



**RED CELL DENSITY GRADIENT FOR DETERMINATION
OF MALARIA INFECTION IN RED CELLS FROM
BETA-THALASSEMIA HETEROZYGOTES**

SARISTHA SODSRI

**With compliments
of**
ศาสตราจารย์ น. นพดลก

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

1999

ISBN 974-662-059-2

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY



TH
53450
1999

042804 e.2



3936119 RACP/M : MAJOR : CLINICAL PATHOLOGY ; M.Sc.(CLINICAL PATHOLOGY)

KEY WORDS : THALASSEMIA / MALARIA / *PLASMODIUM FALCIPARUM*
SARISTHA SODSRI : RED CELL DENSITY GRADIENT FOR DETERMINATION OF MALARIA INFECTION IN RED CELLS FROM BETA-THALASSEMIA HETEROZYGOTES. THESIS ADVISORS : AHNOND BUNYARATVEJ, Ph.D., KOVIT PATTANAPANYASAT, Ph.D., PUNNEE BUTTHERP, Ph.D. 104 p. ISBN 974-662-059-2

Various factors have been suggested to contribute to the protective mechanism against malaria infection in thalassemias. The purpose of this research is to determine factors that may influence invasion and growth of *Plasmodium falciparum* in β -thalassemia trait red blood cells (RBCs). A new experimental design using Percoll density gradient method and co-culture system was employed. Blood samples were obtained from 22 subjects, some of who had β -thalassemic trait alone, β -thalassemic trait with other red cell defects and normal blood. Percoll density gradient method was used to separate the RBCs in each of the samples into fractions of different densities. Three distinct fractions were selected for culture and RBC measurement. The result showed that the density increased with decreasing mean cell volume (MCV). Cellular hemoglobin concentration mean (CHCM) and hemoglobin A_{1C} (HbA_{1C}) increased as the density increased. Co-culture system using biotin/streptavidin and flow cytometry technique was applied to compare maturation and growth rates in *Plasmodium falciparum* malaria parasites in two distinct RBC populations. Invasion and growth of *Plasmodium falciparum* were dependent on red cell age more than red cell size. Comparison of the same density fractions from different subjects of the same genotype was used to assess the effect of RBC size. The results showed that the subjects having larger RBC size can support parasite growth better than those having smaller RBCs. The effect of genotype was observed by comparing the same density fractions from subjects of different genotype. Results showed that percent parasitemias was more dependent on genotype than on RBC size. These findings suggest that invasion and growth of *Plasmodium falciparum* are dependent on age, size and genotype of RBCs.

3936119 RACP/M : สาขาวิชา : พยาธิวิทยาคลินิก ; วท.ม. (พยาธิวิทยาคลินิก)

สารบัญช่า สดศรี : การศึกษาปริมาณการติดเชื้อมาลาเรียจากเม็ดเลือดแดงในกลุ่มบีต้าธาลัสซีเมียเฮเทอโรไซโกต โร โทท โดยวิธีแยกเม็ดเลือดแดงตามระดับความหนาแน่น (RED CELL DENSITY GRADIENT FOR DETERMINATION OF MALARIA INFECTION IN RED CELLS FROM BETA-THALASSEMIA HETEROZYGOTES). คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : อานนท์ บุญระวัดเวช, Ph.D., โกวิท พัฒนปัญญาสัตย์, Ph.D., พรรณี บุตรเทพ, Ph.D. 104 หน้า. ISBN 974-662-059-2

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่ามีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับกลไกการป้องกันการติดเชื้อมาลาเรียในธาลัสซีเมีย ในการศึกษาที่ต้องการศึกษาว่ามีปัจจัยใดบ้างที่มีผลต่อการเจาะและการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรียชนิดพลาสโมเดียมฟัลซิพารัมจากเม็ดเลือดแดงในกลุ่มบีต้าธาลัสซีเมียแฝง โดยใช้วิธีการแยกตามระดับความหนาแน่นและการเพาะเลี้ยงเชื้อร่วมกัน การศึกษาครั้งนี้ได้เก็บตัวอย่างเลือดจำนวน 22 ราย ซึ่งประกอบด้วยกลุ่มบีต้าธาลัสซีเมียแฝง, กลุ่มบีต้าธาลัสซีเมียแฝงร่วมกับเม็ดเลือดแดงที่มีความผิดปกติด้านอื่นและกลุ่มปกติ แล้วนำตัวอย่างเลือดแต่ละรายมาแยกเม็ดเลือดแดงตามระดับความหนาแน่น หลังจากแยกเม็ดเลือดแดงออกจากกันแล้ว จึงเลือกเม็ดเลือดแดงสามกลุ่มที่มีระดับความหนาแน่นต่างกันมาเพาะเลี้ยงเชื้อและตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดง จากการศึกษพบว่าเมื่อระดับความหนาแน่นเพิ่มขึ้นค่าเฉลี่ยปริมาตรเม็ดเลือดแดง (mean cell volume) จะลดลง ในขณะที่ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นฮีโมโกลบิน (cellular hemoglobin concentration mean) และค่าฮีโมโกลบินเอวันซีเพิ่มขึ้น (HbA_{1c}) ในการเปรียบเทียบการพัฒนาและการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรียชนิดพลาสโมเดียมฟัลซิพารัมในเม็ดเลือดแดงสองกลุ่มที่ต่างกัน ใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อร่วมกัน โดยอาศัยเทคนิค biotin/streptavidin และโฟลไซโตเมทรี พบว่าการเจาะและการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรียชนิดพลาสโมเดียมฟัลซิพารัมขึ้นอยู่กับอายุมากกว่าขนาดของเม็ดเลือดแดง จากการเปรียบเทียบในgenotypeเดียวกันที่ระดับความหนาแน่นเท่ากัน พบว่าการเจาะและการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรียชนิดพลาสโมเดียมฟัลซิพารัมขึ้นอยู่กับขนาดของเม็ดเลือดแดง โดยผู้ที่มีเม็ดเลือดแดงขนาดใหญ่สามารถตอบสนองต่อการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรียได้ดีกว่าผู้ที่มีเม็ดเลือดแดงขนาดเล็ก เมื่อทำการเปรียบเทียบในgenotypeที่ต่างกันที่ระดับความหนาแน่นเท่ากัน พบว่าการเจาะและการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรียชนิดพลาสโมเดียมฟัลซิพารัมไม่ได้ขึ้นกับขนาดของเม็ดเลือดแดงแต่ขึ้นอยู่กับชนิดของgenotype ผลจากการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าความสามารถในการเจาะและการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรียชนิดพลาสโมเดียมฟัลซิพารัมขึ้นอยู่กับอายุ, ขนาดและgenotypeของเม็ดเลือดแดง