

บทที่ 5

การอภิปรายผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่า Opisthorchis viverrini สามารถเจริญเติบโตได้ดีจนเป็นตัวเต็มวัยในสัตว์ทดลองเช่น แฮมสเตอร์ เช่นเดียวกับพยาธิใบไม้ตับชนิดอื่นในวงศ์เดียวกัน เช่น ใน ค.ศ. 1912 Kobayashi ได้ให้ระยะติดต่อของ Clonorchis sinensis ซึ่งจัดอยู่ใน วงศ์ เดียวกับ O. viverrini แก่แมว สามารถตรวจพบ พยาธิใบไม้ตับใน ถุงน้ำดี ในเวลา 15-24 ชั่วโมง ส่วนใน กระต่ายพบในท่อน้ำดีหลังจาก 6 ชั่วโมง และนอกจากนี้ยังสามารถตรวจพบในตัวสัตว์ทดลองอื่น ๆ เช่น สุนัข และหนูตะเภา (Mukoyama, 1921)

ต่อมาได้มีผู้พยายามศึกษา เส้นทางเข้าสู่ตับของพยาธิใบไม้ตับโดย ทำการผูกตัดท่อน้ำดี ของกระต่ายที่ได้รับระยะติดต่อ C. sinensis ผลปรากฏว่าไม่พบพยาธิในตับท่อน้ำดี (common bile duct) และช่องท้อง (abdominal cavity) แต่ในกรณีได้รับการติดเชื้อปริมาณมากๆ อาจพบพยาธิในตับอ่อนและลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) (Iwata, 1937)

ในกระต่ายส่วนใหญ่มักพบ พยาธิในตับพู่ข้างขวา ในส่วนบน (anterior part) (Ito and Muta, 1925) พยาธิใบไม้ตับส่วนใหญ่มักพบบริเวณผิวตับ (peripheral) และยิ่งเชื่อว่าพยาธิเจริญในตับอ่อนโดยอาศัย pancreatic juice น้อยกว่าน้ำดี (Komiya, 1966)

มีการศึกษา เส้นทางตามธรรมชาติของ C. sinensis โดยให้ระยะติดต่อ C. sinensis แก่ หนู (rat) จำนวน 15 ตัวและกระต่ายจำนวน 17 ตัว แล้วทำการผูกท่อน้ำดี (Common bile duct) ด้วย ด้าย ผลการทดลองปรากฏว่า ท่อน้ำดีส่วนปลาย (Distal bile duct) เกิดการบวมพอง มีของเหลวสีขาวขุ่นเกิด

ขึ้นซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า บกติสามารถพบได้พยาธิในตับหลังได้รับระยะติดต่อ แต่ถ้าผูกท่อน้ำดีจะไม่พบพยาธิในตับ ผลการทดลองนี้สนับสนุนว่าท่อน้ำดีเป็นเส้นทางตามธรรมชาติของ *C. sinensis* จากลำไส้เล็กส่วนต้นเข้าสู่ตับ (Sun et al., 1968)

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าระยะติดต่อพยาธิใบไม้ตับ *O. viverrini* จะพบตัวอ่อนระยะติดต่อ (encysted metacercaria) ในกระเพาะอาหาร เท่านั้นหลังจากให้ระยะติดต่อ 1-2 นาที และจำนวนจะลดลงจนไม่พบในเวลา 3 ชั่วโมง แต่จะพบที่ ลำไส้เล็กส่วนต้น ที่อยู่ ระหว่าง กระเพาะอาหารส่วนปลาย กับ รูเปิดท่อน้ำดี ตั้งแต่เวลา 1/2-3 ชั่วโมงและสามารถพบได้้น ท่อน้ำดีในเวลา 2-3 ชั่วโมง ตั้งแต่เวลา 3 ชั่วโมงจะสามารถพบพยาธิได้้นตับ และ ดูก้นน้ำดี จำนวนพยาธิที่ พบในดูก้นน้ำดี จะเพิ่มขึ้นสูงสุดในเวลา 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นจำนวนจะลดลงจนเริ่มคงที่ ตั้งแต่เวลา 12 ชั่วโมงจนกระทั่ง 4 สัปดาห์จะเห็นได้ว่า พยาธิในตับและในดูก้นน้ำดีจะเริ่มคงที่ตั้งแต่เวลา 12 ชั่วโมงเป็นต้นไปดังแสดงในกราฟที่ 2 ตารางที่ 1 และ 2 ดังนั้นจะเห็นได้ว่าพยาธิในดูก้นน้ำดีส่วนหนึ่งมีการเคลื่อนย้ายไปที่ตับเพื่อให้จำนวนพยาธิพอเหมาะ กับ ขนาดดูก้นน้ำดี หรือ พยาธิมีการเดินทางผ่านดูก้นน้ำดีก่อนเข้าสู่ท่อน้ำดีในตับซึ่ง จะแสดงให้เห็นจากจำนวนพยาธิที่พบได้้นในเวลา 1-2 นาที, 1, 2, 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมงเฉลี่ย 49.4, 17.8, 14.2, 14.6, 19.6, 21.4, 20.4 และ 19.4 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าจำนวนพยาธิมีการสูญหาย ในระยะเวลาหลังจากได้รับระยะติดต่อ 1/2 ชั่วโมง ผลการทดลองนี้อาจแสดงให้เห็นว่าตัวอ่อนระยะติดต่อ (encysted metacercaria) ในระยะแรกที่ทำให้แฮมสเตอร์เข้าอาจถูกย่อยทั้งๆ ที่อยู่ในซิสต์ ที่กระเพาะอาหาร หรือ ตัวอ่อนระยะติดต่อที่ออกจากซิสต์ แล้วแต่พยาธิยังไม่แข็งแรงทำให้ถูกเอ็นไซม์ใน กระเพาะอาหารย่อยจนเสียรูปร่าง และ อาจเกิดจากพยาธิระยะนี้ มีขนาดเล็กทำให้ มีการสูญเสียจากการตรวจนับเกิดขึ้นได้

ระยะติดต่อ พยาธิใบไม้ตับที่ได้รับเข้าปะนั้น ไม่สามารถ เจริญเติบโต จนเป็นตัวเต็มวัย ได้ทั้งหมด ซึ่งความสามารถในการติดเชื้อ (Infectivity) ของ

แฮมสเตอร์หลังจากได้รับ ระยะติดต่อ *O. viverrini* 50 metacercaria พบว่า อัตราการติดเชื้อ 24.88, 24.32 และ 23.93 แสดงว่าความสามารถในการติดเชื้อสูงถึง 49.76 % , 49 % , 47.86 % (Flavell, 1982 ; Flavell et al, 1983) และจากการศึกษาครั้งนี้ ความสามารถในการติดเชื้อที่ต่ำ 49.44 % ซึ่งใกล้เคียงกับของ Flavell

ในการศึกษาการเจริญเติบโตของ *Echinostoma revolutum* พบว่า น้ำหนักแห้งของพยาธิเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรงในช่วง 2-4 สัปดาห์แรก ส่วนน้ำหนักเปียกมีทั้งเพิ่มขึ้นและลดลงอย่างไม่เป็นรูปแบบเส้นตรง เนื่องจากความชื้นในตัวพยาธิมีปริมาณไม่คงที่ แสดงให้เห็นได้ว่า น้ำหนักแห้งของพยาธิเป็นตัวชี้บ่งการเจริญเติบโตของพยาธิได้ดีกว่าน้ำหนักเปียก (Franco et al., 1988)

ตั้งนั้นในการศึกษาการเจริญเติบโต ครั้งนี้จึงใช้น้ำหนักแห้งพบว่าน้ำหนักแห้งพยาธิ ในพยาธิระยะ NEJ , 1, 1.5, 2, 3, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ในการศึกษาครั้งนี้เฉลี่ย 3.33 , 10.64+0.96, 20.51+0.94, 40.00+7.16, 57.50+4.38, 74.36+ 4.60 , 124.33+11.84 และ 126.62+9.76 ไมโครกรัม แสดงให้เห็นว่าน้ำหนักแห้งพยาธิมีการเพิ่มขึ้น ช้าในช่วงอายุแรก ๆ จน เกือบคงที่ในเวลา 6-8 สัปดาห์ หลังการติดเชื้อ

ส่วนการพัฒนาการของ อวัยวะภายในของพยาธิใบไม้ในสัตว์ทดลอง ระยะแรก คือ ตัวอ่อน ระยะติดต่อ (excysted metacercaria) ในพยาธิ *Heterophyopsis continua* จะสังเกตเห็นอวัยวะในตัวในตำแหน่ง หน้า-หลัง (tandem) รังไข่มีรูปร่างกลม และเห็นถุงพักน้ำเชื้อ (seminal vesicle) รูปตัว C (Jong et al., 1990) ส่วนในพยาธิ *Clonorchis sinensis* และ *O. viverrini* จะสังเกตเห็น oral sucker, ventral sucker และ ถุงปัสสาวะ (Vajrasthira et al. , 1961; Apinhasmit et al., 1993) พยาธิเมื่อเข้าสู่สัตว์ทดลองจะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างโดยมีขนาดลำตัวใหญ่ขึ้น ในระยะนี้ยังไม่พบอวัยวะภายในหรืออวัยวะสืบพันธุ์ ของพยาธิ *Philophthalmus nocturnus* และ *P. gralli* พบได้ในวันที่ 3 (Swarnakumari and

Madhavi, 1992; Ismail and Issa, 1987) ส่วนพยาธิ Echinochasmus bagulai พบในวันที่ 1 และพยาธิ C. sinensis พบวันที่ 4 (Dhanumkumari et al., 1991; Komiya, 1966)

พยาธิที่อยู่ในสัตว์ทดลองจะเจริญเติบโตจนเห็น อวัยวะภายใน และอวัยวะสืบพันธุ์โดยจะพบ อัณฑะ รังไข่ และ Mehlis' gland อยู่ทางด้านหลังรังไข่ ได้ในวันที่ 4-11 ของพยาธิ P. nocturnus และวันที่ 6-11 ของพยาธิ P. gralli (Swarnakumari and Madhavi, 1992; Ismail and Issa, 1987) ส่วนพยาธิ H. continua จะสังเกตเห็น Mehlis' gland อยู่ติดทางด้านหน้าของรังไข่ เชื่อมต่อกับถุงเก็บน้ำเชื้อ (seminal receptacle) ได้ในวันที่ 1 และในวันที่ 2 ถุงพักน้ำเชื้อ จะเริ่มแบ่งเป็นพู (Jong et al., 1991) จนพบระยะนี้ในพยาธิ E. bagulai ในวันที่ 7 ในพยาธิ E. liei ในวันที่ 2-4 และ H. taichui ในวันที่ 1 (Dhanumkumari et al., 1991; Fried et al., 1988; เดือนจกรีสว่างวงศ์ และคณะ 2531) ส่วนในพยาธิ O. viverrini การย้ายสปีพยาธิและวัดขนาดกายใต้ กล้องจุลทรรศน์ และ กล้องสามมิติ จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า จะเริ่มสังเกตเห็นอวัยวะภายในลำไส้ หลอดอาหาร มดลูก อัณฑะ รังไข่ และถุงพักน้ำเชื้อได้ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 แต่เมื่อถึงสัปดาห์ที่ 2 รังไข่ และอัณฑะจะเริ่มแบ่งเป็นพู พยาธิจะเจริญเติบโตจนถึงระยะก่อนมีการสร้างไข่ ระยะนี้จะสังเกตเห็นอวัยวะภายในครบ และมดลูกเตรียมพร้อมสำหรับรองรับไข่ อัณฑะจะเริ่มสร้างสเปิร์ม จะพบสเปิร์ม (spermatozoa) ในถุงพักน้ำเชื้อ นอกจากนี้ยังอาจเห็น vitelline gland ได้ในพยาธิ P. nocturnus และ P. gralli (Swarnakumari and Madhavi, 1992 : Ismail and Issa, 1987) ในพยาธิ E. liei คือวันที่ 5-6 (Fried et al., 1988) ในพยาธิ E. caproni คือวันที่ 7 (Issacson et al., 1989) ส่วนใน H. taichui คือวันที่ 2 (เดือนจกรีสว่างวงศ์ และคณะ 2531) ใน C. sinensis คือ วันที่ 5-7 (Komiya, 1966) เมื่อพยาธิเจริญเติบโตจนถึงระยะเต็มวัยจะสามารถพบไข่ในมดลูก แต่ไข่ที่พบระยะยังเป็น unembryonated eggs จะพบระยะนี้ในวันที่ 14-24 ของ P.

nocturnus และ P. gralli (Swarnakumari and Madhavi , 1992 ; Ismail and Issa,1987) ในพยาธิ H. continua , E. bagulai, E. liei และ C. sinensis คือวันที่ 3,10,7 และ 12-15 ตามลำดับ (Jong et al., 1991 ; Dhanumkumari et al., 1991 ; Fried et al., 1988 ; Komiya , 1966) ไข่พยาธิ จะพัฒนาจนเป็น embryonated eggs ในพยาธิ P. nocturnus และ P. gralli ในวันที่ 25 และ 26-40 (Swarnakumari and Madhavi, 1992 ; Ismail and Issa,1987) ในพยาธิ C. sinensis คือ วันที่ 20-23 (Komiya,1966) ส่วนในพยาธิ E. caproni และ H. continua ระยะนี้จะเริ่มตั้งแต่วันที่ 8 เป็นต้นไป (Issacson et al., 1989 ; Jong et al., 1991)ในพยาธิ O. viverrini อวัยวะภายในจะครบประมาณ สัปดาห์ที่ 3 มดลูกจะหดตัวสำหรับรองรับไข่ในระยะนี้พยาธิบางตัวพบไข่ด้านมดลูก อัดทะแบ่งเป็น 4-5 พู ส่วนรังไข่แบ่งเป็น 3 พูชัดเจน หลังจากไข่พยาธิพัฒนาเต็มที่แล้ว จะสามารถตรวจพบไข่ในมดลูกตัวได้ในพยาธิ E. caproni ในวันที่ 9 และ ในพยาธิ C. sinensis คือวันที่ 26 (Issacson et al., 1989; Komiya, 1966) สำหรับการศึกษาครั้งนี้พบว่า สามารถตรวจพบ ไข่ในมดลูกแฮมสเตอร์ได้ในวันที่ 24 นอกจากนี้มี ผู้ศึกษาพบว่าพยาธิจะโตเต็มที่ และวางไข่ได้ภายในเวลา ประมาณ 22 - 30 วัน (prepatent period) หลังจากเข้าสู่แฮมสเตอร์ (Wykoff and Ariyaprakai,1966 ; Bhamarapravati et al., 1978) หลังจากพยาธิเติบโตเต็มที่แล้ว พยาธิจะเริ่มมีการฟ่อของอวัยวะสืบพันธุ์ ในพยาธิ P. gralli วันที่ 60 อวัยวะสืบพันธุ์ จะมีขนาดลดลง (Ismail and Issa ,1987)สำหรับพยาธิ O. viverrini อายุ 6-8 สัปดาห์ จะพบว่าขนาด อวัยวะ และรังไข่เริ่มมี ขนาดเล็กลง เมื่อเทียบกับพยาธิอายุ 4 สัปดาห์ และจากการวัดพบว่าขนาดลำตัวของ C. sinensis ในช่วงเวลาต่างๆ ใน หนูตะเภา พบว่าขนาดลำตัว พยาธิเพิ่มขึ้น อย่างสม่ำเสมอเป็นเส้นตรง ในเวลา 2 , 3 , 4 , 5 , 7 , 10 , 16 , 19 และ 26 วันหลังได้รับระยะติดต่อ (Komiya , 1966) และ ผลการศึกษา ครั้งนี้พบว่า หลังจากให้ระยะติดต่อแก่แฮมสเตอร์เป็น

เวลา 1, 1.5, 2, 3, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ ขนาดพยาธิเพิ่มขึ้นในช่วงแรกเป็นเส้นตรงและจะเริ่มคงที่ในช่วง 6-8 สัปดาห์ ส่วนอวัยวะอื่นๆจะเพิ่มขึ้นในช่วงแรก และ จะคงที่มีลักษณะเหมือนตัว S และ สหสัมพันธ์ถดถอยแสดงถึงความสัมพันธ์ยาวนาน ทางเดียวกัน ระหว่างการเจริญเติบโตของพยาธิในแต่ละระยะทั้งยังแสดงให้เห็นอีกว่า ความยาวลำตัว เป็นตัวชี้บ่งการเจริญเติบโตและการพัฒนาการของพยาธิได้ดีที่สุด

จากการศึกษาขนาดพยาธิก่อน และหลังการย้อมสี carmine พบว่า ขนาดความกว้างพยาธิ ลดลง 20.51 ± 10.15 , 19.27 ± 7.40 และ 7.35 ± 3.97 เปอร์เซ็นต์ ส่วนความยาวพยาธิ ลดลง 18.31 ± 6.35 , 18.77 ± 7.42 และ 17.64 ± 8.54 เปอร์เซ็นต์ ในพยาธิอายุ 6, 8 และ จากคน แสดงให้เห็นได้ว่าขนาดพยาธิที่ได้จาก การศึกษาครั้งนี้ไม่ใช่ว่าขนาดพยาธิที่แท้จริง เป็นขนาดพยาธิหลังการย้อมสี carmine

สำหรับการกระจายของ Opisthorchis viverrini ในตับและถุงน้ำดี พบว่าจากการชันสูตรศพผู้ป่วย 87 รายในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ พบพยาธิส่วนใหญ่นับบริเวณตรงกลางตับพูขวา (right median section) และด้านข้างตับพูขวา (right lateral section) นอกจากนี้ยังสามารถตรวจพบพยาธิได้ในถุงน้ำดี (Sithithaworn et al., 1988)

ส่วนการศึกษาสัดส่วน ไข่ที่พัฒนาจนมีตัวอ่อน miracidium (embryonated eggs) ในมดลูก พบว่าเมื่อพยาธิอายุมากขึ้นอัตราส่วนไข่ที่พัฒนาจนมีตัวอ่อน miracidium (embryonated eggs) จะเพิ่มขึ้นตามอายุพยาธิ และ จะเริ่มคงที่เมื่อพยาธิเจริญเติบโตเต็มที่ในสัดส่วนประมาณ 51-75 % ซึ่งเป็นตัวชี้บ่งถึงการเจริญพันธุ์โดยสมบูรณ์ของพยาธิ

ส่วนตัวเต็มวัยของ O. viverrini ที่ได้จากคนขนาดลำตัวยาวประมาณ 7.0 มม. กว้างประมาณ 1.5 มม. วนแนวขนาดยาวประมาณ 4.6 มม. กว้างประมาณ 2 มม. จะเห็นว่าขนาดพยาธิในแมวมีขนาดเล็กกว่าขนาดพยาธิในคน แสดงให้เห็นว่าขนาดพยาธิจะใหญ่ หรือ เล็ก ขึ้นอยู่กับขนาดของโฮสต์ที่พยาธิ อาศัยอยู่

(Sadun, 1955) และจากการชันสูตร คน 1 ราย ขนาดพยาธิ กว้างประมาณ 1.47 มม. ยาวประมาณ 7.4 มม. (Wykoff et al., 1965) และ จากการชันสูตรศพ 26 รายพบ พยาธิใบไม้ตับมี ขนาดลำตัวยาวประมาณ 7.22 มม. กว้างประมาณ 1.12 มม. ส่วนขนาดพยาธิที่ได้จากแฮมสเตอร์ยาวประมาณ 3.34 มม. กว้างประมาณ 0.76 มม. ซึ่งจะเห็นได้ว่าระยะตัวเต็มวัยของพยาธิ O. viverrini ที่ได้จากแฮมสเตอร์กับได้จากการชันสูตร จะมีลักษณะ รูปร่างเหมือนกัน แต่ขนาดรูปร่างใหญ่เล็ก ต่างกัน พบว่า O. viverrini ในคนมีขนาดใหญ่มากกว่าในแฮมสเตอร์ ซึ่งสอดคล้องกับของ sadun ที่กล่าวว่า ขนาดพยาธิจะใหญ่ หรือ เล็ก ขึ้นอยู่กับขนาดของโฮสต์ที่พยาธิ อาศัยอยู่ และยังทราบอีกว่า พยาธิใบไม้ตับ O. viverrini สามารถมีชีวิตอยู่ได้ประมาณ 15-20 ปี (Belding, 1965)