

**CELLULAR ORIGIN OF PERIPHERAL BLOOD
MICROPARTICLES IN THALASSEMIC PATIENTS**

SIRIPHAN GONWONG

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (IMMUNOLOGY)**

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

MAHIDOL UNIVERSITY

2005

ISBN 974 - 04 - 6059 – 3

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

การศึกษาเซลล์ต้นกำเนิดของไมโครพาร์ติเคิลในเลือดผู้ป่วยธาลัสซีเมีย (CELLULAR ORIGIN OF PERIPHERAL BLOOD MICROPARTICLES IN THALASSEMIC PATIENTS)

ศิริพันธุ์ กอนวงศ์ 4436237 SIIM/M

วท.ม. (วิทยานิพนธ์)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : โกวิท พัฒนาศิลป์, Ph.D., สุทัศน์ ฟูเจริญ, พ.บ.,

บทคัดย่อ

ไมโครพาร์ติเคิล คือ ส่วนของผนังเซลล์ที่หลุดออกมาจากเซลล์ต่าง ๆ ในระบบหมุนเวียนเลือด อันเนื่องมาจากเซลล์นั้นถูกกระตุ้น หรือ เป็นผลมาจากกระบวนการสลายตัวของเซลล์ ผนังด้านนอกของไมโครพาร์ติเคิลจะมีโมเลกุลของฟอสฟาติดีลเซอร์รีนปรากฏอยู่ซึ่งฟอสฟาติดีลเซอร์รีนนี้มีประจุลบและเป็นตำแหน่งที่ทำให้เกิดการจับของโปรทอมบิน-คอมเพลกซ์ในกระบวนการแข็งตัวของเลือดได้ ไมโครพาร์ติเคิลนี้พบได้ทั้งในเลือดของคนปกติซึ่งจะมีปริมาณน้อย และพบปริมาณที่สูงขึ้นในผู้ป่วยที่มีอาการเกี่ยวข้องกับภาวะเสี่ยงต่อการแข็งตัวของเลือดสูง แต่ทั้งนี้ยังไม่เคยมีรายงานของไมโครพาร์ติเคิลในผู้ป่วยธาลัสซีเมียมาก่อน

ธาลัสซีเมียคือ โรคทางพันธุกรรมที่เป็นผลมาจากการสร้างฮีโมโกลบินที่ผิดปกติ และมีรายงานถึงพยาธิสภาพแทรกซ้อนที่เกี่ยวข้องกับอุดตันของเลือด รวมถึงเคยมีรายงานถึงการปรากฏของฟอสฟาติดีลเซอร์รีนบนผนังเซลล์เม็ดเลือดแดงของผู้ป่วย และการหลุดของส่วนผนังเซลล์เกิดเป็นเวสิเคิลของเม็ดเลือดแดงในกระแสเลือด อีกทั้งมีรายงานเกี่ยวกับภาวะของเซลล์ต่าง ๆ ถูกกระตุ้นในกระแสเลือด อันน่าจะเป็นสาเหตุให้เกิดไมโครพาร์ติเคิลได้ ดังนั้นการศึกษานี้จะใช้เทคนิคโพลีไซโทเมตรีศึกษาจำนวนของไมโครพาร์ติเคิล และเซลล์ต้นกำเนิดของไมโครพาร์ติเคิลเหล่านี้ จากนั้นนำไปหาความสัมพันธ์กับค่าการแข็งตัวของเลือด และค่าอื่น ๆ ทางโลหิตวิทยา

ผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วยธาลัสซีเมีย โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ป่วยชนิด เบต้า-ธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบินอี ที่ตัดม้ามแล้ว มีค่าร้อยละและค่าสัมบูรณ์ของไมโครพาร์ติเคิลในปริมาณสูงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับคนปกติ ($p < 0.05$) และมีความสัมพันธ์กับค่าร้อยละของการปรากฏฟอสฟาติดีลเซอร์รีนบนผิวเม็ดเลือดแดง และบนผิวเกร็ดเลือดด้วย เซลล์ต้นกำเนิดของไมโครพาร์ติเคิลที่พบมากที่สุดคือ เกร็ดเลือด ซึ่งมีโมเลกุลที่แสดงการถูกกระตุ้นและใช้ในการยึดติด (adhesion molecule) เช่น CD41, CD36 และ CD62P ปรากฏอยู่ นอกจากนี้ยังพบเซลล์ต้นกำเนิดมาจาก เซลล์เม็ดเลือดแดง, แอนโดทีเลียลเซลล์, โมโนไซต์, แกรนูโลไซต์ และ เซลล์เม็ดเลือดขาวตามลำดับ อีกทั้งยังพบ ติชชู แพคเตอร์ปรากฏอยู่ในปริมาณเล็กน้อยด้วย จากการศึกษาพบความสัมพันธ์ของค่าการแข็งตัวของเลือดกับการปรากฏของฟอสฟาติดีลเซอร์รีนบนผิวของไมโครพาร์ติเคิล, เกร็ดเลือด และเซลล์เม็ดเลือดแดง นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ที่สูงของค่าการแข็งตัวของเลือดนี้กับปริมาณไมโครพาร์ติเคิลที่ปรากฏโมเลกุลของเกร็ดเลือดที่ถูกกระตุ้น ซึ่งสันนิษฐานว่าไมโครพาร์ติเคิลนี้อาจกำเนิดมาจากการเกิดภาวะเกร็ดเลือดถูกกระตุ้นจากฟอสฟาติดีลเซอร์รีนที่ปรากฏบนผิวของเม็ดเลือดแดง เนื่องจากการพบความสัมพันธ์ของเปอร์เซ็นต์ฟอสฟาติดีลเซอร์รีนบนไมโครพาร์ติเคิล เกร็ดเลือด และเซลล์เม็ดเลือดแดง จากการศึกษาทำให้เราทราบข้อมูลเกี่ยวกับไมโครพาร์ติเคิลในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย ทั้งด้านปริมาณร้อยละ, ค่าปริมาณสัมบูรณ์ และความสัมพันธ์กับค่าการแข็งตัวของเลือด ซึ่งอาจชี้ให้เห็นถึงภาวะความเสี่ยงที่จะเกิดการอุดตันของเลือดในผู้ป่วยธาลัสซีเมียได้

CELLULAR ORIGIN OF PERIPHERAL BLOOD MICROPARTICLES IN THALASSEMIC PATIENTS.

SIRIPHAN GONWONG 4436237 SIIM/M

M.Sc. (IMMUNOLOGY)

THISIS ADVISORS : KOVIT PATTANAPANYASAT, Ph.D., SUTHAT FUCHAROEN, MD.

ABSTRACT

Microparticles (MPs) are membrane vesicles released from many different cell types during cell activation or apoptosis. MPs abnormally display phosphatidylserine (PS) on their outer leaflets which create negatively charged (PS) which bind to the site of the prothrombinase complex. There are many reports in which a low amount of MPs in healthy subjects were found, whereas their number are elevated in patients at risk of thrombosis, nevertheless it has never been reported in thalassemia patients.

Thalassemia is a hereditary hemolytic disease characterized by absent or decreased production of normal hemoglobin. Patients with thalassemia have thromboembolic complications and a tendency to increase MPs in circulation by abnormal red blood cells (RBCs) and activated cells in the circulation. This study used a flow cytometer to determine the absolute number and surface markers of MPs in whole blood from thalassemic patients and healthy subjects. The values obtained by the study were used to relate to hematological parameters and markers of coagulation activation including platelets factor 3-like activity.

The results indicated that in thalassemia patients especially with splenectomies, β -thalassemia/hemoglobin E has a significantly high percentage and the absolute number of annexin V-positive MPs when compared with healthy subjects ($p < 0.05$). The percentage of annexin V-positive in MPs were correlated well with the percentage of annexin V-positive in platelet population and the percentage of annexin V-positive in RBCs population. Cellular origin of annexin V-positive MPs are mainly from platelets which expressed activation and adhesion molecule markers (CD41, CD36, CD62P). MPs were also found from RBCs, endothelial cells, monocytes, granulocytes and leukocytes. A low amount of tissue factor was also detected on MPs. The positive correlation between platelet factor 3 like activity and the number of annexin V-positive in MPs, platelets and RBCs population were found. While the highest correlation with MPs that expressed platelet activation markers were observed. This result suggests that MPs may be generated from activated platelets by the expression of PS on ineffective thalassemic RBCs since a correlation between them was found, and these MPs could be involved with coagulation state by PS and adhesion molecule expression which is consequent to clinical severity and risk of thrombosis in thalassemia patients.

**KEY WORDS : MICROPARTICLES / THALASSEMIA / ORIGIN / PLATELET
FACTOR 3-LIKE ACTIVITY**

91 P. ISBN 974 - 04 - 6059 – 3