

โพลีมอร์ฟิซึมของจีน ADAMTS13 (Pro618Ala) และความสัมพันธ์กับโรคหลอดเลือดหัวใจในคนไทย

ศุภกัญญา ลาสม^{1,2}, บัณฑิตน์ โบรมานะสิน^{2,3*}, นงนุช เศรษฐเสถียร^{2,4},
ชาตรี เศรษฐเสถียร^{2,5}, ยุพา คู่คงวิริยพันธุ์^{2,6}, พงษ์ศักดิ์ อินทรเพชร^{2,7}, เกษม ตันติพาณิชธีระกุล^{2,7},
วิชัย เส้นทอง^{2,7}, ปิยทัศน์ ทัศนาววิวัฒน์^{2,8}

บทคัดย่อ

A disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13 (ADAMTS13) เป็นเอนไซม์ในกลุ่มเมทัลโลโปรตีเอส (metalloprotease) ทำหน้าที่ในการตัดย่อย วอน วิลเล็แบรนด์แฟกเตอร์ (von Willebrand factor; vWF) ที่มีขนาดใหญ่ให้มีความเหมาะสมต่อการทำงานในกระบวนการห้ามเลือด ในปัจจุบันมีรายงานการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมจำนวนมากบนจีน ADAMTS13 และมีรายงานว่าโพลีมอร์ฟิซึม ADAMTS13 Pro618Ala มีความสัมพันธ์กับการลดลงของแอ็กติวิตีของ ADAMTS13 ซึ่งอาจเป็นปัจจัยอย่างหนึ่งที่เพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะหลอดเลือดอุดตันจากลิ่มเลือดและอาจมีผลต่อโรคหลอดเลือดหัวใจได้ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความถี่ของโพลีมอร์ฟิซึม ADAMTS13 Pro618Ala กับโรคหลอดเลือดหัวใจในคนไทย โดยตรวจหาโพลีมอร์ฟิซึมนี้ด้วยวิธี polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) ในประชากรไทยจำนวน 340 ราย แบ่งเป็นอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีจำนวน 117 ราย ผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจจำนวน 126 ราย และผู้ป่วยที่ไม่เป็นโรคหลอดเลือดหัวใจจำนวน 97 ราย ผลการศึกษาพบว่าในอาสาสมัครทั้งหมดมีความถี่ของอัลลีล Pro และ Ala เท่ากับร้อยละ 98.68 และ 1.32 ตามลำดับโดยในกลุ่มอาสาสมัครสุขภาพดี กลุ่มควบคุมที่ไม่เป็นโรคหลอดเลือดหัวใจและกลุ่มผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจ มีความถี่ของอัลลีล Pro/Pro และ Pro/Ala เท่ากับร้อยละ 98.29 vs. 1.71, ร้อยละ 100 vs. 0 และร้อยละ 94.44 vs. 5.56 ตามลำดับ พบว่าความถี่ของอัลลีล Pro/Ala ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจและกลุ่มควบคุมที่ไม่เป็นโรคหลอดเลือดหัวใจ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.028$) การศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกที่รายงานถึงความชุกของโพลีมอร์ฟิซึม ADAMTS13 Pro618Ala ในคนไทย และจากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าโพลีมอร์ฟิซึม ADAMTS13 Pro618Ala อาจมีความสัมพันธ์กับโรคหลอดเลือดหัวใจในคนไทย อย่างไรก็ตาม เนื่องจากความถี่ของอัลลีล Ala ค่อนข้างต่ำและกลุ่มประชากรที่ศึกษามีขนาดเล็ก จึงควรทำการศึกษาเพิ่มเติมในกลุ่มประชากรที่มีขนาดใหญ่ขึ้น

คำสำคัญ: โรคหลอดเลือดหัวใจ, โพลีมอร์ฟิซึม ADAMTS13

¹ นักศึกษาบัณฑิตศึกษา สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์

² กลุ่มวิจัยหัวใจและหลอดเลือด ³ กลุ่มวิชาจุลทรรศน์คลินิก และ ⁴ กลุ่มวิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

⁵ ภาควิชาพยาธิวิทยา และ ⁶ ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

⁷ ศูนย์หัวใจสิริกิติ์ ภาควิชาอายุรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

⁸ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

* ผู้รับผิดชอบบทความ

Polymorphism of ADAMTS13 gene (Pro618Ala) in Thais and its association with coronary artery disease

Supakanya Lasom^{1,2}, Nantarat Komanasin^{2,3*}, Nongnuch Settasatian^{2,4}, Chatri Settasatian^{2,5},
Upa Kukongwiriyan^{2,6}, Pongsak Intharapetch^{2,7}, Kasem Tantipanichtheerakul^{2,7},
Vichai Senthong^{2,7}, Pyatat Tatsanavivat^{2,8}

Abstract

A disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13 (ADAMTS13) is a metalloproteinase enzyme cleaving highly active ultralarge von Willebrand factor (vWF) multimers into the smaller size and less active vWF. It has been shown in *in vitro* study that ADAMTS13 gene (Pro618Ala) polymorphism is associated with profound reduced ADAMTS13 activity. Thus, it has been hypothesized that low levels of ADAMTS13 may be a risk factor for arterial thrombosis and may influence coronary artery disease (CAD). This study therefore aims to investigate the frequency and association of ADAMTS13 Pro618Ala polymorphism with CAD in Thais. A total of 340 subjects were recruited in this study, 117 healthy controls and 223 patients who were clinically suspected of having CAD undergoing coronary angiography at Queen Sirikit Heart Center of the Northeast Hospital, Khon Kaen University. Based on angiographic results, 126 patients were classified as CAD and 97 patients were non-CAD. The ADAMTS13 P618A polymorphism was determined in genomic DNA extracted from leukocytes using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) technique. The frequencies of Pro and Ala allele in all subjects were 98.68 and 1.32 % respectively. The genotype frequencies of Pro/Pro and Pro/Ala in healthy controls, non-CAD and CAD were 98.29 vs. 1.71 %, 100 vs. 0 % and 94.44 vs. 5.56 %, respectively. Significant differences of genotype distributions of Pro/Ala were found in CAD compared to non-CAD group ($P = 0.028$). In conclusion, this study is the first report of the genotype distributions of the ADAMTS13 Pro618Ala polymorphism in Thais and suggested that it seems to be associated with coronary artery disease. However, due to a low frequency of the Ala allele in this population, a larger population should be required in further study.

Keywords: Coronary artery disease, ADAMTS13 gene, Polymorphism

¹ Postgraduate student in Medical Science, Faculty of Associated Medical Sciences,

² Cardiovascular Research Group, ³ Department of Clinical Microscopy and

⁴ Department of Clinical of Chemistry, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University,

⁵ Department of Pathology and ⁶ Department of Physiology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University,

⁷ Queen Sirikit Heart Center of the Northeast Hospital, Khon Kaen University,

⁸ Department of Medicine, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

* Corresponding author (e-mail: nankom@kku.ac.th)

บทนำ

โรคหลอดเลือดหัวใจ (coronary artery disease; CAD) เป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิตของประชากรในแถบประเทศตะวันตกและเป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับต้นๆ ของประชากรในประเทศไทย⁽¹⁾ ปัจจุบันพบว่าอัตราการป่วยเป็น CAD นั้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี โดยโรคนี้เกิดจากหลายปัจจัยร่วมกันทำให้เกิดพยาธิสภาพที่ผนังหลอดเลือด และนำไปสู่พยาธิสภาพต่างๆ ของ CAD ซึ่งปัจจัยเสี่ยงที่เป็นสาเหตุการเกิดโรคมียังปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม ได้แก่ อายุ เพศ การสูบบุหรี่ ภาวะไขมันในเลือดสูง ความดันโลหิตสูง ขาดการออกกำลังกาย ความเครียด และปัจจัยทางพันธุกรรมร่วมกัน⁽²⁾

เกล็ดเลือดเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการห้ามเลือดโดยการสร้างลิ่มเกล็ดเลือด ที่เกิดจากการเกาะติด การเกาะกลุ่ม และหลั่งสารของเกล็ดเลือด ซึ่งปัจจัยการแข็งตัวของเลือดที่มีบทบาทสำคัญในการเกาะติดและเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด คือ วอนวิลเล็บบรานด์แฟกเตอร์ (von Willebrand factor; vWF) ซึ่งเป็นไกลโคโปรตีนในพลาสมาที่ถูกสร้างจากเซลล์เอนโดทีเลียมและเมกาคาริโอไซต์ (megakaryocyte)⁽³⁾ ในรูปของ ultralarge-vWF multimer (UL-vWF) ซึ่งมีโมเลกุลขนาดใหญ่และสามารถจับกับเกล็ดเลือดได้มากกว่าปกติ ดังนั้นเมื่อ UL-vWF ถูกปล่อยเข้าสู่กระแสเลือดก็จะถูกย่อยโดยเอนไซม์ A Disintegrin And Metalloproteinase with a Thrombospondin type 1 motif, member 13 (ADAMTS13) เพื่อให้มีขนาดเล็กลงและทำให้เกิดลิ่มเลือดในปริมาณที่เหมาะสม⁽⁴⁾ ซึ่ง ADAMTS13 เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม metalloprotease ทำหน้าที่ตัดย่อยพันธะเปปไทด์ระหว่างกรดอะมิโน tyrosine (Tyr) ที่ตำแหน่งที่ 1605 และกรดอะมิโน methionine (Met) ที่ตำแหน่งที่ 1606 ในโดเมน A2 ของ vWF⁽⁵⁾ หากเกิดภาวะพร่อง ADAMTS13 หรือมีแอกทิวิตีลดลง จะส่งผลให้เกิดการสะสมของ UL-vWF ที่มากผิดปกติในพลาสมาและนำไปสู่การเกิดภาวะหลอดเลือดอุดตันจากลิ่มเลือดในระบบการไหลเวียนเลือดในหลอดเลือดขนาดเล็ก (microcirculation)⁽⁶⁾ และอาจเป็นปัจจัยเสี่ยงอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดภาวะหลอดเลือดแดงอุดตันจากลิ่มเลือดได้เช่นกัน จากการศึกษาต่างๆ พบว่าการลดลงของแอกทิวิตีของ ADAMTS13 ร่วมกับการเพิ่มปริมาณของ vWF มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular disease)⁽⁷⁾ unstable angina⁽⁸⁾ กล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด

เฉียบพลัน (acute myocardial infarction; AMI)⁽⁹⁻¹¹⁾ CAD⁽¹²⁾ โรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ เช่น โรคตับ โรคไตวายเรื้อรัง การติดเชื้อในกระแสเลือด และ connective tissue disease⁽¹³⁻¹⁶⁾ เป็นต้น รวมทั้งยังส่งเสริมให้เกิดการอักเสบซึ่งเป็นพยาธิกำเนิดที่สำคัญของโรคหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิด CAD^(14, 16, 17) นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงของจีน (gene) ADAMTS13 ก็มีความสัมพันธ์กับปริมาณและแอกทิวิตีของ ADAMTS13⁽¹⁸⁾ โดยจีนที่ควบคุมการแสดงออกของ ADAMTS13 อยู่บนโครโมโซม 9q34⁽¹⁹⁾ ปัจจุบันมีรายงานการเกิดการกลายพันธุ์ (mutation) ของจีน ADAMTS13 ทั้งหมด 12 ชนิดในครอบครัวของผู้ป่วย thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP)^(19, 20) ทั้งยังมีรายงานการพบการกลายพันธุ์ชนิดใหม่อีก 2 ชนิดในผู้ป่วย TTP อีกด้วย⁽²¹⁾ นอกจากนี้ยังมีรายงานการเกิดโพลีมอร์ฟิซึมบนจีน ADAMTS13 ในประชากรทั่วไปทั้งหมด 8 ชนิด^(19, 22) ซึ่ง ADAMTS13 Pro618Ala เป็นหนึ่งในโพลีมอร์ฟิซึมที่สามารถตรวจพบและมีความสัมพันธ์กับปริมาณและแอกทิวิตีของ ADAMTS13⁽¹⁸⁾ โพลีมอร์ฟิซึมนี้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของ นิวคลีโอไทด์ตำแหน่งที่ 1852 (C1852G) ใน exon ที่ 16 ของจีน ADAMTS13 จาก cytosine (C) เป็น guanine (G) แล้วทำให้กรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 618 เปลี่ยนจาก proline (Pro) เป็น alanine (Ala) โดยพบว่าอัลลีล Ala นั้นมีความสัมพันธ์กับการลดลงของทั้งแอกทิวิตีและปริมาณของ ADAMTS13⁽¹⁸⁾ รวมทั้งการเพิ่มปริมาณของ vWF ในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดดำระดับลึกอุดตันจากลิ่มเลือด (deep vein thrombosis)⁽²³⁾ ด้วย ซึ่งการศึกษาถึงความชุกของโพลีมอร์ฟิซึม Pro618Ala ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในชาวตะวันตก และพบว่ามีความถี่ของอัลลีล Ala ประมาณร้อยละ 9.0^(19, 24, 25) จากการศึกษาของ Schettert และคณะ⁽²⁴⁾ ซึ่งศึกษาความชุกของโพลีมอร์ฟิซึมนี้ในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจเรื้อรัง พบว่ามีความถี่อัลลีล Ala เท่ากับร้อยละ 4.6 และมีความถี่จีโนไทป์ Pro/Ala เท่ากับร้อยละ 9.3

อย่างไรก็ตามในปัจจุบันการศึกษาลึกลงถึงความสัมพันธ์ระหว่าง ADAMTS13 กับ CAD ส่วนใหญ่เป็นผลการศึกษาในชาวตะวันตก อีกทั้งยังไม่มีหลักฐานที่แน่ชัดในการสนับสนุนว่าโพลีมอร์ฟิซึมของจีน ADAMTS13 มีบทบาทและส่งผลต่อความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะหลอดเลือดอุดตันจากลิ่มเลือด ดังนั้นในการศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาโพลี

มอร์ฟิซึม ADAMTS13 Pro618Ala ในประชากรไทยและศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโพลีมอร์ฟิซึมนี้กับ CAD เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการค้นหาตัวบ่งชี้เพื่อช่วยในการประเมินผลการรักษาและติดตามภาวะแทรกซ้อนที่อาจเกิดขึ้นกับผู้ป่วย CAD ต่อไป

วัสดุและวิธีการศึกษา

1. กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

อาสาสมัครในงานวิจัยนี้มีจำนวน 340 ราย แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 เป็นอาสาสมัครที่เข้ารับบริการตรวจสุขภาพที่สถานบริการสุขภาพเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จำนวน 117 ราย ที่ไม่มีภาวะความดันโลหิตสูง ไม่เป็นโรคเบาหวาน ไม่สูบบุหรี่ ไม่มีอาการแสดงของ CAD มีผลการตรวจคลื่นไฟฟ้าหัวใจปกติ มีระดับน้ำตาลในเลือดขณะอดอาหาร (fasting blood sugar; FBS) ระดับไขมันในเลือด [total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) และ high density lipoprotein-cholesterol (HDL-C)] เอนไซม์ตับ [alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) และ alkaline phosphatase (ALP)], blood urea nitrogen (BUN) และ creatinine อยู่ในเกณฑ์ปกติ

กลุ่มที่ 2 เป็นผู้ป่วยที่มีอาการเข้าข่าย CAD และเข้ารับการตรวจที่ศูนย์หัวใจสิริกิติ์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จำนวน 223 ราย ซึ่งผู้ป่วยเหล่านี้จะได้รับการตรวจวินิจฉัยจากแพทย์ผู้ชำนาญการโรคหัวใจและยืนยันการวินิจฉัยด้วยผลการตรวจร่างกายและการตรวจพิเศษโดยการทำการ coronary angiography (CAG) ซึ่งผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ต้องไม่มีอาการของโรคหัวใจ โรคหัวใจวาย โรคตับ โรคไต โรคกระดูก หรือโรคอวัยวะอื่นๆ โดยผู้ป่วยจะถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย ตามผล coronary angiogram คือ กลุ่มควบคุมที่ไม่เป็น CAD จำนวน 97 รายซึ่งมีร้อยละการตีบของหลอดเลือดหัวใจหลัก น้อยกว่าร้อยละ 50 และกลุ่มที่เป็น CAD จำนวน 126 ราย ซึ่งมีร้อยละการตีบของหลอดเลือดหัวใจหลักอย่างน้อยหนึ่งเส้นมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 50

เกณฑ์ในการจำแนกผู้ป่วย CAD ว่ามีหรือไม่มีปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิด CAD มีดังนี้ คือ 1) ภาวะไขมันในเลือดผิดปกติ

(dyslipidemia) คือ มีระดับไขมันชนิดโคเลสเตอรอลชนิดหนึ่งต่อไปนี้ผิดปกติ ได้แก่ มีระดับ TC > 240 mg/dL, TG > 200 mg/dL, LDL-C > 160 mg/dL หรือ HDL-C < 35 mg/dL⁽²⁶⁾ และ/หรือได้รับยาลดระดับไขมันในเลือด 2) โรคเบาหวาน (diabetes mellitus) คือ มีระดับ FBS > 126 mg/dL หรือมีประวัติและได้รับยารักษาโรคเบาหวาน 3) ภาวะความดันโลหิตสูง (hypertension) คือ มีระดับความดันโลหิตขณะหัวใจบีบตัว (systolic blood pressure; SBP) $\geq$ 140 mmHg หรือมีระดับความดันโลหิตขณะหัวใจคลายตัว (diastolic blood pressure; DBP) $\geq$ 90 mmHg และ/หรือได้รับยาลดความดันโลหิต และ 4) ภาวะอ้วน (obesity) คือ มีค่าดัชนีมวลกาย (body mass index; BMI) $> 25 \text{ kg/m}^2$ คุณสมบัติต่างๆ ของอาสาสมัครทั้งหมดได้สรุปไว้ใน ตารางที่ 1 โดยกลุ่มที่เป็น CAD ส่วนใหญ่เป็นเพศชาย ในขณะที่อาสาสมัครที่มีสุขภาพดีส่วนใหญ่เป็นเพศหญิงและมีอายุน้อยกว่ากลุ่ม CAD อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่อายุของกลุ่มที่เป็นและไม่เป็น CAD มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ค่า BMI, SBP, DBP, FBS, ALT และ ALP ในกลุ่ม CAD มีค่าสูงกว่ากลุ่มอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้กลุ่ม CAD ยังมีค่า triglyceride และ BUN สูงกว่าอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีและกลุ่มควบคุมที่ไม่เป็น CAD และมีค่า HOMA-IR ที่บ่งบอกภาวะดื้อต่ออินซูลิน (insulin resistance) สูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่เป็น CAD อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ค่า HDL-C ในกลุ่ม CAD มีค่าต่ำกว่ากลุ่มอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีและกลุ่มควบคุมที่ไม่เป็น CAD อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ในกลุ่ม CAD ยังมีค่า LDL-C ต่ำกว่ากลุ่มอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีแต่มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่เป็น CAD อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิด CAD ระหว่างกลุ่ม CAD กับกลุ่มควบคุมที่ไม่เป็น CAD พบว่ากลุ่ม CAD มีภาวะความดันโลหิตสูง ภาวะไขมันในเลือดผิดปกติ และโรคเบาหวานมากกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่เป็น CAD อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การศึกษานี้ได้ผ่านการรับรองด้านจริยธรรมการวิจัยจากคณะกรรมการจริยธรรมการทำวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เลขที่ HE510414 และอาสาสมัครทุกรายจะได้รับการชี้แจงเกี่ยวกับโครงการวิจัยจากคณะผู้วิจัยและลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมโครงการด้วยความสมัครใจ

ตารางที่ 1 Baseline characteristics of subjects.

Parameters	Healthy controls (n = 117)	non-CAD (n = 97)	CAD (n = 126)	P-value ^a
Gender; Female, n (%)	78 (66.70)	52 (53.60)	40 (31.70)	< 0.001
Male, n (%)	39 (33.30)	45 (46.40)	86 (68.30) ^{b,c}	
Age (years)	42.19 ± 7.77	59.96 ± 8.51 ^b	61.6 ± 9.10 ^b	< 0.001
Smokers, n (%)	0	27 (27.8)	48 (38.10)	0.108
Hypertension, n (%)	0	72 (74.20)	114 (90.50) ^c	0.001
Dyslipidemia, n (%)	0	79 (81.40)	121 (96.00) ^c	< 0.001
Diabetes mellitus, n (%)	0	19 (19.60)	44 (34.90) ^c	0.012
BMI (kg/m ²)	22.13 ± 3.68	24.69 ± 3.13 ^b	24.89 ± 3.21 ^b	< 0.001
SBP (mmHg)	109.63 ± 13.18	127.53 ± 17.18 ^b	132.17 ± 17.58 ^b	< 0.001
DBP (mmHg)	70.67 ± 8.44	73.29 ± 9.23	74.90 ± 12.44 ^b	0.006
FBS (mg/dL)	76.88 ± 6.83	97.53 ± 39.39 ^b	108.42 ± 49.26 ^b	< 0.001
TC (mg/dL)	193.70 ± 23.50	169.28 ± 46.88 ^b	183.06 ± 55.21	< 0.001
TG (mg/dL)	84.32 ± 35.75	143.18 ± 83.29 ^b	174.84 ± 118.20 ^{b,c}	< 0.001
HDL-C (mg/dL)	49.05 ± 10.69	42.92 ± 14.75 ^b	38.20 ± 10.00 ^{b,c}	< 0.001
LDL-C (mg/dL)	124.85 ± 20.93	91.39 ± 37.19 ^b	104.32 ± 42.42 ^{b,c}	< 0.001
ALT (U/L)	17.37 ± 7.77	22.47 ± 14.11 ^b	22.73 ± 17.80 ^b	< 0.001
AST (U/L)	25.48 ± 5.76	26.68 ± 12.77	24.98 ± 12.21	0.329
ALP (U/L)	54.87 ± 15.92	71.83 ± 23.90 ^b	69.55 ± 24.41 ^b	< 0.001
Insulin (μIU/mL)	-	15.13 ± 8.56	17.59 ± 28.76	0.069
HOMA-IR	-	4.47 ± 2.92	4.66 ± 10.47	0.063
BUN (mg/dL)	10.94 ± 2.47	12.06 ± 3.54	13.84 ± 5.61 ^{b,c}	< 0.001
Creatinine (mg/dL)	0.97 ± 0.21	0.88 ± 0.41 ^b	0.96 ± 0.28	0.014
hs-CRP (mg/L)	0.68 ± 1.06	1.70 ± 5.91 ^b	1.84 ± 10.24 ^b	< 0.001
WBC count (x10 ⁹ cells/L)	5.54 ± 1.34	6.75 ± 1.64 ^b	7.43 ± 5.32 ^{b,c}	< 0.001

Categorical variables are presented as n (%). Continuous variables are presented as geometric means ± SD, except age, BMI, SBP, DBP, TC and LDL-C are presented as means ± SD.

^a: compared among 3 groups; healthy control, non-CAD and CAD groups using one-way ANOVA

^b: compared to healthy controls (p<0.05), ^c: compared to non-CAD group (P < 0.05)

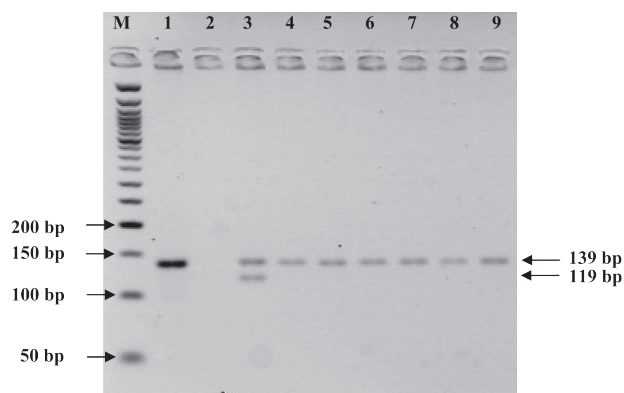
2. การเจาะเก็บและเตรียมตัวอย่างเลือด

เจาะเลือดจากหลอดเลือดดำของอาสาสมัครที่ได้งดอาหารและเครื่องดื่มอย่างน้อย 12 ชั่วโมง เตรียมซีรัมจากเลือดที่ไม่มีสารกันเลือดแข็งเพื่อใช้ในการตรวจวัดระดับน้ำตาลขณะอดอาหาร เอนไซม์ตับ (ALT, AST และ ALP), BUN, creatinine, total cholesterol, triglyceride, LDL-C, HDL-C, insulin และ high-sensitive CRP (hs-CRP) และเตรียมพลาสมาที่มีเกล็ดเลือดน้อยจากเลือดที่ใช้ 3.2 % trisodium citrate เป็นสารกันเลือดแข็งเพื่อใช้สำหรับตรวจปัจจัยการห้ามเลือด สำหรับเซลล์ที่เหลือจากการแยกพลาสมา จะใช้ในการสกัดดีเอ็นเอจากเม็ดเลือดขาวโดยใช้ชุดน้ำยาลำเลียงรูป Flexi Gene DNA kit (QIAGEN, Germany)

3. การตรวจหาจีโนไทป์ของโพลีมอร์ฟิซึม ADAMTS13 Pro618Ala

ตรวจหาจีโนไทป์ของโพลีมอร์ฟิซึม Pro618Ala โดยใช้เทคนิค polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Schetttert และคณะ⁽²⁴⁾ โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ของ forward และ reverse primers คือ 5'-GAGGAG-GATGGGTGCTCAGC-3' และ 5'-ACCATCCTC-CAGGAGGGAGA-3' (Pacific Science, Thailand) ตามลำดับ ส่วนผสมต่างๆ ในปฏิกิริยา PCR มีปริมาตรรวม 25 μ L ประกอบด้วย forward และ reverse primers ความเข้มข้น 1 μ M, dNTPs 0.2 mM, 1X PCR buffer, 1.0 mM MgCl₂, Taq DNA polymerase (Invitrogen, Brazil) 0.6 unit และตัวอย่างดีเอ็นเอ 100 ng ทำ PCR โดยใช้เครื่อง thermal cycler (PTC 100 และ PTC 200, MJ Research, USA) ซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนต่างๆ ดังนี้ คือ initial denaturation ที่อุณหภูมิ 94 °C เป็นเวลา 4.30 นาที ตามด้วย PCR 35 รอบ โดย denaturation ที่อุณหภูมิ 94 °C 30 วินาที annealing ที่อุณหภูมิ 59 °C 1 นาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72 °C 30 วินาที และ final extension ในรอบสุดท้ายที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 4.30 นาที ซึ่งในการทำ PCR แต่ละครั้ง จะทำ no template control โดยเติมน้ำกลั่นแทนตัวอย่างดีเอ็นเอ ผลผลิตที่ได้จาก PCR จะมีขนาด 139 bp จากนั้นนำไปย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *HpyCh4IV* (New England BioLabs; USA) 2 ยูนิต ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วตรวจสอบขนาดชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ได้จากการย่อยด้วยวิธี electrophoresis

อัลลิล (allele) Pro ซึ่งไม่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เป็นจุดตัดของเอนไซม์ *HpyCh4IV* (AC'GT) จะไม่ถูกย่อย ทำให้ยังคงตรวจพบดีเอ็นเอขนาด 139 bp ในขณะที่อัลลิล Ala ซึ่งมีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เป็นจุดตัดของเอนไซม์ *HpyCh4IV* จะถูกย่อยได้แถบดีเอ็นเอขนาด 119 และ 20 bp (รูปที่ 1) แต่เนื่องจากแถบดีเอ็นเอขนาด 20 bp ไม่ปรากฏบน agarose gel ดังนั้นจึงแยกจีโนไทป์ต่างๆ ออกจากกันโดยพิจารณาจากแถบดีเอ็นเอขนาด 139 bp และ 119 bp กล่าวคือ จีโนไทป์ Pro/Pro พบดีเอ็นเอขนาด 139 bp จีโนไทป์ Pro/Ala พบดีเอ็นเอขนาด 139 bp และ 119 bp และจีโนไทป์ Ala/Ala จะพบดีเอ็นเอขนาด 119 bp ดังแสดงใน รูปที่ 1



รูปที่ 1 Genotypes of ADAMTS13 Pro618Ala polymorphism on 2.5 % agarose gel by PCR-RFLP technique using 2 units of *HpyCh4IV* endonuclease. M: 50 bp ladder, lane 1: uncut-product, lane 2: no template control, lane 3: Pro/Ala, lanes 4-9: Pro/Pro.

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์การกระจายตัวของข้อมูลว่ามี การกระจายตัวแบบโค้งปกติหรือไม่โดยใช้สถิติ One-Sample Kolmogorov-Smirnov test ในกรณีที่ข้อมูลมีการกระจายตัวแบบไม่ปกติ จะแปลงข้อมูลเป็นค่า log10 ก่อนที่จะวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติแบบ parametric กรณีที่เป็นข้อมูลแบบค่าต่อเนื่อง จะวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มตัวอย่าง 3 กลุ่มโดยใช้สถิติ one-way ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างแต่ละคู่โดยใช้ Scheffe วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างสองกลุ่มโดยใช้สถิติ independent-samples t-test สำหรับข้อมูลเชิงกลุ่ม วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยใช้สถิติ Chi-square ซึ่งพิจารณาความแตกต่างอย่าง

มีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ และในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิตินี้ใช้โปรแกรม SPSS version 17

ผลการศึกษา

ผลการศึกษาพารามิเตอร์ที่บ่งบอกถึงภาวะอักเสบ ได้แก่ hs-CRP และจำนวนเม็ดเลือดขาวในอาสาสมัครทั้ง 3 กลุ่ม พบว่า hs-CRP ของกลุ่มที่เป็นและไม่เป็น CAD สูงกว่ากลุ่มอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่เป็นและไม่เป็น CAD พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน สำหรับจำนวนเม็ดเลือดขาว พบว่ากลุ่มที่เป็นและไม่เป็น CAD มีจำนวนเม็ดเลือดขาวสูงกว่าอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และกลุ่ม CAD มีจำนวนเม็ดเลือดขาวสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่เป็น CAD อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1)

จากการตรวจหาความถี่อัลลีลและจีโนไทป์ของอาสาสมัครทั้งหมด 340 ราย พบว่ามีความถี่ของอัลลีล Pro และอัลลีล Ala เท่ากับร้อยละ 98.68 และ 1.32 ตามลำดับ จีโนไทป์ที่พบมากที่สุดคือ Pro/Pro รองลงมาคือ Pro/Ala ซึ่งมีความถี่เท่ากับร้อยละ 97.35 และ 2.65 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) การกระจายตัวของความถี่จีโนไทป์ของกลุ่มตัวอย่างเป็นไปตามกฎสมมูล Hardy-Weinberg ($X^2 = 0.061$, $P = 0.805$) เมื่อพิจารณาความถี่อัลลีลและจีโนไทป์แยกตามกลุ่ม พบว่ากลุ่มอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีและกลุ่ม CAD มีความถี่

อัลลีล Ala และจีโนไทป์ Pro/Ala เท่ากับร้อยละ 0.85 vs. 2.78 และร้อยละ 1.71 vs. 5.56 ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มควบคุมที่ไม่เป็น CAD พบเฉพาะจีโนไทป์ Pro/Pro เท่านั้น (ตารางที่ 2) จากการศึกษาไม่พบจีโนไทป์ Ala/Ala ในอาสาสมัครทั้ง 3 กลุ่ม เมื่อเปรียบเทียบความถี่จีโนไทป์ของอาสาสมัครทั้ง 3 กลุ่ม พบว่าความถี่จีโนไทป์ของกลุ่ม CAD มีความแตกต่างกับกลุ่มอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่พบว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่เป็น CAD ($P = 0.028$) (ตารางที่ 2)

เมื่อวิเคราะห์สัดส่วนของปัจจัยเสี่ยงต่างๆ ต่อการเกิด CAD ซึ่งได้แก่ โรคเบาหวาน ภาวะไขมันในเลือดผิดปกติ ความดันโลหิตสูงและภาวะอ้วนในกลุ่ม CAD โดยจำแนกตามจีโนไทป์ พบว่าสัดส่วนของปัจจัยเสี่ยงต่างๆ ในกลุ่ม CAD ที่มีจีโนไทป์แบบ Pro/Pro และ Pro/Ala มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3) นอกจากนี้เมื่อศึกษาถึงความสัมพันธ์ของจีโนไทป์ Pro/Ala กับระดับของสารเคมีในเลือดที่เป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิด CAD รวมทั้งพารามิเตอร์ที่บ่งบอกถึงภาวะอักเสบ พบว่า FBS, hs-CRP และจำนวนเม็ดเลือดขาวในผู้ป่วย CAD ที่มีจีโนไทป์แบบ Pro/Ala มีค่าสูงกว่าผู้ที่มีจีโนไทป์แบบ Pro/Pro แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 2 Genotype and allele frequencies of ADAMTS13 Pro618Ala polymorphism in healthy controls, non-CAD and CAD groups.

Frequency	Subjects				P-value
	Healthy controls (n = 117)	non-CAD (n = 97)	CAD (n = 126)	Total (n = 340)	
Genotype, n (%)					
Pro/Pro	115 (98.29)	97 (100.00)	119 (94.44)	331 (97.35)	0.028*
Pro/Ala	2 (1.71)	0 (0.00)	7 (5.56)	9 (2.65)	
Allele (%)					
Pro	99.15	100.00	97.22	98.68	
Ala	0.85	0.00	2.78	1.32	

* compared between CAD and non-CAD groups

ตารางที่ 3 Genotype and allele frequencies of ADAMTS13 Pro618Ala polymorphism in CAD patients with and without risk factors for CAD.

CAD risk factors	Patients with CAD, n (%)		P - value
	Pro/Pro (n = 119)	Pro/Ala (n = 7)	
Diabetes mellitus	41 (34.45)	3 (42.86)	0.650
Non-diabetes mellitus	78 (65.55)	4 (57.14)	
Dyslipidemia Normolipidemia	114 (95.80)	7 (100.00)	0.580
	5 (4.20)	0 (0.00)	
Hypertension	109 (91.6)	5 (71.43)	0.077
No hypertension	10 (8.40)	2 (28.57)	
Obesity	55 (46.22)	1 (14.29)	0.098
Non-obesity	64 (53.78)	6 (85.71)	

ตารางที่ 4 Levels of biochemical parameters according to allelic variant of ADAMTS13 Pro618Ala polymorphism in patients with CAD. Data are presented as geometric means $\pm$ SD.

Parameters	Patients with CAD (n =126)		P-value
	Pro/Pro (n = 119)	Pro/Ala (n = 7)	
TC (mg/dL)	183.98 $\pm$ 56.16	167.00 $\pm$ 34.17	0.443
TG (mg/dL)	205.24 $\pm$ 120.64	160.86 $\pm$ 51.70	0.336
HDL-C (mg/dL)	39.39 $\pm$ 10.04	40.29 $\pm$ 10.03	0.818
LDL-C (mg/dL)	104.87 $\pm$ 43.12	95.00 $\pm$ 28.55	0.552
Insulin (μ IU/mL)	23.07 $\pm$ 29.79	19.15 $\pm$ 11.60	0.731
HOMA-IR	2.62 $\pm$ 1.08	2.60 $\pm$ 1.46	0.961
FBS (mg/dL)	113.60 $\pm$ 46.31	147.00 $\pm$ 83.73	0.082
hs-CRP (mg/L)	1.74 $\pm$ 10.95	2.87 $\pm$ 12.29	0.356
WBC count ($\times 10^9$ cells/L)	7.37 $\pm$ 5.38	8.77 $\pm$ 4.23	0.401

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

vWF เป็นปัจจัยเสี่ยงสำคัญอย่างหนึ่งต่อการเกิด ischemic heart disease⁽²⁷⁾, myocardial infarction⁽²⁸⁾ และ CAD⁽¹²⁾ ปัจจุบันเป็นที่ทราบว่ vWF ที่ถูกปล่อยสู่กระแสเลือดนั้นจะถูกย่อยให้มีขนาดเล็กลงและทำงานได้อย่างเหมาะสมด้วยเอนไซม์ ADAMTS13 จากบทบาทของ vWF และการทำงานของ ADAMTS13 ที่มีผลต่อการเกิด

ลิ่มเลือด จึงสามารถบ่งชี้ได้ว่าหากมีการลดลงของแอกทิวิตีของ ADAMTS13 ร่วมกับการเพิ่มปริมาณของ vWF มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะหลอดเลือดอุดตันจากลิ่มเลือดได้ ซึ่งมีรายงานเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่าง ADAMTS13 กับความเสี่ยงต่อการเกิด AMI⁽⁹⁻¹¹⁾ โดยพบว่าในผู้ป่วย AMI จะมีปริมาณและแอกทิวิตีของ ADAMTS13 ต่ำและมี vWF antigen/ADAMTS13 antigen ratio สูง ซึ่ง

สามารถเป็นตัวบ่งชี้ถึงแนวโน้มของการเกิดภาวะหลอดเลือดอุดตันจากลิ้มเลือดในภายหลังในผู้ป่วย AMI^(7, 9) และผู้ป่วย unstable angina⁽⁸⁾

ปัจจุบันมีการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงบนจีน ADAMTS13 พบว่ามีการกลายพันธุ์ชนิด missense และ silent mutation หลายแบบและถูกจัดให้เป็น common-single nucleotide polymorphisms (SNPs) ซึ่งได้มีการศึกษาถึงความถี่อัลลีลและการทำงานของ SNPs บางชนิด พบว่ามีผลต่อการลดปริมาณและ/หรือลดแอกติวิตีของ ADAMTS13 จากการศึกษาของ Plaimauer และคณะ⁽¹⁸⁾ พบว่าอัลลีล Ala มีผลต่อการลดลงของทั้งปริมาณและแอกติวิตีของ ADAMTS13 (ร้อยละ 27 ± 4 และ ร้อยละ 14 ± 1 ตามลำดับ) ซึ่งเป็นไปได้ว่าโพลีมอร์ฟิซึมชนิดนี้อาจจะมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะหลอดเลือดอุดตันจากลิ้มเลือดได้

การศึกษาถึงความชุกของโพลีมอร์ฟิซึม Pro618Ala ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในชาวตะวันตก^(19, 24, 25) อย่างไรก็ตามยังไม่มีผลการรายงานถึงความชุกของโพลีมอร์ฟิซึมชนิดนี้ในชาวเอเชีย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาแรกที่รายงานถึงความชุกของโพลีมอร์ฟิซึม Pro618Ala ในชาวเอเชีย การศึกษาในคนไทยครั้งนี้พบว่าความถี่อัลลีลและจีโนไทป์ของโพลีมอร์ฟิซึมนี้มีค่าต่ำมากเมื่อเทียบกับการศึกษาในชาวตะวันตก⁽²⁴⁾ ซึ่งความแตกต่างของเชื้อชาติอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ผลการศึกษาดังกล่าวแตกต่างกัน สำหรับโพลีมอร์ฟิซึมอื่นที่มีความสัมพันธ์กับการลดลงของแอกติวิตีและปริมาณของ ADAMTS13 และมีรายงานในชาวเอเชีย เช่น ญี่ปุ่น⁽²²⁾ จีน⁽²⁹⁾ และเกาหลี⁽³⁰⁾ ได้แก่ Pro475Ser ในการศึกษานี้ได้ทำการตรวจในประชากรไทยจำนวน 240 ราย พบว่าพบเฉพาะจีโนไทป์ชนิด Pro/Pro เท่านั้น (ไม่ได้แสดงข้อมูล)

การศึกษานี้พบว่ากลุ่ม CAD มีความถี่จีโนไทป์ Pro/Ala สูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่เป็น CAD อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งอาจแสดงให้เห็นว่าโพลีมอร์ฟิซึมนี้มีความสัมพันธ์กับโรคหลอดเลือดหัวใจในคนไทย แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากพบจีโนไทป์ Pro/Ala เพียง 7 ราย จากผู้ป่วย CAD จำนวน 126 ราย ดังนั้นจึงควรทำการศึกษาในกลุ่มประชากรที่ใหญ่ขึ้นเพื่อยืนยันผลการศึกษานี้ เมื่อศึกษาถึงความสัมพันธ์ของโพลีมอร์ฟิซึม Pro618Ala กับปัจจัยเสี่ยงต่างๆ ต่อการเกิด CAD รวมทั้งพารามิเตอร์ที่บ่งบอกถึงภาวะอักเสบ พบว่าผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์ Pro/Ala ค่า hs-CRP และจำนวนเม็ดเลือดขาว มีแนวโน้มสูงกว่าผู้ที่จีโนไทป์ Pro/Pro ซึ่งอาจเกิดจากการที่

อัลลีล Ala นั้นมีผลต่อการลดลงของแอกติวิตีและปริมาณของ ADAMTS13 ซึ่งการลดลงของ ADAMTS13 นั้นมีความสัมพันธ์กับภาวะอักเสบต่างๆ⁽¹³⁻¹⁶⁾ รวมทั้งยังส่งเสริมให้เกิดการอักเสบซึ่งเป็นพยาธิกำเนิดที่สำคัญของโรคหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดแดงแข็งซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิด CAD^(14, 16, 17) อย่างไรก็ตามต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมในกลุ่มประชากรที่มีขนาดใหญ่ขึ้นเพื่อยืนยันผลการศึกษาดังกล่าว

ผลจากการศึกษานี้ยังแสดงให้เห็นว่าโพลีมอร์ฟิซึม Pro618Ala นี้มีความสัมพันธ์กับโรคหลอดเลือดหัวใจ แต่อย่างไรก็ตาม เนื่องจากข้อจำกัดของการศึกษานี้ คือ กลุ่มประชากรที่ศึกษามีขนาดเล็ก อีกทั้งผู้ป่วยที่เป็นและไม่เป็น CAD มีสัดส่วนของเพศชายและหญิงแตกต่างกัน ซึ่งอาจจะเป็นตัวแปรที่มีผลต่อการวิเคราะห์ความสัมพันธ์กับการเกิด CAD ดังนั้นเพื่อยืนยันผลการศึกษานี้จึงควรทำการศึกษาเพิ่มเติมในกลุ่มประชากรที่มีขนาดใหญ่ขึ้นและมีการกระจายของเพศที่ใกล้เคียงกัน รวมทั้งควรมีการตรวจวัดแอกติวิตีและ/หรือปริมาณของ ADAMTS13 เพิ่มเติมต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณอาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการทุกท่าน เจ้าหน้าที่ประจำศูนย์หัวใจสิริกิติ์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างเลือดและตรวจวิเคราะห์สารชีวเคมีในเลือด และขอบคุณคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นที่สนับสนุนอุปกรณ์และสถานที่ในการดำเนินงานวิจัย การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนจากทุนอุดหนุนทั่วไป มหาวิทยาลัยขอนแก่น และทุนจากกลุ่มวิจัยหัวใจและหลอดเลือด มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

1. วันสันทน์ รุจิวิวัฒน์. รายงานการเฝ้าระวังการเฝ้าระวังโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง พ.ศ. 2550 - 2552 (Chronic disease surveillance 2007 - 2009). กลุ่มงานระบาดวิทยาโรคไม่ติดต่อ สำนักโรคติดต่อ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข กันยายน 2553.
2. Grundy SM, Pasternak R, Greenland P, Smith S, Jr., Fuster V. Assessment of cardiovascular risk by use of multiple-risk-factor assessment equations: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association and the American

- College of Cardiology. *Circulation* 1999; 100: 1481-92.
3. Giblin JP, Hewlett LJ, Hannah MJ. Basal secretion of von Willebrand factor from human endothelial cells. *Blood* 2008; 112: 957-64.
4. Bowen DJ, Collins PW. Insights into von Willebrand factor proteolysis: clinical implications. *Br J Haematol* 2006; 133: 457-67.
5. Zheng X, Majerus EM, Sadler JE. ADAMTS13 and TTP. *Curr Opin Hematol* 2002; 9: 389-94.
6. Ajzenberg N, Denis CV, Veyradier A, Girma JP, Meyer D, Baruch D. Complete defect in vWF-cleaving protease activity associated with increased shear-induced platelet aggregation in thrombotic microangiopathy. *Thromb Haemost* 2002; 87: 808-11.
7. Bongers TN, de Bruijne EL, Dippel DW, de Jong AJ, Deckers JW, Poldermans D, et al. Lower levels of ADAMTS13 are associated with cardiovascular disease in young patients. *Atherosclerosis* 2009; 207: 250-4.
8. Fuchigami S, Kaikita K, Soejima K, Matsukawa M, Honda T, Tsujita K, et al. Changes in plasma von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13) levels in patients with unstable angina. *Thromb Res* 2008; 122: 618-23.
9. Kaikita K, Soejima K, Matsukawa M, Nakagaki T, Ogawa H. Reduced von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13) activity in acute myocardial infarction. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 2490-3.
10. Matsukawa M, Kaikita K, Soejima K, Fuchigami S, Nakamura Y, Honda T, et al. Serial changes in von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13) and prognosis after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2007; 100: 758-63.
11. Chion CK, Doggen CJ, Crawley JT, Lane DA, Rosendaal FR. ADAMTS13 and von Willebrand factor and the risk of myocardial infarction in men. *Blood* 2007; 109: 1998-2000.
12. Miura M, Kaikita K, Matsukawa M, Soejima K, Fuchigami S, Miyazaki Y, et al. Prognostic value of plasma von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13) antigen levels in patients with coronary artery disease. *Thromb Haemost* 2010; 103: 623-9.
13. Mannucci PM, Vanoli M, Forza I, Canciani MT, Scorza R. Von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS-13) in 123 patients with connective tissue diseases (systemic lupus erythematosus and systemic sclerosis). *Haematologica* 2003; 88: 914-8.
14. Ono T, Mimuro J, Madoiwa S, Soejima K, Kashiwakura Y, Ishiwata A, et al. Severe secondary deficiency of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13) in patients with sepsis-induced disseminated intravascular coagulation: its correlation with development of renal failure. *Blood* 2006; 107: 528-34.
15. Uemura M, Fujimura Y, Matsumoto M, Ishizashi H, Kato S, Matsuyama T, et al. Comprehensive analysis of ADAMTS13 in patients with liver cirrhosis. *Thromb Haemost* 2008; 99: 1019-29.
16. Claus RA, Bockmeyer CL, Budde U, Kentouche K, Sossdorf M, Hilberg T, et al. Variations in the ratio between von Willebrand factor and its cleaving protease during systemic inflammation and association with severity and prognosis of organ failure. *Thromb Haemost* 2009; 101: 239-47.
17. Chauhan AK, Kisucka J, Brill A, Walsh MT, Scheifflinger F, Wagner DD. ADAMTS13: a new link between thrombosis and inflammation. *J Exp Med* 2008; 205: 2065-74.
18. Plaimauer B, Fuhrmann J, Mohr G, Wernhart W, Bruno K, Ferrari S, et al. Modulation of ADAMTS13 secretion and specific activity by a combination of common amino acid polymorphisms and a missense mutation. *Blood* 2006;

- 107: 118-25.
19. Levy GG, Nichols WC, Lian EC, Foroud T, McClintick JN, McGee BM, et al. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature* 2001; 413: 488-94.
20. Uchida T, Wada H, Mizutani M, Iwashita M, Ishihara H, Shibano T, et al. Identification of novel mutations in ADAMTS13 in an adult patient with congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2004; 104: 2081-3.
21. Tao Z, Anthony K, Peng Y, Choi H, Nolasco L, Rice L, et al. Novel ADAMTS-13 mutations in an adult with delayed onset thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 1931-5.
22. Kokame K, Matsumoto M, Soejima K, Yagi H, Ishizashi H, Funato M, et al. Mutations and common polymorphisms in ADAMTS13 gene responsible for von Willebrand factor-cleaving protease activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 11902-7.
23. Bittar LF, de Paula EV, Mello TB, Siqueira LH, Orsi FL, JM. A-B. Polymorphisms and mutations in vWF and ADAMTS13 genes and their correlation with plasma levels of FVIII and vWF in patients with deep venous thrombosis. *Clin Appl Thromb Hemost* 2011; 17: 514-8.
24. Schettert IT, Pereira AC, Lopes NH, Hueb WA, Krieger JE. Association between ADAMTS13 polymorphisms and risk of cardiovascular events in chronic coronary disease. *Thromb Res* 2009; 125: 61-6.
25. Donadelli R, Banterla F, Galbusera M, Capoferri C, Bucchioni S, Gastoldi S, et al. *In-vitro* and *in-vivo* consequences of mutations in the von Willebrand factor cleaving protease ADAMTS13 in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Haemost* 2006; 96: 454-64.
26. Grundy S. National Cholesterol Education Program. Second report of the expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult treatment panel II). *Circulation* 1994; 89: 1329-445.
27. Whincup PH, Danesh J, Walker M, Lennon L, Thomson A, Appleby P, et al. von Willebrand factor and coronary heart disease: prospective study and meta-analysis. *Eur Heart J* 2002; 23: 1764-70.
28. Sakai H, Goto S, Kim JY, Aoki N, Abe S, Ichikawa N, et al. Plasma concentration of von Willebrand factor in acute myocardial infarction. *Thromb Haemost* 2000; 84: 204-9.
29. Gao WQ, Wang ZY, Bai X, Ruan CG. Study of C1423T polymorphism of the von Willebrand factor-cleaving protease gene in Chinese Han population. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi* 2004; 25: 136-8.
30. Jang MJ, Kim NK, Chong SY, Kim HJ, Lee SJ, Kang MS, et al. Frequency of Pro475Ser polymorphism of ADAMTS13 gene and its association with ADAMTS-13 activity in the Korean population. *Yonsei Med J* 2008; 49: 405-8.