

บทคัดย่อ

ธาลัสซีเมียเป็นโรคที่เกิดจากความผิดปกติของการสังเคราะห์สายโกลบิน โดยปัญหาของผู้ป่วยเกิดจากภาวะซีดซึ่งมีสาเหตุที่สำคัญสาเหตุหนึ่งมาจาก ineffective erythropoiesis หรือภาวะที่เม็ดเลือดแดงตายไปก่อนที่จะเจริญไปเป็นตัวแก่ การวิจัยนี้ทำการศึกษาขบวนการ ineffective erythropoiesis โดยการเปรียบเทียบจำนวนเซลล์ที่มีอายุอยู่หรือ cell viability ในผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิด β -thalassemia/Hb E ตัดม้าม, ผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิด β -thalassemia/Hb E ไม่ตัดม้ามและคนปกติที่มีสุขภาพดี รวมทั้งทำการศึกษาผลของสาร interleukin-3 และสัญญาณภายในเซลล์ที่ควบคุมขบวนการดังกล่าวนี้อีกด้วย โดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดแดงและวิเคราะห์ปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตอยู่และเซลล์ที่ตายแบบ apoptosis จากผลการวิจัยพบว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงต้นกำเนิดหลังทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 และ 7 วันจากกลุ่มผู้มีสุขภาพดีมีเปอร์เซ็นต์เซลล์ที่มีชีวิตอยู่มากที่สุด ในขณะที่กลุ่มผู้ป่วยธาลัสซีเมีย ชนิด β -thalassemia/Hb E ตัดม้ามมีค่าต่ำที่สุด โดยกลุ่มเซลล์ที่เติมสาร interleukin-3 ในน้ำยาเลี้ยงเซลล์พบว่ามีค่าเปอร์เซ็นต์ที่มีชีวิตอยู่สูงกว่ากลุ่มเซลล์ที่ไม่ได้เติมสาร interleukin-3 ในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ การศึกษาสัญญาณภายในเซลล์ที่ควบคุมขบวนการ ineffective erythropoiesis โดยการใช้สารยับยั้งที่จำเพาะกับสัญญาณภายในเซลล์ที่ต้องการศึกษาคือ สารยับยั้ง protein kinase C (Ro-318220), สารยับยั้ง phospholipase C (U-73122) และสารยับยั้ง JAK2 (AG-490) ใส่ลงในน้ำยาเลี้ยงเซลล์และทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดแดง จากนั้นจึงทำการวิเคราะห์เซลล์ตายแบบ apoptosis โดยวิธี flow cytometry ผลของการทดลองพบว่าเซลล์ที่ใส่สาร U-73122 มีเปอร์เซ็นต์เซลล์ตายแบบ apoptosis สูงสุดทั้งในกลุ่มเซลล์เม็ดเลือดแดงต้นกำเนิดของคนปกติที่มีสุขภาพดีและกลุ่มผู้ป่วยธาลัสซีเมีย β -thalassemia/Hb E นอกจากนี้เมื่อใส่สาร RO-318220 ในน้ำยาเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดแดงต้นกำเนิดของผู้ป่วยธาลัสซีเมีย β -thalassemia/Hb E ตัดม้ามพบว่ามีเปอร์เซ็นต์เซลล์ตายแบบ apoptosis สูงกว่าเซลล์จากคนปกติที่มีสุขภาพดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลการวิจัยครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าสัญญาณภายในเซลล์ชนิด phospholipase C น่าจะมีบทบาทสำคัญต่อขบวนการ ineffective erythropoiesis ในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย β -thalassemia/Hb E ทั้งชนิดตัดม้ามและไม่ตัดม้าม นอกจากนี้ protein kinase C อาจจะมีส่วนควบคุมขบวนการดังกล่าวนี้ในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย β -thalassemia/Hb E ตัดม้ามอีกด้วย

Abstract

Thalassemia is a genetic disorder caused by abnormal globin chain synthesis. One of the major causes of anemia in thalassemic patients is ineffective erythropoiesis. To study this process, we compared the percentage of cell viability of erythroid progenitor cells between thalassemic patients; splenectomized β -thalassemia/Hb E, nonsplenectomized β -thalassemia/Hb E and healthy subjects. In addition, study the effect of interleukin-3 (IL-3) and signaling pathways in ineffective erythropoiesis by using erythroid progenitor cell culture technique and analysis of cell viability and apoptotic cells. The results of this study showed that the highest percentage of cell viability was found in healthy subject, while splenectomized β -thalassemia/Hb E showed the lowest percentage of cell viability after culturing erythroid progenitor cells for 3 and 7 days. The IL-3 added erythroid progenitor cells showed higher cell viability than IL-3 depleted cells. To study the involvement of specific signaling pathways in ineffective erythropoiesis, the protein kinase C inhibitor (Ro-318220), phospholipase C inhibitor (U-73122) and JAK2 inhibitor (AG-490) were used in culture system and analyzed apoptotic cells by flow cytometry. The results showed that progenitor cells treated with U-73122 had the highest percentage of apoptotic cells in both healthy subjects and β -thalassemia/Hb E patients. In addition, the cells treated with Ro-318220 had significantly different of percent apoptotic cells between splenectomized β -thalassemia/Hb E and healthy subjects. It could suggest that phospholipase C might play a key role in the process of ineffective erythropoiesis in both splenectomized and nonsplenectomized β -thalassemia/Hb E. Moreover, protein kinase C might be involved in this process of splenectomized β -thalassemia/Hb E.