

**STUDY OF ENDOTHELIAL CELL AND RED BLOOD CELL INTERACTION
IN *PLASMODIUM FALCIPARUM* INFECTION:
A COMPARATIVE STUDY BETWEEN NORMAL AND THALASSEMIA**

SURASAK WANRAM

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(CLINICAL PATHOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2003

ISBN 974-04-3506-8

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเซลล์บุหลอดเลือด และเม็ดเลือดแดงในโรคมalariaเรื้อรังชนิด พลาสโมเดียม ฟาลซิพารัม โดยการเปรียบเทียบระหว่างคนปกติ และผู้ป่วยธาลัสซีเมีย (STUDY OF ENDOTHELIAL CELL AND RED BLOOD CELLS INTERACTION IN *PLASMODIUM FALCIPARUM* INFECTION: A COMPARATIVE STUDY BETWEEN NORMAL AND THALASSEMIA)

สุรศักดิ์ แวนรัมย์ 4236352 RACP/M

วท.ม.(พยาธิวิทยาคลินิก)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : พรรณี บุตรเทพ, Ph.D., สุทัศน์ ฟูเจริญ, MD.,
โกวิท พัฒนาปัญญาศาสตร์, Ph.D., ปานทิพย์ วัฒนวิบูลย์, Ph.D.

บทคัดย่อ

ธาลัสซีเมีย เป็นโรคเลือดที่มีความผิดปกติทางพันธุกรรม เนื่องจากสร้างสายแอลฟา-หรือ เบตา-ไกลบิน ลดลง หรือสร้างไม่ได้เลย ซึ่งเชื่อว่าสามารถป้องกันการเกิดโรคมalariaเรื้อรังได้ ถึงแม้ไม่ทราบกลไกในการป้องกันโรค แต่อาจเกี่ยวข้องกับการเกิด Cytoadherence ซึ่งก่อให้เกิดพยาธิสภาพ เมื่อมีการติดเชื้อมalariaเรื้อรัง ชนิด *P. falciparum*

การศึกษานี้ได้เปรียบเทียบเม็ดเลือดแดงของคนปกติ จำนวน 25 ราย กับเม็ดเลือดแดงของคนเป็นธาลัสซีเมีย ชนิดต่างๆ ประกอบด้วย α -thal 1 trait จำนวน 6 ราย, α -thal 2 trait จำนวน 9 ราย, β -thal trait จำนวน 20 ราย, Hb E trait จำนวน 27 ราย และ Hb CS trait จำนวน 9 ราย ในการจับกับเซลล์บุหลอดเลือด (ECV304) ในสภาวะที่มี และไม่มี การติดเชื้อมalariaเรื้อรัง *P. falciparum* ชนิด K1 ในหลอดทดลอง พบว่าในสภาวะที่ไม่มี malariaเรื้อรัง เม็ดเลือดแดงของคนเป็นพาหะธาลัสซีเมียสามารถจับกับเซลล์บุหลอดเลือดได้มากกว่าเม็ดเลือดแดงของคนปกติ ($P < 0.01$) และภายหลังติดเชื้อมalariaเรื้อรัง พบว่าในเม็ดเลือดแดงของคนปกติ มีการจับกับเซลล์บุหลอดเลือดเพิ่มขึ้น ($P < 0.01$) ในขณะที่ในเม็ดเลือดแดงของคนเป็นพาหะธาลัสซีเมีย ชนิดต่างๆ ไม่เพิ่มขึ้น ($P > 0.05$) และจำนวนของเซลล์บุหลอดเลือดที่มีการจับกับเม็ดเลือดแดงก็ให้ผลคล้ายคลึงกัน ในการศึกษา binding ด้วย flow cytometer พบว่าเม็ดเลือดแดงของคนปกติที่ติดเชื้อมalariaเรื้อรังมี binding ของ ICAM-1 ที่เด่นชัด เมื่อเปรียบเทียบกับ PECAM-1, CD36 และ E-selectin นอกจากนี้ได้ศึกษาเชื่อมเซลล์ของเม็ดเลือดแดงที่เปลี่ยนแปลง โดยตรวจวัด PS ด้วยการใช้อnnexin V และ hydroethidine พบว่าสภาวะที่ไม่มี malariaเรื้อรัง พาหะธาลัสซีเมียทุกชนิด มีระดับของ PS เพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) แต่ในสภาวะที่มีการติดเชื้อมalariaเรื้อรัง ไม่พบความแตกต่างในการแสดงออกร่วมกันของ annexin V และ hydroethidine ระหว่างเม็ดเลือดแดงของคนปกติ และเม็ดเลือดแดงของคนเป็นพาหะธาลัสซีเมีย ($P > 0.05$)

STUDY OF ENDOTHELIAL CELL AND RED BLOOD CELL INTERACTION IN
PLASMODIUM FALCIPARUM INFECTION: A COMPARATIVE STUDY
BETWEEN NORMAL AND THALASSEMIA.

SURASAK WANRAM 4236352 RACP/ M

M.Sc.(CLINICAL PATHOLOGY)

THESIS ADVISORS : PUNNEE BUTTHEP Ph.D., SUTHAT FUCHAROEN M.D.,
KOVIT PATTANAPANYASAT Ph.D., PHANTIP VATTANAVIBOON Ph.D.

ABSTRACT

Thalassemia, the hereditary hemolytic disorder caused by a partial or complete deficiency in α - or β -globin chain synthesis, is widely believed to provide protection against malaria. Although the mechanism for this protection is not known, it may involve cytoadherence, a factor in the pathogenesis of *P. falciparum* malaria infection.

In this investigation, we have carried out a comparative study of the binding of normal (n = 25) and various types of thalassemic red blood cells (RBCs), including α -thalassemia 1 trait (α -thal 1 trait; n = 6), α -thalassemia 2 trait (α -thal 2 trait; n = 9), β -thalassemia trait (β -thal trait; n = 20), heterozygous Hb E (Hb E trait; n = 27) and heterozygous Hb Constant Spring (Hb CS trait; n = 9) with and without parasitization by *P. falciparum* (K1 strain) to vascular endothelial cells (ECV304) *in vitro*. We have found that the adhesion of non-parasitized heterozygous thalassemic RBCs (all genotypes) to endothelial cells (ECs) was increased significantly more than that to normal cells ($P < 0.01$). After parasitization by *P. falciparum*, the number of normal RBCs bound to ECs was significantly increased compared with that of non-infected RBCs ($P < 0.01$) whereas in heterozygous thalassemic RBCs parasitized by *P. falciparum*, there was no significant difference as compared with non-parasitized RBCs ($P > 0.05$). When normal and thalassemic RBCs in parasitized conditions were compared, the number of RBCs bound to ECs similarly showed no significant difference ($P > 0.05$). For comparison, the number of ECs with bound RBCs was enumerated and the results obtained were similar to that of bound RBCs.

In a flow cytometric binding assay, we observed a predominance of ICAM-1 over PECAM-1, CD36 and E-selectin on ECs when normal non-infected and infected conditions were compared. In addition, using flow cytometric determination, we also studied RBC membrane alterations in non-parasitized and parasitized conditions by detecting phosphatidylserine (PS) exposure using annexin V and hydroethidine. An increased level of PS was found in all types of non-parasitized thalassemic RBCs as compared with normal control ($P < 0.05$), while *P. falciparum*-infected normal and thalassemic RBCs did not show any significant differences ($P > 0.05$).

KEY WORDS: ENDOTHELIAL CELL/ THALASSEMIA / *P. FALCIPARUM* /
FLOW CYTOMETRY / PHOSPHATIDYLSERINE

89 P. ISBN 974-04-3506-8