22 คนและเพศชาย 18 คน) เข้าร่วมโครงการ เก็บตัวอย่างเลือดดำหลังงดอาหาร เพื่อเตรียม erythrocyte ghost membrane วัดปริมาณ NKA activity ด้วยเครื่อง Hitachi 717 automated analyzer ตามวิธีของ Vásárhelyi และคณะ ใช้ Student t tests วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่ม

ผลการศึกษา: ผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษมี NKA activity ต่ำกว่าอาสาสมัครสุขภาพสมบูรณ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งเพศหญิงและเพศชาย ไม่พบความแตกต่างของ NKA activity ระหว่างเพศในอาสาสมัครสุขภาพสมบูรณ์ ขณะที่ในผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษ NKA activity ในเพศชายจะต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

บทสรุป: ระดับ NKA activity ต่ำในเพศชายพบได้ในผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษ แต่ไม่พบในอาสาสมัครสุขภาพสมบูรณ์ สิ่งที่พบนี้แสดงว่าการกระตุ้น NKA โดยฮอร์โมนไทรอยด์มีความแตกต่างระหว่างเพศ

คำหลัก: ความแตกต่างระหว่างเพศ Na^+/K^+-ATPas ฮอร์โมนไทรอยด์

Thyrotoxic periodic paralysis (TPP) เป็นภาวะกล้ามเนื้ออ่อนแรงเนื่องจากระดับโปแตสเซียมในเลือดต่ำในผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษ พบประมาณร้อยละ 0.1-1.8 ของผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษ [1,2] พบในชาวเอเชียเป็นส่วนใหญ่ มีรายงานในชนชาติอื่นน้อย และเกือบทั้งหมดพบในผู้ชาย ทั้งๆ ที่ผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษส่วนใหญ่เป็นผู้หญิง [3] พยาธิกำเนิดของ TPP ยังไม่ทราบแน่ชัด ผู้วิจัยและคณะได้ศึกษาภาวะดื้ออินซูลินในคนที่มีประวัติเป็น TPP โดยใช้วิธี euglycemic hyperinsulinemic clamp ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานในการวัดความไวอินซูลิน พบว่า เมื่อเปรียบเทียบกับคนที่มีประวัติเป็นไทรอยด์เป็นพิษแต่ไม่เป็น TPP พบว่าคนที่มีประวัติเป็น TPP มีน้ำหนักตัวที่มากกว่า มีความไวอินซูลินต่ำกว่า มีระดับอินซูลินในเลือดจากการทำ OGTT สูงโดยที่ระดับกลูโคสในเลือดไม่แตกต่างกัน [4] ในการศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยและคณะได้เสนอสมมุติฐานของพยาธิกำเนิดของ TPP กล่าวคือ คนที่เป็น TPP น่าจะมีภาวะดื้ออินซูลินมาก่อนการเกิดไทรอยด์เป็นพิษ เมื่อเกิดภาวะไทรอยด์เป็นพิษ ระดับไทรอยด์ฮอร์โมนร่วมกับระดับอินซูลินในเลือดที่สูงเป็นกลไกสำคัญในการกระตุ้น Na^{+}- K^{+}- ATPase (NKA) activity ทำให้โปแตสเซียมในเลือดเคลื่อนเข้าเซลเป็นผลให้ระดับโปแตสเซียมในเลือดต่ำและเกิดกล้ามเนื้ออ่อนแรง เมื่อระดับโปแตสเซียมในเลือดต่ำ การหลั่งอินซูลินจากเบต้าเซลลดลง ผลที่ตามมาคือ โปแตสเซียมจะค่อยๆ เคลื่อนออกจากเซล ทำให้ระดับโปแตสเซียมในเลือดค่อยๆ สูงขึ้น และหายจากกล้ามเนื้ออ่อนแรงได้เอง เมื่อรักษาภาวะไทรอยด์เป็นพิษดีขึ้น อาการกล้ามเนื้ออ่อนแรงจากระดับโปแตสเซียมในเลือดจะไม่เกิดขึ้น เนื่องจากระดับอินซูลินในเลือดที่สูงเพียงอย่างเดียวไม่สามารถกระตุ้น NKA activity ได้มากพอที่จะทำให้ระดับโปแตสเซียมต่ำลงมากจนทำให้เกิดกล้ามเนื้ออ่อนแรง

แต่อย่างไรก็ตาม ผู้วิจัยและคณะยังไม่สามารถอธิบายว่า ทำไมภาวะ TPP พบในชาวเอเชียเป็นส่วนใหญ่ และเกือบทั้งหมดเกิดในผู้ชาย แม้ว่ามีบางรายงานที่พบว่า ผู้ชายมีภาวะดื้ออินซูลินมากกว่าผู้หญิง [5,6] และระดับอินซูลินในเลือดขณะทำ OGTT ในชาวเอเชียสูงกว่าชนชาติอื่น [7,8] แต่ความแตกต่างของภาวะดื้ออินซูลินหรือระดับอินซูลินในเลือดดังกล่าวไม่สามารถอธิบายอุบัติการที่แตกต่างกันอย่างชัดเจนระหว่างผู้หญิงกับผู้ชาย และระหว่างคนชาวเอเชียกับชนชาติอื่น มีหลายการศึกษาที่พยายามหา genetic variants ในผู้ป่วย TPP แต่ผลการศึกษามีความหลากหลายและขัดแย้งกัน [9-15]

สมมุติฐานที่เป็นไปได้อย่างหนึ่งคือความแตกต่างของ NKA activity ระหว่างเพศ หรือระหว่างชนชาติ การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะเปรียบเทียบ NKA activity ระหว่างเพศหญิงและเพศชาย

วัสดุและวิธีการ

การศึกษา NKA activity ในภาวะปกติและภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยอินซูลินในเลือดสูง

อาสาสมัครสุขภาพสมบูรณ์ได้รับการทำ euglycemic hyperinsulinemic clamp ในเวลาประมาณ 08.00 น. ตัวอย่างเลือดก่อนเริ่มและทุก 10 นาทีในชั่วโมงที่สองของการทำ euglycemic hyperinsulinemic clamp จะนำไปวัด NKA activity

การศึกษา NKA activity ในภาวะที่ถูกกระตุ้นด้วยฮอร์โมนไทรอยด์ในเลือดสูง

เก็บตัวอย่างเลือดในผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษที่เพิ่งได้รับการวินิจฉัยและยังไม่ได้รับการรักษา ส่งตรวจ NKA activity

การทำ euglycemic hyperinsulinemic clamp

มีหลักการคือให้อินซูลินเข้าทางหลอดเลือดดำเพื่อเพิ่มระดับอินซูลินในเลือดให้สูงขึ้นประมาณ 100 μU/มล. และคงระดับนี้ไว้นาน 120 นาที ในขณะเดียวกันจะให้สารละลายกลูโคสเข้าทางหลอดเลือดดำเพื่อให้ระดับกลูโคสในเลือดคงที่ประมาณ 90 มก./ดล. วิธีการทดสอบใช้เทคนิคของ DeFronzo และคณะ [16] โดยเริ่มทำตอนเช้า หลังจากงดอาหารเป็นเวลา 10 ชั่วโมง ก่อนการทดสอบให้ปัสสาวะทิ้ง คาเข็ม scalp vein ใน antecubital vein ของแขนเพื่อให้สารละลายกลูโคสและอินซูลิน และคาเข็ม scalp vein ใน dorsal vein ของมืออีกด้านหนึ่งซึ่งอยู่ในกล่องที่ควบคุมอุณหภูมิประมาณ 60°C เพื่อดูดเลือด (arterialized venous blood) ส่งตรวจระดับกลูโคสทุก 5 นาที จนครบ 120 นาที และส่งตรวจระดับอินซูลินก่อนการทดสอบและทุก 10 นาที ในช่วงนาทีที่ 60 ถึง 120 เก็บปัสสาวะเมื่อสิ้นสุดการทดสอบส่งตรวจระดับกลูโคส ตรวจกลูโคสในเลือดโดยวิธี glucose oxidase ด้วยเครื่อง Analox GM9 (Hammersmith, London, UK) ตรวจอินซูลินโดยวิธี electrochemiluminescence immunoassay ด้วยเครื่อง Modular E170 (Mannheim, Germany) วัดความดันโลหิตทุก 10 นาที ในระหว่างการทดสอบ

เตรียมอินซูลิน (actrapid insulin) ใน isotonic saline ให้ได้ความเข้มข้น 30 U/100 มล. แบ่งการให้อินซูลินเป็น 2 ช่วง ช่วงแรกใช้เวลา 10 นาที เป็นการให้ในขนาดสูงแล้วค่อยลดขนาดลง ช่วงที่สองใช้เวลา 110 นาที เป็นการให้อินซูลินขนาดคงที่คือ 50 mU/พื้นที่ผิวกาย/นาที เตรียมสารละลายกลูโคสในรูป 20% dextrose water จะเริ่มกลูโคสหลังจากที่ให้อินซูลินไป 4 นาที และให้จนครบ 120 นาที โดยที่นาทีที่ 4 จะให้ในอัตรา 1 มก./กก./นาที และเพิ่มเป็น 2.5 มก./กก./นาที ที่นาทีที่ 10

การวัด NKA activity

วิธีเตรียม erythrocyte membrane

เจาะเลือด 10 ml fasting heparinized blood ทิ้งไว้ 15 นาที นำมาปั่นที่ 450 Xg ที่ 4°C เป็นเวลา 15 นาที ดูดพลาสม่าและชั้นเม็ดเลือดขาวทิ้ง นำเม็ดเลือดแดงมาเจือจาง (1:25) ด้วย 0.011 mol/L Tris-HCl buffer pH 7.4 นำไปปั่นที่ 12,000 rpm ที่ 4°C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นล้าง membrane pellet ด้วย 30 ml ของ 0.011 mol/L Tris-HCl buffer 3 ครั้ง ปรับความเข้มข้นของ membrane suspension ให้ได้ประมาณ 4 mg protein/ml เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 °C จนกระทั่งตรวจวิเคราะห์

วิธีวัด NKA activity

Preincubate membrane suspension (400 ug) ในสารละลายที่ประกอบด้วย 92 mmol/L HCl; 100 mmol/L NaCl; 20 mmol/L KCl; 5 mmol/L $MgSO_4.H_2O$; 1 mmol/L EDTA ในสภาวะที่มีและไม่มี

1mmol/L ouabain total reaction volume 1 ml ที่ 37°C 10 นาที จากนั้นเริ่มปฏิกริยาโดยการเติม 4 mmol/L ATP incubate ที่ 37°C 10 นาที หยุดปฏิกริยาโดยใช้ ice-cold trichloroacetic acid (final concentration 5%) แล้วนำมาปั่นที่ 5,500 g 10 นาที ที่ 4°C นำ supernatant ไปหาปริมาณ inorganic phosphate

คำนวณ NKA activity จากความแตกต่างของปริมาณ inorganic phosphate ที่ release ในเวลา incubation 10 นาที ในสภาวะที่มีและไม่มี ouabain และแปลงเป็น nanomoles ของ inorganic phosphate released/milligram protein/hour (nmolPi/mg protein/hr)

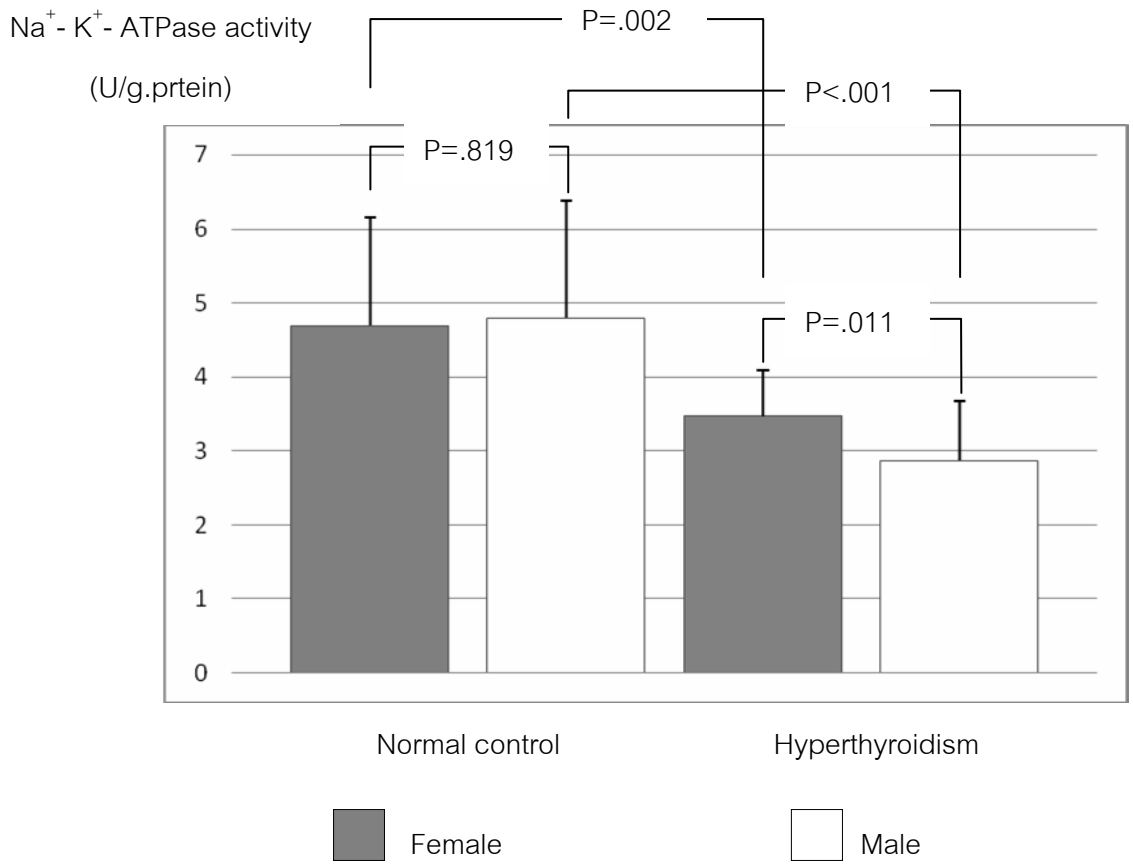
สถิติที่ใช้ในการประเมินผล

แสดงการกระจายข้อมูลด้วยค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เปรียบเทียบ parameters ระหว่างกลุ่ม ใช้ unpaired t test เนื่องจากข้อมูลที่เป็น normal distribution

ผลการศึกษา

ผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษจำนวน 40 คน เป็นเพศหญิง 22 คน และเพศชาย 18 คน อายุ 41.1$\pm$14.4 ปี และ 39.8$\pm$15.5 ปี ตามลำดับ อาสาสมัครสุขภาพสมบูรณ์ 41 คน เป็นเพศหญิง 21 คน และเพศชาย 20 คน อายุ 34.7$\pm$10.9 ปี และ 35.4$\pm$9.1 ปี ตามลำดับ รูป 1 แสดงระดับ NKA activity ในอาสาสมัครสุขภาพสมบูรณ์และในผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษแบ่งตามเพศหญิงและชาย ระดับ NKA activity ในผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษต่ำกว่าในอาสาสมัครสุขภาพสมบูรณ์ทั้งในเพศหญิงและเพศชาย ระดับ NKA activity จะลดลงในผู้ป่วย ในอาสาสมัครสุขภาพสมบูรณ์ ระดับ NKA activity ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างเพศหญิงและเพศชาย แต่พบว่าในผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษ ระดับ NKA activity ในเพศหญิงสูงกว่าในเพศชายอย่างมีนัยสำคัญ

ส่วนการตรวจระดับ NKA activity ขณะกระตุ้นด้วยอินซูลินโดยการทำ euglycemic hyperinsulinemic clamp ยังอยู่ในระหว่างดำเนินการ คาดว่าภายจะตรวจเสร็จภายใน 1 เดือน



รูป 1 ระดับ Na^+- K^+- ATPase activity ในอาสาสมัครสุขภาพสมบูรณ์และในผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษแบ่งตามเพศ

บทวิจารณ์

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกที่แสดงให้เห็นว่าระดับ NKA activity มีความแตกต่างกันระหว่างเพศหญิงและเพศชายในผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษ โดยที่ความแตกต่างดังกล่าวไม่พบในอาสาสมัครสุขภาพสมบูรณ์ เช่นเดียวกับการศึกษาที่ผ่านมา [17,18] พบว่าระดับ NKA activityลดลงในผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษ

เป็นที่ทราบกันดีว่าไทรอยด์ฮอร์โมนเป็นสารสำคัญในการกระตุ้น NKA จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า ระดับ NKA activity ลดลงในผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษ และจะเพิ่มขึ้นหลังการรักษาให้ระดับไทรอยด์ฮอร์โมนกลับมาเป็นปกติ นั่นแสดงว่าการปริมาณ NKA ที่ลดลงเป็นผลจากไทรอยด์ฮอร์โมนกระตุ้น NKA เป็นเวลานาน ระดับ NKA activity ในเพศชายที่ต่ำกว่าเพศหญิงในผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษนั้น แต่ไม่แตกต่างในอาสาสมัครสุขภาพสมบูรณ์ จึงน่าจะเกิดจากไทรอยด์ฮอร์โมนกระตุ้น NKA ในเพศชายมากกว่าในเพศหญิง

อินซูลินเป็นสารที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งที่กระตุ้น NKA ข้อมูลเบื้องต้นจากการกระตุ้นด้วยอินซูลินในอาสาสมัครสุขภาพสมบูรณ์ (ไม่ได้แสดงผล เนื่องจากข้อมูลยังไม่เสร็จสมบูรณ์) พบว่า หลังได้อินซูลิน ระดับ NKA activity ที่ 1 ชั่วโมงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และกลับลดลงที่ 2 ชั่วโมง จึงเป็นไปได้ว่าปริมาณ NKA ที่ลดลงเกิดขึ้นไม่นานหลังจากที่มีสารมากระตุ้น ที่สำคัญการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเห็นชัดในเพศชายมากกว่าเพศหญิง

การเปลี่ยนแปลงของระดับ NKA activity ที่พบจากการศึกษานี้สามารถอธิบายปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นในผู้ป่วย thyrotoxic periodic paralysis ซึ่งระดับ potassium ในเลือดต่ำ และกล้ามเนื้ออ่อนแรง ส่วนใหญ่มักเกิดก่อนวินิจฉัยไทรอยด์เป็นพิษ ระยะเวลาที่เป็นไม่นานและสามารถหายเองได้แม้ว่าจะไม่ได้รับการรักษา กล่าวคือ เมื่อระดับไทรอยด์ฮอร์โมนสูงในระยะแรกของโรคจะกระตุ้น NKA ทำให้ potassium ในเลือดเข้าสู่ภายในเซล ทำให้ระดับ potassium ในเลือดต่ำ และเกิดกล้ามเนื้ออ่อนแรง เมื่อ NKA ถูกกระตุ้นต่อเนื่องในระยะเวลาหนึ่ง ทำให้ปริมาณ NKA ลดลง เป็นผลให้ potassium ที่เคลื่อนเข้าสู่ภายในเซลก็จะกลับสู่ในเลือด ทำให้ระดับ potassium ในเลือดต่ำและกล้ามเนื้ออ่อนแรง กลับมาเป็นปกติได้เอง NKA ในเพศชายที่ตอบสนองต่อไทรอยด์ฮอร์โมนมากกว่าในเพศหญิงอธิบายอุบัติการณ์ของโรคดังกล่าวที่พบมากในเพศชาย ทั้งๆ ที่ภาวะไทรอยด์เป็นพิษโดยทั่วไปพบในเพศหญิงมากกว่า จากการศึกษาก่อนหน้าของผู้วิจัยที่พบ insulin resistance และระดับอินซูลินในเลือดที่สูงในผู้ที่มีประวัติเป็น thyrotoxic periodic paralysis [4] ก็สนับสนุนพยาธิกำเนิดของโรคที่ผ่านการกระตุ้น NKA ที่มากกว่าปกติ

โดยสรุป ระดับ NKA activity ที่ลดลงในผู้ป่วยไทรอยด์เป็นพิษนั้น พบในเพศชายมากกว่าเพศหญิง ความแตกต่างระหว่างเพศนี้เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่อธิบายพยาธิกำเนิดของ thyrotoxic periodic paralysis

เอกสารอ้างอิง

1. Kelley DE, Gharib H, Kennedy FP, Duda RJ, McManis PG. Thyrotoxic periodic paralysis. Report of 10 cases and review of electromyographic findings. Arch Intern Med 1989; 149: 2597-600.
2. MacFadzean AJS, Yeung R. Periodic paralysis complicating thyrotoxicosis in Chinese. Br Med J 1967; 1: 451-5.
3. Burman KD. Hyperthyroidism. In: Becker KL, editor. Principles and practice of endocrinology and metabolism. Philadelphia: Lippincott, 3rd Ed. 2001; p. 409-28.
4. Soonthornpun S, Setasuban W, Thamprasit A. Insulin resistance in subjects with a history of thyrotoxic periodic paralysis. Clin Endocrinol (Oxf) 2009; 70:794-7.
5. Yki-Järvinen H. Sex and insulin sensitivity. Metabolism 1984; 33: 1011-5.
6. Sumner AE, Kushner H, Sherif KD, Tulenko TN, Falkner B, Marsh JB. Sex differences in African-Americans regarding sensitivity to insulin's glucoregulatory and antilipolytic actions. Diabetes Care 1999; 22: 71-7.
7. Mohan V, Sharp PS, Cloke HR, Burrine JM, Schumer B, Kohner EM. Serum immunoreactive insulin responses to a glucose load in Asian Indian and European type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients and control subjects. Diabetologia 1986; 29: 235-7.
8. Knight TM, Smith Z, Whittles A, Sahota P, Lockton JA, Hogg G, et al. Insulin resistance, diabetes, and risk markers for ischaemic heart disease in Asian men and non-Asian in Bradford. Br Heart J 1992; 67: 343-50.
9. Dias Da Silva MR, Cerutti JM, Arnaldi LA, Maciel RM. A mutation in the KCNE3 potassium channel gene is associated with susceptibility to thyrotoxic hypokalaemic periodic paralysis. J Clin Endocrinol Metab 2002; 87: 4881-4.
10. Ng WY, Lui KF, Thai AC, Cheah JS. Absence of ion channels CACN1AS and SCN4A mutations in thyrotoxic hypokalaemic periodic paralysis. Thyroid 2004; 14: 187-190.
11. Kung AW, Lau KS, Fong GC, Chan V. Association of novel single nucleotide polymorphisms in the calcium channel alpha 1 subunit gene (Ca(v)1.1) and thyrotoxic periodic paralysis. J Clin Endocrinol Metab 2004; 89: 1340-5.
12. Tang NL, Chow CC, Ko GT, Tai MH, Kwok R, Yao XQ, Cockram CS. No mutation in the KCNE3 potassium channel gene in Chinese thyrotoxic hypokalaemic periodic paralysis patients. Clin Endocrinol (Oxf) 2004; 61: 109-12.

13. Lane AH, Markarian K, Braziunene I. Thyrotoxic periodic paralysis associated with a mutation in the sodium channel gene SCN4A. J Pediatr Endocrinol Metab 2004; 17: 1679-82.
14. Jongjaroenprasert W, Chanprasertyotin S, Butadej S, Nakasatien S, Charatcharoenwitthaya N, Himathongkam T, Ongphiphadhanakul B. Association of genetic variants in GABRA3 gene and thyrotoxic hypokalaemic periodic paralysis in Thai population. Clin Endocrinol (Oxf) 2008; 68: 646-51.
15. Kung AW, Lau KS, Cheung WM, Chan V. Thyrotoxic periodic paralysis and polymorphisms of sodium-potassium ATPase genes. Clin Endocrinol (Oxf) 2006; 64: 158-61.
16. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. Am J Physiol 1979; 237: E214-23.
17. Arumanayagam M, MacDonald D, Cockram CS, Swaminathan R. Erythrocyte sodium fluxes, ouabain binding sites, and Na+,K+ ATPase activity in hyperthyroidism. Metabolism 1990; 39: 952-7.
18. De Riva C, Chen S, Virgili F, Frigato F. Na+K+ ATPase activity and ouabain sites in erythrocytes in hyperthyroidism before and after treatment. J Endocrinol Invest 1992; 15: 363-7.

ABSTRACT

Project Code: RSA5280017

Project Title: Gender difference in oxygen-increased insulin sensitivity

Investigator: Supamai Soonthornpun, Rattana Leelawattana, Worawong Setasuban, Padiporn Limampornpetch. Department of Medicine, Faculty of Medicine, Prince of Songkla University.

E-mail Address: ssupamai@medicine.psu.ac.th

Project Period: 3 years

Our recent study found that when compare with 21% oxygen, 30% oxygen inhalation decreased serum insulin levels during 75-g oral glucose tolerance test (OGTT) in male, while there was no change in plasma glucose levels. In female, both serum insulin and plasma glucose concentrations during 21% and 30% oxygen inhalation were comparable. Insulin sensitivity index which is calculated from serum insulin and plasma glucose concentrations of 75-g OGTT during 30% oxygen inhalation was higher than that during 21% oxygen inhalation. Although calculated insulin sensitivity index correlates well with euglycemic hyperinsulinemic clamp which is a standard method for measuring insulin sensitivity. To confirm these findings, we measured insulin sensitivity by using euglycemic hyperinsulinemic clamp during 21% and 30% oxygen inhalation in male and female.

Objective: to demonstrate differences in oxygen-increased insulin sensitivity between male and female.

Materials and Methods: 40 (20 females, 20 males) healthy subjects were measured insulin sensitivity by using euglycemic hyperinsulinemic clamp during 21% and 30% oxygen inhalation in random order, 1-week apart. Oxygen was given during euglycemic hyperinsulinemic clamp in the rate of 10 liter/minute under the oxygen mask. Oxygen concentration was controlled by using air-oxygen blender (Omeda m2100). Pair-t test was used to determine significant differences within groups.

Results: The mean age and body mass index were 36.0$\pm$9.0 years and 24.7$\pm$3.4 kg/m^2 in female and 34.7$\pm$10.9 years and 24.1$\pm$4.5 kg/m^2 in male. There was no difference in insulin sensitivity during 21% and 30% oxygen inhalation in both genders

Conclusion: There was no difference in insulin sensitivity during 21% and 30% oxygen inhalation in both genders

Keywords: Gender difference, insulin sensitivity, oxygen

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: RSA5280017

ชื่อโครงการ: ความแตกต่างระหว่างเพศของ oxygen-increased insulin sensitivity

ชื่อนักวิจัย: สุภมัย สุนทรพันธ์, รัตนา ลีลาวัฒนา, วรวงษ์ เสตสุบรรณ, ปดิพร ลิ้มอัมพรเพชร
ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

E-mail Address: ssupamai@medicine.psu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 3 ปี

การศึกษาที่ผ่านมาของคณะผู้วิจัยพบว่า เมื่อเปรียบเทียบกับการได้ 21% ออกซิเจน ระดับอินซูลินในเลือดระหว่างการทำการทดสอบความทนกลูโคส 75 กรัม (OGTT) ในเพศชาย จะต่ำกว่าขณะได้ 30% ออกซิเจน ในขณะที่ระดับกลูโคสในเลือดระหว่างการทำ OGTT ไม่แตกต่างกันระหว่างได้ 21% ออกซิเจน และ 30% ออกซิเจน ในเพศหญิง ไม่มีความแตกต่างกันของระดับอินซูลินและกลูโคสในเลือดขณะได้ 21% ออกซิเจน และ 30% ออกซิเจน ความไวอินซูลินซึ่งคำนวณจากระดับอินซูลินและกลูโคสในเลือดจากการทำ OGTT ขณะได้ 30% ออกซิเจน สูงกว่าขณะได้ 21% ออกซิเจน แม้ว่าการคำนวณความไวอินซูลินจะมีความสัมพันธ์ที่ดีกับการวัดด้วยวิธีมาตรฐาน euglycemic hyperinsulinemic clamp เพื่อที่จะยืนยันผลดังกล่าง คณะผู้วิจัยได้ทำการวัดความไวอินซูลินด้วยวิธี euglycemic hyperinsulinemic clamp ขณะได้ 21% และ 30% ออกซิเจน ในเพศชายและเพศหญิง

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาความแตกต่างของ oxygen-increased insulin sensitivity ระหว่างเพศชายและเพศหญิง

วัสดุและวิธีการ: อาสาสมัครสุขภาพสมบูรณ์จำนวน 40 คน (เพศหญิง 20 คนและเพศชาย 20 คน) ถูกวัดความไวอินซูลินด้วยวิธี euglycemic hyperinsulinemic clamp ขณะได้ 21% และ 30% ออกซิเจน โดยการสุ่ม ห่างกัน 1 สัปดาห์ ออกซิเจนจะให้ระหว่างการทำ euglycemic hyperinsulinemic clamp ด้วยอัตรา 10 ลิตรต่อนาที ภายใต้หน้ากากออกซิเจน ความเข้มข้นของออกซิเจนจะถูกควบคุมด้วย air-oxygen blender (Omeda m2100). ใช้ pair-t test วิเคราะห์ความแตกต่างภายในกลุ่มเดียวกัน

ผลการศึกษา: ค่าเฉลี่ยอายุและดัชนีมวลกายเท่ากับ 36.0$\pm$9.0 ปี และ 24.7$\pm$3.4 กก./ตรม. ในเพศหญิง และ 34.7$\pm$10.9 ปี และ 24.1$\pm$4.5 กก./ตรม. ในเพศชาย ไม่มีความแตกต่างกันของความไวอินซูลินขณะได้ 21% และ 30% ออกซิเจน ทั้งในเพศหญิงและเพศชาย

บทสรุป: ไม่มีความแตกต่างกันของความไวอินซูลินขณะได้ 21% และ 30% ออกซิเจน ทั้งในเพศหญิงและเพศชาย

คำหลัก: ความแตกต่างระหว่างเพศ ความไวอินซูลิน ออกซิเจน

Oxygen เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการทำงานในกระบวนการต่างๆ ของเซล เนื่องจากเป็นส่วนสำคัญในการสร้างพลังงาน ภาวะ hypoxia จึงมีผลเสียต่อทุกๆ อวัยวะ การศึกษาผลการให้ oxygen ในคนที่ไม่มีภาวะ hypoxia มีจำกัด เกือบทั้งหมดเป็นการศึกษาผลต่อสมองโดยเฉพาะในเรื่องของความจำ (cognition) [1-6] ซึ่งส่วนใหญ่พบว่าการให้ 30% oxygen ในสภาวะความดันบรรยากาศปกติ (normobaric oxygen) พบว่า ทำให้ความจำดีขึ้น [4-6] และแสดงให้เห็นว่าสมองมี oxygen uptake เพิ่มขึ้น จากการทำ functional magnetic resonance imaging [4] และมี oxygen utilization เพิ่มขึ้น จากการทำ positron emission tomography [5] มีส่วนน้อยที่พบว่า การให้ oxygen ไม่มีผลต่อความจำ [7]

ผลเสียจากการให้ oxygen ในคนที่ไม่มีภาวะ hypoxia หรือที่เรียกว่า oxygen toxicity นั้น ขึ้นกับความเข้มข้นของ oxygen และระยะเวลาที่ได้ พบว่าถ้าได้รับ oxygen ที่มีความเข้มข้นน้อยกว่า 50% จะไม่ทำให้เกิด oxygen toxicity ไม่ว่าจะได้รับ oxygen เป็นเวลานาน [8] อย่างไรก็ตาม การได้รับ oxygen ในระยะเวลาสั้นและปริมาณต่ำก็มีผลต่อระบบหลอดเลือดหัวใจ ได้แก่ ทำให้อัตราการเต้นของหัวใจลดลง ความต้านทานของหลอดเลือดขนาดใหญ่เพิ่มขึ้น ความดันโลหิต systolic เพิ่มขึ้น [9] แต่เป็นการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย และยังไม่มีการศึกษาผลในระยะยาว

Glucose metabolism เป็นกระบวนการหนึ่งที่ต้องอาศัย oxygen ขณะมี oxygen พลังงานที่สร้างจากกระบวนการ glycolysis จะได้ 32-34 ATP ในทางตรงข้าม ถ้าปราศจาก oxygen พลังงานจาก glycolysis จะมีเพียง 1-2 ATP ภาวะ hypoxia ในสัตว์ทดลองยังทำให้เกิดภาวะดื้ออินซูลิน [10,11] โดยมีความสัมพันธ์กับการลดลงของ glucose oxidation ที่กล้ามเนื้อ [11] สอดคล้องกับการศึกษาในคนที่เป็น chronic obstructive pulmonary disease (COPD) และมีภาวะ hypoxia ที่พบว่า การทำให้ oxygen saturation กลับสู่ปกติ มีผลให้ภาวะดื้ออินซูลินลดลง [12]

ผู้วิจัยและคณะได้ศึกษาผลของการให้ 30% oxygen ต่อระดับกลูโคสและอินซูลินในเลือดขณะทำ oral glucose tolerance test (OGTT) ในอาสาสมัครสุขภาพสมบูรณ์จำนวน 20 คน เป็นผู้หญิง 11 คน และผู้ชาย 9 คน โดยเปรียบเทียบกับการให้ 21% oxygen ทุกคนจะได้รับ oxygen ทั้ง 2 ขนาดโดยการสุ่ม ห่างกัน 1 สัปดาห์ โดยจะให้ oxygen 30 นาทีก่อนทำ OGTT และให้ต่อเนื่องระหว่างทำ OGTT เป็นเวลานาน 3 ชั่วโมง อาสาสมัครจะได้รับ oxygen ภายใต้หน้ากาก (oxygen mask) ปรับขนาด oxygen โดยใช้ air-oxygen blender ให้มีอัตราไหล 10 ลิตรต่อนาที ด้วยวิธีนี้ อาสาสมัครจะไม่ทราบว่าครั้งไหนจะได้ oxygen ขนาดเท่าใด ผลการศึกษาพบว่า ระดับกลูโคสและอินซูลินในเลือดไม่มีความแตกต่างกันระหว่างได้รับ 21% oxygen และ 30% oxygen ในผู้หญิง แต่ในผู้ชายพบว่าระดับอินซูลินในเลือดขณะได้ 30% oxygen ต่ำกว่าขณะได้ 21% oxygen อย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ระดับกลูโคสในเลือดไม่แตกต่างกัน เมื่อคำนวณความไวอินซูลินตามสูตรของผู้วิจัยและคณะ [13] พบว่า ความไวอินซูลินขณะได้ 30% oxygen มากกว่าขณะได้ 21% oxygen อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แม้ว่าความไวอินซูลินจากการคำนวณดังกล่าวจะมีความสัมพันธ์ที่ดีกับวิธี euglycemic hyperinsulinemic clamp ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานในการวัดความไว

อินซูลิน แต่เพื่อการยืนยันผลดังกล่าวการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาความแตกต่างของผลของ oxygen ต่อความไวอินซูลินที่วัดด้วยวิธีมาตรฐาน ระหว่างผู้หญิงกับผู้ชาย

วัสดุและวิธีการ

อาสาสมัครสุขภาพสมบูรณ์ถูกเลือกโดยสุ่มเป็น 2 กลุ่ม เพื่อลำดับขั้นตอนการศึกษา คือ กลุ่มที่ 1 จะได้ 21% oxygen ก่อน กลุ่มที่ 2 จะได้ 30% oxygen ก่อน อาสาสมัครงดอาหารหลังเที่ยงคืน เวลา 08.00 น. อาสาสมัครถูกชั่งน้ำหนัก วัดส่วนสูง วัดความดันโลหิต ชีพจร และ oxygen saturation ก่อนทำ euglycemic hyperinsulinemic clamp 30 นาที อาสาสมัครได้ oxygen ภายใต้หน้ากาก oxygen (oxygen mask) อัตราการไหล 10 ลิตรต่อนาที และจะได้ oxygen ต่อเนื่องตลอดการทำ euglycemic hyperinsulinemic clamp (2 ชั่วโมง) ความเข้มข้นของ oxygen กำหนดโดยใช้ air-oxygen blender (Omeda m2100) และยืนยันโดยวัดด้วยเครื่อง oxygen analyzer (Teledyne) หลังจากการศึกษาครั้งแรก 1 สัปดาห์ อาสาสมัครจะกลับมาทำการศึกษาครั้งที่สองโดยดำเนินการเช่นเดียวกับครั้งแรกแต่เปลี่ยนขนาดความเข้มข้นของ oxygen ในแต่ละครั้ง อาสาสมัครจะไม่ทราบว่าได้ oxygen ขนาดความเข้มข้นเท่าใด ผู้เข้าร่วมโครงการต้องงดบุหรี่และสุราอย่างน้อย 72 ชั่วโมงก่อนทำการศึกษา

การทำ euglycemic hyperinsulinemic clamp

มีหลักการคือให้อินซูลินเข้าทางหลอดเลือดดำเพื่อเพิ่มระดับอินซูลินในเลือดให้สูงขึ้นประมาณ 100 μU/มล. และคงระดับนี้ไว้นาน 120 นาที ในขณะเดียวกันจะให้สารละลายกลูโคสเข้าทางหลอดเลือดดำเพื่อให้ระดับกลูโคสในเลือดคงที่ประมาณ 90 มก./ดล. วิธีการทดสอบใช้เทคนิคของ DeFronzo และคณะ [14] โดยเริ่มทำตอนเช้า หลังจากงดอาหารเป็นเวลา 10 ชั่วโมง ก่อนการทดสอบให้ปัสสาวะทิ้ง คาเข็ม scalp vein ใน antecubital vein ของแขนเพื่อให้สารละลายกลูโคสและอินซูลิน และคาเข็ม scalp vein ใน dorsal vein ของมืออีกด้านหนึ่งซึ่งอยู่ในกล่องที่ควบคุมอุณหภูมิประมาณ 60°C เพื่อดูดเลือด (arterialized venous blood) ส่งตรวจระดับกลูโคสทุก 5 นาที จนครบ 120 นาที และส่งตรวจระดับอินซูลินก่อนการทดสอบและทุก 10 นาที ในช่วงนาทีที่ 60 ถึง 120 เก็บปัสสาวะเมื่อสิ้นสุดการทดสอบส่งตรวจระดับกลูโคส ตรวจกลูโคสในเลือดโดยวิธี glucose oxidase ด้วยเครื่อง Analox GM9 (Hammersmith, London, UK) ตรวจอินซูลินโดยวิธี electrochemiluminescence immunoassay ด้วยเครื่อง Modular E170 (Mannheim, Germany) วัดความดันโลหิตทุก 10 นาที ในระหว่างการทดสอบ

เตรียมอินซูลิน (actrapid insulin) ใน isotonic saline ให้ได้ความเข้มข้น 30 U/100 มล. แบ่งการให้อินซูลินเป็น 2 ช่วง ช่วงแรกใช้เวลา 10 นาที เป็นการให้ในขนาดสูงแล้วค่อยลดขนาดลง ช่วงที่สองใช้เวลา 110 นาที เป็นการให้อินซูลินขนาดคงที่คือ 50 mU/พื้นที่ผิวกาย/นาที

สถิติที่ใช้ในการประเมินผล

เปรียบเทียบ parameters ระหว่างเพศ ใช้ unpaired t test สำหรับข้อมูลที่เป็น normal distribution และใช้ Mann-Whitney U test สำหรับข้อมูลไม่เป็น normal distribution เปรียบเทียบ parameters ก่อนและหลัง ใช้ paired *t*-test เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่เป็น normal distribution และใช้ Wilcoxon test สำหรับข้อมูลไม่เป็น normal distribution

ผลการศึกษา

อาสาสมัครสุขภาพสมบูรณ์เพศหญิงจำนวน 20 คน และเพศชายจำนวน คน 20 เข้าร่วมการศึกษา ลักษณะประชากรแสดงดังตาราง 1 ความไวอินซูลินขณะได้ 21% oxygen และ 30% oxygen ไม่มีความแตกต่างกัน ไม่ว่าจะเป็นกลุ่มอาสาสมัครทั้งหมดหรือแยกตามเพศหญิงและชาย (ตาราง 2)

ตาราง 1 ลักษณะประชากรที่ศึกษาแบ่งตามเพศ

	เพศหญิง (n=20)	เพศชาย (n= 20)
อายุ (ปี)	36.0±9.0	34.7±10.9
ดัชนีมวลกาย (กก./ตรม.)	24.7±3.4	24.1±4.5

ตาราง 2 ความไวอินซูลินขณะได้ 21% oxygen และ 30% oxygen แบ่งตามเพศ

ความไวอินซูลิน (mg/kg/min/mU/L)	เพศหญิง (n=20)	เพศชาย (n= 20)
21% oxygen	4.54±2.44	4.98±2.08
30% oxygen	4.34±2.11	5.13±2.03
P value	0.478	0.455

บทวิจารณ์

การศึกษานี้ไม่พบความแตกต่างของความไวอินซูลินระหว่างได้ 21% oxygen และ 30% oxygen ทั้งในเพศหญิงและเพศชาย ซึ่งต่างจากการศึกษานำร่องที่คำนวณความไวอินซูลินจากการทำ 75 g OGTT ความแตกต่างที่เกิดขึ้นยังไม่สามารถอธิบายได้ชัดเจน การใช้ปริมาณอินซูลินขนาดสูงกระตุ้นการนำกลูโคสเข้าเซลในการทำ euglycemic hyperinsulinemic clamp อาจทำให้บดบังผลของ oxygen ที่มีความเข้มข้นต่างกันไม่มาก หรือเป็นจากข้อมูลจากการศึกษานำร่องที่มีจำนวนตัวอย่างค่อนข้างน้อย ทำให้ผลการศึกษาผิดพลาด

เอกสารอ้างอิง

1. Moss MC, Scholey AB. Oxygen administration enhances memory formation in healthy young adults. Psychopharmacology (Berl) 1996; 124: 255-60.
2. Moss MC, Scholey AB, Wesnes K. Oxygen administration selectively enhances cognitive performance in healthy young adults: a placebo-controlled double-blind crossover study. Psychopharmacology (Berl) 1998; 138: 27-33.
3. Scholey AB, Moss MC, Neave N, Wesnes K. Cognitive performance, hyperoxia, and heart rate following oxygen administration in healthy young adults. Physiol Behav 1999; 67: 783-9.
4. Sohn JH, Chung SC, Jang EH. 30% oxygen inhalation enhances cognitive performance through robust activation in the brain. J Physiol Anthropol Appl Human Sci 2005; 24: 51-3.
5. Chung SC, Iwaki S, Tack GR, Yi JH, You JH, Kwon JH. Effect of 30% oxygen administration on verbal cognitive performance, blood oxygen saturation and heart rate. Appl Psychophysiol Biofeedback 2006; 31: 281-93.
6. Chung SC, Lee B, Tack GR, Yi JH, You JH, Son SH. The effect of oxygen administration on visuospatial cognitive performance: time course data analysis of fMRI. Int J Neurosci 2006; 116: 177-89.
7. Andersson J, Berggren P, Grönkvist M, Magnusson S, Svensson E. Oxygen saturation and cognitive performance. Psychopharmacology (Berl) 2002; 162: 119-28.
8. Bostek CC. Oxygen toxicity: an introduction. AANA J 1989; 57: 231-7.
9. Waring WS, Thomson AJ, Adwani SH, Rosseel AJ, Potter JF, Webb DJ, et al. Cardiovascular effects of acute oxygen administration in healthy adults. J Cardiovasc Pharmacol 2003; 42: 245-50.
10. Polotsky VY, Li J, Punjabi NM, Rubin AE, Smith PL, Schwartz AR.Intermittent hypoxia increases insulin resistance in genetically obese mice. J Physiol 2003; 552(Pt 1): 253-64.
11. Iiyori N, Alonso LC, Li J, Sanders MH, Garcia-Ocana A, O'Doherty RM, et al. Intermittent hypoxia causes insulin resistance in lean mice independent of autonomic activity. Am J Respir Crit Care Med 2007; 175: 851-7.
12. Jakobsson P, Jorfeldt L. Oxygen supplementation increases glucose tolerance during euglycaemic hyperinsulinaemic glucose clamp procedure in patients with severe COPD and chronic hypoxaemia. Clin Physiol Funct Imaging 2006; 26: 271-4.

13. Soonthornpun S, Setasuban W, Thamprasit A, Chayanunnukul W, Rattarasarn C, Geater A. Novel insulin sensitivity index derived from oral glucose tolerance test. J Clin Endocrinol Metab 2003; 88:1019-23.
14. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. Am J Physiol 1979; 237: E214-23.