

บทที่ 1

บทนำ

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

พยาธิใบไม้ตับที่เป็นสาเหตุของโรค opisthorchiasis/clonorchiasis ในคนประกอบด้วย หนอนพยาธิใน genus *Opisthorchis*, *Clonorchis* ซึ่งพบระบาดในภูมิภาคต่างๆ ทั่วโลก (Bunnag et al., 1987) พยาธิใบไม้ตับใน genus *Opisthorchis* ได้แก่ *Opisthorchis viverrini* และ *O. felineus* มีรูปร่าง การแพร่พันธุ์และวงจรชีวิตคล้ายคลึงกัน โดยเฉพาะ *O. viverrini* ระบาดอยู่ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้บริเวณสองฝั่งแม่น้ำโขงตอนล่าง ได้แก่ ประเทศไทย ลาว กัมพูชาและตอนใต้ของเวียดนาม (Preuksaraj, 1984; Le et al., 2006) พยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* พบครั้งแรกในประเทศไทย จากการผ่าศพที่จังหวัดเชียงใหม่ ปี ค.ศ. 1911 ต่อมาพบพยาธิใบไม้ตับจำนวนมากจากการผ่าชันสูตรศพที่จังหวัดร้อยเอ็ดและรายงานว่าเป็นพยาธิ *O. felineus* แต่เมื่อมีการศึกษาอย่างละเอียดพบว่า เป็นพยาธิใบไม้ตับชนิด *O. viverrini* (Sadun, 1955) จากผลการสำรวจความชุกของผู้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับชนิดนี้ในประเทศไทยพบค่าเฉลี่ยความชุกมากที่สุดในภาคเหนือประมาณ 19.3% รองลงมาคือภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบประมาณ 15 % และในภาคกลางพบน้อยที่สุดประมาณ 3.8% แต่ไม่พบการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในภาคใต้ (Jongsuksantigul, 2003)

ผู้ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับส่วนใหญ่มีจำนวนพยาธิในร่างกายน้อยจึงมักไม่แสดงอาการ ผู้ที่ติดเชื้อในระดับปานกลาง มีอาการปวดท้องเป็นครั้งคราว อาการไม่รุนแรงแต่เป็นเรื้อรัง และอาจมีอาการอื่นร่วมด้วย เช่น เบื่ออาหาร ปวดท้อง ท้องอืด เป็นต้น ผู้ป่วยที่เป็นเรื้อรังหรือมีอาการรุนแรงพบว่ามีอาการของท่อน้ำดีอักเสบเป็นประจำ เช่น ปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน และมักพบว่ามีอาการตัวเหลืองเนื่องจากท่อน้ำดีอุดตัน เกิดนิ่วในถุงน้ำดีและอาจเกิดมะเร็งในท่อน้ำดีได้ (Bunnag, Harinasuta, 1984; วิฑูรย์ ไวยนนท์, พีรพรรณ ดันอารีย์, 2546) จากการศึกษาทางระบาดวิทยาและการทดลองในห้องทดลองพบว่าพยาธิใบไม้ตับชนิดนี้เป็นปัจจัยสำคัญของการเกิดมะเร็งท่อน้ำดี (Kurathong et al., 1985; Haswell-Elkins et al., 1992, 1994) โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่นจังหวัดขอนแก่นมีอุบัติการณ์สูงในคนที่อายุมากกว่า 35 ปี สูงถึง 93.8 ถึง 317.6 ต่อประชากร 100,000 person-year (Sriampom et al., 2004).

พยาธิใบไม้ตับชนิดนี้ติดต่อจากการรับประทานอาหารที่ทำจากปลาดิบในตระกูลปลาตะเพียน เช่น ก้อยปลา ลาบปลา ส้มปลา จ่อมปลาน้อย เป็นต้น เมื่อคนบริโภคเนื้อปลาที่ปนเปื้อนตัวอ่อนระยะเมตาเซอร์คาเรียของพยาธิเข้าไป ตัวอ่อนที่มีถุงหุ้ม (encyst metacercaria) จะถูกย่อยในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น ได้ตัวอ่อนเรียกว่า excysted metacercaria จะเดินทางผ่านท่อน้ำดีรวม (common bile duct) คืบคลานต่อไปยังท่อน้ำดีภายในตับ (intra-hepatic duct) (Kaewkes, 2003) ออค์ซัยและเจอร์ญเติบโตจนเป็นตัวเต็มวัย (adult)

โดยทั่วไปผิวของพยาธิตัวแบนมีโครงสร้างที่เกี่ยวข้องกับการรับความรู้สึก (sensory papilla) จำนวนมาก (Funijo et al., 1979; Li et al., 1991) มีการศึกษา ทั้งรูปร่างลักษณะและการจัดเรียงตัวของ papilla ในระยะต่างๆ ของพยาธิตัวแบน (platyhelminth) ซึ่งมีนักวิจัยสนใจศึกษาการจัดเรียงตัวของ papilla ด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยการย้อม silver nitrate ในระยะเซอร์คาเรีย เช่น *Himasthla secunda*, *Echinostoma revolutum*, *Notocotylus imbricatus*, *Philophthalmus distomatosa*, *Echinoparyphium* sp., *Allopodocotyle* sp. และ *Echinostoma caproni* (Chapman, Wilson, 1970; Fried, Fujino, 1987; Dimitrov et al., 1998, 2000, 2001; Bogue, Caira, 2001; Nakano et al., 2003) จากการศึกษาการกระจายตัวของ papilla ที่ย้อมติด silver nitrate พบว่ามีลักษณะกลมเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.6 ไมโครเมตร ติดสีน้ำตาลดำ ตรงกลางเม็ดติดสีจางๆ การกระจายตัวของ papilla สมมาตรกันทั้งสองข้าง (Chapman, Wilson, 1970)

การศึกษารูปร่างลักษณะ ultrastructure ของ sensory papilla บนผนังลำตัวของพยาธิในกลุ่มพยาธิใบไม้ตับ ชนิด *O. viverrini*, *O. felineus*, *Clonorchis sinensis* ระยะเมตาเซอร์คาเรีย พบว่ามีทั้งแบบเดี่ยว และเป็นกลุ่ม มีรูปร่างลักษณะเป็น cupola-shaped และ conoid papilla แบ่งเป็น 4 แบบ คือ ciliated knoblike papilla, non-ciliated platelike papilla พบทั้งด้านหลังด้านท้อง และด้านข้างของลำตัวพยาธิ ส่วน non-ciliated papilla เป็นปุ่มนูนพบบริเวณ oral และ ventral sucker และ bulbous projection พบเฉพาะในการศึกษาด้วย transmission electron microscope (Fujino et al., 1979; Ivanskikh, 1993; Apinhasmit et al., 1998) และ ระยะเซอร์คาเรียของ *Stictodora fuscum* (Abdul-salam et al., 2000)

โครงสร้างภายในของ papilla ที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านในพยาธิใบไม้ในกระเพาะอาหารของ *Nicolla gallica*, *Echinostoma revolutum*, *Crepidostomum* sp., *Bunodera* sp. และ *Crepidostomum metoecus* (Pariselle A, Martricon Gondran M, 1985; Zd'arska, 1992; Bogue, Caira, 2001; Zd'arska, Nebesarova, 2003, 2004) พบว่า papilla มีโครงสร้างภายในคล้ายกับเซลล์ประสาทรับความรู้สึก (sensory receptor) และเชื่อว่าโครงสร้างดังกล่าวเป็นตัวสำคัญที่นำพยาธิเข้าสู่โฮสต์กลางหรือการเคลื่อนที่เข้าสู่ที่อยู่สุดท้าย (final habitat) ในโฮสต์เฉพาะ sensory papilla ในพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จึงน่าจะมีความสำคัญเกี่ยวข้องกับการเดินทางของเมตาเซอร์คาเรียมาตามท่อน้ำดีเพื่อเข้าสู่ท่อน้ำดีในตับ แม้จะมีการศึกษา sensory papilla ของพยาธิใบไม้ตับจำนวนมากในระยะตัวอ่อนอื่นๆ แต่รายงานการศึกษาในระยะตัวอ่อนเมตาเซอร์คาเรียยังมีน้อย และยังไม่มียางานเกี่ยวกับการจัดเรียงตัวของ sensory papilla ในพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะตัวอ่อนเมตาเซอร์คาเรียและการศึกษา ultrastructure ของ sensory papilla ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษารูปร่างลักษณะและการจัดเรียงตัวของ sensory papilla โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) และศึกษาโครงสร้างภายในของ sensory papilla โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope, TEM) รวมทั้งการย้อมด้วย silver nitrate แล้วศึกษาภายใต้

กล้องจุลทรรศน์ธรรมดา ผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการที่จะนำไปสู่ การศึกษาหน้าที่ การทำงาน การตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อม และการเหนี่ยวนำเมตาเซอ์คาร์เรียเดินทางเข้าสู่ท่อน้ำดี หรืออาจนำไปใช้ในการศึกษาค้นคว้าหาหาที่มีประสิทธิภาพในการทำลาย sensory papilla ที่เป็นตัวเหนี่ยวนำเมตาเซอ์คาร์เรียให้ เดินทางเข้าสู่ท่อน้ำดี

2. วัตถุประสงค์การศึกษา

เพื่อศึกษาเมตาเซอ์คาร์เรียของพยาธิใบไม้ตับชนิด *O. viverrini* ดังนี้

2.1 รูปแบบการจัดเรียงตัวของ sensory papilla บนลำตัวของเมตาเซอ์คาร์เรียด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา

2.2 รูปร่างลักษณะ ชนิด และการจัดเรียงตัวของ sensory papilla ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

2.3 Ultrastructure ของ sensory papilla แต่ละชนิดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

3. ขอบเขตและข้อจำกัดของงานวิจัย

เป็นการศึกษาที่กระทำภายในห้องปฏิบัติการ โดยศึกษารูปร่าง, การจัดเรียงตัว และ ultrastructure ของ sensory papilla ของพยาธิใบไม้ตับระยะตัวอ่อนเมตาเซอ์คาร์เรียที่ได้จากการย่อยเนื้อปลาที่ติดเชื้อจากธรรมชาติด้วย pepsin และใช้ trypsin ย่อยถุงหุ้ม เพื่อให้ตัวอ่อนระยะเมตาเซอ์คาร์เรียออกจากถุงหุ้ม

4. คำจำกัดความและนิยามศัพท์เฉพาะ

Adult	หมายถึง ตัวแก่หรือตัวเต็มวัย
Anterior	หมายถึง ด้านหน้า, อยู่ข้างหน้า
Body wall	หมายถึง ผนังลำตัวของพยาธิ
Bulbous ending	หมายถึง โครงสร้างที่มีลักษณะเป็นกระเปาะของ papilla
Cilium	หมายถึง โครงสร้างรูปยาว เคลื่อนไหวได้ ภายในประกอบด้วย ไมโครทิวบูลเรียงตัวอยู่รอบนอก 9 คู่ และตรงกลาง 1 คู่
Definitive host	หมายถึง โฮสต์เฉพาะ หรือโฮสต์ตัวสุดท้าย , โฮสต์ที่ปรสิตรมีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ
Dorsal side	หมายถึง ด้านหลังของลำตัว
Excretory pore	หมายถึง รูขับถ่ายของเสียออกนอกร่างกาย
Host	หมายถึง โฮสต์หรือสิ่งมีชีวิตที่ให้ที่อยู่อาศัยและอาหารแก่สิ่งมีชีวิตชนิดอื่นที่เล็กกว่า

Intermediate host	หมายถึง โฮสต์กลาง, โฮสต์ที่มีการเจริญเติบโตของตัวอ่อนของปรสิตแต่ไม่ถึงตัวเต็มวัย หรือโฮสต์ที่มีปรสิตมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ
Metacercaria	หมายถึง ตัวอ่อนที่มีถุงหุ้ม เป็นระยะติดต่อ
Oral sucker	หมายถึง อวัยวะที่ใช้ยึดเกาะเป็นกล้ามเนื้อแข็งแรง ลักษณะรูปถ้วยอยู่บริเวณรอบ ๆ ปาก ซึ่งติดต่อกับทางเดินอาหารภายในตัว
Papilla	หมายถึง ปุ่มรับความรู้สึกของพยาธิ
Parenchyma	หมายถึง ส่วนสำคัญของอวัยวะหรือส่วนที่ปฏิบัติหน้าที่ของอวัยวะ, เนื้อแท้ของอวัยวะ
Posterior	หมายถึง ด้านท้ายหรือส่วนปลาย
Spine	หมายถึง หนามแหลมที่ยื่นออกจากผนังลำตัว
Tegument	หมายถึง ผนังลำตัวของพยาธิซึ่งเป็นเซลล์ที่ยังมีชีวิต
Ventral side	หมายถึง ด้านท้องของลำตัว
Ventral sucker	หมายถึง อวัยวะที่ใช้ยึดเกาะติดกับตัวโฮสต์เป็นกล้ามเนื้อที่แข็งแรง ลักษณะรูปถ้วยอยู่ทางด้านท้อง

5. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ทราบรูปร่างลักษณะและการเรียงตัวของ sensory papilla ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะเมตาเซอร์คาเรีย
2. ทราบลักษณะโครงสร้างภายนอกและภายในของ sensory papilla ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะเมตาเซอร์คาเรียในระดับ ultrastructure
3. เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อนำไปสู่การศึกษาหน้าที่ของ sensory papilla ของพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* ระยะเมตาเซอร์คาเรีย