

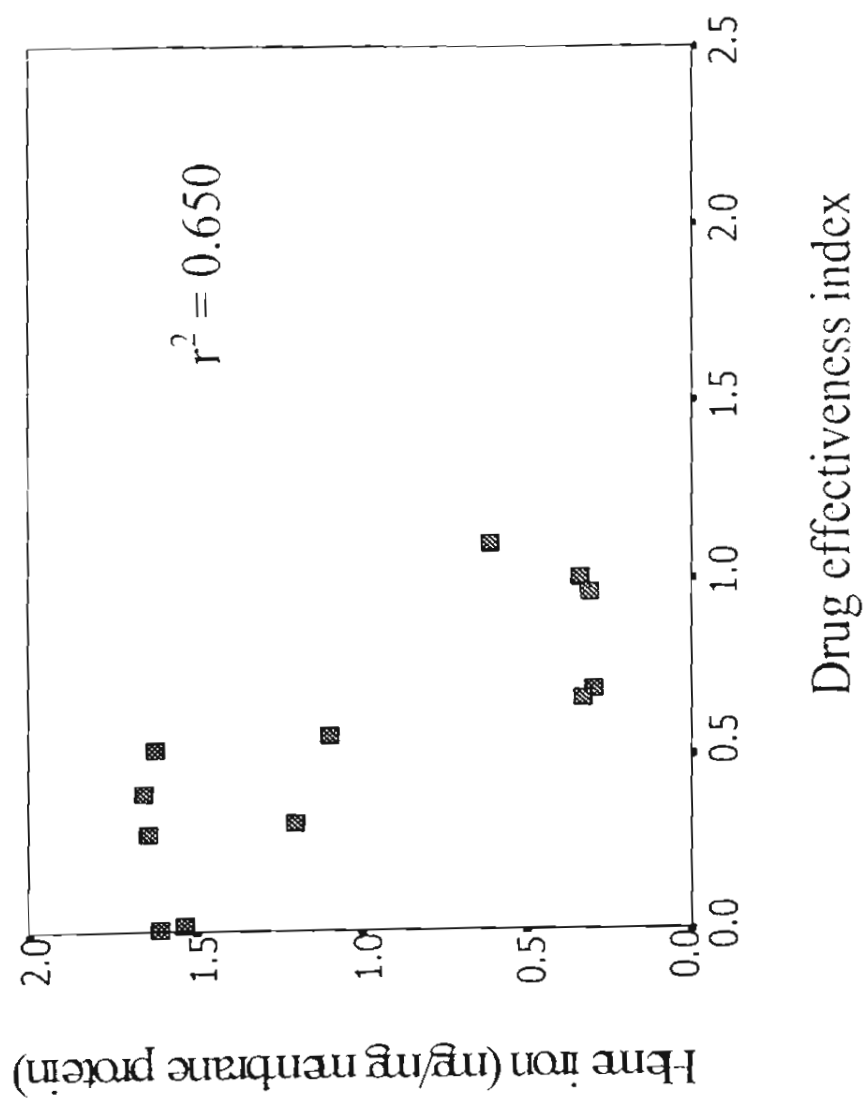


FIGURE 7 : Correlation between drug effectiveness index and heme iron of HbH/HbCS membrane

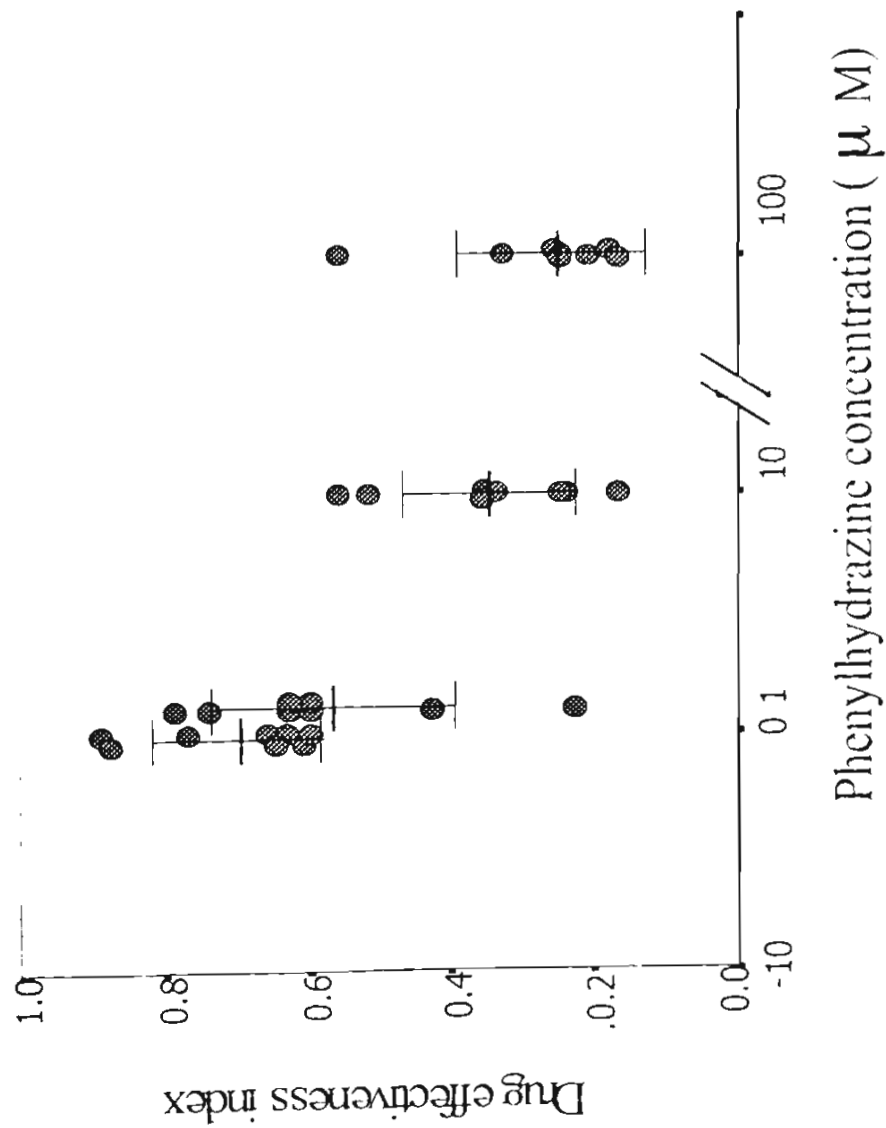


FIGURE 8 : Effect of Phenylhydrazine on drug effectiveness index

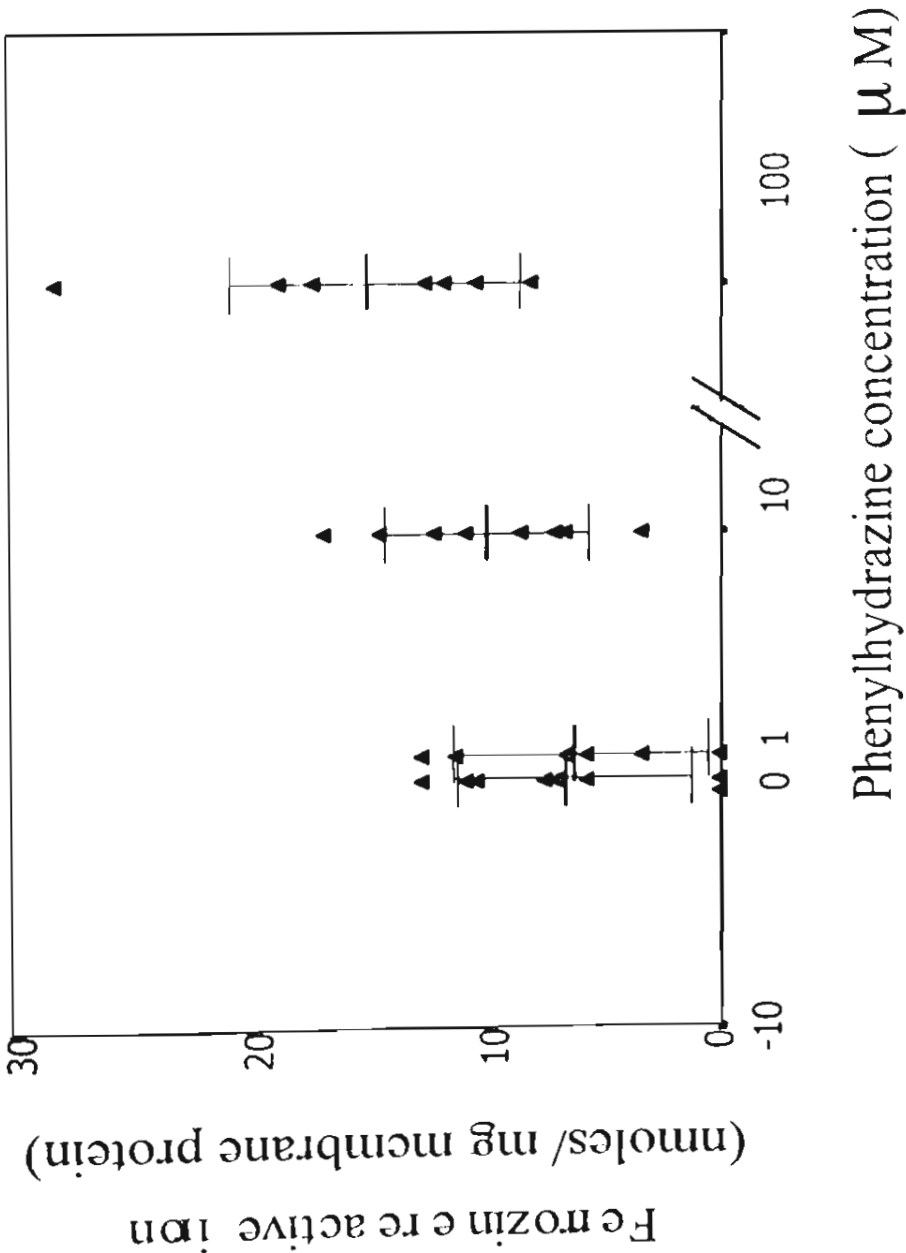


FIGURE 9 : Effect of Phenylhydrazine on membrane ferrozine reactive iron

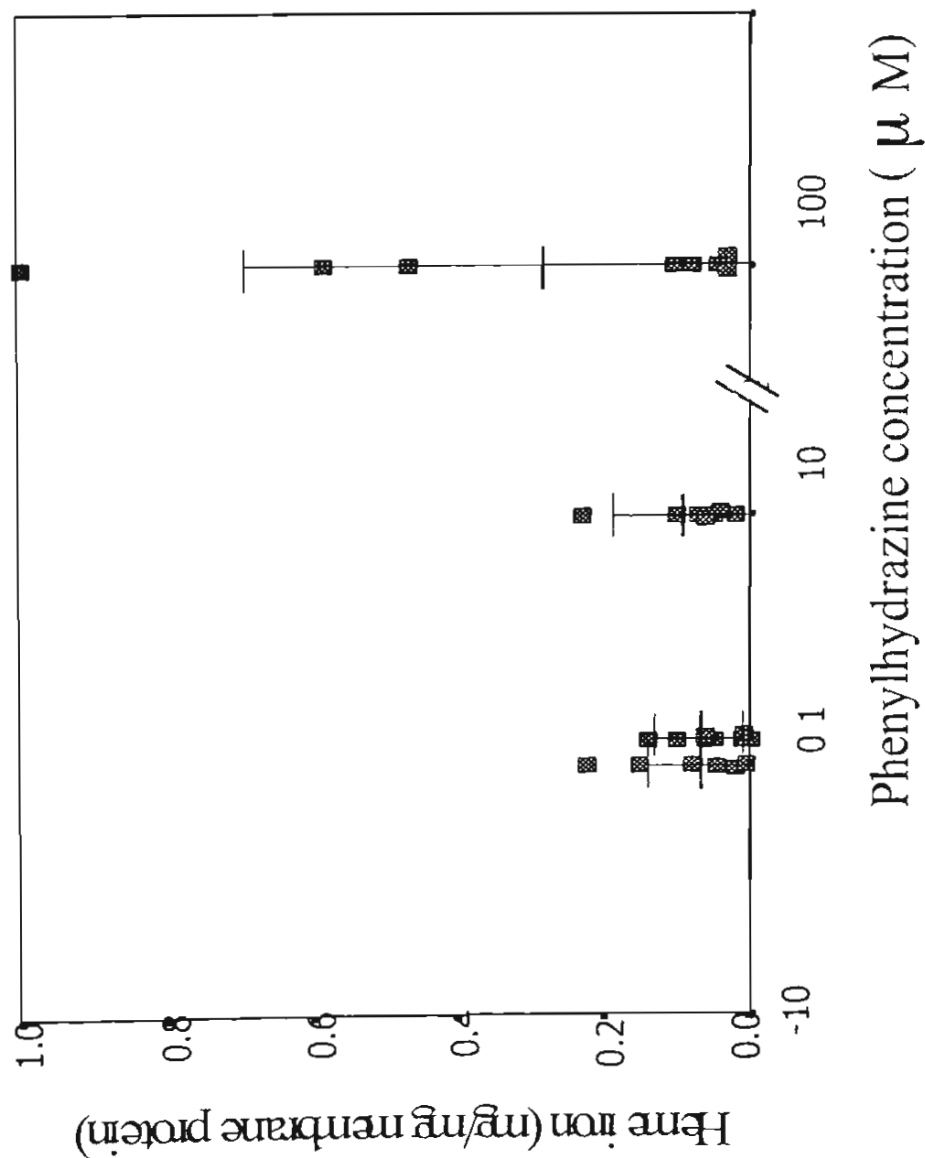


FIGURE 10 : Effect of Phenyl hydrazine on membrane heme iron

วิจารณ์ผลและสรุป

อาร์ทีมิซินินและสารอนุพันธ์เป็นกลุ่มยาต้านมาลาเรียที่ยังคงประสิทธิภาพในการรักษาโรคมาลาเรียโดยเฉพาะเชื้อพลาสโมเดียมฟัลซิพารัมสายพันธุ์ที่ดื้อยาคลอโรควินและยาต้านมาลาเรียชนิดอื่นๆ (21) แต่จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า เชื้อพลาสโมเดียมฟัลซิพารัมที่เลี้ยงในเซลล์เม็ดเลือดแดงอัลฟาธาลัสซีเมียคือต่อยากลุ่มนี้เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อชนิดเดียวกันที่เลี้ยงในเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติ (7,8,9) โดยพบว่ากลไกการดื้อยาในกรณีนี้เกิดจากปัจจัยในเม็ดเลือดแดงอัลฟาธาลัสซีเมียซึ่งสามารถสะสมยาเข้าเซลล์และทำลายฤทธิ์ยาเมื่อผ่านเข้า-ออกเซลล์ (แม้ในภาวะที่ไม่มีเชื้อมาลาเรีย) ได้มากกว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติ (8-11) องค์ประกอบของเซลล์ทั้งส่วนของเมมเบรนและไซโตพลาสซึมมีส่วนเกี่ยวข้องกับปรากฏการณ์ดื้อยาดังกล่าว (11) และฮีโมโกลบินเอช เป็นองค์ประกอบที่สำคัญในไซโตพลาสซึมมีส่วนเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติการสะสมยา (โดยการจับกับยา) (9) และการทำลายฤทธิ์ยาของเซลล์ (10,11) ส่วนปัจจัยใดในเมมเบรนที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการทำลายฤทธิ์ยายังไม่มีรายงานแน่ชัด จากการศึกษาครั้งนี้บ่งชี้ว่าเหล็กในเมมเบรนที่อยู่ในรูปฮีโมสามารถกระตุ้น (activate) ยาให้ออกฤทธิ์ได้ ทำให้ยาเปลี่ยนโครงสร้างไปเป็นยาที่เสื่อมฤทธิ์ (inactive form) จึงไม่สามารถออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อมาลาเรียได้ Meshnick และคณะ (6) ได้เสนอรูปแบบกลไกการออกฤทธิ์ยาในกลุ่มอาร์ทีมิซินินว่าประกอบด้วย 2 ขั้นตอน ขั้นตอนแรกเป็นการกระตุ้นยาให้อยู่ในรูปของอนุมูลอิสระ (free radical) โดยเหล็กอิสระ (เหล็กที่ไม่อยู่ในรูปฮีโม) หรือเหล็กที่อยู่ในรูปฮีโมในตัวของเชื้อมาลาเรียเป็นตัวกระตุ้น ในขั้นตอนที่สองของการออกฤทธิ์อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะจับ (alkylation) กับสารต่างๆ ที่อยู่ใกล้เคียงทำให้สารนั้นเสียคุณสมบัติในการทำงานได้ และโปรตีนของเชื้อมาลาเรียเป็นเป้าหมายที่สำคัญในการออกฤทธิ์ของยา การเกิด alkylation จะส่งผลให้เชื้อมาลาเรียตาย โปรตีนที่มีรายงานว่าเป็นเป้าหมายหนึ่งของยาคือ translationally controlled tumor protein (TCTP) homolog ของเชื้อพลาสโมเดียมฟัลซิพารัม (22) แต่ปรากฏการณ์เสื่อมฤทธิ์ยาที่เกิดในเซลล์เม็ดเลือดแดงอัลฟาธาลัสซีเมียสามารถพบได้แม้ในภาวะที่ไม่มีเชื้อมาลาเรีย ดังนั้นสารในเซลล์เม็ดเลือดแดงอัลฟาธาลัสซีเมียที่กระตุ้นยาให้อยู่ในรูปของอนุมูลอิสระในขั้นตอนแรกนั้นจึงควรเป็นเหล็กในเซลล์ จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าฮีโมโกลบินซึ่งเป็นสารที่มีเหล็กเป็นองค์ประกอบเป็นปัจจัยที่สำคัญในไซโตพลาสซึมที่ทำลายฤทธิ์ยา (11) ในเมมเบรนเม็ดเลือดแดงธาลัสซีเมียก็มีเหล็กเป็นองค์ประกอบอยู่มากกว่าเมมเบรนเม็ดเลือดแดงปกติ (23) ดังนั้นเหล็กในเมมเบรนก็น่าจะเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลทำให้เกิดการเสื่อมฤทธิ์ยา ซึ่งการศึกษานี้สนับสนุนว่าเหล็กในเมมเบรนที่อยู่ในรูปฮีโมเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดปรากฏการณ์เสื่อมฤทธิ์ยาดังกล่าว อย่างไรก็ตามในเม็ดเลือดแดงเบตาธาลัสซีเมียซึ่งเป็นเซลล์ที่มีพยาธิสภาพมากกว่าเม็ดเลือดแดงอัลฟาธาลัสซีเมียกลับพบปรากฏการณ์ดื้อยาของเชื้อมาลาเรียที่เลี้ยงในเม็ดเลือดแดงเบตาธาลัสซีเมียไม่ชัดเจนอย่างในเม็ดเลือดแดงอัลฟาธาลัสซีเมีย (7,8,9) เช่นเดียวกับการทำลายฤทธิ์ยาที่พบในการศึกษาที่ผ่านมา (10,11) และในการศึกษานี้ก็ตรวจพบประสิทธิภาพยาลดลงอย่างมีนัยสำคัญเฉพาะกรณีของเม็ด

เลือดแดงอัลฟาธาลัสซีเมีย ดังนั้นการตรวจพบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฮีโมโกลบินในเมมเบรนกับการเสื่อมฤทธิ์ในการศึกษานี้จึงสอดคล้องกับปรากฏการณ์ดื้อยาที่เกิดขึ้น เนื่องจากเหล็กที่ไม่อยู่ในรูปฮีโมโกลบินก็สามารถกระตุ้นยาให้อยู่ในรูปของอนุโมลิอิสระในกลไกการออกฤทธิ์ยาตามที่ Meshnick และคณะ (6) เสนอไว้ได้เช่นเดียวกับเหล็กที่อยู่ในรูปฮีโมโกลบิน แต่จากผลการศึกษาพบว่าเหล็กอิสระในเมมเบรนเม็ดเลือดแดงธาลัสซีเมียทุกชนิดที่ศึกษารวมทั้งในเมมเบรนเม็ดเลือดแดงปกติไม่มีความสัมพันธ์กับการเสื่อมฤทธิ์ยา ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากโครงสร้างของเหล็กอิสระซึ่งเป็นเหล็กที่ไม่อยู่ในรูปฮีโมโกลบินในเมมเบรนของเม็ดเลือดแดงชนิดต่างๆ เป็นโครงสร้างที่ไม่เหมาะสมต่อการกระตุ้นยาอาร์ทิมิซินินให้เป็นยาในรูปของอนุโมลิอิสระได้มากอย่างในฮีโมโกลบิน จึงทำให้ปรากฏการณ์ดื้อยาหรือการลดประสิทธิภาพยาโดยเมมเบรนเม็ดเลือดแดงเบตาธาลัสซีเมีย (ซึ่งในการศึกษานี้ตรวจพบเหล็กที่ไม่อยู่ในรูปฮีโมโกลบินอยู่มากกว่า) ไม่เด่นชัดอย่างในเม็ดเลือดแดงอัลฟาธาลัสซีเมีย (ซึ่งในการศึกษานี้ตรวจพบฮีโมโกลบินในเมมเบรนมากกว่า) การตรวจพบเหล็กรูปแบบที่ต่างกันนี้ในเมมเบรนเม็ดเลือดแดงอัลฟาและเบตาอาจเนื่องมาจากพยาธิกำเนิดที่ต่างกันระหว่างเม็ดเลือดแดงอัลฟาธาลัสซีเมียและเบตาธาลัสซีเมีย ความผิดปกติของเม็ดเลือดแดงเบตาธาลัสซีเมียเกิดจากการสลายตัว (denature) ของสายอัลฟาโกลบินซึ่งเกิดขึ้นตั้งแต่ระยะเซลล์อ่อนในไขกระดูก อัลฟาโกลบินที่สลายตัวแล้วจะถูกกำจัดโดย reticulo-endothelial system ในไขกระดูก (12,13) เมื่อเซลล์ออกสู่กระแสโลหิตจึงไม่มีการสลายตัวของสายอัลฟาโกลบินเพิ่มขึ้นภายในเซลล์ ปริมาณฮีโมโกลบินในเมมเบรนจึงไม่เพิ่มขึ้น แต่มีเหล็กที่ไม่อยู่ในรูปฮีโมโกลบินในเมมเบรนมากกว่าเมมเบรนเม็ดเลือดแดงอัลฟาธาลัสซีเมียเนื่องจากเม็ดเลือดแดงผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดเบตามีพยาธิสภาพรุนแรงกว่าเม็ดเลือดแดงผู้ป่วยธาลัสซีเมียชนิดอัลฟาและพยาธิสภาพเกิดขึ้นตั้งแต่ยังเป็นเซลล์อ่อนในไขกระดูก (12,13) ทำให้ผู้ป่วยมีอาการโลหิตจางและต้องรับเลือดเป็นระยะ ส่งผลให้มีภาวะเหล็กเกินทั้งในพลาสมาและในเมมเบรนของเม็ดเลือดแดงซึ่งเป็นเหล็กในรูปที่ไม่ใช่ฮีโมโกลบิน (14) สำหรับความผิดปกติในเซลล์เม็ดเลือดแดงอัลฟาธาลัสซีเมียเกิดจากสายเบตาโกลบินที่สลายตัว โดยปกติสายเบตา 4 สาย สามารถรวมตัวกันเองเกิดเป็นฮีโมโกลบินเอช ซึ่งจะเสถียรกว่าสายอัลฟาในเม็ดเลือดแดงเบตาธาลัสซีเมีย (14,24) ดังนั้นเซลล์ที่ออกสู่กระแสโลหิตจึงยังคงมีฮีโมโกลบิน เอช อยู่ ภายใต้ภาวะ oxidative stress (14) ฮีโมโกลบิน เอช จะสลายได้ง่ายเกิดโกลบินโมโนเมอร์ซึ่งสามารถจับเมมเบรนเม็ดเลือดแดงทั้งรูปแบบโกลบินโมโนเมอร์หรือฮีโมโกลบิน (15) ทำให้ตรวจพบปริมาณฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงอัลฟาธาลัสซีเมียได้มากกว่าเม็ดเลือดแดงเบตาธาลัสซีเมีย ซึ่งจากผลการศึกษากลไกการเกิดพยาธิสภาพในเม็ดเลือดแดงอัลฟาธาลัสซีเมียโดยใช้แบบจำลองเซลล์ปกติที่ถูก oxidized ด้วยสาร phenylhydrazine ให้ผลสนับสนุนการเพิ่มขึ้นของฮีโมโกลบินในเมมเบรนเม็ดเลือดแดงอันเนื่องมาจากภาวะ oxidative stress อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้ยังพบเพิ่มเติมว่าเม็ดเลือดแดงอัลฟาธาลัสซีเมียต่างชนิดกันมีปริมาณฮีโมโกลบินในเมมเบรนต่างกัน โดยเม็ดเลือดแดงอัลฟาธาลัสซีเมียชนิด HbH/HbCS มีปริมาณฮีโมโกลบินในเมมเบรนโดยเฉลี่ยมากกว่าเม็ดเลือดแดงอัลฟาธาลัสซีเมียชนิด HbH ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณฮีโมโกลบิน เอช ภายในเซลล์ทั้ง

สองชนิดพบว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงชนิด HbH/HbCS มีเปอร์เซ็นต์ฮีโมโกลบิน เอช โดยเฉลี่ย (mean $\pm$ S.D. = 11.91 ± 4.07 %, range 7.02-17.96 %) สูงกว่าเปอร์เซ็นต์ฮีโมโกลบิน เอช ในเซลล์เม็ดเลือดแดงชนิด HbH (mean $\pm$ S.D. = 9.99 ± 5.67 %, range 1.19-17.80 %) การที่เซลล์เม็ดเลือดแดงชนิด HbH/HbCS มีเปอร์เซ็นต์ฮีโมโกลบิน เอช มากกว่าย่อมส่งผลให้เซลล์เม็ดเลือดแดงเกิดพยาธิสภาพภายใต้ภาวะ oxidative stress ได้ง่ายกว่า ซึ่งสอดคล้องกับการตรวจพบปริมาณฮีโมโกลบินในเมมเบรนของเซลล์เม็ดเลือดแดงชนิด HbH/HbCS ได้มากกว่าปริมาณฮีโมโกลบินในเมมเบรนของเซลล์เม็ดเลือดแดงชนิด HbH ในการศึกษา

การศึกษานี้สรุปได้ว่ากลไกการทำลายฤทธิ์ยาในกลุ่มอาร์ทีมิซินินของเม็ดเลือดแดงอัลฟาธาลัสซีเมียที่เกิดจากองค์ประกอบในเมมเบรนของเซลล์มีฮีโมโกลบินเป็นปัจจัยสำคัญในการทำลายฤทธิ์ยาที่นอกเหนือจากฮีโมโกลบิน เอช ในโซโดพลาสซึม ซึ่งการเกิดฮีโมโกลบินในเมมเบรนน่าจะเป็นผลมาจากการสลายตัวของฮีโมโกลบิน เอช ภายใต้ภาวะ oxidative stress ที่เกิดขึ้นในเซลล์เม็ดเลือดแดงอัลฟาธาลัสซีเมีย

เอกสารอ้างอิง

1. Tanpradist S. Malaria situation in Thailand. The 4th conference on malaria research in Thailand. Chiang Rai, Thailand. 1994, p.2
2. Oaks SC Jr., Mitchell VS, Pearson GW and Carpenter CCJ. eds. Malaria : Obstacles and opportunities. A report of the committee for the study on malaria prevention and control : Status review and alternative strategies. Division of International Health Institute of Medicine. Washington DC : National Academy Press. 1991.
3. Clark I, and Hunt NH. Evidence of reactive oxygen intermediates causing hemolysis and parasite death in malaria. Infect Immun 1983 ; 39 : 1-6.
4. Hill AVS, Allsopp CEM, Kwiatkowski D, et al. Common West African HLA antigens are associated with protection from severe malaria. Nature 1991; 352 : 595-600.
5. Yuthavong Y, Butthep P, Bunyaratvej A, Fucharcon S and Khusmith S. Impaired parasite growth and increased susceptibility to phagocytosis of Plasmodium falciparum infected alpha thalassemia or hemoglobin Constant Spring red blood cells. Am J Clin Pathol 1988 ; 89 : 521-525.
6. Meshnick SR, Taylor TE, and Kamchonwongpaisan S. Artemisinin and the antimalarial endoperoxides: from herbal remedy to targeted chemotherapy. Microbiol Rev 1996; 60 : 301-315.
7. Yuthavong Y, Butthep P, Bunyaratvej A, Fucharcon S. Decrease sensitivity to artesunate and

- chloroquine of *P. falciparum* infecting hemoglobin H and/or hemoglobin Constant Spring erythrocytes. *J Clin Invest* 1989 ; 83 : 502-503.
8. Kamchonwongpaisan S, Chandra-ngam G, Avery MA, and Yuthavong Y. Resistance to artemisinin of malaria parasites (*Plasmodium falciparum*) infecting α -thalassemic erythrocytes in vitro: Competition in drug accumulation with uninfected erythrocytes. *J Clin Invest* 1994 ; 93: 467-73.
 9. Vattanaviboon P, Wilairat P and Yuthavong Y. Binding of dihydroartemisinin to hemoglobin H. Role in drug accumulation and host-induced antimalarial ineffectiveness of α -thalassemic erythrocytes. *Molecular Pharmacology* 1998 ; 53(3) :492-496.
 10. Vattanaviboon P, Wilarat P, Yuthavong Y. Inactivation of dihydro-artemisinin by α -thalassemic Erythrocytes Abstracts in 24th Congress on Science and Technology of Thailand, October 19-21, 1998.
 11. Charoenteeraboon C, Kamchonwongpaisan S, Wilairat P, Vattanaviboon P, Yuthavong Y. Inactivation of artemisinin by thalassemic erythrocytes. *Biochemical Pharmacology* 2000 ; 59 : 1337-1344.
 12. Testa U, Hinard N, Beuzard Y, et al. Excess α -chains are lost from thalassemic reticulocytes by proteolysis. *J Lab Clin Med* 1981 ; 98 : 352-365.
 13. Yuan J, Rubin I, Aljurf M, et al. Defective assembly of membrane proteins in erythroid precursors of β -thalassemic mice. *Blood* 1994 ; 84 : 632-637.
 14. Schrier SL. Thalassemia : pathophysiology of red cell changes. *Annu Rev Med* 1994 ; 45 : 211-218.
 15. Shinar E, Rachmilewitz EA. Oxidative denaturation of red blood cells in thalassemia. *Semin Hematol* 1990 ; 27 : 70-82.
 16. Marengo-Rowe AJ. Rapid electrophoresis and quantitation of haemoglobins on cellulose acetate. *J Clin Pathol* 1965 ; 18 : 790-792.
 17. Kuross SA, Hebbel RP. Nonheme iron in sickle erythrocyte membranes : Association with phospholipids and potential role in lipid peroxidation. *Blood* 1988 ; 72 : 1278.
 18. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951 ; 193 : 265-275.
 19. Kuross SA, Rank BH, Hebbel RP. Excess heme in sickle erythrocyte inside-out membranes : Possible role in thiol oxidation. *Blood* 1988 ; 71 : 876-882.

20. Desjardins RE, Canfield CJ, Haynes JD, and Chulay JD. Quantitative assessment of antimalarial activity in vitro by a semiautomated microdilution technique. *Antimicrob Agents Chemother* 1979 ; 16 : 710-8.
21. Peter W. Drug resistance in malaria parasites of animals and man. *Adv. Parasitol* 1998 ; 41 : 1-62.
22. Bhisutthibhan J, Pan XO, Hossler PA, et al. The plasmodium falciparum translationally controlled tumor protein homolog and its reaction with the antimalarial drug artemisinin. *J Biol Chem* 1998 ; 273 : 16192-16198.
23. Repka T, Shalev, Reddy R, et al. Nonrandom association of free iron with membranes sickle and β -thalassemic erythrocytes. *Blood* 1993 ; 82 (10) : 3204-3210.
24. Schrier SL, Rachmilewitz EA, Mohandas N. Cellular and membrane properties of alpha and beta thalassemic erythrocytes are different : implication for differences in clinical manifestations. *Blood* 1989 ; 74 : 2194-2202.

Output ที่ได้จากโครงการ

1. การนำเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการ

1.1 ปานทิพย์ วัฒนวิบูลย์ นกคณ สิริธนารัตนกุล ชงยุทธ ยุทธวงศ์. ผลของเหล็กในเมมเบรนเม็ดเลือดแดงธาลัสซีเมียต่อการทำลายฤทธิ์ยาอาร์ทีมิซินิน. บทความย่อ การประชุมเสนอผลงานวิจัยหลังปริญญาเอก ครั้งที่ 1 สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ณ โรงแรมเฟลิกซ์ กาญจนบุรี 28-30 มกราคม 2543.

1.2. Vattanaviboon P, Siritanaratkul N, Yuthavong Y. Thalassemic red cell membrane heme: the host factor induced antimalarial ineffectiveness. Abstract in The 12th annual meeting of the Thai society for biotechnology. Kanchanaburi, Thailand, November 1-3, 2000.

2. บทความสำหรับการเผยแพร่ในวารสารระดับนานาชาติ

บทความสำหรับการเผยแพร่อยู่ในระหว่างการเตรียมเอกสาร ซึ่งคาดว่าจะเผยแพร่ในวารสาร *Biochemical Pharmacology*

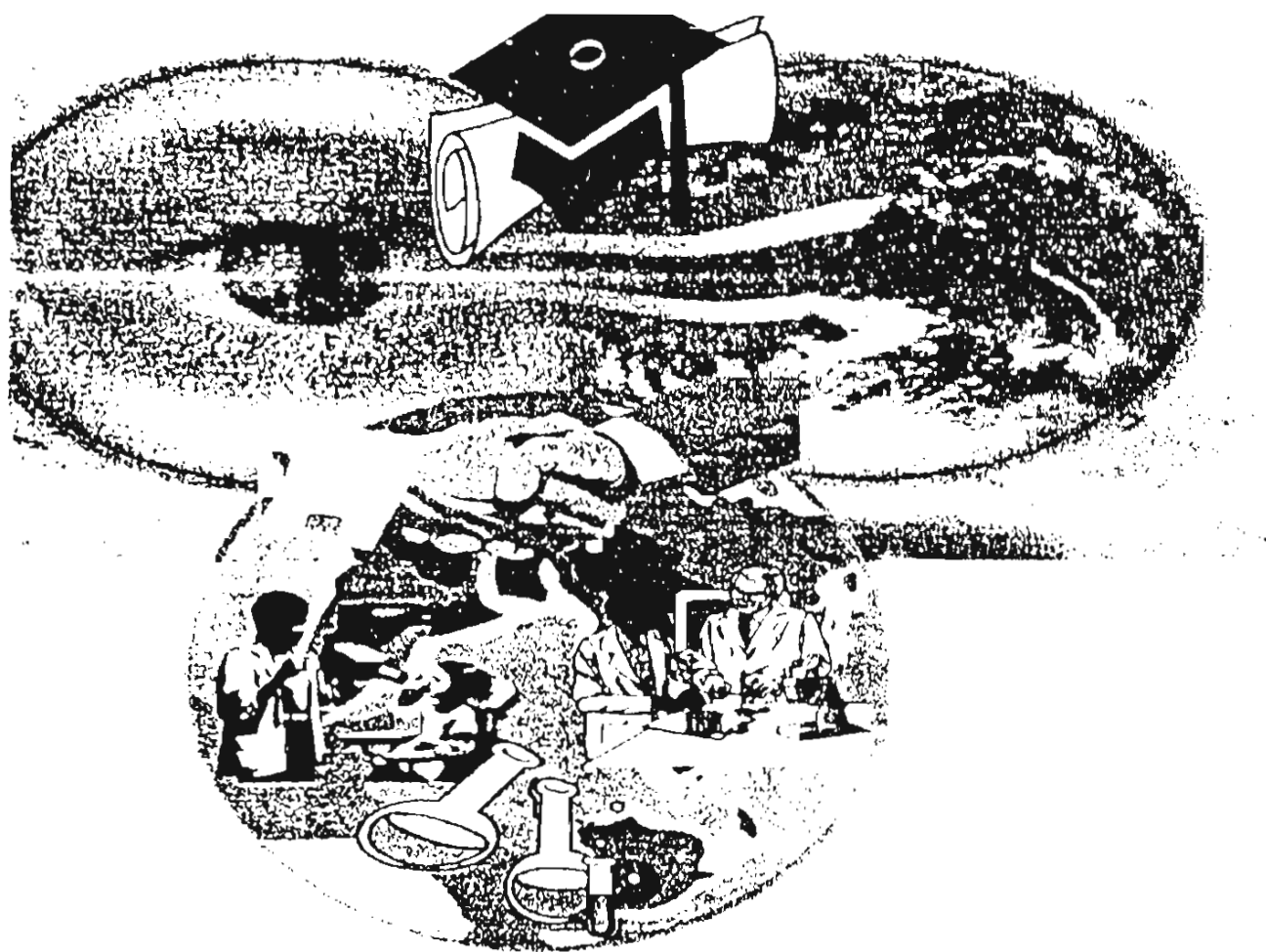
ภาคผนวก

1. บทคัดย่อผลงานเรื่อง “ผลของเหล็กในเมมเบรนเม็ดเลือดแดงธาลัสซีเมียต่อการทำลายฤทธิ์ยาอาร์ทีมิซินิน” ซึ่งนำเสนอในการประชุมเสนอผลงานวิจัยหลังปริญญาเอก ครั้งที่ 1 สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ณ โรงแรมเฟลิกซ์ กาญจนบุรี 28-30 มกราคม 2543.

2. บทคัดย่อผลงานเรื่อง “Thalassemic red cell membrane heme: the host factor induced antimalarial ineffectiveness” ซึ่งนำเสนอในการประชุม The 12th annual meeting of the Thai society for biotechnology. ณ โรงแรมเฟลิกซ์ กาญจนบุรี 1-3 พฤศจิกายน 2543.

กำหนดการและบทคัดย่อ

**การประชุมเพื่อเสนอผลงานวิจัย
โครงการทุนวิจัยหลังปริญญาเอก ครั้งที่ ๑**



ISBN 974-7774-30-5

**ณ โรงแรมเฟลิกซ์ จ.กาญจนบุรี
ระหว่างวันที่ 28-30 มกราคม 2543**



สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

The Thailand Research Fund

ชื่อ-สกุล ผู้รับทุนวิจัย ผศ.ดร. ปานทิพย์ วัฒนวิบูลย์
 ที่ทำงาน คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล
 โทร. 4197169 e-mail mtpvt@mahidol.ac.th
 อาจารย์ที่ปรึกษา ศ.ดร.ยงยุทธ ยุทธวงศ์

สาขาวิชา :

- ☒ ชีวภาพ และการแพทย์
☐ ภาพภาพ และวิศวกรรมศาสตร์
☐ สังคมศาสตร์ และมนุษยศาสตร์

THE EFFECT OF THALASSEMIC MEMBRANE IRON ON ARTEMISININ INACTIVATION

Phantip Vattanaviboon¹, Noppadol Siritanaratkul² and Yongyuth Yuthavong³.

1 Faculty of Medical Technology, Mahidol University, 2 Faculty of Medicine, Mahidol University,

3 National Science and Technology Development Agency.

Artemisinin and its derivatives are relatively ineffective against *Plasmodium falciparum* infecting α -thalassemic erythrocytes, both α -thalassemia1/ α -thalassemia2 and α -thalassemia1/ hemoglobin Constant Spring. The relative ineffectiveness is due to host specific factors, one of which is the higher uptake of the drug by the α -thalassemic erythrocytes than normal and β -thalassemia/hemoglobin E erythrocytes. Greater binding capacity of hemoglobin (Hb) H over Hb A accounts for the significantly higher drug uptake. In addition to drug binding, incubation of the drug with α -thalassemic erythrocytes or their hemolysates or membranes resulted in preferential inactivation of the drug. Here, we showed that inactivation of dihydroartemisinin, an artemisinin derivatives, was not resulted from ferrozine reactive iron (non-heme iron) in membrane component. There was no correlation between drug inactivation and the content of ferrozine reactive iron in membrane ($r^2=0.06$). However, there was correlation between amount of drug remaining in the supernatant and drug effective index ($r^2=0.735$).

ผลของเหล็กในเมมเบรนเม็ดเลือดแดงธาลัสซีเมียต่อการทำลายฤทธิ์ยาอาร์ทีมิซินิน

ปานทิพย์ วัฒนวิบูลย์¹ นกมล ศิริรัตนารัตกุล² ยงยุทธ ยุทธวงศ์³

1 คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล 2 คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

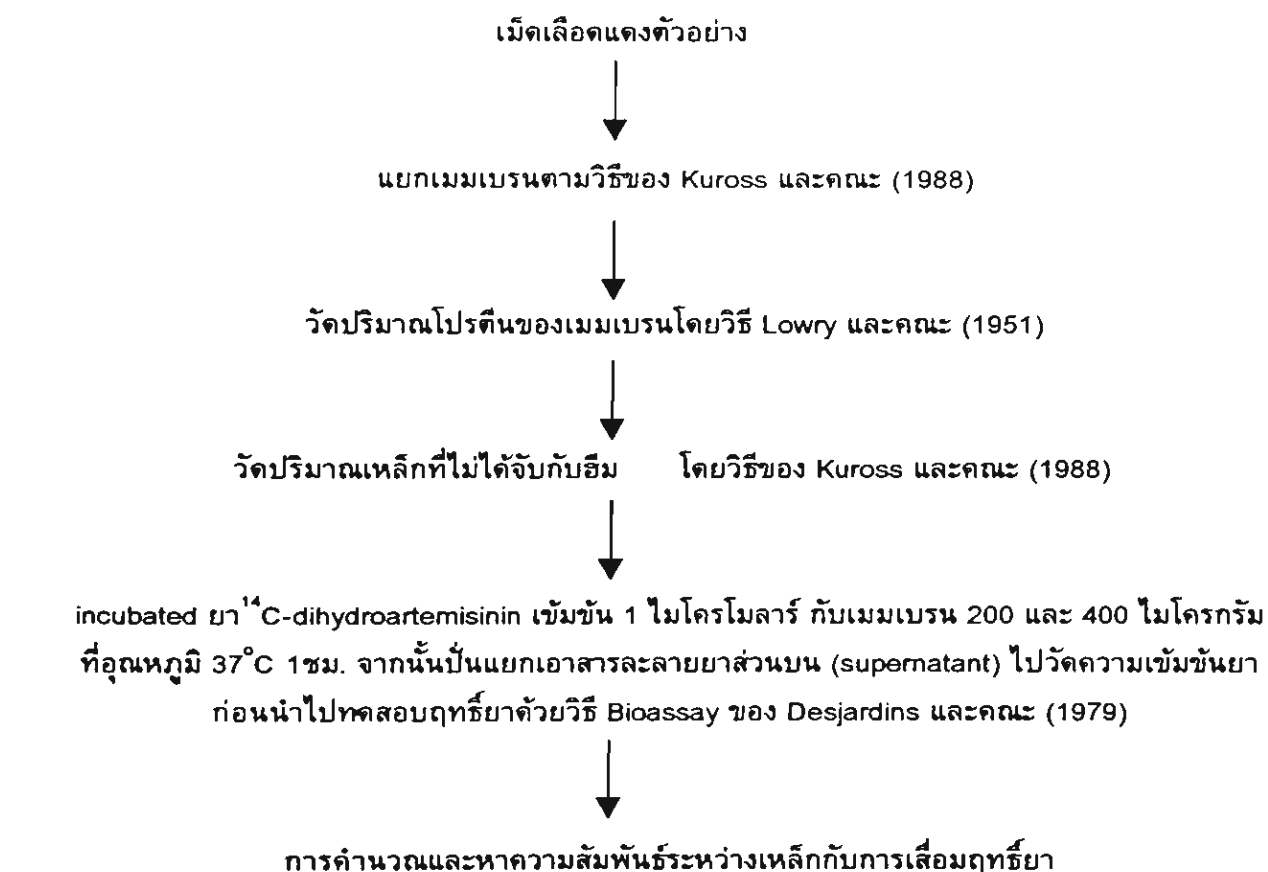
3 สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

อาร์ทีมิซินินและสารอนุพันธ์เป็นยาต้านมาลาเรียที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อมาลาเรีย โดยเฉพาะพลาสโมเดียมฟัลซิพารัมสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาต้านมาลาเรียชนิดอื่นๆ แต่จากรายงานที่ผ่านมาพบว่ายาในกลุ่มนี้มีประสิทธิภาพลดลงเมื่อใช้ฆ่าเชื้อพลาสโมเดียมฟัลซิพารัมที่อยู่ในเม็ดเลือดแดงธาลัสซีเมียชนิดอัลฟา โดยเปรียบเทียบกับยาฆ่าเชื้อชนิดเดียวกันที่อยู่ในเม็ดเลือดแดงปกติหรือเม็ดเลือดแดงธาลัสซีเมียชนิดเบตา ประสิทธิภาพของยาที่ลดลงขึ้นกับปัจจัยภายในเม็ดเลือดแดงธาลัสซีเมียชนิดอัลฟา ซึ่งปัจจัยหนึ่งคือการที่เม็ดเลือดแดงสามารถสะสมยาไว้ในเซลล์ได้มากกว่าในเม็ดเลือดแดงปกติหรือเม็ดเลือดแดงธาลัสซีเมียชนิดเบตา โดยฮีโมโกลบินเอชเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการสะสมยาเนื่องจากคุณสมบัติในการจับยาได้มากกว่าฮีโมโกลบินเอช นอกเหนือจากการจับและสะสมยา ความสามารถในการทำลายฤทธิ์ยาโดยเม็ดเลือดแดงธาลัสซีเมียชนิดอัลฟา หรือส่วนของ hemolysates หรือเมมเบรน เป็นอีกกลไกหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมฤทธิ์ยา การศึกษานี้ได้แสดงว่าเหล็กในเมมเบรนที่เป็น ferrozine reactive iron หรือเหล็กที่ไม่ได้จับอยู่กับฮีโมโกลบินไม่เกี่ยวข้องกับการกลไกการทำลายฤทธิ์ยาใดไฮโดรอาร์ทีมิซินินซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ตัวหนึ่งของอาร์ทีมิซินิน เนื่องจากผลการศึกษานี้ไม่ปรากฏความสัมพันธ์ระหว่างเหล็กชนิดนี้ในเมมเบรนกับระดับการเสื่อมฤทธิ์ยา ($r^2=0.058$) อย่างไรก็ตามระดับการเสื่อมฤทธิ์ยามีความสัมพันธ์กับยาใน supernatant ที่ลดลงหลังจาก incubated กับเมมเบรน ($r^2=0.755$)

INDEX KEY WORDS :Thalassemia, artemisinin

ชื่อเรื่อง (ภาษาอังกฤษ) THE EFFECT OF THALASSEMIC MEMBRANE IRON ON ARTEMISININ INACTIVATION

ขั้นตอนการวิจัย



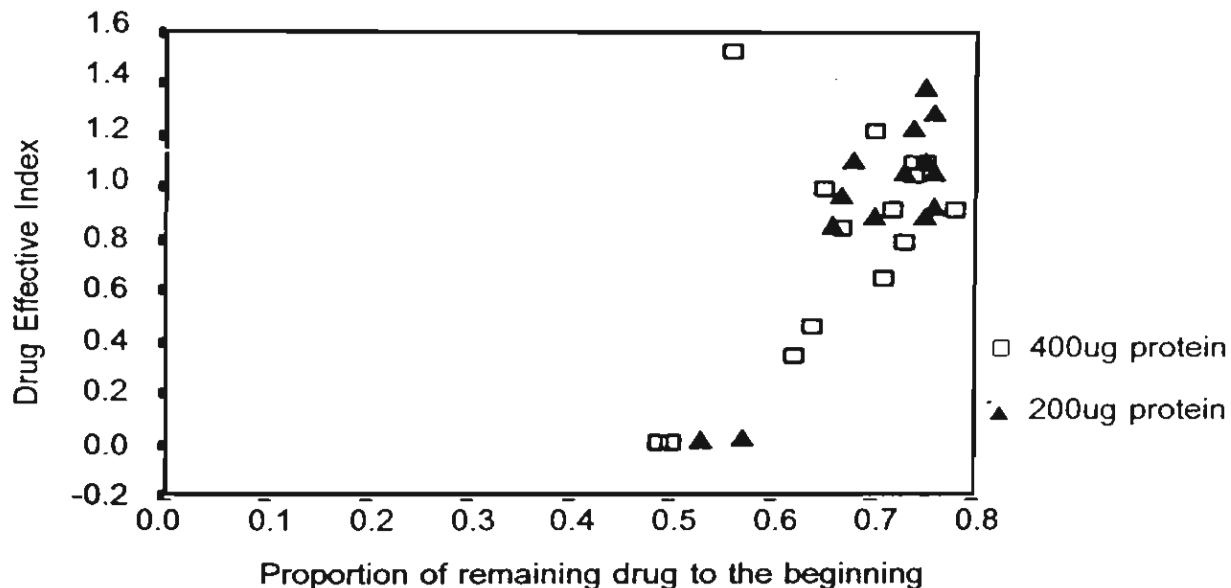
คำนวณยาที่เหลืออยู่ใน supernatant เป็น สัดส่วนของยาใน supernatant ต่อปริมาณยาเริ่มต้น

$$\text{proportion of drug remaining in the supernatant} = \frac{\text{amount of drug remaining in the supernatant}}{\text{amount of starting drug}}$$

คำนวณประสิทธิภาพยาจากค่า 50% inhibitory concentration (IC₅₀) เป็น drug effective index

$$\text{drug effective index} = \frac{\text{IC}_{50} \text{ of control medium}}{\text{IC}_{50} \text{ of tested sample}}$$

ชื่อเรื่อง (ภาษาอังกฤษ) THE EFFECT OF THALASSEMIC MEMBRANE IRON ON ARTEMISININ INACTIVATION

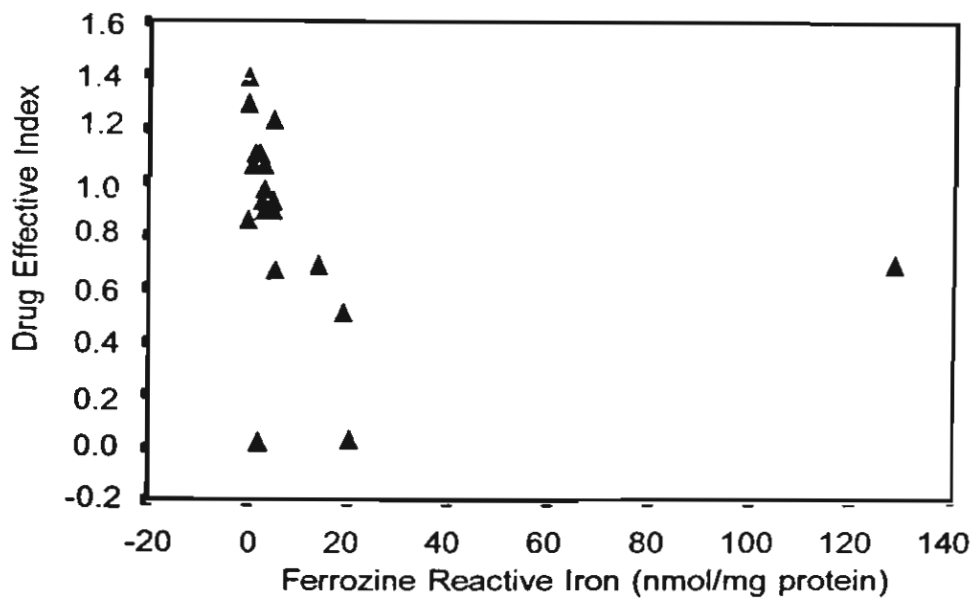


รูปที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณยาไดไฮโดรอาร์ทีมิซินินที่เหลืออยู่ใน supernatant (สัดส่วนยาที่เหลืออยู่ใน supernatant ต่อยาเริ่มต้น) กับประสิทธิภาพของยาหลัง incubated กับเมมเบรน 200 [▲] และ 400 [□] ไมโครกรัม ($r^2=0.755$)

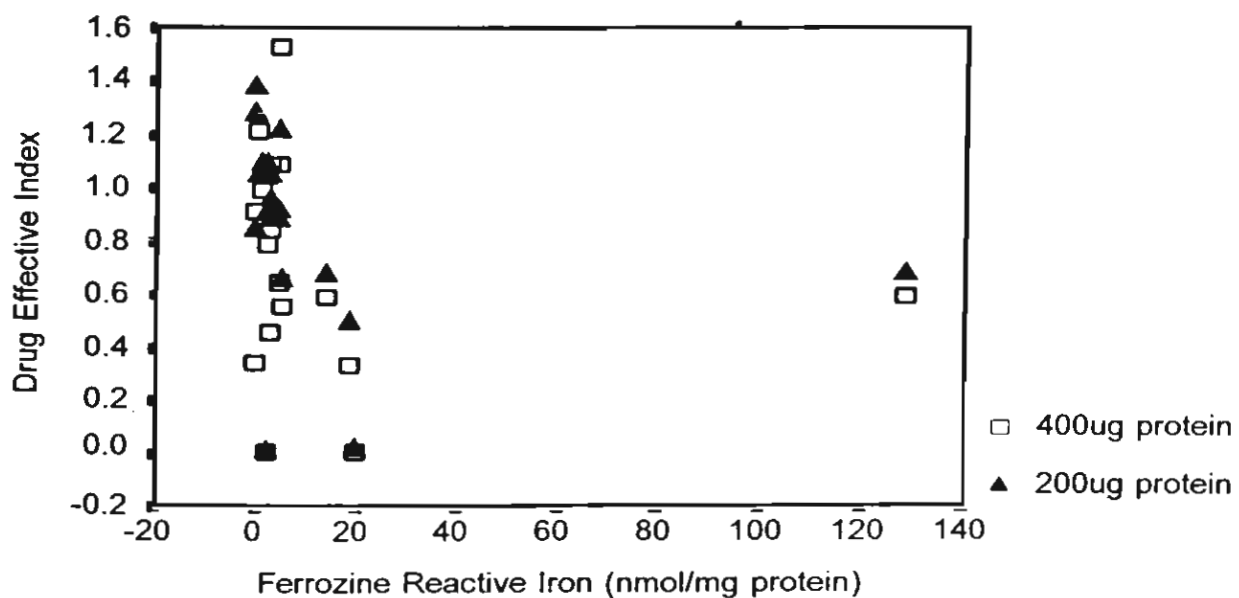
เอกสารอ้างอิง

- Kamchonwongpaisan S, Chandra-ngam G, Avery MA, and Yuthavong Y. (1994) Resistance to artemisinin of malaria parasites (*Plasmodium falciparum*) infecting α -thalassemic erythrocytes *in vitro*: Competition in drug accumulation with uninfected erythrocytes. J Clin Invest; 93: 467-473.
- Meshnick SR, Taylor TE, and Kamchonwongpaisan S. (1996) Artemisinin and the antimalarial endoperoxides: from herbal remedy to targeted chemotherapy. Microbiol Rev; 60: 301-315.
- Vattanaviboon P, Wilairat P and Yuthavong Y. (1998) Binding of dihydroartemisinin to hemoglobin H. Role in drug accumulation and host-induced antimalarial ineffectiveness of α -thalassemic erythrocytes. Mol Pharmacol;53(3):492-496.

ชื่อเรื่อง (ภาษาอังกฤษ) THE EFFECT OF THALASSEMIC MEMBRANE IRON ON ARTEMISININ INACTIVATION



รูปที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ Ferrozine Reactive Iron ในเมมเบรนกับประสิทธิภาพของยาไดไฮโดรอาร์ทีมิซินินหลัง incubated กับเมมเบรน 200 ไมโครกรัม ($r^2=0.056$)



รูปที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ Ferrozine Reactive Iron ในเมมเบรนกับประสิทธิภาพของยาไดไฮโดรอาร์ทีมิซินินหลัง incubated กับเมมเบรน 200[▲] และ 400[□] ไมโครกรัม ($r^2=0.058$)

ABSTRACTS

The 12th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology



1-3 November 2000
Felix Hotel, Kanchanaburi, Thailand



THAI



Thalassemic Red Cell Membrane Heme : The Host Factor Induced Antimalarial Ineffectiveness

Phantip Vattanaviboon¹, Noppadol Siritanaratkul² and Yongyuth Yuthavong³.

¹ Faculty of Medical Technology, Mahidol University, ² Faculty of Medicine, Mahidol University,

³ National Science and Technology Development Agency, Bangkok, Thailand.

α -Thalassemic erythrocytes have been reported to cause host-induced resistance of *Plasmodium falciparum* against antimalarial drugs, artemisinin and its derivatives. Binding of the drug to hemoglobin H and drug preactivation to inactive forms were previously demonstrated. This study showed an additional host factor, membrane heme, that may account in decreasing antimalarial activity of artemisinin. By studying the antimalarial activity of dihydroartemisinin, an artemisinin derivative, after incubating the drug with normal and thalassemic red cell membranes, the results showed the correlation of relative drug ineffectiveness to heme content in red cell membranes ($r^2 = 0.453$) but not to ferrozine reactive iron content ($r^2 = 0.0001$). α -thalassemic red cell membranes contained higher amount of heme (0.707 ± 0.573 mg/mg membrane protein) than that of normal and β -thalassemia/Hb E red cell membranes (0.254 ± 0.255 and 0.260 ± 0.087 mg/mg membrane protein, respectively). Whereas β -thalassemia/Hb E red cell membranes contained ferrozine reactive iron (11.12 ± 11.73 nmol/mg membrane protein) greater than normal and α -thalassemic red cell membranes (2.89 ± 1.93 and 6.16 ± 4.93 nmol/mg membrane protein). These results indicated that membrane heme is another factor that may cause relative artemisinin ineffectiveness against *Plasmodium falciparum* infecting α -thalassemic red blood cells.