

รูปแบบ Abstract (บทคัดย่อ)

Project Code (รหัสโครงการ): MRG5480111

Project Title (ชื่อโครงการ): การศึกษากลไกการสร้างไมโครพาทิคเคิลระดับโมเลกุลและตัว
ยับยั้งฤทธิ์เพื่อใช้ในการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียชนิดขึ้นสมอง

Investigator (ชื่อนักวิจัย): ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดวงดาว นันทโกมล
คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

E-mail Address : nantadao@gmail.com, Duangdao.n@chula.ac.th

Project Period (ระยะเวลาโครงการ): 2 ปี

Abstract

The importance of microparticles (MPs), membrane vesicles with diameter < 1.5 micron, has been explored in both African and Thai patients during the acute phase of pediatric cerebral malaria (CM), and showed that this increase was restricted to severity of the disease. In murine model demonstrated that a down-production of MPs by the deletion of the ATP Binding Cassette Transporter A1 (ABCA1) gene completely protects the neurological syndromes in *Plasmodium berghei* ANKA (PbA) mouse model of CM. Therefore, to interfere with the production or deleterious effects of these MPs represents a new approach to investigating cerebral pathophysiology. In the first part of this study, we have investigated the molecular variation of *ABAC1* and *ADAMTS13* with known number of MPs concentration and studied the effect of *citicoline*, a molecule that mimics the action of ABCA 1 transporter, on reducing the production of MPs. We applied various bioinformatics tools for the selection of high potentially functional nsSNP and determined the linkage disequilibrium (LD) structure of ABCA1 genes in HapMap

populations. Nine functional polymorphisms were identified on the basis of less protein stability, a low likelihood of mutability, a changing of protein structure and function. We further confirmed the possible association of rs2246298 with known MPs concentration in malaria infected individuals. It was found that G/G homozygote was shown to be significantly over-represented in the patients with severe malaria (39%) and cerebral malaria (33%) comparing to those with mild malaria or uncomplicated malaria (20%). Since frequency of the derived allele, -102G, was higher in patients with severe malaria than in patients with mild malaria, this allele was regarded as being associated with the susceptibility to severe malaria. We next studied the modulating the process of vesiculation by blocking the action of ABCA1 transporter, RBCs were induced membrane vesiculation by incubating with calcium ionophore (0-10 μ M) in concomitantly presence or absence of 10 μ M of citicoline. Calcium ionophore ($> 8 \mu$ M) induced RMPs formation. These effects were inhibited by a molecule that mimics the action of ABCA 1 transporter, citicoline (10 μ M). In order to investigate the effect of G6PD and ADAMTS13 on MPs production, the current study shows that the number of MPs increased in G6PD deficient individuals; especially in severe G6PD deficiency compared to healthy controls. After we study ADAMTS13 in plasma before and after depletion of microparticles. It was found that MP-depleted plasma has higher levels of ADAMTS13

Keywords : Microparticles, ABCA1, Phosphatidylserine, *Plasmodium falciparum*, Cerebral malaria

บทคัดย่อ

ไมโครพาทิเคิล (microparticles) คือชิ้นส่วนของผนังเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีขนาดเล็กกว่า 1.5 ไมครอนตรวจพบในปริมาณน้อยมากในคนปกติและมีรายงานก่อนหน้านี้พบว่าไมโครพาทิเคิลมีปริมาณสูงขึ้นในพลาสมาของผู้ป่วยที่ติดเชื้อฟาซิฟารัมมาลาเรียซึ่งสัมพันธ์กับการเกิดมาลาเรียชนิดขึ้นสมอง อีกทั้งผลการวิจัยในหนูที่ติดเชื้อฟาซิฟารัมมาลาเรียชนิดไม่มียีนส์กำหนดการสร้างไมโครพาทิเคิล หรือ ATP Binding Cassette Transporter A1 (ABCA1) จะไม่สามารถสร้างไมโครพาทิเคิลและไม่พัฒนาเป็นมาลาเรียชนิดขึ้นสมอง ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษากลไกการควบคุมการสร้างและปัจจัยที่ส่งผลต่อการสร้างไมโครพาทิเคิลเพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาการรักษาผู้ป่วยที่มีปริมาณไมโครพาทิเคิลสูงในร่างกาย การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ผู้วิจัยศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนส์ ABCA1 ในตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยที่รู้จำนวนไมโครพาทิเคิลที่แน่นอน ผู้วิจัยใช้โปรแกรมทางชีวสารสนเทศเพื่อคัดเลือกตำแหน่ง SNP ที่ส่งผลต่อการสร้างไมโครพาทิเคิลมากที่สุดซึ่งได้แก่ ตำแหน่ง -102G/G (rs2246298) บริเวณโปรโมเตอร์ของยีนส์ ABCA1 เมื่อทำการตรวจความหลากหลายทางพันธุกรรมของตำแหน่งดังกล่าวในตัวอย่างเลือดผู้ป่วยพบว่า ลักษณะทางพันธุกรรมแบบ GG homozygote ของตำแหน่ง -102G/G มีความถี่สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในผู้ป่วยที่มีระดับไมโครพาทิเคิลสูงขึ้นร่วมกับการติดเชื้อฟาซิฟารัมมาลาเรียชนิดรุนแรง (39%) และ ชนิดขึ้นสมอง (33%) เปรียบเทียบกับผู้ป่วยติดเชื้อฟาซิฟารัมมาลาเรียชนิดไม่รุนแรง (20%) ($P < 0.01$) ปริมาณการสร้างไมโครพาทิเคิลจากเม็ดเลือดแดงในหลอดทดลองเมื่อกระตุ้นด้วย calcium ionophore (0-10 μ M) สามารถถูกยับยั้งด้วยสาร citicoline ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม นอกจากนี้ผู้วิจัยยังศึกษาพบว่านอกจากปัจจัยทางพันธุกรรมแล้วปัจจัยระดับของเอนไซม์ในเซลล์เม็ดเลือดอันได้แก่ เอนไซม์ G6PD และ ADAMTS13 จะส่งผลต่อการสร้างไมโครพาทิเคิลได้เช่นกัน

คำหลัก: ไมโครพาทิเคิล, ยีนส์เอบีซีเอวัน, ฟอสฟาติควเซอร์รีน, พลาสโมเดียมฟาซิฟารัม, มาลาเรียชนิดขึ้นสมอง