

การศึกษาหาปริมาณของ เอทีพี ในเมล็ดเลือดแดง

และ

การสกัดกันของเมล็ดเลือดแดงในสมองของลิงที่เป็นไข้จับสันนิทพลาสติกโมเดียม โนเดไซ



นางสาวกัญญา ไทยจงรักษ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

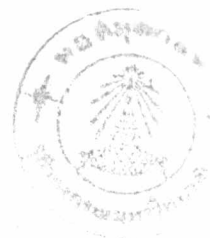
หน่วยวิชานิวเคลียร์เทคโนโลยี

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. ๒๕๑๗

000078

STUDIES ON ADENOSINE TRIPHOSPHATE CONTENT IN RED BLOOD CELL
AND
THE TRAPPING OF RED BLOOD CELL IN THE BRAIN OF MONKEYS INFECTED
WITH PLASMODIUM KNOWLESI.



Miss Kalaya Thaijongrak

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the degree of Master of Engineering in Nuclear Technology

Division of Nuclear Technology

Graduate School

Chulalongkorn University

1974

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn
University in partial fulfillment of the requirements for the
Degree of Master of Engineering in Nuclear Technology.



B. Tamthas
.....

Dean of the Graduate School

Thesis Committee:-

..... *C. Muletabhant* Chairman

..... *S. Sangpetch*

..... *S. Ahul*

..... *S. Sunthornthun*

Thesis Supervisor: Dr. Suvit Areekul.

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษาหาปริมาณของ เอทีพี ในเม็กลีดอกแดง และการ
สกัดกันของ เม็กลีดอกแดงในสมองของลิงที่เป็นไข้จับสันชนิก
พลาสมาเทียม โนโคไซ

ชื่อ นางสาวกัลยา ไทยจงรักษ์

หน่วยวิชา นิวเคลียร์เทคโนโลยี

ปีการศึกษา ๒๕๑๖



บทคัดย่อ

การเปลี่ยนแปลงทาง Patho-physiological ในผู้ป่วยที่เป็น
ไข้จับสันชนิกมาก เข้าใจว่าเกิดจากการอุดตันของเส้นเลือดในอวัยวะต่างๆ
สาเหตุของการอุดตันยังไม่มีใครทราบแน่ อาจเกิดจาก stickness หรือ
sludging ของเม็กลีดอกแดง หรืออาจเกิดจาก disseminated
intravascular coagulation มีหลักฐานใหม่ๆแสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลง
ในตัวของเม็กลีดอกแดงเอง เช่นการมี viscosity เพิ่มขึ้น หรือมี
filterability ลดลง อาจเป็นสาเหตุหนึ่งของการอุดตันของเส้นเลือดใน
อวัยวะต่างๆของลิงที่ติดเชื้อ P. knowlesi และ P. coatneyi งาน
วิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์ที่จะศึกษาว่ามีปรากฏการณ์เช่นนี้เกิดขึ้นในสมองของลิงที่ติดเชื้อ
P. knowlesi หรือไม่ และทำการศึกษาระดับของ Adenosine
Triphosphate (ATP) ในเม็กลีดอกแดงของลิงที่ติดเชื้อ P. knowlesi.

จากการศึกษาหาปริมาณของ ATP ในเม็ดเลือดแดงโดยใช้ luciferase enzyme และ liquid scintillation counter ซึ่งให้ผล reproducibility และ recovery สูงมาก พบว่าอุณหภูมิและเวลาของการสกัดมีอิทธิพลต่อระดับของ ATP ในเม็ดเลือดแดงมาก ระดับของ ATP ในเม็ดเลือดแดงของลิงที่ติดเชื้อ P. knowlesi จะเพิ่มขึ้นจากระดับปกติโดยที่ระดับ ATP ที่เพิ่มขึ้นนี้ไม่มีความสัมพันธ์กับระดับของ parasitaemia ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงระดับ ATP ในเม็ดเลือดแดงไม่น่าจะเป็นสาเหตุให้มี rigidity เพิ่มขึ้นในเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ P. knowlesi.

จากการศึกษาการสกัดกันของเม็ดเลือดแดงในสมองของลิงปกติและลิงที่ติดเชื้อ P. knowlesi โดยใช้ ^{51}Cr -labelled infected red cell และ ^{59}Fe -labelled normal red cell ผลปรากฏว่าเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อและเม็ดเลือดแดงปกติไหลเวียนด้วยอัตราเร็วเท่ากัน แต่ก็มีมันสภาพรังสีของเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อจะน้อยกว่าเม็ดเลือดแดงปกติ แสดงว่าบางส่วนของเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อไข้จับส่วนนี้ถูกสกัดกันไว้ในสมองของลิงปกติและลิงที่ติดเชื้อ P. knowlesi การพบนี้เป็นการยืนยันการทดลองในหลอดทดลองที่ว่าเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อไข้จับส่วนจะมี deformability น้อยกว่าเม็ดเลือดแดงปกติ

Thesis Title Studies on Adenosine Triphosphate Content of
Red Blood Cell and the Trapping of Red Blood
Cell in the Brain of Monkeys Infected with
Plasmodium knowlesi.

Name Miss Kalaya Thaijongrak

Division Nuclear Technology

Academic Year 1973



ABSTRACT

The patho-physiological changes in subjects infected with malaria are very complex. It has been suggested that damage in severe forms of malaria is due to the obstruction of the flow of blood in vessels of various organs. The aetiology that initiates the obstruction is not well established, the stickness and the sludging of the erythrocytes and the disseminated intravascular coagulation have been incriminated. Internal changes in red cells per se, i.e., an increased viscosity of packed red cells suspensions and a loss of red cells filterability have been claimed as the cause of the obstruction of the capillaries of the various organs of monkeys infected with Plasmodium knowlesi and P. coatneyi.

The objective of the present study is to determine whether such phenomena occur in vivo and to estimate the red cell adenosine triphosphate (ATP) levels in monkeys infected with P. knowlesi.

Red cell ATP levels were determined by the luciferase enzyme and liquid scintillation counter. Temperature and time duration of sample storage had a considerable effect on red cell ATP determinations. Red cell ATP concentration in rhesus monkeys infected with P. knowlesi was found to be higher than that of the normal level. There was no relationship between the increased ATP level in erythrocyte and the parasitaemia in these infected monkeys. This finding indicated that alteration of ATP level in red cell may have no connection with the increased rigidity of red cell in monkeys infected with P. knowlesi.

A study on trapped red cell in the brain of the normal and P. knowlesi-infected monkeys was studied using ^{51}Cr -labelled infected red cell and ^{59}Fe -labelled normal red cell. The results showed that the infected red cell travel with the same rate as the normal red cell, but the radioactivity of infected red cell was less than that of the normal red cell.

This indicated that some parasitized red cells were trapped in the brain of the normal and the P. knowlesi-infected monkeys. These finding confirmed the hypothesis that infected red cell was less deformable than the normal red cell.



ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my sincere gratitude and thanks to Dr. Suvit Areekul, Acting Head, Department of Tropical Radioisotopes, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, for his supervision of this research work, his keen interest, kindness, continual and encouragement during the course of work.

I would also like to thank the staffs of the Department of Tropical Radioisotopes for their cooperation, particularly to Miss Yupa Chantachum for her advice concerning the technique of ATP determination, to Miss Ratanaporn Kasemsuth, Miss Duangmarn Matrakul, Mrs. Kanokwan Ukoskit and Miss Sanong Kitkornpan for their general assistance.

My thanks are extended to Mr. Mongkon Boonchakorn for his helpful assistance on the experimental monkeys.

Finally, a word of appreciation goes to Professor Suwan Sangpetch and Dr. Thatchai Sumit for their kindness and cooperation.

CONTENTS

	Page
<u>ABSTRACT</u> (Thai) 	iv
<u>ABSTRACT</u> (English)	vi
<u>ACKNOWLEDGEMENTS</u>	ix
<u>LIST OF TABLES</u>	xii
<u>LIST OF FIGURES</u>	xiii
 <u>CHAPTER</u>	
1. <u>Introduction</u>	1
2. <u>Materials and Methods</u>	11
Materials 	11
Experimental Methods 	13
The parasite 	13
Experimental animals 	14
Study on ATP content of red blood cell ...	15
Study on trapped RBC in rhesus monkeys ...	18
Method of parasite count and haematological studies	21

CONTENTS (Cont.)

	Page
3. <u>Results</u>	26
ATP content in red blood cell 	26
Reproducibility 	26
Recovery of added ATP 	28
Effect of temperature and time on red blood cell ATP levels 	29
Red blood cell ATP level in normal monkeys ..	32
Red blood cell ATP level in monkeys infected with <u>P. knowlesi</u>	33
Trapped red blood cell in the brain of normal and infected monkeys 	37
4. <u>Discussion</u>	40
5. <u>Conclusion</u>	46
<u>REFERENCES</u>	47
<u>VITA</u>	55

LIST OF TABLES

	Page
<u>TABLE</u>	
1. The reproducibility study of the same sample ...	27
2. Recovery experiments after adding the known amount of standard ATP solution ...	28
3. The effect of time and temperature on ATP levels in red blood cell ...	30
4. The ATP content in the red blood cell of the normal monkeys ...	32
5. The ATP content in the red blood cell of monkeys with <u>P. knowlesi</u> infection ...	34

LIST OF FIGURES

	Page
<u>FIGURE</u>	
1. Effect of time and temperature on ATP levels ...	31
2. The ATP content in red cell of monkeys infected with <u>P. knowlesi</u>	35
3. ATP in red cell of normal and the <u>P. knowlesi</u> - infected monkeys	36
4. A typical blood radioactivity-time pattern in normal monkey	38
5. A typical blood radioactivity-time pattern in <u>P. knowlesi</u> -infected monkey	39