



การศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของหลอดเลือดแดง vertebral ส่วนที่ 3 และ 4 ในร่างอาจารย์ใหญ่ชาวไทย

Histological study of the third and fourth parts of the vertebral artery in Thai embalmed cadavers

ภาสินี สวงวนสิทธิ์* และ ระพีพันธุ์ ศรีเดช

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
สมุทรปราการ 10540

Pasinee Sanguansit* and Rapipan Siridet

Division of Biological science, Faculty of Science and Technology, Huachiew Chalermprakiet University,
Samutprakarn 10540

Received: 30 May 2022/ Revised: 25 August 2022/ Accepted: 2 September 2022

บทคัดย่อ

หลอดเลือด vertebral artery (VA) เป็นหลอดเลือดที่ทอดตัวจากส่วนคอไปยังศีรษะมีหน้าที่สำคัญในการนำเลือดไปเลี้ยงสมองส่วนท้าย โดย VA แบ่งออกเป็น 4 ส่วน ตลอดความยาวของหลอดเลือดนี้ vertebral ส่วนที่ 3 (V3) เป็นส่วนที่เสี่ยงต่อการบาดเจ็บจากการเคลื่อนไหวของศีรษะมากที่สุดและส่วนที่ 4 (V4) เป็นส่วนที่มักพบการอุดตันของหลอดเลือด งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของหลอดเลือดแดง V3 และ V4 จากร่างอาจารย์ใหญ่ชาวไทยจำนวน 20 ร่าง โดยตัวอย่างหลอดเลือดจากทั้งข้างขวาและซ้ายถูกแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลาย จากนั้นเตรียมชิ้นเนื้อด้วยวิธีมาตรฐาน ย้อมด้วยสี Hematoxylin และ Eosin และ Verhoeff-Van Gieson ศึกษาลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงชนิดบันทึกภาพดิจิทัลและวัดความหนาของผนังหลอดเลือดด้วยโปรแกรม ImageJ พบว่าความหนาผนังหลอดเลือดชั้นใน (tunica intima) ของ V3 และ V4 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ความหนาของผนังหลอดเลือดชั้นกลาง (tunica media) และผลรวมค่าความหนาผนังหลอดเลือดชั้นในและชั้นกลาง (intima-media thickness; IMT) ของ V3 และ V4 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในส่วนที่ต่างกันของ V3 และ V4 นั้น พบพยาธิสภาพส่วนใหญ่อยู่ในส่วนปลายของ V3 และส่วนต้นของ V4 ซึ่งสอดคล้องกับค่าความหนา IMT ที่หนามากที่สุดในส่วนปลายของ V3 และส่วนต้นของ V4 ข้อมูลดังกล่าวแสดงถึงแนวโน้มการหนาตัวของผนังหลอดเลือดที่ส่วนปลายของ V3 และ ที่ส่วนต้นของ V4 บ่งบอกถึงความเสี่ยงในการเกิดภาวะสมองขาดเลือดจากหลอดเลือดตีบหรือตัน ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการพยากรณ์โรคหลอดเลือดและเป็นข้อมูลในการระวังและป้องกันการบาดเจ็บที่อาจเกิดขึ้นกับหลอดเลือดได้

คำสำคัญ: หลอดเลือดแดง vertebral ลักษณะทางจุลกายวิภาค ร่างอาจารย์ใหญ่



Abstract

The vertebral artery (VA) is a blood vessel that courses through the neck and cranium. The vertebral artery is important as they provide vascularization to the hindbrain. The vertebral artery is divided into 4 segments: Along its course, the V3 is the most vulnerable to injury from head movement, and the arterial occlusion is commonly located in the V4. This research studied the histological feature of the third and fourth parts of the bilateral vertebral artery (VA) in 20 Thai embalmed cadavers. Both arteries were studied into proximal, middle, and distal segments. In histopathological studies, tissues were processed and stained with Hematoxylin and Eosin, and Verhoeff-Van Gieson according to the standard protocol. The photomicrographs were taken under a digital microscope and wall thickness was measured by the ImageJ program. The results showed that the average value of tunica intima (TI) thickness was not significantly different in V3 and V4 whereas the average values of tunica media (TM) and intima-media thickness (IMT) were significantly different in V3 and V4. In the different segments of the artery, the pathological sites were mostly located in the distal segment of V3 and the proximal segment of V4 as shown by the greater IMT thickness of V3 in the distal segment and V4 in the proximal segment. These results demonstrated that the arterial wall thickness tended to be greater in the distal segment of V3 and proximal segment of V4. These might lead to an increased risk of ischemic stroke due to the narrowing or obstruction of the lumen. Therefore, the data of this study could be beneficial for the prognosis of vascular disease or the prevention of vascular injury.

Keywords: Vertebral artery, Histology, Cadavers

บทนำ

การศึกษาโครงสร้างทางจุลกายวิภาคของหลอดเลือดแดงในมนุษย์ได้รับความสนใจจากนักกายวิภาคศาสตร์และแพทย์ผู้เกี่ยวข้องโดยเฉพาะการศึกษาหลอดเลือดบริเวณคอ [1-3] vertebral artery (VA) เป็นหลอดเลือดแดงที่มีความยาวเริ่มจากคอขึ้นไปในกะโหลกศีรษะแบ่งออกเป็น 4 ส่วน โดยส่วนแรก (V1) แยกออกจากหลอดเลือด subclavian ทอดตัวจากส่วนคอผ่านช่องกระดูกสันหลัง (transverse foramen) ระดับ C6 ไปยังส่วนที่สอง (V2) คือส่วนที่ทอดตัวตั้งแต่ช่องกระดูกสันหลังระดับ C6 ไปจนถึงระดับ C1 หลังจากออกจากช่องกระดูกสันหลังของ C1 คือส่วนที่สาม (V3) อยู่ภายใน sub-occipital triangle จนเข้าสู่ส่วนสุดท้าย (V4) ผ่าน atlantooccipital membrane และ เยื่อหุ้มสมอง

ชั้นนอก (dura mater) ทอดผ่าน medulla oblongata จนเชื่อมกับ VA อีกข้าง [2, 3] ร่วมกับ basilar artery เรียกว่า vertebrobasilar arterial system มีหน้าที่นำเลือดไปเลี้ยง ก้านสมอง สมองน้อย และบริเวณด้านล่างของสมองกลีบขมับ และสมองกลีบท้ายทอยคิดเป็นร้อยละ 20 จากปริมาณเลือดทั้งหมดที่ส่งไปเลี้ยงสมอง [4, 5] โดย VA เป็นหลอดเลือดชนิด medium-sized arteries มีลักษณะทางจุลกายวิภาคแบ่งเป็น 3 ชั้น ได้แก่ ชั้นใน tunica intima ชั้นกลาง tunica media และชั้นนอกคือ tunica adventitia โดยแต่ละชั้นมีหน้าที่และความสำคัญดังนี้ เซลล์บุผนังหลอดเลือด (endothelial cell) เป็นชั้นย่อยด้านในสุดของผนังหลอดเลือด ชั้นในมีหน้าที่เป็น permeability, macromolecular barrier และ thromboresistant surface มีบทบาทกระตุ้น



การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันและสร้าง inflammatory mediators [6] เส้นใยอีลาสติก (elastic fiber) และกล้ามเนื้อเรียบ (smooth muscle) ในผนังหลอดเลือดชั้นกลางมีบทบาทสำคัญในการหดและขยายตัวของหลอดเลือด ส่วน external elastic lamina (EEL) และ internal elastic lamina (IEL) ทำให้หลอดเลือดมีความยืดหยุ่น ควบคุมปริมาณการไหลเวียนของเลือด [7] โดยโรคของหลอดเลือดที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางจุลกายวิภาคของผนังหลอดเลือดเกือบทั้งหมดสามารถพบได้ใน VA เช่น หลอดเลือดตีบตัน หลอดเลือดแดงแข็ง หลอดเลือดโป่งพอง การฉีกขาดของหลอดเลือด และหลอดเลือดในสมองแตก ความผิดปกติดังกล่าวเกิดได้จากปัจจัยภายนอก เช่น การบาดเจ็บบริเวณคอจากการออกกำลังกายหรือการจัดกระดูกที่อาจนำไปสู่การฉีกขาดของ VA [8] หรือปัจจัยภายในและปัจจัยส่งเสริม ได้แก่ อายุ เพศ พันธุกรรม ภาวะไขมันในเลือดสูง การสูบบุหรี่ ความดันโลหิตสูง เบาหวาน โดยปัจจัยเหล่านี้ก่อให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์บุผนังหลอดเลือด ทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนและมีการเคลื่อนที่ของเซลล์ชนิดต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบภายในผนังหลอดเลือด เช่น เซลล์กล้ามเนื้อเรียบ ไขมัน แคลเซียม และสารอื่นๆ ที่พบในเลือด การสะสมของสารเหล่านี้เป็นเหตุให้เซลล์บุผนังหลอดเลือดทำงานผิดปกติ ส่งผลต่อพยาธิกำเนิดของโรคหลอดเลือดแดงต่างๆ และนำไปสู่พยาธิสภาพในชั้นอื่นๆ ของหลอดเลือดตามมาได้ ซึ่งผลกระทบจากพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นภายในผนังหลอดเลือด V3 และ V4 เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดสมองส่วนหลังขาดเลือดและนำไปสู่อาการทางระบบประสาท [9]

ในปัจจุบันมีการใช้การบันทึกภาพรังสีหลอดเลือด (angiography) เพื่อศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของ VA ในคนที่ยังมีชีวิต โดยสามารถให้ข้อมูลเกี่ยวกับความยาว ความกว้าง และส่วนที่คดงอของหลอดเลือดเท่านั้น [2] และมีการใช้การวินิจฉัยด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasonography) ในการหาความหนาของ intima-media thickness (IMT) เพื่อป้องกันภาวะโรคหลอดเลือดตีบแข็ง (atherosclerosis) ได้ [10] แต่ในส่วนของคุณสมบัติเกี่ยวกับองค์ประกอบภายในผนังหลอดเลือดนั้นต้องใช้ขั้นตอนการศึกษาทางจุลกายวิภาค ซึ่งเป็นการศึกษาจากตัวอย่าง

หลอดเลือดของผู้เสียชีวิต โดยได้มีการรายงานข้อมูลทางจุลกายวิภาคของ VA จากการใช้วิธีการย้อมมาตรฐานและการย้อมพิเศษต่างๆ โดยหลายงานวิจัยพบว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางทั้งภายในและภายนอกของ VA ข้างซ้ายใหญ่กว่าข้างขวา [3, 11, 12] ขนาด V3 ชาวเอเชียมีขนาดเล็กกว่าเมื่อเทียบกับชาติอื่นๆ (รัสเซีย อเมริกา และ แอฟริกา) [2] ในส่วนของข้อมูลความหนาชั้นต่างๆ ของ VA แต่ละส่วน ยังคงมีความหลากหลายของข้อมูลอยู่ [2-5, 13] โดย VA เป็นหลอดเลือดที่มีความยาวและมีลักษณะโค้งงอโดยเฉพาะส่วน V3 เป็นส่วนที่มีการเปลี่ยนทิศทางและไม่มีการดกปกคลุมจึงเสี่ยงต่อการบาดเจ็บจากการเคลื่อนไหวของศีรษะ และ V4 เป็นส่วนที่อยู่ภายในกะโหลกศีรษะและมักพบการอุดตันของหลอดเลือดนี้ [14] ในปัจจุบันการรายงานข้อมูลทางจุลกายวิภาคของ V3 และ V4 ยังมีไม่มากนัก ทั้งยังไม่มีรายงานลักษณะทางจุลกายวิภาคของหลอดเลือด V3 และ V4 ในประชากรไทย งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหนา ลักษณะทางจุลกายวิภาคและความผิดปกติของผนังหลอดเลือด V3 และ V4 ในร่างอาจารย์ใหญ่ชาวไทย ด้วยวิธีการย้อม Hematoxylin และ Eosin และ Verhoeff-Van Gieson ทั้งนี้ข้อมูลเหล่านี้ทำให้เกิดความเข้าใจการเกิดพยาธิสภาพในส่วน (segment) ต่างๆ ของหลอดเลือด V3 และ V4 ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการพยากรณ์โรคหลอดเลือด และเป็นข้อมูลในการระวังและป้องกันการบาดเจ็บที่อาจเกิดขึ้นกับหลอดเลือดได้

วิธีดำเนินการวิจัย

1. กลุ่มตัวอย่างและการเก็บตัวอย่าง

ตัวอย่างหลอดเลือดที่ใช้ในงานวิจัยนี้มาจากร่างอาจารย์ใหญ่ที่ใช้เพื่อการเรียนการสอนในกลุ่มวิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติจำนวน 20 ร่าง เป็นเพศชาย 12 ร่าง เพศหญิง 8 ร่าง อายุอยู่ในช่วงวัยผู้ใหญ่ (50 ปีขึ้นไป) มีร่างกายที่ผ่านการดองสมบูรณ์ ไม่มีแผลบริเวณคอหรือศีรษะ แต่ละร่างจะทำการศึกษาหลอดเลือด V3 และ V4 ทั้งข้างขวาและซ้ายข้างละ 20 หลอดเลือด รวมเป็น 40



ตัวอย่าง โดยหลอดเลือด V3 ถูกตัดออกจากร่างตั้งแต่ตำแหน่งที่ออกจากช่องกระดูกสันหลังของ C1 จนถึงตำแหน่งก่อนเข้าสู่ foramen magnum และผ่าหลอดเลือด V4 จากตำแหน่งที่ทะลุผ่าน เยื่อหุ้มสมองชั้นนอกและเยื่อหุ้มสมองชั้นกลาง จนถึงบริเวณรอยต่อระหว่าง pons และ medulla oblongata

2. การเตรียมตัวอย่างชิ้นเนื้อ

ตัวอย่างหลอดเลือดแต่ละเส้นถูกแบ่งออกเป็น 3 ส่วน เท่าๆ กัน ได้แก่ ส่วนต้น (proximal) ส่วนกลาง (middle) และส่วนปลาย (distal) และตัดหลอดเลือดในแนวภาคตัดขวางที่ความหนาที่ประมาณ 0.5 cm จากนั้นนำหลอดเลือดไปแช่ในน้ำยาฟอมาลิน (10% neutral buffer formalin) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปผ่านกระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อ (tissue processing) ตามวิธีมาตรฐาน โดยการดึงน้ำออกชิ้นเนื้อ (dehydration) ด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ตั้งแต่ความเข้มข้น 70% -100% แช่ 30 นาที ในแต่ละความเข้มข้น จากนั้นทำชิ้นเนื้อให้ใส (clearing) ด้วยไซลีน 2 ครั้ง ครั้งละ 30 นาที และ แทรกซึมชิ้นเนื้อ (infiltrate) ด้วยพาราฟินเหลว 2 ครั้ง ครั้งละ 30 นาที แล้วนำชิ้นเนื้อฝังลงในบล็อกพาราฟิน และตัดบล็อกพาราฟินที่ความหนา 5 μm จากนั้นย้อมด้วยสีย้อม Hematoxylin และ Eosin เพื่อศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคและพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือดและย้อมสีพิเศษ Verhoeff-Van Gieson เพื่อวัดความหนาของผนังหลอดเลือดและศึกษาลักษณะของ IEL และ EEL

3. การเก็บรวบรวมข้อมูล

3.1 ศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาค (histology) ของผนังหลอดเลือด

นำสไลด์เนื้อเยื่อที่ได้มาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง โดยศึกษาและบันทึกผลลักษณะโครงสร้างและพยาธิสภาพที่พบภายในผนังหลอดเลือดทั้ง 3 ชั้น ได้แก่ ผนังหลอดเลือดชั้นใน ชั้นกลาง และชั้นนอก ในทั้ง 3 ส่วนของหลอดเลือดแดง V3 และ V4

3.2 ศึกษาความหนาของผนังหลอดเลือด (arterial wall thickness)

นำเนื้อเยื่อหลอดเลือดที่ผ่านการย้อมด้วย Verhoeff-Van Gieson มาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงชนิดบันทึกภาพดิจิทัลภายใต้กำลังขยาย 4X ทำการบันทึกภาพและใช้โปรแกรม ImageJ (freeware) ในการวัดความหนาของ ผนังหลอดเลือด โดยความหนาของผนังหลอดเลือดชั้นใน วัดระยะตั้งฉากจาก endothelium ถึง IEL และความหนาของผนังหลอดเลือดชั้นกลาง วัดระยะตั้งฉากจาก IEL ถึง EEL แต่ละตัวอย่างถูกทำการวัด 8 ตำแหน่งโดยแบ่งช่วงให้สมมาตรกันเพื่อให้ครอบคลุมผนังหลอดเลือดทั้งวงและทำการวัดตำแหน่งละ 3 ซ้ำ

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

รวบรวมข้อมูลที่ได้จากการบันทึกความหนาของผนังหลอดเลือด ลักษณะทางจุลกายวิภาค และพยาธิสภาพที่พบภายในผนังหลอดเลือดแดง V3 และ V4 นำมาวิเคราะห์ข้อมูลเชิงพรรณนาและใช้สถิติ one-way ANOVA และ Mann-Whitney U test โดยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ในการเปรียบเทียบความหนาของผนังหลอดเลือดระหว่างหลอดเลือดแดง V3 และ V4 โดยกำหนดค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ค่า $p\text{-value} < 0.05$

ผลการวิจัย

จากการศึกษาลักษณะของหลอดเลือด V3 และ V4 ในร่างอาจารย์ใหญ่จำนวน 20 ร่าง เป็นเพศชาย 12 ร่าง เพศหญิง 8 ร่าง อายุอยู่ในช่วง 52-101 ปี เฉลี่ย 71.25 ± 12.08 ปี ได้ข้อมูลดังนี้

1. ความหนาของผนังหลอดเลือดแดง vertebral ส่วนที่ 3 และ 4

ความหนาผนังหลอดเลือดชั้นในของหลอดเลือดแดง V3 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $316.510 \pm 193.684 \mu\text{m}$ ผนังหลอดเลือดชั้นกลางมีค่าเฉลี่ยความหนาเท่ากับ $496.621 \pm 99.148 \mu\text{m}$ และผลจากการรวมค่าความหนาผนังหลอดเลือดชั้นในและชั้นกลางเพื่อแสดงค่า IMT พบว่าในส่วนที่ต่างกันของ V3 นั้น ส่วนปลายมีความหนา IMT มากที่สุดที่ความหนาเฉลี่ย $873.696 \pm 189.589 \mu\text{m}$ โดยส่วน



กลางและส่วนต้นมีความหนาเฉลี่ย 789.616±279.342 μm และ 776.07±318.741 μm น้อยลงตามลำดับ

ความหนาผนังหลอดเลือดชั้นในของ V4 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 310.631 ± 217.799 μm ผนังหลอดเลือดชั้นกลางมีค่าเฉลี่ยความหนาเท่ากับ 357.93 ± 97.532 μm และในส่วนที่ต่างกัน ค่า IMT ของ V4 หนาที่สุดในส่วนต้น มีค่าเท่ากับ 819.949 ± 443.783 μm

ผลจากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด V3 และ V4 พบว่าความหนาของผนังหลอดเลือด

ชั้นในใกล้เคียงกันที่ค่าเฉลี่ย 316.510±193.684 μm และ 310.631±217.799 μm ตามลำดับ ในขณะที่ความหนาผนังหลอดเลือดชั้นกลางของ V3 หนากว่า V4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ที่ค่าเฉลี่ย 496.621 ± 99.148 μm และ 357.93 ± 97.532 μm ตามลำดับ และค่า IMT ของ V3 หนากว่า V4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ที่ค่าเฉลี่ย 813.13 ± 233.352 μm และ 668.560 ± 279.098 μm ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือด tunica intima (TI) tunica media (TM) และ intima-media thickness (IMT) ของหลอดเลือด vertebral V3 และ V4

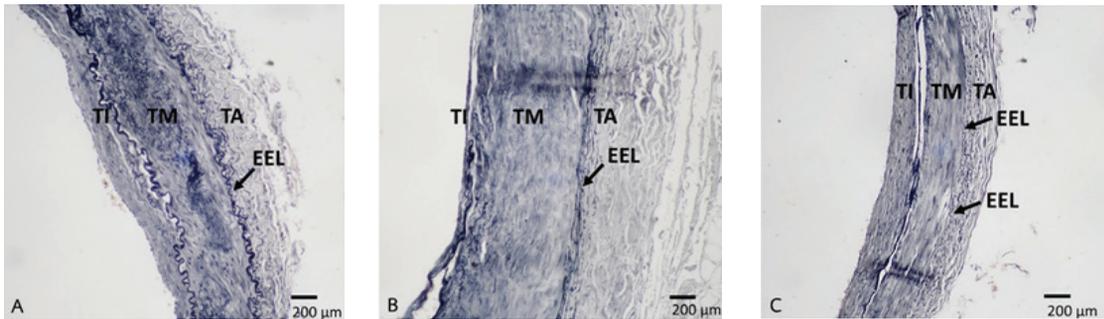
	TI (μm)	TM (μm)	IMT (μm)
Proximal			
V3	287.417±231.024	488.653±116.534	776.07±318.741
V4	402.659±402.649	417.290±109.399	819.949±443.783
Middle			
V3	287.483±246.758	502.133±109.006	789.616±279.342
V4	241.05±199.847	344.856±93.894	585.906±250.953
Distal			
V3	374.620±188.973	499.076±116.624	873.696±189.589
V4	288.183±237.928	311.64±112.765	599.823±288.575
Average			
V3	316.510±193.684	496.621±99.148	813.13±233.352
V4	310.631±217.799	357.93±97.532	668.560±279.098

ค่าเฉลี่ย±SD., * $p<0.05$, one-way ANOVA และ Mann-Whitney U test; n=4

2. ลักษณะทางจุลกายวิภาคของผนังหลอดเลือดแดง vertebral ส่วนที่ 3 และ 4

จากการสังเกตลักษณะรูปแบบการเรียงตัวของเซลล์บุผนังหลอดเลือด มีแบบต่อเนื่องและไม่ต่อเนื่อง ส่วน IEL และ EEL แบ่งออกเป็น 3 แบบ ได้แก่ หยักเป็นคลื่น

(wavy) เส้นตรง (straight) และ เป็นคลื่นผสมตรง (wavy and straight) ลักษณะเส้นใยมีทั้งแบบต่อเนื่องและไม่ต่อเนื่อง (ภาพที่ 1) โดยหลอดเลือด V3 และ V4 มีผนังหลอดเลือดชั้นในประกอบด้วย เซลล์บุผนังหลอดเลือดเรียงตัวแบบไม่ต่อเนื่องเป็นส่วนใหญ่มีลักษณะหลุด ขาดหาย หรือ



ภาพที่ 1 แสดงรูปแบบของ external elastic lamina (EEL) ที่อยู่ระหว่างผนังหลอดเลือดชั้นกลาง (tunica media; TM) และผนังหลอดเลือดชั้นนอก (tunica adventitia; TA) มีลักษณะหยักเป็นคลื่น (A) เป็นเส้นตรง (B) และเป็นคลื่นผสมเส้นตรง (C) (Verhoeff stain, 100x)

มีการแทรกของเซลล์อักเสบชนิด lymphocytes ชั้น subendothelial ของหลอดเลือดมีความหนามากกว่า 1 ชั้น (layer) ในทุกตัวอย่าง ลักษณะของ IEL ของ V4 มีความต่อเนื่องมากกว่า V3 และส่วนใหญ่มีการเรียงตัวเป็นเส้นตรงผสมกับหยักเป็นคลื่น

ผนังหลอดเลือดชั้นกลางของ V4 บางกว่า V3 อย่างชัดเจน ประกอบด้วย เซลล์กล้ามเนื้อเรียบที่เรียงตัวเป็นแนววงกลม (circular smooth muscle cell) เป็นส่วนใหญ่ มีเส้นใยคอลลาเจน (collagen fiber) แทรกตัวอยู่ นอกจากนี้ใน V3 ยังพบกล้ามเนื้อเรียบจำนวนมากติดสีเหลือง มีคอลลาเจนติดสีชมพูแทรกตัวอยู่พบเส้นใยอีลาสติกจำนวนมากบริเวณ 2 ใน 3 ทางด้านใน EEL เห็นได้ชัดเจน ส่วนใหญ่มีลักษณะตรงผสมหยักแบบไม่ต่อเนื่อง ส่วน EEL ของ V4 บางกว่า V3 โดยส่วนใหญ่พบแบบผสมระหว่างคลื่นกับเส้นตรงที่มีลักษณะค่อนข้างบางและไม่ต่อเนื่อง

ผนังหลอดเลือดชั้นนอกเป็นชั้นที่มีความหนาประกอบด้วยหลอดเลือดขนาดเล็ก เนื้อเยื่อเกี่ยวพันส่วนใหญ่เป็นเส้นใยคอลลาเจนเรียงตัวกันอย่างหนาแน่นทางด้านใน

นอกจากนี้ยังพบเส้นใยอีลาสติกใน V3 มากกว่า V4 (ตารางที่ 2 และภาพที่ 2)

3. ลักษณะพยาธิสภาพที่พบในผนังหลอดเลือดแดง vertebral ส่วนที่ 3 และ 4

หลอดเลือด V3 และ V4 มีความหนาของผนังชั้นในมากกว่า 1 ชั้น ในทุกตัวอย่างและพบการเกิด atherosclerotic plaque โดยแบ่งลักษณะของ plaque ที่พบเรียงตามลำดับจากมากไปน้อยดังนี้ foam cell, fibrous cap, lipid core, calcification และ cholesterol cleft ในผนังหลอดเลือดแดง V3 พบพยาธิสภาพอยู่ในส่วนปลายมากที่สุด โดยในจำนวนนี้มีลักษณะแบบ foam cell เป็นส่วนใหญ่ ในขณะที่หลอดเลือด V4 พบพยาธิสภาพส่วนใหญ่อยู่ในส่วนต้น ซึ่งเป็นลักษณะของ foam cell และ calcification เป็นส่วนใหญ่ (ตารางที่ 3 และภาพที่ 3-5)



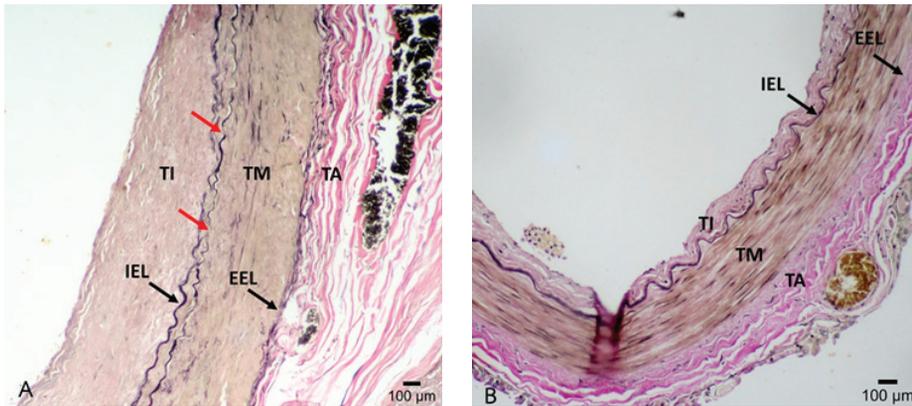
ตารางที่ 2 ร้อยละของการเรียงตัวและลักษณะโครงสร้างของ endothelium (Endo.) internal elastic lamina (IEL) และ external elastic lamina (EEL) ของหลอดเลือด vertebral ส่วนที่ 3 และส่วนที่ 4

Structure	V3 (n=40)			V4 (n=40)				
	Proximal	Middle	Distal	Proximal	Middle	Distal		
	n (%)							
Endo	cont.	6 (15.0%)	8 (20.0%)	5 (12.5%)	13 (32.5%)	9 (22.5%)	14 (35.0%)	
	discont.	34 (85.0%)	32 (80.0%)	35 (87.5%)	27 (67.5%)	31 (77.5%)	26 (65.0%)	
IEL	w	cont.	-	-	3 (7.5%)	4 (10.0%)	8 (20.0%)	2 (5.0%)
		discont.	5 (12.5%)	1 (2.5%)	2 (5.0%)	3 (7.5%)	2 (5.0%)	1 (2.5%)
	s	cont.	-	-	-	2 (5.0%)	3 (7.5%)	1 (2.5%)
		discont.	-	2 (5.0%)	2 (5.0%)	3 (7.5%)	-	4 (10.0%)
	w and s	cont.	9 (22.5%)	11 (27.5%)	5 (12.5%)	14 (35.0%)	19 (47.5%)	26 (65%)
		discont.	26 (65.0%)	26 (65.0%)	28 (70.0%)	14 (35.0%)	8 (20.0%)	6 (15.0%)
EEL	w	2 (5.0%)	-	1 (2.5%)	1 (2.5%)	4 (10.0%)	2 (5.0%)	
	discont. s	6 (15.0%)	10 (25.0%)	5 (12.5%)	14 (35.0%)	11 (27.5%)	13 (32.5%)	
	w and s	32 (80.0%)	30 (75.0%)	34 (85.0%)	25 (62.5%)	25 (62.5%)	25 (62.5%)	

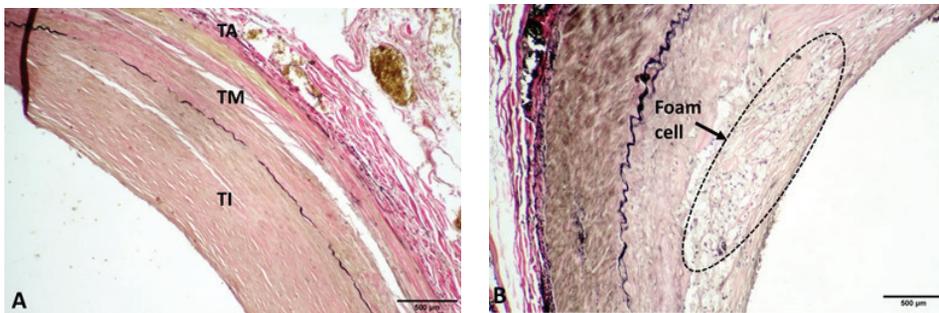
(cont.: continuous, discont.: discontinuous, w: wavy, s: straight)

ตารางที่ 3 ร้อยละลักษณะของ plaque ที่พบในผนังหลอดเลือด vertebral ส่วนที่ 3 และส่วนที่ 4

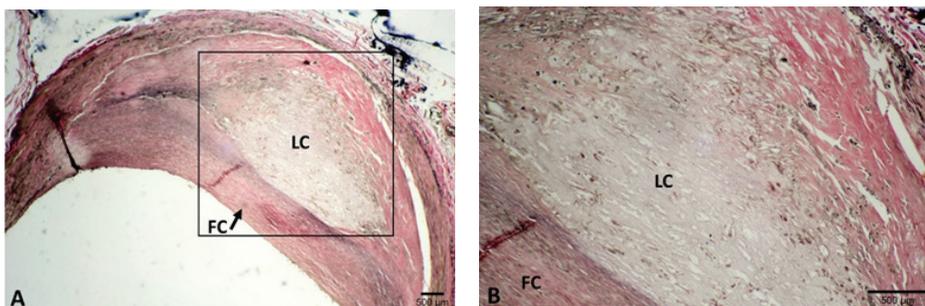
Plaque characteristics	V3 (n=40)			V4 (n=40)		
	Proximal n (%)	Middle n (%)	Distal n (%)	Proximal n (%)	Middle n (%)	Distal n (%)
Foam cell	12 (30.0%)	12 (30.0%)	14 (35.0%)	23 (57.5%)	19 (47.5%)	12 (30.0%)
Fibrous cap	5 (12.5%)	5 (12.5%)	8 (20.0%)	7 (17.5%)	4 (10.0%)	4 (10.0%)
Lipid core	4 (10.0%)	5 (12.5%)	8 (20.0%)	8 (20.0%)	4 (10.0%)	4 (10.0%)
Calcifications	-	1 (2.5%)	1 (2.5%)	22 (55.0%)	5 (12.5%)	5 (12.5%)
Cholesterol cleft	-	-	4 (10.0%)	-	2 (5.0%)	2 (5.0%)



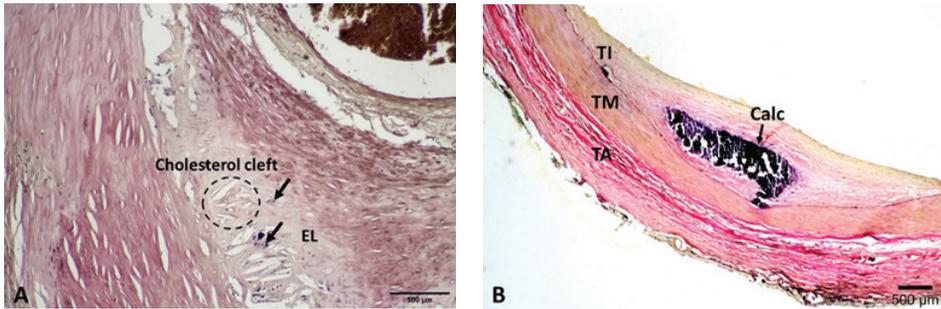
ภาพที่ 2 A: V3 ประกอบด้วยผนังหลอดเลือดชั้นใน (tunica intima; TI) หนาตัวมาก internal elastic lamina (IEL) หยักและไม่ต่อเนื่อง (ลูกศรสีแดง) ในผนังหลอดเลือดชั้นกลาง (tunica media; TM) พบกล้ามเนื้อเรียบ (ติดสีเหลือง) มีคอลลาเจน (ติดสีชมพู) แทรกตัวอยู่ external elastic lamina (EEL) เห็นได้ชัดเจน มีลักษณะตรงผสมหยักแบบไม่ต่อเนื่อง และผนังหลอดเลือดชั้นนอก (tunica adventitia; TA) มีคอลลาเจนและเส้นใยอีลาสติกจำนวนมาก B: V4 ประกอบด้วยชั้นผนังหลอดเลือดชั้นในมีลักษณะหนาตัวขึ้นเล็กน้อย IEL เป็นคลื่นมีความต่อเนื่อง ผนังหลอดเลือดชั้นกลางพบกล้ามเนื้อเรียบ มีคอลลาเจนแทรกตัว EEL เห็นได้ไม่ชัดเจน และชั้นนอกสุดประกอบด้วยเส้นใยคอลลาเจนหนาแน่นทางด้านใน (Verhoeff-Van Gieson stain, 100x)



ภาพที่ 3 A: การหนาตัวของผนังหลอดเลือดชั้นใน (tunica intima; TI) ที่ประกอบไปด้วยเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ (ติดสีเหลือง) เป็นส่วนใหญ่ และแทรกด้วยเส้นใยคอลลาเจน (ติดสีชมพู) B: ลักษณะของ foam cell ที่มีการสะสมภายในผนังหลอดเลือดชั้นใน เซลล์มีลักษณะกลม/รี มี fat vacuoles เล็กๆ ภายในไซโทพลาสซึม (Verhoeff-Van Gieson stain, 100x)



ภาพที่ 4 ลักษณะของ plaque ที่อยู่ก่อนไปด้านใดด้านหนึ่ง ภายในประกอบไปด้วย fibrous cap (FC) ที่คลุม lipid core (LC) (Verhoeff-Van Gieson stain, A: 40x, B: 100x)



ภาพที่ 5 A: ลักษณะของ extracellular lipid (EL), microcalcification (ลูกศรชี้) และ cholesterol clef พบใน lipid/necrotic core B: ลักษณะของ calcification (Calc) ขนาดใหญ่ในผนังหลอดเลือดชั้นใน (tunica intima; TI) (Verhoeff-Van Gieson stain, A: 100x, B: 40x)

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

ผลการศึกษาโครงสร้างของผนังหลอดเลือด V3 และ V4 ในอาจารย์ใหญ่ที่มีอายุเฉลี่ย 71 ปีซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มผู้สูงอายุ พบว่ามีการหนาตัวของผนังหลอดเลือดชั้นในมากกว่า 1 ชั้นในทุกตัวอย่าง ซึ่งต่างไปจากลักษณะโดยปกติของ muscular artery ที่ผนังชั้นในบางแหงจะเห็นเซลล์บุผนังหลอดเลือดวางตัวอยู่บน IEL [7] ดังรายงานของ Rustagi และคณะ ที่ศึกษา V4 จากร่างผู้เสียชีวิตในช่วงอายุ 20-40 ปี แสดงค่าเฉลี่ยผนังหลอดเลือดชั้นในข้างขวาและข้างซ้ายเท่ากับ $19.93 \pm 8.47 \mu\text{m}$ และ $17.07 \pm 6.93 \mu\text{m}$ ตามลำดับ [13] Sato และคณะศึกษาหลอดเลือดในผู้มีอายุตั้งแต่ 8 เดือน- 92 ปี ให้ข้อมูลว่าผนังชั้นในของ V3 และ V4 อยู่ในช่วง 60 - 85 μm โดยไม่มีความต่างกันทางสถิติ [8] ในขณะที่งานวิจัยนี้พบว่าค่าเฉลี่ยความหนาผนังหลอดเลือดชั้นในของ V3 กับ V4 มีค่าเฉลี่ย $316.510 \pm 193.684 \mu\text{m}$ และ $310.631 \pm 217.799 \mu\text{m}$ ตามลำดับ ความหนาที่มากกว่างานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้นบ่งบอกถึงความผิดปกติของผนังหลอดเลือดในลักษณะ intimal thickening และในงานวิจัยนี้ยังพบพยาธิสภาพของโรคหลอดเลือดตีบแข็งทั้ง 3 ระดับ ระดับเริ่มต้นมีการแทรกของ foam cells ในผนังหลอดเลือดชั้นใน ระดับกลางมีการเกิด atheroma และระดับรุนแรงพบการสะสมของแคลเซียม [6] โดยเชื่อว่าอายุที่เพิ่มขึ้นมีผลกระทบโดยตรงกับการเปลี่ยนแปลงทางด้านโครงสร้างและหน้าที่ของหลอดเลือด ผลจากการวิจัยนี้พบว่าส่วนใหญ่

เซลล์บุผนังหลอดเลือดเรียงตัวแบบไม่ต่อเนื่อง ซึ่งเป็นปัจจัยนำไปสู่การสูญเสียการทำงานของเยื่อบุผนังหลอดเลือดอย่างค่อยเป็นค่อยไป โดยอาจเกิดจากการลดลงของ vasodilator pathways เช่น ไนตริกออกไซด์ที่มีบทบาทในการขยายตัวของหลอดเลือด การป้องกันการเกาะกันของเกล็ดเลือด การยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ และป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังนั้นเมื่อเยื่อบุผนังหลอดเลือดสูญเสียหน้าที่ไปจึงส่งผลให้ไขมันที่อยู่ในกระแสเลือด (LDL) เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสารที่เป็นอนุพันธ์ของออกซิเจนเปลี่ยนรูปไปเป็น oxidized LDL ส่งผลให้ผนังหลอดเลือดถูกทำลายและมีการอักเสบรุนแรงมากยิ่งขึ้นเกิดการสะสมของเซลล์ชนิดต่างๆ เช่น เซลล์กล้ามเนื้อเรียบ ไขมัน คอเลสเตอรอล และ แคลเซียม จนผนังหลอดเลือดชั้นในหนาขึ้นอย่างเห็นได้ชัด การอักเสบดังกล่าวกระตุ้นให้ macrophage จับกินไขมันที่สะสมอยู่ในผนังหลอดเลือด อย่างไรก็ตามเม็ดเลือดขาวเหล่านี้ไม่สามารถทำลายไขมันที่สะสมอยู่เป็นจำนวนมากได้ ทำให้เกิดการสะสมของไขมันในไซโตพลาสซึมของ macrophage เรียกว่า “foam cell” ซึ่งพบลักษณะพยาธิสภาพนี้ได้ถึงร้อยละ 30 ในทุกส่วนของ V3 และ V4 โดยความเครียดและการอักเสบจากการรับประทานอาหารและการตายของเซลล์อาจมีส่วนต่อการทำหน้าที่ของหลอดเลือดที่น้อยลง เมื่อหลอดเลือดมีการอักเสบมากขึ้นส่งผลให้เกิดการตายของ foam cells บางส่วน มีการปลดปล่อยไขมันออกมา แล้วเกิดปฏิกิริยากลายเป็น

oxidized forms ทำให้มีเศษเซลล์ปนกับ cholesterol crystals ร่วมกับ เซลล์บุผนังหลอดเลือด, กล้ามเนื้อเรียบ และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่าง ๆ โดยการตายของเซลล์เหล่านั้นบริเวณตรงกลางเรียก lipid/necrotic core และมีการเคลื่อนตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบจากผนังหลอดเลือดชั้นกลางแล้วแบ่งตัวเพิ่มในผนังชั้นใน เกิดการสังเคราะห์และปล่อยคอเลสเตอรอลและโปรตีนโกลบูลินร่วมกับอิลาสตินและเซลล์อื่นๆ กลายเป็น fibrous cap คลุมอยู่ด้านบน ทำให้เกิดรอยโรคบริเวณผนังหลอดเลือดเรียกว่า “atherosclerotic plaque” ส่งผลต่อการไหลเวียนของเลือด ทำให้เลือดไปเลี้ยงอวัยวะต่าง ๆ ได้น้อยลง [6, 15-17] ซึ่งในงานวิจัยนี้พบลักษณะพยาธิสภาพที่มีความรุนแรงมากเป็นจำนวนรองลงมา ในระยะที่มีการเปลี่ยนแปลงนอกจาก atheroma เช่นเกิด intimal ulceration เมื่อเนื้อเยื่อเสียหายจะเกิดการซ่อมแซมในลักษณะ fibrosis scar และเกิดการชักนำให้เกลือแคลเซียมมาเกาะ โดยในงานวิจัยนี้พบลักษณะ calcification ใน V4 ส่วนต้น มากถึงร้อยละ 55 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jonas และคณะ ที่พบว่า การเกิด calcification เป็นสิ่งที่พบได้บ่อยในหลอดเลือดแดงในสมองโดยพบมากที่สุดที่หลอดเลือด intracranial internal carotid และความชุกจะเพิ่มขึ้นตามอายุ [18]

Desai และคณะ รายงานว่า IEL ของผนังหลอดเลือด V4 มีความหยักน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับ VA ส่วนอื่นๆ [3] ในขณะที่ Sato และคณะ พบความผิดปกติของ IEL มากที่สุดในส่วนปลายของ V3 ซึ่งพบในตัวอย่างที่มีอายุตั้งแต่ 50 ปีขึ้นไปเท่านั้น [8] เป็นไปในทำนองเดียวกันกับงานวิจัยในครั้งนี้ที่พบว่าโดยส่วนใหญ่แล้ว IEL และ EEL มีการเรียงตัวลักษณะเป็นเส้นตรงผสมกับหยักเป็นคลื่นโดยลักษณะของเส้นใยที่ยืดตรงหรือมีการขาดเป็นท่อนไม่มีความต่อเนื่องของเส้นใยเป็นบางส่วนอาจเกิดจากอายุที่มากขึ้นทำให้เกิดความเสื่อมของอิลาสติน ส่งผลให้ความสามารถในการคืนตัวลดลง

Desai และคณะ และ Sato และคณะ ได้ให้ข้อสังเกตเกี่ยวกับความหนาของผนังหลอดเลือดชั้นกลางโดยรายงานว่าส่วนที่หนาที่สุดอยู่ช่วงปลายของ V3 [3, 8] เช่น

เดียวกันกับงานวิจัยครั้งนี้ที่พบว่า ความหนาผนังหลอดเลือดชั้นกลางของ V3 หนากว่า V4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติภายในผนังหลอดเลือดชั้นกลางประกอบด้วยเซลล์กล้ามเนื้อเรียบที่เรียงตัวเป็นแนววงกลมเป็นส่วนใหญ่ พบเส้นใยอีลาสติกแทรกตัวอยู่ในผนังชั้นกลางของ V3 ได้ชัดเจนกว่า V4 เนื่องจากหลอดเลือดแดง V3 มีเส้นใยอีลาสติกจำนวนมากเพื่อชดเชยผลกระทบจากการถูกยืดในขณะที่มีการเคลื่อนไหวของกระดูกสันหลังส่วนคอ V3 สัมผัสกับแรงเฉือนและแรงดึงบริเวณตำแหน่งที่ออกจากกระดูกคอ C2 โดยถูกยืดในขณะที่เอียงคอไปด้านข้างและงอระหว่างการทำหมอนคอ [19, 20]

นอกจากนั้นในงานวิจัยนี้ได้มีการนำค่าความหนาผนังหลอดเลือดชั้นในรวมกับชั้นกลางเพื่อแสดงค่า IMT ซึ่งทางคลินิกมีการตรวจหาความหนาของผนังหลอดเลือดชั้นในและชั้นกลางเพื่อเป็นข้อมูลประกอบการบ่งชี้ภาวะหลอดเลือดตีบแข็ง ดังข้อมูลสนับสนุนที่ว่าความหนาของผนังหลอดเลือดมีความสัมพันธ์กับภาวะหลอดเลือดแดงเสื่อมจากไขมันแทรกที่ผนังหลอดเลือด [21] ทั้งนี้ Jadhav และคณะ รายงานว่าผู้ที่มีความหนาของผนังหลอดเลือดชั้น IMT ในหลอดเลือด carotid มากกว่า 0.8 mm จะมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจและสมองมากขึ้น [10] Jovanikic และคณะ ได้รายงานค่า IMT ของ V1 ในผู้ที่มีสุขภาพแข็งแรงมีค่าเฉลี่ย 0.78 ± 0.248 mm และมีหลายงานวิจัยที่สำรวจผลกระทบของอายุที่มากขึ้นต่อโครงสร้างของหลอดเลือดแดง ข้อสังเกตที่พบคือการเพิ่มขึ้นของความหนา IMT ของผนังหลอดเลือดแดงเกี่ยวข้องกับอายุ ดังรายงานที่กล่าวว่าการเพิ่มขึ้นของ carotid IMT มีความสัมพันธ์กับอายุที่มากขึ้นทั้งในผู้ชายและผู้หญิง [21-23] และความชราามีผลต่อความหนาที่มากขึ้นของ IMT ในหลอดเลือด femoral [24] โดยในงานวิจัยนี้พบว่าค่าเฉลี่ย IMT ของ V3 และ V4 ที่ความหนา 813.13 ± 233.352 μ m และ 668.560 ± 279.098 μ m ตามลำดับ ซึ่งแสดงถึงแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของผนังหลอดเลือดที่มีการหนาตัวขึ้น หากเปรียบเทียบตลอดความยาวของหลอดเลือด V3 และ V4 พบว่าส่วนปลายของ V3 มีการหนาตัวของผนังหลอดเลือด



มากที่สุด สอดคล้องกับการพบพยาธิสภาพในส่วนปลายมากกว่าส่วนอื่น อาจเนื่องมาจากส่วนปลายของ V3 เป็นส่วนที่ต่อมาจากการโค้งงอของหลอดเลือดในทิศทางเกือบตั้งฉากก่อนที่จะเข้าสู่เยื่อหุ้มสมองชั้นนอก เมื่อมีการเปลี่ยนทิศทาง การไหลของเลือดอย่างกะทันหันทำให้เกิดการบาดเจ็บของผนังหลอดเลือด นำไปสู่การเกิด plaque และมีการปรับตัวให้ผนังหลอดเลือดหนาขึ้น

ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้ทำให้ทราบถึงลักษณะโครงสร้างของผนังหลอดเลือด V3 และ V4 ในผู้สูงอายุชาวไทย ที่มีการหนาตัวของผนังหลอดเลือดชั้นใน ค่าเฉลี่ย IMT ของ V3 และ V4 มีความหนามากกว่าปกติ และอีลาสตินมีความเสื่อม ยึดออกและแตกหัก ประกอบกับการพบ foam cell ถึงร้อยละ 30 ในทุกส่วนของ V3 และ V4 ข้อมูลการหนาตัวของผนังหลอดเลือดและรอยโรคดังกล่าวบ่งบอกถึงความเสี่ยงในการเกิดภาวะสมองขาดเลือดจากหลอดเลือดตีบหรือตัน ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการพยากรณ์โรคหลอดเลือดและเป็นข้อมูลในการระวังและป้องกันการบาดเจ็บที่จะอาจจะเกิดขึ้นกับหลอดเลือดได้ ทั้งนี้ในการวิจัยครั้งต่อไปอาจศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคหลอดเลือด VA ในกลุ่มตัวอย่างที่มีโรคประจำตัว ช่วงอายุ เพศ หรือเชื้อชาติที่แตกต่างกัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ใหญ่ที่ได้อุทิศร่างกายเพื่อเป็นวิทยาทานให้ผู้วิจัยได้ศึกษาค้นคว้าในงานวิจัยครั้งนี้และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติในการสนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Aggarwal P, Datta I, Ganguly S, Pal A, Bharati S, Verma M. Histological study of medium sized artery of neck in relation with their pulse pressure and pulsatory power. J Evol Med Dent Sci 2014;3(66):14270-7.
- Kornieieva MA, Al-Hadidi AM. Morphology of vertebral artery in Asian Population. Asian J Med Sci 2014;5(4):84-8.
- Desai AR, Chavan SK. Histo-Mophometric study of various segments of vertebral artery in human cadavers. Int J Anat Res 2019;7(1.1):6102-7.
- Rawal JD, Doshi BD, Patel MD, Patel DV, Jadav HR. Histomorphometric comparison of first and fourth part of vertebral artery in Indian. Indian J Clin Anat Physiol 2017;4(4):517-20.
- Bhadkaria V, Chawre HK, Joshi SS, Joshi SD. Histological variations in various segments of vertebral artery. J Evol Med Dent Sci 2016;5(2):120-6.
- คันสนีย์ วงศ์ไวศยวรรณ. ตำราพยาธิวิทยากายวิภาค. เล่ม1. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์เดือนตุลา; 2555.
- Ross MH, Pawlina W. Histology: A Text and Atlas, with Correlated cell and molecular biology. 6th ed. Baltimore: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2011.
- Sato T, Sasaki T, Suzuki K, Matsumoto M, Kodama N, Hiraiwa K. Histological study of the normal vertebral artery etiology of dissecting aneurysms. Neurol Med Chir (Tokyo) 2004;44:629-36.
- ลิวรรณ อุณนาภิรักษ์ และ คณะ. พยาธิสรีรวิทยาทางการพยาบาล. พิมพ์ครั้งที่ 7. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์บุญศิริการพิมพ์; 2550.
- Jadhav UM, Kadam NN. Carotid intima-media thickness as an independent predictor of coronary artery disease. Indian Heart J 2001;53(4):458-62.



11. Rawal JD, Jadav HR. Histomorphometric comparison of diameter of right and left vertebral arteries. *Natl J Med Res* 2012;2(03):260-3.
12. Rustagi SM, Bharihoke V. Intracranial human vertebral artery: a histomorphological study. *Int J Cur Res Rev* 2013;5(12):89-96.
13. Macchi C, Giannelli F, Cecchi F, Gulisano M, Pacini P, Corcos L, et al. The inner diameter of human intracranial vertebral artery by color Doppler method. *Ital J Anat Embryol* 1996;101(2):81-7.
14. Watcharasakul K. Cervical artery dissection. *J Thai Stroke Soc* 2016;15(1):19-31.
15. รุ่งรัตน์ นิลธเสน. ไนตริกออกไซด์กับโรคหลอดเลือดตีบแข็ง. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเขี้ยวเฉลิมพระเกียรติ*-2559;2(1):71-9.
16. Thijssen DH, Carter SE, Green DJ. Arterial structure and function in vascular ageing: are you as old as your arteries?. *J Physiol* 2016;594(8):2275-84.
17. เจตนา เรื่องประทีป. สารสำคัญเกี่ยวกับพยาธิวิทยาของหลอดเลือด. *Asian Arch Pathol* 2019;1(2):13-33.
18. Jonas W, Tim C, Hecke VW, Willem P, Spiering W, Huiberdina L, et al. Intracranial Arterial Calcification: Prevalence, Risk Factors, and Consequences: JACC Review Topic of the Week. *J Am Coll Cardiol* 2020;76(13):1595-604.
19. Johnson CP, Baugh R, Wilson CA, Burns J. Age related changes in the tunica media of the VA: implications for the assessment of vessels injured by trauma. *J Clin Pathol* 2001;54(2):139-45.
20. Kumar K. Microstructure of human arteries. *J Anat Soc India* 2001;3:137-40.
21. Engelen L, Ferreira I, Stehouwer CD, Boutouyrie P, Laurent S. Reference intervals for common carotid intima-media thickness measured with echotracking: relation with risk factors. *Eur Heart J* 2013;34(30):2368-80.
22. Jovanikić O, Lepić T, Raicević R, Veljancić D, Ristić A, Gligić B. Intimomedial thickness of the vertebral arteries complex: a new useful parameter for the assessment of atherosclerotic process?. *Vojnosanit Pregl* 2011;68(9):733-8.
23. Homma S, Hirose N, Ishida H, Ishii T, Araki G. Carotid plaque and intima-media thickness assessed by b-mode ultrasonography in subjects ranging from young adults to centenarians. *Stroke* 2001;32(4):830-5.
24. Dinunno FA, Jones PP, Seals DR, Tanaka H. Age-associated arterial wall thickening is related to elevations in sympathetic activity in healthy humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;278(4):1205-10.