



ผลของยาไพรมาควินต่อการใช้ออกซิเจนของ เม็ดเลือดแดงของหนูที่เป็นโรคมาลาเรีย

สร้อยสังวาลย์ สาทรักษ์ วท.บ. (เกียรตินิยม, เทคนิคการแพทย์)*

บุญยืน สาริกะภูติ Ph.D.**

ย่อเรื่อง

ได้ใช้ Warburg Manometer ทา oxygen uptake ของเม็ดเลือดแดงของหนูถีบจักรที่ ติดเชื้อไข้มาลาเรีย *P. berghei* เมื่อใส่ไพรมาควินลงไปจนมีความเข้มข้น 10^{-6} M ปรากฏว่า oxygen uptake ลดลงถึง 56% เมื่อเม็ดเลือดแดงถูก infect 48% แต่ถ้าเม็ดเลือดแดงถูก infect 64% oxygen uptake ลดลง 20.82% ส่วนเม็ดเลือดแดงปกติของหนูถีบจักร กลับเพิ่ม oxygen uptake สูงขึ้นเมื่อเติมไพรมาควินลงไป

บทนำ

ใน ค.ศ. 1938 Fulton และ Christophers (6) ได้แสดงให้เห็นเป็นครั้งแรกว่าควินินและอะเทบริน (atebrine) ขัดขวางการใช้ออกซิเจนของเม็ดเลือดแดงของลิง ที่ ติดเชื้อไข้มาลาเรียชนิด *Plasmodium knowlesi* Coggeshall และ Maier (4) และ Silver-

man et al. (8) ทดลองได้ผลเช่นเดียวกันเมื่อใช้ยาทั้งสองนี้กับ *P. lophurae* และ *P. gallinaceum* ผู้เขียนจึงได้ทดลองผลของยาไพรมาควิน (primaquine) ต่อการใช้ออกซิเจนของเม็ดเลือดแดงของหนูถีบจักร ที่ มีเชื้อไข้มาลาเรียชนิด *P. berghei* โดยเปรียบเทียบกับผลของยานี้ต่อเม็ดเลือดแดงของหนูถีบจักรปกติ

วัตถุประสงค์และวิธีการ

ใช้หนูถีบจักร 30 ตัว ติดเชื้อไข้มาลาเรีย *P. berghei* เข้าไปทางหน้าท้อง เมื่อเปอร์เซ็นต์ของพาราไซท์สูงประมาณ 48% นำหนูเหล่านั้นมาเจาะเลือดออกทางหัวใจ การเจาะเลือดใช้ heparin เป็น anticoagulant เลือดที่ได้นำมา รวมกันแล้วนำไปนับจำนวนพาราไซท์

นำเลือดมาแยกเม็ดเลือดขาวออกโดยผ่านคอตมันที่บรรจุ filter paper powder 1 กรัมต่อเลือด 10 มิลลิลิตร (7)

ชั้นต่อไปนำเลือดที่แยก เม็ดเลือดขาวออกแล้วนี้มา centrifuge ที่ 1000 g เป็นเวลา

*กำลังศึกษาต่อชั้นมหาบัณฑิต ที่บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

**ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

10 นาที เท supernatant ทั้ง เม็ดเลือดแดง อยู่ที่ก้นหลอด เติม Krebs-Ringer phosphate buffer ลงไปปริมาณเท่ากับ supernatant ที่ทิ้งไปในตอนแรกหรืออาจเติมลงไป 10 มิลลิลิตรต่อเม็ดแดงหนึ่งมิลลิลิตร นำไป centrifuge ที่ 1000 g เป็นเวลา 10 นาที เท supernatant ทั้ง ต้่างเม็ดเลือดแดงด้วยวิธีเช่นนี้สองครั้ง

การทำ oxygen uptake ทำโดยใช้ Precision Warburg apparatus นำเม็ดเลือดแดงที่ล้างแล้วนั้นมาผสมกับ Krebs Ringer phosphate buffer จนมีค่า hematocrit เท่ากับ 10-30% ใส่ Red cell suspension 1 มิลลิลิตร และ 1 มิลลิลิตรของกลูโคส 40 ไมโครโมลลงใน Warburg flask ใส่ 0.1 มิลลิลิตรของบัฟเฟอร์ลงไปแทนยา ใน side arm ของ flask สำหรับ flask ที่เป็น control ใส่ 0.1 มิลลิลิตรของบัฟเฟอร์ลงไปแทนยา ใน center well ของ flask ใส่ 0.2 มิลลิลิตรของ 5 M KOH ซึ่งเป็นชนิด carbonate-free แล้วใส่กระดาษกรองชั้นเล็กซึ่งพับเป็นลูกฟูกไว้ด้วย เพื่อช่วยให้มีผิวในการดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ได้มากขึ้น

การทดลองทำที่ 37 °ซ. ระบายของ oxygen uptake วัดทุก 10 นาที เป็นเวลาสองชั่วโมง

สำหรับผลของยาไพโรมาควิน เมื่ออ่านระดับ oxygen uptake ได้ประมาณ 20 นาที ค่อย ๆ เอียง side arm ให้ยาไพโรมาควิน

ไหลลงผสมกับ Red cell suspension ใน flask แล้วเขย่า flask ไปจนครบ 10 นาที จึงอ่านระดับ oxygen uptake และอ่านไปเรื่อย ๆ ทุก 10 นาที

การทดลองเมื่อทำเปอร์เซ็นต์ฟาราไซท์เป็น 64% และทดลองกับเม็ดเลือดแดงของหนูปกติด้วย

ผลการทดลอง

Oxygen uptake ของเม็ดเลือดแดงของหนูปกติมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.104 ไมโครอะตอม ต่อ 10^9 เซลล์ ต่อชั่วโมง แต่เมื่อมียาไพโรมาควินเข้มข้น 10^{-6} M อยู่ด้วย oxygen uptake เพิ่มขึ้นเป็น 0.149 ไมโครอะตอมต่อ 10^9 เซลล์ ต่อชั่วโมง ซึ่ง เพิ่มขึ้น 43.26%

Oxygen uptake ของเม็ดเลือดแดงดิบ-จักรที่มีเชื้อ P.berghei อยู่ 48% มีค่าเท่ากับ 0.885 ไมโครอะตอมต่อ 10^9 เซลล์ ต่อชั่วโมง เมื่อมีไพโรมาควินเข้มข้น 10^{-6} M อยู่ด้วย oxygen uptake เปลี่ยนเป็น 0.390 ไมโครอะตอมต่อ 10^9 เซลล์ ต่อชั่วโมง ซึ่ง inhibit 56%

Oxygen uptake ของเม็ดเลือดแดงของหนูดิบจักรที่มีเชื้อ P.berghei อยู่ 64% มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.003 ไมโครอะตอมต่อ 10^9 เซลล์ ต่อชั่วโมง เมื่อมีไพโรมาควินเข้มข้น 10^{-6} M อยู่ด้วย oxygen uptake ลดลง 20.8% คือเป็น 0.792 ไมโครอะตอมต่อ 10^9 เซลล์ ต่อชั่วโมง ดังแสดงในตารางที่ 1 และที่ 2

*ไมโครอะตอม คือไมโครกรัมอะตอม

ตารางที่ 1 แสดง Oxygen uptake ของ เม็ดเลือดแดงของ หนูถีบจักรปกติ และหนูที่ติดเชื้อไข้มาลาเรียชนิด P.berghei

Parasitemia %	Oxygen uptake μ atom/ 10^9 cells/hr	% change
0	0.094	
0	0.115	
48	0.88	+ 73.07
48	0.89	
64	0.947	+ 86.44
64	1.060	

ตารางที่ 2 ผลของยาไพโรมาควินที่มีความเข้มข้น 10^{-6} M ต่อ Oxygen uptake ของเม็ดเลือดแดงของหนูถีบจักรปกติ และหนูที่ติดเชื้อไข้มาลาเรียชนิด P.berghei

Parasitemia %	Substrate	Oxygen uptake μ atom/ 10^9 cells/hr	% change
0	Glucose	0.104	
0	Glucose + Primaquine	0.149	+ 43.26
48	Glucose	0.885	- 56.00
48	Glucose + Primaquine	0.390	
64	Glucose	1.003	- 20.80
64	Glucose + primaquine	0.792	

วิจารณ์ผล

การที่ไพโรมาควินไปกระตุ้น ให้เม็ดเลือดแดงของหนูถีบจักรปกติใช้ออกซิเจนมากขึ้นนั้น เรายังไม่ทราบสาเหตุที่แน่นอน เพียงแต่คาดคะเนว่าไพโรมาควินคงไปกระตุ้น pentose phosphate pathway ในเม็ดเลือดแดง โดย

ทำหน้าที่เป็น electron carrier ระหว่าง NADPH กับออกซิเจน เหมือนกับในกรณีของ methylene blue

สำหรับเม็ดเลือดแดงของหนูถีบจักรที่ติดเชื้อไข้มาลาเรีย P.berghei ปรากฏว่าไพโรมาควินชั้น 10^{-6} M inhibit oxygen uptake

เมื่อมีพาราไซต์ 48% ได้มากกว่า เมื่อมีพาราไซต์ 64% ถึง 2.8 เท่า ซึ่งแสดงว่ายาไพโรมาควิน inhibit การเจริญเติบโตของเชื้อใช้ขณะที่พาราไซต์ infect เม็กเลือดแดงไม่มากนักอย่างได้ผล ถ้าเม็กเลือดแดงถูก infect มากเสียแล้ว ยาไพโรมาควินกลับ inhibit การเจริญของเชื้อใช้ได้ลดลง

ไพโรมาควินเป็นยาประเภท 8-amino-quinoline ใช้รักษาโรคมาลาเรียของคนชนิด P.vivax ได้ผล กล่าวคือไม่มีการย้อนกลับมาเป็นได้ใหม่ แต่ถ้าใช้ยารักษาอื่นเช่นกลอสโรควิน ยาไม่สามารถฆ่าเชื้อโรคมาลาเรียที่ตับได้ ทำให้ย้อนกลับมาเป็นโรคได้ใหม่ Cho และ Aviado (3) คาดว่ายาไพโรมาควินจะไป interfere กับ carbohydrate metabolism ของพาราไซต์ โดยอาจไป inhibit เอ็นไซม์ใน Pentose phosphate pathway กังซ้อเสนอแนะของ Cotton และ Sutorious (5) Beaudoin และเพื่อนร่วมงานของเขา (2) รายงานว่า ไพโรมาควิน vacuoles ในไซโตพลาสซึมมีขนาดใหญ่ขึ้นโดยดูจาก exoerythrocytic stage ของ P.fallax, Aikawa และ Beaudoin (1)

REFERENCES:

1. AIKAWA, M. and BEAUDOIN R.L. Morphological effects of 8-aminoquinolines on the exoerythrocytic stages of Plasmodium fallax Miltit. Med 134; 986, 1969.

แสดงให้เห็นว่า เมื่อให้ยา 8-aminoquinoline แก่ exo-erythrocytic stage ของ P.fallax แล้ว ไมโทคอนเดรียจะพองขึ้นและ endoplasmic reticulum ขยายตัวเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามเราจำเป็นต้องศึกษาต่อไปเพื่อให้ทราบว่า ไพโรมาควินขัดขวาง การใช้ออกซิเจนในเม็กเลือดแดงที่มีเชื้อใช้มาลาเรียอย่างไร

ABSTRACT:

Effect of primaquine on oxygen uptake of mouse red cell infected with Plasmodium berghei.

Oxygen uptake of mouse red cell infected with P.berghei was measured by Warburg Manometer. The addition of primaquine to give final concentration of 10^{-6} M caused inhibition of oxygen uptake by 56% when parasitemia was 48% and 20.80% when parasitemia was 64%. Primaquine was observed to increase oxygen uptake of normal mouse red cells.

2. BEAUDOIN, R.L., STROME, C.P.A. and CLUTTER, W.G. A-tissue culture for the study drug action against the tissue phase of malaria Miltit. Med. 134: 979, 1969
3. CHO, W.C. and AVIADO, D.M. Pathogenic Physiology and chemo-

- therapy of *Plasmodium berghei* IV. Influence of chloroquine on oxygen uptake of red blood cells infected with sensitive or resistant strains. *Exptl. Parasit.*, 23: 143, 1968.
4. COGGESHALL, L.T., MAIER, J. Determination of the activity of various drugs against the malaria parasite. *J. Infectious Diseases* 69: 108, 1941.
5. COTTON, D.W.K. and SUTORIU, A.H.M. Inhibiting effect of some antimalarial substances on^o glucose-6 phosphate dehydrogenase *Nature*, 233: 197, 1971.
6. FULTON, J.D. and CHRISTOPHER, S.R. Observations on the respiratory metabolism of malaria parasites and trypanosomes *Ann.Trop.Med. Parasit.*, 52: 43, 1938.
7. GRANT, P.T. and FULTON, J.D. The catabolism of glucose by strains of *Trypanosoma rhodesiense* *Biochem. J.*, 66: 242, 1957.
8. SILVERMAN, M., CEIPHAML., J. TALIAFERRO L.G. and EVANS., E.A., Jr. The in vitro metabolism of *Plasmodium gallinaceum*. *J.infect. Dis.*, 75: 212, 1944.
-