

- 5 JAN 2000



**STUDIES OF BLOOD-BORNE FACTOR(S) AFFECTING
PLATELET FUNCTION IN THALASSEMIA**

WERASAK SUTIPORNPALANGKUL

With compliments
of

บัณฑิตเอกपालิช ม.มหิดล

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
(PHARMACOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

1999

ISBN 974-663-274-4

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

TH
W494 s
1999

43419 c.2

3636873 SCPM/D : MAJOR: PHARMACOLOGY; Ph.D. (PHARMACOLOGY)
**KEY WORDS : OXIDATIVE STRESS/ MEMBRANE FLUIDITY/
THALASSEMIA/ OXIDIZED LIPIDS/ PLATELET
SHAPE CHANGE**

**WERASAK SUTIPORNPALANGKUL : STUDIES OF BLOOD-BORNE
FACTOR(S) AFFECTING PLATELET FUNCTION IN THALASSEMIA.
THESIS ADVISORS : UDOM CHANTHARAKSRI, Ph.D., YUPIN
SANVARINDA, Ph.D., SUPEENUN UNCHERN, Ph.D. 153 P. ISBN 974-663-
274-4**

This study focuses on searching for oxidized phospholipids that mediate platelet dysfunction in β -thalassemia/Hb E patients. Evidence on the role of oxidatively modified phospholipids in the pathophysiological basis of cardiovascular-related diseases; i.e., in the genesis of atherosclerosis and thrombosis has been accumulating. The effect of oxidative stress in β -thalassemia/Hb E on the pathogenesis of platelet dysfunction has also been implicated.

By using three paramagnetic labeled compounds (5-, 12-, and 16-spin labeled stearic acids, SLS), oxidized phospholipids which have structural modification can be detected. Significantly higher levels of erythrocyte membrane fluidity were revealed with 12-, 16-SLS as probes in splenectomized patients when compared with nonsplenectomized and normal controls. In addition, the membrane fluidity was negatively correlated with various oxidative markers (TBARs, Iron indices). It became obvious that oxidative modified phospholipids were formed. This suggestion was strongly supported by the finding that vitamin E, a chain-breaking antioxidant can reduce membrane fluidity after daily supplementation for one month.

In recent years increasing evidence suggests that these oxidized lipids are resided in LDL and are key factors in the pathogenesis of thrombosis. Thalassemic LDLs were investigated to determine whether they can induce platelet activation. The shape-change parameter of the plasma-free human platelets was monitored following exposure of the platelet preparation to LDL, oxidized LDL, thalassemic LDL, or different fractions of lipid extract of the corresponding LDLs. In agreement with the previous finding, oxidized LDL, but not the native LDL, showed the platelet activating activity on the shape-change parameter. Although, thalassemic LDLs have no effect on the platelets. The LDLs from splenectomized thalassemia patients were more sensitive to the copper in generating platelet-activating activity in LDL molecules (less copper was needed) than that of nonsplenectomized and normal volunteers. Specifically phosphatidyl serine (PS) was found as the active compound in oxidized LDL that activates the platelets. These results suggest that bioactive phospholipids (PS) generated during the oxidative modification of LDL were likely the active components of oxidized LDL responsible in modifying the functionality of platelet in thalassemia.

3636873 SCPM/D : สาขาวิชา: เกษตรวิทยา ; ปร.ด. (เกษตรวิทยา)

คำสำคัญ : ภาวะเครียดออกซิเดชัน/ ธาลัสซีเมีย/ ออกซิโคซไฟไลปิด/ การเปลี่ยนรูปร่างของเกร็ดเลือด

วิระศักดิ์ สุทธิพรหลวงกู : การศึกษาปัจจัยในเลือดที่มีผลต่อการทำงานของเกร็ดเลือดในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย (STUDIES OF BLOOD-BORNE FACTOR(S) AFFECTING PLATELET FUNCTION IN THALASSEMIA) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : อุดม จันทราภิรักษ์ Ph.D., สุทิน สังวรินทร์ Ph.D., สุทินันท์ อัญเชิญ Ph.D., 153 หน้า.ISBN 974-663-274-4

การศึกษานี้มุ่งความสนใจในการค้นหาออกซิโคซไฟไลปิดที่ทำให้การทำงานของเกร็ดเลือดผิดปกติในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย เนื่องจากมีหลักฐานมากมายที่ระบุถึงบทบาทของออกซิโคซไฟไลปิดในการทำให้เกิดพยาธิสภาพของโรคในระบบหัวใจและหลอดเลือด เช่น การเกิดภาวะหลอดเลือดแข็งตัว (Atherosclerosis) และ การเกิดก้อนของเกร็ดเลือด (Thrombosis) นอกจากนี้ยังรวมถึงการบ่งชี้ว่าภาวะเครียดออกซิเดชันที่พบในผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีผลทำให้เกิดการทำงานที่ผิดปกติของเกร็ดเลือดด้วย

โดยการใช้สาร Spin Labels สามชนิด คือ 5-, 12-, และ 16-SLS ทำให้สามารถตรวจหาออกซิโคซไฟไลปิดที่ซึ่งโครงสร้างถูกเปลี่ยนแปลงได้ พบว่ามีการสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของระดับ Fluidity ในผนังเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ติดคีมแล้วเมื่อเทียบกับผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ยังไม่ได้ติดคีม และ คนปกติ โดยพบเฉพาะในการตรวจด้วยสาร 12- และ 16-SLS เท่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่าระดับของ Fluidity ในผนังเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีความสัมพันธ์แบบผกผันกับระดับของสารบ่งชี้ภาวะเครียดออกซิเดชันต่างๆ เช่น TBARs และ ระดับของเหล็กในน้ำเลือดอีกด้วย ดังนั้นจากผลของการตรวจโดยใช้สาร Spin Labels บ่งชี้ว่าออกซิโคซไฟไลปิดเกิดขึ้นในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย ข้อเสนอนี้ได้รับการสนับสนุนจากการค้นพบว่าวิตามินอี ซึ่งเป็นสารป้องกันการทำลายของไขมันจากอนุมูลอิสระสามารถลดระดับ Fluidity ในผนังเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ติดคีมแล้วภายหลังจากการให้วิตามินอีเป็นเวลาหนึ่งเดือน

ปัจจุบันมีหลักฐานมากมายที่ระบุว่าออกซิโคซไฟไลปิดมีอยู่ในไลโปโปรตีนชนิด LDL และ เป็นปัจจัยสำคัญในการการเกิดก้อนของเกร็ดเลือด (Thrombosis) คณะผู้วิจัยจึงได้ศึกษาบทบาทของ LDL จากผู้ป่วยธาลัสซีเมียต่อการกระตุ้นเกร็ดเลือด การเปลี่ยนรูปร่างของเกร็ดเลือดที่ถูกแยกจากน้ำเลือดแล้วถูกนำมาใช้เป็นตัววัดเพื่อศึกษาบทบาทของ LDL ชนิดต่างๆ ทั้ง LDL จากคนปกติ, ออกซิโคซ LDL, LDL จากผู้ป่วยธาลัสซีเมีย และไขมันที่สกัดจาก LDL ข้างต้น จากการทดลองพบว่าเฉพาะ ออกซิโคซ LDL เท่านั้นที่สามารถกระตุ้นการเปลี่ยนรูปร่างของเกร็ดเลือด แม้ว่าจากผลการทดลองครั้งนี้ LDL จากผู้ป่วยธาลัสซีเมียไม่มีผลต่อการกระตุ้นเกร็ดเลือด แต่คณะผู้วิจัยพบว่า LDL ของผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ติดคีมแล้วนั้นไวต่อการถูกออกซิโคซด้วยสารคอปเปอร์ซัลเฟตในการทำให้ LDL นั้นสามารถกระตุ้นเกร็ดเลือดได้เมื่อเทียบกับ LDL ของผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ยังไม่ได้ติดคีมและ คนปกติ นอกจากนี้ คณะผู้วิจัยยังพบว่า ฟอสโฟไลปิด ชนิด Serine เป็นสารในออกซิโคซ LDL ที่ทำให้เกิดการกระตุ้นเกร็ดเลือด จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า ออกซิโคซไฟไลปิด ชนิด Serine ที่เกิดขึ้นในกระบวนการออกซิเดชันของ LDL น่าจะเป็นองค์ประกอบในออกซิโคซ LDL ที่ทำให้เกิดการทำงานที่ผิดปกติของเกร็ดเลือดในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย