

1-1-1996

Effect of Endotoxin on Blood Rheology(ผลของเอ็นโดท็อกซินต่อการไหลของเลือด)

พีชรินทร์ ยามะรัต

Follow this and additional works at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjps>



Part of the [Pharmacology Commons](#)

Recommended Citation

ยามะรัต, พีชรินทร์ (1996) "Effect of Endotoxin on Blood Rheology(ผลของเอ็นโดท็อกซินต่อการไหลของเลือด)," *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*: Vol. 20: Iss. 1, Article 6.

Available at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjps/vol20/iss1/6>

This Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact ChulaDC@car.chula.ac.th.

65017^a นว.วาริชัย
65010^a Endotoxins

ไทยเภสัชสาร ปีที่ 20 ฉบับที่ 1, 2539, หน้า 53-57

69011^a มร.ไพฑูริย์ นว.วาริชัย

ผลของเอ็นโดท็อกซินต่อการไหลของเลือด

เพ็ชรินทร์ ยามะรัต

ว.ล. 9988-3X

ภาควิชารังสีไอโซโทปเขตร้อน คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล

บทคัดย่อ : เลือดของผู้ป่วยมาลาเรียชนิดพลาสโมเดียมฟัลซิพารัม มีการเปลี่ยนแปลงในคุณสมบัติเกี่ยวกับการไหล (Rheological properties) เช่น การเพิ่มความหนืดของเลือด (Blood viscosity) และการลดความสามารถในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเม็ดเลือดแดง (RBC deformability) ยังไม่มีผู้ใดทราบว่าการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้เกิดจากอะไรในขณะเดียวกันมีผู้พบเอ็นโดท็อกซินในผู้ป่วยมาลาเรียที่ป่วยหนัก (severe) และผู้ป่วยที่มีเปอร์เซ็นต์พาราไซต์สูง ในการศึกษาครั้งนี้ จึงเอาเอ็นโดท็อกซินมาผสมกับเลือดคนปกติ บ่มที่ 37°C 3 ชม. โดยใช้ความเข้มข้นในขนาดที่พบในผู้ป่วย ปรากฏว่า เอ็นโดท็อกซินสามารถเพิ่มความหนืดของเลือดได้ ดังนั้น เอ็นโดท็อกซินอาจเป็นสารตัวหนึ่ง que เพิ่มความหนืดในผู้ป่วยหนัก และผู้ป่วยที่มีเปอร์เซ็นต์พาราไซต์สูง ถึงแม้ว่าจะไม่สามารถอธิบายการเพิ่มความหนืดของเลือดในผู้ป่วยที่ไม่มีอาการแทรกซ้อนได้ (acute uncomplicated malaria) ทั้งนี้เพราะไม่พบเอ็นโดท็อกซินในผู้ป่วยพวกนี้

กุญแจคำ : เอ็นโดท็อกซิน, การไหลของเลือด, มาลาเรีย

บทนำ

มาลาเรียยังคงเป็นโรคเขตร้อนที่สำคัญในประเทศไทย เชื้อมาลาเรียที่ทำให้คนตายมากที่สุดคือเชื้อพลาสโมเดียม-ฟัลซิพารัม โรคมาลาเรียขึ้นสมองนับเป็นอาการสำคัญที่สุดของผู้ป่วยมาลาเรียชนิดนี้ เมื่อเกิดมาลาเรียขึ้นสมองในผู้ป่วยก็มักจะเสียชีวิตจากโรคนี้ สาเหตุของการเกิดมาลาเรียขึ้นสมองนั้นยังไม่เข้าใจแน่ชัด แต่หลักฐานทั้งหลายที่พบในระยะหลัง ๆ มานี้พบว่าน่าจะเกิดจากการอุดตันของเส้นเลือดในสมอง ซึ่งมีผู้คิดหาสาเหตุของกลไกที่เกิดขึ้นหลายอย่างด้วยกัน เช่น เกิดจากการเปลี่ยนแปลงในคุณสมบัติของการไหล (Rheology) ของเลือดผู้ป่วย การเพิ่ม Vascular permeability, การเพิ่ม Vasomotion, Cytoadherence, Coagulation และ Fibrinolysis หรือ Immunological mechanisms เป็นต้น

การที่เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติในการไหล (Rheological properties) ของเลือดในผู้ป่วยมาลาเรียชนิดนี้ ยังไม่ทราบสาเหตุแน่ชัด แต่เมื่อเร็ว ๆ นี้ มีผู้สังเกตเห็นว่าเอ็นโดท็อกซินน่าจะเกี่ยวข้องกับการป้องกันและพยาธิวิทยาของมาลาเรียนั้นคือในปี 1987, Clark(1) ชี้ให้เห็นว่า พยาธิวิทยาทาง

คลินิกของการเกิดเชื้อพลาสโมเดียมฟัลซิพารัมและสภาวะการเป็นพิษโดยเอ็นโดท็อกซินนั้นคล้ายกัน เชื้อมาลาเรียไม่มีเอ็นโดท็อกซิน แต่เอ็นโดท็อกซินอาจถูกปล่อยมาจากเชื้อ Gram negative bacteria ในทางเดินอาหารของผู้ป่วย หรือสัตว์ที่ติดเชื้อได้ การศึกษาของ Usawattanakul และคณะพบว่า ผู้ป่วยที่ติดเชื้อมาลาเรียรุนแรง จะมีเอ็นโดท็อกซินในเลือดถึงระดับที่ตรวจวัดได้โดย Limulus amoebocyte lysate test (2) แม้ว่าเชื้อมาลาเรียจะไม่ให้เอ็นโดท็อกซิน แต่อาจมีการดูดซึมเอ็นโดท็อกซิน (ซึ่งเกิดจาก Bacteria ในทางเดินอาหาร) จากทางเดินอาหารของผู้ป่วยได้ เพราะมีการบวมของเส้นเลือดที่ทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากการไหลช้า ๆ ของเม็ดเลือดแดงที่มีพาราไซต์อยู่ ผ่านเส้นเลือดนั้น (3,4) ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงเอาเอ็นโดท็อกซินมาผสมกับเลือดคนปกติ แล้วบ่ม 3 ชั่วโมงก่อนนำมาวัดความหนืดเพื่อดูว่า เอ็นโดท็อกซินจะเปลี่ยนแปลงความหนืดของเลือด เหมือนกับเลือดจากผู้ป่วยมาลาเรียหรือไม่ เพราะถ้าพบว่าเอ็นโดท็อกซินสามารถเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติในการไหลของเลือดปกติได้แล้ว เอ็นโดท็อกซินก็อาจเป็นสารตัวหนึ่งที่มีส่วนในการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติใน

การไหลของเลือดจากผู้ป่วยมาลาเรีย หรืออาจจะมีส่วนทำให้ การไหลของเลือดในผู้ป่วยมาลาเรียแย่งลงก็ได้

วัสดุ

1. เอ็นโดท็อกซินที่มาจากเชื้อ *Escherichia coli* ของ บริษัท Difco, Detroit, U.S.A.
2. EDTA disodium salt ของ May & Baker Ltd., Manchester, England.
3. 5mM Phosphate buffer saline (PBS) pH 7.4 เตรียมโดย เอา 2.0 มล. 0.5 M NaH_2PO_4 ผสมกับ 8.0 มล. 0.5 M Na_2HPO_4 ผสมกับ 8.81 กรัม NaCl จากนั้นเติมน้ำ กลั่นจนเป็น 1000 มล.
4. เครื่องวัดความหนืด Well-Brookfield microviscometer Model LVTDVI, ของบริษัท Brookfield Engineering Laboratories, Inc., Stoughton, U.S.A.
5. เครื่องควบคุมอุณหภูมิ (Temperature Controlled Liquid System) ของบริษัท NESLAB Instrument, Inc., Portsmouth, U.S.A.

วิธีการ

ทำการเจาะเลือดมาจากผู้บริจาคโลหิตที่ ร.พ.พระมงกุฎเกล้า 60 คน เอาเลือดมาคนละ 10 มล. โดยใช้ EDTA 2 มก./มล. เป็นสารกันเลือดแข็ง แบ่งเลือดของแต่ละคนออกเป็น 2 ส่วน เท่า ๆ กัน ส่วนหนึ่งใส่เอ็นโดท็อกซินซึ่งละลายอยู่ใน PBS อีกส่วนหนึ่งเติม PBS ลงไปให้เท่ากับหลอดที่เติมเอ็นโดท็อกซินเพื่อใช้เป็น control เอ็นโดท็อกซินจะเติมให้มีความเข้มข้นเป็น 1 ไมโครกรัม/มล., 10 นาโนกรัม/มล., 1 นาโนกรัม/มล. และ 0.1 นาโนกรัม/มล. โดยใช้เลือดจากคน 15 คนต่อหนึ่งความเข้มข้น แล้วบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 3 ชม. ก่อนนำไปวัดความหนืด

การวัดความหนืดของเลือดใช้เครื่อง Well-Brookfield microviscometer วัดโดยใช้เลือด 1 มล. วัดที่ 37°C ที่ shear rate 24, 60, และ 120 วินาที⁻¹

ผลของการวัดความหนืดของเลือดแต่ละคู่ คือเลือดของคนคนเดียวกันที่ผสมกับเอ็นโดท็อกซินและเลือดที่เป็น control จากนั้นนำมาคำนวณทางสถิติเปรียบเทียบโดยวิธี paired

t-test โดยใช้ค่าเฉลี่ยของแต่ละ shear rate ที่ระดับนัยสำคัญ 5 เปอร์เซ็นต์

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

เอ็นโดท็อกซินที่เติมในเลือดให้มีความเข้มข้น 1 ไมโครกรัม/มล., 10 นาโนกรัม/มล. และ 1 นาโนกรัม/มล. เพิ่มความหนืดอย่างมีนัยสำคัญทุก shear rates ($p < 0.01$) แต่เอ็นโดท็อกซินที่เติมในความเข้มข้นเพียง 0.1 นาโนกรัม/มล. ไม่สามารถเพิ่มความหนืดที่ทุก shear rates ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ดังตารางที่ 1

การศึกษานี้เอาเอ็นโดท็อกซินผสมกับเลือดคนปกติ บ่มทิ้งไว้ 3 ชม. แล้ววัดความหนืดดู ปรากฏว่าเอ็นโดท็อกซินสามารถเพิ่มความหนืดของเลือดปกติที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัม/มล., 10 นาโนกรัม/มล. และ 1 นาโนกรัม/มล. ได้อย่างมีนัยสำคัญที่ทุก ๆ Shear rate แต่ไม่เพิ่มความหนืดของเลือดที่มีความเข้มข้น 0.1 นาโนกรัม/มล. ผลนี้เหมือนการศึกษาของ Davidson และคณะในปี 1990 ซึ่งเอ็นโดท็อกซินสามารถเพิ่มความหนืดได้ที่ความเข้มข้น 1 และ 2 ไมโครกรัม/มล. เมื่อบ่มเป็นเวลา 4 ชม. กับเลือดคนปกติ (5) ส่วนการศึกษาของ Mollitt และคณะในปี 1991 พบว่าเอ็นโด-ท็อกซินเพิ่มความหนืดที่ความเข้มข้น 2 ไมโครกรัม/มล. บ่ม 4 ชม. กับเลือดจากสายสะดือของเด็กทารกปกติ (6)

การที่พบว่าเอ็นโดท็อกซินสามารถเพิ่มความหนืดเมื่อ บ่มกับเลือดคนปกติในความเข้มข้นที่ต่ำถึง 10 นาโนกรัม/มล. และ 1 นาโนกรัม/มล. นั้น แสดงว่าเอ็นโดท็อกซินอาจเป็นสาร ตัวหนึ่งซึ่งมีส่วนในการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติในการไหลของ เลือดในผู้ป่วยมาลาเรีย เพราะ Usawattanakul และคณะ (2) พบเอ็นโดท็อกซินในความเข้มข้นระดับนี้ในผู้ป่วยมาลาเรียที่ ป่วยหนัก (severe) หรือมีเปอร์เซ็นต์พาราไซต์สูง ถึงแม้ว่าจะ ไม่สามารถอธิบายได้ว่าคนไข้พวกที่ไม่มีอาการแทรกซ้อน (acute uncomplicated malaria) มีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของ เลือดได้อย่างไร เพราะไม่พบเอ็นโดท็อกซินในผู้ป่วยพวกนี้ แต่ ก็พบว่าความหนืดของเลือดมีค่าสูงขึ้นเช่นกัน ผู้ป่วยมาลาเรีย รุนแรงมีเอ็นโดท็อกซินในเลือดได้แม้ว่าตัวเชื้อมาลาเรียไม่ได้ สร้างเอ็นโดท็อกซิน เพราะมีผู้พบว่าเส้นเลือดที่ทางเดินอาหาร ซึ่งเกิดบวมในผู้ป่วยมาลาเรีย (3, 4) อาจทำให้เอ็นโดท็อกซิน ในทางเดินอาหารซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรียในนั้นถูกดูดซึมเข้าสู่

เส้นเลือดได้ ส่วนที่พบเอ็นโดทีลียมในรายผู้ป่วยรุนแรงนั้น อาจจะเป็นไปได้ว่ารายที่มีเอ็นโดทีลียมในขนาดสูงจนวัดได้นั้นสามารถทำให้อาการป่วยมาลาเรียหนักขึ้นอีก (2) จึงพบเอ็นโดทีลียมในผู้ป่วยอาการหนักเท่านั้น ผู้ป่วยที่ติดเชื้อแบคทีเรียธรรมดาซึ่งสร้างเอ็นโดทีลียมได้ น่าจะมีโอกาสเกิดไซ้ขึ้นในสมองได้มากขึ้นด้วย เพราะ Clark (7) แนะนำว่าเอ็นโดทีลียมอาจมีบทบาทในการทำให้เกิดมาลาเรียขึ้นสมองได้ ถึงแม้ว่า Usawattanakul และคณะ (2) จะวิจารณ์ว่า เอ็นโดทีลียม ไม่ได้เป็นตัวหลักในการทำให้เกิดมาลาเรียขึ้นสมอง แต่ก็อาจเป็นตัวช่วยซ้ำเติมอาการในผู้ป่วยที่เป็นไซ้ขึ้นสมองแล้ว

การที่พบว่าเอ็นโดทีลียมเพิ่มความหนืดของเลือดปกติได้นี้ อาจเนื่องมาจากเอ็นโดทีลียมลดความสามารถในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเม็ดเลือดแดง (RBC deformability) (6, 8) เพราะว่ามีเม็ดเลือดแดงปกติจะเปลี่ยนรูปร่างได้ ที่ shear

rate ต่ำ ๆ และเมื่อ shear stress เพิ่มขึ้น เม็ดเลือดแดงจะยิ่งเปลี่ยนรูปร่างมากขึ้น ทำให้ความหนืดลดลง เอ็นโดทีลียมที่เติมลงไปจะลด RBC deformability เม็ดเลือดแดงจึงเปลี่ยนรูปร่างได้น้อยกว่าเม็ดเลือดปกติ ทำให้ความหนืดของเลือดเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้เป็นที่น่าสังเกตว่าความเข้มข้นของเอ็นโดทีลียม ถ้ามีน้อยไป (เช่น 0.1 นาโน-กรัม/มล.) จะไม่สามารถเพิ่มความหนืดของเลือดได้

นอกจากนี้ยังมีผู้พบว่าเอ็นโดทีลียมสามารถเพิ่ม membrane elastic shear modulus (9) และ membrane viscosities ได้ (9, 10) ดังนั้นเอ็นโดทีลียมอาจทำให้เม็ดเลือดแดงแข็งตัวมากขึ้น ซึ่งถ้าเป็นเม็ดเลือดปกติที่อัตราการไหล (shear rate) สูง ๆ จะมีการถ่ายเทระดับความเร็ว (velocity gradient) เข้าไปในเม็ดเลือดแดงปกติ พร้อมกับการเคลื่อนที่ของเยื่อเซลล์ (cell membrane) ไปรอบ ๆ ส่วนที่อยู่ภายในเม็ดเลือดแดง

ตารางที่ 1 ผลของเอ็นโดทีลียมต่อความหนืดของเลือด

| | | 1 ไมโครกรัม/ มล. | 10 นาโนกรัม/ มล. | 1 นาโนกรัม/ มล. | 0.1 นาโนกรัม/ มล. |
|--|--------------|---------------------|---------------------|--------------------|----------------------|
| Shear rate 24 วินาที ⁻¹ | เอ็นโดทีลียม | 8.32 ± 2.50 | 11.87 ± 3.65 | 11.48 ± 2.79 | 12.08 ± 4.27 |
| | Control | 7.07 ± 1.99 | 8.31 ± 3.27 | 7.26 ± 1.80 | 11.74 ± 3.99 |
| | ค่า p | p < 0.001 | p < 0.001 | p < 0.001 | p > 0.05 |
| Shear rate 60 วินาที ⁻¹ | เอ็นโดทีลียม | 6.38 ± 1.54 | 7.84 ± 1.72 | 8.50 ± 1.46 | 8.50 ± 1.58 |
| | Control | 5.58 ± 1.06 | 6.38 ± 1.43 | 6.35 ± 0.83 | 8.51 ± 1.89 |
| | ค่า p | p < 0.001 | p < 0.001 | p < 0.001 | p > 0.05 |
| Shear rate 120 วินาที ⁻¹ | เอ็นโดทีลียม | 5.18 ± 1.04 | 5.92 ± 0.93 | 6.26 ± 0.79 | 6.33 ± 1.11 |
| | Control | 4.69 ± 0.71 | 4.97 ± 0.83 | 4.91 ± 0.77 | 6.34 ± 1.20 |
| | ค่า p | p < 0.01 | p < 0.001 | p < 0.001 | p > 0.05 |

หมายเหตุ ค่าความหนืดหน่วยเป็น milli Pascal second (mPas)

ค่าความหนืดเป็นค่าเฉลี่ย ± S.D.

ค่า N = 15

ซึ่งเหมือนกับการเคลื่อนที่ของสายพานของล้อรถถังที่หมุนไปรอบ ๆ แกนล้อ ซึ่งเรียกว่า Tank tread motion ซึ่งจะลดความหนืดของเลือดลงไปอีก ส่วนเม็ดเลือดแดงที่บ่มกับเอ็นโดท็อกซินจะถ่ายเท velocity gradient เข้าไปใน cell ได้น้อยลง เพราะเม็ดเลือดแดงแข็ง ผลก็คือ เลือดที่บ่มกับเอ็นโดท็อกซินจะมีความหนืดสูงกว่าเลือดปกติ

การที่พบว่าเอ็นโดท็อกซินเพิ่มความหนืดของเลือดปกติได้นั้น อาจแสดงว่าเอ็นโดท็อกซินน่าจะเป็นสารตัวหนึ่งที่มีส่วนในการเพิ่มความหนืดของเลือดในผู้ป่วยมาลาเรียที่เป็นผู้ป่วยหนักและที่มีเปอร์เซ็นต์พาราไซต์สูง และอาจทำให้ผู้ป่วยเหล่านี้มีอาการแย่ลงได้ เพราะมีรายงานว่าพบเอ็นโดท็อกซินในผู้ป่วยเหล่านี้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณคณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดลที่ให้ทุนอุดหนุน ทำให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. I. A. Clark. Cell-mediated immunity in protection and pathology of malaria. *Parasitology Today*. 3 : 300 (1987).
2. W. Usawattanakul, S. Tharavanij, D. A. Warrell, S. Looareesuwan, N. J. White, S. Supavej and S. Soikratoke. Factors contributing to the development of cerebral malaria. II. Endotoxin. *Clin. Exp. Immunol.* 61 : 562 (1985).
3. S. Spitz. The pathology of acute falciparum malaria. *Milit. Surg.* 99 : 555 (1946).
4. R. A. Olsson and E. H. Johnston. Histopathological changes and small-bowel absorption in falciparum malaria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 18 : 355 (1969).
5. L. W. Davidson and D. L. Mollitt. The effect of endotoxin on red blood cell deformability and whole blood viscosity. *Current Surgery*. September - October, 341-342 (1990).
6. D. L. Mollitt and N. D. Poulos. The role of pentoxifylline in endotoxin induced alterations of red cell deformability and whole blood viscosity in the neonate. *J. Pediatric Surgery*. 26 : 572-574 (1991).
7. I. J. Clerk. Does endotoxin cause both the disease and parasite death in acute malaria and babesiosis? *Lancet*. ii : 75 (1978).
8. D. C. Betticher, H. Keller, F. E. Maly and W. H. Reinhart. The effect of endotoxin and tumour necrosis factor on erythrocyte and leucocyte deformability in vitro. *Brit. J. Haematol.* 83 : 130-137 (1993).
9. W. Meier, H. Baumler and R. Petrova. Membrane properties and aggregation of human red blood cells after endotoxin treatment in vitro. *Folia Haematol.* Leipzig 114. 4: s. 480-481 (1987).
10. J. C. Todd III, N. D. Poulos and D. L. Mollitt. The effect of endotoxin on the neonatal erythrocyte. *J. Pediatric Surgery*. 28 : 334-337 (1993).

Effect of Endotoxin on Blood Rheology

Petcharindr Yamarat

Department of Tropical Radioisotopes, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University

Abstract : There were changes in the rheological properties of blood from patients with *Plasmodium falciparum* such as an increase in blood viscosity and a decrease in RBC deformability. The mechanism of these changes was not clearly understood. However, there was evidence that endotoxin was detected in the severe malarial patients and the malarial patients with high parasitemia. In the present study, endotoxin was mixed with normal blood and incubated at 37°C for 3 hours by using the final concentrations of endotoxin in the range which had been found in the malarial patients. The finding of endotoxin-related increase in blood viscosity suggested that endotoxin may be one candidate which could increase blood viscosity in the severe malarial patients and the malarial patients with high parasitemia. However, we could not explain an increase in blood viscosity in acute uncomplicated malarial patients since endotoxin was not detected in their blood.

Key words : Endotoxin, Blood rheology, Malaria