บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

แนวทางหนึ่งที่น่าสนใจในการควบคุมโรคมาลาเรียคือการพัฒนาวัคซีนป้องกันโรค ซึ่งต้องอาศัยความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับภูมิคุ้มกันวิทยาในคนและคุณสมบัติทางชีววิทยาของเชื้อมาลาเรียที่มีความหลากหลาย ดังนั้นการศึกษาความหลากหลายของจีนที่มีความสำคัญต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่สร้างโดยเชื้อมาลาเรีย น่าจะเป็นส่วนช่วยให้เกิดความรู้ความเข้าใจต่อการพัฒนาวัคซีนป้องกันโรคได้

การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษารูปแบบของอัลลีล Pf155/RESA ของ *P.falciparum* จำนวน 124 ไอโซเลต ซึ่งได้จากผู้ป่วยที่มารับการรักษาที่มาลาเรียคลินิค ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2523-2536 ในอำเภอแม่สอด จังหวัดตาก (14 ไอโซเลต) อำเภอบ่อไร่ จังหวัดตราด (25 ไอโซเลต) จังหวัดจันทบุรี (24 ไอโซเลต) อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี (23 ไอโซเลต) จังหวัดสงขลา (15 ไอโซเลต) และจากผู้ป่วยโรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อน กรุงเทพฯ (23 ไอโซเลต) โดยเทคนิคเดียวกับที่ Seesod และคณะ (1996) ศึกษาโดยใช้ตัวอย่างเชื้อมาลาเรียในประเทศไทย จำนวน 168 ไอโซเลต (กาญจนบุรี 71 ไอโซเลต ตาก 4 ไอโซเลต ชลบุรี 16 ไอโซเลต ตราด 71 ไอโซเลต และโรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อน 3 ไอโซเลต) ผลที่ได้แตกต่างกันโดย Seesod และคณะ พบจำนวนรูปแบบของอัลลีล Pf155/RESA แตกต่างกัน 10 รูปแบบ มากกว่าการศึกษาในครั้งนี้ถึง 6 รูปแบบ คือ การศึกษาในครั้งนี้พบเพียง 4 รูปแบบ ได้แก่ F32, FC27, 3rd และ 4th (ตารางที่ 5-1) ซึ่งความแตกต่างครั้งนี้อาจเกิดเนื่องจาก 1) ตัวอย่างเชื้อมาลาเรียที่ใช้ในการศึกษาของ Seesod เป็นตัวอย่างที่ได้จากผู้ป่วยโดยตรง ส่วนการศึกษาครั้งนี้ใช้ตัวอย่างที่ทำการเพาะเลี้ยงในห้องทดลองเป็นเวลานานอย่างต่อเนื่อง อาจมีผลทำให้ประชากรส่วนน้อยที่อาจจะมีรูปแบบของอัลลีลต่างๆถูกคัดเลือกไป ซึ่งเชื้อมาลาเรียที่มีรูปแบบอัลลีล Pf155/RESA บางรูปแบบอาจไม่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงในห้องทดลองได้ ดังเช่นการศึกษาจีน MSP1 (block2 และ 4) , MSP2 และ GLURP โดยวิธี PCR ยืนยันว่ามีความแตกต่างของกลุ่มประชากรเชื้อมาลาเรียในไอโซเลตเดียวกันระหว่างก่อนการเลี้ยงในหลอดทดลองและหลังการเลี้ยงในหลอดทดลอง (Viriyakosol, *et al.*, 1994) เชื้อมาลาเรียรูปแบบ F32 หรือ FC27 จึงกลายเป็นประชากรส่วนใหญ่ทำให้ไม่สามารถตรวจพบรูปแบบอื่นๆได้ นอกจากนี้ข้อแตกต่างอีกประการหนึ่งคือ การทดลองของ Seesod ได้ทำการศึกษาจากประชากรของ

เชื้อมาลาเรียที่ได้จากผู้ป่วยโดยตรง จึงพบความหลากหลายของรูปแบบอัลลีลได้มากกว่า แม้ว่าความถี่ของการพบรูปแบบอัลลีลอื่นๆ ที่พบนอกเหนือไปจากการศึกษาครั้งนี้จะต่ำมาก หรืออีกประการหนึ่งก็อาจเป็นเพราะตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ยังไม่มากพอ ทำให้ไม่สามารถตรวจพบรูปแบบอื่นๆที่มีอยู่น้อยมากในธรรมชาติได้ ซึ่งจะเห็นได้จากข้อมูลที่ทำการศึกษาจากเชื้อมาลาเรียในจังหวัดตราดของการทดลองนี้จำนวน 25 ไอโซเลต เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองของ Seesod ใช้ตัวอย่างเชื้อมาลาเรียจากพื้นที่เดียวกันจำนวน 71 ไอโซเลต พบรูปแบบอัลลีล รูปแบบ VI จำนวน 1 ไอโซเลต แต่ในการทดลองครั้งนี้ไม่พบรูปแบบดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการศึกษาความหลากหลายของจีนนั้นหากใช้ตัวอย่างในการศึกษาจำนวนมากก็มีโอกาสพบจำนวนรูปแบบมากขึ้นได้ 2) เชื้อมาลาเรียที่ใช้ในการทดลองของ Seesod จาก จ.กาญจนบุรี เป็นเชื้อมาลาเรียได้จากผู้ป่วยชนชาติพม่าที่เข้ามารับการรักษาที่มาลาเรียคลินิค (Seesod, personal communication) พบรูปแบบอัลลีล V, VII, VIII, IX ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ไม่ได้ศึกษาตัวอย่างจากพื้นที่ดังกล่าว จึงอาจเป็นไปได้ว่าการกระจายของรูปแบบอัลลีลดังกล่าวอาจจะจำเพาะอยู่ในพื้นที่นั้น หรือ รูปแบบอัลลีลนั้นพบเฉพาะในผู้ป่วยเชื้อสายพม่าเท่านั้น 3) เมื่อนำผลการทดลองในครั้งนี้ไปเปรียบเทียบกับผลการทดลองของ A°slund และคณะ (1990) ซึ่งทำการศึกษารูปแบบอัลลีล Pf155/RESA ในเชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิพารัม พบรูปแบบ F32 เป็นไอโซเลตจากทวีปแอฟริกา (3ไอโซเลต) เอเชีย (2 ไอโซเลต/4 สายพันธุ์) และพบรูปแบบ FC27 เป็นจำนวน 2 ไอโซเลต จากตัวอย่างเชื้อมาลาเรียในประเทศปาปัวนิวกีนี และบราซิล (A°slund, *et al.*, 1990) (ตารางที่ 5-1) จะเห็นว่าผลการทดลองครั้งนี้กับรายงานของ A°slund และคณะ (1990) มีความสอดคล้องกัน ในข้อที่ว่าเมื่อมีตัวอย่างในการศึกษาน้อยโอกาสที่จะพบรูปแบบต่างๆก็ลดลงไปด้วย และนอกจากนี้ตัวอย่างเชื้อที่ A°slund ใช้ก็เป็นตัวอย่างที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงในห้องทดลองมาเป็นเวลานานเช่นกัน ดังนั้นจึงเห็นได้ชัดว่าการศึกษาความหลากหลายนี้หากได้ทำการศึกษาโดยตรงจากประชากรที่ได้ผู้ป่วยนั้นจะช่วยให้พบความหลากหลายมากขึ้น

แต่อย่างไรก็ตามถ้าจะพิจารณาถึงความถี่ของรูปแบบอัลลีล Pf155/RESA ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า รูปแบบ F32 มีความถี่มากที่สุด คือ 63% ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Seesod และคณะ(1996) (ตารางที่ 5-2) ที่พบความถี่ของรูปแบบ F32 มากที่สุด คิดเป็น 66.84% แสดงให้เห็นว่ารูปแบบ F32 เป็นรูปแบบของประชากรส่วนใหญ่ในกลุ่มเชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิพารัมที่พบในประเทศไทย และเมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองของ A°slund และคณะ พบว่ารูปแบบ F32 เป็นรูปแบบเด่นในประชากรเชื้อมาลาเรียที่ศึกษาเช่นกัน คือพบ 81.8% ซึ่งก็คล้ายคลึงกับการศึกษาของ Kun และคณะ (1994) ที่พบรูปแบบ F32 83.3% (10 ไอโซเลต) จากเชื้อมาลาเรียในประเทศ

อินโดนีเซีย 12 ไอโซเลต สำหรับรูปแบบ 3rd และ 4th ที่พบในการทดลองนี้มีความถี่ที่พบคิดเป็น 19 % และ 14% ตามลำดับ ซึ่งการศึกษาของ A°slund และ Kun ไม่พบทั้ง 2 รูปแบบอัลลีลดังกล่าว ข้อแตกต่างอีกประการหนึ่งในการศึกษาครั้งนี้กับการศึกษาของ Seesod และคณะ (1996) ก็คือ ความถี่ที่พบรูปแบบ 4th ในการทดลองนี้ พบถึง 14 % (20 ไอโซเลต) ซึ่งมากกว่าการทดลองของ Seesod และคณะ ที่พบเพียง 4.21 % (6 ไอโซเลต/ ใน 168 ไอโซเลต) เมื่อตรวจสอบดูระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างเชื้อมาลาเรียพบว่าเชื้อมาลาเรียที่พบว่าเป็นรูปแบบ 4th นั้น เป็นตัวอย่างที่เก็บในปี 2524-2529 จำนวน 15 ไอโซเลต และอีก 5 ไอโซเลตเป็นตัวอย่างที่เก็บในปี 2534-2536 ส่วนตัวอย่างเชื้อมาลาเรียที่ Seesod พบว่าเป็นรูปแบบ 4th นั้น เป็นตัวอย่างในช่วงปี พ.ศ. 2537 เท่านั้น ซึ่งอาจกล่าวได้ว่ารูปแบบ 4th ในธรรมชาติมีแนวโน้มลดลง ส่วนความถี่ของรูปแบบ FC27 ในการทดลองนี้พบเพียง 4% ซึ่งพบความถี่ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Seesod และคณะ(1996) อย่างไรก็ตามในการศึกษาของ A°slund และคณะ (1990) พบรูปแบบ FC27 เช่นกัน คือ พบ 18.18% (2 ไอโซเลต) จากการศึกษาตัวอย่างเชื้อมาลาเรีย 7 ไอโซเลต/ 4 สายพันธุ์ และ ในการศึกษาของ Kun และคณะได้พบรูปแบบ FC27 คิดเป็น 16.66% (2ไอโซเลต) จากเชื้อมาลาเรียในประเทศอินโดนีเซีย 12 ไอโซเลต ซึ่งเป็นข้อสังเกตว่าความถี่ของรูปแบบอัลลีล Pf155/RESA แต่ละรูปแบบอาจมีการกระจายแตกต่างไปในบริเวณประเทศต่างๆที่มีการระบาดของโรคมาลาเรีย ทั้งนี้จำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ชัดเจนยิ่งขึ้น

เชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิพารัมที่ได้จากผู้ป่วยในพื้นที่ที่มีมาลาเรียระบาดในประเทศไทยนั้น ส่วนใหญ่จะเป็นประชากรมาลาเรียชนิดผสม (mix population) จากการศึกษาของ Thaithong และคณะ (1984) พบว่า เชื้อมาลาเรียจากคนไข้คนหนึ่งประกอบด้วยสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติแตกต่างกันถึง 7 แบบ แต่จากการศึกษานี้พบว่าเชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิพารัมส่วนใหญ่จะมีรูปแบบอัลลีลของ Pf155/RESA เพียงชนิดเดียว ประชากรผสมที่พบในการศึกษาอัลลีลจีนนี้มีประมาณ 13% โดยพบว่ามีประชากรผสมระหว่างรูปแบบ F32/3rd 7 ไอโซเลต (5.64%) รูปแบบ F32/4th 5 ไอโซเลต (4.03%) รูปแบบ F32/FC27 2 ไอโซเลต (1.61%) รูปแบบ FC27/4th 1 ไอโซเลต (0.8%) และรูปแบบ 3rd/4th 1 ไอโซเลต (0.8%) ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของ Seesod และคณะ (1996) ที่พบว่า การติดเชื้อแบบผสมในตัวอย่างปี พ.ศ. 2521-2537 นั้น มีประมาณ 12.5% (21 isolates /in total 168 isolates) ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ กาญจนา (2538) ซึ่งได้ทำการศึกษาอัลลีลจีน MSP1 และ MSP2 ด้วยเทคนิคไฮบริไดเซชั่น จากตัวอย่างเชื้อมาลาเรียปี พ.ศ. 2521-2536 พบว่ามีประชากรผสมถึง 72% และ 23% ตามลำดับ เมื่อทำการเปรียบเทียบตัวอย่างเชื้อมาลาเรียจำนวน 47 ไอโซเลต ที่ได้ทำการศึกษาโดยกาญจนา (2538) และการทดลองนี้ พบว่า 30 ไอโซเลตที่ทำการทดลองนี้มีรูป

แบบอัลลีลจีน Pf155/RESA รูปแบบเดียว แต่มีรูปแบบอัลลีลจีน MSP1 เป็นรูปแบบผสม และพบว่า 8 ไอโซเลตมีรูปแบบอัลลีล จีน MSP2 เป็นรูปแบบผสม ในขณะที่รูปแบบอัลลีลจีน Pf155/RESA ของไอโซเลตเหล่านั้นเป็นรูปแบบเดียว (ตารางที่ 5-4, 5-5 และ 5-6) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า จีน MSP1 และ MSP2 มีความหลากหลายในประชากรของเชื้อมาลาเรียในประเทศไทยมากกว่า จีน Pf155/RESA ดังนั้นในการที่จะเลือกจีน Pf155/RESA เป็นส่วนประกอบในการผลิตวัคซีน น่าจะมีความเหมาะสมกว่า MSP1 และ MSP2 จากผลการทดลองข้างต้นนั้นจะเห็นว่าควรที่จะมีการศึกษาติดตามต่อไปเกี่ยวกับความหลากหลายของจีน Pf155/RESA ควบคู่ไปกับจีนอื่นๆที่อาจใช้เป็นองค์ประกอบของวัคซีนป้องกันโรคมาลาเรีย เพื่อเปรียบเทียบความหลากหลายให้เห็นชัดเจนยิ่งขึ้น

เมื่อเปรียบเทียบความถี่ที่พบรูปแบบอัลลีลจีน Pf155/RESA ในระยะเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่าง (2523-2536) กับรายงานของ Seesod และคณะ (1996) ซึ่งได้ศึกษาในระยะเวลาที่คาบเกี่ยวกัน (2521-2537) พบว่าความถี่ที่พบรูปแบบอัลลีลต่างๆ ค่อนข้างคงที่ ดังแสดงในตารางที่ 5-3 หรืออาจกล่าวอีกนัยหนึ่ง รูปแบบอัลลีลที่พบไม่ขึ้นกับระยะเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่าง

อนึ่งในผลการทดลองครั้งนี้ ยังได้แสดงให้เห็นว่ารูปแบบอัลลีล Pf155/RESA ของเชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิพารัม เป็นลักษณะทางพันธุกรรม (genetic marker) อย่างหนึ่งซึ่งสามารถนำมาใช้ในการศึกษาคุณสมบัติของเชื้อมาลาเรียได้ ดังตารางที่ 5-4 ถึง 5-6 ซึ่งเปรียบเทียบกับรูปแบบอัลลีลจีน MSP1 และ MSP2

เมื่อเชื้อมาลาเรียเข้าสู่ร่างกาย ซึ่งร่างกายก็จะมีระบบการตอบสนองทั้งในระดับเซลล์และระดับน้ำเหลือง (humoral and cellular immune response) ดังนั้นในการผลิตวัคซีนจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้อง กระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้ง 2 ระบบได้ ขณะที่เชื้อมาลาเรียมีการเพิ่มจำนวนโดยไม่อาศัยเพศอยู่ในคนนั้น เชื้อมาลาเรียจะได้รับแรงกดดันจากการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของเจ้าบ้าน ดังนั้นบริเวณที่เป็น antigenic site ที่เกี่ยวข้องอาจถูกผลักดันให้เกิดการแทนที่ของนิวคลีโอไทด์ที่มีความหลากหลายและทำให้กรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบเปลี่ยนแปลงไปด้วย ในการศึกษาลำดับกรดอะมิโนที่สามารถกระตุ้นการผลิตแอนติบอดี ต่อ Pf155/RESA ในชาวลิเบีย 15 คน ที่ติดเชื้อในธรรมชาตินั้น พบว่า รูปแบบ F32 ในตำแหน่งที่ 861-878 DVVGYIMHGISTINKEMK มีระดับความเข้มข้นของแอนติบอดี เท่ากับ 9.9 µl/ml plasma และในรูปแบบ FC27 ตำแหน่งที่ 862-878 มีลำดับกรดอะมิโน IVGYIMHGISTINIEMK มีระดับความเข้มข้นของแอนติบอดี เท่ากับ 32.7 µl/ml plasma แสดงให้เห็นว่าเปปไทด์สังเคราะห์ที่มีกรดอะมิโนเปลี่ยนไปเพียง 1 ตำแหน่ง ก็มีผลให้การกระตุ้นแอนติบอดีเปลี่ยนแปลงไป (Perlmann *et al.*, 1989) ดังนั้นมีความเป็นไปได้ว่า

รูปแบบ F32 เป็นรูปแบบที่เหมาะสมในการอยู่รอดของเชื้อมาลาเรียโดยไม่ถูกโจมตีจากระบบภูมิคุ้มกัน หรือเป็นรูปแบบที่ไม่กระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันภายในร่างกาย และเป็นที่น่าสังเกตว่าบริเวณของอัลลีลที่ทำการศึกษาครั้งนี้มีลำดับกรดอะมิโนส่วนที่คาบเกี่ยวกับการทดลองข้างต้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอัลลีลบริเวณที่ทำการศึกษาในครั้งนี้อาจมีความสำคัญในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Kabilan *et al.*, 1988)

ตัวอย่างของสาเหตุที่ทำให้การเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนมีผลต่อการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน เช่นในการศึกษาการตอบสนองของ cytoxic T cell (CTL) ของรูปแบบอัลลีลจีน CSP บริเวณ C-terminal พบว่าแต่ละรูปแบบนั้นมีการตอบสนองของ CTL ไม่เท่ากัน แม้ว่าจะมีกรดอะมิโนที่ต่างกันเพียงตำแหน่งเดียว กล่าวคือเปลี่ยนแปลงจากกรดกลูตามิคไปเป็นกลูตามีน (E → Q) ทำให้ไม่มีการตอบสนองต่อ CTL (Udhayakumar *et al.*, 1994) ในการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนบริเวณดังกล่าวจะมีผลต่อความสามารถที่จะเข้าจับกับ MHC class I (Major histocompatibility class I molecules) และบางส่วนอาจจะประกอบด้วยบริเวณที่จะจับพอดีกับ T cell receptor (epitopic binding) การเกิดความหลากหลายบริเวณดังกล่าวจะมีผลให้การตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันช้าลง ส่วนข้อมูลเกี่ยวกับภูมิคุ้มกันในระดับเซลล์ของจีน Pf155/RESA การศึกษาพบว่า พบว่าบริเวณ upstream ของ C-terminal (ครอบคลุมจีนส่วนที่ทำการศึกษา) มีลักษณะที่เป็น amphiphatic properties ซึ่งมีผู้พยากรณ์โดยใช้ข้อมูลของการเรียงตัวของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบที่มี polarity ตามตำแหน่งต่างๆในบริเวณดังกล่าวค่อนข้างคงที่ ซึ่งลักษณะดังกล่าวมีแนวโน้มที่จะเป็นส่วนที่สามารถเป็น T cell epitope และกระตุ้นภูมิคุ้มกันในระดับเซลล์ได้ (Kabilan *et al.*, 1988) แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อมูลที่ทำการศึกษาของการตอบสนองทางระดับเซลล์ (cellular immune response)ในบริเวณดังกล่าว

เมื่อพิจารณาถึงการเปลี่ยนแปลงระหว่างนิวคลีโอไทด์ในรูปแบบต่างๆของจีน Pf155/RESA โดยใช้รูปแบบ F32 เป็นมาตรฐาน พบว่าการเปลี่ยนแปลงของรูปแบบ FC27 มีการเปลี่ยนแปลงแทนที่ของเบสถึง 6 ตำแหน่ง และเป็นการเปลี่ยนแปลงแทนที่เบสชนิด transversion ยกเว้นในตำแน่งที่ 2788 มีการเปลี่ยนแปลงแทนที่แบบ transition เพียงตำแหน่งเดียว และสำหรับรูปแบบ 3rd มีการเปลี่ยนแปลงแทนที่เบส 1 ตำแหน่งลำดับที่ 2828 เป็นการเปลี่ยนแบบ transversion ส่วนรูปแบบ 4th เป็นการเปลี่ยนแปลงแบบ transition ที่ตำแหน่งเดียวกับรูปแบบ 3rd

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของเบสในนิวคลีโอไทด์ทุกตำแหน่งทำให้กรดอะมิโนเปลี่ยนแปลงไปด้วย (nonsynonymous) ดังนั้นผลการทดลองนี้จึงสอดคล้องกับทฤษฎีของ

Wobble กล่าวคือ โคดอนที่ 1หรือ 2 เปลี่ยนแปลงทำให้กรดอะมิโนเปลี่ยนแปลง อาทิเช่นในรูปแบบ F32 เปรียบเทียบกับรูปแบบ FC27 ตำแหน่งที่ 2764 (GCA → *T*CA) 2774 (TAT → T*T*T) 2782 (CAA → *A*AA) 2788 (GTT → *A*TT) 2828 (AAA → A*C*A) เป็นต้น เนื่องจากโครงสร้างของโปรตีนเกิดจากการพับของสายเปปไทด์ทำให้เกิดเป็นโครงสร้างชั้นสูงขึ้น โดยมีแนวโน้มให้กรดอะมิโนที่มีลักษณะเป็นโพลาร์ (polar) อยู่ด้านนอก ไม่โพลาร์ (nonpolar) อยู่ด้านใน กรดอะมิโนที่เป็นกลาง (ambivalent) กระจายตัวอยู่ทั่วไป หากพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของ Hydropathy index อันเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโน ดังตารางที่ 5-7 จะเห็นว่าการเปลี่ยนแปลง กรดอะมิโนของจีน Pf155/RESA ในรูปแบบ FC27 ตำแหน่งที่ 966 และ 969 ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงค่า Hydropathy index จาก 1.8 เป็น -0.8 ในตำแหน่งที่ 966 และจาก -1.3 ไปเป็น 2.8 ในตำแหน่งที่ 969 ซึ่งก็หมายความว่ามีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติจาก hydrophobicity ไปเป็น hydrophilicity ในตำแหน่งที่ 966 และในทางกลับกันที่ในตำแหน่งที่ 969 แสดงให้เห็นว่าหากการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนมีผลกระทบต่อโครงสร้างของโปรตีน Pf155/RESA ก็จะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงในขอบเขตที่จำกัดเท่านั้น และบริเวณของโปรตีนที่มีการเปลี่ยนแปลงไป ไม่น่าที่จะเป็นบริเวณที่สำคัญต่อการทำงานของโปรตีน Pf155/RESA

จึงสรุปได้ว่าผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าจีน Pf155/RESA มีความหลากหลายของรูปแบบอัลลีลอยู่ในระดับหนึ่ง และมีความหลากหลายน้อยกว่าเมื่อเทียบกับ MSP 1 และ MSP 2 Pf155/RESA จึงเป็นโปรตีนที่น่าสนใจในการนำมาใช้เป็นวัคซีนป้องกันโรคมาลาเรีย แต่การที่จะนำไปใช้ให้ได้ผลดี ต้องมีการตรวจสอบขอบเขตของความหลากหลายในแต่ละท้องถิ่น เพื่อให้สามารถออกแบบวัคซีนได้ครอบคลุมทุกรูปแบบทั้งหมด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5-1 แสดงผลการศึกษารูปแบบอัลลีล Pf155/RESA ของเชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิพารัม

Reference	No. of clones/isolates	Place of collection	No. of variant
Favaloro *et al.*, 1986	5 isolates	Papua New Gunae	2 (NF7, FC27)
A°slund *et al.*, 1990	4 clones/ 7 isolates	Honduras, Uganda, Thai, Papua New Gunae , Tanzania	2 (F32, FC27)
Kun *et al.*, 1994	12 isolates	Indonesia	2 (F32, FC27)
Seesod *et al.*, 1996	168 isolates	Thailand	10 (F32 (I), I', FC27 (II), III, IV, V, VI, VII, VIII, IX)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5-2 แสดงความถี่ของรูปแบบอัลลีล Pf155/RESA ที่พบในประเทศไทย

(-) หมายถึง ไม่พบรูปแบบอัลลีลนั้น

a : ตัวอย่างเชื้อมาลาเรียของการทดลอง Seesod และคณะ ซึ่งเก็บในระหว่างปี พ.ศ.2521-2537

b : ตัวอย่างเชื้อมาลาเรียของการทดลองนี้ซึ่งเก็บในระหว่างปี พ.ศ. 2523-2536

Variant	previously reported[a] (Seesod, *et al.*, 1996) frequency (%)	present report[b] frequency (%)
I (F32)	66.84	63
II (FC27)	6.31	4
III (3rd)	18.94	19
IV (4th)	4.21	14
V	1.05	-
VI	0.52	-
VII	0.52	-
VIII	0.52	-
IX	0.52	-
I^{1}	0.52	-

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5-3 แสดงความถี่ของรูปแบบอัลลีล Pf155/RESA ของเชื้อมาลาเรียชนิด ฟัลซิพารัมที่เก็บตั้งแต่ปี 2521-2537

ช่วงปีพ.ศ.ที่เก็บเชื้อมาลาเรีย	จำนวนไอโซเลต	ความถี่ของรูปแบบอัลลีล Pf155/RESA
2521-2529	122	F32 = 60.61% FC27 = 3.03% 3rd = 25.0% 4th = 11.36%
2530-2537	173	F32 (I) = 68.9% FC27 (II) = 5% 3rd (III) = 17% 4th (IV) = 6% 5th (V) = 0.5% 6th (VI) = 0.5% 7th (VII) = 0.5% 8th (VIII) = 1% 9th (IX) = 0.5% I' = 0.5%
รวม 295 ไอโซเลต		

หมายเหตุ ผลการศึกษาส่วนหนึ่งเป็นของ Seesod และ คณะ (1996)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5-4 แสดงรูปแบบอัลลีลจีน Pf155/RESA, MSP1 และMSP2 ในตัวอย่างเชื้อมาลาเรียจากจังหวัด ตาก

nd = ไม่ได้ทำการศึกษา ; (-) = ไม่ให้ผลไฮบริไดซ์

ปีที่เก็บ	ตัวอย่างจากจังหวัดตาก	Pf155/RESA allelic type	MSP1 allelic type	MSP2 allelic type
2525	T25	F32	nd	nd
2525	T34	F32	nd	nd
2525	T36	4^{th}	nd	nd
2525	T43	F32	nd	nd
2536	T101	F32	MAD20	IC1
2536	T114	F32	MAD20, RO33	IC1, FC27
2536	T115	F32	K1	FC27
2536	T116	F32	K1, MAD20	-
2536	T120	F32,4^{th}	K1, MAD20	IC1
2536	T130	F32	K1	IC1
2536	T131	F32	K1	IC1
2536	T132	F32	MAD20	-
2536	T134	F32	MAD20	FC27
2536	T136	F32	RO33	FC27
รวม 14 ตัวอย่าง				

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5-5 แสดงรูปแบบอัลลีลจีน Pf155/RESA, MSP1 และMSP2 ในตัวอย่างเชื้อมาลาเรียจากจังหวัดตราด

nd = ไม่ได้ทำการศึกษา ; (-) = ไม่ให้ผลไฮบริไดซ์

ปีที่เก็บ	ตัวอย่างจาก จังหวัดตราด	Pf155/RESA allelic type	MSP1 allelic type	MSP2 allelic type
2534	TD16	F32	MAD20	FC27
2534	TD21	F32, 3rd	K1, MAD20	IC1, FC27
2534	TD33	3rd	K1, MAD20	IC1, FC27
2534	TD37	F32	K1, MAD20	IC1, FC27
2534	TD50	F32, 4th	K1, MAD20	IC1, FC27
2536	TD378	F32	K1, MAD20, RO33	IC1
2536	TD379	F32	K1, MAD20, RO33	IC1, FC27
2536	TD380	F32	K1, MAD20, RO33	IC1
2536	TD381	F32	K1, MAD20, RO33	FC27
2536	TD384	4th	K1, MAD20	-
2536	TD385	F32	K1, MAD20, RO33	IC1
2536	TD386	F32	K1, MAD20	FC27
2536	TD388	3rd	K1, MAD20, RO33	IC1
2536	TD395	F32	MAD20, RO33	IC1
2536	TD398	F32	nd	nd
2536	TD413	3rd	MAD20, RO33	IC1
2536	TD427	F32	K1, MAD20, RO33	IC1
2536	TD431	F32, 3rd	MAD20	IC1, FC27
2536	TD433	F32, FC27	K1, MAD20, RO33	FC27
2536	TD434	F32	MAD20, RO33	IC1, FC27
2536	TD436	4th	MAD20, RO33	-
2536	TD439	F32	MAD20, RO33	IC1
2536	TD446	F32	MAD20, RO33	-
2536	TD459	FC27, 4th	RO33	-
2536	TD460	F32	MAD20	IC1
รวม 25ตัวอย่าง				

ตารางที่ 5-6 แสดงรูปแบบอัลลีลจีน Pf155/RESA, MSP1 และMSP2 ในตัวอย่างเชื้อมาลาเรียจากจังหวัดชลบุรี

nd = ไม่ได้ทำการศึกษา ; (-) = ไม่ให้ผลไฮบริไดซ์

ปีที่เก็บ	ตัวอย่างเชื้อมาลาเรียจากอำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี	Pf155/RESA allelic type	MSP1 allelic type	MSP2 allelic type
2526	S3	F32	K1, MAD20, RO33	IC1, FC27
2526	S70	4th	K1, MAD20,	IC1
2526	S73	3rd	nd	nd
2526	S79	F32	K1, MAD20, RO33	FC27
2526	S90	F32	K1, MAD20, RO33	IC1
2526	S98	F32,3rd	K1, MAD20	FC27
2526	S102	F32	K1, MAD20, RO33	FC27
2526	S103	FC27	MAD20, RO33	IC1
2526	S107	F32	MAD20, RO33	IC1, FC27
2526	S110	3rd	K1, MAD20, RO33	FC27
2526	S111	F32	K1, MAD20, RO33	IC1
2526	S114	F32	K1, RO33	IC1, FC27
2526	S118	3rd	K1, MAD20, RO33	IC1
2526	S127	F32	K1	IC1
2526	S132	3rd	nd	nd
2526	S142	F32	nd	nd
2526	S145	F32	nd	nd
2526	S147	F32	nd	nd
2526	S148	3rd	nd	nd
2526	S149	4th	nd	nd
2526	S151	F32, 3rd	nd	nd
2526	S152	F32	nd	nd
2526	S153	F32, 3rd	nd	nd
รวม 23 ตัวอย่าง				

ตารางที่ 5-7 แสดงคุณสมบัติที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อกรดอะมิโนเปลี่ยนแปลง

*A scale combining hydrophobicity and hydrophilicity; can be used to predict which amino acids will be found in an aqueous environment (- values) and which will be found in a hydrophobic environment (+ values). (Kyte, J., and Doolittle, R.F., 1982)

ตำแหน่งกรดอะมิโน	กรดอะมิโน	คุณสมบัติ	Hydropathy index*
รูปแบบ FC27			
966	Ala ↓ Ser	(nonpolar) ↓ (polar)	1.8 ↓ -0.8
968	Lys ↓ Asn	(positively charged) ↓ (polar ,uncharged)	-3.9 ↓ -3.5
969	Tyr ↓ Phe	(aromatic R group) ↓ (aromatic R group)	-1:3 ↓ 2.8
972	Gln ↓ Lys	(polar, uncharged) ↓ (positively charged)	-3.5 ↓ -3.9
974	Val ↓ Ile	(nonpolar) ↓ (nonpolar)	4.2 ↓ 4.5
987	Lys ↓ Thr	(positively charged) ↓ (polar, uncharged)	-3.9 ↓ -0.7
รูปแบบ 3rd			
987	Lys ↓ Thr	(positively charged) ↓ (polar, uncharged)	-3.9 ↓ -0.7
รูปแบบ4th			
987	Lys ↓ Arg	(positively charged) ↓ (positively charged)	-3.9 ↓ -4.5