

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ยุงเป็นพาหะนำโรคหลายชนิดมาสู่คนและสัตว์ โรคต่างๆ เหล่านี้เป็นต้นว่า มาลาเรีย (malaria) ไข้เหลือง (yellow fever) ไข้เลือดออก (dengue haemorrhagic fever) โรคเท้าช้าง (filariasis) และไวรัสไข้สมองอักเสบ (Japanese encephalitis) โรคเหล่านี้ได้แพร่กระจายไปอย่างกว้างขวางซึ่งเป็นสาเหตุของความทุพพลภาพและเป็นสาเหตุการตายที่สำคัญ เฉพาะมาลาเรียเพียงโรคเดียวในแต่ละปีมีผู้ป่วยประมาณ 300 – 500 ล้านคนทั่วโลก และมีผู้เสียชีวิตประมาณปีละ 3 ล้านคน⁽¹⁾

กระบวนการการถ่ายทอดเชื้อโรค (pathogens) โดยยุงนั้นเชื้อโรคจะถูกถ่ายทอดจากยุงไปสู่โฮสต์ในขณะที่ยุงดูดกินเลือดโดยเชื้อโรคจะถูกถ่ายทอดไปสู่โฮสต์ใหม่เมื่อยุงปล่อยน้ำลายออกไป และในขณะเดียวกันยุงก็อาจได้รับเชื้อโรคจากสัตว์มีกระดูกสันหลังที่ปนมากับเลือดที่ยุงดูดกินเข้าไปด้วย ในการดูดกินเลือดของยุงนั้นยุงจะต้องมีการปรับตัวเพื่อให้มีความสามารถในการดูดกินเลือดจากสัตว์มีกระดูกสันหลัง (vertebrate) ที่เป็นโฮสต์ เช่นการติดต่อสัมผัสกับสัตว์มีกระดูกสันหลังที่เป็นโฮสต์ของยุงต้องทำด้วยกลไกที่มีประสิทธิภาพเพราะหากโฮสต์รู้สึกตัวยุงก็จะได้รับอันตราย⁽²⁾ นอกจากการดูดกินเลือดโดยไม่ทำโฮสต์รู้ตัวแล้วยุงจะต้องเผชิญกับอุปสรรคซึ่งเกิดจากกลไกการป้องกันตัวของโฮสต์ในระบบเลือดอีกได้แก่ ระบบการแข็งตัวของเลือด (haemostasis) และระบบภูมิคุ้มกัน (vertebrate immune system) ซึ่งการดูดกินเลือดของยุงให้มีประสิทธิภาพที่สุดนั้นยุงจะต้องมีกระบวนการที่ไปขัดขวางกลไกดังกล่าวซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าต่อมน้ำลายยุงมีหน้าที่สำคัญในกระบวนการนี้

สิ่งกระตุ้นที่ทำให้เกิดความต้องการศึกษารายละเอียดเกี่ยวกับต่อมน้ำลายยุงก็คือบทบาทของต่อมน้ำลายยุงในการดูดกินอาหารที่เป็นน้ำตาลและเลือด ในการดูดกินน้ำตาลของยุงนั้น น้ำลายซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์ที่สามารถย่อยน้ำตาลจะเข้าผสมกับน้ำตาลที่ยุงดูดเข้ามา⁽³⁾ และทำการย่อยจากนั้นจึงส่งต่อสู่กระเพาะอาหารต่อไป ทั้งยุงเพศผู้และเพศเมียต้องการน้ำตาลเพื่อนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานในการบิน และการเผาผลาญโดยทั่วไป นอกจากนี้ยังมีส่วนในการขยายพันธุ์ของยุงอีกด้วย^(4,5) นอกจากน้ำตาลที่เป็นอาหารของยุงแล้ว เลือดยังเป็นอาหารที่สำคัญอย่างหนึ่งซึ่งยุงเพศเมียเท่านั้นที่ดูดกินเลือด ยุงเพศเมียมีการเปลี่ยนแปลงสำคัญทางพันธุกรรมและลักษณะสำคัญทางสรีรวิทยาให้เหมาะแก่การดูดกินเลือดและการย่อยเลือด ซึ่งการดูดกินเลือดของยุงเพศ

เมื่อนั้นจะทำให้ได้สารอาหารที่ช่วยในการแพร่ขยายพันธุ์ โดยเลือดที่กินเข้าไปจะมีการเผาผลาญ เพื่อที่จะนำไปใช้ในการผลิต yolk protein และบางส่วนใช้เป็นแหล่งพลังงาน

บทบาทหลักของต่อมน้ำลายยูงในการดูดกินเลือดของยูงคือการหลั่งโปรตีนที่เป็นตัวขัดขวางกระบวนการที่เกี่ยวกับการแข็งตัวของเลือดของสัตว์มีกระดูกสันหลัง ซึ่งกระบวนการแข็งตัวของเลือดในสัตว์มีกระดูกสันหลังประกอบด้วยกลไกที่สำคัญ 3 อย่างคือการหดตัวของหลอดเลือด (vasoconstriction) การรวมตัวกันของเกล็ดเลือด (platelet aggregation) และการแข็งตัวของเลือด (coagulation) ซึ่งทั้งหมดเป็นเป้าหมายในการทำงานของเอนไซม์หลายชนิดที่หลั่งจากต่อมน้ำลายยูง⁽⁶⁾ โดยเฉพาะกระบวนการการรวมตัวกันของเกล็ดเลือด (platelet aggregation) จะเป็นเป้าหมายหลักของเอนไซม์ที่หลั่งมาจากต่อมน้ำลายยูง นอกจากกระบวนการแข็งตัวของเลือดแล้วยูงยังต้องเผชิญกับระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์ ซึ่งระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์นี้ส่วนหนึ่งเกิดจากน้ำลายที่ยูงหลั่งออกมา น้ำลายยูงมีคุณสมบัติเป็นแอนติเจนที่สามารถกระตุ้นให้สัตว์มีกระดูกสันหลังที่เป็นโฮสต์สร้างแอนติบอดีขึ้นมาซึ่งแอนติบอดีที่โฮสต์สร้างขึ้นมานี้มีฤทธิ์ในการขัดขวางการทำงานของเอนไซม์และกระบวนการย่อยอาหารของยูง ดังนั้นการที่ยูงจะประสบความสำเร็จในการดูดกินเลือดนั้นยูงต้องมีกระบวนการต่อต้านระบบการแข็งตัวของเลือด และยับยั้งระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์มีกระดูกสันหลังที่เป็นโฮสต์โดยการหลั่ง antihemostatic และ anti-immune protein จากต่อมน้ำลายของยูงเพศเมีย

นอกจากบทบาทในการดูดกินเลือดแล้วต่อมน้ำลายยูงยังมีบทบาทสำคัญในการถ่ายทอดเชื้อโรคโดยต่อมน้ำลายยูงเป็นอวัยวะสุดท้ายของเชื้อโรคในระยะที่อาศัยอยู่ในยูงก่อนที่จะถูกถ่ายทอดไปยังสัตว์มีกระดูกสันหลังที่เป็นโฮสต์⁽²⁾ เชื้อโรคบางชนิดอาศัยต่อมน้ำลายเป็นแหล่งในการเพิ่มจำนวนก่อนที่จะถูกถ่ายทอดไปสู่โฮสต์ และบางชนิดอาศัยต่อมน้ำลายเพื่อการเจริญก่อนที่จะถูกถ่ายทอดต่อไป มีการทดลองที่แสดงให้เห็นว่าเชื้อมาลาเรียระยะ sporozoite ที่ได้จาก hemocoel ของยูงเมื่อนำไปฉีดให้สัตว์ทดลองไม่สามารถทำให้สัตว์ทดลองเกิดโรคมมาเลียได้ แต่ sporozoite ที่ได้จากต่อมน้ำลายยูงเมื่อนำมาฉีดให้สัตว์ทดลองสามารถทำให้สัตว์ทดลองเกิดมาเลียขึ้นได้⁽⁷⁾ แสดงว่าต่อมน้ำลายนอกจากจะมีหน้าที่เป็นแหล่งพักของเชื้อก่อนที่จะถูกถ่ายทอดต่อไปแล้วยังมีบทบาทในการพัฒนาของเชื้อมาลาเรียให้เป็นระยะติดต่อที่สมบูรณ์ด้วย

บาดแผลที่เกิดจากการเจาะแทงของยูงเพศเมียในขณะที่ดูดกินเลือดเป็นสิ่งจำเป็นในกระบวนการถ่ายทอดเชื้อโรคไปสู่โฮสต์ นอกจากนี้แล้วเชื่อกันว่าน้ำลายที่ยูงหลั่งออกมาในขณะที่ยูงดูดกินเลือดอาจมีบทบาทที่สำคัญในการถ่ายทอดโรคด้วย เชื่อกันว่าโปรตีนในน้ำลายยูงที่หลั่งเข้าสู่โฮสต์มีผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์และทำให้เชื้อโรคสามารถติดต่อเข้าสู่โฮสต์ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น⁽⁸⁾ นอกเหนือจากการเป็นพาหะนำโรคแล้วยูงยังเป็นสาเหตุสำคัญที่

ก่อให้เกิดความรำคาญแก่คนและสัตว์และทำให้เกิดการสูญเสียเลือด ทำให้เกิดอาการแพ้ และเกิดอาการทางผิวหนังและอาจเกิดการติดเชื้อซ้ำเติมได้ อาการแพ้ที่เกิดจากยุงกัดเป็นปัญหาที่พบได้บ่อย มีการศึกษามากมายที่แสดงให้เห็นว่าการที่ยุงกัดเป็นสาเหตุของการเกิดการแพ้ของในคน⁽⁹⁾ ซึ่งอาการและอาการแสดงที่เกิดจากยุงกัดมีหลายระดับซึ่งอาจพบได้ตั้งแต่การเกิดเป็นตุ่มคัน ตุ่มน้ำใส และในบางกรณีอาจเกิดปฏิกิริยารุนแรง (anaphylaxis) จากการถูกยุงกัดได้อีกด้วย⁽¹⁰⁾

การศึกษาวិเคราะห์โปรตีนต่างๆ ที่หลังออกมาจากต่อมน้ำลายยุงจึงมีความสำคัญในการที่จะทำให้เราได้ทราบถึงความเป็นพาหะที่ต่างกันในการถ่ายทอดเชื้อโรคของยุงแต่ละชนิด และสามารถนำไปศึกษาเพื่อใช้ในการตรวจวินิจฉัยผู้ป่วยที่มีอาการแพ้ที่เกิดจากยุงกัดได้ นอกจากนี้ การศึกษาต่อมน้ำลายในระดับโมเลกุลอาจนำมาอธิบายถึงกลไกที่เกี่ยวข้องในการบุกรุกของปรสิตและเชื้อโรคอื่นๆ ที่มียุงเป็นพาหะ การศึกษาวิจัยครั้งนี้จะทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบโปรตีนที่สังเคราะห์จากต่อมน้ำลายของยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ยุงลายสวน (*Aedes albopictus*) ซึ่งเป็นยุงที่นำโรคไข้เลือดออกที่กำลังระบาดอยู่ในปัจจุบัน และยุงแม่ไก่ (*Armigeres subalbatus*) เป็นยุงขนาดใหญ่ที่กัดและรบกวนคนและสัตว์ในตอนเช้ามืดและพลบค่ำ เนื่องจากตัวยุงชนิดนี้มีขนาดใหญ่จึงทำให้มีอาการเจ็บเวลาถูกกัด นอกจากนี้ยุงชนิดนี้ยังเป็นพาหะนำเชื้อ *Dirofilaria immitis* ซึ่งเป็นพยาธิในสุนัขอีกด้วย ในการศึกษานี้จะทำการศึกษาในยุงแต่ละชนิดทั้งเพศผู้และเพศเมียก่อนและหลังดูดกินเลือด โดยวิธี SDS-PAGE และทำการตรวจสอบโปรตีนที่ได้โดยการย้อมสีโปรตีนด้วย silver จากนั้นจึงทำการเปรียบเทียบดูแถบโปรตีนบนเจลในยุงแต่ละชนิดเพื่อตรวจสอบว่ายุงแต่ละชนิดหลังโปรตีนออกมาขณะดูดกินเลือดมีความแตกต่างกันหรือไม่เพียงใด นอกจากนี้ยังได้ตรวจวัดปริมาณโปรตีนในต่อมน้ำลายยุงแม่ไก่หลังจากตัวเต็มวัยออกจากดักแด้ในช่วง 5 วันแรกซึ่งเป็นช่วงก่อนที่ยุงจะดูดกินเลือด

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาวิเคราะห์และเปรียบเทียบโปรตีนที่สังเคราะห์จากต่อมน้ำลายยุง *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* และ *Ar. subalbatus* ทั้งเพศผู้และเพศเมีย โดยวิธี SDS-PAGE

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ทราบถึงความแตกต่างของโปรตีนที่สังเคราะห์จากต่อมน้ำลายยุง *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* และ *Ar. subalbatus* ทั้งเพศผู้และเพศเมีย

2. ทำให้ทราบถึงขนาดโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการการดูดกินเลือดของยุง ซึ่งผลจากการเปรียบเทียบดูโปรตีนที่แตกต่างกันอาจจะแสดงถึงความเป็นพาหะนำโรคที่ต่างกัน
3. เมื่อทราบโปรตีนที่แตกต่างกันสามารถนำไปศึกษาในรายละเอียดระดับโมเลกุล ซึ่งอาจนำมาอธิบายความเป็นพาหะที่แตกต่างกันของยุงแต่ละชนิดและอาจนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวินิจฉัยและรักษาผู้ป่วยที่มีอาการแพ้ที่เกิดจากยุงกัดได้



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย