บทที่ 5

อภิปรายและสรุปผล

ค่า pH ของสิ่งแวดล้อมเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญและส่งผลกระทบโดยตรงต่อจุลินทรีย์เช่น รา และแบคทีเรีย สำหรับเชื้อจุลินทรีย์บนผิวหนัง การเปลี่ยนแปลงของค่า pH ของผิวหนังส่งผลต่อโครงสร้างสัณฐานของเซลล์ เมแทบอลิซึม รวมไปถึงการก่อให้เกิดโรคหรือพยาธิสภาพเช่น atopic dermatitis, psoriasis หรือความไวต่อการติดเชื้อของผิวหนัง [23,24] แต่อย่างไรก็ตาม ความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH และแฟคเตอร์ที่ก่อโรค (pathogenic factor) เช่น hydrolytic enzyme ต่าง ๆ ที่เชื้อ *Malassezia* สร้าง ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด ในงานวิจัยนี้ได้วัดค่าการเจริญของเชื้อ ศึกษาสัณฐาน ตรวจสอบการแสดงออกของ lipase ในระดับ transcription และ translation ในเชื้อ *M. furfur* เป็นครั้งแรก ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ค้นพบว่า ค่า pH มีความสัมพันธ์ต่อการหลั่งเอนไซม์ lipase แต่ไม่มีผลต่อสัณฐานของเชื้อหรือการแสดงออกของยีน lipase ในระดับ transcription ความรู้ใหม่นี้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำความเข้าใจผลของ pH ในสิ่งแวดล้อมต่อการสร้างเอนไซม์ lipase ซึ่งเป็นหนึ่งใน pathogenic factor ของเชื้อ *Malassezia*

แม้ว่าจะมายงานมากมายเกี่ยวกับผลของกรดไขมันและเงื่อนไขที่เอื้อต่อการเจริญของเชื้อ *Malassezia* แต่กลับพบว่ามีรายงานน้อยมากที่กล่าวถึงค่า pH ต่อการเจริญของ *Malassezia* โดยเท่าที่พบเป็นรายงานผลของ pH ต่อการเจริญของเชื้อ *M. pachydermatis* ซึ่งเป็น *Malassezia* ที่พบมากบนผิวหนังของสัตว์ต่าง ๆ เช่น สุนัข และแมว ซึ่งพบว่า *M. pachydermatis* สามารถเจริญได้ในช่วงระหว่าง pH 4-8 [25] ในรายงานวิจัยนี้พบว่า *M. furfur* สามารถทนต่อ pH เป็นด่างได้สูงกว่า *M. pachydermatis* คือสามารถเจริญได้ในช่วง pH 4-10 แต่ว่าค่า pH ที่สูงดังกล่าวแตกต่างจากค่า pH ปกติบนผิวหนังของมนุษย์เป็นอย่างมาก ชี้ให้เห็นถึงความสามารถในการปรับตัวหรือความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่สูงของเชื้อ *M. furfur* ซึ่งสอดคล้องกับความจริงใหม่ที่ว่าเชื้อ *M. furfur* สามารถพบได้ในบริเวณต่าง ๆ ของร่างกายนอกจากผิวหนังที่มีสภาพกรดอ่อน แต่ยังพบว่าสามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด (pH เป็นกลาง) ไปจนถึงงานวิจัยล่าสุดที่พบว่า เชื้อ *Malassezia* อาจสามารถอาศัยอยู่ในลำไส้ (pH เป็นด่าง) อีกด้วย [26]

ในของสัณฐานวิทยา เชื้อ *Malassezia* เป็น dimorphic fungus ที่สามารถเปลี่ยนรูปเป็นยีสต์หรือสายรา (hyphae) ได้ โดยบนผิวหนังที่เป็นโรคมักพบ *M. furfur* ในรูปแบบยีสต์และสาย

ราอยู่ปะปนกัน ในขณะที่ผิวหนังปกติจะพบแต่ลักษณะยีสต์เท่านั้น จึงสันนิษฐานว่าการสร้างสายราของเชื้ออาจเกี่ยวข้องกับการเกิดโรค [27] ซึ่งผลของ pH ที่มีต่อสัณฐานของเชื้อราก่อโรคนั้นพบได้ในเชื้อ *Candida albicans* ซึ่งจะเปลี่ยนเป็นสายราเมื่อ pH สูงกว่า 7 และกลับมาเป็นยีสต์ในสภาพที่เป็นกรด (Konno et al., 2006) อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้ ไม่พบว่าค่า pH มีผลต่อสัณฐานของ *M. furfur* แต่อย่างใด จึงคาดว่าการเปลี่ยนสัณฐานของเชื้อ *Malassezia* อาจอาศัยปัจจัยที่ซับซ้อนกว่าเชื้อราก่อโรคชนิดอื่น ๆ เช่น *C. albicans* และ pH ไม่ใช่ปัจจัยหลัก

ในการศึกษาผลของ pH ที่มีต่อเอนไซม์ lipase นั้น พบว่าทั้งหมดเป็นการศึกษาด้านผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์ โดยเป็นที่รู้กันดีว่าค่า pH ที่เหมาะสมต่อการทำงาน (optimum pH) ของเอนไซม์ lipase ของ *Malassezia* นั้นเป็นค่าที่ใกล้เคียงกับค่า pH ของผิวหนังที่เชื้ออาศัยอยู่นั้นเองคือประมาณ pH 5.0-5.8 และการทำงานของเอนไซม์จะเสียไปเมื่อค่า pH สูงกว่า 8 [16,18,22] ดังนั้นในสภาพที่ค่า pH สูงจึงส่งผลโดยตรงต่อการทำงานของเอนไซม์ lipase อย่างไรก็ตามพบว่ามีบางรายงานสรุปว่าค่า optimum pH ต่อเอนไซม์ lipase ของ *M. furfur* และ *M. pachydermatis* คือ pH 7.5 ซึ่งเป็นด่างอ่อน ๆ [21,28] จากผลที่แตกต่างนี้สามารถสันนิษฐานได้ว่า อาจมีเอนไซม์ lipase บางตัวที่ถูกสร้างเฉพาะบางสภาพแวดล้อมก็ได้ ซึ่งในข้อมูลจีโนมของ M. globosa พบว่ามียีน lipase มากถึง 14 ยีน โดย 13 ยีนในนั้นเป็นยีนสำหรับสร้างเอนไซม์ lipase ที่หลั่งสู่นอกเซลล์ (extracellular lipase) [8] ใน *M. furfur* ที่เป็นเชื้อที่ใช้ศึกษาในครั้งนี้ ในฐานข้อมูล GenBank ปัจจุบันพบยีน lipase ทั้งสิ้น 6 ยีน (*LIP1-6*) โดยทั้งหมดเป็นยีนที่บันทึกข้อมูลเอนไซม์ lipase กลุ่ม LIP family แต่จากผลของ RT-PCR และ qPCR มีเพียง *LIP3-6* เท่านั้นที่พบว่ามีการแสดงออก และไม่พบว่ายีน lipase แต่ละยีนเหล่านี้มีการแสดงออกในระดับ transcription ที่แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดในแต่ละ pH หรือแต่ละระยะเวลาแต่อย่างใด ซึ่งชี้ว่ายีน *LIP3-6* มีการแสดงออกที่คงที่และไม่ได้รับผลกระทบจากค่า pH ของสภาพแวดล้อมเท่าใดนัก ซึ่งอาจคล้ายกับยีน *LIP1* ของ *M. globosa* ที่จะแสดงออกจะเปลี่ยนไปเมื่อซับสเตรทเปลี่ยนไป แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับระยะของการเจริญของเชื้อแต่อย่างใด [11] อย่างไรก็ตามเมื่อดูการแสดงออกในระดับโปรตีนหรือระดับ translation แล้วพบความแตกต่างอย่างชัดเจนของ lipase activity ที่แต่ละ pH โดยจากข้อมูลที่ได้ชี้ให้เห็นว่า เมื่อค่า pH สูงขึ้นถึงระดับเป็นด่างอ่อน (pH 8) ค่า extracellular lipase activity ได้เพิ่มขึ้น ในขณะที่ intracellular lipase activity ลดลง ในทำนองเดียวกันที่เมื่อค่า pH เป็นกรดอ่อน (pH 4) ค่า extracellular lipase activity ลดลง แต่ intracellular lipase activity สูงขึ้น สามารถสรุปได้ว่า ค่า pH ที่สูงขึ้นไปกระตุ้นการหลั่งเอนไซม์ lipase ในเซลล์ออกสู่นอกเซลล์ ซึ่งผู้วิจัยสันนิษฐานว่าการกระตุ้นการหลั่ง lipase นี้อาจเพื่อไปชดเชยการทำงานของเอนไซม์ lipase ที่เสียไปจากค่า pH ในสภาพแวดล้อมที่สูงขึ้น โดยหลั่งเอนไซม์ lipase ที่สะสมไว้ในเซลล์อยู่แล้ว และไม่ส่งผลถึงการแสดงออกระดับ transcription ของยีน ซึ่งกลไกและ pathway ของการหลั่งเอนไซม์ lipase

ที่ขึ้นกับค่า pH (pH dependent) นี้จำเป็นต้องศึกษากันในรายละเอียดต่อไป การค้นพบในรายงานวิจัยนี้มีความสำคัญในฐานะเป็นองค์ความรู้พื้นฐานที่จะนำไปสู่คำอธิบายว่าปัจจัยสิ่งแวดล้อมเช่นค่า pH มีผลต่อแฟคเตอร์สำคัญที่ก่อให้เกิดโรคของเชื้อ *Malassezia* อย่างไร และเป็นประโยชน์ในการพัฒนายารักษาโรคที่เกิดจากเชื้อ *Malassezia* ในอนาคต

มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ CHIANG MAI RAJABHAT UNIVERSITY