

**THE INFLUENCE OF ANTIMALARIAL DRUG PRESSURE ON PARASITE'S
SENSITIVITY AND STABILITY OF THE MUTATIONS
ON *pfert* AND *pfmdr1* GENE IN *PLASMODIUM FALCIPARUM***

NANTANA SUWANDITTAKUL

M.Sc. (BIOMEDICAL SCIENCES)

MAJOR IN PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY

THESIS ADVISORS: MATHIRUT MUNGTHIN, Ph.D., KESARA NA-BANGCHANG, Ph.D.,
PONGCHAI HARNYUTTANAKORN, Ph.D.

ABSTRACT

Malaria is one of the most important public health problems of Thailand especially caused by *Plasmodium falciparum* that is a major cause of morbidity and mortality. To date, chemotherapy and chemoprophylaxis has been the mainstay in malaria control. However, the emergence and spread of resistant *P. falciparum* to almost all available antimalarials has being reported from all endemic areas, in particular along Thai-Myanmar and Thai-Cambodia borders. In Thailand, antimalarial treatment policy has been changed from time to time by The Ministry of Public Health. Thus, during different period of time, *P. falciparum* has been pressured by different drugs or drug combinations. In this study, we investigated the influence of different drug pressure on *in vitro* response and resistance genes *i.e.* *pfert* and *pfmdr1* gene of *P. falciparum* isolated from Thai-Cambodian border in difference periods of time (1988-1989, 1991-1992, and 2003 which S/P/MQ, MQ and MQ plus ARS were used, respectively).

Our data showed that the sensitivity to CQ of *P. falciparum* isolates remained in the resistant level. This may be due to CQ pressure from the treatment of vivax malaria in the same endemic areas. In addition, sensitivity to MQ was continuously decreased from 1988 to 2003. The pattern of *in vitro* cross-resistance indicates positive correlation of the sensitivity to CQ and QN as well as MQ and QN. There was no influence of

different drug pressure on the stability of mutations of the *pfcr1* gene. On the other hand, *pfmdr1* polymorphisms were significantly influenced by drug pressure.

Association between gene copy number, allelic polymorphisms of the *pfmdr1* gene and the *in vitro* susceptibility was determined. Using multivariate analysis, the level of CQ resistance in these parasite isolates was determined by the *pfmdr1* gene copy number. Those containing > 1 copy of the *pfmdr1* gene were more likely to be moderate resistance. In contrast to other studies using field isolates, MQ resistance could be predicted by the *pfmdr1* mutation at codon 1042. In conclusion, our drug policy had an impact on both parasites' sensitivities and the stability of the mutations in the *pfmdr1* gene. A regular monitoring and screening for these resistance markers may be useful in making antimalarial drug policy. In order to avoid the rapid emergence of drug resistance, the knowledge of mechanisms of antimalarial resistance should be used for the decision of drug policy.

KEY WORDS: *PLASMODIUM FALCIPARUM*/DRUG PRESSURE /*GENE COPY NUMBER/GENE POLYMORPHISM*

191 P.

ผลของการใช้ยาต้านมาลาเรียต่อการเปลี่ยนแปลงของการตอบสนองต่อยาและความคงตัวของการกลายพันธุ์ยีนดื้อยา *pfcr1* และ *pfmdr1* ของเชื้อ *PLASMODIUM FALCIPARUM*

นางสาวนันทนา สุวรรณดิษฐากุล

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ชีวเวชศาสตร์ทางการแพทย์)

สาขาเภสัชวิทยาและพิษวิทยา

รายนามคณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : รองศาสตราจารย์ พันเอก ดร. มทิตูท มุ่งถิ่น.,
ศาสตราจารย์ ดร. เกศรา ณ บางช้าง., ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พงษ์ชัย หาญอุทธานกร

บทคัดย่อ

มาลาเรียเป็นปัญหาสาธารณสุขของประเทศไทย โดยเฉพาะมาลาเรียสายพันธุ์ฟัลซิพารัมเป็นปัญหาสำคัญที่สุดเนื่องจากสามารถก่อให้เกิดอาการรุนแรงจนเสียชีวิตได้ ปัจจุบันนี้ การรักษาและการป้องกันหลักคือการใช้ยาต้านมาลาเรียอย่างไรก็ตามเชื้อมาลาเรียฟัลซิพารัมมีการตอบสนองต่อยาต้านมาลาเรียหลายชนิดลดลง โดยเฉพาะบริเวณชายแดนไทย-กัมพูชาและชายแดนไทย-พม่า ด้วยเหตุนี้ในประเทศไทยจึงมีการเปลี่ยนแปลงนโยบายการใช้ยาซึ่งจะถูกกำหนดโดยกระทรวงสาธารณสุขดังนั้นในช่วงเวลาที่เปลี่ยนแปลงไปเชื้อมาลาเรียฟัลซิพารัมจะได้รับผลกระทบตามนโยบายการใช้ยาที่เปลี่ยนแปลงไปด้วย ในงานวิจัยนี้จะศึกษาผลของการใช้ยาที่เปลี่ยนแปลงไปต่อการตอบสนองของเชื้อต่อยาและยีนกลายพันธุ์ที่เกี่ยวข้องคือ *pfcr1* และ *pfmdr1* โดยเชื้อมาลาเรียฟัลซิพารัมเป็นเชื้อที่เก็บจากบริเวณชายแดนไทย-กัมพูชา ในช่วงปี 2531-2532, 2534-2536 และ 2546 ซึ่งเป็นช่วงที่ใช้ยาเมฟโฟควินร่วมกับซัลฟาดอกซินและไพริเมทามิน, เมฟโฟควิน และ เมฟโฟควินร่วมกับอาร์ทีซูเนตตามลำดับ

จากผลการศึกษาพบว่า การตอบสนองของเชื้อต่อยาครือโรควินยังคงอยู่ในระดับที่คือต่อยาชนิดนี้ เนื่องจากยังคงได้รับอิทธิพลของครือโรควินจากการใช้ยาในการรักษามาลาเรียสายพันธุ์ไวแวกในบริ

เวณเดียวกัน นอกจากนี้การตอบสนองของเชื้อต่อยาเมฟโฟควินลดลงอย่างต่อเนื่องจากปี 2531 ถึง 2546 รูปแบบของการดื้อข้ามสายพันธุ์เป็นไปในทิศทางเดียวกันระหว่างการตอบสนองต่อยาครอโรควินและควินินรวมทั้งเมฟโฟควินและอาร์ซูเนตด้วย ไม่มีอิทธิพลของการใช้ยาต่อความคงตัวของยีน *pfcr1* ในขณะที่การใช้ยามีอิทธิพลต่อยีนกลายพันธุ์ *pfmdr1* ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนชุดของยีน *pfmdr1* , ความหลากหลายของอัลลีลของยีน *pfmdr1* และการตอบสนองของเชื้อต่อยาในหลอดทดลองได้นำมาวิเคราะห์แบบมัลติวาริเอตพบว่าระดับการดื้อยาของเชื้อต่อยาครอโรควินถูกกำหนดด้วยจำนวนชุดของยีน *pfmdr1* ซึ่งเชื้อมาลาเรียที่มีจำนวนยีนมากกว่า 1 ชุดจะมีระดับการดื้อยาอยู่ในระดับปานกลางในทางตรงกันข้ามกับการศึกษาในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการดื้อยาเมฟโฟควินถูกกำหนดได้ด้วยการศึกษาการกลายพันธุ์ในตำแหน่งที่ 1042 โดยสรุปนโยบายการใช้ยามีผลต่อทั้งการตอบสนองของเชื้อต่อยาและความคงตัวของยีนที่มีการผ่าเหล่ากลายพันธุ์ *pfmdr1* การตรวจเครื่องหมายทางอนุพันธุศาสตร์เพื่อที่จะติดตามการดื้อยานี้จะมีประโยชน์ช่วยในการกำหนดนโยบายการใช้ยาเพื่อหลีกเลี่ยงกลไกการดื้อยาต่อไป.