บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

โรคเลปโตสไปโรซิส (Leptospirosis) เป็นโรคติดต่อจากสัตว์มาคน (zoonosis) หรือที่ชาวบ้านรู้จักกันว่า "โรคฉี่หนู" พบได้ทั่วโลก โดยเฉพาะประเทศในเขตร้อน และขณะนี้เป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย โดยมีหนูเป็นพาหะและเป็นตัวเก็บโรคที่สำคัญที่สุด ในสัตว์อื่นก็พบได้ เช่น สุกร แมว สุนัข วัว ควาย เป็นต้น ในประเทศไทยมีรายงานผู้ป่วยโรคเลปโตสไปโรซิสครั้งแรก เนื่องจากเกิดภาวะน้ำท่วมกรุงเทพมหานครครั้งใหญ่เมื่อ พ.ศ.2485 โดยนายแพทย์ใช้ ยูนิพันธ์ พบผู้ป่วยครั้งแรกที่โรงพยาบาลศิริราช จำนวน 4 ราย[1] สำหรับประเทศไทยพบได้ทุกภาคของประเทศ เมื่อเปรียบเทียบจำนวนผู้ป่วยในรอบ 6 ปีที่ผ่านมา พบว่ามีผู้ป่วยเพิ่มขึ้นจาก 358 ราย ในปี พ.ศ.2539 เป็น 2,334 รายในปี พ.ศ.2540 (เพิ่มขึ้น 6.5 เท่า) และในปี พ.ศ.2541 พบผู้ป่วย 2,226 ราย แล้วเพิ่มขึ้นเป็น 6,080 รายในปี พ.ศ.2542 (เพิ่มขึ้นอีก 2.7 เท่า) และเพิ่มขึ้นอย่างมากเป็น 14,285 ราย ในปี พ.ศ.2543 (เพิ่มขึ้น 40 เท่าจากปี พ.ศ.2539) และในปี พ.ศ.2544 มีผู้ป่วย 11,309 ราย[2] มักพบการระบาดของโรคนี้ช่วงปลายฤดูฝนต่อฤดูหนาว เชื้อก่อโรคเป็นแบคทีเรียกรัมลบ รูปร่างเป็นเกลียว มีชื่อว่า *Leptospira* spp. ชนิดที่ทำให้เกิดโรคในคนมากที่สุดคือ *Leptospira interrogans* ผู้ป่วยเลปโตสไปโรซิสจะมีอาการทางคลินิกแตกต่างกัน ขึ้นกับปัจจัยต่างๆ เช่น ตำแหน่งที่ติดเชื้อ ภูมิต้านทานของร่างกาย ระยะเวลาในการติดเชื้อ ในรายที่ไม่รุนแรงจะมีอาการไข้ ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ อาการคล้ายไข้หวัด สำหรับผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรง จะมีไข้สูง พร้อมทั้งมีอาการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ ปวดเกร็งกล้ามเนื้อที่ต้องใช้งานมากๆ เช่น น่อง แขน อาการเหลืองหรือดีซ่าน (jaundice) พบได้ในสัปดาห์แรกของโรค ตัวเหลืองอย่างรวดเร็วในสัปดาห์ที่สอง อ่อนเพลีย ปัสสาวะลดลงและอาจไม่มีปัสสาวะเลยเนื่องจากไตไม่ทำงาน ในโรคนี้พบการทำลายอวัยวะต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งไตเป็นอวัยวะที่ถูกทำลายได้บ่อยที่สุด นอกจากนี้มีพยาธิสภาพที่ตับ ปอด[3,4] มีเลือดออกได้ในทุกอวัยวะ เข้าใจว่าเกิดจากผนังหลอดเลือดฝอยถูกทำลายโดยไม่มีความผิดปกติของการแข็งตัวของเลือด นอกจากมีเกร็ดเลือดลดลงและบางรายอาจตายหลังจากปรากฏอาการ hemorrhage, jaundice และ acute renal failure (Weil syndrome)

พยาธิสภาพในไตที่พบเสมอคือ tubular necrosis และ interstitial nephritis[3,5] interstitial infiltration เป็นผลมาจาก bacterial invation[6] วิศิษฏ์ สิตปรีชาและคณะ ได้รายงานพยาธิสภาพที่ไตในโรคนี้เป็นแบบ tubulointerstitial nephritis ทำให้การทำงานของไตเสื่อมลง [7] กลไกของการเกิดพยาธิสภาพที่ไตเชื่อว่าเกิดจาก renal ischemia และ direct toxicity รายที่พบแต่เพียง interstitial nephritis เพียงอย่างเดียวพบว่าหน้าที่การทำงานของไตอยู่ในเกณฑ์ปกติ

กลไกการเกิดพยาธิสภาพในโรคนี้แม้ว่าไม่สามารถแยก toxin จากเชื้อได้ แต่มีผู้เสนอแนะว่าน่าจะเกิดจาก toxin ที่ถูกปลดปล่อยออกมาโดยการสลายของเชื้อ leptospira endotoxin ที่ได้จากผนังชั้นนอกของ virulent strains ของ *leptospira* อาจมีส่วนในกลไกการเกิดพยาธิสภาพในโรค leptospirosis เพราะพบว่าสามารถชักนำให้เกิด necrosis ของเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม[8] ผนังชั้นนอกของ pathogenic leptospira มีส่วนประกอบได้แก่ lipopolysaccharide (LPS), glycolipids และ glycoproteins ซึ่งกำหนดความรุนแรงของเชื้อและเป็นเป้าหมายของการสร้างภูมิคุ้มกัน มีรายงานการศึกษาพบว่า peptidoglycan ซึ่งเป็นโปรทีนสกัดได้จาก outer membrane endotoxin ของ *Leptospira interrogans* สามารถกระตุ้น และชักนำให้ปลดปล่อย tumor necrosis factor-α (TNF-α) จาก human monocyte[9] การเกิดพยาธิสภาพที่ไตมีกลไกอย่างไรนั้น มีรายงานการศึกษาในหลอดทดลองพบว่าเชื้อ *Leptospira interrogans* จะเกาะแน่นกับ epithelial cells ของไต[10] และจากการตรวจไตของหนู mice ที่ติดเชื้อ leptospira โดยวิธี immunoperoxidase staining จะพบ pathogenic leptospira antigen ใกล้กับหลอดเลือด ภายใน inflammatory infiltrates และใน lumen ของท่อไตส่วนต้นและส่วนปลายของ nephron[11] นอกจากนี้โปรทีนของผนังชั้นนอกของ leptospira ที่ถูก cloned จะมีการกระจายไปอยู่ที่ tubule และ interstitium ของไต hamster ในระหว่างที่เกิด acute tubulointerstitial nephritis[12] จึงสกัดโปรทีนผนังชั้นนอกจาก leptospira นำไปศึกษากับ medullary thick ascending limb of loop of Henle (mTAL) ที่แยกจากหนู mice นำมาเพาะเลี้ยง พบว่าสารสกัดโปรทีนผนังชั้นนอกจากเชื้อ *Leptospira shermani* สามารถชักนำ NF-kB transcription factors ที่จับกับ DNA ใน nucleus กระตุ้นให้มีการสร้าง nitric oxide chemoattractant protein และ TNF-α ซึ่งล้วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการ inflammation จึงน่าจะเป็นกลไกการเกิดพยาธิสภาพของ tubulointerstitial nephritis[13]

เนื่องจาก Vasculitis เป็นพยาธิสภาพที่สำคัญอย่างหนึ่งใน leptospirosis และเป็นที่ทราบว่า endothelial cells (EC) ซึ่งบุผนังหลอดเลือดทุกชนิดในร่างกาย มีความสำคัญมาก เนื่องจาก EC มีบทบาทในการควบคุมการทำงานของหลอดเลือด ควบคุมความดันโลหิต ของร่างกาย โดย

การหลั่งสารหลายชนิดที่มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดคลายตัว เรียก endothelial-derived relaxing factor ได้แก่ nitric oxide, bradykinin, prostacyclin และสารที่มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดหดตัว ได้แก่ thromboxane A_2, endothelin การเกิดพยาธิสภาพจากเชื้อ *Leptospira* นอกจากมีผลจากปฏิกิริยาของร่างกายจากระบบภูมิคุ้มกันในการตอบสนองต่อเชื้อโรคหรือสิ่งแปลกปลอมที่เข้าไปในร่างกาย โดยการทำงานของเม็ดเลือดขาวเป็นส่วนใหญ่แล้ว จากการที่ EC บุผนังหลอดเลือดทั่วร่างกาย ทำให้ EC มีโอกาสสัมผัสกับตัวกระตุ้นต่างๆ ได้ตลอดเวลา EC น่าจะมีบทบาทเกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิด inflammation ได้ มีรายงานว่า EC สามารถหลั่งสารสื่อกลาง (mediators) ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการเกิดการอักเสบโดยสังเคราะห์ cytokines หลายชนิด[14,15] เช่น TNF-α (tissue necrosis factor-α) ซึ่งมีส่วนทำให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่ออวัยวะต่างๆ การเกิดพยาธิสภาพจากเชื้อ *Leptospira* น่าจะเป็นผลมาจากปฏิกิริยาของร่างกายต่อโปรทีนผนังชั้นนอกของเชื้อ *Leptospira* (Leptospira outer membrane protein) ยังไม่มีรายงานการศึกษาผลของ Leptospira outer membrane protein ต่อ EC ผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาผลของโปรทีนผนังชั้นนอกของเชื้อ *Leptospira* เพื่อให้เข้าใจถึงบทบาทของของ EC ในกลไกการเกิดพยาธิสภาพของโรคเลปโตสไปโรซิส ผลการศึกษานี้อาจจะอธิบายความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อชนิดต่างๆ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย (Objectives)

ศึกษาผลของโปรทีนผนังชั้นนอกของเชื้อ *Leptospira* (outer membrane protein) สายพันธุ์ที่ก่อโรครุนแรง (virulent strains) ต่อเซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือดดำที่เพาะเลี้ยง (cultured human umbilical vein endothelial cell) ในการสร้างสารสื่อกลาง (mediator) ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดการอักเสบ ได้แก่ nitric oxide และ TNF-α เปรียบเทียบกับผลของสายพันธุ์ของ *Leptospira* ที่ไม่ก่อโรค (non-virulent strains)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย (Benefits of the Study)

การศึกษาผลของ leptospira outer membrane protein โดยใช้ endothelial cells จะได้ข้อมูลที่ช่วยอธิบายบทบาทของ EC ในกลไกการเกิดพยาธิสภาพที่เกิดในผู้ป่วย leptospirosis ซึ่งอาจเป็นประโยชน์นำไปสู่การรักษาที่มีประสิทธิภาพ ตลอดจนการพัฒนาวัคซีนป้องกันโรค leptospirosis ในอนาคต

คำสำคัญ (Key word)

Leptospira Outer Membrane Protein

HUVEC

Nitric Oxide

TNF-α