

ผลการทดลอง

1. การชี้แสดงตำแหน่งของ conduction system (SA node และ AV node)

sections บางส่วนที่ถูกเลือกมาด้วย Masson Trichrome เพื่อชี้แสดงตำแหน่งของ conduction system (SA node และ AV node) พบว่า

Sinoatrial node (SA) จะพบบริเวณรอยต่อระหว่างหลอดเลือด superior vena cava (SVC) และหัวใจห้องบนขวา (RA) มีลักษณะเป็นก้อนคล้ายกระสวยยาว ประกอบด้วยกล้ามเนื้อที่ดัดแปลงไปจากเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ โดยจะมีขนาดของเซลล์ เล็กกว่า และมีจำนวน myofibril ใน cytoplasm น้อยกว่า จึงทำให้ cytoplasm ของเซลล์มีลักษณะใส (รูปที่ 1A-F) ภายใน SA node มีหลอดเลือดมาเลี้ยง ชื่อ nodal artery

Atrioventricular node (AV node) มีลักษณะเป็นก้อนกลมหรือรี พบที่ส่วนล่างของผนังกันระหว่างหัวใจห้องบนทั้ง 2 ห้อง (interatrium septum) และขอบบนของผนังกันระหว่างหัวใจห้องล่างทั้ง 2 ห้อง (interventricular septum) เซลล์ของ AV node มีขนาดของเซลล์ ขนาดเล็กกว่าเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจโดยทั่วไป และมีจำนวน myofibril ใน cytoplasm น้อยกว่า จึงทำให้ cytoplasm ของเซลล์มีลักษณะใสซึ่งเป็นลักษณะเช่นเดียวกับที่พบภายใน SA node (รูปที่ 2A-F)

2. การชี้แสดงเซลล์ของ conduction system ที่เกิดการตายแบบ apoptosis

ชี้แสดงเซลล์ของ conduction system ที่เกิดการตายแบบ apoptosis ใน TG และ SD โดยใช้วิธีการที่เรียกว่า TUNET Technique (TdT-mediated DUTP – biotin nick end labeling) ถ่ายรูปเซลล์ที่เกิดการตายของเซลล์ แบบ apoptosis โดยใช้กล้อง fluorescence ร่วมกับ digital camera DP50 (Olympus) ซึ่งโดยหลักการทางการย้อมด้วย Fluorescent FragEL™ Kit นี้ Fluorescent FragEL™ TdT Labeling จะจับกับ 3'-OH ของสาย DNA fragment โดยอาศัยการทำงานของ terminal deoxynucleotidyl transferase enzyme ดังนั้นเมื่อดูด้วยกล้อง fluorescence จะเห็นนิวเคลียสของเซลล์ที่เกิดการตายแบบ apoptosis มีสีเขียวมเหลืองสว่างจ้า และนิวเคลียสมีขนาดเล็กลง (รูปที่ 3a-f และ 4a-f) อาจจะมีมองเห็นการขดกันแน่นเป็นก้อนของ (chromatin condensation) พบ apoptotic nuclei กระจายอยู่ภายใน SA node และ AV node ของ SD และ TG ทุกช่วงอายุ (รูปที่ 3A-F และ 4A-F)

3. การศึกษาปริมาณของเซลล์ของ conduction system ที่เกิดการตายแบบ apoptosis

3.1 การศึกษาปริมาณของเซลล์ของ conduction system ที่เกิดการตายแบบ apoptosis ภายใน SA node

พบว่าจำนวนของ apoptotic nuclei/mm² ในหนู TG อายุ 2 วัน (1.48 ± 0.75 cell/mm²), 1 สัปดาห์ (0.66 ± 0.33 cell/mm²) และ 2 สัปดาห์ (0.13 ± 0.07 cell/mm²) มากกว่าหนู SD ในช่วงอายุเดียวกัน (2 วัน = 0.77 ± 0.60 cell/mm², 1 อาทิตย์ = 0.14 ± 0.22)

cell/mm², 2 อาทิตย์ = 0.04±0.07 cell/mm²) อย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) นอกจากนี้จำนวนของ apoptotic nuclei ของหนู TG และ SD ลดลงเมื่อหนูมีอายุมากขึ้น (รูปที่ 5)

3.2 การศึกษาปริมาณของเซลล์ของ conduction system ที่เกิดการตายแบบ apoptosis ภายใน AV node

พบว่าจำนวนของ apoptotic nuclei/mm² ในหนู TG อายุ 2 วัน (5.27±2.60 cell/mm²), 1 สัปดาห์ (2.23±0.08 cell/mm²) และ 2 สัปดาห์ (0.43±0.11 cell/mm²) มากกว่าหนู SD ในช่วงอายุเดียวกัน 2 วัน (2.68±2.96 cell/mm²), 1 สัปดาห์ (0.26±0.4 cell/mm²) และ 2 สัปดาห์ (0.16±0.12 cell/mm²) อย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) (รูปที่ 6) นอกจากนี้จำนวนของ apoptotic/mm² ทั้งหนู TG และ SD ลดลงเมื่อหนูมีอายุมากขึ้น

การศึกษาปริมาณ AT₁ receptors ภายใน SA node และ AV node

4.1 ผลการย้อมโดยใช้ Immunocytochemistry technique ร่วมการใช้ AT₁ receptor antibody และดูด้วยกล้อง confocal laser scanning

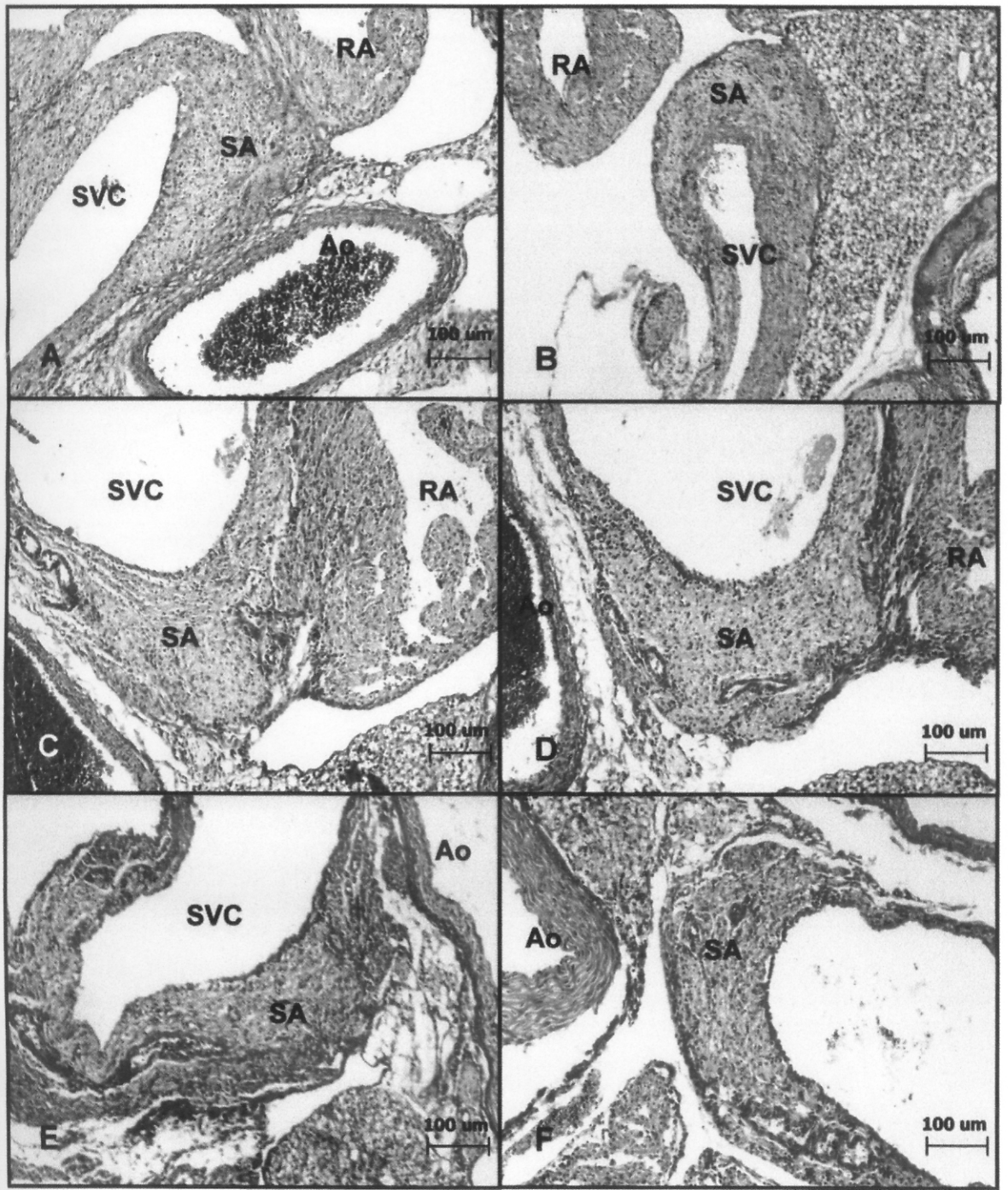
พบว่า AT₁ receptors มีลักษณะเป็นจุดสว่างสีเขียวอ่อนกระจายอยู่ทั่วไปทั้งภายใน SA node และ AV node (รูปที่ 7a-f และ 8 a-f) หนู SD และ TG อายุ 2 วัน AT₁ receptors ภายใน SA node กระจายอยู่อย่างหนาแน่นและมีปริมาณลดลงเมื่อมีอายุมากขึ้น (รูปที่ 7 A-F) ในขณะที่ภายใน AV node หนู SD และ TG อายุ 2 วัน มี AT₁ receptors กระจายอยู่ในปริมาณน้อย และมีจำนวนมากขึ้นเมื่อหนูมีอายุมากขึ้น (รูปที่ 8 A-F)

4.2 ผลการศึกษาปริมาณ AT₁ receptors ต่อพื้นที่ (mm²) ภายใน SA node

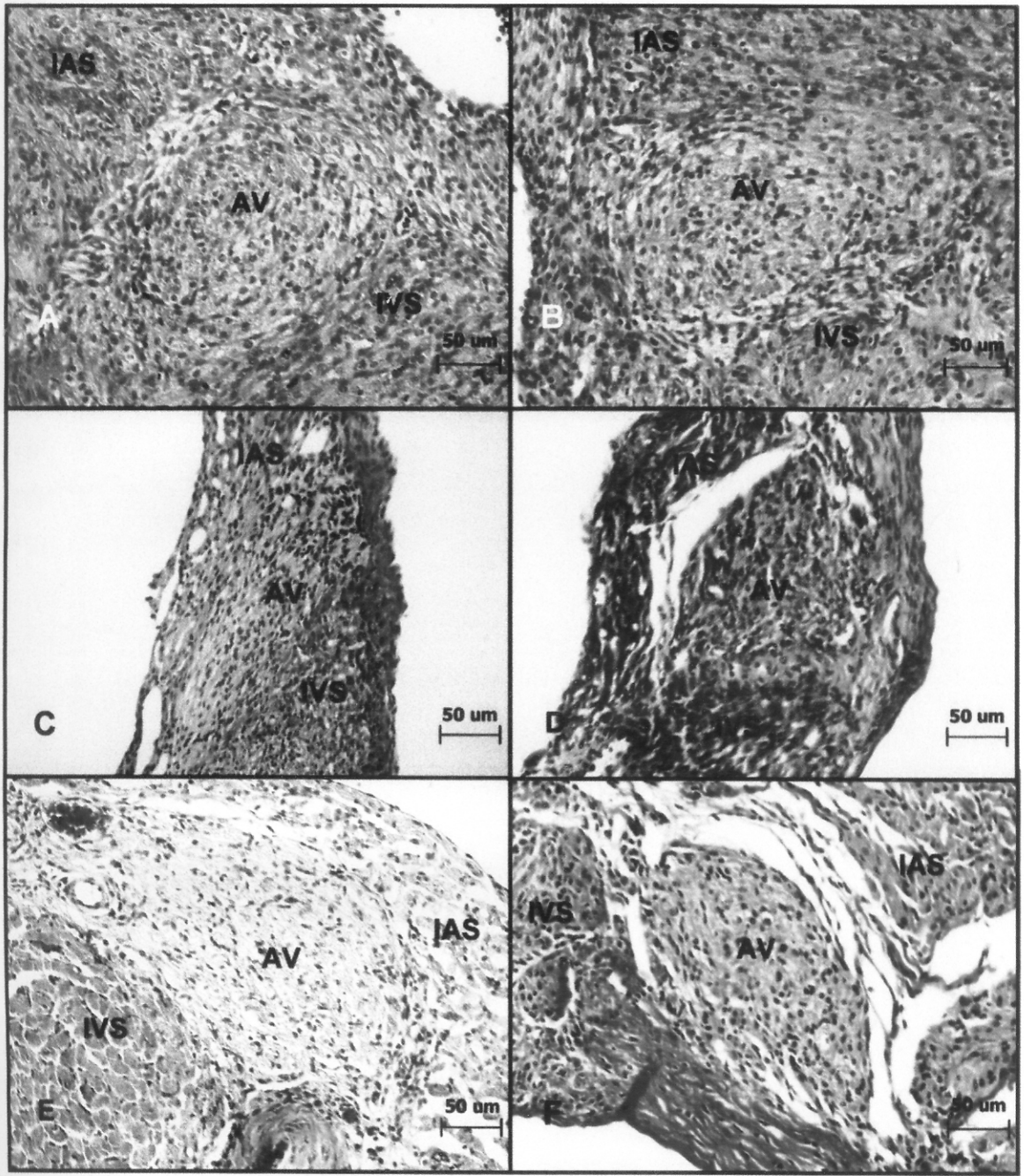
พบว่าจำนวนของ receptors ต่อพื้นที่ (mm²) ในหนู TG อายุ 2 วัน (14.05±2.05 ×10³ receptors/mm²), 1 สัปดาห์ (7.42±1.32×10³ receptors/mm²) และ 2 สัปดาห์ (1.67±0.26 ×10³ receptors/mm²) มากกว่าหนู SD ในช่วงอายุเดียวกัน (2 วัน = 7.05 ± 1.14 × 10³ receptors/mm², 1 สัปดาห์ = 2.92 ± 0.67 ×10³ receptors /mm² และ 2 สัปดาห์ = 1.14 ± 0.17×10³ receptors/mm²) อย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) (รูปที่ 9) นอกจากนี้จำนวนของ receptors ต่อพื้นที่ (mm²) ลดลงเมื่อหนูมีอายุมากขึ้น

4.3 ผลการศึกษาปริมาณ AT₁ receptors ต่อพื้นที่ (mm²) ภายใน AV node

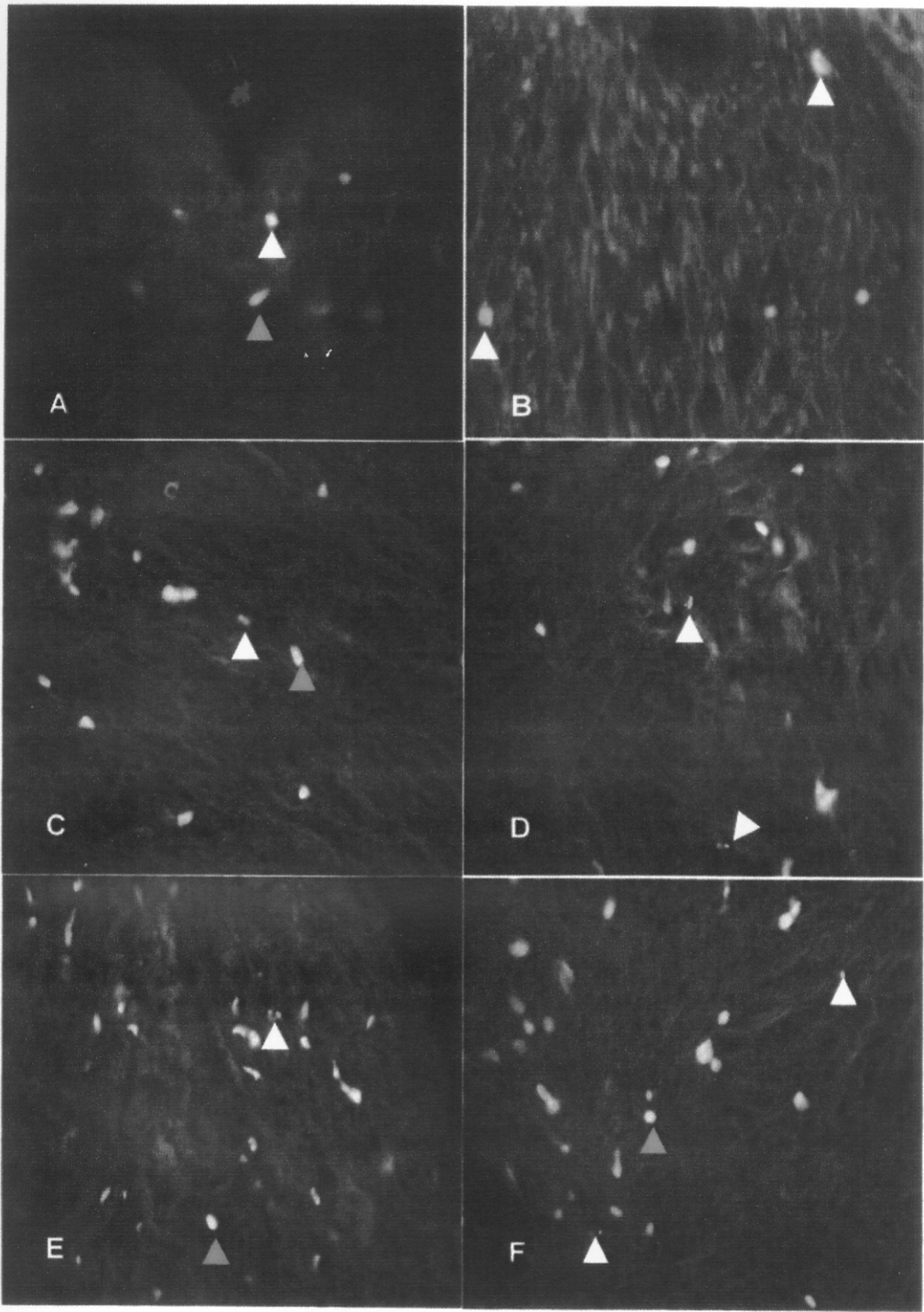
พบว่าจำนวนของ receptors ต่อพื้นที่ (mm²) ในหนู TG อายุ 2 วัน (5.26±1.60×10³ receptors/mm²), 1 สัปดาห์ (12.13±2.03×10³ receptors/mm²) และ 2 สัปดาห์ (12.50±3.97×10³ receptors/mm²) มากกว่าหนู SD ในช่วงอายุเดียวกัน (2 วัน = 2.61±0.49×10³ receptor/mm²), 1 สัปดาห์ = 5.37±1.20×10³ receptors/mm² และ 2 สัปดาห์ 7.63±1.91×10³ recptor/mm²) อย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) (รูปที่ 10) นอกจากนี้จำนวนของ receptors ต่อพื้นที่ (mm²) เพิ่มขึ้นเมื่อหนูมีอายุมากขึ้น



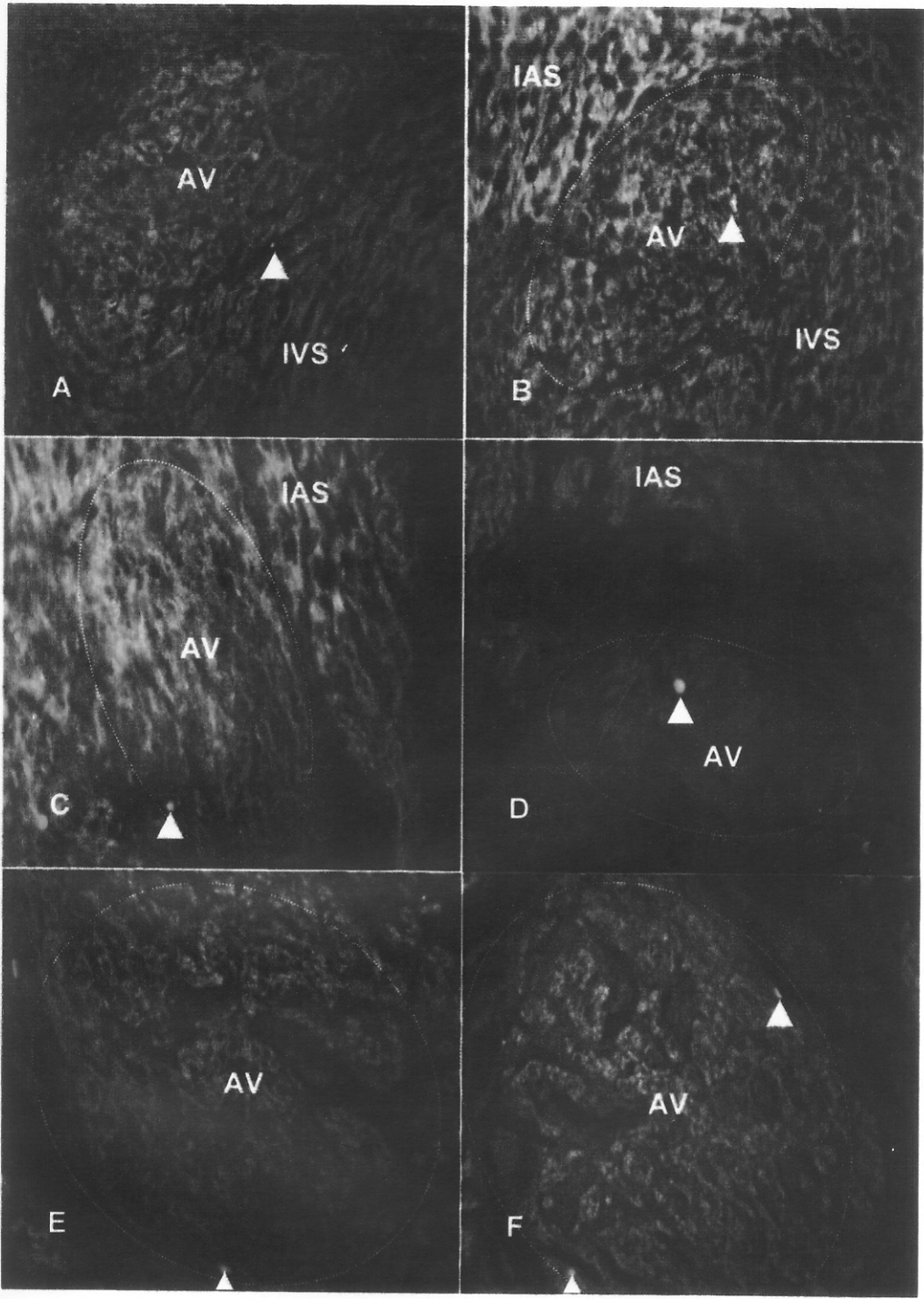
รูปที่ 1 A-F แสดงตำแหน่งของ sinoatrial node (SA) ของหัวใจหนูแต่ละกลุ่ม (A) หนู SD อายุ 2 วัน (B) หนู TG อายุ 2 วัน (C) หนู SD อายุ 1 สัปดาห์ (D) หนู TG อายุ 1 สัปดาห์ (E) หนู SD อายุ 2 สัปดาห์ (F) หนู TG อายุ 2 สัปดาห์ ย้อมโดยใช้ Masson's Trichrome SVC: superior vena cava, RA: right atrium, Ao: Aorta



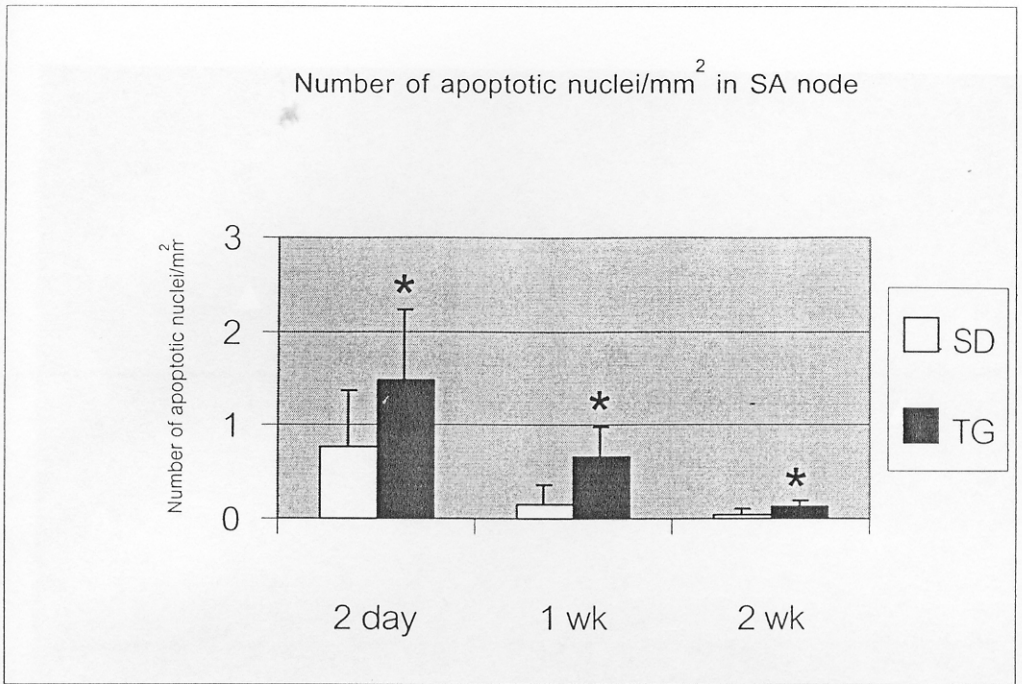
รูปที่ 2 A-F แสดงตำแหน่งของ atrioventricular node (AV) ของหัวใจหนูแต่ละกลุ่ม (A) หนู SD อายุ 2 วัน (B) หนู TG อายุ 2 วัน (C) หนู SD อายุ 1 สัปดาห์ (D) หนู TG อายุ 1 สัปดาห์ (E) หนู SD อายุ 2 สัปดาห์ (F) หนู TG อายุ 2 สัปดาห์ ย้อมโดยใช้ Masson's Trichrome IAS: interatrium septum IVS: interventricular septum,



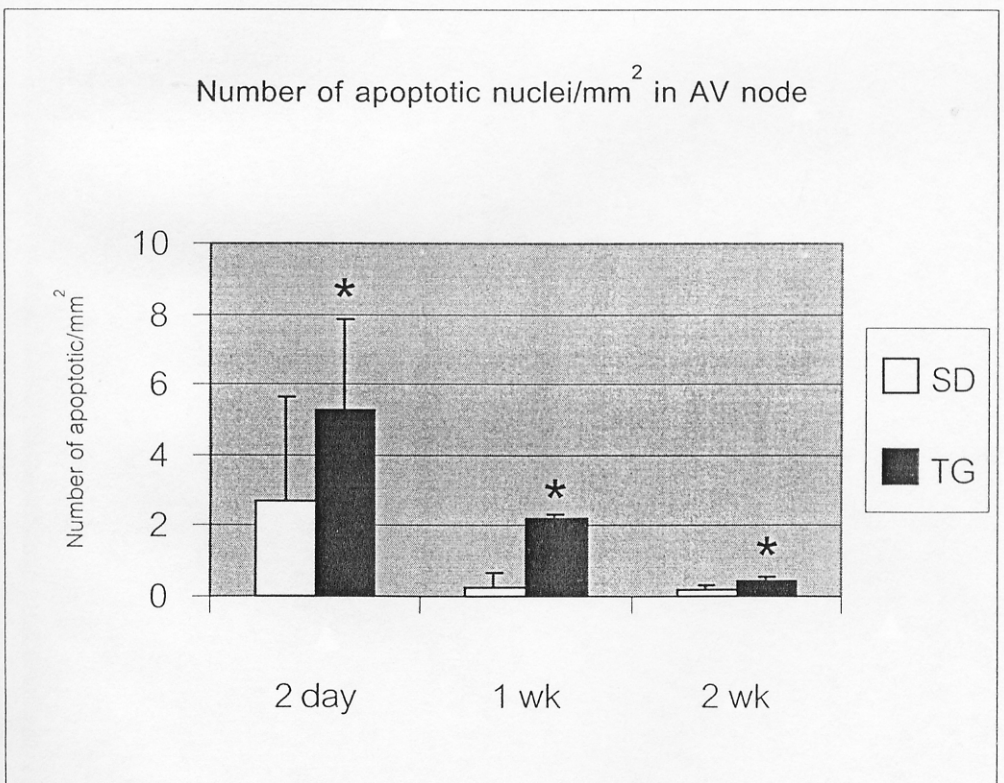
รูปที่ 3A-F แสดง apoptotic nuclei (ลูกศรสีขาว) ภายใน sinoatrial node (SA) ของหัวใจหนูแต่ละกลุ่ม (A) หนู SD อายุ 2 วัน (B) หนู TG อายุ 2 วัน (C) หนู SD อายุ 1 สัปดาห์ (D) หนู TG อายุ 1 สัปดาห์ (E) หนู SD อายุ 2 สัปดาห์ (F) หนู TG อายุ 2 สัปดาห์ , เม็ดสีเหลืองกระจายอยู่ทั่วไป = เม็ดเลือดแดง กำลังขยาย = 400



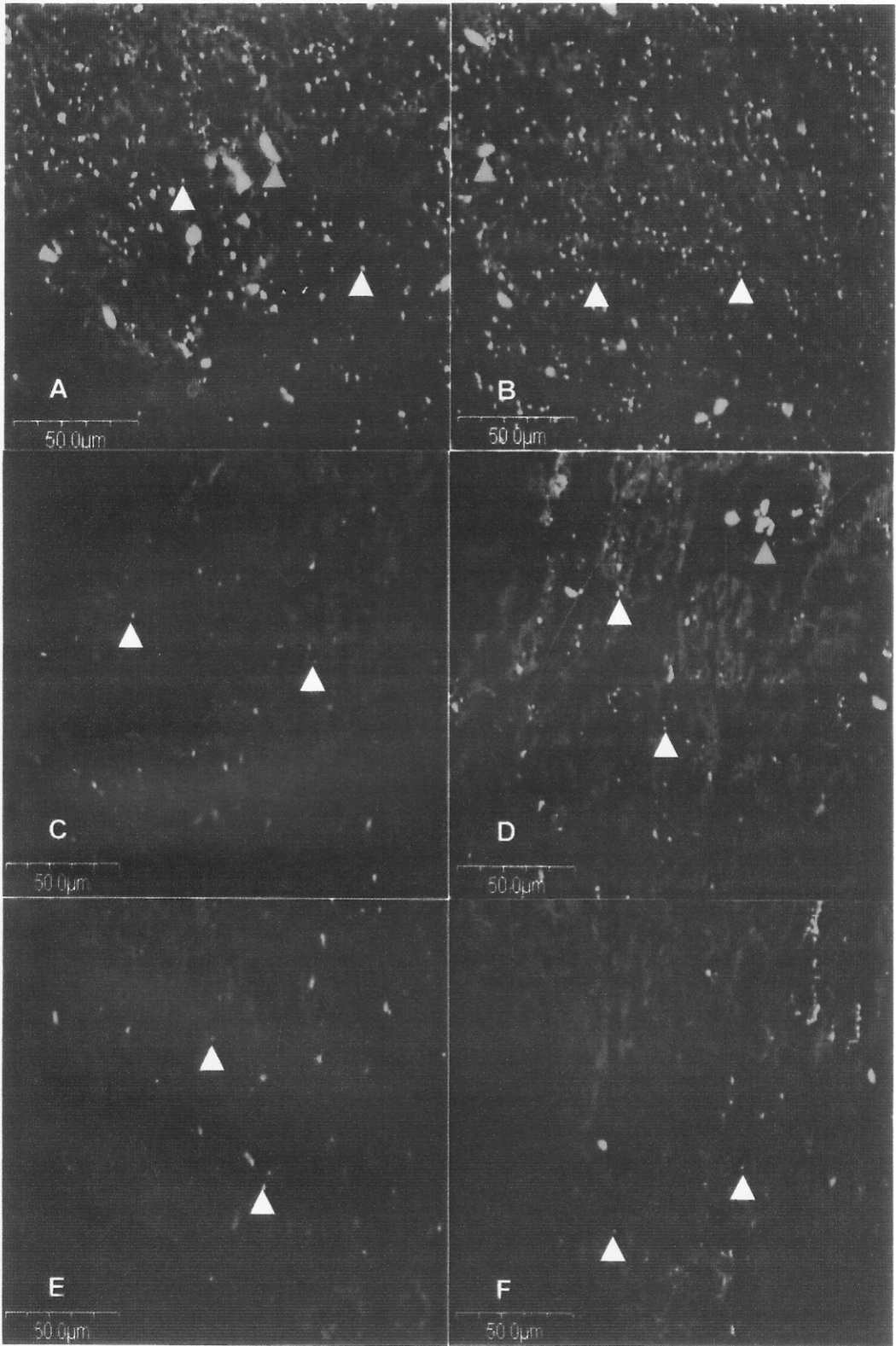
รูปที่ 4A-F แสดง apoptotic nuclei (ลูกศรสีขาว) ภายใน atrioventricular node (AV) ของหัวใจหนูแต่ละกลุ่ม (A) หนู SD อายุ 2 วัน (B) หนู TG อายุ 2 วัน (C) หนู SD อายุ 1 สัปดาห์ (D) หนู TG อายุ 1 สัปดาห์ (E) หนู SD อายุ 2 สัปดาห์ (F) หนู TG อายุ 2 สัปดาห์ กำลังขยาย = 400 IAS: interatrium septum IVS: interventricular septum,



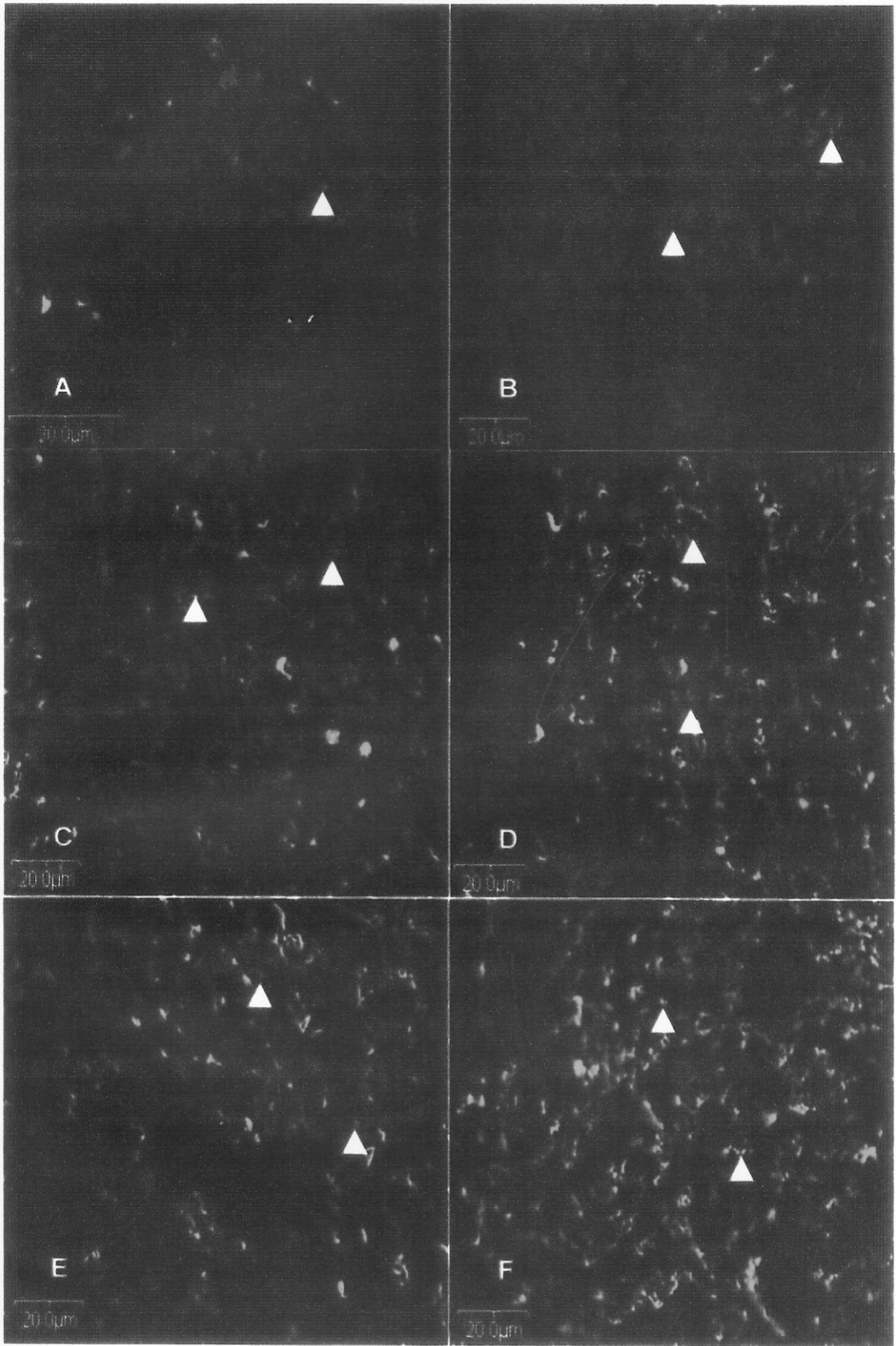
รูปที่ 5 แสดงจำนวนของ apoptotic nuclei ต่อพื้นที่ (mm²) ภายใน SA node n = 6, unpaired T-test, * = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p < 0.05)



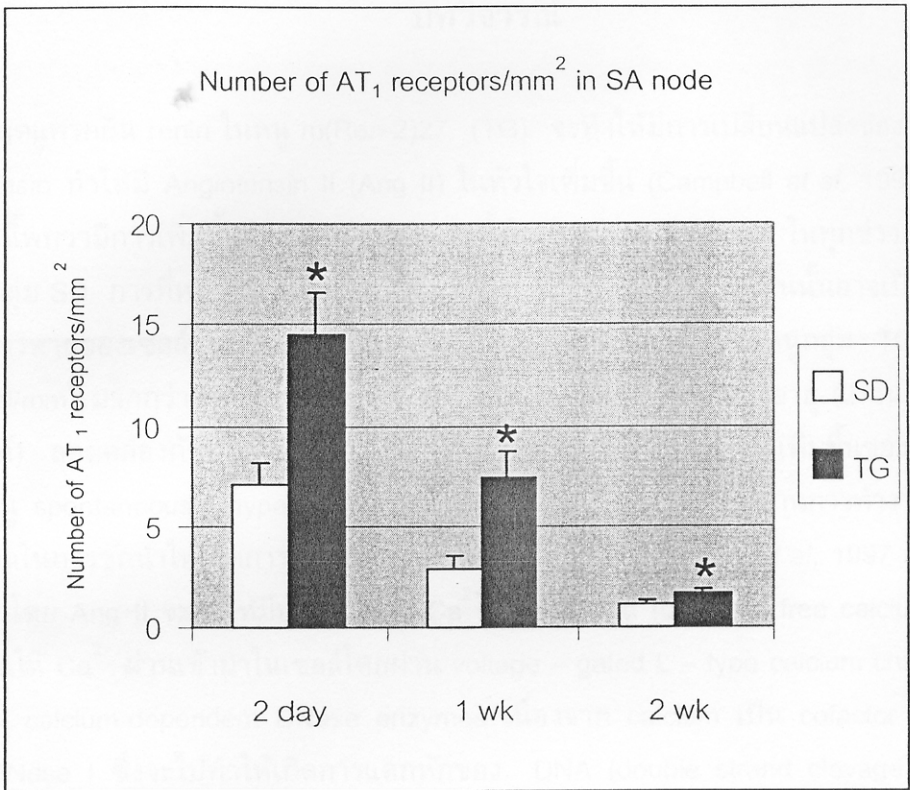
รูปที่ 6 แสดงจำนวนของ apoptotic nuclei ต่อพื้นที่ (mm²) ภายใน AV node n = 6, unpaired T-test, * = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p < 0.05)



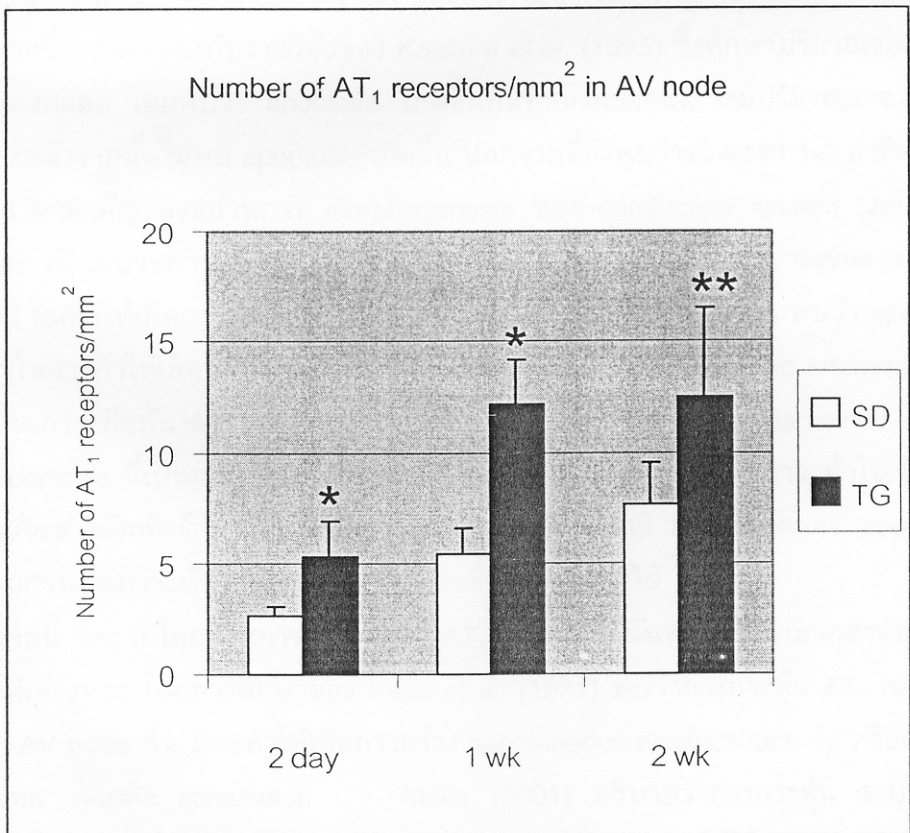
รูปที่ 7A-F แสดง AT_1 receptors (ลูกศรสีขาว) ภายใน sinoatrial node (SA) ของหัวใจหนูแต่ละกลุ่ม (A) หนู SD อายุ 2 วัน (B) หนู TG อายุ 2 วัน (C) หนู SD อายุ 1 สัปดาห์ (D) หนู TG อายุ 1 สัปดาห์ (E) หนู SD อายุ 2 สัปดาห์ (F) หนู TG อายุ 2 สัปดาห์ ลูกศรสีฟ้า= เม็ดเลือดแดง



รูปที่ 8A-F แสดง AT₁ receptors (ลูกศรสีขาว) ภายใน atrioventricular node (AV) ของหัวใจหนูแต่ละกลุ่ม (A) หนู SD อายุ 2 วัน (B) หนู TG อายุ 2 วัน (C) หนู SD อายุ 1 สัปดาห์ (D) หนู TG อายุ 1 สัปดาห์ (E) หนู SD อายุ 2 สัปดาห์ (F) หนู TG อายุ 2 สัปดาห์



รูปที่ 9 แสดงจำนวนของ AT₁ receptors ต่อพื้นที่ (mm²) ภายใน SA node n = 6, unpaired T-test, * = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p < 0.05)



รูปที่ 10 แสดงจำนวนของ AT₁ receptors ต่อพื้นที่ (mm²) ภายใน AV node n = 6, unpaired T-test, * = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p < 0.05) **แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p < 0.01)