

บทที่ 2

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

รูปร่างของพยาธิตัวเต็มวัยชนิดนี้คล้ายาบบี้ ทางด้านท้ายค่อนข้างกลมมน และเรียวเล็กลงทางด้านหัว ลำตัวบางาสความยาวลำตัวเฉลี่ยประมาณ 7.4 มิลลิเมตร (5.5-9.5 มม.) ความกว้างเฉลี่ยประมาณ 1.47 มิลลิเมตร (0.77-1.65 มม.) (Wykoff et al., 1965)

ขณะมีชีวิตอยู่ วนท่อน้ำดี สีของลำตัวค่อนข้างแดง ผิวด้านนอก เรียบ มี sucker ขนาดเท่าๆ กัน 2 อัน เส้นผ่าศูนย์กลาง ประมาณ 0.25 มิลลิเมตร มี sucker อันแรกอยู่ที่ปลายด้านหน้าสุดของ ลำตัวเรียก oral sucker อีกอันหนึ่ง ตั้งอยู่ประมาณ 1 ใน 5 ของลำตัว จากส่วนหน้าคือ ventral sucker ซึ่งใช้สำหรับยึดเกาะส่วนทางด้านท้ายลำตัวจะเป็นถุงเก็บของเสีย (excretory bladder) มีลักษณะเป็นถุงยาวรูปตัว S อยู่ระหว่างอวัยวะซึ่งมีอยู่ 2 อัน มีรูปร่างลักษณะคล้ายกลีบดอกไม้ ส่วนรังไข่ตั้งอยู่ก่อนมาทางด้านกลางของลำตัวซึ่งอยู่เหนือถุงเก็บของเสีย มีรูปร่างลักษณะเป็นพู่เล็กๆ ส่วนทางด้านขวาของรังไข่ มี ootype, ถุงรับน้ำเชื้อ (seminal receptacle) และ Laurer's canal ติดอยู่ ลักษณะของ vitellaria จะอยู่เป็นกลุ่ม (follicles) เรียงกันเป็นแถวอยู่ทั้งสองด้านของลำตัว บริเวณกลางลำตัวพบมดลูกอยู่ติดกับด้านหน้า (anterior) ของ ootype ซึ่งมีลักษณะเป็น ท่อกลม ภายในมีไข่ (eggs) บรรจุอยู่และจะไหลสิ้นสุดที่ บริเวณใกล้ๆ กับรูเปิดอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (male genital opening) ซึ่งอยู่ด้านหน้า (anterior) ของ ventral sucker (Beaver et al., 1984)

ไข่ของพยาธิชนิดนี้มี ลักษณะกลมรี คล้ายเหือกน้ำ สีเหลืองน้ำตาล ขนาดประมาณ 27x15 ไมครอนเมตร มีเปลือกค่อนข้างหนาห่อหุ้ม มีฝาปิด (operculum) บริเวณที่ฝาเปิดเชื่อมต่อกับเปลือกจะยกขึ้นเป็นบ่า (shoulder) ส่วนทางด้านท้ายสุด ของเปลือก ซึ่งอยู่ตรงข้าม กับ ฝาเปิด มีลักษณะเป็น บุ่ม(knob) ไข่ที่ออกมาใหม่จะมี ตัวอ่อนที่ เรียกว่า miracidium เจริญเต็มที่อยู่ภายใน (Sadun, 1955 ; Wykoff and Ariyaprakai ,1966 ;Harinasuta,1984 ; Kaewkes et al., 1991)

ไข่พยาธิจะออกมาสู่ลำไส้เล็กทางท่อน้ำดีใหญ่(common bile duct)แล้วออกสู่ภายนอกพร้อมกับอุจจาระ เมื่อไข่ตกลงสู่ น้ำจะถูกหอยไซ (*Bithynia* spp) ซึ่งเป็นโรสตัดกลางตัวที่หนึ่งกินเข้าไป ในประเทศไทย หอยน้ำจืดที่เป็น โรสตัดกลางตัวที่หนึ่งมีอยู่ 3 ชนิด คือ *Bithynia siamensis siamensis* พบในภาคกลาง *B. funiculata* พบในภาคเหนือและ *B.s. goniomphalos* พบในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (Wykoff et al.,1965; Brandt, 1974) miracidium ในไข่ที่ถูกหอยกินจะฟักตัวออกจากเปลือกไข่แล้วปล่อยน้ำย่อย ออกมาย่อยผนังลำไส้หอย และไซทะลุเข้าไปฝังตัวเจริญเป็น sporocyst ในเนื้อบริเวณทางเดินอาหารของหอย เซลล์สืบพันธุ์(germ cell) ที่อยู่ภายใน sporocyst จะเจริญเป็นระยะ redia และเซลล์สืบพันธุ์ที่อยู่ภายใน redia ก็จะเจริญไปเป็นระยะ cercaria มีลักษณะ หางยาว และมีครีบเรียกว่า lopho-pleurocercous cercaria ไซออกจาก หอย cercaria ที่ออกจากหอยจะว่ายน้ำเพื่อหาโรสตัดกลางตัวที่สอง คือ ปลาหมอสีจ๊าพวก ปลาตะเพียน (cyprinoid fish) ซึ่งได้แก่ ปลามะแซ่แดง (*Cyclocheilichthys apogon*) ปลาตะเพียนทราย (*Puntius leicecantus*) ปลาแก้มขี้ (*Puntius orphoides*) ปลากระสูบ (*Hampala dispar*) เป็นต้น (Vajrasthira and Harinasuta, 1957 ; Wykoff et al.,1965 ; Vichasri et al.,1982)

cercaria จะไซเข้า โรสตัดกลางตัวที่สองทางผิวหนัง รอยต่อมสารย่อย (penetration gland) จะปล่อยสารออกมาย่อยผิวหนังปลา แล้วสลัดหางทิ้งไว้

ภายนอก แทรกตัวเข้าภายในเนื้อปลา หลังจากนั้นจะปล่อยสารสร้างซีสต์ (cystic substance) ออกจาก ต่อมสารสร้างซีสต์ (cystogenous glands) มาสร้างซีสต์หุ้มเป็นตัวอ่อนอีกระยะหนึ่งเรียก metacercaria ภายในระยะเวลาประมาณ 5 สัปดาห์ขึ้นไป metacercaria นี้จึงจะเป็นระยะติดต่อ (infective stage) มีลักษณะเป็นรูปร่างขนาดเฉลี่ย 200×167 ไมโครเมตร และมีตัวอ่อนของพยาธิเคลื่อนไหว อยู่ภายในซีสต์ ตลอดเวลาเมื่อดูด้วยกล้องสามมิติ จะมองเห็น sucker และถุงปัสสาวะเป็นสีดำชัดเจน เปลือกซีสต์ชั้นนอกหนา 3-8 ไมโครเมตร ส่วนเปลือกชั้นในบางมองเห็นยากสามารถพบ ระยะนี้ได้ทุกส่วนของปลา (Tesana et al., 1985) แต่พบหนาแน่นที่ ส่วนหัว และ หางของปลา คนได้รับ ระยะติดต่อนี้โดยการรับประทานอาหารที่ทำจากปลาโดยไม่ทำให้สุกเสียก่อนเช่น ก้อยปลา ปลาต้ม ฯลฯ (Sadun, 1955; Harinasuta and Vajrasthira, 1960) เมื่อ metacercaria ผ่านเข้าไปถึงลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) ก็จะออกจากซีสต์ แล้วเดินทาง เข้าสู่ท่อน้ำดีใหญ่โดยผ่านทาง ampulla of vater ไปอยู่ในทางเดินของท่อน้ำดี และถุงน้ำดี แล้วเจริญเติบโตเป็นตัวแก่ในบริเวณดังกล่าว

พยาธิใบไม้ตับ Clonorchis sinensis เป็นพยาธิที่อยู่ในวงศ์ (Family) Opisthorchiidae ซึ่งเป็นวงศ์เดียวกับ Opisthorchis viverrini นั้นได้มีผู้ศึกษาเส้นทางการเคลื่อนที่เข้าสู่ตับของพยาธิชนิดนี้ ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทำการศึกษาโดยให้ระยะติดต่อพยาธิใบไม้ตับ Clonorchis sinensis 50-100 metacercaria ทางสายยางสู่กระเพาะอาหารแก่หนูขาว (albino rat) จำนวน 15 ตัว และให้ระยะติดต่อ 100 - 300 metacercaria แก่ กระจ่ายจำนวน 12 ตัว ซึ่ง metacercaria ของ Clonorchis sinensis ที่ใช้ศึกษา ครั้งนี้ได้จากปลาน้ำจืด (Hemiculter leucisculus) หลังจากฆ่าสัตว์ทดลองแล้วทำการผูกท่อน้ำดีใหญ่ (common bile duct) ด้วยเชือก 2 เส้น คือส่วนที่ติดกับขั้ว (hilum) ของตับ กับ ส่วนที่ติดกับลำไส้เล็ก (duodenum) แล้วตัดระหว่างเชือกทั้งสองบริเวณนี้เรียกว่า Extra-hepato common bile duct ผลจากการศึกษาพบว่าท่อน้ำดีใหญ่ (proximal common

bile duct) มีความผิดปกติเกิดขึ้นคือ บวมพองมีของเหลวสีขาวขุ่น แสดงให้เห็น
ท่อน้ำดีอุดตัน ซึ่งส่งผลทำให้เกิดการอุดตันในตับ (Liver jaundice) จากผล
การทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า ปกติจะพบพยาธิใบไม้ตับได้ ในท่อน้ำดีในตับ แต่
การทดลองนี้ทำการผูกท่อน้ำดี และไม่พบพยาธิใบไม้ตับ แสดงให้เห็นว่า ท่อน้ำดีใหญ่
เป็นเส้นทางธรรมชาติของ Clonorchis sinensis จากถ้าได้เลือกส่วนต้นใบยัง
ตับ (Sun et al., 1968)

นอกจากพยาธิใบไม้ตับ Opisthorchis viverrini จะสามารถติดเชื้อ
ได้ในโฮสต์เฉพาะ (definitive host) และโฮสต์ที่เป็นรังเก็บโรค
(reservoir host) ตามธรรมชาติแล้ว ยังได้มีการศึกษาว่าสัตว์ทดลองชนิดใด
บ้างที่สามารถติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับชนิดนี้ได้เพื่อจะได้นำมาใช้เป็นรูปแบบ (model)
ในการศึกษาวิจัยผลการศึกษพบว่าแฮมสเตอร์ (golden syrian hamster)
สามารถที่จะติดเชื้อ และเกิดพยาธิสภาพได้คล้ายคลึงกับคน (Bhamarapavati
et al, 1978) และยังมีการศึกษาเพิ่มเติม อีกว่าอาหารประเภท ปลาที่ประชากร
ของภาคตะวันออกเฉียงเหนือรับประทานเช่น ก้อยปลาซึ่งมีเครื่องปรุงที่ไม่สามารถ
กำจัดระยะติดต่อของพยาธิใบไม้ตับในเนื้อปลาได้ ทำให้ระยะติดต่อพยาธิใบไม้ตับ
ยังมีชีวิตอยู่ เมื่อนำก้อยปลาให้แฮมสเตอร์กิน ผลปรากฏว่าพบพยาธิใบไม้ตับชนิดนี้
ในตับของ แฮมสเตอร์ แสดงให้เห็นว่าถึงแม้จะนำมาปรุงเป็นก้อย แล้วก็ตาม
หากพยาธิใบไม้ตับ Opisthorchis viverrini ยังมีชีวิตอยู่ก็สามารถเจริญ
เติบโตได้ในแฮมสเตอร์ (Tantisirintr, 1983)

การศึกษาระยะเวลาก่อนตรวจพบไข่ (prepatent period) ของพยาธิ
ใบไม้ตับ Opisthorchis viverrini ในแฮมสเตอร์โดยการให้ระยะติดต่อ
50 metacercariaแก่แฮมสเตอร์ 15 ตัว จากการตรวจมูลตั้งแต่วันที่ 21 หลัง
จากแฮมสเตอร์ได้รับระยะติดต่อสามารถตรวจพบไข่ ในมูลของแฮมสเตอร์ ในวันที่
24 หลังการให้ระยะติดต่อนั้น แสดงว่า การพัฒนาการของพยาธิใบไม้ตับ ถึงระยะ
ตัวเต็มวัย (adult fluke) จะเริ่มประมาณวันที่ 24 หลังการให้ระยะติดต่อ
(Flavell et al., 1983)

พัฒนาการของ พยาธิใบไม้โดยทั่วไป ระยะแรกมีลักษณะ เหมือน ตัวอ่อน ระยะติดต่อเรียก ระยะที่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ว่า cell multiplication แล้วพยาธิจะเจริญเติบโต เปลี่ยนแปลงรูปร่าง โดยมีลักษณะลำตัวยาวขึ้น แต่ยังไม่เห็นอวัยวะภายใน ในระยะการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (body shaping) จะเริ่มเห็นอวัยวะภายในและอวัยวะสืบพันธุ์ ในระยะการสร้างอวัยวะ (organogeny) พยาธิจะเริ่ม การสร้างสเปิร์ม และ สร้างไข่ ในระยะเริ่มสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (early gametogeny) และสามารถพบสเปิร์ม (mature spermatozoa) ในอวัยวะ ในระยะท้ายการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (late gametogeny) หลังจากนั้น จะเริ่มสังเกตเห็น vitelline gland ในระยะสร้าง vitelline gland (vitellogenesis) และสามารถพบไข่ (fully formed eggs) ในระยะ สร้างไข่ (oviposition) (Smyth, 1966)

การเจริญเติบโต และการพัฒนาการของพยาธิ Heterophyopsis continua ในตัวอ่อนระยะติดต่อ (excysted metacercaria) จะสังเกตเห็น อวัยวะ วางตัวในตำแหน่งหน้า-หลัง (tandem) รังไข่มีลักษณะกลมเห็นถุงหุ้มน้ำเชื้อ (seminal vesicle) รูปตัว C แต่ยังไม่พบ สเปิร์ม (Jong et al., 1990) พยาธิ Opisthorchis viverrini ใน ระยะนี้จะสังเกตเห็น oral sucker อยู่บริเวณ ปลายสุดทางด้านหน้า ส่วน ventral sucker อยู่บริเวณกลางลำตัว และ สังเกตเห็น รูขับถ่ายของเสีย (excretory pore) บริเวณท้ายลำตัว (Apinhasmit et al., 1993) และในพยาธิ Clonorchis sinensis จะ สังเกตเห็น oral sucker, ventral sucker และถุงปัสสาวะ (excretory bladder) เช่นเดียวกับ O. viverrini (Vajrasthira and Harinasuta, 1961) พยาธิจะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง โดยมี ลำตัวยาวขึ้น แต่ยังไม่เห็น อวัยวะภายใน และ อวัยวะสืบพันธุ์ในวันที่ 3 ของ พยาธิ Philophthalmus nocternus (Swarnakumari and Madhavi, 1992) และพยาธิ P. gralli (Ismail and Issa, 1987) ในวันที่ 1 ของพยาธิ Echinochasmus bugulai

(Dhanumkumari et al., 1991) และในวันที่ 4 ของพยาธิตัว C. sinensis (Komiya, 1966)

พยาธิตัวไม่มีเหล่านี้เริ่มเจริญเติบโตเป็น ระยะก่อนเต็มวัย (immature stage) โดยจะสังเกตเห็น อังทะ รังไข่ และ Mehlis gland อยู่ด้านหลังรังไข่ ได้ในวันที่ 4-11 ของพยาธิตัว P. nocturnus (Swarnakumari and Madhavi, 1992) และในวันที่ 6-11 ของพยาธิตัว P. gralli (Ismail and Issa, 1987) ในพยาธิตัว H. continua จะสังเกตเห็น Mehlis' gland อยู่ด้านหน้ารังไข่ เชื่อมต่อกับถุงรับน้ำเชื้อ (seminal receptacle) ในวันที่ 1 และในวันที่ 2 ถุงพักน้ำเชื้อ จะแบ่งเป็นพู (Jong et al., 1991) ในพยาธิตัว E. liei พบได้ในวันที่ 2-4 (Fried et al., 1988) และพยาธิตัว Haplorchis taichui พบได้ในวันที่ 1 (เดือนจ ตรีศิวาวงศ์ และคณะ 2531) พยาธิเจริญเติบโตขึ้นจนถึง ระยะก่อนมีการสร้างไข่ ระยะนี้อวัยวะภายในจะครบ และเตรียมมดลูกรองรับไข่ ส่วนอังทะจะเริ่มสร้างสเปิร์มจะพบเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (spermatozoa) ในถุงพักน้ำเชื้อ

นอกจากนี้ยังสังเกตเห็น vitelline gland ในพยาธิตัว P. nocturnus และพยาธิตัว P. gralli ระหว่างวันที่ 12-13 (Swarnakumari and madhadi, 1992 : Issmail and Issa, 1987) ในพยาธิตัว E. liei ระหว่างวันที่ 5-6 (Fried et al., 1988) ในพยาธิตัว E. caproni คือวันที่ 7 (Isaacson et al., 1989) และใน C. sinensis คือวันที่ 5-7 อังทะ และรังไข่เริ่มแบ่งเป็นพู (Komiya, 1966)

ระยะสร้างไข่จะสามารถพบไข่ในมดลูกของพยาธิตัวได้ ไข่ที่พบใน ระยะนี้ยังเป็น unembryonated eggs ในพยาธิตัว P. nocturnus และ P. gralli คือวันที่ 14-24 (Swarnakumari and Madhavi, 1992 ; Ismail and Issa, 1987) ในพยาธิตัว H. continua คือวันที่ 3 (Jong et al., 1991) ใน E. bagulai คือวันที่ 10 (Dhanumkumari et al., 1991) ใน E. liei คือวันที่ 7 (Fried et al., 1988) และใน C. sinensis คือวันที่ 12-15 (Komiya,

1966) ไข่พยาธิจะพัฒนาการจนเป็น embryonated eggs จะพบว่าเป็นพยาธิ *P. gralli* ตั้งแต่วันที่ 26-40 (Ismail and Issa, 1987) ในพยาธิ *P. nocturnus* คือตั้งแต่วันที่ 25 (Swarnakumari and Madhavi, 1992) ใน *C. sinensis* ตั้งแต่วันที่ 20-23 (Komiya, 1966) ใน พยาธิ *E. caproni* คือวันที่ 8 (Isaacson et al., 1989) และใน *H. continua* คือตั้งแต่วันที่ 8 เป็นต้นไป (Jong et al., 1991) ไข่ที่พัฒนาการเต็มที่แล้ว สามารถตรวจพบจากมูลสัตว์ได้ใน *E. caproni* พบวันที่ 9 (Isaacson et al., 1989) และ *C. sinensis* พบในวันที่ 26 (Komiya, 1966) หลังจากพยาธิเจริญเติบโตจนเต็มที่แล้วพยาธิจะเริ่มมีการฟ่อของอวัยวะสืบพันธุ์ มีการศึกษาพยาธิ *P. gralli* ในวันที่ 60 อวัยวะสืบพันธุ์ พบมีขนาดเล็กลง (Ismail and Issa, 1987)

ส่วนใหญ่วิธีการพัฒนากาของพยาธิใบไม้ตับ ทำการศึกษาทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด [Scanning electron microscopy (SEM)] เช่น การศึกษาพื้นผิวของพยาธิใบไม้ตับ *Clonorchis sinensis* พบอวัยวะรับสัมผัส (sensory structure) ในตัวอ่อนระยะ NEJ (newly excysted juvenile) อยู่ 4 รูปแบบ คือ มีลักษณะคล้ายปุ่ม (papillae) มี ขน (cilia), เป็นแผ่นแบนไม่มีขน , ทรงกลม ไม่มีขน และเป็นปุ่มมีลักษณะคล้าย ขน ส่วนในระยะตัวเต็มวัยพบเพียง 2 ลักษณะ คือ เป็นปุ่ม มี ขน และเป็นปุ่มไม่มี ขน (Fujino et al., 1979)

สำหรับพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* ได้มีผู้ศึกษาพบว่า คล้าย *Clonorchis sinensis* มาก แต่พบลักษณะอวัยวะรับสัมผัส 3 รูปแบบ ในระยะตัวเต็มวัย คือ ปุ่มรูปทรงกรวย (cone) มีขน ซึ่งจะเพิ่มจำนวนขึ้น, ปุ่มรูปโดม (dome) มี ขน 2-4 อัน จะมีจำนวนลดลงใน ระยะตัวเต็มวัย และปุ่มรูปโดม ไม่มีขน ซึ่งจะมีความหนาเพิ่มขึ้นในระยะตัวเต็มวัย แต่จำนวนของ ปุ่มจะ คงเดิม ในระยะตัวเต็มวัย (Sobhon et al., 1986 ; Apinhasmit et al., 1993)