

**ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์** การศึกษาการทำงานของเอนไซม์แคลเซียม เอ ที พี เอส ที่อยู่ใน เยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดง ซึ่งมีพยาธิสภาพเป็นโรคธาลัสซีเมีย

**ผู้วิจัย** อุดมภักดิ์ ขาลสุวรรณ

**ปริญญา** ปรัชญาคุณฎีบัณฑิต (ชีวเคมี)

**คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์**

ประพนธ์ วิไลรัตน์ Ph. D.

ยงยุทธ ยุทธวงศ์ D. Phil.

ประหยัด โกมารทัต Ph. D.

กวี รัตนบรรณางกูร Ph. D.

**วันที่สำเร็จการศึกษา** 27 พฤษภาคม พ.ศ. 2538

## บทคัดย่อ

โรคธาลัสซีเมียเป็นโรคที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรม มีความผิดปกติในการแตกของเซลล์เม็ดเลือดแดง สาเหตุของโรคเกิดจากมีการสังเคราะห์สายโกลบินอย่างไม่สมดุล มีรายงานว่า เซลล์เม็ดเลือดแดงที่เป็นธาลัสซีเมีย มีแคลเซียมไอออนสะสมอยู่ปริมาณมาก ในเซลล์เม็ดเลือดแดงของคนปกติมีความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนต่ำมาก ซึ่งการควบคุมทำได้โดย 2 กลไก คือ 1. คุณสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์ในการเลือกจำกัดการนำแคลเซียมไอออนเข้าสู่เซลล์ และ 2. การขับแคลเซียมไอออนออกจากเซลล์โดยการทำงานอย่างมีประสิทธิภาพของเอนไซม์ แคลเซียม เอ ที พี เอส ซึ่งฝังตัวอยู่กับเยื่อหุ้มเซลล์

ความผิดปกติของเอนไซม์ เอ ที พี เอส ที่ทำหน้าที่ปั๊มแคลเซียม แสดงให้เห็นได้โดยการศึกษา คุณสมบัติอาร์เรเนียส, การตอบสนองต่อการกระตุ้น

ของกาลโมดุลลิน และความเข้มข้นของแคลเซียมอออน และการเกิดสารตัวกลาง ฟอสโฟเอนไซม์ พบว่า แคลเซียม เอ ที พี เอส จากเซลล์เม็ดเลือดแดงธาลาสซีเมีย ทุกชนิดสูญเสียการตอบสนองต่อกาลโมดุลลิน คุณสมบัติอาร์เรเนียสเปลี่ยนไป กล่าวคือ จุดหักอาร์เรเนียสที่ 32 °ซ หายไป และ ค่าพลังงานของการกระตุ้น ปฏิกิริยาลดลง และ ปุ่มแคลเซียมที่ได้จากธาลาสซีเมียทุกชนิด สูญเสียความสามารถในการเกิดฟอสโฟเอนไซม์อีกด้วย คำสังเกตเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า การทำงานของ เอ ที พี เอส และ การขนส่งแคลเซียม ซึ่งอยู่ต่างตำแหน่งกันบน โมเลกุลของปุ่มแคลเซียม ได้ถูกแยกขาดออกจากกัน

สาเหตุที่ทำให้เกิดความเสียหายแก่ แคลเซียม เอ ที พี เอส ในธาลาสซีเมีย ได้สืบสวนไปยังผลการเกิดภาวะออกซิเดชันโดยอนุมูลอิสระของออกซิเจน จึงได้นำเอาเซลล์เม็ดเลือดแดงปกติ มาทำปฏิกิริยากับสารออกซิเดชันหลายชนิด ได้แก่ เฟนาซีน เมโทซัลเฟต เฟนิลไฮดราซีน เทอร์เชียรีบิวทิลไฮโดรเปอร์ออกไซด์ และ แซนธิน ออกซิเดส แล้วจึงศึกษา คุณสมบัติอาร์เรเนียส การตอบสนองต่อคาร์โมดุลลิน และแคลเซียม ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเอนไซม์จากเม็ดเลือดแดงที่ถูกออกซิไดส์ ด้วยอนุมูลอิสระของออกซิเจนมีการเปลี่ยนคุณสมบัติต่างๆดังกล่าว ไปในลักษณะที่คล้ายกับที่พบในโรคธาลาสซีเมีย

นอกจากนี้จากการทดลองยังได้พบว่าอนุมูลอิสระของออกซิเจนมีผลเพิ่มการนำแคลเซียมเข้าสู่เม็ดเลือดแดงอีกด้วย

ในการศึกษานี้ จึงสรุปว่า การสะสมแคลเซียม ในเซลล์เม็ดเลือดแดงธาลาสซีเมียสามารถเกิดขึ้นได้ ทั้งจากการยับยั้งการทำงานของ แคลเซียม เอ ที พี เอส และการเพิ่มการผ่านของแคลเซียมเข้าเซลล์ ซึ่งเป็นผลสืบเนื่องมาจากการผลิตอนุมูลอิสระของออกซิเจนขึ้นมาภายในเซลล์อย่างมากมาย ภายหลังจากที่ฮีโมโกลบินตกตะกอนจับบนเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดง