



## วิจารณ์ และสรุปผลการทดลอง

เนื่องจากการศึกษาความแตกต่างของเอ็นไซม์ของ T. vaginalis โดยวิธีอิมมูโนอิเล็กโตรฟอเรซิสยังไม่เป็นที่แพร่หลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การศึกษาโดยใช้สตาร์ช เจล นี้ยังไม่เคยมีรายงานว่ามิได้ผู้ใดได้ทำการศึกษาดูแล ดังนั้นผลที่ได้จากการศึกษานี้จึงไม่สามารถนำไปเปรียบเทียบกับผลงานของผู้อื่นได้โดยตรง แต่อย่างไรก็ดี จากการศึกษาไอโซไซม์ของเอ็นไซม์อะมัยเลสของ T. vaginalis โดย Takayanaki, et al, (1971) ซึ่งเก็บตัวอย่างจากผู้ป่วยนอกที่มารับการรักษาในโรงพยาบาลต่าง ๆ ของประเทศญี่ปุ่นพบว่า T. vaginalis 258 สายพันธุ์บริสุทธิ์ที่แยกจากผู้ป่วยจำนวน 65 รายนั้น มีการจัดเรียงตัวของไอโซไซม์ตั้งแต่ 2 ตัวจนถึง 7 ตัว และสามารถจัดแบ่งตามการเรียงตัวออกได้เป็น 9 โทป์ ซึ่งผลที่ได้ดังกล่าวนี้ใกล้เคียงกับการศึกษาคั้งนี้ โดยพบว่า เอ็นไซม์ กลูโคส ฟอสเฟต ไอโซเมอเรสของ T. vaginalis ใน 100 สายพันธุ์บริสุทธิ์ที่ได้มาจากผู้ป่วยคนไทยมีไอโซไซม์ 9 ตัว มีการจัดเรียงตัวของไอโซไซม์ตั้งแต่ 3 ตัวจนถึง 7 ตัว และสามารถจัดแบ่งตามการเรียงตัวได้เป็น 7 โทป์ แสดงให้เห็นว่า เอ็นไซม์ อะมัยเลส และ เอ็นไซม์ กลูโคส ฟอสเฟต ไอโซเมอเรสใน T. vaginalis นั้นมีความแตกต่างของการเรียงตัวของไอโซไซม์ใกล้เคียงกัน

สำหรับความถี่ของการพบไอโซไซม์แต่ละแบบใน T. vaginalis 100 สายพันธุ์บริสุทธิ์นี้พบว่า โทป์ที่ห้า, หก และเจ็ด มีความถี่สูงเกิน 20% และโทป์ที่หนึ่ง, สอง, สาม และ สี่ มีความถี่ไม่เกิน 10% แต่จากรูปแบบการเรียงตัวของไอโซไซม์ที่ปรากฏอยู่ในไอโซไซม์โทป์ที่สี่ อาจกล่าวได้ว่า ไอโซไซม์โทป์ที่สี่นี้เป็นโทป์ร่วมระหว่างโทป์ที่ห้า, หก และเจ็ด

อย่างไรก็ดีโทพีที่สีนี้มีอยู่เพียง 10% เท่านั้น ในทำนองเดียวกัน อาจกล่าวได้ว่า โทพีที่เจ็ด เป็นโทพีร่วมของไอโซไซม์ทุกโทพี ตั้งแต่โทพีที่หนึ่งถึงหก ส่วนสายพันธุ์ริสซูธีที่แยกมาจาก ตัวอย่าง T. vaginalis ที่ได้มาจากผู้ป่วยรายเดียวกัน รายละ 2 สายพันธุ์ริสซูธีนั้นพบว่า T. vaginalis จากผู้ป่วยจำนวน 50 ราย มีเพียง 2 รายเท่านั้นที่สายพันธุ์ริสซูธีมีไอโซไซม์ต่างชนิดกัน ส่วนอีก 48 รายนั้น มีจำนวนและโทพีของไอโซไซม์ของแต่ละสายพันธุ์ริสซูธีเหมือนกัน จากผลอันนี้แสดงว่า ในธรรมชาติแล้ว โยสต์สามารถรับเชื้อ T. vaginalis ได้มากกว่า 1 ชนิดในเวลาเดียวกัน ทำให้โทพีของไอโซไซม์ที่ปรากฏบนเจลมีมากกว่า 1 โทพี จากสายพันธุ์ริสซูธี 2 สายพันธุ์ริสซูธีที่ได้จาก T. vaginalis ที่ได้จากคนไข้รายเดียวกัน อย่างไรก็ตามอุบัติการณ์ที่มีโทพีของไอโซไซม์ปนกันอยู่ 2 โทพีนี้มีเพียง 2 รายจาก T. vaginalis 50 ตัวอย่าง หรือเพียง 4% ของสายพันธุ์ริสซูธีจำนวน 100 สายพันธุ์ริสซูธีเท่านั้น ซึ่งส่วนใหญ่อีก 96% เป็น T. vaginalis 2 สายพันธุ์ริสซูธีที่ได้จาก T. vaginalis ที่มาจากคนไข้รายเดียวกัน มีโทพีของไอโซไซม์ชนิดเดียวกัน ส่วนปัญหาที่ว่าอุบัติการณ์ดังกล่าวอาจจะเกิดจากไฮบริดเชชันนั้น เป็นไปไม่ได้ เพราะ T. vaginalis เป็นโปรโตซัวที่มีการสืบพันธุ์แบบไบนารีฟิชชัน อีกทั้งในการทดลองครั้งนี้ T. vaginalis ที่ใช้ในการหาความแตกต่างของเอ็นไซม์ก็ได้มาจากเซลล์เดี่ยว โดยการแยกสายพันธุ์ริสซูธี

การนำเอาโทพีของไอโซไซม์มาใช้เป็นตัวบ่งชี้ในการจำแนกโปรโตซาว์นี้ เป็นวิธีที่ละเอียดอ่อนและมีประสิทธิภาพมาก เพราะจะเป็นการจำแนกโปรโตซาว์ถึงระดับของโมเลกุล (Brodie and Ryckman, 1967) และเทคนิคที่เกี่ยวข้องในการหาโทพีของไอโซไซม์ คือ เอ็นไซม์อีเล็กโตรโฟเรซิส เป็นเทคนิคที่ไม่ยุ่งยากมากนัก แต่เป็นเทคนิคที่ต้องใช้ความละเอียดถี่ถ้วนและพิถีพิถัน แม้กระนั้นก็ตามในทางปฏิบัติ การจำแนกโปรโตซาว์ก็ยังคงต้องใช้รูปร่างลักษณะภายนอกเป็นจุดสำคัญ และมีการใช้เทคนิคของเอ็นไซม์อีเล็กโตรโฟเรซิสเป็นส่วนช่วยในการให้รายละเอียด ซึ่งการใช้เทคนิคของเอ็นไซม์อีเล็กโตรโฟเรซิสในการจำแนก

โปรโตซัวนี้ เป็นที่ยอมรับและนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการจำแนกโปรโตซัวระดับโทฟ และสเตรนดังเช่น Carter and Walliker (1977), Brodie and Ryckman (1967), Takeyanaki, et al, (1971), Warren and Breland (1969) เป็นต้น

ดังนั้น การศึกษาไอโซไซม์ของเอ็นไซม์ กลูโคส ฟอสเฟต ไอโซเมอเรสใน T. vaginalis ที่ได้จากคนไข้นอก ของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์และศูนย์บริการสาธารณสุข ดินแดง กรุงเทพมหานครครั้งนี้ และการศึกษาไอโซไซม์ของเอ็นไซม์ อะมัยเลส และ มาเลท ดีไฮโดรจีเนส ที่ได้จากคนไข้นอกของโรงพยาบาลต่าง ๆ ในประเทศญี่ปุ่น ซึ่งทำการ ศึกษาโดย Takayanaki, et al, (1971) โดยใช้เทคนิคทางเอ็นไซม์ อีเล็กโตรฟอริซิสนี้ สามารถที่จะใช้เป็นแนวทางในการแยก T. vaginalis ออกเป็นโทฟ หรือสเตรน ได้อย่างชัดเจนยิ่งขึ้น

ในปัจจุบันนี้มียาที่ใช้ในการรักษาโรคนี้อย่างมากมาย ซึ่งล้วนแต่มีประสิทธิภาพทั้งสิ้น อย่างเช่น metronidazole (Flagyl)<sup>R</sup> หรือ tinidazole (Fasigyn) ซึ่งเป็นยาที่นิยมใช้กันมาก อย่างไรก็ตาม โรคพยาธิโรโคโมแนสนี้ในปัจจุบันพบว่า มีผู้ป่วยเป็นโรคนี้นี้กันมากทั้งบุรุษและสตรี และในอนาคตถ้ามีการดื้อยาเกิดขึ้น อาจจะนำผลที่ได้นี้ไปศึกษา ร่วมกับการทดสอบความไวต่อยา และการดื้อยาได้

โดยทั่วไป การศึกษาพันธุกรรมของโปรโตซัว ที่เป็นปรสิตขึ้นอยู่กับระยะเวลา และสถานที่ของการศึกษา นั้นหมายถึงว่า ถ้าระยะเวลาและสถานที่แตกต่างกันไป แบบของพันธุกรรมที่ปรากฏให้เห็นก็จะต่างกันไปด้วย เพราะฉะนั้น การศึกษาถึงพันธุกรรมในระดับสเตรนของ T. vaginalis นี้ ในอนาคตน่าจะได้ทำการศึกษา T. vaginalis ที่อยู่นอกเขตกรุงเทพมหานครออกไปอีก เช่น ตามภาคต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเขตที่มีสุขอนามัยไม่ดี รวมทั้งควรจะทำการศึกษาถึงไอโซไซม์ของเอ็นไซม์ตัวอื่นดูบ้าง เพราะการใช้ไอโซไซม์ของเอ็นไซม์ กลูโคส ฟอสเฟต ไอโซเมอเรส เป็นตัวชี้ถึงโทฟของ T. vaginalis

ในการศึกษารังนี้ เป็นเพียงการหาไทป์โดยใช้เอ็นไซม์เพียงชนิดเดียว เอ็นไซม์ที่น่าจะทำการศึกษต่อไป ได้แก่ มาเลท ดีไฮโดรจีเนส, แลกเตท ดีไฮโดรจีเนส และ เอ็นไซม์อื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องในวิถีไกลโคไลซิส ทั้งนี้เพื่อให้ได้ข้อมูลเกี่ยวกับความแตกต่างของไทป์ของไอโซไซม์ของเอ็นไซม์ชนิดต่าง ๆ ใน T. vaginalis ได้มากขึ้น ซึ่งอาจทำให้ได้ T. vaginalis ไทป์ต่าง ๆ อีกมาก

อนึ่ง ในการแยกสายพันธุ์ริสซูธี่ จากผู้ป่วยแต่ละรายนั้น เนื่องจากระยะเวลาในการทำวิทยานิพนธ์มีจำกัด จึงทำให้ผู้วิจัยไม่สามารถที่จะแยกสายพันธุ์ริสซูธี่ได้มากกว่า 2 สายพันธุ์ริสซูธี่จากผู้ป่วยแต่ละราย ซึ่งผู้วิจัยเห็นว่า ถ้าได้มีโอกาสแยกสายพันธุ์ริสซูธี่จากผู้ป่วย 1 รายให้ได้หลายสายพันธุ์ริสซูธี่มากขึ้น จะทำให้ได้ข้อมูลการได้รับเชื้อหลายเชื้อ (mixed infection) ในเวลาเดียวกันของผู้ป่วยแต่ละรายได้มากขึ้น

สรุป ผลการศึกษาไอโซไซม์ของเอ็นไซม์ กลูโคส ฟอสเฟต ไอโซเมอเรส ใน T. vaginalis จำนวน 100 สายพันธุ์ริสซูธี่ที่ได้มาจากคนไข้จำนวน 50 รายนี้ พบว่ามีไอโซไซม์ทั้งหมด 9 ตัว จัดแบ่งเป็นไทป์ได้ 7 ไทป์ ตามการเคลื่อนที่ และการเรียงตัวของไอโซไซม์ในอีเล็กโตรฟอร์ซิส ซึ่งจากไทป์ของไอโซไซม์ทั้ง 7 ไทป์นี้ สามารถนำมาใช้เป็นตัวจัด T. vaginalis ได้เป็น 7 ไทป์เช่นเดียวกัน ไอโซไซม์ 7 ไทป์นี้มีการจัดเรียงตัวตั้งแต่ 3 ไอโซไซม์จนถึง 7 ไอโซไซม์ จากการที่เอ็นไซม์กลูโคส ฟอสเฟต ไอโซเมอเรสของ T. vaginalis สามารถมีได้หลายแบบฟอร์มดังที่ปรากฏให้เห็นบนเจลนี้ แสดงให้เห็นว่า T. vaginalis มีกลุ่มของยีนที่ควบคุมการสร้างเอ็นไซม์หลายตัว สำหรับการที่จะคิดว่าอุบัติการณ์นี้จะเกิดจากไฮบริดเซชันนั้นเป็นไปได้ เพราะ T. vaginalis มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยวิธีแบ่งจากหนึ่งเป็นสองเท่านั้น.