

บทที่ 5

การอภิปรายผลและสรุปการวิจัย

5.1 การจำแนกชนิดแอนติเจนจากพยาธิตัวจิ๋ว^{cv}

5.1.1 การจำแนกชนิดแอนติเจนของพยาธิตัวจิ๋ว โดยวิธี one dimensional gel electrophoresis และ western blot analysis

ผลการศึกษครั้งนี้เพียงเพื่อช่วยสนับสนุนผลการจำแนกแอนติเจนของพยาธิตัวจิ๋วโดยวิธี two dimensional gel electrophoresis โดยให้มีสภาพในการทดลองคล้ายคลึงกัน การจำแนกแอนติเจนโดยวิธี isoelectric focusing เมื่อนำมาข้อมสี coomassie brilliant blue พบว่ามีแถบโปรตีนที่ pH ประมาณ 8.5 ในแอนติเจนทั้ง 3 ชนิด โดยแถบโปรตีนของแอนติเจนที่สกัดจากพยาธิตัวแก่เพศผู้ค่อนข้างจางมาก แต่เมื่อทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจิ๋วพบว่า มีแถบปฏิกิริยาที่ pH ประมาณ 8.5 เฉพาะแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้าวหน้าเท่านั้น และในการจำแนกแอนติเจนโดยวิธี SDS-PAGE เมื่อข้อมสี coomassie brilliant blue พบว่ามีแถบโปรตีนที่น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 24 kD ในแอนติเจนทั้ง 3 ชนิด และเมื่อทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยพยาธิตัวจิ๋ว พบว่ามีแถบปฏิกิริยาที่โปรตีนน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 24 kD ในแอนติเจนทั้ง 3 ชนิดเช่นกัน และเมื่อนำเฉพาะแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้าวหน้าของพยาธิตัวจิ๋วมาทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจิ๋วจำนวน 6 ราย และซีรัมผู้ป่วยที่มีอาการทางคลินิกคล้ายติดเชื้อพยาธิตัวจิ๋ว 3 ราย พบว่าเกิดปฏิกิริยาที่แถบโปรตีนแอนติเจนน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 24 kD ทุกราย แต่ไม่เกิดปฏิกิริยาที่แถบโปรตีนดังกล่าว กับซีรัมผู้ป่วยโรคพยาธิหอยโข่ง 1 ราย, ผู้ป่วยโรคพยาธิคืดหมู 1 ราย และซีรัมรวมของคนปกติ 1 ตัวอย่าง

จากผลการศึกษาข้างต้น แสดงว่าแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 24 kD และมีค่า pI ประมาณ 8.5 ของแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้าวหน้าของพยาธิตัวจิ๋ว น่าจะมีความจำเพาะที่จะนำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคพยาธิตัวจิ๋วในคน ซึ่งได้ผลการศึกษาเหมือนกับการศึกษาของ Nopparatana *et al.*, 1991 สำหรับแอนติเจนที่สกัดจากพยาธิตัวแก่

เพศผู้และเพศเมีย แม้จะมีโปรตีนแอนติเจนที่น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 24 kD แต่ไม่ใช่แอนติเจนที่มีค่า pI ประมาณ 8.5 น่าจะไม่มีเฉพาะและความไวในการใช้วินิจฉัยโรคพยาธิตัวจืด ซึ่งตรงกับการศึกษาของ Morakote *et al.*, 1991 ที่พบว่าแอนติเจนที่เตรียมจากพยาธิตัวแก่ ให้ผลการตรวจโดยวิธี ELISA ทั้งความไวและความจำเพาะต่ำกว่าแอนติเจนที่เตรียมจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้นน้ำ

5.1.2 การจำแนกชนิดแอนติเจนพยาธิตัวจืด โดยวิธี two dimensional gel electrophoresis และ western blot analysis

เมื่อนำ 2D-PAGE gel ที่เตรียมจากแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้นน้ำของพยาธิตัวจืด มาย้อมด้วย silver stain พบว่า มีแถบหรือจุดโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 23-25 kD จำนวน 5 ชนิด ซึ่งมีค่า pI 5.2, 5.7, 6.4, 6.9 และ 8.5 สำหรับของแอนติเจนที่เตรียมจากพยาธิตัวแก่เพศผู้ มีแถบหรือจุดโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 23-25 kD จำนวน 3 ชนิด ซึ่งมีค่า pI ประมาณ 4.6, 7.9 และ 9.2 และแอนติเจนที่เตรียมจากพยาธิตัวแก่เพศเมีย มีจำนวน 7 ชนิด มีค่า pI ประมาณ 4.4, 5.6, 6.6, 7.0, 7.5, 8.0 และ 8.7 ซึ่งตรงกับการศึกษาโดยวิธี isoelectric focusing ที่พบว่ามีแถบโปรตีน ที่ pH ประมาณ 8.5 ในแอนติเจนทั้ง 3 ชนิด แต่ 2D-PAGE gel มีแถบหรือจุดโปรตีน ที่มีค่า pI ประมาณ 8.5 ในแอนติเจนจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้นน้ำ และมีแถบหรือจุดโปรตีนที่มีค่า pI ประมาณ 8.7 ในแอนติเจนที่เตรียมจากพยาธิตัวแก่เพศเมีย แต่ไม่มีในแอนติเจนที่เตรียมจากพยาธิตัวแก่เพศผู้ ซึ่งเป็นการสนับสนุนข้อมูลใน IEF gel ที่มีแถบโปรตีนที่มีค่า pI 8.5 ที่จางมากในแอนติเจนที่เตรียมจากพยาธิตัวแก่เพศผู้

เมื่อนำแผ่น nitrocellulose ที่ย้ายมาจาก 2D-PAGE gel ที่มีแอนติเจนเตรียมจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้นน้ำ มาทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจืด 6 ราย พบว่ามีแถบหรือจุดโปรตีน ที่มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 23-25 kD และค่า pI 8.3-8.5 กับซีรัม 5 ตัวอย่าง ไม่พบเพียง 1 ตัวอย่าง ซึ่งอาจเนื่องจากความแรงหรือปริมาณของแอนติบอดีในซีรัมน้อยกว่าตัวอย่างอื่น จากสาเหตุของการเก็บตัวอย่างเลือดในช่วงการติดเชื้อ และระยะเวลาที่พยาธิอยู่ในร่างกาย อาจไม่นานเพียงพอที่จะกระตุ้นให้สร้างแอนติบอดีได้สูงพอจนเห็นปฏิกิริยาบนแผ่น nitrocellulose และเมื่อทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยที่มีอาการทางคลินิกคล้ายการติดเชื้อพยาธิตัวจืดซึ่งทั้ง 5 รายมีอาการทางสมอง พบว่ามีแถบหรือจุดโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 23-25 kD และมีค่า pI 8.3-8.5 เพียง 4 ตัวอย่าง อาจเนื่องจากความแรงหรือปริมาณของแอนติบอดีน้อย

หรืออาจไม่ใช่การติดเชื้อพยาธิตัวจิ๊ด และ ไม่พบแถบหรือจุดโปรตีนนี้เมื่อทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยโรคพยาธิหอยโข่ง, โรคพยาธิคืดหนูและซีรัมรวมของคนปกติ (ตารางที่ 9)

สำหรับแผ่น nitrocellulose ที่ย้ายโปรตีนมาจาก 2D-PAGE gel ที่มีแอนติเจนที่สกัดจากพยาธิตัวแก่เพศผู้และเพศเมีย มาทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจิ๊ด 3 ราย, ผู้ป่วยโรคพยาธิหอยโข่ง 1 ราย, ผู้ป่วยพยาธิคืดหนู และซีรัมรวมคนปกติ 1 ตัวอย่าง พบว่า ไม่มีแถบหรือจุดโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 23-25 kD และค่า pI ระหว่าง 8.3-8.5 ในทุกตัวอย่าง

5.2 การศึกษาเปรียบเทียบโปรตีนที่สกัดจากพยาธิตัวจิ๊ด

เมื่อจำแนกชนิด โปรตีนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้วหน้า, ตัวแก่เพศผู้และตัวแก่เพศเมียของพยาธิตัวจิ๊ด โดยวิธี two dimensional gel electrophoresis แล้วนำมาย้อมสี silver stain พบว่า แถบหรือจุดโปรตีนที่อยู่ในช่วงน้ำหนักโมเลกุล 30-43 kD และค่า pI ระหว่าง 4.65-7.0 ของโปรตีนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้วหน้า จะมีปริมาณมากกว่าโปรตีนที่สกัดจากตัวแก่เพศผู้และเพศเมีย (ภาพที่ 8 และภาพที่ 10) ซึ่งอาจจะเป็นส่วนของโปรตีนที่ช่วยในการแยกความแตกต่างระหว่างตัวอ่อนพยาธิกับตัวแก่พยาธิตัวจิ๊ด สำหรับตัวแก่เพศผู้และเพศเมียอาจแยกความแตกต่างกันในแถบหรือจุดโปรตีนที่น้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 20-30 kD ซึ่งตัวแก่เพศผู้จะไม่มีแถบหรือจุดโปรตีนที่มี pI ระหว่าง 6.0-7.0 (ภาพที่ 10)

5.3 สรุปผลการศึกษาวิจัย

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้น โปรตีนหรือโพลีเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 23-25 kD และมีค่า pI ระหว่าง 8.3-8.5 ของแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้วหน้าของพยาธิตัวจิ๊ด *G. spinigerum* น่าจะเป็นแอนติเจนที่จำเพาะสำหรับการวินิจฉัยโรคพยาธิตัวจิ๊ดในคน ซึ่งไม่พบในแอนติเจนที่สกัดจากพยาธิตัวแก่เพศผู้และเพศเมียของพยาธิตัวจิ๊ด

ตารางที่ 9 แถบหรือจุดโปรตีนของแอนติเจนที่สกัดจากตัวอ่อนระยะที่ 3 ขึ้นก้านหน้าของพยาธิตัวจิ๋วที่น้ำหนักโมเลกุล 23-25 kD และค่า pI 8.3-8.5 ที่ทำปฏิกิริยากับซีรัมผู้ป่วยต่างๆ

แถบหรือจุดโปรตีน	ผู้ป่วยโรคพยาธิตัวจิ๋ว (6 ราย)	ผู้ป่วยที่มีอาการทางคลินิก (5 ราย)	ผู้ป่วยโรคหอยโข่ง (1 ราย)	ผู้ป่วยโรคติดเชื้อ (1 ราย)	ซีรัมรวมคนปกติ (1 ตัวอย่าง)
MW 23-25 kD และ pI 8.3-8.5	5 (83.3%)	4 (80%)	0	0	0