บทความวิชาการ : ปัจจัยที่ก่อให้เกิดความรุนแรงของการติดพยาธิปากขอ

ปิยนันท์ ทวีถาวรสวัสดิ์[1,*] นวรัตน์ สุริยคุณ[1] และสุดจิตต์ จุ่งพิวัฒน์[2]

[1] คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา 73170

[2] หน่วยปรสิตวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพ 10330

[*] ผู้รับผิดชอบบทความ โทรศัพท์ 02-4415242 ต่อ 1521 โทรสาร 02-4410773 E-mail: vsptw @yahoo.com

บทคัดย่อ

ความก้าวหน้าทางชีวโมเลกุลนำไปสู่การพบโมเลกุลใหม่ๆจากพยาธิปากขอ ซึ่งมีความสำคัญทั้งในด้านโมเลกุลพยาธิกำเนิดของการติดพยาธิปากขอ หรือ ในด้านความสัมพันธ์ระหว่างโฮสต์และปรสิต ซึ่งโมเลกุลบางชนิดมีแนวโน้มที่จะเป็นเป้าหมายของวัคซีน ปัจจัยที่ก่อให้เกิดความรุนแรงเริ่มต้นจากขั้นตอนที่ตัวอ่อนระยะติดต่อของพยาธิไชผ่านผิวหนังของโฮสต์ และจะหลั่งเอนไซม์ที่ช่วยในการย่อยสลายเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและผิวหนังของโฮสต์ เพื่อช่วยให้พยาธิเคลื่อนที่ผ่านชั้นผิวหนังได้ง่าย เมื่อตัวอ่อนพยาธิเคลื่อนที่ผ่านเข้ามาได้ในร่างกายของโฮสต์แล้ว จะเจริญเป็นตัวเต็มวัยที่ลำไส้เล็ก ตัวเต็มวัยพยาธิจะหลั่ง peptides ช่วยในการดูดเลือด ซึ่งเป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดที่พบใหม่ คือ serine protease inhibitor ซึ่งจะยับยั้ง ปัจจัยที่ 10 a และ 7a ในการตอบสนองภูมิคุ้มกันของโฮสต์ต่อพยาธิประกอบด้วย แอนติบอดีที่เกี่ยวข้องกับ Th2 ซึ่งประกอบด้วย IgG_1 IgG_4 และ IgE ไซโตไคน์ที่ผลิตจาก Th2 ซึ่งได้แก่ IL-4, IL-5 และ IL-13 จะส่งผลให้มีการพัฒนา IgE และระดับอีโอซิโนฟิลในเลือดสูงขึ้น ข้อมูลที่กล่าวมามีผลต่อการพัฒนาการผลิตวัคซีนพยาธิปากขออีกด้วย

คำสำคัญ : การติดพยาธิปากขอ ปัจจัยก่อความรุนแรง เอนไซม์ สารป้องกันการแข็งตัวของเลือด การตอบสนองภูมิคุ้มกัน

บทนำ

การติดพยาธิปากขอเป็นปัญหาหลักทางด้านสาธารณสุขของประชากรทั่วโลก โดยพบการแพร่ระบาดอย่างมากโดยเฉพาะในเด็ก จากการศึกษาอุบัติการณ์การติดโรคพยาธิปากขอพบว่าจำนวนของผู้ป่วย 1-2 พันล้านคน เป็นเด็กถึง 500 ล้านคน (de Silva *et al*., 2003; Jones and Cappello, 2004) ผลที่เกิดขึ้นจากโรคพยาธิปากขอทำให้เด็กขาดธาตุเหล็ก เจริญเติบโตช้า รวมถึงมีการพัฒนาการที่เชื่องช้าในด้านความรู้และความจำ (Lozoff *et al*., 1991; Harrison *et al*., 2001; Jones and Cappello, 2004) นอกจากนี้ตัวเต็มวัยของพยาธิปากขอที่อาศัยอยู่ในลำไส้เล็กของโฮสต์จะก่อปัญหาหลักคือทำให้เกิดโลหิตจางเนื่องจากขาดธาตุเหล็ก และปัญหารองคือ การสูญเสียเลือดเรื้อรังในระบบทางเดินอาหาร (Harrison *et al*., 2001) พยาธิปากขอที่พบว่ามีการแพร่ระบาดในคนได้แก่ *Ancylostoma duodenale* และ *Necator americanus* ส่วน *A. caninum* และ *A. ceylanicum* เป็นพยาธิปากขอที่พบว่ามีการระบาดในสุนัขและแมว แต่มีบางช่วงของวงจรชีวิตที่สามารถติดต่อสู่คนได้ (Prociv and Croese, 1996; Harrison *et al*, 2001) เมื่อพยาธิเข้าสู่ร่างกายของโฮสต์ พยาธิจะหลั่งเอนไซม์ และสารชนิดต่างๆ ซึ่งได้แก่ protease hyaluronidase anticoagulant secreted protein platelet inhibitor และ immunomodulator เพื่อช่วยในการย่อยสลายโปรตีนของโฮสต์มาเป็นสารอาหาร และเพื่อหลีกเลี่ยงการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของโฮสต์ รวมถึงทำให้พยาธิสามารถดำรงชีวิตอยู่ในลำไส้เล็กของโฮสต์ได้โดยสารทั้งหมดที่พยาธิหลั่งออกมาจะเป็นปัจจัยที่เสริมทำให้เกิดความรุนแรงของโรคต่อโฮสต์มากยิ่งขึ้น

วงจรชีวิตของพยาธิปากขอ

พยาธิปากขอในระยะตัวเต็มวัยจะผสมพันธุ์กันและตัวเมียจะออกไข่ปนมากับอุจจาระของโฮสต์ประมาณ 10,000 ฟอง/ตัว/วัน (Loukas *et al*., 2005) เมื่ออุณหภูมิและความชื้นเหมาะสมไข่จะฟักตัวเป็นตัวอ่อนระยะที่ 1 จากนั้นตัวอ่อนพยาธิจะมีการลอกคราบ 2 ครั้ง เป็นตัวอ่อนระยะที่ 3 ซึ่งเป็นระยะติดต่อภายใน 7 วัน ตัวอ่อนระยะติดต่อสามารถเข้าสู่โฮสต์ได้ 2 ทางคือ ทางผิวหนังและทางปาก ตัวอ่อนระยะติดต่อที่ไชผ่านผิวหนังเข้าโฮสต์แท้ (definitive hosts) ที่เป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จะเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิตไปยังหัวใจและหลอดเลือดฝอยของปอด จากนั้นตัวอ่อนจะเคลื่อนที่ผ่านไปตามหลอดลมขนาดเล็กๆ และไปยังหลอดลมขนาดใหญ่ จากนั้นเคลื่อนที่ไปยังฟาริงซ์และย้อนกลับเข้าสู่ระบบทางเดินอาหาร โดยจะเข้าสู่ลำไส้เล็กพร้อมกับลอกคราบครั้งสุดท้ายเพื่อเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยต่อไปส่วนตัวอ่อนระยะติดต่อที่เข้าสู่โฮสต์ทางปากจะไชผ่านผนังลำไส้เล็ก และจะอยู่บริเวณดังกล่าวเป็นระยะเวลาหนึ่งจึงกลับออกมาสู่ลำไส้เล็กกลายเป็นตัวเต็มวัยต่อไป ใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยในตัวโฮสต์ประมาณ 14-20 วัน (Harrison *et al*., 2001; Jones and Cappello, 2004)

สำหรับพยาธิ *A. caninum* ที่ติดต่อมายังคน หากเกิดโดยการที่ตัวอ่อนระยะที่ 3 ไชผ่านผิวหนังตัวอ่อนจะไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยได้ แต่ถ้าโฮสต์ติดพยาธิโดยการกินอาหารที่มีการปนเปื้อนตัวอ่อนระยะที่ 3 ของพยาธิ ตัวอ่อนจะมีโอกาสที่จะพัฒนาไปเป็นพยาธิตัวเต็มวัยได้แต่จะไม่มีการออกไข่ปนมากับอุจจาระของคน (Juergen and Prociv, 2003) การติดต่อในสุนัขสามารถ

เกิดได้หลายทางเช่น โดยการกิน และไชผ่านผิวหนังของตัวอ่อนระยะที่ 3 ที่อยู่ในเนื้อเยื่อร่างกาย (somatic tissue) ของแม่จะผ่านไปยังลูกโดยทางน้ำนมและรก แต่ในขณะที่ตัวอ่อนระยะที่ 3 ของพยาธิปากขอ *A. ceylanicum* ที่อยู่ในเนื้อเยื่อร่างกายของแม่ไม่สามารถผ่านไปยังลูกโดยทางน้ำนม และทางรกได้ (Jones and Cappello, 2004)

ระบาดวิทยาของพยาธิปากขอ

การระบาดของพยาธิปากขอเป็น soil transmission ซึ่งพบการแพร่ระบาดมากที่สุดในเด็กวัยเรียน โดยเฉพาะประเทศในเขตร้อน (Hotez *et al.*, 2003) จากการศึกษาทั่วโลก พบว่าการติดพยาธิปากขอโดยที่มีพยาธิตัวเต็มวัยเกาะที่ผนังลำไส้นั้น จะพบในผู้ป่วยวัยกลางคนหรือผู้สูงอายุเป็นจำนวนมาก จากการศึกษาใน ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน (มณฑล Hainan) และประเทศบราซิล (รัฐ Minas Gerias) ซึ่งเป็นประเทศที่มีการแพร่ระบาดของพยาธิปากขอเป็นจำนวนมาก พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างอายุของผู้ป่วยกับความชุกชุมของพยาธิที่ติดเข้าไปจะเป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งความสัมพันธ์ระหว่างอายุและปริมาณของไข่พยาธิที่สามารถตรวจพบได้ในอุจจาระ ในทางกลับกันพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างอายุของผู้ป่วยกับความชุกชุมจากการติดของพยาธิไส้เดือนจะเป็นไปในทิศทางตรงข้ามกัน (Brooker *et al.*, 2004)

ความสัมพันธ์ระหว่างอายุที่มากขึ้นกับความชุกชุมที่เพิ่มมากขึ้นของพยาธิปากขอ ถือเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งของปัญหาทางสาธารณสุขในประเทศที่กำลังพัฒนา เนื่องจากผู้สูงอายุมักไม่ให้ความสนใจกับสุขภาพ จึงเป็นกลุ่มที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมากที่สุด โดยกลไกการเกิดโรคเรื้อรังในผู้ป่วยวัยกลางคนจนถึงสูงอายุนั้นเกิดขึ้นโดยเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันเป็นหลัก จากการศึกษาของ Quinell และคณะในปีค.ศ. 1993 และ 1995 ในประเทศปาร์ปัว นิวกินี พบว่า ผู้ที่เคยเป็นโรคพยาธิปากขอแล้วส่วนมากไม่มีภูมิคุ้มกันจากร่างกายในการป้องกันตนเองจากการติดพยาธิปากขอในครั้งต่อไปได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากพยาธิไปรบกวนการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของ lymphocytes และ IL-4 ในช่วงที่เกิดโรคเรื้อรัง (Hotez *et al.*, 2003)

กลไกทางชีวเคมีของพยาธิปากขอ

กลไกทางชีวเคมีของระยะตัวอ่อนพยาธิ แบ่งเป็น 2 ระยะดังนี้

1. การไชผ่านผิวหนัง (skin penetration)

ในการไชผ่านผิวหนังโฮสต์ของตัวอ่อนพยาธิระยะที่ 3 จะหลั่งสารจำพวก bioactive molecule proteolytic enzyme immunomodulator และ secreted protein ต่างๆ เพื่อให้เข้าสู่โฮสต์ได้ง่ายขึ้น (Hawdon and Hotez, 1996; Jones and Cappello, 2004) โดยสารที่พบมากที่สุดคือ *Ancylostoma*-secreted proteins (ASPs) ซึ่งหลั่งจาก *Ancylostoma spp.* (Hawdon *et al.*, 1996; Hawdon *et al.*, 1999; Jones and Cappello, 2004) และประกอบด้วย ASP-1 และ ASP-2 (Hotez *et al.*, 2003)

ผิวหนังของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีสิ่งที่คอยขัดขวางเชื้อโรครวมทั้งตัวอ่อนของพยาธิปากขอที่จะเข้าสู่ร่างกาย ทำให้ตัวอ่อนพยาธิปากขอหลั่งเอนไซม์ protease ออกมาหลายชนิดโดยขึ้นกับ

การกระตุ้นจากโฮสต์ (Zhan *et al.*, 2002; Hotez *et al.*, 2003; Jones and Cappello, 2004) ตัวอย่างของเอนไซม์ protease ได้แก่ *Ancylostoma caninum* astacin-like zinc-metalloprotease (Ac-MTP-1) (Zhan *et al.*, 2002; Jones and Cappello, 2004) Ac-MTP-1 ประกอบด้วย 2 ส่วนที่สำคัญคือ ส่วนที่ใช้ในการเร่งปฏิกิริยาให้หลั่งเอนไซม์ได้เร็วยิ่งขึ้น (catalytic domain) ประกอบด้วยสังกะสี (zinc) ที่บริเวณ active site และอีกส่วนที่สำคัญคือ ส่วนที่ประกอบด้วย epidermal growth factor ซึ่งยังไม่ทราบหน้าที่แน่ชัด (Hotez *et al.*, 2003) เอนไซม์ protease ที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งคือ cathepsin D aspartic protease โดย cathepsin D aspartic protease ที่หลั่งจาก *A. caninum* คือ Ac-APR-1 และส่วนที่หลั่งจาก *N. americanus* คือ Na-APR-1

ระหว่างที่มีการเคลื่อนที่ผ่านผิวหนังของโฮสต์ ตัวอ่อนระยะที่ 3 ของพยาธิจะเผชิญหน้ากับ hyaluronic acid ซึ่งเป็นสารประกอบขั้นพื้นฐานของผิวหนังชั้น dermis ซึ่งทำหน้าที่ในการเชื่อมระหว่าง keratinocyte ในชั้น deep epidermal และเชื่อมระหว่าง keratinocyte กับ basement membrane ที่บริเวณเชื่อมต่อระหว่างผิวหนังชั้น epidermis และ dermis (Hotez *et al.*, 1992) โดยตัวอ่อนระยะที่ 3 ของพยาธิจะเคลื่อนที่ผ่านระหว่าง epidermal keratinocyte และ ground substance ของชั้น dermis จึงหลั่งเอนไซม์ hyaluronidase เพื่อช่วยให้การเคลื่อนที่ผ่านชั้น basal cell ของ epidermis และชั้น ground substance ของ dermis ได้สะดวกมากยิ่งขึ้น โดยที่ hyaluronidase หลั่งออกมาเพื่อเสริมฤทธิ์กับ protease ซึ่งจะก่อความรุนแรงกับโฮสต์ได้มากยิ่งขึ้น และจากการศึกษาพบว่าเอนไซม์ hyaluronidase สามารถทำงานได้มีประสิทธิภาพสูงในช่วง pH 6.0 - 8.0 (Hotez *et al.*, 1992; Hotez *et al.*, 2003)

2. การเคลื่อนย้ายในเนื้อเยื่อ และการพักการเจริญ (tissue migration and arrested development)

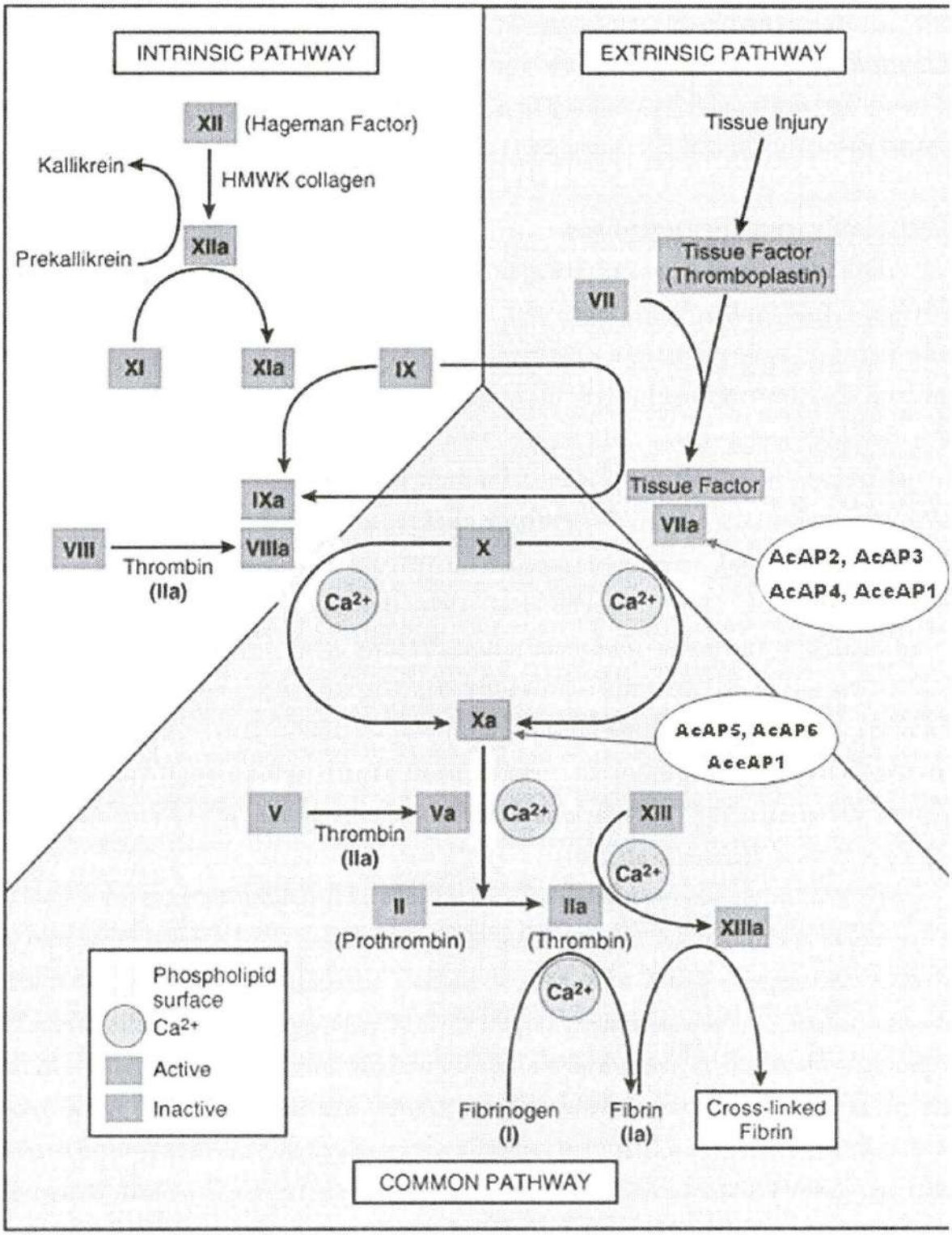
ระยะที่ตัวอ่อนพยาธิพักการเจริญ มีลักษณะคล้ายคลึงกับระยะ dauer ของ Caenorhabditis elegans ซึ่งเป็นหนอนตัวกลมที่อาศัยอยู่อย่างเป็นอิสระในธรรมชาติ โดยหนอนตัวกลมชนิดนี้จะหยุดการเจริญและอยู่ในระยะ dauer ก็ต่อเมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม และจะกลับมาเจริญต่อจนถึงระยะตัวเต็มวัยเมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม (Brand *et al.*) พยาธิปากขอมี transforming growth factor-β (TGF-β) และ insulin-like signaling pathway ซึ่งเป็นสื่อกลางในการกระตุ้นตัวอ่อนระยะที่ 3 ของพยาธิ ซึ่ง TGF-β จะมีบทบาทที่สำคัญทั้งกับ *C. elegans* และการติดพยาธิปากขอ โดยตัดสินจากยีน DAF-7 ของ *A. caninum* ซึ่งจะมียีนเป็น Ac-DAF-7 มีความสัมพันธ์กับยีน DAF-7 ของพยาธิตัวกลมชนิดอื่น รวมทั้ง Ce-DAF-7 ที่มาจาก *C. elegan* โดยที่ยีน DAF-7 มีความสำคัญมากในช่วงที่ตัวอ่อนพยาธิหยุดพักการเจริญ (Brand *et al.*, 2005; Crook *et al.*, 2005) จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) พบว่า Ac-DAF-7 จะเริ่มปรากฏในช่วงตัวอ่อนพยาธิระยะที่ 1 และมากที่สุดในช่วงตัวอ่อนพยาธิระยะที่ 3 ที่หยุดการเจริญและลดลงในช่วงตัวเต็มวัย จากผลการศึกษาในพยาธิ *A. caninum* จะคล้ายคลึงกับพยาธิตัวกลมชนิดอื่นๆ แต่ตรงข้ามกับ *C. elegans* (Crook *et al.*, 2005) อย่างไรก็ตามหน้าที่ของ DAF-7 ในพยาธิปากขอและพยาธิตัวกลมชนิดอื่นยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่จะมีความสำคัญในช่วงที่มีการเจริญ และหยุดพักการเจริญ โดยที่ DAF-7 จะช่วยในการเจริญจากตัวอ่อนของพยาธิจนกระทั่งติดต่อเข้าสู่โฮสต์ (Brand *et al.* 2005) จากการศึกษาในสุนัขพบว่าการกลับมาเจริญพัฒนาต่อของตัวอ่อนพยาธิจากระยะ

ที่หยุดพักการเจริญของ *A. caninum* จะเกิดขึ้นในช่วงที่สุนัขตั้งท้อง ซึ่งฮอร์โมนที่มีบทบาทสำคัญ ได้แก่ TGF-β ที่มากระตุ้นให้ตัวอ่อนพยาธิเจริญต่อ และเคลื่อนตัวไปยังเนื้อเยื่อบริเวณเต้านม จึงสามารถถ่ายทอดสู่ลูกสัตว์โดยผ่านทางน้ำนมได้ ในช่วงสุนัขตั้งท้องพบว่าปริมาณของ estrogen และ prolactin ที่หลั่งออกมามากจะกระตุ้นให้ร่างกายสร้าง TGF-β ออกมามากยิ่งขึ้น ซึ่งเป็นผลทำให้มีการถ่ายทอดตัวอ่อนพยาธิผ่านน้ำนมได้มากยิ่งขึ้น (Arasu, 2001)

กลไกทางชีวเคมีของพยาธิในระยะตัวเต็มวัย

เมื่อตัวอ่อนระยะที่ 3 ของพยาธิเข้าสู่โฮสต์ และเคลื่อนที่จนกระทั่งเข้ามาอยู่ในลำไส้เล็ก จะมีการลอกคราบครั้งสุดท้ายเพื่อเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย ตัวเต็มวัยพยาธิสามารถผลิตสารที่เป็นปัจจัยส่งเสริมให้เกิดความรุนแรงของโรคและสามารถหลั่งออกมาในบริเวณที่ตัวพยาธิอาศัยยึดเกาะอยู่ โดยสารเหล่านั้นมีบทบาทที่สำคัญในการทำให้โฮสต์เจริญเติบโตช้า และเกิดภาวะโลหิตจาง ซึ่งประกอบด้วย anticoagulant peptide (Jones and Cappello, 2004) จากการศึกษาภายในหลอดทดลอง (*in vitro*) สามารถแบ่งชนิดของสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดที่สกัดได้จาก *A. caninum* เป็น 2 ประเภท ได้แก่ สารที่ทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของปัจจัยที่ช่วยในการแข็งตัวของเลือดชนิดที่ 10a (coagulation factor Xa) ซึ่งประกอบด้วย *A. caninum* anticoagulant peptide 5 (AcAP5) และ *A. caninum* anticoagulant peptide 6 (AcAP6) (Lozoff *et al.*, 1991; Cappello *et al.*, 1996; Harrison *et al.*, 2001) โดยที่ AcAP 5 มีความสำคัญมากและจำเพาะกับการยับยั้งการทำงานของปัจจัยที่ช่วยในการแข็งตัวของเลือดชนิดที่ 10a ดังรูปที่ 1 (Harrison *et al.*, 2001) เนื่องจากปัจจัยที่ช่วยในการแข็งตัวของเลือดชนิดที่ 10a จะช่วยในกระบวนการการแข็งตัวของเลือดในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ดังนั้นการยับยั้งการทำงานของสารประเภทนี้จึงเป็นการป้องกันการเกิดกระบวนการการแข็งตัวของเลือดในบริเวณที่เนื้อเยื่อถูกทำลายเนื่องจากการยึดเกาะของพยาธิปากขอทำให้ตัวเต็มวัยพยาธิสามารถดูดเลือดผ่านผนังลำไส้ของโฮสต์ได้ง่ายยิ่งขึ้น (Cappello *et al.*, 1996; Harrison *et al.*, 2001)

สารป้องกันการแข็งตัวของเลือดอีกชนิดหนึ่งคือ สารที่ทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของปัจจัยที่ช่วยในการแข็งตัวของเลือดชนิดที่ 7a (coagulation factor VIIa - tissue factor complex) ประกอบด้วย *A. caninum* anticoagulant peptide 2 (AcAP2), *A. caninum* anticoagulant peptide 3 (AcAP3) และ *A. caninum* anticoagulant peptide 4 (AcAP4) (รูปที่ 1) (Jones and Cappello, 2004) โดยปัจจัยที่ช่วยในการแข็งตัวของเลือดชนิดที่ 7a จะตอบสนองต่อการกระตุ้นของปัจจัยที่ช่วยในการแข็งตัวของเลือดชนิดที่ 10a เนื่องจากมีสารตั้งต้นของปัจจัยดังกล่าวเป็นองค์ประกอบ (Harrison *et al.*, 2001) หากพิจารณาลำดับการเรียงตัวของกรดอะมิโนพบว่าสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดที่หลั่งจากพยาธิปากขอจะอยู่ในกลุ่มของเอนไซม์ serine protease inhibitor (Cappello *et al.*, 1996; Harrison *et al.*, 2001; Williamson *et al.*, 2003; Jones and Cappello, 2004) ในทางกลับกันสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดที่สกัดได้จาก *A. ceylanicum* มีเพียง 1 ชนิดคือ *A. ceylanicum* anticoagulant peptide 1 (AceAP1) (Harrison *et al.*, 2002) แต่สามารถทำหน้าที่ในการยับยั้งการทำงานของปัจจัยที่ช่วยในการแข็งตัวของเลือดชนิดที่ 10a และ 7a ได้พร้อมกัน (Jones and Cappello, 2004; Mieszczanek *et al.*, 2004)



รูปที่ 1. กลไกในการยับยั้งการแข็งตัวของเลือดโฮสต์จากตัวเต็มวัยของพยาธิปากขอ (ดัดแปลงจาก Mitchell, 2005)

จากการศึกษาพบว่าตัวเต็มวัยของ *A. caninum* และ *A. ceylanicum* จะผลิตสารสำคัญอีกชนิดหนึ่งคือ สารยับยั้งการทำงานของเกล็ดเลือดที่ เรียกว่า hookworm platelet inhibitor (HPI) ซึ่งมีหน้าที่ในการยับยั้งการทำงานของ glycoprotein IIbIIIa และ $\alpha_{IIb}\beta_3$ integrin ที่ช่วยในการเกาะกลุ่มและรวมกลุ่มกันของเกล็ดเลือด (Del Valle *et al.*, 2003; Jones and Cappello, 2004) ทำให้หน้าที่ของเกล็ดเลือดเสียไป ดังนั้นเมื่อสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดทำงานร่วมกับสารยับยั้งการทำงานของเกล็ดเลือดจะทำให้พยาธิสามารถดูดเลือดจากเส้นเลือดฝอยในลำไส้ได้ง่ายยิ่งขึ้น (Jones and Cappello, 2004)

เมื่อพยาธิดูดเลือดโฮสต์เข้าไปจะทำการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงโดยใช้กระบวนการทำให้เม็ดเลือดแดงเกิดรูโดยวิธี pore-forming และ membrane - bound hemolysin (Williamson *et al.*, 2004) จากนั้นส่วนประกอบในเม็ดเลือดแดงจะหลั่งออกมาแล้วเข้าไปยังช่องว่างของทางเดินอาหาร (interstitial lumen) ของพยาธิปากขอเพื่อย่อยสลายโปรตีนและนำมาเป็นอาหารของพยาธิต่อไป จากการศึกษาพบว่าที่บริเวณ brush border ของทางเดินอาหารของ *A. caninum, A. ceylanicum* และ Necator americanus (Jones and Cappello, 2004; Williamson *et al.*, 2004) จะมีสภาวะที่เป็นกรดเล็กน้อย (pH 5 - 7) (Williamson *et al.*, 2004) ซึ่งมีความเหมาะสมในการหลั่งเอนไซม์ protease หลายชนิด ซึ่งได้แก่ aspartic protease (Williamson *et al.*, 2004), cysteine protease (Williamson *et al.*, 2004) และ metalloprotease (Zhan *et al.*, 2002; Jones and Cappello, 2004) หน้าที่หลักของเอนไซม์ในกลุ่มนี้คือ หาสารอาหารที่เหมาะสมกับความต้องการของพยาธิ โดยใช้เอนไซม์ที่มีความเกี่ยวเนื่องกันมาย่อยสลายฮีโมโกลบินอย่างเป็นขั้นตอน (Williamson *et al.*, 2003; Jones and Cappello, 2004) จากการทดลองย่อยสลายฮีโมโกลบินในหลอดทดลองพบว่า มีเพียง aspartic protease (APR-1 และ APR-2) เท่านั้นที่สามารถย่อยสลายได้และมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูงขึ้นเมื่อพยาธิปากขออยู่ในโฮสต์ที่แท้จริง (Williamson *et al.*, 2004) ส่วนเอนไซม์ cathepsin B-like cysteine protease (Ac-CP2) สามารถพบได้ใน *A. caninum* ที่บริเวณ brush border ของทางเดินอาหาร (Williamson *et al.*, 2004) และจากผลการศึกษาพบว่าสามารถสังเคราะห์ metalloprotease จากลำไส้ของ *A. caninum* ได้ ซึ่งได้แก่ *A. caninum* metalloendopeptidase 1 (Ac-MEP-1) (Jones and Hotez, 2002; Jones and Cappello, 2004) และ *A. ceylanicum* เช่นเดียวกัน (Jones and Capello, unpublished) แต่อย่างไรก็ตามพบว่ากลไกในการทำงานของเอนไซม์กลุ่มนี้ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด (Jones and Cappello, 2004) ทั้งนี้พยาธิจะใช้เอนไซม์กลุ่มนี้ในการย่อยสลายโปรตีนที่ได้จากโฮสต์เพื่อเป็นอาหาร และใช้เอนไซม์ในการย่อยสลายเนื้อเยื่อจากทางเดินอาหารของโฮสต์ที่อุดตันในบริเวณช่องปากของพยาธิ (Williamson *et al.*, 2003)

ตัวเต็มวัยของพยาธิปากขอพบว่า สามารถหลั่งเอนไซม์ protease inhibitor ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการก่อโรค Jones และ Cappello (2004) พบว่า *A. ceylanicum* Kunitz-type inhibitor-1 (AceKI-1) ที่หลั่งมาจาก *A. ceylanicum* ทำหน้าที่ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยอาหารในลำไส้เล็กของโฮสต์ดังต่อไปนี้ chymotrypsin pancreatic elastase neutrophil elastase และ trypsin (Aaron *et al.*, 2000) เมื่อทำการทดสอบด้วยวิธี immunohistochemistry พบว่าสารดังกล่าวอยู่ที่บริเวณผิวลำตัว (cuticle) ของพยาธิทำให้สามารถป้องกันการถูกย่อยจากน้ำย่อยของโฮสต์ที่หลั่งเข้ามาในลำไส้เล็กได้(Jones and Cappello, 2004) และมีการตั้งข้อสันนิษฐานว่าสารที่เกิดขึ้นในระหว่างการหลั่ง AceKI

น่าจะสามารถลดการดูดซึมสารอาหารของโฮสต์ได้ (Zhan *et al.*, 2002; Jones and Cappello, 2004) ส่วน protease inhibitor ที่พบได้จาก *A.caninum* ได้แก่ Ac-KPI-1 (Zhan *et al.*, 2002; Jones and Cappello, 2004)

สารที่เป็นปัจจัยส่งเสริมให้เกิดความรุนแรงอื่นที่ตัวเต็มวัยของพยาธิปากขอสามารถหลั่งออกมาได้แก่ *Ancylostoma* secreted protein (ASP) (Hotez *et al.*, 2003; Goud *et al.*, 2004; Jones and Cappello, 2004) จากการศึกษาพบว่า ตัวเต็มวัยของ *A. caninum* สามารถหลั่ง *Ancylostoma* secreted protein (Ac-ASP) ได้ 4 ชนิด คือ Ac-ASP3 Ac-ASP4 Ac-ASP5 Ac-ASP6 (Jones and Hotez, 2002) อย่างไรก็ตามยังไม่ทราบหน้าที่ของ ASP อย่างแน่ชัด แต่ ASP มีความสำคัญในการดำรงชีวิตของพยาธิให้สามารถอยู่ในโฮสต์ได้ ในสภาวะที่เป็นปรสิต (Hotez *et al.*, 2003) และจากการศึกษาพบว่าตัวเต็มวัยของพยาธิสามารถหลั่ง secretory protein ได้โดย *A .ceylanicum* จะหลั่ง *A.ceylanicum* excretory/secretory protein 1 (Acets-1) (Jones and Cappello, 2004) และพยาธิยังสามารถหลั่ง AceES-2 (Zhan *et al.*, 2003; Jones and Cappello, 2004) ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อการดำรงชีวิตของพยาธิในร่างกายของโฮสต์รวมถึงความรุนแรงของการก่อโรค

การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อพยาธิปากขอ

ความซับซ้อนของวงจรชีวิต และความผันแปรของสารพันธุกรรมชนิด mRNA และโปรตีนในแต่ละช่วงของการเจริญของพยาธิปากขอทำให้พยาธิมีความสามารถในการเป็นแอนติเจนได้หลายบริเวณในร่างกายของโฮสต์ซึ่งได้แก่ ผิวหนัง ปอด และผนังลำไส้ชั้น mucosa (Loukas *et al.*, 2005) และความซับซ้อนนี้เองทำให้พยาธิสามารถหลั่งสารที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์เพื่อให้สามารถดำรงชีวิตอยู่ในโฮสต์ได้นานยิ่งขึ้น (Pritchard, 1995; Loukas and Prociv, 2001; Loukas *et al.*, 2005) โดยทั่วไปการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันจะเกิดขึ้นกับdefinitive hosts ซึ่งจะตอบสนองแบบ cellular response ที่อาศัย T helper type 2 (Th2) เป็นหลัก จากการศึกษาพบว่าคนที่ติด *N. americanus* จะมีระดับของ IgE ที่ตอบสนองจำเพาะต่อพยาธิ และ IgE รวมสูงขึ้น จึงนำไปสู่การเกิด eosinophilia ทั้งนี้อาจเกิดขึ้นเฉพาะที่ปอด ผนังลำไส้ที่ถูกตัวเต็มวัยพยาธิเกาะ หรืออาจเกิดทั่วร่างกาย (Loukas *et al.*, 2005) ร่างกายของโฮสต์จะต่อต้านพยาธิโดยการทำงานของ Th2 โดยหลั่ง IL-4 และ IL-5 เป็นสำคัญ แต่พบว่าการตอบสนองนี้จะเกิดความล้มเหลวโดยไม่ทราบสาเหตุ อาจเนื่องมาจากกลไกการควบคุมข้าม (cross-regulatory mechanism) จากการศึกษาในประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีนและบราซิลพบว่า การติดพยาธิปากขอแบบเรื้อรังจะเหนี่ยวนำให้เกิดการตอบสนองแบบ cellular response ที่ต่ำลง (cellular hyporesponsiveness) แต่เป็นที่น่าสนใจว่าผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่า 40 ปีขึ้นไปภายหลังการรักษา โดยกำจัดพยาธิออกจากร่างกายอย่างสมบูรณ์ ไม่พบการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของ lymphocytes แต่ในขณะที่ผู้ป่วยที่มีอายุต่ำกว่า 39 ปีพบการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของ lymphocytes อย่างสมบูรณ์ (Loukas *et al.*, 2005) จากการศึกษาของ Geiger และคณะ ในปีค.ศ. 2004 เกี่ยวกับการตอบสนองแบบ cellular response และการหลั่งไซโตไคน์ (cytokine) จากเด็กกลุ่มที่ผ่านการรักษาการติดพยาธิปากขอเปรียบเทียบกับเด็กกลุ่มที่ไม่ติดพยาธิปากขอ พบว่าร่างกายของเด็กกลุ่มที่ผ่านการรักษาการติดพยาธิปากขอมีความสามารถในการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ที่มาต่อต้าน phytohaemmaglutinin และแอนติเจน

จากพยาธิปากขอตัวเต็มวัยได้ลดลง ทั้งนี้รวมถึงมีการผลิตไซโตไคน์จาก Th1 ได้แก่ IL-12 และ IFN-γ และไซโตไคน์จาก Th2 อันได้แก่ IL-5 และ IL-13 ลดลง แต่ในทางกลับกันร่างกายจะเพิ่มการผลิต IL-10 มากขึ้น อาจเนื่องมาจากร่างกายมีความจำเป็นที่จะต้องใช้ IL-10 ในกระบวนการตอบสนองต่อ การอักเสบ เป็นที่น่าสนใจว่าระดับของ TNF-α สูงขึ้นในบุคคลที่ตรวจพบไข่ของพยาธิปากขอในอุจจาระ (Geiger *et al.*, 2004; Loukas *et al.*, 2005)

การติดพยาธิจะทำลายความสมดุลระหว่าง anti-inflammatory cytokine กับ pro-inflammatory cytokine โดยที่ร่างกายของโฮสต์จะมีการตอบสนองต่างกันในแต่ละระยะของการเจริญของพยาธิ ไซโตไคน์ ที่มีความสำคัญเป็นสื่อกลางทางระบบภูมิคุ้มกันในการก่อโรค (immune mediated pathology) ได้แก่ IL-10 (MacDonald *et al.*, 2002) โดยที่การหลั่งของ IL-10 จะถูกกระตุ้นโดยตัวของพยาธิปากขอ (Bungiro and Cappello, 2004) จากการศึกษาพบว่า ระดับของ IL-10 ที่สูงขึ้นในช่วงการติดพยาธิปากขอแบบเรื้อรัง ทำให้ทราบว่าร่างกายของโฮสต์ใช้กลไกการควบคุมระบบภูมิคุ้มกันของ T cell (T cell regulatory) และพบว่าหากโฮสต์ได้รับการติดเชื้อจากพยาธิชนิดอื่น เช่น *Spirometra mansoni* ในปริมาณน้อยที่สามารถกระตุ้นให้ร่างกายเกิดการพัฒนาระบบภูมิคุ้มจะมีการหลั่ง IL-10 ในปริมาณที่เท่ากันกับที่พยาธิปากขอสามารถหลั่งได้ แต่จะมีความแตกต่างกันในการตองสนองต่อภูมิคุ้มกันจากการหลบหลีกการทำลายเรื้อรังของโฮสต์ (chronic immune evasion) เนื่องจาก Th2 มีความสามารถที่จำกัดจึงมี cross-regulatory cytokine ที่สำคัญได้แก่ IFN-γ ซึ่งผลิตจาก natural killer-cell (NK-cell) (Bungiro and Cappello, 2004; Quinnell *et al.*, 2004) พยาธิปากขอสามารถหลั่งสารที่ใช้เปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของระบบภูมิคุ้มกันในโฮสต์ได้ เรียกสารชนิดนี้ว่า excretory secretory (ES) product จากการทดลองฉีด ES product เข้าไปในสัตว์ทดลอง พบว่ามีการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันได้เหมือนกับมีพยาธิที่มีชีวิตอาศัยในสัตว์ทดลองนั้น (Quinnell *et al.*, 2004; Loukas *et al.*, 2005) ES product ประกอบด้วยโปรตีนหลายชนิด รวมทั้ง protease protease inhibitor C-type lectin auto-oxidant และ anti-inflammatory protein (Loukas and Prociv, 2001; Quinnell *et al.*, 2004; Loukas *et al.*, 2005) โดย ES product จะเหนี่ยวนำให้เกิดการตอบสนองแบบพึ่งเซลล์ลดน้อยลง ซึ่งเป็นลักษณะพิเศษเฉพาะของการติดพยาธิปากขอแบบเรื้อรัง

บทสรุป

ปัจจัยที่ก่อให้เกิดความรุนแรงต่อโฮสต์ของพยาธิปากขอ เนื่องจากการติดต่อเข้าสู่โฮสต์โดยตัวอ่อนระยะติดต่อ ตลอดจนการดำรงชีวิตอยู่ในร่างกายของโฮสต์ โดยในขั้นตอนการไชผ่านผิวหนัง พยาธิจะหลั่งเอนไซม์ที่ช่วยในการย่อยสลายเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและผิวหนัง เพื่อช่วยให้พยาธิเคลื่อนที่ผ่านชั้นผิวหนังได้ง่ายขึ้นเช่น เอนไซม์ hyaluronidase และ protease ทั้งนี้เมื่อตัวอ่อนพยาธิเคลื่อนที่ผ่านเข้ามาได้ในร่างกายของโฮสต์แล้วจะเจริญเป็นตัวเต็มวัยที่ลำไส้เล็กจากนั้นจะเกาะกับผนังลำไส้พร้อมกับปล่อยเอนไซม์ที่มีฤทธิ์ในการป้องกันการแข็งตัวของเลือด เช่น AcAP5 AcAP6 และ HPI ทำให้พยาธิสามารถดูดเลือดจากโฮสต์ได้มากขึ้นซึ่งนำมาสู่ภาวะโลหิตจาง โฮสต์จะมีการตอบสนองจากการทำงานของ

Th2 โดยหลั่ง IL-4 และ IL-5 ส่งผลให้โฮสต์เกิดภาวะการมีระดับอีโอซิโนฟิลสูงในกระแสเลือดได้ นอกจากนี้พยาธิปากขอสามารถหลั่งสารที่ใช้เปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของระบบภูมิคุ้มกันในโฮสต์ได้ เรียกสารชนิดนี้ว่า excretory secretory product โดย ES product จะเหนี่ยวนำให้เกิดการตอบสนองแบบพึ่งเซลล์ลดน้อยลง ซึ่งเป็นลักษณะพิเศษเฉพาะของการติดพยาธิปากขอแบบเรื้อรัง ปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีการป้องกันการติดพยาธิปากขอโดยอาศัยข้อมูลพื้นฐานจากปัจจัยสำคัญเหล่านี้ในการดำรงชีพของพยาธิมาพัฒนาผลิตวัคซีนเพื่อใช้ในการควบคุมและป้องกันการติดพยาธิปากขอ ซึ่งอยู่ในระหว่างการพัฒนา

เอกสารอ้างอิง

Aaron, M. M., Harrison, L. M., Bungiro, R. D., Kuzmi, P. and Cappello. M. 2000. A Broad Spectrum Kunitz Type Serine Protease Inhibitor Secreted by the Hookworm *Ancylostoma ceylanicum*. *J.Bio.Chem*., 275: 29391-29399.

Arasu, P. (2001). In vitro reactivation of *Ancylostoma caninum* tissue-arrested third-stage larvae by transforming growth factor-beta. *J Parasitol*, 87(4): 733-738.

Brand, A. M., Varghese, G., Majewski, W. and Hawdon, J. M. (2005). Identification of a DAF-7 ortholog from the hookworm *Ancylostoma caninum*. Int *J Parasitol*, 35(14): 1489-1498.

Brooker, S., Bethony J. and Hotez, P.J. (2004). Human hookworm infection in the 21st Century. Adv Parsitol, 58: 198- 288.

Bungiro, R. and Cappello, M. (2004). Hookworm infection: new developments and prospects for control. Curr Opin Infect Dis, 17(5): 421-426.

Cappello, M., Hawdon, J. M., Jones, B. F., Poindexter Kennedy, W. and Hotez, P. J. (1996). *Ancylostoma caninum* anticoagulant peptide: cloning by PCR and expression of soluble, active protein in *E. coli*. Molecular and Biochemical Parasitology, 80(1): 113-117.

Crook, M., Thompson, F. J., Grant, W. N. and Viney, M. E. (2005). daf-7 and the development of *Strongyloides ratti* and *Parastrongyloides trichosuri*. Molecular and Biochemical Parasitology, 139(2): 213-223.

de Silva, N. R., Brooker, S., Hotez, P. J., Montresor, A., Engels, D. and Savioli, L. (2003). Soil-transmitted helminth infections: updating the global picture. Trends Parasitol, 19(12): 547-551.

Del Valle, A., Jones, B. F., Harrison, L. M., Chadderdon, R. C. and Cappello, M. (2003). Isolation and molecular cloning of a secreted hookworm platelet inhibitor from adult *Ancylostoma caninum*. Mol Biochem Parasitol, 129(2): 167-177.

Geiger S. M., Massara C. L. , Bethony J., Soboslay P. T. & Correa-Oliveira R. (2004). Cellular responses and cytokine production in post-treatment hookworm patients from an endemic area in Brazil. Clinical and Experimental Immunology 136, 334-340.

Goud, G. N., Zhan, B., Ghosh, K., Loukas, A., Hawdon, J., Dobardzic, A., Deumic, V., Liu, S., Dobardzic, R., Zook, B. C., Jin, Q., Liu, Y., Hoffman, L., Chung-Debose, S., Patel, R., Mendez, S. and Hotez, P. J. (2004). Cloning, yeast expression, isolation, and vaccine testing of recombinant Ancylostoma-secreted protein (ASP)-1 and ASP-2 from *Ancylostoma ceylanicum*. *J Infect Dis*, 189(5): 919-929.

Harrison, L. M., Cordova, J. L. and Cappello, M. (2001). Ancylostoma caninum anticoagulant peptide-5: immunolocalization and in vitro neutralization of a major hookworm anti-thrombotic. Molecular and Biochemical Parasitology, 115(1): 101-107.

Hawdon, J. M. and Hotez, P. J. (1996). Hookworm: developmental biology of the infectious process. Curr Opin Genet Dev, 6(5): 618-623.

Hawdon, J. M., Jones, B. F., Hoffman, D. R. and Hotez, P. J. (1996). Cloning and characterization of Ancylostoma-secreted protein. A novel protein associated with the transition to parasitism by infective hookworm larvae. *J Biol Chem*, 271(12): 6672-6678.

Hawdon, J. M., Narasimhan, S. and Hotez, P. J. 1999. Ancylostoma secreted protein 2: cloning and characterization of a second member of a family of nematode secreted proteins from *Ancylostoma caninum*. Mol Biochem Parasitol, 99(2): 149-165.

Hotez, P. J., Narasimhan, S., Haggerty, J., Milstone, L., Bhopale, V., Schad, G. A. and Richards, F. F. (1992). Hyaluronidase from infective Ancylostoma hookworm larvae and its possible function as a virulence factor in tissue invasion and in cutaneous larva migrans. Infect Immun., 60(3): 1018-1023.

Hotez, P. J., Zhan, B., Bethony, J. M., Loukas, A., Williamson, A., Goud, G. N., Hawdon, J. M., Dobardzic, A., Dobardzic, R., Ghosh, K., Bottazzi, M. E., Mendez, S., Zook, B., Wang, Y., Liu, S., Essiet-Gibson, I., Chung-Debose, S., Xiao, S., Knox, D., Meagher, M., Inan, M., Correa-Oliveira, R., Vilk, P., Shepherd, H. R., Brandt, W. and Russell, P. K. 2003. Progress in the development of a recombinant vaccine for human hookworm disease: the Human Hookworm Vaccine Initiative. Int *J. Parasitol*, 33(11): 1245-1258.

Jones, B. F. and Cappello, M. (2004). Hookworm infection: molecular mechanisms of disease and targets for control. Drug Discovery Today: Disease Mechanisms, 1(2): 217-222.

Jones, B. F. and Hotez, P. J. (2002). Molecular cloning and characterization of Ac-mep-1, a developmentally regulated gut luminal metalloendopeptidase from adult *Ancylostoma caninum* hookworms. Mol Biochem Parasitol, 119(1): 107-116.

Juergen, K. and Prociv, P. 2003. Experimental human infection with the dog hookworm, *Ancylostoma caninum*. MJA., 178: 69-71.

Loukas, A., Constant, S. L. and Bethony, J. M. 2005. Immunobiology of hookworm infection. FEMS Immunology and Medical Microbiology, 43(2): 115-124.

Loukas, A. and Prociv, P. 2001. Immune responses in hookworm infections. Clin Microbiol Rev, 14(4): 689-703.

Lozoff, B., Jimenez, E. and Wolf, A. W. 1991. Long-term developmental outcome of infants with iron deficiency. N Engl *J. Med*, 325(10): 687-694.

MacDonald, A. S., Araujo M. I., and Pearce E. J. 2002. Immunology of parasitic helminth infections. Infect. Immun. 70: 427-433.

Michell, R.N. 2005. Hemodynamic disorders, Thromboembolic disease, and Shock. In: Robbins and Cotran Pathologic Basis of Diease 7 th ed., Kumar, V.,Abbas, A.K. and Fausto, N.(eds). Elsevier Saunders, the curtis center 170 S Independence Mall W 300E Philadephia, Pennsylvania , USA. p. 119-144.

Mieszczanek, J., Harrison, L. M. and Cappello, M. 2004. Ancylostoma ceylanicum anticoagulant peptide-1: role of the predicted reactive site amino acid in mediating inhibition of coagulation factors Xa and VIIa. Mol Biochem Parasitol, 137(1): 151-159.

Pritchard, D. I. 1995. The survival strategies of hookworms. Parasitology Today, 11(7): 255-259.

Prociv, P., and J. Croese. 1996. Human enteric infection with Ancylostoma caninum: hookworms reappraised in the light of a new zoonosis. Acta Trop. 62:23-44.

Quinnell, R. J., Pritchard, D. I., Raiko, A., Brown, A. P. and Shaw, M. A. 2004. Immune responses in human necatoriasis: association between interleukin-5 responses and resistance to reinfection. *J. Infect Dis*, 190(3): 430-438.

Williamson, A. L., Brindley, P. J., Knox, D. P., Hotez, P. J. and Loukas, A. 2003. Digestive proteases of blood-feeding nematodes. Trends Parasitol, 19(9): 417-423.

Williamson, A. L., Lecchi, P., Turk, B. E., Choe, Y., Hotez, P. J., McKerrow, J. H., Cantley, L. C., Sajid, M., Craik, C. S. and Loukas, A. 2004. A multi-enzyme cascade of hemoglobin proteolysis in the intestine of blood-feeding hookworms. *J Biol Chem*, 279(34): 35950-35957.

Zhan, B., Badamchian, M., Meihua, B., Ashcom, J., Feng, J., Hawdon, J., Shuhua, X. and Hotez, P. J. 2002. Molecular cloning and purification of Ac-TMP, a developmentally regulated putative tissue inhibitor of metalloprotease released in relative abundance by adult Ancylostoma hookworms. Am *J. Trop Med Hyg*, 66(3): 238-244.

Zhan, B., Liu, Y., Badamchian, M., Williamson, A., Feng, J., Loukas, A., Hawdon, J. M. and Hotez, P. J. 2003. Molecular characterisation of the Ancylostoma-secreted protein family from the adult stage of Ancylostoma caninum. Int *J. Parasitol*, 33(9): 897-907.

Review Article : Virulence factor of hookworm infection

Piyanan Taweethavonsawat[1,*], Nawarat Suriyakhun[1] and Sudchit Chungpiwat[2]

[1] Faculty of veterinary science, Mahidol University, Salaya, Thailand.

[2] Parasitology unit, Department of pathology, Faculty of veterinary science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

[*] Corresponding author Tel. 02-4415242 ext 1521 fax. 02-4410773 E-mail: vsptw@yahoo.com

Abstract

Advance knowledges in molecular biology has lead to identification of various new molecules from hookworms, which have importance either in molecular pathogenesis of hookworm infection or in host parasite relationship; some are also promising vaccine target. The virulence factors are started from step that infective larvae has penetrated through host skin and released enzymes to digest connective tissue and skin of host. The worm larvae were able to penetrate host's skin easier. Thus, worm larvae were got into host's body and developed to adult stages at small intestine. Adults hookworms secrete pharmacologically active peptides that facilitate blood feeding of parasites. The most potent are novel serine protease inhibitors that anticoagulate host's blood by inhibition of factors Xa and factor VIIa. Antibody responsing to hookworm infection consists predominantly of the Th2 antibody Isotypes IgG_1 IgG_4 and IgE. The production of Th2 cytokines, e.g. interleukin (IL)-4, IL-5 and IL-13, which is consistent with development of IgE and eosinophils. There are also on-going effects to develop anti-hookworm vaccines.

Keyword: hookworm infections, virulence factors, enzymes, anticoagulants, immune responses