



บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

1. จากการศึกษาโดยการ induce ให้เชื้อ P. berghei คือยา chloroquine ในหนูถีบจักร ปรากฏว่าเชื้อ P. berghei ที่ได้รับยา chloroquine มี prepatent peroid ยาวกว่าเชื้อที่ไม่ได้รับยา แสดงว่ายา chloroquine สามารถทำลายเชื้อ P. berghei ได้ แต่เนื่องจากใช้ยาที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า curative dose ยาจึงไม่สามารถทำลายเชื้อ P. berghei ได้หมด เชื้อที่เหลือจึงสามารถเจริญเติบโตได้อีก ซึ่งจะเป็นเชื้อที่ดื้อยา จากการทดลองจึงสามารถ induce ให้เชื้อดื้อยาได้ในระยะเวลาอันสั้น ดังที่ Rollo (1952) ได้แนะนำไว้ และ Power et al., (1969) ได้พบว่าเชื้อ P. falciparum ในคน และเชื้อ P. berghei ใน mice สามารถที่จะ develop ให้ดื้อยา chloroquine ได้ง่ายเช่นเดียวกับการทดลองของนักวิทยาศาสตร์หลายท่าน (Hawking et al., 1962; Peter, 1966, Hawking; 1966)

การให้ยา chloroquine ผสมในน้ำแก่หนูที่มีเชื้อ chloroquine resistance P. berghei ก็เพื่อให้เชื้อยังคงคือยาอยู่ไม่กลับเป็น chloroquine sensitive P. berghei ดังเดิม ทั้งนี้เนื่องจากเหตุผลที่ว่า ได้มีการทดลองพบว่าเชื้อที่ดื้อยา chloroquine นั้นไม่มีความคงตัว สามารถกลับเป็น chloroquine sensitive ได้ถ้าเชื้อไม่ได้รับยา chloroquine อยู่เสมอ ๆ (Jacob, 1965; Peter, 1965) ซึ่งต่างกับเชื้อ P. vinckei และเชื้อ P. chabaudi ที่เป็นเชื้อใช้จับสั้นของพวก rodent เช่นกัน เชื้อ P. vinckei และเชื้อ P. chabaudi นั้นเมื่อ induce ให้เชื้อดื้อยา chloroquine ได้แล้ว จะเป็นเชื้อดื้อยาที่มีความคงตัว (Power et al., 1969; Rosario, 1976) แต่ในการทดลองนี้ไม่ใช่เชื้อ P. vinckei หรือ P. chabaudi เนื่องจากเชื้อ P. vinckei ที่เป็นสายพันธุ์บริสุทธิ์นั้นหาได้ยาก โดยมากแล้วมักจะมี P. yoelii ซึ่งเป็น rodent malaria อีกเชื้อหนึ่งเป็น mixed infection อยู่ด้วย

และเชื้อ P. yoelii เป็นเชื้อที่ดื้อต่อยา chloroquine ตามธรรมชาติอยู่แล้ว ฉะนั้น ในการทดลองถ้าใช้เชื้อ P. vinckei ซึ่งอาจมี P. yoelii ร่วมอยู่ด้วย และเมื่อใช้ ยา chloroquine แล้ว มีเชื้อที่สามารถเจริญเติบโตในหนูได้ ทำให้ไม่สามารถทราบได้ว่า เชื้อที่เจริญเติบโตในหนูนั้นเป็นเชื้อ P. vinckei ที่ดื้อยา หรือ P. yoelii ที่ยังเหลือ อยู่ เพราะไม่มีเครื่องมือในการตรวจหา enzyme ของเชื้อ เพื่อแยกว่าเชื่อนั้นจะเป็น เชื้ออะไร อนึ่งการที่ไม่ใช้ P. chabaudi ในการทดลองนี้เนื่องจาก P. chabaudi ในห้องปฏิบัติการต้องใช้ pABA (p - aminobenzoic acid) เป็น growth factor จึงจำเป็นต้องให้ pABA ผสมกับน้ำดื่มให้หนู ซึ่งจะเป็น error ของการวิจัย และยาที่ใช้ ทดลอง ได้แก่ sulfadoxine ใน Fansidar เป็น antagonist กับ pABA ดังนั้น เชื้อ P. chabaudi จึงไม่เหมาะในการทดลองนี้

2. การทำ passage เชื้อ chloroquine resistant P. berghei ในหนูถีบจักรถึง 5 generations เพื่อให้มีความคงตัวของการดื้อยา chloroquine ใน P. berghei ตลอดการทดลอง เพราะถ้านำเชื้อที่ดื้อยาซึ่งได้จากการ induce ใน generation แรก มาทำการทดลองต่อไปเลยนั้น ถ้าเชื้อไม่มีความคงตัวจะทำให้ ผลการทดลองผิดพลาดได้

3. การทดสอบเชื้อ chloroquine resistant P. berghei ว่าจะ เป็น เชื้อดื้อยาจริงหรือไม่ ได้ทดสอบเปรียบเทียบกับ chloroquine sensitive P. berghei โดยใช้ chloroquine ความเข้มข้นที่สูงกว่าความเข้มข้นที่ induce ให้เชื้อเกิดดื้อยา คือ ใช้ chloroquine 35 mg base/kg ผลปรากฏว่าหนูในกลุ่มซึ่งติดเชื้อที่ดื้อยามี survival time ยาวกว่าหนูในกลุ่มซึ่งติดเชื้อที่ไม่ดื้อยา และการใช้ single dose treatment chloroquine ก็ปรากฏว่า ในหนูกลุ่มที่ติดเชื้อ chloroquine sensitive P. berghei ใช้ความเข้มข้นของยา chloroquine 280 mg base/mg จึงทำลายเชื้อ chloroquine sensitive ได้ ซึ่งเป็น dose ที่สูงกว่า ที่ใช้ในคนถึง 7 เท่า และหนูที่ติดเชื้อ chloroquine resistant P. berghei ที่ induce ได้ นั้น ต้องใช้ยา chloroquine ถึง 630 mg base/kg จึงทำลายเชื้อ

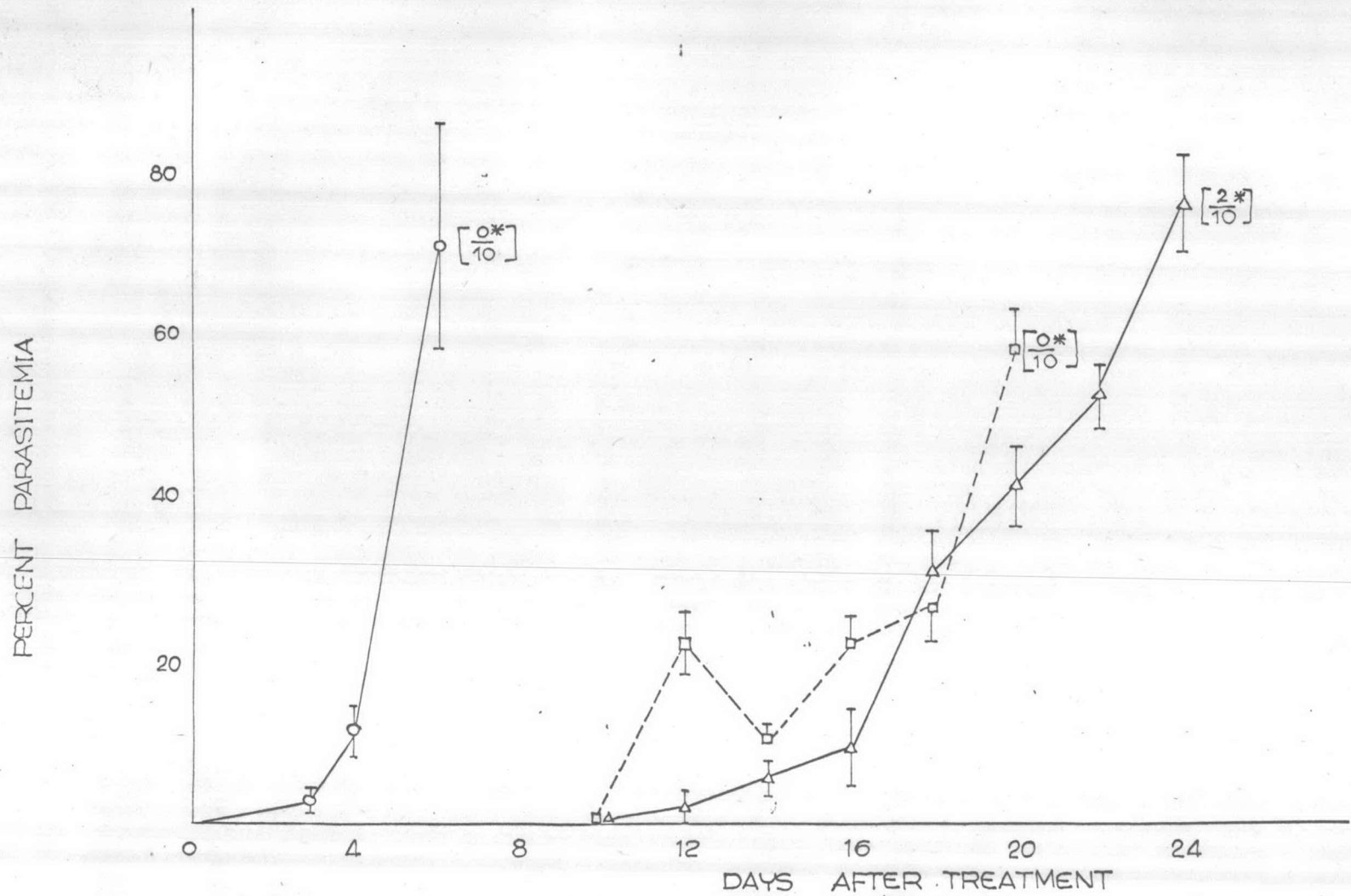
ได้หมด แสดงว่าต้องให้ยาในความเข้มข้นที่สูงกว่าปกติมากจึงทำลายเชื้อที่ดื้อยาได้ และในการทดลองพบว่าหลังจากได้รับยา 1-2 วันแรก มีผู้ป่วยตัวเกิด diarrhea ซึ่งคาดว่า เป็น side effect ของยา chloroquine แต่ต่อมาพบมีสภาพกลับเป็นปกติตามเดิม จากผลการทดลองนี้จะมีผลต่อการนำไปวินิจฉัยในการให้ยากับคนต่อไป เพราะ side effect ที่เกิดกับหนูอาจจะเกิดกับคนได้ด้วย

4. การทดลองให้ยา single dose treatment Fansidar แก่หนูที่ติดเชื้อดื้อยา chloroquine นั้น เนื่องจากการทดลองของนักวิทยาศาสตร์หลายท่านให้ยา Fansidar ในการรักษาโรคไข้จับสั่นได้ผลดี (Hurly, 1959; Hall, 1976; Doberstyn et al., 1976; Al Tawil, 1978; Doberstyn, 1979) และในประเทศไทยได้มีการให้ยา Fansidar ในการป้องกันและรักษาโรคไข้จับสั่นกันอย่างแพร่หลาย จึงทดลองเพื่อศึกษาว่า Fansidar จะทำลายเชื้อ chloroquine resistant P. berghei ได้หรือไม่ ซึ่งจากการทดลองเมื่อให้ยา Fansidar แก่หนูที่ติดเชื้อดื้อยาเพียง 25 mg base/50 kg (คิด pyrimethamine เป็นหลักในการให้ยา) ไม่สามารถทำลายเชื้อที่ดื้อยาได้ และถึงจะใช้ dose ที่สูงขึ้น คือ curative dose (pyrimethamine 75 mg base/50 kg) ก็ไม่สามารถทำลายเชื้อที่ดื้อยาได้ จากการทดลองต่อไป โดยใช้ single dose treatment Fansidar ในความเข้มข้นสูงขึ้นไปพบว่าต้องให้ยา Fansidar ในความเข้มข้นของ pyrimethamine ถึง 150 mg base/kg จึงจะทำลายเชื้อ chloroquine resistant P. berghei ได้ แต่ปรากฏว่ามีหนูตายหลังจากการให้ยา 30 นาที และ 1 วัน ทำ thin blood smear ก็ไม่พบ parasitised red blood cell และหนูที่เหลือเกิด diarrhea ภายหลังได้รับยา 2-3 วัน ซึ่งคาดว่าคงเป็น side effect ของยา จึงเป็นที่น่าศึกษาต่อไปว่า การใช้ Fansidar ใน dose ที่สูงขึ้น เพื่อใช้รักษาโรคไข้จับสั่นในคนจะมีผลอย่างไร เพื่อจะได้มีการใช้ยาอย่างระมัดระวังไม่ให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพของคนเนื่องจากการให้ยา

5. การทดลองใช้ single dose treatment quinine ในหนูที่ติดเชื้อ chloroquine resistant P. berghei ปรากฏว่าไม่ได้ผล เพราะยา quinine อยู่ในกระแสเลือดในระดับความเข้มข้นที่ใช้ระงับการเจริญของเชื้อได้เพียง 8 ชั่วโมง หลังจากนั้น ระดับยาในเลือดจะต่ำลงมาก เนื่องจากถูกขับออก ความจริงข้อนี้ปรากฏในรายงานขององค์การอนามัยโลก (Wld. Hlth. Org. Techn. Rep. Ser. 1973. No 529) กำหนดการใช้ยา quinine รักษาโรคไข้จับสั่น โดยมี curative dose คือใช้ยา quinine 1500 mg base เป็นเวลา 14 วัน จึงจะใช้รักษาโรคไข้จับสั่นได้ผล ข้อกำหนดนี้ได้รับการยืนยันจากผลการทดลองของ Sucharit และคณะ (1979) โดยใช้ curative dose ตามที่องค์การอนามัยโลกกำหนดไว้กับคนที่เป็นโรคไข้จับสั่น ปรากฏว่าสามารถรักษาคนป่วยได้

ในการทดลองนี้ใช้ยา single dose treatment quinine ไม่สามารถฆ่าเชื้อได้ และจากการทดลองต่อไปพบว่าถ้าให้ quinine 2400 mg base/50 kg แก่หนูที่ติดเชื้อ chloroquine resistant strain P. berghei เป็นเวลา 4 วัน ยาสามารถฆ่าเชื้อได้หมด ดังนั้นจากผลการทดลองใช้ single dose treatment ของ quinine นำมาใช้เป็นข้อมูลในการเพิ่มความระมัดระวังในการใช้ยารักษาโรคไข้จับสั่นในคนให้ถูกต้องตามคำแนะนำของแพทย์และเภสัชกร

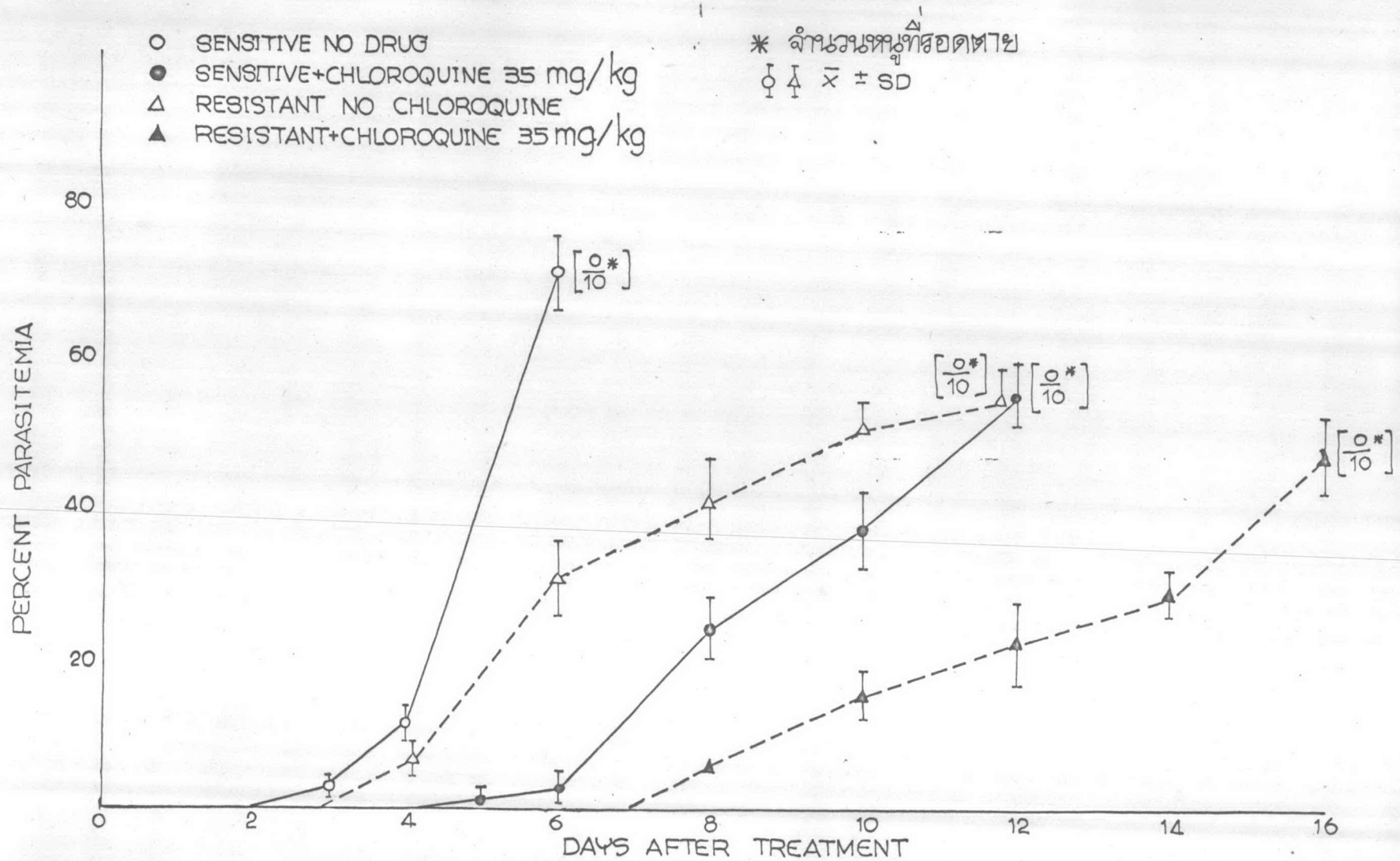
จากการศึกษาเชื้อไข้จับสั่นที่เกิดคือยา ปรากฏว่า เชื้อไข้จับสั่นแต่ละ species สามารถคือยาได้หลายชนิด และเกิด cross resistant ขึ้นได้ เช่น Hawking (1966) พบว่า เชื้อ P. berghei ที่คือยา chloroquine สามารถเกิด cross resistant กับยา mepacrine ได้ Thurston (1953) พบว่าเชื้อ pyrimethamine resistant P. berghei เกิด cross resistant กับยา proguanil ได้ และได้มีการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อไข้จับสั่นที่คือยากันอย่างกว้างขวาง (Thompson et al., 1965, 1967; Peter 1965; Harinasuta et al., 1967; Davidson, 1976) การทดลองนี้ จึงเป็นการทดลองหนึ่งซึ่งยืนยันปรากฏการณ์การคือยาหลายตัวพร้อมกัน และนำไปใช้เป็นประโยชน์ในการวินิจฉัยการใช้ยารักษาโรคไข้จับสั่นในคนต่อไป



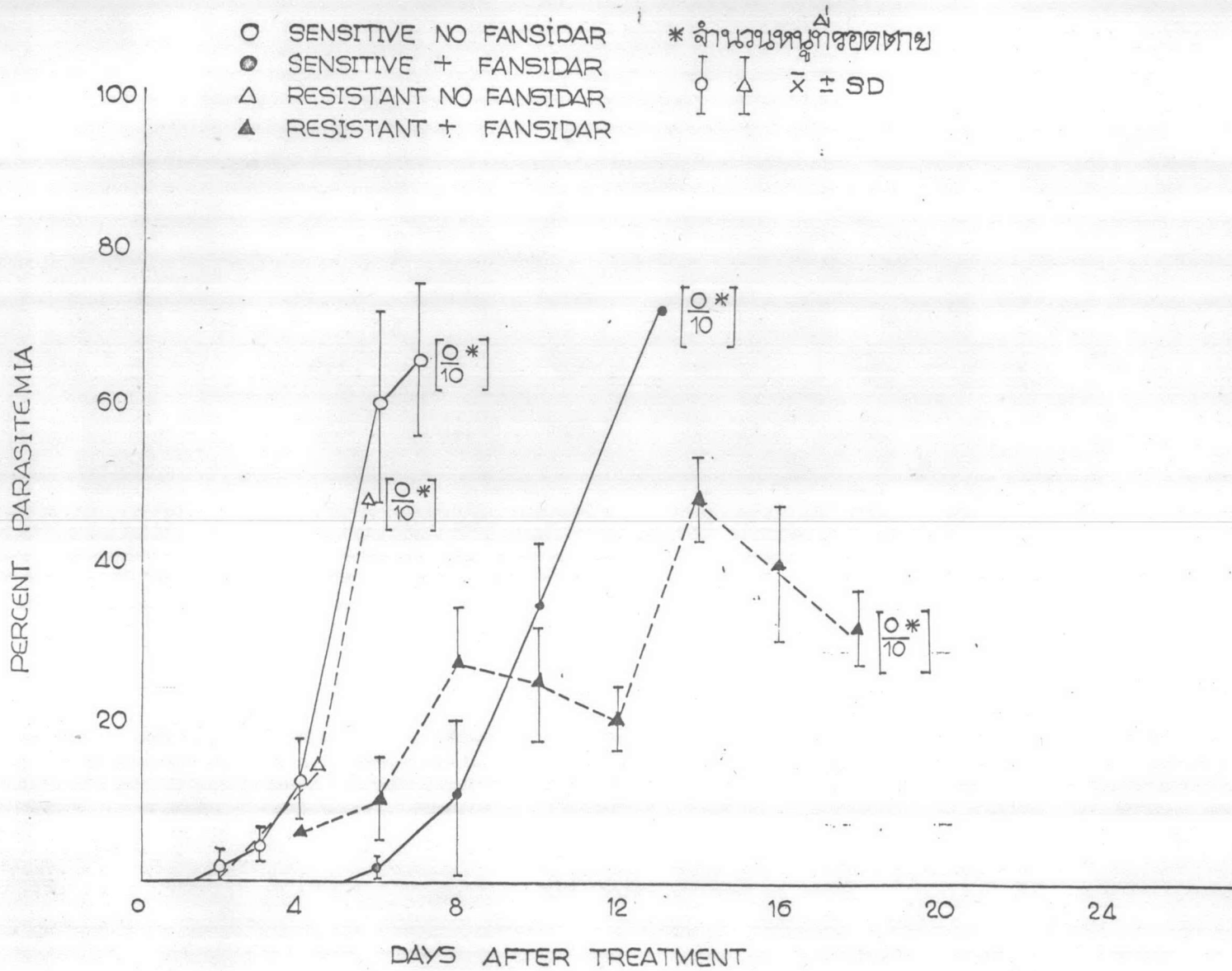
○ CONTROL
 △ CHLOROQUINE 5 mg./kg 4 วัน
 □ CHLOROQUINE 10 mg./kg 2 วัน

* จำนวนหนูที่รอดตาย
 | | | $\bar{x} \pm SD$

รูปที่ 6. ผลของยา CHLOROQUINE ในหนูที่ไวต่อการติดเชื้อ CHLOROQUINE SENSITIVE PLASMODIUM BERGHEI



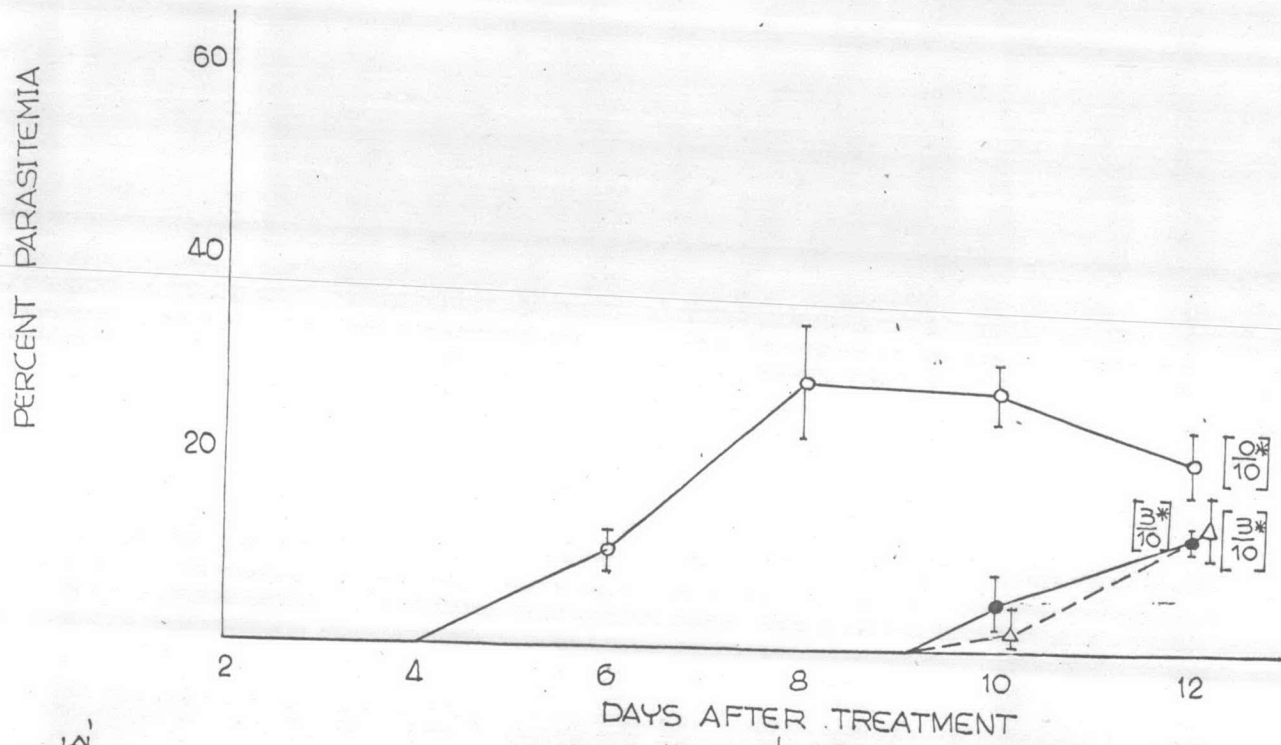
รูปที่ 7. ผลของยา CHLOROQUINE ในหนูที่จับมาใหม่ต่อ CHLOROQUINE RESISTANT P. BERGHEI



รูปที่ 8. ผลการทดลอง SINGLE DOSE TREATMENT FANSIDAR (25 mg/50 kg)

- PYRIMETHAMINE 25 mg/50 kg
- PYRIMETHAMINE 50 mg/50 kg
- △ PYRIMETHAMINE 75 mg/50 kg

* จำนวนที่รอดตาย
 ○ △ $\bar{x} \pm SD$



รูปที่ 9.

ผลของยา FANSIDAR ในหนูที่บ่งชี้การดื้อต่อ CHLOROQUINE-RESISTANT P. BERGHEI

ตารางที่ 1. ผลของยา Quinine ในหนูที่ติดเชื้อ chloroquine resistant
P. berghei

กลุ่ม	จำนวนหนู ที่ใช้ทดลอง	Quinine ที่ให้หนู ^ก	จำนวน หนูตาย	Prepatent period	Survival time
1	10	2000mg base/50 kg ^ข	2 ^ค	5	18 ± 2
2	10	2200mg base/50 kg	2 ^ค	6	21 ± 1
3	10	2400mg base/50 kg	1 ^ง	-	-
4 ^จ	10	0	10 ^ค	1	6 ± 1

หมายเหตุ ก = ให้ยา quinine แก่หนูที่ติดเชื้อเป็นเวลา 4 วัน
 ข = น้ำหนักของหนู (kilogram body weight)
 ค = หนูตายเนื่องจากเชื้อ P. berghei
 ง = หนูตายในวันถัดจากการให้ยาครบ 4 วัน
 จ = หนูกลุ่ม Control ติดเชื้อ chloroquine sensitive
P. berghei