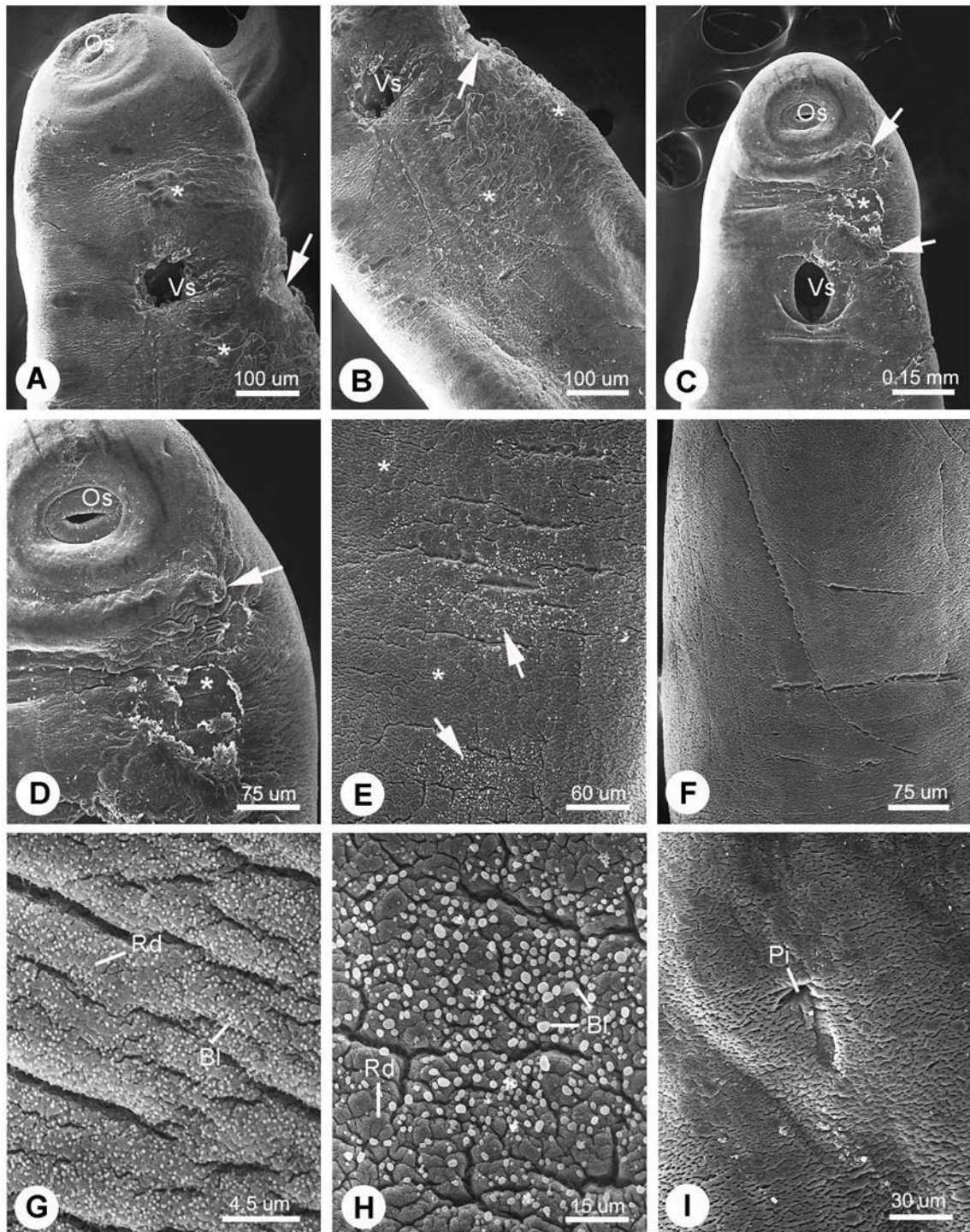


รูปที่ 14 พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังจากสัมผัสยา artesunate 50 $\mu\text{g/ml}$ เป็นเวลา 30 ชั่วโมง และศึกษา
โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด



รูปที่ 14 พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังสัมผัสยา artesunate 50 µg/ml เป็นเวลา 30 ชั่วโมง

- A. ด้านท้องของพยาธิส่วนหัว พบการบวมและคุ่มขนจำนวนมาก (star) ที่ผิวรอบเวนทริลซัคเกอร์ (Vs) ที่ด้านข้างลำตัวพบหย่อมที่ผิวลอกหลุดจนถึงชั้นกล้ามเนื้อ (ลูกศร) ออร์ลซัคเกอร์ (Os)
- B. ด้านท้องของพยาธิส่วนกลางตัว แสดงการบวมและคุ่มขนจำนวนมาก (star) ของผิวหนังใต้ไวนทริลซัคเกอร์ (Vs) ไปจนถึงส่วนหาง ลูกศรแสดงหย่อมของผิวลอกหลุด
- C. and D. ด้านท้องของพยาธิ (ตัวใหม่) แสดงหย่อมของผิวลอกหลุด (star) และผิวหนังที่บวมและมีคุ่มขนาดใหญ่ (ลูกศร) ที่ส่วนหัวของพยาธิ ออร์ลซัคเกอร์ (Os) เวนทริลซัคเกอร์ (Vs)
- E. ด้านท้องของพยาธิส่วนกลางตัว พบการบวมของผิวหนังส่วนสัน (star) และกลุ่มของคุ่มขนาดเล็กจำนวนมาก (ลูกศร)
- F. ด้านหลังของพยาธิส่วนกลางตัวพบการบวมของผิวหนังตลอดทั้งตัว
- G. and H. ภาพขยายรูปที่ 14F. แสดงการบวมของส่วนสัน (Rd) และมีคุ่มขนาดเล็ก (BI) จำนวนมากกระจายอยู่บนสัน
- I. ด้านหลังของพยาธิ (ตัวใหม่) แสดงการบวมของส่วนสัน และมีรูทะลุที่ผิว (Po)

4.2.3. Artesunate 100 µg/ml

ภายหลังจากพยาธิสัมผัสยา artesunate ที่ความเข้มข้น 100 µg/ml ที่ระยะเวลา 6 , 12, 18, 30, และ 36 ชั่วโมง พบการเปลี่ยนแปลงที่ชั้นผิวหนังทั้งด้านท้อง (ventral) และด้านหลัง (dorsal) ดังนี้

6 ชั่วโมง

พบการบวมของผิวหนังที่ด้านท้องของพยาธิมีการเชื่อมกันของผิวหนังบางส่วนและพบตุ่มขนาดเล็กกระจายห่างๆ โดยเฉพาะที่ได้ ventral sucker ถึงส่วนกลางตัวและส่วนหาง ที่ส่วนกลางตัวพยาธิพบผิวหนังบนหลุดออกมาเป็นขุยปกคลุมอยู่ (รูปที่ 15A. – C.)

ด้านหลังของพยาธิพบการบวมของสันที่ส่วนกลางตัวพยาธิถึงส่วนหาง และพบตุ่มขนาดเล็กกระจายอยู่

12 ชั่วโมง

ด้านท้องของพยาธิพบการบวมที่มากขึ้นของสันและพบตุ่มขนาดมากขึ้น หนาแน่นขึ้น กระจายอยู่ทั่วตัว โดยเฉพาะที่ส่วนหัวถึงกลางตัวพยาธิ (รูปที่ 15D., E.) ที่ส่วนหัวของพยาธิพบตุ่มจำนวนมากที่กลัมนี้ออรอบ oral sucker และมีการลอกหลุดของผิวหนังออกมาเป็นขุย พบตุ่มขนาดใหญ่ยื่นออกมาจากด้านข้างตัวที่ส่วนหางของพยาธิ 1 ตัว (รูปที่ 15F.)

ด้านหลังของพยาธิพบการบวม มีการเชื่อมกันของผิวหนังบางส่วนและพบตุ่มขนาดเล็กกระจายห่างๆ โดยเฉพาะที่ส่วนกลางตัวถึงส่วนหาง (รูปที่ 15G. – I.) และพบขุยปกคลุมที่ส่วนหัวและกลางตัวพยาธิ

18 ชั่วโมง

ด้านท้องของพยาธิมีการบวมของสันและตุ่มมากขึ้นทั่วทั้งตัวและพบการแตก (rupture) ของตุ่มขนาดเล็ก (รูปที่ 16B., C.) นอกจากนี้ยังพบหย่อมที่ชั้นผิวหนังลอกหลุดเป็นบริเวณกว้างเนื่องมาจากการแตกของตุ่มที่ขนาดใหญ่และมีการบวมของชั้นกลัมนี้ออด้านใต้ที่บริเวณกลางตัวของพยาธิ 1 ตัว (รูปที่ 16A.)

ด้านหลังของพยาธิพบการบวมที่รุนแรงมากขึ้นและมีตุ่มขนาดเล็กจำนวนมากกระจายทั่วทั้งตัว (รูปที่ 16 D., E.)

30 ชั่วโมง

ด้านท้องของพยาธิพบการบวมและตุ่มขนาดใหญ่กระจายทั่วตัวทั้งที่ด้านข้างลำตัวและส่วนแกนกลางตัวพยาธิ (รูปที่ 16 F. – I.)

ด้านหลังของพยาธิพบการบวมและตุ่มขนาดต่างๆ กันกระจายทั่วทั้งตัว (รูปที่ 17A., C.) และพบตุ่มขนาดใหญ่ยื่นจากด้านข้างตัวที่ส่วนหัวของพยาธิ 1 ตัว (รูปที่ 17B.)

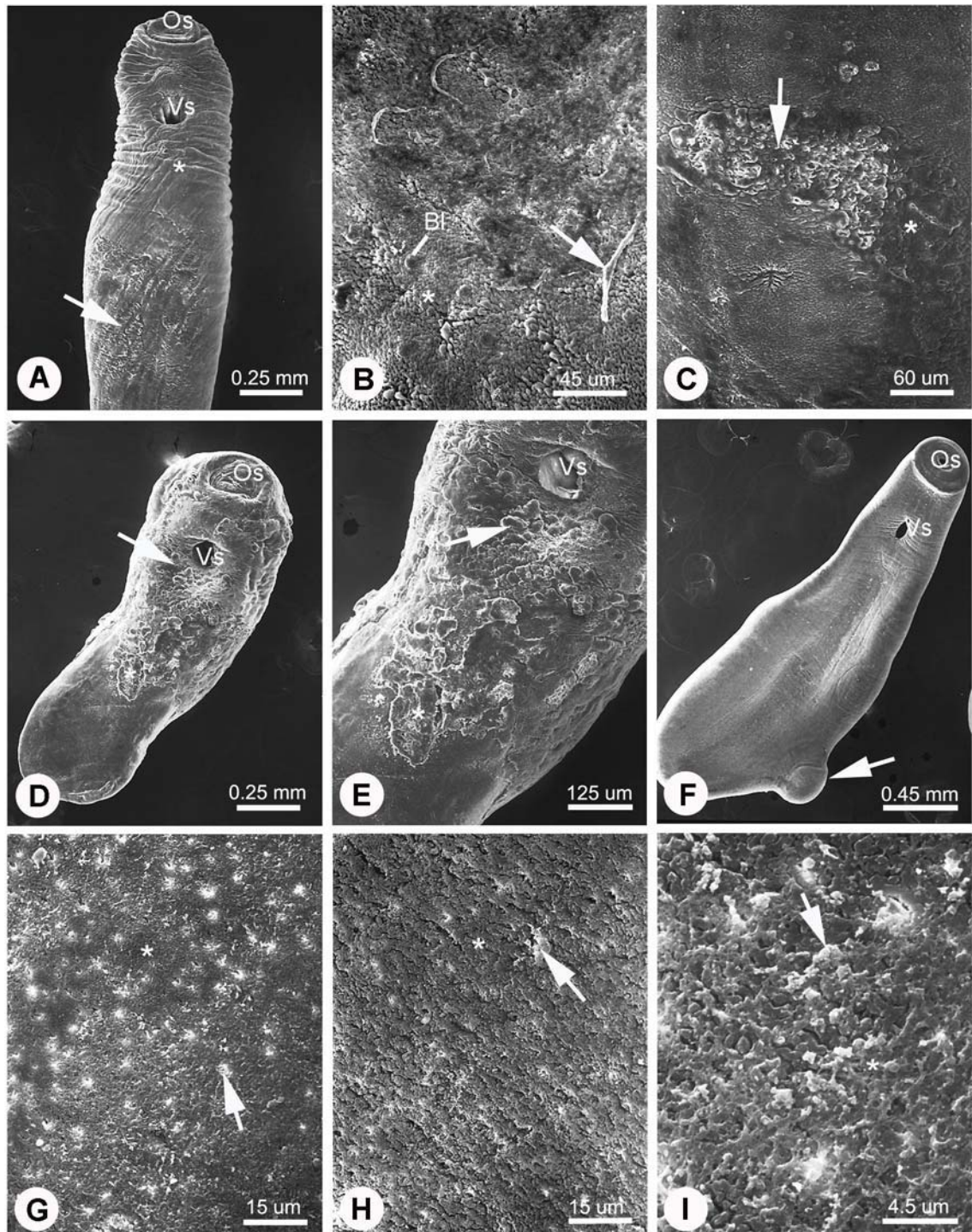
36 ชั่วโมง

พบการบิดเบี้ยวผิดรูปร่างของพยาธิหลังสัมผัสยา 36 ชั่วโมง ที่ด้านท้องของพยาธิพบการบวม ตุ่มขนาดต่างๆ กันและการลอกหลุดของชั้นผิวหนังกระจายทั่วทั้งตัว ที่ส่วนกลางตัวของพยาธิพบ

การยุบตัวลงไปของโครงสร้างผนังตัวทำให้มีลักษณะเป็นแอ่งและพบคุ่มขนาดต่างๆ กันภายในแอ่งด้วย (รูปที่ 17D. – F.)

ด้านหลังของพยาธิพบการบวมที่รุนแรงมากขึ้น และพบคุ่มขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วตัว (รูปที่ 17G., I.) ที่ส่วนหางของพยาธิ 1 ตัว พบการแตกของคุ่มขนาดใหญ่ (รูปที่ 17G., H.)

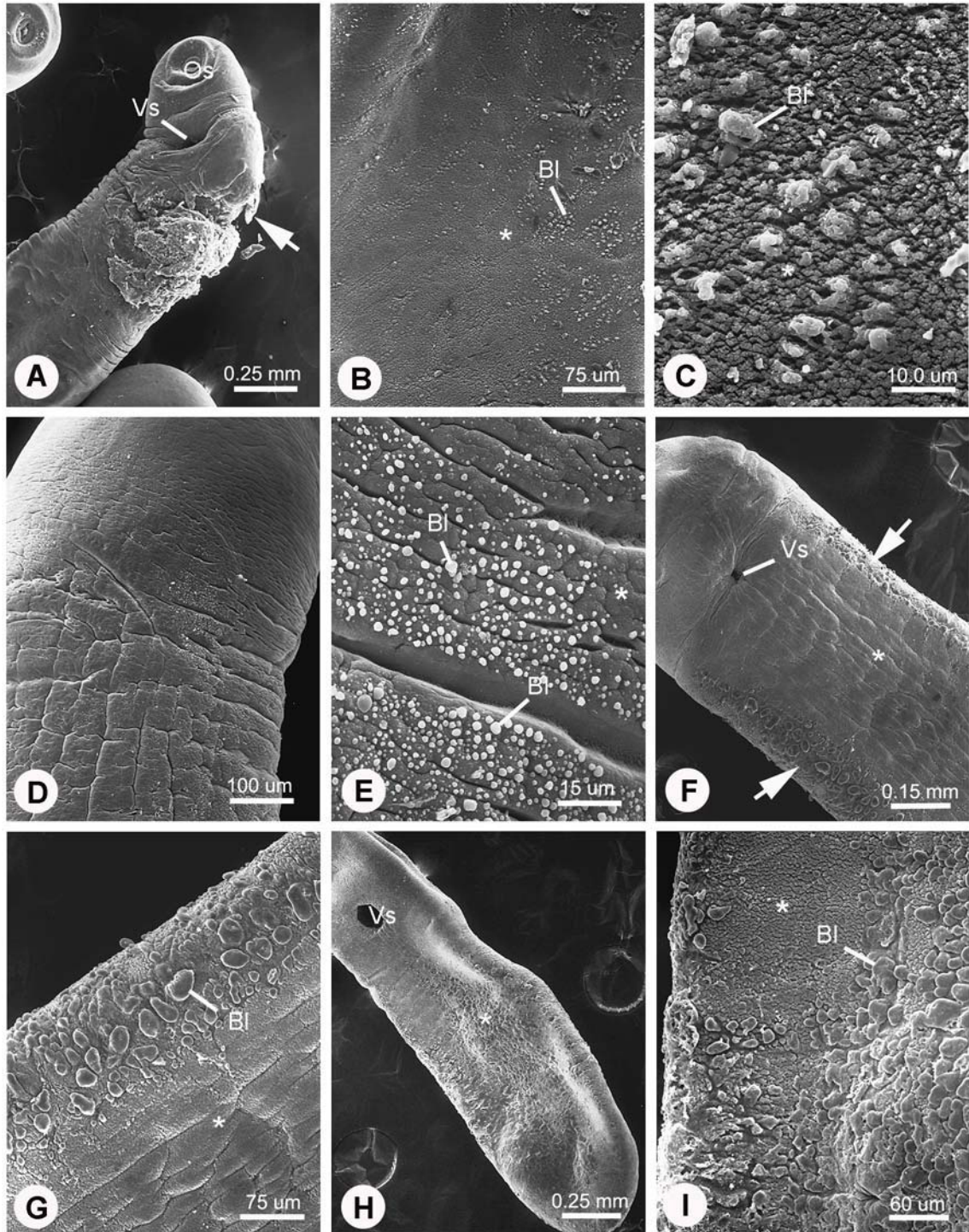
รูปที่ 15 พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังสัมผัสพยาธิ artesunate 100 $\mu\text{g/ml}$ เป็นเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด



รูปที่ 15 พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังสัมผัสยา artesunate 100 µg/ml เป็นเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง

- A. ด้านท้องของพยาธิ ภายหลังสัมผัสยาเป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบการบวมของผิวหนังที่ส่วนกลางตัว (star) และกลุ่มของตุ่มขนาดเล็ก (ลูกศร) ที่บริเวณกลางตัวมาทางส่วนหางของพยาธิ
- B. ภาพขยายรูปที่ 15A. ที่ส่วนกลางตัวของพยาธิ พบการบวมของสันและตุ่มขนาดเล็ก (BI) บนผิวหนังและการลอกหลุดของผิวหนังบนออกมาเป็นขุย (ลูกศร)
- C. ภาพขยายรูปที่ 15A. ที่ส่วนหางของพยาธิแสดงการบวมและเชื่อมกันของผิวหนังบน (star) และกลุ่มของตุ่มขนาดเล็ก (ลูกศร)
- D. and E. ด้านท้องของพยาธิ ภายหลังสัมผัสยา 12 ชั่วโมง แสดงกลุ่มของตุ่มขนาดใหญ่ (ลูกศร) ได้ เวนทรัลซัคเกอร์ (Vs) และการลอกหลุดของชั้นผิวหนังที่ส่วนกลางตัว (star) ออร์ลซัคเกอร์ (Os)
- F. ด้านท้องของพยาธิ (ตัวใหม่) ภายหลังสัมผัสยา 12 ชั่วโมงแสดงตุ่มขนาดใหญ่ (ลูกศร) ที่ด้านข้างลำตัวส่วนหาง
- G. and I. ด้านหลังของพยาธิส่วนกลางตัว ภายหลังสัมผัสยา 12 ชั่วโมง แสดงการบวมและเชื่อมกันของผิวหนังบน (star) และกลุ่มของตุ่มขนาดเล็ก (ลูกศร)
- H. ด้านหลังของพยาธิส่วนหาง ภายหลังสัมผัสยา 12 ชั่วโมง แสดงการบวมและเชื่อมกันของผิวหนังบน (star) และกลุ่มของตุ่มขนาดเล็ก (ลูกศร)

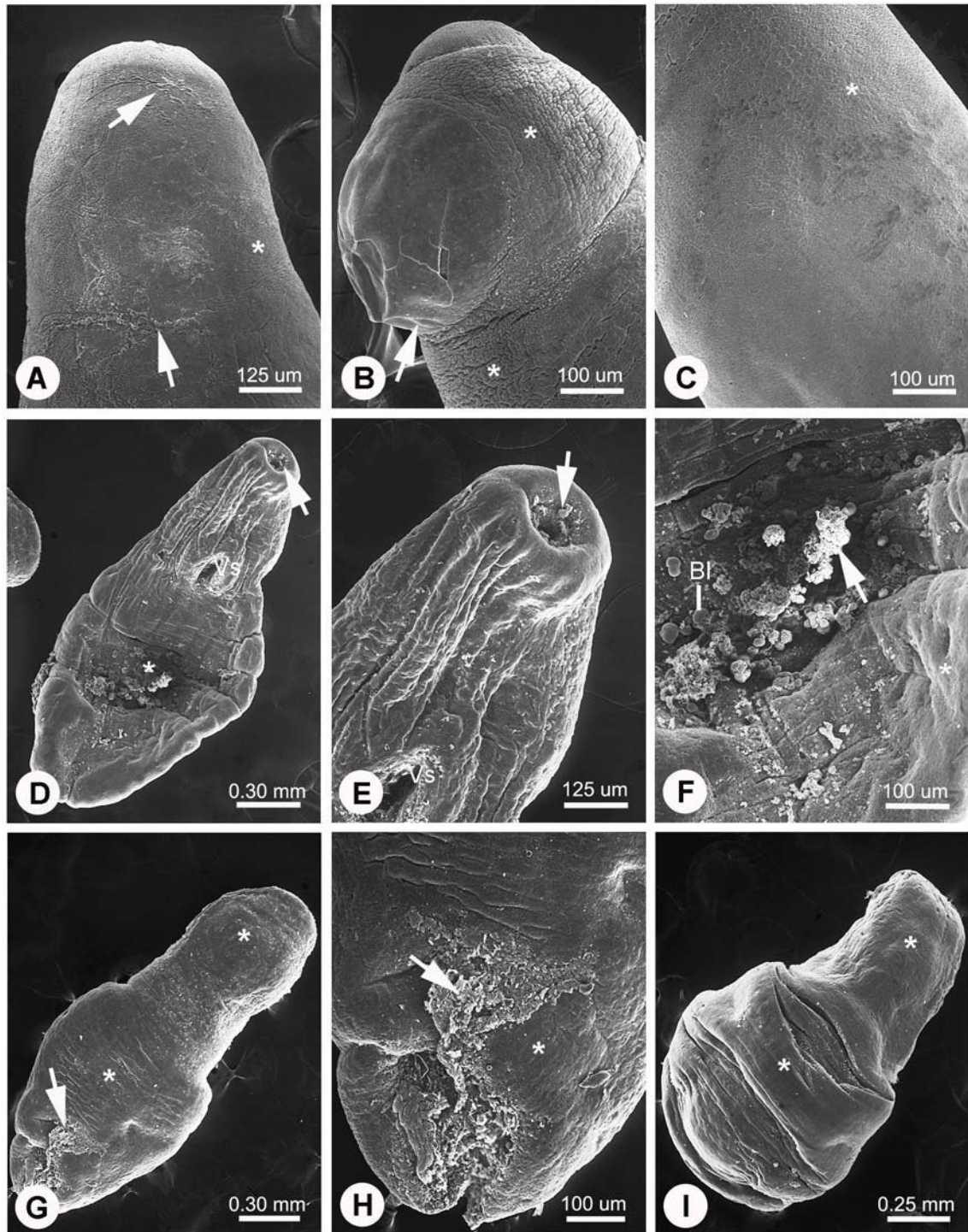
รูปที่ 16 พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังจากสัมผัสยา artesunate 100 $\mu\text{g/ml}$ เป็นเวลา 18 และ 30 ชั่วโมง โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด



รูปที่ 16 พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังสัมผัสยา artesunate 100 µg/ml เป็นเวลา 18 และ 30 ชั่วโมง

- A. ด้านท้องของพยาธิ ภายหลังสัมผัสยาเป็นเวลา 18 ชั่วโมง แสดงการลอกหลุดของผิวเป็นหย่อมขนาดใหญ่เล็กไปถึงชั้นกล้ามเนื้อด้านล่าง (star) ที่ด้านข้างส่วนกลางตัว ลูกศรชี้ขึ้นผิวที่เหลือน
- B. and C. ด้านท้องของพยาธิส่วนหาง ภายหลังสัมผัสยา 18 ชั่วโมงแสดงการบวมของสัน (star) และกลุ่มของคุ่มขนาดเล็ก (BI)
- D. and E. ด้านหลังของพยาธิ ภายหลังสัมผัสยา 18 ชั่วโมง แสดงการบวม (star) ของผิวทั่วทั้งตัวและพบคุ่มขนาดเล็ก (BI) กระจายทั่ว
- F. ด้านท้องของพยาธิ ภายหลังสัมผัสยาเป็นเวลา 30 ชั่วโมง พบการบวมของผิวที่ส่วนแกนกลางตัว (star) และคุ่มขนาดต่างๆ กันกระจายที่ด้านข้างตัว (ลูกศร)
- G. ภาพขยายรูปที่ 16F. แสดงคุ่ม (BI) ขนาดต่างๆ กันจำนวนมากที่ด้านข้างตัวพยาธิ และการบวมของผิวที่บริเวณแกนกลางตัว (star)
- H. ด้านท้องของพยาธิ (ตัวใหม่) ภายหลังสัมผัสยา 30 ชั่วโมง แสดงการบวมและมีคุ่มจำนวนมาก (star) ที่ผิวบริเวณใต้ เวนทริลซัคเกอร์ (Vs) จนถึงส่วนหาง
- I. ภาพขยายรูปที่ 16H. แสดงการบวมของสัน (star) และคุ่มจำนวนมาก (BI) ที่ผิวด้านข้างตัวและในแนวแกนกลางตัวพยาธิ

รูปที่ 17 พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังจากสัมผัสยา artesunate 100 $\mu\text{g/ml}$ เป็นเวลา 30 และ 36 ชั่วโมง โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด



รูปที่ 17 พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังสัมผัสยา artesunate 100 µg/ml เป็นเวลา 30 และ 36 ชั่วโมง

- A. ด้านหลังของพยาธิส่วนหัว ภายหลังสัมผัสยา 30 ชั่วโมง แสดงการบวมของผิวหนัง (star) และกลุ่มของคูนขนาดเล็ก (ลูกศร) กระจายทั่ว
- B. ด้านหลังของพยาธิ (ตัวใหม่) ภายหลังสัมผัสยา 30 ชั่วโมง แสดงการบวมของผิวหนัง (star) และคูนขนาดใหญ่ที่ด้านข้างตัว (ลูกศร)
- C. ด้านหลังของพยาธิส่วนกลางตัว ภายหลังสัมผัสยา 30 ชั่วโมง แสดงการบวมของผิวหนัง (star)
- D. ด้านท้องของพยาธิ ภายหลังสัมผัสยา 36 ชั่วโมง แสดงรูปร่างที่ผิดปกติไปจากปกติ พบการบวมของชั้นผิวหนังทั่วทั้งตัว ที่ส่วนหัวพบกลุ่มของคูนขนาดเล็กใน ออร์ลซัทเทอร์ (ลูกศร) ที่ส่วนกลางตัวพบการยุบตัวของโครงสร้างร่างกายลงไปเป็นแอ่งและมีกลุ่มของคูนอยู่ภายใน (star)
- E. ภาพขยายรูปที่ 17D. แสดงการบวมและลอกหลุดของชั้นผิวหนังที่ส่วนหัวพยาธิ และกลุ่มของคูนที่ ออร์ลซัทเทอร์ (ลูกศร)
- F. ภาพขยายรูปที่ 17D. บริเวณของโครงสร้างลำตัวที่ยุบลงไปเป็นแอ่ง แสดงการบวมของผิวหนังที่อยู่รอบแอ่ง (star) กลุ่มของคูนภายในแอ่ง (BI) ลูกศรแสดงการแตกของคูน
- G. ด้านหลังของพยาธิ ภายหลังสัมผัสยา 36 ชั่วโมง แสดงรูปร่างของพยาธิที่ผิดปกติไปจากปกติ พบการบวมของผิวหนังทั่วทั้งตัว (star) และการลอกหลุดของชั้นผิวหนังที่ส่วนหาง (ลูกศร)
- H. ภาพขยายรูปที่ 17G. ส่วนหาง แสดงการบวมของผิวหนัง (star) และการลอกหลุดของชั้นผิวหนัง (ลูกศร)
- I. ด้านหลังของพยาธิ (ตัวใหม่) ภายหลังสัมผัสยา 36 ชั่วโมง แสดงการบวมของผิวหนังทั่วทั้งตัว (ลูกศร)

4.3 การเปลี่ยนแปลงที่ชั้นผิวของพยาธิ *C. piscidium* ภายหลังการสัมผัสยา 2,4,3',5'-tetrahydroxystilbene

4.3.1. Tetrahydroxystilbene 100 µg/ml

ภายหลังจากพยาธิสัมผัสยา TTS ที่ความเข้มข้น 100 µg/ml ที่ระยะเวลา 6 , 18, 24, 30, และ 36 ชั่วโมง พบการเปลี่ยนแปลงที่ชั้นผิวทั้งด้านท้อง (ventral) และด้านหลัง (dorsal) ดังนี้

6 ชั่วโมง

พบการบวมของผิวบริเวณรอบ oral sucker และ ventral sucker (รูปที่ 18A.) ที่ด้านท้อง พบการบวมของผิวเห็นเป็นลอนตามขวางสลับกับร่องบนลำตัวของพยาธิอย่างชัดเจน ตลอดทั้งส่วนสัน มีการบวมและเชื่อมกันบางส่วนเป็นหย่อมเล็กๆ (รูปที่ 18 B.,C.) และพบกลุ่มของตุ่มขนาดเล็กกระจายห่างๆ และหย่อมของชั้นผิวที่หลุดลอกที่ส่วนหางของพยาธิ

ด้านหลังของพยาธิพบการบวมของผิวและกลุ่มตุ่มขนาดเล็กจำนวนน้อยโดยเฉพาะที่บริเวณกลางตัวพยาธิถึงส่วนหาง (รูปที่ 18D.) และพบการลอกของชั้นผิวเฉพาะส่วนบนมีลักษณะเป็นขุย (desquamation) ปกคลุมที่บริเวณดังกล่าว

18 ชั่วโมง

ด้านท้องของพยาธิมีการบวมมากขึ้นของสัน พบตุ่มนูนมีจำนวนมากขึ้นและมีขนาดใหญ่ขึ้นกระจายทั่วทั้งตัวและหนาแน่นที่บริเวณกลางตัวถึงหางของพยาธิ บางตัวพบการบวมและเชื่อมกันของส่วนสันสลับกับมีรูทะลุชั้นผิว (รูปที่ 18F.,G.) และพบขุยปกคลุมผิวทั่วทั้งตัว พบการบวมเป็นก้อนขนาดใหญ่ยื่นออกมาทางด้านข้างตัวพยาธิส่วนหางในพยาธิ 1 ตัว (รูปที่ 18E.)

ด้านหลังของพยาธิพบการบวมของส่วนสันและการเชื่อมกันของสันโดยเฉพาะที่บริเวณส่วนหัวของพยาธิ (รูปที่ 18H.,I.) พบการลอกหลุดของชั้นผิวเป็นหย่อมเล็กๆ มองเห็นชั้นกล้ามเนื้อข้างล่าง (รูปที่ 18H.) พบขุยปกคลุมผิวทั้งตัวพร้อมทั้งมีรูทะลุชั้นผิวกระจายห่างๆ ทั่วทั้งตัว

24 ชั่วโมง

ด้านท้องของพยาธิที่ส่วนหัวพบการบวมของกล้ามเนื้อโดยรอบของ oral และ ventral sucker และมีการลอกหลุดของผิวทั้งชั้นเป็นหย่อมๆ (รูปที่ 19 A.,B.) ผิวส่วนกลางตัวและหางบวมและมีตุ่มนูนขนาดใหญ่จำนวนมากกระจายทั่วตัวร่วมกับการแตกของตุ่มและมีขุยปกคลุมทั้งตัว (รูปที่ 19D.,E.) และส่วนหาง และพบการลอกหลุดของชั้นผิวเป็นบริเวณกว้างจนเห็นชั้นกล้ามเนื้อข้างล่าง รูปที่ 19C.)

ด้านหลังของพยาธิส่วนหัวพบการบวมของสัน บางแห่งพบตุ่มขนาดเล็กอยู่บนสันที่บวม (รูปที่ 19F.,G.) ที่ส่วนกลางตัวไปจนถึงหางพบการบวมของสันรุนแรงมากขึ้นจนปกคลุมส่วนหนาม (spine) ของพยาธิและพบกลุ่มของตุ่มขนาดเล็ก (รูปที่ 19H.) และมีรูทะลุที่ชั้นผิว (รูปที่ 19I.)

30 ชั่วโมง

พยาธิมีรูปร่างบิดเบี้ยว (รูปที่ 20A.) ผิวบริเวณรอบ oral sucker บวมมากและพบการลอกหลุดของชั้นผิวเป็นหย่อมขนาดใหญ่ที่กล้ำเนื้อรอบ oral sucker (รูปที่ 20B.) ผิวที่ด้านท้องของพยาธิบวมและมีตุ่มจำนวนมากทั้งขนาดเล็กและใหญ่กระจายทั่วตัวและหนาแน่นที่ส่วนกลางตัว ตุ่มบางอันแตกและพบขุยปกคลุมผิวที่ส่วนนี้ (รูปที่ 20D.) ที่ส่วนหางพบการบวมของสันและหย่อมผิวลอกหลุดขนาดใหญ่ (รูปที่ 20C.)

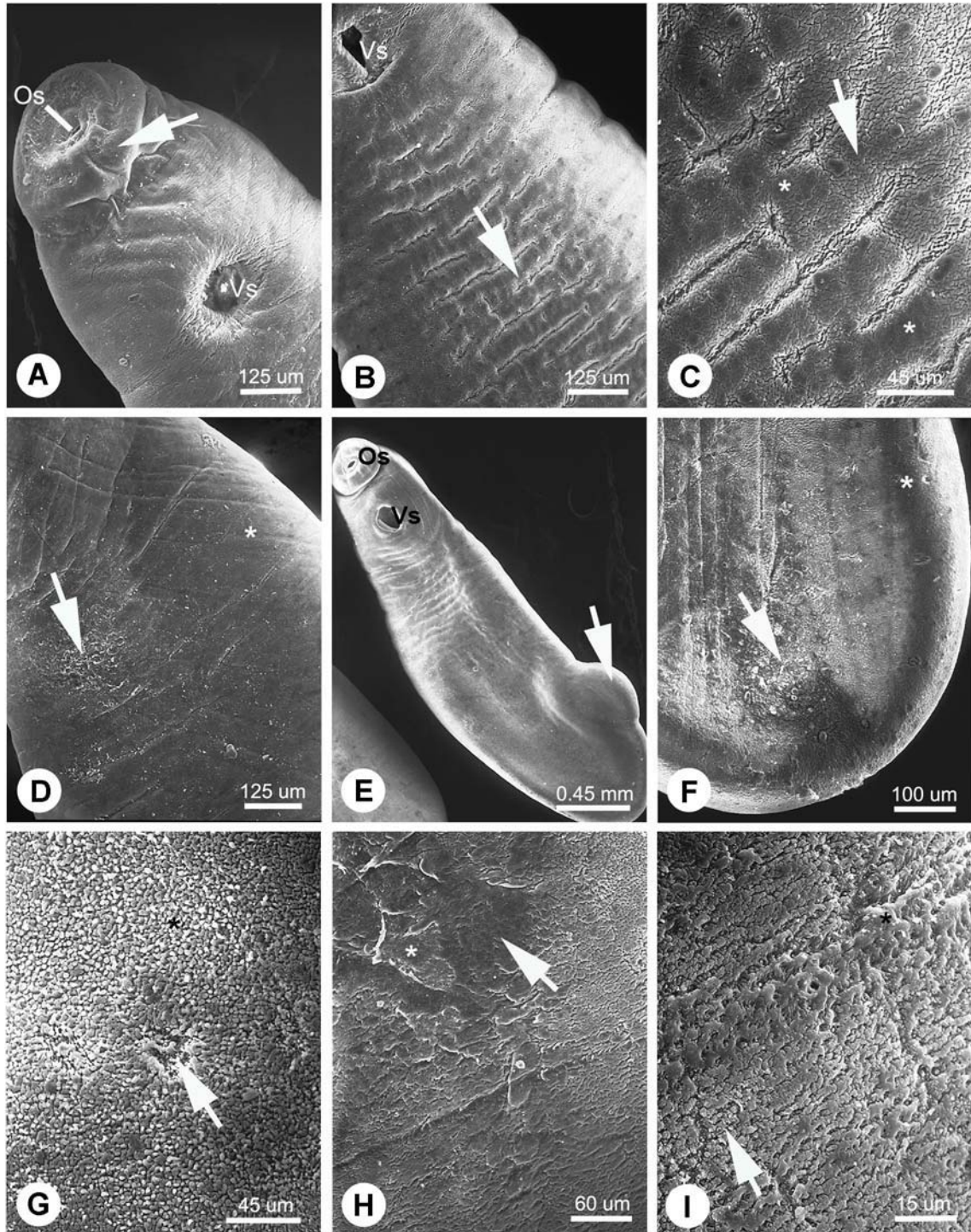
ชั้นผิวที่ด้านหลังของพยาธิส่วนหัวลงไปจนถึงส่วนกลางตัวบวมและปกคลุมด้วยตุ่มจำนวนมาก (รูปที่ 20E.) ผิวที่ส่วนกลางตัวบวมและมีการเชื่อมกันของส่วนสันเป็นหย่อมๆ ผิวด้านข้างตัวพยาธิตั้งแต่ส่วนกลางตัวถึงหางบวมและมีตุ่มหนาแน่น (รูปที่ 20 F.)

36 ชั่วโมง

ด้านท้องของพยาธิที่กล้ำเนื้อรอบ oral sucker และรอบ ventral sucker พบการบวมที่มากขึ้นของส่วนสันและมีตุ่มกระจาย สลับกับหย่อมผิวลอกหลุด ที่บริเวณระหว่าง oral sucker และ ventral sucker พบตุ่มขนาดใหญ่และพบหย่อมที่มีการลอกหลุดของชั้นผิว ที่ส่วนกลางตัวถึงส่วนหางมีการบวมของสันสลับกับตุ่มขนาดเล็ก ใหญ่เป็นจำนวนมาก

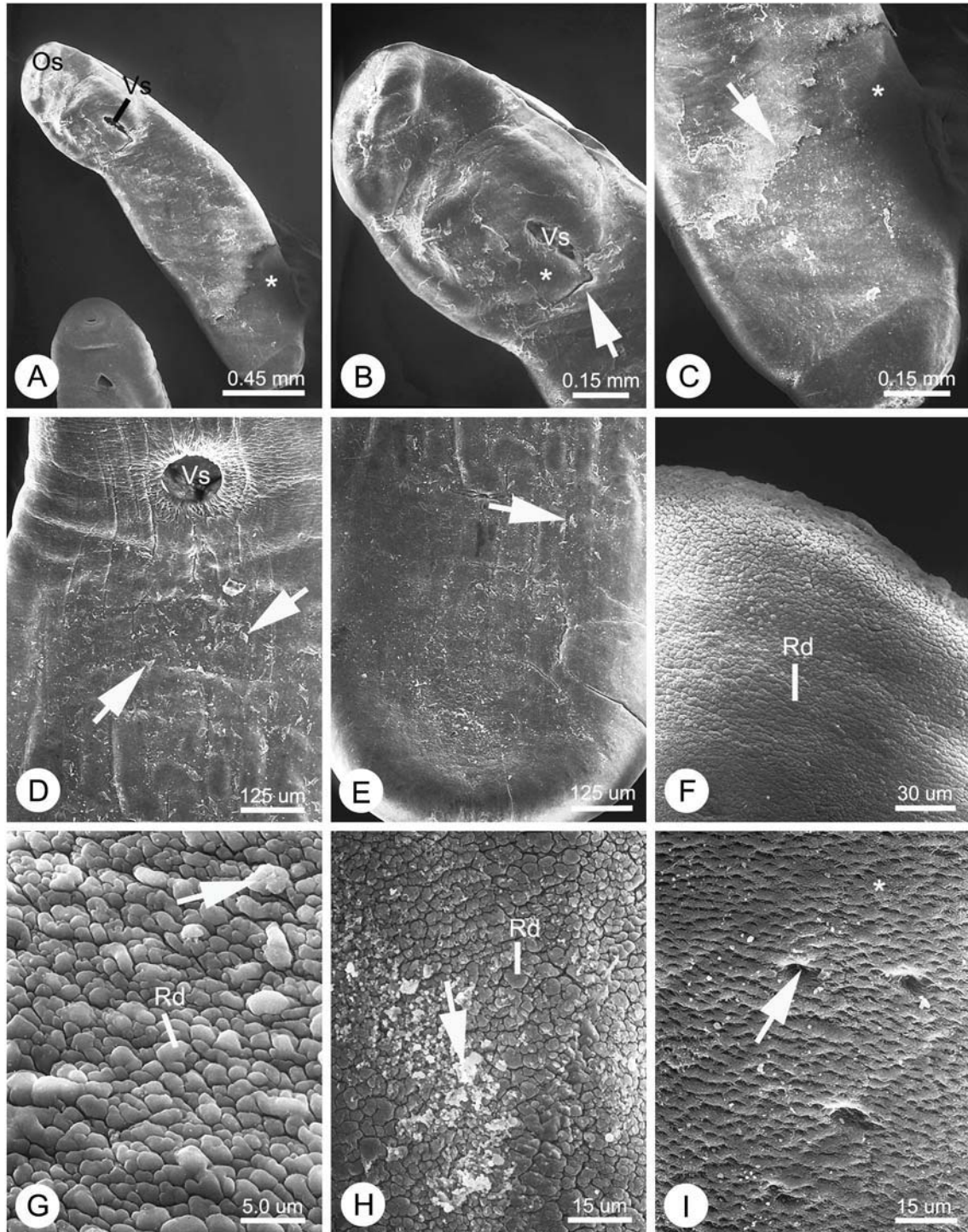
ด้านหลังของพยาธิพบการบวมของผิวส่วนสันสลับกับตุ่มทั่วทั้งตัว (รูปที่ 20I.) ที่ส่วนกลางตัวถึงส่วนหางมีการลอกหลุดของชั้นผิว ที่ส่วนหัวของพยาธิ 1 ตัวพบการลอกหลุดของชั้นผิวที่ด้านข้างตัว ผิวโดยรอบที่เหลือบวม และพบขุยปกคลุมตลอดทั้งตัว (รูปที่ 20 G.,H.)

รูปที่ 18 พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังจากสัมผัสยา tetrahydroxystilbene 100 µg/ml เป็นเวลา 6 และ 18 ชั่วโมง โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด



- รูปที่ 18** พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังจากสัมผัสยา tetrahydroxystilbene 100 µg/ml เป็นเวลา 6 และ 18 ชั่วโมง
- A. ส่วนหัวของพยาธิภายหลังจากสัมผัสยา 6 ชั่วโมง แสดงการบวมของชั้นรอบ ออร์ลซึกเกอร์ (Os) เวนทรีลซึกเกอร์ (Vs)
 - B. และ C. ด้านท้องของพยาธิส่วนกลางตัวแสดงการบวมของชั้นผิวหนังเห็นเป็นลอน (ลูกศร) และหย่อมของผิวหนังที่มีการเชื่อมกันของส่วนสัน (star) ภายหลังจากสัมผัสยาเป็นเวลา 6 ชั่วโมง
 - D. ด้านหลังของพยาธิหลังสัมผัสยา 6 ชั่วโมง แสดงการบวมของผิวหนังด้านข้างตัวพยาธิ (star) และกลุ่มของตุ่มขนาดเล็ก (ลูกศร)
 - E. ด้านท้องของพยาธิภายหลังจากสัมผัสยา 18 ชั่วโมง แสดงตุ่มขนาดใหญ่ทางด้านข้างของพยาธิที่ส่วนหาง (ลูกศร) ออร์ลซึกเกอร์ (Os) เวนทรีลซึกเกอร์ (Vs)
 - F. ผิวด้านท้องที่ส่วนหางของพยาธิ (ตัวใหม่) ภายหลังจากสัมผัสยา 18 ชั่วโมง แสดงการบวมของส่วนสัน (star) ที่ด้านข้างตัว และกลุ่มของตุ่มขนาดเล็กที่บริเวณแกนกลางตัว (ลูกศร)
 - G. ภาพขยาย รูปที่ 19F. แสดงการลอกหลุดของชั้นผิวหนังเป็นหย่อมเล็กๆ (ลูกศร) และกลุ่มของตุ่มขนาดเล็ก (star)
 - H. ด้านหลังของพยาธิหลังสัมผัสยา 18 ชั่วโมง พบการบวมและเชื่อมต่อกันของส่วนสัน (ลูกศร) และหย่อมที่ชั้นผิวหนังลอกหลุดมองเห็นชั้นกล้ามเนื้อข้างใต้ (star)
 - I. ภาพขยาย รูปที่ 18H. แสดงการบวมและเชื่อมกันของส่วนสัน (star) และกลุ่มของตุ่มขนาดเล็ก (ลูกศร)

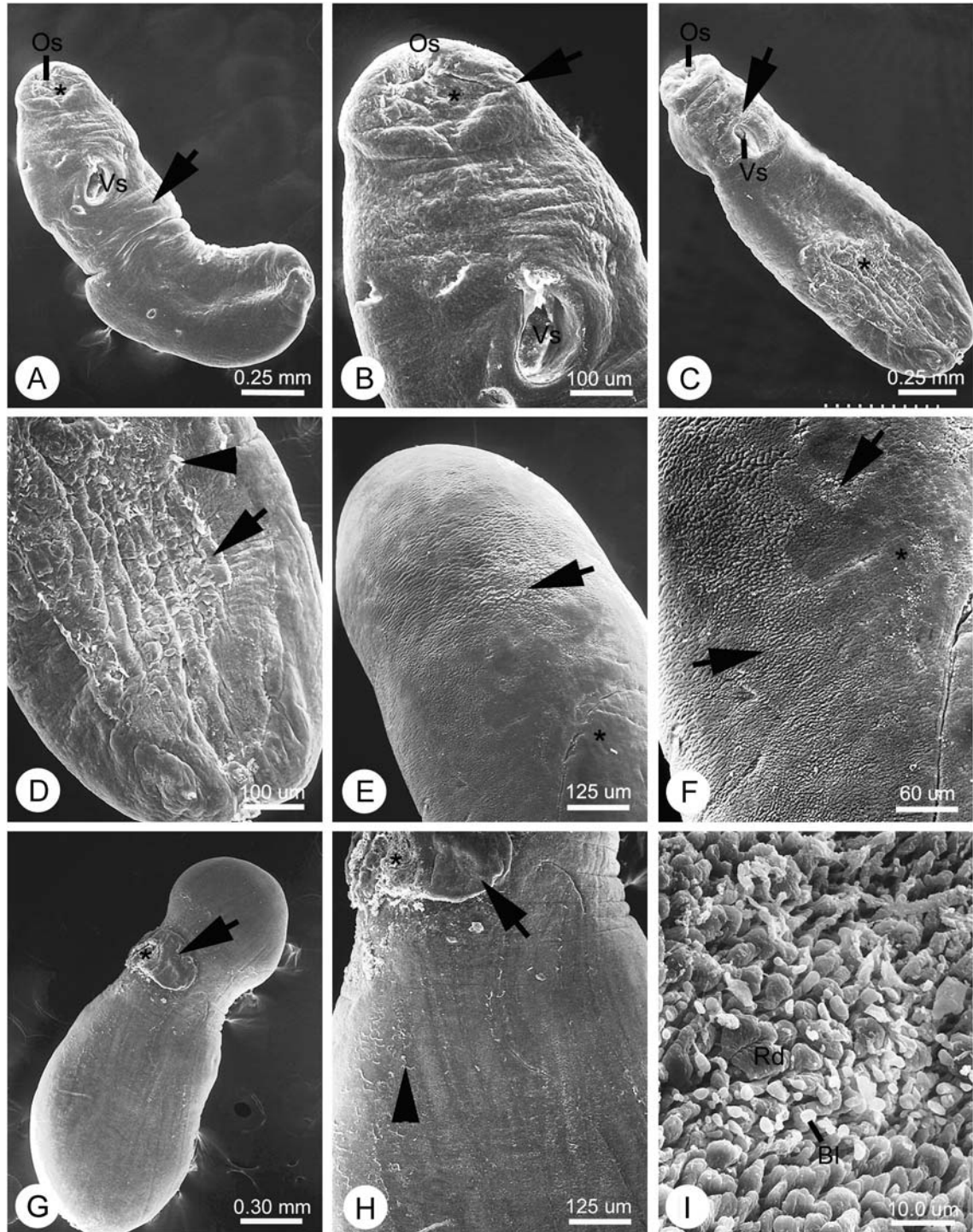
รูปที่ 19 พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังจากสัมผัสยา tetrahydroxystilbene 100 $\mu\text{g/ml}$ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด



รูปที่ 19 พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังสัมผัสยา tetrahydroxystilbene 100 µg/ml เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

- A. ด้านท้องของพยาธิที่กำลังขยายตัวแสดงการลอกหลุดของชั้นผิวเป็นบริเวณกว้างที่ส่วนหางพยาธิ (star) ออร์สซิกเกอร์ (Os) เวนทรีลซิกเกอร์ (Vs)
- B. ภาพขยาย รูปที่ 19A. ส่วนหัวแสดงการลอกหลุดของชั้นผิว (star) รอบเวนทรีลซิกเกอร์ (Vs) และการบวมของผิวบริเวณขอบของหย่อมที่ผิวลอกหลุด (ลูกศร) ออร์สซิกเกอร์ (Os)
- C. ภาพขยาย รูปที่ 19A. ส่วนหางของพยาธิ แสดงการลอกหลุดของชั้นผิวเป็นบริเวณกว้างและเห็นชั้นกล้ามเนื้อข้างล่าง (star) ผิวบริเวณขอบของหย่อมที่ผิวลอกหลุดบวมและมีกลุ่มของตุ่มขนาดเล็กเป็นจำนวนมาก (ลูกศร)
- D. ด้านท้องของพยาธิ (ตัวใหม่) แสดงการบวมและขยุยของชั้นผิว (ลูกศร) ปกคลุมทั่วทั้งตัว เวนทรีลซิกเกอร์ (Vs)
- E. ด้านท้องของพยาธิที่ส่วนหาง แสดงการบวมและขยุยของชั้นผิว (ลูกศร)
- F. ด้านหลังของพยาธิ แสดงการบวมของสันที่บริเวณส่วนหัว (Rd)
- G. ภาพขยายรูปที่ 19F. พบการบวมของสัน (Rd) และพบตุ่มขนาดเล็กกระจายห่างๆ บนสัน (ลูกศร)
- H. ด้านหลังของพยาธิ ส่วนกลางตัวแสดงการบวมของสัน (Rd) และการกลุ่มของตุ่มขนาดเล็ก (ลูกศร)
- I. ด้านหลังของพยาธิ ส่วนหางแสดงการบวมของผิว พบการเชื่อมกับของสันเป็นบางแห่ง (star) และรู้ทะเลที่ชั้นผิว (ลูกศร)

รูปที่ 20 พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังจากสัมผัสยา tetrahydroxystilbene 100 $\mu\text{g/ml}$ เป็นเวลา 30 และ 36 ชั่วโมง โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด



- รูปที่ 20** พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังจากสัมผัสยา tetrahydroxystilbene 100 µg/ml เป็นเวลา 30 และ 36 ชั่วโมง
- A. ด้านท้องของพยาธิภายหลังจากสัมผัสยา 30 ชั่วโมง แสดงรูปร่างของพยาธิที่ผิดไปจากปกติ พบการบวมของผิว (ลูกศร) กระจายทั่วทั้งตัว
 - B. ภาพขยายรูปที่ 20A. ส่วนหัวของพยาธิ แสดงการบวมของผิว (ลูกศร) และหย่อมที่ผิวลอกหลุด (star) รอบออร์ลซัคเกอร์ (Os) และผิวใต้ซัคเกอร์ลงมา เวนทริลซัคเกอร์ (Vs)
 - C. ด้านท้องของพยาธิตัวใหม่ ภายหลังจากสัมผัสยา 30 ชั่วโมง แสดงหย่อมที่ผิวลอกหลุด (ลูกศร) รอบ เวนทริลซัคเกอร์ (Vs) และการบวมของผิวและตุ่มขนาดใหญ่ที่ส่วนหาง (star) ออร์ลซัคเกอร์ (Os)
 - D. ภาพขยายรูปที่ 20C. ส่วนหางของพยาธิ แสดงการบวมของสันและตุ่มขนาดใหญ่ (ลูกศร) และพบขุย (หัวลูกศร) ปกคลุมที่ผิวบางแห่ง
 - E. ด้านหลังของพยาธิ ภายหลังจากสัมผัสยา 30 ชั่วโมง แสดงการบวมของสันและตุ่มขนาดเล็กที่ส่วนหัวของพยาธิ (ลูกศร) และพบการเชื่อมกันของส่วนสันเป็นหย่อมๆ (star)
 - F. ด้านหลังของพยาธิส่วนกลางตัว ภายหลังจากสัมผัสยา 30 ชั่วโมง แสดงการบวมของสันและตุ่มขนาดเล็ก (ลูกศร) สลับกับการเชื่อมกันของส่วนสันเป็นหย่อมๆ (star)
 - G. ด้านหลังของพยาธิ ภายหลังจากสัมผัสยา 36 ชั่วโมง แสดงหย่อมที่ผิวลอกหลุด (star) ล้อมรอบด้วยผิวที่บวม (ลูกศร) ที่ด้านข้างตัวส่วนหัว
 - H. ส่วนกลางตัวของพยาธิในรูปที่ 20G. แสดงการบวมของผิวและมีขุยปกคลุม (หัวลูกศร) และหย่อมผิวลอกหลุด (star) ล้อมรอบด้วยผิวที่บวม (ลูกศร)
 - I. ภาพขยายผิวด้านหลังของพยาธิ ส่วนหางภายหลังจากสัมผัสยา 36 ชั่วโมง แสดงการบวมของส่วนสัน (Rd) และตุ่มขนาดเล็กกระจายอยู่ห่างๆ (Bl)

4.3.2. Tetrahydroxystilbene 200 µg/ml

ภายหลังจากพยาธิสัมผัสยา TTS ที่ความเข้มข้น 200 µg/ml ที่ระยะเวลา 6 , 18, 24, 30, และ 36 ชั่วโมง พบการเปลี่ยนแปลงที่ชั้นผิวหนังด้านท้อง (ventral) และด้านหลัง (dorsal) ดังนี้

6 ชั่วโมง

ที่ส่วนหัวของพยาธิพบการบวมของสันและการลอกหลุดของชั้นผิวหนังบนเป็นขุยปกคลุมผิวรอบ oral sucker และ ventral sucker (รูปที่ 21A.) ผิวบริเวณใต้ ventral sucker ลงมาถึงส่วนหางบวมและมีการเชื่อมติดกันของสันเป็นบางแห่ง สลับกับหย่อมการลอกหลุดของผิวหนังบนเป็นขุย (รูปที่ 21B.) บางตัวพบกลุ่มของตุ่มขนาดเล็กกระจายหนาแน่น ที่ส่วนกลางตัวจนถึงหาง (รูปที่ 21C.,D.)

ด้านหลังของพยาธิส่วนใหญ่มีการบวมของสันทั้งตัว และพบการลอกหลุดของผิวหนังเป็นหย่อมเห็นกล้ามเนื้อข้างล่าง (รูปที่ 21E.) และพบขุยคลุมผิวหนังทั้งตัวของพยาธิ 1 ตัว

18 ชั่วโมง

ที่ส่วนหัวของพยาธิพบการบวมของผิวรอบๆ oral sucker และ oral sucker และผิวหนังใต้ oral sucker ถึง ventral sucker ด้านท้องพบการบวมของผิวหนังและมีการเชื่อมกันของส่วนสันบางแห่ง ผิวส่วนกลางตัวถึงส่วนหางบวมเป็นลอนตามขวางของตัวพยาธิสลับกับร่องชัดเจน (รูปที่ 21F.) ภายในร่องพบตุ่มขนาดเล็กอยู่อย่างหนาแน่น (รูปที่ 21G.) ทั้งบริเวณแกนกลางตัวพยาธิและด้านข้างของพยาธิ และพบการลอกหลุดของผิวหนังเป็นหย่อมๆ นอกจากนี้ยังพบการบวมของสันและตุ่มจำนวนมากโดยเฉพาะผิวหนังใต้ ventral sucker ถึงส่วนหางและมีการลอกหลุดของชั้นผิวหนังถึงกล้ามเนื้อกระจายอยู่ทั่วตัวพยาธิ (รูปที่ 21H.,I.)

ด้านหลังของพยาธิมีการบวมของสันรุนแรงมากขึ้น ตุ่มและรูที่ชั้นผิวหนังกระจายทั่วทั้งตัวพยาธิ

24 ชั่วโมง

มีการบวมและหลุดลอกของผิวรอบ oral sucker และ ventral sucker และผิวหนังใต้ oral sucker ถึง ventral sucker และกระจายไปที่ส่วนกลางตัวพยาธิ (รูปที่ 22A.,B.) บนชั้นผิวหนังที่บวมพบกลุ่มของตุ่มขนาดเล็กพร้อมกับมีการแตกของตุ่ม

ด้านหลังของพยาธิพบการบวมของผิวหนังรุนแรงมากขึ้นทั่วทั้งตัวและพบตุ่มขนาดเล็กเป็นกลุ่มที่บริเวณกลางตัวของพยาธิ (รูปที่ 22C.,D.)

30 ชั่วโมง

ด้านท้องของพยาธิที่ส่วนหัว พบการยุบตัวของกล้ามเนื้อรอบ oral sucker และมีตุ่มขนาดเล็กจำนวนมาก บางส่วนมีการแตกกลายเป็นขุย (รูปที่ 22E.,F.) ผิวระหว่าง sucker ทั้งสองบวม พบหย่อมที่มีการลอกหลุดของชั้นผิวหนังเป็นบริเวณกว้าง ส่วนกลางตัวพยาธิบวมมากขึ้นและพบตุ่มเป็นจำนวนมาก (รูปที่ 22E.) พบการบวมของผิวหนัง ตุ่มขนาดเล็กจำนวนมากและการแตกของตุ่มจนปกคลุม oral sucker ในพยาธิ 1 ตัว (รูปที่ 22G.)

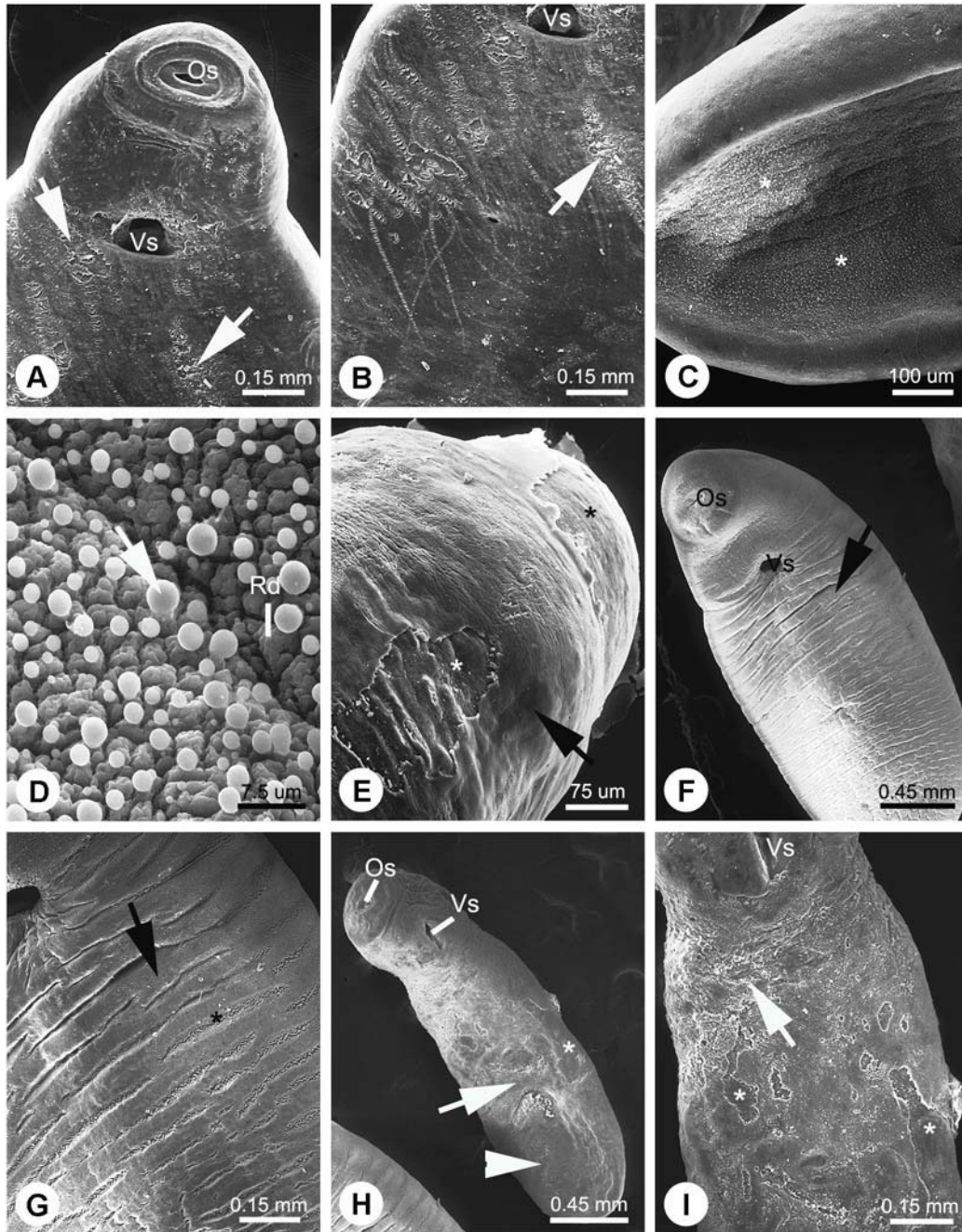
ด้านหลังของพยาธิพบการบวมของผิวหนังทั่วทั้งตัวและมีความรุนแรงมากขึ้นตั้งแต่ส่วนกลางตัวไปจนถึงส่วนหางและปกคลุมส่วนของหนามบางส่วน บนส่วนสันที่บวมจะพบตุ่มขนาดเล็กจำนวนมากกระจายอยู่อย่างหนาแน่น และมีการเชื่อมกันของสันบางส่วน (รูปที่ 22H.,I.)

36 ชั่วโมง

ด้านท้องของพยาธิที่ส่วนหัวพบตุ่มขนาดต่างๆกันเป็นจำนวนมากและมีการลอกหลุดของชั้นผิวหนังเป็นบริเวณกว้างรอบ oral sucker จนถึง ventral sucker และผิวหนังใต้ ventral sucker ลงมาพบตุ่มขนาดใหญ่อยู่หนาแน่น (รูปที่ 23A.) และพบการลอกหลุดของชั้นผิวหนังเป็นหย่อมๆ กระจายทั่วทั้งตัว (รูปที่ 23B.) พยาธิบางตัวมีร่างกายบิดเบี้ยว (รูปที่ 23C.) ที่ส่วนหัวของพยาธิส่วนใหญ่มีพยาธิสภาพพบการบวมและหย่อมผิวหนังลอกหลุดที่กล้ำเนื้อรอบ oral sucker ในพยาธิ 1 ตัว (รูปที่ 23D.) พยาธิบางตัวแสดงการบวมและการแตกของตุ่มเป็นขุยปกคลุมที่บริเวณรอบ oral sucker (รูปที่ 23E.,F.) และพบการลอกหลุดของชั้นผิวหนังเป็นบริเวณกว้างร่วมกับการยุบตัวของโครงสร้างผนังตัวส่วนหาง (รูปที่ 23E.,G.)

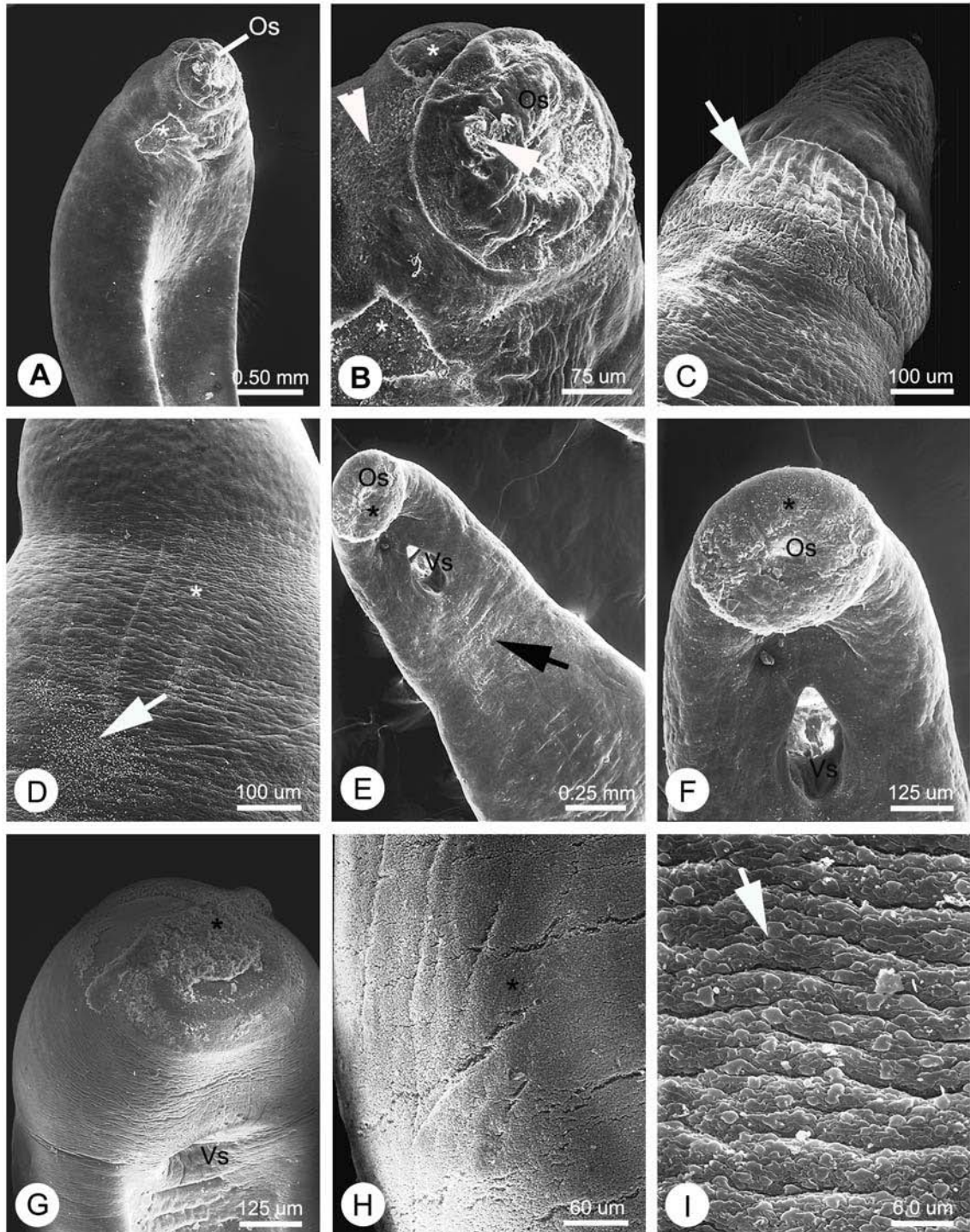
ด้านหลังของพยาธิพบตุ่มขนาดใหญ่จำนวนมากกระจายตลอดทั้งตัวสลับกับหย่อมผิวหนังลอกหลุดเป็นบริเวณกว้างโดยเฉพาะที่บริเวณกลางตัวถึงส่วนหาง (รูปที่ 23H.,I.)

รูปที่ 21 พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังจากสัมผัสยา tetrahydroxystilbene 200 $\mu\text{g/ml}$ เป็นเวลา 6 และ 18 ชั่วโมง โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด



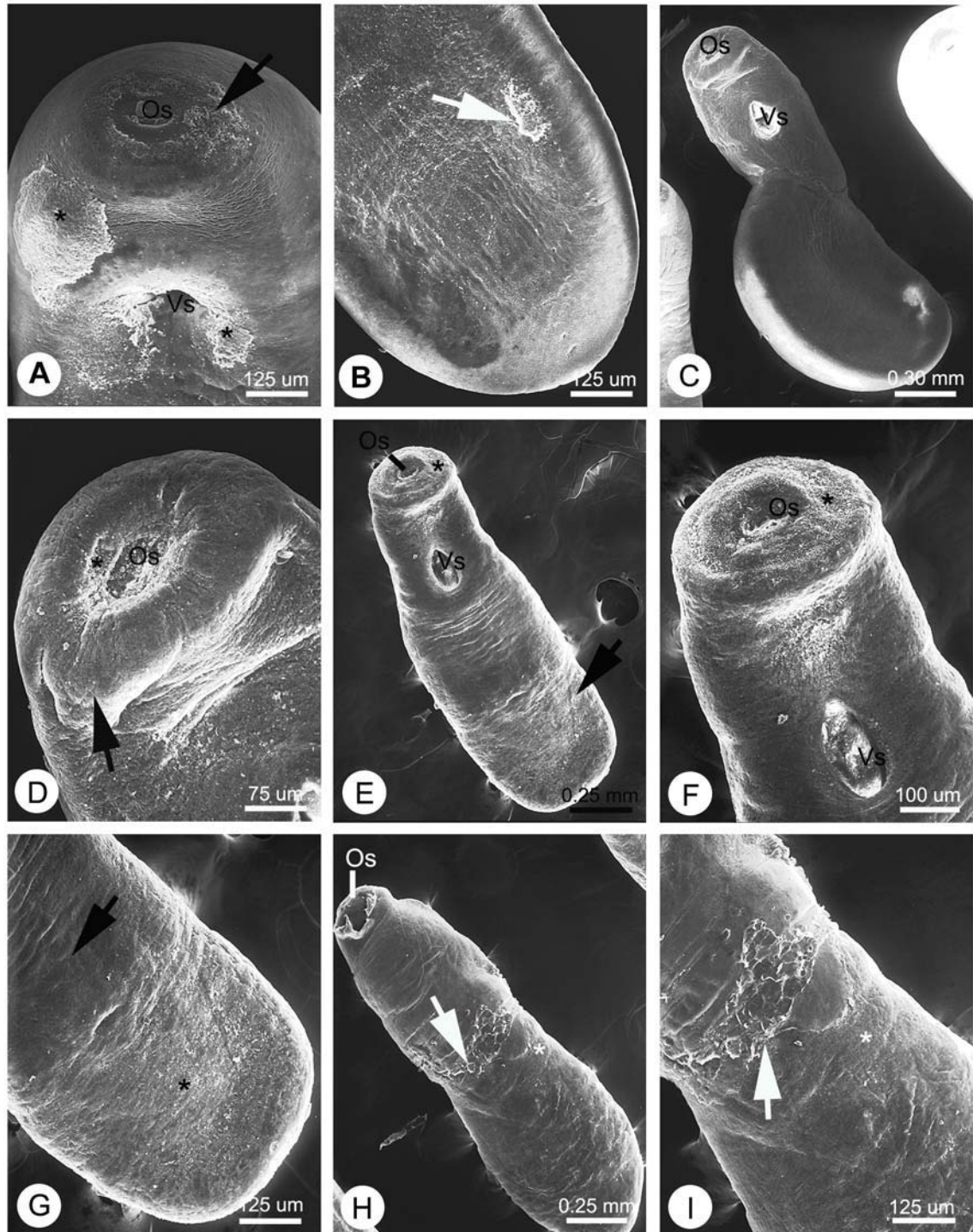
- ที่ 21 พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังสัมผัสยา tetrahydroxystilbene 200 µg/ml เป็นเวลา 6 และ 18 ชั่วโมง
- A. ส่วนหัวของพยาธิภายหลังสัมผัสยา 6 ชั่วโมง แสดงการบวมและขยุยของชั้นผิวหนัง (ลูกศร) ออร์ัลซัคเกอร์ (Os) เวนทรีลซัคเกอร์ (Vs)
 - B. ส่วนกลางตัวของพยาธิในรูปที่ 21A. แสดงการบวมของผิวหนังและพบขยุยปกคลุม (ลูกศร) ผิวบริเวณใต้ เวนทรีลซัคเกอร์ (Vs) ลงมา
 - C. ด้านท้องของพยาธิตัวใหม่ส่วนหาง ภายหลังสัมผัสยา 6 ชั่วโมง แสดงตุ่มขนาดเล็กอยู่อย่างหนาแน่น (star)
 - D. ภาพขยายรูปที่ 21C. แสดงการบวมของสัน (Rd) และตุ่มขนาดเล็ก (BI) จำนวนมาก
 - E. ด้านหลังของพยาธิส่วนหัว ภายหลังสัมผัสยา 6 ชั่วโมง แสดงการบวมและเชื่อมกันของสัน (ลูกศร) และหย่อมที่ชั้นผิวหนังลอกหลุด (star)
 - F. ด้านท้องของพยาธิ ภายหลังสัมผัสยา 18 ชั่วโมง แสดงการบวมของผิวหนังที่ส่วนกลางตัว (ลูกศร) ออร์ัลซัคเกอร์ (Os) เวนทรีลซัคเกอร์ (Vs)
 - G. ภาพขยายรูปที่ 21F. แสดงการบวมของผิวหนัง (ลูกศร) สลับกับร่องที่มีตุ่มขนาดเล็กจำนวนมาก (star)
 - H. ด้านท้องของพยาธิตัวใหม่ ภายหลังสัมผัสยา 18 ชั่วโมง แสดงหย่อมผิวหนังลอกหลุด (star) กระจายทั่วทั้งตัวพยาธิ ผิวส่วนที่เหลืออยู่บวมและพบตุ่มขนาดเล็กและใหญ่ (ลูกศร) โครงสร้างของผนังตัวส่วนหางยุบตัวลงไป (หัวลูกศร)
 - I. ภาพขยายรูปที่ 21H. ส่วนกลางตัวพยาธิ แสดงการบวมของส่วนสันและปกคลุมด้วยตุ่มขนาดต่างๆ (ลูกศร) สลับกับหย่อมที่ผิวหนังลอกหลุด (star) เวนทรีลซัคเกอร์ (Vs)

รูปที่ 22 พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังจากสัมผัสยา tetrahydroxystilbene 200 $\mu\text{g/ml}$ เป็นเวลา 24 และ 30 ชั่วโมง โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด



- รูปที่ 22** พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังสัมผัสยา tetrahydroxystilbene 200 µg/ml เป็นเวลา 24 และ 30 ชั่วโมง
- A. ส่วนหัวของพยาธิ ภายหลังสัมผัสยาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แสดงการลอกหลุดของผิวหนังเป็นหย่อมขนาดเล็กเล็กไปถึงชั้นกล้ามเนื้อด้านล่าง (star) ที่ด้านข้างตัวได้ ออร์ลซักรเกอร์ (Os)
 - B. ภาพขยายรูปที่ 22A. แสดงหย่อมลอกหลุดของชั้นผิวหนังที่กล้ามเนื้อ (ลูกศร) รอบออร์ลซักรเกอร์ (Os) และที่ผิวหนังซักรเกอร์ลงมา (star) ผิวที่เหลือบริเวณรอบซักรเกอร์บวมและมีกลุ่มของตุ่มขนาดเล็ก (หัวลูกศร)
 - C. ด้านหลังของพยาธิ ภายหลังสัมผัสยา 24 ชั่วโมง แสดงการบวมของผิวหนังทั่วทั้งตัว ลูกศรชี้การบวมของส่วนสันที่บริเวณกลางตัวของพยาธิ
 - D. ด้านหลังของพยาธิตัวใหม่ ภายหลังสัมผัสยาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบการบวมของผิวหนังที่ส่วนกลางตัว (star) และกลุ่มของตุ่มขนาดเล็ก (ลูกศร)
 - E. ด้านท้องของพยาธิภายหลังสัมผัสยา 30 ชั่วโมง แสดงการยุบตัวของกล้ามเนื้อรอบออร์ลซักรเกอร์ (Os, star) และมีขุยปกคลุม ผิวได้ เวนทริลซักรเกอร์ (Vs) ลงมาบวมและพบกลุ่มของตุ่มขนาดเล็ก (ลูกศร)
 - F. ภาพขยายรูปที่ 22E. ส่วนหัวของพยาธิ แสดงการยุบตัวของกล้ามเนื้อรอบออร์ลซักรเกอร์ (Os, star) เวนทริลซักรเกอร์ (Vs)
 - G. ส่วนหัวของพยาธิตัวใหม่ ภายหลังสัมผัสยาเป็นเวลา 30 ชั่วโมง แสดงการบวมของผิวหนังโดยรอบออร์ลซักรเกอร์และปกคลุมด้วยตุ่มจำนวนมาก (star) เวนทริลซักรเกอร์ (Vs)
 - H. ด้านหลังของพยาธิที่ส่วนกลางตัว ภายหลังสัมผัสยา 30 ชั่วโมงแสดงการบวมของผิวหนังทั่วตัว (star)
 - I. ภาพขยายรูปที่ 22H. แสดงการบวมของส่วนสัน (Rd)

รูปที่ 23 พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังจากสัมผัสยา tetrahydroxystilbene 200 $\mu\text{g/ml}$ เป็นเวลา 36 ชั่วโมง โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด



รูปที่ 23 พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังสัมผัสยา tetrahydroxystilbene 200 µg/ml เป็นเวลา 36 ชั่วโมง

- A. ด้านท้องของพยาธิส่วนหัว แสดงการบวมของผิวหนังและกลุ่มของตุ่มขนาดเล็ก (ลูกศร) ที่กล้ำเนื้อรอบ ออร์ลซั๊กเกอร์ (Os) และพบหย่อมลอกหลุดของชั้นผิวหนัง (star) ที่บริเวณใต้ ออร์ล ซั๊กเกอร์และรอบๆ เวนทริลซั๊กเกอร์ (Vs)
- B. ด้านท้องของพยาธิส่วนหางแสดงการบวมของผิวหนังและหย่อมลอกหลุดของชั้นผิวหนังที่ด้านข้างตัว (ลูกศร)
- C. ด้านท้องของพยาธิตัวใหม่แสดงรูปร่างที่ผิดปกติไปจากปกติ ออร์ลซั๊กเกอร์ (Os) เวนทริลซั๊กเกอร์ (Vs)
- D. ภาพขยายรูปที่ 23C. ส่วนหัวของพยาธิ พบการบวมของกล้ำเนื้อ (ลูกศร) รอบออร์ล ซั๊กเกอร์ (Os) และหย่อมของชั้นผิวหนังที่ลอกหลุด (star)
- E. ด้านท้องของพยาธิตัวใหม่ แสดงการบวมและพบกลุ่มของตุ่มร่วมกับขุย (star) ที่กล้ำเนื้อรอบ ออร์ล ซั๊กเกอร์ (Os) ที่ส่วนหางของพยาธิพบการยุบตัวของผนังลำตัว เวนทริลซั๊กเกอร์ (Vs)
- F. ภาพขยายรูปที่ 23E. ส่วนหัวของพยาธิ แสดงการบวมร่วมกับการมีตุ่มขนาดเล็กและขุยจำนวนมากที่ กล้ำเนื้อรอบออร์ล ซั๊กเกอร์ (Os, star) เวนทริล ซั๊กเกอร์ (Vs)
- G. ภาพขยายรูปที่ 23E. ส่วนหางของพยาธิ แสดงการยุบตัวของโครงสร้างผนังตัว ลูกศรชี้การบวมของชั้น ผิวส่วนกลางตัว
- H.และ I. ด้านหลังของพยาธิ แสดงการลอกหลุดของชั้นผิวหนังที่ส่วนหางเป็นบริเวณกว้าง ผิวบริเวณขอบที่ลอกหลุด บวมและพบขุยปกคลุมบางแห่ง (ลูกศร) ออร์ล ซั๊กเกอร์ (Os)

4.3.3. Tetrahydroxystilbene 400 µg/ml

ภายหลังจากพยาธิสัมผัสยา TTS ที่ความเข้มข้น 400 µg/ml ที่ระยะเวลา 6 , 12, 18, 24, 30, และ 36 ชั่วโมง พบการเปลี่ยนแปลงที่ชั้นผิวหนังด้านท้อง (ventral) และด้านหลัง (dorsal) ดังนี้

6 ชั่วโมง

พบการบวมของผิวหนังและมีตุ่มขนาดเล็กกระจายห่างๆ ที่ส่วนหัวของพยาธิ (รูปที่ 24A.) ผิวที่ด้านท้องของพยาธิบริเวณใต้ ventral sucker ถึงส่วนหางโดยเฉพาะในแนวแกนกลางตัวพบการบวมของสันและตุ่มขนาดเล็กกระจายห่างๆ (รูปที่ 24B.)

ด้านหลังของพยาธิพบการบวมของสันที่ส่วนหัวพร้อมกับตุ่มขนาดเล็กกระจายห่างๆ ที่กลางตัว (รูปที่ 24C.,D.) บางตัวมีการลอกหลุดของชั้นผิวหนังเป็นหย่อมเล็กๆ ที่ส่วนหัวถึงกลางตัว (รูปที่ 24E.)

12 ชั่วโมง

ผิวที่ส่วนหัวของพยาธิบวมและพบตุ่มหนาแน่นขึ้น โดยเฉพาะบริเวณรอบ oral sucker บางตัวพบหย่อมผิวหนังลอกเป็นบริเวณเล็กๆ โดยรอบ oral sucker ชั้นผิวหนังใต้ ventral sucker ลงมาพบการบวมของสันและพบตุ่มขนาดเล็กหนาแน่นขึ้นกระจายอยู่ทั่วตัว โดยเฉพาะที่ส่วนหัวถึงกลางตัวพยาธิ (รูปที่ 24F.,G.) พยาธิบางตัวมีรูปร่างบิดเบี้ยว

ด้านหลังของพยาธิโดยเฉพาะที่ส่วนกลางตัวถึงส่วนหาง พบการบวม มีการเชื่อมกันของผิวหนังบางส่วนและพบตุ่มขนาดเล็กร่วมกับรูทะลุชั้นผิวหนังกระจายอยู่ห่างๆ (รูปที่ 24H.,I.)

18 ชั่วโมง

ด้านท้องของพยาธิพบการบวมของกล้ามเนื้อรอบ oral sucker ผิวบวมและพบตุ่มมากขึ้นร่วมกับการแตกของตุ่มและหย่อมผิวหนังลอกเป็นบริเวณกว้างกระจายทั่วตัว (รูปที่ 25C.,D.) และพบการลอกของชั้นผิวหนังเป็นบริเวณกว้างมองเห็นชั้นกล้ามเนื้อด้านล่างที่บริเวณด้านข้างตัวในพยาธิ 1 ตัว ผิวบริเวณขอบวิกร บวมและพบตุ่มขนาดเล็กจำนวนมาก (รูปที่ 25A.,B.) และพบการยุบตัวของโครงสร้างผนังลำตัวส่วนหัวและส่วนหางในพยาธิ 1 ตัว

ชั้นผิวหนังที่ด้านหลังของพยาธิมีการบวมที่รุนแรงมากขึ้นและมีตุ่มขนาดเล็กจำนวนมากกระจายทั่วทั้งตัว สลับกับรูที่ชั้นผิวหนัง (รูปที่ 25 E.,F.)

24 ชั่วโมง

ผิวที่ส่วนหัวของพยาธิบวมมาก กล้ามเนื้อส่วน ventral sucker ขยายและยุบตัวลง ชั้นผิวหนังด้านท้องของพยาธิบวมและมีตุ่มขนาดเล็กจำนวนมากพร้อมกับขุยที่เกิดจากการแตกของตุ่มปกคลุมทั่วทั้งตัว (รูปที่ 25 G.)

ด้านหลังของพยาธิพบการบวมและการเชื่อมกันของสัน และมีการลอกหลุดของชั้นผิวหนังเป็นบริเวณกว้าง โดยเฉพาะที่ส่วนหัวของพยาธิ (รูปที่ 25H.) พยาธิบางตัวมีรูปร่างที่บิดเบี้ยว (รูปที่ 25I.)

30 ชั่วโมง

พบการบิดเบี้ยวผิดปกติรูปร่างของพยาธิจำนวนมากภายหลังสัมผัสยา 30 ชั่วโมง (รูปที่ 26A.,D.) ผิวด้านท้องของพยาธิบวมมากขึ้น โดยเฉพาะบริเวณรอบ ventral sucker (รูปที่ 26B.) มีการลอกหลุดเป็นบริเวณกว้าง และมีการยกตัวของชั้นผิวที่ส่วนกลางตัวและที่หาง (รูปที่ 26A.,E.,F.) ส่วนหัวของพยาธิบวมและมีการยุบตัวของโครงสร้างผนังลำตัวที่ส่วนกลางตัว (รูปที่ 26A.) ที่ส่วนหางมีการลอกหลุดของชั้นผิวร่วมกับการยุบตัวของโครงสร้างผนังลำตัวส่วนหางในพยาธิ 1 ตัว (รูปที่ 26C.)

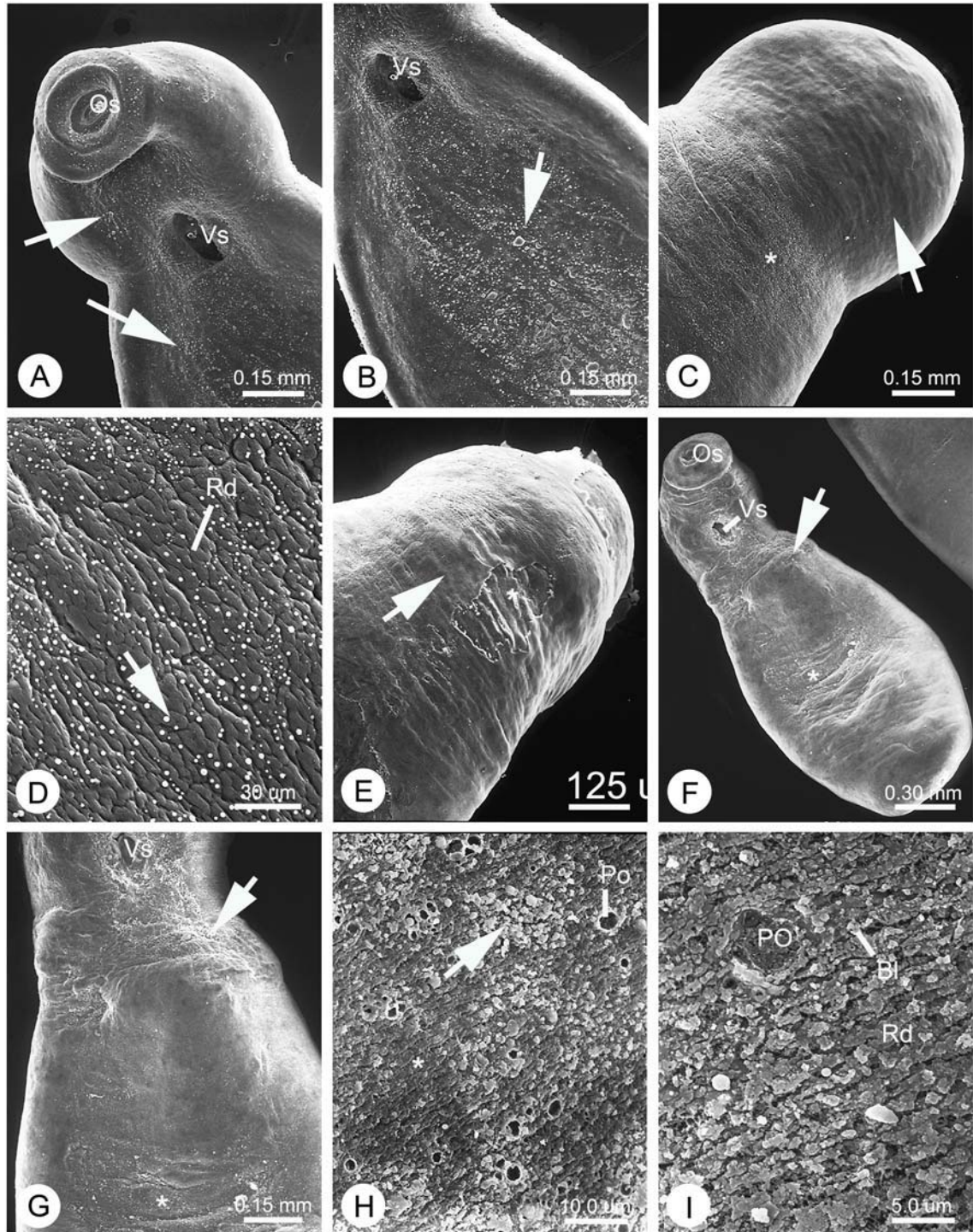
ด้านหลังของพยาธิพบการบวมที่รุนแรงมากขึ้น สลับกับหย่อมที่พบการเชื่อมกันของผิวส่วนบน (รูปที่ 26G.) และพบตุ่มขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วตัวร่วมกับการแตกของตุ่มและมีขุยปกคลุมทั้งตัว (รูปที่ 26H.,I.)

36 ชั่วโมง

พยาธิส่วนใหญ่มีรูปร่างที่บิดเบี้ยวและมีการลอกของชั้นผิวเป็นบริเวณกว้างทั่วทั้งตัว (รูปที่ 27A.) ส่วนกลัมนี้ออกรอบ oral sucker และ ventral sucker พบตุ่มขนาดเล็ก ตุ่มบางอันแตกร่วมกับหย่อมที่ผิวลอกหลุด (รูปที่ 27B.,C.) ที่ด้านท้องของพยาธิ ชั้นผนังลำตัวตั้งแต่ได้ ventral sucker ลงมา ยุบตัวลง และมีการลอกของผิวเป็นบริเวณกว้าง (รูปที่ 27A.)

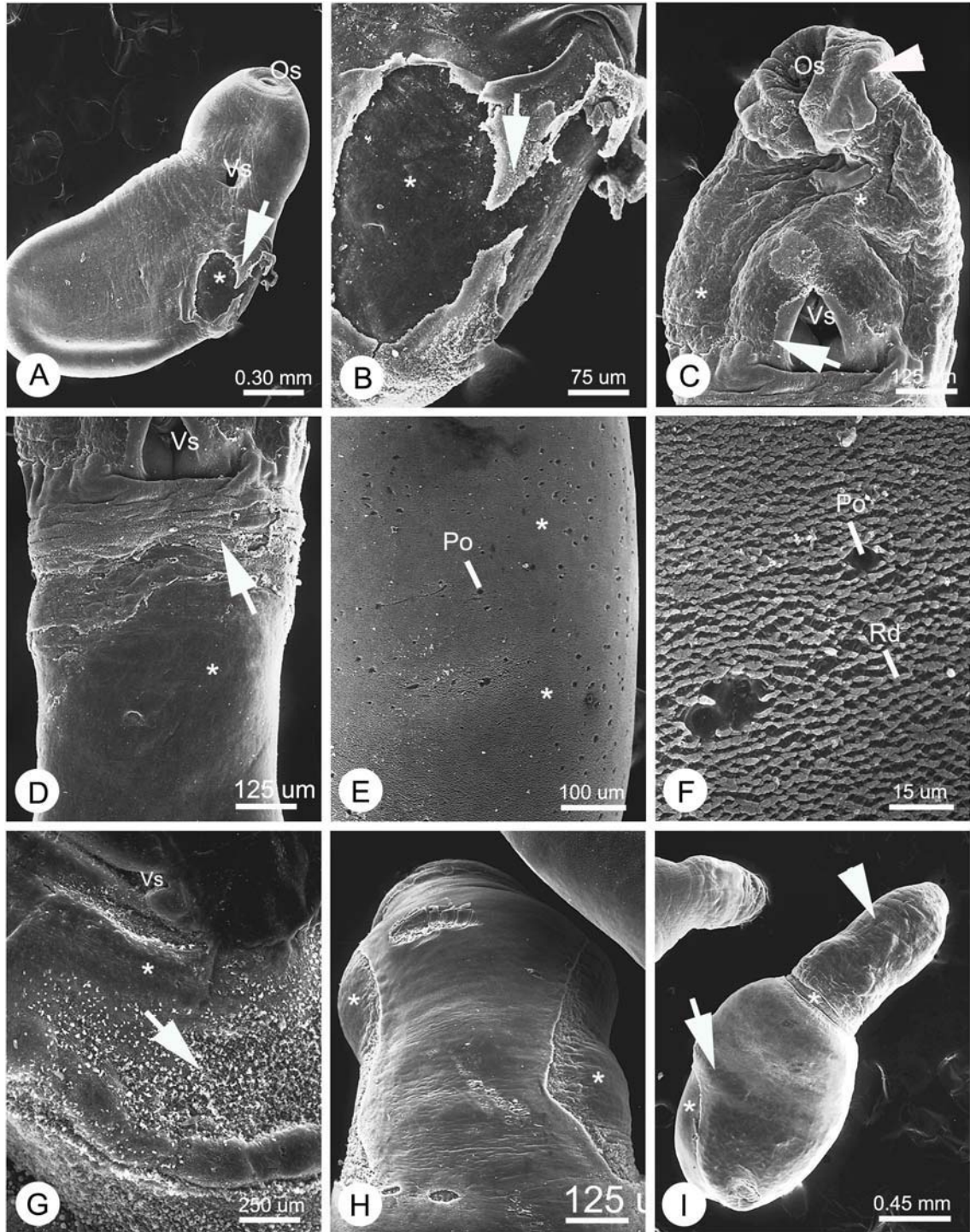
ด้านหลังของพยาธิพบการยุบตัวของโครงสร้างลำตัวส่วนหัว และพบการลอกหลุดของผิวที่ส่วนหัวของพยาธิทั้งหมด และหย่อมที่ส่วนหาง (รูปที่ 27D.,E.F.) ผิวส่วนที่เหลือบวมและปกคลุมด้วยตุ่มขนาดเล็กจำนวนมาก (รูปที่ 27F.)

รูปที่ 24 พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังจากสัมผัสยา tetrahydroxystilbene 400 $\mu\text{g/ml}$ เป็นเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด



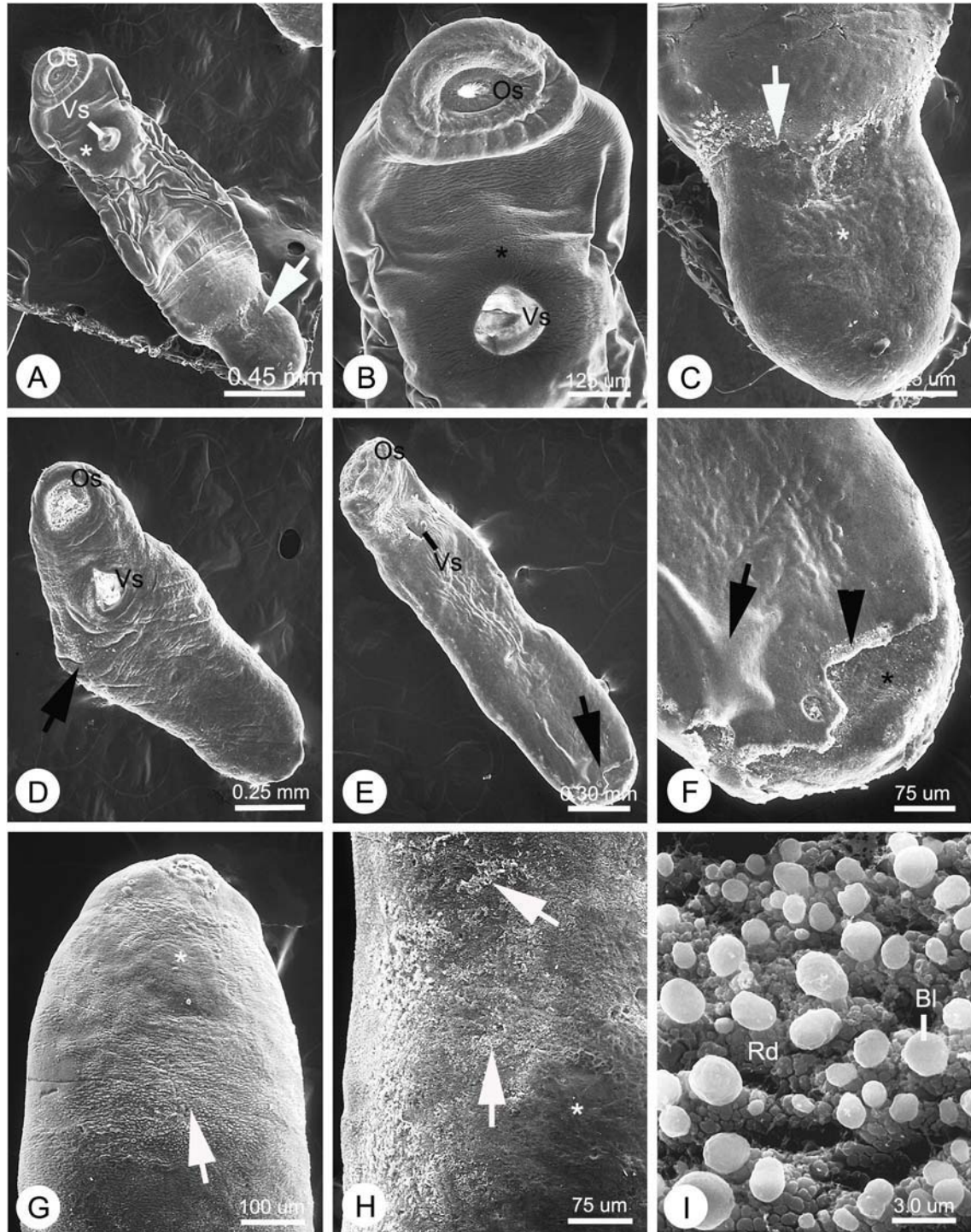
- รูปที่ 24** พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังจากสัมผัสยา tetrahydroxystilbene 400 µg/ml เป็นเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง
- A. ด้านท้องของพยาธิภายหลังสัมผัสยา 6 ชั่วโมงแสดงการบวมและตุ่มขนาดเล็กกระจายทั่วทั้งตัว ลูกศรชี้ที่ผิวหนังโดยรอบออร์ลซึกเกอร์ (Os) และ เวเนทริลซึกเกอร์ (Vs)
 - B. ด้านท้องของพยาธิส่วนกลางตัวภายหลังสัมผัสยา 6 ชั่วโมง แสดงการบวมและตุ่มขนาดเล็ก (ลูกศร)
 - C. ด้านหลังของพยาธิหลังสัมผัสยา 6 ชั่วโมง แสดงการบวมของผิวหนังที่ส่วนหัว (ลูกศร) และการบวมร่วมกับพบตุ่มขนาดเล็กที่ส่วนกลางตัวพยาธิ (star)
 - D. ภาพขยาย รูปที่ 24C. แสดงการบวมของสัน (Rd) และพบตุ่มขนาดเล็ก (ลูกศร)
 - E. ด้านหลังของพยาธิหลังสัมผัสยา 6 ชั่วโมง ที่ส่วนหัวแสดงหย่อมที่ขึ้นผิวหนังลอกหลุดมองเห็นชั้นกล้ามเนื้อข้างใต้ (star) ผิวที่อยู่รอบบวม (ลูกศร)
 - F. ด้านท้องของพยาธิภายหลังสัมผัสยา 12 ชั่วโมง แสดงการลอกหลุดของชั้นผิวหนังเป็นหย่อมที่ส่วนกลางตัวก่อนไปทางส่วนหางของพยาธิ (star) ผิวบริเวณใต้ เวเนทริล ซึกเกอร์ (Vs) บวมและนูนขึ้นเป็นลอน (ลูกศร)
 - G. ภาพขยาย รูปที่ 24F. แสดงการบวมของผิวหนังเป็นลอนและพบตุ่มขนาดต่างๆ กัน (ลูกศร) ที่ใต้เวเนทริล ซึกเกอร์ (Vs) ลงมา
 - H. และ I. ด้านหลังของพยาธิภายหลังสัมผัสยา 12 ชั่วโมงแสดงการบวมของสัน (Rd) กลุ่มของตุ่มขนาดเล็กบนสัน (BI) และรูทะลุที่ขึ้นผิวหนัง (Po)

รูปที่ 25 พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังจากสัมผัสยา tetrahydroxystilbene 400 $\mu\text{g/ml}$ เป็นเวลา 18 และ 24 ชั่วโมง โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด



- รูปที่ 25** พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังสัมผัสยา tetrahydroxystilbene 400 µg/ml เป็นเวลา 18 และ 24 ชั่วโมง
- A. และ B. ด้านท้องของพยาธิ ภายหลังสัมผัสยาเป็นเวลา 18 ชั่วโมง แสดงการลอกหลุดของผิวหนังเป็นหย่อมขนาดใหญ่ที่ส่วนกลางตัว (star) ผิวส่วนที่อยู่รอบหย่อมที่ลอกหลุดบวม (ลูกศร) ออร์ัลซัคเกอร์ (Os) เวนทริลซัคเกอร์ (Vs)
- C. ส่วนหัวของพยาธิตัวใหม่ ภายหลังสัมผัสยาเป็นเวลา 18 ชั่วโมง พบการบวมของกล้ามเนื้อโดยรอบออร์ัลซัคเกอร์ (Os, หัวลูกศร) ผิวใต้ออร์ัลซัคเกอร์ลงมาลอกหลุดเป็นบริเวณกว้าง (star) ผิวส่วนที่เหลือบวม (ลูกศร) เวนทริลซัคเกอร์ (Vs)
- D. ส่วนกลางตัวของพยาธิในรูปที่ 25C. แสดงการลอกหลุดของชั้นผิวหนังเห็นชั้นกล้ามเนื้อข้างล่างเป็นบริเวณกว้าง (star) ชั้นผิวหนังที่เหลือบวมและมีตุ่มจำนวนมาก (ลูกศร) เวนทริลซัคเกอร์ (Vs)
- E. ด้านหลังส่วนกลางตัว ของพยาธิ ภายหลังสัมผัสยาเป็นเวลา 18 ชั่วโมง พบการบวมของผิวหนัง (star) สลับกับการพบรูทะลุชั้นผิวหนังทั่วทั้งตัว (Po)
- F. ภาพขยายรูปที่ 25E. แสดงการบวมของส่วนสัน (Rd) และ รูทะลุชั้นผิวหนัง (Po)
- G. ภาพขยายส่วนหัวของพยาธิบริเวณ เวนทริลซัคเกอร์ (Vs) ภายหลังสัมผัสยาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แสดงการบวมของกล้ามเนื้อโดยรอบ (star) ร่วมกับพบตุ่มขนาดเล็กและขุยปกคลุม (ลูกศร)
- H. ด้านหลังของพยาธิที่ส่วนหัว ภายหลังสัมผัสยา 24 ชั่วโมงแสดงการบวมของผิวหนัง และหย่อมผิวหนังลอกหลุด (star)
- I. ด้านหลังของพยาธิตัวใหม่ภายหลังสัมผัสยา 24 ชั่วโมง แสดงการบวมของผิวหนังที่ส่วนหัว (หัวลูกศร) ส่วนกลางตัว (ลูกศร) และบริเวณที่ผิวหนังลอกหลุด (star)

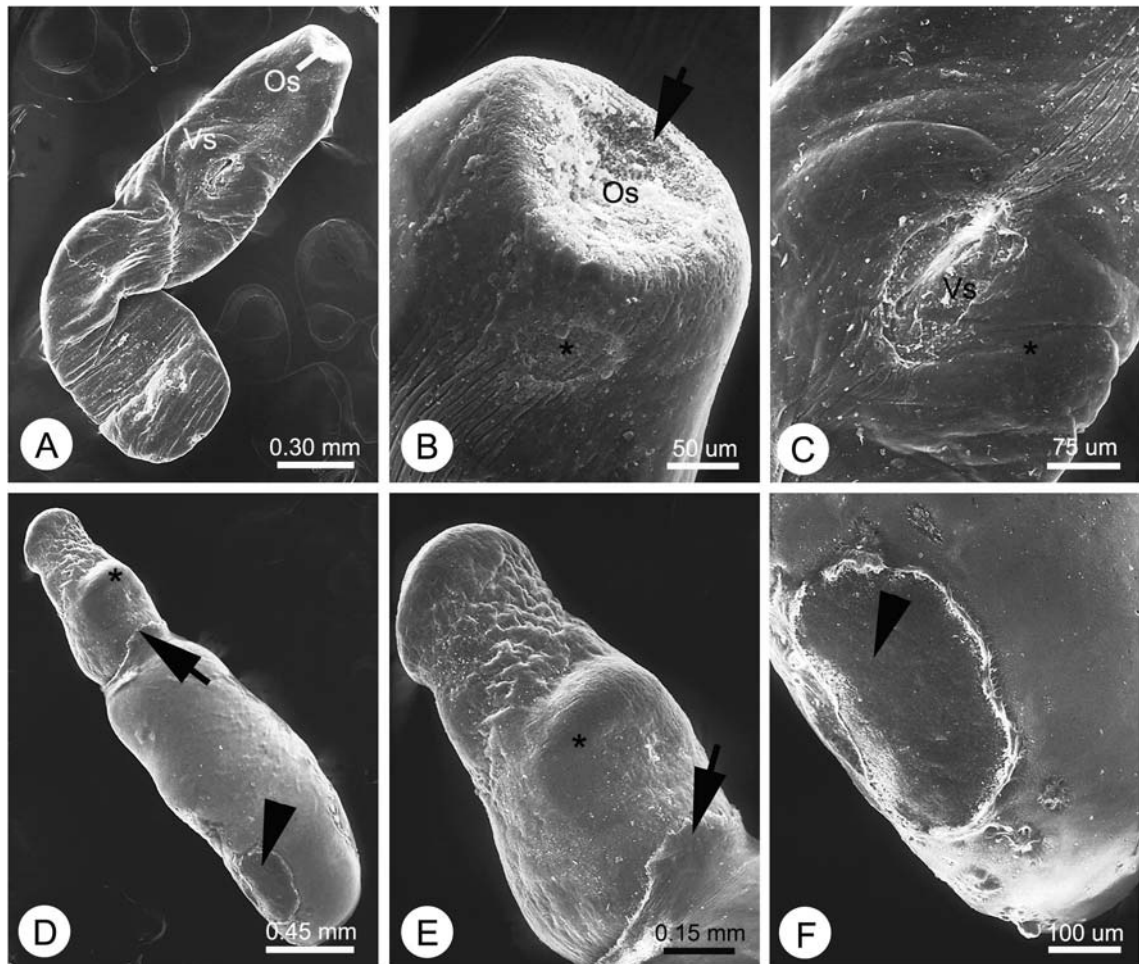
รูปที่ 26 พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังจากสัมผัสยา tetrahydroxystilbene 400 $\mu\text{g/ml}$ เป็นเวลา 30 ชั่วโมง
โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด



รูปที่ 26 พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังสัมผัสยา tetrahydroxystilbene 400 µg/ml เป็นเวลา 30 ชั่วโมง

- A. ด้านท้องของพยาธิ แสดงการบวมของผิวหนังบริเวณ โดยรอบ เวนทรีล ชักเกอร์ (Vs, star) และการลอกหลุดของชั้นผิวหนังที่ส่วนหางร่วมกับการยุบตัวของผนังลำตัวของส่วนนี้ (ลูกศร) ออร์ลชักเกอร์ (Os)
- B. ภาพขยายรูปที่ 26A. ส่วนหัวของพยาธิ แสดงการบวมของผิวหนังรอบเวนทรีล ชักเกอร์ (Vs, star) ออร์ลชักเกอร์ (Os)
- C. ภาพขยายรูปที่ 26A. ส่วนหางของพยาธิ แสดงการลอกหลุดของชั้นผิวหนังร่วมกับการยุบตัวของผนังลำตัว (star) ชั้นผิวหนังที่ยังเหลืออยู่บวมและพบตุ่มขนาดเล็กจำนวนมาก (ลูกศร)
- D. ด้านท้องของพยาธิตัวใหม่ แสดงการของผนังตัวด้านข้าง (ลูกศร) ออร์ล ชักเกอร์ (Os) เวนทรีล ชักเกอร์ (Vs)
- E. และ F. ด้านท้องของพยาธิตัวใหม่ แสดงการลอกหลุดของชั้นผิวหนังที่ส่วนหาง (star) ผิวส่วนขอบของหย่อมที่ลอกหลุดบวมและยกตัวขึ้น (ลูกศร) ผิวบางแห่งบวมร่วมกับพบตุ่มขนาดเล็ก (หัวลูกศร) ออร์ล ชักเกอร์ (Os) เวนทรีลชักเกอร์ (Vs)
- G. ด้านหลังของพยาธิส่วนหัว แสดงการบวมร่วมกับการมีตุ่มขนาดเล็ก (ลูกศร) และพบการเชื่อมกันของส่วนสันเป็นหย่อม (star)
- H. ด้านหลังของพยาธิส่วนกลางตัว แสดงการบวมร่วมกับพบขุย (ลูกศร) กระจายทั่วทั้งตัว สลับกับหย่อมที่มีการเชื่อมกันของส่วนสัน (star)
- I. ภาพขยายรูปที่ 26H. แสดงการบวมของส่วนสัน (Rd) และตุ่มขนาดเล็กบนสัน (Bl)

รูปที่ 27 พยาธิ *C. piscidium* ภายหลังจากสัมผัสยา tetrahydroxystilbene 400 $\mu\text{g/ml}$ เป็นเวลา 36 ชั่วโมง โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด



- A. ด้านท้องของพยาธิ แสดงรูปร่างที่บิดเบี้ยวผิดปกติจากปกติ เว้นท์รัล ซักเกอร์ (Vs) ออร์ัลซักเกอร์ (Os)
- B. ภาพขยายรูปที่ 27A. ส่วนหัวของพยาธิ แสดงการบวมและขยุБКคลุมที่กล้ามเนื้อโดยรอบ ออร์ัลซักเกอร์ (Os, ลูกศร) และหย่อมที่ผิวหนังหลุด ครอบซักเกอร์ (star)
- C. ภาพขยายรูปที่ 27A. ส่วนเว้นท์รัล ซักเกอร์ (Vs) แสดงการบวมของกล้ามเนื้อโดยรอบ (star)
- D., E., และ F. ด้านหลังของพยาธิ แสดงรูปร่างที่ผิดปกติจากปกติ ผนวตัวส่วนหัวบวมเป็นลอน (star) ผิวที่ปกคลุมส่วนนี้หลุดลอกออกไปทั้งหมด ลูกศรชี้ผิวหนังส่วนที่ยังเหลืออยู่ที่ส่วนกลางตัว ส่วนหางพบหย่อมที่ผิวหนังหลุดลอกไป มองเห็นชั้นกล้ามเนื้อข้างล่าง (หัวลูกศร)

7. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาในครั้งนี้ได้สุ่มเก็บตัวอย่างปลาสดจากบ่อเลี้ยงในจังหวัดสมุทรสาคร และจังหวัดราชบุรี และพบว่าปลาส่วนใหญ่ติดพยาธิ สุขภาพทรุดโทรม แคระแกรน น้ำหนักตัวลดลง ส่งผลให้เกษตรกรผู้เลี้ยงสูญเสียรายได้และเป็นมาเวลายาวนานแล้ว แต่จากการศึกษาข้อมูลย้อนหลังยังไม่พบการรายงานการเกิดโรคนี้อย่างเป็นทางการ ปลาที่ติดพยาธิพบในช่วงอายุประมาณ 6 เดือนขึ้นไป โดยปลาดังกล่าวมีขนาดตัวเล็ก น้ำหนักตัวลดลงจากตัวที่ไม่ติดพยาธิอย่างเห็นได้ชัด และจำนวนของพยาธิที่พบมีความสัมพันธ์กับน้ำหนักตัวปลา ปลาที่มีจำนวนพยาธิมากจะมีน้ำหนักตัวน้อยกว่าตัวที่มีพยาธิจำนวนน้อย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Chareonpornsook (1985) ที่รายงานการพบพยาธิในช่องท้องปลาสด โดยที่ปลาเพศเมียจะมีจำนวนพยาธิที่มากกว่าเพศผู้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และปลาที่มีจำนวนพยาธิมากกว่า 10 ตัวขึ้นไป จะมีน้ำหนักตัวต่างจากตัวที่ไม่มีพยาธิอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตำแหน่งที่พบพยาธิคือในช่องท้องของปลาโดยพยาธิเกาะติดในส่วนไขมันที่อยู่รอบลำไส้เล็ก และที่ผิวหนังของอวัยวะในช่องท้องและเมื่อนำมาศึกษาโดยย้อมด้วยสี semichon carmine และศึกษาโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดสามารถจำแนกได้ว่าเป็นชนิด *Clinostomum piscidium* ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Chareonpornsook (1985) โดยใช้หลักการจำแนกตาม Southwell & Prasad, 1918 แต่ต่างจากการจำแนกของ สิริกาญจน (2546) ที่จำแนกพยาธิชนิดนี้เป็น *C. philippinensis* และจากรายงานของ Yooyen, et al (2006) ที่รายงานการพบ *C. philippinensis* ที่เหงือกของ *Trichogaster microlepis*

พยาธิในระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยไม่มีความแตกต่างกันเมื่อดูจากลักษณะภายนอก เพียงแต่ตัวเต็มวัยจะมีการพัฒนาและทำหน้าที่ของอวัยวะสืบพันธุ์โดยสมบูรณ์ (สิริกาญจน, 2546)

ในปัจจุบันการรักษายังไม่มียาที่มีประสิทธิภาพ การรักษาโรคพยาธิในปลาจึงมักใช้สารเคมีเช่นฟอร์มาลิน ซึ่งมีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตอื่นที่อยู่ในระบบนิเวศเดียวกันและอาจทำให้เกิดปัญหาสารเคมีตกค้างในสิ่งแวดล้อมได้ จึงมีความพยายามที่จะพัฒนายาที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดพยาธิ เสียค่าใช้จ่ายน้อยและไม่ก่อให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้เลือกสารประกอบที่ได้จากพืชคือ artesunate (ATS) จากต้นชิงเขา ที่มีสรรพคุณในการรักษาโรคมalaria และได้มีการทดลองใช้กับพยาธิใบไม้หลายชนิดพบว่าให้ผลเป็นที่น่าพอใจ และ crude extract จากต้นมะหาด (*Artocarpus lakoocha*) ที่มีสารออกฤทธิ์ 2,4,3',5'-tetrahydroxystilbene (TTS) อยู่ร้อยละ 70 ซึ่งใช้ในการกำจัดพยาธิทั้งตัวติดและตัวกลมกันมานานแล้ว

ผลของยา ATS ต่อการเคลื่อนไหวของพยาธิ *C. piscidium* ในหลอดทดลอง พบว่าเมื่อพยาธิสัมผัสยาความเข้มข้น 25 µg/ml พยาธิยังคงเคลื่อนไหวได้อย่างปกติหลังจากสัมผัสยา และร้อยละ 50 ของพยาธิมีการเคลื่อนไหวที่ช้าลงหลังสัมผัสยา 12 ชั่วโมง หลังจากสัมผัสยา 18 ชั่วโมงพยาธิทุกตัวมีการเคลื่อนไหวช้าลง และร้อยละ 55 ของพยาธิเคลื่อนไหวเพียงบางส่วนของร่างกายเมื่อสัมผัสยา 24 ชั่วโมง เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าร้อยละ 60 ของพยาธิหยุดการเคลื่อนไหว เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของยา

เป็น 50 µg/ml พบว่าร้อยละ 60 ของพยาธิเคลื่อนไหวจ้ำลงภายในเวลา 12 ชั่วโมงหลังจากสัมผัสยาและเมื่อสัมผัสยานาน 24 ชั่วโมงพบว่าพยาธิร้อยละ 15 หยุดการเคลื่อนไหวก่อนและในจำนวนนี้พยาธิร้อยละ 5 ตาย และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบพยาธิตายเพิ่มขึ้นเป็น 10% และเมื่อสัมผัสยา ATS ความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้คือ 100 µg/ml พบว่าพยาธิร้อยละ 50 เคลื่อนไหวก่อนสัมผัสยาเพียง 6 ชั่วโมง และพบพยาธิร้อยละ 30 หยุดการเคลื่อนไหวก่อนและร้อยละ 5 ตายหลังจากสัมผัสยา 24 ชั่วโมง เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าร้อยละ 90 ของพยาธิหยุดการเคลื่อนไหวก่อนและตายเป็นจำนวนร้อยละ 5 เมื่อพิจารณาค่า RM (ตารางที่ 6) ซึ่งเป็นค่าการเคลื่อนไหวก่อนของพยาธิกลุ่มที่สัมผัสยาเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่สัมผัสอาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียวในช่วงเวลาเดียวกัน จะเห็นได้ว่าค่า RM จะค่อยๆ ลดลงเมื่อระยะเวลาที่พยาธิสัมผัสยานานขึ้น หรือเมื่อความเข้มข้นของยาเพิ่มมากขึ้น ค่า RM ของพยาธิในกลุ่มนี้มีค่าระหว่าง 96.25 – 32.81 โดยค่า RM ที่น้อยสุดเป็นของกลุ่มที่สัมผัสยา ATS ความเข้มข้นสูงสุดในการศึกษาครั้งนี้และเป็นช่วงเวลานานที่สุด ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาในพยาธิใบไม้ตับ *Fasciola gigantica* (Tansatit, 2006) เมื่อพยาธิตัวอ่อนสัมผัสยา artesunate ความเข้มข้นระหว่าง 20-80 µg/ml ค่า RM ที่น้อยที่สุดคือ 60 เป็นของพยาธิที่สัมผัสยาความเข้มข้น 80 µg/ml เป็นเวลา 24 ชั่วโมงซึ่งเป็นความเข้มข้นสูงสุดและระยะสัมผัสยานานที่สุดของการทดลอง และสอดคล้องกับการศึกษาในพยาธิ *F. hepatica* (Keiser and Morson, 2008) ที่รายงานว่าพยาธิเคลื่อนไหวก่อนสัมผัสยา ATS ความเข้มข้น 10 µg/ml เป็นเวลา 24 ชั่วโมงและตายภายใน 48 ชั่วโมง และในพยาธิใบไม้เลือดที่ทำให้เกิดโรคในโค-กระบือในประเทศไทย *Schistosoma mekongi* พบว่าพยาธิเคลื่อนไหวก่อนสัมผัสยา ATS ความเข้มข้น 40 µg/ml เป็นเวลา 12 ชั่วโมงและพบพยาธิตายใน 24 ชั่วโมง (Jiraungkoorskul et al, 2006)

การเคลื่อนไหวก่อนของพยาธิ *C. piscidium* ภายหลังจากสัมผัสยา TTS ที่ความเข้มข้นระหว่าง 100 – 400 µg/ml ให้ผลเหมือนกับพบในกลุ่มที่สัมผัสยา ATS แต่มีความรุนแรงน้อยกว่าโดยพยาธิร้อยละ 50 เคลื่อนไหวก่อนสัมผัสยาความเข้มข้น 100 µg/ml เป็นเวลา 18 ชั่วโมง และร้อยละ 50 ของพยาธิเคลื่อนไหวก่อนเพียงบางส่วนของร่างกาย และร้อยละ 10 หยุดการเคลื่อนไหวก่อนแต่ไม่ตายเมื่อสิ้นสุดการทดลอง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของยาเป็น 200 µg/ml พบว่าพยาธิทั้งหมดเคลื่อนไหวก่อนสัมผัสยาและพยาธิร้อยละ 25 เคลื่อนไหวก่อนเพียงบางส่วนของร่างกาย และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าพยาธิร้อยละ 65 เคลื่อนไหวก่อนเพียงบางส่วนของร่างกายและร้อยละ 5 หยุดการเคลื่อนไหวก่อนแต่ไม่ตาย เมื่อพยาธิสัมผัสยา TTS ความเข้มข้น 400 µg/ml ซึ่งเป็นความเข้มข้นสูงสุดในการวิจัยครั้งนี้ พบว่า ร้อยละ 40 ของพยาธิเคลื่อนไหวก่อนสัมผัสยา 6 ชั่วโมงและเพิ่มเป็น 90 เมื่อผ่านไป 12 ชั่วโมง พยาธิร้อยละ 20 หยุดการเคลื่อนไหวก่อนแต่ยังไม่ตายเมื่อเวลาผ่านไป 30 ชั่วโมงและเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า พยาธิร้อยละ 30 หยุดการเคลื่อนไหวก่อนและพบมีพยาธิตายร้อยละ 10 เมื่อพิจารณาค่า RM ของกลุ่มนี้พบว่ามีค่าระหว่าง 96.25 – 58.73 โดยที่ค่าน้อยสุดเป็นของกลุ่มที่สัมผัสยาความเข้มข้นมากที่สุดและระยะเวลานานที่สุด ผลที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาใน *F. gigantica* (Saowakon et al., 2009) เมื่อพยาธิตัวเต็มวัยสัมผัสยาความ

เข้มข้น 250-500 $\mu\text{g/ml}$ พบว่าพยาธิลดการเคลื่อนไหวภายหลังสัมผัสยา 12 ชั่วโมง และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของยา เป็น 750-1,000 $\mu\text{g/ml}$ พบว่าการเคลื่อนไหวลดลงอย่างรวดเร็วภายในเวลา 12 ชั่วโมง

การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของยาต่อพยาธิมักใช้การศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดเป็นเครื่องมือ เพราะทำให้เห็นการเปลี่ยนแปลงทั้งหมดในตัวพยาธิและสามารถระบุตำแหน่งของพยาธิสภาพบนตัวพยาธิได้

ผลของยา artesunate ต่อการเปลี่ยนแปลงชั้นผิวของพยาธิในหลอดทดลอง จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบการเปลี่ยนแปลงที่ชั้นผิวเป็นลำดับ โดยเริ่มแรกคือการบวมที่ชั้นผิวส่วนสัน และมีการเชื่อมกันของสันบางส่วนมองเห็นเป็นปื้น มีการลอกเป็นขุยของผิวชั้นบน จากนั้นจะพบตุ่มขนาดเล็กกระจายห่างๆ บนสันและมีปริมาณและขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อเวลาที่พยาธิสัมผัสยานานขึ้น ตุ่มที่บวมมากจะแตกในเวลาต่อมาและชั้นผิวทั้งหมดลอกหลุดมองเห็นชั้นกล้ำเนื้อข้างล่าง และท้ายสุดคือการที่โครงสร้างผนังตัวทั้งหมดยุบตัวลงโดยที่ความรุนแรงจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อพยาธิสัมผัสยาที่ความเข้มข้นมากขึ้นหรือระยะเวลาานขึ้น ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาในพยาธิใบไม้ตับ *F. gigantica* (Tansatit, 2006) เมื่อให้พยาธิระยะตัวอ่อน (3 อาทิตย์) สัมผัสยาความเข้มข้น 20 และ 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบการบวมและตุ่มที่ผิวหลังสัมผัสยา 3 และ 1 ชั่วโมงตามลำดับ และพบการลอกของชั้นผิวหลังสัมผัสยา 12 ชั่วโมงและมีความรุนแรงมากขึ้นในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง และพบว่าความรุนแรงพบที่ด้านท้องของพยาธิมากกว่าด้านหลัง และสอดคล้องกับผลที่พบในพยาธิใบไม้เลือด (*Jirauungskookskul et al*, 2006) เมื่อพยาธิสัมผัสยาความเข้มข้น 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบตุ่มขนาดเล็กที่เวลา 6 ชั่วโมงและมีจำนวนและขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อสัมผัสยานาน 12 ชั่วโมง และพบการลอกหลุดของชั้นผิวเป็นบริเวณกว้างเมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมง

เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่ากลไกในการออกฤทธิ์ของยาที่เป็นอนุพันธ์ของ artemisinin จะเกี่ยวเนื่องกับการทำปฏิกิริยาของโครงสร้าง endoperoxide bridge ของยากับ Fe^{2+} ได้ carbon-centered free radicals ขึ้นส่งผลให้เกิดขบวนการ alkylation ของโปรตีนของพยาธิ (Meshnick, 2002) จากการศึกษาของ Meshnick (1996) พบว่าอนุพันธ์ของยา artemisinin จะสะสมในผนังเซลล์ digestive vacuole membrane และ mitochondria ของ *Plasmodium spp.* ภายหลังจากพยาธิได้รับยา พยาธิในกลุ่มที่ดูดกินเลือดของ host เป็นอาหาร โดยเฉพาะ *Plasmodium spp.* พยาธิใบไม้เลือด (*Schistosoma spp.*) หรือพยาธิใบไม้ตับ (*Fasciola spp.*) จะเกิดการทำปฏิกิริยาของโครงสร้างยากับ Fe^{2+} ที่มีมากในตัวพยาธิและสิ่งขับถ่ายของพยาธิ นอกจากนี้ในชั้นผิวของพยาธิใบไม้ซึ่งมีลักษณะเฉพาะคือมีความหนาและเป็น syncytium ภายในมี mitochondria บรรจุอยู่เป็นจำนวนมาก (Sobhon et al., 2000) จึงเป็นบริเวณที่มีเกิดขบวนการ electron transport chain และมีการสะสมของ transition metals โดยเฉพาะธาตุเหล็ก (iron) และ ทองแดง (copper) จึงเป็นไปได้ว่ากลไกการออกฤทธิ์ของ artesunate ในพยาธิ *C. piscidium* ซึ่งไม่ได้ดูดกินเลือด host เป็นอาหารจะใช้การทำปฏิกิริยาของ Fe^{2+} ใน mitochondria กับ endoperoxide bridge ในโครงสร้างยาและเกิด toxic free radicals ที่ทำอันตรายต่อ macromolecules ของพยาธิ

นอกจากนี้ยังขัดขวางขบวนการ electron transport chain ส่งผลให้เซลล์ขาด ATP และขัดขวางขบวนการ metabolism ทั้งหมดของพยาธิจึงทำให้พยาธิลดการเคลื่อนไหวและทำให้เกิดพยาธิสภาพที่ชั้นผิวหนังกล่าว

การเปลี่ยนแปลงที่ชั้นผิวของ *C. piscidium* ภายหลังสัมผัสยา TTS มีการเปลี่ยนเป็นลำดับเหมือนกับที่พบในพยาธิกลุ่มสัมผัสยา ATS และสอดคล้องกับผลที่พบใน *F. gigantica* (Saowakon *et al.*, 2009) หลังจากที่ใช้พยาธิตัวเต็มวัยสัมผัสยา TTS ความเข้มข้น 250-1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบการเปลี่ยนแปลงที่ผิวหนังพยาธิเป็น 6 ขั้นตอนคือ swelling blebbing disruption erosion lesion และรุนแรงที่สุดคือ basal lamina disruption with spine dislodging และความรุนแรงเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของยา โดยกลไกการออกฤทธิ์ของยา 2,4,3',5'-tetrahydroxystilbene นั้นเกี่ยวข้องกับโครงสร้างทางเคมีของยาที่เหมือนกับยาฆ่าพยาธิกลุ่ม halogenated phenol group ซึ่งออกฤทธิ์โดยขัดขวางขบวนการ oxidative phosphorylation ของ mitochondria (Saowakon *et al.*, 2009) ทำให้เซลล์ขาด ATP และส่งผลให้พยาธิลดการเคลื่อนไหวและมีพยาธิสภาพที่ชั้นผิว

จากการศึกษาจึงสรุปได้ว่ายา ATS และ TTS มี target site ที่เดียวกันคือ mitochondria ที่ชั้นผิวของพยาธิ ส่งผลให้พยาธิขาด ATP นอกจากนี้ ATS ยังมีผลให้เกิด toxic free radicals ซึ่งทำอันตรายต่อเซลล์และเนื้อเยื่อชั้นของพยาธิร่วมด้วย เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพยาทั้ง 2 ชนิดโดยพิจารณาจากค่า RM ร่วมด้วยจะพบว่า ATS สามารถทำให้พยาธิลดการเคลื่อนไหวได้ดีกว่า TTS และยาทั้งสองชนิดทำให้เกิดพยาธิสภาพที่รุนแรงบนชั้นผิวของพยาธิ ดังนั้นจึงสามารถที่จะพัฒนาเป็นยาฆ่าพยาธิใบไม้ได้ต่อไปในอนาคต

8. เอกสารอ้างอิง

- บุญเจือ ธรณินทร์. เกษษวิทยา, ภาควิชาเกษตร คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล
มหาวิทยาลัยมหิดล, 2522.
- ประไพสิริ สิริกาญจน. ความรู้เรื่องปรสิตของสัตว์น้ำ, ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2546.
- Chareonpornsook K. *Clinostomum piscidium* (Southwell & Prashad, 1918) The digenetic
trematode in the body cavity of pla-salid (*Trichogaster pectoralis*, Regan, 1910).
[M.S. Thesis in Microbiology]. Faculty of Graduate Studies, Mahidol
University;1985.
- Charoenlarp P, Radomyos P, Harinasuta T. Treatment of taeniasis with puag-haad: A crude
extract of *Artocarpus lakoocha* wood. Southeast Asian J Trop Med Public Health
1981;12(4):568-70.
- Jiraungkoorskul W, Sahaphong S, Sobhon P, Riengrojpitak S, Kangwanrangsang N. Effects
of praziquantel and artesunate on the tegument of adult *Schistosoma mekongi*
harboured in mice. Parasitol. Inter. 2005; 54:177-183.
- Jiraungkoorskul W, Sahaphong S, Sobhon P, Riengrojpitak S, Kangwanrangsang N.
Schistosoma mekongi: The in vitro effect of praziquantel and artesunate on the
adult fluke. Experimental Parasitol 2006;113:16-23.
- Keiser J, Morson G. *Fasciola hepatica*: Tegumental alterations in adult flukes following *in vitro*
and *in vivo* administration of artesunate and artemether. Experimental
Parasitol 2008;118:228-37.
- Kiuchi F, Miyashita N, Tsuda Y, Kondo K, Yoshimura H. Studies on crude drugs effective
on visceral larva migrans. I. Identification of larvicidal principles in betel nuts.
Chemical and Pharmaceutical Bulletin 1987;35:2880-6.
- Klayman DC. Qinghaosu (artemisinin). Science 1985;228:1049-55.
- Laha T. Effects of artesunate on *Opisthorchis viverrini* in vitro and in vivo. [M.S.
Thesis in Parasitology]. Khon Khen:Faculty of Graduate Studies,Khon Khen

- University;1994.
- Li W, Mo W, Shen D, Sun L, Wang J, Lu S, et al. Yeast model uncovers dual roles of mitochondria in the action of artemisinin. *PloS Gen* 2005;1(3):329-34.
- Manmontri M. Report on the anthelmintic activity of Puak-Haad against tapeworm. *J Med Assoc Thailand* 1949;32(6):1-9.
- Meshnick SR, Taylor TE, Kamchonwongpaisan S. Artemisinin and the antimalarial endoperoxides: from herbal remedy to targeted chemotherapy. *Microbiol Rev* 1996;60(2):301-15.
- Meshnick SR. Artemisinin; mechanisms of action, resistance and toxicity. *Int J Parasitol* 2002;32:1655-60.
- Saowakon N, Tansatit T, Wanichanon C, Chanakul W, Reutrakul V, Sobhon P. *Fasciola gigantica*: Anthelmintic effect of the aqueous extract of *Artocarpus lakoocha*. *Experimental Parasitol* 2009;122:289-98.
- Sing RN. Studies on the morphology and life history of *Clinostomum piscidium* Southwell and Prashad, 1918 (Trematoda: Clinostomatidae). *Proc Nat Acad Sci India*. 959;29:12-33.
- Sobhon P, Dangprasert T, Chuanchaiyakul S, Meepool A, Khawsuk W, Wanichanon C, et al. *Fasciola gigantica*: Ultrastructure of the adult tegument. *Science Asia* 2000;26:137-48.
- Southwell T, Prashad B. Notes from the Bengal fisheries laboratory 5. Parasites of Indian fishes, with a note on carcinoma in the climbing perch. *Rec Ind Mus* 1918;15:341-55.
- Tansatit T. Pathogenesis of *Fasciola gigantica* infection in experimental animals and the effects of triclabendazole, praziquantel and artesunate on the tegument of parasites in vitro. [Ph.D. Thesis in Pathobiology]. Faculty of Graduate Studies, Mahidol University;2006.
- Wisutsoonthorn J, Sukprasert A, Aarekul S, et al. Formulation of some Thai folkoric

anthelmintic preparations. Seminar on Medicinal plants Development, Bangkok, Thailand, July 17-19,1985.

Yodhabandu C. A pharmacopoeial study on “Puag Haad” (2,4,3,5 tetrahydroxy stilbene). Special project for the degree of B.Sc. (Pharm), Chulalongkorn University, 1960.

Yooyen T, Wongsawad C, Kumchoo K, Chaiyapo M. A new record of *Clinostomum philippinensis* (Valasquez, 1959) in *Trichogaster microlepis* (GÜNTHER, 1861) from Bung Borapet, Nakhon Sawan, Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2006;37(suppl3):99-103.

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาในครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่จาก สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และได้รับความช่วยเหลือจาก คุณรามศ จินกระจัน และเกษตรกรผู้เลี้ยงปลาสดในจังหวัดสมุทรสาคร และ จังหวัดราชบุรีสำหรับการเก็บตัวอย่างปลาที่ติดพยาธิ

ภาคผนวก

ก. อาหารเลี้ยงพยาธิ M199

ส่วนประกอบ

1. Medium 199 (No. M5017, Sigma)	9.9 กรัม
2. NaHCO ₃	2.2 กรัม
3. Penicillin G. sodium	25.0 มิลลิกรัม
4. Streptomycin sulfate	40.0 ไมโครกรัม
5. น้ำกลั่น	1000.00 มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

ชั่ง M199 9.9 กรัม ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 700 มิลลิลิตร แล้วค่อยๆ เติม NaHCO₃ ลงไป ที่
ละน้อยจนครบ 2.2 กรัม เติมน้ำให้ครบ 1000 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เท่ากับ 7.2 แล้วจึงใส่ยาปฏิชีวนะลง
ไป ในการนำไปเลี้ยงพยาธิต้องผสมยา artesunate หรือ tetrahydroxystilbene ตามความเข้มข้นที่ใช้ใน
การทดลอง แล้วกรองผ่าน Millipore ขนาด 0.45 ไมโครเมตร

ข. Alcohol Formaline Acetic Acid) AFA

ส่วนประกอบ

1. 95% ethyl alcohol	50.0 มิลลิลิตร
2. Formaline 40%	10.0 มิลลิลิตร
3. Glacial Acetic Acid	5.0 มิลลิลิตร
4. น้ำกลั่น	45.0 มิลลิลิตร

วิธีเตรียม

ใส่ 95% ethyl alcohol ลงในน้ำกลั่น แล้วค่อยๆ เติม Formaline ลงไป คนให้เข้ากันแล้วเติม
Glacial Acetic Acid เก็บในขวดสีชา

ค. การเตรียมสี Carmine

ส่วนประกอบ

1. Semichon carmine	25.0 กรัม
2. Glacial Acetic Acid	25.0 มิลลิลิตร
3. Aluminum potassium sulfate	25 กรัม
4. น้ำกลั่น	1,000.00 มิลลิลิตร

5. Salicylic acid

1.0 กรัม

วิธีเตรียม

1. ละลาย carmine ในน้ำกลั่น 10.0 มิลลิลิตร แล้วเติม Glacial Acetic Acid 25 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที แล้วต้มให้เดือดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น
2. เติม Aluminum potassium sulfate ในน้ำกลั่น 500.00 มิลลิลิตร ละลายให้เข้ากันแล้วใส่ลงในสารละลายข้อ 1.
3. ต้มต่ออีก 1 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วกรองด้วยกระดาษกรอง
4. เติม Salicylic acid ละลายให้เข้ากัน

วิธีย้อม

1. คอสมีย้อมด้วย AFA เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 7 วัน
2. ล้างพยาศีด้วย 70% alcohol 2 ครั้ง
3. แช่พยาศีในสี carmine ประมาณ 10-12 ชั่วโมง
4. ปรับสีด้วย acid alcohol จนติดสีสวย
5. ผ่านขบวนการดึงน้ำจากตัวพยาศี clear ใน xylene
6. Mount พยาศีบนกระจกสไลด์ ด้วย permount ปิดด้วย coverslip