

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG5980038

ชื่อโครงการ: การประเมินโปรไฟล์ของภาวะเลือดเป็นกรดในผู้ป่วยมาลาเรียขั้นรุนแรงโดยใช้
เทคนิคนวัตกรรม

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน อาจารย์ ดร.ณัฐธิดา ศรีบุญวรกุล มหาวิทยาลัยมหิดล

อีเมล: natthida.srn@mahidol.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี

บทคัดย่อ:

ภาวะเลือดเป็นกรด (Acidosis) ซึ่งเป็นเครื่องหมายที่ใช้ทำนายโรค (prognostic marker) เป็นปัญหาที่พบโดยทั่วไป และเป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิตในผู้ป่วยมาลาเรียชนิดรุนแรง (severe malaria) จากเชื้อ Plasmodium falciparum โดยภาวะ Acidosis มีสาเหตุหลักหนึ่งมาจากกรดแลคติก และต่อมาได้มีการศึกษาทางการแพทย์ ในพลาสมาของกลุ่มผู้ป่วยมาลาเรียชนิดรุนแรงจาก Plasmodium falciparum และทำการคำนวณหาค่าผลต่างระหว่างแอนไอออนชนิดแรง (strong anion gap) ทั้งหมดเทียบกับจากกรดแลคติก พบว่าค่าผลรวม strong anion gap ทั้งหมดมีค่าสูงกว่าที่มาจากกรดแลคติกอย่างเดี๋ยวจึงประมาณสี่เท่า จากผลการศึกษาทำให้พบว่า ยังมีกรดอินทรีย์ที่ไม่สามารถระบุชนิดได้อีกหลายชนิดที่เป็นตัวแปรสำคัญที่ส่งผลต่อค่าผลรวมของ strong anion gap ที่ไม่ขึ้นกับกรดแลคติก และก่อให้เกิดอัตราการเสียชีวิตอย่างมีนัยสำคัญทางการวินิจฉัยสาเหตุการเกิดโรคในผู้ป่วยมาลาเรียชนิดรุนแรงจากเชื้อ Plasmodium falciparum นี้ จากการศึกษาสำรวจ (Pilot study) ได้ทำการพัฒนาวิธีการทางเคมีวิเคราะห์และพิสูจน์ความเชื่อมั่น (Validation) โดยใช้เทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (LC-MS) ประเภทไฮโดรฟิลิกอินเทอร์เฟซลิควิดโครมาโทกราฟี (HILIC) ต่อกับแมสสเปกโตรเมตรี (MS) ในโหมดไอออนลบสำหรับการแยกและการตรวจวัดกรดอินทรีย์ขนาดเล็ก 8 ชนิดซึ่งเป็น endogenous compounds และเป็น metabolites ในผู้ป่วยเบื้องต้นเพื่อใช้ในการขยายการศึกษาในขั้นต่อไป กรดทั้ง 8 ชนิด ได้แก่ กรดแอลแลคติก, กรดแอลฟาไฮดรอกซีบีวทิกลิก, กรดแอลฟาไคโกลูตาริก, กรดเบต้าไฮดรอกซีบีวทิกลิก, กรดฟีไฮดรอกซีฟีนิลแลคติก, กรดมาโลนิค, กรดเมทิลมาโลนิคและ กรดเอทิลมาโลนิค โดยกรดอินทรีย์ทั้งหมดนี้สามารถถูกวิเคราะห์ได้พร้อมๆกันโดยใช้ซิกฮิลิกคอลัมน์ (ZIC HILIC) โดยวิธีการทางเคมีวิเคราะห์ในการศึกษานี้ได้พัฒนาและพิสูจน์ความเชื่อมั่นอ้างอิงตามคู่มือขององค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา และได้เพิ่มการประยุกต์เพิ่มเติมสำหรับการวิเคราะห์สาร endogenous

compounds วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยนี้คือ เพื่อศึกษาสาเหตุการเกิดภาวะเลือดเป็นกรดในผู้ป่วยมาลาเรีย (*Plasmodium falciparum*) ชนิดรุนแรงจากการหาชนิดและปริมาณของกรดอินทรีย์ที่สำคัญที่พบในตัวอย่างพลาสมาและปัสสาวะของผู้ป่วยมาลาเรียชนิดรุนแรง เทียบกับผู้ป่วยมาลาเรียชนิดไม่รุนแรง (Uncomplicated malaria), ภาวะเลือดกรดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย และในอาสาสมัครคนสุขภาพดี โดยใช้เทคนิควัดกรรม (LC-MS และ Chemometrics) จากนั้น ทำการรวบรวมโปรไฟล์ของกรดที่ได้จากการศึกษาทั้งหมด มาประเมินเป็นดัชนีชี้วัดที่สัมพันธ์กับความรุนแรงหรือการพยากรณ์โรคของโรคมาลาเรีย การค้นพบที่ได้จากงานวิจัยนี้จะสามารถนำมาใช้ในการพัฒนาการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียที่มีภาวะเลือดเป็นกรด เพื่อลดอัตราการเจ็บป่วยและเสียชีวิตจากโรคนี้ และสามารถนำเทคนิคที่พัฒนาได้ในงานวิจัยนี้ไปประยุกต์ใช้กับผู้ป่วยภาวะเลือดเป็นกรดจากโรคอื่นๆได้

คำหลัก : ภาวะเลือดเป็นกรด, มาลาเรียชนิดรุนแรง, กรดอินทรีย์, ลิควิดโครมาโทกราฟี, แมสสเปกโตรเมตรี

Abstract

Project Code : MRG5980038**Project Title** : Assessment of acidosis profile in patients with severe malaria using innovative technique**Investigator** : Natthida Sriboonvorakul, PhD, Lecturer, Mahidol University**E-mail Address** : natthida.srn@mahidol.ac.th**Project Period** : 2 years**Abstract:**

Acidosis is an important cause of mortality in severe falciparum malaria. Lactic acid is a major contributor to metabolic acidosis, but accounts for only one-quarter of the strong anion gap. Other unidentified organic acids have an independent strong prognostic significance for a fatal outcome. The assessment of acidosis profile in patients with severe malaria and other conditions complicated by acidosis could lead to better understanding the pathophysiology of disease condition. A simultaneous bio-analytical method for qualitative and quantitative assessment of eight small organic acids potentially contributing to acidosis in severe malaria in plasma and urine was developed and validated. Hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) coupled to negative mass spectroscopy was utilized for separation, detection and quantification. Eight possible small organic acids; L-lactic acid (LA), α -hydroxybutyric acid (aHBA), β -hydroxybutyric acid (bHBA), p-hydroxyphenyllactic acid (pHPLA), malonic acid (MA), methylmalonic acid (MMA), ethylmalonic acid (EMA) and α -ketoglutaric acid (aKGA) were analyzed simultaneously using a ZIC-HILIC column. This method was validated according to U.S. Food and Drug Administration guidelines with additional validation procedures for endogenous substances. Chemometrics was performed for the complementary study. The objectives of this study are to assess acidosis profile in patients with severe falciparum malaria by using innovative technique (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry and Chemometrics) to obtain qualitative and quantitative data of unmeasured organic acids in patients with severe falciparum malaria, uncomplicated falciparum malaria and bacterial infection sepsis (in absence of

malaria) with healthy volunteers, and to combine profile of unmeasured organic acids and clinical characteristics for the assessment of disease state and/or disease prognosis. This could be important clinical tool for better understanding the pathophysiology of acidosis in severe malaria and other conditions complicated by acidosis. Consequently, this could guide to the development of new therapies.

Keywords; Acidosis, Severe malaria, Organic acids, Liquid Chromatography,
Mass Spectrometry