

การศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของหลอดเลือด coronary
จากร่างอาจารย์ใหญ่

Histological study of coronary artery in
embalmed cadavers

ระพีพันธุ์ คิริเดช

ภาสินี สงวนสิทธิ์

การวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

ปีการศึกษา 2561

ชื่อเรื่อง	การศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของหลอดเลือด coronary จากร่างอาจารย์ใหญ่
ผู้วิจัย	นางสาวระพีพันธุ์ ศิริเดช นางสาวภาสินี สงวนสิทธิ์
สถาบัน	มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
ปีที่พิมพ์	พ.ศ. 2564
สถานที่พิมพ์	มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
แหล่งที่เก็บรายงานฉบับสมบูรณ์	มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
จำนวนหน้างานวิจัย	77 หน้า
คำสำคัญ	หลอดเลือด coronary, จุลกายวิภาค, อาจารย์ใหญ่, ผนังหลอดเลือด, พยาธิสภาพ
ลิขสิทธิ์	มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

บทคัดย่อ

โรคหลอดเลือดและหัวใจเป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิตของประชากรทั่วโลก และพบว่าการเกิดโรคหลอดเลือดตีบแข็ง (atherosclerosis) ในหลอดเลือด coronary มีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในผู้สูงอายุ ซึ่งงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคและลักษณะทางพยาธิวิทยาของหลอดเลือด coronary จากร่างอาจารย์ใหญ่ จำนวน 20 ร่าง เพศชาย 12 ร่าง และเพศหญิง 8 ร่าง อายุ 52-101 ปี ซึ่งได้ศึกษาด้าน morphometry และ histomorphometry ของหลอดเลือด left และ right coronary โดยศึกษาลักษณะทางจุลพยาธิของหลอดเลือดด้วยการย้อมสี Hematoxylin and eosin และ Verhoeff-Van Gieson และศึกษาความหนาของผนังหลอดเลือดด้วยการย้อมสี Verhoeff's elastic stain โดยวัดความหนาของผนังหลอดเลือดด้วยโปรแกรม image j ผลจากการศึกษาพบว่าขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือด left coronary (6.65 ± 1.16 mm) มากกว่า right coronary (6.07 ± 0.93 mm) ผลจากการวัดผนังหลอดเลือดพบว่าผนังชั้น tunica intima ของหลอดเลือด right coronary ส่วน middle (1780.472 ± 763.130 μ m) หนามากกว่าหลอดเลือด left coronary (1338.397 ± 1056.073 μ m) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p=0.035$ ส่วนความหนาของผนังชั้น tunica media ของหลอดเลือด left coronary (917.936 ± 307.395 μ m) หนามากกว่าหลอดเลือด right coronary ทั้งในส่วน proximal (724.654 ± 284.509 μ m), middle (553.433 ± 203.042 μ m) และ distal (513.008 ± 168.514 μ m) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p=0.044$, $p=0.000$ and $p=0.000$ ตามลำดับ จากการศึกษาลักษณะทางจุลพยาธิของหลอดเลือด left และ right coronary แสดงลักษณะของ plaque ภายในผนังหลอดเลือด ได้แก่ foam

cell, lipid core, fibrous cap, calcifications และ cholesterol cleft และพบลักษณะของ internal และ external elastic lamina เกิดการ reduplication, fragmentation และ fraying ในหลอดเลือด coronary ทั้ง 2 ข้าง



Research Title	Histological study of coronary artery in embalmed cadavers
Researcher(s)	Miss Rapipan Siridet, Miss Pasinee Sanguansit
Institution	Huachiew Chalermprakiet University
Year of Publication	2021
Publisher	Huachiew Chalermprakiet University
Sources	Huachiew Chalermprakiet University
No. of Pages	77 pages
Keywords	Coronary artery, Histology, Cadavers, Wall thickness, Pathology
Copyright	Huachiew Chalermprakiet University

ABSTRACT

Cardiovascular disease (CVD) is a major cause of death and the incidence of atherosclerosis in coronary arteries is rapidly increasing among aging worldwide. The purpose of the present study was to assess the histological changes and pathological in coronary arteries in advancing age. Cadavers were conducted on 20 cases (12 men, 8 women) whose age ranged from 52-101 years. The morphometric and histomorphometric were studied in major coronary arteries namely the left coronary artery (LAD) and right coronary artery (RCA). Hematoxylin and eosin, Verhoeff-Van Gieson stained sections were used to study histopathology in the arterial wall, and Verhoeff's Elastic stained sections were used to study the thickness of the coronary artery wall and were measured using the image j program. The external diameters of the left coronary artery were (6.65 ± 1.16 mm) larger than that of the right coronary (6.07 ± 0.93 mm). The thickness of the tunica intima of the middle coronary artery (1780.472 ± 763.130 μ m) was significantly greater than the left coronary artery (1338.397 ± 1056.073 μ m), $p=0.035$. The thickness of tunica media of the left coronary artery (917.936 ± 307.395 μ m) was significantly greater than the proximal (724.654 ± 284.509 μ m), middle (553.433 ± 203.042 μ m), and distal (513.008 ± 168.514 μ m) of the right coronary artery, $p=0.044$, $p=0.000$, and $p=0.000$ respectively.

Histopathology of the left and right coronary artery showed plaque characteristics in the arterial wall, namely foam cell, lipid core, fibrous cap, calcifications, and cholesterol cleft. Internal and external elastic lamina showed reduplication, fragmentation, and fraying in both coronary arteries.



กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนโครงการวิจัยในระดับคณะ จากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ประจำปีการศึกษา 2561

ขอขอบพระคุณอาจารย์ใหญ่ทุกร่างที่ได้อุทิศร่างกายเพื่อเป็นวิทยาทาน เพื่อให้นักศึกษาได้เรียนรู้เกี่ยวกับระบบโครงสร้างร่างกาย รวมทั้งยังให้ผู้วิจัยได้ศึกษาค้นคว้าทำวิจัยในครั้งนี้จนสำเร็จ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการกายวิภาคศาสตร์ คุณดวงใจ อุ่นคำ และคุณโสภี บุญทรัพย์ ที่ให้ความช่วยเหลือในเรื่องการเตรียมสารเคมี เครื่องมืออุปกรณ์ ตลอดจนเสร็จสิ้นการปฏิบัติงานวิจัย

ขอขอบพระคุณบิดา มารดา พี่สาวและเพื่อนที่เป็นกำลังใจที่ตีมาก ให้ความช่วยเหลือและสนับสนุนด้วยดีเสมอมา

ระพีพันธุ์ ศิริเดช



กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนโครงการวิจัยในระดับคณะ จากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ประจำปีการศึกษา 2561

ขอขอบพระคุณอาจารย์ใหญ่ทุกร่างที่ได้อุทิศร่างกายเพื่อเป็นวิทยาทาน เพื่อให้นักศึกษาได้เรียนรู้เกี่ยวกับระบบโครงสร้างร่างกาย รวมทั้งยังให้ผู้วิจัยได้ศึกษาค้นคว้าทำวิจัยในครั้งนี้จนสำเร็จ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการกายวิภาคศาสตร์ คุณดวงใจ อุ่นคำ และคุณโสภี บุญทรัพย์ ที่ให้ความช่วยเหลือในเรื่องการเตรียมสารเคมี เครื่องมืออุปกรณ์ ตลอดจนเสร็จสิ้นการปฏิบัติงานวิจัย

ขอขอบพระคุณบิดา มารดา พี่สาวและเพื่อนที่เป็นกำลังใจที่ตีมาก ให้ความช่วยเหลือและสนับสนุนด้วยดีเสมอมา

ระพีพันธุ์ ศิริเดช



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูปภาพ	ฌ
สารบัญกราฟ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 สมมติฐานการวิจัย	2
1.4 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ	2
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 กายวิภาคศาสตร์ของหลอดเลือด coronary	4
2.2 โครงสร้างทางจุลกายวิภาคของผนังหลอดเลือด coronary	5
2.3 ลักษณะพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือด	6
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	8
บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย	11
3.1 กลุ่มตัวอย่างและการเก็บตัวอย่าง	11
3.2 เครื่องมือ วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี	12
3.2.1 เครื่องมือ	12
3.2.2 วัสดุอุปกรณ์	13
3.2.3 สารเคมี	13

สารบัญ

	หน้า
3.3 การเตรียมตัวอย่างชิ้นเนื้อ	14
3.4 การศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาค (histology) ของผนังหลอดเลือด	16
3.5 การศึกษาความหนาของผนังหลอดเลือด (arterial wall thickness)	17
3.6 รวบรวมข้อมูล วิเคราะห์ผลการศึกษา	19
บทที่ 4 ผลการวิจัย	20
4.1 ข้อมูลกลุ่มตัวอย่าง	20
4.2 ผลการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายนอกและความยาวของหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา	21
4.3 ผลการวัดความหนาของผนังหลอดเลือด left coronary	21
4.4 ผลการวัดความหนาของผนังหลอดเลือด right coronary	22
4.5 ผลการเปรียบเทียบความหนาของผนังหลอดเลือด coronary ระหว่างข้างซ้ายและข้างขวา	24
4.6 ลักษณะทางจุลพยาธิของผนังหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา	27
4.7 ผลการศึกษาลักษณะของ plaque ในผนังหลอดเลือด coronary	49
4.8 ผลการศึกษารูปแบบการเรียงตัวของ internal elastic lamina, external elastic lamina และ endothelial cells จากหลอดเลือด coronary	50
บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	52
5.1 สรุปผลการวิจัย	52
5.2 อภิปรายผล	54
5.3 ข้อเสนอแนะ	65
บรรณานุกรม	66
ภาคผนวก	75
ก ข้อมูลตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย	75
ข การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย	78
ค ประวัติย่อผู้วิจัย	79

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ตารางแสดงข้อมูลอาจารย์ใหญ่ด้านอายุ เพศ และสาเหตุการเสียชีวิต	20
4.2 ตารางแสดงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางและความยาวของหลอดเลือด coronary ทั้งข้างซ้ายและขวา จากร่างอาจารย์ใหญ่	21
4.3 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด left coronary จากร่างอาจารย์ใหญ่	22
4.4 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด right coronary จากร่างอาจารย์ใหญ่	23
4.5 ตารางแสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา	25
4.7 ตารางแสดงลักษณะของ plaque ที่พบในผนังของหลอดเลือด left coronary และ right coronary จากร่างอาจารย์ใหญ่ทั้ง 20 ร่าง	49
4.8 ตารางแสดงรูปแบบการเรียงตัวของ internal elastic lamina, external elastic lamina และ endothelial cells จากหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา	51

สารบัญรูปภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ภาพแสดงลักษณะทางกายวิภาคของหลอดเลือด left และ right coronary	4
2.2 ภาพแสดงโครงสร้างพื้นฐานของผนังหลอดเลือดแดง	6
3.1 ภาพแสดงตำแหน่งของหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา	12
3.3 ภาพแสดงการแบ่งส่วนหลอดเลือด right coronary	14
3.5-1 ภาพแสดงจุดอ้างอิงตำแหน่งการวัดผนังหลอดเลือด coronary	18
3.5-2 ภาพแสดงตำแหน่งการวัดความหนาของผนังหลอดเลือด coronary	19
4.6-1 ภาพแสดงลักษณะของ foam cells ภายในผนังหลอดเลือด	29
4.6-2 ภาพแสดงลักษณะของ fibrous cap และ lipid core ภายในผนังหลอดเลือด	30
4.6-3 ภาพแสดงลักษณะของตะกอน calcium ภายในผนังหลอดเลือด	31
4.6-4 ภาพแสดงลักษณะของ cholesterol clefts ภายในผนังหลอดเลือด	32
4.6-5 ภาพแสดงลักษณะของ extracellular lipid pools และ apoptotic smooth muscle cells ภายในผนังหลอดเลือด	33
4.6-6 ภาพแสดงการเรียงตัวของ endothelial cells ที่ไม่ต่อเนื่องจากการแทรกตัวของ calcium ขนาดใหญ่	34
4.6-7 ภาพแสดงการเกิด calcification ภายในผนังหลอดเลือดบริเวณต่างๆ	35
4.6-8 ภาพแสดงการสะสมของเซลล์อักเสบภายในผนังหลอดเลือด	36
4.6-9 ภาพแสดงการเรียงตัวที่ไม่เป็นระเบียบของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบภายในผนังชั้น tunica media	37
4.6-10 ภาพแสดงการหนาตัวของผนังชั้น tunica intima จากการแทรกตัวของเซลล์กล้ามเนื้อ ไม่พบ lipid core	38
4.6-11 ภาพแสดงการหนาตัวของผนังชั้น tunica intima ร่วมกับการเกิด lipid core	39
4.6-12 ภาพแสดงลักษณะของ internal elastic lamina และ external elastic lamina ที่มีการขาด แยกออกจากกัน	41
4.6-13 ภาพแสดงลักษณะของ internal elastic lamina และ external elastic lamina ที่เรียงตัวซ้อนกัน	42

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
ภาพที่	
4.6-14 ภาพแสดงลักษณะของ internal elastic lamina และ external elastic lamina ที่มีการแตกเป็นเศษเล็กๆ แยกจากกัน	43
4.6-15 ภาพแสดงลักษณะของ internal elastic lamina ที่มีรูปร่างผิดปกติ	44
4.6-16 ภาพแสดงรูปแบบการเรียงตัวของ internal elastic lamina และ external elastic lamina	45
4.6-17 ภาพแสดงการเรียงตัวของ endothelial cells ที่ต่อเนื่อง	47
4.6-18 ภาพแสดงการเรียงตัวของ endothelial cells ที่ไม่ต่อเนื่อง	48

สารบัญกราฟ

	หน้า
กราฟที่	
4.4-1 แสดงค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด right coronary ชั้น tunica intima	23
4.4-2 แสดงค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด right coronary ชั้น tunica media	24
4.5-1 แสดงค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด coronary ในชั้น tunica intima ของหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา	26
4.5-2 แสดงค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด coronary ในชั้น tunica media ของหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา	26
4.7-1 แสดงเปอร์เซ็นต์ลักษณะของ plaque ที่พบในผนังหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา	50

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคหัวใจและหลอดเลือด (Cardiovascular Diseases; CVDs) เป็นสาเหตุการตายของประชากรทั่วโลก จากการรายงานขององค์การอนามัยโรคในปี ค.ศ. 2017 พบการตายมากถึงร้อยละ 31 และในประเทศไทยจากข้อมูลของกระทรวงสาธารณสุขพบว่าโรคหัวใจและหลอดเลือดเป็นสาเหตุการตายของประชากรเป็นลำดับที่ 2 รองจากโรคมะเร็ง การหนาตัวของผนังหลอดเลือด (vascular wall thickening) เป็นพยาธิสภาพเริ่มต้นของการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด เช่น โรคหลอดเลือดตีบแข็ง (atherosclerosis) โรคหลอดเลือดสมอง (stroke) การหนาตัวของผนังหลอดเลือดเกิดจากความผิดปกติของเซลล์บุผนังหลอดเลือด (Endothelial cells; ECs) ซึ่งปัจจัยเสี่ยงที่ส่งผลต่อการเกิดความผิดปกติดังกล่าวมาจากหลายสาเหตุ เช่น อายุ เพศ ไขมันในเลือดสูง ความดันโลหิตสูง สูบบุหรี่ เป็นต้น (1-3)

การเกิดภาวะตีบแข็งของหลอดเลือดมักเกิดขึ้นบริเวณหลอดเลือดแดงขนาดใหญ่และขนาดกลาง เช่น coronary artery และ carotid artery เป็นต้น (4) การตีบแคบของหลอดเลือดบริเวณหัวใจ (coronary artery) จะส่งผลให้ผู้ป่วยเสียชีวิตจากภาวะหัวใจขาดเลือด ซึ่งพยาธิกำเนิดของโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ (coronary artery disease) ส่วนใหญ่เกิดจากการสะสมของไขมันชนิด low density lipoprotein (LDL) ในผนังหลอดเลือด ส่งผลให้ ECs เกิดความผิดปกติ มีการสร้างโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการยึดเกาะของเม็ดเลือดขาว (adhesion molecules) ชนิดต่าง ๆ เพื่อกระตุ้นให้มีการเคลื่อนตัวของ เม็ดเลือดขาวมายังบริเวณที่มีความผิดปกติเป็นจำนวนมากเพื่อจับกินไขมัน (phagocytosis) ซึ่งจะพบไขมันสะสมอยู่ในเซลล์ เม็ดเลือดขาวเรียกว่า foam cell อยู่ภายในผนังหลอดเลือด นอกจากนี้ความผิดปกติของ ECs ทำให้มีการสร้างสารที่ควบคุมการทำงานของเซลล์ในผนังหลอดเลือดลดลง ส่งผลให้เซลล์กล้ามเนื้อเรียบที่อยู่ในผนังหลอดเลือดชั้นกลาง (tunica media) มีการเพิ่มจำนวน (proliferation) และเคลื่อนที่ (migration) ขึ้นไปยังผนังหลอดเลือดชั้นในสุด (tunica intima) ทำให้เกิดการหนาตัวและตีบแคบของหลอดเลือด ส่งผลให้กล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด และเป็นสาเหตุของการเสียชีวิต

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของผนังหลอดเลือด coronary artery จากร่างอาจารย์ใหญ่ โดยศึกษาองค์ประกอบของผนังหลอดเลือด ลักษณะ

พยาธิสภาพและความหนาของผนังหลอดเลือด ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการวิจัยจะเป็นประโยชน์ในการศึกษาพยาธิสภาพของโรคเพื่อเป็นการเฝ้าระวังโรกระบบไหลเวียนโลหิต

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives)

เพื่อศึกษาลักษณะโครงสร้างทางจุลกายวิภาคของผนังหลอดเลือด coronary ด้วยวิธีการย้อม Hematoxylin and eosin และการย้อม Verhoeff-Van Gieson stain จากร่างอาจารย์ใหญ่

1.3 สมมติฐานของการวิจัย (Hypothesis)

พบการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางจุลกายวิภาคและพบพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือด coronary อาจารย์ใหญ่

1.4 ขอบเขตของการวิจัย (Scope of the Research)

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาคือหลอดเลือด coronary จากร่างอาจารย์ใหญ่ ที่ใช้ในการเรียนการสอนในกลุ่มวิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ในปี พ.ศ. 2561-2562 จำนวน 20 ร่าง อายุ 52-101 ปี โดยมีเพศชาย 12 ร่าง เพศหญิง 8 ร่าง โดยทำการศึกษาลักษณะโครงสร้างทางจุลกายวิภาคและพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือด coronary ด้วยวิธีการย้อม Hematoxylin and eosin และการย้อม Verhoeff-Van Gieson stain และศึกษาความหนาของผนังหลอดเลือดด้วยวิธีการย้อม Verhoeff's Elastic stain และวัดความหนาของผนังหลอดเลือดด้วยโปรแกรม Image J freeware

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ (Definition of Terms)

หลอดเลือด coronary artery

หลอดเลือดหลักที่ทำหน้าที่ลำเลียงเลือดไปเลี้ยงหัวใจ อยู่บริเวณผนังหัวใจชั้น epicardial โดยออกซิเจนจะถูกลำเลียงผ่านหลอดเลือด coronary artery ไปยังกล้ามเนื้อหัวใจ

กายวิภาคศาสตร์

การศึกษาโครงสร้างทางของหลอดเลือด coronary artery ที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า การศึกษากายวิภาคศาสตร์ของหลอดเลือดด้วยการวัดขนาดหลอดเลือด ผ่าศูนย์กลางเพื่อนำไปเปรียบเทียบกับขนาดหลอดเลือด ผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือดของคนที่ไม่ได้เป็นโรคหัวใจและหลอดเลือด

จุลกายวิภาค

การศึกษาโครงสร้างของเนื้อเยื่ออวัยวะขนาดเล็กซึ่งต้องอาศัยกล้องจุลทรรศน์ โดยต้องผ่านกระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อและย้อมสีเพื่อเป็นสไลด์ถาวรเพื่อศึกษาความ

หลอดเลือดแดงแข็ง

ภาวะที่มีการหนาตัวและแข็งตัวของผนังหลอดเลือดแดง ทำให้เกิดการตีบแคบของรูหลอดเลือดแดงเนื่องจากมีไขมันและไฟบรินไปเกาะที่ผนังชั้นในของหลอดเลือด มักพบที่หลอดเลือดขนาดใหญ่และขนาดกลาง

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ (Expected Benefits)

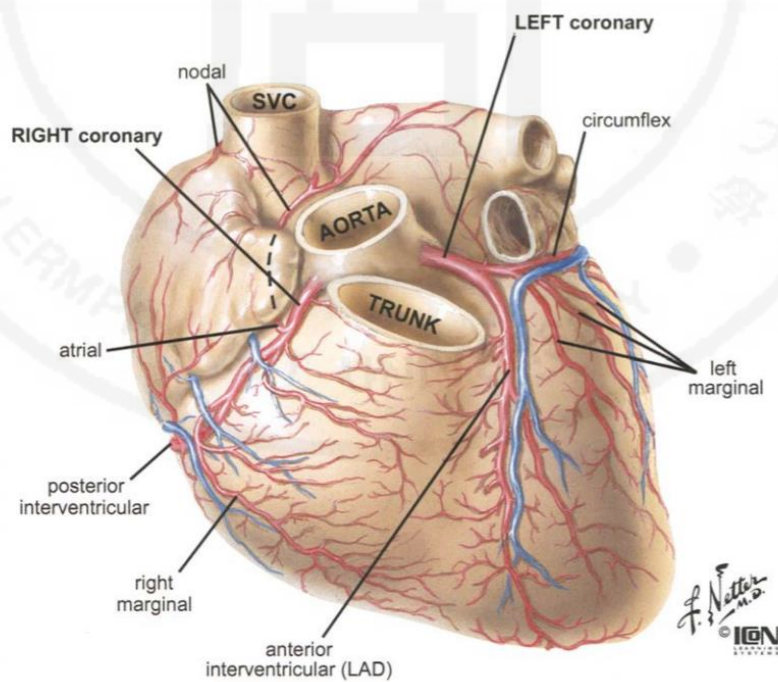
ทราบการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางจุลกายวิภาคและพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือด coronary จากร่างอาจารย์ใหญ่

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กายวิภาคศาสตร์ของหลอดเลือด coronary

หลอดเลือด coronary artery เป็นหลอดเลือดหลักที่ทำหน้าที่ลำเลียงเลือดไปเลี้ยงหัวใจ อยู่บริเวณผนังหัวใจชั้น epicardial โดยออกซิเจนจะถูกลำเลียงผ่านหลอดเลือด coronary artery ไปยังกล้ามเนื้อหัวใจ ทำให้กล้ามเนื้อหัวใจหดตัวและสูบฉีดเลือดไปเลี้ยงอวัยวะทั่วร่างกาย หลอดเลือดนี้จะประกอบด้วย 2 แขนงคือ left coronary arteries (LCA) และ right coronary arteries (RCA) ซึ่งแยกแขนงออกจากหลอดเลือด aorta โดย LCA จะทำหน้าที่ลำเลียงเลือดไปเลี้ยงหัวใจด้านซ้าย และมีการแตกแขนงออกเป็น circumflex artery และ anterior interventricular artery และในส่วนของ RCA แตกแขนงแบ่งเป็น right posterior descending artery และ large marginal branch ทำหน้าที่ลำเลียงเลือดไปยัง heart ventricles, right atrium, และ sinoatrial node (5) แสดงลักษณะทางกายวิภาคของหลอดเลือด left และ right coronary ได้ดังภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 แสดงลักษณะทางกายวิภาคของหลอดเลือด left และ right coronary

(Anthony J. et al., Anatomy of human heart)

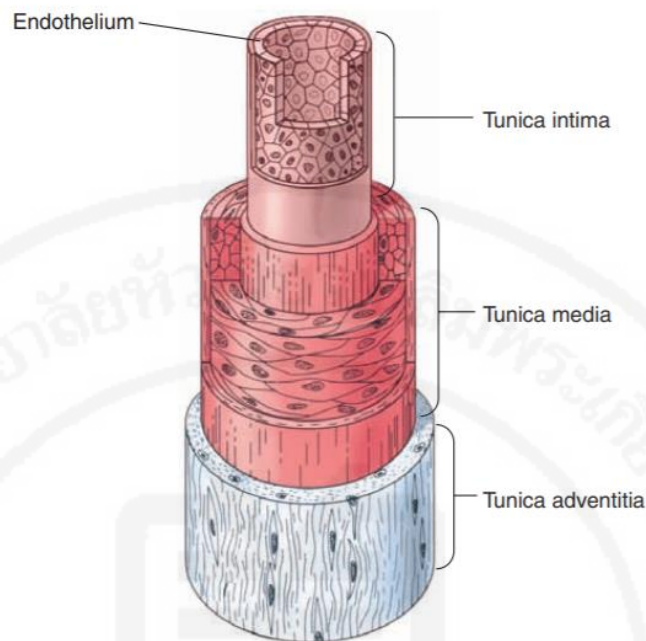
2.2 โครงสร้างทางจุลกายวิภาคของผนังหลอดเลือด coronary

Coronary artery เป็นหลอดเลือดแดงขนาดกลางทำหน้าที่ลำเลียงเลือดไปหล่อเลี้ยงกล้ามเนื้อหัวใจ ลักษณะทางจุลกายวิภาคของผนังหลอดเลือด coronary arteries จะมีลักษณะเหมือนกับผนังหลอดเลือดแดงอื่น ๆ ดังนี้

Tunica intima คือผนังหลอดเลือดชั้นใน เป็นชั้นที่บางที่สุด ประกอบด้วยชั้นของเซลล์บุผนังหลอดเลือด (endothelial cells; ECs) มีลักษณะรูปร่าง flat polygonal cells เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ ที่เรียงตัวคลุมผนังหลอดเลือดชั้นใน เรียงตัวอยู่ระหว่างเลือดและชั้นของ smooth muscle cells (SMCs) โดยผนังหลอดเลือดชั้นในและชั้นกลางจะถูกกั้นด้วย internal elastic lamina ซึ่ง ECs ทำหน้าที่รักษาสมดุลการทำงานของผนังหลอดเลือด โดยการสร้างสารต่าง ๆ เช่น สารสร้าง antithrombotic agent (prostacyclin, PGI_2), prothrombotic agent (von Willebrand's factor), fibrinolytic agent และ inflammatory mediator growth factor นอกจากนี้ยังพบว่า ECs มีการสร้าง receptor ของ low density lipoprotein และมักพบการเกิดพยาธิสภาพของโรคหลอดเลือดในชั้นนี้ (6)

Tunica media คือผนังหลอดเลือดชั้นกลางประกอบด้วยการเรียงตัวเป็นชั้นของ SMCs และ connective tissue ประกอบด้วย elastic fibers, collagen fibers ในผนังหลอดเลือดชั้นกลางจะพบชั้นของ SMCs เรียงตัวกันประมาณ 40 ชั้น มีความหนา 125-350 μm (7) ผนังหลอดเลือดชั้นกลางและชั้นนอกจะมี external elastic lamina เป็นขอบเขต

Tunica adventitia คือผนังหลอดเลือดชั้นนอกประกอบด้วย elastic fibers, collagen fibers, lymphatic vessels, หลอดเลือดฝอยขนาดเล็ก และหลอดประสาท โดยความหนาของผนังหลอดเลือดชั้นนอกอยู่ระหว่าง 300-500 μm มีการศึกษาอัตราส่วนของผนังหลอดเลือดในกลุ่มคนปกติที่ไม่ได้เป็นโรคหลอดเลือดตีบแข็ง (non-atherosclerotic aged human coronary arteries) ซึ่งมีอัตราส่วนของชั้นนอกสุด ชั้นกลางและชั้นในสุดคือ 0.4 ± 0.03 , 0.36 ± 0.03 และ 0.27 ± 0.02 ตามลำดับ (8) แสดงได้ภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 แสดงโครงสร้างพื้นฐานของผนังหลอดเลือดแดง ซึ่งประกอบด้วย 3 ชั้นเรียงลำดับจากชั้นในไปนอกได้แก่ tunica intima, tunica media และ tunica adventitia ตามลำดับ (Jones and Bartlett., Anatomy and physiology of the cardiovascular system)

2.3 ลักษณะพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือด

การหนาตัวของผนังหลอดเลือดเป็นจุดเริ่มต้นของการเกิดโรคในระบบไหลเวียนโลหิต เกิดจากความผิดปกติของ ECs (endothelial dysfunction) ที่ได้รับความเสียหายจากการกระบวนการอักเสบ (9) โรคหลอดเลือดหัวใจตีบเกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุ เช่น อายุที่มากขึ้นจะมีพยาธิสภาพมากขึ้น เนื่องจากเซลล์เสื่อมสภาพ และอายุมากก่อให้เกิด advanced glycation end-products หรือ AGEs ซึ่งเป็นสารประกอบที่เป็นพิษต่อเซลล์ ก่อให้เกิดกระบวนการอักเสบต่อผนังหลอดเลือดหัวใจ (10) ภาวะไขมันในเลือดสูงเกิดจากการสะสมของไขมันชนิด low density lipoprotein (LDL) ซึ่งได้รับทั้งจากการรับประทานอาหารจำพวกเนื้อสัตว์ติดมัน น้ำมันหมู เนย เป็นต้น นอกจากนี้ร่างกายยังได้รับ LDL ที่เพิ่มขึ้นจากการทำงานที่ผิดปกติของตับ โดยไขมันชนิดนี้หากสัมผัสกับอนุมูลอิสระออกซิเจนอิสระ (oxidative stress) ที่เกิดขึ้นในร่างกายจะเปลี่ยนเป็นสาร oxidized LDL (oxLDL) ซึ่งจะทำให้เกิดการอักเสบของ ECs (11) และในผู้ป่วยที่เป็นโรคความดันโลหิตสูงจะมีการไหลเวียนโลหิตที่ก่อให้เกิดแรงเฉือน (shear stress) ซึ่งทำให้ ECs เกิดความเสียหาย (endothelial injury) (12) ในผู้สูบบุหรี่จะมีทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของ LDL เป็น oxLDL เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากพบอนุมูลอิสระออกซิเจนอิสระในปริมาณมากในผู้สูบบุหรี่ (13, 14) และในคนที่มีการสะสมของเนื้อเยื่อไขมัน

ในร่างกายสูงหรือในคนที่เป็นโรคอ้วน พบว่าเซลล์ไขมัน (adipose cell) สามารถสร้างสารอักเสบได้ ซึ่งสารดังกล่าวเมื่ออยู่ในกระแสเลือดจะส่งผลให้ ECs เกิดการอักเสบ (15) จากปัจจัยที่กล่าวมาทั้งหมดได้ส่งผลให้ ECs เกิดความผิดปกติทั้งสิ้น ซึ่งเป็นจุดกำเนิดของการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด **หลอดเลือดแดงแข็ง (Atherosclerosis)**

โรคหลอดเลือดแดงแข็งเป็นการอักเสบแบบเรื้อรังของผนังหลอดเลือด (16) เกิดจากอนุภาคของไขมันชนิด LDL ออกจากกระแสเลือดและเข้าไปอยู่ในชั้น subendothelial space ของผนังหลอดเลือด อนุภาคของไขมันจะมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็น oxLDL ด้วยเอนไซม์ที่อยู่ภายในร่างกาย เช่น myeloperoxidase, lipoxygenase ทำให้อนุภาคของไขมันเป็นพิษต่อเซลล์มากขึ้นทำให้ผนังหลอดเลือดอักเสบ การอักเสบดังกล่าวเหนี่ยวนำให้ ECs และ SMCs มีการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการยึดเกาะของเม็ดเลือดขาว (cellular adhesion molecules; CAMs) บนผิวเซลล์ เพื่อกระตุ้นให้เม็ดเลือดขาว (leukocyte) มายังบริเวณดังกล่าว โดยเม็ดเลือดขาวส่วนใหญ่ที่ตอบสนองต่อการอักเสบคือ monocyte และ T-lymphocyte (17) โดย monocyte ที่อยู่ในกระแสเลือดจะจับกับ CAMs ที่แสดงออกบนผิวของ ECs และเข้ามาในผนังหลอดเลือดและมีการเปลี่ยนแปลงเป็น macrophage เพื่อกำจัดไขมันด้วยวิธี phagocytosis ทำให้มีการสะสมของไขมันในไซโตพลาสซึมของ macrophage เรียกว่า “macrophage foam cell” เมื่อรวมตัวกันเป็นจำนวนมากจะทำให้มองเห็นเป็นแถบสีเหลืองที่ผนังหลอดเลือดเรียกว่า “fatty streak”(18) นอกจากนี้ยังพบว่าการอักเสบยังส่งผลให้มีการเพิ่มจำนวนและการเคลื่อนที่ของ SMCs ไปยังผนังหลอดเลือดชั้นใน (tunica intima) ซึ่งในสภาวะปกติจะไม่พบ SMCs ในบริเวณดังกล่าว การอักเสบแบบเรื้อรังทำให้เกิดการตายของเซลล์ชนิดต่าง ๆ ในผนังหลอดเลือด เช่น ECs, VSMCs, macrophage ทำให้เกิดเป็นโรคเรียกว่า “atherosclerotic plaque” ส่งผลให้เกิดการตีบแคบของหลอดเลือด ทำให้เลือดไปเลี้ยงกล้ามเนื้อหัวใจได้น้อยลงซึ่งอาจทำให้เสียชีวิตได้ โดยลักษณะพยาธิสภาพของหลอดเลือดในโรค atherosclerosis จะมีการเปลี่ยนแปลงไปตามระยะของโรค ซึ่งแบ่งออกได้เป็น 3 ระยะได้แก่

1. early precursor lesions เป็นระยะเริ่มแรก พบการเกิด intimal thickening ของผนังหลอดเลือด จากการเกิด endothelial dysfunction พบการสะสมของ fat vacuoles จำนวนมาก ทำให้เกิดการหนาขึ้นของผนังหลอดเลือดชั้น intima

2. atheromatous plaques เป็นระยะที่มีพยาธิสภาพสะสมมากขึ้น ระยะนี้จะพบ atheroma ซึ่งประกอบด้วย necrotic core บริเวณกลางๆ และมี fibrous sap คลุมอยู่ด้านบน

3. complicated plaques ระยะนี้พบว่ามีการตายและหลุดลอกของ endothelial cells และพบการเกิด thrombosis, มีเลือดออกภายใน atheroma, มีแคลเซียมเกาะ และอาจพบการแตกของ plaque (19)

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ข้อมูลลักษณะพยาธิสภาพและการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคของผนังหลอดเลือด coronary

ปี 2002 Vink และคณะได้ทำการศึกษามันงหลอดเลือดในผู้ป่วยที่เสียชีวิตแล้วจำนวน 24 ราย อายุเฉลี่ย 81.9 ± 9.9 ปี โดยศึกษาส่วนประกอบต่าง ๆ เช่น การสะสมของเซลล์ macrophage และไขมันในผนังหลอดเลือด ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดการหนาตัวของผนังหลอดเลือดโดยใช้เทคนิคทาง histology และ immunohistochemistry และศึกษาความหนาของผนังหลอดเลือด โดยการย้อมพิเศษ elastin-van Gieson จากการศึกษาพบว่าการสะสมของไขมันและ macrophage ในผนังหลอดเลือด coronary, common carotid, brachial, radial และ internal iliac arteries โดยพบการหนาตัวของผนังหลอดเลือดมากที่สุดใน coronary artery (20)

ปี 2007 Dalager และคณะ ทำการศึกษาการเกิด atherosclerosis ของหลอดเลือด coronary, carotid และ superficial femoral ในผู้เสียชีวิตจำนวน 100 ราย มี 27 รายที่เสียชีวิตด้วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบแข็ง (coronary atherosclerosis) อายุอยู่ในช่วง 20-82 ปี โดยศึกษาด้วยวิธีการย้อม Hematoxylin and Eosin จากการศึกษาพบการเกิด plaque มากที่สุดในหลอดเลือด coronary ซึ่งพบ lipid core plaques มากกว่า fibrous plaques ส่วนในหลอดเลือด carotid ส่วนใหญ่พบการเกิด foam cell แต่ femoral arteries พบการเกิด atherosclerosis น้อยที่สุด (21)

ปี 2007 Kume และคณะ ได้ศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของหลอดเลือด coronary จากผู้เสียชีวิตจำนวน 40 ราย โดยเป็นเพศชาย 24 คน เพศหญิง 16 คน อายุเฉลี่ย 74 ปี ที่มีรายงานการตรวจพบหินปูนภายในผนังหลอดเลือดด้วยวิธี Intravascular ultrasound จากการศึกษาพบว่าผนังหลอดเลือดของผู้ที่มีหินปูนในภาวะรุนแรงจะพบการเกิด necrotic ของเนื้อเยื่อเป็นบริเวณกว้าง ซึ่งพบ cholesterol crystals เป็นจำนวนมาก และพบการเกิด fibrofatty tissue ร่วมด้วย (22)

ปี 2010 Deopujari และคณะ ทำการศึกษาพยาธิสภาพและความหนาของหลอดเลือด coronary จากผู้เสียชีวิตจำนวน 80 ราย อายุช่วง 10-60 ปี ศึกษาด้วยการย้อม Hematoxylin and Eosin และย้อม Verhoeff's stained เพื่อศึกษาลักษณะความผิดปกติของ internal elastic lamina ผลจากการศึกษาพบว่าความหนาตัวของผนังหลอดเลือดมักเกิดขึ้นที่ชั้น tunica intima และพบลักษณะที่ผิดปกติของ internal elastic lamina คือ พบการแตกหัก การซ้อนทับกัน และมีลักษณะเป็นฝอยในบางบริเวณ โดยความผิดปกติดังกล่าวพบได้มากในอายุ 40 ปีขึ้นไปและพบได้ในเพศชายมากกว่าเพศหญิง (23)

ปี 2012 Thej และคณะได้ศึกษาระดับความรุนแรงของการเกิด atherosclerosis ซึ่งอ้างอิงเกณฑ์ของ American heart association (AHA) โดยศึกษาในหลอดเลือด coronary ของผู้เสียชีวิตชาวอินเดียจำนวน 113 ราย อายุ 8-85 ปี จากการศึกษพบการเกิด vulnerable plaques ในหลอดเลือด right coronary มากที่สุด และพบพยาธิสภาพระดับ intermediate lesions (pathological intimal thickening) ได้ตั้งแต่ช่วงวัยรุ่น ซึ่งจะเป็สาเหตุของการเกิดพยาธิสภาพในระดับ advanced atherosclerotic lesions ได้เมื่ออายุมากขึ้น (24)

ปี 2013 BhanVadia และคณะ ได้ศึกษาการเกิด atherosclerosis ของหลอดเลือด left anterior descending artery , หลอดเลือด left circumflex artery และหลอดเลือด right coronary artery (RCA) ของผู้เสียชีวิตในประเทศอินเดียจำนวน 264 ราย ช่วงอายุ 8-79 ปี มีเพศชาย 168 ราย เพศหญิง 96 ราย โดยแบ่งระดับความรุนแรงของ atherosclerosis ตามแนวทางของสมาคมโรคหัวใจแห่งสหรัฐอเมริกา (American Heart Association: AHA) จากการย้อมศึกษาด้วย Hematoxylin and eosin และการย้อมพิเศษ Trichrome stain พบว่าช่วงอายุ 40-79 ปี มีการเกิด atherosclerosis ในระดับที่มากกว่าช่วงอายุอื่นๆ โดยพบในเพศชายมากกว่าเพศหญิง ซึ่งลักษณะพยาธิสภาพของหลอดเลือดที่พบคือ pathological intimal thickening, fibrous cap artheroma, plaque rupture (25)

ปี 2015 Abedinzadeh และคณะได้ศึกษาลักษณะพยาธิสภาพของหลอดเลือด coronary ในผู้เสียชีวิตด้วยภาวะหัวใจหยุดเต้นเฉียบพลัน (sudden cardiac death) และโรคกล้ามเนื้อหัวใจตายเฉียบพลัน (acute Myocardial Infarction) จำนวน 13 ราย โดยมีเพศชาย 9 ราย เพศหญิง 4 ราย ช่วงอายุระหว่าง 56-93 ปี จากการศึกษาลักษณะพยาธิสภาพด้วยวิธีการย้อม H&E พบการเกิด necrosis, calcification, cholesterol crystal และ giant cells และพบการสะสมของ adipose cells, foam cells ภายในผนังชั้น intima และ media จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าอายุที่มากขึ้นเป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิด coronary atherosclerosis (26)

ปี 2016 Porwal และคณะ ได้ทำการศึกษาลักษณะพยาธิสภาพหลอดเลือด coronary ในผู้เสียชีวิต ประเทศอินเดีย จำนวน 103 ราย โดยทำการแยกพยาธิสภาพของหลอดเลือดตามประเภทของ atherosclerotic plaques (American Heart Association) พบว่าประเภทที่พบมากที่สุดคือ type III- (preatheroma) โดยพบการสะสมของ extracellular lipids แต่ไม่พบ necrotic core ซึ่งพบการเกิดพยาธิสภาพในเพศชายได้มากกว่าเพศหญิง (27)

ปี 2016 Shembekar และคณะ ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอายุกับการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางจุลกายวิภาคของผนังหลอดเลือดชั้น tunica intima ในหลอดเลือด coronary ของผู้เสียชีวิตจำนวน 96 ราย จากการศึกษพบว่าผนังหลอดเลือดชั้น tunica intima ค่อยๆหนาตัวขึ้นตั้งแต่อายุ 40 ปีขึ้นไปทั้งในเพศชายและเพศหญิง และจากการย้อม aldehyde fuchsin พบว่า internal elastic lamina เกิด fragmentation และ stretching ในกลุ่มตัวอย่างที่มีอายุมาก (28)

ปี 2018 Pranjali และคณะ ได้ศึกษาการเกิด coronary sclerosis ในผู้ป่วยที่เสียชีวิตจำนวน 112 ราย ที่มีอายุอยู่ในช่วง 10-80 ปี โดยศึกษาระดับความผิดปกติของผนังหลอดเลือดเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มอายุและเพศ ผลจากการศึกษาพบว่า coronary sclerosis เกิดจากการหนาตัวที่เพิ่มขึ้นของผนังชั้น tunica intima ซึ่งเกิดในเพศชายมากกว่าเพศหญิงในทุกกลุ่มอายุของตัวอย่างที่ทำการศึกษา และพบว่าเมื่ออายุมากขึ้นจะพบระดับความเสียหายของผนังหลอดเลือดที่มากขึ้นด้วย (29)

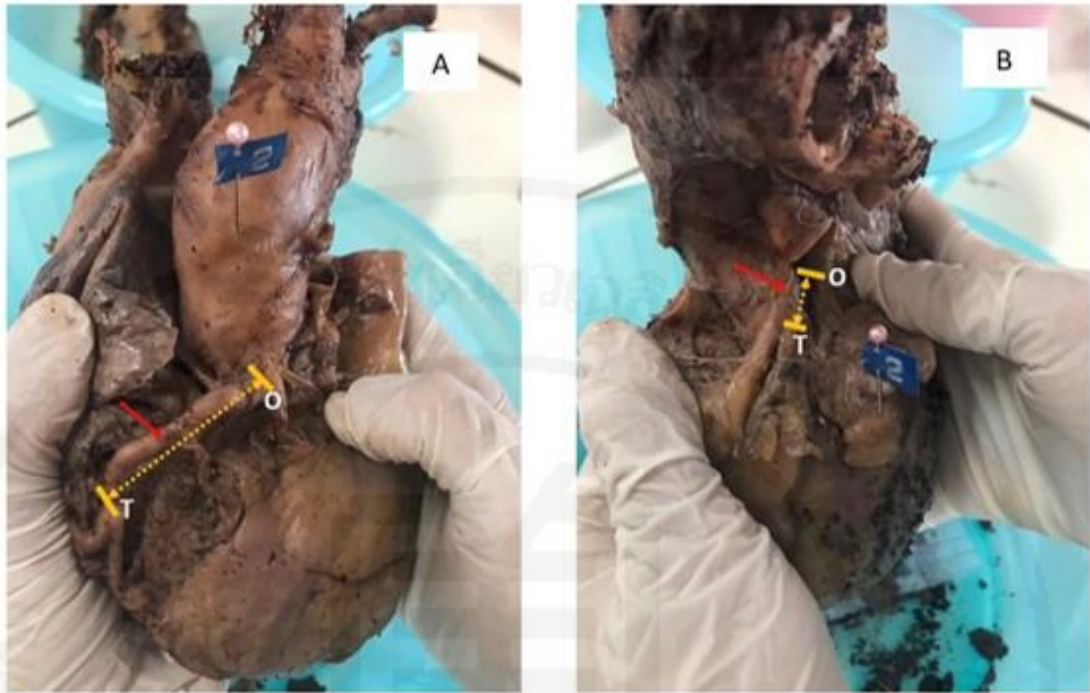
ปี 2018 Bhandari และคณะได้ศึกษาลักษณะทางพยาธิสภาพของหลอดเลือด coronary ในผู้เสียชีวิตจำนวน 100 ราย โดยแยกระดับความรุนแรงของ atherosclerosis ด้วยเกณฑ์ของ American heart association (AHA) ผลจากการศึกษาพบว่าเพศชายมีพยาธิสภาพที่หลอดเลือดที่รุนแรงมากกว่าเพศหญิง และส่วนใหญ่พยาธิสภาพของหลอดเลือดที่พบเป็นประเภท pathological intimal thickening (PIT) และพบมากในหลอดเลือด left anterior descending (30)

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 กลุ่มตัวอย่างและการเก็บตัวอย่าง

ร่างอาจารย์ใหญ่ที่รับเข้ามาใช้เพื่อการเรียนการสอนในกลุ่มวิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ จำนวน 20 ร่าง อายุระหว่าง 52 – 101 ปี เพศชาย 12 ร่าง เพศหญิง 8 ร่าง โดยทำการเก็บตัวอย่างหลอดเลือด left coronary และ right coronary ทำการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ความยาวของหลอดเลือดและบันทึกภาพ ตำแหน่งที่ใช้ในการวัดความยาวของหลอดเลือดมีขอบเขตการวัดดังนี้ หลอดเลือด right coronary เริ่มวัดจากจุดตั้งต้นคือบริเวณที่หลอดเลือด coronary แยกออกมาจากหลอดเลือดแดงขนาดใหญ่ aorta ไปจนถึงจุดสิ้นสุดคือบริเวณก่อนที่จะแตกแขนงไปเป็น posterior interventricular artery และ marginal artery (ภาพที่ 3.1 A) ส่วนหลอดเลือด left coronary เริ่มวัดจากจุดตั้งต้นคือบริเวณที่แยกออกมาจาก หลอดเลือดแดงขนาดใหญ่ aorta ไปจนถึงจุดสิ้นสุดคือบริเวณก่อนที่ จะแตกแขนงไปเป็น anterior interventricular artery และ circumflex artery (ภาพที่ 3.1 B) หลังจากนั้นนำหลอดเลือดมาเก็บใน 10% neutral buffer formalin ในภาชนะที่มีฝาปิดมิดชิด เก็บรักษาไว้ที่ อุณหภูมิห้องเพื่อทำการศึกษาทดลองต่อไป โดยแบ่งหลอดเลือด right coronary ออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนต้น (proximal), ส่วนกลาง (middle) และส่วนปลาย (distal)



ภาพที่ 3.1 แสดงตำแหน่งของหลอดเลือด coronary (ลูกศรสีแดง) และความยาวของหลอดเลือด (เส้นประสีส้ม) ตั้งแต่จุดตั้งต้น (O) ถึงจุดสิ้นสุด (T) ข้างขวา (A), และข้างซ้าย (B)

3.2 เครื่องมือ วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

3.2.1 เครื่องมือ

1. เครื่องกวนสารชนิดให้ความร้อน (Hot plate)
2. เครื่องชั่ง (balance)
3. เครื่องเตรียมบล็อกชิ้นเนื้อ (Embedding center)
4. เครื่องตัดบล็อกชิ้นเนื้อ (Rotary microtome)
5. เครื่องอบลมร้อน (Hot air oven)
6. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
7. ตู้ดูดไอสารเคมี (Laboratory Chemical Fume Hood)
8. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope; LM)
9. เวอร์เนียคาลิปเปอร์ (Vernier caliper)

3.2.2 วัสดุอุปกรณ์

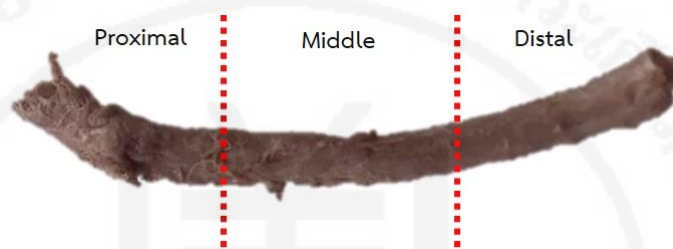
1. ใบมีดผ่าตัด (Surgical blades)
2. คีมจับเนื้อเยื่อ (Tissue forceps)
3. ตลับใส่ชิ้นเนื้อ (Embedding cassettes)
4. แม่พิมพ์ (Embedding mold)
5. กระดาษกรอง (Filter paper)
6. ปีกเกอร์ (Beaker)
7. กระบอกตวง (cylinder)
8. แท่งแก้วคนสาร (Stirring rods)
9. โถแก้วย้อมสไลด์ (Staining jar)
10. แร็คย้อมสไลด์ (Staining rack)
11. สไลด์แก้ว ชนิดผ้า (Slide)
12. กระจกปิดสไลด์ (Cover glass)
13. พู่กัน (Brush)
14. ถุงมือยาง (Rubber gloves)
15. หน้ากากอนามัย (Face mask)

3.2.3 สารเคมี

1. Sodium phosphate, monobasic
2. Sodium phosphate, dibasic anhydrous
3. Ethyl alcohol
4. Hematoxylin solution
5. Eosin solution
6. Ferric chloride
7. Potassium iodine
8. Iodine
9. 1% aqueous acid fuchsin
10. Sodium thiosulfate
11. Distilled water
12. 37-40% formalin

3.3 การเตรียมตัวอย่างชิ้นเนื้อ

นำหลอดเลือด left coronary และ right coronary ออกจากหัวใจ มาตัดในแนว cross section ให้มีความหนาที่อนละประมาณ 0.5 เซนติเมตร และในส่วนของหลอดเลือด right coronary จะถูกแบ่งออกเป็น 3 ส่วนเท่าๆกัน (ภาพที่ 4) ได้แก่ ส่วนต้น (proximal), ส่วนกลาง (middle) และ ส่วนปลาย (distal) จากนั้นนำหลอดเลือดไปแช่ 10% neutral buffer formalin เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปผ่านกระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อ (tissue processing)



ภาพที่ 3.3 แสดงการแบ่งส่วนหลอดเลือด right coronary ที่ถูกแบ่งเป็น 3 ส่วนขนาดเท่าๆกัน ได้แก่ ส่วนต้น (proximal), ส่วนกลาง (middle) และส่วนปลาย (distal)

กระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อ (tissue processing) มีขั้นตอนดังนี้

1. Dehydration คือการดึงน้ำออกจากตัวอย่างชิ้นเนื้อ ทำให้ชิ้นเนื้อปราศจากน้ำโดยการแทนที่ด้วย ethyl alcohol ซึ่งทำหน้าที่เป็น dehydrant ที่ความเข้มข้นต่ำไปสูง ตั้งแต่ความเข้มข้น 70% -100% ethyl alcohol แช่ 30 นาทีในแต่ละความเข้มข้น
2. Clearing คือการทำให้ชิ้นเนื้อใสโดยใช้ xylene เป็น clearing agent โดย xylene จะเข้าไปแทนที่ ethanol ที่อยู่ในชิ้นเนื้อ ซึ่งจะนำชิ้นเนื้อแช่ใน xylene 2 ครั้งๆ ละ 30 นาที
3. Infiltration คือการนำพาราฟินเหลวเข้าสู่ชิ้นเนื้อ เพื่อให้เซลล์คงรูปและมีความแข็งสม่ำเสมอ โดยชิ้นเนื้อจะถูกแช่ในพาราฟินเหลว 2 ครั้งๆละ 30 นาที ที่อุณหภูมิ 56-60 องศาเซลเซียส (°C)

ขั้นตอนการเตรียมชิ้นเนื้อสรุปได้ดังนี้

Dehydration	
1. 70% Ethyl alcohol	30 นาที
2. 80% Ethyl alcohol	30 นาที
3. 90% Ethyl alcohol	30 นาที
4. 95% Ethyl alcohol	30 นาที
5. Absolute alcohol	30 นาที
6. Absolute alcohol	30 นาที
Clearing	
7. Xylene I	30 นาที
8. Xylene II	30 นาที
Infiltration	
9. Paraplast I	30 นาที
10. Paraplast II	30 นาที

4. Embedding คือการฝังชิ้นเนื้อ เป็นการขึ้นรูปชิ้นเนื้อให้เป็นบล็อก (block) โดยใช้แม่พิมพ์ โดยชิ้นส่วนของหลอดเลือดจะนำมาวางในแนวภาคตัดขวาง (cross section)

5. Sectioning คือการนำบล็อกชิ้นเนื้อไปตัดด้วยเครื่องไมโครทอม (microtome) ให้มีความหนา 5-6 ไมครอน หลังจากตัดได้ ribbon แล้วจึงนำมาลอยในอ่างลอยชิ้นเนื้อที่มีน้ำอุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส (°C) เพื่อให้ ribbon คลายตัว แล้วนำ ribbon ที่ตัดได้มาวางบนสไลด์แก้ว ตั้งทิ้งไว้ให้แห้งแล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 56-60 องศาเซลเซียส (°C) ก่อนนำไปย้อมศึกษา

6. Staining คือการนำสไลด์ที่ได้ไปย้อมด้วยสี Hematoxylin and Eosin, Verhoeff-Van Gieson เพื่อศึกษาลักษณะพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือด และย้อมด้วยสี Verhoeff's Elastic Stain เพื่อศึกษาลักษณะของ internal และ external elastic lamina รวมทั้งศึกษาความหนาของผนังหลอดเลือดโดยวัดความหนาด้วยโปรแกรม image J freeware

3.4 การศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาค (histology) ของผนังหลอดเลือด

- นำหลอดเลือดที่ผ่านกระบวนการเตรียมผ่านน้ำยาเคมี และการตัดเป็นสไลด์มาทำการย้อมสี Hematoxylin and eosin และย้อมสี Verhoeff-Van Gieson เพื่อทำการศึกษาลักษณะต่อไปนี
 - ลักษณะทางจุลกายวิภาคของผนังหลอดเลือดทั้ง 3 ชั้น ประกอบด้วย tunica intima, tunica media และ tunica adventitia
 - ลักษณะพยาธิสภาพที่พบในแต่ละชั้นของผนังหลอดเลือด
 - ลักษณะพยาธิสภาพและการเปลี่ยนแปลงของ internal และ external elastic lamina
 - ลักษณะการเรียงตัวของ smooth muscle cells ในผนังชั้น tunica media, collagen และ elastic fibers

ขั้นตอนการย้อมสี Hematoxylin and eosin มีดังนี้

1. Deparaffinization คือนำสไลด์เนื้อเยื่อแช่ลงใน xylene I และ xylene II อย่างละ 5 นาทีเพื่อล้าง paraffin ออกจากสไลด์
2. Hydration คือการนำน้ำเข้าสู่สไลด์ โดยการแช่ลงใน absolute alcohol และ 95% ethyl alcohol อย่างละ 5 นาที ตามลำดับ
3. ล้างด้วยน้ำประปา 5 นาที
4. ย้อมด้วยสี Hematoxylin เป็นเวลา 15 นาที
5. ล้างด้วยน้ำประปา 5 นาที
6. Differentiate หรือล้างสี Hematoxylin ส่วนเกินโดยการจุ่มลงใน 1% acid alcohol จำนวน 3 ครั้ง
7. ล้างด้วยน้ำประปา 5 นาที
8. นำสไลด์เนื้อเยื่อแช่ลงใน ammonia water เพื่อให้การติดสีดีขึ้น เป็นเวลา 5 นาที
9. ล้างด้วยน้ำประปา 5 นาที
10. Counterstaining หรือการย้อมสีครั้งที่ 2 ด้วยสี Eosin เป็นเวลา 30 วินาที
11. Dehydration หรือดึงน้ำออกจากสไลด์เนื้อเยื่อโดยการแช่ลงใน 95% ethyl alcohol I, 95% ethyl alcohol II จุ่มอย่างละ 3 ครั้ง และตามด้วยแช่ใน absolute alcohol 2 นาที
12. Clearing หรือทำความสะอาดสไลด์เนื้อเยื่อโดยการแช่ลงใน xylene I, xylene II และ xylene III อย่างละ 3 นาที
13. ทำการ permount ด้วย mounting media และปิดทับด้วย cover glass

ขั้นตอนการย้อมสี Verhoeff-Van Gieson มีดังนี้

1. Deparaffinize สไลด์เนื้อเยื่อด้วย xylene I, xylene II อย่างละ 5 นาที
 2. Hydration ด้วย absolute alcohol และ 95% ethyl alcohol อย่างละ 5 นาที
- ตามลำดับ
3. ล้างด้วยน้ำประปา 5 นาที
 4. ย้อมด้วยสี Verhoeff's solution เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
 5. ล้างด้วยน้ำประปา 5 นาที
 6. Differentiate ด้วย 1% ferric chloride เป็นเวลา 20 วินาที
 7. ล้างด้วยน้ำประปา 5 นาที
 8. หยด 5% sodium thiosulfate ให้ทั่ว section เป็นเวลา 1 นาที
 9. Counterstain ด้วย Van Gieson's solution 5 นาที
 10. Dehydrate ด้วย 95% alcohol 3 วินาที, absolute alcohol I , absolute alcohol II อย่างละ 2 นาทีตามลำดับ
 11. Clearing ด้วย xylene I และ xylene II อย่างละ 3 นาที
 12. Permout ด้วย mounting media และปิดทับด้วย cover glass

3.5 การศึกษาความหนาของผนังหลอดเลือด (arterial wall thickness)

นำสไลด์เนื้อเยื่อหลอดเลือดบางส่วนมาทำการย้อมพิเศษด้วย Verhoeff's Elastic stain เพื่อศึกษาความหนาของผนังหลอดเลือด coronary ในชั้น tunica intima และ tunica media โดยมีขั้นตอนการย้อมดังนี้

1. Deparaffinize สไลด์เนื้อเยื่อด้วย xylene I, xylene II อย่างละ 5 นาที
 2. Hydration ด้วย absolute alcohol และ 95% ethyl alcohol อย่างละ 5 นาที
- ตามลำดับ
3. ล้างด้วยน้ำประปา 5 นาที
 4. ย้อมด้วยสี Verhoeff's solution เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
 5. ล้างด้วยน้ำประปา 5 นาที
 6. Differentiate ด้วย 1% ferric chloride เป็นเวลา 20 วินาที
 7. ล้างด้วยน้ำประปา 5 นาที

8. Dehydrate ด้วย 95% alcohol 3 วินาที, absolute alcohol I , absolute alcohol II อย่างละ 2 นาทีตามลำดับ

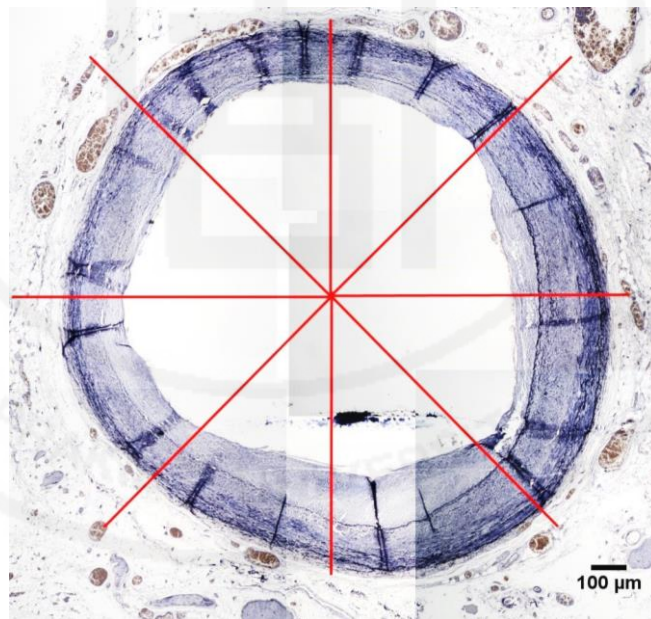
9. Clearing ด้วย xylene I และ xylene II อย่างละ 3 นาที

10. Permount ด้วย mounting media และปิดทับด้วย cover glass

หลอดเลือดที่ผ่านการย้อมด้วย Verhoeff's Elastic stain ทำการศึกษาลักษณะโครงสร้างต่อไปนี

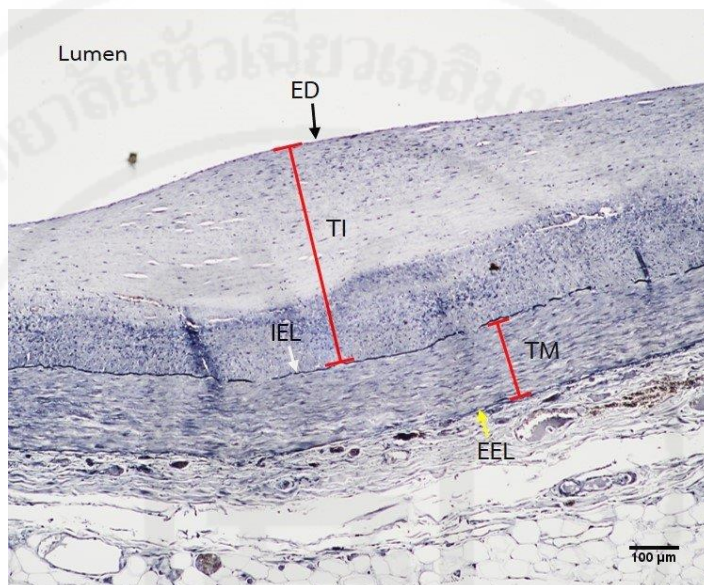
- ศึกษาการเรียงตัวของ elastic lamina

- วัดความหนาของผนังหลอดเลือด 2 ชั้นได้แก่ tunica intima และ tunica media โดยการวัดผนังหลอดเลือดจะมีจุดอ้างอิงการวัดทั้งหมด 8 จุด โดยแบ่งช่วงให้สมมาตรกันเพื่อหาคครอบคลุมผนังหลอดเลือดทั้งวง และทำการวัด 3 ซ้ำต่อ 1 จุด แสดงจุดอ้างอิงตำแหน่งการวัดได้ดังรูปด้านล่าง (ภาพที่ 3.5-1)



ภาพที่ 3.5-1 แสดงจุดอ้างอิงตำแหน่งการวัดผนังหลอดเลือด coronary

วิธีการวัดผนังหลอดเลือดในชั้น tunica intima (TI) จะเริ่มวัดจากชั้น endothelium (ED) ไปถึง internal elastic lamina (IEL) ส่วนชั้น tunica media (TM) จะเริ่มวัดจาก internal elastic lamina (IEL) ไปยัง external elastic lamina (EEL) แสดงจุดการวัดได้ดังภาพที่ 3.5-2



ภาพที่ 3.5-2 แสดงตำแหน่งการวัดความหนาของผนังหลอดเลือด coronary โดยผนังชั้น tunica intima (TI) วัดจาก ED ถึง IEL และ ผนังชั้น tunica media (TM) วัดจาก IEL ถึง EEL (ED : endothelium, IEL : internal elastic lamina, EEL : external elastic lamina, TI : tunica intima, TM : tunica media)

3.6 รวบรวมข้อมูล วิเคราะห์ผลการศึกษา

บันทึกผลลักษณะทางจุลกายวิภาคและพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือดจากการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscope) และบันทึกผลความหนาของผนังหลอดเลือดจากการวัดด้วยโปรแกรม Image J freeware นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลเชิงพรรณนา โดยใช้ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างหลอดเลือด coronary ทั้ง 2 ข้าง ด้วยสถิติ Mann-Whitney U test ที่ค่า p -value < 0.05

บทที่ 4

ผลการวิจัย

การศึกษานี้ได้ศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคเพื่อดูลักษณะของผนังหลอดเลือดแดง coronary ทั้งข้างซ้ายและข้างขวาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จากการย้อมด้วยสี Hematoxylin and eosin และการย้อมด้วย Verhoeff-Van Gieson stain และศึกษาความหนาของผนังหลอดเลือดจากการย้อมด้วย Verhoeff's Elastic stain และวัดความหนาผนังหลอดเลือดด้วยโปรแกรม Image J freeware จากหลอดเลือด coronary จากร่างอาจารย์ใหญ่ทั้งหมด 20 ร่างที่มีอายุ 50 ปีขึ้นไป โดยมีข้อมูลด้านอายุ เพศ และสาเหตุการเสียชีวิตแสดงดังตารางต่อไปนี้

4.1 ข้อมูลกลุ่มตัวอย่าง

อาจารย์ใหญ่มีทั้งหมด 20 ร่างประกอบด้วยเพศชาย 12 ร่างและเพศหญิง 8 ร่าง อายุเฉลี่ย 71.60 ± 12.06 ปี และมีสาเหตุการเสียชีวิตต่างๆ แสดงข้อมูลตามตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 4.1 แสดงข้อมูลอาจารย์ใหญ่อายุ เพศ และสาเหตุการเสียชีวิต

	เพศชาย N=12	เพศหญิง N=8	รวม N=20
อายุ (ปี)	69.00±9.51	74.63±15.19	71.25±12.06
สาเหตุการเสียชีวิต (n)			
โรคระบบหัวใจและหลอดเลือด	1	4	5
ชราภาพ	3	2	5
มะเร็ง	5	-	5
ปอดอักเสบ/ปอดติดเชื้อ	1	1	2
ติดเชื้อในกระแสเลือด	1	1	2
ไม่ทราบสาเหตุ	1	-	1

4.2 ผลการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายนอกและความยาวของหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา

จากการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายนอกของหลอดเลือด coronary ทั้ง 2 ข้างด้วย vernier caliper พบว่า left coronary มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6.65 ± 1.16 mm ซึ่งมากกว่า right coronary ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6.07 ± 0.93 mm และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างเพศ พบว่าขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ left coronary ในเพศชายมากกว่าเพศหญิง แต่ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง right coronary ในเพศหญิงมากกว่าเพศชาย ในส่วนผลของการวัดความยาวของหลอดเลือด coronary ช่วงระหว่างจุดเริ่มต้นคือบริเวณที่แตกออกจาก aorta ไปจนถึงจุดสิ้นสุดที่จะแตกแขนงต่อไปพบว่า right coronary มีความยาว (4.18 ± 1.20 cm) มากกว่า left coronary (1.22 ± 0.32 cm) และพบว่าเพศหญิงมีความยาวของหลอดเลือด coronary มากกว่าเพศชายทั้งข้างซ้ายและข้างขวา แสดงผลได้ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางและความยาวของหลอดเลือด coronary ทั้งข้างซ้ายและขวา จากร่างอาจารย์ใหญ่

Artery	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง (mm)			ความยาวของหลอดเลือด (cm)		
	เพศชาย (n=12)	เพศหญิง (n=8)	N=20	เพศชาย (n=12)	เพศหญิง (n=8)	N=20
Left coronary	6.68±1.04	6.60±1.40	6.65 ± 1.16	1.13±0.35	1.35±0.20	1.22 ± 0.32
Right coronary	5.81±0.84	6.47±0.97	6.07 ± 0.93	4.08±1.35	4.33±0.99	4.18 ± 1.20

4.3 ผลการวัดความหนาของผนังหลอดเลือด left coronary

จากการวัดความหนาของผนังหลอดเลือด left coronary โดยวัดผนังชั้น tunica intima (TI), tunica media (TM) ภายใต้อุปกรณ์จุลทรรศน์ ด้วยโปรแกรม image j พบว่าค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือดของชั้น tunica intima (1455.957 ± 947.359 μ m) และชั้น tunica media ของเพศชาย (974.056 ± 292.189 μ m) มีค่ามากกว่าความหนาของผนังหลอดเลือดของเพศหญิงที่มีค่าเฉลี่ยความหนาในชั้น tunica intima และ tunica media อยู่ที่ 1043.307 ± 954.696 μ m และ 833.758 ± 329.880 μ m ตามลำดับ และพบว่าผนังหลอดเลือดชั้น tunica intima (1290.897 ± 947.846 μ m) จากกลุ่มตัวอย่างทั้งหมดมีความหนามากกว่าผนังหลอดเลือดชั้น tunica media (917.936 ± 307.395 μ m) แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติแสดงผลได้ดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด left coronary จากร่างอาจารย์ใหญ่

ค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด left coronary (μm)		
	Tunica intima (TI)	Tunica media (TM)
เพศชาย (n=12)	1455.957 \pm 947.359	974.056 \pm 292.189
เพศหญิง (n=8)	1043.307 \pm 954.696	833.758 \pm 329.880
รวม (n=20)	1290.897 \pm 947.846	917.936 \pm 307.395

4.4 ผลการวัดความหนาของผนังหลอดเลือด right coronary

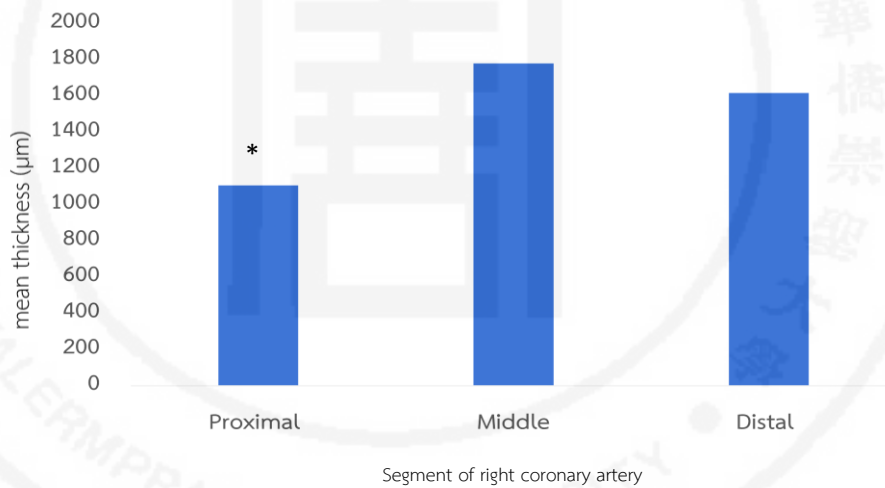
จากการวัดความหนาของผนังหลอดเลือด right coronary ทั้ง 3 ส่วนประกอบด้วยส่วนต้น (proximal), ส่วนกลาง (middle) และส่วนปลาย (distal) โดยวัดผนังชั้น tunica intima และ tunica media ด้วยโปรแกรม image j พบว่าค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือดชั้น tunica intima จากทั้ง 3 ส่วนคือ proximal, middle และ distal ในเพศชาย ($1525.622 \pm 660.091 \mu\text{m}$) มีค่ามากกว่าเพศหญิง ($1461.266 \pm 471.378 \mu\text{m}$) ส่วนค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือดชั้น tunica media จากทั้ง 3 ส่วนคือ proximal, middle และ distal ในเพศหญิง ($705.927 \pm 246.723 \mu\text{m}$) มีค่ามากกว่าเพศชาย และพบว่าผนังหลอดเลือดชั้น tunica intima ($1501.912 \pm 584.257 \mu\text{m}$) จากกลุ่มตัวอย่างทั้งหมดมีความหนามากกว่าผนังหลอดเลือดชั้น tunica media ($597.032 \pm 190.414 \mu\text{m}$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} = 0.000$) และจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือดในแต่ละส่วนพบว่าชั้น tunica intima ในส่วน middle มีความหนามากที่สุด ($1780.472 \pm 763.130 \mu\text{m}$) ซึ่งมากกว่าส่วน proximal ($1107.210 \pm 454.070 \mu\text{m}$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} = 0.08$) แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับส่วน distal ส่วนผนังชั้น tunica media พบว่าในส่วน proximal มีความหนามากที่สุด ($724.654 \pm 284.509 \mu\text{m}$) ซึ่งมากกว่าส่วน distal อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} = 0.026$) แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับส่วน middle แสดงผลได้ดังตารางที่ 4.4 และกราฟที่ 4.4-1, 4.4-2

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด right coronary จากร่างอาจารย์ใหญ่

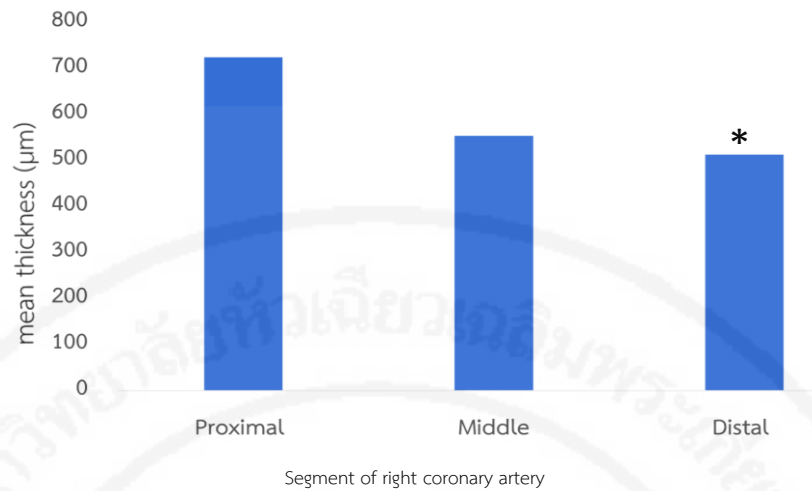
ค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด right coronary ชั้น tunica intima (μm)				
	Proximal	Middle	Distal	Total
เพศชาย (n=12)	1151.197 \pm 477.145	1795.800 \pm 780.291	1629.869 \pm 908.941	1525.622 \pm 660.091
เพศหญิง (n=7)	1031.804 \pm 436.628	1754.193 \pm 793.471	1597.800 \pm 646.626	1461.266 \pm 471.378
รวม (n=19)	1107.210 \pm 454.070	1780.472 \pm 763.130	1618.054 \pm 802.815	1501.912 \pm 584.257

ค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด right coronary ชั้น tunica media (μm)				
	Proximal	Middle	Distal	Total
เพศชาย (n=12)	623.959 \pm 222.353	512.765 \pm 125.028	463.806 \pm 72.557	533.510 \pm 119.078
เพศหญิง (n=7)	897.275 \pm 311.691	623.149 \pm 293.328	597.356 \pm 249.795	705.927 \pm 246.723
รวม (n=19)	724.654 \pm 284.509	553.433 \pm 203.042	513.008 \pm 168.514	597.032 \pm 190.414

**จำนวน n = 19 เนื่องจากร่างที่ 17 มีผนังหลอดเลือดที่ไม่สมบูรณ์จึงไม่สามารถวัดความหนาได้



กราฟที่ 4.4-1 แสดงค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด right coronary แต่ละส่วนในชั้น tunica intima ด้วยสถิติ One way anova (* $p=0.08$)



กราฟที่ 4.4.2 แสดงค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด right coronary แต่ละส่วนในชั้น tunica media ด้วยสถิติ One way anova (* $p=0.026$)

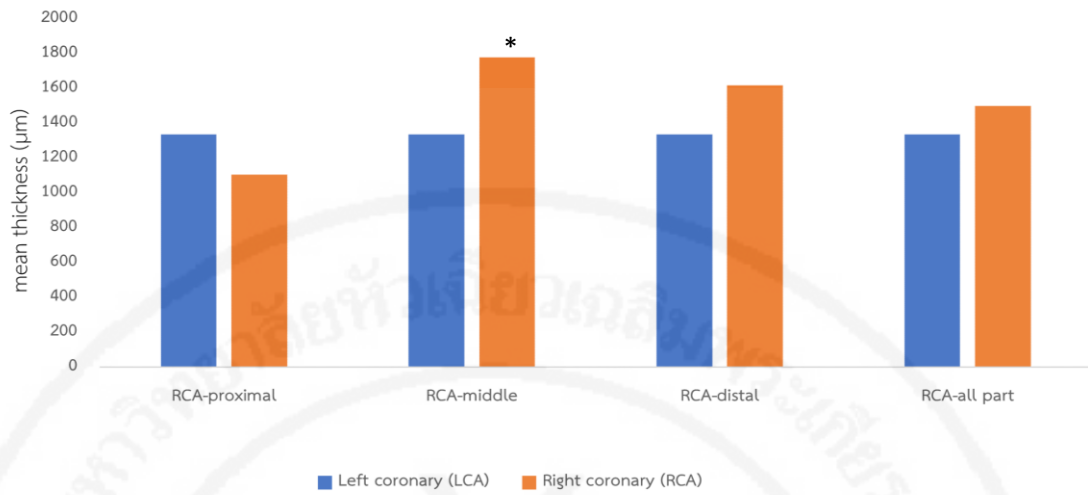
4.5 ผลการเปรียบเทียบความหนาของผนังหลอดเลือด coronary ระหว่างข้างซ้ายและข้างขวา

ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด coronary ระหว่างข้างซ้ายและข้างขวาด้วยสถิติ Mann-Whitney U test ที่ค่า p -value < 0.05 พบว่าค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือดชั้น tunica intima ของ left coronary ($1338.397 \pm 1056.073 \mu\text{m}$) มีค่ามากกว่าค่าเฉลี่ยความหนาของ right coronary ในส่วน proximal ($1107.210 \pm 454.070 \mu\text{m}$) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.687$) แต่มีความหนาน้อยกว่าส่วนของ middle (1780.472 ± 763.130), distal (1618.054 ± 802.815) และผลรวมของทั้ง 3 ส่วน (proximal, middle และ distal = 1501.912 ± 584.257) ซึ่งมีค่าน้อยกว่าส่วนของ middle อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.035$) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับส่วน distal และผลรวมของทั้ง 3 ส่วน ($p=0.141, 0.107$ ตามลำดับ) ส่วนค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือดชั้น tunica media ของ left coronary ($917.936 \pm 307.395 \mu\text{m}$) มีค่ามากกว่าค่าเฉลี่ยความหนาของ right coronary ทั้ง 3 ส่วนคือส่วน proximal ($724.654 \pm 284.509 \mu\text{m}$), middle ($553.433 \pm 203.042 \mu\text{m}$) และ distal ($513.008 \pm 168.514 \mu\text{m}$) รวมทั้งมีค่ามากกว่าผลรวมของทั้ง 3 ส่วนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ค่า p -value < 0.05 แสดงผลได้ดังตารางที่ 4.5 และกราฟที่ 4.5-1, 4.5-2

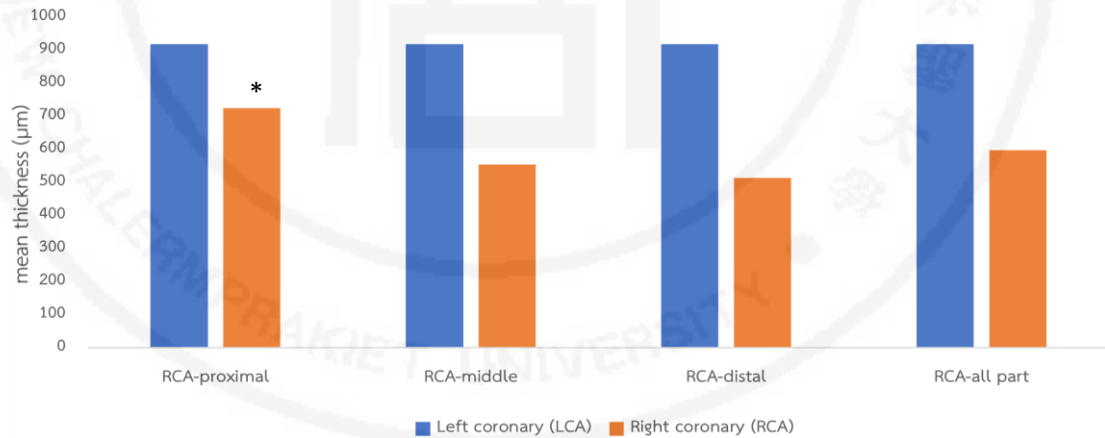
ตารางที่ 4.5 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา

	Left coronary (μm)	Right coronary (μm)	P-value (< 0.05)
Tunica intima			
Proximal	1338.397 \pm 1056.073	1107.210 \pm 454.070	0.687
Middle	-	1780.472 \pm 763.130	0.035*
Distal	-	1618.054 \pm 802.815	0.141
Total	-	1501.912 \pm 584.257	0.107
	Left coronary (μm)	Right coronary (μm)	P-value
Tunica media			
Proximal	917.936 \pm 307.395	724.654 \pm 284.509	0.044*
Middle	-	553.433 \pm 203.042	0.000*
Distal	-	513.008 \pm 168.514	0.000*
Total	-	597.032 \pm 190.414	0.000*

* significant p -value < 0.05



กราฟที่ 4.5-1 แสดงค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด coronary ในชั้น tunica intima ข้างซ้ายและข้างขวาในแต่ละส่วน ด้วยสถิติ Mann-Whitney U test



กราฟที่ 4.5-2 แสดงค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด coronary ในชั้น tunica media ข้างซ้ายและข้างขวาในแต่ละส่วน ด้วยสถิติ Mann-Whitney U test

4.6 ลักษณะทางจุลพยาธิของผนังหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา

จากการย้อมสไลด์เนื้อเยื่อหลอดเลือดด้วยสี Hematoxylin and eosin และ Verhoeff-Van Gieson stain เพื่อศึกษาลักษณะทางพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จากร่างอาจารย์ใหญ่ทั้ง 20 ร่าง โดยศึกษาผนังหลอดเลือดทั้ง 3 ชั้นได้แก่ tunica intima, tunica media และ tunica adventitia ซึ่งผลจากการศึกษาลักษณะทางพยาธิสภาพของหลอดเลือด left coronary และ right coronary แต่ละชั้นมีรายละเอียดดังนี้

ชั้น tunica intima ประกอบด้วย endothelial cells มีลักษณะรูปร่างแบนวางตัวอยู่ด้านบนสุดชิดกับ lumen ส่วนใหญ่มีการเรียงตัวที่ไม่ต่อเนื่องตลอดรอบวง บางช่วงพบการแทรกของตะกอน calcium ทำให้มีการแยกตัวกันของชั้น endothelium (ภาพที่ 4.6-6) ถัดลงไปใต้ endothelium จะพบชั้น subendothelial ที่มีการหนาตัว ซึ่งส่วนใหญ่มีการหนาตัวตลอดรอบวงของหลอดเลือด ชั้นนี้พบการสะสมของ smooth muscle cells และมีเส้นใย collagen และ elastic แทรกปะปนกัน บางบริเวณพบกลุ่มของเซลล์อักเสบจำนวนมาก ซึ่งเซลล์จะมีขนาดเล็ก นิวเคลียสติดสีม่วงเข้ม (ภาพที่ 4.6-8) นอกจากนี้ในชั้น subendothelial จะพบบริเวณที่เกิด plaque ซึ่งบริเวณนี้จะพบกลุ่มของ macrophage ที่จับกินไขมัน ลักษณะของเซลล์จะมีช่องว่างสีขาวที่เรียกว่า fat vacuoles จำนวนมากอยู่ภายใน cytoplasm ทำให้เบียดนิวเคลียสไปด้านข้างของเซลล์ เซลล์ที่มีลักษณะดังกล่าวนี้เรียกว่า foam cell (ภาพที่ 4.6-1) นอกจากนี้ยังพบ fibrous cap คลุมอยู่ด้านบนของ lipid core ลักษณะที่พบของ fibrous cap คือจะเห็นเป็นชั้นเนื้อเยื่อที่มีการสะสมของ collagen, elastic, smooth muscle cells, lymphocytes รวมทั้งมีไขมันสะสมอยู่ด้วย มีรูปร่างลักษณะคล้ายหมวกมีปีกด้านข้าง ส่วนของ lipid core ที่ถูกคลุมด้วย fibrous cap (ภาพที่ 4.6-2) ภายในประกอบด้วยการสะสมของ foam cells, cholesterol cleft และมีการตกตะกอนของ calcium ซึ่งจะพบว่ามีความแตกต่างกันไป โดยพบตั้งแต่ตะกอน calcium ขนาดเล็กหรือเรียกว่า microcalcification (ภาพที่ 4.6-4 b) บางบริเวณพบตะกอน calcium ขนาดใหญ่แทรกดันจากชั้น tunica intima นูนยื่นเข้าไปใน lumen ของหลอดเลือด ทำให้ lumen มีขนาดแคบลง (ภาพที่ 4.6-7 a) และบางบริเวณพบตะกอน calcium เกาะอยู่ด้านในของ lumen (ภาพที่ 4.6-7 c) ลักษณะของ cholesterol cleft ที่พบจะเห็นเป็นช่องว่างสีขาว รูปร่างกระสวยมีเหลี่ยมคล้ายคริสตัล (ภาพที่ 4.6-4) และในบางบริเวณยังพบ extracellular lipid pools เป็นบริเวณกว้าง ที่มี apoptotic smooth muscle cells สะสมอยู่ภายใน (ภาพที่ 4.6-5) ถัดลงไปจากชั้น subendothelial เป็นบริเวณของ internal elastic lamina ติดสีดำเข้ม มีรูปร่างหักเป็นคลื่นผสมกับแนวตรง ซึ่งมีการเรียงตัวที่ไม่ต่อเนื่องรอบวงของหลอดเลือด บางบริเวณพบว่าการขาดออกจากกัน (ภาพที่ 4.6-12) หรือแตกเป็นเศษเล็ก ๆ (ภาพที่ 4.6-14) บางบริเวณพบมีการเรียงตัวซ้อนกันเป็นชั้นๆ (ภาพที่ 4.6-13) หรือบางบริเวณพบมีการหักเป็นคลื่นขดตัวซ้อนทับกัน มีรูปร่างผิดปกติ (ภาพที่ 4.6-15)

ชั้น tunica media ประกอบด้วย smooth muscle cells จำนวนมากเรียงตัวกันหลายชั้น และพบเส้นใย collagen และ elastic แทรกปะปนอยู่ บางร่างพบว่า มีเส้นใย collagen และ elastic ที่มีลักษณะขาดๆ แทรกตัวในชั้นของ tunica media จำนวนมาก ลักษณะของ smooth muscle cells ที่พบบางบริเวณมีขนาดและรูปร่างไม่แน่นอน มีการเรียงตัวของชั้น smooth muscle cells ที่ผิดปกติ (ภาพที่ 4.6-9) และบางตัวอย่างพบว่า มี calcium ขนาดใหญ่แทรกตัวอยู่ (ภาพที่ 4.6-7) ในส่วนของ external elastic lamina จะเห็นเป็นเส้นใยสีดำเข้มเช่นเดียวกับ internal elastic lamina มีลักษณะเป็นแถบสีดำ หนา ซึ่งจะมีลักษณะแบบหยักเป็นคลื่นและแบบตรง โดยส่วนใหญ่จะพบเป็นการผสมระหว่างแบบคลื่นกับตรงมากที่สุด (ภาพที่ 4.6-16 b) การเรียงตัวของ external elastic lamina ไม่ต่อเนื่อง บางช่วงหายไป (ภาพที่ 4.6-12) บางช่วงมีลักษณะเป็นเส้นสั้นๆ ขาด ไม่สมบูรณ์ (ภาพที่ 4.6-14)

ชั้น tunica adventitia ประกอบด้วย connective tissue ที่อยู่กันอย่างหลวมๆ เป็นชั้นที่หนา พบ collagen fiber สะสมจำนวนมาก และมีหลอดเลือดขนาดเล็ก ชั้นนี้ไม่พบลักษณะความผิดปกติ

จากการศึกษาสไลด์เนื้อเยื่อหลอดเลือดที่ย้อมด้วยสี Hematoxylin and Eosin และ Verhoeff-Van Gieson stain พบลักษณะความผิดปกติดังนี้คือ มีการหนาตัวของผนังหลอดเลือด โดยพบมากที่สุดที่ชั้น tunica intima โดยส่วนใหญ่มีการหนาตัวตลอดรอบวงของหลอดเลือด และเมื่อศึกษาในกำลังขยายที่สูงขึ้นจะพบว่าบริเวณที่มีการหนาตัว มีการสะสมของ smooth muscle cells จำนวนมากในชั้น tunica intima บางบริเวณพบ apoptotic smooth muscle cells รวมกลุ่มกัน และมีการสะสมของ extracellular lipid pools (ภาพที่ 4.6-5) และในบางบริเวณที่มีการหนาตัวของผนังหลอดเลือดจะพบ plaque ซึ่งมีองค์ประกอบและลักษณะสามารถสรุปได้ดังนี้

- foam cell มีลักษณะเป็นเซลล์รูปร่างกลม/รี มี fat vacuole ซึ่งจะเห็นเป็นช่องว่างขนาดใหญ่จำนวนมากอยู่ในไซโทพลาสซึมของเซลล์ (ภาพที่ 4.6-1)

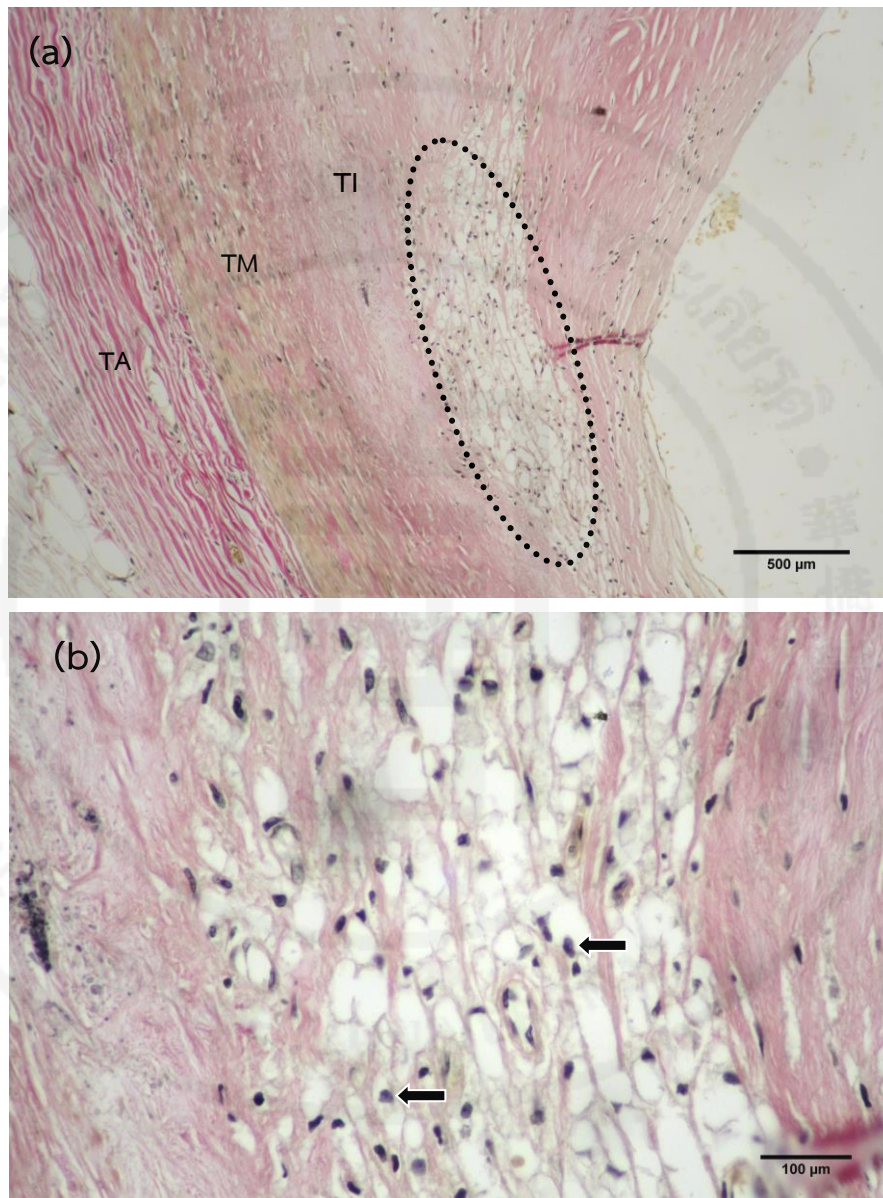
- fibrous cap มีลักษณะคล้ายหมวกที่มีปีกด้านข้าง เป็นพังผืดคลุมหรือห่อหุ้มไขมัน หรือ foam cells ที่รวมตัวกัน (ภาพที่ 4.6-2)

- lipid core มีลักษณะเป็นผ้าสีขาวขุ่น มีไขมันสะสมจำนวนมาก มักพบถูกคลุมด้วย fibrous cap (ภาพที่ 4.6-2)

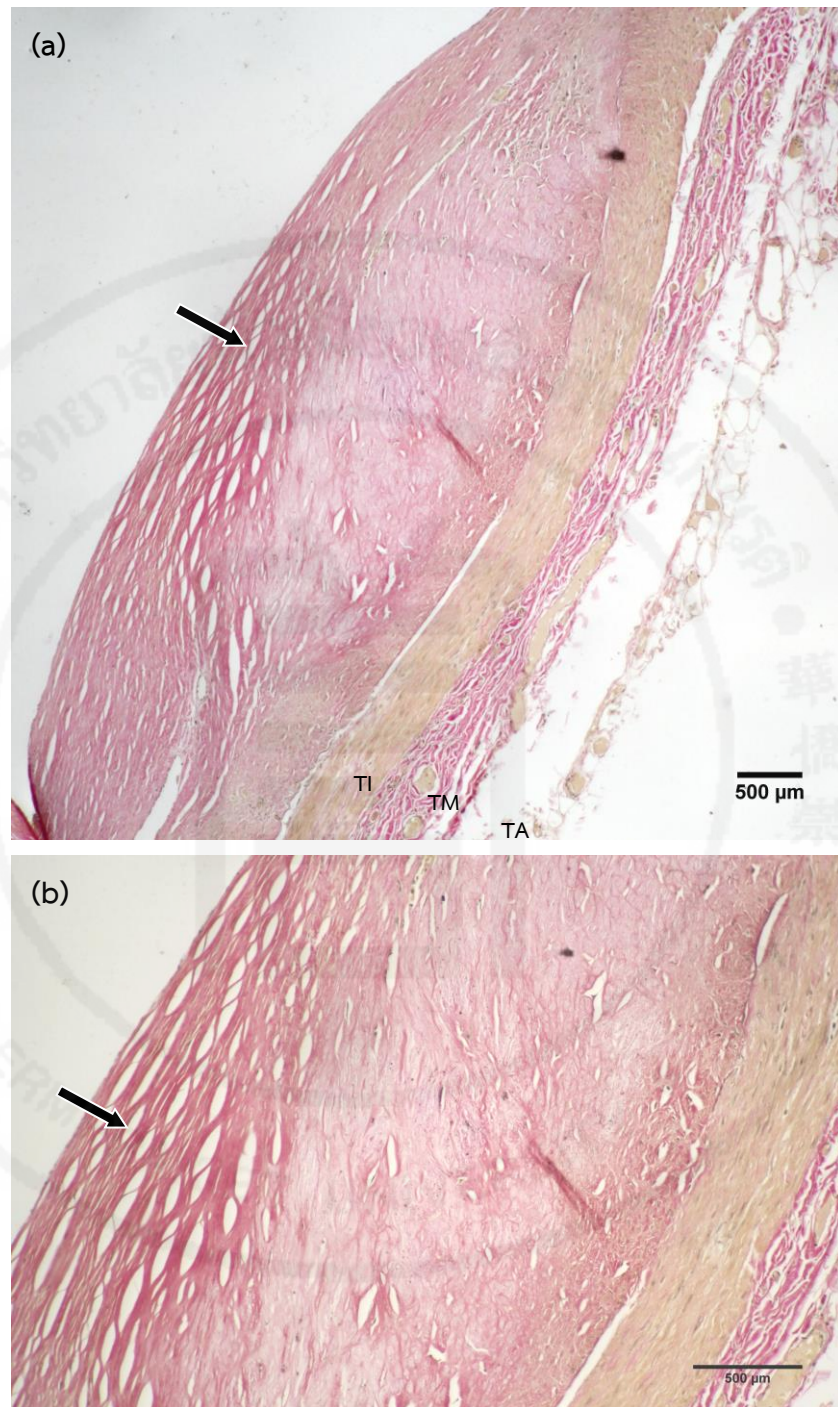
- cholesterol clefts มีลักษณะเป็นช่องว่างรูประสวย มีเหลี่ยมคล้ายคริสตัล เป็นบริเวณที่เคยมีสารไขมันอยู่ แต่ไขมันหลุดออกจากกระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อ (ภาพที่ 4.6-4)

- calcification มีลักษณะเป็นก้อนสีเข้ม มีขนาดต่างกันไป เป็นหินปูนที่มีรูปร่างไม่แน่นอน (ภาพที่ 4.6-3)

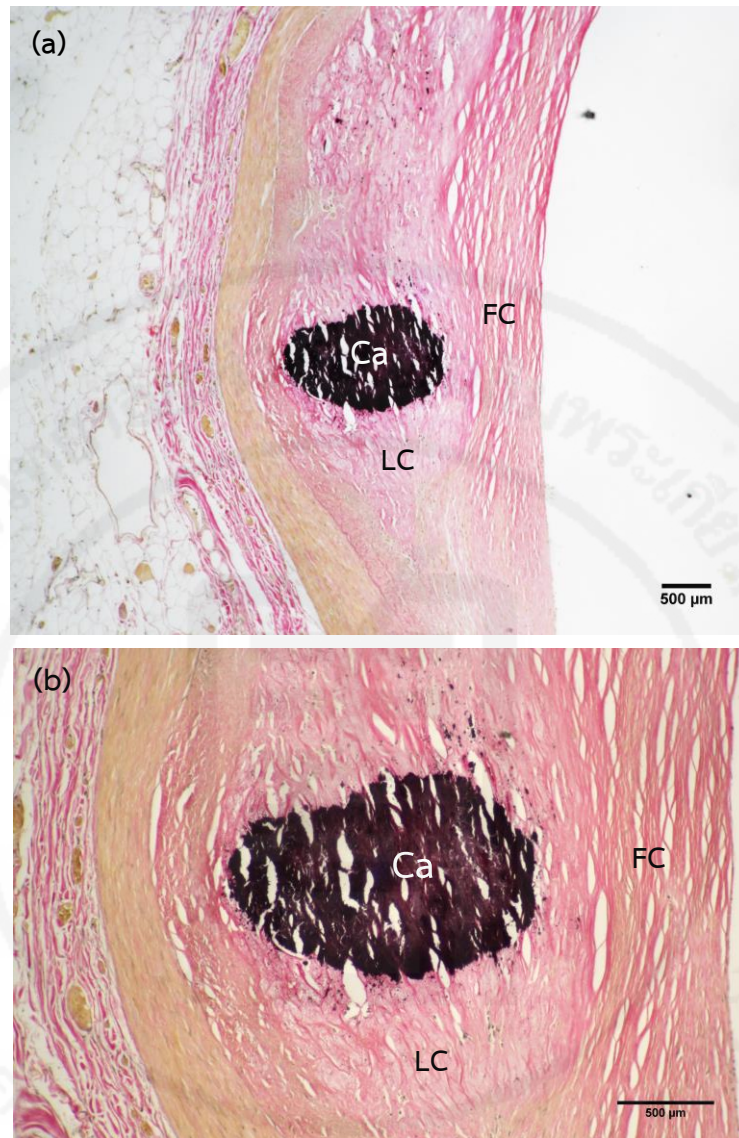
จากลักษณะความผิดปกติของผนังหลอดเลือดและลักษณะของ plaque ที่กล่าวมาแสดงให้เห็นได้ดังภาพต่อไปนี้



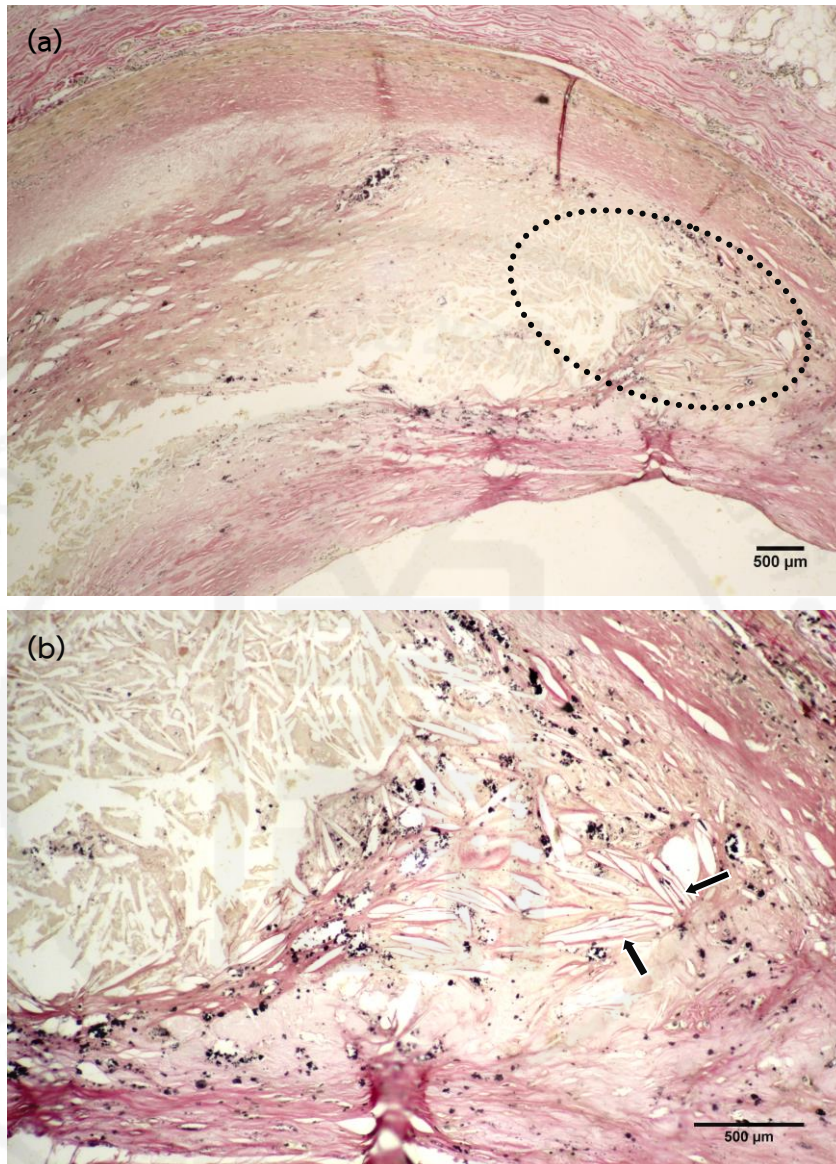
ภาพที่ 4.6-1 แสดงลักษณะของ foam cells (ลูกศรชี้) จำนวนมากแทรกตัวอยู่ในผนังหลอดเลือด coronary ชั้น tunica intima (TI) เมื่อเพิ่มกำลังขยายของกล้องจุลทรรศน์จะเห็นเซลล์มีรูปร่างกลม/รี มี fat vacuole ซึ่งจะเห็นเป็นช่องว่างขนาดใหญ่จำนวนมากอยู่ในไซโทพลาสซึมของเซลล์ (TI : Tunica intima, TM : Tunica media, TA : Tunica adventitia, Verhoeff-Van Gieson stain, a : 10x, b : 40x)



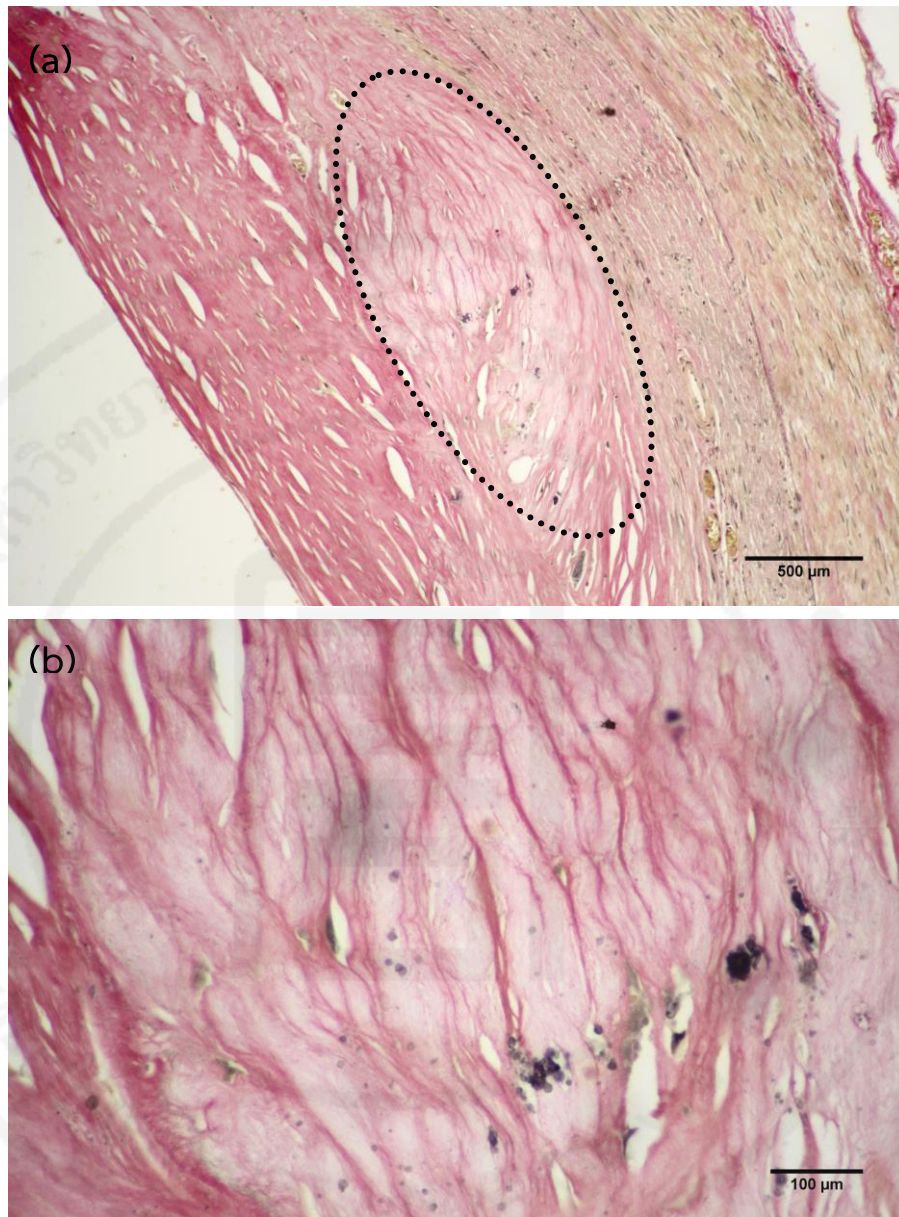
ภาพที่ 4.6-2 แสดงผนังหลอดเลือด coronary ที่มีพยาธิสภาพ โดยพบ fibrous cap (ลูกศรชี้) คลุม lipid core ที่สะสมอยู่ชั้น tunica intima (TI) (TI : Tunica intima, TM : Tunica media, TA : Tunica adventitia, Verhoeff-Van Gieson stain, a : 4x, b : 10x)



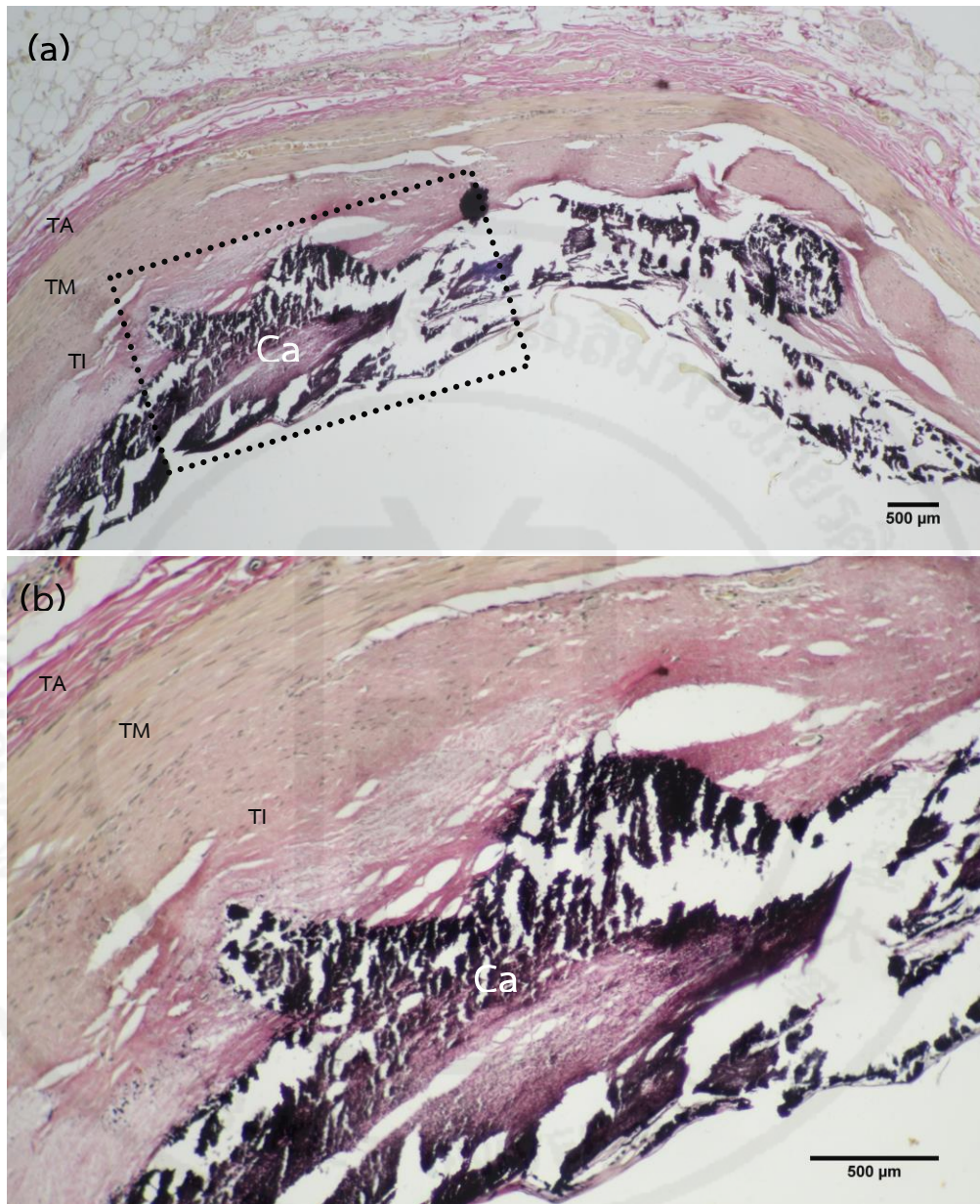
ภาพที่ 4.6-3 แสดงผนังหลอดเลือด coronary ที่มีพยาธิสภาพ โดยพบการเกิด calcification (Ca) หรือตะกอน calcium อยู่ในภายใน lipid core (LC) ซึ่งถูกคลุมด้วย fibrous cap (FC) ภายในผนังชั้น tunica intima (Calcification, LC : Lipid core, FC : Fibrous cap, Verhoeff-Van Gieson stain, a : 4x, b : 10x)



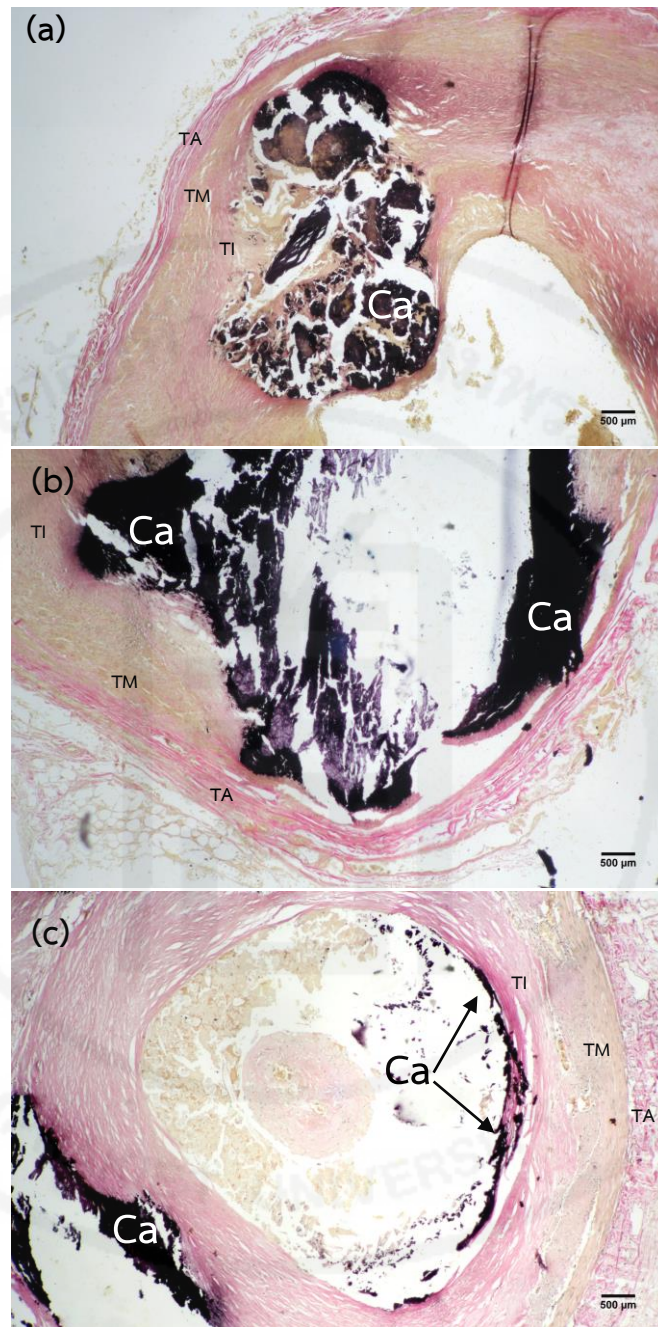
ภาพที่ 4.6-4 แสดงผนังหลอดเลือด coronary ที่มีพยาธิสภาพ โดยพบ cholesterol clefts ที่มีลักษณะเป็นช่องว่างรูปกระสวย (ลูกศรชี้) และ microcalcification ที่มีลักษณะเป็นก้อนสีดำๆ ขนาดเล็กกระจายอยู่ภายใน atherosclerotic plaque ของผนังชั้น tunica intima (Verhoeff-Van Gieson stain, a : 4x, b : 10x)



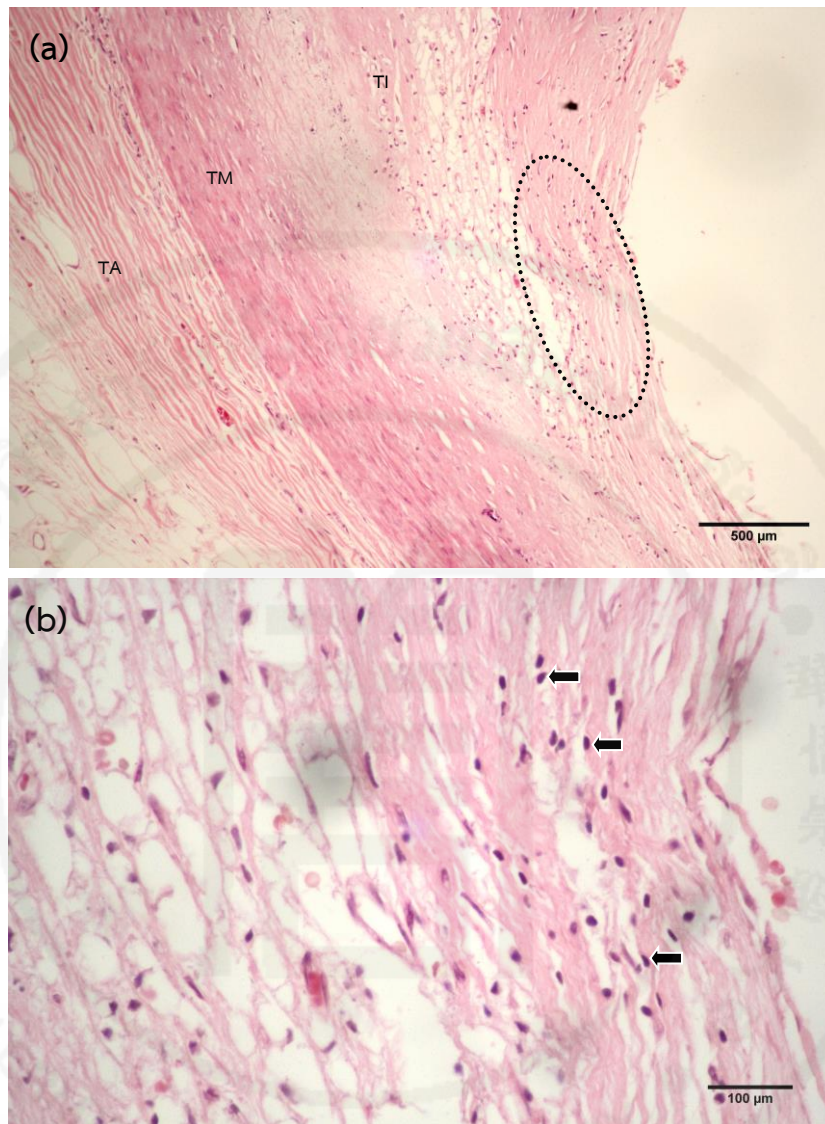
ภาพที่ 4.6-5 แสดงลักษณะพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือด coronary โดยพบ extracellular lipid pools, apoptotic smooth muscle cells สะสมอยู่ในผนังชั้น tunica intima (Verhoeff-Van Gieson stain, a : 10x, b : 40x)



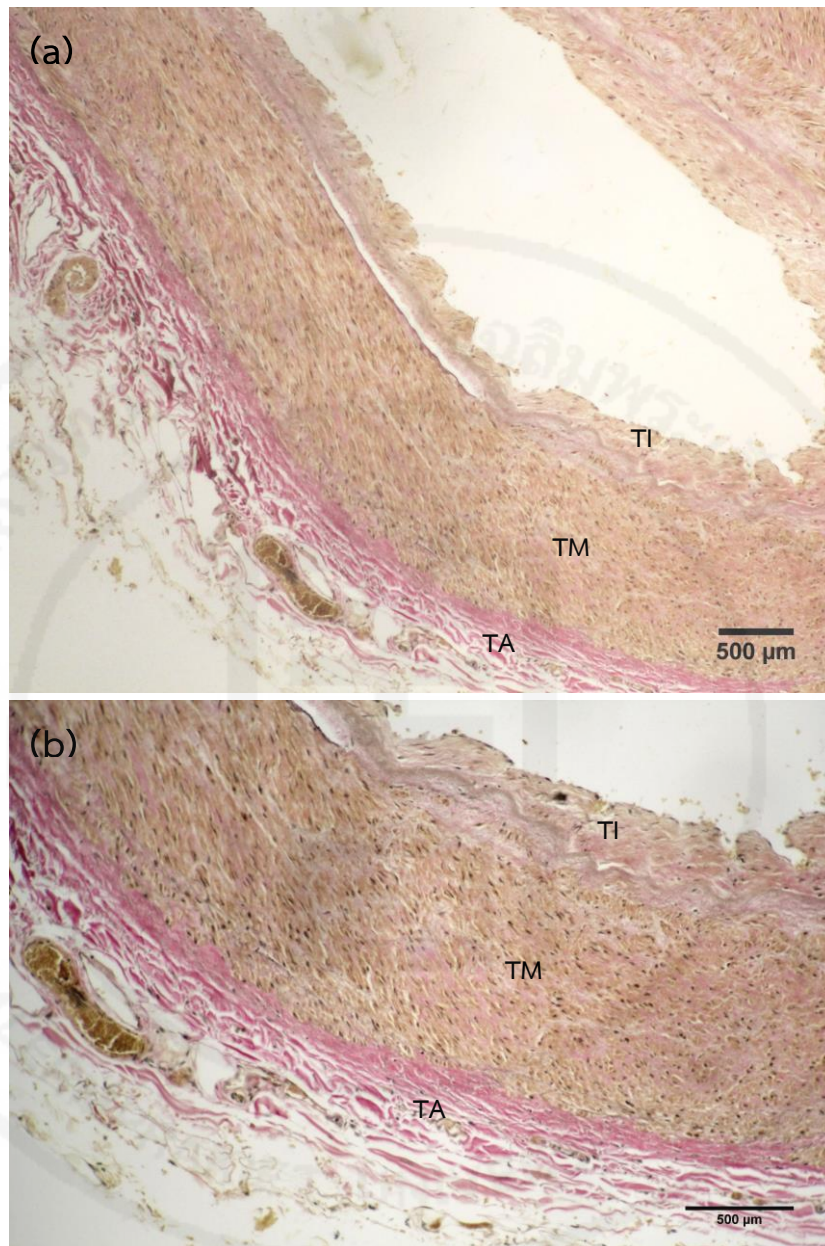
ภาพที่ 4.6-6 แสดงลักษณะพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือด coronary โดย calcification ขนาดใหญ่อยู่ภายในผนังชั้น tunica intima และแทรกตัวดันขึ้นมาถึงชั้น endothelial cells ทำให้เซลล์เรียงตัวไม่ต่อเนื่อง (TI : Tunica intima, TM : Tunica media, TA : Tunica adventitia, Ca : calcium, Verhoeff-Van Gieson stain, a : 4x, b : 10x)



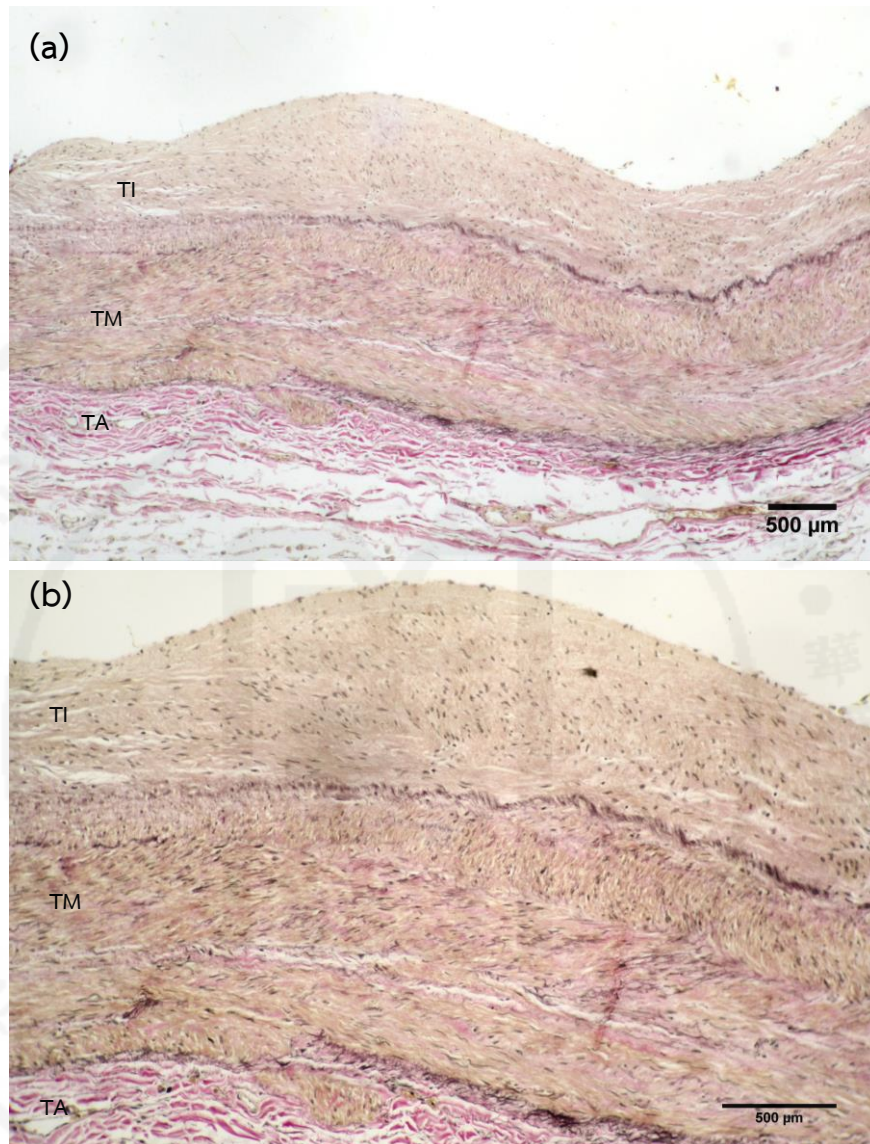
ภาพที่ 4.6-7 แสดงลักษณะการเกิด calcification ภายในผนังหลอดเลือด coronary โดย (a) แสดงการ calcification ภายในผนังหลอดเลือดชั้น tunica intima จะเห็นหินปูน calcium ขนาดใหญ่ยื่นตัวตันเข้ามาใน lumen ของหลอดเลือด (b) หินปูน calcium ขนาดใหญ่ฝังอยู่ในผนังชั้น tunica intima และ tunica media และ (c) แสดงหินปูน calcium เกาะอยู่บริเวณ endotheliums เข้ามาด้านใน lumen ของหลอดเลือด (TI : Tunica intima, TM : Tunica media, TA : Tunica adventitia, Ca : calcium, Verhoeff-Van Gieson stain, a-c : 4x)



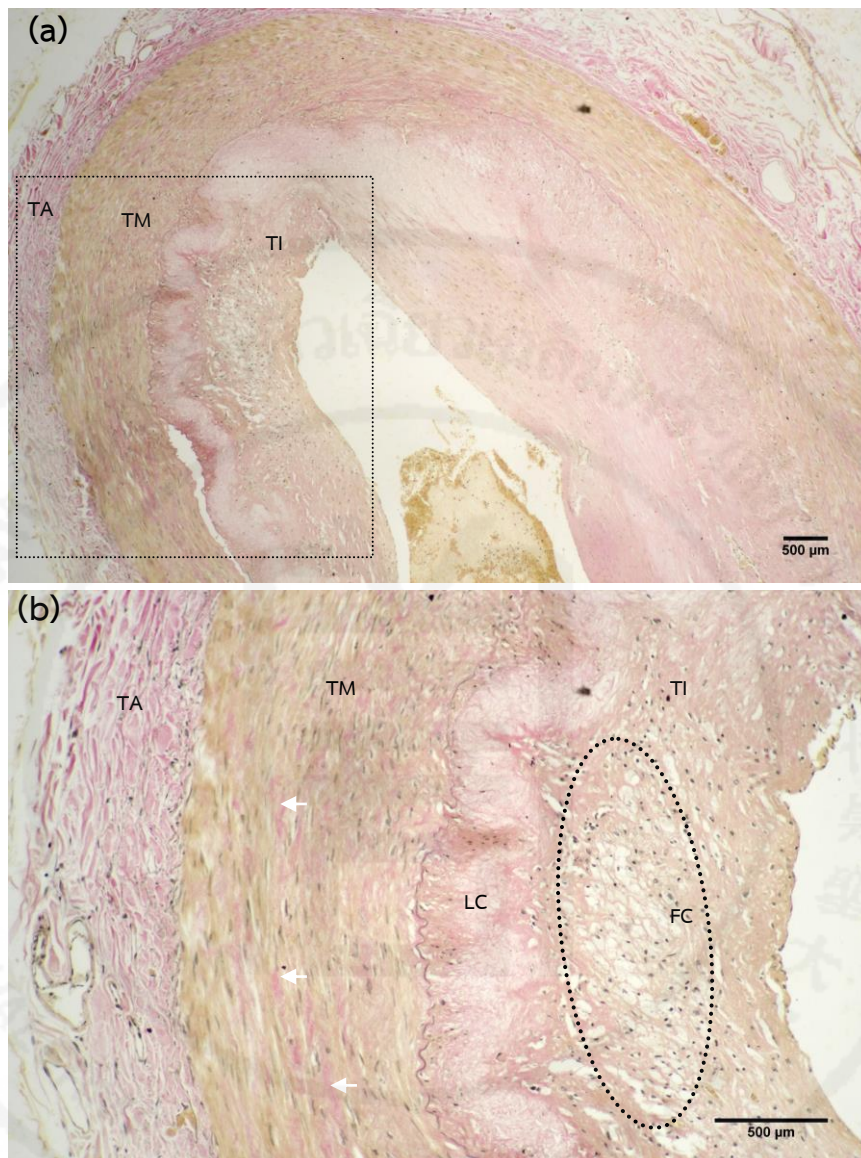
ภาพที่ 4.6-8 แสดงลักษณะของผนังหลอดเลือด coronary ที่มีเซลล์อักเสบ (ลูกศรสีดำ) ลักษณะเซลล์มีขนาดเล็ก นิวเคลียสติดสีม่วงเข้ม สะสมอยู่ภายในผนังชั้น tunica intima จำนวนมาก (TI : Tunica intima, TM : Tunica media, TA : Tunica adventitia, H&E, a : 10x, b : 40x)



ภาพที่ 4.6-9 แสดงลักษณะของผนังหลอดเลือด coronary พบการเรียงตัวที่ผิดปกติ ไม่เป็นระเบียบของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบภายในผนังชั้น tunica media (TM) รวมทั้งเซลล์มีรูปร่างที่ผิดปกติ และพบ collagen fiber ซึ่งย้อมติดสีชมพูแทรกตัวปะปนอยู่กับเซลล์กล้ามเนื้อในชั้น tunica media (TI : Tunica intima, TM : Tunica media, TA : Tunica adventitia, Verhoeff-Van Gieson stain, a : 4x, b : 10x)



ภาพที่ 4.6-10 แสดงลักษณะพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือด coronary พบการหนาตัวของผนังชั้น tunica intima ซึ่งเกิดจากการแทรกตัวของ smooth muscle cells ที่เคลื่อนตัวขึ้นไปจากชั้น tunica media แต่ไม่พบ lipid core และพบการเรียงตัวที่ไม่เป็นระเบียบของ smooth muscle cells ในผนังชั้น tunica media (TI : Tunica intima, TM : Tunica media, TA : Tunica adventitia, Verhoeff-Van Gieson stain, a : 4x, b : 10x)

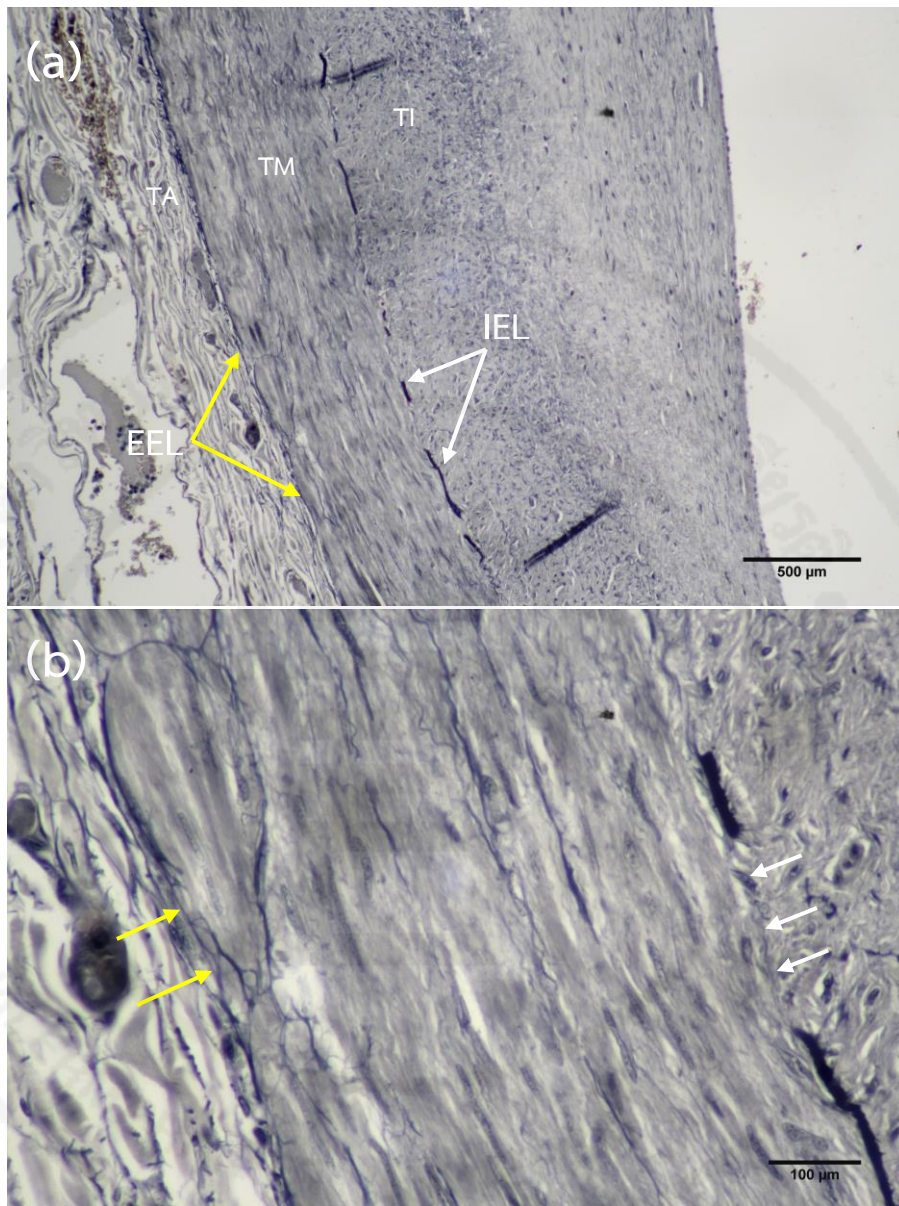


ภาพที่ 4.6-11 แสดงลักษณะทางพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือด coronary พบการหนาตัวของผนังชั้น tunica intima โดยบริเวณที่หนาตัวพบ foam cells สะสมอยู่จำนวนมาก และมีไขมันแทรกตัวเกิดเป็น lipid core วางตัวเกือบรอบวงหลอดเลือด ส่วนผนังชั้น tunica media พบว่ามี collagen (ลูกศรสีขาว) ซึ่งย้อมติดสีชมพู แยกตัวปะปนอยู่กับชั้นของ smooth muscle cells จำนวนมาก (TI : Tunica intima, TM : Tunica media, TA : Tunica adventitia, FC : Foam cells, LC : Lipid core, Verhoeff-Van Gieson stain, a : 4x, b : 10x)

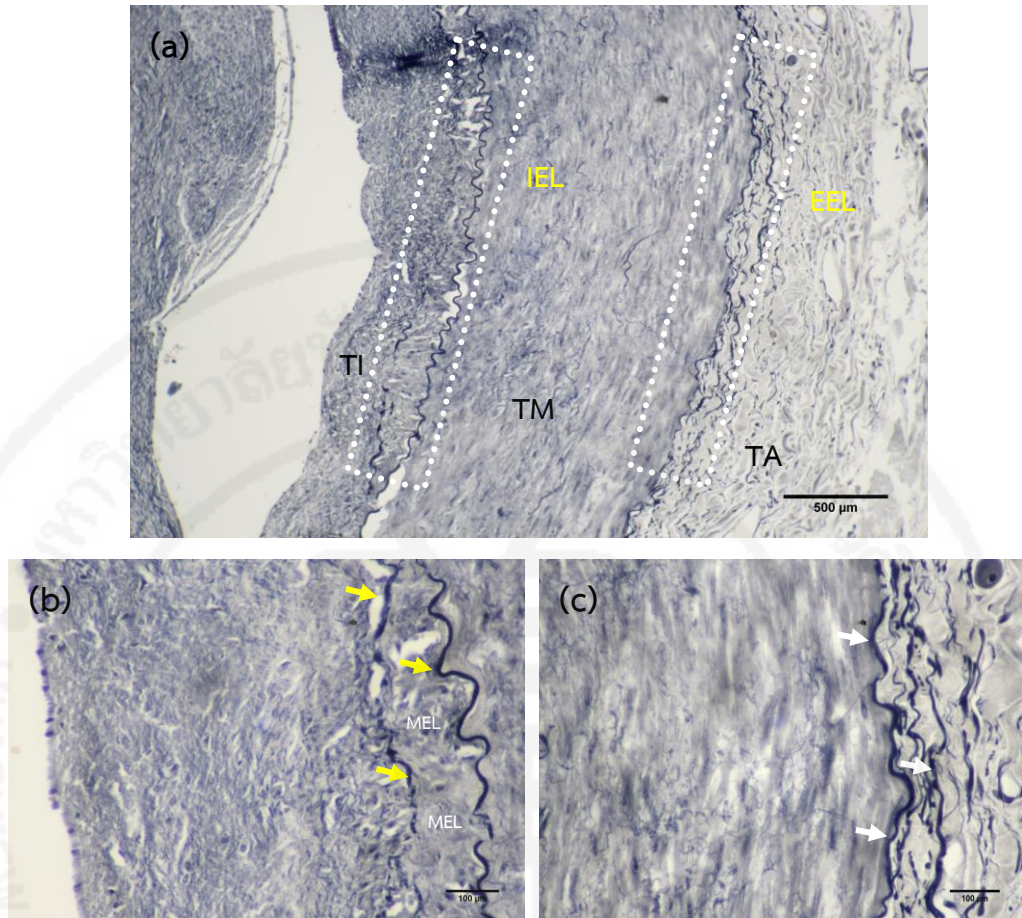
จากการศึกษาลักษณะของ internal และ external elastic lamina ภายในผนังหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา จากการย้อมด้วย Verhoeff's Elastic stain พบลักษณะความผิดปกติแยกเป็น 3 รูปแบบดังนี้คือ

1. มีการเรียงตัวซ้อน (reduplication),
2. มีการแตกเป็นเศษๆ (fragmentation)
3. มีลักษณะขาด หลุดจากกัน (fraying) ซึ่งลักษณะดังกล่าวแสดงได้ดังภาพต่อไปนี้

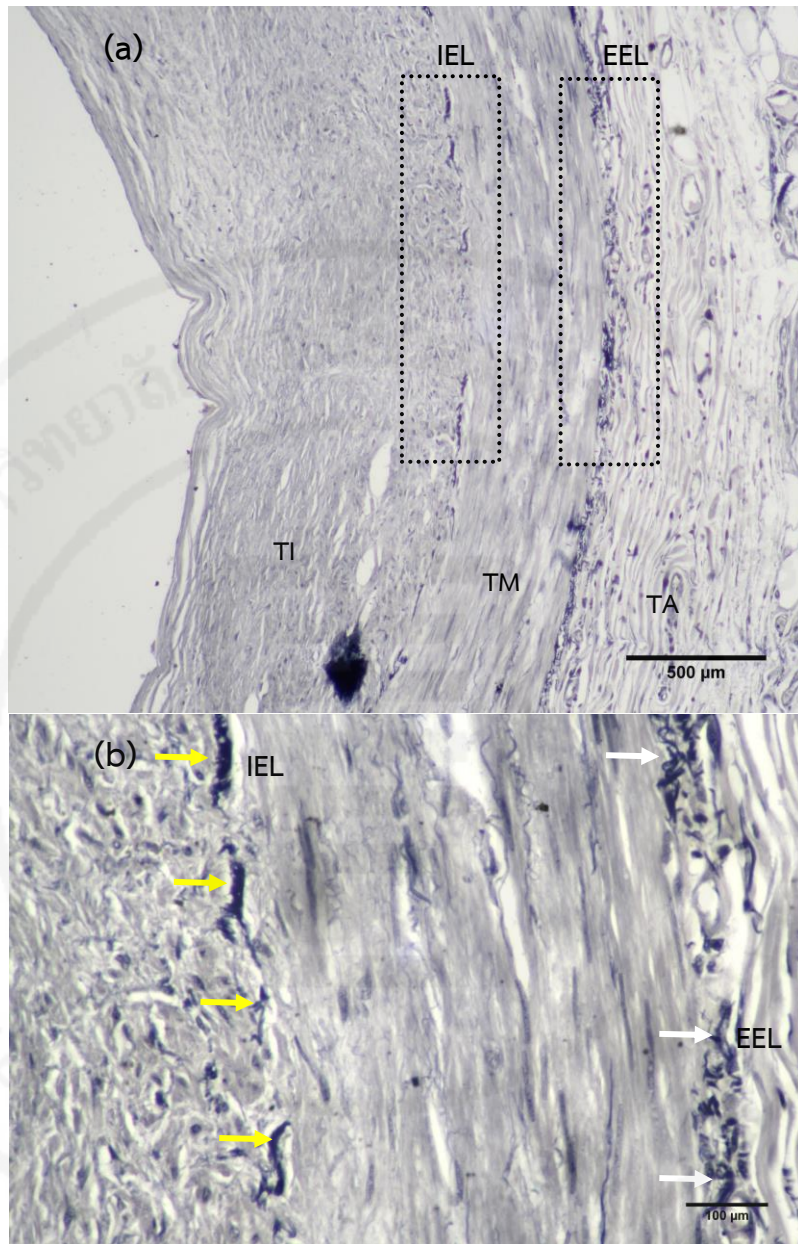




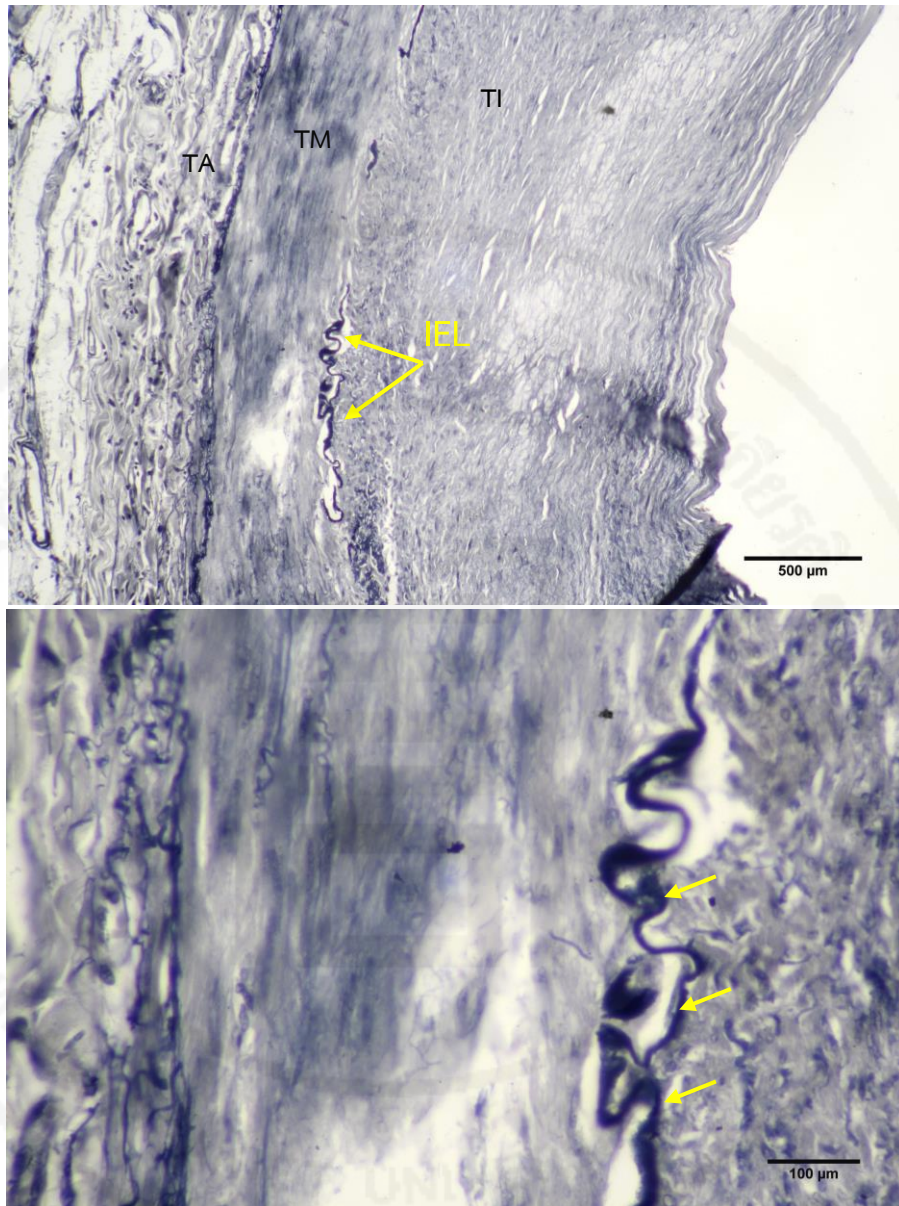
ภาพที่ 4.6-12 แสดงลักษณะพยาธิสภาพของ internal elastic lamina (ลูกศรสีขาว) และ external elastic lamina (ลูกศรสีเหลือง) ที่มีลักษณะไม่ต่อเนื่องกัน มีบางช่วงขาด แยกออกจากกัน (TI : Tunica intima, TM : Tunica media, TA : Tunica adventitia, IEL : Internal elastic lamina, EEL: External elastic lamina, Verhoeff's Elastic stain, a : 10x, b : 40x)



ภาพที่ 4.6-13 แสดงลักษณะพยาธิสภาพของ internal elastic lamina (IEL) และ external elastic lamina (EEL) ที่มีการเรียงตัวซ้อนกัน (reduplication) โดยภาพ b และ c แสดงบริเวณที่มีการ reduplicate ของ internal elastic lamina (ลูกศรสีเหลือง) และ external elastic lamina (ลูกศรสีขาว) ที่กำลังขยาย 40x ตามลำดับ (TI : Tunica intima, TM : Tunica media, TA : Tunica adventitia, MEL : Musculoelastic layer, IEL : Internal elastic lamina, EEL : External elastic lamina, Verhoeff's Elastic stain, a : 10x, b : 40x, c : 40x)

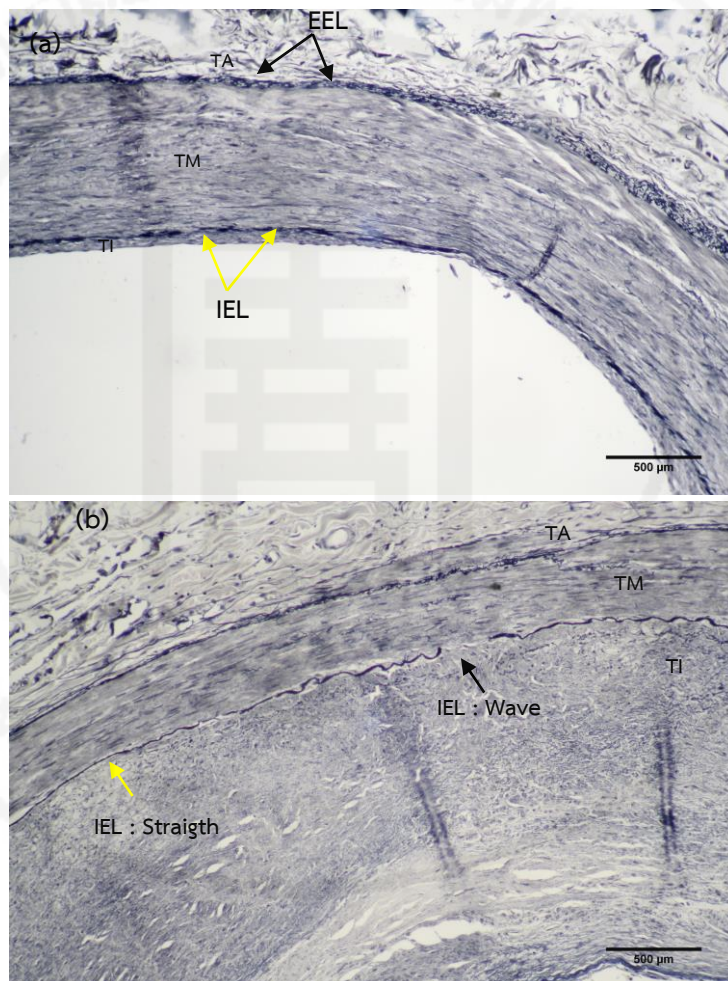


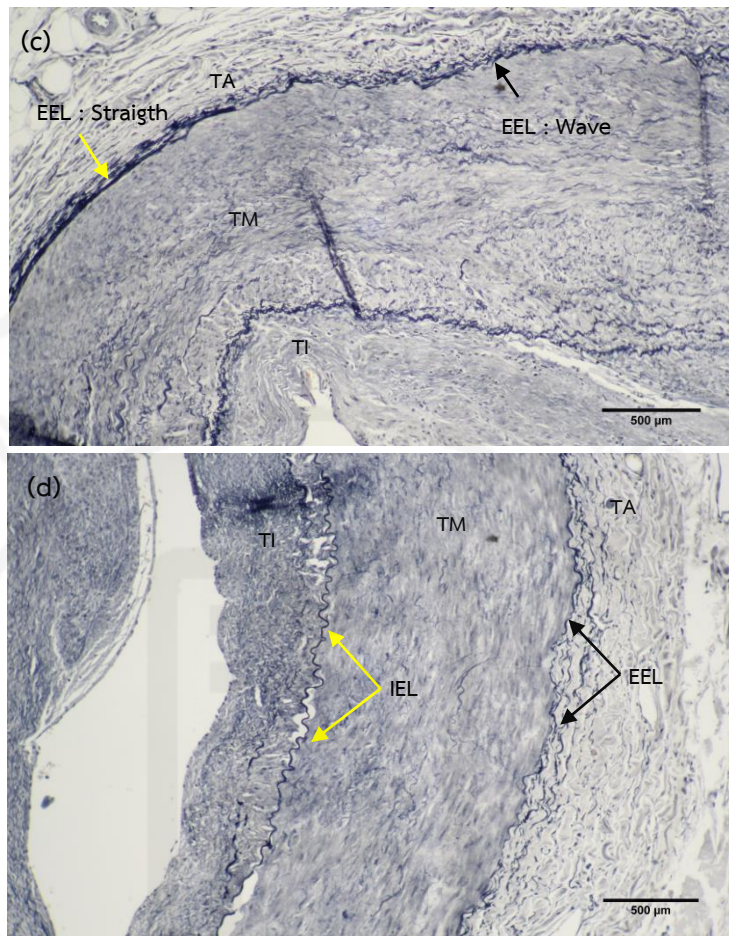
ภาพที่ 4.6-14 แสดงลักษณะพยาธิสภาพของ internal elastic lamina (IEL) และ external elastic lamina (EEL) ที่มีการแตกเป็นเศษเล็กๆ แยกจากกัน (fragmentation) ทำให้มีการเรียงตัวที่ไม่ต่อเนื่องของทั้ง internal (ลูกศรสีเหลือง) และ external elastic lamina (ลูกศรสีขาว) (TI : Tunica intima, TM : Tunica media, TA : Tunica adventitia, IEL : Internal elastic lamina, EEL : External elastic lamina, Verhoeff's Elastic stain, a : 10x, b : 40x)



ภาพที่ 4.6-15 แสดงลักษณะพยาธิสภาพของ internal elastic lamina (ลูกศรสีเหลือง) ที่มีลักษณะรูปร่างผิดปกติ เรียงตัวไม่ต่อเนื่องกัน แตกหักเป็นชิ้นส่วน (TI : Tunica intima, TM : Tunica media, TA : Tunica adventitia, IEL : Internal elastic lamina, Verhoeff's Elastic stain, a : 10x, b : 40x)

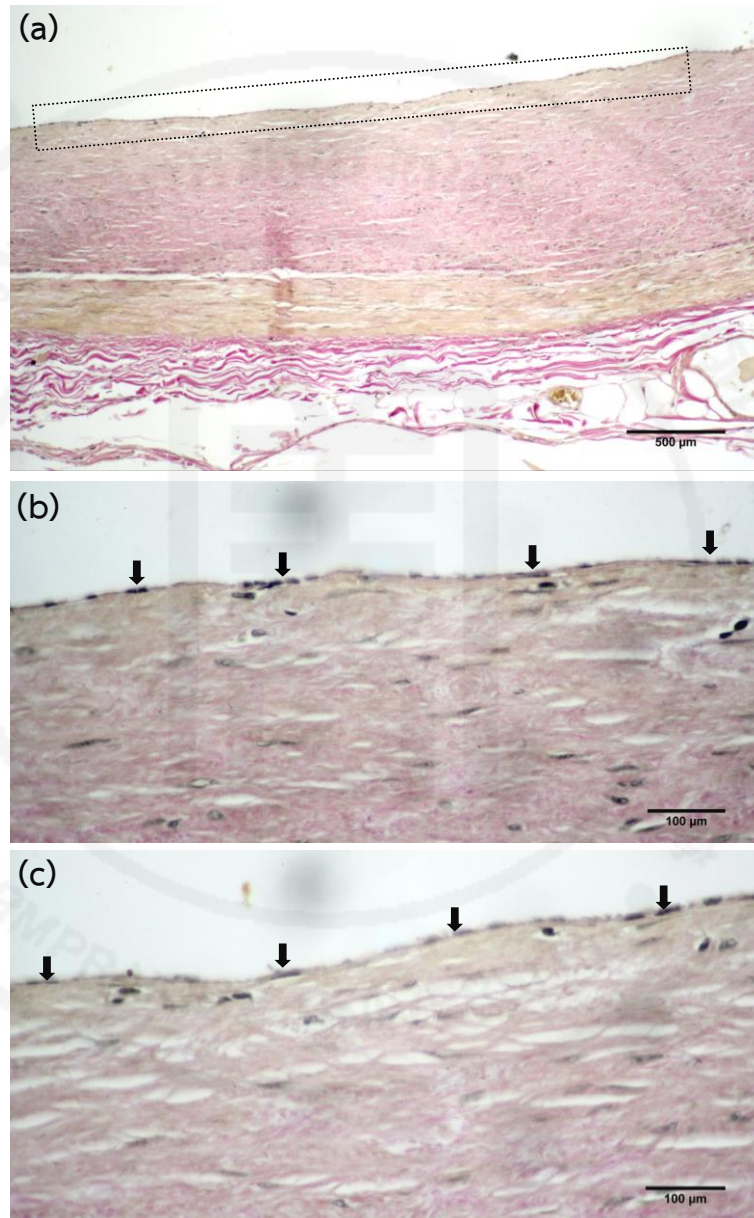
จากการศึกษารูปแบบการเรียงตัวของ internal elastic lamina และ external elastic lamina ของหลอดเลือดแดง coronary ข้างซ้ายและข้างขวาจากร่างอาจารย์ใหญ่ 20 ร่าง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยการย้อมด้วยสี Verhoeff's Elastic stain พบว่ามีการเรียงตัวของ internal และ external elastic lamina ใน 3 รูปแบบได้แก่ ลักษณะเป็นคลื่น (wave), แนวตรง (straight) และทั้งคลื่นผสมกับแนวตรง (wave + straight) และการเรียงตัวของ endothelial cells ที่มีทั้งต่อเนื่องและไม่ต่อเนื่อง ซึ่งลักษณะดังกล่าวแสดงได้ดังภาพต่อไปนี้



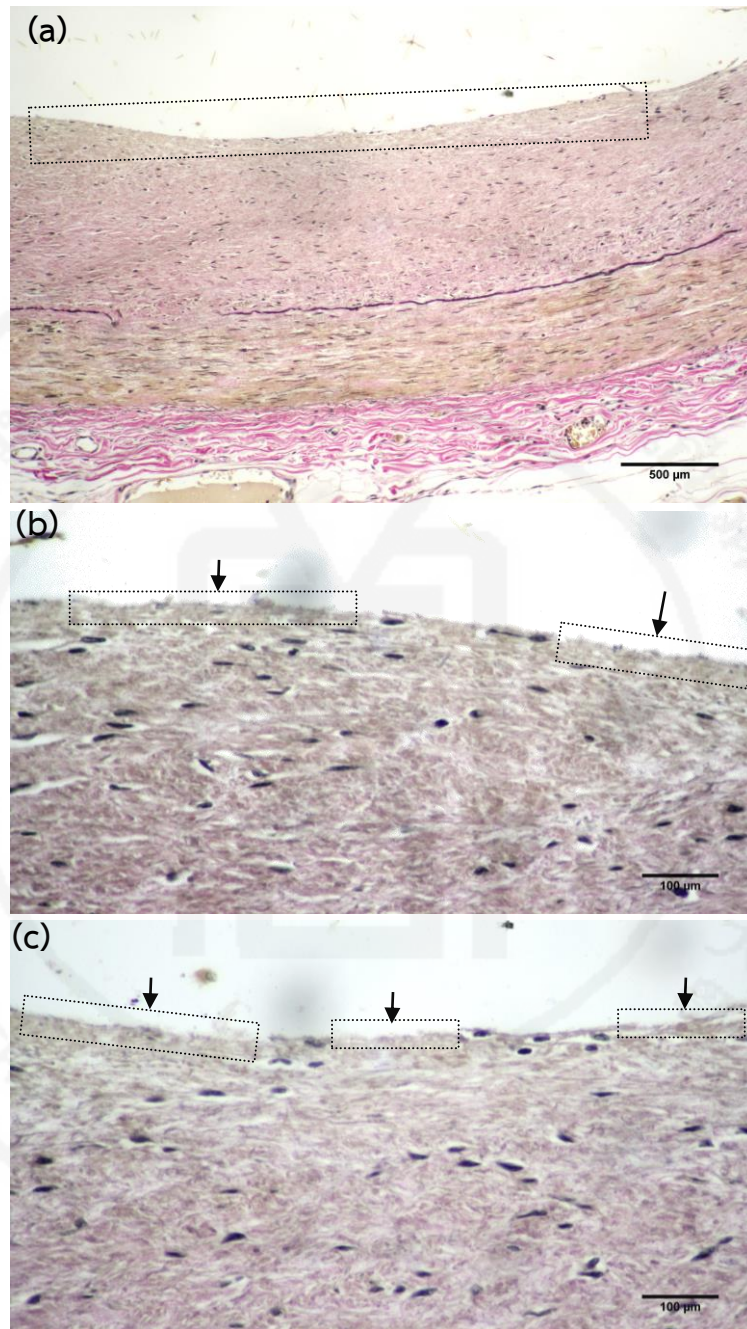


ภาพที่ 4.6-16 แสดงลักษณะรูปแบบการเรียงตัวของ internal elastic lamina และ external elastic lamina ของหลอดเลือด coronary ซึ่งแยกได้เป็น 3 รูปแบบดังนี้ (a) แนวตรง : straight (IEL : ลูกศรสีเหลือง, EEL : ลูกศรสีดำ), (b) คลื่นผสมกับแนวตรง : wave (ลูกศรสีดำ) + straight (ลูกศรสีเหลือง) ของ internal elastic lamina, (c) คลื่นผสมกับแนวตรง : wave (ลูกศรสีดำ) + straight (ลูกศรสีเหลือง) ของ external elastic lamina และ (d) คลื่น : wave (IEL : ลูกศรสีเหลือง , EEL : ลูกศรสีดำ) (TI : Tunica intima, TM : Tunica media, TA : Tunica adventitia, IEL : Internal elastic lamina, EEL : External elastic lamina, Verhoeff's Elastic stain, a-d : 10x)

จากการศึกษาการเรียงตัวของ endothelial cells internal ของหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา จากการย้อมด้วย Verhoeff-Van Gieson stain พบการเรียงตัวทั้งแบบต่อเนื่องและไม่ต่อเนื่อง แสดงได้ดังภาพต่อไปนี้



ภาพที่ 4.6-17 แสดงลักษณะการเรียงตัวของ endothelial cells (ลูกศรสีดำ) ที่ปกติคือมีการเรียงตัวที่ต่อเนื่องกัน ตลอดรอบวงหลอดเลือด โดย endothelial เป็นเซลล์ที่มีรูปร่างแบนยาว หลายเหลี่ยม (polygonal) เรียงตัวอยู่ด้านในสุดของผนังหลอดเลือดจัดเป็น simple squamous epithelium (Verhoeff-Van Gieson stain, a : 10x, b-c : 40x)



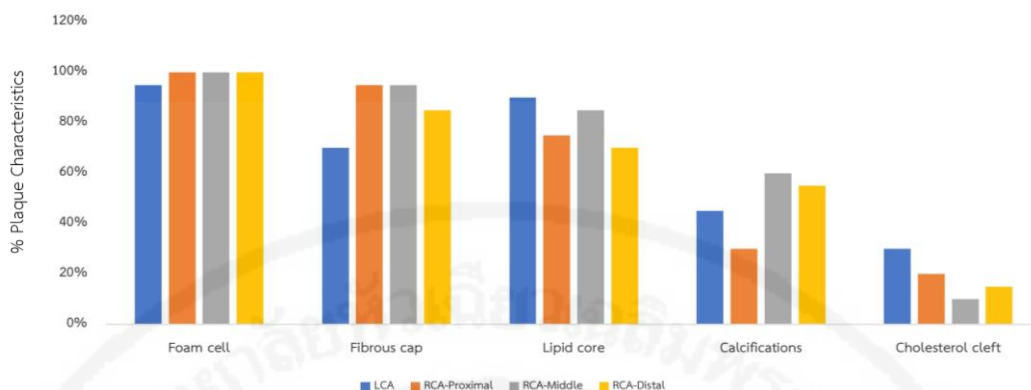
ภาพที่ 4.6-18 แสดงลักษณะการเรียงตัวของ endothelial cells ที่ไม่ต่อเนื่องกัน ตลอดรอบวง หลอดเลือด โดยบางบริเวณไม่พบ endothelial cells (บริเวณลูกศรสีดำ) (Verhoeff-Van Gieson stain, a : 10x, b-c : 40x)

4.7 ผลการศึกษาลักษณะของ plaque ในผนังหลอดเลือด coronary

จากการศึกษาลักษณะของผนังหลอดเลือด coronary ทั้งข้างซ้ายและข้างขวาภายใต้กล้องจุลทรรศน์จากร่างอาจารย์ใหญ่ทั้ง 20 ร่างพบการเกิด plaque ในผนังหลอดเลือด ซึ่งลักษณะของ plaque ที่พบได้ในผนังหลอดเลือดแดง left coronary จากร่างอาจารย์ใหญ่ทั้ง 20 ร่าง เรียงจากมากไปน้อยได้แก่ foam cell (95%), lipid core (90%), fibrous cap (70%), calcifications (45%) และ cholesterol cleft (30%) ตามลำดับ ส่วนลักษณะของ plaque ที่พบในผนังหลอดเลือดแดง right coronary ทั้ง 3 ส่วนคือส่วนต้น (proximal), กลาง (middle), และปลาย (distal) จากร่างอาจารย์ใหญ่ทั้ง 20 ร่าง มีความใกล้เคียงกันในทุกๆ ส่วน โดยเรียงลำดับลักษณะของ plaque ที่พบจากมากไปน้อยได้แก่ foam cell, fibrous cap, lipid core, calcifications และ cholesterol cleft ตามลำดับ และพบการเกิด plaque ของหลอดเลือดทั้งข้างซ้ายและข้างขวาใกล้เคียงกัน แสดงได้ดังตารางที่ 4.7 และกราฟที่ 4.7-1

ตารางที่ 4.7 ลักษณะของ plaque ที่พบในผนังของหลอดเลือด left coronary และ right coronary จากร่างอาจารย์ใหญ่ทั้ง 20 ร่าง

Artery (n=20)	ลักษณะของ plaque				
	Foam cell n (%)	Fibrous cap n (%)	Lipid core n (%)	Calcifications n (%)	Cholesterol cleft n (%)
Left coronary artery	19/20 (95%)	14/20 (70%)	18/20 (90%)	9/20 (45%)	6/20 (30%)
Proximal right coronary artery	20/20 (100%)	19/20 (95%)	15/20 (75%)	7/20 (35%)	4/20 (20%)
Middle right coronary artery	20/20 (100%)	19/20 (95%)	17/20 (85%)	12/20 (60%)	2/20 (10%)
Distal right coronary artery	20/20 (100%)	17/20 (85%)	14/20 (70%)	11/20 (55%)	3/20 (15%)



กราฟที่ 4.7-1 แสดงเปอร์เซ็นต์ลักษณะของ plaque ที่พบในผนังหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา

4.8 ผลการศึกษาารูปแบบการเรียงตัวของ internal elastic lamina, external elastic lamina และ endothelial cells จากหลอดเลือด coronary

จากการศึกษาารูปแบบการเรียงตัวของ internal elastic lamina และ external elastic lamina ของหลอดเลือดแดง coronary ข้างซ้ายและข้างขวา จากร่างอาจารย์ใหญ่ 20 ร่าง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยการย้อมด้วยสี Verhoeff-Van Gieson stain พบว่ามีการเรียงตัวของ internal และ external elastic lamina ใน 3 รูปแบบได้แก่ ลักษณะเป็นคลื่น (wave), แนวตรง (straight) และทั้งคลื่นรวมกับแนวตรง (wave + straight) และการเรียงตัวของ endothelial cells ที่มีทั้งต่อเนื่องและไม่ต่อเนื่อง โดยพบว่า internal elastic lamina และ external elastic lamina ของหลอดเลือด left coronary มีลักษณะการเรียงตัวในแนวตรง (straight) มากที่สุดคิดเป็น 70%, 75% ตามลำดับ รองลงมาเป็นแบบคลื่นรวมกับแนวตรง (wave + straight) คิดเป็น 30%, 25% ตามลำดับ ส่วน internal elastic lamina และ external elastic lamina ในหลอดเลือด right coronary พบว่ามีการเรียงตัวแบบแนวตรงมากที่สุดเช่นเดียวกับ left coronary ทั้ง 3 ส่วนคือ proximal (65%, 85%) middle (65%, 80%) และ distal (55%, 85%) ตามลำดับ รองลงมาพบการเรียงตัวแบบคลื่นรวมกับแนวตรงทั้ง 3 ส่วนคือ proximal (35%, 15%) middle (35%, 20%) และ distal (40%, 15%) ตามลำดับ และส่วนใหญ่หลอดเลือด coronary ทั้งข้างซ้ายและขวามีการเรียงตัวของ endothelial cells ที่ไม่ต่อเนื่อง ดังแสดงในตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 แสดงรูปแบบการเรียงตัวของ internal elastic lamina, external elastic lamina และ endothelial cells จากหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา

โครงสร้าง	การเรียงตัว	Artery			
		Left	Proximal right	Middle right	Distal right
		coronary n (%)	coronary artery n (%)	coronary artery n (%)	coronary artery n (%)
Endothelial cells	ต่อเนื่อง	1 (5%)	1 (5%)	1 (5%)	3 (15%)
	ไม่ต่อเนื่อง	19 (95%)	19 (95%)	19 (95%)	17 (85%)
Internal elastic lamina	Wave (W)	-	-	-	-
	Straight (S)	14 (70%)	13 (65%)	13 (65%)	11 (55%)
	W+S	6 (30%)	7 (35%)	7 (35%)	8 (40%)
External elastic lamina	Wave (W)	-	-	-	-
	Straight (S)	15 (75%)	17 (85%)	16 (80%)	17 (85%)
	W+S	5 (25%)	3 (15%)	4 (20%)	3 (15%)

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้ได้ศึกษาในตัวอย่างหลอดเลือด coronary จากร่างอาจารย์ จำนวน 20 ร่าง อายุ 50 ปีขึ้นไป โดยมีเพศชาย 12 ร่าง เพศหญิง 8 ร่าง โดยทำการศึกษาลักษณะโครงสร้างทางจุลกายวิภาคและพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือด coronary ด้วยวิธีการย้อม Hematoxylin and eosin และการย้อม Verhoeff-Van Gieson stain และศึกษาความหนาของผนังหลอดเลือดด้วยวิธีการย้อม Verhoeff's Elastic stain และวัดความหนาของผนังหลอดเลือดด้วยโปรแกรม Image J freeware

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อศึกษาลักษณะโครงสร้างทางจุลกายวิภาคของผนังหลอดเลือด coronary ด้วยวิธีการย้อม Hematoxylin and eosin และการย้อม Verhoeff-Van Gieson stain จากร่างอาจารย์ใหญ่

วิธีดำเนินการวิจัย

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาคือหลอดเลือด coronary จากร่างอาจารย์ใหญ่ทั้งข้างซ้าย (left coronary artery) และข้างขวา (right coronary artery) จำนวน 20 ร่าง โดยมีเพศชาย 12 ร่าง เพศหญิง 8 ร่าง อายุเฉลี่ย 71.25 ± 12.06 ปี โดยทำการศึกษาลักษณะโครงสร้างทางจุลกายวิภาคและพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือด coronary ด้วยวิธีการย้อมสี Hematoxylin and eosin และการย้อมสี Verhoeff-Van Gieson stain และศึกษาความหนาของผนังหลอดเลือดด้วยวิธีการย้อมสี Verhoeff's Elastic stain และทำการวัดความหนาของผนังหลอดเลือดด้วยโปรแกรม Image J freeware บันทึกผลลักษณะทางจุลกายวิภาคและพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือดจากการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscope) และบันทึกผลความหนาของผนังหลอดเลือดนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์เชิงพรรณนา โดยใช้ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างหลอดเลือด coronary ทั้ง 2 ข้างด้วยสถิติ Mann-Whitney U test ที่ค่า $p\text{-value} < 0.05$

5.1 สรุปผลการวิจัย

1. ผลจากการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายนอกและความยาวของหลอดเลือด coronary พบว่าหลอดเลือด left coronary มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายนอกมากกว่าหลอดเลือด right coronary โดยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือด left coronary ในเพศชายมีค่ามากกว่าเพศหญิง แต่ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือด right coronary ในเพศหญิงมีค่ามากกว่าเพศชาย

ส่วนความยาวของหลอดเลือด right coronary มากกว่า left coronary โดยเพศหญิงมีความยาวของ coronary มากกว่าเพศชายทั้งข้างซ้ายและข้างขวา

2. ผลจากการวัดความหนาของผนังหลอดเลือด coronary พบว่าค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด left coronary ชั้น tunica intima และ tunica media ของเพศชายมากกว่าเพศหญิง และพบว่าผนังหลอดเลือดชั้น tunica intima มีความหนามากกว่าผนังชั้น tunica media ทั้งในเพศชายและเพศหญิง ส่วนค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด right coronary ทั้งส่วนต้น (proximal), ส่วนกลาง (middle) และส่วนปลาย (distal) ของชั้น tunica intima ในเพศชายมากกว่าเพศหญิง ส่วนผนังชั้น tunica media ของทั้ง 3 ส่วนในเพศหญิงมีค่าเฉลี่ยความหนามากกว่าเพศชาย และพบว่าผนังหลอดเลือดชั้น tunica intima มีค่าเฉลี่ยความหนามากกว่าผนังชั้น tunica media ทั้งในเพศชายและเพศหญิง และจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด right coronary แต่ละส่วนพบว่า ส่วน middle มีความหนาของผนังชั้น tunica intima มากที่สุดและมากกว่าส่วน proximal อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับส่วน distal ส่วนชั้น tunica media พบว่าส่วน proximal มีความหนามากกว่าส่วน middle และ distal ซึ่งมากกว่าส่วน distal อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3. ผลจากการเปรียบเทียบทางสถิติของความหนาของผนังหลอดเลือด left coronary และ right coronary พบว่าค่าเฉลี่ยความหนาชั้น tunica intima ของ left coronary มากกว่าหลอดเลือดส่วน proximal ของ right coronary แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่มีความหนาน้อยกว่าส่วน middle และ distal ของ right coronary โดยน้อยกว่าส่วน middle right coronary อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนชั้น tunica media ของหลอดเลือด left coronary มีความหนามากกว่า right coronary ทั้ง 3 ส่วนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4. ผลจากการศึกษาลักษณะทางจุลพยาธิของผนังหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา พบพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือดในชั้น tunica intima และ tunica media โดยลักษณะพยาธิสภาพที่พบคือผนังชั้น tunica intima มีการหนาตัว ซึ่งเกิดจากการแทรกตัวของ smooth muscle cells จากชั้น tunica media จำนวนมาก พบเซลล์อักเสบสะสมภายในผนังหลอดเลือดจำนวนมาก และมี plaque เกิดขึ้นภายในผนังหลอดเลือด พบ foam cells จำนวนมากส่วนใหญ่แทรกตัวอยู่ในชั้น tunica intima บางตัวอย่างพบการเกิด atheromatous plaque คือประกอบด้วย fibrous cap ครอบคลุม lipid core ซึ่งเกิดการสะสมของไขมันจำนวนมากภายใน extracellular matrix เกิดเป็น extracellular lipid pools ซึ่งบางตัวอย่างพบ apoptotic smooth muscle cells สะสมอยู่ภายใน เกิดเป็น necrotic core และบางบริเวณพบหินปูนแคลเซียมตั้งแต่ขนาดเล็ก (microcalcification) ไปจนถึงก้อนขนาดใหญ่ โดยบางตัวอย่างพบหินปูนแคลเซียมยื่นตัวต้นผนังชั้น tunica intima หนุนตัวเข้า

ไปใน lumen ของหลอดเลือด บางตัวอย่างพบการเกิดหินปูนแคลเซียมยื่นขยายเข้าไปในชั้น tunica media และบางตัวอย่างเกาะอยู่ด้านในของ endothelium ซึ่งเป็นด้านที่อยู่ชิดกับ lumen นอกจากนี้บริเวณที่มี plaque ยังพบ cholesterol cleft ส่วนผนังชั้น tunica media พบการแทรกตัวของ collagen fiber จำนวนมากและพบ elastic fiber ที่มีลักษณะไม่สมบูรณ์ ขาดเป็นเส้นสั้นๆ กระจายอยู่ในชั้น tunica media และยังพบ smooth muscle cells ที่มีรูปร่างและการเรียงตัวที่ผิดปกติ ไม่เป็นระเบียบ

5. ผลจากการศึกษาลักษณะของ plaque ภายในผนังหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา โดยลักษณะของ plaque ภายในผนังหลอดเลือด left coronary เรียงลำดับจากมากไปน้อยได้ดังนี้ foam cell, lipid core, fibrous cap, calcifications และ cholesterol cleft ตามลำดับ ส่วน right coronary เรียงลำดับจากมากไปน้อยได้ดังนี้ foam cell, fibrous cap, lipid core, calcifications และ cholesterol cleft ตามลำดับ โดยทั้ง 2 ข้างมีเปอร์เซ็นต์ของการเกิด plaque ลักษณะต่างๆ ใกล้เคียงกัน โดย right coronary ในส่วน middle มีการเกิด plaque ลักษณะต่างๆ มากที่สุด

6. ผลจากการศึกษารูปแบบการเรียงตัวของ internal elastic lamina, external elastic lamina และ endothelial cells จากหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา พบการเรียงตัวของ internal และ external elastic lamina ใน 3 รูปแบบได้แก่ ลักษณะเป็นคลื่น (wave), แนวตรง (straight) และทั้งคลื่นรวมกับแนวตรง (wave + straight) และการเรียงตัวของ endothelial cells ที่มีทั้งต่อเนื่องและไม่ต่อเนื่อง โดยพบว่า internal elastic lamina และ external elastic lamina ของหลอดเลือด left coronary และหลอดเลือด right coronary มีลักษณะการเรียงตัวในแนวตรง (straight) มากที่สุด และส่วนใหญ่หลอดเลือด coronary ทั้งข้างซ้ายและข้างขวามีการเรียงตัวของ endothelial cells ที่ไม่ต่อเนื่อง

5.2 อภิปรายผล

1. ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางและความยาวของหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและขวา

จากการศึกษานี้ได้ศึกษาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือด coronary พบว่าหลอดเลือด left coronary มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง (6.65 ± 1.16 mm) มากกว่าหลอดเลือด right coronary (6.07 ± 0.93) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ SILVA และคณะ (2016) ที่ได้ทำการวัด external diameter ของหลอดเลือดหัวใจด้วย digital caliper จากตัวอย่างจำนวน 39 ผลจากการศึกษาพบว่าหลอดเลือด left coronary มีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง (5.55 ± 0.16 mm) มากกว่า right coronary (4.38 ± 0.15 mm, $p < 0.0001$) (31) Priyadharshini และคณะ (2016) พบว่าค่าเฉลี่ย

external diameter ของ left coronary artery มีขนาด 3.7 ± 0.45 mm ส่วน right coronary artery มีขนาด 2.8 ± 0.47 mm (32) ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ortale และคณะ (2004) ที่รายงานว่าค่าเฉลี่ยของ external diameter ของ left coronary artery มีค่า 4.6 ± 0.9 mm ส่วน right coronary artery มีค่า 3.6 ± 0.8 mm (33) Fazliogullari และคณะ (2010) พบว่าค่าเฉลี่ย external diameter ของ left coronary artery มีค่า 4.44 ± 1.79 mm ส่วน right coronary artery มีค่า 3.32 ± 0.79 mm (34) และในปี 2011 Bhimalli และคณะ รายงานค่าเฉลี่ย external diameter ของ left coronary artery ว่ามีขนาด 5.73 ± 0.74 mm ส่วน right coronary artery มีขนาด 5.38 ± 0.81 mm (35) จะเห็นได้ว่าจากหลายๆงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือด left coronary มากกว่าหลอดเลือด right coronary แสดงให้เห็นว่าหลอดเลือด left coronary มีปริมาณเลือดไหลผ่านไปเลี้ยงหัวใจได้มากกว่า right coronary แต่ left coronary จะมีปัจจัยที่ทำให้เกิด atherosclerosis ผ่านหลอดเลือดไปมากกว่า right coronary (31) โดยจากการศึกษาของ JAMES (1965) พบว่า left coronary artery และแขนง ได้แก่ anterior interventricular และ circumflex จะเกิดการอุดตันได้ถึง 72.5% ในผู้ป่วย acute myocardial infarction (36) ซึ่งขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางที่ใหญ่ จะมีจำนวนของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ (cardiomyocytes) ที่มากกว่าด้วย และ left coronary artery ยังมีหน้าที่ในการส่งอาหารในปริมาณมากไปเลี้ยงกล้ามเนื้อหัวใจทั้งใน left atrium และ left ventricle (37) ขนาดของ left ventricle มีความหนามากกว่า right ventricle เนื่องจากมีการส่งเลือดออกไปเลี้ยงส่วนต่างๆของร่างกาย จึงต้องการเลือดมาเลี้ยงมากกว่า right ventricle ด้วย นอกจากนี้ left coronary artery ยังมีส่วนสำคัญในการส่งเลือดไปเลี้ยง right ventricle ด้วย ดังนั้นหากมีการอุดตันที่หลอดเลือด left coronary จะเกิดผลกระทบที่รุนแรงได้มากกว่าการอุดตันที่หลอดเลือด right coronary (38) ปัจจัยที่สัมพันธ์กับขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือด coronary ได้แก่ อายุ, ส่วนสูง, น้ำหนักตัว, body mass index (BMI) และ body surface area (BSA) โดยทั่วไปอายุที่มากขึ้น จะมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือด coronary มากขึ้นตามไปด้วย เนื่องจากผนังหลอดเลือดมีความยืดหยุ่น (elasticity) ลดลง ทำให้หลอดเลือดไม่กลับคืนรูป (39) และโดยส่วนใหญ่ขนาดของหลอดเลือด coronary ของเพศชายจะมากกว่าเพศหญิงทั้งข้างซ้ายและข้างขวา แต่ทั้งนี้ขนาดของหลอดเลือดจะขึ้นอยู่กับ BSA มากกว่าเพศ หลอดเลือด coronary ที่มีขนาดปกติสามารถใช้เป็นแนวทางในการเลือกขนาดของลวดถ่างหลอดเลือด (stent) ในกรณีรักษาผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ ดังนั้นกรณีที่หลอดเลือดมีขนาดเล็กหรือใหญ่มากกว่าปกติจึงเสี่ยงต่อการเกิดลิ่มเลือดอุดตันภายในขดลวด (stent thrombosis) (40)

ในส่วนของความยาวของหลอดเลือดจากการศึกษานี้พบว่าหลอดเลือด right coronary มีความยาว (4.18 ± 1.20 cm.) มากกว่า left coronary (1.22 ± 0.32 cm.) ซึ่งเป็นปกติตามลักษณะทางด้านกายวิภาคของหลอดเลือด โดยหลอดเลือด right coronary มีจุดตั้งต้นจาก anterior aortic sinus ของ ascending aorta ส่วนหลอดเลือด left coronary มีจุดตั้งต้นจาก left posterior aortic sinus ของ ascending aorta จากการศึกษาของ Bhele และคณะ (2017) รายงานว่า left coronary artery ที่สั้นจะมีความยาวน้อยกว่า 5 mm ที่จัดว่ายาวจะมีความยาวมากกว่า 15 mm (41) จากการศึกษาก่อนหน้านี้รายงานความยาวของ left coronary artery ดังนี้ Kumar และคณะ (2018) ได้วัดความยาวของ left coronary artery จากจุดตั้งต้นจนถึงจุดก่อนแตกแขนง จากตัวอย่าง 78 ราย พบว่า left coronary artery มีความยาวเฉลี่ย 10.2 ± 3.5 mm (42) ผลการศึกษามีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Reig และ Petit (2004) ที่พบว่าค่าเฉลี่ยความยาวของ left coronary artery มีค่า 10.8 ± 5.52 mm (43) Kalpana (2003) พบว่าค่าเฉลี่ยความยาวของ left coronary artery อยู่ในช่วง 6-15 mm (44) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kulkarni (2013) ที่พบว่าค่าเฉลี่ยความยาวของ left coronary artery อยู่ในช่วง 5-10 mm. โดยส่วนใหญ่มีค่าเฉลี่ยความยาวอยู่ในช่วง 5 mm. คิดเป็น 76.7% ของตัวอย่างทั้งหมด (45) ซึ่งผลใกล้เคียงกับงานของ Waller และ Schlant (2011) ที่พบว่าค่าเฉลี่ยความยาวของ left coronary artery อยู่ในช่วง 6 mm. คิดเป็น 76% ของตัวอย่างทั้งหมด (46) ซึ่งผลจากการศึกษานี้พบว่าค่าเฉลี่ยความยาวของ left coronary artery ที่มีค่า 1.22 cm หรือ 12.2 mm มีค่าใกล้เคียงกับหลายงานวิจัยก่อนหน้านี้ ความยาวของหลอดเลือด coronary มีผลต่อปริมาณเลือดที่ไปเลี้ยงผนังห้องหัวใจ กรณีที่ left coronary artery ซึ่งเป็นแขนงหลักก่อนแตกไปเป็น left anterior descending และ circumflex artery มีความยาวน้อยกว่า 5 mm ถือว่าเป็นท่อที่สั้น จะส่งผลให้เลือดไปเลี้ยงร่างกายไม่เพียงพอ และในกรณีที่มีการผ่าตัดลิ้นหัวใจ จำเป็นต้องมีการสอดท่อผ่าน (cannulas) เข้าไปในหลอดเลือด ซึ่งต้องคำนึงถึงความยาวของ left coronary artery เป็นหลัก หากท่อ left coronary artery สั้นเกินไปจะมีความเสี่ยงในช่วงระหว่างการผ่าตัดลิ้นหัวใจ นอกจากนี้ left coronary artery ที่สั้นเกินไป ยังเป็นปัจจัยเสี่ยงในการพัฒนาไปเป็น coronary atherosclerosis ได้ (47) Gazetopoulos และคณะ (1976) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของ main left coronary artery และการเกิด atherosclerosis ในแขนงของ left coronary artery พบว่าผู้ป่วย coronary atherosclerosis มีความยาวของ main left coronary artery (10.28 ± 2.57 mm) สั้นกว่าผู้ที่ไม่ได้เป็น coronary artery disease (16.8 ± 4.13 mm) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) (48) เมื่อ main left coronary artery สั้น จะส่งผลให้เกิด systolic kinking คือความดันเลือดขณะหัวใจห้องล่างซ้ายบีบตัวผิดปกติ ซึ่งส่วนใหญ่พบว่าตำแหน่งที่มักเกิด atherosclerosis จะอยู่บริเวณส่วนต้นของ left anterior descending artery ซึ่ง

มีสาเหตุมาจาก systolic motion (49) และ main left coronary artery ที่มีความยาวมากกว่าจะทำให้ความดันเลือดลดลงบริเวณที่มีการแตกแขนง ซึ่งจะส่งผลให้เกิดแรงเฉือน (shear stress) ต่อหลอดเลือดลดลง ซึ่งมีผลตรงกันข้ามกับ main left coronary artery ที่สั้นกว่า (50) นอกจากนี้ยังพบว่าผู้ป่วย left ventricular hypertrophy จะมีความยาวและขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือด coronary เพิ่มมากขึ้น (51) ในส่วนของ right coronary artery โดยปกติจะมีความยาวมากกว่า main left coronary artery จากการศึกษานี้พบว่าความยาวเฉลี่ยของ right coronary artery มีค่า 4.18 ± 1.20 cm ซึ่งทั้งหมดมีจุดตั้งต้นอยู่ที่ aortic sinus ของ ascending aorta มีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Pamela และคณะ (1988) ที่ได้รายงานค่าความยาวเฉลี่ยของ right coronary artery เท่ากับ 5.6 ± 2.6 cm (52) Nguyen และคณะ (2019) ได้รายงานค่าเฉลี่ยความยาวของหลอดเลือด right coronary artery จากตัวอย่างชาวเวียดนามพบว่ามีค่า 64.41 mm. \pm 14.62 mm (6.44 cm) (53) Reddy และ Pusala (2016) รายงานค่าเฉลี่ยความยาวของ right coronary artery จากตัวอย่างชาวอินเดียพบว่ามีค่าเฉลี่ยความยาวอยู่ในช่วง 100 – 130 mm หรือ 10-13 cm (54) ข้อมูลพื้นฐานทางด้านกายวิภาคของหลอดเลือด coronary ทั้งขนาดและความยาว รวมถึงการแตกแขนงของหลอดเลือด มีความสำคัญสำหรับอายุรแพทย์หัวใจ (cardiologist) และการทำ coronary angiograms โดยรังสีแพทย์ (radiologist) (54)

2. ความหนาของผนังหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา

ในการศึกษานี้พบการหนาตัวของผนังชั้น tunica intima ทั้งในหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา จากร่างอาจารย์ใหญ่ทั้งหมด 20 ร่างที่มีอายุมากกว่า 50 ปีขึ้นไป ซึ่งผลจากการศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Deopujar และ Dixit (2010) ที่ได้ศึกษาความหนาของผนังหลอดเลือด coronary ในผู้เสียชีวิตจำนวน 80 ร่างที่มีอายุอยู่ในช่วง 10-60 ปี ผลจากการศึกษาพบว่าผนังหลอดเลือดชั้น tunica intima มีความหนาเพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่อายุ 40 ปีขึ้นไป ซึ่งอาจจะนำไปสู่การเกิด atherosclerosis (23) ซึ่งได้มีงานวิจัยหลายงานที่สนับสนุนว่าอายุที่มากขึ้นเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้ผนังหลอดเลือดมีความหนาเพิ่มขึ้น ในปี 1981 Velican ได้ศึกษาความหนาของผนังหลอดเลือด coronary ในศพผู้ที่เสียชีวิตจากอุบัติเหตุ พบว่าค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือดเพิ่มขึ้นจาก 0.037 mm ในทารกไปจนถึง 0.184 mm ในผู้ใหญ่ที่มีอายุ 36-40 ปี (55) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ozolanta และคณะ (1998) ได้ศึกษาความหนาของผนังหลอดเลือดในผู้เสียชีวิตที่ไม่ได้มีสาเหตุจากโรคหลอดเลือดหัวใจ พบว่าค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด right coronary เพิ่มสูงขึ้นเมื่ออายุมากขึ้นโดยมีค่า 0.40 ± 0.13 mm ในช่วงอายุ 8-19 ปี และมีค่า 0.78 ± 0.20 mm ในช่วงอายุ 60-80 ปี (56) จากการศึกษานี้พบว่ามีค่าเฉลี่ยผนังหลอดเลือด left coronary มีค่า $1338.397 \pm$

1056.073 μm และ right coronary มีค่าเฉลี่ยความหนารวมทั้ง 3 ส่วนเท่ากับ $1501.912 \pm 584.257 \mu\text{m}$ (ประมาณ 1.34 mm และ 1.50 mm ตามลำดับ) แสดงให้เห็นว่าเมื่ออายุมากขึ้นผนังหลอดเลือดจะมีความหนาเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจจะเกิด atherosclerosis จนนำไปสู่การตีบตันของหลอดเลือดได้ จากการศึกษาของ Zahi และคณะ (2000) ได้ศึกษาค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือดด้วยวิธี MRI จากตัวอย่างสุขภาพปกติ อายุเฉลี่ย 30 ปีเปรียบเทียบกับผู้ป่วยหลอดเลือดหัวใจตีบที่มีอายุเฉลี่ย 68 ปี พบว่าผู้ที่มีสุขภาพปกติมีค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด $0.75 \pm 0.17 \text{ mm}$ ส่วนผู้ป่วยหลอดเลือดหัวใจตีบมากกว่า 40% มีค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด $4.38 \pm 0.71 \text{ mm}$ (57) ผลสอดคล้องกับงานวิจัยของ Botnar และคณะ (2000) ที่ได้วัดความหนาของผนังหลอดเลือด right coronary ด้วยวิธี MRI ในกลุ่มตัวอย่างสุขภาพดี อายุเฉลี่ย 35 ± 17 ปี เปรียบเทียบกับผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจ (coronary artery disease : CAD) อายุเฉลี่ย 60 ± 4 ปี พบว่าความหนาของผนังหลอดเลือดในผู้ป่วย CAD มีค่า $1.5 \pm 0.2 \text{ mm}$ ซึ่งมีค่ามากกว่าผู้ที่มีสุขภาพดี ($1.0 \pm 0.2 \text{ mm}$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.004$) และยังพบว่า middle right coronary artery เกิดการอุดตัน 100% เกิดจากการหนาตัวของ plaque ในลักษณะ eccentric (58) จะเห็นได้ว่าอายุเป็นปัจจัยสำคัญในการเพิ่มขึ้นของความหนาผนังหลอดเลือด แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาค่าความหนาของผนังหลอดเลือดด้วยวิธีการ ultrasound และ histological examination จะแสดงค่าที่แตกต่างกัน เนื่องจากขั้นตอนของ histological examination ต้องผ่านกระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อ ได้แก่ fixation, dehydration, clearing และ infiltration ซึ่งต้องผ่านน้ำยาเคมีหลายชนิดจึงทำให้หลอดเลือดเกิดการหดตัว ความหนาที่ได้จึงมีค่าน้อยกว่าการศึกษาด้วยวิธี ultrasound หรือ MRI ดังจะเห็นได้จากงานวิจัยของ Benjamin และคณะ (1990) ที่ได้ศึกษาค่าความหนาของผนังหลอดเลือด coronary เปรียบเทียบระหว่างวิธี ultrasound และ histological analysis พบว่าความหนาของผนังหลอดเลือดที่วัดจากวิธี ultrasound วัดได้ $0.75 \pm 0.38 \text{ mm}$ ส่วนวิธี histological analysis วัดได้ $0.61 \pm 0.36 \text{ mm}$ (59) ในสภาวะปกติผนังชั้น tunica intima ไม่มีหลอดเลือดฝอยและจะได้รับอาหารโดยการแพร่ ดังนั้นออกซิเจนรวมทั้งสารอาหารอื่นๆ รวมถึงไขมันในเลือดที่ละลายน้ำได้ต้องแพร่จาก lumen เข้าไปยังเซลล์ที่อยู่ในผนังชั้น intima และเมื่อมีการหนาตัวของผนังชั้น intima ที่มากขึ้นจะทำให้กลไกการแพร่ดังกล่าวผิดปกติ ส่งผลให้เซลล์ในผนังหลอดเลือดได้รับ oxygen tension ไม่เพียงพอ ก่อให้เกิด metabolic stress ต่อ endothelium ส่งผลให้เกิด endothelial dysfunction ซึ่งความผิดปกติในการทำหน้าที่ของ endothelial cells นี้ถือเป็นจุดเริ่มต้นของการเกิดภาวะ atherosclerosis (24) ส่วนผนังชั้น tunica media จะมีความหนาเพิ่มขึ้นไปจนถึงอายุ 40 ปีหลังจากนั้นจะเริ่มบางลง เนื่องจากเมื่ออายุมากขึ้นจะเกิด medial fibrosis ซึ่งจะมีปริมาณของ collagen และ ground substance ในชั้น media มากขึ้น แต่เมื่ออายุมากกว่า 40 ปีขึ้นไปชั้น media ของ

หลอดเลือดจะฝ่อหรือบางลง (60) โดยปกติ endothelium มีความสำคัญในการรักษาภาวะสมดุลของหลอดเลือด (vascular homeostasis) รวมทั้งทำหน้าที่ควบคุมความดันเลือด กระตุ้นการสร้างหลอดเลือด ควบคุมการแข็งตัวของเลือด และทำหน้าที่กั้นสารระหว่างเลือดกับผนังหลอดเลือด (61) นอกจากนี้ endothelium ยังทำหน้าที่สร้างและหลั่งสารที่ขยายหลอดเลือด ได้แก่ ไนตริก ออกไซด์ (nitric oxide, NO) ภาวะ oxidative stress และการอักเสบเป็นปัจจัยสำคัญในการทำให้เกิด endothelial dysfunction ในผู้สูงอายุทั้งเพศชายและเพศหญิง ซึ่งความผิดปกติในการทำหน้าที่ของ endothelial cells ถือเป็นจุดเริ่มต้นของการหนาตัวของผนังหลอดเลือด จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่ามีอายุมากขึ้นจะเกิดภาวะ oxidative stress และพบ inflammatory proteins ในเลือดสูงขึ้น ประกอบด้วย proinflammatory cytokines เช่น interleukin (IL)-6, tumor necrosis factor alpha (TNF- α) และ monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) (62) ส่งผลให้ endothelial cells หลั่งไนตริกออกไซด์ลดลง และมีการส่งเสริมให้เกิดการเคลื่อนตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาว โดยเฉพาะ monocytes เข้ามาในผนังหลอดเลือดบริเวณที่ได้รับบาดเจ็บหรืออักเสบ ซึ่งจะทำหน้าที่เป็น macrophage จับกินไขมัน การเพิ่มจำนวนและเคลื่อนตัวเข้ามาในผนังหลอดเลือดของ macrophage เป็นลักษณะของการพัฒนาจาก pathological intimal thickening (PIT) ไปเป็น fibroatheroma stage (61) และผลจากการสร้างไนตริกออกไซด์ลดลง จะไปกระตุ้น smooth muscle cells ให้มีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนและมีการเคลื่อนตัวไปยังผนังหลอดเลือดชั้น tunica intima ทำให้เกิดการหนาตัวของผนังหลอดเลือดจนเกิดการปิดกั้นการไหลเวียนของเลือด (63) ทั้งนี้ การเพิ่มขึ้นของ smooth muscle cells ในชั้น tunica intima ยังเป็นไปตามอายุที่มากขึ้น (64) เนื่องจากเมื่ออายุมากขึ้น vascular smooth muscle cells จะเปลี่ยนจากสภาวะ contractile ไปเป็น synthetic คือจะมีการเพิ่มจำนวนเซลล์กล้ามเนื้อและมีการเคลื่อนที่ไปยังผนังชั้น tunica intima ส่งผลให้ผนังหลอดเลือดหนาตัวขึ้น (65) นอกจากนี้เมื่อ endothelial cells ถูกกระตุ้นให้เกิดการบาดเจ็บจะทำให้การทำหน้าที่ของ endothelial cells ในการเป็น barrier ให้กับผนังหลอดเลือดผิดปกติ สารไขมันจึงสามารถซึมผ่านจาก lumen เข้าไปในผนังหลอดเลือดได้ และยิ่งไปกระตุ้นให้ smooth muscle cells แบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้น และเคลื่อนตัวไปยังผนังชั้น tunica intima (66) เมื่ออายุมากขึ้น จะมีการแสดงออกของ pro-proliferative และ migratory factors ประกอบด้วย matrix-degrading metalloproteinases (MMPs), monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), และ platelet-derived growth factor receptor (PDGFR) ซึ่งจะไปกระตุ้นให้เกิดการเพิ่มจำนวนของ smooth muscle cells และมีการเคลื่อนตัวไปยังชั้น tunica intima เป็นจำนวนมากทำให้ tunica intima หนาตัวขึ้น นอกจากสารไขมันแล้ว ยังมี monocytes และ T-lymphocyte เข้ามายึดติดกับ endothelial cells (67) จากนั้นจะมีเซลล์ macrophage เข้ามาจับ

กินไขมันทำให้ตัวเซลล์ macrophage กลายสภาพไปเป็น foam cells ซึ่งจะมีไขมันสะสมภายในเซลล์จำนวนมาก ส่งผลให้ผนังหลอดเลือดชั้น tunica intima หนาตัวขึ้นกว่าปกติ นอกจากนี้ smooth muscle cells ที่เคลื่อนตัวเข้ามาก็ทำหน้าที่จับกินไขมันและกลายเป็น foam cells เช่นกัน ปัจจัยที่ทำให้เกิดการหนาตัวของผนังหลอดเลือดที่สำคัญคือ LDL ซึ่งเมื่อเข้าสู่ร่างกายจะเปลี่ยนเป็นสาร oxidized LDL ทำให้เกิดการอักเสบของ endothelial cells และเหนี่ยวนำให้ endothelial cells และ smooth muscles cells มีการสร้างและหลั่ง adhesion molecules, chemoattractants และ growth factors ไปกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของ monocyte มากขึ้นและกระตุ้นให้ monocyte มายังบริเวณที่มีการอักเสบ รวมทั้งเปลี่ยนแปลงตัวเองไปเป็น macrophage (68) LDL ที่เข้ามาในชั้น tunica intima จะถูกกักเก็บอยู่ภายในร่างแห proteoglycans โดยอาศัยการจับกันระหว่างประจุบวกของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของ LDL กับประจุลบของ proteoglycans ซึ่งเป็น extracellular matrix ของผนังหลอดเลือด ซึ่งถือเป็นสาเหตุสำคัญที่จะทำให้เกิดภาวะ atherosclerosis (69) ไขมันที่สะสมอยู่ภายในผนังหลอดเลือดชั้น tunica intima จะมีการรวมตัวทับถมกันเกิดเป็น lipid core ซึ่งเป็นแกนของไขมัน และมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมาล้อมรอบเรียกว่า fibrous plaque ทำให้ช่องว่างภายในหลอดเลือดตีบแคบลง

3. ลักษณะทางจุลพยาธิและพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา

ในการศึกษาลักษณะทางจุลพยาธิและพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา จากร่างอาจารย์ใหญ่จำนวน 20 ร่างพบลักษณะความผิดปกติเกิดขึ้นในผนังหลอดเลือด โดยเฉพาะชั้น tunica intima โดยลักษณะที่พบมีดังนี้คือ foam cell, fibrous cap, lipid core, calcifications และ cholesterol cleft ซึ่งการเกิดพยาธิสภาพลักษณะต่างๆ พบว่ามีความใกล้เคียงกันระหว่างหลอดเลือด right coronary กับหลอดเลือด left coronary ผลจากการศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Bhanvadia และคณะ (2013) ที่ได้ศึกษาลักษณะพยาธิสภาพและได้ประเมินระดับความรุนแรงของรอยโรค atherosclerotic ในหลอดเลือด coronary ตามข้อมูลของ American Heart Association (AHA) ซึ่งได้ทำการศึกษาในหลอดเลือด left anterior descending (LAD), left circumflex artery (LCA), and right coronary artery (RCA) ของผู้ที่เสียชีวิต ที่มีอายุอยู่ในช่วง 8-79 ปี ผลจากการศึกษาส่วนใหญ่พบรอยโรคในระยะ intimal xanthoma มากที่สุดทั้งใน 3 หลอดเลือดในช่วงกลุ่มอายุ 40-49 ปี ซึ่งเป็นระยะที่มีการสะสมของ foam cells จำนวนมากบริเวณ lumen ของหลอดเลือด แต่ไม่พบ necrotic core หรือ fibrous cap และไม่มีการ thrombosis ส่วนในช่วงกลุ่มอายุ 40-79 ปี จะรอยโรคระยะ fibrous cap atheroma ซึ่งเป็นแบบ advanced

atherosclerotic โดยจะพบ necrotic core ที่ถูกคลุมด้วย fibrous cap แต่ไม่มีการ thrombosis โดยพบใน LCA มากที่สุด (25) และในปี 2012 Thej และคณะได้ศึกษาลักษณะพยาธิสภาพของ left anterior descending artery (LAD), left circumflex artery (LCA), right coronary artery (RCA), ascending aorta (AA), thoracic aorta (TA) และ abdominal aorta (AbA) ในผู้เสียชีวิต อายุอยู่ในช่วง 8-85 ปี โดยประเมินระดับความรุนแรงของรอยโรคตามข้อกำหนดของ American Heart Association (AHA) พบรอยโรคของ atherosclerotic ใน LAD มากที่สุด และพบจำนวนของ thin fibrous cap atheromas, erosion, thrombus และ inflammation มากที่สุดใน RCA แสดงให้เห็นว่าพบ plaque ที่เสี่ยงต่อการแตก หรือ vulnerable plaques ในหลอดเลือด coronary ข้างขวา มากกว่าข้างซ้าย และพบการเกิดรอยโรคในเพศชายมากกว่าเพศหญิง (24) จากการศึกษาี้แสดงให้เห็น atherosclerosis มีระดับความรุนแรงมากขึ้นตามระดับของอายุ และเกิดขึ้นได้ตั้งแต่วัยรุ่นและพัฒนาระดับความรุนแรงต่อไปในช่วงอายุที่มากขึ้น ลักษณะทางพยาธิสภาพที่พบได้ในผนังหลอดเลือดเป็น รอยโรคที่เรียกว่า atherosclerotic plaque ซึ่งเป็นพยาธิสภาพของ atherosclerosis สาเหตุสำคัญของการเกิด atherosclerosis คือมีการสะสมของคลอเลสเตอรอลในเลือดสูง ซึ่งจะถูกขนส่งในกระแสเลือดในรูปของ lipoprotein ชนิด LDL (low density lipoprotein) และเมื่อ LDL ถูกออกซิไดซ์โดยอนุมูลอิสระ จะไปส่งผลให้ผนังหลอดเลือดมีการอักเสบ และถูกทำลาย การอักเสบนี้จะไปกระตุ้นให้ endothelial cells และ smooth muscle cells มีการหลั่งสาร adhesion molecules, chemoattractants and growth factors ซึ่งจะไปมีผลกระตุ้นการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาว ให้แบ่งตัวเพิ่มจำนวน และเคลื่อนที่มายังบริเวณที่มีการอักเสบ (70) จากนั้น oxidized LDL จะจับกับ scavenger receptor บนผิวเซลล์ macrophage และถูกจับกิน ทำให้ macrophage กลายสภาพไปเป็น foam cells เกาะติดอยู่ที่ผนังหลอดเลือด (71) ซึ่งหากมีการสะสมมากๆ อาจจะทำให้เกิดการอุดตันของหลอดเลือดได้ ในระยะนี้สามารถมองเห็นรอยโรคด้วยตาเปล่าได้ คือจะเห็นลักษณะเป็นปื้นสีเหลืองบนผิวหน้าของผนังหลอดเลือด โดยอาจเป็นปื้นแบนราบหรือยกสูงเล็กน้อย เรียกลักษณะดังกล่าวว่า fatty streak ซึ่งมักจะพบในระยะต้นของ atherosclerosis (72) โดยจากการศึกษาลักษณะพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือด coronary จากร่างอาจารย์ใหญ่ทั้ง 20 ร่างนี้พบ plaque ในลักษณะต่างๆ โดยที่พบมากที่สุดคือ foam cells ทั้งใน left coronary และ right coronary ทั้ง 3 ส่วน ซึ่งการสะสมของ foam cells เป็นเวลานานจะกลายเป็น atherosclerotic plaque ได้ ลักษณะของ atherosclerotic plaque ประกอบด้วย fibrous cap คลุมอยู่ด้านบน lipid core หรือไขมันแกน และองค์ประกอบอื่นๆ ได้แก่ ไซโตเซลล์, ผลิต cholesterol และ foam cells โดยส่วนใหญ่จะพบพยาธิสภาพลักษณะต่างๆ พร้อมกันในแต่ละตำแหน่งเดียวกัน หรือหลายๆตำแหน่งในหลอดเลือดเดียวกัน เรียกว่า multifocal disease บางบริเวณพบ

เฉพาะ foam cells ในผนังชั้น tunica intima ซึ่งระยะนี้เรียกว่า intimal xanthoma ซึ่งเป็นระยะที่กลับสู่สภาพปกติได้หากสิ่งกระตุ้นหมดไป (72) ในกรณีที่ xanthoma มีการพัฒนาต่อไปลักษณะพยาธิสภาพที่พบคือจะมีการสะสมของไขมันจำนวนมากในชั้น tunica intima เป็น lipid pools ขนาดเล็กใต้ชั้นของ foam cells (73) เรียกลักษณะความผิดปกตินี้ว่า pathological intimal thickening คือมีการหนาตัวของผนังหลอดเลือด โดยที่ยังไม่พบการเกิด necrosis ของเซลล์ (21) ในบางบริเวณพบ necrotic core เรียกโรคนี้ว่า fibroatheroma บริเวณนี้จะพบ apoptosis และ necrosis ของ foam cells และ smooth muscle cells (74) นอกจากนี้ยังมีไขมันในรูป cholesterol esters ซึ่งเป็นไปได้ว่าเกิดจากปฏิกิริยาการ catalyze ของ macrophage ต่อ LDL ทำให้มีปริมาณของ free cholesterol ที่สูงในบริเวณของ necrotic core (75) ด้านบนของ necrotic core จะคลุมด้วย fibrous cap ซึ่งเป็นชั้นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วย collagen ส่วนใหญ่เป็น type I collagen, elastin, proteoglycans ร่วมกับเซลล์ lymphocytes, macrophage และ smooth muscle cells จากการศึกษาพบการเกิด fibroatheroma ในบางบริเวณของหลอดเลือด coronary ซึ่งทำให้ผนังหลอดเลือดหนาตัวมากกว่าปกติ ทำให้ smooth muscle cells ในชั้น tunica media ได้รับเลือดไปเลี้ยงน้อยลงเพราะมี atheroma ขวางการแพร่ของเลือด ส่งผลให้ชั้น tunica media เกิดการ atrophy ส่วนบางบริเวณพบว่ามีการแคลเซียมมาเกาะบริเวณผนังด้านใน ส่งผลให้มีการหลุดลอกของ endothelial cells โดยปกติการเกิด calcification ในหลอดเลือดแบ่งออกเป็น 2 ประเภทขึ้นอยู่กับตำแหน่งที่พบ โดยจะพบได้ในผนังชั้น tunica intima และ tunica media การเกิด calcification ที่ผนังชั้น tunica media มักพบได้ในหลอดเลือดแขนงปลายของขา ซึ่งจะมีผลทำให้หลอดเลือดสูญเสียความยืดหยุ่น และมักจะพบได้ในผู้ป่วย peripheral vascular disease ซึ่งโรคนี้จะพัฒนาได้เร็วขึ้นในภาวะแคลเซียมในเลือดสูง การทำงานของไตล้มเหลว ฮอร์โมนพาราไทรอยด์ทำงานผิดปกติ ส่วน intimal calcification หรือการเกิดแคลเซียมในชั้น tunica intima จะพบได้มากในหลอดเลือด coronary (76) ซึ่งมีหลายงานวิจัยรายงานว่า การเกิด intimal calcification มีปัจจัยเสี่ยงได้แก่กับอายุที่เพิ่มขึ้น โรคเบาหวาน โรคไขมันในเลือดสูง ความดันเลือดสูง เพศชาย ควันบุหรี่ และโรคไต (77) Wong และคณะ (1994) รายงานว่าพบการเกิด coronary artery calcification (CAC) ในเพศชายมากกว่า 90% และเพศหญิง 67% ในผู้ที่มีอายุ 70 ปีขึ้นไป และมีความดันเลือดสูง มี LDL สูง HDL ต่ำ คนในครอบครัวมีประวัติเป็น CAC โรคไตเรื้อรัง มีปริมาณ fibrinogen และ C-reactive protein สูง ปัจจัยเหล่านี้มีผลทำให้หลอดเลือดแข็งขึ้นจากการอักเสบเรื้อรังและกลายเป็นแคลเซียมไปเกาะที่หลอดเลือด ทำให้หลอดเลือดสูญเสียความยืดหยุ่น เกิดการตีบของหลอดเลือดได้ (78) ในการศึกษาพบการเกิด calcification ทั้งในหลอดเลือด left coronary และ right coronary โดยส่วนใหญ่พบในชั้น tunica intima ซึ่งสอดคล้องกับ

งานวิจัยของ Demer และคณะ (2008) ที่ได้พบว่าส่วนใหญ่การเกิด atherosclerotic calcification มักพบในผนังชั้น tunica intima โดยสารก่อการอักเสบ (inflammatory mediators) และปริมาณไขมันที่สูงที่สะสมใน atherosclerotic lesions เป็นตัวเหนี่ยวนำให้ vascular smooth muscle cells เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์สร้างกระดูก (osteogenic differentiation) (79) การถูกกระตุ้นด้วย atherogenic stimuli เช่น inflammatory cytokines, oxidized lipids จะมีผลทำให้เกิด matrix calcification ภายในหลอดเลือด (80) เมื่ออายุมากขึ้นมีผลทำให้เกิดการสะสมของตะกอนหินปูน แคลเซียมเพิ่มขึ้น ซึ่งเกิดจากการจับของแคลเซียมไอออนกับเส้นใย elastic ให้เกิด calcification (81) นอกจากนี้การเกิด oxidant stress ยังส่งผลให้เกิดการสะสมของแคลเซียมในหลอดเลือดได้เช่นกัน (82) โดยการเกิด calcification จะเริ่มจาก microcalcification คือเป็นแคลเซียมขนาดเล็ก มักพบบริเวณที่มีการหนาตัวของผนังหลอดเลือดชั้นใน (pathological intimal thickening) จะมีขนาดตั้งแต่ 0.5-15.0 μm เกิดขึ้นจากการตายแบบ apoptosis ของ smooth muscle cells (83) ในระยะตั้งต้นของการเกิด plaque ของหลอดเลือด coronary จะพบการแสดงออกของโปรตีนที่ส่งเสริมการเกิดการสะสมแคลเซียมในผนังหลอดเลือดได้แก่ osteopontin และ matrix Gla protein ในตำแหน่งของ microcalcification (84) การสะสมของแคลเซียมจะพัฒนาจนกลายเป็นคราบหินปูน (calcified plaques) เกาะตามหลอดเลือดได้ มีลักษณะเป็นแผ่นของแคลเซียม (calcified sheets) ซึ่งแผ่นแคลเซียมอาจจะเกิดการแตกหักจนเกิดเป็นการสร้างเป็นก้อนแคลเซียม (nodular calcification) ซึ่งก้อนแคลเซียมเหล่านี้อาจจะขยายเข้าไปใน lumen หรือชั้น tunica media ได้ การขยายตัวของ nodule จะทำให้เกิดการเรียงตัวที่ไม่ต่อเนื่องของ endothelial cells, collagen matrix และอาจก่อให้เกิดลิ่มเลือดอุดตันใน lumen ของหลอดเลือดได้ ซึ่งมีรายงานพบว่า calcified nodule ก่อให้เกิด coronary artery thrombosis ได้ 2-7% ส่วน carotid artery thrombosis พบได้ 4-14% (76) นอกจากนี้ในการศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาลักษณะพยาธิสภาพของ internal และ external elastic lamina โดยการย้อมด้วย Verhoeff-Van Gieson stain ซึ่งผลจากการศึกษาพบส่วนใหญ่ทั้ง internal และ external elastic lamina มีลักษณะเป็นแถบตรงและคลื่น โดยพบรูปแบบการเรียงตัวแบบตรงมากกว่า ทั้งในหลอดเลือด coronary ข้างซ้ายและข้างขวา และพบลักษณะความผิดปกติได้แก่ เกิดการเรียงตัวซ้อน (reduplication), แตกเป็นเศษๆ (fragmentation) และขาด หลุดจากกัน (fraying) ซึ่งผลจากการศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Deopujari และ Dixit (2010) ที่ได้ศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของหลอดเลือด coronary จากกลุ่มตัวอย่างที่มีช่วงอายุอยู่ในช่วง 10-60 ปี พบลักษณะที่ผิดปกติของ elastic lamina ได้แก่ reduplication, fraying และ fragmentation (23) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้บ่งบอกถึงการสึกหรอหรือการเสื่อมสภาพทางสรีรวิทยาของผนังหลอดเลือดเมื่ออายุเพิ่มมากขึ้น (85) และพบว่า elastic

fibers มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นไปจนถึงอายุ 40 ปีและหลังจากนั้นจะน้อยลง ซึ่ง elastic fiber จะทำหน้าที่รักษาแรงดึงของผนังหลอดเลือด ช่วยให้ผนังหลอดเลือดมีความยืดหยุ่น แต่เมื่ออายุมากกว่า 40 ปีขึ้นไปจะเกิด medial fibrosis ขึ้นภายในผนังหลอดเลือดทำให้ปริมาณของ elastic fiber น้อยลง (23) และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Waller และคณะ (1992) ที่รายงานว่าเมื่ออายุมากขึ้นจะทำให้ internal elastic lamina ของผนังหลอดเลือด coronary เกิดการ fragmented, duplicated (86) ในปี 2018 Pranjali และ Sachin ได้ศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของผนังหลอดเลือด coronary จากกลุ่มตัวอย่างที่มีช่วงอายุตั้งแต่ 1-80 ปี จากการศึกษาพบความเสียหายหรือเสื่อมสภาพของ internal elastic lamina โดยแบ่งระดับความรุนแรงออกเป็น 4 grade โดย grade-1 พบการ split ของ internal elastic lamina, grade-2 พบว่า internal elastic lamina แยกออกจากกัน ไม่ต่อเนื่อง แต่ยังมีส่วนที่ต่อเนื่องมากกว่าครึ่งของหลอดเลือด, grade-3 internal elastic lamina แยกออกจากกัน ไม่ต่อเนื่อง มากกว่าครึ่งของหลอดเลือด และ grade-4 ไม่พบการเรียงตัวของ internal elastic lamina โดยระดับความรุนแรงของความเสียหายของ internal elastic lamina จะมากขึ้นตามช่วงอายุที่สูงขึ้น (29) ซึ่งกล่าวได้ว่าเมื่ออายุมากขึ้น ผนังหลอดเลือดชั้น tunica intima จะมีความหนาเพิ่มขึ้น และเป็นผลทำให้ระดับความเสื่อมสภาพของ internal elastic lamina มากขึ้นตามไปด้วย (28) จึงจะเห็นได้ว่าการเรียงตัวที่ไม่ต่อเนื่องของ internal elastic lamina มีความสัมพันธ์กับความหนาของผนังหลอดเลือดชั้น tunica intima ที่เพิ่มขึ้น เนื่องจาก internal elastic lamina เป็นทางกั้นระหว่าง endothelium ของผนังชั้น tunica intima กับ smooth muscle cells ของผนัง ดังนั้นเมื่อ internal elastic lamina มีการเรียงตัวที่ไม่ต่อเนื่องจึงเป็นสาเหตุในการเคลื่อนตัวของ myocytes จาก ชั้น tunica media มายังชั้น tunica intima และกระตุ้นให้เกิด atherosclerosis (54) อัตราการเจริญของ smooth muscle cells ส่งผลต่อแรงดึงของผนังหลอดเลือด (87) จากการเปลี่ยนแปลงของ medial smooth muscle cells จากชนิด contractile ไปเป็น synthetic จะส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อ internal elastic lamina และเพิ่มแรงดึงบนผนังหลอดเลือด (88) และจากการศึกษานี้พบลักษณะของ internal elastic lamina เป็นแนวตรง (straight) มากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Shembekar และคณะ (2016) ที่ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของ internal elastic lamina ของหลอดเลือด coronary ในผู้เสียชีวิตที่มีอายุ 40 ปีขึ้นไป พบการ stretching และ fragmentation ของ internal elastic lamina แสดงให้เห็นว่าเมื่ออายุมากขึ้นจะส่งผลให้ internal elastic lamina เกิดการยึดตัวมากขึ้น (28) และการสลายของ reduplicated internal elastic lamina จะทำให้เกิดความเสียหายในการยึดเกาะของ endothelial cells ทำให้เซลล์สูญหาย และกลายเป็นบริเวณว่างเปล่า (bare areas) ซึ่งจะทำให้มีการแทรกตัวของ lipoprotein เข้ามาภายในผนังหลอดเลือดมากขึ้น จนกลายเป็น atherosclerotic

lesions (89) นอกจากนี้อายุที่มากขึ้นยังมีผลทำให้เกิดการ fragmentation, calcification matrix metalloproteinase (MMP)-degradation ของเส้นใย elastic (90) ทำให้เส้นใย elastic สูญเสีย การทำหน้าที่ และส่งผลให้เส้นใย collagen เกิดการแข็งตัว เป็นผลให้หลอดเลือดแข็งตัวในที่สุด

5.3 ข้อเสนอแนะ

1. ข้อมูลจากการศึกษานี้ทำให้ทราบการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางจุลกายวิภาคและทราบ ลักษณะทางพยาธิสภาพ รวมทั้งลักษณะการเกิด plaque ของผนังหลอดเลือด coronary จากร่าง อาจารย์ใหญ่ที่มีอายุตั้งแต่ 50 ปีขึ้นไป ซึ่งสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้เป็นข้อมูลประกอบการเรียนการสอนทางด้านพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือดและประยุกต์ใช้ในการวิจัยต่อไป

2. ศึกษาแยกระดับความรุนแรงของลักษณะพยาธิสภาพภายในผนังหลอดเลือดที่พบ

บรรณานุกรม

1. Yoshizumi M, Abe J, Tsuchiya K, Berk BC, Tamaki T. Stress and vascular responses: atheroprotective effect of laminar fluid shear stress in endothelial cells: possible role of mitogen-activated protein kinases. *Journal of pharmacological sciences*. 2003;91(3):172-6.
2. Tabas I. Nonoxidative modifications of lipoproteins in atherogenesis. *Annual review of nutrition*. 1999;19:123-39.
3. Powell JT. Vascular damage from smoking: disease mechanisms at the arterial wall. *Vascular medicine*. 1998;3(1):21-8.
4. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*. 1993;362(6423):801-9.
5. Chaudhry R, Bhimji SS. Anatomy, Thorax, Heart Arteries. *StatPearls*. Treasure Island (FL)2018.
6. Waller BF, Orr CM, Slack JD, Pinkerton CA, Van Tassel J, Peters T. Anatomy, histology, and pathology of coronary arteries: a review relevant to new interventional and imaging techniques--Part I. *Clinical cardiology*. 1992;15(6):451-7.
7. Waller BF. The eccentric coronary atherosclerotic plaque: morphologic observations and clinical relevance. *Clinical cardiology*. 1989;12(1):14-20.
8. Holzapfel GA, Sommer G, Gasser CT, Regitnig P. Determination of layer-specific mechanical properties of human coronary arteries with nonatherosclerotic intimal thickening and related constitutive modeling. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2005;289(5):H2048-58.
9. Toborek M, Kaiser S. Endothelial cell functions. Relationship to atherogenesis. *Basic research in cardiology*. 1999;94(5):295-314.
10. MA Gimbrone Jr and García-Cardeña G. Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis. *Circulation research*. 2016;4(19):620-636.

บรรณานุกรม (ต่อ)

11. Linton MF, Yancey PG, Davies SS, Jerome WGJ, Linton EF, Vickers KC. The Role of Lipids and Lipoproteins in Atherosclerosis. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, Feingold KR, Grossman A, Hershman JM, et al., editors. Endotext. South Dartmouth (MA)2000.
12. Yang JW, Cho KI, Kim JH, Kim SY, Kim CS, You GI, et al. Wall shear stress in hypertensive patients is associated with carotid vascular deformation assessed by speckle tracking strain imaging. *Clinical hypertension*. 2014;20:10.
13. Bokhoven C, Niessen HJ. Amounts of oxides of nitrogen and carbon monoxide in cigarette smoke, with and without inhalation. *Nature*. 1961;192:458-9.
14. Hoffmann D, Hecht SS, Orna RM, Wynder EL, Tso TC. Chemical studies on tobacco smoke. XLII. Nitrosornicotine: presence in tobacco, formation and carcinogenicity. *IARC scientific publications*. 1976(14):307-20.
15. Coppack SW. Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. *The Proceedings of the Nutrition Society*. 2001;60(3):349-56.
16. Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis. the road ahead. *Cell*. 2001;104(4):503-16.
17. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *The New England journal of medicine*. 2005;352(16):1685-95.
18. Insull W, Jr. The pathology of atherosclerosis: plaque development and plaque responses to medical treatment. *The American journal of medicine*. 2009;122(1):S3-S14.
19. ศันสนีย์ วงศ์ไวศยวรรณ, บรรณาธิการ. ตำราพยาธิวิทยากายวิภาค เล่ม 1. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร; 2555.
20. Vink A, Schoneveld AH, Poppen M, de Kleijn DP, Borst C, Pasterkamp G. Morphometric and immunohistochemical characterization of the intimal layer throughout the arterial system of elderly humans. *Journal of anatomy*. 2002;200(1):97-103.
21. Dalager S, Paaske WP, Kristensen IB, Laurberg JM, Falk E. Artery-Related Differences in Atherosclerosis Expression Implications for Atherogenesis and Dynamics in Intima-Media Thickness. *Stroke*. 2007;38:2698-2705.

บรรณานุกรม (ต่อ)

22. Kume T, Okura H, Kawamoto T, Akasaka T, Toyota E, Neishi Y, Watanabe N, Sukmawan R, Yamada R, Sadahira Y, Yoshida K. Assessment of the Histological Characteristics of Coronary Arterial Plaque With Severe Calcification. *Circulation Journal*.2007;71:643-647.
23. Deopujari R, Dixit A. The Study of Age Related Changes in Coronary Arteries and its Relevance to the Atherosclerosis. *J. Anat. Soc. India*. 2010;59(2):192-196.
24. Thej MJ, Kalyani R, Kiran J. Atherosclerosis in coronary artery and aorta in a semi-urban population by applying modified American Heart Association classification of atherosclerosis: An autopsy study. *Journal of Cardiovascular Disease Research*.2012;3(4):265-271.
25. BhanVadia VM, Desai NJ, Agarwal NM. Study of Coronary Atherosclerosis by Modified American Heart Association Classification of Atherosclerosis-An Autopsy Study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2013;7(11): 2494-2497.
26. Abedinzadeh N, Pedram B, Sadeghian Y, Nodushan SM, Gilasgar M, Darvish M, Mokarizadeh A. A histopathological analysis of the epidemiology of coronary atherosclerosis: an autopsy study. *Diagnostic Pathology*. 2015;10:87.
27. Porwal V, Khandelwal S, Jain D, Gupta S. Histological Classification of Atherosclerosis and Correlation with Ischemic Heart Disease: A Autopsy Based Study. *Annals of Pathology and Laboratory Medicine*. 2016;3(2):100-104.
28. Shembekar S, Meshram M. Age Related Histological Changes in Tunica Intima of Coronary Arteries in Relevance to the Atherosclerosis. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*.2016;10(2): 168-171.
29. Pranjali R, Sachin S. Histology of coronary arteries in relation to the coronary sclerosis. *Journal of human anatomy*. 2018; 2(2):000129.
30. Bhandari BJ, Jadhav MN, Shetty AK, Kittur SK. Morphological analysis of coronary atherosclerosis by modified American heart association classification in young individuals An autopsy study. *Journal of Pathology*.2018;8(2):67-72.

บรรณานุกรม (ต่อ)

31. Silva JML, Nagato AC, Reis RB, Nardeli CR, Abreu FP, Bezerra FS. Morphometric analysis of the coronary arteries: a study of the external diameters. *J. Morphol. Sci.* 2016;33(3):138-141.
32. Priyadharshini S, Sivakumar M. A study of coronary arterial dominance pattern. *Int J Anat Res.*2016; 4(3):2817-21.
33. Ortale JR, Keiralla LC, Sacilotto L. The posterior ventricular branches of the coronary arteries in the human heart. *Arq Bras Cardiol.* 2004;82(5):468-72.
34. Fazliogullari Z, Karabulut AK, Unver Dogan N, Uysal II. Coronary artery variations and median artery in Turkish cadaver hearts. *Singapore Med J.* 2010;51(10): 775-80.
35. Bhimalli S, Dikshith D, Siddibhavi M. A study of variations in coronary arterial system in cadaveric human heart. *WJ of sci and tech.* 2011;1(5):30–35.
36. JAMES TN. Anatomy of the Coronary Arteries in Health and Disease. *Circulation.*1965; 32(6):1020-33.
37. Bezerra FS, Nagato AC, Vieira CLJ, Reis LA, Novais L, Valenca SS. Study of sinoatrial nodal artery dominance in Brazilian human hearts. *International Journal of Morphology.*2008; 26:47-50.
38. Reig J, Petit M. Main trunk of the left coronary artery: anatomic study of the parameters of clinical interest. *Clinical Anatomy.*2004;17(1):6-13.
39. Hort W, Lichti H, Kalbfleisch H, Kolhler F, Frenzel H, Milzner-Schwarz U. The Size of Human Coronary Arteries Depending on the Physiological and Pathological Growth of the Heart the Age, the Size of the Supplying Areas and the Degree of Coronary Sclerosis. *Virchows Arch [Pathol Anat].* 1982;397:37-59.
40. Mahadevappa M, Hegde M, Math R. Normal Proximal Coronary Artery Diameters in Adults from India as Assessed by Computed Tomography Angiography. *Journal of Clinical and Diagnostic Research.* 2016;10(5):TC10-TC13.
- 41 Bhele AV, Ughade HM, Sanobar I Shaikh, Joge US. A Study of Course, Branches and Variations of the Coronary Arteries in the Human Cadaveric Heart. *Journal of Contemporary Medical Research.*2017;4(7):1533-1537.

บรรณานุกรม (ต่อ)

42. Kumar A, Ajmani ML, Klinkhachorn PS. Morphological variation and dimensions of left coronary artery: a cadaveric study. *MOJ Anat & Physiol*.2018;5(4):266-270.
43. Reig J, Petit M. Main trunk of the left coronary artery: anatomic study of the parameters of clinical interest. *Clin Anat*.2004;17(1):6-13.
44. Kalpana R. A study of principal branches of coronary arteries in humans. *J Anat Soc India*.2003;52(2):137-140.
45. Kulkarni JP. Variant Anatomy of Coronary Arteries. *Heart India*.2013;1(2):46-51.
46. Waller B, Schlant R. *Anatomy of Heart. Husst's The Heart*. 13th ed. The McGraw-Hill Companies.2011:2500.
47. Ballesteros Le, Ramirez LM. Morphological expression of left coronary artery-A direct anatomical study. *Folia Morphol*.2008;67(2):135-142.
48. Gazetopoulos N, Ioannidis PJ, Marselos A, Kelekis D, Lolas C, Avgoustakis D, Tountas C. Length of main left coronary artery in relation to atherosclerosis of its branches. A coronary arteriographic study. *Br Heart J*.1976;38(2):180-5.
49. Glagov S. Hemodynamic risk factors: mechanical stress, mural architecture, medial nutrition and the vulnerability of arteries to atherosclerosis. In *The Pathogenesis of Atherosclerosis*.1972;164.
50. Ajayi EA, Ajayi IA, Oyedeji TA, Adeoti AO, Omotoye OJ, Adebayo RA. Left ventricular mass formulae and prevalence rates of echocardiographic left ventricular hypertrophy in Nigerians with essential hypertension. 2013;5(5);325-329.
51. Linzbach AJ. Heart failure from the point of view of quantitative anatomy. *Am J Cardiol*.1960;5:370-82.
52. Douglas PS, Fiolkoski J, Berko B, Reichek N. Echocardiographic visualization of coronary artery anatomy in the adult. *Journal of the American College of Cardiology*.1988;11(3): 565-571.
53. Nguyen VH, EF Talarico Jr. A morphometric anatomical study of the right coronary artery in Vietnamese. *Eur J Anat*.2019;23(5): 341-353.

บรรณานุกรม (ต่อ)

54. Venkateshwer M, Pusala B. Anatomical Variations in Branching Pattern and Dimensions of Coronary Arteries: A Cadaveric Study from South India. *Journal of Dental and Medical Sciences*.2016;15(8): 21-28.
55. Velican C, Velican D. Coronary intimal necrosis occurring as an early stage of atherosclerotic involvement. *Atherosclerosis*.1981; 39(4):479-96.
56. Ozolanta I, Tetere G, Purinya B, Kasyanov V. Changes in the mechanical properties, biochemical contents and wall structure of the human coronary arteries with age and sex. *Med Eng Phys*.1998; 20:523–533.
57. Fayad ZA, Fuster V, Fallon JT, Jayasundera T, Worthley SG, Helft G, Aguinaldo JG, Badimon JJ, Sharma SK. Noninvasive In Vivo Human Coronary Artery Lumen and Wall Imaging Using Black-Blood Magnetic Resonance Imaging.*Circulation*.2000;102:506-510.
58. Botnar RM, Stuber M, Kissinger KV, Kim WY, Spuentrup E, Manning WJ. Noninvasive coronary vessel wall and plaque imaging with magnetic resonance imaging. *Circulation*.2000;102:2582-2587.
59. Potkin BN, Bartorelli AL, MD, Gessert JM, BS, Neville RF, Almagor Y, Roberts WC, Leon MB. Coronary artery imaging with intravascular high-frequency ultrasound *Circulation*.1990;81(5):1575-85.
60. Boucek RJ, Takeshita R, Brady AL H. Intimal hypertrophy in coronary arteries and consideration of the papillary muscle arteries (man). *Anatomical record*.1965;153:243-244.
61. Milutinović A, Šuput D, Zorc-Pleskovič R, Pathogenesis of atherosclerosis in the tunica intima, media, and adventitia of coronary arteries: An updated review. *Bosn J Basic Med Sci*. 2020;20(1):21-30.
62. Shi Y, O'Brien JE Jr, Fard A, Zalewski A. Transforming growth factor-beta 1 expression and myofibroblast formation during arterial repair. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16(10):1298-305.

บรรณานุกรม (ต่อ)

63. รุ่งรัตน์ นิลธเสน. ไนตริกออกไซด์กับโรคหลอดเลือดตีบแข็ง Nitric oxide and atherosclerosis. ว. วิทย. เทคโนโลยี. หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ.2559;ปีที่ 2 ฉบับที่ 1 : 71-79.
64. Ross R, Glomset JA. The pathogenesis of atherosclerosis (first of two parts). N. Engl. J. Med.1976;295:369–377.
65. Tesauro M, Mauriello A, Rovella V, Annicchiarico-Petruzzelli M, Cardillo C, Melino G, Di Daniele N. Arterial ageing: from endothelial dysfunction to vascular calcification. Journal of Internal Medicine.2017;281:471–482.
66. Ross R, Glomset JA. Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell: proliferation of smooth muscle is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis. Science.1973;180:1332–1339.
67. รศ.นพ.วิญญู มิตรานันท์, บรรณาธิการ. พยาธิวิทยากายวิภาค. พิมพ์ครั้งที่ 1. โอ เอส พริ้นติ้ง เฮาส์ กรุงเทพมหานคร; 2538.
68. Subramanian M, Tabas I. Dendritic cells in atherosclerosis. Semin Immunopathol. 2014;36:93–102.
69. Skålén K, Gustafsson M, Rydberg EK, Hultén LM, Wiklund O, Innerarity TL, Borén J. Subendothelial retention of atherogenic lipoproteins in early atherosclerosis. Nature. 2002;417:750–754.
70. Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. Nature. 2011;473:317–325.
71. Brown MS, Goldstein JL. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. Annu. Rev. Biochem. 1983;52:223–261.
72. Bentzon JF, Otsuka F, Virmani R, Falk E. Mechanisms of Plaque Formation and Rupture. Circulation Research. 2014;114(12):1852-1866.
73. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2000;20:1262–1275.

บรรณานุกรม (ต่อ)

74. Clarke MC, Bennett MR. Cause or consequence: what does macrophage apoptosis do in atherosclerosis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29:153–155.
75. Haka AS, Grosheva I, Singh RK, Maxfield FR. Plasmin promotes foam cell formation by increasing macrophage catabolism of aggregated low-density lipoprotein. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33: 1768–1778.
76. Mori H, Torii S, Kutyna M, Sakamoto A, Finn AV, Virmani R. Coronary Artery Calcification and its Progression: What Does it Really Mean?. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2018 Jan;11(1):127-142.
77. Liu W, Zhang Y, Yu CM, Ji QW, Cai M, Zhao YX, Zhou YJ. Current understanding of coronary artery calcification. *Journal of Geriatric Cardiology.* 2015;12:668-675.
78. Wong ND, Kouwabunpat D, Vo AN, Detrano RC, Eisenberg H, Goel M, Tobis JM. Coronary calcium and atherosclerosis by ultrafast computed tomography in asymptomatic men and women: relation to age and risk factors. *Am Heart J* 1994; 127: 422–430.
79. Demer LL, Tintut Y. Vascular calcification: pathobiology of a multifaceted disease. *Circulation.* 2008;117(22):2938-48.
80. Proudfoot D, Davies JD, Skepper JN, Weissberg PL, Shanahan CM. Acetylated Low-Density Lipoprotein Stimulates Human Vascular Smooth Muscle Cell Calcification by Promoting Osteoblastic Differentiation and Inhibiting Phagocytosis. *Circulation.* 2002;106(24):3044-3050.
81. Urry DW, Onishi T. Calcium ion binding to carbonyls of elastin hexapeptide. *Bioinorganic Chemistry.* 1974;3(4):305-313.
82. Mody N, Parhami F, Sarafian TA, Demer LL. Oxidative stress modulates osteoblastic differentiation of vascular and bone cells. *Free Radic Biol Med.* 2001;31(4):509-19.
83. Kapustin AN, Shanahan CM. Calcium regulation of vascular smooth muscle cell-derived matrix vesicles. *Trends Cardiovasc Med* 2012;22:133–7.

บรรณานุกรม (ต่อ)

84. Roijers RB, Debernardi N, Cleutjens JP, Schurgers LJ, Mutsaers PH, van der Vusse GJ. Microcalcifications in early intimal lesions of atherosclerotic human coronary arteries. *Am J Pathol* 2011;178:2879-87.
85. Gillman T. Reduplication, remodeling, regeneration, repair and degeneration of arterial elastic membranes *American Medical Association Archives of Pathology* 1959; 67: 624- 641.
86. Waller BF, Orr CM, Slack JD, Pinkerton CA, Van Tassel J, Peters T. Anatomy, histology, and pathology of coronary arteries: A review relevant to new interventional and imaging techniques-Part I. *Clin Cardiol* 1992;15(6):451-7.
87. Sims FH, Gavin JB. The early development of intimal thickening of human coronary arteries. *Coronary Artery Disease*. 1990;1(2):205-214.
88. Campbell GR, Campbell JH, Manderson JA, Horrigan S, Rennick RE. Arterial smooth muscle. A multifunctional mesenchymal cell. *Arch Pathol Lab Med*.1988;112(10):977-86.
89. Bocan TMA, Schifani TA, Guyton JR. Ultrastructure of the human aortic fibrolipid lesion. Formation of the atherosclerotic lipid-rich core. *Am J Pathol*.1986;123:413-24.
90. Schlatmann TJ, Becker AE. Histologic changes in the normal aging aorta: implications for dissecting aortic aneurysm. *Am J Cardiol*.1977;39(1):13-20.

ภาคผนวก

ก. ข้อมูลตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย

ตารางแสดงข้อมูลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางและความยาวของหลอดเลือด coronary ทั้งข้างซ้ายและขวา จากร่างอาจารย์ใหญ่ 20 ร่าง

ร่างที่	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง (มม.)		ความยาวของหลอดเลือด (ซม.)	
	ข้างซ้าย	ข้างขวา	ข้างซ้าย	ข้างขวา
1.	5.4	4.5	1.22	3.76
2.	7.13	6.9	1.4	5.36
3.	8.03	6.57	1.31	5.53
4.	5.67	6.93	1.57	5.39
5.	6.17	7.77	1.25	3.78
6.	6.73	5.8	1.44	2.95
7.	6.33	6.43	1.30	5.07
8.	7.2	7.4	1.5	3.65
9.	8.63	6.2	1.53	6.06
10.	7.23	6.03	0.82	6.09
11.	6.37	5.9	0.9	3.69
12.	7.07	4.37	1.48	4.06
13.	6.03	6.8	1.14	2.83
14.	5.8	6.37	1.47	5.47
15.	6.53	6.23	1.22	3.27
16.	9.5	4.77	1.17	4.88
17.	4.93	5.5	0.99	2.84
18.	4.9	5.13	0.37	3.25
19.	7.2	6.6	1.53	3.55
20.	6.1	5.23	0.75	2.10
Mean ± SD	6.65 ± 1.16	6.07 ± 0.93	1.22 ± 0.32	4.18 ± 1.20
Max	9.5	7.4	1.57	6.09
Min	4.9	4.5	0.37	2.1

ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด left coronary จากร่างอาจารย์ใหญ่ 20 ร่าง

ร่างที่	ค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด left coronary (μm)	
	Tunica intima (TI)	Tunica media (TM)
1.	1262.685	1434.655
2.	4102.334	1394.701
3.	2075.949	922.280
4.	836.072	961.311
5.	1885.291	836.639
6.	694.565	1155.224
7.	3008.431	673.762
8.	884.595	950.380
9.	1400.952	684.095
10.	1246.800	1155.338
11.	1052.018	1224.701
12.	1176.027	704.481
13.	1334.396	587.360
14.	266.305	540.722
15.	425.426	894.202
16.	472.449	1359.698
17.	823.811	291.285
18.	860.193	667.200
19.	169.498	1056.265
20.	1840.143	864.430
Mean \pm SD	1290.897 \pm 947.846	917.936 \pm 307.395
Max	4,102.334	1434.655
Min	169.498	291.285

ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด right coronary จากร่างอาจารย์ใหญ่ 20 ร่าง

ร่างที่	ค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด right coronary (μm)					
	Tunica intima (TI)			Tunica media (TM)		
	Proximal	Middle	Distal	Proximal	Middle	Distal
1.	589.083	1261.373	1208.005	687.718	706.503	588.412
2.	2014.423	2909.918	2697.479	1146.209	542.102	533.360
3.	1165.745	1795.523	1045.849	787.696	457.463	526.761
4.	723.571	3247.100	2405.371	858.410	386.655	420.501
5.	811.331	1645.618	1645.204	1320.567	595.655	498.733
6.	844.557	824.167	706.441	357.166	325.226	316.793
7.	1181.130	773.599	388.471	788.716	692.055	458.493
8.	1258.897	1668.194	1305.635	969.311	501.276	673.017
9.	1151.522	1498.167	1117.993	607.932	540.121	474.156
10.	846.675	1591.971	602.346	464.421	335.960	386.920
11.	794.426	1714.876	1877.374	632.988	543.168	469.238
12.	1133.664	1521.178	1473.866	434.572	480.874	473.651
13.	1243.833	1680.427	1777.659	542.773	441.061	416.012
14.	1852.479	2243.052	2005.572	357.985	424.064	415.972
15.	939.109	3346.385	2791.714	867.006	749.065	419.218
16.	576.158	1394.324	1953.517	1188.029	1246.668	1122.189
17.	2269.996	-	-	697.491	-	-
18.	927.652	814.151	845.084	480.059	529.618	502.810
19.	819.063	1307.467	1480.829	797.905	515.672	592.585
20.	2163.673	2591.469	3414.615	478.965	502.017	458.336
Mean \pm SD	1165.349 \pm 512.768	1780.472 \pm 763.130	1618.054 \pm 802.815	723.296 \pm 276.987	553.433 \pm 203.042	513.008 \pm 168.514
Max	2269.996	3346.385	3414.615	1320.567	1246.668	1122.189
Min	576.158	773.599	388.471	357.166	325.226	316.793

ข. การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

การเตรียม Verhoeff's Working Solution ประกอบด้วย

- 5% Alcoholic hematoxylin

ปริมาณสารที่ใช้ในการเตรียม :	Absolute ethanol	100 ml.
	Hematoxylin	5 g.

- 10% aqueous ferric chloride (เตรียมเสร็จใช้ทันที)

ปริมาณสารที่ใช้ในการเตรียม :	Ferric chloride	10 g.
	Distilled water	100 ml.

- Weigert's iodine solution

ปริมาณสารที่ใช้ในการเตรียม :	Potassium iodine	2 g.
	Iodine	1 g.
	Distilled water	100 ml.

การเตรียม Van Gieson's counterstain

ปริมาณสารที่ใช้ในการเตรียม :	1% aqueous acid fuchsin	40 ml.
	Saturated aqueous picric acid	100 ml.

การเตรียม 2% aqueous ferric chloride (เตรียมเสร็จใช้ทันที)

ปริมาณสารที่ใช้ในการเตรียม :	10% aqueous ferric chloride	40 ml.
	Distilled water	160 ml.

การเตรียม 5% Sodium thiosulfate

ปริมาณสารที่ใช้ในการเตรียม :	Sodium thiosulfate	5 g.
	Distilled water	100 ml.

การเตรียม 10% neutral buffer formalin

ปริมาณสารที่ใช้ในการเตรียม :	37-40% formalin	100 ml.
	Distilled water	900 ml.
	Sodium phosphate, monobasic	4 g.
	Sodium phosphate, dibasic anhydrous	6.5 g.

ค. ประวัติย่อผู้วิจัย

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ชื่อ-นามสกุล นางสาวระพีพันธุ์ ศิริเดช

ประวัติการศึกษา วท.บ. (วิทยาศาสตร์การแพทย์) มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2552

วท.ม. (กายวิภาคศาสตร์) มหาวิทยาลัยมหิดล, 2555

สถานที่ติดต่อ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

โทรศัพท์ 1488

ผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล นางสาวภาสินี สงวนสิทธิ์

ประวัติการศึกษา วท.บ. (กายภาพบำบัด) มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, 2547

วท.ม. (วิทยาศาสตร์การแพทย์: กายวิภาคศาสตร์) จุฬาลงกรณ์
มหาวิทยาลัย, 2549

สถานที่ติดต่อ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

โทรศัพท์ 1488