# บทที่ 1

# บทนำ

ความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตเป็นผลมาจากกระบวนการทางวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตที่เกิดขึ้นควบคู่ไปกับการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อม และมีพื้นฐานมาจากความแตกต่างแปรผันทางพันธุกรรม สิ่งมีชีวิตรุ่นลูกหลานมีสารพันธุกรรมที่แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับผลของกระบวนการต่างๆ ในการถ่ายทอดสารพันธุกรรมจากบรรพบุรุษ อันได้แก่ การผสมพันธุ์แบบสุ่ม (random mating) และขณะเดียวกันการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual reproduction) ก็มีกลไกการเกิดครอสซิ่งโอเวอร์ (crossing over) และจีนรีคอมบิเนชั่น (gene recombination) ในกระบวนการสร้างเซลสืบพันธุ์ และการเกิดมิวเตชั่น ความหลากหลายของลักษณะทางพันธุกรรมนี้เองที่เปิดโอกาสให้สิ่งมีชีวิตรุ่นลูกซึ่งมีคุณลักษณะที่เหมาะสมต่อการอยู่รอดในสภาวะแวดล้อมขณะหนึ่งๆ สืบลูกหลานต่อไปได้ ส่วนตัวที่ขาดคุณลักษณะที่เหมาะสมก็จะตายไป ความแตกต่างทางพันธุกรรมจึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับสิ่งมีชีวิตต่อการเตรียมพร้อมในการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อม ทั้งนี้ก็เพื่อความอยู่รอดของตัวเองและเผ่าพันธุ์ของตน (วิสุทธิ์ ใบไม้, 2532; 2538) แม้ว่าความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตเป็นข้อได้เปรียบในการดำรงอยู่ แต่ถ้าความหลากหลายเกิดกับเชื้อโรคที่ก่อปัญหาทางสาธารณสุข จะเป็นการยากที่จะหาทางกำจัดให้หมดไปได้ เช่นเดียวกับเชื้อมาลาเรีย (*Plasmodium spp.*) ที่เป็นสาเหตุการตายที่สำคัญของประชากรของโลกอย่างหนึ่ง ประมาณว่าทั่วโลก มีประชากรที่ติดเชื้อปีละ 300 ล้านคนต่อปี (WHO, 1992) ซึ่งเป็นปัญหาที่ยากต่อการป้องกันและกำจัดให้หมดไป

เชื้อมาลาเรีย (*Plasmodium spp.*) เป็นปรสิตเซลล์เดียวที่ทำให้เกิดโรคมาลาเรีย โดยมียุงก้นปล่อง (*Anopheles spp.*) เป็นพาหะ เชื้อมาลาเรียที่ทำให้เกิดโรคในคนมี 4 ชนิด ได้แก่ *Plasmodium falciparum, P. vivax, P. ovale, P. malariae* การที่เชื้อมาลาเรียมีความหลากหลายทำให้เอื้ออำนวยต่อการอยู่รอดในสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงอยู่เสมอ เช่น ระบบภูมิคุ้มกันที่ตอบโต้ในระดับเซลล์และภูมิคุ้มกันน้ำเหลือง (cellular and humoral immune response) เป็นต้น กอรปกับเชื้อมาลาเรียมีการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ ซึ่งเป็นกลไกที่ช่วยให้ลักษณะที่เหมาะสมต่อการเจริญถูกถ่ายทอดให้รุ่นต่อไปอย่างต่อเนื่อง

ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายจะตอบสนองต่อโปรตีน หรือแอนติเจน (antigen) ที่ผิวของเชื้อมาลาเรียในแต่ละระยะของการเจริญ อาทิเช่น โปรตีนที่ผิวของเชื้อมาลาเรียระยะสปอร์โรซอยท์ (sporozoite) คือ circumsporzoite protein หรือ CSP (Nussenzweig & Nussenzweig, 1990) และโปรตีนที่ผิวระยะเมอร์โรซอยท์ (merozoite) ได้แก่ merozoite surface protein 1 หรือ MSP1 (Holder, A. 1988) merozoite surface protein 2 หรือ MSP2 (Smythe *et al.*, 1988)) ส่วนโปรตีนบนผิวเม็ดเลือดแดงที่สร้างโดยเชื้อมาลาเรีย ได้แก่ ring-infected erythrocyte surface antigen หรือ Pf155/RESA (Kemp *et al.*, 1983) เป็นต้น โปรตีนเหล่านี้สามารถกระตุ้นให้เกิดแอนติบอดี (antibody) ในสัตว์ทดลองได้ (Siddiqui *et al.*, 1986; Collins *et al.*, 1986) และแอนติบอดีเหล่านั้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อมาลาเรียในจานเพาะเลี้ยงได้ด้วย (Blackman *et al.*,1990; Epping *et al.*, 1988; Wahlin *et al.*, 1984) แสดงว่าโปรตีนดังกล่าวน่าจะมีศักยภาพในการนำมาผลิตเป็นวัคซีนได้ ดังนั้นเพื่อที่จะให้วัคซีนที่ผลิตขึ้นสามารถใช้ได้ครอบคลุมทุกระยะและทุกสายพันธุ์ จึงต้องทำการศึกษาความหลากหลายของโปรตีนลงไปถึงระดับจีน (gene) ที่ควบคุมการสังเคราะห์โปรตีนว่ามีความคล้ายคลึงกันมากน้อยเพียงใด

การศึกษาความหลากหลายในระดับจีนของโปรตีน CSP มีรายงานว่าบริเวณที่เป็น B cell และ T cell epitope มีความแตกต่างกัน (variable) ทั้งในต่างชนิดและต่างสายพันธุ์ (Jongwutiwes *et al.*,1994) เช่นเดียวกันกับใน MSP1 ที่พบว่าจีนบริเวณ variable block มีรูปแบบที่แตกต่างกันถึง 3 รูปแบบ คือ MAD20 K1 และ RO33 (Miller *et al.*, 1993) สำหรับ MSP2 พบว่า มีรูปแบบของจีน 2 แบบ คือ FC27 และ IC1 (Smythe *et al.*, 1990) จากรายงานที่ผ่านมามีการศึกษาในหลายพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคมาลาเรียทั่วโลก แต่อย่างไรก็ตามแต่ละการทดลองใช้จำนวนตัวอย่างน้อยมากทำให้ข้อมูลที่ได้ยังไม่เพียงพอที่จะหาข้อสรุปขอบเขตความหลากหลายของโปรตีนดังกล่าว

การศึกษาความหลากหลายระดับจีนของโปรตีน Pf155/RESA ยังมีข้อมูลน้อยมากทั้งจำนวนเชื้อและแหล่งที่มาของเชื้อ แต่อย่างไรก็ตามในขั้นแรกพบว่าจีนแต่ละสายพันธุ์มีความคล้ายคลึงค่อนข้างสูง มีความแตกต่างที่สามารถจำแนกได้เพียง 2 รูปแบบเท่านั้น คือ รูปแบบ F32 และ FC27 (Favalaro *et al*, 1986; A°slund *et al.*, 1990; Kun *et al.*, 1994) ในปี 1996 Seesod และคณะ ที่ทำการศึกษาเชื้อมาลาเรียในประเทศไทยจำนวน 168 ไอโซเลต พบว่าอัลลีล บริเวณนิวคลีโอไทด์ ลำดับที่ 2727 ถึง 2846 มีการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสและกรดอะมิโนถึง 10 รูปแบบ จึงเป็นข้อบ่งชี้ให้เห็นว่า การศึกษาเพื่อให้ทราบถึงความหลากหลายของเชื้อมาลาเรียที่แท้จริงจำเป็น

อย่างยิ่งที่ต้องใช้ตัวอย่างจำนวนมาก ดังนั้นเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ชัดเจนยิ่งขึ้นการวิจัยครั้งนี้จึงมีจุดประสงค์ในการศึกษาความหลากหลายของจีน Pf155/RESA โดยเฉพาะที่นิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง 2727 ถึง 2846 จากตัวอย่างเชื้อในจังหวัดต่างๆ ที่มีการระบาดของโรคมาลาเรียของประเทศไทย ซึ่งเก็บรวบรวมไว้ในระหว่างปี พ.ศ. 2523-2536 และเป็นเชื้อที่ผ่านการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการมาแล้วช่วงระยะเวลาหนึ่ง จำนวน 124 ไอโซเลต เพื่อให้มีข้อมูลพื้นฐานเพิ่มเติมในการศึกษาทางพันธุประชากรของ *Plasmodium falciparum* ในธรรมชาติ และข้อมูลดังกล่าวนี้อาจจะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาผลิตวัคซีนในอนาคตได้ด้วย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย