

อภิปรายผลการทดลอง สรุปลผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผลการทดลอง

การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาผลของเชื้อ *Helicobacter pylori* ซึ่งเป็นเชื้อที่ทำให้เกิดแผลที่เยื่อบุกระเพาะอาหารและสามารถพบได้ในช่องปาก ต่อการเสื่อมของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากที่ได้จากเนื้อเยื่อเหงือกปกติของมนุษย์ โดยศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน ซึ่งเป็นวิธีการมาตรฐานที่ใช้ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับเซลล์ สำหรับการศึกษามผลของเชื้อ *Helicobacter pylori* ต่อการเสื่อมของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากยังไม่เคยมีการศึกษาและมีการรายงานมาก่อน วิธีการวิจัยเป็นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเหงือกพร้อมกับเชื้อ *Helicobacter pylori* ชนิดที่ทำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหาร ซึ่งพบว่านอกจากจะสามารถศึกษามผลของเชื้อต่อเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากแล้วยังพบผลของเชื้อต่อเนื้อเยื่อยึดต่อของเหงือกอีกด้วย วิธีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากด้วยการเพาะเลี้ยงเซลล์ และศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านทำให้สามารถควบคุมสถานการณ์ของการทดลองได้ ในการศึกษานี้ใช้เชื้อ *Escherichia coli* ชนิดที่ไม่ก่อโรคเป็นแบคทีเรียที่ใช้เพาะเลี้ยงร่วมกับเนื้อเยื่อช่องปากในกลุ่มที่ใช้เปรียบเทียบ เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกัน คือ เป็นแบคทีเรียในกลุ่มแกรมลบและพบในระบบทางเดินอาหารได้เช่นเดียวกับเชื้อ *Helicobacter pylori* โดยให้ความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดเท่ากัน

จากลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านของเชื้อ *Helicobacter pylori* ในการวิจัยนี้พบว่า มีรูปร่างเป็นแท่งมีลักษณะบิดเล็กน้อย วัดขนาดของเชื้อตามยาวได้ประมาณ 5 ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 ไมโครเมตร มีแฟลกเจลลาออกจากขั้วของเซลล์แบคทีเรียข้างใดข้างหนึ่ง และมีปลอกหุ้มแฟลกเจลลา บริเวณปลายแฟลกเจลลามีลักษณะเป็นกระเปาะ ผลการศึกษานี้คล้ายคลึงกับที่มีรายงานโดย Jones และคณะ⁽³⁴⁾ และ Young และคณะ⁽²⁴⁾ ที่กล่าวถึงรูปร่างของเชื้อ *Helicobacter pylori* จากแผ่นคราบจุลินทรีย์และขึ้นเนื้อจากกระเพาะอาหารด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด โดยพบว่าเชื้อมีรูปร่างแท่งบิดเป็นเกลียว และวัดขนาดของเชื้อตามยาวได้ 2-4 ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-0.9 ไมโครเมตร นอกจากนี้ยังพบจากการศึกษานี้ว่าเชื้อ *Helicobacter pylori* มีเยื่อหุ้มเซลล์ 2 ชั้น เหมือนกับที่พบในเชื้อ *Escherichia coli* ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะที่พบในแบคทีเรียกลุ่มแกรมลบ⁽⁶⁵⁾

ไซโทพลาซึมของเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดมีลักษณะหนาแน่นเช่นเดียวกัน และในส่วนของไซโทพลาซึมของเชื้อ *Helicobacter pylori* จะพบแกรนูลภายในเซลล์ แต่ไม่พบในเชื้อ *Escherichia coli* O'Rourke และคณะ⁽⁶⁶⁾ พบว่าแกรนูลภายในเซลล์เป็นแหล่งพลังงานและแหล่งสะสมฟอสฟอรัสเพื่อใช้ในการเคลื่อนไหวของเซลล์แบคทีเรีย

จากการศึกษาลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านของเยื่อบุผิวช่องปากในกลุ่มควบคุมที่ระยะเวลา 6 และ 24 ชั่วโมง พบว่าเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากมีลักษณะปกติทั้งในส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์ นิวเคลียส ไซโทพลาซึม รวมถึงออร์แกเนลภายในเซลล์ด้วย สามารถใช้เพื่อการเปรียบเทียบกับเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากกลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Helicobacter pylori* และเชื้อ *Escherichia coli* ในการศึกษาผลของเชื้อต่อการเสื่อมของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากได้ โดยลักษณะที่พบของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากบริเวณพื้นผิวที่มีรูปร่างค่อนข้างแบน มีเดสโมโซม นิวเคลียสของเซลล์ในบริเวณพื้นผิวและที่ระดับต่ำลงมาเล็กน้อยมีลักษณะแบน และบางเซลล์ไม่พบนิวเคลียส เยื่อหุ้มเซลล์มีไมโครวิลไลและพบว่าเซลล์ในชั้นบนสุดมีการหลุดแยกตัวออกมาจากเซลล์ในชั้นล่างซึ่งเป็นลักษณะการหลุดลอกของเซลล์ (exfoliation) ที่พบได้ในบริเวณพื้นผิวโดยทั่วไป⁽⁶⁷⁾ ลักษณะเหล่านี้ตรงกับลักษณะของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากปกติในชั้น superficial layer ซึ่งรายงานโดย Cate⁽⁶⁸⁾

สำหรับเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากในชั้นลึกลงไปมีรูปร่างรี พบเดสโมโซมชัดเจน และมีออร์แกเนลภายในเซลล์มากขึ้น พบโทโนฟิลาเมนต์กระจายอยู่ทั่วไปอย่างสม่ำเสมอ ที่กำลังขยายสูงขึ้นไปพบว่านิวเคลียสประกอบด้วยเยื่อหุ้ม 2 ชั้น และพบนิวเคลียร์พอร์ ภายในนิวเคลียสพบนิวคลีโอลัส นอกจากนี้พบโครมาตินซึ่งประกอบด้วย เฮเทอโรโครมาติน และยูโครมาติน ออร์แกเนลอื่น ๆ ที่พบคือ ไมโทคอนเดรีย เอนโดพลาสมิกเรติคูลัมชนิดหยาบ และเดสโมโซมซึ่งมีโทโนฟิลาเมนต์เกาะอยู่ที่บริเวณ attachment plaque การพบโครงสร้างที่เป็น filamentous strands ได้แก่ โทโนฟิลาเมนต์ และเดสโมโซม เป็นส่วนที่บ่งบอกถึงการเป็นเซลล์เยื่อบุผิวซึ่งแตกต่างจากเซลล์ชนิดอื่น ๆ⁽⁶⁸⁾

การศึกษามูลของเชื้อ *Helicobacter pylori* ต่อการเสื่อมของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านครั้งนี้ ไม่พบการแทรกซึมของเชื้อ *Helicobacter pylori* เข้าไปในเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากหรือเซลล์ไฟโบรบลาสต์ แต่มีผลทำให้เซลล์เหล่านี้เกิดการเปลี่ยนแปลงได้หลายลักษณะ โดยจากการศึกษาที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง พบว่าเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากที่บริเวณพื้นผิวมีการเปลี่ยนแปลงทั้งส่วนนิวเคลียส ไซโทพลาซึมและเยื่อหุ้มเซลล์ การเปลี่ยนแปลงที่พบ คือ บางเซลล์นิวเคลียสหายไป บางเซลล์นิวเคลียสมีลักษณะฝ่อลีบ บางเซลล์

พบการเกาะกลุ่มของโครมาตินในนิวเคลียส และบางเซลล์นิวเคลียสมีลักษณะปกติแต่พบการรวมตัวหนาแน่นขึ้นของโทโมฟิลาเมนต์ พบการเปลี่ยนแปลงชัดเจนที่ไม่โทคอนเดรีย คือ มีการขาดหายไปหรือไม่ต่อเนื่องของเยื่อหุ้ม แต่การเปลี่ยนแปลงที่เอนโดพลาสมิกเรติคูลัมชนิดไม่เรียบไม่ชัดเจน และยังไม่พบการทำลายของเดสโมโซม โดยที่เซลล์เยื่อบุผิวช่องปากที่อยู่ชั้นลึกลงไปยังคงลักษณะปกติเหมือนกลุ่มควบคุม จากการศึกษาที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากที่บริเวณพื้นผิวถูกทำลายมากขึ้นทั้งในส่วนนิวเคลียสและส่วนไซโทพลาซึม แต่ยังคงรูปร่างของเซลล์ได้ นอกจากนี้พบว่าเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากที่อยู่ชั้นลึกลงไปมีช่องว่างระหว่างเซลล์กว้างขึ้นและมีการทำลายของเดสโมโซม ร่วมกับพบแควิวโอลภายในเซลล์ และที่ระยะเวลานี้พบว่าการแทรกซึมของเชื้อ *Helicobacter pylori* เข้าไปอยู่ระหว่างเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากและแทรกซึมเข้าไปในส่วนของเนื้อเยื่อยึดต่อและยึดเกาะกับเมทริกซ์นอกเซลล์

ดังนั้นแม้ว่าเชื้อ *Helicobacter pylori* ไม่มีการแทรกซึมเข้าไปในเซลล์เยื่อบุผิวช่องปาก แต่มีการแทรกซึมเข้าไปอยู่ระหว่างเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากและส่วนของเนื้อเยื่อยึดต่อและอยู่ชิดติดกับเมทริกซ์นอกเซลล์ได้ซึ่งอาจแสดงถึงการยึดเกาะของเชื้อต่อเมทริกซ์นอกเซลล์ ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Hemalatha และคณะ⁽⁹⁾ ซึ่งศึกษาการยึดเกาะของเชื้อ *Helicobacter pylori* กับเซลล์เยื่อบุผิวกระเพาะอาหารที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดและชนิดส่องผ่าน พบว่ามีการยึดเกาะของเชื้อ *Helicobacter pylori* กับเซลล์เยื่อบุผิวกระเพาะอาหารแต่ไม่พบการแทรกซึมของเชื้อเข้าไปในเซลล์ แต่ขัดแย้งกับการศึกษาของ Wyle และคณะ⁽⁸⁾ ซึ่งศึกษาการยึดเกาะของเชื้อ *Helicobacter pylori* กับเซลล์เยื่อบุผิวกระเพาะอาหารที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเช่นกัน นักวิจัยกลุ่มดังกล่าวพบว่าเชื้อ *Helicobacter pylori* สามารถแทรกซึมเข้าไปในเซลล์เยื่อบุผิวกระเพาะอาหาร ภายหลังจากทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ร่วมกับเชื้อที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง การที่ผลการศึกษาในครั้งนี้ต่างจากการศึกษาของ Wyle และคณะ⁽⁸⁾ น่าจะเกิดจากความแตกต่างของเซลล์ที่ใช้ในการทดลอง โดยในการศึกษาครั้งนี้ใช้เนื้อเยื่อที่ได้จากเนื้อเยื่อเหงือกปกติของมนุษย์และเพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Helicobacter pylori* ศึกษาผลที่ระยะเวลา 6 และ 24 ชั่วโมง ซึ่งเนื้อเยื่อที่ใช้ในการศึกษาจะยังคงสภาพเหมือนในช่องปาก คือ มีความต่อเนื่องของพื้นผิวและที่พื้นผิวด้านนอกของเยื่อหุ้มเซลล์อาจยังคงมีชั้นโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide layer) ซึ่งเรียกว่า ไกลโคเคลิก (glycocalyx) ซึ่งเป็นเหมือนด่านในการป้องกันเยื่อหุ้มเซลล์อีกชั้นหนึ่ง⁽⁶⁹⁾ นอกจากนี้ชั้นเนื้อเยื่อที่ใช้ในการศึกษามีลักษณะที่เป็นเซลล์หลายชั้น (stratified epithelium) ในขณะที่ Wyle และคณะ⁽⁸⁾ ทำการศึกษาในเซลล์เยื่อบุผิวกระเพาะอาหารที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ซึ่งไม่น่าคงสภาพหรือคุณสมบัติบางประการเหมือนในร่างกาย เช่น ลักษณะภายนอกของเยื่อบุผิวและเซลล์เยื่อบุผิว

กระเพาะอาหารที่เพาะเลี้ยงมักจะมีลักษณะเป็นเซลล์ชั้นเดียวทำให้ความสามารถในการป้องกันอันตรายจากสิ่งที่มากระตุ้นน้อยกว่าเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากทำให้เชื้อสามารถแทรกซึมเข้าไปในเซลล์ได้

จากการศึกษาที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า มีการแทรกซึมของเชื้อ *Helicobacter pylori* เข้าไปอยู่ระหว่างเซลล์เยื่อบุผิวช่องปาก ซึ่งน่าจะเกิดจากการที่เชื้อมีผลทำให้ช่องว่างระหว่างเซลล์กว้างขึ้นและมีการทำลายของเดสโมโซมในบางตำแหน่ง เชื้อจึงสามารถใช้เป็นช่องทางแทรกเข้าไปในบริเวณดังกล่าวได้ โดยจากการศึกษาของ Testerman และคณะ⁽⁷⁰⁾ พบว่าแอมโมเนียซึ่งเกิดจากเอนไซม์ยูรีเอสของเชื้อ *Helicobacter pylori* มีผลทำลาย intercellular tight junctions ของเซลล์เยื่อบุผิวกระเพาะอาหาร ซึ่งก็น่าจะเป็นเหตุผลเดียวกับที่ช่องว่างระหว่างเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากในการศึกษาครั้งนี้ถูกทำลายลง และจากการศึกษาครั้งนี้ก็พบว่าเชื้อ *Helicobacter pylori* สามารถแทรกซึมเข้าไปอยู่ระหว่างเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากได้เช่นกัน และด้วยวิธีการเดียวกันนี้เมื่อเชื้อแทรกผ่านช่องว่างระหว่างเซลล์เข้าไปจนถึงส่วนของเมทริกซ์นอกเซลล์ในชั้นเนื้อเยื่อยึดต่อและถ้าสามารถยึดเกาะได้ก็อาจเป็นจุดเริ่มต้นของการติดเชื้อที่บริเวณดังกล่าวได้ ทั้งยังพบว่าความทนทานของเยื่อบุผิวช่องปากต่อเชื้อโรคนั้นน่าจะมีความมากกว่าเนื้อเยื่อยึดต่อ

จากผลการศึกษาทำให้ทราบว่า เชื้อ *Helicobacter pylori* มีผลทำให้เกิดการเสื่อมของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากในหลายลักษณะ แม้ว่าเชื้อ *Helicobacter pylori* จะไม่สามารถแทรกซึมเข้าไปทำลายเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากได้โดยตรง ความเสื่อมของเซลล์นี้อาจจะเกิดจากสารพิษหรือผลผลิตจากแบคทีเรียที่มีผลทำให้เกิดการเสื่อมของเซลล์จนถึงทำให้เซลล์ตาย แม้ว่าในปัจจุบันจะยังไม่ทราบถึงกลไกการก่อโรคของเชื้อ *Helicobacter pylori* อย่างแน่ชัด แต่มีรายงานถึงปัจจัยที่ทำให้เกิดการทำลายเซลล์เยื่อบุผิวกระเพาะอาหาร (virulence factors) ของเชื้อ *Helicobacter pylori* กล่าวว่ายีนเอนไซม์ยูรีเอสที่เชื้อผลิตขึ้นมา มีคุณสมบัติเป็นไซโตทอกซินที่มีผลทำลายเซลล์เยื่อบุผิวกระเพาะอาหาร⁽⁷¹⁾ และไลโปโพลีแซคคาไรด์ (LPS) ซึ่งเป็นเอนโดทอกซินของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแกรมลบที่มีผลในการทำลายเซลล์⁽⁶⁵⁾ นอกจากนี้โปรตีนที่เชื้อ *Helicobacter pylori* สร้างขึ้นมาได้แก่ vacuolating cytotoxin A (Vac A) และ cytotoxin-associated gene A (Cag A) ทำให้เกิดแควิวโอลภายในเซลล์และทำให้เกิดการตายของเซลล์เยื่อบุผิวกระเพาะอาหาร⁽¹¹⁻¹²⁾ ดังนั้นปัจจัยที่ทำให้เกิดการทำลายเซลล์เยื่อบุผิวกระเพาะอาหารดังกล่าวจึงน่าจะเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเสื่อมของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากในการศึกษาครั้งนี้ได้ เพราะแม้ว่าในการศึกษาครั้งนี้เราไม่ได้ศึกษาถึงชนิดของสารที่เชื้อผลิตขึ้นมาในการเพาะเลี้ยงแต่ก็

พบว่าในระยะเวลาหนึ่ง (6 ชั่วโมง) เชื้อสามารถทำให้เกิดแควิวโอลภายในเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากที่เพาะเลี้ยงจากการศึกษาครั้งนี้ได้เช่นกัน

สำหรับการศึกษาเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากในกลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Escherichai coli* เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ไม่พบการแทรกซึมของเชื้อ *Escherichai coli* เข้าไปในเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากหรือเซลล์ไฟโบรบลาสต์ เช่นเดียวกับที่พบในเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากในกลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Helicobacter pylori* และที่ระยะเวลาดังกล่าวเชื้อ *Escherichai coli* สามารถแทรกซึมเข้าไปในส่วนเมทริกซ์นอกเซลล์ได้เหมือนกับเชื้อ *Helicobacter pylori* แต่จากการศึกษาครั้งนี้ไม่พบการแทรกซึมของเชื้อ *Escherichai coli* อยู่ระหว่างเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากซึ่งแตกต่างจากเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่พบการแทรกซึมอยู่ระหว่างเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากได้ที่เป็นเช่นนี้อาจเกิดเนื่องจาก เชื้อ *Escherichai coli* ไม่มีเอนไซม์ยูรีเอสจึงไม่สามารถผลิตแอมโมเนียซึ่งมีผลทำลาย intercellular tight junctions ของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากได้เหมือนกับเชื้อ *Helicobacter pylori* แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาครั้งนี้พบว่า เชื้อ *Escherichai coli* มีผลทำให้เซลล์เยื่อบุผิวช่องปากมีการเปลี่ยนแปลงไปในทางเสื่อมลงได้ตั้งแต่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง คล้ายกับเชื้อ *Helicobacter pylori* โดยพบการรวมกลุ่มของโครมาตินในนิวเคลียสและเดสโมโซมกว้างขึ้นในบางตำแหน่ง แต่ไม่พบการรวมตัวหนาแน่นขึ้นของโทโนฟิลาเมนต์และไม่พบแควิวโอลภายในเซลล์ ซึ่งเป็นข้อแตกต่างจากกลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Helicobacter pylori* (ภาพที่ 16) นอกจากนี้เซลล์เยื่อบุผิวช่องปากในกลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Helicobacter pylori* ยังพบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์หลายลักษณะกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Escherichai coli* และเมื่อศึกษาที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่ามีการเสื่อมสลายของนิวเคลียสและไซโทพลาซึมของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากมากขึ้นทั้งในกลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Escherichai coli* และเชื้อ *Helicobacter pylori* ซึ่งค้านกับสภาพความจริงที่เชื้อ *Escherichai coli* เป็นแบคทีเรียที่ไม่ก่อโรค (Nonpathogenic bacteria)

ผลการพบนี้อาจเกิดจากข้อเท็จจริงที่เชื้อ *Escherichai coli* เป็นแบคทีเรียในกลุ่มแกรมลบที่มีไลโปโพลีแซคคาไรด์⁽⁶⁵⁾ ซึ่งเป็นเอนโดทอกซินที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ของสิ่งมีชีวิตเช่นเดียวกับที่พบในเชื้อ *Helicobacter pylori* ดังนั้นเชื้อ *Escherichai coli* จึงน่าจะมีผลทำให้เกิดการเสื่อมของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากในห้องปฏิบัติการได้เช่นกัน แต่ลักษณะการเสื่อมของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากจากผลของเชื้อทั้ง 2 ชนิดมีความแตกต่างกัน เช่น การเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียส การเรียงตัวของไซโทสเคเลตอน (cytoskeleton) ภายในเซลล์และการเกิดแควิวโอลภายในเซลล์ ซึ่งน่าจะเกิดจากสารหรือทอกซิน ของเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดมีคุณสมบัติหรือมีผล

ต่อเซลล์ในระดับความรุนแรงแตกต่างกัน ซึ่งถ้ายังอยู่ในสภาพธรรมชาติที่มีระบบภูมิคุ้มกันโรคตามปกติด้วยแล้วยังอาจก่อเกิดผลการติดเชื้อได้ไม่เท่ากัน

โดยทั่วไปแล้วเมื่อเซลล์ได้รับสิ่งกระตุ้นที่เป็นอันตรายจะทำให้เซลล์เกิดการปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อม (cellular adaptations) แต่ถ้าเซลล์ได้รับสิ่งกระตุ้นที่มีอันตรายมากจนไม่สามารถปรับตัวได้จะทำให้เซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงไปในทางเสื่อมจนอาจทำให้เซลล์ตายได้ เซลล์ที่ได้รับสิ่งกระตุ้นที่เป็นอันตรายและไม่สามารถปรับตัวได้จะพบการเปลี่ยนแปลงที่เยื่อหุ้มนิวเคลียส ไมโทคอนเดรีย ไซโทสเคเลตอน และ ดี เอ็น เอ ภายในเซลล์ โดยการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นที่ส่วนประกอบภายในเซลล์เหล่านี้มักจะมีความสัมพันธ์กัน คือเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงที่ส่วนใดส่วนหนึ่งจะส่งผลกระทบต่อเนื้อไปยังส่วนอื่นภายในเซลล์ และทำให้เกิดการเสื่อมของเซลล์จนถึงทำให้เซลล์ตายในที่สุด การตายของเซลล์หลังจากได้รับสิ่งกระตุ้นที่มีอันตรายเกิดขึ้นได้ 2 ลักษณะ คือ necrosis และ apoptosis การตายแบบ necrosis เป็นการตายของเซลล์ที่พบได้บ่อยภายหลังจากที่ได้รับสิ่งกระตุ้นจากภายนอกหรือภายหลังจากได้รับ stress โดยเซลล์ที่มีการตายแบบ necrosis จะมีลักษณะดังนี้ คือ เซลล์บวมอย่างมาก (severe cell swelling) หรือเซลล์แตก (cell rupture) เกิด denaturation และ coagulation ของไซโทพลาสซึมโปรตีน (cytoplasmic proteins) และออร์แกเนลภายในเซลล์แตกสลาย สำหรับการตายแบบ apoptosis หรือ programmed cell death เกิดขึ้นจากการควบคุมโดยโปรแกรมภายในเซลล์ เมื่อเซลล์อยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมและจากสิ่งกระตุ้นภายนอกที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ จะเกิดสัญญาณกระตุ้นให้เซลล์ตัดสินใจที่จะตาย โดยพบว่าเซลล์จะมีลักษณะหดตัว (shrinkage) เกิดเป็นตุ่มพอง (bleb) ยื่นออกจากเยื่อหุ้มเซลล์ โดยยังคงลักษณะรูปร่างของเซลล์ในส่วนนิวเคลียสพบลักษณะที่มีการรวมตัวของโครมาติน หรือมีการแตกสลายของนิวเคลียส และพบชิ้นส่วนของเซลล์ที่แตกสลายภายในเซลล์⁽⁷²⁻⁷³⁾

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่ามีการตายของเซลล์เกิดขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงร่วมกับแบคทีเรีย และเซลล์เยื่อหุ้มช่องปากในกลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Helicobacter pylori* พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงที่ไม่โทคอนเดรีย โดยมีการขาดหายไปของเยื่อหุ้มเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงถึงการเสื่อมของไมโทคอนเดรีย ซึ่งเป็นออร์แกเนลที่มีหน้าที่สำคัญในการสร้างพลังงานให้กับเซลล์เพื่อใช้ในขบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ต่าง ๆ ภายในเซลล์ รวมทั้งใช้ขนส่งสารภายในเซลล์ ดังนั้นการที่เชื้อ *Helicobacter pylori* มีผลทำลายไมโทคอนเดรีย ซึ่งทำให้เกิดการยับยั้งการสร้างพลังงานอาจทำให้การทำงานของเซลล์ผิดปกติมีผลทำให้สมดุลต่าง ๆ ภายในเซลล์เสียไปและทำให้เซลล์ตายได้ นอกจากนี้พบว่าเซลล์เยื่อหุ้มช่องปากมีการเปลี่ยนแปลงที่นิวเคลียส โดยพบการเกาะกลุ่มของโครมาตินที่ขอบของนิวเคลียส พบลักษณะการฟอสฟอริเลชันและการแตก

สลายของนิวเคลียสที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง ซึ่งสามารถพบเศษชิ้นส่วนของนิวเคลียสที่แตกสลายไป และจากการศึกษาที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากถูกทำลายทั้งในส่ว นิวเคลียสและไซโทพลาสซึม รวมถึงออร์แกเนลต่าง ๆ ภายในเซลล์ แต่ยังคง รูปร่างเซลล์ได้จาก ลักษณะที่พบดังกล่าวเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากในกลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Helicobacter pylori* ในการศึกษาที่น่าจะมีการตายของเซลล์ในแบบ apoptosis ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับที่มีการศึกษาพบว่าเชื้อ *Helicobacter pylori* เหนี่ยวนำให้เกิด apoptosis ในเซลล์เยื่อบุผิว กระเพาะอาหารทั้งการศึกษาในชิ้นเนื้อตัวอย่างจากผู้ป่วยและการศึกษาในเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ⁽⁷⁴⁾ และมีรายงานโดย Jones และคณะ⁽⁷⁵⁾ พบว่าชิ้นเนื้อตัวอย่างจากกระเพาะอาหารที่มีการอยู่รวมกลุ่มกันของเชื้อ *Helicobacter pylori* นั้นพบเซลล์เยื่อบุผิวกระเพาะอาหารที่มีการตายแบบ apoptosis มากกว่าปกติ

ส่วนการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากที่พบว่ามีกรรวมตัวหนาแน่นขึ้นของโทโนฟิลาเมนต์ ซึ่งแตกต่างจากเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากในกลุ่มควบคุมที่โทโนฟิลาเมนต์กระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ สอดคล้องกับรายงานของ Testerman และคณะ⁽⁷⁰⁾ ซึ่งรายงานว่าภายหลังจากเชื้อ *Helicobacter pylori* ยึดเกาะกับเซลล์เยื่อบุผิวกระเพาะอาหารแล้วจะทำให้ไมโครวิลไลลดน้อยลง เกิด actin polymerization เกิดการเรียงตัวใหม่ของไซโทสเคเลตอน (cytoskeleton rearrangement) และทำให้เกิดการเสื่อมของเซลล์ (cellular degeneration) ในแบบ apoptosis ซึ่งเชื่อว่าเกิดจาก vacuolating cytotoxin A ของเชื้อ *Helicobacter pylori*

การทดลองครั้งนี้มีสิ่งที่น่าสนใจอีกประการหนึ่ง คือ จากการศึกษาเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากที่เพาะเลี้ยงร่วมกับแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด พบการแทรกซึมของเชื้อเข้าไปในส่วเนื้อเยื่อยึดต่อได้นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์ในบริเวณที่อยู่ใกล้เคียงกับเชื้อมีการเสื่อมจนถึงเซลล์ตาย (ภาพที่ 17) ดังนั้นในบริเวณที่มีแผลในช่องปากหรือมีการสูญเสียเนื้อเยื่อในชั้นบุผิวช่องปากไป อาจเป็นช่องทางให้เชื้อแบคทีเรียที่มีอยู่ในช่องปากสามารถแทรกซึมลงไปถึงเนื้อเยื่อยึดต่อที่มีความต้านทานน้อยกว่าเยื่อบุผิว และสารพิษหรือผลผลิตจากแบคทีเรียอาจจะเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อยึดต่อและเซลล์ใกล้เคียงเกิดอาการของโรคและ/หรือเพิ่มความรุนแรงและเรื้อรังกับรอยแผลบนผิวเยื่อบุช่องปากได้โดยเฉพาะในผู้ที่มีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่องหรือสูญเสียไป

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของเชื้อ *Helicobacter pylori* ต่อการเสื่อมของเซลล์เยื่อเมือช่องปาก จากเนื้อเยื่อเยื่อเหงือกปกติของมนุษย์ในห้องปฏิบัติการครั้งนี้ พบว่าเชื้อ *Helicobacter pylori* มีผลทำให้เซลล์เยื่อเมือช่องปากเปลี่ยนแปลงไปในทางเสื่อมหลายลักษณะจนถึงทำให้เซลล์ตาย และระยะเวลาที่ใช้ในการทดลองมีผลต่อการเสื่อมของเซลล์เยื่อเมือช่องปาก โดยพบว่าการศึกษาที่ระยะเวลา 6 และ 24 ชั่วโมง ไม่พบการแทรกซึมของเชื้อ *Helicobacter pylori* เข้าไปในเซลล์เยื่อเมือช่องปากหรือเซลล์ไฟโบรบลาสต์ แต่ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงนั้นพบว่าเชื้อสามารถแทรกซึมเข้าสู่ส่วนที่เป็นเมทริกซ์นอกเซลล์และช่องว่างระหว่างเซลล์เยื่อเมือช่องปากได้ เชื้อ *Helicobacter pylori* สามารถมีผลทำให้เซลล์เสื่อมลงได้ตั้งแต่ระยะเวลา 6 ชั่วโมงแรก และที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเซลล์เยื่อเมือช่องปากถูกทำลายมากขึ้น สำหรับการตายของเซลล์เยื่อเมือช่องปากที่พบในการศึกษาครั้งนี้ น่าจะเป็นการตายแบบ apoptosis ซึ่งเกิดจากสารหรือผลผลิตจากเชื้อ *Helicobacter pylori*

ข้อเสนอแนะ

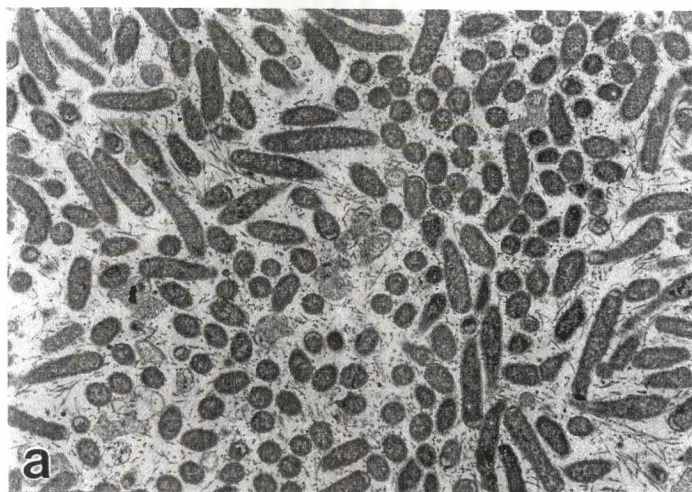
การศึกษานี้ได้ข้อสรุปว่า เชื้อ *Helicobacter pylori* และเชื้อ *Escherichai coli* มีผลต่อการเสื่อมของเซลล์เยื่อเมือช่องปากที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยมีความรุนแรงเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่สัมผัสกับเชื้อ และเนื่องจากพบการแทรกซึมของเชื้อทั้งสองชนิดเข้าไปในเนื้อเยื่อยึดต่อได้ ดังนั้นในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* และ/หรือเชื้อ *Escherichai coli* และมีแผลในช่องปากหรือมีโรคเหงือกที่ทำให้เยื่อเมือช่องปากหลวม อาจจะมีโอกาสที่เชื้อแบคทีเรียเหล่านั้นแทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อยึดต่อได้ ทำให้เกิดการตายของเซลล์และเกิดแผลในช่องปากที่มีความรุนแรงและเรื้อรังยิ่งขึ้น จึงควรมีการกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* ในช่องปากของผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* เสียตั้งแต่ในระยะแรก ๆ ด้วยเสมอ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันโรคบกพร่อง นอกจากนี้ผลการศึกษานี้ยังพบข้อแตกต่างของความรุนแรงของเชื้อ *Helicobacter pylori* และเชื้อ *Escherichai coli* ต่อเซลล์เยื่อเมือช่องปาก จึงน่าจะทำการศึกษาถึงกลไกหรือผลของสารที่เชื้อ *Helicobacter pylori* ผลิตออกมาต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อเมือช่องปากในสภาวะธรรมชาติต่อไปอีกด้วย

ภาพที่ 1 a และ b ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงลักษณะของเชื้อ *Helicobacter pylori* พบว่ามีรูปร่างเป็นแท่งบิดเล็กน้อยและเส้นขอบเขตผิวด้านข้างมีลักษณะเป็นหยัก (หัวลูกศรชี้) เชื้อ *Helicobacter pylori* ที่พบมีการเรียงตัวไม่แน่นอนหรือมีการเรียงตัวอิสระ โดยวัดขนาดของเชื้อตามยาวได้ประมาณ 5 ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 ไมโครเมตร

(ภาพ a: กำลังขยาย 4,800 เท่า)

(ภาพ b: กำลังขยาย 16,500 เท่า)

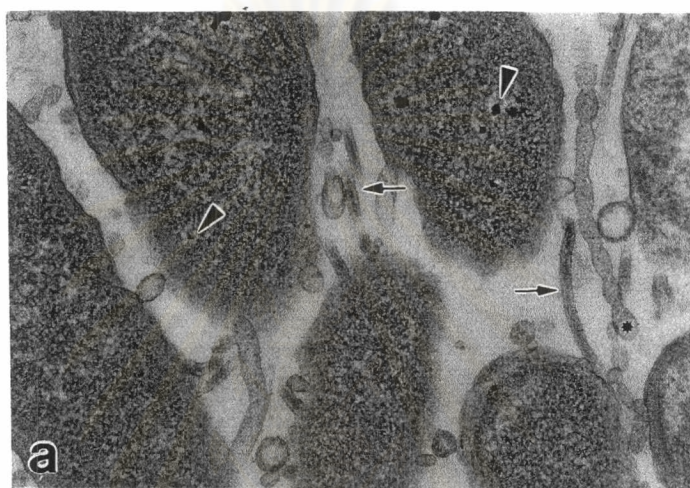
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 2 a และ b ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านที่กำลังขยายสูง แสดงลักษณะของเชื้อ *Helicobacter pylori* พบแฟลกเจลลาอยู่ที่บริเวณขั้วข้างใดข้างหนึ่งของเซลล์แบคทีเรีย แฟลกเจลลาเหล่านี้มีลักษณะเป็นแกนที่มีปลอกหุ้ม (ลูกศรชี้ในภาพ a และ b) และที่บริเวณปลายเป็นกระเปาะ (* ในภาพ a) ที่ขั้วของแบคทีเรีย ในตำแหน่งที่เป็นรอยต่อของแฟลกเจลลากับเซลล์แบคทีเรียพบ electron lucent areas (* ในภาพ b) เชื้อ *Helicobacter pylori* มีเยื่อหุ้มเซลล์ 2 ชั้น ไส้โทพลาซิมมีลักษณะหนาแน่นประกอบด้วยสารคล้ายนิวเคลียสและไรโบโซม ภายในเซลล์พบแกรนูลที่มีรูปร่างและขนาดไม่แน่นอน (หัวลูกศรชี้ในภาพ a และ b)

(ภาพ a และ b: กำลังขยาย 45,000 เท่า)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

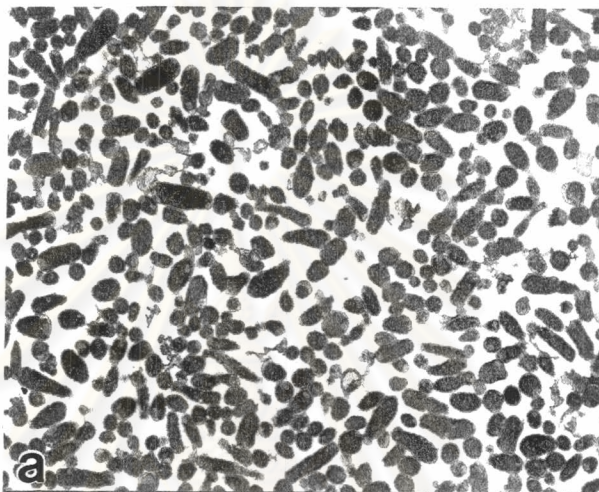


จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 3 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน ภาพ a แสดงลักษณะของเชื้อ *Escherichia coli* ที่เรียงตัวอิสระ พบว่ามีรูปร่างเป็นแท่งสั้น ๆ โดยมีขนาดของเชื้อตามยาวประมาณ 1.5 ไมโครเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 ไมโครเมตร ที่กำลังขยายสูงขึ้นไป (ภาพ b) พบว่าเชื้อชนิดนี้มีเยื่อหุ้มเซลล์ 2 ชั้น และไซโทพลาซึมมีลักษณะหนาแน่นเช่นเดียวกับที่พบในเชื้อ *Helicobacter pylori* แต่ไม่พบแกรนูลภายในเซลล์

(ภาพ a: กำลังขยาย 4,800 เท่า)
(ภาพ b: กำลังขยาย 30,000 เท่า)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ศูนย์วิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

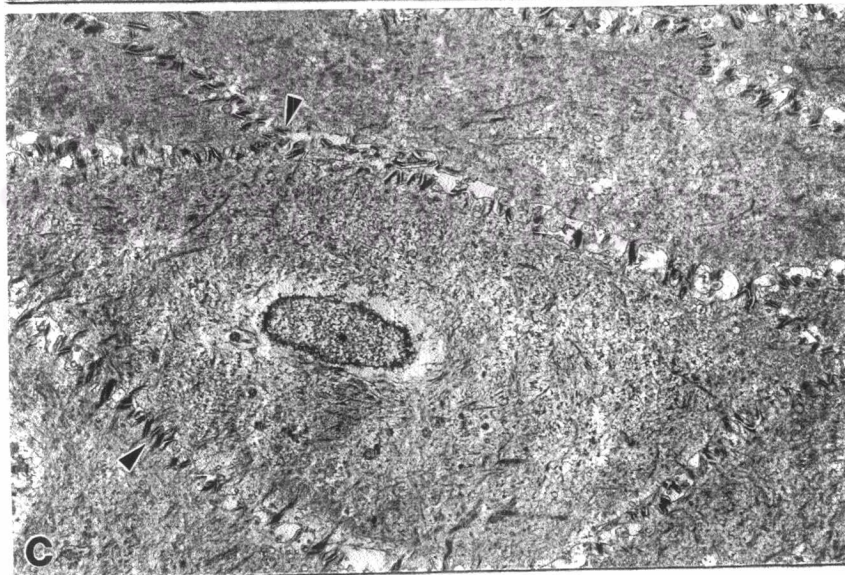
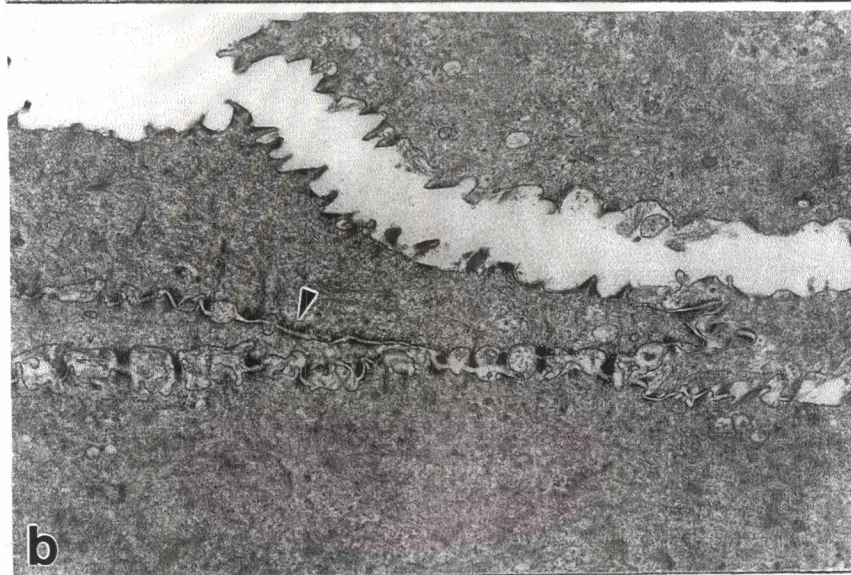
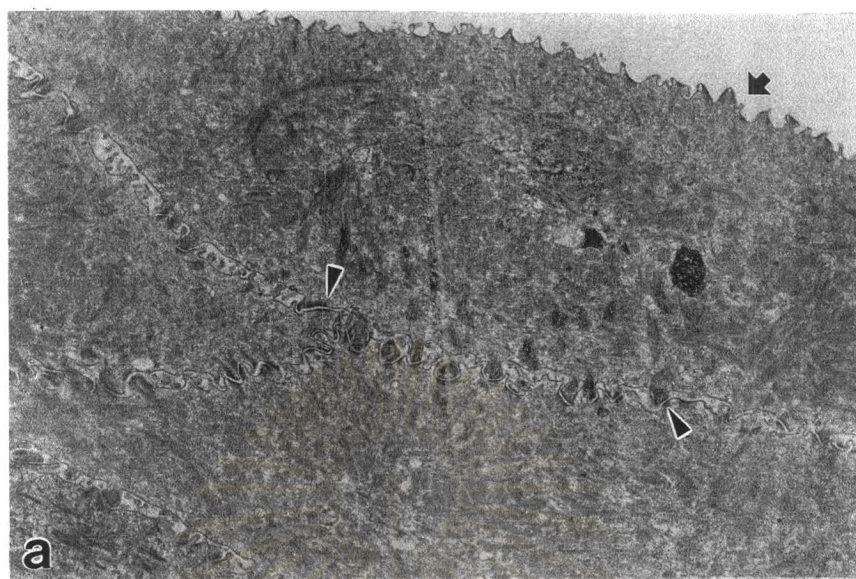
ภาพที่ 4 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงลักษณะของเซลล์เยื่อผิวช่องปากในกลุ่มควบคุมที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเซลล์เยื่อผิวช่องปากที่บริเวณพื้นผิวมีรูปร่างค่อนข้างแบนมีความต่อเนื่องของเซลล์พบ intercellular bridges หรือ เดสโมโซม (หัวลูกศรชี้ในภาพ a ถึง c) ลักษณะเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์เยื่อผิวช่องปากบริเวณพื้นผิวมีส่วนที่ยื่นออกไปเป็น free epithelial surface คล้ายไมโครวิลไล (ลูกศรชี้ในภาพ a) นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์เยื่อผิวช่องปากชั้นบนมีการหลุดลอกออกจากเยื่อผิวได้ (ภาพ b) นิวเคลียสของเซลล์เยื่อผิวช่องปากในบริเวณพื้นผิวและที่ระดับต่ำลงมาเล็กน้อยมีลักษณะแบนและบางเซลล์ไม่พบนิวเคลียส (ภาพ a ถึง c)

(ภาพ a: กำลังขยาย 9,000 เท่า)

(ภาพ b: กำลังขยาย 7,500 เท่า)

(ภาพ c: กำลังขยาย 3,750 เท่า)

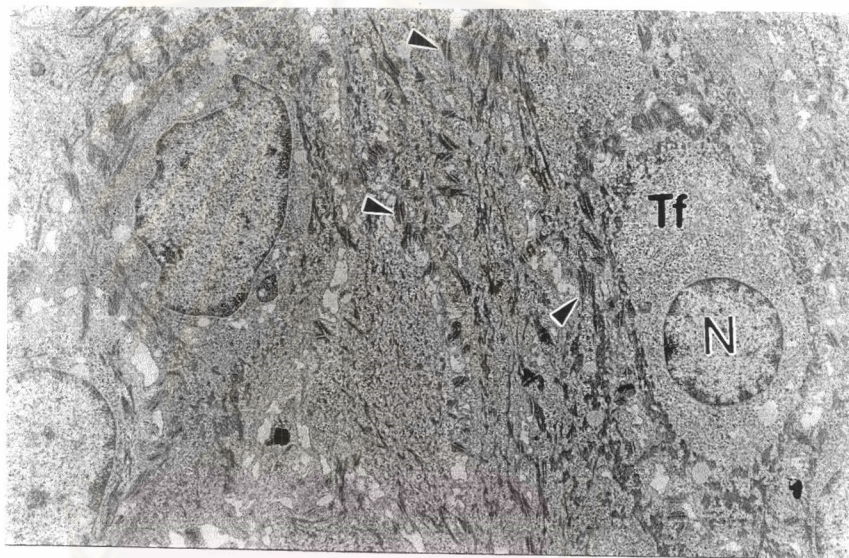
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 5 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงลักษณะของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากในชั้นลึกลงไปในกลุ่มควบคุมที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่ามีรูปร่างรีและพบเดสโมโซมชัดเจน (หัวลูกศรชี้) นิวเคลียส (N) มีรูปร่างกลมและมีขนาดใหญ่ขึ้นส่วนประกอบภายในเซลล์มากขึ้น ในส่วนไซโทพลาซึมของเซลล์พบโทโนฟิลาเมนต์ (Tf) กระจายสม่ำเสมออยู่ทั่วไปในเซลล์เยื่อบุผิวช่องปาก

(กำลังขยาย 4,800 เท่า)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



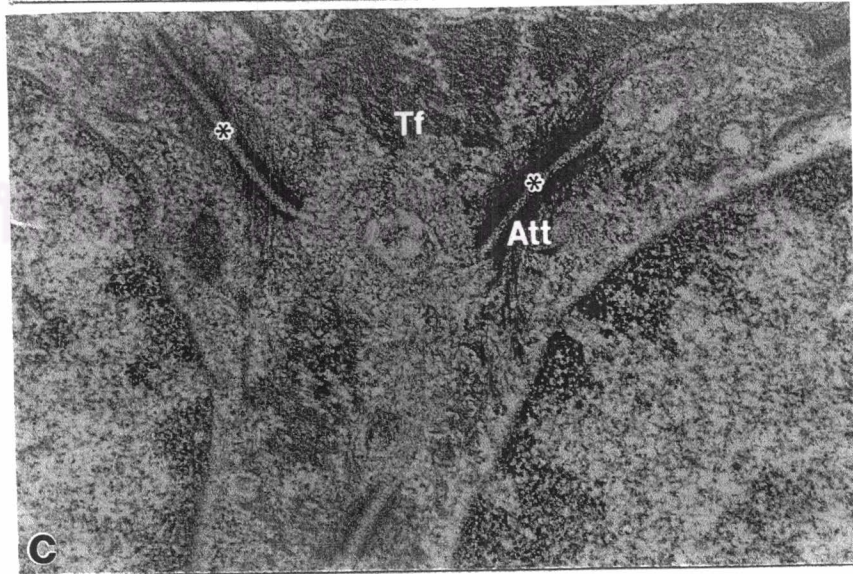
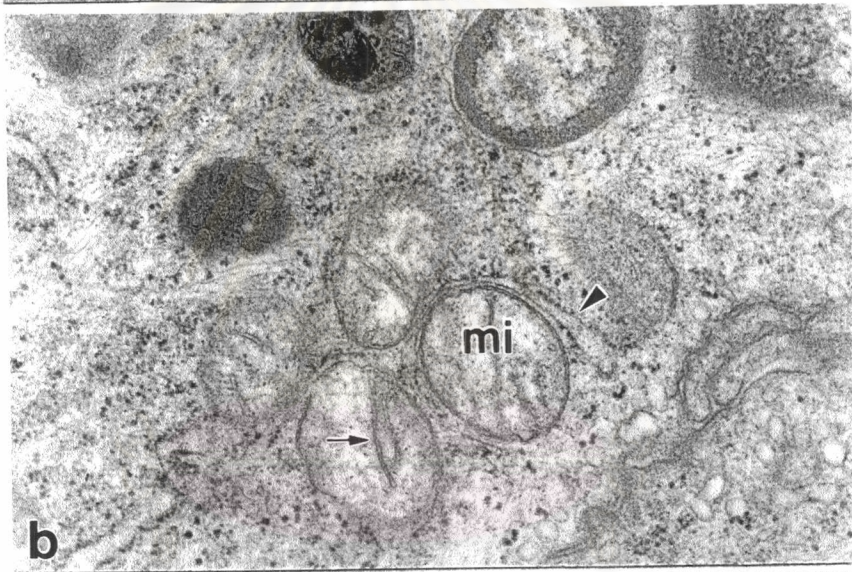
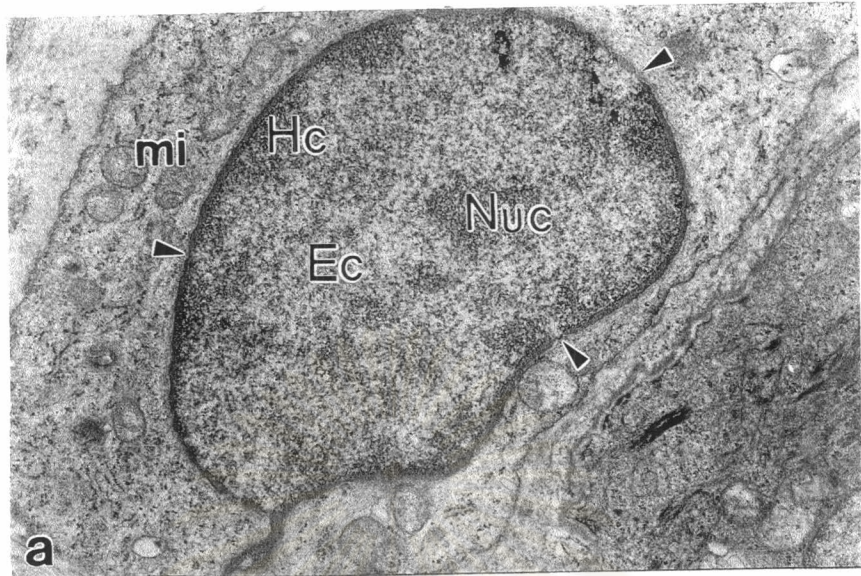
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 6 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านที่กำลังขยายสูง แสดงลักษณะของเซลล์เยื่อหุ้มช่องปากในกลุ่มควบคุมที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

ภาพ a แสดงลักษณะนิวเคลียสของเซลล์เยื่อหุ้มช่องปากมีเยื่อหุ้มนิวเคลียส 2 ชั้น และพบ nuclear pore (หัวลูกศรชี้) ภายในนิวเคลียสมี nucleolus (Nuc) พบ heterochromatin (Hc) รวมกลุ่มอยู่ใกล้กับบริเวณผิวด้านในของเยื่อหุ้มนิวเคลียสและพบ euchromatin (Ec) กระจายอยู่ทั่วไปในนิวเคลียส (กำลังขยาย 12,500 เท่า)

ภาพ b แสดงลักษณะ organelles ของเซลล์เยื่อหุ้มช่องปาก ได้แก่ mitochondria (mi) ซึ่งมีเยื่อหุ้ม 2 ชั้น ที่มีความต่อเนื่องและมีขอบเขตชัดเจน โดยเยื่อหุ้มชั้นในจะยื่นเข้าไปเป็น cristae (ลูกศรชี้) rough endoplasmic reticulum มีลักษณะคล้ายถุงที่มีไรโบโซมเกาะติดอยู่ที่บริเวณเยื่อหุ้ม (หัวลูกศรชี้) (กำลังขยาย 30,000 เท่า)

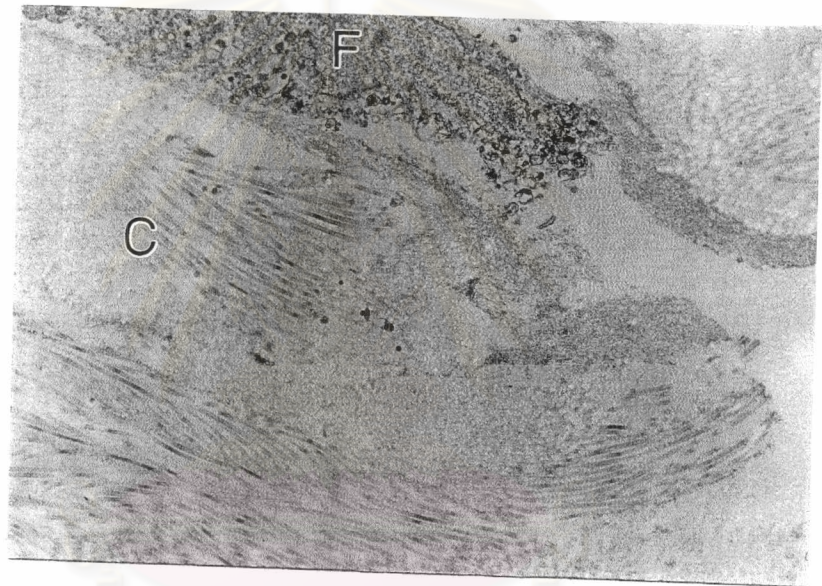
ภาพ c แสดงบริเวณรอยต่อระหว่างเซลล์พบเดสโมโซม (*) ที่มีไทโนฟิลาเมนต์ (Tf) เกาะอยู่ที่บริเวณ attachment plaque (Att) (กำลังขยาย 55,000 เท่า)



ภาพที่ 7 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงลักษณะของเนื้อเยื่อยึดต่อในกลุ่มควบคุมที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าส่วนเนื้อเยื่อยึดต่อ ซึ่งอยู่ถัดจาก basement membrane ประกอบด้วยเมทริกซ์นอกเซลล์ ซึ่งมีโครงสร้างหลักที่พบคือ เส้นใยคอลลาเจน (C) กระจายอยู่ทั่วไปและอยู่ใกล้เคียงกับเซลล์ไฟโบรลลาสต์ (F)

(กำลังขยาย 9,000 เท่า)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

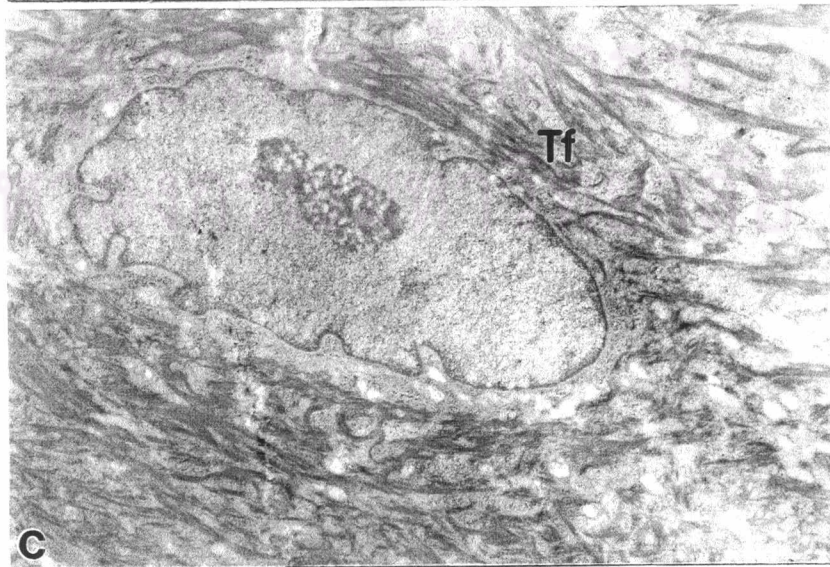
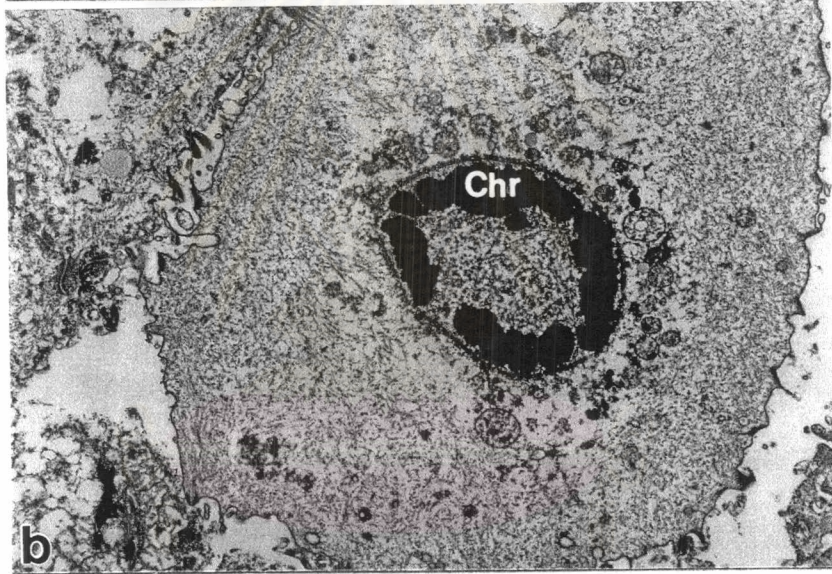
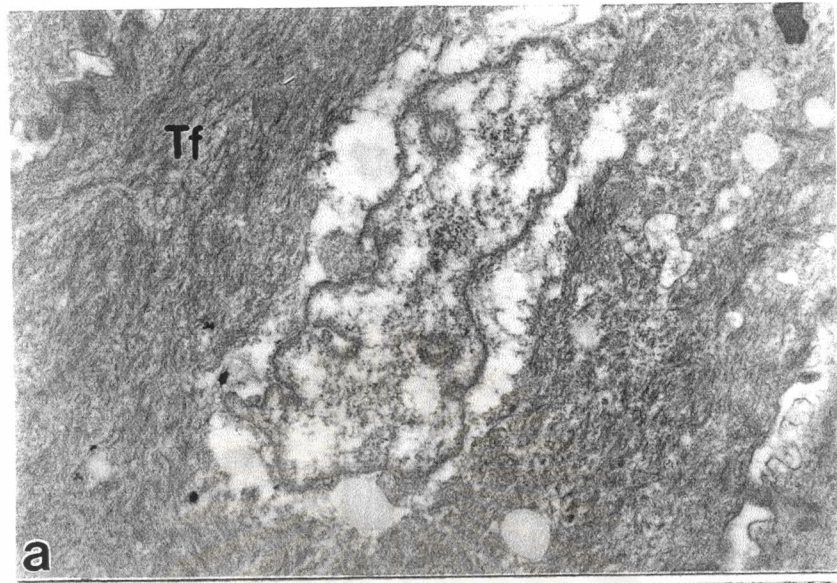
ภาพที่ 8 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงลักษณะของเซลล์เยื่อ
 ผิวช่องปากในกลุ่มทดลองที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่ระยะเวลา
 6 ชั่วโมง พบว่าเชื้อ *Helicobacter pylori* ไม่มีการแทรกซึมเข้าไปในเซลล์เยื่อผิว
 ช่องปาก แต่พบลักษณะของเซลล์เยื่อผิวช่องปากที่บริเวณพื้นผิวเปลี่ยนแปลงได้
 หลายลักษณะ โดยบางเซลล์นิวเคลียสมีลักษณะฝ่อลีบและพบโทโนฟิลาเมนต์ (Tf) มี
 การรวมตัวหนาแน่นขึ้น (ภาพ a) บางเซลล์พบการเกาะกลุ่มของโครมาติน (Chr) ที่
 ขอบของนิวเคลียส (ภาพ b) และบางเซลล์นิวเคลียสมีลักษณะปกติแต่พบการหนาแน่น
 ขึ้นของโทโนฟิลาเมนต์ (Tf) เช่นกัน (ภาพ c)

(ภาพ a: กำลังขยาย 12,450 เท่า)

(ภาพ b: กำลังขยาย 6,900 เท่า)

(ภาพ c: กำลังขยาย 9,000 เท่า)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



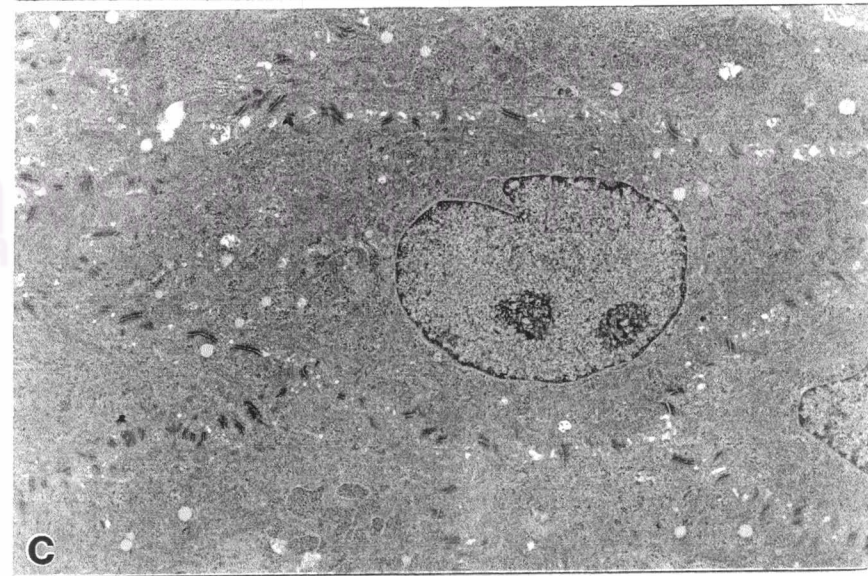
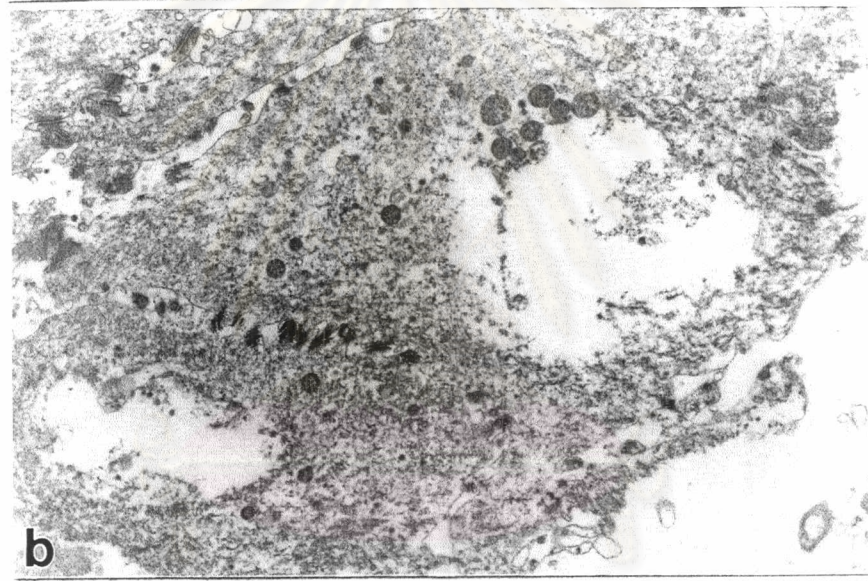
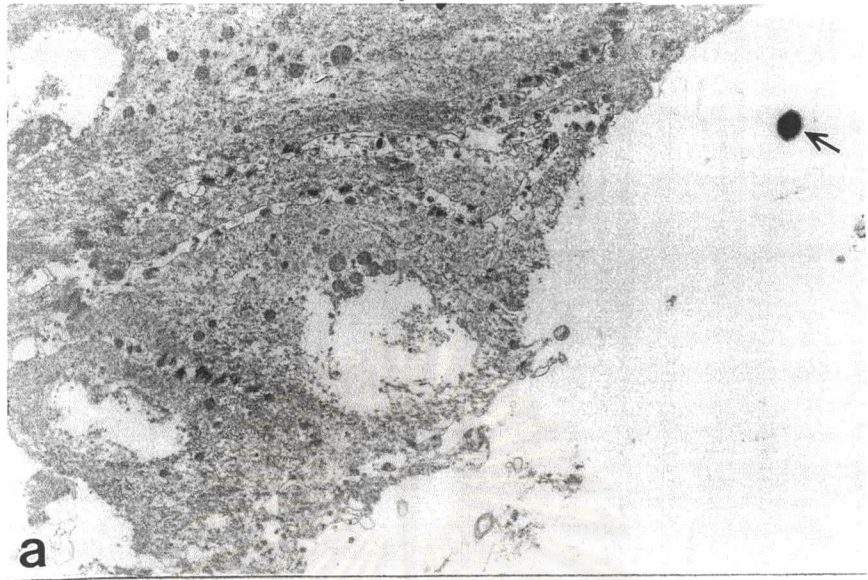
ภาพที่ 9 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงลักษณะของเซลล์เยื่อ
 ผนังช่องปากในกลุ่มทดลองที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่ระยะเวลา
 6 ชั่วโมง โดยลักษณะที่พบได้บ่อยที่สุดในการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อผนังช่องปาก
 (ภาพ a) บริเวณพื้นผิว คือ บางเซลล์นิวเคลียสเสื่อมสลาย และพบเศษชิ้นส่วนของ
 นิวเคลียสอยู่ภายในช่องว่าง (ภาพ a และ b) ในขณะที่เซลล์เยื่อผนังช่องปากที่อยู่ใน
 ชั้นลึกลงไปยังคงลักษณะปกติ (ภาพ c) ให้สังเกตเชื้อ *Helicobacter pylori* (ลูกศรชี้
 ในภาพ a) ที่ผิวด้านนอกเยื่อผนังช่องปาก โดยเชื้อนี้ไม่มีการแทรกซึมเข้าไปในเซลล์
 เยื่อผนังช่องปาก

(ภาพ a: กำลังขยาย 4,800 เท่า)

(ภาพ b: กำลังขยาย 9,000 เท่า)

(ภาพ c: กำลังขยาย 4,800 เท่า)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 10 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านที่กำลังขยายสูง แสดงลักษณะของเซลล์เยื่อหุ้มช่องปากที่มีการเปลี่ยนแปลงในกลุ่มทดลองที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง

ภาพ a แสดงการเปลี่ยนแปลงที่ mitochondria (mi) คือ มีการขาดหายไปหรือไม่ ต่อเนื่องของเยื่อหุ้มชั้นนอก เยื่อหุ้มชั้นในและคริสตี และพบการรวมตัวหนาแน่นขึ้นของโทโนฟิลาเมนต์ (Tf)

(กำลังขยาย 45,000 เท่า)

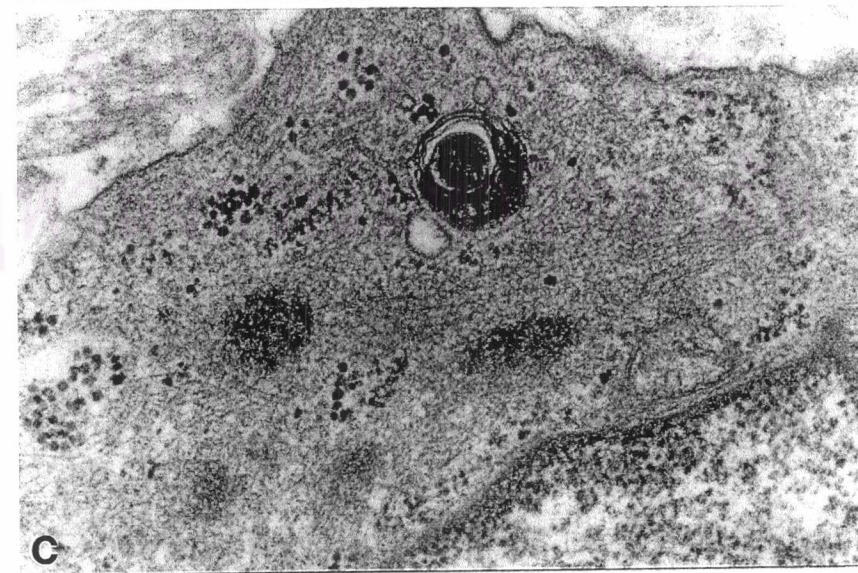
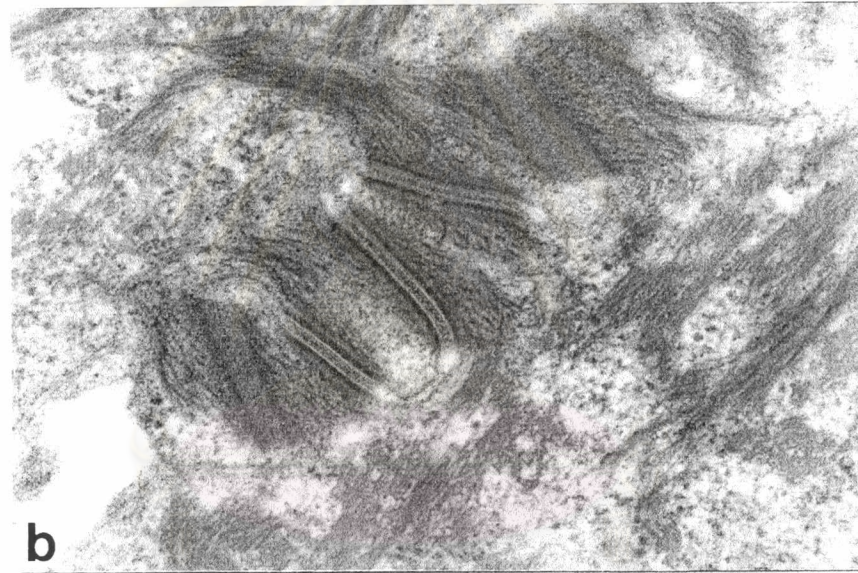
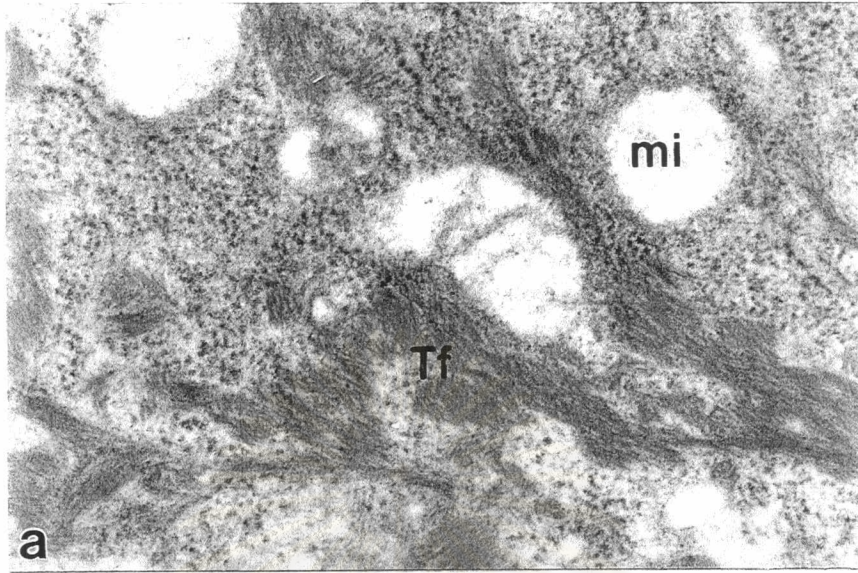
ภาพ b แสดงลักษณะของเซลล์เยื่อหุ้มช่องปากที่มีการเปลี่ยนแปลงแต่ยังไม่พบการทำลายของเดสโมโซม

(กำลังขยาย 55,000 เท่า)

ภาพ c แสดงลักษณะของเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม ที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน

(กำลังขยาย 45,000 เท่า)

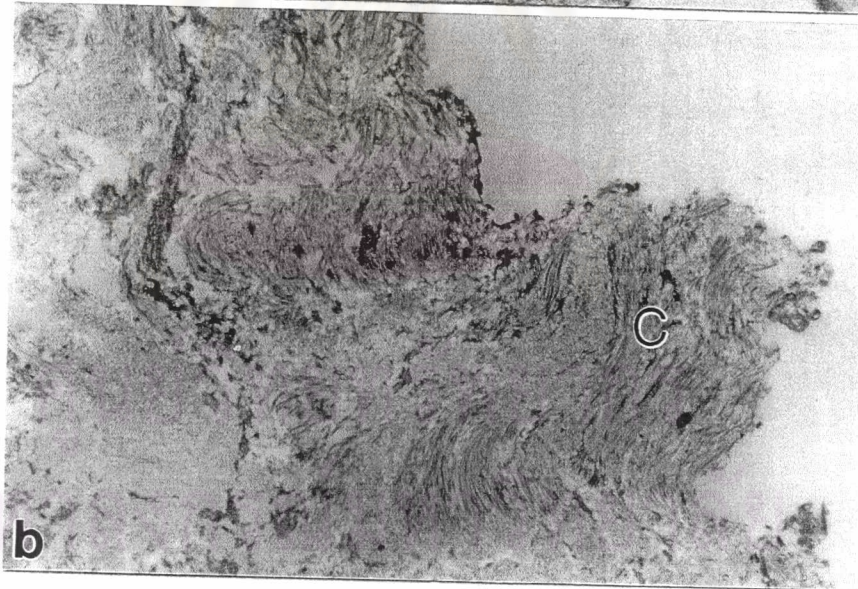
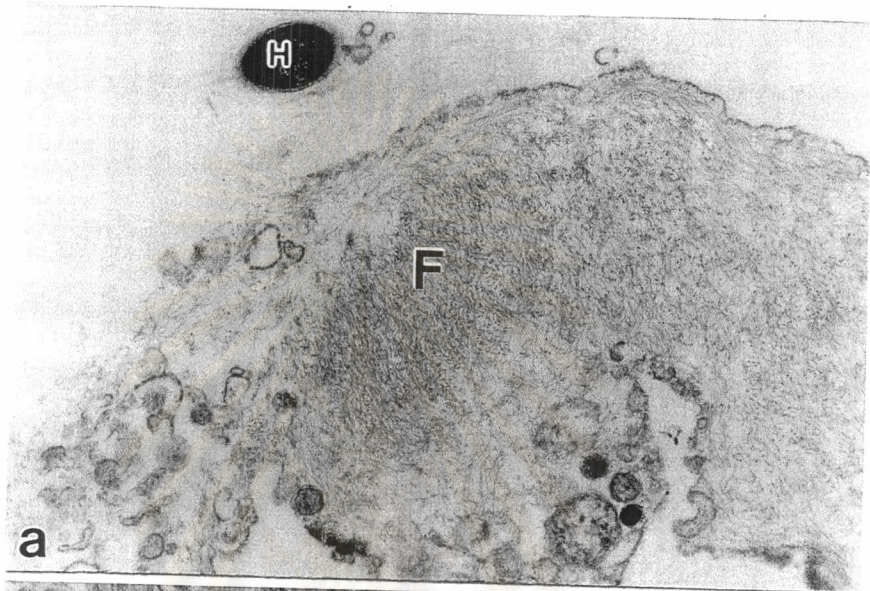
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 11 a และ b ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อยึดต่อได้เยื่อบุผิวช่องปากในกลุ่มทดลองที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง สามารถพบเชื้อ *Helicobacter pylori* (H) ที่ขอบของชั้นเนื้อได้โดยยังไม่พบการแทรกซึมของเชื้อ *Helicobacter pylori* เข้าไปในเซลล์ไฟโบร بلاสต์ (F) (ภาพ a) และบริเวณเนื้อเยื่อยึดต่อที่ขอบของชั้นเนื้อ (C คือเส้นใยคอลลาเจน)

(a และ b: กำลังขยาย 12,450 เท่า)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 12 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงลักษณะของเยื่อบุผิวช่องปากในกลุ่มทดลองที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

ภาพ a แสดงการแทรกซึมของเชื้อ *Helicobacter pylori* (H) เข้าไปอยู่ระหว่างเซลล์เยื่อบุผิวช่องปาก (Epi) และพบว่าช่องว่างระหว่างเซลล์ก็กว้างขึ้นร่วมกับมีการทำลายของเดสโมโซม (*) ในบางตำแหน่ง

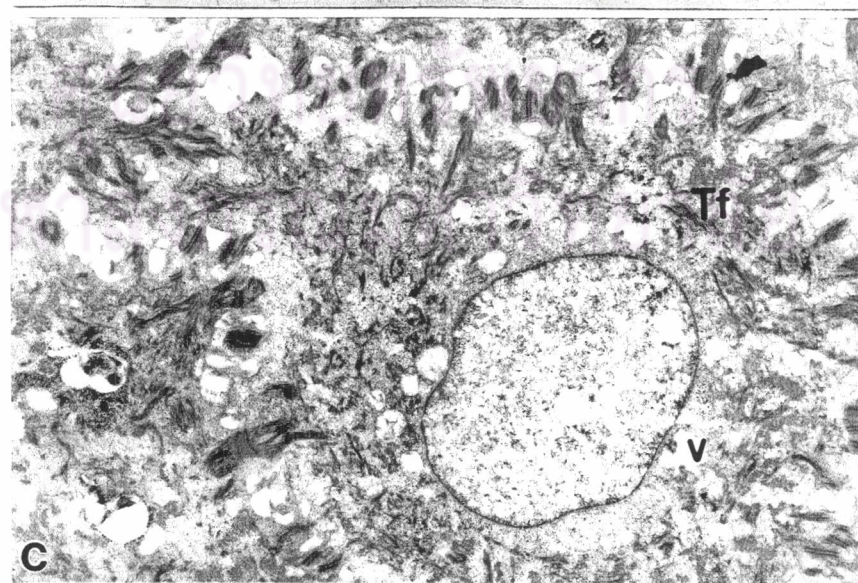
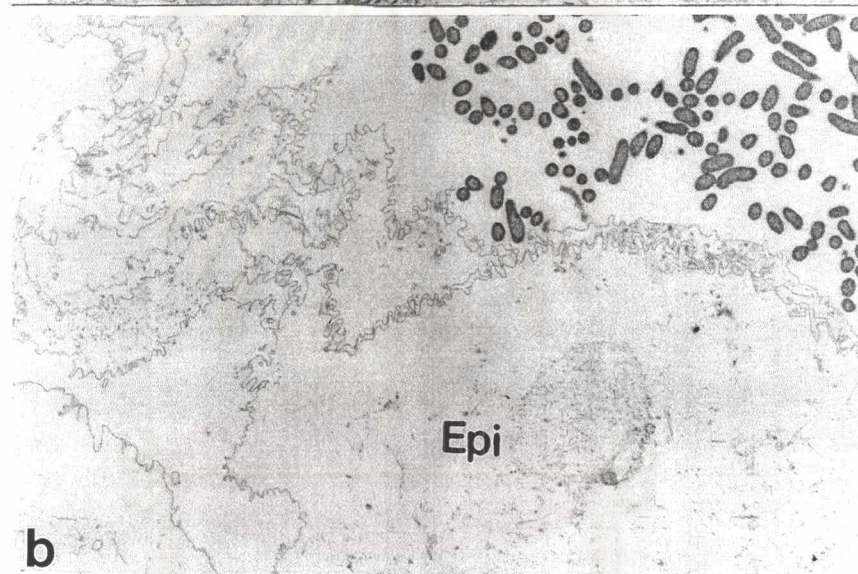
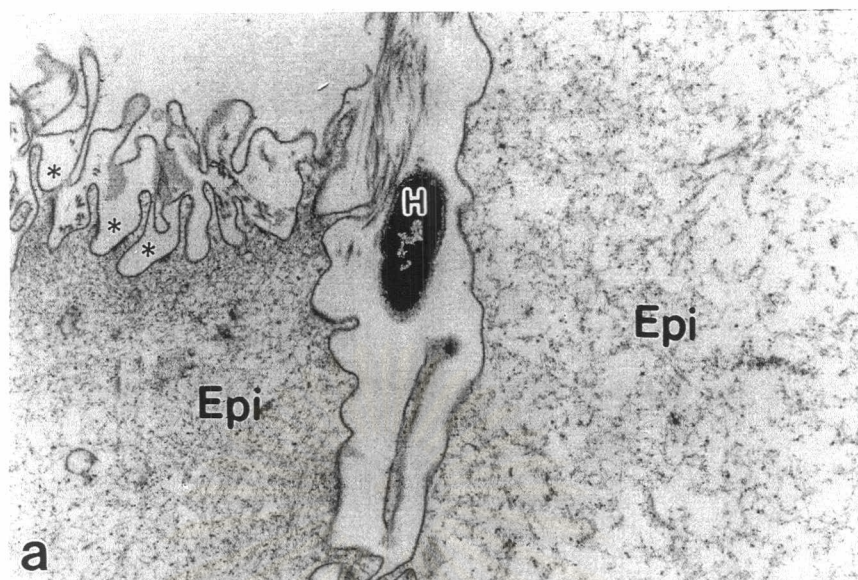
(กำลังขยาย 16,500 เท่า)

ภาพ b แสดงลักษณะเซลล์เยื่อบุผิวช่องปาก (Epi) ที่บริเวณพื้นผิวที่ถูกทำลายทั้งในส่วนนิวเคลียสและส่วนไซโทพลาซึมแต่ยังคงรูปร่างของเซลล์ได้

(กำลังขยาย 4,800 เท่า)

ภาพ c แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากที่อยู่ชั้นลึกลงไป โดยพบแควิวโอล (V) จำนวนมากภายในเซลล์และพบโทโนฟิลาเมนต์ (Tf) หนาตัวขึ้น

(กำลังขยาย 6,900 เท่า)



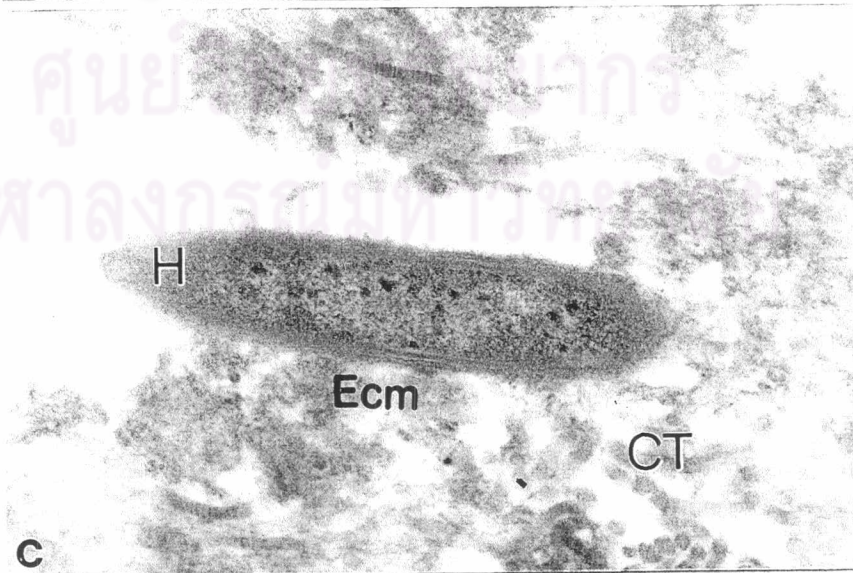
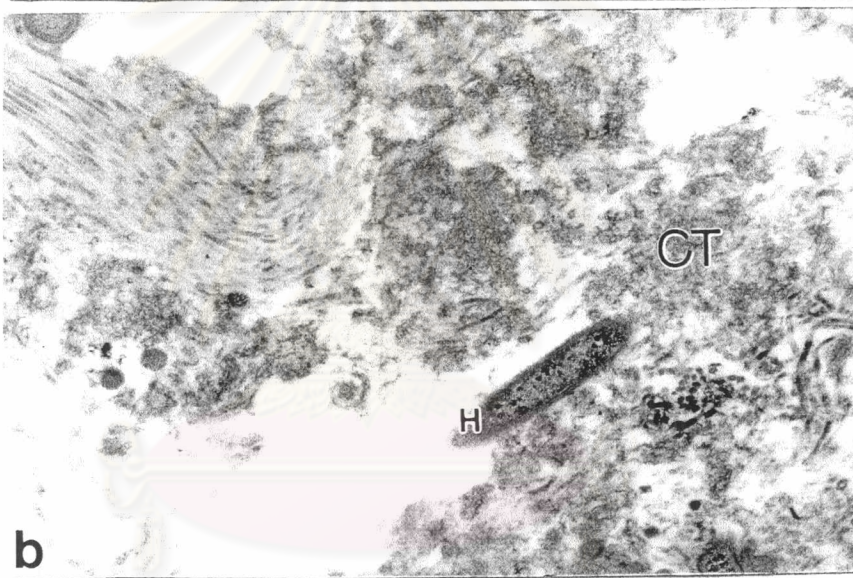
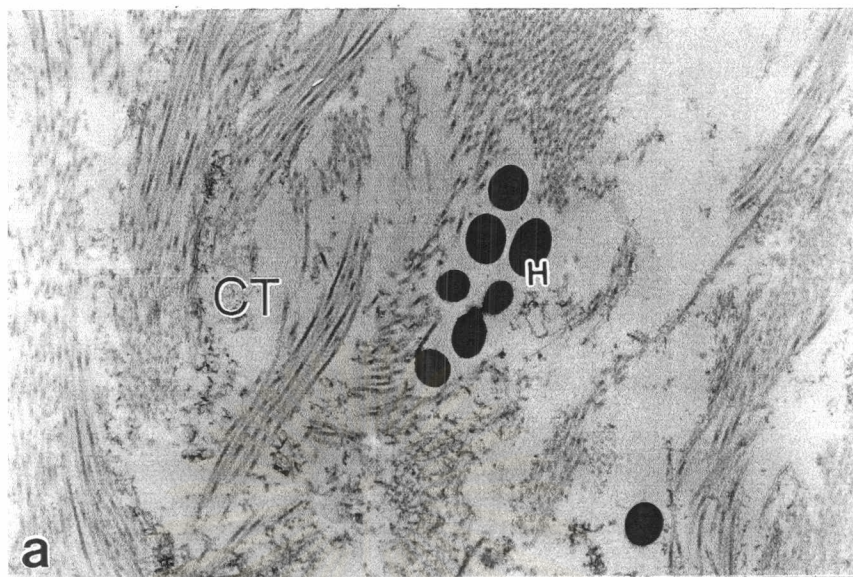
ภาพที่ 13 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงลักษณะของเนื้อเยื่อยึดต่อชั้นใต้เยื่อบุผิวช่องปากในกลุ่มทดลองที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Helicobacter pylori* (H) ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเชื้อ *Helicobacter pylori* สามารถแทรกซึมเข้าไปในส่วนของเนื้อเยื่อยึดต่อ (CT) และมีการแทรกอยู่ในเมทริกซ์นอกเซลล์ (Ecm) ได้

(ภาพ a: กำลังขยาย 12,450 เท่า)

(ภาพ b: กำลังขยาย 16,500 เท่า)

(ภาพ c: กำลังขยาย 45,000 เท่า)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

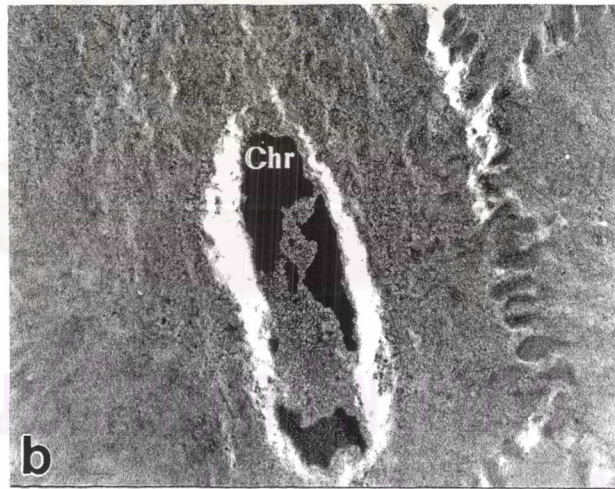
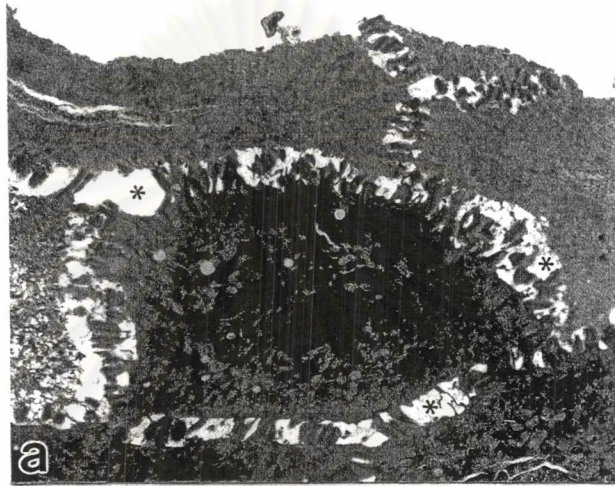


ภาพที่ 14 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงลักษณะของเยื่อหุ้มช่องปากในกลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Escherichia coli* ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า เชื้อ *Escherichia coli* ไม่มีการแทรกซึมของเข้าไปในเซลล์เยื่อหุ้มช่องปาก และพบเซลล์เยื่อหุ้มช่องปากที่บริเวณพื้นผิวมีการเปลี่ยนแปลง โดยมีช่องว่างระหว่างเซลล์กว้างขึ้น (* ในภาพ a) และพบว่านิวเคลียสมีการหดตัวร่วมกับการรวมตัวของโครมาติน (Chr) ที่อยู่ในนิวเคลียส (ภาพ b)

(ภาพ a: กำลังขยาย 4,800 เท่า)

(ภาพ b: กำลังขยาย 9,000 เท่า)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

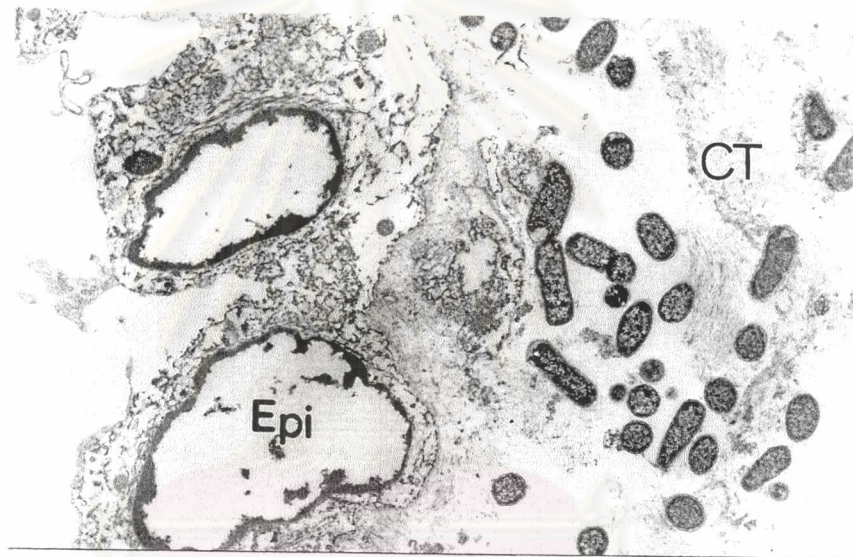


ศูนย์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 15 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงลักษณะของเยื่อหุ้ม
ช่องปากในกลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Escherichia coli* ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง
ไม่พบการแทรกซึมของเชื้อเข้าไปในเซลล์เยื่อหุ้มช่องปากหรือช่องว่างระหว่างเซลล์
แต่พบว่าเชื้อแทรกซึมเข้าไปในส่วนเนื้อเยื่อยึดต่อ (CT) และเซลล์เยื่อหุ้มช่องปาก
(Epi) ในบริเวณใกล้เคียงถูกทำลาย

(กำลังขยาย 4,800 เท่า)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 16 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงการเปรียบเทียบลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากในกลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Helicobacter pylori* (ภาพ a และ c) กับเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากในกลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Escherichia coli* (ภาพ b และ d) ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง ให้สังเกตเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากในกลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Helicobacter pylori* มีการรวมตัวหนาแน่นขึ้นของโทโนฟิลาเมนต์ (Tf) (ภาพ a) ในขณะที่ไม่พบในกลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Escherichia coli* (ภาพ b) ส่วนการเกาะกลุ่มของโครมาติน (Chr) ที่ขอบของนิวเคลียสสามารถพบได้ในเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากกลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด (ภาพ c กับ d)

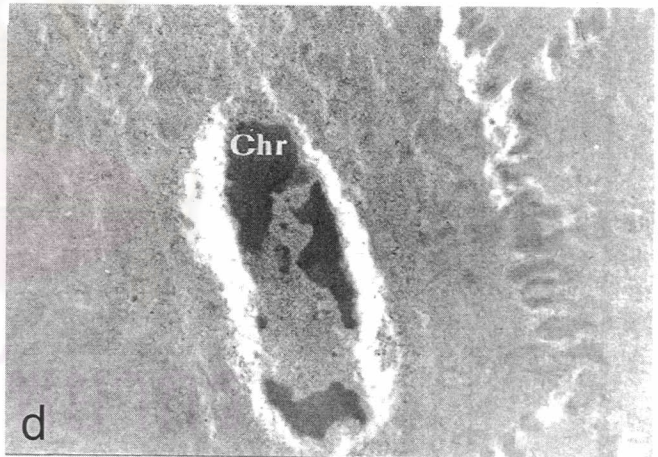
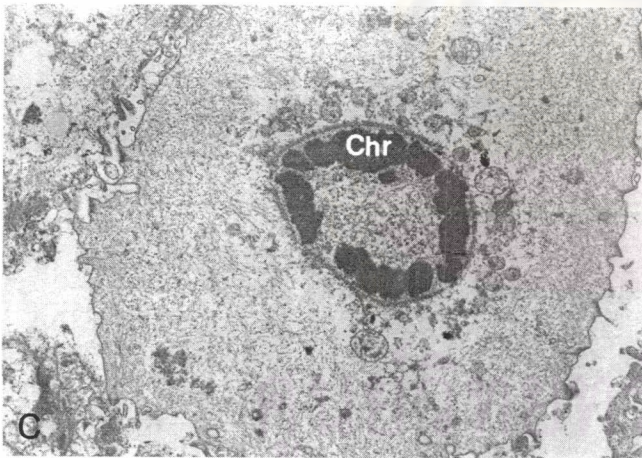
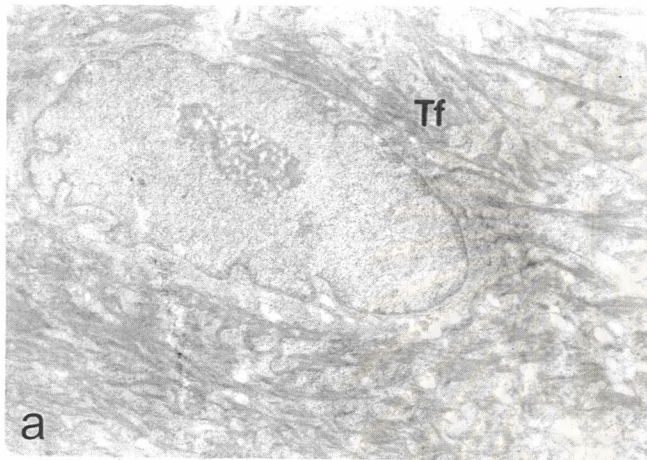
(ภาพ a: กำลังขยาย 9,000 เท่า)

(ภาพ b: กำลังขยาย 4,800 เท่า)

(ภาพ c: กำลังขยาย 6,900 เท่า)

(ภาพ d: กำลังขยาย 9,000 เท่า)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 17 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงการเปรียบเทียบลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อผิวช่องปากในกลุ่มควบคุม (ภาพ a, c และ e) กับเซลล์เยื่อผิวช่องปากในกลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Helicobacter pylori* (ภาพ b และ d) และเซลล์เยื่อผิวช่องปากในกลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Escherichia coli* (ภาพ f) ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ให้สังเกตว่าที่ระยะเวลานี้ เชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดไม่พบการแทรกซึมเข้าไปในเซลล์เยื่อผิวช่องปาก (ภาพ b กับ f) แต่สามารถพบเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดในส่วนเนื้อเยื่อยึดต่อ (CT) (ภาพ d กับ f) และนอกจากนี้เซลล์เยื่อผิวช่องปากที่อยู่ใกล้ชิดกับเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด มีการตายโดยที่ยังคงรูปร่างของเซลล์ได้ (ภาพ b กับ f)

(ภาพ a และ c: กำลังขยาย 9,000 เท่า)

(ภาพ b และ f: กำลังขยาย 4,800 เท่า)

(ภาพ d: กำลังขยาย 12,450 เท่า)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

