นิพนธ์ต้นฉบับ

การศึกษารูปแบบของเอ็นซัยม์ G-6-PD ใน Plasmodium falciparum*

ธาดา สืบหลินวงศ์**
สดศรี ไทยทอง***

Sueblinvong T, Thaithong S. G-6-PD pattern in some isolates of Plasmodium falciparum. Chula Med J 1983 May; 27 (3): 117-126

The polyacrylamide slab gel electrophoresis (PAGE) technique was used to detect the activity and isozyme pattern of glucose-6-phosphate dehydrogenase in the plasmodial parasites. A total of 63 isolates of **P. falciparum** *had heen collected from infected patients who attended to the malarial center services at Chantaburi, Tak, Kanchanaburi and Songkla provinces. All isolates of* **P. falciparum** *were cultured in vitro and concentrated for schizonts and trophozoites by gelatin separation before loading into the 7.5% (w/v) polyacrylamide gel. The presences of G-6-PD and its isozyme patterns were visualized by the activity staining method using glucose-6-phosphate as the substrate. The results showed that 33 isolates of* **P. falciparum** *had presented one single slow moving band of G-6-PD enzyme clearly distinguished from the three fast moving bands of the erythrocytic host enzyme. No variation of the parasitic G-6-PD isozyme pattern was observed in these isolates collected from the geographically different locations within Thailand.*

* ทุนโครงการวิจัยมาลาเรีย 5/2523 สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
** ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
*** ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เมตาบอลิสมของ *Plasmodium falciparum (P. falciparum)* ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการสลายกลูโคสผ่านทาง pentose phosphate pathway (P.P.P.) นั้นเป็นปัญหาซึ่งถกเถียงกันมานานว่า ปรสิตชนิดนี้มีเอ็นซัยม์ glucose – 6 – phosphate dehydrogenase (G–6–PD; EC. 1.1.1.49) ซึ่งเร่งปฏิกิริยาแรกของ P.P.P. ในการเปลี่ยนกลูโคสไปเป็น 6–phosphoglucono – δ – lactone หรือปรสิตต้องอาศัยเอ็นซัยม์ G–6–PD จากเม็ดเลือดแดงของโฮสท์ Langer และคณะพบว่า[1] *P. berghei* ซึ่งเป็นเชื้อไข้มาลาเรียในสัตว์ฟันแทะมีเอ็นซัยม์ G – 6 – PD ของตัวเองและ P.P.P. ที่สมบูรณ์ แต่ Theakston และคณะ[2] ไม่สามารถตรวจพบ G–6–PD activity ใน *P. falciparum* ซึ่งเก็บตัวอย่างจากผู้ป่วยมาลาเรียที่มีระดับ G–6–PD ในเม็ดเลือดแดงปกติจากการศึกษาโดยวิธีอิเล็คตรอนเคมี การศึกษาเกี่ยวกับการใช้ NADPH เพื่อเปลี่ยน oxidized glutathione (G–S–S–G) ไปเป็น reduced glutathione (GSH) ใน *P. berghei* ชี้บ่งว่าเชื้อไข้มาลาเรียขาดเอ็นซัยม์ G–6–PD[3] นอกจากนี้ยังมีรายงานอีกมากมายซึ่งชี้บ่งถึงการขาดเอ็นซัยม์ G–6–PD ในเชื้อไข้มาลาเรียดังที่รวบรวมโดย Sherman[4] แต่ Hempelmann[5] ได้ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยง *P. falciparum* ในหลอดทดลอง และ PAGE (polyacrylamide gel electrophoresis) แสดงถึง G–6–PD activity ใน *P. falciparum* ผู้วิจัยจึงประสงค์จะศึกษาเอ็นซัยม์ G–6–PD ใน *P. falciparum* เพื่อดูรูปแบบของไอโซซัยม์ (isozyme pattern) และเปรียบเทียบรูปแบบของ G–6–PD ใน isolates ของ *P. falciparum* ซึ่งได้เก็บตัวอย่างจากจังหวัดต่าง ๆ ในประเทศไทย

วัสดุและวิธีการ

วัสดุ

เชื้อมาลาเรียชนิด *P. falciparum* ได้จากการเก็บตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยด้วยโรคมาลาเรียซึ่งมารับการตรวจรักษาที่ศูนย์มาลาเรียหรือโรงพยาบาลของจังหวัดตาก กาญจนบุรี สงขลา และจันทบุรี เชื้อมาลาเรียแต่ละตัวอย่างจะถูกนำมาเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง[6] เพื่อเพิ่มจำนวนเชื้อให้สูงพอกับความต้องการที่ห้องปฏิบัติการโครงการวิจัยมาลาเรีย ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีการ

1. การเพาะเลี้ยงเชื้อ P. falciparum ในจานเพาะเลี้ยง

ตัวอย่างเลือดที่เก็บได้จากผู้ป่วยด้วยโรคมาลาเรียจะถูกนำมาเพาะเลี้ยงด้วยวิธี candle

jar technique ซึ่งต้องทำในภาวะปราศจากเชื้อ (sterile condition) โดยนำตัวอย่างเลือดมาปั่นล้าง 3 ครั้งด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ $RPMI^{1640}$ pH 7.2 (Grand Island) ที่มี Hepes buffer อยู่ 25 mM เพื่อดูด พลาสมา สารกันเลือดแข็งตัว และชั้นของเม็ดเลือดขาวออกโดยปั่นในเครื่องปั่นแบบตั้งโต๊ะด้วยความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที นาน 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง นำชั้นเม็ดเลือดแดงที่มีเชื้อปรสิตอยู่มาเติมอาหารเลี้ยงเชื้อสมบูรณ์ ($RPMI^{1640}$ pH 7.2 ที่มี Hepes buffer 25 mM 100 มล. ซึ่งเติม 5% $NaHCO_3$ 4.2 มล. Gentamycin 50 μg/ml และซีรัมคนปกติหมู่เลือด AB ซึ่งได้อุ่นที่อุณหภูมิ 56°C นาน 30 นาทีแล้วจนได้ความเข้มข้นของซีรัมเป็น 10-12%) 1 ปริมาตร และเม็ดเลือดแดงของคนปกติหมู่เลือด AB เพื่อให้ได้เปอร์เซ็นต์ปรสิตเริ่มต้นอยู่ในช่วง 0.3 - 0.5 % เติมอาหารเลี้ยงเชื้อสมบูรณ์จนได้ส่วนผสมสุดท้ายของเลือดเป็น 12-15 % เซลล์ซัสเปนชั่น ดูดส่วนผสมนี้ 1.5 มล. หรือ 5.0 มล. ใส่ในจานเพาะเลี้ยงขนาด 10 × 35 มม. หรือขนาด 15×60 มม. นำจานเพาะเลี้ยงวางในเดสซิเคเตอร์แบบสุญญากาศ จุดเทียนไขชนิดสีขาวแล้วปล่อยทิ้งไว้จนเทียนดับ ปิดจุก จะได้สภาวะของบรรยากาศภายในเดสซิเคเตอร์ที่เหมาะแก่การเจริญของพลาสโมเดียม (คาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 5-8 % และออกซิเจนมากกว่า 17 %) นำเดสซิเคเตอร์ไปเก็บในตู้อบที่อุณหภูมิ 37°C ต้องเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อทุก 24 ชั่วโมง พร้อมทั้งตรวจดูการเพิ่มจำนวนและลักษณะรูปร่างของเชื้อปรสิตด้วยการทำฟิล์มเลือดชนิดบางแล้วย้อมด้วย giemsa stain ถ้าเปอร์เซ็นต์ปรสิตในจานเพาะเลี้ยงสูงเกิน 3 % ต้องเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อทุก 8 ชั่วโมง

2. การแยกระยะ schizonts และ trophozoites ออกจากตัวอย่างเลือดโดย gelatin separation [6]

เชื้อมาลาเรียที่ได้เพาะเลี้ยงจนเพิ่มจำนวนปรสิตสูง 3-5 % ซึ่งต้องใช้เวลาเพาะเลี้ยงตั้งแต่ 1-2 สัปดาห์ และได้คะเนช่วงเวลาที่เชื้อปรสิต 50-60% เจริญเข้าสู่ระยะ growing trophozoites จนถึง early schizonts จากการดูระยะการเจริญในฟิล์มเลือดชนิดบาง นำตัวอย่างเชื้อปรสิตนี้จากจานเพาะเลี้ยงขนาด 15 × 60 มม. 3 จานเพาะเลี้ยงมารวมกัน ปั่นแยกอาหารเลี้ยงเชื้อออกโดยปั่น 1,500 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ดูดอาหารเลี้ยงเชื้อออกหมด เติม 10 ปริมาตรของ 3 % gelatin ซึ่งละลายอยู่ใน $RPMI^{1640}$ pH 7.2 อุณหภูมิ 40°C ผสมให้เข้ากับตัวอย่างเชื้อปรสิต นำหลอดทดลองนี้ไปตั้งไว้ในตู้อบอุณหภูมิ 37°C ทิ้งไว้จนกระทั่งเม็ดเลือดใน

หลอดทดลองแยกออกเป็น 2 ชั้น ชั้นล่างจะเป็นชั้นของเม็ดเลือดแดงที่ปราศจากเชื้อปรสิต รวมอยู่กับเม็ดเลือดแดงที่มีปรสิตในระยะวงแหวน (ring form) early trophozoites และ schizonts ซึ่งชั้นนี้อาจนำกลับไปเพาะเลี้ยงใหม่ได้อีก ส่วนชั้นบนจะเป็นชั้นของเม็ดเลือดแดงที่มีปรสิตระยะ trophozoites กับ schizonts อยู่สูง 40 – 50 % ของปรสิตทั้งหมด ซึ่งชั้นนี้จะถูกนำมาใช้สำหรับศึกษาเอ็นซัยม์ต่อไป เชื้อปรสิตที่แยกได้นี้สามารถถูกเก็บไว้ในไนโตรเจนเหลวจนกว่าจะได้ 4–6 ตัวอย่าง จึงจะนำมาศึกษาเอ็นซัยม์พร้อม ๆ กัน

ตัวอย่างเลือดที่มีเชื้อปรสิต และตัวอย่างเลือดที่ไม่มีเชื้อปรสิตจะถูกนำมาทำให้เซลล์แตกตัวโดยเติมน้ำกลั่น 1 เท่าตัว และ freeze thraw ด้วยไนโตรเจนเหลว (–196°C) สลับกับน้ำประปาที่อุณหภูมิห้อง 3 ครั้ง สารละลายเชื้อปรสิตและสารละลายตัวอย่างเลือดที่ไม่มีเชื้อปรสิตจะถูกนำไปปั่นใน Sorvall RC–5 Superspeed Refrigerated Centrifuge ที่อัตราเร็ว 10,000 รอบต่อนาที (หรือ 12,000 × g) อุณหภูมิ 4°C นาน 15 นาที ชั้นตะกอนที่นอนก้นหลอดจะเป็นเยื่อหุ้มเซลล์ และ pigments ของเชื้อปรสิต ส่วนน้ำใสจะถูกนำมาใช้ศึกษาเอ็นซัยม์โดยนำ 80 μl ของส่วนน้ำใสผสมกับ 30 μl ของ 40 % sucrose ก่อนจึงจะหยดลงในช่องบรรจุของแผ่น slab gel

3. การเตรียม polyacrylamide slab gel

แผ่น slab gel หนา 1 มม. เตรียมโดยใช้ acrylamide 7.5 % (w/v) และ N N′–methylene bisacrylamide ในอัตราส่วน 37.5 : 1 และ 20% (v/v) glycerol เจลจะแข็งตัวได้โดยอาศัย 0.1% ammonium persulfate และ 0.05% N, N, N′, N′ – tetramethylene diamine เป็นตัวช่วยเร่ง[7]

บัฟเฟอร์สำหรับผสมในแผ่นเจลคือ 0.15 M Tris/HCl pH 7.6 ส่วนบัฟเฟอร์สำหรับอิเล็คโตรฟอรีซีสคือ 5 mM Tris/glycine pH 8.6

เจล 1 แผ่นจะมีช่องบรรจุ (กว้าง 1 ซม.) จำนวน 6 ช่อง สำหรับใส่ตัวอย่างใหม่ 4 ช่อง อีก 2 ช่อง สำหรับบรรจุตัวเปรียบเทียบซึ่งต้องใส่ในทุกเจล โดยช่องหนึ่งบรรจุตัวอย่างเลือดที่มีเชื้อปรสิตเดิมทุกครั้งเพื่อเทียบแถบเอ็นซัยม์ของเชื้อมาลาเรีย อีกช่องบรรจุเลือดที่ปราศจากเชื้อเพื่อเทียบแถบเอ็นซัยม์ของเม็ดเลือดแดง อิเล็คโตรฟอริซีสทำที่อุณหภูมิ 4°C โดยใช้ความต่างศักย์ 250 โวลต์คงที่ นานจนกระทั่งเห็นแถบสีแดงของฮีโมโกลบินเคลื่อนที่ไปได้ 5–6 ซม. จากจุดเริ่ม

4. การย้อมสีแผ่นเจลเพื่อดูแถบเอ็นซัยม์ G–6–PD

แถบของเอ็นซัยม์ G–6–PD จะปรากฏขึ้นเมื่อย้อมด้วยสีซึ่งประกอบด้วย 0.6 mM glucose –6–phosphate (Na_2 Salt), 0.2 M $MgCl_2$, 5 mg NADP (Na_2 salt), 7.5 mg MTT (methyl thiazolyl tetrazolium bromide) และ 5 mg PMS (phenazine methosulfate) ละลายใน 50 มล. ของ 0.2 M Tris / HCl, pH 8.0[8] การย้อมสีทำโดยนำแผ่นเจลวางในถาดตื้น ๆ เทสีให้ท่วมแผ่นเจล นำไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 37°C ประมาณ 1 ชั่วโมง แถบของเอ็นซัยม์จะปรากฏบนแผ่นเจลเป็นสีม่วงอมน้ำเงิน นำแผ่นเจลที่ย้อมติดสีแล้วไปล้างสีออกด้วยน้ำประปา 2–3 ครั้งตัดกระดาษกรองให้มีขนาดพอดีกับแผ่นเจลมารองใต้แผ่นเจล ปิดหน้าเจลด้วยแผ่นพลาสติคบางๆ พลิกแผ่นเจลคว่ำลงบนพื้นโต๊ะให้กระดาษกรองอยู่ด้านบน ตั้งทิ้งให้แห้งในอุณหภูมิห้อง 1 คืน จะได้แผ่นเจลซึ่งแห้งติดกระดาษกรองเก็บไว้ได้

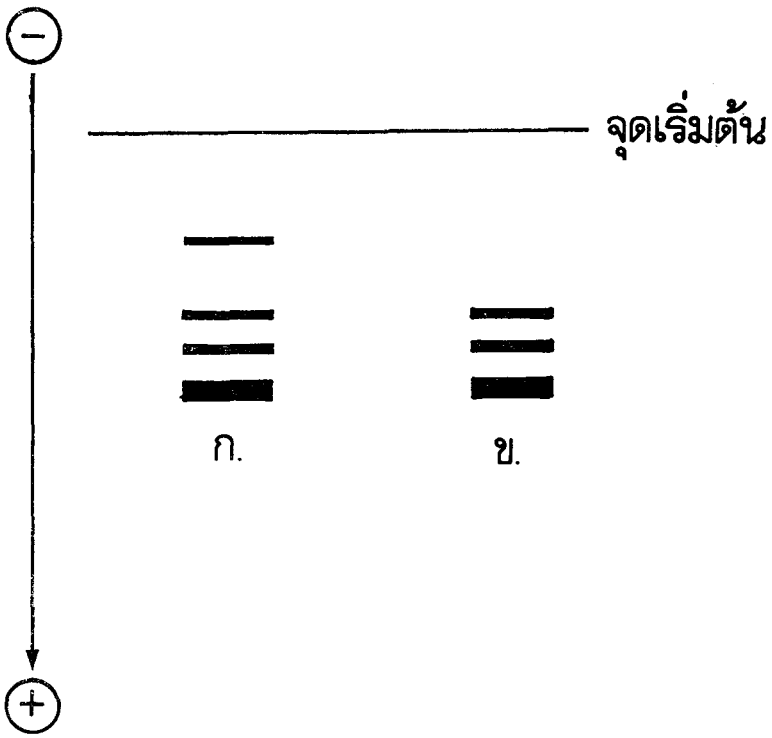
การดูแถบของเอ็นซัยม์ จะเปรียบเทียบแถบของเอ็นซัยม์ในตัวอย่างเลือดที่มีเชื้อมาลาเรียกับตัวอย่างเลือดที่ปราศจากเชื้อมาลาเรีย โดยดูระยะทางที่เคลื่อนที่จากจุดเริ่มต้นของแต่ละแถบ ถ้าระยะทางเท่ากันและพบได้ทั้งในตัวอย่างเลือดปราศจากเชื้อมาลาเรียกับตัวอย่างเลือดที่มีเชื้อก็ถือว่าแถบนั้นไม่ใช่เอ็นซัยม์ของเชื้อปรสิต ส่วนแถบของเอ็นซัยม์ซึ่งพบเฉพาะในตัวอย่างเลือดที่มีเชื้อปรสิตแต่ต่างจากในตัวอย่างเลือดที่ปราศจากเชื้อนั้นจะต้องเป็นแถบเอ็นซัยม์ของเชื้อปรสิต แถบเอ็นซัยม์ของเชื้อปรสิตมักจะเป็นแถบที่ติดสีจางเนื่องจากมีสมรรถภาพการทำงาน (activity) ต่ำ ในหลายตัวอย่างที่เก็บไว้ในไนโตรเจนเหลวนานกว่า 6–8 สัปดาห์แล้วจึงนำมาศึกษามักจะไม่พบแถบเอ็นซัยม์ G–6–PD ในตัวอย่างนั้น อีกประการหนึ่งที่จะทำให้ไม่เห็นแถบ G–6–PD ของปรสิตอาจเกิดจากการคะเนเวลาของตัวอย่างเชื้อปรสิตให้ได้ระยะ trophozoites และ schizonts คลาดเคลื่อนจึงไม่ได้ระยะของปรสิตตามต้องการ

ผลการทดลอง

แถบของเอ็นซัยม์ G–6–PD ในตัวอย่างเลือดซึ่งปราศจากเชื้อปรสิตหรือที่ถูกต้องก็คือแถบเอ็นซัยม์ G–6–PD ของเม็ดเลือดแดงจะพบเป็นแถบสีม่วงอมน้ำเงิน 3 แถบ เคลื่อนที่ไปทางขั้วบวกบางครั้งทั้งสามแถบอาจรวมกันเป็น 1 แถบใหญ่ ส่วนแถบของเอ็นซัยม์ G–6–PD ในตัวอย่างเลือดที่มี *P. falciparum* จะมี 4 แถบ แถบที่เคลื่อนที่ห่างจากจุดเริ่มไปเพียง 1–1.5 ซม. มีลักษณะเป็นเส้นบางติด

สีม่วงอมน้ำเงินชัดเจนและไม่พบในตัวอย่างเลือดที่ปราศจากเชื้อปรสิต แถบนี้จึงเป็นแถบเอ็นซัยม์ G–6–PD ของ *P. falciparum* ส่วนอีก 3 แถบ นั้นเคลื่อนที่ไปทางขั้วบวกได้ไกลจากจุดเริ่มต้นเท่า ๆ กับเอ็นซัยม์ G–6–PD ในตัวอย่างเลือดที่ปราศจากเชื้อหรือเป็นเอ็นซัยม์ G–6–PD ของเม็ดเลือดแดงนั่นเอง (รูปที่ 1)

รูปที่ 1 แบบแผนของเอ็นซัยม์ G–6 PD ในตัวอย่างเลือดที่มีเชื้อ P. falciparum (ก) และตัวอย่างเลือดที่ปราศจากเชื้อปรสิต (ข)



จำนวนตัวอย่างเลือดซึ่งได้จากผู้ป่วยโรคมาลาเรีย 63 รายใน 4 จังหวัดของประเทศไทย (ตารางที่ 1) มี 33 ตัวอย่างซึ่งตรวจพบเอ็นซัยม์ G–6–PD ของเชื้อปรสิตโดยพบรูปแบบของเอ็นซัยม์ G–6–PD ของ *P. falciparum* เป็นลักษณะเดียวกันทั้งหมด ไม่พบไอโซซัยม์ที่มีลักษณะต่างไป นอกจากตัวอย่างหนึ่ง (T_{62}) ซึ่งได้จากผู้ป่วยชายชาวพม่าที่ข้ามมารับการตรวจรักษา ณ ศูนย์มาลาเรียอำเภอแม่สอด จังหวัดตาก ตัวอย่างนี้ถูกนำมาเพาะเลี้ยงเพียง

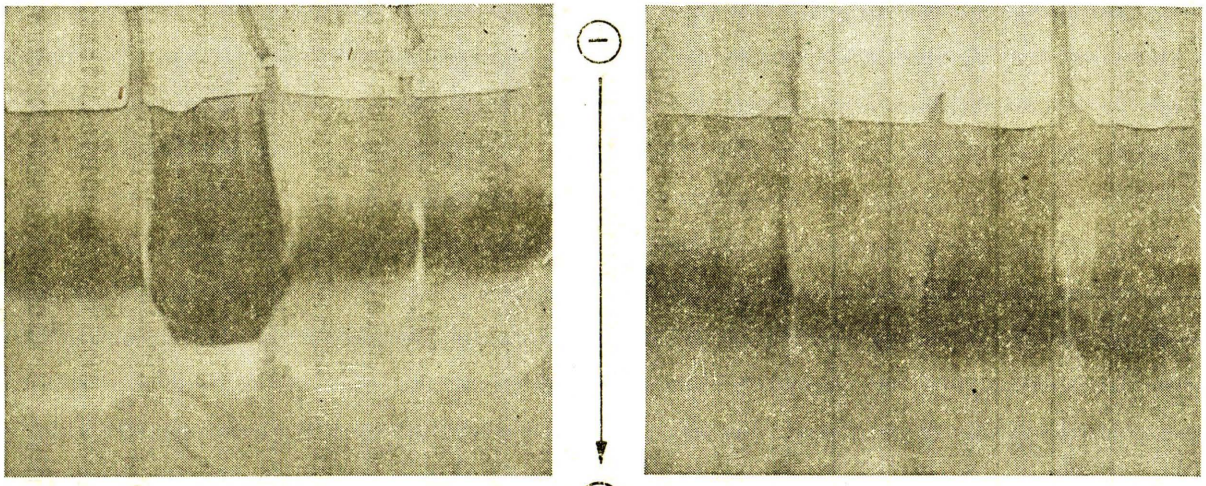
ตารางที่ 1 แสดงจำนวนตัวอย่างเลือดซึ่งเก็บจากผู้ป่วยโรคมาลาเรียในเขตจังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทยเพื่อศึกษา เอ็นซัยม์ G-6-PD

ภาค	จังหวัด	จำนวนตัวอย่างเลือดที่เก็บมาศึกษาเอ็นซัยม์	จำนวนตัวอย่างเลือดซึ่งพบแถบเอ็นซัยม์ของปรสิต
ตะวันออก	จันทบุรี	33	17
ใต้	สงขลา	2	1
ตะวันตก	กาญจนบุรี	1	1
	ตาก	27	14
รวม	4	63	33

ระยะสั้นเนื่องจากมีเปอร์เซนต์ปรสิตสูง แล้วนำมาศึกษาเอ็นซัยม์ ครั้งแรกพบแถบเอ็นซัยม์ G-6-PD ในตัวอย่างนี้ 8 แถบ และมีการเคลื่อนที่จากจุดเริ่มต้นเป็นระยะต่างจากที่พบในตัวอย่างอื่น ๆ จึงได้เพาะเลี้ยงตัวอย่างเชื้อนี้ในระยะยาวขึ้นพร้อมกับเติมเม็ดเลือดแดงของคนปกติที่ปราศจากเชื้อลงในจานเพาะเลี้ยง เมื่อนำมาศึกษาเอ็นซัยม์ครั้งที่สองโดยวิธีเดิม ก็พบแถบเอ็นซัยม์ G-6-PD ของเชื้อปรสิต 1 แถบกับอีก 3 แถบของเม็ดเลือดแดง (รูปที่ 2)

วิจารณ์

ผลการศึกษานี้แสดงว่าเชื้อมาลาเรียชนิด *P. falciparum* มีเอ็นซัยม์ G-6-PD ของตัวปรสิตเอง เอ็นซัยม์ที่พบมีการเคลื่อนที่ใน PAGE ช้ากว่า G-6-PD ของเม็ดเลือดแดง จึงแยกออกจากเอ็นซัยม์ของเม็ดเลือดแดงซึ่งเป็นที่อยู่อาศัยของปรสิตได้เด่นชัด รูปแบบของเอ็นซัยม์ G-6-PD ในปรสิตปรากฏเป็นแถบเพียงแถบเดียว ซึ่งเหมือนกับผลการศึกษาของ Hempelmann และ Wilson [5] ส่วนแถบเอ็นซัยม์ที่แปลกและเกินมาถึง 4 แถบในตัวอย่าง T_{62} เมื่อศึกษาเอ็นซัยม์ครั้งแรกนั้น (รูปที่ 2 ก) เข้าใจว่าเป็นแบบ G-6-PD ไอโซซัยม์ของเม็ดเลือดแดงผู้ป่วยมากกว่าจะเป็นแถบเอ็นซัยม์ที่แปลกไปของเชื้อปรสิต เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเชื้อมาลาเรียระยะสั้นนั้น เลือดที่ใช้คือเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยนั่นเอง จึงมีโอกาสพบแถบเอ็นซัยม์ G-6-PD ที่มีรูปแบบแปลก ๆ ของเม็ดเลือดแดงได้ แต่เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อมาลาเรียในระยะยาวนานขึ้น เม็ดเลือดแดงเดิมของผู้ป่วยจะถูกทำลายโดยเชื้อมาลาเรียหรือแตกไปเองจากสภาพแวดล้อมในหลอดทดลองที่ต่างจากร่างกายผู้ป่วยประกอบกับการเติมเม็ดเลือดแดงใหม่จากผู้บริจาคโลหิต



(ก) (ข)

รูปที่ 2 แถบเอ็นซัยม์ G-6-PD ของเชื้อ P. falciparum และเม็ดเลือดแดงที่ปรากฏบนเจล
ก. แถบเอ็นซัยม์ G-6-PD ในตัวอย่างต่าง ๆ และ T_{62} เมื่อเพาะเลี้ยงระยะสั้น
ข. แถบเอ็นซัยม์ G-6-PD ในตัวอย่าง และ T_{62} เมื่อเพาะเลี้ยงระยะยาวขึ้น

ซึ่งไม่ใช่ผู้ป่วย จึงทำให้แถบ G-6-PD ไอโซซัยม์ของเม็ดเลือดแดงจากผู้ป่วยจางหายไปในการศึกษาเอ็นซัยม์ครั้งต่อมาของ T_{62} (รูปที่ 2 ข)

ผลการศึกษารูปแบบของเอ็นซัยม์ G-6-PD ในตัวอย่างเลือดซึ่งเจาะจากผู้ป่วยโรคมาลาเรียที่เก็บจากจังหวัดตาก กาญจนบุรี สงขลา และจันทบุรีให้ผลเหมือนกัน คือ พบแถบเอ็นซัยม์ของ *P. falciparum* เพียง 1 แถบ ซึ่งเคลื่อนที่ห่างจุดเริ่มต้นไปทางขั้วบวกเป็นระยะ 1-1.5 ซม. แต่การที่พบเอ็นซัยม์ G-6-PD ของเชื้อไข้มาลาเรียในตัวอย่างเลือดเพียง 33 จาก 63 ตัวอย่างนั้นเกิดจากปัญหาด้านการเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มเปอร์เซ็นต์ปรสิตและขั้นตอนการเก็บเชื้อปรสิตในระยะ schizonts กับ trophoziotes ซึ่งเป็นระยะการเจริญที่ตัวปรสิตมีขนาดตัวโตและเมตาบอลิสมสูงมาใช้ศึกษาเอ็นซัยม์มากกว่าจะเกิดจากการขาดเอ็นซัยม์ G-6-PD ในเชื้อพลาสโมเดียมเหล่านั้น

สรุป

ผลการศึกษาเอ็นซัยม์ G-6-PD ในตัวอย่างเลือดที่เจาะจากผู้ป่วยโรคมาลาเรียที่เกิดจาก *P. falciparum* จำนวน 63 ตัวอย่าง สามารถพบแถบเอ็นซัยม์ G-6-PD ของตัวปรสิตใน 33 ตัวอย่าง แถบเอ็นซัยม์ G-6-PD ของเชื้อไข้มาลาเรียเคลื่อนที่ช้ากว่าเอ็นซัยม์ของเม็ดเลือดแดงและสามารถแยกจากกันได้อย่างเด่นชัดใน PAGE

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านของศูนย์มาลาเรียในจังหวัดจันทบุรี สงขลา ตาก และกาญจนบุรี ซึ่งได้ให้ความช่วยเหลืออย่างดียิ่งในการเก็บตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยโรคมาลาเรีย ขอบพระคุณหัวหน้าภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ และหัวหน้าภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งให้การสนับสนุน

อ้างอิง

1. Langer BW, Phisphumvidthi P. and Friedlander Y. Malaria parasite metabolism : the pentose cycle in *Plasmodium berghei*. Exp Parasitol 1967; 20 : 68-76.
2. Theakston, RDG and Fletcher, KA. An electron cytochemical study of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in erythrocytes of malaria-infected mice, monkeys and chickens. Life Sci 1971; 10 : 701-711.

3. Eckman, JE and Eaton, JW. Dependence of plasmodial glutathione metabolism on the host cell. Nature 1979, 278 : 754-756.
4. Sherman, IW. Biochemistry of plasmodium (malarial parasites). Microbiol Rev 1979; 43 : 453-495.
5. Hempelmann, E and Wilson, RJM. Detection of glucose-6-phosphate dehydrogenase in malarial parasites. Mol Biochem Parasitol 1981; 2 : 197-204.
6. Trager, W and Jensen, JB. Human malaria parasites in continuous culture. Sci 1976; 193 : 673-675
7. Hempelmann, E and Wilson, RJM. Endopeptidases from *Plasmodium knowlesi.* Parasitol 1980; 80 : 323-330.
8. Harris, H and Hopkinson, DA. Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics. Amsterdam : North Holland Publishing Company, 1976 : 1.1.1.49.

จุฬาลงกรณ์เวชสารได้รับต้นฉบับเมื่อวันที่ 6 กันยายน 2525