

รหัสโครงการ: MRG4580045

ชื่อโครงการ: บทบาทของแฟกเตอร์ XIII เกี่ยวกับการเกิดลิ่มเลือดในหัวใจห้องบนซ้ายของ

ผู้ป่วยโรคลิ้นหัวใจไมตรัลตีบ

นักวิจัย: ผศ. ดร. นันทรัตน์ โฆมานะสิน คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

E-mail: nankom@kku.ac.th

systemic thromboembolism เป็นภาวะแทรกซ้อนที่สำคัญของผู้ป่วยลิ้นหัวใจไมตรัลตีบ (mitral stenosis) ซึ่งเป็นผลมาจากมีการสร้างลิ่มเลือดในหัวใจห้องบนซ้าย [left atrial thrombus (LAT) formation] มีรายงานว่า LAT มีความสัมพันธ์กับภาวะการแข็งตัวของเลือดมากผิดปกติ (hypercoagulable state) ในหัวใจห้องบนซ้าย ซึ่งยังไม่มีหลักฐานที่แน่ชัดว่าเป็นปัจจัยการแข็งตัวของเลือดชนิดใด และเนื่องจากแฟกเตอร์ XIII (FXIII) ทำหน้าที่ในการเชื่อมข้ามระหว่างไฟบรินทำให้ลิ่มเลือดแข็งแรงและทนต่อการถูกย่อยด้วยพลาสมิน ในการวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาบทบาทของ FXIII ในการเกิดลิ่มเลือดและลักษณะโครงสร้างของลิ่มเลือดในหัวใจห้องบนซ้าย โดยการเจาะเลือดจากหัวใจห้องบนซ้ายและบนขวาของผู้ป่วยลิ้นหัวใจไมตรัลตีบ ในขณะที่เข้ารับขยายลิ้นหัวใจไมตรัลโดยใช้บอลลูนผ่านทางผิวหนัง (percutaneous balloon mitral valvuloplasty; PBMV) ที่ศูนย์หัวใจสิริกิติ์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2546 ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2547 จำนวน 35 ราย เป็นเพศชาย 9 ราย เพศหญิง 26 ราย แล้วประเมินการสลายลิ่มเลือดและการละลายลิ่มเลือดโดยการตรวจวัดความเข้มข้นของ thrombin-antithrombin complex (TAT) และ D-dimer ด้วยวิธี ELISA จากชุดน้ำยาสำเร็จรูป Enzygnost (Dade Behring) และ ASSERACHROM[®] D-Di (Stago) ตามลำดับ ตรวจวัดแอกติวิตีของ FXIII ด้วยวิธี biotin incorporation และตรวจวิเคราะห์โครงสร้างของลิ่มเลือดโดยทดสอบคุณสมบัติของลิ่มเลือดในการยอมให้บัฟเฟอร์ไหลผ่าน (permeation analysis) แล้วคำนวณเป็นค่า Darcy constant (Ks) และ fibre mass-length ratio (μ) นอกจากนี้ยังตรวจหาโพลีมอร์ฟิซึม FXIII Val34Leu ด้วยวิธี polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) โดยใช้เอนไซม์ DdeI 2 units/ปฏิกิริยา ผลการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นของ TAT และ D-dimer ในหัวใจห้องบนซ้ายและบนขวาเท่ากับ 74.01 vs 27.39 $\mu\text{g/l}$ และ 771.18 vs 436.20 ng/l ตามลำดับ โดยความเข้มข้นในหัวใจห้องบนซ้ายสูงกว่าห้องบนขวาย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) แอกติวิตีของ FXIII สูงขึ้นทั้งในหัวใจห้องบนซ้ายและบนขวา โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 133.89 และ 132.10% ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างระหว่างหัวใจทั้งสองห้อง ($p > 0.05$) โครงสร้างของลิ่มเลือดที่เตรียมจากเลือดที่เจาะจากหัวใจห้องบนขวามีลักษณะแน่นกว่าลิ่มเลือดที่เตรียมจากเลือดที่เจาะจากหัวใจห้องบนซ้าย โดยมีค่าเฉลี่ยของ Ks ในหัวใจห้องบนซ้ายและบนขวาเท่ากับ 7.86×10^{-9} และ $6.55 \times 10^{-9} / \text{cm}^2$ ตามลำดับ โดย Ks ในหัวใจห้องบนซ้ายสูงกว่าหัวใจห้องบนขวาย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.014$) สำหรับค่าเฉลี่ยของ μ เท่ากับ 10.25×10^{13} และ 8.99×10^{13} Da/g

ตามลำดับ โดยค่าในหัวใจห้องบนซ้ายสูงกว่าหัวใจห้องบนขวาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.012$) สำหรับความถี่จีโนไทป์ของโพลีมอร์ฟิซึมของ FXIII Val34Leu ในกลุ่มควบคุม จำนวน 204 ราย และกลุ่มผู้ป่วย 35 รายไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยมีความถี่ของจีโนไทป์ Val/Val, Val/Leu และ Leu/Leu เท่ากับ 97.55 vs 96.88, 2.45 vs 3.12 และ 0 vs 0% ตามลำดับ และความถี่อัลลีล Val และ Leu ในอาสาสมัครทั้งสองกลุ่มเท่ากับ 0.98 vs 0.99 และ 0.02 vs 0.01 ตามลำดับ จากผลการศึกษาที่ได้จะเห็นได้ว่าการกระตุ้นให้มีการสร้าง thrombin และการละลายลิ่มเลือดเพิ่มมากขึ้นในหัวใจห้องบนซ้ายมากกว่าในหัวใจห้องบนขวา ซึ่งอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดลิ่มเลือดในหัวใจห้องบนซ้าย แต่ลักษณะโครงสร้างของลิ่มเลือดในหัวใจห้องบนขวามีลักษณะแน่นกว่าในห้องบนซ้ายซึ่งไม่สอดคล้องกับการพบที่มีการสร้าง thrombin เพิ่มมากกว่าในหัวใจห้องบนขวา สำหรับ FXIII อาจไม่มีบทบาทที่สำคัญในการทำให้เกิด LAT เนื่องจากแอกติวิตีในหัวใจทั้งสองห้องไม่แตกต่างกัน

คำรหัส: ลิ่มหัวใจไมตรัลตีบ, แฟกเตอร์ XIII, clot structure

Project code: MRG4580045

Project title: Role of factor XIII in left atrial thrombus formation in patients with mitral stenosis

Investigator: Asst. Prof. Dr. Nantarat Komanasin, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

E-mail: nankom@kku.ac.th

Thromboembolism is a major complication in mitral stenosis (MS). Recent evidence suggested the increase in regional left atrial coagulation activity in MS which may contribute to the pathophysiology of left atrial thrombus (LAT). However, the relation of left atrial coagulation activity to factors that predispose to LAT formation is unknown. Since FXIII play a vital role in cross-linking fibrins to strengthen the fibrin clot, it may be one of the factors that alter the clot structure and contribute to LAT formation. Therefore, the roles of FXIII and clot structure in the formation of LAT were investigated in the present study. Blood samples were collected from left and right atria of 35 patients (9 males and 26 females) with MS attended the Sirikit Heart Centre, Khon Kaen University for percutaneous balloon mitral valvuloplasty (PBMV). Thrombin-antithrombin complex (TAT) and D-dimer were measured to evaluate thrombin generation using commercial ELISA kits; Enzygnost (Dade Behring) and ASSERACHROM[®] D-Di (Stago), respectively. FXIII activity was carried out by biotin incorporation assay. Permeation properties of clots were performed and the Darcy constant (Ks) was calculated from the flow rate of buffer through the clots. Fibre mass-length ratio (μ) was also calculated from clot permeation analysis. As the FXIII Val34Leu polymorphism affects the FXIII activity, the polymorphism was conducted by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) using 2 units/reaction of *DdeI* to digest the PCR products. Genotyping of the polymorphism was also carried out in 204 normal healthy volunteers. The significant difference in genotype distribution between the healthy volunteers and the patients was not found (Val/Val, Val/Leu and Leu/Leu = 97.55 vs 96.88, 2.45 vs 3.12 and 0 vs 0%, respectively) and the allele frequencies of Val and Leu in both group were 0.98 vs 0.99 and 0.02 vs 0.01, respectively. TAT and D-dimer concentrations were elevated in the left and right atrial and the significantly higher concentrations were demonstrated in the left atrium: 74.01 vs 27.39 μ g/l and 771.18 vs 436.20 ng/l, respectively ($p < 0.001$). FXIII activity was also increased in both atrial but the significant difference was not found:

133.89 and 132.10%, respectively ($p>0.05$). The K_s in the left atrium was significantly higher than that in the right atrium: 7.86×10^{-9} and $6.55 \times 10^{-9} / \text{cm}^2$, respectively ($p=0.014$). Accordingly, the fibre mass-length ratio in the left atrium was significantly increased compared to the right atrium: 10.25×10^{13} and 8.99×10^{13} Da/g, respectively ($p=0.012$). These results indicate the more rigid clot structure in the right atrium which was not in accordance with the increased thrombin generation in the left atrium as shown by the increase in TAT and D-dimer concentrations. Moreover, FXIII is unlikely to play a role in the formation of thrombus in the left atrium.

Keywords: mitral stenosis, factor XIII, clot structure