

**EXPRESSION OF PHOSPHATIDYLSERINE DURING IN VITRO
DEVELOPMENT OF PLASMODIUM FALCIPARUM MALARIA-
INFECTED RED BLOOD CELLS**

PANUDDA SRATONGNO

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (IMMUNOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2005

ISBN 974-04-6608-7

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

การเกิด phosphatidylserine บนผิวเซลล์เม็ดเลือดแดงที่เพาะเลี้ยงด้วยเชื้อมาลาเรีย พลาสโมเดียม ฟาลซิพารัม (*Plasmodium falciparum*) (EXPRESSION OF PHOSPHATIDYLSERINE DURING IN VITRO DEVELOPMENT OF PLASMODIUM FALCIPARUM MALARIA-INFECTED RED BLOOD CELLS).

ปณัฏคา สระทองโน 4536760 SIIM/M

วท.ม. (วิทยานิพนธ์)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : โกวิท พัฒนาปัญญาสัตย์, Ph.D., เกศินี โชติวานิช, Ph.D.,
ปานทิพย์ วัฒนวิบูลย์, Ph.D.

บทคัดย่อ

เชื้อมาลาเรียพลาสโมเดียม ฟาลซิพารัม สามารถชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงบนผิวเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ ซึ่งนำไปสู่การเกิดฟอสฟาติลซีรีน (phosphatidylserine) บนผิวของเม็ดเลือดแดง โมเลกุลของฟอสฟาติลซีรีน นี้จะปรากฏที่ต่อเมื่อเซลล์อยู่ในภาวะความเครียดของออกซิเดทีฟ (oxidative stress) หรือเกิดการตายของเซลล์ วิทยานิพนธ์นี้ได้ทำสำรวจการเกิดฟอสฟาติลซีรีน บนผิวเซลล์เม็ดเลือดแดงที่เพาะเลี้ยงด้วยเชื้อมาลาเรียพลาสโมเดียม ฟาลซิพารัม ในระยะต่าง ๆ และศึกษาผลของอุณหภูมิช่วงมีไซโทไคน์ (cytokines) ที่หลังในช่วงมีไซโตการเกิดฟอสฟาติลซีรีนบนผิวเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ โดยใช้วิธีโพลไซโตเมทรี ซึ่งข้อม ดีเอ็นเอ (DNA) ของเชื้อมาลาเรียด้วยสี hydroethidine และสีข้อม annexin ติดฉลากด้วยสารเรืองแสง FITC ซึ่งจำเพาะกับฟอสฟาติลซีรีนจากการสำรวจพบว่า การเกิดฟอสฟาติลซีรีนบนผิวเซลล์เม็ดเลือดแดงจะเพิ่มขึ้นตามการเจริญเติบโตของเชื้อ โดยเฉพาะในระยะตัวแก่ นอกจากนี้ยังพบว่า การเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรียชนิดฟาลซิพารัมยังเร่งให้เกิดการแก่ตัวของเม็ดเลือดแดงที่ไม่ติดเชื้อที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้ออีกด้วย สาเหตุอาจเนื่องมาจากการที่เชื้อมาลาเรียชนิดฟาลซิพารัมชักนำให้เกิดภาวะความเครียดของออกซิเดทีฟ ส่วนอุณหภูมิช่วงมีไซโทมีผลบางอย่างต่อการเพิ่มจำนวน โมเลกุลของฟอสฟาติลซีรีนบนผิวเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ โดยเห็นได้ชัดในระยะตัวแก่ของเชื้อและยังกระตุ้นให้เกิดการเจริญเติบโตของเชื้ออีกด้วย ในขณะที่ไซโทไคน์ที่หลังในช่วงมีไซโทมีผลน้อยมากต่อการเพิ่มจำนวน โมเลกุลของฟอสฟาติลซีรีน บนผิวเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ เป็นที่แน่ชัดว่าความสามารถในการตรวจวัดฟอสฟาติลซีรีนบนผิวเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อขึ้นอยู่กับ parasitemia, ชนิดและความรุนแรงของเชื้อ การศึกษานี้ทำให้เข้าใจปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับพยาธิสภาพของโรคมาลาเรียชนิดฟาลซิพารัมมากขึ้น

100 หน้า. ISBN 974-04-6608-7

EXPRESSION OF PHOSPHATIDYLSERINE DURING IN VITRO
DEVELOPMENT OF PLASMODIUM FALCIPARUM MALARIA-INFECTED
RED BLOOD CELLS.

PANUDDA SRATONGNO 4536760 SIIM/M

M.Sc.(IMMUNOLOGY)

THESIS ADVISORS: KOVIT PATTANAPANYASAT, Ph.D.,
KESINEE CHOTIVANICH, Ph.D., PANTHIP WATTANAVIBUL, Ph.D.

ABSTRACT

Plasmodium falciparum induces host RBC membrane modification which leads to phosphatidylserine (PS) externalization during the parasite maturation. PS molecules are exposed on the exofacial surface of the cells when the cells undergo oxidative stress or apoptosis. This study investigates the PS expression during *P. falciparum*-infected RBCs (pRBCs) maturation and studies the effect of febrile temperature and proinflammatory cytokines on PS expression on the exofacial surface of pRBCs. PS exposure on the pRBCs was determined by flow cytometry using hydroethidine, the vital DNA staining and fluorescein-label annexin V which specifically binds to PS. The results showed that PS expression on the surface of pRBCs increased in association with parasite maturation, especially at the late parasite stage. Furthermore, the growth of *P. falciparum* also accelerated senescence of the uninfected RBCs in parasite culture. These effects might be produced through *P. falciparum*-induced oxidative stress. The febrile temperature had some effect on increasing the amount of PS molecules expression on the surface of pRBCs, particularly at the late parasite stage, and it promoted the growth of the parasite. In contrast, proinflammatory cytokines had less effect on PS molecules expression which depended on parasite strain. Clearly, the ability to detect PS molecules exposure depends on the parasitemia, parasite strain and virulence. These finds give us better understanding of the factors that are involved in malaria pathogenesis.

KEY WORDS : PHOSPHATIDYLSERINE / *PLASMODIUM FALCIPARUM* /
MALARIA / FLOW CYTOMETRY

100 P. ISBN 974-04-6608-7