

วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการแสดงออกในระดับยีนของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิด apoptosis ในหนูแฮมสเตอร์ที่ติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับและหลังการให้พราซิควานเทล (praziquantel) ที่เวลาต่าง ๆ กัน รวมทั้งการติดเชื้อและรักษาซ้ำ โดยทำการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับในหนูแฮมสเตอร์และให้ praziquantel เพื่อศึกษาพยาธิสภาพหลังการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับและหลังการได้รับยา praziquantel โดยการย้อมสี hematoxylin and eosin (H&E) ศึกษาระดับการแสดงออกของยีนต่าง ๆ ด้วยวิธี reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) และ real time RT-PCR ศึกษา immunohistostaining ของ excretory and secretory (ES) antigen ของพยาธิใบไม้ตับเพื่อเป็นการยืนยันว่าหลังการได้รับยาแล้วมีการแตกกระจายของ antigen ของพยาธิใบไม้ตับและใช้ TUNEL assay เพื่อศึกษาการตายเซลล์ที่เกิดขึ้นที่เซลล์ใด

ผลการการศึกษาการเปลี่ยนแปลงด้านพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับพบว่าหนูทุกกลุ่มที่มีการติดเชื้อพยาธิใบไม้ในตับมีเซลล์อักเสบ (inflammatory cells) จำพวก eosinophils, neutrophils และ mononuclear cells รอบๆผนังท่อทางเดินน้ำดีที่มีพยาธิอาศัยอยู่ โดยจำนวน inflammatory cells เพิ่มขึ้นซึ่งสัมพันธ์กับระยะเวลาของการติดเชื้อโดยจะเริ่มสูงอย่างเด่นชัดที่ 21 วันและสูงที่สุดที่ 30 วันและค่อยๆลดต่ำลงที่ 60 วันและ 90 วันตามลำดับ และสำหรับในกลุ่มที่รักษาด้วยยา praziquantel พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของเซลล์อักเสบที่ชั่วโมงที่ 6 และลดลงในชั่วโมงที่ 24 หลังการรักษา การศึกษา immunohistostaining ของ ES antigen ของพยาธิใบไม้ตับพบมี positive staining ที่ตัวแปร sit epithelial bile ducts และ inflammatory cells การศึกษาในระดับ mRNA ด้วยวิธี RT-PCR และ real time RT-PCR ได้ผลสอดคล้องกันคือ พบการแสดงออกของยีน Bcl-2-associated protein X (BAX), caspase 9, p53, และ protein kinase B (PKB) ในทุกกลุ่มการทดลอง แต่ระดับการแสดงออกของยีนในแต่ละกลุ่มการทดลองนั้นมีค่าแตกต่างกันดังนี้ รูปแบบการแสดงออกของยีน BAX, PKB และ p53 ทั้งในกลุ่มที่ติดเชื้อพยาธิหลังจากที่มีการติดเชื้อพยาธิระดับการแสดงออกของยีนทั้งสามชนิดจะเพิ่มขึ้นประมาณวันที่ 14 และเพิ่มขึ้นสูงที่สุดในวันที่ 30 และลดลงหลังจากวันที่ 60 ของการติดเชื้อ ในหนูที่ติดเชื้อเป็นเวลา 90 วันและรักษาพยาธิใบไม้ตับด้วยยา praziquantel ที่เวลาต่าง ๆ กัน พบว่าหลังการรักษาในชั่วโมงที่ 6-12 มีการแสดงออกของ apoptosis-related genes เพิ่มขึ้นและลดลงที่ชั่วโมงที่ 24 ผลของ TUNEL assay พบว่ามี apoptotic cell ที่นิวเคลียสของเซลล์ท่อทางเดินน้ำดีและเซลล์อักเสบ สำหรับการการศึกษาทางด้านพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับที่มีการติดเชื้อซ้ำและรักษาด้วยยา praziquantel พบว่าได้ผลไม่แตกต่างกันจากการติดเชื้อครั้งแรกแล้วรักษาซ้ำที่เวลาต่าง ๆ กันยกเว้น มี inflammatory cells สูงมากกว่าการติดเชื้อครั้งแรกและมีผนังท่อทางเดินน้ำดีที่หนากว่าเนื่องจากระยะเวลาในการติดเชื้อนานและติดเชื้อครั้งที่ 2 ถึงแม้ว่า praziquantel จะมีประโยชน์ในการรักษาโรคพยาธิใบไม้ตับ แต่หลังการรักษาอาจมีผลทางอ้อมในช่วงระยะเวลาสั้นๆ

The aim of this study was to investigate the apoptosis-related gene expression in hamster opisthorchiasis and after praziquantel treatment at various times including reinfection and retreatment. Hamsters were infected with *Opisthorchis viverrini* metacercariae then treated with praziquantel. Histopathological analyses of liver tissues were studied by staining the sections with hematoxylin and eosin using light microscopy. The expression of apoptosis-related genes [i.e., Bcl-2-associated protein X (BAX), caspase 9, p53, and protein kinase B (PKB)] was detected by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and real-time RT-PCR. The immunohistostaining of excretory and secretory (ES) antigen of *O. viverrini* used to confirm the parasite broken and antigen spread out. TUNEL assay was used to localize the apoptotic cell death.

The histopathological changes of liver tissues show the aggregation of inflammatory cells (i.e., eosinophils, neutrophils and mononuclear cells) surrounding the hepatic bile ducts were observed in all infected hamsters. The number of inflammatory cells is correlated with the time of infection, the highest was on day 30 and gradually decreased on day 60 and 90 respectively. In treatment group, the highest was 6 hr post treatment and gradually decreased at 24 hr post treatment. The immunohistochemical staining shows the positive staining at the parasite bodies, epithelial bile duct and inflammatory cells. TUNEL assay was positive reaction at inflammatory cells and nuclei of epithelial bile ducts. The mRNA expression results show that BAX, Akt/PKB, p53, and caspase 9 expression were observed in all groups but difference in expression level. Those genes significantly increased on day 30 post infection and gradually decreased on day 60 and 90 respectively. In treatment groups, Those genes significantly increased at 6 hr post treatment and gradually decreased nearly to the uninfected control and 24 hr post treatment, perhaps due to a decrease in inflammatory cells. The results of reinfection and retreatment were the same as that of single infection and treatment excepted the inflammatory cells were higher and fibrosis surrounding the hepatic bile duct was thicker. Although using praziquantel has an advantage in killing parasites, our results show the effect of praziquantel treatment from host immune response that induces increased apoptosis-related genes in the short term.