

บทที่ 4

ผลการวิจัย



ในการทดลองนี้ ทุกวันนับแต่วันที่หนูได้รับเชื้อฉีดเข้าทางช่องท้อง หนูทุกตัวที่มีชีวิตจะได้รับการทำ thin blood smear และนำไปตรวจหา parasitemia ในเม็ดเลือดแดง บันทึกวันที่หนูตายเพื่อหา survival time และในการทดลองนี้ การพิจารณาการเกิด parasitemia คิดเริ่มจากวันที่ตรวจพบ percent parasitemia ตั้งแต่ 0.1% ขึ้นไป การตรวจพบ parasitised red blood cell ในอัตราที่ต่ำกว่านั้น ไม่นับว่าเกิด parasitemia

1. ในการทดลองเพื่อ induce ให้เชื้อ P. berghei คือยา chloroquine โดยการให้ยา chloroquine แก่หนูถีบจักรที่ติดเชื้อ chloroquine sensitive P. berghei ตามผลการทดลอง (รูปที่ 6 หน้า 35)

1.1 กลุ่มที่ 1 หนูกลุ่ม control เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ chloroquine sensitive P. berghei ในหนูถีบจักร พบว่า percent parasitemia เริ่มปรากฏตั้งแต่วันที่ 3 หลังจากวันที่หนูได้รับเชื้อฉีดเข้าไป (day 3) และหนูในกลุ่มนี้ ตายประมาณวันที่ 7 ซึ่งเป็นวันหลังจากที่ percent parasitemia มี peak ขึ้นสูงสุด

1.2 หนูกลุ่มที่ 2 และ 3 ซึ่งได้รับยา chloroquine 5 mg base/kg เป็นเวลา 4 วันนั้น ปรากฏ percent parasitemia เริ่มในวันที่ 10 จากนั้น percent parasitemia สูงขึ้นเรื่อย ๆ หนูเริ่มตายตั้งแต่วันที่ 20 เป็นต้นไป และหนูในกลุ่มนี้ มีหนูรอดตาย 2 ใน 10 ตัว

1.3 หนูกลุ่มที่ 4 และ 5 ซึ่งได้รับยา chloroquine 10 mg base/kg เป็นเวลา 2 วัน เริ่มแสดง parasitemia ในวันที่ 10 เช่นเดียวกับหนูในกลุ่มที่ 2 และ 3 และ percent parasitemia จะสูงขึ้นเรื่อย ๆ จาก

กราฟ percent parasitemia ในวันที่ 14 ลดต่ำกว่าของวันที่ 12 เนื่องจากว่าวันที่ 12 มีหนูตายไป 4 ตัว ค่า percent parasitemia ของหนูที่ไม่ตายจึงต่ำลง และจากการทดลอง หนูในกลุ่มนี้จะตายหมดในวันที่ 21 หลังจากหนูได้รับการฉีดเชื้อ (day 21)

2. การทดลองที่ 2 ทำเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 เพื่อจะให้ได้ผลที่แน่นอนยิ่งขึ้น ผลการทดลองปรากฏว่าเหมือนกับการทดลองที่ 1

3. การทดลองโดยนำเลือดที่มีเชื้อ chloroquine resistant P. berghei จากการทดลองที่ 1 และ 2 ถ่ายให้หนูตัวใหม่ และให้หนูได้รับยา chloroquine โดยผสมยา chloroquine ในน้ำที่หนูดื่ม ประมาณว่าหนูแต่ละตัวได้รับยา 1 mg base/ตัว/วัน ซึ่งกำหนดกลุ่มของหนูที่คือยา chloroquine ดังนี้

CR1 เป็นหนูซึ่งมีเชื้อ chloroquine resistant P. berghei ที่เกิดจากการ induce ด้วยยา chloroquine 5 mg base/mg ทุกวัน 4 ครั้ง

CR2 เป็นหนูซึ่งมีเชื้อ chloroquine resistant P. berghei ที่เกิดจากการ induce ด้วยยา chloroquine 5 mg base/kg วันเว้นวัน 4 ครั้ง

CR3 เป็นหนูซึ่งมีเชื้อ chloroquine resistant P. berghei ที่เกิดจากการ induce ด้วยยา chloroquine 10 mg base/kg ทุกวัน 2 ครั้ง

CR4 เป็นหนูซึ่งมีเชื้อ chloroquine resistant P. berghei ที่เกิดจากการ induce ด้วยยา chloroquine 10 mg base/kg วันเว้นวัน 2 ครั้ง

ปรากฏว่าเมื่อให้หนูในกลุ่มทั้ง 4 ได้รับน้ำที่ผสม chloroquine เป็นเวลา 7 วัน ยา chloroquine สามารถทำลายเชื้อ P. berghei ได้ในกลุ่ม CR1, CR2 และ CR4 ส่วนหนูกลุ่ม CR3 นั้นยังมีเชื้อเหลืออยู่และสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ จึงใช้เชื้อ chloroquine resistant P. berghei จากหนู CR3 เป็นเชื้อตั้งยาในการทดลองกับยาอื่นตั้งแต่การทดลองที่ 6 เป็นต้นไป

4. การทดลองโดย passage เชื้อ chloroquine resistant P. berghei

CRI-4 ในหนูกลุ่มใหม่ต่อ ๆ กันไป จนถึง generation ที่ 5 นั้น และในทุก ๆ generation ให้อาหาร chloroquine ผสมในน้ำดื่มให้แก่หนูเป็นเวลา 7 วัน โดยประมาณว่าหนูแต่ละตัวจะได้รับยา chloroquine 1 mg base/ ตัว/วัน หลังจากนั้นหยุดให้อาหาร chloroquine เมื่อพบ parasitised red blood cells ในเลือดของหนู มี 40-50 percent parasitemia จึง passage เชื้อให้หนูใน generation ต่อไป

5. การทดลองให้อาหาร chloroquine 35 mg base/mg แก่หนูที่มีเชื้อ chloroquine resistant P. berghei นั้น ปรากฏผลดังนี้ (รูปที่ 7 หน้า 36)

5.1 หนูที่มีเชื้อ chloroquine sensitive P. berghei และได้รับยา chloroquine 35 mg/kg ปรากฏ parasitemia ในวันที่ 4 จากนั้น percent parasitemia สูงขึ้นเรื่อย ๆ จนหนูตายหมดในวันที่ 13 จากผลการทดลองพบว่าหนูที่ติดเชื้อ sensitive strain P. berghei และได้รับยา chloroquine 35 mg base/kg เมื่อเปรียบเทียบกับหนูที่ติดเชื้อ chloroquine sensitive P. berghei ซึ่งไม่ได้รับยา หนูกลุ่มที่ได้รับยามี prepatent period ยาวกว่าหนูที่ไม่ได้รับยา (จากกราฟ) และมีช่วง survival time ยาวกว่าด้วย แสดงว่ายา chloroquine 35 mg base/kg มีผลในการทำลายเชื้อ P. berghei ได้

5.2 กลุ่มของหนูที่ติดเชื้อ chloroquine resistant P. berghei และได้รับยา chloroquine 35 mg/kg มี prepatent period ยาวกว่ากลุ่มของหนูที่ติดเชื้อ chloroquine resistant P. berghei และไม่ได้รับยา และมี survival time ยาวกว่า

5.3 จากผลการทดลอง เปรียบเทียบหนูที่ได้รับเชื้อ chloroquine resistant P. berghei และหนูที่ได้รับเชื้อ sensitive P. berghei ซึ่งทั้งสองกลุ่มได้รับยา chloroquine 35 mg/kg เหมือนกัน หนูที่ติดเชื้อ chloroquine resistant P. berghei มี prepatent period 8 วัน และมี percent parasitemia สูงสุดในวันที่ 16 ส่วนหนูที่ติดเชื้อ sensitive P. berghei มี prepatent period 4 วัน และ percent parasitemia สูงสุดในวันที่ 12 แสดงว่าเชื้อที่ดื้อยาจะสามารถทนต่อยาได้มากกว่าเชื้อที่ไม่ดื้อยา

6. ในการทดลองให้ single dose chloroquine แก่หนูที่ติดเชื้อ chloroquine sensitive P. berghei เพื่อศึกษาว่าจะต้องใช้ยาในความเข้มข้นสูงเท่าใด ยาจึงจะทำลายเชื้อ P. berghei ได้ จากผลของการทดลองพบว่าต้องใช้ single dose chloroquine ให้แก่หนูถึง 280 mg base/kg จึงทำลายเชื้อ P. berghei ในหนูได้หมด และจากการทดลองให้ single dose chloroquine treatment แก่หนูที่ติดเชื้อ chloroquine resistant P. berghei นั้น จากการทดลองต้องให้ chloroquine 630 mg base/kg จึงทำลายเชื้อ chloroquine resistant P. berghei ในหนูได้หมด

จากการทดลองนี้ หนูบางตัวที่ได้รับยา เกิด diarrhea หลังได้รับยา 1-2 วัน (Day 2-3) และหลังจากนั้นหนูทุกตัวมีอาการปกติแสดงว่าความเข้มข้นของยาที่ให้แก่หนูถึง 630 mg base/kg ยังไม่ทำอันตรายแก่หนู

7. การให้ยา Fansidar แก่หนูที่มีเชื้อ chloroquine resistant P. berghei เพื่อศึกษาว่า curative dose ตามที่บริษัท Hoffmann La-Roche, Basle กำหนดให้ใช้ในคน คือ ใช้ Fansidar 2-3 เม็ด (Fansidar 50-75 mg base/50 kg) จะมีผลต่อเชื้อที่ก่อยาหรือไม่ ซึ่งจากการทดลอง (รูปที่ 3 หน้า 37) พบว่าในการให้ยา Fansidar 25 mg base/50 kg แก่หนูที่ติดเชื้อ chloroquine sensitive P. berghei และหนูที่ติดเชื้อ chloroquine resistant P. berghei นั้น กลุ่มของหนูที่ได้รับยา Fansidar มี prepatent period ยาวกว่ากลุ่มของหนูที่ไม่ได้รับยา แสดงว่ายา Fansidar มีผลในการทำลายเชื้อ P. berghei ได้ แต่หนูได้รับยาในความเข้มข้นที่ต่ำกว่า curative dose จึงทำให้ยาไม่สามารถฆ่าเชื้อได้หมด เชื้อที่เหลือจึงสามารถเจริญเติบโตได้ จากกราฟ ในกลุ่มของหนูที่ติดเชื้อ chloroquine resistant P. berghei มี survival time 13 วัน และกลุ่มของหนูที่ติดเชื้อ chloroquine sensitive P. berghei มี survival time 13 วัน

และจากกราฟรูปที่ 9 หน้า 38 ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบว่า ถ้าให้ยา Fansidar แก่หนูที่ติดเชื้อ chloroquine resistant P. berghei ตามความเข้มข้น

ต่าง ๆ คือ 25 mg base/50 kg, 50 mg base/50 kg และ 75 mg base/50 kg ปรากฏว่า ในกลุ่มของหนูที่ได้รับยา Fansidar 25 mg base/50 kg มี prepatent period 4 วัน หนูที่ได้รับยา Fansidar 50 mg base/50 kg และ 75 mg base/50 kg มี prepatent period 10 วัน และพบว่ามีหนูรอดตาย 3 ใน 10 ตัวทั้งสองกลุ่ม แสดงว่า Fansidar ในความเข้มข้นสูง ๆ สามารถฆ่าเชื้อ P. berghei ได้ และ ปรากฏว่า Fansidar ความเข้มข้น 100 mg base/50 kg สามารถฆ่าเชื้อ chloroquine sensitive P. berghei ได้ ทำให้หนูรอดตายทั้ง 10 ตัว ดังนั้น curative dose Fansidar ต่อเชื้อ chloroquine sensitive P. berghei คือ 100 mg base/50 kg แต่ความเข้มข้นของยา Fansidar 100 mg base/50 kg นี้ ไม่สามารถทำลายเชื้อ chloroquine resistant P. berghei ได้ (มีหนูตาย 4 ตัว)

8. เนื่องจากการใช้ยาในการทดลองที่ 7 ยาไม่สามารถฆ่าเชื้อ chloroquine resistant P. berghei ได้ จึงใช้ความเข้มข้นของยา Fansidar เพิ่มขึ้น เป็น 125 mg base/50 kg และ 150 mg base/50 kg ปรากฏว่าในกลุ่มของหนูที่ติดเชื้อ chloroquine resistant P. berghei และได้รับยา Fansidar 125 mg base/50 kg มีหนูตาย 2 ตัวหลังจากให้ยา 1 วัน และมีเชื้อตื้อยาสามารถเจริญเติบโตได้ในหนู 1 ตัว หนูตัวนั้นตายในวันที่ 29 ส่วนกลุ่มของหนูที่ติดเชื้อ chloroquine resistant P. berghei และได้รับยา Fansidar 150 mg/50 kg มีหนูตาย 2 ตัว หลังให้ยา 30 นาที และตายอีก 1 ตัวในวันที่ 2 หนูที่เหลืออีก 7 ตัวไม่พบเชื้อ P. berghei ใน thin blood smear เลย แต่พบว่าหนูเกิด diarrhea ใน 1-3 วันหลังให้ยา ซึ่งแสดงว่า การใช้ยา Fansidar ในความเข้มข้นสูงแม้จะมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อ แต่ก็ยังเป็นอันตรายต่อหนูทำให้เสียชีวิตได้

9. การทดลองซ้ำกับการทดลองที่ 8 อีกครั้งปรากฏว่าให้ผลเช่นเดียวกัน แสดงให้เห็นชัดว่า การใช้ยาในความเข้มข้นที่สูงจะมีผลดีในการฆ่าเชื้อ แต่ต้องระมัดระวัง side effect ของยาที่เกิดกับหนูด้วย

10. การใช้ยา single dose treatment quinine ต่อหนูที่ติดเชื้อ chloroquine resistant P. berghei ด้วยความเข้มข้น 1800 mg base/50 kg, 1900 mg base/50 kg และ 2000 mg base/50 kg ตามลำดับ ปรากฏว่า prepatent period และ survival time ของหนูที่ได้รับยาเหมือนกับหนูที่ติดเชื้อคือ ยาแต่ไม่ได้รับยา

11. จากการทดลองให้ยา quinine แก่หนูที่ติดเชื้อ chloroquine resistant P. berghei ด้วยความเข้มข้น 2000 mg base/50 kg, 2200 mg base/50 kg และ 2400 mg base/50 kg ตามลำดับ โดยให้ยาคิดต่อกัน 4 วัน (ตารางที่ 1 หน้า 39) พบว่าในกลุ่มของหนูที่ได้รับยา quinine 2000 mg base/50 kg 4 วัน และ 2000 mg base/50 kg 4 วัน มีหนูตาย 2 ตัว และยาสามารถฆ่าเชื้อได้หมดในหนู 3 ตัว และในกลุ่มของหนูที่ได้รับยา quinine 2400 mg base/50 kg 4 วัน ปรากฏว่ามีหนูตายหลังให้ยา 4 วัน 1 ตัว และหนูที่เหลือรอดตายหมด แสดงว่าในการทดลองนี้ curative dose ของ quinine ที่สามารถฆ่าเชื้อ chloroquine resistant P. berghei ได้ คือให้ยา quinine ด้วยความเข้มข้น 2400 mg base/50 kg เป็นเวลา 4 วัน และจากการสังเกตอาการของหนูไม่ปรากฏว่าหนูเกิด diarrhea นอกจากหนูที่ตายหลังให้ยา 4 วัน เพียง 1 ตัวเท่านั้น ซึ่งไม่อาจหาสาเหตุได้ว่าตายเพราะอะไร จึงไม่อาจสรุปว่าในการทดลองนี้การใช้ quinine ในความเข้มข้นสูงนั้น เป็นอันตรายต่อหนูหรือไม่