

การศึกษาการกระตุ้นปัจจัยการแข็งตัวของเลือดในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอี
ลอยด์โดย thrombin generation assay



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2562

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Assessment of coagulation activation using thrombin generation assay in newly
diagnosed acute myeloid leukemia



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Medicine

Department of Medicine

FACULTY OF MEDICINE

Chulalongkorn University

Academic Year 2019

Copyright of Chulalongkorn University

| | |
|---------------------------------|--|
| หัวข้อวิทยานิพนธ์ | การศึกษาการกระตุ้นปัจจัยการแข็งตัวของเลือดในผู้ป่วย มะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์โดย thrombin generation assay |
| โดย | น.ส.ภาวินี น้อยนารถ |
| สาขาวิชา | อายุรศาสตร์ |
| อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก | รองศาสตราจารย์ นายแพทย์นภชาญ เอื้อประเสริฐ |

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์สุทธิพงษ์ วัชรสินธุ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ณัฐพงษ์ เจียมจริยธรรม)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์นภชาญ เอื้อประเสริฐ)

..... กรรมการ
(อาจารย์ นายแพทย์วรวิทย์ รุ่งประดับวงศ์)

ภาวีนี น้อยนารถ : การศึกษาการกระตุ้นปัจจัยการแข็งตัวของเลือดในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์โดย thrombin generation assay. (Assessment of coagulation activation using thrombin generation assay in newly diagnosed acute myeloid leukemia) อ.ที่ปรึกษาหลัก : รศ. นพ.นภาพุฒ เอื้อประเสริฐ

ที่มาและความสำคัญ : ผู้ป่วยมะเร็งทางโลหิตวิทยาพบความผิดปกติของการกระตุ้นการแข็งตัวของเลือดได้บ่อยทำให้เกิดปัญหาเลือดออกง่ายผิดปกติ หรือเลือดแข็งตัวผิดปกติ ซึ่งอาจเกิดจากการกระตุ้นปัจจัยการแข็งตัวของเลือดที่ผิดปกติจากเซลล์มะเร็งเอง หรือเกิดจากการรักษาโดยยาเคมีบำบัด ซึ่งจากความผิดปกติดังกล่าวอาจเป็นสาเหตุของภาวะแทรกซ้อนต่างๆในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์ได้

วิธีการดำเนินงานวิจัย : ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัย AML รายใหม่ทุกรายจะได้รับการเจาะเลือดเพื่อตรวจ thrombin generation assay และค่าปัจจัยการแข็งตัวของเลือดต่างๆ ได้แก่ PT, aPTT, wFAG, TFAg, D-dimer และคำนวณ DIC score และจะติดตามผลต่างๆระหว่างการรักษานจนจบการรักษา โดยมีการเปรียบเทียบกับอาสาสมัครที่อยู่ในช่วงอายุเดียวกัน

Results: การศึกษานี้เริ่มทำการศึกษาผู้ป่วยตั้งแต่ มี.ค. 2562 ถึง เม.ย. 2563 พบผู้ป่วย AML 32 ราย ไม่พบความแตกต่างกันของค่า thrombin generation assay ของกลุ่มผู้ป่วยเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เช่นเดียวกับค่า fibrinogen ที่ไม่พบความแตกต่างกันในสองกลุ่ม ค่า d-dimer และ TFAg มีค่าสูงกว่าในกลุ่มผู้ป่วย AML เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยยะสำคัญ พบผู้ป่วย 9 รายจาก 32 รายได้รับการวินิจฉัย overt disseminated intravascular coagulation (DIC) จากค่า ISTH-DIC score. เมื่อติดตามผู้ป่วยหลังจากการรักษาวันที่ 7, 30, 180 ตามลำดับ พบว่าค่า d-dimer ค่อยๆ ลดต่ำลงอย่างมีนัยยะสำคัญตามระยะเวลาของการรักษา ผู้ป่วย 13 ราย (ร้อยละ 40) มีภาวะเลือดออกผิดปกติ ณ ช่วงเวลาที่ได้รับการวินิจฉัย อย่างไรก็ตามไม่พบแตกต่างของค่า endogenous thrombin potential และ peak thrombin generation ในกลุ่มที่มีเลือดออกผิดปกติและกลุ่มที่ไม่มีเลือดออก โดยพบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีเลือดออกมีค่ามัธยฐานของเกล็ดเลือดที่ต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่มีเลือดออก ในขณะที่ค่า d-dimer สูงกว่าในกลุ่มที่มีเลือดออกด้วยเช่นกัน โดยบริเวณที่เกิดเลือดออกในผู้ป่วยกลุ่มนี้มากที่สุด ได้แก่ ในช่องปากและเหงือก ในการศึกษาไม่พบผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยภาวะลิ่มเลือดอุดตัน

สรุปผล : ไม่พบความผิดปกติของ thrombin generation assay ในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์ อย่างไรก็ตามพบว่าผู้ป่วย AML มีค่า d-dimer ที่สูงกว่ากลุ่มควบคุม และมีแนวโน้มลดต่ำลงหลังได้รับการรักษา ซึ่งอาจสัมพันธ์กับภาวะ DIC

สาขาวิชา อายุรศาสตร์

ลายมือชื่อ นิสิต

ปีการศึกษา 2562

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

6174066430 : MAJOR MEDICINE

KEYWORD: Acute myeloid leukemia, thrombin generation assay, coagulation activation

Pawinee Noinart : Assessment of coagulation activation using thrombin generation assay in newly diagnosed acute myeloid leukemia. Advisor: Assoc. Prof. NOPPACHARN UAPRASERT

Background: Hematologic malignancies have increased the risk of bleeding and thromboembolism, which may connect to underlying diseases or therapeutic interventions. Hypothetically, dysregulated coagulation activation may underlie the pathogenesis of bleeding or thrombotic complications in acute myeloid leukemia (AML).

Methods: Thrombin generation assay was performed in patients with newly diagnosed AML at diagnosis and longitudinally monitored at different points during follow-up. Prothrombin time, activated partial thromboplastin time, fibrinogen, D-dimer and tissue factor antigen were also determined. All values were compared to those of age-matched volunteers.

Results: There were 32 newly diagnosed AML patients included in analysis between March 2019 and April 2020. At diagnosis, peak thrombin generation and endogenous thrombin potential values of AML patients were not different from those of the control. Fibrinogen levels showed no differences between both groups. D-dimer levels and TFAg were substantially increased in AML patients compared to control. Among 32 patients, 9 (28%) were diagnosed overt DIC following the ISTH-DIC score. No differences in thrombin generation assay were detected after the initiation of chemotherapy on day 7, 30 and 180 during follow-up. D-dimer is remarkably decreased during follow up. Of 13 (40%) with bleeding events at diagnosis, there were no differences in peak thrombin generation and endogenous thrombin potential values between bleeding and non-bleeding group. The lower platelet counts were found in the bleeding group, while D-dimer levels were higher in bleeding group. The most common event was gum bleeding. No patients experienced thromboembolism throughout follow-up.

Conclusion: Thrombin generation assay failed to detect coagulation activation in newly diagnosed AML patients, while D-dimer was significantly increased in AML patients and considerably decreased after treatment, probably associated with DIC.

Field of Study: Medicine

Student's Signature

Academic Year: 2019

Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้ สามารถเสร็จสมบูรณ์ได้เนื่องจากความเมตตากรุณา และความช่วยเหลือจากรองศาสตราจารย์ นายแพทย์นภชาญ เอื้อประเสริฐ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์นี้ ที่ได้เสียสละเวลาในการให้คำปรึกษาอย่างดีเสมอมา ซึ่งผู้วิจัยกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอบพระคุณคุณเบญจพร และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการหน่วยโลหิตวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่ให้ความร่วมมือและช่วยเหลือในส่วนของห้องปฏิบัติการเสมอมา ขอบพระคุณคุณพยาบาลทุกท่านที่คอยช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างวิจัย รวมถึงขอบพระคุณผู้ป่วยและอาสาสมัครที่ให้ความอนุเคราะห์และร่วมมือในการเข้าร่วมงานวิจัยของข้าพเจ้า ขอขอบคุณเพื่อนๆแพทย์ประจำบ้านหน่วยโลหิตวิทยาที่แนะนำผู้ป่วยที่มีเกณฑ์คัดเข้าได้ ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาของทุกท่านที่กล่าวมา ตลอดจนผู้ที่ไม่ได้กล่าวนามในที่นี้ซึ่งมีส่วนให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ กราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจตลอดมา

ภาวินี น้อยนารถ



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญ

| | หน้า |
|---|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย | ค |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ | ง |
| กิตติกรรมประกาศ..... | จ |
| สารบัญ | ฉ |
| สารบัญตาราง..... | ณ |
| สารบัญรูปภาพ | ญ |
| บทที่ 1..... | 1 |
| บทนำ..... | 1 |
| ที่มาและความสำคัญ | 1 |
| คำถามของการวิจัย..... | 2 |
| วัตถุประสงค์งานวิจัย | 3 |
| สมมติฐาน..... | 3 |
| กรอบแนวคิดในการวิจัย..... | 4 |
| ข้อตกลงเบื้องต้น..... | 5 |
| การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในงานวิจัย..... | 5 |
| รูปแบบการวิจัย | 7 |
| วิธีการดำเนินการวิจัยโดยย่อ | 8 |
| ปัญหาทางจริยธรรม..... | 9 |
| ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย | 9 |
| ข้อจำกัดในงานวิจัย..... | 10 |
| อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและมาตรการแก้ไข..... | 10 |

| | |
|--|----|
| บทที่ 2..... | 11 |
| ทบทวนวรรณกรรม..... | 11 |
| พยาธิวิทยาของโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์..... | 11 |
| อุบัติการณ์การเกิดปัญหาภาวะเลือดออกและลิ่มเลือดอุดตันเฉียบพลันในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือด ขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์..... | 12 |
| กลไกการเกิดความผิดปกติของกลไกการแข็งตัวของเลือดในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาว เฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์..... | 14 |
| หลักฐานของดัชนีชี้วัดที่บ่งชี้ถึงภาวะความผิดปกติของกลไกการแข็งตัวของเลือดในผู้ป่วยมะเร็ง เม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์..... | 18 |
| Thrombin generation assay (TGA)..... | 19 |
| Thrombin generation in acute myeloid leukemia..... | 21 |
| บทที่ 3..... | 22 |
| วิธีดำเนินการวิจัย..... | 22 |
| รูปแบบการวิจัย..... | 22 |
| วิธีระเบียบการวิจัย..... | 22 |
| ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย..... | 23 |
| การรวบรวมข้อมูล..... | 25 |
| การวิเคราะห์ข้อมูล..... | 26 |
| บทที่ 4..... | 27 |
| ผลการวิเคราะห์ข้อมูล..... | 27 |
| ผลการวิเคราะห์ข้อมูล..... | 27 |
| ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย..... | 27 |
| ผลเปรียบเทียบปัจจัยที่ศึกษา..... | 30 |
| บทที่ 5..... | 47 |

| | |
|---|----|
| อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ..... | 47 |
| อภิปรายผล | 47 |
| สรุปผล..... | 50 |
| ข้อดีของการศึกษานี้..... | 51 |
| ข้อดีของการศึกษานี้..... | 51 |
| ข้อเสนอแนะ | 51 |
| บรรณานุกรม | 53 |
| ประวัติผู้เขียน..... | 57 |



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญตาราง

หน้า

| | |
|---|----|
| ตารางที่ 1 แสดง classification ของ acute myeloid leukemia ตาม WHO classification 2016 | 12 |
| ตารางที่ 2 แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย | 29 |
| ตารางที่ 3 เปรียบเทียบค่า parameters ในกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม..... | 31 |
| ตารางที่ 4 เปรียบเทียบค่า parameters ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีเลือดออกผิดปกติและไม่มีเลือดออก .. | 33 |
| ตารางที่ 5 เปรียบเทียบค่า parameters ของผู้ป่วยแยกตามจำนวนของ peripheral blast..... | 34 |
| ตารางที่ 6 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่า parameter ในแต่ละช่วงเวลาของการรักษา..... | 36 |
| ตารางที่ 7 เปรียบเทียบค่า parameters ของผู้ป่วยก่อนรักษาแยกตามผลการรักษาหลังได้ยาเคมีบำบัด..... | 43 |
| ตารางที่ 8 เปรียบเทียบค่า parameters ของผู้ป่วยหลังไขกระดูกฟื้นตัวจากการรักษาช่วง induction แยกตามผลการรักษาหลังได้ยาเคมีบำบัด..... | 44 |
| ตารางที่ 9 เปรียบเทียบค่า parameters ของผู้ป่วยจำแนกโดยการรักษาที่ได้รับช่วง consolidation ด้วยการปลูกถ่ายไขกระดูกหรือยาเคมีบำบัด | 46 |

สารบัญรูปภาพ

หน้า

| | |
|---|----|
| แผนภูมิที่ 1 แสดงกรอบแนวคิดในการวิจัย | 4 |
| แผนภูมิที่ 2 ภาพการกระตุ้นกลไกการแข็งตัวของเลือด (coagulation activation) ในภาวะปกติ | 15 |
| แผนภูมิที่ 3 ภาพกลไกการสลายลิ่มเลือด (fibrinolytic pathway) ในภาวะปกติ | 15 |
| แผนภูมิที่ 4 ภาพแสดงการแปลผล thrombin generation assay | 20 |
| แผนภูมิที่ 5 แสดงช่วงเวลาการเก็บตัวอย่างเลือด | 25 |
| แผนภูมิที่ 6 แสดงการเปลี่ยนแปลงของ endogenous thrombin potential ในแต่ละช่วงเวลาของการรักษา | 37 |
| แผนภูมิที่ 7 แสดงการเปลี่ยนแปลงของ peak thrombin generation ในแต่ละช่วงเวลาของการรักษา | 37 |
| แผนภูมิที่ 8 แสดงการเปลี่ยนแปลงของ lag time ในแต่ละช่วงเวลาของการรักษา | 38 |
| แผนภูมิที่ 9 แสดงการเปลี่ยนแปลงของ d-dimer ในแต่ละช่วงเวลาของการรักษา | 38 |
| แผนภูมิที่ 10 แสดงการเปลี่ยนแปลงของ DIC score ในแต่ละช่วงเวลาของการรักษา | 39 |
| แผนภูมิที่ 11 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่ามัธยฐานของปริมาณเกล็ดเลือดในแต่ละช่วงเวลาของการรักษา | 39 |
| แผนภูมิที่ 12 แสดงการเปลี่ยนแปลงของ tissue factor antigen ในแต่ละช่วงเวลาของการรักษา | 40 |
| แผนภูมิที่ 13 แสดงการเปลี่ยนแปลงของ vWFAg ในแต่ละช่วงเวลาของการรักษา | 41 |
| แผนภูมิที่ 14 แสดงการเปลี่ยนแปลงของ fibrinogen ในแต่ละช่วงเวลาของการรักษา | 41 |

บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญ

ผู้ป่วยมะเร็งทางโลหิตวิทยาพบความผิดปกติของการกระตุ้นการแข็งตัวของเลือด (coagulation activation) ได้บ่อย ทำให้เกิดปัญหาเลือดออกง่ายผิดปกติ หรือเลือดแข็งตัวง่ายผิดปกติ ซึ่งอาจเกิดจากการกระตุ้นปัจจัยการแข็งตัวของเลือดที่ผิดปกติจากเซลล์มะเร็งเอง หรือเกิดจากการรักษาโดยยาเคมีบำบัดหลายชนิด นอกจากนี้ผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อจากการที่มีเม็ดเลือดขาวต่ำ ก็สามารถทำให้เกิดการกระตุ้นปัจจัยการแข็งตัวของเลือดร่วมด้วย

ผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวในระยะเฉียบพลัน (acute leukemia) พบปัญหาเลือดออกง่ายได้บ่อย และเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตในผู้ป่วยกลุ่มนี้ได้ถึงร้อยละ 10-30⁽¹⁻³⁾ ซึ่งส่วนมากจะตรวจพบเกล็ดเลือดต่ำ ร่วมกับการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยการแข็งตัวของเลือด (coagulopathy) ทำให้ปัญหาเลือดออกง่ายรุนแรงมากขึ้น โดยมีรายงานว่าสาเหตุเกิดจากเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวมีสารกระตุ้นการสลายลิ่มเลือด (fibrinolytic activators) และมีคุณสมบัติเป็น procoagulant โดยเฉพาะมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดโปรมัยอีโลไซท์ (acute promyelocytic leukemia)⁽⁴⁾ อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าสามารถพบในมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์ (acute myeloid leukemia; AML) เช่นเช่นกัน ในขณะที่เดียวกันมีรายงานพบว่าผู้ป่วย AML พบภาวะลิ่มเลือดอุดตันเฉียบพลัน (acute thrombosis) ได้ร้อยละ 2.3^(3, 5)

การศึกษานี้ทำขึ้นเพื่อศึกษาถึงการกระตุ้นปัจจัยของการแข็งตัวของเลือดในผู้ป่วย AML ณ เวลาที่ได้รับการวินิจฉัย และหลังจากได้รับการรักษา ว่ามีความผิดปกติอย่างไร และมีการเปลี่ยนแปลงอย่างไรหลังได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดมาตรฐาน รวมถึงความสัมพันธ์กับอาการทางคลินิกได้แก่ ภาวะเลือดออกง่าย ภาวะหลอดเลือดอุดตัน และการตอบสนองต่อการ

รักษา ซึ่งอาจใช้ในการทำนายโอกาสการเกิดภาวะแทรกซ้อน และพยากรณ์ของโรคต่อไปใน
อนาคต

คำถามของการวิจัย

คำถามหลัก :

ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์ มีค่า peak of
thrombin generation assay ที่สูงขึ้นหรือไม่

Do acute myeloid leukemia patients show increase peak thrombin generation
which reflects hypercoagulability when compared to normal controls?

คำถามรอง :

1. ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์ มีค่า
endogenous thrombin potential, lag time และค่า coagulation biomarker ต่างๆ
แตกต่างกันจากคนปกติหรือไม่

Do acute myeloid leukemia patients show endogenous thrombin potential
and lag time in thrombin generation assay and coagulation biomarkers differ
from those of normal controls?

2. ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์มีค่า thrombin
generation parameter และค่า coagulation biomarker ต่างๆเปลี่ยนแปลงระหว่าง
การรักษาหรือไม่

Do thrombin generation parameters and coagulation biomarkers change
during treatment at point of time?

3. ค่า thrombin generation parameter and coagulation biomarker สัมพันธ์กับ
ผลการรักษาทางคลินิกได้แก่ การเกิดเลือดออก การเกิดหลอดเลือดอุดตัน complete
remission และการรอดชีวิตหรือไม่

Are thrombin generation parameters and coagulation biomarkers associated with clinical outcomes including bleeding events, thrombotic complications, complete remission and survival rate?

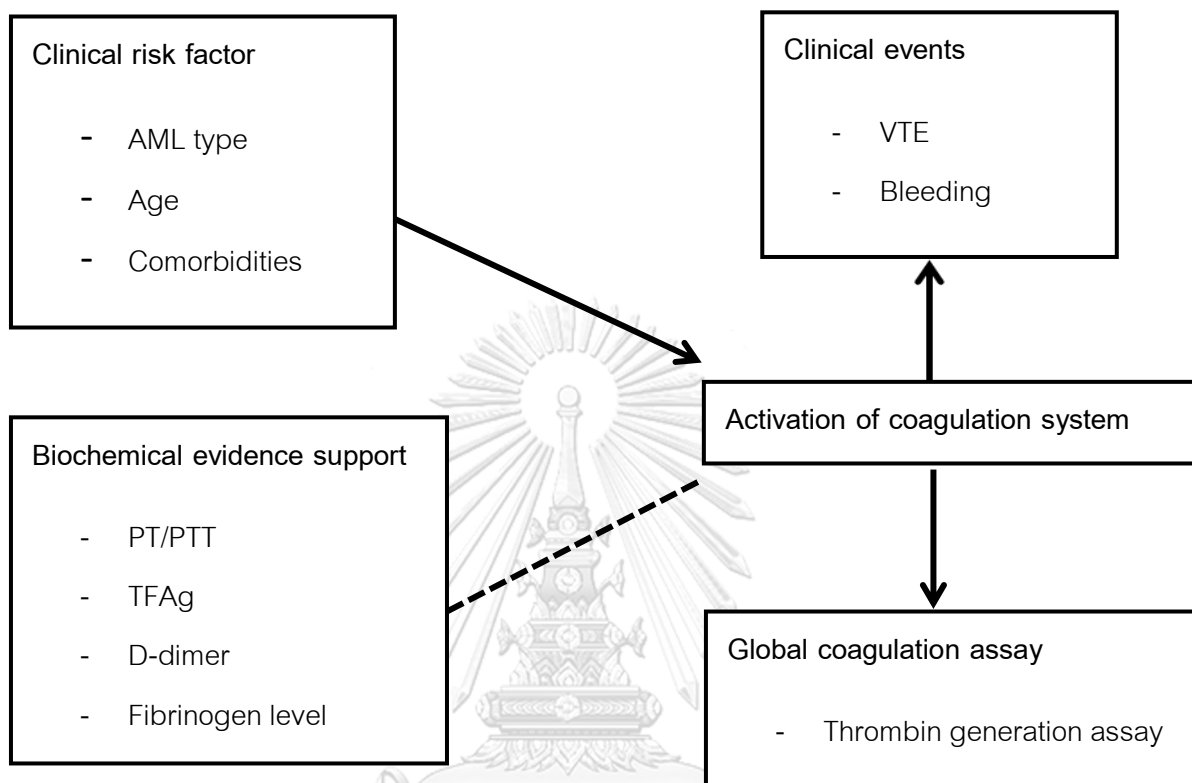
วัตถุประสงค์งานวิจัย

1. เพื่อศึกษาการกระตุ้นปัจจัยการแข็งตัวของเลือด โดยอาศัย thrombin generation assay ในการดูค่า peak of thrombin generation ในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์ที่ได้รับการวินิจฉัยใหม่ ณ เวลาที่ได้รับการวินิจฉัย
2. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของการกระตุ้นปัจจัยการแข็งตัวของเลือดโดยอาศัย thrombin generation assay ภายหลังได้รับการรักษาในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด
3. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลง thrombin generation กับปัจจัยการแข็งตัวของเลือดอื่นๆ และภาวะ disseminated intravascular coagulation (DIC) ในแต่ละช่วงของการรักษา
4. เพื่อศึกษาตัวแปรต่างๆที่มีผลต่อการกระตุ้นปัจจัยการแข็งตัวของเลือดในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์ ณ เวลาที่ได้รับการวินิจฉัย และติดตามระดับตัวแปรต่างในแต่ละช่วงเวลาภายหลังได้รับการรักษา
5. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของ thrombin generation กับภาวะเลือดออก ภาวะหลอดเลือดอุดตัน, การตอบสนองต่อการรักษาและอัตราการรอดชีวิตในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์

สมมติฐาน

ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์ มีค่า peak of thrombin generation assay ที่สูงกว่าคนปกติทั่วไปซึ่งแสดงถึงภาวะ hypercoagulable state

กรอบแนวคิดในการวิจัย



แผนภูมิที่ 1 แสดงกรอบแนวคิดในการวิจัย

เส้นทึบ แสดงถึงความสัมพันธ์ของตัวแปรโดยแสดงเป็นลำดับการเกิดก่อนหลังของตัวแปร

เส้นประ แสดงถึงตัวแปรที่ไม่ได้มีความสัมพันธ์กันโดยตรงแต่นำมาใช้คิดวิเคราะห์ร่วมกัน

ข้อตกลงเบื้องต้น

1. การรักษา acute myeloid leukemia ของผู้เข้าร่วมงานวิจัยทุกคนขึ้นกับการตัดสินใจของแพทย์เจ้าของไข้
2. ภาวะลิ่มเลือดอุดตันต้องมีหลักฐานทางรังสีวินิจฉัยที่บ่งชี้ชัดเจน
3. การดูแลภาวะแทรกซ้อนต่างๆของโรคและจากการรักษาของผู้เข้าร่วมงานวิจัยทุกคนขึ้นกับการตัดสินใจของแพทย์เจ้าของไข้

การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในงานวิจัย

1. Acute myeloid leukemia (AML) หรือมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลลอยด์ เกิดจากความผิดปกติของการเจริญเติบโตของเม็ดเลือดขาวในไขกระดูกและมีการแบ่งตัวที่ผิดปกติของเซลล์เม็ดเลือดขาวตัวอ่อนเป็นจำนวนมาก โดยอาการแสดงที่พบ ได้แก่ ไข้ ซีด เลือดออกผิดปกติ อ่อนเพลีย เป็นต้น โดยการวินิจฉัยคือมีเซลล์เม็ดเลือดขาวตัวอ่อนชนิด myeloblast มากกว่าร้อยละ 20 ในไขกระดูก หรือน้อยกว่าร้อยละ 20 แต่มีโครโมโซมจำเพาะต่อโรค acute myeloid leukemia
2. Acute promyelocytic leukemia เป็น acute myeloid leukemia ชนิดหนึ่งที่เกิดจากการมีความผิดปกติของยีน retinoic acid alpha receptor บนโครโมโซมคู่ที่ 17 และ ยีน promyelocytic leukemia บนโครโมโซมคู่ที่ 15 ทำให้เกิดเม็ดเลือดขาวชนิดโปรมัยอีโลไซต์ที่ผิดปกติ จะต้องตรวจพบเม็ดเลือดขาวชนิดโปรมัยอีโลไซต์ที่ผิดปกติ ซึ่งมักพบร่วมกับภาวะเกล็ดเลือดต่ำและซีด และมักมีภาวะ disseminated intravascular coagulation ร่วมด้วย
3. Disseminated intravascular coagulation (DIC) คือ ภาวะที่มีการเกิดลิ่มเลือดใน microcirculation ทั่วร่างกายจากการกระตุ้นกลไกการแข็งตัวของเลือด ทำให้เกิดภาวะพร่องออกซิเจนไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ทำให้เกิดภาวะขาดเลือด และจากการเกิดลิ่มเลือดในส่วนต่างๆทำให้มีการใช้เกล็ดเลือดไปใช้งาน ทำให้เกิดภาวะเกล็ดเลือดต่ำและเกิดภาวะเลือดออกผิดปกติ นำไปสู่ภาวะอวัยวะต่างๆล้มเหลวตามมา โดยในปัจจุบันยังไม่มีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการใดๆที่ใช้ยืนยันการวินิจฉัยภาวะ DIC ที่ชัดเจน International

Society of Thrombosis and Hemostasis จึงมีการใช้ระบบคะแนนในการช่วยวินิจฉัย โดยแบ่งเป็น overt DIC ในรายที่มีคะแนนมากกว่า 5 และ non-overt DIC ในรายที่มีคะแนนน้อยกว่า 5

4. Thrombin generation assay เป็นวิธีที่ใช้วัดความสามารถของ plasma ในการสร้าง thrombin หลังจากถูกกระตุ้นด้วย tissue factor และ phospholipid โดยวิธีการทำคือนำ plasma มาปั่นแยกสองรอบจนได้ platelet poor plasma (PPP) หลังจากนั้นนำ PPP 80 μ l มาทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้นที่ติดอยู่กับสารที่สามารถเรืองแสงในเครื่อง automated ได้ (fluorogenic substrate) หลังจากนั้นกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาโดยการใส่ recombinant tissue factor 1.25 pM และ phospholipid 1 μ M นอกจากนี้จะมีการใส่ recombinant soluble thrombomodulin 1 μ M เพื่อใช้วิเคราะห์คู่กับตัวอย่างที่ไม่ได้ใส่ thrombomodulin หลังจากนั้นนำตัวอย่างใส่เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ (calibrated automated thrombogram (CAT) system) โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์สำเร็จรูป ThrombinoScope® software โดยจะมีค่าที่ได้ดังต่อไปนี้
 - lag time คือ ระยะเวลาจากเริ่มต้นสู่การเริ่มมีการจับตัวของ thrombin
 - peak thrombin generation คือ จำนวน thrombin สูงสุดที่เกิดการรวมตัวกัน
 - time to peak คือ ระยะเวลาจากจุดเริ่มต้นสู่ peak height
 - endogeneous thrombin potential คือ จำนวน thrombin ทั้งหมดตั้งแต่เริ่มการจับตัวถึงสิ้นสุด
5. Biomarkers ที่ใช้ในการช่วยวินิจฉัยภาวะ hypercoagulable state
 - D-dimer (ng/ml) เป็นส่วนหนึ่งของ fibrin degradation product ที่ได้จากกลไกการสลายลิ่มเลือดในร่างกาย (fibrinolysis) โดยตรวจได้จาก poor platelet plasma ของผู้ป่วยโดยวิธี ELFA

- Tissue factor antigen (TFAg) (pg/ml) tissue factor เป็นตัวแปรสำคัญในการกระตุ้นกลไกการแข็งตัวของเลือด โดยทำงานเป็น cofactor ที่จับกับ factor VII เพื่อที่จะเปลี่ยน FX และ FIX เป็น FXa และ FIXa
 - vWFAg (U/dl) เป็นการตรวจหาปริมาณของ von-Willebrand factor ในเลือดโดยการใช้วิธี ELISA
 - Fibrinogen (mg/dl) เป็นโปรตีนที่อยู่ในเลือด เกิดจากการสลาย fibrin โดยวัดจาก platelet poor plasma โดยวิธี Clauss method
6. การประเมินผลการรักษาโรค acute myeloid leukemia หลังการรักษา โดยการประเมินจะทำเมื่อไขกระดูกฟื้นตัวแล้วโดยมี absolute neutrophil มากกว่าหรือเท่ากับ 1,000 cells/ul และเกล็ดเลือดมากกว่าหรือเท่ากับ 100,000 cells/ul
- Complete remission (CR) หมายถึงพบ myeloblast น้อยกว่าร้อยละ 5 และไม่พบ Auer rods และไม่มีรอยโรคนอกไขกระดูก (extramedullary disease)
 - Not complete remission (not CR) หมายถึง ภาวะอื่นที่ไม่เข้าเกณฑ์ complete remission
7. Induction treatment หมายถึงการรักษาในช่วงแรกโดยการใช้ยาเคมีบำบัดขนาดสูงเพื่อให้โรคเข้าสู่ระยะสงบ (remission)
8. Consolidation treatment หมายถึงการรักษาเพื่อกำจัดเซลล์มะเร็งที่อาจจะยังหลงเหลืออยู่ให้หมดไป และป้องกันไม่ให้โรคกลับมาเป็นซ้ำ โดยการรักษาช่วง consolidation ในโรค acute myeloid leukemia แบ่งเป็นการปลูกถ่ายไขกระดูกและการให้ยาเคมีบำบัด

รูปแบบการวิจัย

การวิจัยเชิงวิเคราะห์แบบไปข้างหน้า (prospective cohort study)

วิธีการดำเนินการวิจัยโดยย่อ

ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์รายใหม่ทุกรายที่เข้ารับการรักษาที่ รพ.จุฬาลงกรณ์ จะได้รับการเจาะเลือดเพื่อตรวจ thrombin generation assay และค่าปัจจัยการแข็งตัวของเลือดต่างๆ ได้แก่ PT, aPTT, vWFAg, TFAg, D-dimer และคำนวณ DIC score โดยในกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วย standard induction chemotherapy (7+3 regimen) ได้ติดตามผลเลือดดังนี้

- วันที่ได้รับการวินิจฉัยโรค หรือ ก่อนการรักษา
- หลังได้รับยาเคมีบำบัด induction ครบ 7 วัน
- วันที่เจาะไขกระดูกประเมินตัวโรคหลังจากการรักษาด้วย induction chemotherapy หรือช่วงที่ไขกระดูกฟื้นตัวจากการรักษาช่วง induction
- เมื่อสิ้นสุดการรักษาช่วง consolidation

ในกรณีที่ผู้ป่วยได้รับการรักษาอื่นนอกเหนือจากการให้ยาเคมีบำบัด เช่น การให้ hypomethylating agent , hydroxyurea เป็นต้น จะติดตามค่าปัจจัยการแข็งตัวของเลือดก่อน ดังนี้

- วันที่ได้รับการวินิจฉัยโรค หรือก่อนการรักษา
- วันที่ 7 หลังการเริ่มรักษา
- วันที่ 30 หลังการเริ่มรักษา
- วันที่ 180 หลังการเริ่มรักษา

ทั้งนี้การเลือกการรักษาขึ้นอยู่กับแพทย์เจ้าของไข้เป็นผู้ตัดสินใจ โดยแต่ละครั้งจะจัดเก็บตัวอย่างเลือด 20 ml ใส่หลอด 3.2% sodium citrate และนำส่งที่ห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยา ชั้น 3 อาคารภูมิสิริมังคลานุสรณ์ รพ.จุฬาลงกรณ์ โดยตัวอย่างเลือดจะต้องถูกนำส่งที่ห้องปฏิบัติการ ภายในเวลา 4 ชั่วโมง เพื่อทำการปั่นและเก็บเข้าช่องแช่เย็นอุณหภูมิต่ำ -80°C และผู้เข้าร่วมวิจัยทุกคนจะถูกเก็บข้อมูลในเรื่องของประวัติที่เกี่ยวข้องและประเมินเรื่องของภาวะเลือดออกผิดปกติหรือลิ่มเลือดอุดตัน โดยผู้เข้าร่วมโครงการทุกรายจะได้รับการอธิบายถึงเหตุผล, กระบวนการ, ขั้นตอน

การดำเนินการวิจัย รวมถึงภาวะแทรกซ้อนที่อาจเกิดขึ้นได้ หากผู้เข้าร่วมโครงการรับทราบและยินยอมเข้าร่วมโครงการจะมีการแสดงการยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษร โดยระยะเวลาที่อาสาสมัครอยู่ในโครงการรวมประมาณ 6 เดือน โดยการตรวจทั้งหมดจะเปรียบเทียบกับอาสาสมัครที่ประชากรทั่วไปที่มีช่วงอายุเท่ากับผู้ร่วมโครงการในแต่ละคน

ปัญหาทางจริยธรรม

1. หลักความเคารพในบุคคล งานวิจัยนี้มีการขอความอนุญาตยินยอมในการเข้าร่วมงานวิจัย โดยการให้ข้อมูลอย่างครบถ้วนและตอบข้อสงสัยของผู้ที่ได้รับเชิญเข้าร่วมการวิจัยพอใจ โดยมีการยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษร และอาสาสมัครมีสิทธิยกเลิกการเข้าร่วมโครงการได้ทุกเมื่อ
2. หลักการให้ประโยชน์ ไม่ก่อให้เกิดอันตราย การตรวจเลือดเพื่อการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการมีความเสี่ยงเล็กน้อยเช่น เกิดเลือดออกมากหรือจ้ำเลือด ซึ่งโอกาสเกิดน้อย และไม่เป็นอันตรายถึงชีวิต โดยจะมีการเจาะเลือดด้วยความระมัดระวังและนุ่มนวล ทั้งนี้จะมีการเก็บผลเลือด และข้อมูลส่วนตัวของผู้เข้าร่วมโครงการไว้เป็นความลับ และในกรณีที่ปัญหาที่เกิดขึ้นจากงานวิจัย อาสาสมัครสามารถติดต่อแพทย์เจ้าของโครงการได้โดยตรง
3. หลักความยุติธรรม มีเกณฑ์การคัดเลือกและคัดออกชัดเจนสำหรับผู้ป่วยที่นำมาศึกษา ผู้ป่วยจะได้รับการรักษาตามแต่แพทย์เจ้าของไข้เป็นผู้ตัดสินใจ โดยโครงการวิจัยนี้จะไม่ผลต่อการตัดสินใจในการรักษา

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

- เพื่อศึกษาภาวะ hypercoagulable state ในผู้ป่วย acute myeloid leukemia เพื่อเป็นองค์ความรู้ในการศึกษาเพิ่มเติมถึงพื้นฐานพยาธิสภาพของโรค รวมถึงนำมาประยุกต์ใช้ในการดูแลและพยากรณ์ภาวะแทรกซ้อนในความผิดปกติของกลไกการแข็งตัวของเลือดในโรคนี้อาจเกิดขึ้นได้

- เพื่อให้ได้ข้อมูลและองค์ความรู้ของ global coagulation ในประชากรจำเพาะกลุ่ม acute myeloid leukemia โดยใช้ thrombin generation assay ซึ่งอาจมาถึงการพัฒนาไปสู่งานวิจัยอื่นๆต่อไป

ข้อจำกัดในงานวิจัย

เนื่องจากมีข้อจำกัดในระยะเวลาการทำวิจัย 2 ปี อาจจะทำให้มีผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยน้อยกว่ากลุ่มตัวอย่างที่คำนวณได้

อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นและมาตรการแก้ไข

- ผู้ป่วยที่เข้าเกณฑ์โครงการวิจัยน้อยกว่ากลุ่มตัวอย่างที่คำนวณได้ หรือ ผู้ป่วยที่เข้าเกณฑ์อาจจะไม่อยากเข้าร่วมโครงการเนื่องจากต้องมีการทำหัตถการเจาะเลือด แนวทางการแก้ไขปัญหาคือแจ้งอาจารย์แพทย์ แพทย์ประจำบ้านต่อยอด และแพทย์ประจำบ้านหน่วยโลหิตวิทยาทุกท่านถึงโครงการวิจัย หากท่านใดมีผู้ป่วย acute myeloid leukemia ให้แจ้งแพทย์เจ้าของโครงการวิจัยทันที แพทย์เจ้าของโครงการวิจัยจะตามไปอธิบายขั้นตอน และชักชวนเข้าร่วมโครงการเอง
- ค่าใช้จ่ายทางห้องปฏิบัติการค่อนข้างสูง ทางผู้จัดทำโครงการได้ดำเนินการขอทุนวิจัย รัชดาภิเษกสมโภชน์เพื่อสนับสนุนโครงการวิจัย

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

พยาธิวิทยาของโรคเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์

โรค acute myeloid leukemia (AML) เกิดจากความผิดปกติของการแบ่งตัว (proliferation) และการเจริญเติบโต (differentiation) ของเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดสายมัยอีลอยด์ ทำให้มีการเพิ่มตัวของเซลล์ตัวอ่อนในไขกระดูกปริมาณมาก และอาจหลุดเข้าไปในกระแสเลือดได้ ซึ่งสาเหตุอาจมาจากความผิดปกติของโครโมโซม หรือความผิดปกติระดับ molecular ได้ ทำให้รบกวนการสร้างและแบ่งตัวของเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดสายมัยอีลอยด์ผิดปกติไป ผู้ป่วยที่เคยได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด การฉายรังสี หรือเคยสัมผัสกับสารเคมีบางชนิดก็เป็นสาเหตุของการเกิดโรค AML ได้เช่นกัน นอกจากนี้ผู้ป่วยที่เคยมีโรคประจำตัวโรคเลือดบางชนิดสามารถกลายเป็น AML ได้ในที่สุดเช่นกัน เช่น myelodysplastic syndrome หรือ aplastic anemia เป็นต้น ซึ่งอาการส่วนมากมักมาด้วยภาวะ ซีด ไข้ หรือ เลือดออกผิดปกติ ทั้งนี้โรค AML เป็นโรคที่มีความหลากหลาย (heterogeneity) ทั้งลักษณะของ morphology, immunophenotype และ cytogenetics โดยการแบ่งชนิดของ AML ในปัจจุบัน แบ่งตาม WHO classification 2016^(6, 7) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดง classification ของ acute myeloid leukemia ตาม WHO classification 2016

| AML and related neoplasms | AML and related neoplasms (cont'd) |
|---|--|
| AML with recurrent genetic abnormalities | Acute myelomonocytic leukemia |
| AML with t(8;21)(q22;q22.1); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> | Acute monoblastic/monocytic leukemia |
| AML with inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i> | Pure erythroid leukemia# |
| Acute promyelocytic leukemia with <i>PML-RARA</i> * | Acute megakaryoblastic leukemia |
| AML with t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLLT3-KMT2A</i> † | Acute basophilic leukemia |
| AML with t(6;9)(p23;q34.1); <i>DEK-NUP214</i> | Acute panmyelosis with myelofibrosis |
| AML with inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2); <i>GATA2,MECOM(EV1)</i> | Myeloid sarcoma |
| AML (megakaryoblastic) with t(1;22)(p13.3;q13.3); <i>RBM15-MKL1</i> ‡ | Myeloid proliferations related to Down syndrome |
| Provisional entity: AML with <i>BCR-ABL1</i> | Transient abnormal myelopoiesis |
| AML with mutated <i>NPM1</i> § | Myeloid leukemia associated with Down syndrome |
| AML with biallelic mutations of <i>CEBPA</i> § | Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm |
| Provisional entity: AML with mutated <i>RUNX1</i> | Acute leukemias of ambiguous lineage |
| AML with myelodysplasia-related changes | Acute undifferentiated leukemia |
| Therapy-related myeloid neoplasms¶ | MPAL with t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR-ABL1</i> ** |
| AML, NOS | MPAL with t(v;11q23.3); <i>KMT2A</i> rearranged |
| AML with minimal differentiation | MPAL, B/myeloid, NOS |
| AML without maturation | MPAL, T/myeloid, NOS |
| AML with maturation | |

(ดัดแปลงจาก WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, 2016)

อุบัติการณ์การเกิดปัญหาภาวะเลือดออกและลิ่มเลือดอุดตันเฉียบพลันในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์

อุบัติการณ์โรค AML ในประชากรเอเชียพบได้ประมาณ 2.5-3.8 ราย ต่อประชากร 100,000 ราย และพบมากขึ้นในประเทศทางยุโรปและสหรัฐอเมริกา 3-8 รายต่อประชากร 100,000 ราย และมีอุบัติการณ์เพิ่มขึ้นตามอายุ⁽⁷⁾ การศึกษาจากประเทศสหรัฐอเมริกาพบว่าอุบัติการณ์การเกิดโรค AML ในผู้ป่วยอายุน้อยกว่า 65 ปีคือ 1.3 รายต่อประชากร 100,000 ราย และอุบัติการณ์การเกิดโรค AML ในผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่า 65 ปีเพิ่มสูงขึ้นถึง 12.2 รายต่อประชากร 100,000 ราย⁽⁶⁾

จากการศึกษาของ Blom J. และคณะได้ ศึกษาผู้ป่วยที่มีภาวะลิ่มเลือดอุดตันฉับพลัน มาแยกหาปัจจัยเสี่ยงในการเกิดโรคลิ่มเลือดอุดตัน พบว่า hematologic malignancy เพิ่มโอกาสการเกิดภาวะลิ่มเลือดอุดตันฉับพลันมากกว่ามะเร็งชนิดอื่นๆ (Adjusted OR=28) โดยจากการศึกษาพบคนไข้ acute leukemia 5 คน จากคนไข้ 37 คน คิดเป็นร้อยละ 13⁽⁸⁾

มีการทำการศึกษาดังอุบัติการณ์, ปัจจัยเสี่ยง และโอกาสการรอดชีวิตในผู้ป่วย acute leukemia พบว่าอุบัติการณ์การเกิดลิ่มเลือดอุดตันในผู้ป่วย AML จากการศึกษานี้เมื่อติดตามผู้ป่วย 2 ปี พบร้อยละ 5.2 โดยพบว่าภาวะลิ่มเลือดอุดตันมักเกิดขึ้นในช่วง 3 เดือนแรกของการรักษาโรค โดยปัจจัยเสี่ยงที่พบว่าสัมพันธ์กับภาวะลิ่มเลือดอุดตันได้แก่ การใส่สาย central catheter และพบอุบัติการณ์ในเพศหญิงมากกว่าเพศชาย⁽⁹⁾

Libourel J. และคณะ พบอุบัติการณ์การเกิดภาวะลิ่มเลือดอุดตันในผู้ป่วย AML ร้อยละ 8.7 ในผู้ป่วยที่อายุน้อยกว่าหรือเท่ากับ 60 ปี โดยพบอุบัติการณ์การเกิดภาวะลิ่มเลือดอุดตันเส้นเลือดดำมากกว่าเส้นเลือดแดงที่ร้อยละ 4.7 และ 4.0 ตามลำดับ ในผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่า 60 มีอุบัติการณ์การเกิดภาวะลิ่มเลือดอุดตันที่สูงกว่าผู้ป่วยอายุน้อยโดยคิดเป็นร้อยละ 10.4⁽⁵⁾

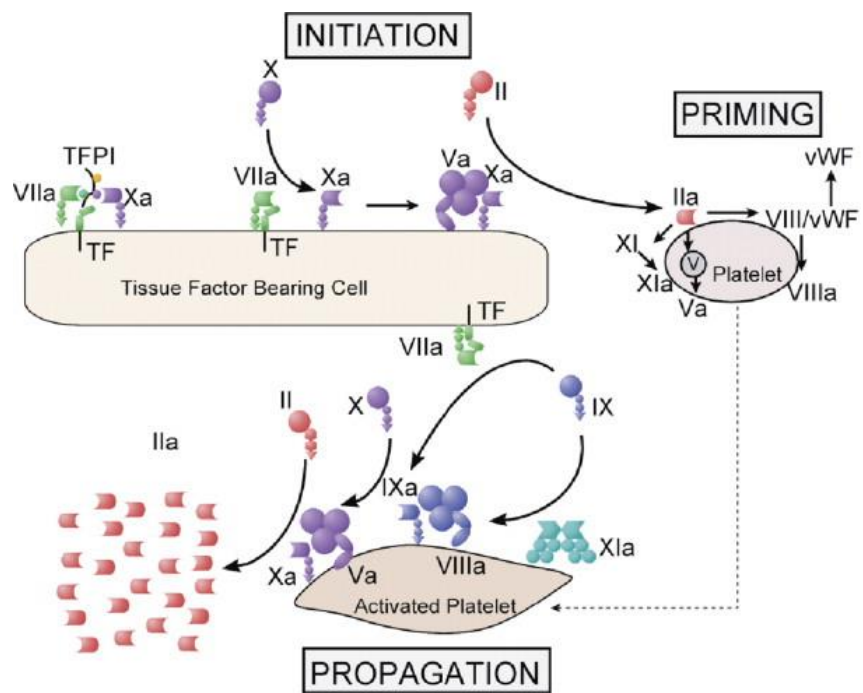
Webert K. และคณะ ได้ทำการศึกษากภาวะเลือดออกในผู้ป่วย acute non-promyelocytic leukemia ซึ่งพบได้ถึงร้อยละ 20-32 และ ร้อยละ 34-52 ในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาโดยการปลูกถ่ายไขกระดูก โดยภาวะเลือดออกสัมพันธ์กับระดับเกล็ดเลือดที่ต่ำและภาวะการติดเชื้อ โดยผู้ป่วยที่มีภาวะเลือดออกระดับน้อยเป็นปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดภาวะเลือดออกรุนแรงเมื่อติดตามต่อไป⁽¹⁾

Rebulla P. และคณะ ทำการศึกษาดูภาวะเลือดออกรุนแรงในผู้ป่วย AML ที่มีให้ platelet transfusion prophylaxis ที่ระดับเกล็ดเลือด $10,000/\text{mm}^3$ และ $20,000/\text{mm}^3$ โดยพบอุบัติการณ์เกิดเลือดออกรุนแรงอยู่ที่ ร้อยละ 21.5 และ 20 ตามลำดับ โดยบริเวณที่เกิดเลือดออกมากที่สุดคือระบบทางเดินอาหาร และ ระบบทางเดินปัสสาวะ⁽²⁾

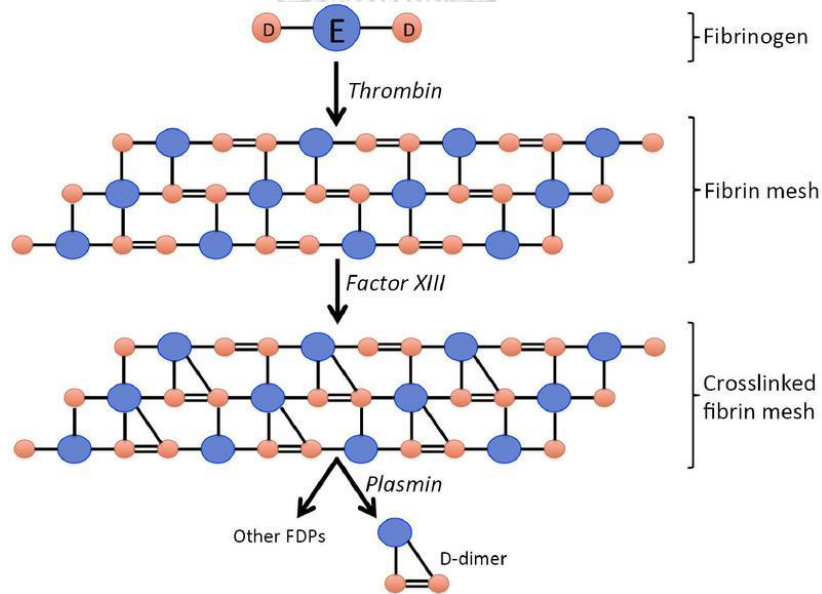
สอดคล้องกับรายงานของ Lad D. และคณะที่พบว่าอุบัติการณ์การเกิดภาวะเลือดออกในผู้ป่วย acute myeloid leukemia พบประมาณร้อยละ 15 และภาวะลิ่มเลือดอุดตันฉับพลันพบได้ร้อยละ 3.2 ใน acute non-promyelocytic leukemia และร้อยละ 9.2 ใน acute promyelocytic leukemia (APL) นอกจากนี้ยังพบอุบัติการณ์การเกิดภาวะ disseminated intravascular coagulation ได้ถึงร้อยละ 10-50 แตกต่างกันในแต่ละการศึกษา⁽³⁾

กลไกการเกิดความผิดปกติของกลไกการแข็งตัวของเลือดในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาว เฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์

ในภาวะปกติร่างกายมีการกระตุ้นกลไกการแข็งตัวของเลือดเมื่อเกิดภาวะบาดเจ็บในร่างกาย โดยเริ่มจาก tissue factor บนผิวเซลล์จับกับ FVIIa เป็น extrinsic tenase complex ทำให้เปลี่ยน FX เป็น FXa และเปลี่ยน FIX เป็น FIXa โดย FXa ที่ได้จะเปลี่ยน FV เป็น FVa หลังจากนั้น FXa จะจับกับ FVa กลายเป็น prothrombinase complex ซึ่งจะเปลี่ยน prothrombin ให้กลายเป็น thrombin หลังจากนั้น thrombin ที่สร้างได้ปริมาณน้อยจะไปกระตุ้น intrinsic pathway โดยเพิ่มการหลั่ง FV จาก platelet granule และ เปลี่ยน FVIII เป็น FVIIIa โดย FVIIIa จะจับกับ IXa เป็น intrinsic tenase complex ทำหน้าที่เปลี่ยน FX เป็น FXa เพื่อไปจับกับ FVa แล้วสร้าง thrombin ในปริมาณที่เยอะขึ้น หรือที่เรียกว่า thrombin burst (แผนภูมิที่ 2) โดย thrombin ที่สร้างได้จะเปลี่ยน fibrinogen เป็น fibrin จับกันเป็น polymer และมีการเกิด cross-link เพื่อเพิ่มความแข็งแรงของลิ่มเลือดที่เกิดขึ้น หลังจากนั้นจะมีการกระตุ้น fibrinolytic pathway โดย plasminogen เปลี่ยนเป็น plasmin โดยการกระตุ้นจาก plasminogen activator ได้แก่ tissue plasminogen activator และ urokinase ซึ่ง plasmin จะเปลี่ยน fibrin ให้กลายเป็น fibrin degradation product (แผนภูมิที่ 3)



แผนภูมิที่ 2 ภาพการกระตุ้นกลไกการแข็งตัวของเลือด (coagulation activation) ในภาวะปกติ



แผนภูมิที่ 3 ภาพกลไกการสลายลิ่มเลือด (fibrinolytic pathway) ในภาวะปกติ

กลไกการแข็งตัวของเลือดที่เพิ่มมากขึ้นในผู้ป่วย AML เกิดได้จากหลายปัจจัย ได้แก่มีการเพิ่มขึ้นการแสดงของ procoagulant factor เช่น tissue factor บนผิวเซลล์มะเร็ง โดยไม่ต้องมีการบาดเจ็บของเซลล์ ทำให้เกิดการกระตุ้นกลไกการแข็งตัวของเลือดเพิ่มขึ้น โดยมีการศึกษา tissue factor gene บนผิวของเซลล์เม็ดเลือดขาว

ในผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัย AML พบว่ามี การแสดงออกของ tissue factor mRNA ในผู้ป่วย AML 10 คนจาก 22 คน คิดเป็นร้อยละ 45 ซึ่งเป็นข้อสันนิษฐานว่าอาจมีการกระตุ้นกลไกการแข็งตัวของเลือดจากปัจจัยนี้⁽¹⁰⁾ และมีการศึกษาต่อมาพบว่าผู้ป่วย AML มีการ overexpression ของ tissue factor ซึ่งเป็นตัวกระตุ้น extrinsic coagulation cascade โดยมีการนำผู้ป่วย AML มาทำการวิเคราะห์พบว่าสัมพันธ์กับปริมาณ tissue factor, d-dimer และ cell-free plasma DNA ที่สูงขึ้น และปริมาณ fibrinogen ที่ต่ำลง โดยเชื่อว่าค่า plasma DNA ที่สูงขึ้นในมะเร็งเม็ดเลือดขาวเกิดจากภาวะ spontaneous cell death ของเซลล์มะเร็ง ซึ่งการเกิด cell death ทำให้มีการกระตุ้น intrinsic coagulation cascade ได้อีกด้วย⁽¹¹⁾

นอกจากนี้เซลล์มะเร็งสามารถหลั่ง inflammatory cytokine มากขึ้น เช่น IL6, IL-1 ซึ่งสามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้าง tissue factor บน endothelial ของผิวเซลล์ได้เช่นกัน⁽¹²⁾ Falanga A. และคณะ ทำการศึกษาถึง procoagulant activity บน tissue extract จาก leukemic cell ในผู้ป่วย AML โดยพบว่าการเพิ่มขึ้นของ cysteine protease activity ที่สามารถกระตุ้น FX ได้โดยตรง ซึ่งทำให้เกิดการกระตุ้นการสร้าง thrombin ที่เพิ่มมากขึ้นได้⁽¹³⁾

ในผู้ป่วย acute promyelocytic leukemia (APL) พบว่ามีอุบัติการณ์การเกิดภาวะเลือดออกและลิ่มเลือดอุดตันได้มากกว่า non-promyelocytic leukemia นอกเหนือจากกลไกการแสดงออกของ procoagulant factor ที่เพิ่มขึ้น เช่น tissue factor ที่พบว่ามี การแสดงออกมากขึ้นในเซลล์ที่มี PML/RAR α fusion protein⁽¹⁴⁾ และมีการหลั่งของ inflammatory cytokine ที่มากขึ้นแล้ว ในผู้ป่วย acute promyelocytic leukemia มีการเพิ่มขึ้นของ tPA และมีการลดลงของ PAI-1 ที่ออกฤทธิ์เป็น plasminogen activator inhibitor ทำให้ plasminogen เปลี่ยนเป็น plasmin ได้

ลดลง นอกจากนี้ยังมีการเพิ่มขึ้นการแสดงออกของ annexinII บนผิว promyelocyte ทำให้เกิดภาวะ hyperfibrinolysis และภาวะ disseminated intravascular coagulation^(3, 4)

นอกจากมีการกระตุ้นกลไกการสร้าง thrombin ที่มากขึ้นแล้ว ในผู้ป่วย AML ยังพบว่ามี การเพิ่มขึ้นของ fibrinolytic activity ด้วยเช่นกัน จากการศึกษาของ Speiser W. พบว่ามีการ เพิ่มขึ้นของ D-dimer ถึงร้อยละ 91 ผู้ป่วย AML โดยค่า D-dimer จะสูงสุดในผู้ป่วย APL และ AML M5 และพบภาวะ hypofibrinogenemia (fibrinogen level <200 mg/dl) ในผู้ป่วย AML 5 คนจาก 34 คน คิดเป็นร้อยละ 14 นอกจากนี้พบว่าร้อยละ 75 ของผู้ป่วย AML ในการศึกษาที่มี ระดับของ α_2 -plasmin inhibitor ที่ลดลงอีกด้วย ซึ่งสันนิษฐานว่าภาวะ hyperfibrinolysis ในผู้ป่วย AML นี้สัมพันธ์กับภาวะ disseminated intravascular coagulation (DIC)⁽¹²⁾ ซึ่งมีรายงานอุบัติการณ์ของการเกิด DIC ในผู้ป่วย AML ร้อยละ 7-18 ขึ้นกับเกณฑ์การวินิจฉัย⁽⁵⁾

จากการศึกษาของ Libourel J. และคณะ ที่พบอุบัติการณ์ของภาวะลิ่มเลือดอุดตัน เฉียบพลันร้อยละ 8-10 ในผู้ป่วย AML พบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีลิ่มเลือดอุดตันมีค่า d-dimer ในเลือดที่สูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีลิ่มเลือดอุดตันอย่างมีนัยยะสำคัญ ร่วมกับ พบความสัมพันธ์ของการเกิดลิ่มเลือดอุดตันและภาวะเลือดออกผิดปกติกับภาวะ disseminated intravascular coagulation (DIC) โดย DIC วินิจฉัยจาก ISTH DIC score โดย morphologic subtype ที่มีความสัมพันธ์กับภาวะ DIC มากกว่ากลุ่มอื่นได้แก่ AML M5⁽⁵⁾

การรักษาหลักของ acute myeloid leukemia คือการให้ยาเคมีบำบัดขนาดสูง ซึ่งเป็นหนึ่งในปัจจุบันในการกระตุ้นกลไกการแข็งตัวของเลือดที่มากขึ้นได้ โดยยาหลักที่ใช้ในการรักษาคือ cytarabine และ ยากลุ่ม anthracyclin ได้แก่ idarubicin โดยกลไกเกิดจาก endothelial injury ในการให้ยาเคมีบำบัด ทำให้เกิดการกระตุ้น procoagulant เช่น tissue factor มีการศึกษา procoagulant activity ใน leukemic cell line ที่ได้รับยาเคมีบำบัด โดยใช้ human umbilical blood แทน endothelial cell พบว่า cell line ที่ได้ idarubicin มีการกระตุ้น procoagulant activity โดยมีการเพิ่มขึ้นของ tissue factor antigen, thrombomodulin และ

phosphatidylserine ส่วน cell line ที่ได้ tamibarotene ซึ่งเป็น derivative ของ retinoic acid ที่ใช้ในการรักษา APL พบว่าลด tissue factor expression และ ลด procoagulant activity⁽¹⁵⁾

ปัจจัยส่งเสริมอื่นๆ ที่ทำให้เกิดภาวะลิ่มเลือดอุดตันในผู้ป่วย AML ได้แก่ ภาวะการติดเชื้อมี เนื่องจากผู้ป่วยกลุ่มนี้มักมีภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำ ทำให้มีการติดเชื้อมีได้ง่าย, การใส่สาย central catheter, ภาวะ hyperleukocytosis จากตัวโรคเอง, หรือ ภาวะ immobilization เป็นต้น

หลักฐานของดัชนีชี้วัดที่บ่งชี้ถึงภาวะความผิดปกติของกลไกการแข็งตัวของเลือดในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์

- thrombin-antithrombinIII complex (TAT) จากการศึกษาในผู้ป่วย AML 34 ราย พบว่ามีค่า TAT ที่สูงกว่าปกติ ($>3.1\text{ng/ml}$, $>\text{mean S.D.2}$ ของ healthy control) ร้อยละ 91 ผู้ป่วย acute non-promyelocytic leukemia แต่ในผู้ป่วย APL ในการศึกษาครั้งนี้ 4 ราย พบการเพิ่มขึ้นของค่า TAT ทุกคน คิดเป็นร้อยละ 100 ซึ่ง TAT เป็นตัวบอกระดับของ thrombin ในร่างกาย จึงอาจใช้สันนิษฐานว่าในผู้ป่วย AML มีการสร้าง thrombin ในปริมาณที่เยอะขึ้น⁽¹²⁾

- fibrinopeptide A (FPA) เป็นสาย peptide ที่ถูกตัดออกมาจาก fibrinogen โดยมี thrombin เป็นตัวตัด โดยการมี FPA ที่สูงขึ้นสามารถบ่งชี้ถึงภาวะที่มีการสร้าง thrombin ที่มากขึ้น และ มีการศึกษาในผู้ป่วย AML 27 คน พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของ FPA ในผู้ป่วย AML และเพิ่มสูงขึ้นมากในผู้ป่วยที่เป็น acute promyelocytic leukemia นอกจากนี้ยังพบว่า FPA ในผู้ป่วย APL จะมีค่าสูงขึ้นในช่วงเริ่มวินิจฉัยและช่วงที่โรคกลับมาเป็นซ้ำ (relapse) จึงสรุปได้ว่า FPA สัมพันธ์กับ จำนวน peripheral blast count ในผู้ป่วย APL อย่างไรก็ตามไม่พบความสัมพันธ์ของ FPA และ peripheral blast count ในผู้ป่วย acute non-promyelocytic leukemia อื่นๆ⁽¹⁶⁾

- microparticles (MPs) มีการศึกษาว่า cell-derived microparticle มีบทบาทในการกระตุ้นกลไกการแข็งตัวของเลือด โดย negative charge ของ phosphatidylserine บน membrane ของ MPs

กระตุ้นให้เกิดการจับกันของ TF/FVII complex และเกิดการกระตุ้น coagulation ต่อไป การศึกษาก่อนหน้าพบว่ามีการแสดงออกของ MPs ที่มากขึ้นในเซลล์เม็ดเลือดขาวตัวอ่อน ร่วมกับเซลล์ที่มีการแสดงออกของ MPs พบว่ามีค่า endogenous thrombin potential ที่สูงขึ้น ซึ่งอาจสรุปได้ว่าเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวมีคุณสมบัติเป็น procoagulant และเพิ่มปัจจัยเสี่ยงในการเกิดลิ่มเลือดอุดตัน และจากการศึกษานี้ไม่พบความเปลี่ยนแปลงของการแสดงออกของ MPs ในช่วงเวลาก่อนและหลังการรักษา AML⁽¹⁷⁾

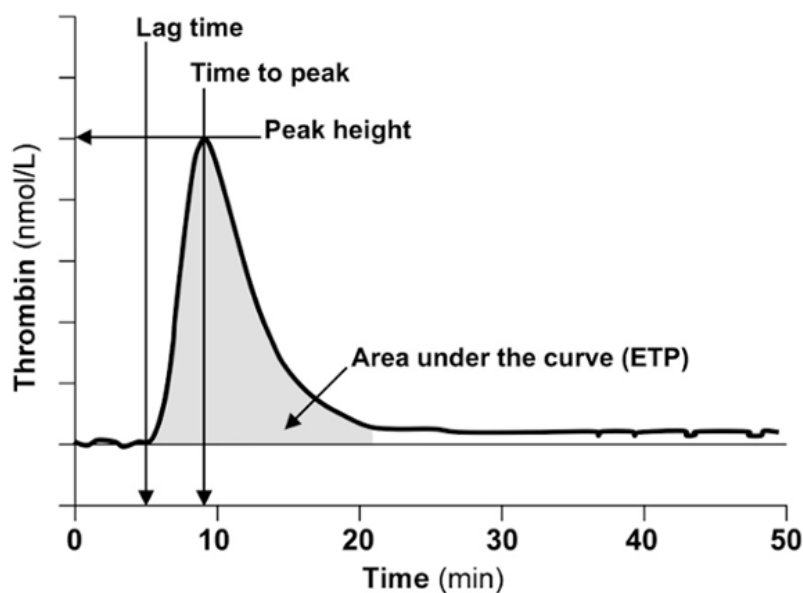
- Von Willebrand factor ristocetin cofactor (vWF-RCo) activity เนื่องจาก von willebrand factor (vWF) มีหน้าที่ทั้งในส่วน of primary hemostasis ได้แก่ platelet aggregation และ secondary hemostasis คือ ช่วย stabilize factor VIII และยังมีบทบาทในการเกิด fibrin formation จึงมีการศึกษาการทำงานของ vWF ในผู้ป่วย AML ก่อนและหลังการรักษา โดยศึกษาในผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัย AML เป็นครั้งแรกทั้งหมด 30 คน พบว่าผู้ป่วย AML มีค่าเฉลี่ยของ vWF-RCo activity ที่น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยยะสำคัญ (80.5 และ 99.5; $p < 0.001$) และเมื่อติดตามไปพบว่าค่า vWF-RCo activity มีค่าเพิ่มมากขึ้นหลังการรักษาสิ้นสุด⁽¹⁸⁾ และการศึกษา ก่อนหน้าของ Shen J. ที่พบว่า vWFAg ของผู้ป่วย AML มีค่าสูงขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุม⁽¹⁹⁾ ซึ่งสรุปได้ว่าในผู้ป่วย AML มี small multimer ของ von-Willebrand factor ที่มากขึ้นแต่ไม่สามารถทำงานได้อย่างปกติ (dysfunction)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Thrombin generation assay (TGA)

เป็นวิธีที่ใช้วัดความสามารถของ plasma ในการสร้าง thrombin หลังจากถูกกระตุ้นด้วย tissue factor และ phospholipid เป็นการประเมินการทำงานของระบบการแข็งตัวของเลือดโดยรวม (global hemostasis) โดยขั้นตอนการวัดคือ นำ platelet-poor plasma ใส่ substrate ของ thrombin ที่มีสาร fluorescent ติดไว้ เมื่อมีการกระตุ้นการแข็งตัวของเลือดโดย tissue factor, phospholipid และ calcium ทำให้เกิดการสร้าง thrombin ซึ่งจะไปย่อยทำให้สาร fluorescent ถูกแยกออกจาก substrate โดยค่าสาร fluorescent ที่วัดได้จะเป็นไปในทิศทาง

เกี่ยวกับการสร้าง thrombin โดยโปรแกรม Thrombinoscope™ จะทำการแปลผลออกมาเป็นกราฟ thrombin generation curve⁽²⁰⁾ (แผนภูมิที่ 4)



แผนภูมิที่ 4 ภาพแสดงการแปลผล thrombin generation assay

โดยจากภาพ lag time (min) คือ ระยะเวลาจากเริ่มต้นสู่การเริ่มมีการจับตัวของ thrombin

peak height (nM) คือ จำนวน thrombin สูงสุดที่เกิดการรวมตัวกัน

time to peak (min) คือ ระยะเวลาจากจุดเริ่มต้นสู่ peak height

ETP (endogenous thrombin potential) (nM•min) คือ จำนวน thrombin ทั้งหมดตั้งแต่เริ่มการจับตัวถึงสิ้นสุดโดยคำนวณจากค่าพื้นที่ใต้กราฟ

โดยใช้ค่าเหล่านี้ในการประเมินภาวะการแข็งตัวของเลือด เช่น หาก lag time นาน, peak height ต่ำ และ ETP มีค่าน้อย อาจแสดงถึงภาวะที่มีการสร้าง thrombin ในร่างกายต่ำ ซึ่งสามารถอนุมานได้ว่าผู้ป่วยมีภาวะ hypocoagulable หรือหาก ค่า lag time สั้น, peak height สูง และค่า ETP สูง เช่นเดียวกันสามารถอนุมานได้ว่ามีภาวะ hypercoagulable

มีการใช้ TGA ในการประเมินโอกาสในการเกิดเลือดออกในผู้ป่วย hemophilia โดยพบว่ากลุ่มที่มีเลือดออกจะมีค่า ETP ที่น้อยกว่ากลุ่มที่ไม่มีเลือดออกซึ่งบ่งชี้ถึงการสร้าง thrombin ในร่างกาย⁽²¹⁾ และมีหลายการศึกษาที่ใช้ TGA เพื่อทำนายโอกาสในการเกิดลิ่มเลือดอุดตัน Hron G. และคณะทำการศึกษา TGA ในผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยภาวะลิ่มเลือดอุดตัน (venous thromboembolism; VTE) ที่หยุดยาด้านการแข็งตัวของเลือดแล้ว และติดตามไป 47 เดือน พบว่ากลุ่มที่มี thrombin generation ที่สูงกว่า เพิ่มโอกาสการเกิดลิ่มเลือดอุดตันซ้ำ (recurrent VTE) ที่สูงขึ้นอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ จึงสนับสนุนการใช้ TGA ในการพยากรณ์โอกาสเกิด VTE⁽²²⁾ แต่ในการศึกษาถัดมาพบว่า TGA ที่สูงขึ้น เพิ่มโอกาสการเกิดลิ่มเลือดอุดตันมากขึ้นอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ แต่ไม่สามารถใช้ทำนายโอกาสการเกิดลิ่มเลือดอุดตันซ้ำ (recurrent VTE) ในผู้ป่วยได้⁽²³⁾

Thrombin generation in acute myeloid leukemia

มีการศึกษา thrombin generation assay ในผู้ป่วยโรคเลือดเด็กที่มีปัญหาเลือดออกผิดปกติ 126 คน โดยมีผู้ป่วย hematologic malignancy 44 คน (ร้อยละ 34) พบว่าผู้ป่วยที่มีปัญหาเลือดออกผิดปกติ ที่มี bleeding grade ≥ 2 มีค่า ETP ที่ต่ำกว่าปกติ และมี peak thrombin ที่ลดลงกว่าค่าปกติ แต่ไม่พบความแตกต่างของค่า lag time และพบว่าสัมพันธ์กับจำนวนเกล็ดเลือดที่ต่ำด้วย ซึ่งสรุปได้ว่าผู้ป่วยที่มีภาวะเลือดออกรุนแรง (severe bleeding) สัมพันธ์กับการสร้าง global thrombin generation ที่ลดลง และพบว่า ETP มีค่าสูงขึ้นในกลุ่มคนไข้ที่มีเกล็ดเลือดต่ำกว่า 10,000 cells/ul ซึ่งสันนิษฐานว่าอาจจะสัมพันธ์กับการรักษาในผู้ป่วยกลุ่มนี้เช่น การให้เกล็ดเลือด (platelet transfusion) หรือ การให้ recombinant activated factor VII เนื่องจากการศึกษาไม่ได้บอกว่าคุณค่า thrombin generation assay เป็นการเจาะเลือด ก่อนหรือหลังการรักษา⁽²⁴⁾ อย่างไรก็ตามยังไม่พบการศึกษา thrombin generation assay ที่ศึกษาในผู้ป่วยผู้ใหญ่ที่ได้รับการวินิจฉัย AML

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

รูปแบบการวิจัย

Prospective analytical cohort study

วิธีระเบียบการวิจัย

ประชากร (Population) และ ตัวอย่าง (Sample)

เกณฑ์การคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างเข้าร่วมโครงการวิจัย (Inclusion criteria)

1. อายุมากกว่าหรือเท่ากับ 18 ปี
2. ผู้ป่วยรายใหม่ทุกรายที่ได้รับการวินิจฉัยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์
3. ผู้ป่วยได้รับการติดตามการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

เกณฑ์การคัดเลือกรวมตัวอย่างออกจากโครงการวิจัย (Exclusion criteria)

1. ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยเป็น relapsed disease หรือผู้ป่วยที่ได้รับยาเคมีบำบัดสูตร induction มากกว่า 1 สูตรยามาตรฐาน
2. ผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านการแข็งตัวของเลือด (anticoagulant) หรือยาต้านเกล็ดเลือด (antiplatelet)
3. ผู้ป่วยที่มีโรคประจำตัวเรื้อรังที่มีผลต่อค่าการแข็งตัวของเลือด เช่น ผู้ป่วยโรคตับแข็งเรื้อรัง, ผู้ป่วยไตวายเรื้อรังที่ต้องได้รับการฟอกไตเป็นประจำ

4. ผู้ป่วยที่ได้รับยาคุมกำเนิดทุกชนิด

ขนาดตัวอย่าง (Sample size)

โดยใช้สูตรคำนวณ ตาม William Cochran Formula

$$\text{sample size } n_0 = Z_{a/2}^2 (p)(1-p) / e^2$$

$$n_0 = \text{จำนวนประชากรผู้ป่วยใหม่ที่ได้รับการวินิจฉัยมะเร็ง AML}$$

$Z_{a/2}^2$ = การกระจายความน่าจะเป็น โดย $a/2 = 0.025$ การกำหนดความผิดพลาดโดยพื้นที่ใต้กราฟ two-tailed areas ของ 95% confidence interval (95% CI) คือ 1.95996.

$$p = \text{อุบัติการณ์การเกิดเหตุ คือ } 45\% = 0.45$$

$$1-p = 1-0.45 = 0.55$$

$$e^2 = \text{ค่ายอมรับความผิดพลาดที่ร้อยละ } 15 (0.15)$$

$$\text{ดังนั้น จะคำนวณได้ดังนี้ } (1.96)^2 \times (0.45 \times 0.55) / (0.15)^2 = 43$$

จากการคำนวณได้จำนวนประชากรที่ใช้ในการศึกษานี้ 43 คน

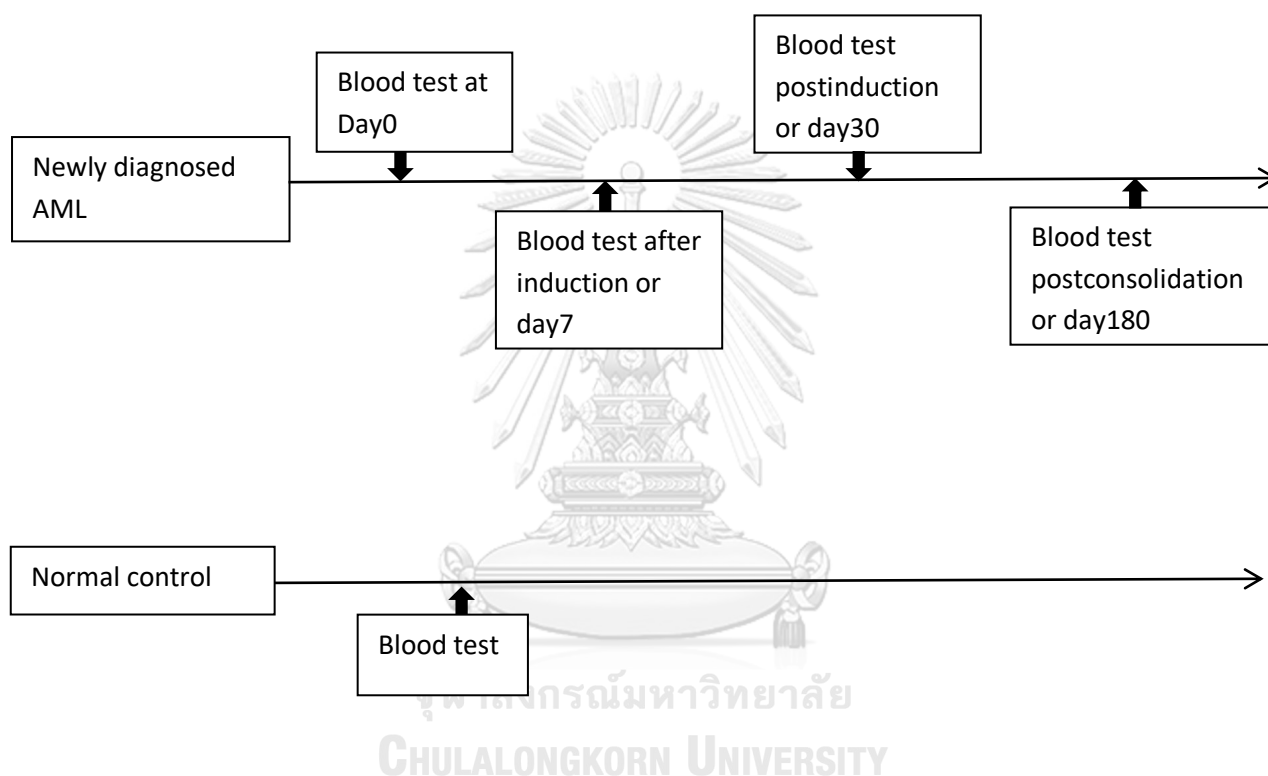
ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

ผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์ทุกคนที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จะได้รับการประเมินตาม inclusion และ exclusion criteria ผู้ป่วยที่เข้าเกณฑ์จะได้รับการเชิญชวนเข้าร่วมโครงการวิจัย หลังจากผ่านการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยแล้ว

1. ผู้วิจัยอธิบายวิธีการวิจัย ข้อดีและข้อเสียของการวิจัยให้แก่ผู้ป่วย

2. ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยลงนามยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย
3. สอบถามและบันทึกข้อมูลพื้นฐานของผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย
4. ในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด induction จะกำหนดให้เจาะเลือด 20 มิลลิลิตร ก่อนได้รับการรักษา, หลังได้ยาครบ, วันที่เจาะไขกระดูกประเมินผลการรักษาหลังยาเคมีบำบัด induction และ หลังได้ยาเคมีบำบัด consolidation ครบ
5. ในผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด induction จะกำหนดให้เจาะเลือด 20 มิลลิลิตร ก่อนได้รับการรักษา, วันที่ 7 หลังการรักษา, วันที่ 30 หลังการรักษา และ วันที่ 180 หลังได้รับการรักษา
6. เลือดที่ได้จะใส่ในหลอด 3.2% sodium citrate และถูกนำส่งที่ห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยา รพ.จุฬาลงกรณ์
7. ตัวอย่างเลือดที่ได้จะถูกปั่นด้วยวิธี double centrifugation โดยการปั่นรอบแรกจะปั่นที่ 1,500 รอบต่อนาที นาน 15 นาที จะได้เป็น platelet-rich plasma (PRP) หลังจากนั้นนำ PRP ที่ได้ไปปั่นที่ 16,000 รอบต่อนาที นาน 6 นาที จะได้เป็น platelet-poor plasma (PPP) แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -80°C
8. ก่อนที่จะนำ PPP ที่เก็บไว้มาทำการศึกษา จะนำ PPP ที่เก็บไว้ไปละลายในอ่างที่มีอุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 5 นาที เพื่อนำไปตรวจดังนี้
 - Thrombin generation assay
 - Tissue factor antigen
 - D-dimer
 - Von-Willebrand factor antigen
 - Fibrinogen level
 - Prothrombin time, activated potential thromboplastin time
9. มีการเก็บตัวอย่างเลือดในลักษณะเดียวกันกับอาสาสมัครประชากรทั่วไป (normal control) ที่มีช่วงอายุเดียวกับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบแบบ

age-matched โดยอาสาสมัครทั่วไปจะต้องไม่มีโรคประจำตัว, โรคเลือด, ไม่เคยมีประวัติเป็นโรคมะเร็งมาก่อน ไม่เคยมีประวัติรับประทานยาต้านการแข็งตัวของเลือด, ยาต้านเกล็ดเลือด, ยาคุมหรือยาสมุนไพรอื่นๆ (ดังแผนภูมิที่ 5) โดยอาสาสมัครประชากรทั่วไปได้รับคำชี้แจงวิธีการวิจัย ข้อดีข้อเสีย และได้ลงนามยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยเช่นเดียวกับผู้เข้าร่วมวิจัย



แผนภูมิที่ 5 แสดงช่วงเวลาการเก็บตัวอย่างเลือด

การรวบรวมข้อมูล

1. ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับการบันทึกข้อมูลพื้นฐาน เช่น อายุ เพศ โรคประจำตัว ประวัติการสูบบุหรี่หรือดื่มสุรา ผลเลือดเบื้องต้น เช่น complete blood count (CBC), creatinine, liver function test เป็นต้น รวมถึงชนิดของโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์

2. มีการบันทึกประวัติอาการเลือดออกผิดปกติ หรือมีหลอดเลือดอุดตันที่ได้รับการยืนยันโดยผลทางรังสีวินิจฉัย ตั้งแต่ได้รับการวินิจฉัยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์ของผู้เข้าร่วมวิจัย
3. ผู้เข้าร่วมวิจัยจะถูกติดตามตลอดการรักษา รวมถึงติดตามผลการรักษาที่เกิดขึ้น

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย ได้แก่ ข้อมูลเพศ อายุ ประเภทของ acute myeloid leukemia จำแนกตาม WHO classification และ FAB classification และผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ จะแสดงเป็นจำนวนและร้อยละ
2. การวิเคราะห์ความแตกต่างของผลทางห้องปฏิบัติการในกลุ่มการทดลองและอาสาสมัครประชากรทั่วไป ใช้ paired T-test ในกรณีที่ข้อมูลเชิงปริมาณมีการแจกแจงแบบปกติ (normal distribution)
3. การวิเคราะห์ความแตกต่างของผลทางห้องปฏิบัติการในกลุ่มการทดลองและอาสาสมัครประชากรทั่วไป ใช้ non-parametric test ในกรณีที่ข้อมูลเชิงปริมาณไม่ได้มีการแจกแจงแบบปกติ
4. ทดสอบความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วย Chi-square ในกรณีที่ข้อมูลเชิงปริมาณมีการแจกแจงแบบปกติ
5. การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละช่วงเวลา ใช้ one way ANOVA ในข้อมูลที่มีการแจกแจงแบบปกติ

ผู้วิจัยทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม SPSS version โดยกำหนดค่า P value < 0.05 ที่แสดงถึงความสัมพันธ์ทางสถิติที่มีนัยยะสำคัญ

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษาอยู่ในช่วงระหว่างเดือนมีนาคม 2561 ถึงเดือนเมษายน 2563 มีผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันชนิดมัยอีลอยด์ที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่อยู่ในเกณฑ์การเข้าร่วมการศึกษาและยินยอมเข้าร่วมการรักษาจำนวนทั้งหมด 32 ราย และอาสาสมัครสุขภาพปกติทั่วไป 32 ราย

ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย

ผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการวิจัย 32 ราย เป็นเพศชาย 18 คน (ร้อยละ 56) และ เพศหญิง 14 คน (ร้อยละ 44) มีอายุต่ำสุดเท่ากับ 17 ปี อายุสูงสุดเท่ากับ 63 ปี อายุเฉลี่ย 43 ปี โดยผู้เข้าร่วมวิจัยส่วนมากมีช่วงอายุอยู่ในช่วง 46-55 ปี ผู้เข้าร่วมโครงการร้อยละ 62 (20คน) ไม่มีโรคประจำตัวใดๆ ผู้เข้าร่วมวิจัย 3 คน (ร้อยละ 9) มีโรคประจำตัวเป็นความดันโลหิตสูง มีโรคประจำตัวเป็นเบาหวาน 3 คน (ร้อยละ 9) และมี 1 คน มีโรคติดเชื้อเอชไอวีร่วมด้วย

ผู้ป่วยเข้าร่วมโครงการวิจัย 13 คน (ร้อยละ 40) ได้รับการวินิจฉัย AML-recurrent cytogenetics ตาม WHO classification 11 คน (ร้อยละ 35) ได้รับการวินิจฉัย AML-not otherwise specific และ 8 คน (ร้อยละ 25) ได้รับการวินิจฉัย AML-myelodysplasia related changes ทั้งนี้หากแบ่งตาม FAB classification พบว่าผู้ป่วย 15 คน (ร้อยละ 46) ได้รับการวินิจฉัย AML M1-M2 และ 12 คน (ร้อยละ 37) ได้รับการวินิจฉัย AML M4-5 มีผู้ป่วย 3 คน (ร้อยละ 10) ได้รับการวินิจฉัย AML M3 (acute promyelocytic leukemia) และมีผู้ป่วย 2 ราย (ร้อยละ 7) ได้รับการวินิจฉัย AML M6

เมื่อจำแนกโรค AML ตามการพยากรณ์ของโรคตาม European Leukemia Net (ELN) risk stratification ผู้ป่วย 6 คน (ร้อยละ 19) จัดอยู่ใน กลุ่ม favorable group ผู้ป่วย 13 คน (ร้อยละ 40) จัดอยู่ในกลุ่ม intermediate group และ 11 คน (ร้อยละ 34) จัดอยู่ในกลุ่ม unfavorable

group ทั้งนี้ผู้ป่วยอีก 3 คนได้รับการวินิจฉัยเป็น acute promyelocytic leukemia จะถูกจำแนกโรคแตกต่างจากข้างต้น โดยจะจำแนกตามจำนวนเม็ดเลือดขาวและจำนวนเกล็ดเลือด ซึ่งในผู้ป่วยทั้ง 3 คนจัดอยู่ในกลุ่ม high risk group ทั้งหมด

พบปริมาณ hemoglobin ของผู้ป่วยที่อยู่ในงานวิจัยที่น้อยกว่า 6 g/dl 6 คน (ร้อยละ 18) ปริมาณ hemoglobin อยู่ในช่วง 6-7.9 g/dl 12 คน (ร้อยละ 38) ช่วง 8-9.9 g/dl 10 คน (ร้อยละ 32) มากกว่าหรือเท่ากับ 10 g/dl 4 คน (ร้อยละ 12)

พบปริมาณเกล็ดเลือดที่น้อยกว่า 20,000 cells/ul 10 คนจากผู้ป่วยทั้งหมด (ร้อยละ 31) ปริมาณเกล็ดเลือดอยู่ในช่วง 20,000-40,000 cells/ul 3 คน (ร้อยละ 10) ช่วง 40,001-60,000 cells/ul 3 คน (ร้อยละ 10) ช่วง 60,001-80,000 cells/ul จำนวน 4 คน (ร้อยละ 11) และผู้ป่วยที่มีปริมาณเกล็ดเลือดมากกว่า 80,000 cells/ul มีจำนวน 12 คน (ร้อยละ 38)

ในผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการทั้งหมดพบว่า มี 13 คน (ร้อยละ 39) ที่มีปัญหาเลือดออกผิดปกติ ณ เวลาที่ได้รับการวินิจฉัย AML โดยส่วนมากบริเวณที่พบได้แก่ ในช่องปากและเหงือก พบ 6 คน (ร้อยละ 46) และจุดเลือดออกที่ผิวหนัง 5 คน (ร้อยละ 38) โดยมีผู้ป่วย 3 ราย ที่มีการเลือดออกมากกว่า 1 ตำแหน่ง โดยรายแรกมีเลือดออกบริเวณจอประสาทตา (retina) ร่วมกับเหงือก รายที่สองมีเลือดออกที่เหงือกและทางเดินปัสสาวะ และรายที่สามมีเลือดออกที่เหงือกและจุดเลือดออกผิวหนัง ไม่พบผู้ป่วยที่มีภาวะลิ่มเลือดอุดตันในการศึกษานี้ ณ ช่วงที่ได้รับการวินิจฉัย AML

ตารางที่ 2 แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย

| | จำนวน(ร้อยละ) (n=32) |
|---|----------------------|
| <u>เพศ</u> | |
| ชาย | 18 (56) |
| หญิง | 14 (44) |
| <u>อายุ (ปี)</u> | |
| 15-25 | 4 (12) |
| 26-35 | 2 (6) |
| 36-45 | 9 (29) |
| 46-55 | 12 (37) |
| >55 | 5 (16) |
| <u>WHO Classification</u> | |
| Recurrent Cytogenetic | 13 (40) |
| MRC | 8 (25) |
| NOS | 11 (35) |
| <u>ELN Risk Stratification</u> | (n=30) |
| Favorable | 6 (19) |
| Intermediate | 13 (40) |
| Adverse | 11 (34) |
| <u>FAB Classification</u> | |
| M0 | 1 (3) |
| M1-2 | 15 (46) |
| M3 | 3 (10) |
| M4-5 | 12 (37) |
| M6 | 2 (6) |
| <u>ปริมาณ baseline hemoglobin (g/dl)</u> | |
| <6 | 6 (18) |
| 6-7.9 | 12 (38) |
| 8-9.9 | 10 (32) |

| | |
|--|----------|
| >11 | 4 (12) |
| ปริมาณ baseline platelet (cells/ul) | |
| <20,000 | 10 (31) |
| 20,001-40,000 | 3 (10) |
| 40,001-60,000 | 3 (10) |
| 60,001-80,000 | 4 (11) |
| >80,000 | 12 (38) |
| บริเวณที่มีเลือดออกผิดปกติ ณ ตอน | (N = 13) |
| วินิจฉัย | 5 (38) |
| Skin | 6 (46) |
| Gum | 1 (8) |
| Genitourinary tract | 1 (8) |
| Retina | |

ผลเปรียบเทียบปัจจัยที่ศึกษา

จากการศึกษา thrombin generation assay และ coagulation markers ต่างๆ เปรียบเทียบผู้ป่วย acute myeloid leukemia กับ กลุ่มควบคุมที่เป็นอาสาสมัครสุขภาพปกติ โดยเปรียบเทียบแบบ age-matched control พบว่า ค่าเฉลี่ย peak thrombin generation ในผู้ป่วย AML มีค่า 193.8 nM เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 177.7 nM พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ ($p=0.43$) และไม่พบความแตกต่างกันของค่า endogenous thrombin potential ซึ่งในกลุ่มผู้ป่วยมีค่าเฉลี่ย 1,403.3 nM•min และกลุ่มควบคุมมีค่า 1,524.7 nM•min ($p=0.17$) พบว่า lag time จากจุดเริ่มต้นถึงการเริ่มเกิด thrombin generation ในผู้ป่วย AML มีค่า 7.33 min เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีค่า 9.34 min ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยยะ

สำคัญ ($p=0.08$) ทั้งนี้ก็ติดตามจากค่าของ thrombin generation assay อาจจะไม่สามารถระบุความแตกต่างของผู้ป่วยและกลุ่มควบคุมได้ชัดเจน

แต่อย่างไรก็ตามพบว่าค่า d-dimer ในกลุ่มผู้ป่วย AML มีค่าสูงกว่า (4,046.8 ng/dl) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (280.8 ng/dl) อย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) ค่า vWFAg มีค่าสูงขึ้นในกลุ่มผู้ป่วย AML เท่ากับ 200.8 U/dl เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีค่าเฉลี่ย 113.6 U/dl ($p<0.001$) และ ค่าเฉลี่ยของ tissue factor antigen มีค่าสูงกว่า (76.2 pg/ml) กลุ่มควบคุม (55.4 pg/ml) อย่างมีนัยยะสำคัญ ($p=0.001$) แต่ไม่พบความแตกต่างของค่า fibrinogen ในประชากรทั้งสองกลุ่ม (316 mg/dl และ 299 mg/dl; $p=0.37$) (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบค่า parameters ในกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม

| Parameters (ค่าเฉลี่ย) | ผู้ป่วย AML (N=32) | กลุ่มควบคุม (N=32) | P-Value |
|-------------------------------|-----------------------|-----------------------|---------|
| Peak Thrombin generation (nM) | 193.8 (20.5) | 177.7 (6.2) | 0.43 |
| ETP (nM·min) | 1,403.3 (60.9) | 1,524.7(30.1) | 0.17 |
| Lag time (min) | 7.33 (1.3) | 9.34 (0.2) | 0.08 |
| D-dimer (ng/dl) | 4,046.8 (731.5) | 280.8 (45.2) | <0.001 |
| vWFAg (U/dl) | 200.8 (18.9) | 113.6 (5.1) | <0.001 |
| TFAg (pg/ml) | 76.2 (4.9) | 55.4 (4.1) | 0.001 |
| Fibrinogen level (mg/dl) | 316 (19.3) | 299 (12.3) | 0.37 |

จากตารางแสดงค่าเฉลี่ย (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

จากผู้ป่วยทั้งหมดในการศึกษานี้ 32 คน ได้วินิจฉัยภาวะ disseminated intravascular coagulation (DIC) 9 คน (ร้อยละ 28) โดยวินิจฉัยจาก The International Society of Thrombosis and Hemostasis DIC score โดยเกณฑ์การวินิจฉัย overt DIC คือ มากกว่าหรือ

เท่ากับ 5 หาก DIC score มีค่าน้อยกว่า 5 จะวินิจฉัยเป็น non-overt DIC ดังนั้นในการศึกษานี้จึงใช้ค่า cutpoint ที่ใช้วินิจฉัย DIC คือ 5

มีผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการวิจัย 13 คน ที่มีปัญหาเลือดออกผิดปกติ คิดอุบัติการณ์เป็นร้อยละ 40 เมื่อนำผู้ป่วย AML กลุ่มที่มีเลือดออกผิดปกติมาเปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่ไม่มีเลือดออกผิดปกติ พบว่าค่าของ thrombin generation ไม่ต่างกันทั้งสองกลุ่ม ทั้ง endogenous thrombin potential, peak thrombin generation และ lag time (1,434.9 nM•min และ 1,381.5 nm•min; $p=0.69$, 189.4 nM และ 197 nM; $p=0.84$, 8.6 min และ 9.8 min; $p=0.58$ ตามลำดับ) ค่า fibrinogen ในทั้งสองกลุ่มไม่พบความแตกต่างกัน (325 mg/dl และ 307 mg/dl; $p=0.64$) รวมถึงค่า TFAg ก็ไม่พบความแตกต่างกันทั้งสองกลุ่ม (76.2 pg/ml และ 73.5 pg/ml; $p=0.80$) พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดเลือดออกผิดปกติได้แก่ ปริมาณเกล็ดเลือด และ DIC score โดยพบว่าคุณสมบัติของปริมาณเกล็ดเลือดในกลุ่มผู้ป่วยที่มีเลือดออกเท่ากับ 21,000 cells/ul เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีเลือดออก 75,000 cells/ul ($p=0.03$) และพบว่าคุณสมบัติของ DIC score ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีเลือดออกมีค่าสูงกว่าในกลุ่มที่ไม่มีเลือดออก (5 และ 3; $p=0.02$) ซึ่งเนื่องจาก DIC score คำนวณจากปริมาณเกล็ดเลือด, ค่า d-dimer, ค่า prothrombin time และ fibrinogen จะเห็นว่าค่าเกล็ดเลือดมีค่าสูงขึ้นในกลุ่มผู้ป่วยที่มีเลือดออก และ ค่า d-dimer มีแนวโน้มสูงขึ้นในกลุ่มผู้ป่วยที่มีเลือดออกเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีเลือดออก (5,865.1 ng/dl และ 2,492.1 ng/dl; $p=0.01$) อย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ จึงทำให้ค่าคำนวณ DIC score สูงขึ้นในกลุ่มที่มีเลือดออกเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีเลือดออก รวมถึงไม่พบความแตกต่างของค่า vWFAg ในทั้งสองกลุ่ม (220.5 U/dl และ 180.5 U/dl; $p=0.26$) (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบค่า parameters ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีเลือดออกผิดปกติและไม่มีเลือดออก

| Parameters at diagnosis | Bleeding group (N=13) | Non-Bleeding group (N=19) | p-value |
|----------------------------------|--------------------------|------------------------------|---------|
| Peak thrombin generation (nM) | 189.4 (30.7) | 197.0 (23.0) | 0.84 |
| ETP (nM·min) | 1,434.9 (129.9) | 1,381.5 (65.1) | 0.69 |
| Lag time (min) | 8.6 (1.6) | 9.8 (1.6) | 0.58 |
| Median Platelet (cells/uL) | 21,000 (53,500) | 75,000 (50,500) | 0.03 |
| D-dimer (ng/dl) | 5,865.1 (1,090.9) | 2,492.1 (706.5) | 0.01 |
| Median DIC score | 5 (2) | 3 (1.75) | 0.02 |
| vWFAg (U/dl) | 220.5 (25.9) | 180.5 (23.2) | 0.26 |
| TFAg (pg/ml) | 76.2 (8.4) | 73.5 (6.8) | 0.80 |
| Fibrinogen level (mg/dl) | 325 (29.2) | 307 (23.7) | 0.64 |

จากตารางแสดงค่าเฉลี่ย (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) และ ค่ามัธยฐาน (ค่าพิสัยควอไทล์)

ระหว่างมีนาคม 2561 ถึงเดือนเมษายน 2563 มีผู้ป่วย 1 คน ได้รับการวินิจฉัยภาวะลิ่มเลือดอุดตันในเส้นเลือดดำใหญ่ที่ขา (deep vein thrombosis, DVT) ณ เวลาที่ได้รับการวินิจฉัย AML คิดอุบัติการณ์ได้เป็นร้อยละ 3 ซึ่งผู้ป่วยรายนี้ อายุ 49 ปี ไม่มีโรคประจำตัว ได้รับการวินิจฉัย Acute myeloid leukemia, NOS, intermediate risk และวินิจฉัย AML-M2 ประเมินตาม FAB classification อย่างไรก็ตามผู้ป่วยถูกคัดออกจากการศึกษาเนื่องจากได้รับการรักษาด้วย low-molecular weight heparin จึงไม่นำมาวิเคราะห์รวมในการศึกษานี้

เมื่อเปรียบเทียบค่าตัวแปรต่างตามจำนวน peripheral blast cells พบว่า ค่าของ peak thrombin generation มีค่าสูงขึ้นตามปริมาณของ peripheral blast cell ที่มากขึ้น อย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ (174.6 nM และ 273.3 nM; $p=0.04$) ซึ่ง peak thrombin generation อาจจะสัมพันธ์กับภาวะ hypercoagulable state ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวได้ ทั้งนี้ การศึกษานี้ไม่สามารถแสดงผลความแตกต่างของตัวแปรอื่นๆ ได้แก่ endogenous thrombin potential, lag time, median platelet, d-dimer, DIC score, TFAg, vWFAg และ fibrinogen

เมื่อแยกตามจำนวน peripheral blast cell อย่างไรก็ตามค่า d-dimer มีแนวโน้มสูงขึ้นตามปริมาณของ peripheral blast แต่ไม่มีนัยยะสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบค่า parameters ของผู้ป่วยแยกตามจำนวนของ peripheral blast

| Parameters at diagnosis | Peripheral blast <40,000 cells/ul (N=26) | Peripheral blast ≥40,000 cells/ul (N=6) | p-value |
|----------------------------------|--|---|---------|
| Peak thrombin generation (nM) | 174.6 (100.1) | 273.3 (28.6) | 0.04 |
| ETP (nM·min) | 1,401.5 (385.3) | 1,527.8 (273.1) | 0.53 |
| Lag time (min) | 9.8 (6.8) | 8.2 (1.0) | 0.61 |
| Median Platelet (cells/uL) | 34,000 (347,500) | 71,000 (61,750) | 0.58 |
| D-dimer (ng/dl) | 3,546.9 (3,700.4) | 5,253.8 (3,938.4) | 0.35 |
| Median DIC score | 3 (2.25) | 4 (3) | 0.47 |
| vWFAg (U/dl) | 192.3 (100.9) | 209.4 (80.9) | 0.72 |
| TFAg (pg/ml) | 74.0 (31.0) | 70.2 (17.8) | 0.79 |
| Fibrinogen level (mg/dl) | 313 (104.1) | 356 (68.9) | 0.38 |

จากตารางแสดงค่าเฉลี่ย (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) และ ค่ามัธยฐาน (ค่าพิสัยควอไทล์)

พบว่าผู้ป่วยที่มีปริมาณ peripheral blast <40,000 cells/ul ได้รับการวินิจฉัย DIC จาก DIC score 2 คน จากจำนวนผู้ป่วย 6 คน คิดเป็นร้อยละ 33 ผู้ป่วยที่มีปริมาณ peripheral blast มากกว่าหรือเท่ากับ 40,000 cells/ul วินิจฉัย DIC จำนวน 7 คน จากผู้ป่วย 26 คน คิดเป็นร้อยละ 26

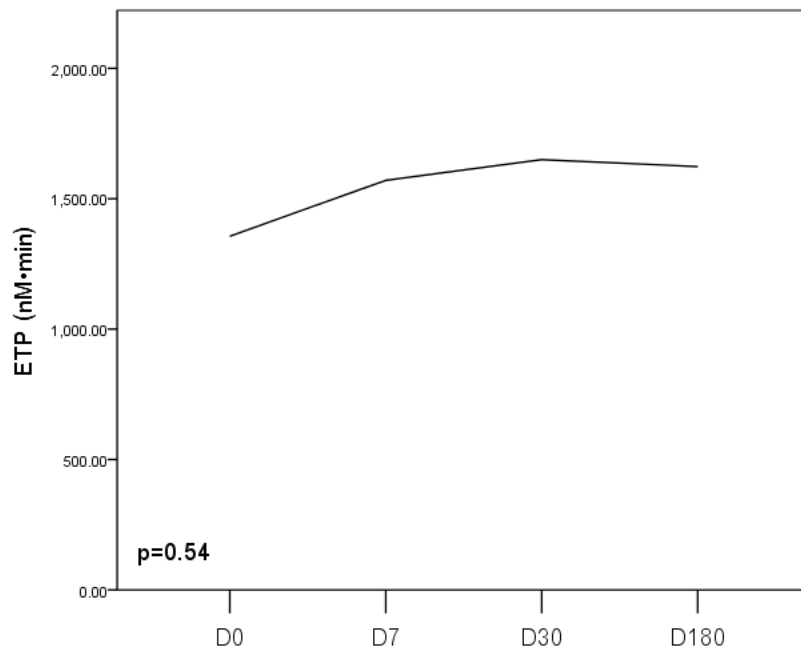
ตารางที่ 6 แสดงค่า parameter ต่างในแต่ละช่วงเวลา พบว่าไม่มีความแตกต่างกันของ thrombin generation assay ในแต่ละช่วงเวลาของการรักษา ได้แก่ ช่วงก่อนให้ยาเคมีบำบัด ช่วง

หลังได้ยาเคมีบำบัดครบ หรือวันที่ 7 หลังการรักษา ช่วงที่ไขกระดูกฟื้นตัวจากช่วง induction หรือวันที่ 30 หลังการรักษา และช่วงที่ฟื้นการรักษาช่วง consolidation หรือวันที่ 180 หลังการรักษา โดยค่า peak thrombin generation ได้แก่ 193.8 nM, 194.9 nM, 210.4 nM และ 231.7 nM ตามลำดับ (p=0.38) ค่า endogenous thrombin potential ได้แก่ 1,403.2 nM•min, 1,477.5 nM•min, 1,515.6 nM•min และ 1,533.3 nM•min ตามลำดับ (p=0.54) และ lag time มีค่า 9.3 min, 10.3 min, 8.1 min และ 7.3 ตามลำดับ (p=0.22) พบว่าค่ามัธยฐานของปริมาณเกล็ดเลือด มีความแตกต่างกันในแต่ละช่วงเวลา กล่าวคือ ณ เวลาที่ได้รับการวินิจฉัย ผู้ป่วยมักมีภาวะเกล็ดเลือดต่ำ และหลังได้ยาเคมีบำบัดผู้ป่วยจำนวนเกล็ดเลือดที่ต่ำลง และเมื่อไขกระดูกเริ่มฟื้นตัว ปริมาณเกล็ดเลือดของผู้ป่วยจะเพิ่มขึ้น รวมถึงเมื่อรักษาถึงจบ consolidation นอกจากนี้พบว่าค่า d-dimer มีแนวโน้มค่อยๆต่ำลงตามช่วงเวลาการรักษา อย่างมีนัยยะสำคัญกล่าวคือ 3,797.8 ng/dl, 2,567.3 ng/dl, 1,043.7 ng/dl และ 440.5 ng/dl (p<0.001) ซึ่งอาจอนุมานได้ถึงภาวะ DIC ที่ดีขึ้นหลังการรักษา สอดคล้องกับค่ามัธยฐาน DIC score ที่ลดลงตามช่วงเวลาอีกด้วย (3, 2, 1 และ 1; p<0.001) ไม่พบความแตกต่างของค่า vWFAg ในแต่ละช่วงเวลา ได้แก่ 197.3 U/dl, 174.8 U/dl, 150.1 U/dl และ 138.3 U/dl (p=0.17) เช่นเดียวกับ TFAg และ fibrinogen level ที่ไม่พบความแตกต่างระหว่างการรักษาเช่นกัน (74.6 pg/ml, 61.1 pg/ml, 66.6 pg/ml และ 83.8 pg/ml; p=0.17 และ 319 mf/dl, 382 mg/dl, 369 mg/dl และ 329 mg/dl; p=0.11) (ตารางที่ 6-11)

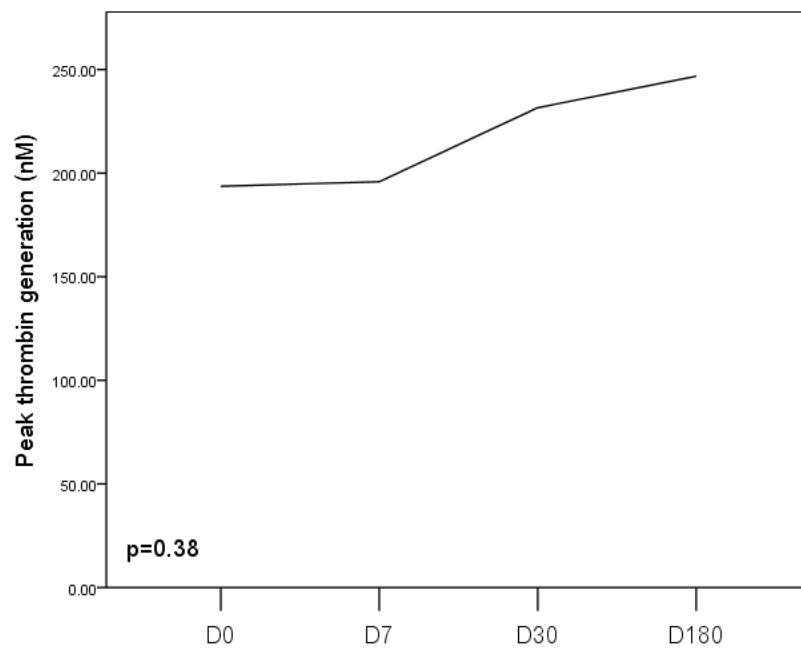
ตารางที่ 6 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่า parameter ในแต่ละช่วงเวลาของการรักษา

| Parameters at diagnosis | Timing from diagnosis | | | | p-value |
|-------------------------------|-----------------------|--------------------|----------------------|----------------------|---------|
| | Day0 (N=32) | Day7 (N=25) | Day30 (N=21) | Day180 (N=13) | |
| Peak thrombin generation (nM) | 193.8 (102.8) | 194.9 (29.3) | 210.4 (73.9) | 231.7 (79.4) | 0.38 |
| ETP (nM·min) | 1,403.3 (317.9) | 1,477.5 (215.5) | 1,515.6 (178.6) | 1,533.3 (227.5) | 0.54 |
| Lag time (min) | 9.3 (1.6) | 10.3 (2.1) | 8.1 (1.1) | 7.3 (1.7) | 0.22 |
| Median Platelet (cells/uL) | 75,000 (396,700) | 28,000 (88,750) | 239,000 (392,750) | 153,000 (314,750) | 0.004 |
| D-dimer (ng/dl) | 3,797.8 (563.3) | 2,567.3 (660.7) | 1,043.7 (339.3) | 440.5 (72.1) | <0.001 |
| Median DIC score | 3 (4) | 2 (2) | 1 (1) | 1 (1) | <0.001 |
| vWFAg (U/dl) | 197.3 (71.2) | 174.8 (29.8) | 150.1 (7.5) | 138.3 (30.4) | 0.17 |
| TFAg (pg/ml) | 74.6 (12.8) | 61.1 (7.8) | 66.6 (6.4) | 83.8 (21.5) | 0.18 |
| Fibrinogen level (mg/dl) | 318 (14.7) | 382 (30.6) | 369 (81.4) | 329 (21.8) | 0.11 |

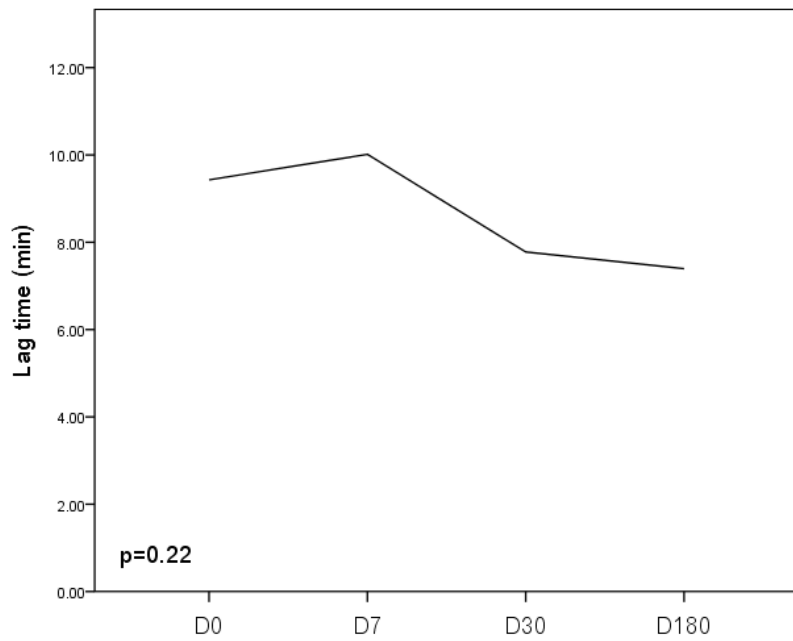
จากตารางแสดงค่าเฉลี่ย (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) และ ค่ามัธยฐาน (ค่าพิสัยควอไทล์)



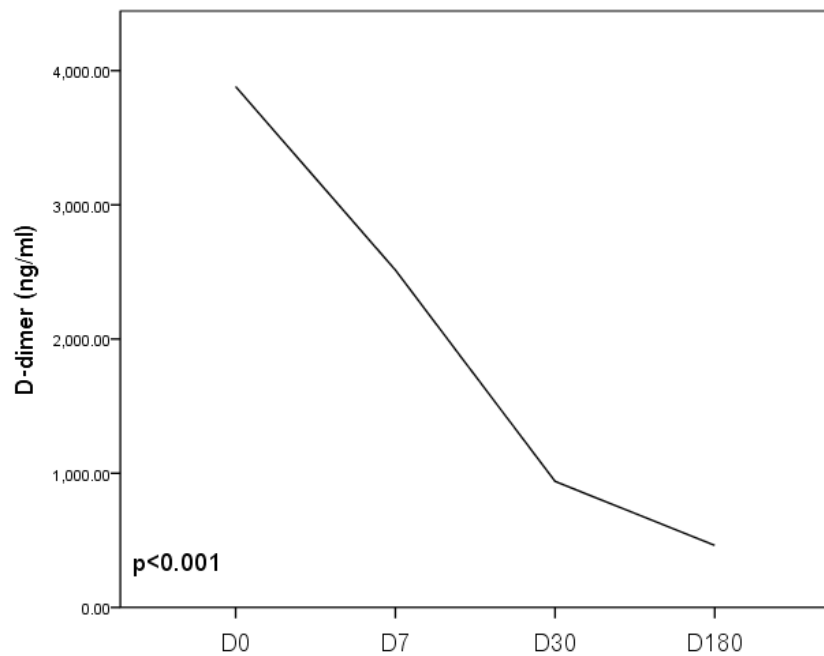
แผนภูมิที่ 6 แสดงการเปลี่ยนแปลงของ endogenous thrombin potential ในแต่ละช่วงเวลาของการรักษา



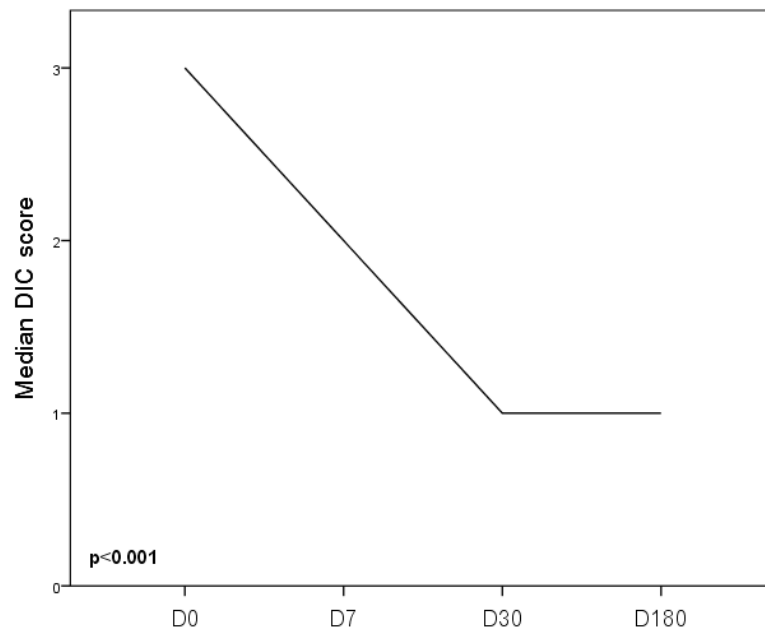
แผนภูมิที่ 7 แสดงการเปลี่ยนแปลงของ peak thrombin generation ในแต่ละช่วงเวลาของการรักษา



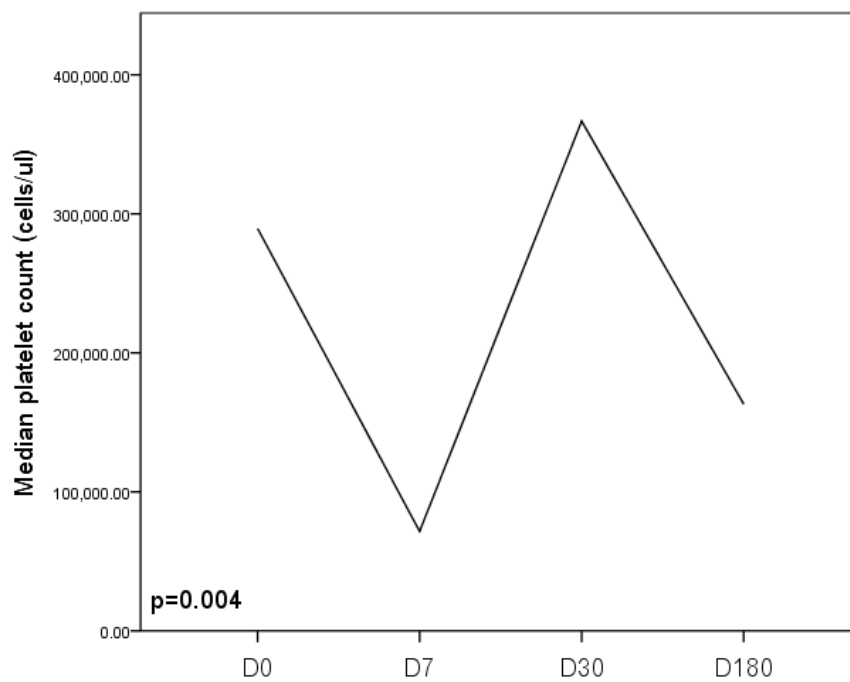
แผนภูมิที่ 8 แสดงการเปลี่ยนแปลงของ lag time ในแต่ละช่วงเวลาของการรักษา



แผนภูมิที่ 9 แสดงการเปลี่ยนแปลงของ d-dimer ในแต่ละช่วงเวลาของการรักษา

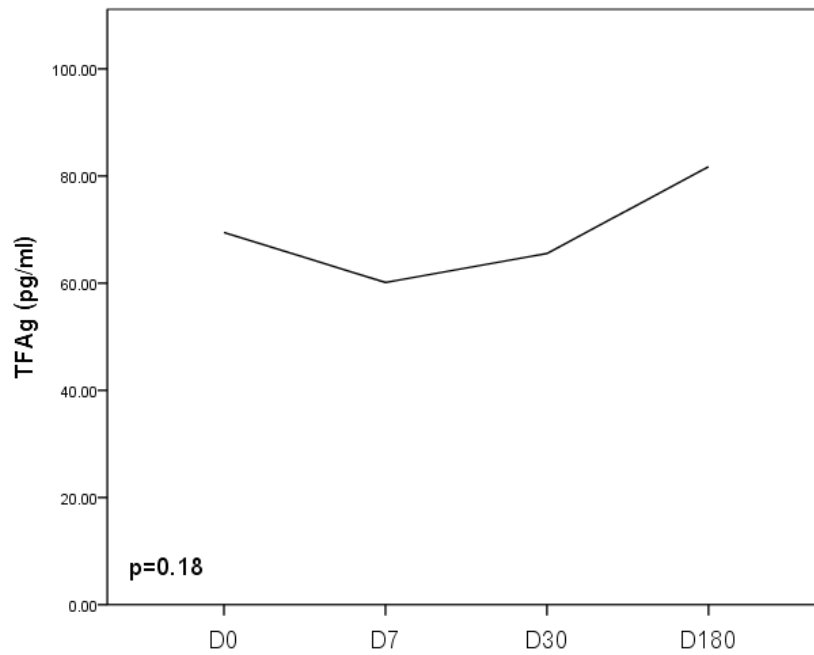


แผนภูมิที่ 10 แสดงการเปลี่ยนแปลงของ DIC score ในแต่ละช่วงเวลาของการรักษา



แผนภูมิที่ 11 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่ามัธยฐานของปริมาณเกล็ดเลือดในแต่ละช่วงเวลาของการรักษา

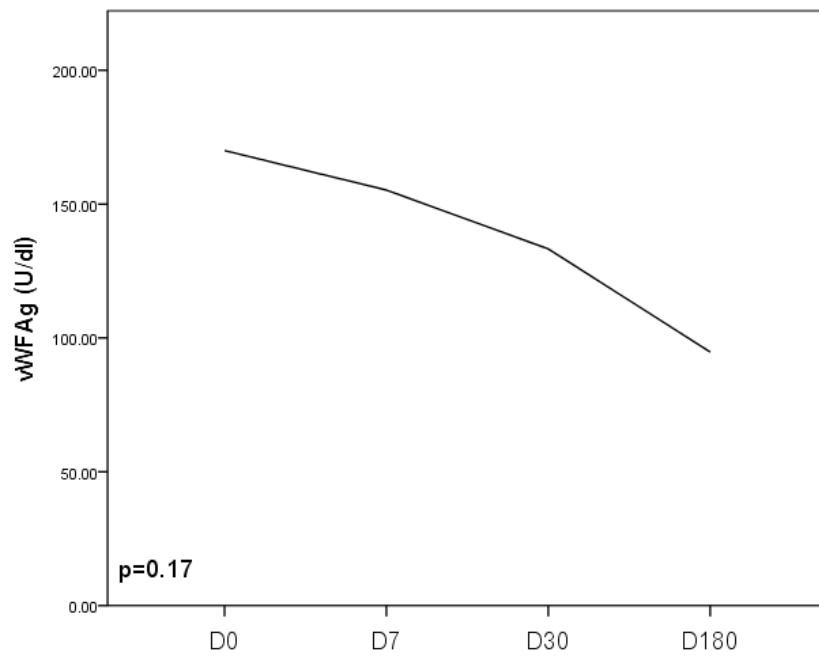
อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างกันของ TFAg, vWFAg และ fibrinogen ในแต่ละ
ช่วงเวลาของการรักษา (แผนภูมิที่ 12 -14)



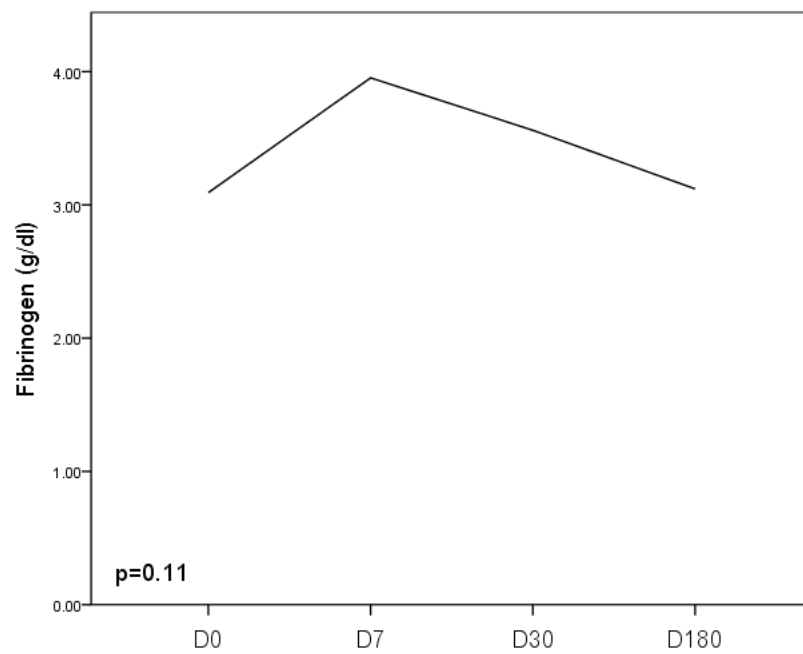
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

แผนภูมิที่ 12 แสดงการเปลี่ยนแปลงของ tissue factor antigen ในแต่ละช่วงเวลาของการรักษา



แผนภูมิที่ 13 แสดงการเปลี่ยนแปลงของ vWF Ag ในแต่ละช่วงเวลาของการรักษา



แผนภูมิที่ 14 แสดงการเปลี่ยนแปลงของ fibrinogen ในแต่ละช่วงเวลาของการรักษา

จากผู้ป่วยทั้งหมด 32 รายในการศึกษานี้ พบว่ามีผู้ป่วยทั้งหมด 19 คน ที่ได้ complete remission หลังจากได้รับการรักษาโดยเคมีบำบัดสูตร induction คิดเป็นร้อยละ 59 และ 11 คน ไม่ได้ complete remission หลังได้รับยาเคมีบำบัดสูตร induction คิดเป็นร้อยละ 34 โดยมีผู้ป่วย 2 คนไม่มีข้อมูลเนื่องจากรายแรกเสียชีวิตระหว่างการรักษา induction และรายที่สองไม่ได้มาติดตามนัดต่อเนื่อง

เมื่อแยกวิเคราะห์ผู้ป่วยในกลุ่มที่ได้ complete remission (CR) และกลุ่มที่ไม่ได้ complete remission (not CR) หลังจากได้ยาเคมีบำบัด induction รอบแรก มาหาความสัมพันธ์กับตัวแปรต่างๆจากผลเลือดผู้ป่วยก่อนทำการรักษา ไม่พบความแตกต่างของค่า thrombin generation assay ณ ตอนวินิจฉัยในกลุ่มที่ได้ CR และ กลุ่ม not CR ทั้งค่า endogenous thrombin potential (1,286.3 nM·min และ 1,470.5 nM·min; p=0.73), peak thrombin generation (199.4 และ 185.7 nM; p=0.55) และค่า lag time (8.7 min และ 9.7 min; p=0.70) ค่ามัธยฐานของจำนวนเกล็ดเลือดมีค่าต่ำกว่าในกลุ่มที่ได้ CR (25,500 cells/ul และ 75,000 cells/ul; p=0.017) อย่างไรก็ตามมีปัจจัยหลายอย่างที่มีผลต่อผลการรักษาหรือการจำแนกกลุ่มความเสี่ยงของโรค AML ทำให้จำนวนเกล็ดเลือดอย่างเดียวอาจจะไม่สามารถอนุมานผลการรักษาได้แน่ชัด ค่า d-dimer ไม่แตกต่างกันในทั้ง 2 กลุ่ม (4,117.8 ng/dl และ 3,164.9; p=0.73) จึงทำให้ DIC score ไม่แตกต่างกันเช่นกัน นอกจากนี้ TFAg, vWFAg และ ค่า fibrinogen ตั้งต้นในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้ CR และ not CR ก็ไม่พบความแตกต่างเช่นกัน (74.4 pg/ml และ 7273 pg/ml; p=0.97, 210.8 U/dl และ 180.9 U/dl; p=0.44, 317 mg/dl และ 302 mg/dl; p=0.61 ตามลำดับ) (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบค่า parameters ของผู้ป่วยก่อนรักษาแยกตามผลการรักษาหลังได้ยาเคมีบำบัด

| Parameters at diagnosis | CR group (N=19) | Not CR group (N=11) | p-value |
|----------------------------------|--------------------|------------------------|---------|
| Peak thrombin generation (nM) | 199.4 (105.4) | 185.7 (103.7) | 0.55 |
| ETP (nM·min) | 1,286.3 (376.7) | 1,470.5 (374.9) | 0.73 |
| Lag time (min) | 8.7 (5.1) | 9.7 (8.1) | 0.70 |
| Median platelet (cells/ul) | 25,500 (38,500) | 75,000 (95,750) | 0.017 |
| D-dimer (ng/dl) | 4,117.8 (3,926.9) | 3,614.9 (3,411.1) | 0.73 |
| Median DIC score | 3 (3) | 3 (3) | 0.70 |
| vWFAg (U/dL) | 210.8 (114.6) | 180.9 (70.3) | 0.44 |
| TFAg (pg/ml) | 74.4 (28.9) | 72.7 (30.6) | 0.97 |
| Fibrinogen level (mg/dl) | 317 (91.9) | 302 (113.9) | 0.61 |

จากตารางแสดงค่าเฉลี่ย (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) และ ค่ามัธยฐาน (ค่าพิสัยควอไทล์)

เมื่อหาความสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆของผลเลือดผู้ป่วยในช่วงไขกระดูกพินตัวหลังการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด induction กับผลการรักษาหลังได้ยาสูตร induction รอบแรก พบว่าค่า thrombin generation assay หลังจากไขกระดูกพินตัวแล้วในสองกลุ่มไม่แตกต่างกันทั้งค่า endogenous thrombin potential (1,473.8 nM·min และ 1,518.1 nM·min; p=0.83) ค่า peak thrombin generation (194.1 nM และ 243.7 nM; p=0.18) และค่า lag time (8.6 min และ 7.3 min; p=0.36) ค่ามัธยฐานของจำนวนเกล็ดเลือดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (274,000 cells/ul และ 166,000 cells/ul; p=0.06) ค่า d-dimer มีแนวโน้มสูงกว่าในกลุ่มที่ not CR (1,178.25 ng/dl และ 706.27 ng/dl; p=0.24) แต่อย่างไรก็ตามไม่มีนัยยะสำคัญทางสถิติ ค่าเฉลี่ย DIC score ไม่แตกต่างกันทั้งสองกลุ่ม (1 และ 1; p=0.63) รวมถึงค่า fibrinogen, vWFAg และ TFAg ที่ไม่พบความแตกต่างกันในกลุ่ม CR และ not CR เช่นกัน (373 mg/dl และ 366 mg/dl;

p=0.88, 147.5 U/dl และ 153.4 U/dl; p=0.74 และ 71.3 pg/ml และ 64.4 pg/ml; p=0.43 ตามลำดับ) (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบค่า parameters ของผู้ป่วยหลังไขกระดูกฟื้นตัวจากการรักษาช่วง induction แยกตามผลการรักษาหลังได้ยาเคมีบำบัด

| Parameters after complete induction period | CR group (N=19) | Not CR group (N=11) | p-value |
|--|-------------------|---------------------|---------|
| Peak thrombin generation (nM) | 194.1 (74.9) | 243.7 (47.4) | 0.18 |
| ETP (nM·min) | 1,473.8 (357.9) | 1,518.1 (425.1) | 0.83 |
| Lag time (min) | 8.6 (2.7) | 7.3 (2.5) | 0.36 |
| Median platelet (cells/ul) | 274,000 (118,500) | 166,000 (112,000) | 0.06 |
| D-dimer (ng/dl) | 1,178.25 (843.8) | 674.1 (449.4) | 0.24 |
| Median DIC score | 1 (1) | 1 (1) | 0.63 |
| vWFAg (U/dl) | 147.5 (23.4) | 153.4 (37.7) | 0.75 |
| TFAg (pg/ml) | 71.3 (19.2) | 64.4 (17.5) | 0.43 |
| Fibrinogen level (mg/dl) | 373 (79.4) | 366 (70.1) | 0.88 |

จากตารางแสดงค่าเฉลี่ย (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) และ ค่ามัธยฐาน (ค่าพิสัยควอไทล์)

ในการศึกษานี้เมื่อติดตามไปหลังการรักษา พบว่ามีผู้ป่วย 21 คนได้รับการรักษาจนจบ consolidation คิดเป็นร้อยละ 63 แบ่งเป็นปลูกถ่ายไขกระดูก 5 คน (ร้อยละ 23) และได้ยาเคมีบำบัด 16 คน (ร้อยละ 76) พบผู้ป่วยที่ได้ผลการรักษาเป็น complete remission 13 คน คิดเป็นร้อยละ 62 และผู้ป่วยที่ไม่ได้ complete remission 8 คน คิดเป็นร้อยละ 38 มีผู้ป่วย 6 คน อยู่ในระหว่างการรักษา consolidation

เมื่อเปรียบเทียบค่าตัวแปรต่างๆหลังจากได้รับการ consolidation ครบ ในกลุ่มที่ได้ทำ
 ปลูกถ่ายไขกระดูก และ รับประทานเคมีบำบัด โดย median time ที่ติดตามผู้ป่วยหลังได้รับการปลูก
 ถ่ายไขกระดูกคือ 31 วันหลังการปลูกถ่ายไขกระดูก พบว่าค่า peak thrombin generation มีค่า
 น้อยกว่าในกลุ่มที่ได้รับการ รักษา consolidation ด้วยการปลูกถ่ายไขกระดูก (158.26 nM)
 เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับการรักษา consolidation ด้วยยาเคมีบำบัด (263.14 nM) อย่างมีนัย
 ยะสำคัญ ($p=0.03$) และในกลุ่มที่ได้ปลูกถ่ายไขกระดูกมีค่า endogenous thrombin generation
 ที่น้อยกว่า (1,258.61 nM·min) เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้ยาเคมีบำบัด (1,636.30 nM·min)
 ($p=0.02$) แต่ไม่พบความแตกต่างของ lag time (10.1 min และ 6.2 min; $p=0.24$) ค่ามัธยฐาน
 ของจำนวนเกล็ดเลือดไม่ต่างกันทั้งสองกลุ่ม (233,000 cells/ul และ 177,000 cells/ul ; $P=1.0$)
 ทั้งนี้เนื่องมาจากผู้ป่วยได้ complete remission ทั้งสองกลุ่ม อย่างไรก็ตามค่าตัวแปรอื่นๆของกลุ่ม
 ผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกเทียบกับกลุ่มที่ได้ยาเคมีบำบัด พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่าง
 ชัดเจน ได้แก่ ค่า d-dimer (649.44 ng/dl และ 405.71 ng/dl; $p=0.10$) ค่ามัธยฐานของ DIC
 score (1 และ 1; $p=1.00$) ค่า TFAg (72.8 pg/ml และ 89.2 pg/ml; $p=0.68$) ค่า vWFAg
 (175.6 U/dl และ 145.8 U/dl; $p=0.4$) และค่า fibrinogen (549 mg/dl และ 293 mg/dl; $p=0.1$)
 โดยผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกไม่มีผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัย severe acute GVHD
 (grade3-4) (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบค่า parameters ของผู้ป่วยจำแนกโดยการรักษาที่ได้รับช่วง consolidation ด้วยการปลูกถ่ายไขกระดูกหรือยาเคมีบำบัด

| Parameters after complete consolidation period | BMT group (N=5) | Chemotherapy group (N=16) | p-value |
|--|-------------------|---------------------------|---------|
| Peak thrombin generation (nM) | 158.26 (106.2) | 263.14 (103.0) | 0.03 |
| ETP (nM·min) | 1,258.61 (296.5) | 1,636.30 (289.9) | 0.02 |
| Lag time (min) | 10.1 (6.8) | 6.2 (4.1) | 0.24 |
| Median platelet (cells/ul) | 233,000 (141,000) | 177,000 (136,250) | 1.0 |
| D-dimer (ng/dl) | 649.44 (570.6) | 405.71 (3804.9) | 0.10 |
| Median DIC score | 1 | 1 | 1.0 |
| vWFAg (U/dl) | 175.6 (19.9) | 145.8 (79.6) | 0.40 |
| TFAg (pg/ml) | 72.8 (22.9) | 89.2 (25.4) | 0.68 |
| Fibrinogen level (mg/dl) | 549 (67.1) | 293 (107.1) | 0.1 |

จากตารางแสดงค่าเฉลี่ย (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) และ ค่ามัธยฐาน (ค่าพิสัยควอไทล์)

อย่างไรก็ตามในผู้ป่วยที่ได้ complete remission หลังจากรับการรักษา consolidation ครบ 13 คน พบว่ามีผู้ป่วย 3 คน มีการกลับมาของโรคซ้ำระหว่างติดตามอาการโดยเป็นผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก 1 คนและผู้ป่วยที่รักษาด้วยยาเคมีบำบัด 2 คน คิดเป็นร้อยละ 23 ซึ่งมี 1 คนที่รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัดเสียชีวิตด้วยตัวโรค อีก 2 คนอยู่ในระหว่างการรักษาต่อ โดย 1 คนเป็นผู้ป่วยในกลุ่มที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกและ 1 คนอยู่ในกลุ่มที่ได้รับยาเคมีบำบัด

บทที่ 5

อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผล

จากการศึกษาโดยมีกลุ่มตัวอย่างเป็นผู้ป่วย AML ทั้งสิ้น 32 คน และกลุ่มอาสาสมัครที่มีช่วงอายุเท่ากันกับกลุ่มตัวอย่าง มีอายุตั้งแต่ 18-68 ปี โดยมีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 43 ปี เก็บรวบรวมข้อมูลตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม 2561 ถึง เมษายน 2563 โดยเก็บรวบรวมตัวอย่างที่ 4 ช่วงเวลาคือ ณ เวลาที่ได้รับการวินิจฉัย หลังได้ยาเคมีบำบัดครบหรือวันที่ 7 หลังจากไขกระดูกฟื้นตัวจากการรักษา induction หรือวันที่ 30 และหลังได้รับการรักษา consolidation ครบหรือวันที่ 180 ส่งตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจระดับ thrombin generation assay, TFAg, d-dimer, fibrinogen level, vWFAg และคำนวณ DIC score ของผู้ป่วยเทียบกับอาสาสมัครประชากรทั่วไปที่เก็บตัวอย่างเลือดเพียงครั้งเดียว พบว่าข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยประกอบไปด้วยผู้ป่วย AML-non M3 29 ราย และ AML-M3 3 ราย ผู้ป่วยส่วนนามีปริมาณเกล็ดเลือดมากกว่า 80,000 cells/ul

จากผลการเปรียบเทียบ thrombin generation assay และ coagulation parameter ต่างๆ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันของค่า thrombin generation ในกลุ่มผู้ป่วย AML และกลุ่มควบคุม ซึ่งอาจแสดงได้ถึงไม่มีการเพิ่มขึ้นของการสร้าง thrombin ในผู้ป่วย AML แม้ว่าการศึกษานี้มีผู้ป่วย AML 32 คน ซึ่งน้อยกว่าจำนวนตัวอย่างที่คำนวณไว้ 43 คน อย่างไรก็ตาม การศึกษามีจำนวนผู้ป่วยร้อยละ 75 ของที่ตั้งใจไว้ เมื่อพิจารณาจาก p value ของค่า peak thrombin generation แล้ว 0.43 แล้ว แม้จะเก็บตัวอย่างจนได้ครบ 43 คน โอกาสที่จะแสดงให้เห็นความแตกต่างของค่า peak thrombin generation มีน้อย เมื่อพิจารณาถึง coagulation marker อื่นๆ พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของ TFAg ในกลุ่มผู้ป่วย AML ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้าว่าเซลล์มะเร็งมีการแสดงออกของ tissue factor ที่เพิ่มมากขึ้น^(10, 11) ซึ่งเป็น procoagulant ที่สามารถกระตุ้นกลไกการแข็งตัวของเลือดได้ แต่จากการศึกษานี้ไม่พบการเพิ่มขึ้นของ thrombin generation ซึ่งอาจอธิบายได้จากสมดุลของการเกิด prothrombin conversion และการเกิด thrombin inactivation โดยอ้างอิงจากการศึกษาของ Chojnowski K. และคณะที่ทำการศึกษา

พบว่ามีการเพิ่มขึ้น thrombin-antithrombin complex ในผู้ป่วย acute leukemia ซึ่งประกอบไปด้วยผู้ป่วย AML 49 คน ในขณะที่เดียวกันมีการลดลงของ antithrombin ในผู้ป่วย acute leukemia ร่วมด้วย⁽²⁵⁾ จึงสันนิษฐานได้ว่าการใช้ antithrombin ในการยับยั้ง thrombin มากขึ้นเพื่อสร้าง ความสมดุลกับปริมาณของการกระตุ้นกลไกการแข็งตัวของเลือดจากการเปลี่ยน prothrombin เป็น thrombin ทำให้ไม่สามารถตรวจพบการเพิ่มขึ้นของ thrombin ในผู้ป่วย AML จากการศึกษา นี้

พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของค่า d-dimer ในผู้ป่วย AML ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกับ DIC score สอดคล้องกับการศึกษาของ Speiser W. และคณะ ที่พบว่าในกลุ่มผู้ป่วย AML มีค่า d-dimer ที่สูงขึ้น⁽¹²⁾ ซึ่งอาจอธิบายการเพิ่มขึ้นของ d-dimer ได้จากกลไกการเพิ่มขึ้นของ fibrinolysis activity ซึ่งสัมพันธ์กับภาวะ DIC ซึ่งจากการศึกษานี้พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัย DIC จาก ISTH-DIC score โดยมีเกณฑ์การวินิจฉัยเท่ากับ 5 จำนวน 9 คน (ร้อยละ 28) ซึ่งใกล้เคียงกับ รายงานก่อนหน้านี้ที่พบอุบัติการณ์การเกิด DIC ในผู้ป่วย AML ร้อยละ 32⁽²⁶⁾

vWFAg มีค่าสูงขึ้นในกลุ่มผู้ป่วย AML ณ ช่วงเวลาที่วินิจฉัย เช่นเดียวกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบการเพิ่มขึ้นของ vWFAg ในผู้ป่วย acute leukemia⁽¹⁸⁾ อย่างไรก็ตามการศึกษาดังกล่าวพบว่าค่า vWF-ristocetin cofactor (vWF-RCO) มีค่าต่ำลงอย่างมีนัยยะสำคัญในกลุ่มผู้ป่วย AML เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ทั้งนี้สามารถอธิบายได้ว่า ผู้ป่วย AML มีการเพิ่มขึ้นของ small multimer vWF แต่ไม่สามารถทำงานได้อย่างปกติ (inactive) อย่างไรก็ตามอาจจะต้องมีการศึกษา ถึงการทำงานของ vWF ในผู้ป่วย AML ต่อไป

เมื่อเปรียบเทียบผู้ป่วย AML ที่มีเลือดออกผิดปกติ และไม่มีเลือดออกผิดปกติ พบว่า thrombin generation assay ในทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามพบว่าตัวแปรที่ต่างกัน ในทั้งสองกลุ่มได้แก่ปริมาณของเกล็ดเลือด และ d-dimer โดยผู้ป่วยที่มีเลือดออกผิดปกติจะมี ปริมาณเกล็ดเลือดที่ต่ำกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีเลือดออกผิดปกติ สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ ที่พบว่าเกล็ดเลือดที่ต่ำเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดเลือดออกผิดปกติ^(1,2) นอกจากนี้พบว่า d-dimer มีค่าสูงขึ้นในผู้ป่วยที่มีเลือดออกผิดปกติ ซึ่งอาจสัมพันธ์กับภาวะ hyperfibrinolysis เช่นเดียวกัน

การศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบว่าภาวะ DIC ในผู้ป่วย AML สัมพันธ์กับการเพิ่มโอกาสการเกิดทั้ง เลือดออกผิดปกติและลิ่มเลือดอุดตัน⁽²⁷⁾ แตกต่างจากอีกการศึกษาหนึ่งที่ไม่พบความสัมพันธ์ของ d-dimer และการเกิดเลือดออกผิดปกติแต่พบความสัมพันธ์ของ d-dimer กับความเสี่ยงในการเกิด ภาวะลิ่มเลือดอุดตัน อย่างไรก็ตามเนื่องจากอุบัติการณ์ของการเกิดภาวะลิ่มเลือดอุดตันเฉียบพลัน มีจำนวนน้อย ในการศึกษาจึงไม่พบผู้ป่วยที่มีภาวะลิ่มเลือดอุดตันเฉียบพลัน

เมื่อแยกวิเคราะห์ผู้ป่วย AML แบ่งเป็นกลุ่มจำนวน peripheral blast count ที่สูงกว่า 40,000 cells/ul และน้อยกว่า 40,000 cells/ul เพื่อเปรียบเทียบ coagulation activation ในผู้ป่วย ที่มี high blast count พบว่าผู้ป่วยที่มี peripheral blast count ที่สูงมีค่า peak thrombin generation ที่สูงกว่าผู้ป่วย AML ที่มีปริมาณ peripheral blast count น้อย ซึ่งบ่งชี้ถึงมี thrombin generation ที่สูงขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาของ Scharf E. และคณะที่พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของค่า fibrinopeptideA ซึ่งสามารถบ่งชี้ถึงภาวะที่มีการสร้าง thrombin ที่เพิ่มมากขึ้นแปรผันตรงกับ ปริมาณ peripheral blast count ที่เพิ่มมากขึ้นเช่นกัน⁽¹⁶⁾ ซึ่งอาจจะสรุปได้ว่าเซลล์มะเร็งมีการ แสดงออกของ procoagulant factor ซึ่งทำให้กระตุ้นกลไกการแข็งตัวของเลือด โดยแปรผันตรง ตามจำนวนเซลล์มะเร็งที่เพิ่มมากขึ้น

เมื่อติดตาม coagulation parameter ณ ช่วงเวลาต่างๆระหว่างที่เข้ารับการรักษา ไม่พบ ความแตกต่างกันของ thrombin generation assay ในแต่ละช่วงเวลาของการรักษา รวมถึง TFAg, vWFAg, fibrinogen level แต่พบว่าค่า d-dimer มีค่าลดลงหลังการรักษาตามลำดับ เช่นเดียวกับค่า DIC score ซึ่งแสดงถึงภาวะ DIC ดีขึ้นตามลำดับหลังการรักษา AML

จากผู้ป่วยทั้งหมด 32 คนพบว่าผู้ป่วยที่ได้ complete remission (CR) หลังการรักษา ด้วยเคมีบำบัด induction 19 คน คิดเป็น complete remission rate ได้ร้อยละ 59 โดยเมื่อ เปรียบเทียบ coagulation parameter ต่างๆ ณ วันที่วินิจฉัยของผู้ป่วยที่ได้ CR และ not-CR เพื่อ ใช้ทำนายผลการรักษา ไม่พบความแตกต่างกันของ thrombin generation assay และ coagulation parameter ต่างๆในผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม และเมื่อเปรียบเทียบค่า coagulation

parameter ช่วงที่ไขกระดูกฟื้นตัวหลังการรักษา induction ระหว่างสองกลุ่มนี้ ก็ไม่พบความแตกต่างกันของ parameter ต่างๆเช่นกัน

เมื่อติดตามหลังการรักษา พบว่ามีผู้ป่วย 21 คนได้รับการรักษาจนจบ consolidation โดยแบ่งเป็นปลูกถ่ายไขกระดูก 5 คน และได้ยาเคมีบำบัด 16 คน เมื่อเปรียบเทียบผู้ป่วยที่ได้รับการรักษา consolidation โดยปลูกถ่ายไขกระดูกกับผู้ป่วยที่ได้ยาเคมีบำบัดพบว่า ผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกมีค่า thrombin generation ที่น้อยกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยาเคมีบำบัด ซึ่งการศึกษาก่อนหน้านี้รายงานว่าผู้ป่วย AML หลังได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกจะมี thrombin generation ที่มากขึ้นจากการมี endothelial injury จาก conditioning regimen^(28, 29) แต่อย่างไรก็ตามไม่เคยมีการศึกษาเปรียบเทียบ coagulation activation ระหว่างผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกและที่รับยาเคมีบำบัด แต่ในการศึกษานี้เนื่องจากกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกระยะเวลาเฉลี่ยที่ได้รับการเจาะเลือดอยู่ที่ 31 วันหลังการปลูกถ่ายไขกระดูก ส่วนกลุ่มคนไข้ที่ได้รับยาเคมีบำบัดระยะเวลาที่ได้รับการเจาะเลือดคือวันสุดท้ายที่ได้รับยาเคมีบำบัด จึงอาจมีปัจจัยเรื่องของ endothelial injury จากยาเคมีบำบัดที่ทำให้กระตุ้นกลไกการแข็งตัวของเลือดเพิ่มมากขึ้นได้

จากการศึกษานี้ไม่พบความสัมพันธ์ของ thrombin generation และ coagulation parameters กับผลลัพธ์ของการรักษา AML

สรุปผล

จากการศึกษานี้ไม่พบความแตกต่างของ thrombin generation assay ในผู้ป่วย AML เมื่อเทียบกับอาสาสมัครประชากรทั่วไป และพบว่ามี的增加ขึ้นของ d-dimer ในผู้ป่วย AML ซึ่งสัมพันธ์กับภาวะ DIC นอกจากนี้พบว่า thrombin generation assay ไม่สามารถใช้ทำนายโอกาสการเกิดเลือดออกผิดปกติและผลทางคลินิกอื่นๆในผู้ป่วย AML

ข้อดีของการศึกษานี้

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกที่เก็บข้อมูลของ thrombin generation assay และเปรียบเทียบกับอาการและ clinical outcome ของผู้ป่วย ซึ่งข้อมูลที่ได้เป็นองค์ความรู้ใหม่ที่สามารถนำไปต่อยอดเพื่อศึกษาถึงกลไกการแข็งตัวของเลือดในผู้ป่วยโรค AML เพื่อนำไปสู่การช่วยตัดสินใจในการให้การรักษาหรือป้องกันการเกิดภาวะแทรกซ้อนจากความผิดปกติของการแข็งตัวของเลือดในกายภาคหน้า

ข้อด้อยของการศึกษานี้

- การศึกษานี้ถูกวางแผนให้เก็บตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยคนเดียวกันที่ระยะเวลาแตกต่างกัน แต่เนื่องจากประชากรน้อยและผู้ป่วยบางคนเสียชีวิตไประหว่างการรักษา ทำให้มีประชากรศึกษาไม่เพียงพอ และผู้ป่วยที่ระยะเวลาต่างๆ มีจำนวนไม่เท่ากัน
- การศึกษานี้มีจำนวนประชากรน้อยกว่าขนาดตัวอย่างที่คำนวณไว้ อย่างไรก็ตามเก็บตัวอย่างผู้ป่วยได้ร้อยละ 75 ของที่คำนวณไว้ เมื่อพิจารณาจากค่าตัวแปรของ thrombin generation และ p value ที่ได้ การได้จำนวนตัวอย่างเพิ่มขึ้นถึงจำนวนที่คำนวณไว้ก็น่าทำให้ผลการศึกษาเปลี่ยนแปลงไป แต่อาจทำให้ไม่มีกำลังมากพอในการวิเคราะห์ค่าตัวแปรอื่นๆ ได้
- การศึกษานี้ยังไม่สามารถบอกกลไกการแข็งตัวที่ผิดปกติในผู้ป่วย AML ได้ชัดเจน

ข้อเสนอแนะ

- เก็บตัวอย่างผู้ป่วยให้ได้ประชากรที่มากกว่านี้ เพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือของข้อมูล
- อาจมีการเก็บดูค่า parameter อื่นๆ เพิ่มเติมเพื่อช่วยในการเข้าใจถึงกลไกการแข็งตัวของเลือดมากขึ้น เช่น วัดปริมาณ thrombin-antithrombin complex และ anti-thrombin levels เพื่อศึกษา prothrombin conversion และ antithrombin activity เพื่อหาสาเหตุของการที่ thrombin generation assay ไม่แตกต่างระหว่างผู้ป่วย AML และกลุ่มควบคุม euglobulin clot

lysis time เพื่อดูภาวะ hyperfibrinolysis หรือ vWF-RCo activity เพื่อศึกษาถึงการทำงานของ vWF เป็นต้น

- หากสามารถเก็บตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยทุกคนได้ทุกช่วงเวลา อาจสามารถแสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของค่า parameter ต่างๆได้อย่างชัดเจนยิ่งขึ้น

- แยกวิเคราะห์ผู้ป่วย AML M3 และ AML non-M3 เพื่อให้ได้ข้อมูลกลไกความผิดปกติของการแข็งตัวของเลือดในแต่ละกลุ่มอย่างชัดเจนยิ่งขึ้น



บรรณานุกรม

1. Webert K, Cook RJ, Sigouin CS, Rebutta P, Heddle NM. The risk of bleeding in thrombocytopenic patients with acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2006;91:1530-7.
2. Rebutta P, Finazzi G, Marangoni F, Avisati G, Gugliotta L, Tognoni G, et al. The threshold for prophylactic platelet transfusions in adults with acute myeloid leukemia. Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto. *N Engl J Med* 1997;337:1870-5.
3. Lad D, Jain A, Varma S. Complications and management of coagulation disorders in leukemia patients. *Blood Lymphat Cancer* 2017;7:61-72.
4. Breen KA, Grimwade D, Hunt BJ. The pathogenesis and management of the coagulopathy of acute promyelocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2012;156:24-36.
5. Libourel EJ, Klerk CPW, van Norden Y, de Maat MPM, Kruip MJ, Sonneveld P, et al. Disseminated intravascular coagulation at diagnosis is a strong predictor for thrombosis in acute myeloid leukemia. *Blood* 2016;128:1854-61.
6. De Kouchkovsky I, Abdul-Hay M. 'Acute myeloid leukemia: a comprehensive review and 2016 update'. *Blood Cancer J* 2016;6:e441.
7. Maksimovic N, Zaric M, Gazibara T, Trajkovic G, Maric G, Miljus D, et al. Incidence and Mortality Patterns of Acute Myeloid Leukemia in Belgrade, Serbia (1999-2013). *Medicina (Kaunas)* 2018;54: pii: E5. doi: 10.3390/medicina54010005.
8. Blom JW, Doggen CJ, Osanto S, Rosendaal FR. Malignancies, prothrombotic mutations, and the risk of venous thrombosis. *JAMA* 2005;293:715-22.
9. Ku GH, White RH, Chew HK, Harvey DJ, Zhou H, Wun T. Venous thromboembolism in patients with acute leukemia: incidence, risk factors, and effect on survival. *Blood* 2009;113:3911-7.
10. Bauer KA, Conway EM, Bach R, Konigsberg WH, Griffin JD, Demetri G. Tissue factor gene expression in acute myeloblastic leukemia. *Thromb Res* 1989;56:425-30.
11. Dicke C, Amirkhosravi A, Spath B, Jimenez-Alcazar M, Fuchs T, Davila M, et al. Tissue factor-dependent and -independent pathways of systemic coagulation activation in

acute myeloid leukemia: a single-center cohort study. *Exp Hematol Oncol* 2015;4:22.

12. Speiser W, Pabinger-Fasching I, Kyrle PA, Kapiotis S, Kottas-Heldenberg A, Bettelheim P, et al. Hemostatic and fibrinolytic parameters in patients with acute myeloid leukemia: activation of blood coagulation, fibrinolysis and unspecific proteolysis. *Blut* 1990;61:298-302.

13. Falanga A, Alessio MG, Donati MB, Barbui T. A new procoagulant in acute leukemia. *Blood* 1988;71:870-5.

14. Yan J, Wang K, Dong L, Liu H, Chen W, Xi W, et al. PML/RARalpha fusion protein transactivates the tissue factor promoter through a GAGC-containing element without direct DNA association. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107:3716-21.

15. Tsunaka M, Shinki H, Koyama T. Cell-based evaluation of changes in coagulation activity induced by antineoplastic drugs for the treatment of acute myeloid leukemia. *PLoS One* 2017;12:e0175765.

16. Scharf RE, Schneider W. Relationship of thrombin generation to peripheral blast cell count in patients with acute myeloblastic leukemia (AML). *Eur J Haematol* 1990;44:273-6.

17. Van Aalderen MC, Trappenburg MC, Van Schilfgaarde M, Molenaar PJ, Ten Cate H, Terpstra WE, et al. Procoagulant myeloblast-derived microparticles in AML patients: changes in numbers and thrombin generation potential during chemotherapy. *J Thromb Haemost* 2011;9:223-6.

18. Abaza H, Farweez B, Samaan S. Platelet-dependent von Willebrand factor activity in acute myeloid leukemia patients: role in hemostatic alterations. *Egypt J Haematol* 2016;41(1):1-8.

19. Shen J. Von Willebrand factor in acute leukemia. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 1990;70:26-8.

20. Tripodi A. Thrombin Generation Assay and Its Application in the Clinical Laboratory. *Clin Chem* 2016;62:699-707.

21. Dargaud Y, Lienhart A, Negrier C. Prospective assessment of thrombin generation test for dose monitoring of bypassing therapy in hemophilia patients with inhibitors

undergoing elective surgery. *Blood* 2010;116:5734-7.

22. Hron G, Kollars M, Binder BR, Eichinger S, Kyrle PA. Identification of patients at low risk for recurrent venous thromboembolism by measuring thrombin generation. *JAMA* 2006;296:397-402.

23. Bergrem A, Dahm AE, Jacobsen AF, Sandvik L, Sandset PM. Differential haemostatic risk factors for pregnancy-related deep-vein thrombosis and pulmonary embolism: a population-based case-control study. *Thromb Haemost* 2012;108:1165-71.

24. Kim SY, Gu JY, Yoo HJ, Kim JE, Jang S, Choe S, et al. Benefits of Thromboelastography and Thrombin Generation Assay for Bleeding Prediction in Patients With Thrombocytopenia or Hematologic Malignancies. *Ann Lab Med* 2017;37:484-93.

25. Chojnowski K, Wawrzyniak E, Trelinski J, Niewiarowska J, Cierniewski C. Assessment of coagulation disorders in patients with acute leukemia before and after cytostatic treatment. *Leuk Lymphoma* 1999;36:77-84.

26. Uchiumi H, Matsushima T, Yamane A, Doki N, Irisawa H, Saitoh T, et al. Prevalence and clinical characteristics of acute myeloid leukemia associated with disseminated intravascular coagulation. *Int J Hematol* 2007;86:137-42.

27. Dixit A, Chatterjee T, Mishra P, Kannan M, Choudhry DR, Mahapatra M, et al. Disseminated intravascular coagulation in acute leukemia at presentation and during induction therapy. *Clin Appl Thromb Hemost* 2007;13:292-8.

28. Catani L, Gugliotta L, Mattioli Belmonte M, Vianelli N, Gherlinzoni F, Miggiano MC, et al. Hypercoagulability in patients undergoing autologous or allogeneic BMT for hematological malignancies. *Bone Marrow Transplant* 1993;12:253-9.

29. Pinomaki A, Volin L, Joutsu-Korhonen L, Virtanen JO, Lemponen M, Ruutu T, et al. Early thrombin generation and impaired fibrinolysis after SCT associate with acute GVHD. *Bone Marrow Transplant* 2010;45:730-7.



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ประวัติผู้เขียน

| | |
|-------------------|--|
| ชื่อ-สกุล | ภาวินี น้อยนารท |
| วัน เดือน ปี เกิด | 12 กันยายน 2532 |
| สถานที่เกิด | กรุงเทพมหานคร |
| วุฒิการศึกษา | พ.ศ. 2550-2556 นิสิตคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พ.ศ. 2556-2557 แพทย์เพิ่มพูนทักษะโรงพยาบาลขอนแก่น พ.ศ. 2557-2560 แพทย์พี่เลี้ยง กลุ่มงานอายุรกรรม โรงพยาบาลขอนแก่น พ.ศ. 2560-ปัจจุบัน แพทย์ประจำบ้านต่อยอด สาขาโลหิตวิทยา ภาควิชา อายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พ.ศ. 2560 วุฒิบัตรผู้มีความรู้ความชำนาญประกอบวิชาชีพเวชกรรม สาขา อายุรศาสตร์ |
| ที่อยู่ปัจจุบัน | 66 ซ.พหลโยธิน 44 เสนานิคม จตุจักร กทม. 10900 |