



การศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของหลอดเลือดแดงโคโรนารี จากร่างอาจารย์ใหญ่ชาวไทย

Histological study of coronary artery in Thai cadavers

ระพีพันธุ์ ศิริเดช* และ ภาสินี สงวนสิทธิ์

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

สมุทรปราการ 10540

Rapipan Siridet* and Pasinee Sangunsit

Division of Biological Science, Faculty of Science and Technology,

Huachiew Chalermprakiet University, Samutprakarn 10540

Received: 30 May 2022/ Revised: 26 August 2022/ Accepted: 5 September 2022

บทคัดย่อ

โรคหัวใจและหลอดเลือดเป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิตของประชากรทั่วโลก และพบว่าการเกิดโรคหลอดเลือดตีบแข็ง (atherosclerosis) ในหลอดเลือดแดงโคโรนารี (coronary artery) มีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในผู้สูงอายุ ซึ่งงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคและความหนาของผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้าย (left coronary artery) และด้านขวา (right coronary artery) จากร่างอาจารย์ใหญ่ชาวไทยจำนวน 20 ร่าง อายุ 52-101 ปี ด้วยการย้อมสี Hematoxylin และ eosin และ Verhoeff-Van Gieson พบว่าผนังหลอดเลือดชั้นใน (tunica intima) ของหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านขวามีความหนามากกว่าผนังหลอดเลือดชั้นกลาง (tunica media) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และพบการสะสมของ foam cell เป็นจำนวนมากภายในผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้ายและด้านขวา ทั้งยังพบการเกิด plaque ในลักษณะอื่นๆ ได้แก่ lipid core, fibrous cap, calcifications และ cholesterol cleft และพบความผิดปกติของ internal และ external elastic lamina ที่มีลักษณะเป็นแนวตรง เรียงตัวซ้อนกัน แตกเป็นเศษ ๆ และขาดหลุดจากกัน แสดงให้เห็นว่าอายุ 50 ปีขึ้นไปจะมีการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคของผนังหลอดเลือด ซึ่งอาจจะนำไปสู่การเกิดโรคหลอดเลือดแดงตีบแข็งได้ ผลที่ได้จากงานวิจัยนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปประยุกต์ใช้ในการประเมินความเสี่ยงและการเฝ้าระวังการเกิดโรคหลอดเลือดตีบแข็งได้

คำสำคัญ: หลอดเลือดแดงโคโรนารี จุลกายวิภาค อาจารย์ใหญ่ ผนังหลอดเลือด ผนังหลอดเลือดชั้นใน

Abstract

Cardiovascular disease is the leading cause of death for people worldwide and found that the incidence of atherosclerosis in the coronary arteries is sharply increasing in the elderly. The objectives of this research were to study the histology and arterial wall thickness of the left and right coronary artery of 20 Thai cadavers aged 52–101 years with Hematoxylin and eosin staining and Verhoeff-Van Gieson. The thickness of the tunica intima of the right coronary artery was significantly thicker than the tunica media ($p<0.05$), and large accumulations of foam cells were found in the wall of left and right coronary arteries. Other plaques included the lipid core, fibrous cap, calcifications, and cholesterol cleft, and abnormalities of the internal and external elastic lamina were observed, there were straight, reduplication, stretch, and fraying. It was shown that people aged over 50 will have histological changes to the arterial wall. This may lead to the development of atherosclerosis. The results of this research will be the basis of information that can be applied in risk assessment and surveillance of coronary artery disease.

Keywords: Coronary artery, Histology, Cadaver, Arterial wall, Tunica intima

บทนำ

โรคหัวใจและหลอดเลือด (Cardiovascular Diseases; CVDs) เป็นสาเหตุการเสียชีวิตของประชากรทั่วโลก จากการรายงานขององค์การอนามัยโลก พบอัตราการเสียชีวิตมากถึงร้อยละ 31 และในประเทศไทยจากข้อมูลของกระทรวงสาธารณสุขพบว่าโรคหัวใจและหลอดเลือดเป็นสาเหตุการเสียชีวิตของประชากรเป็นลำดับที่ 2 รองจากโรคมะเร็ง การหนาตัวของผนังหลอดเลือด (arterial wall thickening) เป็นพยาธิสภาพเริ่มต้นของการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด เช่น โรคหลอดเลือดตีบแข็ง (atherosclerosis) โรคหลอดเลือดสมอง (stroke) การหนาตัวของผนังหลอดเลือดเกิดจากความผิดปกติของเซลล์บุผนังหลอดเลือด (endothelial cells; ECs) ซึ่งปัจจัยเสี่ยงที่ส่งผลต่อการเกิดความผิดปกติดังกล่าวมาจากหลายสาเหตุ เช่น อายุ เพศ ไขมันในเลือดสูง รับประทานอาหารที่มีคอเลสเตอรอลและไลโปโปรตีนชนิดความหนาแน่นต่ำ หรือ low density lipoprotein (LDL) สูง ความดันโลหิตสูง สูบบุหรี่ เป็นต้น [1, 2]

การเกิดภาวะตีบแข็งของหลอดเลือดมักเกิดขึ้นบริเวณหลอดเลือดแดงขนาดใหญ่และขนาดกลาง เช่น หลอดเลือดแดงโคโรนารี (coronary artery) และหลอดเลือดแดง

คาโรติด (carotid artery) เป็นต้น [3] การตีบแคบของหลอดเลือดบริเวณหัวใจจะส่งผลให้ผู้ป่วยเสียชีวิตจากภาวะกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด ซึ่งพยาธิกำเนิดของโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ (coronary artery disease) ส่วนใหญ่เกิดจากการสะสมของไขมันชนิดไลโปโปรตีนชนิดความหนาแน่นต่ำ และก่อให้เกิดการอักเสบแบบเรื้อรังภายในผนังหลอดเลือด [4] โดยอนุภาคของไขมันจะมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็น oxidized-LDL ด้วยเอนไซม์ที่อยู่ภายในร่างกาย ทำให้อนุภาคของไขมันเป็นพิษต่อเซลล์มากขึ้นส่งผลให้ผนังหลอดเลือดอักเสบ [5] รวมทั้งมีการเพิ่มจำนวนและการเคลื่อนที่ของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ (smooth muscle cells; SMCs) จากผนังหลอดเลือดชั้นกลาง (tunica media) ไปยังผนังหลอดเลือดชั้นใน (tunica intima) ซึ่งในสภาวะปกติจะไม่พบ SMCs ในบริเวณดังกล่าว การอักเสบแบบเรื้อรังภายในผนังหลอดเลือดทำให้เกิดการตายของเซลล์ชนิดต่าง ๆ เช่น ECs, SMCs, macrophage เกิดเป็นรอยโรคที่เรียกว่า “atherosclerotic plaque” ส่งผลให้เกิดการตีบแคบของหลอดเลือด ทำให้เลือดไปเลี้ยงกล้ามเนื้อหัวใจได้น้อยลงซึ่งอาจทำให้เสียชีวิตได้ [6] การศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของผนังหลอดเลือดเพื่อศึกษาการย่อยโรคของผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารีใน



ประเทศไทยยังมีค่อนข้างน้อย เนื่องจากการศึกษาลักษณะดังกล่าวมีข้อจำกัดในการเก็บตัวอย่างในกลุ่มประชากรที่มีชีวิต และข้อจำกัดด้านค่าใช้จ่ายที่สูง รวมถึงเรื่องการรุกรานสิทธิ์ของผู้ป่วย [7] งานวิจัยนี้จึงจัดทำขึ้นเพื่อศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารีจากร่างอาจารย์ใหญ่ชาวไทยที่มีอายุ 50 ปีขึ้นไป ด้วยวิธีการย้อม Hematoxylin และ eosin และการย้อม Verhoeff-Van Gieson stain โดยคาดว่าจะพบความผิดปกติหรือพยาธิสภาพภายในผนังหลอดเลือด ซึ่งผลที่ได้จากงานวิจัยนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปประยุกต์ใช้ในการประเมินความเสี่ยงและการเฝ้าระวังการเกิดโรคหลอดเลือดตีบแข็งได้

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บหลอดเลือด

นำหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้าย (left coronary artery) และด้านขวา (right coronary artery) ออกจากหัวใจของร่างอาจารย์ใหญ่ชาวไทยจำนวน 20 ร่าง ประกอบด้วยเพศชาย 12 ร่างและเพศหญิง 8 ร่าง อายุเฉลี่ย 71.60 ± 12.06 ปี เป็นร่างที่ผ่านการดองสมบูรณ์ ไม่มีบาดแผลที่บริเวณหน้าอก ไม่มีการผ่าตัดหัวใจและหลอดเลือดหัวใจ และหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้ายและด้านขวา ไม่มีความเสียหาย จากนั้นนำหลอดเลือดมาตัดในแนวภาคตัดขวาง (cross section) ให้มีความหนาของผนังประมาณ 0.5 เซนติเมตร และแช่ในน้ำยาฟอมาลีน (10% neutral buffer formalin) เป็นเวลา 24

ชั่วโมง ในภาชนะที่มีฝาปิดมิดชิด เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อทำการศึกษาทดลองต่อไป

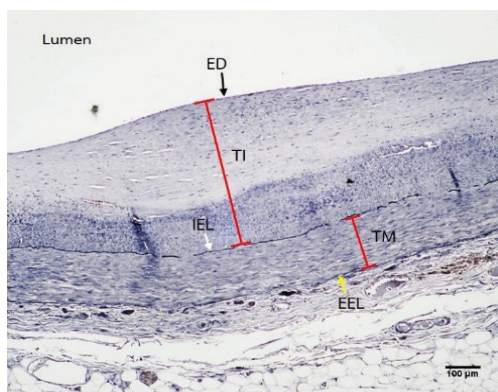
2. การเตรียมเนื้อเยื่อ

นำหลอดเลือดที่ผ่านการรักษาสภาพด้วยน้ำยาฟอมาลีน (10% neutral buffer formalin) ไปผ่านกระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อ (tissue processing) จากนั้นนำไปย้อมด้วยสี Verhoeff-Van Gieson เพื่อศึกษาความหนาของผนังหลอดเลือดและย้อม Hematoxylin และ Eosin เพื่อศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาค พยาธิสภาพของผนังหลอดเลือดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

3. การศึกษาความหนาของผนังหลอดเลือด (arterial wall thickness)

หลอดเลือดที่ผ่านการย้อมด้วยสี Verhoeff's Elastic stain ทำการศึกษาลักษณะโครงสร้างต่อไปนี้

- วัดความหนาของผนังหลอดเลือด 2 ชั้นได้แก่ผนังหลอดเลือดชั้นในและผนังหลอดเลือดชั้นกลาง โดยมีจุดอ้างอิงการวัดทั้งหมด 8 จุด โดยแบ่งช่วงให้ครอบคลุมผนังหลอดเลือดทั้งวง และทำการวัด 3 ซ้ำต่อ 1 จุด โดยวิธีการวัดผนังหลอดเลือดในชั้น (tunica intima; TI) จะเริ่มวัดจากชั้น endothelium (ED) ไปถึง internal elastic lamina (IEL) ส่วนผนังหลอดเลือดชั้นกลาง (tunica media; TM) จะเริ่มจาก internal elastic lamina (IEL) ไปยัง external elastic lamina (EEL) แสดงจุดการวัดได้ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 แสดงตำแหน่งการวัดความหนาของผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารี โดยผนังหลอดเลือดชั้นใน (tunica intima; TI) วัดจาก endothelium (ED) ถึง internal elastic lamina (IEL) และผนังหลอดเลือดชั้นกลาง (tunica media; TM) วัดจาก internal elastic lamina (IEL) ถึง external elastic lamina (EEL)



4. การศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคและลักษณะทางพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือด

ศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคและพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้ายและด้านขวา ที่ผ่านการย้อมด้วยสี Hematoxylin และ Eosin รวมทั้งลักษณะความผิดปกติและรูปแบบการเรียงตัวของ internal และ external elastic lamina

5. การเก็บและการวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยรายงานค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความหนาของผนังหลอดเลือดและวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้ายและด้านขวา ด้วยสถิติ Paired t-test ในกรณีที่ข้อมูลมีการกระจายตัวแบบปกติ หรือ Wilcoxon signed rank test ในกรณีที่ข้อมูลมีการกระจายตัวแบบไม่ปกติ ที่ค่า p-value < 0.05

ผลการวิจัย

1. ผลความหนาของผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้ายและด้านขวา และการเปรียบเทียบความหนาของผนังแต่ละชั้นในหลอดเลือดข้างเดียวกัน

พบผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้ายมีค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือดชั้นใน เท่ากับ $1,338.397 \pm 1,056.073 \mu\text{m}$ ส่วนผนังหลอดเลือดชั้นกลาง

มีค่าเฉลี่ยความหนา $917.936 \pm 307.395 \mu\text{m}$ โดยจะเห็นได้ว่าค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือดชั้นใน มีความหนามากกว่าผนังหลอดเลือดชั้นกลาง แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านขวาชั้นใน จากกลุ่มตัวอย่างทั้งหมดมีค่า $1,501.912 \pm 584.257 \mu\text{m}$ ซึ่งมากกว่าค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือดชั้นกลาง ที่มีค่า $597.032 \pm 190.414 \mu\text{m}$ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value < 0.001) แสดงผลได้ดังตารางที่ 1

2. ผลการเปรียบเทียบความหนาของผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้ายและด้านขวา

ค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือดชั้นในของหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้าย จากกลุ่มตัวอย่างทั้งหมดมีค่า $1,338.397 \pm 1,056.073 \mu\text{m}$ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านขวา ที่มีค่าเฉลี่ยความหนา $1,501.912 \pm 584.257 \mu\text{m}$ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือดชั้นกลางของหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้าย มีค่า $917.936 \pm 307.395 \mu\text{m}$ ซึ่งมากกว่าค่าเฉลี่ยความหนาของหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านขวา ที่มีค่า $597.032 \pm 190.414 \mu\text{m}$ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ค่า p-value < 0.05 แสดงผลได้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยความหนาของผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้าย (left coronary artery) และด้านขวา (right coronary artery)

Arterial wall	Left coronary (μm)	Right coronary (μm)
Tunica intima	$1,338.397 \pm 1,056.073$	$1,501.912 \pm 584.257$
Tunica media	917.936 ± 307.395	$597.032 \pm 190.414^*, **$

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน, *p<0.05 เปรียบเทียบกับ tunica media ข้างซ้าย, **p<0.001 เปรียบเทียบกับ tunica intima ข้างเดียวกัน,

Paired t-test, Wilcoxon signed rank test; n=20



3. ลักษณะทางพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือดแดงหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้ายและด้านขวา

ผลการศึกษาทางลักษณะทางพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้ายและด้านขวา พบว่าผนังหลอดเลือดชั้นในมีการหนาตัว ซึ่งเกิดจากการแทรกตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ จากผนังหลอดเลือดชั้นกลางจำนวนมาก (ภาพที่ 2) พบเซลล์อักเสบสะสมภายในผนังหลอดเลือดจำนวนมาก (ภาพที่ 3) และมี plaque เกิดขึ้นภายในผนังหลอดเลือด พบ foam cells จำนวนมากส่วนใหญ่แทรกตัวอยู่ในผนังหลอดเลือดชั้นใน ซึ่งเป็นกลุ่มของ macrophage ที่จับกินไขมันทำให้เซลล์มีช่องว่างสีขาวที่เรียกว่า fat vacuoles จำนวนมากอยู่ใน cytoplasm (ภาพที่ 4) บางบริเวณพบการเกิด atheromatous plaque คือ ประกอบด้วย fibrous cap คลุม lipid core (ภาพที่ 5) ซึ่งเกิดการสะสมของไขมันจำนวนมากภายใน extracellular matrix เกิดเป็น extracellular lipid pools นอกจากนี้บางบริเวณพบ apoptotic smooth muscle cells

(ภาพที่ 6) สะสมอยู่ภายในเกิดเป็น necrotic core และพบหินปูนแคลเซียม (calcification) อยู่ภายใน lipid core ที่แทรกอยู่ในผนังหลอดเลือดชั้นใน (ภาพที่ 7) โดยพบหินปูนแคลเซียมยื่นตัวตันผนังหลอดเลือดชั้นใน เข้าไปใน lumen ของหลอดเลือด (ภาพที่ 8) บางตัวอย่างพบการเกิดหินปูนแคลเซียมยื่นขยายเข้าไปในผนังหลอดเลือดชั้นกลาง และบางตัวอย่างเกาะอยู่ด้านในของ endothelium ซึ่งเป็นด้านที่อยู่ชิดกับ lumen นอกจากนี้บริเวณที่มี plaque ยังพบ cholesterol cleft (ภาพที่ 9) ส่วนผนังหลอดเลือดชั้นกลางพบการแทรกตัวของเส้นใยคอลลาเจน (collagen fiber) จำนวนมากและพบเส้นใยอีลาสติก (elastic fiber) ที่มีลักษณะไม่สมบูรณ์ ขาดเป็นเส้นสั้น ๆ กระจายอยู่ในผนังหลอดเลือดชั้นกลาง และยังพบเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ ที่มีรูปร่างและการเรียงตัวที่ผิดปกติไม่เป็นระเบียบ (ภาพที่ 10) จากการศึกษาลักษณะของ plaque ภายในผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้ายและด้านขวาพบลักษณะของ plaque ภายในผนังหลอดเลือดแสดงได้ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ลักษณะของ plaque ที่พบในผนังของหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้าย (left coronary artery) และด้านขวา (right coronary artery)-

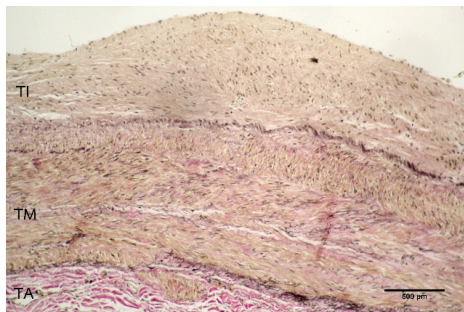
Artery	ลักษณะของ plaque				
	Foam cell (%)	Fibrous cap (%)	Lipid core (%)	Calcification (%)	Cholesterol cleft (%)
Left coronary	19 (95.00%)	14 (70.00%)	18 (90.00%)	9 (45.00%)	6 (30.00%)
Right coronary	20 (100.00%)	18 (90.00%)	15 (75.00%)	10 (50.00%)	3 (15.00%)

จากการศึกษา internal elastic lamina และ external elastic lamina พบลักษณะความผิดปกติของ elastic lamina ภายในหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้ายและด้านขวา ได้แก่มีการเรียงตัวซ้อนกัน (reduplication)

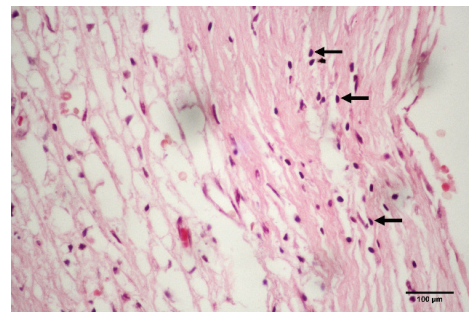
แตกเป็นเศษ ๆ (fragmentation) และขาดจากกัน (fraying) (ภาพที่ 11) และพบว่ามี การเรียงตัวทั้งรูปแบบตรง (straight) และคลื่นผสมตรง (wave + straight) ซึ่งส่วนใหญ่พบว่ามีลักษณะเป็นแนวตรง (ภาพที่ 12) แสดงผลได้ตามตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ลักษณะรูปแบบการเรียงตัวของ internal elastic lamina และ external elastic lamina

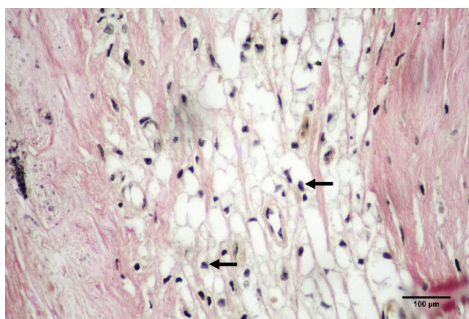
		Left coronary	Right coronary
Internal elastic lamina	Straight	14 (70.00%)	13 (65.00%)
	Wave+ straight	6 (30.00%)	7 (35.00%)
External elastic lamina	Straight	15 (75.00%)	17 (85.00%)
	Wave+ straight	5 (25.00%)	3 (15.00%)



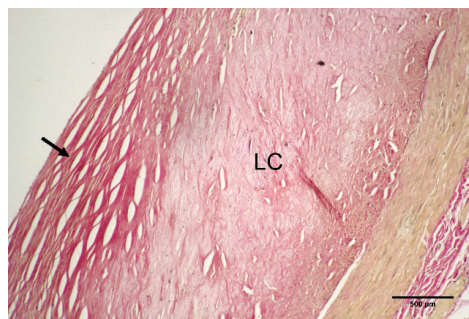
ภาพที่ 2 แสดงการหนาตัวของผนังหลอดเลือดชั้นใน (tunica intima; TI) จากการแทรกตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบที่เคลื่อนตัวขึ้นไปจากผนังหลอดเลือดชั้นกลาง (tunica media; TM) (Tunica adventitia : TA, Verhoeff-Van Gieson stain, 100x)



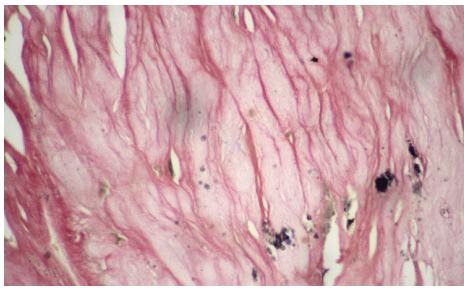
ภาพที่ 3 แสดงพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารีที่มีเซลล์อักเสบ (ลูกศรสีดำ) สะสมอยู่ภายในผนังหลอดเลือดชั้นใน จำนวนมาก (H&E, 400x)



ภาพที่ 4 แสดงพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารี โดยพบ foam cells (ลูกศรสีดำ) จำนวนมากแทรกตัวอยู่ในผนังหลอดเลือดชั้นใน (Verhoeff-Van Gieson stain, 400x)



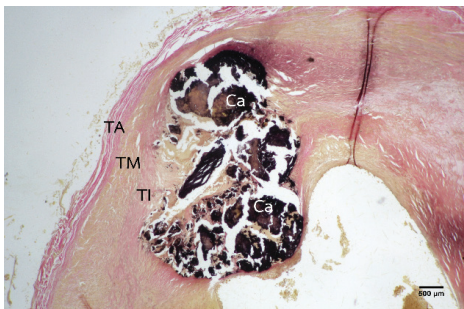
ภาพที่ 5 แสดงพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารี โดยพบ fibrous cap (ลูกศรสีดำ) คลุม lipid core (LC) ที่สะสมอยู่ภายในผนังหลอดเลือดชั้นใน (Verhoeff-Van Gieson stain, 100x)



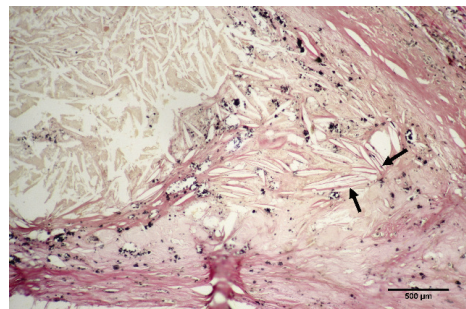
ภาพที่ 6 แสดงพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารี โดยพบ extracellular lipid pools, apoptotic smooth muscle cells สะสมอยู่ในผนังหลอดเลือดชั้นใน (Verhoeff-Van Gieson stain, 400x)



ภาพที่ 7 แสดงพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารี โดยพบการเกิดหินปูนแคลเซียม (calcification; Ca) อยู่ภายใน lipid core (LC) ที่ถูกคลุมด้วย fibrous cap (FC) ภายในผนังหลอดเลือดชั้นใน (Verhoeff-Van Gieson stain, 100x)



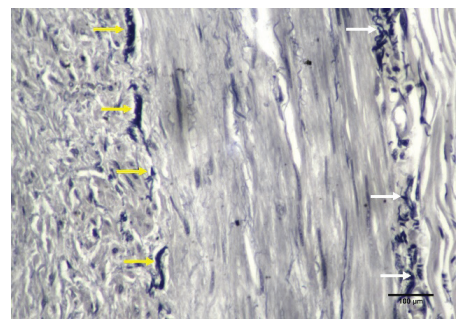
ภาพที่ 8 แสดงการเกิดหินปูนแคลเซียม (calcification; Ca) ภายในผนังหลอดเลือดชั้นใน (tunica intima; TI) จะเห็นหินปูนแคลเซียมขนาดใหญ่ยื่นตัวตันเข้ามาใน lumen ของหลอดเลือด (Tunica media : TM, Tunica adventitia : TA, Verhoeff-Van Gieson stain, 40x)



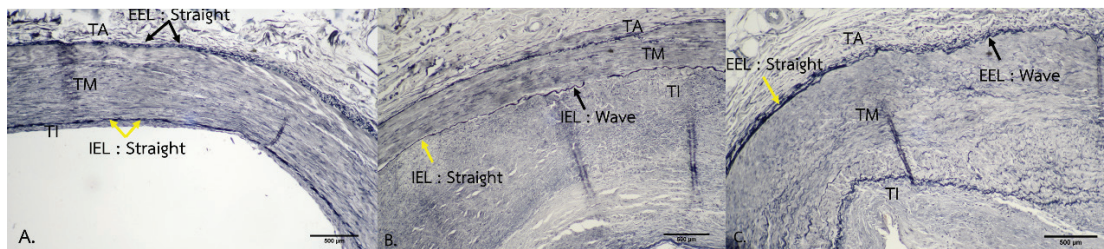
ภาพที่ 9 แสดงพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารี โดยพบ cholesterol clefts ที่มีลักษณะเป็นช่องว่างรูปกระสวย (ลูกศรสีดำ) และ microcalcification ที่มีลักษณะเป็นก้อนสีดำ ๆ ขนาดเล็กกระจายอยู่ภายใน atherosclerotic plaque ของผนังหลอดเลือดชั้นใน (Verhoeff-Van Gieson stain, 100x)



ภาพที่ 10 แสดงพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารี โดยพบการเรียงตัวที่ผิดปกติ ไม่เป็นระเบียบของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบภายในผนังหลอดเลือดชั้นกลาง (tunica media; TM) รวมทั้งเซลล์มีรูปร่างที่ผิดปกติ (Tunica intima: TI, Tunica adventitia: TA, Verhoeff-Van Gieson stain, 100x)



ภาพที่ 11 แสดงลักษณะพยาธิสภาพของ internal elastic lamina และ external elastic lamina ที่มีการแตกเป็นเศษเล็ก ๆ แยกจากกัน ทำให้มีการเรียงตัวที่ไม่ต่อเนื่องของทั้ง internal (ลูกศรสีเหลือง) และ external elastic lamina (ลูกศรสีขาว) (Verhoeff's Elastic stain, 400x)



ภาพที่ 12 แสดงลักษณะการเรียงตัวของ internal elastic lamina (IEL) และ external elastic lamina (EEL) ของหลอดเลือดแดงโคโรนารี (A) IEL & EEL แบบแนวตรง (straight) (B) IEL แบบคลื่นผสมตรง (wave + straight) (C) EEL แบบคลื่นผสมตรง (wave + straight) (Tunica intima: TI, Tunica media: TM, Tunica adventitia: TA, Verhoeff's Elastic stain, 100x)

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาความหนาของผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้ายและด้านขวา จากร่างอาจารย์ใหญ่ชาวไทย จำนวน 20 ร่างที่มีอายุ 50 ปีขึ้นไป พบการหนาตัวของผนังหลอดเลือดชั้นในของหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้ายและด้านขวา ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Deopujar และ Dixit [8] ที่พบว่าผนังหลอดเลือดชั้นในมีความหนาเพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่อายุ 40 ปีขึ้นไป ซึ่งอาจจะนำไปสู่การเกิดโรคหลอดเลือดตีบแข็ง [8] เนื่องจากเมื่ออายุมากขึ้นจะทำให้เกิดภาวะ oxidative stress และพบ inflammatory proteins ในเลือดสูงขึ้น [9] ทำให้เซลล์บุผนังหลอดเลือดมีความผิดปกติ (endothelial dysfunction) ในผู้สูงอายุทั้งเพศชายและเพศหญิง ส่งผลให้เซลล์บุผนังหลอดเลือดหลังไนตริกออกไซด์ลดลงและเกิดการเคลื่อนตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาวเข้ามาในผนังหลอดเลือดบริเวณที่ได้รับบาดเจ็บหรืออักเสบมากขึ้น ทำให้ผนังหลอดเลือดชั้นในหนาตัว เรียกลักษณะดังกล่าวว่า pathological intimal thickening หรือ PIT และพัฒนาไปเป็น fibroatheroma stage [10] และผลจากการสร้างไนตริกออกไซด์ลดลง จะทำให้หน้าที่ของเซลล์บุผนังหลอดเลือดในการเป็นผนังกั้นให้กับผนังหลอดเลือดผิดปกติ สารไขมันจึงสามารถซึมผ่านจาก lumen เข้าไปในผนังหลอดเลือดได้ และยิ่งไปกระตุ้นให้เซลล์กล้ามเนื้อเรียบแบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้น และเคลื่อนตัวไปยังผนังหลอดเลือดชั้นใน ทำให้เกิดการหนาตัวของผนังหลอดเลือดจนเกิดการปิดกั้นการไหลเวียนของเลือด [11, 12] จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่าความผิดปกติในการทำหน้าที่ของเซลล์บุผนังหลอดเลือดถือเป็นจุดเริ่มต้นของการหนาตัวของผนังหลอดเลือด

จากการศึกษาลักษณะทางพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้ายและด้านขวา พบ plaque ภายในผนังหลอดเลือดชั้นใน ดังนี้คือ foam cell, fibrous cap, lipid core, calcifications และ cholesterol cleft โดยจะพบ foam cells มากที่สุดทั้งในหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้ายและด้านขวา สอดคล้องกับงานวิจัยของ Bhanvadia และคณะ [13] ที่ได้ศึกษาลักษณะพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือดแดงด้านซ้ายหน้า (left anterior descending; LAD), หลอดเลือดแดงด้านซ้ายข้าง (left circumflex artery; LCA) และหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านขวา (right coronary artery; RCA) ในผู้ที่เสียชีวิต อายุอยู่ในช่วง 8-79 ปี ผลจากการศึกษาพบรอยโรคของผนังหลอดเลือดในระยะ intimal xanthoma มากที่สุดในช่วงกลุ่มอายุ 40-49 ปี ซึ่งเป็นระยะที่มีการสะสมของ foam cells จำนวนมากบริเวณ lumen ของหลอดเลือด แต่ไม่พบ necrotic core หรือ fibrous cap และไม่มีการ thrombosis ส่วนในช่วงกลุ่มอายุ 40-79 ปี จะพบรอยโรคระยะ fibrous cap atheroma ซึ่งเป็นแบบ advanced atherosclerotic โดยจะพบ necrotic core ที่ถูกคลุมด้วย fibrous cap แต่ไม่มีการ thrombosis [13] แสดงให้เห็นว่าโรคหลอดเลือดตีบแข็งมีระดับความรุนแรงมากขึ้นตามระดับของอายุ และเกิดขึ้นได้ตั้งแต่ในช่วงวัยรุ่นและพัฒนาาระดับความรุนแรงต่อไปในช่วงอายุที่มากขึ้น สาเหตุสำคัญของการเกิดโรคหลอดเลือดตีบแข็ง คือมีการสะสมของคอเลสเตอรอลในเลือดสูง ซึ่งจะถูกขนส่งในกระแสเลือดในรูปของไลโปโปรตีนชนิดความหนาแน่นต่ำ หรือ LDL และเมื่อ LDL ถูกออกซิไดซ์โดยอนุมูลอิสระ จะไปส่งผลให้ผนังหลอดเลือดมีการอักเสบ



และถูกทำลาย การอักเสบนี้จะไปกระตุ้นให้เซลล์บุผนังหลอดเลือด และเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ มีการหลั่งสาร adhesion molecules, chemoattractant และ growth factors ซึ่งมีผลกระตุ้นการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาวให้แบ่งตัวเพิ่มจำนวน และเคลื่อนที่มายังบริเวณที่มีการอักเสบ [14] จากนั้น oxidized LDL จะทำให้ macrophage กลายสภาพไปเป็น foam cells เกาะติดอยู่ที่ผนังหลอดเลือด [15] โดยการสะสมของ foam cells เป็นเวลานานจะกลายไปเป็น atherosclerotic plaque ที่ประกอบด้วย fibrous cap คลุมอยู่ด้านบน lipid core หรือไขมันแกน และองค์ประกอบอื่นๆ ได้แก่ ซากเซลล์, ผลิต cholesterol และ foam cells บางบริเวณพบเฉพาะ foam cells ในผนังหลอดเลือดชั้นใน ระยะนี้เรียกว่า intimal xanthoma ซึ่งเป็นระยะที่กลับสู่สภาพปกติได้หากสิ่งกระตุ้นหมดไป [16] กรณีที่ xanthoma มีการพัฒนาต่อไปจะมีการสะสมของไขมันจำนวนมากในผนังหลอดเลือดชั้นใน เป็น lipid pools ขนาดเล็กได้ชั้นของ foam cells [17] เรียกลักษณะความผิดปกตินี้ว่า pathological intimal thickening คือมีการหนาตัวของผนังหลอดเลือด โดยที่ยังไม่พบการเกิด necrosis ของเซลล์ [18] และในการศึกษานี้ยังพบการเกิด necrotic core เรียกโรคนี้ว่า fibroatheroma บริเวณนี้จะพบ apoptosis และ necrosis ของ foam cells และเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ [19] ด้านบนของ necrotic core จะคลุมด้วย fibrous cap ซึ่งเป็นชั้นเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยคอลลาเจนร่วมกับ lymphocytes macrophage และเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ และผลจากการเกิด fibroatheroma จะทำให้ผนังหลอดเลือดหนาตัวมากกว่าปกติ ส่งผลให้เซลล์กล้ามเนื้อเรียบในผนังหลอดเลือดชั้นกลาง ได้รับเลือดไปเลี้ยงน้อยลงเพราะมี atheroma ขวางการแพร่ของเลือด ทำให้ผนังหลอดเลือดชั้นกลางเกิดการฝ่อตัว (atrophy) [20]

นอกจากนี้การศึกษานี้ยังพบการสะสมของหินปูนแคลเซียม (calcification) ที่ผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้ายและด้านขวา โดยส่วนใหญ่พบในผนังหลอดเลือดชั้นใน ส่งผลให้มีการหลุดลอกของเซลล์บุผนังหลอดเลือด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Demer และคณะ [21] ที่พบว่า

ส่วนใหญ่การเกิด atherosclerotic calcification มักพบในผนังหลอดเลือดชั้นใน เกิดจากสารก่อการอักเสบและไขมันที่สะสมใน atherosclerotic lesions ปริมาณมากเป็นตัวเหนี่ยวนำให้เซลล์กล้ามเนื้อเรียบเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์สร้างกระดูก [21] ปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดการสะสมของหินปูนแคลเซียมในผนังหลอดเลือดชั้นใน (intimal calcification) ได้แก่ อายุที่เพิ่มขึ้น โรคเบาหวาน โรคไขมันในเลือดสูง ความดันเลือดสูง เพศชาย ควันบุหรี่ และโรคไต เป็นต้น เมื่อผนังหลอดเลือดแข็งตัวจากการอักเสบเรื้อรังและกลายเป็นแคลเซียมไปเกาะ จะทำให้หลอดเลือดสูญเสียความยืดหยุ่น เกิดการตีบของหลอดเลือดได้ [22]

จากการศึกษาลักษณะพยาธิสภาพของ internal และ external elastic lamina โดยการย้อมด้วย Verhoeff-Van Gieson stain ในหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้ายและด้านขวา พบลักษณะความผิดปกติได้แก่ เกิดการเรียงตัวซ้อนกัน, แตกเป็นเศษ ๆ และขาดหลุดจากกัน ผลจากการศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Pranjali and Sachin [23] ที่พบความเสียหายหรือเสื่อมสภาพของ internal elastic lamina ในลักษณะต่างๆ ได้แก่ มีการขาดแยกจากกัน ไม่ต่อเนื่อง โดยระดับความรุนแรงของความเสียหายของ internal elastic lamina จะมากขึ้นตามช่วงอายุที่สูงขึ้น [23] และส่งผลให้ผนังหลอดเลือดสูญเสียความยืดหยุ่น [8] และจากการเรียงตัวที่ไม่ต่อเนื่องของ internal elastic lamina พบว่ามีความสัมพันธ์กับความหนาของผนังหลอดเลือดชั้นในที่เพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจาก internal elastic lamina ที่มีการเรียงตัวไม่ต่อเนื่องหรือเสื่อมสภาพ จะทำให้เซลล์กล้ามเนื้อจากผนังหลอดเลือดชั้นกลางเคลื่อนตัวมายังผนังหลอดเลือดชั้นใน [24] และการสลายของ internal elastic lamina ที่มีการเรียงตัวซ้อนกัน จะทำให้เกิดความเสียหายในการยึดเกาะของเซลล์บุผนังหลอดเลือด ทำให้เซลล์สูญเสียและกลายเป็นบริเวณว่างเปล่า (bare areas) ซึ่งจะทำให้มีการแทรกตัวของไลโปโปรตีนเข้ามาภายในผนังหลอดเลือดมากขึ้นจนกลายเป็น atherosclerotic lesions [25] และจากการศึกษานี้พบลักษณะของ internal และ external elastic lamina เป็นแนวตรงมากที่สุด สอดคล้องกับงานวิจัย

ของ Shembekar และคณะ [26] ที่พบการยืดตัว (stretching) และการแตกเป็นเศษ ๆ ของ internal elastic lamia ในผู้เสียชีวิตที่มีอายุ 40 ปีขึ้นไป แสดงให้เห็นว่าเมื่ออายุมากขึ้นจะส่งผลให้ internal และ external elastic lamia เกิดการยืดตัว และแข็งตัวมากขึ้น [26]

จากการศึกษานี้ทำให้ทราบถึงการเปลี่ยนแปลง ลักษณะทางจุลกายวิภาคและพยาธิสภาพของผนังหลอดเลือดแดงโคโรนารีด้านซ้ายและด้านขวา โดยพบรอยโรคที่เรียกว่า atherosclerotic plaque ในรูปแบบต่าง ๆ การเสื่อมสภาพของ internal และ external elastic lamina และการหนาตัวของผนังหลอดเลือด ซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคหลอดเลือดตีบแข็ง ผลที่ได้จากงานวิจัยนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปประยุกต์ใช้ในการประเมินความเสี่ยงและการเฝ้าระวังการเกิดโรคหลอดเลือดตีบแข็งได้

เอกสารอ้างอิง

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. *J Pharmacol Sci* 2003;91(3):172-6.
2. Messner B, Bernhard D. Smoking and cardiovascular disease: mechanisms of endothelial dysfunction and early atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014;34(3):509-15.
3. Falk E. Pathogenesis of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 2006;47(8):7-12.
4. Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis. the road ahead. *Cell* 2001;104(4):503-16.
5. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005;352(16):1685-95.
6. ศันสนีย์ วงศ์ไวศยวรรณ. ตำราพยาธิวิทยาภาควิชาโรค เล่ม 1. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์เดือนตุลา; 2555.
7. 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. *J Pathol* 2018;8(2):67-72.
8. 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):192-6.
9. Wu J, Xia S, Kalionis B, Wan W, Sun T. The role of oxidative stress and inflammation in cardiovascular aging. *Biomed Res Int* 2014;2014:1-13.
10. Milutinović A, Šuput D, Zorc-Plesković 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.
11. รุ่งรัตน์ นิลธเสน. ไนตริกออกไซด์กับโรคหลอดเลือดตีบแข็ง Nitric oxide and atherosclerosis. *ว. วิทยา. เทคโนโลยี. หัวใจวัยเจริญพันธุ์* 2559;2(1): 71-9.
12. Bennett MR, Sinha S, Owens GK. Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis. *Circ Res* 2016;118(4):692-702.
13. BhanVadia VM, Desai NJ, Agarwal NM. Study of coronary atherosclerosis by modified american heart association classification of atherosclerosis- an autopsy study. *J Clin Diagn Res* 2013;7(11): 2494-7.
14. Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature* 2011;473:317-25.
15. Bekkering S, Quintin J, Joosten LA, van der Meer JW, Netea MG, Riksen NP. Oxidized low-density



- lipoprotein induces long-term proinflammatory cytokine production and foam cell formation via epigenetic reprogramming of monocytes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014;34(8):1731–8.
16. Bentzon JF, Otsuka F, Virmani R, Falk E. Mechanisms of plaque formation and rupture. *Circ Res* 2014;114(12):1852-66.
17. 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(5):1262–75.
18. 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(10):2698-705.
19. Clarke MC, Bennett MR. Cause or consequence: what does macrophage apoptosis do in atherosclerosis?. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;29(2):153–5.
20. 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;11(1):127-42.
21. Demer LL, Tintut Y. Vascular calcification: pathobiology of a multifaceted disease. *Circulation* 2008;117(22):2938-48.
22. Liu W, Zhang Y, Yu CM, Ji QW, Cai M, Zhao YX, et al. Current understanding of coronary artery calcification. *J Geriatr Cardiol* 2015;12(6):668-75.
23. Pranjali R, Sachin S. Histology of coronary arteries in relation to the coronary sclerosis. *J Anat* 2018;2(2):1-6.
24. Venkateshwer M, Pusala B. Anatomical variations in branching pattern and dimensions of coronary arteries: a cadaveric study from south India. *J Dent Med Sci* 2016;15(8): 21-8.
25. 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(3):413-24.
26. Shembekar S, Meshram M. Age Related Histological Changes in Tunica Intima of Coronary Arteries in Relevance to the Atherosclerosis. *Indian J Forensic Med Toxicol* 2016;10(2):168-71.