STUDIES OF ERYTHROCYTE MEMBRANE Ca^{2+}-ATPase IN MALARIA INFECTION

KANCHIT PROMSONGK

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
(BIOCHEMISTRY)

IN
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY

1990

ชื่อวิทยานิพนธ์ การศึกษาเอ็นไซม์แคลเซียมเอทีพีเอสในเนื้อเยื่อเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมาเลเรีย
ผู้วิจัย ครรชิต พรหมสงค์
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีวเคมี)
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์
ชีรยศ วิทิตสุวรรณกุล Ph.D.
ประหยัด โกมารทัต Ph.D.
วรชาติ สิรวราภรณ์ Ph.D.
วันที่สำเร็จการศึกษา 9 พฤศจิกายน พ.ศ.2533

บทคัดย่อ

เอ็นไซม์แคลเซียมเอทีพีเอส มีหน้าที่ควบคุมความเข้มข้นของแคลเซียมภายในเซลล์ให้ต่ำ มีรายงานว่าเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมาเลเรียมีระดับและการรับแคลเซียมเข้ามาภายในเซลล์สูง รวมทั้งเกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบบนพลาสมาเมมเบรนในเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ *Plasmodium berghei* ซึ่งสงสัยว่าเอ็นไซม์แคลเซียมเอทีพีเอสบนพลาสมาเมมเบรน อาจเปลี่ยนแปลงหรือเสื่อมการทำงาน จากการศึกษาของโครงการนี้ พบว่าค่าจลน์ศาสตร์ของเอ็นไซม์บนเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ *Plasmodium berghei* และบนผิวของปาราสิตแตกต่างจากบนเม็ดเลือดแดงปกติ ขณะที่การตอบสนองต่อตัวกระตุ้นและตัวยับยั้งของเอ็นไซม์ทั้งสองคล้ายกันแต่ต่างจากเอ็นไซม์บนผิวของปาราสิต สารที่มี iron-porphyrin เป็นองค์ประกอบมีผลยับยั้งแบบเฉพาะเจาะจงต่อเอ็นไซม์แคลเซียมเอทีพีเอส แต่โซเดียม-โปตัสเซียมเอทีพีเอสไม่มีความไวต่อสารเหล่านี้ การยับยั้งไม่เกี่ยวข้องบนบริเวณเร่งของเอ็นไซม์แคลเซียมเอทีพีเอส แต่อาจเกี่ยวข้องที่บริเวณจับของ Calmodulin บนเอ็นไซม์หรือเป็น Antagonist กับ Calmodulin และไม่เกี่ยวข้องกับการจับแคลเซียมไอออน การยับยั้งโดยสารเหล่านี้มีผลทำให้ค่า k_m และ V_{max} ของเอ็นไซม์เปลี่ยนไปและดูเหมือนว่าจะจับแน่นกับเมมเบรน นอกจากนี้ พบว่ามีตัวยับยั้งอย่างเฉพาะเจาะจงกับเอ็นไซม์แคลเซียมเอทีพีเอสในเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อชนิดนี้มีคุณสมบัติคล้ายกับสารประกอบ iron-porphyrin

รวมทั้งให้ค่าการดูดกลืนแสงมากที่ 400 นาโนเมตรซึ่งเป็นคุณสมบัติของสารเหล่านี้ แสดงว่ามีองค์ประกอบหนึ่งในเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ *Plasmodium berghei* มีผลยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แคลเซียมเอทีพีเอส

จากการทดลองนี้ทำให้เข้าใจกลไกของเชื้อปาราสิตชนิดนี้ที่มีผลต่อการทำงานของเอ็นไซม์แคลเซียม เอทีพีเอส บนพลาสมาเมมเบรนของเซลล์เจ้าของบ้านและต่อการเปลี่ยนแปลงการขนส่งแคลเซียมในเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมาเลเรีย

Thesis title: Studies of erythrocyte membrane Ca^{2+}-ATPase in malaria infection.

Name: Kanchit Promsongk

Degree: Master of Science (Biochemistry)

Thesis Supervisory Committee

Dhirayos Wititsuwannakul, Ph.D.

Prayad Komaratat, Ph.D.

Worachart Sirawaraporn, Ph.D.

Date of Graduation: 9 November B.E. 2533 (1990)

ABSTRACT

Ca^{2+}-ATPase is responsible for moving calcium out through the membrane to keep intracellular calcium at low concentration. During malaria infection, there was an increase of calcium ion level as well as an enhanced uptake of the ion in the infected red cell. Some changes on the membrane component were also reported, and it was suspected that the enzyme on mouse erythrocyte membrane might be altered or defective upon infection with *P. berghei*. This investigation showed that kinetic parameters of Ca^{2+}-ATPase of infected membrane and parasite pellet were different from the normal membrane. There was a slight difference between the normal and infected membrane enzyme in term of pH optimum. Ca^{2+}-ATPase of normal and infected membrane were almost identical in response to activator and inhibitors and

quite different from the parasite pellet. Iron-porphyrin containing compounds were found to exert specific inhibitory effect on Ca^{2+}-ATPase. The enzyme was very sensitive to inhibition by these compounds while $(Na^{+}+K^{+})$ATPase was found insensitive. The interaction of iron-porphyrin compounds with membrane suggested that they seemed not to involve the active site of the enzyme. The inhibition activity might be at the calmodulin binding site on the enzyme, or the compounds were acting as calmodulin antagonists. The inhibitory effect of these compounds on the enzyme was unrelated to Ca^{2+} chelating effect. They caused change on both K_m and V_{max} values of the enzyme. The inhibitors seemed to have a strong binding affinity to the membrane. Moreover, the presence of specific Ca^{2+}-ATPase inhibitor in the infected lysate was also found. Its characteristic was quite similar to those compounds. This included the maximum absorption peak at 400 nm which is the characteristic of iron-porphyrin compounds. It was shown to be the factor in the infected lysate responsible for Ca^{2+}-ATPase inhibition.

This would give a clearer understanding of the interaction between the parasite and the host red cell membrane as well as the changes in Ca^{2+} transport upon malaria infection.