

- จากนั้นทำให้เกิด reactive hyperemia โดยการอัดลมเข้าไปยัง pressure cuff ที่พันไว้ที่ต้นแขน ขึ้นไปสูงประมาณ 220 มม.ปรอท และค้างไว้เป็นเวลา 4 นาที การกระทำเช่นนี้เป็นที่ยอมรับในสากล และมีรายงานว่าไม่ก่ออันตรายและความเจ็บปวดแต่อย่างใด แต่อาจรู้สึกมีขนาดเล็กน้อยที่ปลายแขนในช่วงเวลาสั้นๆ และอาการจะหายไปทันทีเมื่อปล่อยลมออกจาก cuff

- หลังจากครบ 4 นาทีแล้ว ทำการปล่อยลมออกจาก cuff และวัด FBF ทันที อย่างต่อเนื่องเหมือนข้างต้น

- ทำการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้โดยใช้โปรแกรม Acqknowledge data analysis software ของเครื่อง Biopac system และแสดงผลเป็นค่าอัตราการไหลของเลือดที่ไปเลี้ยงปลายแขน (มล./100 มล.เนื้อเยื่อปลายแขน/นาที) ทั้งในขณะพัก และหลังทำ reactive hyperemia จนกระทั่งกลับสู่ระดับปกติ ซึ่งค่าที่วัดได้ทั้งหมดนี้จะสามารถประเมินสภาวะการทำงานของเซลล์เอ็นโคทีเลียมได้

การวิเคราะห์ภาวะความรุนแรงของโรคหลอดเลือดหัวใจจะใช้วิธีการคำนวณ Gensini score (Gensini, 1983) จากภาพ coronary arteriogram ของผู้ป่วย ซึ่งได้จากการทำ coronary angiography โดยหาก lumen ของหลอดเลือดโคโรนารีเกิดอุดตันแบบลงจากเดิม 25%, 50%, 75%, 90%, 99% และ 100% ก็จะให้คะแนนเท่ากับ 1, 2, 4, 8, 16 และ 32 ตามลำดับ และนำค่าคะแนนนี้ไปคูณกับค่าแฟกเตอร์ที่บ่งชี้ตำแหน่งของหลอดเลือดโคโรนารีที่ตีบแคบและทำให้กล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดไปเลี้ยง ดังเช่น หากเกิดขึ้นที่ left main coronary artery จะคูณ 5; ที่ proximal segment ของ left anterior descending coronary artery (LAD) จะคูณ 2.5; ที่ proximal segment ของ circumflex artery จะคูณ x 2.5; ที่ mid-segment ของ LAD จะคูณ 1.5; ที่ right coronary artery, distal segment ของ the LAD, ที่ posterolateral artery, และที่ obtuse marginal artery จะคูณ 1; ส่วนตำแหน่งอื่นๆที่เหลือจะคูณ 0.5

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ผลการวิจัยแสดงเป็นค่า mean $\pm$ S.E.M. สถิติที่ใช้วิเคราะห์ข้อมูลคือ unpaired t-test และ chi square test ส่วนการหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต่างๆของทั้งสองกลุ่มใช้ Pearson correlation analysis ทั้งสองกลุ่มการทดลองแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ $P < 0.05$ สำหรับโปรแกรมสถิติที่ใช้คือ Stata version 7 (Stata Corp., College Station, TX, USA).

4. ผลการวิจัย

4.1 ลักษณะทั่วไปทางคลินิกของประชากรที่ทำการศึกษา

จำนวนประชากรที่ทำการศึกษประกอบด้วยกลุ่มผู้ป่วยที่แพทย์วินิจฉัยว่าเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจ (Coronary artery disease; CAD) จำนวน 106 ราย แบ่งเป็นเพศชาย 77 ราย และเพศหญิง 29 ราย ส่วนอีกกลุ่มคือกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ผ่านเกณฑ์การวินิจฉัยว่าเป็นโรค CAD ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม จำนวน 57 ราย แบ่งเป็นเพศชาย 22 ราย และเพศหญิง 35 ราย สำหรับอายุของผู้ป่วยทั้งหมดโดยเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 60-65 ปี ผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ทำการศึกษาทั้ง 2 กลุ่ม ไม่มีความแตกต่างในเรื่อง อายุ, ดัชนีมวลกาย, รอบเอว, ความดันเลือด, อัตราเต้นของหัวใจ และดัชนีสัดส่วนระหว่างค่าความดันเลือดซิสโตลิกที่ข้อเท้าต่อค่าความดันเลือดซิสโตลิกที่ต้นแขน (Ankle brachial index; ABI) ในขณะที่เพศชายพบว่าผู้ป่วยเป็น CAD มากกว่าเพศหญิง (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ลักษณะทั่วไปทางคลินิกของผู้ป่วยกลุ่มควบคุมและกลุ่ม CAD

Characteristics	Control (n=57)	CAD (n = 106)
Age (years)	60.9 ± 1.0	62.4 ± 0.8
Gender (male)	22	77 *
Waist circumference (cm)	90.6 ± 1.3	91.1 ± 0.9
Body mass index (kg/m ²)	25.81 ± 0.5	25.12 ± 0.3
SBP (mmHg)	130.9 ± 2.2	131.4 ± 1.7
DBP (mmHg)	73.8 ± 1.5	73.9 ± 1.2
PP (mmHg)	57.1 ± 1.7	57.5 ± 1.4
Heart rate (beats/min)	64.6 ± 1.5	65.4 ± 1.1

Data are expressed as mean ± S.E.M., n = number of subjects. * p<0.05 vs. Control

ก่อนทำการตรวจพิเศษด้วย coronary angiography ผู้ป่วยทั้งหมดได้รับการรักษาด้วยยาหลายชนิดดังแสดงในตารางที่ 2 ได้แก่ aspirin 93-94%, angiotensin receptor blocker/angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor 30-43%, β-blockers 42-59%, calcium antagonists 7-9%, diuretic11-12%, clopidogrel 28-40%, anti-diabetic drugs 21-30% และ statin 60-84% จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าจำนวนผู้ป่วยทั้ง 2 กลุ่มที่ได้รับยารักษาชนิดต่างๆที่กล่าวข้างต้น ไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ยาที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่ทำการศึกษาทั้งหมด

Medications	Control (n=57)	CAD (n = 106)
Aspirin (%)	93	94
ARB/ACE inhibitors (%)	30	43
β-blockers (%)	42	59
Calcium antagonists (%)	9	7
Diuretics (%)	12	11
Clopidogrel (%)	28	40
Anti-diabetic drugs (%)	21	30
Statin (%)	60	84

สำหรับผลตรวจระดับเคมีในเลือดของผู้ป่วยที่ทำการศึกษาทั้งหมดได้แสดงไว้ในตารางที่ 3 ผลพบว่าระดับ fasting blood glucose, uric acid, fasting insulin, HOMA-IR, creatinine, white blood cells, hsCRP, total cholesterol และ LDL-cholesterol ไม่แตกต่างกันระหว่าง 2 กลุ่ม ในขณะที่ระดับไขมันในเลือด ได้แก่ triglyceride มีค่าสูงขึ้น และ HDL-cholesterol มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในกลุ่มผู้ป่วย CAD เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.05$; ตารางที่3)

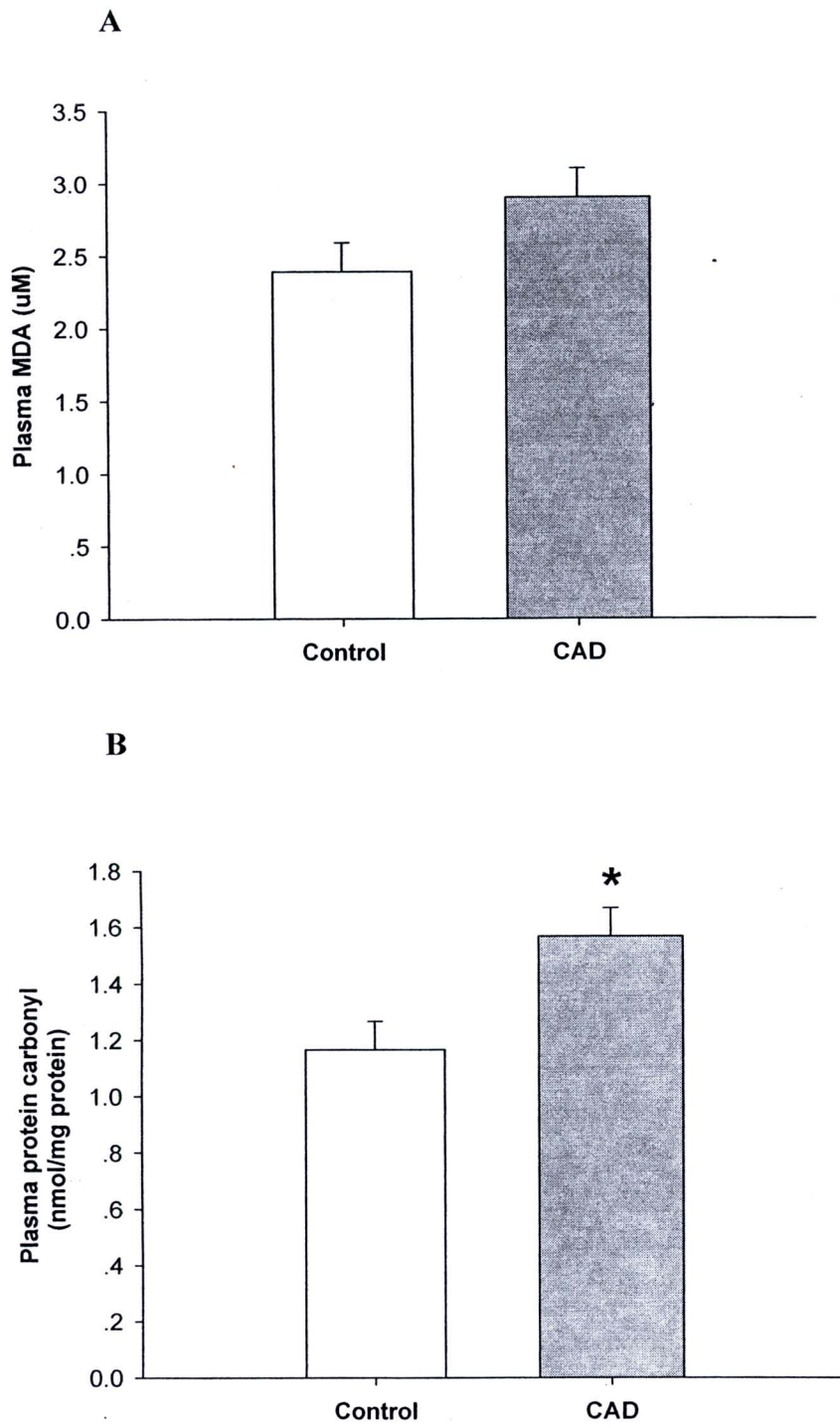
ตารางที่ 3 ค่าระดับเคมีในเลือดของผู้ป่วยที่ทำการศึกษาทั้งหมด

Parameters	Control (n=57)	CAD (n = 106)
Fasting glucose (mg/dL)	106.1 ± 5.3	111.8 ± 4.5
Uric acid (mg/dL)	6.40 ± 0.3	6.76 ± 0.2
Insulin (pmol/L)	121.8 ± 10.2	119.7 ± 6.1
HOMA-IR	4.85 ± 0.6	5.04 ± 0.4
Creatinine (mg/dL)	0.95 ± 0.07	0.97 ± 0.03
WBC (x 10 ³ /mm ³)	6.87 ± 0.2	7.27 ± 0.2
hsCRP	2.49 ± 0.4	2.93 ± 0.5
Total cholesterol (mg/dL)	173.8 ± 6.1	186.6 ± 4.4
Triglyceride (mg/dL)	156.6 ± 10.1	206.7 ± 10.5 *
HDL-cholesterol (mg/dL)	45.5 ± 1.9	39.6 ± 0.9 *
LDL-cholesterol (mg/dL)	95.1 ± 5.2	106.8 ± 3.9

Data are expressed as mean ± S.E.M. * $P<0.05$ vs. controls

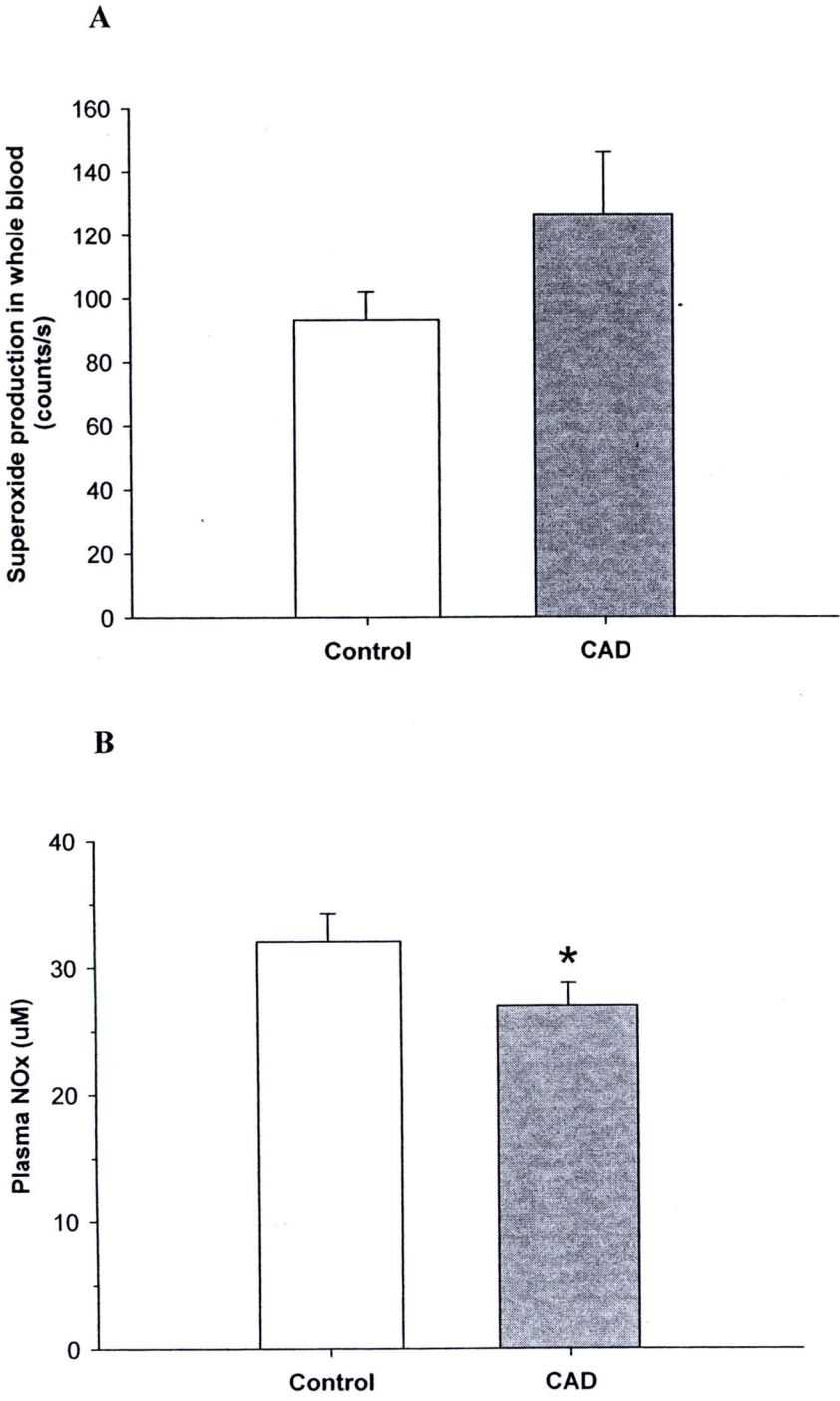
4.2 การตรวจวัดสถานะ oxidant and antioxidant status

ผลการตรวจวิเคราะห์ oxidant และ antioxidant status พบว่ากลุ่มผู้ป่วย CAD มีระดับพลาสมา protein carbonyl ซึ่งเป็น protein oxidation marker สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 1A) ในขณะที่ระดับพลาสมา MDA ซึ่งเป็น lipid peroxidation และปริมาณการสร้าง superoxide anion ในเลือดมีแนวโน้มสูงขึ้น (ภาพที่ 1B และ 2A) ซึ่งบ่งชี้ว่าผู้ป่วย CAD อยู่ในสภาวะ oxidative stress นอกจากนี้ยังพบว่าระดับ NO metabolites (NOx) ในพลาสมาของผู้ป่วย CAD มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งแสดงว่าผู้ป่วย CAD มีการสร้าง NO ลดลง (ภาพที่ 2B) ส่วนระดับ antioxidant GSH ในเลือดได้แก่ total GSH และ GSH/GSSG ซึ่งเป็นบ่งชี้ redox status ของผู้ป่วยนั้นพบว่าไม่แตกต่างกันทั้ง 2 กลุ่ม (ภาพที่ 3) บ่งชี้ได้เช่นกันว่าระบบต้านออกซิแดนซ์ในร่างกายของผู้ป่วยทั้งหมดยังคงรักษาระดับปกติ แม้ว่าผู้ป่วยกลุ่ม CAD จะอยู่ในสภาวะเครียดออกซิเดชันมากกว่าปกติ

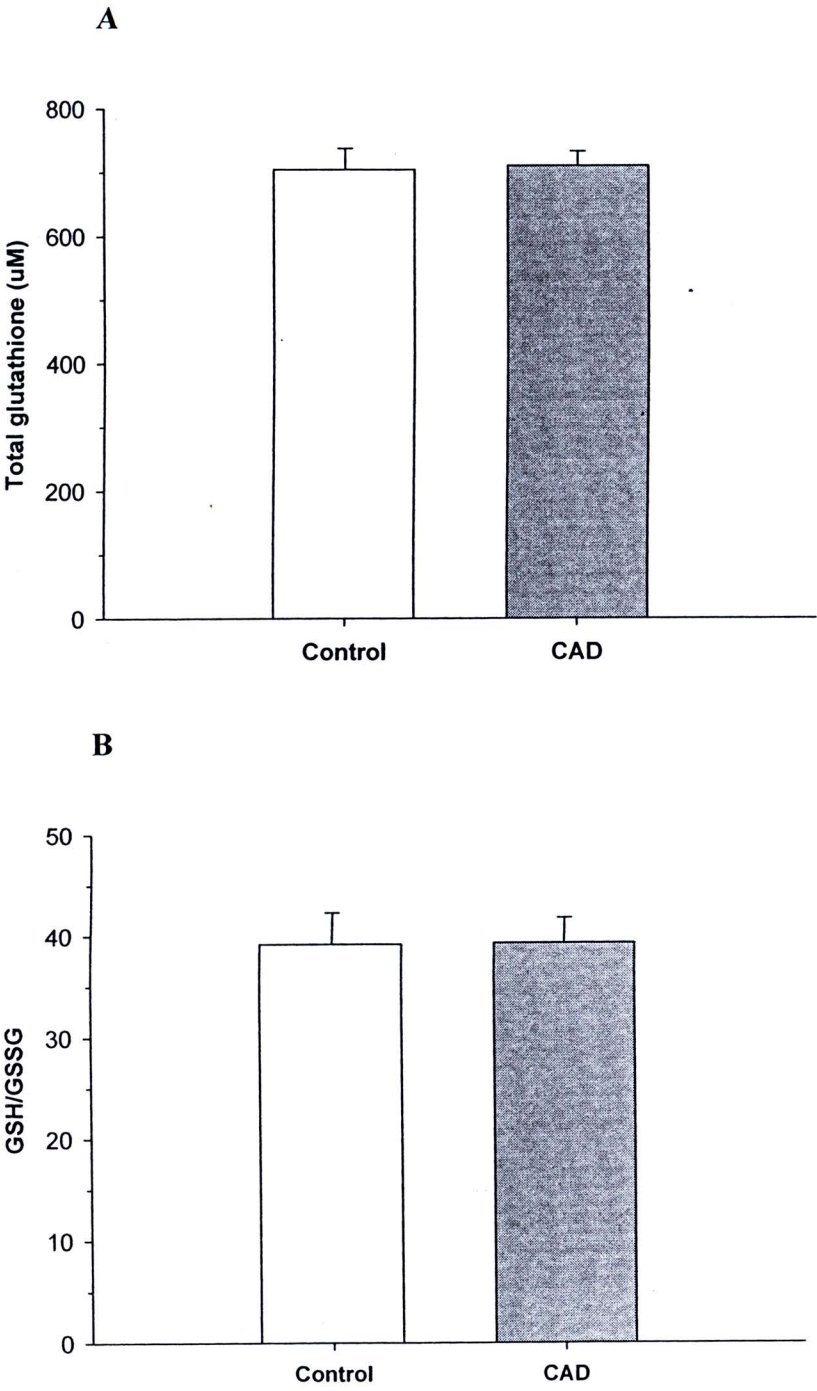


ภาพที่ 1 ระดับ protein carbonyl (A) และ MDA (B) ในพลาสมาของผู้ป่วยกลุ่มควบคุมและกลุ่ม CAD

* $P < 0.05$ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



ภาพที่ 2 ระดับ superoxide anion ในเลือด (A) และ NOx ในพลาสมา (B) ของผู้ป่วยกลุ่มควบคุมและกลุ่ม CAD
* $P<0.05$ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



ภาพที่ 3 ระดับ glutathione ในเลือด (A) และสัดส่วน GSH/GSSG (B) ของผู้ป่วยกลุ่มควบคุมและกลุ่ม CAD

4.3 การตรวจวัดการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือด

ตารางที่ 4 แสดงค่า FBF ที่แขนท่อนล่างของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มก่อนและหลังทำ reactive hyperemia โดยเครื่องมือ strain-gauge plethysmography ซึ่งพบข้อมูลที่น่าสนใจ แม้ว่าค่า baseline FBF ทั้ง 2 กลุ่มจะไม่แตกต่างกัน แต่ค่าการเปลี่ยนแปลงของ FBF โดยคำนวณเป็นค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลง และปริมาณ hyperemic flow ทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากทำ reactive hyperemia พบว่ากลุ่มผู้ป่วย CAD นั้นมีค่าการเปลี่ยนแปลงที่น้อยกว่า โดยกลับสู่ baseline เร็วกว่ากลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4) การตอบสนองที่ลดลงเช่นนี้บ่งชี้ว่าเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดในกลุ่มผู้ป่วย CAD ทำงานผิดปกติ

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบค่า FBF และการเปลี่ยนแปลง FBF หลังจากทำ reactive hyperemia ของผู้ป่วยกลุ่มควบคุม และกลุ่ม CAD

Parameters	Control (n = 16)	CAD (n = 34)
FBF		
Baseline flow (mL/min/100 mL tissue)	8.72 ± 0.7	8.05 ± 0.3
Maximum hyperemic flow (mL/min /100 mL tissue)	24.38 ± 0.9	22.74 ± 0.6
Percent change in FBF (%)	226.1 ± 17.8	209.1 ± 9.4
Total hyperemic flow (mL/100 mL tissue/200s)	2953 ± 79.8	2829 ± 50.9

Data are expressed as mean ± S.E.M.

4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าตัวแปรต่างๆที่ทำการประเมินในประชากรที่ทำการศึกษา

ตารางที่ 5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า FBF กับค่า Gensini score ที่ได้จาก coronary arteriogram ซึ่งบ่งชี้ถึง severity ของการตีบแคบของหลอดเลือดโคโรนารี โดยพบว่า FBF ภายหลังจากการทำ reactive hyperemia นั้นมีค่าแปรผกผันกัน กล่าวคือการเพิ่มขึ้นของ FBF หลังทำ reactive hyperemia นั้นจะเพิ่มน้อยในผู้ป่วยที่มีการตีบแคบของหลอดเลือดโคโรนารีมาก (r- -0.263, P=0.0009) และเมื่อทำการ adjusted ด้วยตัวแปรต่างๆ ได้แก่ เพศ อายุ ค่าความดันเลือด รอบเอว ระดับน้ำตาลในเลือด และระดับ HDL-cholesterol พบว่า FBF ก็ยังสัมพันธ์แบบผกผันกับ Gensini score (r- -0.239, P=0.004)

