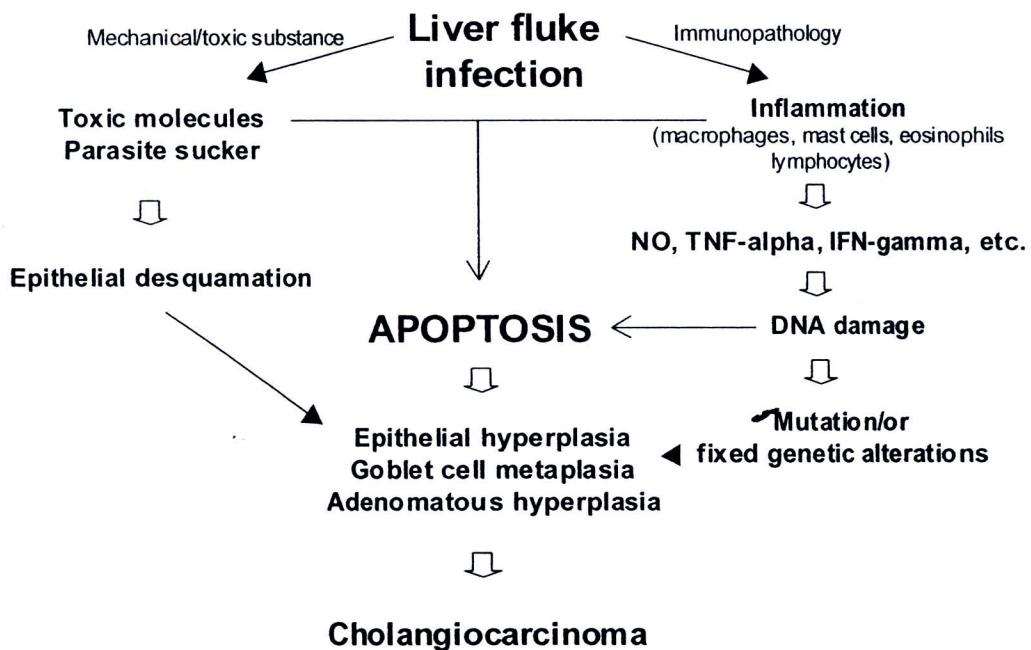


1. ความสำคัญของหัวข้อการวิจัย ข้อปัญหา เหตุผล สมมุติฐาน และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โรคพยาธิใบไม้ตับ (opisthorchiasis) ที่เกิดจากพยาธิ *Opisthorchis viverrini* ยังเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุขในหลายภูมิภาคของเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (IARC, 1994) โดยเฉพาะในประเทศไทยประมาณการล่าสุดพบว่ามีผู้ติดเชื้อทั่วประเทศกว่า 18.5 เปอร์เซ็นต์ (Jongsuksuntigul and Imsomboon, 1998) การติดเชื้อพยาธินี้เกิดจากการรับประทานอาหารประเภทปลาน้ำจืดสุกๆ ดิบๆ ที่มีตัวอ่อนของพยาธิใบไม้ตับ (metacercariae) ตัวอ่อนพยาธิจะเข้าไปเจริญเป็นตัวแก่ภายในท่อน้ำดี ในตับ นอกจากนี้พยาธิตัวแก่อาจพบได้ในถุงน้ำดี ท่อน้ำดีรวมและ ท่อน้ำดีในตับอ่อน (Harinasuta *et al.*, 1984; Sithithaworn *et al.*, 1991) การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับทำให้เกิดพยาธิสภาพในตับและท่อน้ำดีหลายอย่าง เช่น ท่อน้ำดีอักเสบตับโตถุงน้ำดีอักเสบ นิ่วในถุงน้ำดี ดีซ่าน เป็นต้น นอกจากนี้ จากหลักฐานทั้งทางระบาดวิทยาและการศึกษาในสัตว์ทดลองเชื่อว่าพยาธิใบไม้ตับยังเป็นสาเหตุของมะเร็งท่อน้ำดีซึ่งเป็นมะเร็งที่พบได้มากที่สุดโดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย (Thamavit *et al.*, 1978; Haswell-Elkins *et al.*, 1994,b; IARC, 1994; Vatanasapt *et al.* 1999) อย่างไรก็ตามกลไกการเกิดพยาธิสภาพเหล่านี้ในระดับลึกยังมีการศึกษาน้อยมาก โดยเฉพาะทางด้านปฏิสัมพันธ์ระหว่างโฮสต์และพยาธิ (host-parasite interaction) และ กลไกที่ตัวพยาธิทำให้เซลล์เยื่อท่อน้ำดีถูกทำลายหรือผิดปกติ และนำไปสู่การเกิดโรคต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง



รูปที่ 1 สมมุติฐานกลไกการเกิดโรคพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดี

จากการประมวลองค์ความรู้ที่ได้จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่ากลไกการเกิดพยาธิสภาพของท่อน้ำดีในโรคติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ แบ่งได้เป็น 2 แนวทางใหญ่ๆ (รูปที่ 1) คือ การทำลายที่เกิดจากตัวพยาธิโดยตรง (Mechanical irritation) เช่น การเกาะดูดของปากดูด (sucker) ของพยาธิ การเสียดสีของตัวพยาธิ หรือ ตัวพยาธิอาจปล่อยสารพิษไปทำลายเซลล์เยื่อท่อน้ำดี เป็นต้น และ กลไกทางอ้อม ในพยาธิวิทยา (Immunopathology) (Bhamarapravati *et al.*, 1978; Vatanasapt *et al.*, 1999) กลไกอย่างแรกที่เกิดจากการดูดกัดของปากดูด หรือ

การเสียดสีทำให้เซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีขาดหรือหลุดลอก มีหลักฐานชัดเจนจากการตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ส่วนกลไกการทำลายเซลล์ของสารพิษจากตัวพยาธิยังไม่เคยมีรายงานการศึกษามาก่อนเลย สำหรับกลไกด้านภูมิคุ้มกันในพยาธิวิทยา เมื่อเร็ว ๆ นี้ได้มีการศึกษาที่แสดงให้เห็นชัดเจนว่าการอักเสบรอบท่อน้ำดีซึ่งเป็นพยาธิสภาพที่สำคัญที่พบในการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับเป็นผลจากการที่เซลล์อักเสบต่างๆ ตอบสนองต่อแอนติเจนของพยาธิที่แทรกซึมเข้าไปในเซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีและบริเวณโดยรอบซึ่งสามารถตรวจพบได้ตั้งแต่วันแรกๆ ของการติดเชื้อ (Sripa and Kaewkes, 2000) การที่เซลล์อักเสบต่างๆ แทรกซึมเข้าไปรอบๆ ท่อน้ำดีทำให้มีการปลดปล่อยไซโตไคน์ (Cytokines) และเอนไซม์ต่างๆ มากมาย อันอาจนำไปสู่การเกิดการทำลายในระดับเซลล์ และ ดีเอ็นเอ (DNA) ของเซลล์ได้ในลักษณะของ oxidative damage (Tamir and Tannenbaum, 1996; Jaiswal et al., 2000; Marnett, 2000) ดังตัวอย่างที่มีการศึกษาในโรคท่อน้ำดีอักเสบแบบ Primary sclerosing cholangitis (Jaiswal et al., 2001) และเซลล์ตับในโรคไวรัสตับอักเสบ (Hagen et al., 1994; Shimoda et al., 1994) เซลล์ที่ได้รับสารพิษและ/หรือมี Cell/DNA damage จากผลของไซโตไคน์ในกระบวนการอักเสบสามารถชักนำไปสู่การตายของเซลล์ โดยเฉพาะการตายของเซลล์ที่มีการตั้งโปรแกรมไว้ล่วงหน้าซึ่งเรียกว่า apoptosis หากเซลล์ที่มีการเปลี่ยนแปลงของ ดีเอ็นเอ แล้วไม่เกิด apoptosis ทำให้เซลล์ที่มีความผิดปกติของ ดีเอ็นเอ /ยีน นี้แบ่งตัวต่อไปอาจนำไปสู่การเกิดมะเร็งในที่สุด ซึ่งเป็นกลไกซึ่งเป็นที่ยอมรับในการเกิดมะเร็งจากการอักเสบจากการติดเชื้อหรือจากสาเหตุอื่นๆ (Tamir and Tannenbaum, 1996; Lowe and Lin, 2000; Xia and Tally, 2001)

ในปัจจุบันการศึกษาเกี่ยวกับชีวโมเลกุลของตัวพยาธิเองนั้นมีน้อยมาก จากการสืบค้นข้อมูลของยีนและโปรตีนในฐานข้อมูล (GenBank) ของ National center for Biotechnology Information, National Institute of Health, USA พบว่ามีไม่เกิน 20 ยีนที่ได้รายงาน (ข้อมูล ณ วันที่ 30 ธันวาคม พ.ศ. 2548) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับหนอนพยาธิอื่นๆ แล้วไม่ว่าจะเป็นพยาธิใบไม้เลือด หรือแม้กระทั่งพยาธิใบไม้ตับ *Clonorchis sinensis* ซึ่งมีความใกล้เคียงกันมาก ข้อมูลเกี่ยวกับยีน และโปรตีนที่มีอยู่ในตัวพยาธิเองจะเป็นข้อมูลที่สำคัญมากในการช่วยทำความเข้าใจถึงชีวโมเลกุลของตัวพยาธิที่อาจจะนำไปถึงการกำจัดพยาธิ หรือป้องกันการติดเชื้อได้ และสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุม ป้องกันโรค หรือรวมทั้งใช้ในการอธิบายกลไกการเกิดพยาธิสภาพของการติดเชื้อพยาธิจนนำไปสู่การก่อมะเร็งท่อน้ำดีได้ เช่น โมเลกุลที่กระตุ้นให้เกิด immune response อาจนำไปใช้เป็นวัคซีน (Loukas et al., 2005) หรือเครื่องมือในการตรวจวินิจฉัยโรค (El-Sayed et al., 1998) เป็นต้น

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อสร้าง cDNA library ของพยาธิใบไม้ตับระยะตัวเต็มวัย
2. เพื่อให้ได้ข้อมูลของยีนที่แสดงออกของพยาธิใบไม้ตับ
3. เพื่อให้ได้โคลนของยีนที่ได้นำไปศึกษาและสามารถนำมาใช้ประโยชน์ต่อไป

ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้มีเป้าหมายในการสร้าง Complimentary DNA library (cDNA library) ของพยาธิใบไม้ตับระยะตัวเต็มวัยโดยทำการป้อนหนูด้วยระยะติดตัวของพยาธิ *O. viverrini* ซึ่งได้มาจากปลาขาวในแหล่งน้ำธรรมชาติ จำนวน 50 metacercaria ต่อแฮมสเตอร์ 1 ตัว เลี้ยงแฮมสเตอร์ไว้เป็นเวลา 3 เดือน แล้วเก็บตัวตัวเต็มวัยจากแฮมสเตอร์ นำตัวเต็มวัยของพยาธิไปสกัด total RNA เพื่อนำไปสร้าง cDNA library โดยใช้ cDNA