

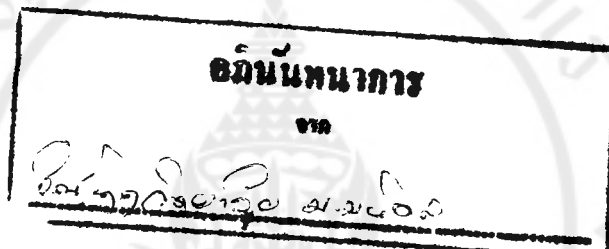


28 JAN 1991

STUDIES OF PLATELET ABNORMALITIES IN THALASSEMIA

WITTAYA TONSUWONNONT

z



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
DOCTOR OF PHILOSOPHY
(PHARMACOLOGY)

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

MAHIDOL UNIVERSITY

1990

Copyright by Mahidol University

16405

ชื่อวิทยานิพนธ์ ความผิดปกติของ เกร็ดเลือดในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย

ผู้วิจัย วิทยา ตันสุวรรณนนท์

ปริญญา ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (เภสัชวิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

อุดม จันทรรักษ์ศรี, Ph.D.

ประเวศ วะสี, M.D., Ph.D.

สุทัศน์ พู่เจริญ, M.D.

วันที่สำเร็จการศึกษา 15 พฤษภาคม พ.ศ. 2533

บทคัดย่อ

ภาวะเลือดออกง่ายหรือการเกิดลิ่มเลือดตรวจพบได้บ่อย ในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย ภาวะเหล่านี้อาจมีสาเหตุจากความผิดปกติ ในการทำงานของเกร็ดเลือด เกร็ดเลือดโดยทั่วไป จะมีขบวนการควบคุมเกี่ยวกับการตอบสนองต่างๆอย่างซับซ้อน ดังนั้น การศึกษาถึงประสิทธิภาพในการทำงานของเกร็ดเลือด จึงแปรไปตามการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยในสภาพแวดล้อมของ เกร็ดเลือดในขณะนั้น

ในการศึกษานี้มีจุดมุ่งหมายที่จะทดสอบการทำงานของเกร็ดเลือด ของผู้ป่วยธาลัสซีเมีย และศึกษาถึงองค์ประกอบที่มีผลต่อความผิดปกติของเกร็ดเลือดนี้ การศึกษากระทำโดยการทดสอบการจับตัวของเกร็ดเลือดโดยใช้วิธีทางแสง, ไฟฟ้า และการนับอนุภาค มีการประเมินถึงสภาวะของสารเอทีพี, วัตะมินอี, เบอร์ออกไซด์ของไขมัน และพอสตาแกลนดินที่เสริมการจับตัวของเกร็ดเลือด มีการศึกษาถึงการทำงานของเกร็ดเลือดทั้งในเลือด (WB), พลาสมาที่มีเกร็ดเลือดมาก (PRP) และ สารแขวนลอยของเกร็ดเลือดซึ่งล้างแล้ว (WPS)

จากการศึกษาพบว่า เกร็ดเลือดในผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีลักษณะ เปราะบาง uly โดยที่เกร็ดเลือดจำนวนมากจะสูญหายไปในช่วงตอนการเตรียมเลือด สัดส่วนของ

เกร็ดเลือดขาว PRP และ WPS ที่เตรียมจากเลือดของผู้ป่วยธาลัสซีเมียจะเป็น 30-60% และ 10-20% ของจำนวนเกร็ดเลือดที่มีอยู่ใน WB ตามลำดับ ซึ่งตรงข้ามกับในคนปกติ โดยที่ใน PRP จะเป็น 90-100% และ ใน WPS 75-85% เป็นต้น การตอบสนองของเกร็ดเลือด แสดงผลที่เด่นชัดเมื่อศึกษาใน WB ด้วยวิธีทางไฟฟ้า โดยพบว่า มีการจับตัวของเกร็ดเลือดมากขึ้นและเร็วขึ้น การศึกษาโดยทั่วไปซึ่งใช้วิธีทางแสงใน PRP ชี้ว่าเกิดภาวะการจับตัวของเกร็ดเลือดต่ำกว่าปกติเมื่อกระตุ้นอย่างเต็มที่ และเกิดภาวะการจับตัวของเกร็ดเลือดสูงกว่าปกติเมื่อกระตุ้นเพียงเล็กน้อย

ผลการศึกษาชี้ว่าเกร็ดเลือดของผู้ป่วยธาลัสซีเมียประกอบด้วย กลุ่มที่ถูกกระตุ้นได้ง่ายกว่าปกติและกลุ่มที่ถูกกระตุ้นได้ยากกว่าปกติ ภาวะที่มีเกร็ดเลือดต่างชนิดกันเป็นอย่างมากทำให้เกิดการทำงานของเกร็ดเลือด ซึ่งประกอบขึ้นจากสัดส่วนของ เกร็ดเลือดที่ตอบสนองมากกว่าปกติและน้อยกว่าปกติ การทดสอบชี้ว่า เกร็ดเลือดเมื่อถูกกระตุ้นโดยสารกระตุ้นขนาดต่ำก่อนที่จะใช้สารกระตุ้นขนาดสูง จะทำให้เกิดภาวะ เสริมหรือลดการทำงานของเกร็ดเลือดได้ องค์ประกอบจากเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยธาลัสซีเมียและภาวะ เหล็กเกิน ถูกตรวจพบว่ามีผลกระทบต่อ การตอบสนองของ เกร็ดเลือดเช่นกัน

เกร็ดเลือดของผู้ป่วยธาลัสซีเมียอยู่ในภาวะกดกันจากอ็อกซิเดชัน การศึกษาถึงระดับของวิตามินอี พบว่าลดลงในทุกๆส่วนของเลือด และมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มระดับเปอร์ออกไซด์ของไขมัน การทดแทนด้วยวิตามินอี โดยการกินสามารถแก้ไขภาวะขาดแคลนวิตามินอีได้ และช่วยลดระดับการเพิ่มเปอร์ออกไซด์ของไขมัน เกร็ดเลือดเหล่านี้ยังตรวจพบที่มีการเพิ่มการสร้างธอมบอกลีโปตีนซีรั่มและในสารแขวนลอยของเกร็ดเลือดซึ่งล้างแล้ว ภาวะนี้ทำให้มีการเสริมการจับตัวของเกร็ดเลือด การสร้างธอมบอกลีโปตีนซีรั่มถูกยับยั้งโดยแอสไพรินานขนาดต่ำ ส่วนการทำให้โคพิริดาโมลานขนาดต่ำแก่ผู้ป่วยธาลัสซีเมีย ทำให้เกิดการคงตัวมากขึ้น ของระบบอะราคีโดนิคในการเตรียมเกร็ดเลือดของผู้ป่วยธาลัสซีเมีย

ผลสรุปคือ เกร็ดเลือดในผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีลักษณะ เบาะบางและง่ายต่อการกระตุ้น เกร็ดเลือดเหล่านี้ถูกกระทบโดยองค์ประกอบหลายอย่างทั้งในและนอกร่างกาย ปริมาณและลักษณะของการกระทบมีผลต่อการตอบสนองของเกร็ดเลือดทั้งในแบบที่มากหรือน้อยกว่าปกติ ความผิดปกติในเมตะบอลิซึมของกรดอะราคิโดนิกที่ตรวจพบจะเป็นแนวทางสำหรับการรักษาผู้ป่วยต่อไป



Thesis Title **STUDIES OF PLATELET ABNORMALITIES IN
THALASSEMIA**

Name **Wittaya Tonsuwonnont**

Degree **Doctor of Philosophy (Pharmacology)**

Thesis Supervisory Committee

Udom Chantharaksri, Ph.D.

Prawase Wasi, M.D., Ph.D.

Suthat Fucharoen, M.D.

Date of Graduation

15 May B.E.2535 (1990)

ABSTRACT

Bleeding and thrombotic complications have been commonly found in thalassemia. The disorders could be attributed to the abnormalities of platelet function. The regulation of platelet responses has been known to be rather complicated. Thus the assessment of platelet function in vitro is subjected to minute changes in the platelet environment.

Copyright by Mahidol University
This study was designed to define those functional ab-

normalities in thalassemic platelets and also to characterize those variables that contribute to these abnormalities. The aggregation methods used in this study include optical, electrical and particle counting techniques. A number of "mediators" that are likely to be related to the pathological changes such as ATP, MDA, vitamin E and thromboxane were monitored by chemiluminescence, spectrophotometer, high performance liquid chromatography and radioimmunoassay, respectively. Tests of platelet function were performed in the whole blood (WB), platelet-rich plasma (PRP) and washed platelet suspension (WPS).

It was found that the platelets in thalassemia were very fragile as a significant fraction of platelets in the WB were lost during preparation. Platelet yields in PRP and WPS obtained from WB of the thalassemia were 30-60% and 10-20%, respectively, as contrast to 90-100% (PRP) and 75-85% (WPS) in the normal individuals. The assessment of platelet function could be best presented with the impedance method in the whole blood. Increased platelet aggregation and decreased lag time were observed in this whole blood model. On the contrary with the assessment of platelet function by the optical method, thalassemic platelets were apparently found to be hyporesponsive to high-dose stimuli and hyperresponsive to low-dose stimuli.

Copyright by Mahidol University

The results suggest that within the population of

thalassemic platelets, especially in the PRP, some were highly susceptible to activation while the other failed to respond. This wide range of heterogeneity provides a spectrum of platelet responses contributed by hyper- and hyporesponsive platelets. Preexposure of normal platelets to subthreshold levels of various agonists before the subsequent maximum stimulation showed "amplification" or "desensitization" process. Blood-borne components from thalassemic red cells and iron overload were shown to influence the platelet responses. These factors may be partly responsible for the heterogeneity of platelets in thalassemia.

Thalassemic platelets also seem to be under continuous stress as antioxidative vitamin E in plasma, RBC and platelets were exhausted and associated with the increased MDA, an indicative marker of lipid peroxides. Supplementation of vitamin E, 300-600 mg/day by oral route, could correct the vitamin E deficiency state and decrease the overload of lipid peroxides. These stressed platelets generate more proaggregatory prostaglandin (thromboxane A₂) under minimum manipulation as detected levels of thromboxane in the serum and the washing medium of thalassemic platelets were elevated. The released "mediator" may provide an "amplification" loop for enhancing platelet aggregation following agonist stimulation in vitro. Production of thromboxane in serum was found to be suppressed with low dose aspirin, 20-60 mg/day. Administration with low dose dipyridamole, 75 mg/day, resulted in the stabilized in-

tegrity of arachidonate pathway during platelet washing.

It is concluded that circulating thalassemic platelets are fragile and susceptible to activation. They are exposed to many blood-borne components in vivo and to various stimuli in vitro. The extent and characteristic of the exposure may determine the responsiveness of the platelets, either hyper- or hypoaggregatory state. The chemical defect found to occur in the arachidonate metabolism of thalassemic platelets has provided a rational approach for further therapeutic intervention.

