

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์  
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินอุดหนุนทั่วไปจากรัฐบาล  
ประจำปีงบประมาณ 2556

โครงการวิจัยเรื่อง

ความสัมพันธ์ระหว่างความยืดหยุ่นของหลอดเลือด การทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียม และตัวชี้วัดโรคหัวใจและหลอดเลือดในผู้ป่วยที่มีภาวะสมองขาดเลือดเฉียบพลัน

Arterial stiffness, endothelial dysfunction and cardiovascular biomarkers in acute ischemic stroke: a prospective study

### กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgements)

ขอขอบพระคุณที่ปรึกษาโครงการวิจัย ศาสตราจารย์แพทย์หญิงนิจศิริ ขาญณรงค์ (สุวรรณเวลา) สำหรับการให้คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลือในทุกๆด้านและเป็นที่ปรึกษาที่ดียิ่งในการทำวิจัย นอกจากนี้ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ ตึกธนาคารกรุงเทพ 3 (Stroke Unit) และเจ้าหน้าที่ที่ปฏิบัติงานในแผนกอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย รวมทั้งผู้ป่วยและอาสาสมัครทุกท่านที่ให้ความสะดวกในการเก็บข้อมูลสำหรับทำวิจัยในครั้งนี้เป็นอย่างดี

การวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินอุดหนุนทั่วไปจากรัฐบาล ประจำปีงบประมาณ 2556

## บทคัดย่อภาษาไทย (Thai abstract)

## ที่มา

ปัจจัยเสี่ยงทางโรคหัวใจและหลอดเลือดอื่นๆ ที่ค้นพบขึ้นใหม่ (emerging cardiovascular risk factors) ได้แก่ การลดความยืดหยุ่นของหลอดเลือด (arterial stiffness) ความผิดปกติของการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียล (endothelial dysfunction) อาจมีส่วนสำคัญในการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองตีบได้ วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาความแตกต่างในด้านค่าเฉลี่ยของความไม่ยืดหยุ่นของหลอดเลือดและความผิดปกติของการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียลในผู้ป่วยไทยที่มีหลอดเลือดสมองตีบเฉียบพลัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

## วิธีการศึกษา

ผู้ป่วยหลอดเลือดสมองตีบเฉียบพลันที่เข้ามารับการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์สภากาชาดไทย และกลุ่มควบคุมที่มีอายุและเพศเข้ากันได้กับผู้ป่วย ได้รับการวัดความไม่ยืดหยุ่นของหลอดเลือดโดยใช้ SphygmoCor apparatus และวัดความผิดปกติของการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียลด้วยเครื่องมือ EndoPAT-2000 system ในระหว่างที่เข้ารับการรักษาก่อนเป็นผู้ป่วยใน และที่ 6 เดือนหลังจากการเกิดโรค

## ผลการศึกษา

ผู้ป่วย 40 รายและกลุ่มควบคุม 36 ราย พบว่าผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองตีบเฉียบพลันมีค่าความไม่ยืดหยุ่นของหลอดเลือดสูงกว่ากลุ่มควบคุม (CF-PWV  $10.50 \pm 2.96$  m/s และ  $8.24 \pm 1.77$  m/s ตามลำดับ,  $p = 0.000$ ) ในทางตรงกันข้ามพบว่าผู้ป่วยมีความผิดปกติของการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียลน้อยกว่ากลุ่มควบคุม (RHI  $2.30 \pm 0.65\%$  และ  $2.02 \pm 0.60\%$  ตามลำดับ,  $p = 0.056$ ) เมื่อได้ทำการพิจารณาค่าความดันโลหิตร่วมด้วยพบว่าค่าความไม่ยืดหยุ่นของหลอดเลือดของผู้ป่วยนั้นสูงกว่ากลุ่มควบคุมจริง และเมื่อติดตามผู้ป่วยต่อไปอีกเป็นเวลา 6 เดือน พบว่าค่าความไม่ยืดหยุ่นของหลอดเลือดลดลง แต่ยังคงสูงกว่ากลุ่มควบคุม

## สรุปผลการศึกษา

ค่าความไม่ยืดหยุ่นของหลอดเลือดของผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองตีบสูงกว่ากลุ่มควบคุม แต่ไม่พบความผิดปกติของการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียลในกลุ่มผู้ป่วย

## บทคัดย่อภาษาอังกฤษ (English abstract)

### Introduction

Emerging cardiovascular risk factors such as arterial stiffness and endothelial dysfunction may be important independent predictors of cerebrovascular disease. No study has evaluated arterial stiffness and endothelial dysfunction in Thai patients with acute ischemic stroke.

### Methods

We enrolled patients diagnosed with acute ischemic stroke admitted to the Internal Medicine Department of the King Chulalongkorn Memorial Hospital. Aged- and gender-matched control subjects without cerebrovascular disease were also studied. Carotid-femoral pulse wave velocity (CF-PWV) was measured using SphygmoCor apparatus. Endothelial function was evaluated by reactive hyperemia of peripheral arterial tonometry (RH-PAT) using EndoPAT-2000 system.

### Results

40 patients and 36 aged- and gender-matched controls were enrolled. Stroke patients had significant increased in arterial stiffness compared to that of the controls (CF-PWV  $10.50 \pm 2.96$  m/s vs  $8.24 \pm 1.77$  m/s, respectively,  $p = 0.000$ ). In contrast, endothelial dysfunction was lower in stroke patients (RHI of the patients  $2.30 \pm 0.65\%$  vs RHI of the control  $2.02 \pm 0.60\%$ ,  $p = 0.056$ ). After adjusted for systolic blood pressure, CF-PWV was significantly difference between the groups. The differences also presented at 6 months post stroke.

### Conclusion

Our study shows that arterial stiffness increased in Thai patients with acute ischemic stroke compared to aged- and gender-matched controls while endothelial function was not altered.

## สารบัญเรื่อง (Table of contents)

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgements)	2
บทคัดย่อภาษาไทย (Thai abstract)	3
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ (English abstract)	4
สารบัญเรื่อง (Table of contents)	5
สารบัญตาราง (List of tables)	6
สารบัญภาพ (List of figures)	7
บทนำ (Introduction)	8
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (Background and rationale)	8
วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives)	8
สมมติฐาน (Hypothesis)	9
กรอบความคิดในการวิจัย (Conceptual framework)	10
ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง (Review of related literature)	11
วิธีการดำเนินการวิจัย (Methodology)	19
ประชากรที่ใช้ในการศึกษา (Study population)	19
การคำนวณขนาดตัวอย่าง (Sample size calculation)	19
ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย	20
การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)	21
ผลการวิจัย (Results)	22
สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะสำหรับการวิจัยในขั้นตอนต่อไป (Conclusions, discussions and future works)	32
เอกสารอ้างอิง (Bibliography)	35
ประวัติผู้วิจัย (Curriculum vitae)	39

## สารบัญตาราง (List of tables)

Table 1 วิธีการวัด endothelial function(41).....	17
Table 2 ข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม.....	24
Table 3 ความยืดหยุ่นของหลอดเลือด (CF-PWV, augmentation index) การทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียม (reactive hyperemia index) และระดับ cardiovascular biomarkers ต่างๆ ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม	25
Table 4 การเปลี่ยนแปลงทางด้านความยืดหยุ่นของหลอดเลือด (CF-PWV, augmentation index) การทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียม (reactive hyperemia index) และระดับ cardiovascular biomarkers ต่างๆ ในกลุ่มผู้ป่วย ระหว่าง day 5-7 post stroke และ 6 months post stroke .....	26
Table 5 Univariate analysis (*p< 0.05).....	27
Table 6 Linear model of predictors of carotid-femoral pulse wave velocity, with 95% bias corrected and accelerated confidence interval reported in brackets. Confidence intervals and standard errors (SE) based on 1000 bootstrap samples .....	28
Table 7 Coefficients of the binary logistic model predicting whether individual had acute ischemic stroke (95% bootstrap confidence intervals based on 1000 samples).....	29

## สารบัญภาพ (List of figures)

Figure 1 ปัจจัยที่มีผลต่อการประเมิน arterial stiffness และ endothelial dysfunction ในผู้ป่วย acute ischemic stroke.....	10
Figure 2 SphymoCor apparatus and tonometer .....	14
Figure 3 การวัด pulse wave ที่ตำแหน่ง carotid artery .....	15
Figure 4 CF-PWV in end stage renal disease – response in non-survivors(38).....	16
Figure 5 CF-PWV, augmentation index และ reactive hyperemia index ของกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม....	30
Figure 6 ADMA, homocysteine, total antioxidant status และ nitric oxide ของกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม..	31

## บทนำ (Introduction)

### ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (Background and rationale)

โรคหลอดเลือดสมอง (stroke) โดยเฉพาะกลุ่มที่เกิดจากภาวะสมองขาดเลือด (ischemic stroke) เป็นสาเหตุที่สำคัญของโรคเรื้อรังและสาเหตุการเสียชีวิตของประชากรผู้สูงอายุทั่วโลก รวมถึงประเทศไทย (1, 2) และผู้ที่รอดชีวิตจาก stroke อาจมีความพิการหลงเหลืออยู่ นำไปสู่การเป็นภาระต่อตนเอง ครอบครัวและสังคม สาเหตุสำคัญของการเกิด ischemic stroke คือความผิดปกติในผนังหลอดเลือด โดยสาเหตุสำคัญที่สุดคือ degenerative vascular disease ซึ่งอาจเป็นผลจาก ageing โดยตรงหรือเป็นผลจากการมีปัจจัยเสี่ยงทางโรคหัวใจและหลอดเลือด (traditional cardiovascular disease risk factors) อื่นๆ ร่วมด้วย เช่น atherosclerosis ความดันโลหิตสูง (hypertension) เบาหวาน (diabetes mellitus) และการสูบบุหรี่ เป็นต้น (3) นอกจากนี้ปัจจัยเสี่ยงทางโรคหัวใจและหลอดเลือดอื่นๆ ที่ค้นพบขึ้นใหม่ (emerging cardiovascular risk factors) ได้แก่ การลดความยืดหยุ่นของหลอดเลือด (arterial stiffness) (4) ความผิดปกติของเซลล์บุผนังหลอดเลือดชั้นใน (endothelial dysfunction) (5) ก็อาจมีส่วนสำคัญในการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิด ischemic stroke ได้

การวินิจฉัยและการรักษา stroke มีความสำคัญอย่างยิ่งต่ออัตราการรอดชีวิต ช่วยลดอัตราความพิการรวมทั้งการเกิดภาวะแทรกซ้อน และสามารถลดอัตราการเกิดโรคซ้ำ ปัจจุบันแม้ว่าวิทยาการทางการวินิจฉัยและดูแลรักษาผู้ป่วย acute ischemic stroke มีการพัฒนาไปอย่างมาก ทั้งการให้ยาละลายลิ่มเลือดซึ่งถือว่าเป็นการรักษามาตรฐานที่ได้ผลดี อย่างไรก็ตามก็ยังมีผู้ป่วยจำนวนมากที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา และ/ หรือมีภาวะแทรกซ้อนเกิดขึ้น ดังนั้นการค้นหา emerging cardiovascular disease risk factors ที่อาจเป็นสาเหตุและปัจจัยร่วมในการเกิด ischemic stroke อันได้แก่ arterial stiffness, endothelial dysfunction จะเพิ่มความเข้าใจต่อสาเหตุการเกิด ischemic stroke ช่วยให้สามารถพัฒนาการรักษาโดยใช้ intervention ใหม่ๆ ช่วยในการประเมินผลการรักษาและการประเมินภาวะแทรกซ้อนที่อาจเกิดขึ้นหลังการเกิด ischemic stroke รวมถึงการวางแผนการป้องกันโรคและวินิจฉัย (prevention and early detection) ในผู้ที่ยังไม่เกิด stroke ได้อย่างมีประสิทธิภาพและประสิทธิผลดียิ่งขึ้น

ปัจจุบันนักวิจัยทั่วโลกให้ความสนใจต่อการศึกษาความสัมพันธ์ของ emerging cardiovascular risk factors อันได้แก่ ความไม่ยืดหยุ่นของหลอดเลือด (arterial stiffness), ความผิดปกติของการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียล (endothelial dysfunction) ในผู้ป่วย ischemic stroke เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง อย่างไรก็ตามในประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาถึงความแตกต่างระหว่าง arterial stiffness, endothelial dysfunction ทั้งในประชากรไทยที่สุขภาพปกติและผู้ป่วย ischemic stroke

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives)

#### Primary objectives

- เพื่อศึกษาความแตกต่างในด้านค่าเฉลี่ยของ arterial stiffness และ endothelial dysfunction ในผู้ป่วย acute ischemic stroke เปรียบเทียบกับประชากรปกติ
- เพื่อศึกษาความแตกต่างในด้านค่าเฉลี่ยของระดับ cardiovascular biomarkers ได้แก่ ADMA, NO, Hcyt และ TAS ในเลือดระหว่างผู้ป่วย acute ischemic stroke และประชากรปกติ



- เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของ arterial stiffness, endothelial dysfunction และ cardiovascular biomarkers ได้แก่ asymmetric dimethyl arginine (ADMA), nitric oxide (NO), homocysteine (Hcyt) และ total antioxidant status (TAS) ตั้งแต่เริ่มเกิด acute ischemic stroke และจนถึงเวลา 6 เดือนหลังจากการเกิด acute ischemic stroke

#### Secondary objectives

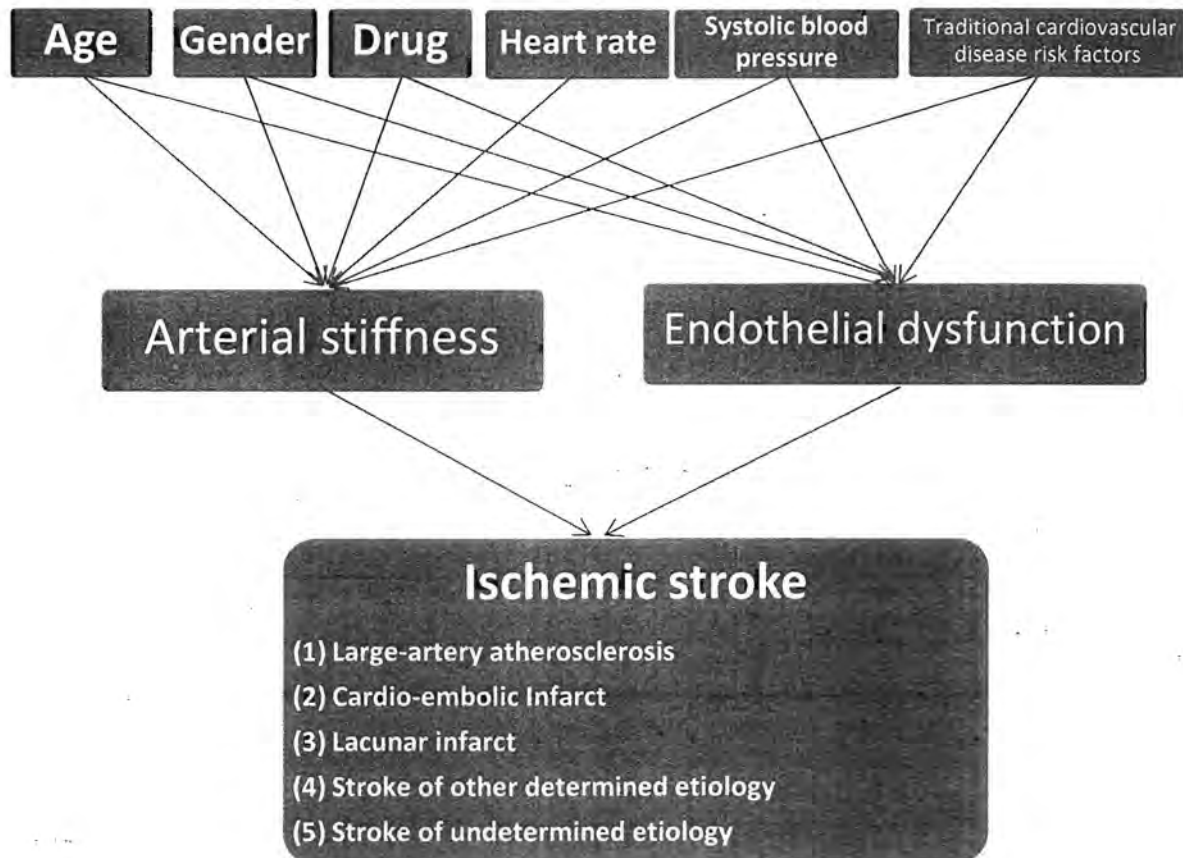
- เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของ arterial stiffness, endothelial dysfunction และ cardiovascular biomarkers (ADMA, NO, Hcyt และ TAS) ต่อ subtypes ของ ischemic stroke

#### สมมติฐาน (Hypothesis)

- ค่าเฉลี่ยของ arterial stiffness และ endothelial dysfunction ในผู้ป่วย acute ischemic stroke สูงกว่าประชากรปกติอย่างมีนัยสำคัญ
- ระดับของ cardiovascular biomarkers ได้แก่ ADMA, NO, Hcyt และ TAS ในเลือดของผู้ป่วย acute ischemic stroke สูงกว่าประชากรปกติอย่างมีนัยสำคัญ
- ค่าเฉลี่ยของ arterial stiffness, endothelial dysfunction และ ระดับค่าในเลือดของ cardiovascular biomarkers ได้แก่ ADMA, NO, Hcyt และ TAS ลดลงสู่ภาวะปกติภายในระยะเวลา 6 เดือนหลังจากการเกิด acute ischemic stroke โดยไม่ขึ้นกับเพศ อายุ หรือ blood pressure ของผู้ป่วย

## กรอบความคิดในการวิจัย (Conceptual framework)

Figure 1 ปัจจัยที่มีผลต่อการประเมิน arterial stiffness และ endothelial dysfunction ในผู้ป่วย acute ischemic stroke



## บททวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง (Review of related literature)

### 1. ความดันโลหิตในหลอดเลือดส่วนกลาง (Central blood pressure)

การวัดความดันโลหิตที่ brachial artery ถือว่าเป็นการวัดความดันโลหิตในหลอดเลือดส่วนปลาย (peripheral blood pressure, peripheral BP) อย่างไรก็ตามในทางสรีรวิทยาพบว่าระดับความดันโลหิตที่มีผลต่อการทำงานของหัวใจและหลอดเลือดกลับเป็นความดันโลหิตในหลอดเลือดส่วนกลาง (central blood pressure, central BP) (6) เนื่องจาก left ventricle ต้องบีบตัวเพื่อเอาชนะ central systolic blood pressure (central SBP) ในขณะที่ช่วงหัวใจคลายตัว ค่าของ central diastolic blood pressure (central DBP) จะกำหนดการไหลเวียนเลือดใน coronary arteries (7)

โดยทั่วไป central BP หมายถึงค่าความดันโลหิตแดง (arterial BP) ที่วัดบริเวณ ascending aorta ในขณะที่ peripheral BP หมายถึงค่าความดันโลหิตแดงที่วัดบริเวณหลอดเลือดแดงส่วนปลาย (เช่น brachial หรือ femoral artery) ในภาวะปกติพบว่า ระดับ DBP และ mean blood pressure ระหว่าง ascending aorta กับหลอดเลือดแดงส่วนปลายนั้นแทบจะไม่มี ความแตกต่างกันตลอดทั้ง arterial tree ในขณะที่ระดับ SBP ในหลอดเลือดแดงส่วนปลายจะสูงกว่า aortic SBP อย่างเห็นได้ชัด โดยระดับ aortic SBP จะมีค่าใกล้เคียงกับ SBP ในหลอดเลือดแดงส่วนปลายตามอายุที่เพิ่มขึ้น ความแตกต่างระหว่างคนวัยหนุ่มสาวและผู้สูงอายุสามารถอธิบายได้จาก pulse wave velocity และ wave reflection ที่แตกต่างกัน (6)

ในภาวะปกติเมื่อหัวใจบีบเลือดออกจาก left ventricle เข้าสู่ ascending aorta ซึ่งเป็นหลอดเลือดที่ทำหน้าที่ลำเลียงเลือดออกไปสู่หลอดเลือดถัดไป จะทำให้เกิด pressure pulse ที่เคลื่อนตัวจาก ascending aorta ไปยังหลอดเลือดแดงส่วนปลายด้วยอัตราเร็วระดับหนึ่งเรียกว่า pulse wave velocity (PWV) ทั้งนี้ค่า PWV จะมีค่าต่ำ (3-5 m/s) ในคนวัยหนุ่มสาวที่ยังมีความยืดหยุ่นของเส้นเลือดเอออร์ตา (aortic distensibility) ที่ดี ในทางตรงข้ามค่า PWV จะมีค่าสูงใน aorta ของผู้สูงอายุซึ่งมีการยึดตัวได้ไม่ดี (aortic stiffness หรือ arterial stiffness) หรืออาจกล่าวได้ว่า PWV จะมีค่าเพิ่มขึ้นในกรณีที่มี arterial stiffness เพิ่มมากขึ้นหรือหลอดเลือดแดงมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเล็กลง ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับว่า PWV เป็น marker ที่สำคัญที่ใช้ชี้วัดภาวะ arterial stiffness โดยเฉพาะที่ aorta (6)

ในขณะที่เลือดจาก left ventricle ถูกบีบไปสู่ aorta จะทำให้เกิดการยืดออกของผนัง aorta ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ intra-arterial pressure ทำให้บันทึกได้เป็น forward pressure wave หลังจากที่เกิดไหลจากหลอดเลือดแดงที่มีขนาดใหญ่ไปสู่หลอดเลือดที่มีขนาดเล็กลงเรื่อยๆ ค่าความต้านทานที่เปลี่ยนแปลงจากขนาดของหลอดเลือดที่ไม่เท่ากัน (impedance mismatch) จะส่งผลให้เกิดการสะท้อนกลับของ pressure wave ซึ่งเรียกว่า reflected pressure wave หรือเมื่อเลือดไหลผ่านบริเวณ arterial branching และ arterial-arteriolar junctions (8-10) ก็จะทำให้เกิด reflected pressure wave ขึ้นเช่นกัน ทั้งนี้ reflected pressure wave นี้สามารถสะท้อนกลับจากหลอดเลือดแดงส่วนปลายมายัง ascending aorta ได้ด้วย PWV ระดับหนึ่ง ซึ่ง amplitude ของ reflected pressure wave จะถูกกำหนดโดย impedance mismatch ระหว่างหลอดเลือดแดงขนาดเล็ก (small artery) กับ arteriole แหล่งกำเนิด reflected pressure wave ที่สำคัญที่สุดจะอยู่บริเวณ arteriole (ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มี impedance mismatch สูงมากใน arterial tree) ส่วนความเร็วของการเคลื่อนที่ของ wave (speed of traveling wave) จะขึ้นอยู่กับค่า stiffness ของ large conduit arteries กล่าวคือถ้ามี arterial stiffness มากขึ้น reflected pressure wave จะมีค่า PWV สูง ทำให้เคลื่อนตัวกลับสู่ aorta ได้เร็ว ผลรวมของ forward และ

reflected pressure wave ที่ ascending aorta ทำให้เกิดเป็น resultant (aortic pressure wave หรือ central blood pressure wave) ซึ่งบันทึกได้ที่ ascending aorta นั้นเอง (9, 11) ผลของ reflected pressure wave ที่สะท้อนกลับมายัง ascending aorta ในช่วง diastole ทำให้ความดันโลหิตในช่วงนี้สูงขึ้นมาระดับหนึ่ง ปรากฏการณ์ดังกล่าวเป็นผลดีต่อหัวใจเนื่องจากก่อให้เกิด coronary perfusion pressure อันเป็นที่ทราบกันดีว่า coronary perfusion จะเกิดขึ้นในระยะ diastole เท่านั้น

อย่างไรก็ตาม หากว่า reflected pressure wave สะท้อนกลับมายัง ascending aorta เร็วเกินไป จะทำให้เกิดการรวมตัวกับ forward pressure wave ในระยะ systole ส่งผลให้เกิด resultant wave ใน ascending aorta ที่มีค่า SBP สูงขึ้น ในขณะที่ค่า DBP จะลดลง ซึ่งภาวะดังกล่าวทำให้หัวใจต้องทำงานหนักมากขึ้นในการที่จะสูบฉีดเลือดออกไปยัง ascending aorta เพราะต้องเผชิญกับ aortic SBP ที่มีค่าสูงขึ้น ในขณะที่เดียวกัน ค่า aortic DBP ที่ลดลงยังก่อให้เกิดผลเสียต่อ coronary perfusion pressure ได้อีกทางหนึ่ง ยิ่งไปกว่านั้น ในกรณีที่ reflected pressure wave สะท้อนกลับมายัง ascending aorta ได้เร็วขึ้นมาก (เช่น ในภาวะที่มี aortic stiffness) ก็จะทำให้เกิดการรวมตัวกับ forward pressure wave ในช่วง early systole ซึ่งจะส่งผลให้ aortic SBP ยิ่งเพิ่มขึ้น และในขณะเดียวกันก็จะทำให้ค่า aortic DBP ยิ่งลดลงตามไปด้วย ในปัจจุบันนี้มีการนำ central arterial pressure wave มาใช้ในการคำนวณหาค่า parameter ต่างๆ เพื่อประกอบการพิจารณาผลการรักษา โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการศึกษาผลของยาลดความดันโลหิต นอกจากนี้ยังมีการนำค่า parameter เหล่านี้ไปใช้พยากรณ์การดำเนินของโรค สำหรับค่า Augmentation index (Aix) เป็นดัชนีที่บ่งบอกถึงผลของ wave reflection ต่อ aortic pressure wave อีกทั้งยังเป็นวิธีการวัดการทำงานของ left ventricle ที่ต้องเพิ่มขึ้นเพื่อรับมือกับ aortic SBP และ pulse pressure ที่สูงขึ้นอันเป็นผลสืบเนื่องจาก wave reflection (6)

## 2. ปัจจัยทางสรีรวิทยาที่มีผลต่อ aortic pressure wave form

- **อายุ:** ความยืดหยุ่นของหลอดเลือดแดงจะลดลงตามอายุที่มากขึ้น ผลดังกล่าวเกิดจากการหนาตัวของหลอดเลือดแดงซึ่งเป็นผลสืบเนื่องมาจาก intimal hyperplasia และการที่ elastin ในชั้น media ถูกแทนที่ด้วย collagen ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวในหลอดเลือดของผู้สูงอายุส่งผลให้ brachial BP, MAP รวมทั้ง PWV และ Aix เพิ่มขึ้น(12) proximal aortic stiffness จะเพิ่มขึ้นตามอายุ และการที่ reflected pressure wave ย้อนกลับมารวมตัวกับ forward pressure wave ในช่วง systole เป็นปัจจัยหลักสองประการที่ทำให้ aortic SBP และ PP สูงขึ้นเมื่อเทียบกับคนหนุ่มสาว(13, 14) นอกจากนี้ยังส่งผลให้ aortic SBP มีค่าที่ใกล้เคียงกับ brachial SBP อีกด้วย
- **อัตราการเต้นของหัวใจ:** มีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกับค่า Aix(15) ทั้งนี้มีการศึกษาที่แสดงว่า aortic augmentation จะลดลงประมาณ 4% ต่ออัตราการเต้นของหัวใจที่เพิ่มขึ้น 10 ครั้ง/นาทีตลอดช่วงที่ทำ cardiac pacing(16) การให้ยา beta-blockers ซึ่งมีผลลดอัตราการเต้นของหัวใจนั้น ก็มีผลเพิ่ม Aix ได้เช่นกัน อย่างไรก็ตาม เนื่องจากยาในกลุ่มนี้สามารถยืดเวลาในช่วงหัวใจคลายตัว จึงมีผลเพิ่มระยะเวลาที่เลือดไหลเวียนใน coronary artery (diastolic perfusion time) ผลดีดังกล่าวจึงอาจลบล้างผลเสียของการเพิ่ม Aix ได้(11)
- **ส่วนสูงของร่างกาย:** มีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกับ Aix(11, 15, 17) ทั้งนี้เชื่อว่าผู้ที่มีส่วนสูงน้อยมีระยะทางระหว่างหัวใจ (จุดกำเนิดของ waveform) กับจุดสะท้อนกลับที่ใกล้กัน ทำให้ reflected pressure

wave ย้อนกลับมารวมตัวกับ forward pressure wave ได้ค่อนข้างเร็ว (ในกรณี PWV คงที่) จึงทำให้ Aix เพิ่มขึ้น มีการศึกษาที่แสดงว่า Aix ที่เพิ่มขึ้นในผู้ที่มีส่วนสูงน้อยนั้น สัมพันธ์กับความเสียดต่อโรคหัวใจและหลอดเลือดที่เพิ่มขึ้น แม้ว่า SBP จะอยู่ในระดับปกติ(18, 19) อย่างไรก็ตาม ความเสี่ยงที่เพิ่มขึ้นดังกล่าวอาจไม่ได้เป็นผลสืบเนื่องมาจาก Aix ที่เพิ่มขึ้นแต่เพียงอย่างเดียว ทั้งนี้มีรายงานว่าผู้ที่มีความสูงน้อยยังมีปัจจัยอื่นอีกหลายประการที่เพิ่มความเสียดต่อโรคหัวใจและหลอดเลือดยกตัวอย่างเช่น forced expiratory volume และ peak expiratory flow ที่ลดลง เป็นต้น(20)

- **เพศ:** เพศหญิงมี wave reflection ที่มากกว่าเพศชาย ทั้งนี้อาจเนื่องจากมีส่วนสูงที่น้อยกว่าเพศชาย จึงทำให้มีระยะทางระหว่างหัวใจกับจุดสะท้อนกลับที่ใกล้กัน(11) อย่างไรก็ตามนอกจากปัจจัยที่เกี่ยวกับส่วนสูงแล้ว เชื่อว่ายังมีปัจจัยอื่นอีกหลายประการ (เช่น ความแตกต่างของโครงสร้างและการทำงานของหลอดเลือดแดงระหว่างเพศหญิงกับชาย) ซึ่งอาจเป็นเหตุให้เพศหญิงมี wave reflection ที่มากกว่าเพศชาย ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ยังต้องรอการศึกษาอย่างละเอียดต่อไป(21)
- **ภาวะความดันโลหิตสูงชนิด systolic hypertension:** โดยอาจเป็นผลสืบเนื่องมาจากการเสื่อมของหลอดเลือดแดง aorta (aorta degeneration) ในขณะเดียวกัน ภาวะความดันโลหิตสูงก็สามารถส่งเสริมหรือเร่งการเสื่อมของหลอดเลือดแดงเช่นกัน นอกจากนี้ภาวะความดันโลหิตสูงยังก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ aortic pressure waveform ได้ในลักษณะที่คล้ายคลึงกับในผู้สูงอายุเพียงแต่พบได้ตั้งแต่วัยที่ยังไม่มากนัก(15) โดยกลไกที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลง aortic pressure waveform สัมพันธ์กับการเพิ่ม peripheral resistance การเพิ่ม aortic stiffness และ PWV รวมทั้งการสะท้อน reflected pressure wave ที่เร็วขึ้น(6)

### 3. Arterial stiffness

Arterial stiffness คือภาวะที่หลอดเลือดแดง (artery) ภายในร่างกายมีความยืดหยุ่นลดลง เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของปริมาณและคุณภาพของ collagen และ elastin ในผนัง artery โดยที่มี elastin ลดลง collagen เพิ่มขึ้น และเส้นใย elastin เรียงตัวไม่เป็นระเบียบ ทั้งหมดนี้เกิดขึ้นจากความเสื่อมตามวัยที่เพิ่มขึ้น (ageing) อย่างไรก็ตาม ภาวะความดันโลหิตสูงและความผิดปกติของ artery บางประการสามารถเร่งความรุนแรงและอัตราการเกิด arterial stiffness ให้สูงมากขึ้นกว่าปกติ การเปลี่ยนแปลงของ artery จะเกิดขึ้นมากที่สุดในหลอดเลือดแดงใหญ่ส่วนกลาง (central or elastic artery) โดยเฉพาะหลอดเลือด aorta (22)

ในอดีตการวัด central arterial pressure ที่จะบ่งบอกถึง arterial stiffness เป็นเรื่องที่ยุ่งยากเนื่องจากต้องทำการวัดแบบ invasive ต้องอาศัยหัตถการที่ค่อนข้างซับซ้อน และต้องทำในห้องผ่าตัดหรือห้องสวนหัวใจเท่านั้น โดยอาศัยการใส่สายสวนเข้าไปทางหลอดเลือดเพื่อเข้าไปวัด arterial pressure ที่บริเวณ ascending aorta ด้วยสาเหตุดังกล่าวทำให้การวัดค่า peripheral blood pressure โดยใช้ sphygmomanometer เพื่อวัด brachial arterial pressure เป็นที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายมากกว่ามาตั้งแต่อดีต เนื่องจากเป็น non-invasive measurement และสามารถนำมาใช้ปฏิบัติได้ง่ายในการตรวจค่า arterial blood pressure ในทางคลินิก

การวัดค่า central arterial pressure สามารถทำได้โดยวิธี non-invasive หลายวิธี หลักการวัด central arterial pressure แบบ non-invasive นั้น ใช้การบันทึก pulse wave บนเส้นเลือดแดงส่วนปลาย เช่น radial หรือ carotid artery แล้วอาศัย computer software ในการแปลงค่าของ peripheral pulse wave ที่บันทึกได้ให้เป็น pulse wave ของ ascending aorta นั้นเอง โดยหลักการในการบันทึก pulse pressure wave นี้เรียกว่า applanation tonometry หลักการของ applanation tonometry ในการบันทึก pulse pressure wave อาศัยเครื่องมือที่เรียกว่า tonometer ซึ่งเป็น pressure sensor (transducer) ที่มีความไวสูงมากในการบันทึก pulse pressure wave (ซึ่งเครื่องมือนี้จะคล้ายคลึงกับ tonometer ที่ใช้ในการบันทึกความดันในลูกตา) ทั้งนี้เวลาวัด pressure wave นั้น arterial tonometer จะถูกวางอยู่บนหลอดเลือดแดงส่วนปลาย(เช่น radial artery) โดยที่ผู้ตรวจจะวาง tonometer ให้กดลงบนหลอดเลือด ดังนั้น radial artery จะถูกกดจากทั้ง tonometer ที่วางอยู่บนผิวหนังและจากโครงสร้างที่อยู่ใต้ radial artery (ซึ่งที่สำคัญก็คือ กระดูก radius) ผลดังกล่าวจะทำให้ intra-arterial pressure ใน radial artery นั้น ถูกส่งผ่านขึ้นมายัง tonometer และจะถูกบันทึกและแสดงให้เห็นเป็น pressure wave บนจอของ computer ซึ่งลักษณะของ signal ที่บันทึกได้จากวิธี applanation tonometry นี้จะใกล้เคียงกับ pulse wave ที่บันทึกได้ภายในหลอดเลือดโดยตรง (1) ในปัจจุบันนี้มีเครื่องมือจากหลายบริษัทที่ใช้เทคนิคของ applanation tonometry ในการวัด aortic blood pressure แบบ non-invasive ตัวอย่างเช่น เครื่องเช่น sphygmoCor (AtCor Medical, Australia), เครื่อง Jentow (Colin Medical Technology, Japan) และเครื่องวัดของ Omron (Omron Healthcare, Japan) เป็นต้น (6)

วิธีที่ถือว่าเป็นมาตรฐาน (gold standard) ในการวัดค่า arterial stiffness แบบ non-invasive คือการวัด Pulse Wave Velocity (PWV)(23, 24) โดยมีหลักการคือวัดค่าความเร็วของการเคลื่อนที่ของ pulse หนึ่งตัวไปตาม arterial segment เช่น จากตำแหน่งต้นทางคือ carotid artery ไปสู่ปลายทางคือ femoral artery (carotid-femoral pulse wave velocity; CF-PWV) เครื่องมือที่นิยมใช้คือ SphygmoCor apparatus (Figure 2) ร่วมกับการใช้ tonometer บันทึก arterial pulse waveform ที่ตำแหน่ง carotid และ femoral (Figure 3)

Figure 2 SphygmoCor apparatus and tonometer



Figure 3 การวัด pulse wave ที่ตำแหน่ง carotid artery



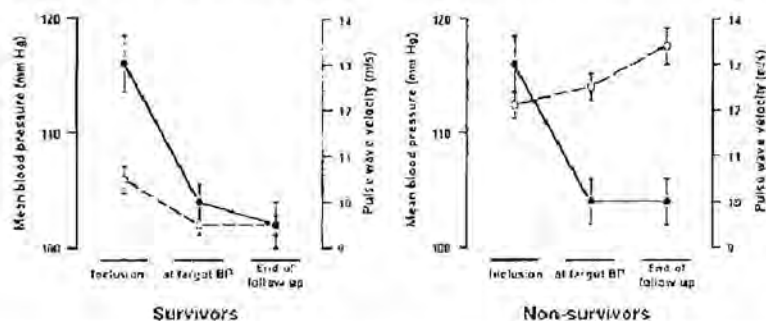
หลักการของ non-invasive measurement ของ central arterial pressure นั้นอาศัยการวัด peripheral arterial pressure wave ที่บันทึกได้จากวิธี applanation tonometry แล้วใช้วิธีการแปลง (derivation) waveform ที่บันทึกได้นี้ให้เป็น central arterial pressure waveform ซึ่งวิธีการดังกล่าวสามารถทำได้โดยอาศัยหลักการใหญ่ๆ 3 วิธี ได้แก่ (25)

- **Generalized (mathematical) transfer function:** การแปลงค่า aortic pressure wave จาก peripheral pressure wave โดยอาศัย generalized transfer function นั้น ใช้หลักของ Fourier analysis ซึ่งเป็นการสร้างความสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์ของตัวแปร 2 ตัว ยกตัวอย่างเช่น ค่า radial pressure wave กับ aortic pressure wave เป็นต้น ดังนั้นเมื่อทราบความสัมพันธ์และทราบค่าของ 1 ใน 2 ตัวแปรนี้แล้วจะสามารถหาค่าตัวแปรที่เหลือได้ โดยจะถือว่าตัวหนึ่งเป็นตัวแปรที่ทราบค่า (input signal) ดังนั้นเมื่อได้ค่า radial pressure waveform ที่ได้บันทึกจาก applanation tonometer ซึ่งถือว่าเป็น input parameter ก็จะสามารถหาค่า output parameter คือ aortic pressure waveform ออกมาได้ วิธีการหาค่า aortic pressure wave จากการใช้เทคนิค generalized transfer function นี้ ได้มีการศึกษาแล้วว่ามีความใกล้เคียงกับค่าที่วัดได้โดยตรงจาก aorta ถึงแม้ว่าจะมีการเปลี่ยนแปลงของอัตราการเต้นของหัวใจ จังหวะการเต้นของหัวใจ หรือจะเป็นการใช้ยา vasoactive drugs ต่างๆ หรือแม้แต่เรื่องของอายุของผู้ถูกตรวจวัด รวมทั้งจากการทำ valsalva ด้วย (26-30) ทั้งนี้เครื่องมือที่ใช้วัดค่า aortic pressure wave ชนิด non-invasive โดยใช้เทคนิค generalized transfer function นี้ ปัจจุบันได้ผ่านการรับรองจาก Food and Drug Administration (FDA) ของประเทศสหรัฐอเมริกา ว่าให้ค่าที่เทียบเท่ากับการวัดค่า aortic pressure wave ที่ aorta โดยตรง ตัวอย่างของเครื่องมือที่ใช้วัด central arterial pressure แบบ non-invasive โดยใช้หลักการของ Generalized transfer function ได้แก่ เครื่อง sphygmoCor (AtCor Medical, Sydney, Australia) และเครื่อง Jentow (Colin Medical Technology, Komaki, Japan) เป็นต้น ในปัจจุบันนี้ได้มีการนำเทคนิคนี้มาใช้ในการวัดค่า central arterial pressure ในการศึกษาทางคลินิกที่ทำการศึกษาเปรียบเทียบการใช้ยารักษาความดันโลหิตสูง

- **Method based on equivalence of central and peripheral mean and diastolic pressures:** วิธีนี้อาศัยหลักการที่ว่า ค่าความดัน diastolic และ mean arterial pressure มีค่าค่อนข้างคงที่ใน arterial trees ดังนั้นจึงอาศัยการวัด pressure wave จาก 2 จุด คือ carotid กับ radial (หรือ brachial) artery ทั้งนี้ค่า mean กับ diastolic pressure จะถูกกำหนดค่า pressure ที่ได้จากหลอดเลือดแดงส่วนปลาย จากนั้นค่าดังกล่าวจะถูกนำไปกำหนดค่าของ diastolic และ mean arterial pressure ของ central arterial waveform จากนั้นค่า systolic pressure ของ central pressure wave ก็จะได้จากการคำนวณทางคณิตศาสตร์ (extrapolation) ซึ่งวิธีการนี้ก็ยังมีใช้แพร่หลายเช่นกัน (26, 28, 29, 31, 32)
- **Method based on identity of broad rounded reflected wave in central and peripheral arteries:** ใน peripheral arterial pressure wave นั้น ค่า late systolic peak ที่บันทึกได้มักจะเป็นค่าที่แสดงถึงค่าของ systolic peak pressure ใน ascending aorta และใน left ventricle ในขณะที่ sharp primary peak ใน pressure wave ของหลอดเลือดแดงส่วนปลาย จะไม่สัมพันธ์กับค่า peak ของ systolic pressure ใน ascending aorta ซึ่งหลักการนี้ได้ถูกยืนยันโดยข้อมูลจากการใช้ Transfer function process ซึ่งแสดงให้เห็นว่าค่าส่วนประกอบของคลื่นที่มีความถี่ต่ำกว่า 2 Hz จะถูกขยาย (amplified) ระหว่าง aorta กับที่แขนน้อยมาก ในขณะที่ส่วนประกอบของคลื่นที่มีความถี่สูงกว่า (3-6 Hz) ซึ่งเป็น sharper spikes บน pressure wave จะถูกขยาย (amplified) อย่างมาก (26, 29) โดยหลักการนี้หาก peak ของ secondary wave ถูกระบุ (identify) ได้ชัดเจนใน radial หรือ brachial pressure wave ก็จะสามารถแปลงเป็นค่าของ peak aortic pressure ได้ (28)

เมื่อผ่านการคำนวณดังที่ได้กล่าวมาข้างต้นแล้วจะรายงานผลค่า CF-PWV เป็น m/s หากค่า CF-PWV สูง แสดงว่ามีภาวะ arterial stiffness มาก (23) ปัจจุบันพบว่าภาวะ arterial stiffness เป็น independent marker (หรือ predictor) ที่สำคัญของ cardiovascular morbidity และ mortality ในประชากรทั่วไป (33) และในผู้ป่วย hypertension, diabetes mellitus, coronary artery disease และ end stage renal disease (34-36) ที่น่าสนใจอย่างยิ่งคือ Guerin และคณะ (37) ทำการศึกษาในผู้ป่วย end stage renal disease พบว่า ผู้ป่วยกลุ่ม non-survival group นั้นเป็นกลุ่มที่ถึงแม้จะได้รับการควบคุมความดันโลหิตให้อยู่ในระดับปกติเช่นเดียวกับกลุ่ม survival group แต่ผู้ป่วย non-survival group จะมีค่า CF-PWV ที่ไม่ตอบสนองต่อการควบคุมความดันโลหิต (Figure 4) การศึกษานี้ช่วยยืนยันถึงความสำคัญของการควบคุมหรือเปลี่ยนแปลงภาวะ arterial stiffness ต่อ mortality ของผู้ป่วย

Figure 4 CF-PWV in end stage renal disease -- response in non-survivors (38)





#### 4. Endothelial dysfunction

Endothelial dysfunction คือการทำงานที่ผิดปกติของ endothelial cell ที่อยู่ ณ ชั้นในสุดของผนังหลอดเลือดโดยหนึ่งในความผิดปกติที่สำคัญคือการลดการปลดปล่อย Nitric oxide (NO) (39) จาก vascular endothelium พบว่า endothelial dysfunction มีความสัมพันธ์และเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดภาวะ arterial stiffness(40) การวัด endothelial function แบบ non-invasive สามารถทำได้โดยการวัดการตอบสนองแบบขยายของหลอดเลือดแดง (vasodilatation) ต่อการปลดปล่อย NO จาก endothelial cell วิธีการวัด endothelial function สามารถทำได้หลากหลายวิธีดัง Table 1 (41)

Table 1 วิธีการวัด endothelial function (41)

Method	Characteristic	Advantages	Disadvantages
ET-1	Proinflammatory	Blood draw	Not widely available
ADMA	Competitive inhibitor of NOS	Some prospective clinical data	Not widely available
IL-6, TNF- $\alpha$	Inflammatory markers		Not widely available
ICAM-1, VCAM-1, E-selectin	Cellular adhesion markers		Expensive, not widely available
vWF, PAI-1	Thromboembolic markers	vWF is widely available	Not a lot of data in ED
Cellular markers cEPCs	Circulating endothelial progenitor cells promoting vasculogenesis	Increasingly good clinical data on correlation with CAD and ED	Expensive, not yet widely available
Imaging IMT	Depicts pre-atherosclerotic intimal hyperplasia	Good longitudinal clinical data from large studies	Operator dependent; needs referral to radiologist or vascular lab
LDF	Describes small-vessel endothelial function	Noninvasive	Not a lot of clinical data with ED, not widely available
FMD	Reactive hyperemia of brachial artery	Gold standard of measuring endothelial function, large clinical studies correlating results with CAD risk, noninvasive	Operator dependent; usually needs referral to vascular lab or radiologist
PAT	Reactive hyperemia of arterioles	Very easy to perform in office, less operator dependent, mounting clinical data with ED and CAD	Not as much data as FMD

Abbreviations: ADMA, asymmetrical dimethylarginine; CAD, coronary artery disease; CRP, C-reactive protein; cEPCs, circulating endothelial progenitor cells; ED, erectile dysfunction; ET-1, endothelin-1; FMD, flow-mediated dilation; ICAM-1, intercellular adhesion molecule-1; IL-6, interleukin-6; IMT, intima-media thickness; LDF, laser Doppler fluximetry; NOS, nitric oxide synthase; PAI-1, plasminogen-activator inhibitor type-1; PAT, peripheral arterial tonometry; TNF- $\alpha$ , tumor necrosis factor- $\alpha$ ; vWF, von Willebrand factor.

ในการศึกษาที่ผู้วิจัยจะใช้วิธี PAT (Peripheral Arterial Tonometry) โดยมีการทำให้เกิดภาวะ reactive hyperemia (RH-PAT Reactive Hyperemia Peripheral Arterial Tonometry) แล้วทำการวัดค่าการเปลี่ยนแปลงของ digital pulse volume amplitude ในช่วง reactive hyperemia เทียบกับค่า baseline ของผู้ป่วย โดยค่าที่ได้จะบ่งบอกถึง nitric oxide bioavailability ซึ่งสัมพันธ์กับ endothelial function นั้นเอง

วิธีการวัดคือสวมอุปกรณ์ในการวัดที่นิ้วมือของผู้ป่วย (finger probe) ร่วมกับทำให้เกิดภาวะ reactive hyperemia โดยการวัดความดันโลหิตที่ต้นแขนของผู้ป่วย เพื่อประเมินการเปลี่ยนแปลงของค่า digital volume วัดผลออกมาเป็น pulse wave ปรากฏบนหน้าจอคอมพิวเตอร์ที่เชื่อมกับอุปกรณ์การวัด ซึ่งค่าการเปลี่ยนแปลง

digital pulse volume amplitude (PVA-RH) ที่ได้นี้จะสัมพันธ์กับ endothelial function ในมนุษย์(42) เครื่องมือที่ใช้ในการวัดคือ Endo-PAT 2000 จัดเป็น non invasive assessment ที่ทำได้ภายใน 15 นาที และทำได้ภายในห้องตรวจ (office setting) (42) ส่วนการวัดวิธีทาง physiologic อื่นๆ ได้แก่ FMD ดังในตาราง ซึ่งจัดว่าเป็น Gold standard ในการวัดนั้น พบว่าเมื่อทำการเปรียบเทียบกับการวัดด้วย PAT แล้วมีความคล้ายคลึงกันในการให้ข้อมูลของภาวะ endothelial function (42) และวิธี RH-PAT ทำได้ง่ายกว่าไม่ต้องการการฝึกมาก รวมทั้งไม่เป็น operator dependent method อีกด้วย (42)

## 5. Arterial stiffness, endothelial dysfunction in ischemic stroke

ปัจจุบันมีผู้สนใจศึกษา arterial stiffness และ endothelial dysfunction ใน ischemic stroke เพิ่มมากขึ้น De Silva และคณะ(38) ทำการศึกษาในผู้ป่วยจำนวน 268 คนที่มี acute ischemic stroke พบว่าผู้ป่วยกลุ่มที่มี intracranial large artery disease มี CF-PWV สูงกว่ากลุ่มที่ไม่มี intracranial large artery disease (11.7 vs 11.0 m/s,  $p = 0.015$ ) ส่วนการศึกษาโดย Kim และคณะ (43) พบว่าในผู้ป่วย hypertension อายุมากกว่า 50 ปีที่มี small vessel disease หรือ subcortical infarction จะมี PWV ที่สูงกว่า control อย่างมีนัยสำคัญ (symptomatic small vessel disease 19.76 m/s, asymptomatic small vessel disease 18.73 m/s และ control 16.77 m/s,  $p < 0.001$ ) ในทำนองเดียวกัน Tuttolomondo และคณะ (4) พบว่าผู้ป่วย acute ischemic stroke ชนิด lacunar infarction จะมีค่า PWV ที่สูงกว่า subtype อื่นๆ ในทางกลับกัน Choi และคณะ (44) ศึกษาผู้ป่วย acute ischemic stroke จำนวน 223 คน พบว่าผู้ป่วยและ control มีค่า PWV ไม่แตกต่างกัน และไม่พบความแตกต่างของ PWV ในแต่ละ subtype ของ stroke

การศึกษาทั้งหมดที่กล่าวมาแสดงถึงบทบาทของ arterial stiffness และ endothelial dysfunction ที่สำคัญต่อการเกิด ischemic stroke อย่างไรก็ตามการศึกษาที่กล่าวมายังให้ผลที่แตกต่างกันมีทั้งที่พบและไม่พบความแตกต่างของ PWV นอกจากนี้การวิจัยเหล่านั้นไม่ได้คัดเลือกผู้ป่วยที่มี diabetes และ possible cardiovascular disease modifying factors อื่นๆ ออกไป ดังนั้นการแปลผลการวิจัยอาจยังมี confounding factor ปะปนอยู่ได้ เพื่อยืนยันถึงความสัมพันธ์และบทบาทของ arterial stiffness และ endothelial dysfunction ต่อการเกิด ischemic stroke ผู้วิจัยจะทำการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วย acute ischemic stroke ที่ไม่มี diabetes หรือภาวะอื่นๆ ที่อาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ arterial stiffness และ endothelial dysfunction เพื่อลด confounding factor ให้มากที่สุด

## วิธีดำเนินการวิจัย (Methodology)

### ประชากรที่ใช้ในการศึกษา (Study population)

ในปีแรกของการศึกษาผู้วิจัยเลือกที่จะศึกษาผู้ป่วยหลอดเลือดสมองตีบเฉียบพลัน (acute ischemic stroke) ที่เข้ามารับการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์สภากาชาดไทย และกลุ่มควบคุมที่มีอายุและเพศเข้ากันได้กับผู้ป่วย ซึ่งเข้าเกณฑ์การคัดเลือกเข้ารับการศึกษาดังนี้

### เกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วย (Inclusion criteria of the patients)

- เพศชายหรือหญิง อายุ 45-75 ปี
- ได้รับการวินิจฉัยเป็น acute ischemic stroke (45) โดยมี onset ของการเกิด stroke อยู่ภายในช่วง 7 วัน รวมถึงเป็นการเกิด stroke ครั้งแรกของผู้ป่วยและเข้ารับการรักษเป็นผู้ป่วยในของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย
- รู้ตัวดี หายใจได้เอง สามารถเข้าใจและร่วมมือในขั้นตอนการตรวจได้ดี
- ยินยอมเข้าร่วมการวิจัยโดยสมัครใจ

### เกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยออกจากการศึกษา (Exclusion criteria of the patients)

- Diabetes mellitus, atrial fibrillation, autoimmune disease เช่น systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, serum creatinine  $\geq$  2mg/dl
- Previous intracerebral hemorrhage
- ประวัติการใช้ยาบางชนิดที่มีผลต่อการศึกษา ได้แก่ steroid, bronchodilator used, nitrate used เว้นแต่ ว่าได้หยุดยานั้นๆ มาเกินกว่า 5 half life ของยานั้นๆ
- Active infection ณ เวลาที่ทำการศึกษา

### เกณฑ์ในการคัดเลือก Controls (Inclusion criteria of the controls)

- เพศชายหรือหญิง อายุ 45-75 ปี โดยมีอายุและเพศ match กับกลุ่มผู้ป่วย
- หากมี hypertension หรือไขมันในเลือดสูง (dyslipidemia) ได้รับการรักษาที่ถูกต้อง ควบคุม blood pressure และระดับไขมันในเลือดเป็นเวลาอย่างน้อย 2 เดือน
- ยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยด้วยความสมัครใจ

### เกณฑ์ในการคัดเลือก Controls ออกจากการศึกษา (Exclusion criteria of the controls)

- Diabetes mellitus, atrial fibrillation, autoimmune disease เช่น systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, serum creatinine  $\geq$  2mg/dl
- Active infection ณ เวลาที่ทำการศึกษา

### การคำนวณขนาดตัวอย่าง (Sample size calculation)

คำนวณขนาดของ sample size ตามวิธีของ Machin, et al., 1997 (46) โดยอ้างอิงค่าจาก Tullotorn, et al., et al., 2010 (4)

$$m = \frac{2(z_{\alpha/2} + z_{\beta})^2}{\Delta^2} + \frac{z_{\alpha/2}^2}{4}$$

$$\Delta = \frac{|\mu_2 - \mu_1|}{\sigma}$$

$$S_p^2 = \frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}$$

โดยที่  $m$  = sample size per group ของประชากรที่ต้องการศึกษา

$\mu$  = mean

$S_p^2 = \sigma^2$  = pool variance

$S$  = variance

$\alpha$  = significant level (Type I error) ( $\alpha = 0.05$ )

$1 - \beta$  = power of test ( $\beta = 0.01$ )

$\Delta$  = differences in mean

ได้ขนาดประชากรอย่างน้อย 24.7 หรือประมาณ 25 คนต่อ group ในการวิจัย ทั้งโครงการผู้วิจัยจะทำการศึกษาในประชากรจำนวนอย่างน้อย 35 คนในกลุ่ม control และ 40 คนในกลุ่มผู้ป่วย acute ischemic stroke

### ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย

ดำเนินการวิจัยด้าน clinic ณ สาขาวิชาประสาทวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และดำเนินการวิจัยทางห้องปฏิบัติการเพื่อหาค่า cardiovascular biomarkers ได้แก่ ADMA, NO, Hcyt และ TAS ณ ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยมีขั้นตอนการวิจัยดังนี้

- ผู้ป่วยไทยที่มีภาวะ acute ischemic stroke ที่เข้ารับการรักษาเป็นผู้ป่วยในของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทยที่มีคุณสมบัติเข้าได้กับ inclusion และ exclusion criteria ข้างต้น จะได้รับการถามประวัติ ตรวจร่างกาย และตรวจทางห้องปฏิบัติการ ได้แก่ complete blood count, fasting plasma glucose, kidney function (blood urea nitrogen (BUN) และ serum creatinine (SCr)), lipid profile (total cholesterol, triglyceride, low-density lipoprotein (LDL), high density lipoprotein (HDL)) และ erythrocyte sedimentation rate (ESR) และเก็บตัวอย่างเลือดสำหรับการตรวจวัด cardiovascular biomarkers ได้แก่ ADMA, NO, Hcyt และ TAS ผู้ป่วยจะได้รับการวัด arterial stiffness และ endothelial function โดยวัดค่าต่างๆ ระหว่างวันที่ 5-7 หลังการเกิด acute ischemic stroke เพื่อหลีกเลี่ยงภาวะ brain herniation และ increased intracranial pressure และได้รับการวัด arterial stiffness และ endothelial function อีกครั้งที่เวลา 6 เดือนหลังจากเกิด acute ischemic stroke
- อาสาสมัครกลุ่มควบคุมจะได้รับการถามประวัติ ตรวจร่างกาย และตรวจทางห้องปฏิบัติการต่างๆ เหมือนกลุ่มผู้ป่วย และได้รับการวัด arterial stiffness และ endothelial function ด้วยวิธีการเดียวกับผู้ป่วย
- การวัด arterial stiffness ในกลุ่มประชากรที่ศึกษาวัดโดย carotid-femoral pulse wave velocity (CF-PWV) เป็น gold standard ของการวัด arterial stiffness มีความเชื่อถือได้มาก สะดวก และใช้เวลาน้อยใน

การวัด (23) และการวัด endothelial dysfunction ใช้วิธี PAT (Peripheral Arterial Tonometry) โดยมีการทำให้เกิดภาวะ reactive hyperemia (RH-PAT Reactive Hyperemia-Peripheral Arterial Tonometry) เป็นวิธีการวัด endothelial dysfunction ในผู้ป่วยที่สะดวก เครื่องมือที่ใช้ในการวัดคือ Endo-PAT 2000 ใช้เวลาสั้น และได้รับการทดสอบแล้วว่าสามารถใช้วัด endothelial function ได้จริง (42)

#### การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)

ข้อมูลทั้งหมดเก็บรวบรวมโดย program Microsoft Excel และการวิเคราะห์ทางสถิติคำนวณโดย program SPSS version 20.0 โดย descriptive statistic รายงานผลเป็น mean  $\pm$  standard deviation การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าต่างๆ ระหว่างสองกลุ่มประชากรจะใช้ independent sample *t* test สำหรับ continuous data ความแตกต่างของค่า parameter ที่ baseline และ 6 เดือนหลังจากเกิด stroke ในผู้ป่วยคำนวณโดย pair-*t* test ความสัมพันธ์ระหว่าง parameter ต่างๆ ของ arterial stiffness และ endothelial dysfunction ต่อลักษณะของประชากร คำนวณทั้งแบบ univariate analysis (Pearson correlations) และ multivariate analysis (linear regression) และ binary logistic regression โดยให้ significant level คือ  $p \leq 0.05$

### ผลการวิจัย (Results)

ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทั้งหมด 76 ราย ได้แก่ผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองตีบขนาดเล็กเฉียบพลันทั้งหมด 40 ราย และกลุ่มควบคุมที่มีอายุและเพศเข้ากันกับผู้ป่วย (aged- and gender-matched controls) จำนวน 36 ราย ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม (baseline characteristics) แสดงตาม Table 2

ความยืดหยุ่นของหลอดเลือด (CF-PWV, Augmentation index) การทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียม (RHI) และ cardiovascular biomarkers ต่างๆ แสดงตาม Table 3 และ Figures 5-6 กลุ่มผู้ป่วยมีค่า CF-PWV สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $10.50 \pm 2.96$  vs  $8.24 \pm 1.77$  m/s,  $p = 0.000$ ) และมีค่า nitric oxide ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $34.12 \pm 25.09$  vs  $56.43 \pm 42.37$  umol/L,  $p = 0.007$ )

เมื่อติดตามกลุ่มผู้ป่วยต่อไปเป็นเวลา 6 เดือนหลังจากเกิด stroke พบว่าความยืดหยุ่นของหลอดเลือด (CF-PWV, Augmentation index) การทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียม (RHI) และ cardiovascular biomarkers ต่างๆ มีการเปลี่ยนแปลงไปอย่างมีนัยสำคัญตามตารางที่ 4 ได้แก่ค่า CF-PWV ลดลง ( $10.50 \pm 2.96$  vs  $9.09 \pm 2.85$  m/s,  $p = 0.000$ ) augmentation pressure ลดลง ( $17.19 \pm 11.09$  vs  $12.35 \pm 5.19$  mmHg,  $p = 0.011$ ) RHI เพิ่มขึ้น ( $2.30 \pm 9.80$  vs  $4.85 \pm 18.19$  %,  $p = 0.006$ ), ADMA สูงขึ้น ( $9.40 \pm 2.75$  vs  $12.27 \pm 3.45$  umol/L,  $p = 0.001$ ) homocysteine สูงขึ้น ( $8.67 \pm 5.98$  vs  $10.24 \pm 6.65$  umol/L,  $p = 0.001$ ) และ nitric oxide สูงขึ้น ( $34.12 \pm 25.09$  vs  $73.31 \pm 53.53$  umol/L,  $p = 0.000$ )

Univariate analysis เพื่อศึกษาว่า CF-PWV, augmentation index, RHI และ acute ischemic stroke สัมพันธ์กับปัจจัยใดบ้าง (Table 5) พบว่าค่า CF-PWV มีความสัมพันธ์กับบางปัจจัยอย่างมีนัยสำคัญ ได้แก่ age ( $r = 0.293$ ,  $p = 0.000$ ), waist circumference ( $r = 0.286$ ,  $p = 0.015$ ), body mass index ( $r = 0.236$ ,  $p = 0.043$ ), aortic systolic blood pressure ( $r = 0.461$ ;  $p = 0.000$ ) และ brachial systolic blood pressure ( $r = 0.477$ ,  $p = 0.000$ ), brachial diastolic blood pressure ( $r = 0.296$ ,  $p = 0.010$ ), C-reactive protein ( $r = -0.297$ ,  $p = 0.013$ ) homocysteine ( $r = -0.235$ ,  $p = 0.047$ ), total antioxidant status ( $r = -0.253$ ,  $p = 0.032$ ) และการเกิด acute ischemic stroke ( $r = 0.419$ ,  $p = 0.000$ )

ส่วน augmentation index (Table 5) สัมพันธ์กับ age ( $r = 0.252$ ,  $p = 0.028$ ), gender ( $r = 0.305$ ,  $p = 0.007$ ), aortic systolic blood pressure ( $r = 0.563$ ,  $p = 0.000$ ), brachial systolic blood pressure ( $r = 0.388$ ,  $p = 0.001$ ) และ hematocrit ( $r = -0.349$ ,  $p = 0.002$ )

RHI (Table 5) สัมพันธ์กับ smoking as pack year ( $r = 0.254$ ,  $p = 0.028$ ), aortic systolic blood pressure ( $r = 0.358$ ,  $p = 0.002$ ), brachial systolic blood pressure ( $r = 0.350$ ,  $p = 0.002$ ), white blood cell ( $r = 0.304$ ,  $p = 0.009$ ), platelets ( $r = -0.239$ ,  $p = 0.042$ ), และ high density lipoprotein cholesterol ( $r = -0.249$ ,  $p = 0.034$ )

Acute ischemic stroke (Table 5) สัมพันธ์กับ waist circumference ( $r = 0.234$ ,  $p = 0.044$ ), smoking as pack year ( $r = 0.267$ ,  $p = 0.020$ ), underlying hypertension ( $r = 0.236$ ,  $p = 0.040$ ), aortic systolic blood pressure ( $r = 0.547$ ,  $p = 0.000$ ), aortic diastolic blood pressure ( $r = 0.393$ ,  $p = 0.000$ ), brachial

systolic blood pressure ( $r = 0.578$ ,  $p = 0.000$ ), brachial diastolic blood pressure ( $r = 0.497$ ,  $p = 0.000$ ), white blood cell ( $r = 0.541$ ,  $p = 0.000$ ), total cholesterol ( $r = -0.394$ ,  $p = 0.001$ ), high density lipoprotein cholesterol ( $r = -0.546$ ,  $p = 0.000$ ), erythrocyte sedimentation rate ( $r = 0.314$ ,  $p = 0.006$ ), CF-PWV ( $r = 0.419$ ,  $p = 0.000$ ) และ nitric oxide ( $r = -0.312$ ,  $p = 0.007$ )

เนื่องจากกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยมีค่า CF-PWV ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ผู้วิจัยจึงทำ Multivariate analysis เพื่อพิสูจน์ว่าความแตกต่างนั้นไม่ได้เกิดจาก influence ของ age และ blood pressure และปัจจัยอื่นๆ ดังแสดงใน Table 6 พบว่าความแตกต่างของ CF-PWV ของทั้งสองกลุ่ม independent จาก age, blood pressure, waist circumference, body mass index, c-reactive protein, homocysteine และ total antioxidant status นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้ทำการวิเคราะห์แบบ binary logistic regression ต่อไปว่า การเกิด acute ischemic stroke สัมพันธ์กับ CF-PWV ที่สูงขึ้นจริง ดังแสดงใน Table 7 โดยพบว่าค่า odd ratio คือ 2.14 ต่อการเพิ่มขึ้นของ PWV หนึ่งหน่วย

Table 2 ข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม

Parameters	Acute ischemic stroke (n=40)	Controls (n=36)	p value
Age (years)	63.20±7.36	63.06±7.20	0.931
Male/ female (n (%))	25 (62.5)/15 (37.5)	22 (61.1)/14 (38.9)	-
Waist circumference (cm)	89.23±10.40	84.12±11.04	0.400
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	24.80±3.92	24.05±3.71	0.401
History of smoke (n (%))	21 (52.5)	11 (30.6)	-
Smoking (pack-year)	11.95±15.22	5.03±8.97	0.020
Underlying hypertension	25 (62.5)	14 (38.9)	-
Underlying dyslipidemia	14 (35)	16 (44.4)	-
<b>Medication (n (%))</b>			
Angiotensin converting enzyme inhibitor/ angiotensin receptor blocker	6 (15)	1 (2.8)	-
Alpha blocker	1 (2.5)	1 (2.8)	-
Beta blocker	4 (10)	5 (13.9)	-
Calcium channel blocker	10 (25)	6 (16.7)	-
Diuretics	4 (10)	0 (0)	-
Statins	7 (17.5)	7 (19.4)	-
<b>Blood pressure (mmHg)</b>			
Aortic systolic blood pressure	142±20	117±19	0.000
Aortic diastolic blood pressure	86±13	76±11	0.000
Brachial systolic blood pressure	153±18	127±20	0.000
Brachial diastolic blood pressure	87±11	75±10	0.000
<b>Hematology and biochemistry</b>			
Hematocrit (%)	40.99±4.01	41.93±2.95	0.265
White blood cells (x10 <sup>3</sup> /ul)	8.17±2.16	5.85±1.31	0.000
Platelets (x10 <sup>3</sup> /ul)	256±64	245±46	0.387
Fasting plasma glucose (mg/dl)	94±17	92±9	0.725
Serum creatinine (mg/dl)	0.84±0.27	0.88±0.18	0.506
Total cholesterol (mg/dl)	193±37	224±39	0.001
Triglyceride (mg/dl)	120±57	125±73	0.735
Low density lipoprotein cholesterol (mg/dl)	124±38	138±36	0.118
High density lipoprotein cholesterol (mg/dl)	45±12	61±12	0.000
Erythrocyte sedimentation rate (mm/hr)	21.93±16.22	13.29±8.22	0.006
C reactive protein (mg/dl)	4.29±5.67	2.64±1.95	0.124



Table 3 ความยืดหยุ่นของหลอดเลือด (CF-PWV, augmentation index) การทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียม (reactive hyperemia index) และระดับ cardiovascular biomarkers ต่างๆ ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม

Parameters	Acute ischemic stroke (n=40)	Controls (n=36)	p value
<b>Arterial stiffness</b>			
Carotid-femoral pulse wave velocity (m/s)	10.50±2.96	8.24±1.77	0.006
Augmentation pressure (mmHg)	17.19±11.09	10.92±6.52	0.004
Augmentation index (%)	28.21±10.97	25.32±10.11	0.237
Augmentation index at heart rate of 75 bpm (%)	25.01±9.80	22.13±8.56	0.177
<b>Endothelial function</b>			
Reactive hyperemia index (%)	2.30±0.65	2.02±0.60	0.056
<b>Cardiovascular biomarkers</b>			
Arginine ( $\times 10^3$ ) (umol/L)	1.78±0.54	2.04±4.72	0.134
Asymmetric dimethylarginine (umol/L)	9.40±2.75	9.77±1.52	0.616
Homocysteine (umol/L)	8.67±5.98	9.35±5.17	0.605
Total antioxidant status ( $\times 10^3$ ) (umol/L)	9.51±12.20	12.24±11.19	0.321
Nitric oxide (umol/L)	34.12±25.09	56.43±42.37	0.007

**Table 4** การเปลี่ยนแปลงทางด้านความยืดหยุ่นของหลอดเลือด (CF-PWV, augmentation index) การทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียม (reactive hyperemia index) และระดับ cardiovascular biomarkers ต่างๆ ในกลุ่มผู้ป่วย ระหว่าง day 5-7 post stroke และ 6 months post stroke

Parameters	day 5-7 post stroke (n = 40)	6 months post stroke (n = 40)	p value
<b>Arterial stiffness</b>			
Carotid-femoral pulse wave velocity (m/s)	10.50±2.96	9.09±2.85	0.000
Augmentation pressure (mmHg)	17.19±11.09	12.35±5.19	0.011
Augmentation index (%)	28.21±10.97	27.53±7.28	0.577
Augmentation index at heart rate of 75 bpm (%)	25.01±9.80	25.19±6.99	0.850
<b>Endothelial function</b>			
Reactive hyperemia index (%)	2.30±0.65	4.85±18.19	0.006
<b>Cardiovascular biomarkers</b>			
Arginine (x 10 <sup>3</sup> ) (umol/L)	1.78±0.54	1.64±0.31	0.306
Asymmetric dimethylarginine (umol/L)	9.40±2.75	12.27±3.45	0.001
Homocysteine (umol/L)	8.67±5.98	10.24±6.65	0.001
Total antioxidant status (x 10 <sup>3</sup> ) (umol/L)	9.51±12.20	10.53±14.07	0.294
Nitric oxide (umol/L)	34.12±25.09	73.31±53.53	0.000
<b>Blood pressure (mmHg)</b>			
Aortic systolic blood pressure	142±20	125±13	0.000
Aortic diastolic blood pressure	86±13	82±11	0.013
Brachial systolic blood pressure	153±18	135±15	0.000
Brachial diastolic blood pressure	87±11	81±10	0.003

Table 5 Univariate analysis (\*p&lt; 0.05)

Parameters	Acute ischemic stroke	Carotid femoral pulse wave velocity	Augmentation index	Reactive hyperemia index
	r	r	r	r
Age	0.010	0.293*	0.252*	-0.090
Gender	-0.014	0.015	0.305*	-0.149
Waist circumference	0.234*	0.286*	-0.068	0.014
Body mass index	0.098	0.236*	-0.026	0.008
History of smoking	0.222	0.132	0.013	0.224
Smoking as pack year	0.267*	0.111	0.091	-0.254*
Underlying hypertension	0.236*	0.131	0.110	-0.032
Underlying dyslipidemia	-0.096	-0.101	-0.141	-0.190
Aortic systolic blood pressure	0.547*	0.461*	0.563*	0.358*
Aortic diastolic blood pressure	0.393*	0.214	0.122	0.201
Brachial systolic blood pressure	0.578*	0.477*	0.388*	0.350*
Brachial diastolic blood pressure	0.497*	0.296*	0.122	0.182
Hematocrit	-0.131	-0.047	-0.349*	0.014
White blood cells count	0.541*	0.107	0.108	0.304*
Platelets	0.102	-0.097	-0.132	-0.239*
Fasting plasma glucose	0.042	0.188	0.030	-0.141
Serum creatinine	-0.079	-0.168	-0.080	0.099
Total cholesterol	-0.394*	-0.029	0.029	0.004
Triglyceride	-0.040	0.095	-0.200	0.040
Low density lipoprotein cholesterol	-0.183	0.002	0.011	0.023
High density lipoprotein cholesterol	-0.546*	-0.191	0.149	-0.249*
Erythrocyte sedimentation rate	0.314*	0.118	0.183	-0.028
C-reactive protein	0.184	-0.297*	0.119	0.053
Carotid femoral pulse wave velocity	0.419*	n/a	0.194	0.228
Augmentation index	0.137	0.194	n/a	0.219
Reactive hyperemia index	0.222	0.228	0.219	n/a
Arginine	-0.248	-0.076	-0.246	-0.258
Asymmetric dimethylarginine	-0.084	0.019	-0.019	-0.280
Homocysteine	-0.061	-0.235*	-0.017	0.082
Total antioxidant status	-0.117	0.253*	-0.021	0.042
Nitric oxide	-0.312*	-0.028	0.003	-0.085
Acute ischemic stroke	n/a	0.419*	0.137	0.222

**Table 6** Linear model of predictors of carotid-femoral pulse wave velocity, with 95% bias corrected and accelerated confidence interval reported in brackets. Confidence intervals and standard errors (SE) based on 1000 bootstrap samples

$R^2 = 0.55$ , adjusted  $R^2 = 0.49$

	B	SE B	$\beta$	p value
Constant	-4.99 (-12.31, 0.91)	2.94	-	0.094
Age	0.09 (0.02, 0.17)	0.04	0.23	0.018
Waist circumference	0.01 (-0.09, 0.09)	0.05	0.03	0.875
Body mass index	0.17 (-0.15, 0.57)	0.17	0.23	0.294
Brachial systolic blood pressure	0.03 (-0.01, 0.06)	0.02	0.21	0.156
C-reactive protein	-0.24 (-0.40, 0.20)	0.10	-0.41	0.002
Homocysteine	0.01 (-0.32, 0.36)	0.16	0.01	0.963
Total antioxidant status	8.38E-007 (-0.000, 0.000)	7.29E-005	0.004	0.989
Acute ischemic stroke	2.26 (-0.70, 3.86)	0.81	0.41	0.010

**Table 7** Coefficients of the binary logistic model predicting whether individual had acute ischemic stroke (95% bootstrap confidence intervals based on 1000 samples)

$R^2 = 0.68$  (Hosmer & Lemeshow), 0.65 (Cox & Snell), 0.87 (Nagelkerke).

Model  $X^2(9) = 72.04$ ,  $p = 0.000$

	B	95% CI for odd ratio			p value
		Lower	Odds	Upper	
Constant	4.84 (-1060.10, 1796.20)	-	-	-	0.260
Waist circumference	-0.18 (-28.03, 0.84)	0.67	0.83	1.04	0.020
Smoking as pack year	0.14 (-1.70, 32.03)	0.96	1.16	1.39	0.008
Underlying hypertension	0.79 ( 50.49, 454.60)	0.12	2.20	40.16	0.271
Brachial systolic blood pressure	0.11 (0.06, 31.57)	1.01	1.11	1.22	0.001
White blood cell	0.001 (-0.02, 0.12)	1.000	1.001	1.002	0.004
Total cholesterol	-0.04 (-14.07, 0.03)	0.92	0.96	1.01	0.005
High density lipoprotein cholesterol	-0.10 ( 23.20, 1.20)	0.81	0.91	1.02	0.011
Carotid-femoral pulse wave velocity	0.76 (-3.64, 153.75)	0.82	2.14	5.59	0.023
Nitric oxide	-0.10 (-11.80, 0.12)	0.83	0.91	1.00	0.020

Figure 5 CF-PWV, augmentation index และ reactive hyperemia index ของกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม

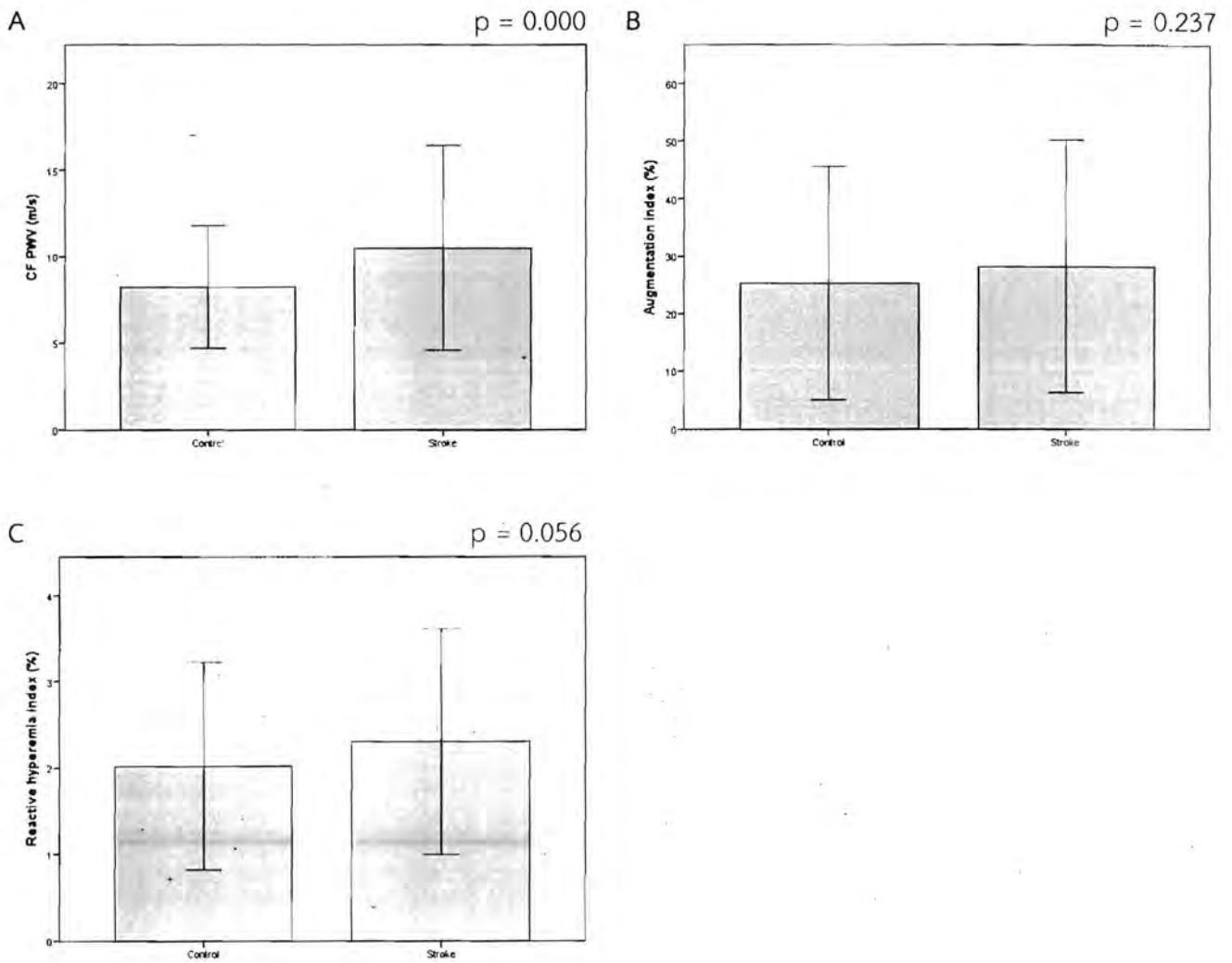
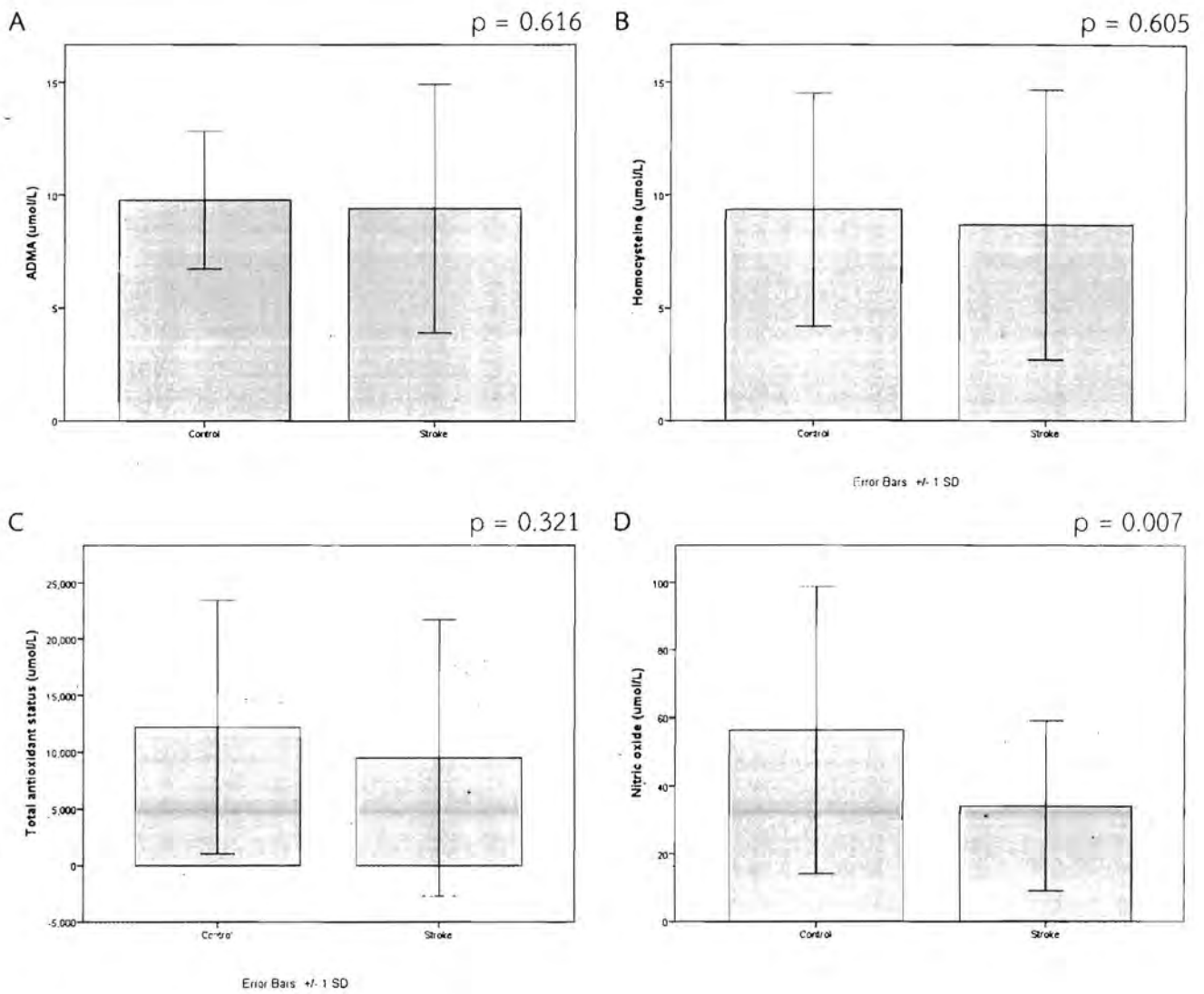


Figure 6 ADMA, homocysteine, total antioxidant status และ nitric oxide ของกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม



## สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะสำหรับการวิจัยในขั้นตอนต่อไป (Conclusions, discussions and future works)

เป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปว่าการเพิ่มขึ้นของความไม่ยืดหยุ่นของหลอดเลือด (arterial stiffness) ช่วยบ่งบอกการเกิดโรคทาง cerebrovascular diseases (47, 48) และค่า PWV ช่วยบ่งบอกการเกิด fatal stroke ในผู้ป่วยความดันโลหิตสูง (essential hypertension) (49) ข้อมูลจากการศึกษานี้พบว่าผู้ป่วยไทยที่มีภาวะโรคหลอดเลือดสมองตีบเฉียบพลัน (acute ischemic stroke) ที่ไม่มีภาวะเบาหวาน มีความไม่ยืดหยุ่นของหลอดเลือด (arterial stiffness) ซึ่งวัดโดย CF-PWV สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่ความผิดปกติของการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียม (endothelial dysfunction) ซึ่งวัดโดย RHI เมื่อนำอายุ และ SBP ซึ่งเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการวัด arterial stiffness มาพิจารณาพร้อมด้วยพบว่าค่า CF-PWV มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม และ CF-PWV เป็น independent predictor ของการเกิด acute ischemic stroke โดยมีค่า odd ratio คือ 2.14

ผลการศึกษาในประชากรไทยนี้ขัดแย้งกับ Choi และคณะ (44) ที่พบว่าผู้ป่วยและกลุ่มควบคุมมีค่า PWV ไม่แตกต่างกัน และไม่พบความแตกต่างของ PWV ในแต่ละ subtype ของ stroke แต่ให้ผลไปในทางเดียวกับหลายการศึกษาได้แก่ De Silva และคณะ (38) ที่พบว่าผู้ป่วยกลุ่มที่มี intracranial large artery disease มี CF-PWV สูงกว่ากลุ่มที่ไม่มี intracranial large artery disease (11.7 vs 11.0 m/s,  $p = 0.015$ ) และในการศึกษาที่แบ่งผู้ป่วยตาม TOAST diagnostic subtype พบว่า lacunar subtype มีค่า PWV และ Aix สูงกว่า stroke กลุ่มอื่นๆ (4) ได้แก่ Large-Artery Atherosclerosis, Cardio-Embolic infarcts, Stroke of Other Determined Etiology นอกจากนี้อีกหนึ่งการศึกษาในผู้ป่วย hypertension อายุมากกว่า 50 ปีที่มี small vessel disease หรือ subcortical infarction พบว่ามี PWV ที่สูงกว่า control อย่างมีนัยสำคัญ (43)

อายุหรือ SBP ที่เพิ่มสูงขึ้นมีอิทธิพลทำให้ค่า CF-PWV สูงขึ้น ผู้วิจัยตระหนักถึงข้อจำกัดนี้ และได้ทำการควบคุมเรื่องอายุ โดยคัดเลือกกลุ่มควบคุมที่เป็น aged และ gender-matched กับกลุ่มผู้ป่วย ส่วนด้านความดันโลหิต SBP พบว่ามีการควบคุมให้เท่ากันระหว่างกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุมได้ยาก เนื่องจากผู้ป่วยอยู่ในภาวะโรคหลอดเลือดสมองตีบระยะเฉียบพลันซึ่งมีค่า SBP สูงกว่าปกติได้ตามกลไกทางพยาธิสรีรวิทยา แม้จะทำการตรวจเพื่อเก็บบันทึกข้อมูลในช่วงวันที่ 5-7 หลังจากเกิดอาการของโรคหลอดเลือดสมองตีบแล้วก็ตามค่าความดันโลหิต SBP ของผู้ป่วยก็ยังอยู่ในเกณฑ์สูงกว่าปกติ และเมื่อมาเทียบกับกลุ่มควบคุมค่าที่ได้ระหว่างทั้งสองกลุ่มจึงแตกต่างกัน แต่เมื่อได้ทำการพิจารณาค่า SBP ร่วมด้วยยืนยันได้ว่า ค่า arterial stiffness (CF-PWV) ของทั้งผู้ป่วยและกลุ่มควบคุมยังคงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อติดตามผู้ป่วยไปอีก 6 เดือน พบว่าแม้ค่าความดันโลหิตลดลงสู่ระดับปกติ แต่ค่า CF-PWV ยังคงสูงกว่ากลุ่มควบคุม

สำหรับความผิดปกติของการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียม (endothelium dysfunction) ที่วัดได้จากค่า RHI พบว่าในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองตีบเฉียบพลัน (acute ischemic stroke) มีค่า RHI สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งค่า RHI ที่สูงหมายถึงมีความผิดปกติของการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมน้อย นอกจากนี้พบว่าเมื่อติดตามผู้ป่วยไปเป็นเวลา 6 เดือนหลังจากเกิด ischemic stroke ผู้ป่วยมีการเปลี่ยนแปลงค่า RHI ไปในทางที่ดีขึ้น ทั้งนี้ อธิบายได้จากการที่ความดันโลหิตของผู้ป่วยได้ลดลงสู่ระดับปกติแล้ว การศึกษานี้ให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาของ Tsao CW และคณะ (50) ที่ทำการศึกษาค้นหาความสัมพันธ์ระหว่างความแข็งของหลอดเลือด การทำงานของเซลล์เยื่อผนังหลอดเลือดและการเกิด vascular brain aging ในกลุ่มผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองและผู้ป่วยสมองเสื่อม โดย



การดู white matter hyperintensity volume จากภาพ MRI ซึ่งพบว่า ความแข็งของหลอดเลือดสัมพันธ์กับการเกิด white matter hyperintensity ที่มากขึ้น ส่วนการทำงานของเซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือดที่วัดด้วยวิธี brachial artery flow-mediated dilatation (FMD) ไม่พบว่ามีความสัมพันธ์กับการเกิด white matter hyperintensity มากขึ้น แสดงให้เห็นว่าพยาธิสรีรวิทยาของการฝ่อของเนื้อสมองสีขาวได้มีผลหรือการเกิด white matter hyperintensity ในโรคหลอดเลือดสมองขนาดเล็กตีบไม่ได้เป็นผลจากการทำงานของเซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือด อาจมีปัจจัยอื่นที่ส่งผลให้เกิดรอยโรคดังกล่าว เช่น การมีความดันโลหิตสูงเป็นระยะเวลานานส่งผลให้เกิดภาวะ hypoperfusion ที่เนื้อสมองรอบหลอดเลือดตีบ ทำให้เนื้อสมองบริเวณนั้นเกิดการฝ่อและเกิดเป็นช่องว่างและถูกแทนที่ด้วยของเหลวภายนอก เซลล์ทำให้เกิดความผิดปกติในภาพเอ็มอาร์หรือในภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ขึ้น (51) หรือเกิดจากปัจจัยอื่น ๆ ที่ยังไม่ทราบได้

การเกิดการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดมีสาเหตุได้หลายประการทั้งเรื่องความผิดปกติของการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียม, ภาวะ oxidative stress, inflammation, atherosclerosis และ vascular calcification บทบาทที่แท้จริงของการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี (biochemical changes) ที่ทำให้เกิด arterial stiffness ในช่วงหลอดเลือดสมองตีบเฉียบพลันยังไม่เป็นที่ทราบชัด แต่สันนิษฐานว่าน่าจะเกิดจากกระบวนการทาง immune-inflammatory activation (52, 53) ภาวะ endothelial dysfunction และการเกิด toxic effects อื่นๆ อาจจะเกี่ยวข้องกับการเพิ่มการเกิด arterial stiffness หลังจากที่มีหลอดเลือดสมองตีบได้ การศึกษานี้ได้ทำการวัดค่า cardiovascular biomarker ต่างๆ ในเลือดหลายตัว ได้แก่ ADMA, homocysteine, total antioxidant status และ nitric oxide พบว่าค่า cardiovascular biomarker ดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุมอย่างชัดเจนในช่วงแรกของการเกิด stroke และเมื่อติดตามผู้ป่วยต่อไปถึง 6 เดือนจึงเห็นความเปลี่ยนแปลงของ marker เหล่านี้ได้ชัดเจนขึ้นไปในทางที่สนับสนุน damage ของ endothelial cell

ข้อจำกัดและอุปสรรคของงานวิจัยนี้คือการหาผู้ป่วยที่มีคุณสมบัติเข้าได้กับการศึกษาเป็นไปได้อ่อนข้างยาก เนื่องจากประชากรส่วนใหญ่ที่เกิด stroke จะมีภาวะเบาหวานร่วมด้วย นอกจากนี้ผู้วิจัยไม่สามารถคัดแยกผู้ป่วยที่มีภาวะความดันโลหิตสูงซึ่งเป็นทั้ง cardiovascular risk factor และ cerebrovascular risk factor อันสำคัญซึ่งส่งผลต่อการประเมินค่า arterial stiffness และ endothelial function ออกไปได้ และข้อสำคัญที่ควรได้รับการพิจารณาเพิ่มเติมในการศึกษานี้คือกลุ่มผู้ป่วยส่วนหนึ่งได้รับยากลุ่ม calcium channel blocker และ statins ซึ่งเป็นยาที่อาจทำให้เส้นเลือดมี vasomotor reactivity หรือ vascular elasticity เพิ่มขึ้น การเปรียบเทียบค่า arterial stiffness และ endothelial dysfunction โดยพิจารณาปัจจัยเรื่อง calcium channel blocker ร่วมด้วยยังมีข้อจำกัด เนื่องจากประชากรที่ศึกษามีจำนวนน้อยไม่สามารถทำ subgroup analysis ได้ นอกจากนี้กลุ่มควบคุมที่ทำการศึกษาแม้ว่าจะจะเป็นกลุ่มอาสาสมัครสุขภาพดีแต่อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ไม่ได้ทำการตรวจทางรังสีวินิจฉัยทุกรายก่อนที่จะทำการศึกษาดังนั้นจึงไม่อาจบอกได้ว่ากลุ่มที่ทำการศึกษานั้นจะมีภาวะโรคหลอดเลือดสมองไร้อาการก่อนที่จะทำการศึกษาหรือไม่

งานวิจัยนี้ได้แสดงให้เห็นว่าความแข็งของหลอดเลือดแดงมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคหลอดเลือดสมองตีบเฉียบพลันโดยไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างความแข็งของหลอดเลือดแดงกับการทำงานของเซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือดจากการวิเคราะห์ข้อมูลเพิ่มเติมโดยหาความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดโรคหลอดเลือดสมองตีบเฉียบพลันกับปัจจัยต่างๆ ด้วยการวิเคราะห์การถดถอยแบบโลจิสติกเป็นที่น่าสนใจว่า ค่า CF-PWV ที่มากขึ้นสัมพันธ์กับการเกิดโรคหลอดเลือด

สมองตีบ ดังนั้นจึงอาจนำการตรวจวัดความแข็งของหลอดเลือดโดยดูค่า CF-PWV มาใช้พยากรณ์การเกิดโรคหลอดเลือดสมองโดยเฉพาะในกลุ่มโรคหลอดเลือดสมองตีบในอนาคตได้

## เอกสารอ้างอิง (References)

1. สำนักสถิติเศรษฐกิจสังคมและประชากร. การสำรวจประชากรผู้สูงอายุในประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร. 2550;สำนักงานสถิติแห่งชาติ.
2. Pattaraarchachai J, Rao C, Polprasert W, Porapakkham Y, Pao-In W, Singwerathum N, et al. Cause-specific mortality patterns among hospital deaths in Thailand: validating routine death certification. *Popul Health Metr.* 2010;8:12. Epub 2010/05/21.
3. Ovbiagele B, Liebeskind DS, Kim D, Ali LK, Pineda S, Saver JL. Prognostic value of Framingham Cardiovascular Risk Score in hospitalized stroke patients. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2011;20(3):222-6. Epub 2010/07/27.
4. Tuttolomondo A, Di Sciacca R, Di Raimondo D, Serio A, D'Aguzzo G, Pinto A, et al. Arterial stiffness indexes in acute ischemic stroke: relationship with stroke subtype. *Atherosclerosis.* 2010;211(1):187-94. Epub 2010/03/17.
5. Stevenson SF, Doubal FN, Shuler K, Wardlaw JM. A systematic review of dynamic cerebral and peripheral endothelial function in lacunar stroke versus controls. *Stroke.* 2010;41(6):e434-42. Epub 2010/04/17.
6. นิพนธ์ ฉัตรทิพากร, ทีฆชอุณหเชียร ศ. Non-invasive Central Blood Pressure Measurement and its Significance. อัมรินทร์. 2551;กรุงเทพฯ:1-79 หน้า.
7. Vlachopoulos C, Hirata K, O'Rourke MF. Pressure-altering agents affect central aortic pressures more than is apparent from upper limb measurements in hypertensive patients: the role of arterial wave reflections. *Hypertension.* 2001;38(6):1456-60. Epub 2001/12/26.
8. Protogerou AD, Papaioannou TG, Blacher J, Papamichael CM, Lekakis JP, Safar ME. Central blood pressures: do we need them in the management of cardiovascular disease? Is it a feasible therapeutic target? *J Hypertens.* 2007;25(2):265-72. Epub 2007/01/11.
9. Hirata K, Kawakami M, O'Rourke MF. Pulse wave analysis and pulse wave velocity: a review of blood pressure interpretation 100 years after Korotkov. *Circ J.* 2006;70(10):1231-9. Epub 2006/09/26.
10. Blacher J, Protogerou AD, Safar ME. Large artery stiffness and antihypertensive agents. *Curr Pharm Des.* 2005;11(25):3317-26. Epub 2005/10/28.
11. Davies JJ, Struthers AD. Pulse wave analysis and pulse wave velocity: a critical review of their strengths and weaknesses. *J Hypertens.* 2003;21(3):463-72. Epub 2003/03/18.
12. Latham RD, Westerhof N, Sipkema P, Rubal BJ, Reuderink P, Murgu JP. Regional wave travel and reflections along the human aorta: a study with six simultaneous micromanometric pressures. *Circulation.* 1985;72(6):1257-69. Epub 1985/12/01.
13. O'Rourke MF, Nichols WW. Aortic diameter, aortic stiffness, and wave reflection increase with age and isolated systolic hypertension. *Hypertension.* 2005;45(4):652-8. Epub 2005/02/09.
14. O'Rourke MF. From theory into practice: arterial haemodynamics in clinical hypertension. *J Hypertens.* 2002;20(10):1901-15. Epub 2002/10/03.

15. O'Rourke MF, Pauca A, Jiang XJ. Pulse wave analysis. *Br J Clin Pharmacol*. 2001;51(6):507-22. Epub 2001/06/26.
16. Wilkinson IB, MacCallum H, Flint L, Cockcroft JR, Newby DE, Webb DJ. The influence of heart rate on augmentation index and central arterial pressure in humans. *J Physiol*. 2000;525 Pt 1:263-70. Epub 2000/05/16.
17. Deary AJ, Schumann AL, Murfet H, Haydock S, Foo RS, Brown MJ. Influence of drugs and gender on the arterial pulse wave and natriuretic peptide secretion in untreated patients with essential hypertension. *Clin Sci (Lond)*. 2002;103(5):493-9. Epub 2002/10/29.
18. Kannam JP, Levy D, Larson M, Wilson PW. Short stature and risk for mortality and cardiovascular disease events. The Framingham Heart Study. *Circulation*. 1994;90(5):2241-7. Epub 1994/11/01.
19. Smulyan H, Marchais SJ, Pannier B, Guerin AP, Safar ME, London GM. Influence of body height on pulsatile arterial hemodynamic data. *J Am Coll Cardiol*. 1998;31(5):1103-9. Epub 1998/04/30.
20. Brooks AG, Waller RE. Peak flow measurements among visitors to a public health exhibition. *Thorax*. 1972;27(5):557-62. Epub 1972/09/01.
21. Dhakam Z, McEniery CM, Yasmin, Cockcroft JR, Brown MJ, Wilkinson IB. Atenolol and eprosartan: differential effects on central blood pressure and aortic pulse wave velocity. *Am J Hypertens*. 2006;19(2):214-9. Epub 2006/02/02.
22. Ziemann SJ, Melenovsky V, Kass DA. Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(5):932-43. Epub 2005/02/26.
23. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D, et al. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J*. 2006;27(21):2588-605. Epub 2006/09/27.
24. Wilkinson IB, Fuchs SA, Jansen IM, Spratt JC, Murray GD, Cockcroft JR, et al. Reproducibility of pulse wave velocity and augmentation index measured by pulse wave analysis. *J Hypertens*. 1998;16(12 Pt 2):2079-84. Epub 1999/01/14.
25. O'Rourke MF, Seward JB. Central arterial pressure and arterial pressure pulse: new views entering the second century after Korotkov. *Mayo Clin Proc*. 2006;81(8):1057-68. Epub 2006/08/12.
26. Chen CH, Nevo E, Fetics B, Pak PH, Yin FC, Maughan WL, et al. Estimation of central aortic pressure waveform by mathematical transformation of radial tonometry pressure. Validation of generalized transfer function. *Circulation*. 1997;95(7):1827-36. Epub 1997/04/01.
27. Pauca AL, O'Rourke MF, Kon ND. Prospective evaluation of a method for estimating ascending aortic pressure from the radial artery pressure waveform. *Hypertension*. 2001;38(4):932-7. Epub 2001/10/20.
28. Pauca AL, Kon ND, O'Rourke MF. The second peak of the radial artery pressure wave represents aortic systolic pressure in hypertensive and elderly patients. *Br J Anaesth*. 2004;92(5):651-7. Epub 2004/03/09.

29. Nichols WW, O'Rourke MF. McDonald's Blood Flow in Arteries: Theoretical, Experimental and Clinical Principles 5th ed London, England: Hodder Arnold. 2005.
30. Takazawa K, Sawada S, Oshiumi A, et al. Ascending aortic peak systolic pressure can be estimated by noninvasive measurement of radial artery late systolic pressure. *J Hypertens*. 2004;22:5304.
31. Ahimastos AA, Natoli AK, Lawler A, Blombery PA, Kingwell BA. Ramipril reduces large-artery stiffness in peripheral arterial disease and promotes elastogenic remodeling in cell culture. *Hypertension*. 2005;45(6):1194-9. Epub 2005/05/18.
32. Mitchell GF, Izzo JL, Jr., Lacourciere Y, Ouellet JP, Neutel J, Qian C, et al. Omapatrilat reduces pulse pressure and proximal aortic stiffness in patients with systolic hypertension: results of the conduit hemodynamics of omapatrilat international research study. *Circulation*. 2002;105(25):2955-61. Epub 2002/06/26.
33. Willum-Hansen T, Staessen JA, Torp-Pedersen C, Rasmussen S, Thijs L, Ibsen H, et al. Prognostic value of aortic pulse wave velocity as index of arterial stiffness in the general population. *Circulation*. 2006;113(5):664-70. Epub 2006/02/08.
34. Mattace-Raso FU, van der Cammen TJ, Hofman A, van Popele NM, Bos ML, Schalekarnp MA, et al. Arterial stiffness and risk of coronary heart disease and stroke: the Rotterdam Study. *Circulation*. 2006;113(5):657-63. Epub 2006/02/08.
35. Blacher J, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, Safar ME, London GM. Impact of aortic stiffness on survival in end-stage renal disease. *Circulation*. 1999;99(18):2434-9. Epub 1999/05/11.
36. Boutouyrie P, Tropeano AI, Asmar R, Gautier I, Benetos A, Lacolley P, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of primary coronary events in hypertensive patients: a longitudinal study. *Hypertension*. 2002;39(1):10-5. Epub 2002/01/19.
37. Guerin AP, Blacher J, Pannier B, Marchais SJ, Safar ME, London GM. Impact of aortic stiffness attenuation on survival of patients in end-stage renal failure. *Circulation*. 2001;103(7):987-92. Epub 2001/02/22.
38. De Silva DA, Woon FP, Gan HY, Chen C, Chang HM, Cameron J, et al. Arterial stiffness is associated with raised levels of the inflammatory marker erythrocyte sedimentation rate among ischaemic stroke patients. *Intern Med J*. 2008;38(12):918-20. Epub 2009/01/06.
39. Nohria A, Gerhard-Herman M, Creager MA, Hurley S, Mitra D, Ganz P. Role of nitric oxide in the regulation of digital pulse volume amplitude in humans. *J Appl Physiol*. 2006;101(2):545-8. Epub 2006/04/15.
40. Wilkinson IB, Qasem A, McEniery CM, Webb DJ, Avolio AP, Cockcroft JR. Nitric oxide regulates local arterial distensibility in vivo. *Circulation*. 2002;105(2):213-7. Epub 2002/01/16.
41. Tamler R, Bar-Chama N. REVIEW Assessment of endothelial function in the patient with erectile dysfunction: an opportunity for the urologist. *International Journal of Impotence Research* 2008;1 -8.

42. Hayward CS, Kraldly M, Webb CM, Collins P. Assessment of endothelial function using peripheral waveform analysis: a clinical application. *J Am Coll Cardiol*. 2002;40(3):521-8. Epub 2002/07/27.
43. Kim DH, Kim J, Kim JM, Lee AY. Increased brachial-ankle pulse wave velocity is independently associated with risk of cerebral ischemic small vessel disease in elderly hypertensive patients. *Clin Neurol Neurosurg*. 2008;110(6):599-604. Epub 2008/05/13.
44. Choi JC, Lee JS, Kang SY, Kang JH, Bae JM, Lee DH. Limitation of brachial-ankle pulse wave velocity in assessing the risk of stroke: importance of instantaneous blood pressure. *Cerebrovasc Dis*. 2009;27(5):417-25. Epub 2009/03/20.
45. Adams HP BB, Kappelle J, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. *Stroke*. 1993;e24:358.
46. David MN, Peter MF, Alain PYP. *Sample size tables for clinical studies*. second ed. 1997.
47. Terai M, Ohishi M, Ito N, Takagi T, Tataru Y, Kaibe M, et al. Comparison of arterial functional evaluations as a predictor of cardiovascular events in hypertensive patients: the Non-Invasive Atherosclerotic Evaluation in Hypertension (NOAH) study. *Hypertens Res*. 2008;31(6):1135-45. Epub 2008/08/22.
48. Salonen R, Salonen JT. Determinants of carotid intima-media thickness: a population-based ultrasonography study in eastern Finnish men. *J Intern Med*. 1991;229(3):225-31. Epub 1991/03/01.
49. Boutouyrie P, Bussy C, Lacolley P, Girerd X, Laloux B, Laurent S. Association between local pulse pressure, mean blood pressure, and large-artery remodeling. *Circulation*. 1999;100(13):1387-93. Epub 1999/09/29.
50. Tsao CW, Seshadri S, Beiser AS, Westwood AJ, Decarli C, Au R, et al. Relations of arterial stiffness and endothelial function to brain aging in the community. *Neurology*. 2013;81(11):984-91. Epub 2013/08/13.
51. O'Rourke MF, Safar ME. Relationship between aortic stiffening and microvascular disease in brain and kidney: cause and logic of therapy. *Hypertension*. 2005;46(1):200-4. Epub 2005/05/25.
52. Licata G, Tuttolomondo A, Corrao S, Di Raimondo D, Fernandez P, Caruso C, et al. Immunoinflammatory activation during the acute phase of lacunar and non-lacunar ischemic stroke: association with time of onset and diabetic state. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2006;19(3):639-46. Epub 2006/10/10.
53. Licata G, Tuttolomondo A, Di Raimondo D, Corrao S, Di Sciacca R, Pinto A. Immunoinflammatory activation in acute cardio-embolic strokes in comparison with other subtypes of ischaemic stroke. *Thromb Haemost*. 2009;101(5):929-37. Epub 2009/05/01.



## 7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

### 7.1 หัวหน้าโครงการวิจัย

- Arterial stiffness and endothelial dysfunction in chronic kidney disease
- Arterial calcification in chronic kidney disease
- Sildenafil and endothelial dysfunction in smokers
- Immunosuppressive therapy in renal transplant recipients: relationships to plasma levels of asymmetric dimethylarginine (สนับสนุนงบประมาณการวิจัยโดย ทุนรัชดาภิเษกสมโภชคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)
- Pharmacokinetics, pharmacodynamics and efficacy of EC-MPS (Myfortic) in relapse or resistance proliferative lupus nephritis (สนับสนุนงบประมาณการวิจัยโดย สกว.)
- Effect of low body temperature on pharmacokinetics of propofol (The 90<sup>th</sup> Anniversary of Chulalongkorn University, Rachadapiseksompoch Research Fund, Chulalongkorn University)

#### Bioequivalence study

##### *Principal investigator*

- Glucosamine 1,500 mg sachet
- Memantine 10 mg tablet
- Pregabalin 75 mg capsule (2 projects)
- Pregabalin 150 mg capsule
- Rivastigmine 6 mg capsule
- Nicergoline 30 mg film-coated tablet
- Levoceterizine 5 mg tablet
- Gabapentin 300 mg capsule (2 projects)
- Moxifloxacin 400 mg tablet (2 projects)
- Mosapride 5 mg tablet
- Clopidogrel 75 mg tablet

##### *Co-investigator (Clinical Investigator)*

- Gabapentin 300 mg capsule
- Rivastigmine tartrate 3 mg capsules
- Gabapentin 400 mg capsule (2 projects)
- Gabapentin 600 mg tablet (2 projects)
- Donepezil 10 mg tablet
- Irbesartan 300 mg tablet

### 7.2 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว



1. Thongliamnak, N., Chariyavilaskul, P., Indrampanya, T., Wittayalertpanya, S., (2014) Effect of low body temperature on pharmacokinetics of propofol. *Proceedings of 36<sup>th</sup> Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand Meeting*.
2. Wittayalertpanya, S., Chariyavilaskul, P., Prompila, N., Sayankuldilok, N., Eiamart, W. (2014) Pharmacokinetics and bioequivalence study of irbesartan tablets after a single oral dose of 300 mg in Thai healthy volunteers. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics* (2014 Apr 14. [Epub ahead of print]).
3. Dhaun, N., Yuzugulen, J., Kimmitt, RA., Wood, EG., Lilitkarntakul, P., MacIntyre, IM., Goddard, J., Webb, DJ., Corder, R. (2013) Plasma proendothelin-1 peptide concentrations rise in CKD and following selective endothelin-A receptor antagonism. *Journal American Society Nephrology* (in press).
4. Kittanamongkolchai, W., Rukrung, C., Supasiri, T., Lertjirachai, I., Somparn, P., Chariyavilaskul, P., Avihingsanon, Y. (2013) Therapeutic Drug Monitoring of Mycophenolate Mofetil for the Treatment of Severely Active Lupus Nephritis. *Lupus* 22(7): 727-32.
5. Phaisal, W., Chariyavilaskul, P., Avihingsanon, Y., Wittayalertpanya, S. (2013) High Performance Liquid Chromatography Assay for a Determination of Inosine Monophosphate Dehydrogenase Activity in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Proceedings of 35<sup>th</sup> Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand Meeting*: 81-85.
6. Phaisal, W., Lilitkarntakul, P., Wittayalertpanya, S., Avihingsanon, Y. (2012) High Performance Liquid Chromatography Assay for a Determination of Mycophenolic acid in human plasma. *Thai Journal of Pharmacology* 34: 58 (Abstract).
7. Lilitkarntakul, P., Dhaun, N., Melville, V., Kerr, D., Webb, DJ., Goddard, J. (2012) Risk Factors for Metabolic Syndrome Independently Predict Arterial Stiffness and Endothelial Dysfunction in Patients With Chronic Kidney Disease and Minimal Comorbidity. *Diabetes Care*, 35(8): 1774-80.
8. Lilitkarntakul, P., Dhaun, N., Melville, V., Blackwell, S., Talwar, D.K., Liebman, B., Asai, T., Pollock, J., Goddard, J., Webb, D.J. (2011) Blood pressure and not uraemia is the major determinant of arterial stiffness and endothelial dysfunction in patients with chronic kidney disease and minimal co-morbidity. *Atherosclerosis*, 216: 217-25.
9. Payne, RA., Lilitkarntakul, P., Dhaun, N., Melville, V., Asai, T., Goddard, J., Webb, D.J. (2010). Renal dysfunction does not affect the peripheral-to-central arterial pressure transfer function. *Hypertension*, 56: 1083-8.
10. Dhaun, N., Macintyre, I.M., Melville, V., Lilitkarntakul, P., Johnston, N.R., Goddard, J. & Webb, D.J. (2009). Effect of endothelin receptor antagonism relate to the degree of renin-angiotensin system blockade in chronic proteinuric kidney disease. *Hypertension*, 54: e19-20.
11. Dhaun, N., Lilitkarntakul, P., Macintyre, I. M., Muilwijk, E., Johnston, N. R., Kluth, D. C., Webb, D. J. & Goddard, J. (2009). Urinary endothelin 1 in chronic kidney disease and as a marker of disease activity in lupus nephritis. *Am J Physiol Renal Physiol*, 296: F1477-83.

12. Dhaun, N., Macintyre, I. M., Melville, V., Lilitkarntakul, P., Johnston, N. R., Goddard, J. & Webb, D. J. (2009). Blood pressure-independent reduction in proteinuria and arterial stiffness after acute endothelin-A receptor antagonism in chronic kidney disease. *Hypertension*, 54: 113-9.
13. Dear, J. W., Lilitkarntakul, P. & Webb, D. J. (2006). Are rare diseases still orphans or happily adopted? The challenges of developing and using orphan medicinal products. *Br J Clin Pharmacol*, 62: 264-71.
14. Itthipanichpong, C., Chompootawee, S., Wittayalertpanya, S., Kemsri, W., Thaworn, N., Lilitkarntakul, P. Parikamsil, S. (2005). Clinical pharmacokinetic of celecoxib in healthy Thai volunteers. *J Med Assoc Thai*, 88: 632-8.
15. Wittayalertpanya, S., Chompootawee, S., Hinsui, Y., Lilitkarntakul, P. The bioequivalence study of oral gabapentin 300 mg capsule. (2005). *Chula Med J*, 49: 1-12.

### 7.3 งานวิจัยที่กำลังทำ -



