

**ARE MONOCYTES ACTIVATED IN SPLENECTOMIZED  
HEMOGLOBIN E/  $\beta$ -THALASSEMIC PATIENTS?**

**WANSA BANYATSUPPASIN**

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

**2006**

**ISBN 974-04-7185-4**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

Copyright by Mahidol University

**ARE MONOCYTES ACTIVATED IN HEMOGLOBIN E/  $\beta$ -THALASSEMIC PATIENTS ?**

WANSA BANYATSUPPASIN 4536247 RACP/M

M.Sc. (CLINICAL PATHOLOGY)

THESIS ADVISORS: PUNNEE BUTTHEP, Ph.D., VICHAI ATICHARTAKAR N, M.D., KOVIT PATTANAPANYASAT, Ph.D., SUPORN CHUNCHARUNEE, M.D.

**ABSTRACT**

Thalassemia is a hereditary hemolytic anemia characterized by absent or decreased production of (usually) one of the globin chains of hemoglobin. One of the complications of thalassemia is thromboembolism, especially after splenectomy. Previous studies have shown a hypercoagulable state, involving phosphatidylserine (PS)-exposing red blood cells (RBCs), coagulation factors, coagulation factor inhibitors, and activation of platelets, monocytes, granulocytes and endothelial cells as contributing factors. Normally, PS-exposing RBCs are recognized and cleared by macrophages in the spleen. In the absence of the spleen, researchers have speculated that other reticuloendothelial cells, such as circulating monocytes may take over the function, resulting in monocyte activation. Furthermore, the binding between platelets and monocytes or platelet-monocyte aggregates (PMAs) may be another cause of monocyte activation. In this study, flow cytometers were used to detect the activated monocytes surface marker (CD11b) and positive intracellular cytokines (TNF- $\alpha$  and IL-1 $\alpha$ ), PS-exposing RBCs, and PMAs in whole blood from three groups- non-splenectomized and splenectomized Hb E/ $\beta$ -thalassemic patients and healthy normal subjects. Compared to the other 2 groups, the splenectomized group showed a trend towards an increased amount of circulating CD11b, TNF- $\alpha$  and IL-1 $\alpha$  positive monocytes. A statistically significant higher amount of circulating annexin V-positive RBCs was, however, detected in this group ( $p < 0.01$ ). In contrast, there was no difference in the percentage of PMAs among the 3 groups. There was no correlation between annexin V-exposing RBCs and the level of monocytes expressing IL-1 $\alpha$  or CD11b fluorescence intensity, while a slight statistical correlation was found between the percentage of annexin V-exposing RBCs and the level of monocytes expressing TNF- $\alpha$  ( $r^2 = 0.114$ ,  $p < 0.01$ ). This result suggests that monocytes are activated in splenectomized Hb E/ $\beta$ -thalassemic patients, and not related to PMAs, but may be related to PS-exposing thalassemic RBCs.

**KEY WORDS: THALASSEMIA/ SPLENECTOMY/ MONOCYTE/****TUMOR NECROSIS FACTOR  $\alpha$ / INTERLEUKIN 1  $\alpha$ .**

85 P. ISBN 974-04-7185-4

สภาวะของโมโนไซต์ในผู้ป่วยฮีโมโกลบินอี/ บีตาธาลัสซีเมีย หลังตัดม้าม  
(ARE MONOCYTES ACTIVATED IN HEMOGLOBIN E/  $\beta$ -THALASSEMIC PATIENTS ?)

วรรณษา บัญญัติศุกสิล 4536247 RACP/M

วท.ม. (พยาธิวิทยาคลินิก)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : พรรณี บุตรเทพ, ประ.ด. (วิทยาศาสตร์การแพทย์), วิชัย  
อติชาตการ, พ.บ., โกวิท พัฒนาปัญญาสัตย์, ประ.ด. (Iron Metabolism), สุกร จันท์จารุณี, พ.บ.

บทคัดย่อ

ธาลัสซีเมียเป็นโรคโลหิตจางโดยกรรมพันธุ์ เนื่องด้วยการสร้างฮีโมโกลบินผิดปกติ พยาธิ  
สภาพแทรกซ้อนหนึ่งที่พบในผู้ป่วยธาลัสซีเมียคือ การอุดตันของหลอดเลือด โดยเฉพาะในผู้ป่วยหลังตัดม้าม  
สาเหตุมาจากภาวะ hypercoagulable ซึ่งเกี่ยวข้องกับ การปรากฏของฟอสฟาติลเซอรินบนผนังของเซลล์เม็ด  
เลือดแดง, ปัจจัยการแข็งตัวของเลือด, ปัจจัยด้านการแข็งตัวของเลือด และเซลล์ชนิดต่างๆ ที่ถูกกระตุ้นใน  
กระแสเลือด เช่น เกร็ดเลือด, โมโนไซต์, แกรนูโลไซต์ และเซลล์บุผนังหลอดเลือด โดยปกติเม็ดเลือดแดงที่  
ปรากฏฟอสฟาติลเซอรินบนผิวเซลล์นั้น จะถูกจับและทำลายโดยแมคโครฟาจในม้าม ในส่วนผู้ป่วย  
ฮีโมโกลบินอี/ บีตาธาลัสซีเมียหลังตัดม้าม เซลล์ที่ทำหน้าที่นี้คาดว่าจะเป็นโมโนไซต์ ซึ่งเป็นสาเหตุให้โมโนไซต์  
ถูกกระตุ้น นอกจากนี้ การเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือดและโมโนไซต์ (platelet-monocyte aggregates) ก็อาจเป็น  
อีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้โมโนไซต์ถูกกระตุ้นได้เช่นกัน ในการศึกษาครั้งนี้ใช้เทคนิคโฟลไซโทเมตรีศึกษาโมโน  
ไซต์ที่ถูกกระตุ้น โดยดูจากการปรากฏของโมเลกุลที่แสดงการถูกกระตุ้น (CD11b) บนผิวของโมโนไซต์ และค่า  
ร้อยละของโมโนไซต์ที่สร้างไซโตไคน์ (TNF- $\alpha$  และ IL-1 $\alpha$ ), ค่าร้อยละของการปรากฏฟอสฟาติลเซอรินบน  
ผิวเม็ดเลือดแดง และ ค่าร้อยละของการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือดและโมโนไซต์ ผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วย  
ฮีโมโกลบินอี/ บีตาธาลัสซีเมียที่ตัดม้าม มีแนวโน้มค่าความเข้มของ CD11b บนผิวโมโนไซต์และค่าร้อยละของ  
โมโนไซต์ที่สามารถสร้างไซโตไคน์สูงกว่าผู้ป่วยที่ไม่ได้ตัดม้ามและคนปกติ นอกจากนี้ยังพบว่าผู้ป่วยที่ตัดม้าม  
จะมีค่าร้อยละของการปรากฏฟอสฟาติลเซอรินบนผิวเม็ดเลือดแดงสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญด้วย ( $p < 0.01$ ) ซึ่ง  
ตรงข้ามกับค่าร้อยละของการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือดและโมโนไซต์ ค่าที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างคนไข้  
ไม่ตัดม้าม คนไข้ตัดม้ามและคนปกติ จากการศึกษาพบว่าเปอร์เซ็นต์ฟอสฟาติลเซอรินบนผิวเม็ดเลือดแดงไม่มี  
ความสัมพันธ์กับความเข้มของ CD11b บนผิวโมโนไซต์หรือค่าร้อยละของโมโนไซต์ที่สร้างไซโตไคน์ IL-1 $\alpha$   
ขณะเดียวกัน ก็พบว่าเปอร์เซ็นต์ฟอสฟาติลเซอรินบนผิวเม็ดเลือดแดงมีความสัมพันธ์เล็กน้อยกับค่าร้อยละของ  
โมโนไซต์ที่สามารถสร้างไซโตไคน์ TNF- $\alpha$  ( $r^2 = 0.114$ ,  $p < 0.01$ ) จากการศึกษาทำให้เราทราบว่าโมโนไซต์  
ถูกกระตุ้นในผู้ป่วยที่ตัดม้าม และสาเหตุในการถูกกระตุ้นนั้น ไม่เกี่ยวข้องกับการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือดและโมโน  
ไซต์ แต่อาจเกี่ยวข้องหรือไม่เกี่ยวข้องกับการฟาโกไซท์เม็ดเลือดแดงที่ปรากฏฟอสฟาติลเซอรินในผู้ป่วยธาลัส  
ซีเมีย

85 หน้า ISBN 974-04-7185-4