

et al., 2001) และจากการศึกษาวิจัยเทคนิคการวัดการทำงานของหลอดเลือดทุกเทคนิค ต่างสรุปว่าเซลล์เอนโดทีเลียมโดยการออกฤทธิ์ผ่าน NO หรือเรียกว่า EDNO นี้มีบทบาทสำคัญต่อการเกิด reactive hyperemia (Moens et al., 2005; Lind et al., 2002; Dakak et al., 1998; Tagawa et al., 1994) ดังนั้นการวัดการทำงานของหลอดเลือดด้วยวิธีนี้ ร่วมกับการวัด oxidative stress และ antioxidant defense markers ต่างๆอาจมีประโยชน์ต่อการประเมินผลลัพธ์ของการรักษาผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจได้ก่อนที่จะเกิดภาวะแทรกซ้อนที่รุนแรงขึ้น (Belhassen et al., 2001; Livrea et al., 1996) และผลการประเมินดังกล่าวจะมีความสำคัญมากเพราะเมื่อเกิดภาวะแทรกซ้อนขึ้นแล้วมักเป็นแบบไม่หวนกลับคืน (irreversible) ดังเช่น โรคหัวใจและหลอดเลือดทำงาน

เนื่องจากยังไม่เคยมีรายงานก่อนหน้านี้ว่าการทำงานของหลอดเลือดในผู้ป่วยชาวไทยโรคหลอดเลือดหัวใจนั้นมีความผิดปกติหรือไม่และรุนแรงมากน้อยเพียงไร การศึกษาวิจัยนี้จึงนับว่ามีประโยชน์อย่างยิ่ง เพราะหากผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจมีความผิดปกติของการทำงานของหลอดเลือด และมีสภาวะเสียสมดุลระหว่าง oxidative stress และ antioxidant defense system ก็จะเป็นดัชนีบ่งชี้ที่สำคัญที่จะช่วยวางแผนการรักษาโรค รวมถึงการพัฒนาวิธีการรักษา ดังเช่น การนำสารต้านออกซิเดนต์มาช่วยในการรักษาและป้องกันโรคระบบหัวใจและหลอดเลือด ซึ่งนักวิทยาศาสตร์ต่างเชื่อว่าสารต้านออกซิเดนต์นั้นอาจมีผลโดยตรงหรือผลทางอ้อมต่อการทำงานของระบบหัวใจและหลอดเลือด นอกเหนือจากการช่วยลดภาวะ oxidative stress ที่เกิดขึ้นในร่างกายผู้ป่วย ดังนั้น จึงควรทำการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสารต้านออกซิเดนต์นี้ในวงกว้างต่อไป โดยสรุปแล้วการศึกษาเกี่ยวกับภาวะการทำงานของหลอดเลือดที่ผิดปกติในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจในประเทศไทยนี้นับว่าเป็นประโยชน์ต่อวงการแพทย์ไทย เพราะนอกจากจะช่วยในการวินิจฉัยและรักษาโรคแล้ว ยังส่งผลต่อการพัฒนาคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยหลอดเลือดหัวใจให้ดีขึ้นและมีชีวิตยืนยาวมากขึ้น และหากทำการศึกษาวิจัยในด้านนี้อีกต่อไปเนื่องในระยะยาว ก็อาจนำไปสู่การลดอัตราการเกิดโรคและอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยโรคหัวใจและหลอดเลือดของประชากรไทยด้วย

3. วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย เป็นแบบ cross-sectional study และ experimental design โดยแบ่งอาสาสมัครเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุมที่ไม่เป็นโรคหลอดเลือดหัวใจ จำนวน 57 คน และกลุ่มผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจ จำนวน 106 คน รวมอาสาสมัครที่ทำการศึกษาร่วมกัน 163 คน

3.2 ขั้นตอนและวิธีการวิจัย

- ก่อนเริ่มโครงการคณะผู้วิจัยได้รับอนุญาตในการทำวิจัยจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ของมหาวิทยาลัยขอนแก่นก่อน และกลุ่มอาสาสมัครที่ผ่านการคัดกรองเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย และได้รับการอธิบายเกี่ยวกับรูปแบบและวิธีการศึกษา พร้อมทั้งตอบแบบสอบถามเกี่ยวกับข้อมูลเบื้องต้นและประวัติต่างๆในการดำเนินชีวิต ได้แก่ ประวัติการรับประทานยา การสูบบุหรี่ การดื่มเหล้า การรับประทานอาหาร และการทำกิจกรรมต่างๆ เป็นต้น

- แพทย์ผู้ร่วมโครงการจะเป็นผู้คัดกรองอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม โดยอาสาสมัครที่ทำการศึกษาจะได้จากผู้ที่มาตรวจร่างกายหรือรับการรักษาที่ศูนย์หัวใจสิริกิติ์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น ทั้งนี้อาสาสมัครทุกรายต้องมีคุณสมบัติเข้ากับเกณฑ์คัดเข้า (inclusion criteria) และเกณฑ์คัดออก (exclusion criteria) ที่กำหนดไว้ข้างล่างนี้

Inclusion criteria:**กลุ่มควบคุม**

- เป็นอาสาสมัครเพศชายและเพศหญิง ที่มีอายุตั้งแต่ 45 ปีขึ้นไป
- ได้รับการตรวจวินิจฉัยจากแพทย์ผู้ชำนาญการ โรคหลอดเลือดหัวใจและยืนยันการวินิจฉัยด้วยผล

การตรวจร่างกายและการตรวจพิเศษโดยทำ coronary angiography แล้วไม่พบหลอดเลือดหัวใจตีบอย่างชัดเจน ตามเกณฑ์การวินิจฉัยโรคหลอดเลือดหัวใจ

กลุ่มผู้ป่วย

- เป็นอาสาสมัครที่มารับการตรวจรักษาที่ศูนย์หัวใจสิริกิติ์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ทั้งเพศชายและเพศหญิง อายุตั้งแต่ 45 ปีขึ้นไป
- ได้รับการตรวจวินิจฉัยจากแพทย์ผู้ชำนาญการ โรคหลอดเลือดหัวใจและยืนยันการวินิจฉัยด้วยผลการตรวจร่างกายและการตรวจพิเศษโดยทำ coronary angiography แล้วยืนยันว่าเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจตามเกณฑ์การวินิจฉัยโรคหลอดเลือดหัวใจ (หรือได้รับการรักษาด้วยการทำ coronary revascularization มาก่อน) และผู้ป่วยต้องไม่มีอาการทางด้านหลอดเลือดหัวใจอย่างน้อยหนึ่งเดือนขึ้นไปเพื่อป้องกันผู้ป่วยที่ยังมีอาการ unstable angina

Exclusion criteria:**กลุ่มควบคุม**

- วันที่ทำการตรวจวัดการทำงานของหลอดเลือด ต้องไม่มีไข้ ไม่ติดเชื้อ ไม่มีอาการอักเสบ และไม่รับประทานยาที่มีผลต่อหัวใจและหลอดเลือด

กลุ่มผู้ป่วย

- มีอาการเจ็บหน้าอก แบบ unstable angina
- ภาวะ left ventricular hypertrophy หรือภาวะหัวใจวาย (heart failure) หรือ valvular heart disease หรือ arrhythmia
- มีภาวะความดันเลือดสูงที่ไม่สามารถควบคุมได้
- มีภาวะ bleeding abnormalities
- รับประทาน anticoagulant
- ป่วยเป็นโรค Deep vein thrombosis หรือ pulmonary embolism
- ป่วยเป็นโรคตับ
- ป่วยเป็นโรคไต
- ป่วยเป็นโรคมะเร็ง
- ป่วยเป็นโรคอักเสบอื่นๆ (inflammatory disease) ทั้งระยะเฉียบพลันและเรื้อรังที่เกี่ยวข้องกับอวัยวะอื่นๆ นอกเหนือจากหัวใจและหลอดเลือด
- วันที่ทำการตรวจวัดการทำงานของหลอดเลือด ผู้ป่วยต้องงดยาที่กำลังรักษาซึ่งมีผลต่อหลอดเลือด (vasoactive medications) เป็นเวลา ≥ 8 ชั่วโมง ได้แก่ calcium-channel blockers, angiotensin-converting enzyme inhibitors และ long-acting nitrates
- เพื่อหลีกเลี่ยงการกระตุ้นให้มี acute phase reaction จะไม่เจาะเลือดจากอาสาสมัครที่ทำ percutaneous coronary intervention หรือใส่ catheter ภายใน 48 ชั่วโมงก่อนเจาะเลือด

วิธีการดำเนินการวิจัยมีดังนี้

(1) ทำการคัดเลือกอาสาสมัครทั้งสองกลุ่มตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้เบื้องต้น อาสาสมัครที่เข้าข่ายเงื่อนไขการศึกษาจะต้องให้คำยินยอมเข้ารับการศึกษาก่อนเป็นหลักฐาน โดยต้องเซ็นชื่อไว้เป็นหลักฐานรับรองในใบยินยอม

(2) ก่อนวันที่จะทำการวัด ให้อาสาสมัครอดอาหารเป็นเวลาอย่างน้อย 8 ชั่วโมง

(3) ในตอนเช้าของวันที่ทำการวัด จะทำการซักประวัติและตรวจร่างกายอาสาสมัครโดยแพทย์

(4) วัดส่วนสูง, วัดเส้นรอบวงเอวและเส้นรอบสะโพก (เซนติเมตร) และชั่งน้ำหนัก (กิโลกรัม)

(5) ทำการเก็บตัวอย่างเลือดประมาณ 15 มล. โดยเลือด 10 มล. จะส่งตรวจที่ห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลตามปกติ ได้แก่ CBC, total cholesterol, LDL-C, HDL-C, triglycerides, glucose, insulin และ hsCRP ส่วนเลือดอีกประมาณ 5 มล. จะตรวจวัดระดับ oxidative stress markers ได้แก่ ระดับ MDA โดย thiobarbituric acid method (Draper et al., 1993, Luangaram et al., 2007) และระดับของ NO โดยวัดในรูปของ NO oxidation product คือ nitrate/nitrite โดย enzymatic method (Verdon et al., 1995; Luangaram et al., 2007) รวมทั้งระดับ antioxidant marker ได้แก่ total glutathione โดย enzymatic method (Kamencic et al., 2000; Kukongviriyapan et al., 2008)

(6) หลังจากเก็บเลือดแล้ว จะทำการวัดประสิทธิภาพการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือด ซึ่งขณะวัดอาสาสมัครจะอยู่ในท่านอนพักบนเตียงในห้องที่เงียบและควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25°C ขณะที่ทำการวัดอาสาสมัครจะไม่ได้รับความไม่เจ็บปวด และเวลาที่ใช้ในการตรวจวัดทั้งสิ้นในอาสาสมัคร 1 รายจะประมาณ 30 นาที

ขั้นตอนการประเมินประสิทธิภาพการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมหลอดเลือด มีดังนี้

(1) หลังจากอาสาสมัครนอนพักบนเตียงเป็นเวลา 10 นาที ทำการวัด vital signs ได้แก่ ความดันเลือด (ทั้งที่ brachial และ ankle blood pressure), อัตราเต้นของหัวใจ, อัตราการหายใจ และอุณหภูมิกาย

(2) ทำการตรวจวัด FBF เพื่อประเมินการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือด โดยจะทำการวัด FBF ขณะพัก และหลังจากทำ reactive hyperemia ซึ่งวิธีการดังกล่าวนี้เป็นที่ยอมรับทั่วไปว่าเป็นวิธีการที่ดีมากในการประเมินการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดระดับ microcirculation ในร่างกายมนุษย์โดยไม่มีผล confounding จาก systemic counter-regulatory mechanism ของร่างกายเพื่อรักษาภาวะ homeostasis (Tousoulis et al., 2005) และเครื่องมือที่ใช้คือ Strain gauge plethysmography (Hokanson, Inc., Issaquah, WA) ที่ต่อเข้ากับเครื่อง Biopac System โดยใช้เวลาตรวจวัดประมาณ 20 นาที/อาสาสมัคร 1 ราย

สำหรับวิธีการวัด FBF ทำได้ดังนี้

- คล้อง strain gauge transducer ที่มีความยาวพอดีกับขนาดเส้นรอบวงแขนท่อนล่างส่วนที่กว้างที่สุดของแขนซ้าย ซึ่ง transducer นี้จะต่อเข้ากับเครื่องคอมพิวเตอร์ที่ต่อกับ Biopac System อีกทีหนึ่งเพื่อเก็บข้อมูลและนำไปวิเคราะห์ในภายหลัง

- ทำการวัด FBF ในระยะพัก โดยการปิดกั้นการไหลของเลือดดำจากปลายแขนกลับสู่หัวใจ (venous return) ด้วยการอัดลมเข้าไปยัง pressure cuff ที่พันที่ต้นแขนส่วนบน (upper arm) ของแขนขวาเท่ากับ 40 มม.ปรอท เป็นเวลา 10 วินาที และคลายที่รัด 10 วินาที แต่ละรอบของการวัด FBF จึงเท่ากับ 20 วินาที ทำการวัด FBF จนครบเวลา 3 นาที