

**CYTOADHERENCE CHARACTERISTICS OF *PLASMODIUM*  
*FALCIPARUM* ISOLATES AND CYTOKINE RESPONSE IN  
PLACENTAL MALARIA INFECTION**

**SUJITTRA CHAISAVANEYAKORN**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY  
(MICROBIOLOGY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY  
2003**

**ISBN 974-04-3859-8**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

การศึกษาลักษณะการเกาะติดของเชื้อ *PLASMODIUM FALCIPARUM* และการตอบสนองของสารหลังใน PLACENTAL MALARIA INFECTION (CYTOADHERENCE CHARACTERISTICS OF *PLASMODIUM FALCIPARUM* ISOLATES AND CYTOKINE RESPONSE IN PLACENTAL MALARIA INFECTION)

สุจิตรา ชัยสวณิยาภรณ์ 4037878 SCMI/D

ปร.ด. (จุลชีววิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : ศันสนีย์ ไชยโรจน์, Ph.D., ศรีสิน คุสมิทธิ์, Ph.D., ปรัชญา คงทวีเลิศ, Ph.D., พิรพรรณ ตันอารีย์, ปร.ด.

#### บทคัดย่อ

ในการศึกษาวิจัยคุณสมบัติการเกาะติดของเชื้อชนิด *P. falciparum* สายพันธุ์ที่ได้จากผู้ป่วยต่อ chondroitin sulfate (CS) A ซึ่งเป็น host receptor สำคัญที่พบบนรก พบว่าคุณสมบัติการเกาะติดของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อสายพันธุ์ที่มาจากผู้ป่วยมีความหลากหลายทั้งในระดับการเกาะติดกับเซลล์และโมเลกุลเป้าหมาย จากการใช้วิธี cytoadherence inhibition assay ด้วยสารยับยั้งประเภท glycosaminoglycans พบว่าเชื้อแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างทั้งตำแหน่งและชนิดของ domain (s) ที่เป็นส่วนประกอบของ ligand (s) ที่ใช้ในการเกาะติดกับ CSA สำหรับลักษณะโครงสร้างของ CSA ที่สำคัญต่อการเกาะติดกับ ligand (s) ของเชื้อคือ galactosamine ของ CS ที่มีหมู่ sulfate ที่ตำแหน่งที่สี่และหน่วย glucuronic acid จำนวนของหมู่และตำแหน่ง sulfate ของ CS มีความสำคัญต่อการเกาะติดของเชื้อชนิด *P. falciparum* เช่นกัน

ในด้านระบบภูมิคุ้มกันด้านเซลล์ จากศึกษาการตอบสนองทางด้านสารหลังของเซลล์ต่อการติดเชื้อ มาลาเรียในหญิงมีครรภ์รวมถึงในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ HIV พบว่าเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันด้านเซลล์ที่ได้มารก (IVBMC) ของผู้ป่วยที่ติดทั้งเชื้อมาลาเรียและ HIV หรือเชื้อ HIV เพียงอย่างเดียวมีการหลั่งสาร interleukin (IL)-12 ในระดับที่น้อยกว่าปกติ ในขณะที่ยังมีการตอบสนองโดยการหลั่งสาร IL-18 และ interferon (IFN) -inducible protein (IP)-10 ในระดับที่เป็นปกติ จากการวิเคราะห์ทำให้เกิดสมมติฐานว่าความบกพร่องในการตอบสนองโดยการหลั่งสาร IL-12 เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดความบกพร่องในการหลั่งสาร IFN- $\gamma$  ซึ่งนำไปสู่การสูญเสียความสามารถในการต่อต้านโรคติดเชื้อมาลาเรียในหญิงมีครรภ์ที่มีการติดเชื้อ HIV ร่วมด้วย

ในการศึกษาวิจัยระดับของสารหลังประเภท macrophage migration inhibitory factor (MIF) ในเลือดที่ได้จากผู้หญิงทั้งที่มีและไม่มีติดเชื้อมาลาเรียและ HIV พบว่าระดับของสารหลัง MIF ในเลือดที่ได้จากรกมีระดับที่สูงกว่าระดับของสารหลัง MIF ในตัวอย่างเลือดที่ได้จากสายสะดือและเลือดที่เก็บจากเส้นเลือดที่แขน นอกจากนี้ยังพบว่าในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อมาลาเรียทั้งที่ร่วมกับ HIV หรือไม่ก็ตามมีระดับของสารหลัง MIF ในเลือดจากรกเพิ่มสูงขึ้นอย่างมาก นอกจากนี้ยังพบการตอบสนองโดยการหลั่งสาร MIF ที่สูงมากของเซลล์ IVBMC เมื่อเทียบกับเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันที่ได้จากเส้นเลือดที่แขน (PBMC) และเมื่อทำการตรวจชิ้นเนื้อรกโดยใช้วิธี immunohistochemistry พบว่าเซลล์ที่มีการผลิต MIF ในรูปแบบที่สม่ำเสมอได้แก่ syncytiotrophoblasts (SCT), extravillous trophoblasts, เซลล์ IVB และ amniotic epithelial cells (AEC) MIF จะพบเพียงในบางบริเวณใน cytotrophoblasts, villous stroma และ เซลล์ Hofbauer นอกจากนี้ AEC และ SCT ของรกที่มีเชื้อมาลาเรียจะมีการหลั่ง MIF สูงกว่า ความสามารถในการหลั่งสาร MIF จาก SCT ได้รับการยืนยันจากการตรวจพบการหลั่งสาร MIF จาก human trophoblast cell line (BeWo) เมื่อถูกกระตุ้นด้วยเชื้อมาลาเรีย

โดยสรุป ความแตกต่างของพยาธิสภาพในหญิงมีครรภ์ที่ป่วยเป็นมาลาเรียทั้งที่มีและไม่มีติดเชื้อ HIV ร่วมด้วยอาจเป็นผลมาจากปัจจัยความหลากหลายของ host ความรู้เกี่ยวกับปัจจัยความหลากหลายของเชื้อมาลาเรียด้วย

CYTOADHERENCE CHARACTERISTICS OF *PLASMODIUM FALCIPARUM* ISOLATES AND CYTOKINE RESPONSE IN PLACENTAL MALARIA INFECTION

SUJITTRA CHAISAVANEYAKORN 4037878 SCMI/D

Ph.D.(MICROBIOLOGY)

THESIS ADVISORS: SANSANEE CHAIYAROJ, Ph.D., SRISIN KHUSMITH, Ph.D., PRACHYA KONGTAWELERT, Ph.D., PEERAPAN TAN-ARIYA, Ph.D.

ABSTRACT

In this study, cytoadherence of wild parasite isolates to chondroitin sulfate (CS) A, an important host receptor for *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes in placenta, and certain aspects of cell-mediated immunity in protection against placental malaria (PM) were investigated.

Differences in the characteristics of parasitized erythrocyte (PE) adhesion with respect to site and ligand domain reflects the heterogeneity of the parasite. *In vitro* competitive inhibition assays were employed to define structural requirements for adhesion of both wild and laboratory parasite isolates to CSA. Various glycosaminoglycans and polysulfated compounds including certain drugs were used as inhibitors to determine their interference with PE adhesion. The results suggested that disaccharide structure of -4GlcA $\beta$ 1-3GalNAc-1 and the degree of sulfation are critical for the PE adhesion. We also demonstrated for the first time the variation in the degree of adherence to different chondroitin sulfates among wild isolates. Specific adherence of PE to CSD and CSE as well as heparin interference on CSA-mediated cytoadherence of PE were observed.

In the area cell-mediated immunity, cytokine responses were examined in PM and in relation to human immunodeficiency virus (HIV)/PM co-infection. *In vitro* cytokine responses by intervillous blood mononuclear cells (IVBMC) from HIV-seropositive and HIV-seronegative women both with and without PM were investigated. In both HIV and HIV/PM co-infection, the severely defective production of interleukin (IL)-12, but not IL-18 and interferon inducible protein (IP)-10, has been suggested to be a critical factor contributing to impaired IFN- $\gamma$  production, leading to the loss of protection against PM.

Macrophage migration inhibitory factor (MIF) levels were also investigated in the plasma of pregnant women with PM and/or HIV infection. MIF levels in the intervillous blood (IVB) plasma were significantly elevated compared with peripheral and cord plasma. PM, but not HIV, significantly up-regulated MIF levels in IVB plasma. *In vitro* MIF responses by IVBMC were significantly higher when compared with PBMC. Immunoperoxidase staining showed a consistent pattern of MIF expression in the syncytiotrophoblasts (SCT), extravillous trophoblasts, IVB cells and amniotic epithelial cells (AEC). Cytotrophoblasts, villous stroma, and Hofbauer cells demonstrated focalized staining. AEC and SCT from malaria-infected placenta consistently exhibited strong expression of MIF whereas those from non-infected placenta showed weak expression. Malaria parasites can induce *in vitro* MIF production in a human trophoblast cell line (BeWo).

Taken together, the results of the study imply that difference in pathogenic processes leading to varying clinical manifestations depend not only on heterogeneity of parasite factors, but also host factors.

KEY WORDS: PLACENTAL MALARIA/ CYTOADHERENCE/ CYTOKINE/ HIV  
269 P. ISBN 974-04-3859-8