

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

#### 1. ลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านของเชื้อ *Helicobacter pylori*

จากการศึกษาเชื้อ *Helicobacter pylori* ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านพบว่า เชื้อ *Helicobacter pylori* มีรูปร่างเป็นแท่งมีลักษณะบิดเล็กน้อยและเส้นขอบเขตผิวด้านข้างมีลักษณะเป็นหยัก เชื้อ *Helicobacter pylori* ที่พบมีการเรียงตัวไม่แน่นอนหรือมีการเรียงตัวอิสระ โดยวัดขนาดของเชื้อตามยาว (longitudinal section) ได้ประมาณ 5 ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 1)

เมื่อศึกษาด้วยกำลังขยายสูงขึ้นไปพบว่าเชื้อชนิดนี้มีแฟลกเจลลาอยู่ที่บริเวณขั้วข้างใดข้างหนึ่งของเซลล์แบคทีเรีย โดยแฟลกเจลลามีลักษณะเป็นแกนที่มีปลอก (sheath) หุ้ม (ลูกศรชี้ในภาพที่ 2a และ b) และที่บริเวณปลายของแฟลกเจลลามีลักษณะเป็นกระเปาะ (terminal bulb) (\* ในภาพที่ 2a) ที่ขั้วของแบคทีเรียในตำแหน่งที่เป็นรอยต่อของแฟลกเจลลา กับเซลล์แบคทีเรียพบลักษณะ electron lucent area (\* ในภาพที่ 2b) เชื้อ *Helicobacter pylori* มีเยื่อหุ้มเซลล์ 2 ชั้น และมีช่องว่างระหว่างเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกกับชั้นใน (periplasm) ไซโทพลาซึมของเชื้อ *Helicobacter pylori* จะมีลักษณะหนาแน่น (dense) ประกอบด้วยสารคล้ายนิวเคลียส (nucleoid material) และไรโบโซม (ribosome) ภายในเซลล์แบคทีเรียจะมีแกรนูล (intracellular granule) ที่มีรูปร่างและขนาดไม่แน่นอน (หัวลูกศรชี้ในภาพที่ 2a และ 2b)

#### 2. ลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านของเชื้อ *Escherichia coli*

จากการศึกษาเชื้อ *Escherichia coli* ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านพบว่าเชื้อ *Escherichia coli* ที่เรียงตัวอิสระ พบว่ามีรูปร่างเป็นแท่งสั้น ๆ โดยมีขนาดของเชื้อตามยาวประมาณ 1.5 ไมโครเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 ไมโครเมตร เชื้อ *Escherichia coli* มีเยื่อหุ้มเซลล์ 2 ชั้น และไซโทพลาซึมของเชื้อ *Escherichia coli* มีลักษณะหนาแน่นเช่นเดียวกับที่พบในเชื้อ *Helicobacter pylori* แต่ไม่พบแกรนูลภายในเซลล์ (ภาพที่ 3)

3. ลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านของเยื่อบุผิวช่องปากในกลุ่มควบคุมที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

จากการศึกษาลักษณะของเยื่อบุผิวช่องปากในกลุ่มควบคุมที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านพบว่า ลักษณะของเยื่อบุผิวช่องปากในกลุ่มควบคุมที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมงไม่มีความแตกต่างจากเยื่อบุผิวช่องปากที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง จึงนำเสนอผลการศึกษาเฉพาะที่เวลา 24 ชั่วโมง

จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง (ภาพที่ 4) พบว่าเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากที่บริเวณพื้นผิวในกลุ่มควบคุม มีรูปร่างค่อนข้างแบนและมีความต่อเนื่องของเซลล์ พบอินเตอร์เซลล์ลูลาบริดจ์ (intercellular bridges) หรือเดสโมโซม (desmosomes) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ยึดต่อระหว่างเซลล์ (หัวลูกศรชี้ในภาพที่ 4a ถึง c) และพบว่านิวเคลียสของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากในบริเวณพื้นผิวและที่ระดับต่ำลงมาเล็กน้อยมีลักษณะแบนและบางเซลล์ไม่พบนิวเคลียส (ภาพที่ 4a ถึง c) นอกจากนี้ยังไม่พบส่วนที่เป็นออร์แกเนล (organelles) ภายในเซลล์พบเพียงโครงสร้างที่เป็นเส้นใยภายในเซลล์เท่านั้น ลักษณะของเยื่อหุ้มเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากบริเวณพื้นผิวมีส่วนที่ยื่นออกไปเป็น free epithelial surface คล้ายไมโครวิลไล (microvilli) (ลูกศรชี้ในภาพที่ 4a) นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากชั้นบนมีการหลุดลอกออกจากเยื่อบุผิวได้ (ภาพที่ 4b) สำหรับเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากในชั้นลึกลงไป (ภาพที่ 5) พบว่ามีรูปร่างรีและพบเดสโมโซมชัดเจน (หัวลูกศรชี้ในภาพที่ 5) นิวเคลียสมีรูปร่างกลมและมีขนาดใหญ่ขึ้น ออร์แกเนลภายในเซลล์มากขึ้น ในส่วนไซโทพลาซึมของเซลล์พบโทโนฟิลาเมนต์ (tonofilaments) หรืออินเตอร์มีเดียตฟิลาเมนต์ (intermediate filaments) กระจายสม่ำเสมออยู่ทั่วไปในเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากที่กำลังขยายสูงขึ้นพบว่า นิวเคลียสมีเยื่อหุ้ม (nuclear membrane) 2 ชั้น และพบนิวเคลียร์พอร์ (nuclear pore) (หัวลูกศรชี้ในภาพที่ 6a) ซึ่งเป็นตำแหน่งที่เยื่อหุ้มนิวเคลียสชั้นนอกกับชั้นในเชื่อมต่อกัน ภายในนิวเคลียสพบนิวคลีโอลัส (nucleolus) และโครมาติน (chromatin) ซึ่งประกอบด้วยเฮเทอโรโครมาติน (heterochromatin) พบเป็น electron dense area รวมกลุ่มอยู่ที่บริเวณขอบของนิวเคลียส ใกล้กับบริเวณผิวด้านในของเยื่อหุ้มนิวเคลียส และยูโครมาติน (euchromatin) ที่มีลักษณะเป็น electron lucent area กระจายอยู่ทั่วไปในนิวเคลียส (ภาพที่ 6a) พบออร์แกเนลต่าง ๆ ได้แก่ ไมโทคอนเดรีย ซึ่งมีเยื่อหุ้ม 2 ชั้น ที่มีความต่อเนื่องและมีขอบเขตชัดเจน เยื่อหุ้มชั้นในจะบางกว่าเยื่อหุ้มชั้นนอกและยื่นเข้าไปเป็นคริสตี (ลูกศรชี้ในภาพที่ 6b) เอนโดพลาสมิกเรติคูลัมชนิดไม่เรียบ (rough endoplasmic reticulum) มีลักษณะคล้ายถุง (sac) วางซ้อนกันและมีไรโบโซม

เกาะติดอยู่ที่บริเวณเยื่อหุ้ม (หัวลูกศรชี้ในภาพที่ 6b) บริเวณรอยต่อระหว่างเซลล์พบเดสโมโซม ที่มีโทโนฟิลาเมนต์เกาะอยู่ที่บริเวณ attachment plaque (ภาพที่ 6c)

ส่วนเนื้อเยื่อยึดต่อซึ่งอยู่ถัดจากส่วน basement membrane ประกอบด้วย เซลล์ไฟโบรบลาสต์ (fibroblast cell) และเมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix) ซึ่งมี โครงสร้างหลักที่พบ คือ เส้นใยคอลลาเจน (collagen) กระจายอยู่ทั่วไปและอยู่ใกล้เคียงกับเซลล์ ไฟโบรบลาสต์ (ภาพที่ 7)

4. ลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านของเยื่อบุผิวช่องปากกลุ่มทดลอง ที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่ระยะเวลา 6 และ 24 ชั่วโมง

จากการศึกษาเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากเมื่อเพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน พบว่าเชื้อ *Helicobacter pylori* ไม่มีการแทรกซึมเข้าไปในเซลล์เยื่อบุผิวช่องปาก แต่พบลักษณะของเซลล์ เยื่อบุผิวช่องปากที่บริเวณพื้นผิวเปลี่ยนแปลงไปจากปกติได้หลายแบบ โดยบางเซลล์นิวเคลียส มีลักษณะฝ่อลีบและพบโทโนฟิลาเมนต์มีการรวมตัวหนาแน่นขึ้น (condensed) (ภาพที่ 8a) บางเซลล์พบการเกาะกลุ่ม (clumping) ของโครมาตินในนิวเคลียส (ภาพที่ 8b) และบางเซลล์ นิวเคลียสมีลักษณะปกติ แต่พบการหนาแน่นขึ้นของโทโนฟิลาเมนต์เช่นกัน (ภาพที่ 8c) และ ลักษณะที่พบได้ทุกตัวอย่างในการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากบริเวณพื้นผิว คือ การ เสื่อมสลายไปของนิวเคลียส (ภาพที่ 9a และ b) ในขณะที่เซลล์เยื่อบุผิวช่องปากที่อยู่ในชั้นลึกลงไป ยังคงลักษณะปกติ (ภาพที่ 9c)

ที่กำลังขยายสูงขึ้นของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากที่มีการเปลี่ยนแปลงเหล่านั้น พบ การเปลี่ยนแปลงชัดเจนที่ไม่โทคอนเดรีย คือ มีการขาดหายไปหรือไม่ต่อเนื่องของเยื่อหุ้มชั้นใน เยื่อหุ้มชั้นนอกและคริสตี และพบการรวมตัวหนาแน่นขึ้นของโทโนฟิลาเมนต์ (ภาพที่ 10a) โดยที่ยังไม่พบการทำลายของเดสโมโซม (ภาพที่ 10b) การเปลี่ยนแปลงที่เอนโดพลาสมิก เรติคูลัมชนิดหยาบไม่ชัดเจน (ภาพที่ 10c)

ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง สามารถพบเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่ขอบของชิ้นเนื้อโดยยัง ไม่มีการแทรกซึมของเชื้อ *Helicobacter pylori* เข้าไปในเซลล์ไฟโบรบลาสต์และบริเวณเนื้อเยื่อ ยึดต่อ (ภาพที่ 11a และ b)

จากการศึกษาเซลล์เยื่อหุ้มของปากเมื่อเพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Helicobacter pylori* ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน ยังคงไม่พบการแทรกซึมของเชื้อ *Helicobacter pylori* เข้าไปในเซลล์เยื่อหุ้มของปาก แต่พบการแยกออกของเดสโมโซม (ภาพที่ 12a และ b) และมีการแทรกซึมของเชื้อเข้าไปอยู่ระหว่างเซลล์เยื่อหุ้มของปาก (ภาพที่ 12a) เซลล์เยื่อหุ้มของปากที่บริเวณพื้นผิวถูกทำลายทั้งในส่วนนิวเคลียสและส่วนไซโทพลาซึม แต่ยังคงรูปร่างของเซลล์ได้ (ภาพที่ 12b) นอกจากนี้พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อหุ้มของปากที่อยู่ชั้นลึกลงไปโดยพบแวคิวโอลจำนวนมากภายในเซลล์ และพบโทโนฟิลาเมนต์หนาตัวขึ้น (ภาพที่ 12c) แม้ว่าไม่พบเชื้อ *Helicobacter pylori* ในเซลล์เยื่อหุ้มของปากก็ตาม แต่ที่ระยะเวลานี้พบมีเชื้อแทรกซึมเข้าไปในส่วนของเนื้อเยื่อยึดต่อและมีการแทรกอยู่ในเมทริกซ์นอกเซลล์ได้ (ภาพที่ 13)

5. ลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านของเยื่อหุ้มของปากกลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Escherichia coli* ที่ระยะเวลา 6 และ 24 ชั่วโมง

จากการศึกษาเซลล์เยื่อหุ้มของปากเมื่อเพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Escherichia coli* ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน พบว่า เชื้อ *Escherichia coli* ไม่มีการแทรกซึมของเข้าไปในเซลล์เยื่อหุ้มของปาก และเซลล์เยื่อหุ้มของปากที่บริเวณพื้นผิวมีการเปลี่ยนแปลง โดยมีช่องว่างระหว่างเซลล์กว้างขึ้นและพบว่านิวเคลียสมีการหดตัวร่วมกับมีการรวมตัวของโครมาตินที่อยู่ภายในนิวเคลียส (ภาพที่ 14)

และการศึกษาที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงพบว่าเชื้อ *Escherichia coli* ไม่มีการแทรกซึมของเข้าไปในเซลล์เยื่อหุ้มของปากหรือช่องว่างระหว่างเซลล์ แต่พบว่าเชื้อแทรกซึมเข้าไปในส่วนของเนื้อเยื่อยึดต่อและพบว่าเซลล์เยื่อหุ้มในบริเวณใกล้เคียงถูกทำลาย (ภาพที่ 15)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย