หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# บทที่ 1

# บทนำ

## 1.1 บทบาทของพลาส์โมเดียมในการทำให้เกิดโรคมาลาเรีย

โรคมาลาเรียยังคงเป็นปัญหาที่สำคัญของประเทศไทย ในปีหนึ่ง ๆ จะมีผู้ป่วยและตายจากโรคนี้จำนวนไม่น้อย ในปี พ.ศ. 2515 โรคมาลาเรียมีอัตราการเกิดเพียง 2.9 ต่อ 1,000 ประชากร ต่อจากนั้นอัตราการเกิดโรคมาลาเรียได้เพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ จากปี พ.ศ. 2515 ถึง 2522 ได้เพิ่มขึ้นจาก 4.4 เป็น 7.1 ต่อ 1,000 ประชากร ตามลำดับ สถิติปี พ.ศ. 2523 พบว่า มีผู้ป่วยด้วยโรคมาลาเรียถึง 395,442 คน ซึ่งมากกว่าปี พ.ศ. 2522 30.9 เปอร์เซ็นต์ (กองมาลาเรีย, 2523)

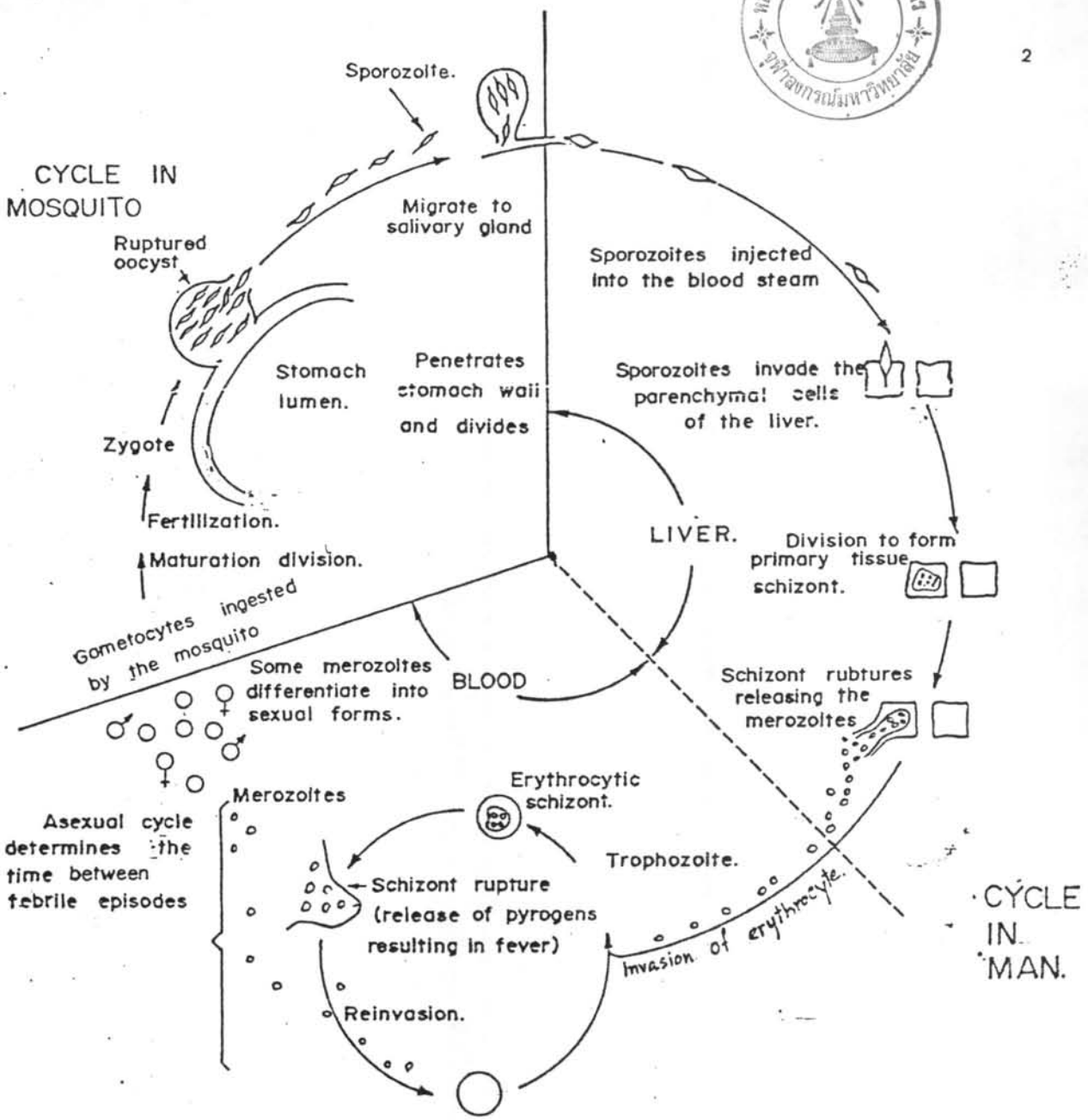
พลาส์โมเดียมเป็นยูคาริโอทที่จัดเป็นสัตว์เซลเดียวอยู่ในชั้นสปอร์โรซัว (sporozoa) ซึ่งเป็นต้นกำเนิดของโรคมาลาเรียในคนและสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังบางชนิดเช่น ไก่ เป็ด หนู ลิง เป็นต้น โรคมาลาเรียในคนเกิดจากการติดเชื้อพลาส์โมเดียม 4 ชนิดคือ พลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัม (P.falciparum), พลาส์โมเดียม ไวแวกซ์ (P.vivax), พลาส์โมเดียม มาลาริอี (P.malariae) และพลาส์โมเดียม โอวัลเล (P.ovale) ในประเทศไทยมีรายงานว่าพบการติดเชื้อพลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัม 80 เปอร์เซ็นต์, พลาส์โมเดียม ไวแวกซ์ 19 เปอร์เซ็นต์, พลาส์โมเดียม มาลาริอี 1 เปอร์เซ็นต์ ส่วนพลาส์โมเดียม โอวัลเล ยังไม่เคยปรากฏรายงานในประเทศไทย

## 1.2 การเจริญของพลาส์โมเดียมในหนึ่งวงชีพ

การเจริญของพลาส์โมเดียมจะครบวงชีพอย่างสมบูรณ์ได้ต้องอาศัยเจ้าบ้านสองชนิดคือ คนและยุงก้นปล่องตัวเมีย (Anophelis) รูปที่ 1 แสดงถึงวงชีพของพลาส์โมเดียมในคน ระยะเริ่มแรกเรียกว่า สปอร์โรซอยท์ (sporozoite) เป็นระยะที่ยุงซึ่งแพร่เชื้อพลาส์โมเดียมมาสู่คนโดยการดูดเลือด ระหว่างการดูดเลือดเชื้อพลาส์โมเดียมระยะสปอร์โรซอยท์จะเข้าสู่คนไปที่

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย






รูปที่ 1.

วงจรชีวิตของเชื้อพลาสโมเดียม ( มาลาเรียของคน )

( Pratt , 1973 )

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เซลพาเรนไคมา (parenchymal cell) ของตับ ณ ที่นี้จะเกิดการเจริญเติบโตและแบ่งตัวอย่างไม่มีเพศรวดเร็ว ได้ลูกหลานชนิดไม่มีเพศมากมายเรียก ไซซอนท์ (schizont) การแบ่งตัวในระยะนี้เรียกว่า exoerythrocytic schizogony ผลสุดท้ายเซลพาเรนไคมาจะแตกออก ได้เป็นระยะเมอโรซอยท์ (merozoire) และจะเข้าสู่เม็ดเลือดแดงในกระแสโลหิต เจริญเป็นระยะวงแหวน (ring form) ระยะโทรโฟซอยท์ (trophozoite) และระยะไซซอนท์ (schizont) ตามลำดับ เรียกกระบวนการเจริญเติบโตในเม็ดเลือดแดงนี้ว่า erythrocytic sch. zogony

ไซซอนท์เมื่อเจริญเต็มที่จะทำลายเม็ดเลือดแดงได้เป็นระยะเมอโรซอยท์ออกมา เพื่อไปเข้าสู่เม็ดเลือดแดงเซลใหม่ เมอโรซอยท์บางตัวเมื่อไปเข้าเม็ดเลือดแดงอาจเจริญเป็น แกมีโตไซท์ (gametocyte) พลาสโมเดียมเพศผู้และเพศเมีย เมื่อยุงกัดปล่อยตัวเมียซึ่งเป็นยุงนำเชื้อมากัดก็รับเอาเชื้อระยะนี้ไปผสมพันธุ์กันและเจริญต่อไปจนได้เป็นระยะสปอร์โรซอยท์ ซึ่งพร้อมจะแพร่เชื้อต่อไปในคนได้

1.3 การรักษาโรคมาลาเรียที่เกิดจากพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัม

อาการสำคัญของผู้ป่วยเป็นโรคมาลาเรียที่เกิดจากพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัม ได้แก่ การมีไข้สูงซึ่งเป็นผลจากการที่พลาสโมเดียมทำลายเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ ภาวะแทรกซ้อนที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วที่สำคัญคือมาลาเรียขึ้นสมอง (cerebral malaria) วิธีการหนึ่งที่ใช้รักษาโรคมาลาเรียคือ วิธีเคมีรักษา (chemotherapy) หมายถึงการใช้ยาซึ่งเป็นสารสังเคราะห์โมเลกุลเล็ก ๆ มาทำลายพลาสโมเดียม

คลอโรควินเป็นสารสังเคราะห์ชนิดแรกที่นิยมใช้แพร่หลายในการรักษาโรคมาลาเรีย ต่อมาพบว่าโรคมาลาเรียโดยเฉพาะที่เกิดจากพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัมจะดื้อต่อยานี้ (Young และ Moore, 1961; Degowin และ Powell, 1965) มีรายงานว่าพลาสโมเดียม ฟาลซิ-ปารัมในประเทศไทยซึ่งดื้อต่อคลอโรควินมีเปอร์เซ็นต์สูงมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ยาที่นำมาใช้แทนคลอโรควินคือ ควินินและยาพวกซัลฟา และ/หรือไพริเมธามีนควบคู่ไปด้วยกัน เช่นยา Fancidar ซึ่งประกอบด้วย ไพริเมธามีน 25 มิลลิกรัม และอนุพันธุ์ซัลฟานิลาไมด์ (sulfa -

nilamide) ที่เรียกว่า ซัลฟาด๊อกซีน (sulfadoxine) 500 มิลลิกรัม เชื่อว่าไพริเมธามีน และซัลฟานิลาไมด์ จะออกฤทธิ์ทำลายระยะไซซอนท์ และระยะที่ออกนอกเม็ดเลือดแดงของพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัม (Pratt, 1973)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.4 ปัญหาการต้านยาไพริเมธามีนของพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัม

ในปี พ.ศ. 2515 อัตราการพบเชื้อพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัม และพลาสโมเดียมไวแวกซ์ เป็น 79 ต่อ 21 หลังจากนั้นปรากฏว่าอัตราส่วนของพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัมลดลงเรื่อย ๆ จนกระทั่งในปี พ.ศ. 2520 คิดเป็นอัตราพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัมต่อ พลาสโมเดียมไวแวกซ์ 52 ต่อ 48 แต่ต่อมาพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัม เพิ่มขึ้นอีกเป็น 55 ต่อ 45 และ 59 ต่อ 41 ในปี พ.ศ. 2520 และ 2521 ตามลำดับ เข้าใจว่าการที่พลาสโมเดียม ฟาลซิปารัมได้ลดน้อยลงตั้งแต่ปี พ.ศ. 2515 เป็นต้นมา เนื่องจากได้นำยาซัลฟาด๊อกซีนและไพริเมธามีนมาใช้ ซึ่งเชื้อพลาสโมเดียมยังไวต่อยาชนิดนี้อยู่ ต่อมาความไวต่อยานี้ค่อย ๆ ลดน้อยลง และจากรายงานล่าสุดพบว่าพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัมในประเทศไทยส่วนใหญ่จะมีความสามารถต้านไพริเมธามีน (Thaithong และ Beale, 1980)

สาเหตุของการต้านไพริเมธามีนอาจเกิดขึ้นเนื่องจากการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ (spontaneous mutation) หรือเกิดขึ้นจากการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยสารเคมีบางชนิด (Hitchings, 1960) นอกจากนั้นยังพบว่าพลาสโมเดียม วิงคิอาย (P.vinckei) ในหนู (mice) สามารถถ่ายทอดคุณสมบัติการต้านไพริเมธามีนไปยังพลาสโมเดียม เบอร์กิอาย (P.berghei) ในหนูแฮมสเตอร์ (hamster) (Ferone และคณะ, 1970) และเมื่อนำพลาสโมเดียมสายพันธุ์ที่ต้านและไวต่อไพริเมธามีนมาเลี้ยงร่วมกันในสัตว์ทดลอง ลูกหลานที่ได้จะแสดงคุณสมบัติว่ามีการแยกจากกันของยีนส์ (segregation) และการรวมกันของยีนส์ (recombination) ไปตามทฤษฎีของเมนเดล ตัวเครื่องหมาย (marker) ที่ใช้ติดตามการเปลี่ยนแปลงของยีนส์ในลูกหลานคือ เอนไซม์ กลูโคส ฟอสเฟต ไอโซเมอเรสชนิด I (GPI-I) และชนิด II (GPI-II) ในสายพันธุ์ที่ต้านและไวต่อไพริเมธามีนทั้งสองตามลำดับ (Beal, 1979) นอกจากนี้พลาสโมเดียมที่ต้านไพริเมธามีนมักจะมีคุณสมบัติต้านยาชนิดอื่นร่วมด้วยเช่น ซัลฟาไดอะซีน (sulfadiaxine), คลอโรควิน (Maclead, 1977)

1.5 การสังเคราะห์โคเอนไซม์โฟเลตของพลาส์โมเดียม

โคเอนไซม์โฟเลตมีความสำคัญต่อกระบวนการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิกและกรดอะมิโนเมไธโอนีน ที่นำไปใช้ในกระบวนการ biological methylation ทั้งนี้จะมีเตตระไฮโดรโฟเลต (tetrahydrofolate) และอนุพันธุ์ เป็นตัวส่งผ่านหมู่เมธิล, หมู่ไฮดรอกซีเมธิล และหมู่ฟอร์มิล ไปยังสับส์เตรทที่ต้องการ

การเจริญของพลาส์โมเดียมจะถูกกระตุ้นด้วย para-aminobenzoic acid (pABA) (Coggeshall, 1940) และในพลาส์โมเดียมต่างสายพันธุ์กันจะมีความต้องการ pABA ในระดับต่างกัน การเจริญของพลาส์โมเดียมเบอจิอายในหนู และพลาส์โมเดียม ไซอะโนมอลจิ (P.cyanomolgi) ในลิงรีซัส (rhesus monkey) จะลดลงเมื่อให้กินอาหารซึ่งไม่ได้เติม pABA ลงไป นอกจากนี้ยังพบว่าระดับ pABA ในกระแสโลหิตของลิงรีซัสก็ลดลงด้วย โดยที่ระดับ pABA ในตับยังคงอยู่ตามปกติ ดังนั้นการเจริญของพลาส์โมเดียมในเซลตับจะคงเป็นไปตามปกติ (Vray, 1974) นอกจากนี้ในเด็กที่กินนมซึ่งมีระดับ pABA ต่ำจะมีโอกาสติดเชื้อพลาส์โมเดียม ฟาลซิปารัมได้น้อยกว่าเด็กที่กินนมซึ่งมีระดับ pABA สูง (Kretschmar และ Voller, 1973) ยิ่งไปกว่านั้นพบว่าแม้สารประกอบพวกยาซัลฟาสามารถยับยั้งการเจริญของพลาส์โมเดียม กัลลินาเซียม (P.gallinaceum) ในไก่ แต่ปฏิกิริยาการยับยั้งนี้จะไม่เกิดขึ้นเมื่อมี pABA (Ferone, 1977)

การสังเคราะห์ไดไฮโดรโฟเลต (dihydrofolate) ในพลาส์โมเดียมเชื่อว่า สังเคราะห์ได้จากสารตั้นตอคือ pABA โดยมีกลูตาเมทและกัวโนซีน ไตรฟอสเฟต (guanosine triphosphate) ร่วมด้วย (รูปที่ 2) ซึ่งสารประกอบเหล่านี้อาจได้จากการนำเข้าเซลเจ้าบ้าน หรือการสังเคราะห์ด้วยตัวพลาส์โมเดียมเอง โดยอาศัยการแยกสลาย (cleavage) ของโฟเลตโคเอนไซม์ (Sherman, 1979) นอกจากนี้สามารถสกัดเอนไซม์ ไดไฮโดรพเทอริดีนไพโรฟอสโฟไคเนส (dihydropteridine pyrophosphokinase) และไดไฮโดรพเทอโรเอท ซินเธอเตส (dihydropteroate synthetase) ได้จากพลาส์โมเดียม ชาบอดี (P. chabaudi) (Walter และคณะ , 1974) และจากพลาส์โมเดียม เบอจิอาย (Ferone, 1977) ซึ่งเป็นมาลาเรียของสัตว์ฟันแทะ เชื่อว่าพลาส์โมเดียมสามารถสังเคราะห์โคเอนไซม์

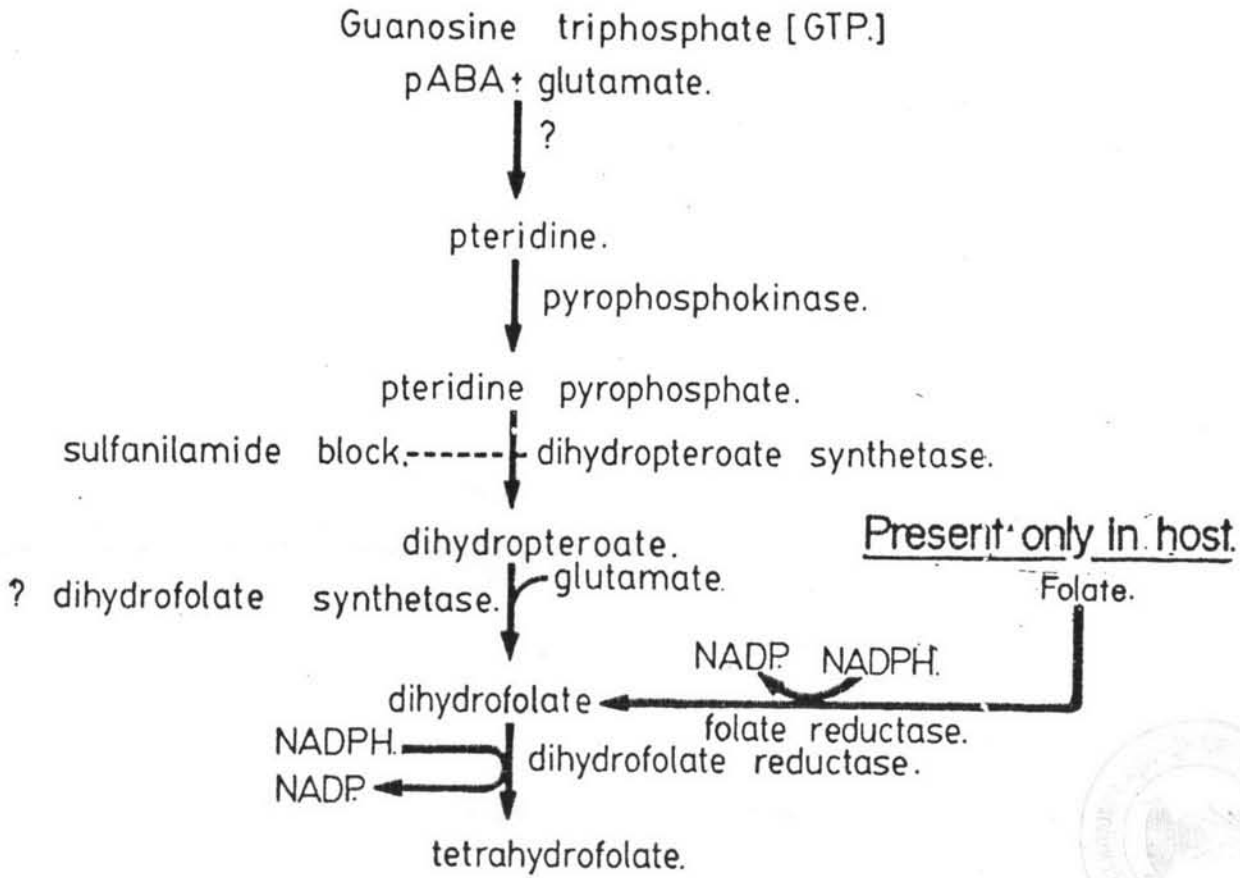
โฟเลตอย่าง de novo แต่อย่างไรก็ตามไม่มีรายงานว่าพบเอนไซม์แอคติวิตี้ของไดไฮโดรโฟเลต ซินเธอเตส (dihydrofolate synthetase) ในพลาสโมเดียมเลย

1.6 เมตาบอลิสมของโฟเลตในพลาสโมเดียม

กระบวนการสังเคราะห์โคนเอนไซม์เตตระไฮโดรโฟเลตในพลาสโมเดียม เบอจิอาย เกิดจาก pteridine ring ของไดไฮโดรโฟเลต ถูกเปลี่ยนเป็นเตตระไฮโดรโฟเลต ได้โดยอาศัยเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส (dihydrofolate reductase) (Platzer, 1974) เตตระไฮโดรโฟเลตจะเป็นตัว carrier one carbon fragment เพื่อการสังเคราะห์เพียวรีน, ไพริมิดีนย่นิดดีออกซีไธมิไดเลต (dTMP) และกรดอะมิโนเมไธโอนีน (Jaffee, 1972) เพื่อยบวนการเมตะบอลิสมของโปรตีน และกรดนิวคลีอิกต่อไป

สมมุติฐานวงจรของการสังเคราะห์ไธมิไดเลต (thymidylate synthetase cycle) ในเชื้อพลาสโมเดียมได้ถูกตั้งขึ้น (Platzer, 1974) (ในรูปที่ 3) โดยเชื่อว่าการสังเคราะห์เพียวรีนนิวคลีโอไทด์ น่าจะเป็นแบบ de novo ในขณะที่การสังเคราะห์ไพริมิดีนนิวคลีโอไทด์ ย่นิดดีออกซีไธมิไดเลต(dTMP) จากดีออกซียูริไดเลต (dUMP) เป็นแบบ salvage pathway ซึ่งจะถูกเร่งปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์ไธมิไดเลต ซินเธอเตส (thymidylate synthetase) โดยมี $N^5N^{10}$ - methylene tetrahydrofolate เป็นตัวให้หมู่เมธิล สำหรับ $N^5N^{10}$ - methylene tetrahydrofolate เองจะถูกสังเคราะห์ได้โดยอาศัยเอนไซม์เซรีน ไฮดรอกซีเมธิล ทรานสเฟอเรส (serine hydroxymethyl transferase)

พบว่าในเม็ดเลือดแดงเป็ดที่ติดเชื้อ พลาสโมเดียม โลฟูเล (P.lophurae) จะมีแอคติวิตี้ของเอนไซม์ ฟอร์มิล เตตระไฮโดรโฟเลต ซินเธอเตส (Formyl tetrahydrofolate synthetase) และเอนไซม์เมไธลีน เตตระไฮโดรโฟเลต ดีไฮโดรจีเนส (methylene tetrahydrofolate dehydrogenase) ลดลง (Platzer, 1972) แต่ไม่พบแอคติวิตี้ของเอนไซม์ทั้งสองนี้ในตัวพลาสโมเดียม โลฟูเลเลย สำหรับเอนไซม์แอคติวิตี้ของเซรีน ไฮดรอกซีเมธิล ทรานสเฟอเรส ทั้งในเม็ดเลือดแดงเป็นที่ติดเชื้อพลาสโมเดียม โลฟูเล และในตัวพลาสโมเดียม โลฟูเล เองจะสูงขึ้น (Platzer, 1977) แต่คุณสมบัติต่าง ๆ เช่น




รูปที่2. การสังเคราะห์โคเอนไซม์โฟเลตของ เซลพลาสโมเดียม และ เซลเจ้าบ้าน.

( Sherman , 1979 )

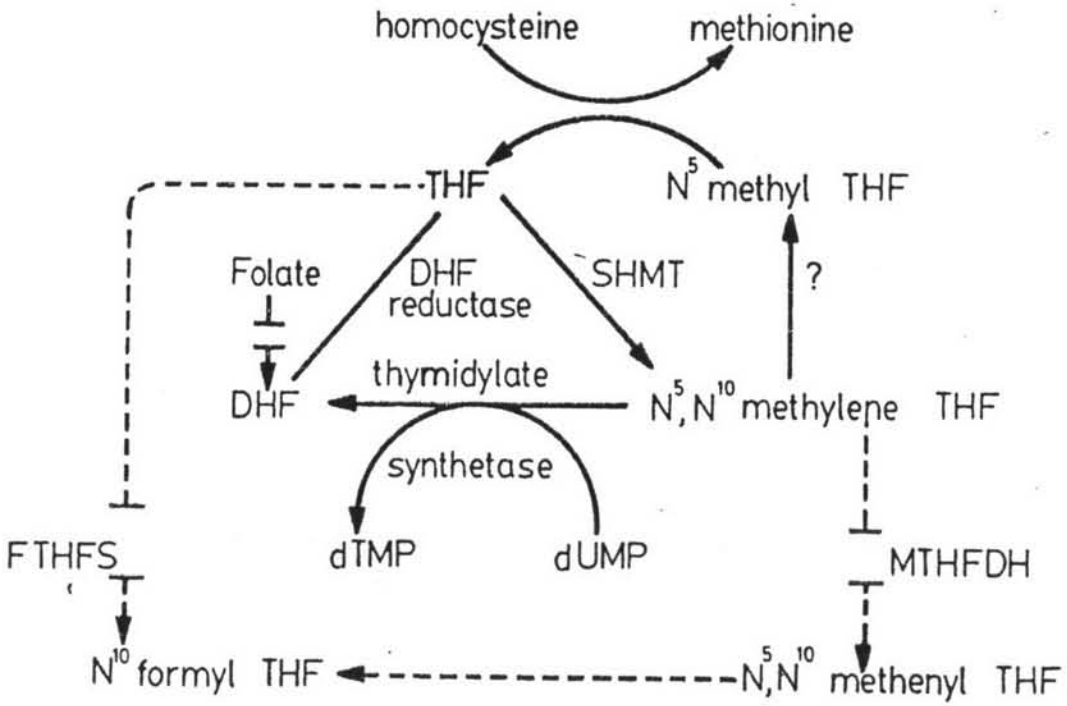
ขนาดและน้ำหนักโมเลกุล, pH ที่เหมาะสม รวมทั้งความคงทนความร้อนของเอนไซม์จะต่างกัน นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า แอคติวิตี้ของเอนไซม์ ไธมิไดเลท ซินเธอเตส ในพลาสโมเดียม ฆ่า-บอดี จะสูงเพียงหนึ่งในสิบของเอนไซม์ แอคติวิตี้ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส (Reid และ Friedkin, 1973) แต่แอคติวิตี้ของเอนไซม์ทั้งสองจะเพิ่มขึ้นควบคู่กับการเจริญของพลาสโม-เดียม โดยเฉพาะในระยะแรกของการเกิดไซซอนท์

ในอาหารเลี้ยงเชื้อพลาสโมเดียม โนว์ลิไซด์ (P.knowlesi) ของลิงรีซัส เมื่อเติม $[3 - {}^{14}C]$ serine และ $[{}^{35}S]$ homocystein ลงไป จะปรากฏสารกัมมันตรังสีนี้ใน ไธมิไดเลท และเมไธโอนีนตามลำดับ แสดงว่ามีการใช้และการสังเคราะห์ $N^5$ - methylene tetrahydrofolate เกิดขึ้นในพลาสโมเดียม ปัจจุบันยังไม่มีการค้นพบเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ $N^5$ - methylene tetrahydrofolate ในพลาสโมเดียม แต่เชื่อว่าพลาสโมเดียมสามารถสังเคราะห์เมไธโอนีนอย่าง de novo เช่นกัน ยิ่งไปกว่านั้นพบว่าเมไธโอนีนสามารถถูกนำเข้าสู่เซลพลาสโมเดียม โนว์ลิไซด์เพื่อการเจริญเติบโตอีกด้วย และมีการสังเคราะห์เมไธโอนีนในพลาสโมเดียม เบอจิอาย ซึ่งเกิดจากโฮโมซีสตีน แต่จะเป็นไปได้ช้ามาก (Langer และคณะ, 1969)

1.7 <u>การยับยั้งเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส ของพลาสโมเดียมด้วยไพริเมธามีน</u>

โดยหลักการถ้าเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส ถูกยับยั้ง การสังเคราะห์ เตตระไฮโดรโฟเลต, ไธมิไดเลท และเพียวรีน ที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์ DNA ก็จะถูกยับยั้งด้วย เซลจะไม่สามารถแบ่งตัวต่อไปได้

การรักษาโรคมะเร็งโดยอาศัยหลักเคมีของการรักษา จะใช้สารประกอบที่ทำหน้าที่เป็น folate antagonist (Bertino, 1971) เช่น เมโธเทรเซท (methotrexate) เป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างคล้ายกับกรดโฟลิค จะไปมีผลต่อเอนไซม์ที่ใช้เร่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์ไดไฮโดรโฟเลต และเตตระไฮโดรโฟเลต การจับของยาและเอนไซม์จะแน่นและทำให้รูปร่าง (conformation) ของเอนไซม์เปลี่ยนไป นอกจากนี้เชื่อว่าปฏิกิริยาการสัง-เคราะห์ ดีออกซีไธมิไดเลต โดยการส่งผ่านหมู่เมธิลจาก $N^5N^{10}$ - methylene tetrahy-drofolate ไปให้ dUMP ซึ่งมีไธมิไดเลต ซินเธอเตสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาด้วยนั้น จะถูกยับยั้ง




รูปที่ 3.

เมตาบอลิสมของโฟเลตในพลาสโมเดียม

( Sherman, 1979 )

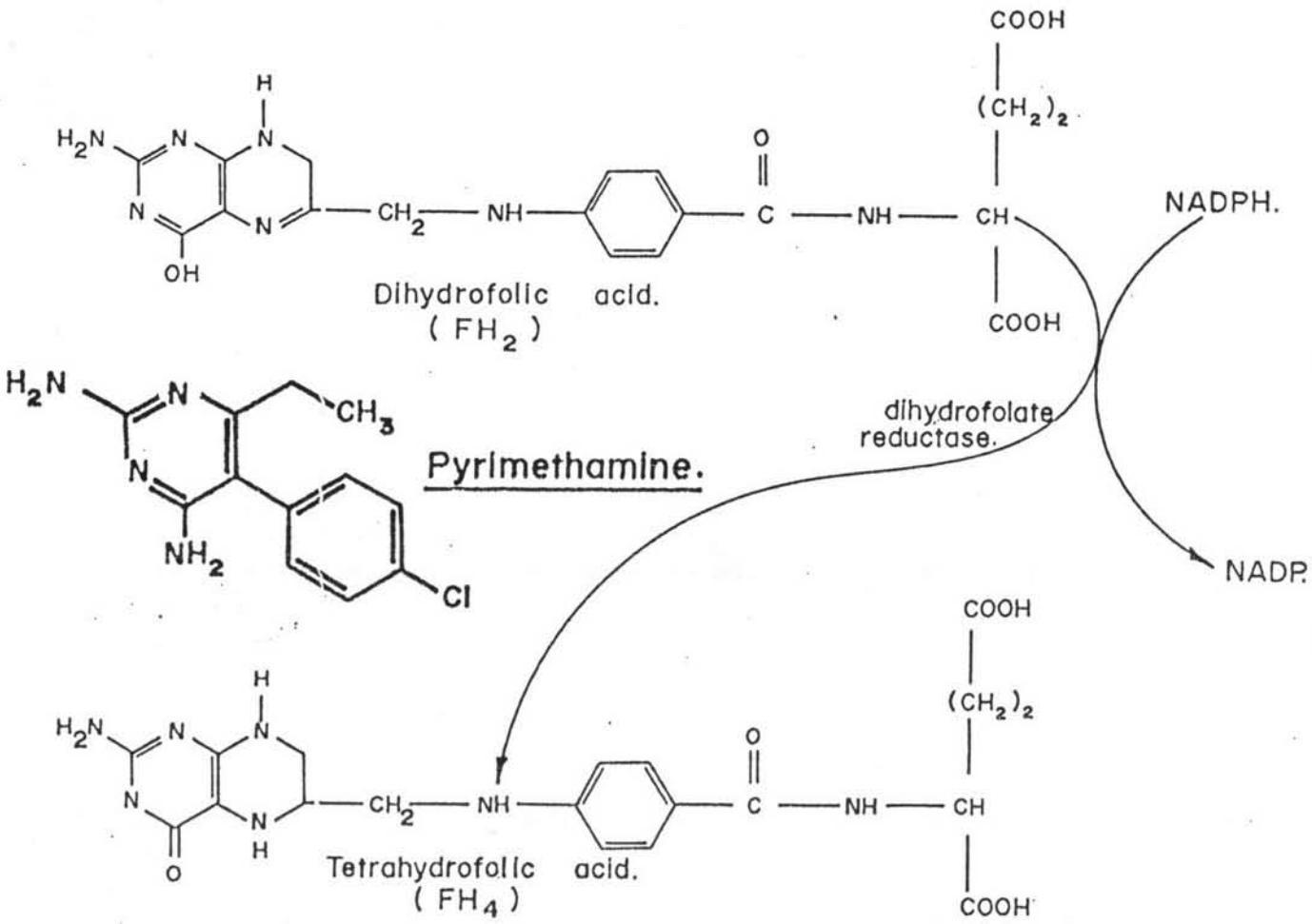
ด้วยเมโธเทรเซท เช่นกัน (Borsa และ Whitamore, 1969)

ไพริเมธามีน เป็นสารประกอบซึ่งสามารถยับยั้งขบวนการโฟเลตเมตาบอลิสม ได้คล้ายคลึงกับเมโธเทเซท จึงเป็นที่นิยมใช้เป็นสารเคมีเพื่อการรักษาโรคมาลาเรีย โดยใช้ร่วมกับซัลฟานิลาไมด์ ลักษณะโครงสร้างของไพริเมธามีนจะคล้ายคลึงกับ pteridine ของไดไฮโดรโฟเลต ดังนั้นไพริเมธามีนจะออกฤทธิ์ในลักษณะไปแย่งที่ (competition) กับไดไฮโดร-โฟเลต เพื่อจับกับเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส (รูปที่ 4) ขณะที่ซัลฟานิลาไมด์มีลักษณะโครงสร้างคล้ายกับ pABA จึงไปแย่งที่ pABA จับกับเอนไซม์ไดไฮโดรพเทอโรเอต ซินเธเตส (Ferone, 1973) (รูปที่ 2) เชื่อว่าทั้งซัลฟานิลาไมด์และไพริเมธามีนจะช่วยออกฤทธิ์เสริมกันแบบซินเนอจิสม (synergism) แต่กลไกของการเกิดซินเนอจิสมระหว่างยาทั้งสองจำเป็นต้องศึกษาต่อไป (Rollo, 1955)

นอกจากไพริเมธามีนแล้ว ยังมีสารประกอบอื่นที่ใช้ยับยั้งการเจริญของพลาสโมเดียม เช่น ไตรเมโธไพรัม (trimethoprim) ซึ่งพบว่าไตรเมโธไพรัมและไพริเมธามีนจะยับยั้งการเจริญของพลาสโมเดียม โนว์ลิไซด์ ในสภาวะ in vitro ในความเข้มข้นซึ่งใกล้เคียงกับที่ใช้ยับยั้งเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส ซึ่งแยกได้จากพลาสโมเดียม โนว์ลิไซด์โดยตรง (Gutteridge และ Trigg, 1971; McCormick, 1971)

## 1.8 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ปัจจุบันเทคนิคการเพาะเลี้ยงพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัม ได้ถูกพัฒนามาถึงขั้นการเพาะเลี้ยงได้ในจานทดลองในห้องปฏิบัติการ วงชีพที่เจริญได้ในจานทดลองเป็นระยะไม่มีเพศในกระบวนการ erythrocytic schizogony ทั้งสิ้น ดังนั้นการศึกษากลไกการเกิดการต้านยาของพลาสโมเดียมจะเทียบเคียงได้กับพลาสโมเดียมในกระแสโลหิตของผู้ป่วยที่เป็นโรคมาลาเรีย ในการวิจัยนี้จะเน้นหนักการศึกษาถึงกลไกการเกิดการต้านไพริเมธามีนในพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัม โดยเปรียบเทียบการนำเข้าของไพริเมธามีนในพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัม ไอโซเลท (isolate) ที่ไวและต้านยา รวมทั้งศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตสในไอโซเลท และต้านไพริเมธามีนอีกด้วย โดยมีขั้นตอนการวิจัยดังนี้




รูปที่ 4. ปฏิกิริยาของเอนไซม์ ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส และโครงสร้างของ ไพริเม็ธามีน.

( Pratt, 1973 )

1.8.1 ศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัม ที่แยกได้จากผู้ป่วยใน in vitro เพื่อนไปใช้ในการวิจัยขั้นต่อไป

1.8.2 ทดสอบความไวของพลาสโมเดียม ฟาลซิปารัม ไอโซเลท ต่าง ๆ ต่อไพริเมธามีน

1.8.3 ศึกษาการนำไพริเมธามีนเข้าสู่พลาสโมเดียม ฟาลซิปารัมที่ไวและต้านไพริเมธามีน

1.8.4 ศึกษาวิธีวัดระดับเอนไซม์ ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส

1.8.5 ศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับเอนไซม์ รวมทั้งคุณสมบัติบางประการของเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต รีดักเตส ในไอโซเลทที่ไวและต้านไพริเมธามีน