

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ชื่อโครงการวิจัย (ภาษาไทย) : ผลของเคอร์คิวมินต่อการแสดงออกของ iNOS, TNF- α และ IL-1 β ในหนู
 เบาหวานที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบ
 (ภาษาอังกฤษ): Effect of Curcumin on the expression of iNOS, TNF- α and
 IL-1 β in periodontitis-induced diabetic rats

1 9 พ.ย. 2555

งบประมาณเงินรายได้มหาวิทยาลัย ประจำปีงบประมาณ 2550

สารบัญ

| | หน้า |
|-------------------------------------|------|
| บทคัดย่อ | 1 |
| Abstract | 2 |
| บัญชีภาพประกอบ | 3 |
| บทที่ 1 บทนำ | 5 |
| บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยเกี่ยวข้อง | 14 |
| บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย | 25 |
| บทที่ 4 ผลการวิจัย | 29 |
| บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล | 60 |
| การอ้างอิง | 68 |
| ประวัติย่อผู้วิจัย | 75 |

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันเชื่อว่าโรคเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบมีความสัมพันธ์กันในเชิงแบบสองทาง จึงมีความพยายามอย่างมากในการศึกษาถึงผลของยาเพื่อนำมาใช้ในการป้องกันโรค การรักษาโรค และการลดภาวะแทรกซ้อนของโรคทั้งสอง โดยคาดหวังว่าหากสามารถทำการลดสถานะโรคในโรคหนึ่งได้ก็น่าจะส่งผลในการช่วยให้ภาวะโรคของอีกโรคหนึ่งดีขึ้นได้ ขมิ้นชันและสารสกัดสำคัญของสมุนไพรนี้ที่เรียกว่า เคอร์คิวมิน จัดเป็นสารที่กำลังได้รับความสนใจในการนำมาใช้รักษาโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคเบาหวาน ตามแนวทางการแพทย์แผนไทย

วัตถุประสงค์: การวิจัยนี้จึงมุ่งที่จะศึกษาผลของเคอร์คิวมินต่อการลดการอักเสบเฉพาะที่ที่บริเวณอวัยวะปริทันต์ของหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบ

ระเบียบวิธีวิจัย: โดยทำการศึกษาในหนูทดลอง 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบโดยการผูกด้วยไหมเย็บระหว่างฟันเพียงอย่างเดียว (PD) กลุ่มที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ด้วยการฉีดสารสเตريبโตโซโตซินร่วมกับสารนิโคตินาไมด์เพียงอย่างเดียว (DM) กลุ่มที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นทั้งสองโรคที่ได้รับเคอร์คิวมิน (DMPDC) และกลุ่มที่ไม่ได้รับเคอร์คิวมิน (DMPD) กลุ่มละ 10 ตัว ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับอวัยวะปริทันต์และการแสดงออกของ iNOS, TNF- α และ IL-1 β ในชิ้นเนื้อเยื่อของหนูแต่ละกลุ่มด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีที่ระยะเวลา 2, 4, 6 และ 12 สัปดาห์

ผลการวิจัย: พบการทำลายสันกระดูกเข้าฟันในหนูกลุ่ม PD, DMPD และ DMPDC โดยมีความรุนแรงขึ้นตามระยะเวลาที่ศึกษา พบลักษณะแนวยาวของเยื่อบุผิวเชื่อมต่อและมีจำนวนของเซลล์อักเสบกระจุกตัวอยู่หนาแน่นในกลุ่ม DMPDC เช่นเดียวกับกลุ่ม PD และ DMPD ในขณะที่กลุ่ม DM จะพบเซลล์อักเสบน้อยที่สุดและไม่พบการทำลายสันกระดูกเข้าฟัน ผลทางอิมมูโนฮิสโตเคมีพบเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกของทั้ง TNF, IL-1 และ iNOS ในหนูทุกกลุ่มทดลองในช่วงสัปดาห์ต้นๆ และมีจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีพบมากขึ้นเมื่อเวลาผ่านไปในหนูกลุ่ม PD และ DMPD ในขณะที่มีจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีพบน้อยลงในกลุ่ม DM และ DMPDC อย่างชัดเจน

สรุป: ผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า การได้รับเคอร์คิวมินจะสามารถลดการอักเสบที่บริเวณเนื้อเยื่อเยื่อได้เป็นอย่างดีในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นทั้งโรคเบาหวานชนิดที่ 2 และโรคปริทันต์อักเสบ แต่อาจไม่สามารถช่วยฟื้นฟูสภาพของอวัยวะปริทันต์ที่เกิดการสูญเสียไปจากการเป็นโรคปริทันต์อักเสบแล้วให้กลับคืนสภาพที่ปกติได้

Abstract

The association between periodontitis and diabetes has been discussed as two way relationship. Several drugs and chemical agents have been tested for their effectiveness in preventing and curing both diseases. Curcuma Longa and its active ingredient known as Curcumin have been interested in traditional systems of medicine as the anti-inflammatory drug used in Asian countries.

Objectives: The aim of this study is to examine the effect of administration of curcumin on the expression of IL-1 β , TNF- α and iNOS in the gingival tissues of streptozotocin-nicotinamide type 2 diabetes induced rats with periodontitis.

Materials and Methods: Ten male Wistar rats each with streptozotocin +nicotinamide induced diabetic rats (DM group), ligature induced periodontitis rats (PD group), induced diabetic rats with periodontitis received diet supplemented with 0.05% curcumin (w/w) (DMPDC group) and another group received diet without curcumin (DMPD group) were obtained in this study. The rats were sacrificed 2, 4, 6 and 12 weeks after induction of diabetes. The specimens of first maxillary molar area were evaluated histologically and gingival tissue immuno-histochemically stained sections were also performed for investigating expression of IL-1 β , TNF- α and iNOS.

Results: The periodontal destruction was markedly shown in PD, DMPD and DMPDC groups along with apically epithelial down growth and high intensity of inflammatory infiltrations. The DM group showed less inflammatory cells and intact periodontium. The TNF, IL-1 and iNOS staining cells expressed in all group and increased by duration of time in PD and DMPD groups, but clearly decreased in DM and DMPDC groups at 12 weeks.

Conclusions: The results suggest that curcumin could have potential benefits in reducing local inflammatory response involving periodontal destruction in type 2 diabetes mellitus rats, but unfortunately could not improve their reduced periodontium.

บัญชีภาพประกอบ

| | หน้า |
|-----------------|------|
| ภาพประกอบ 1 | 6 |
| ภาพประกอบ 2 | 16 |
| ภาพประกอบ 3 | 26 |
| ภาพประกอบ 4 | 28 |
| ภาพประกอบ 5 | 29 |
| ภาพประกอบ 6 | 30 |
| ภาพประกอบ 7 | 31 |
| ภาพประกอบ 8 | 32 |
| ภาพประกอบ 9 | 33 |
| ภาพประกอบ 10 | 33 |
| ภาพประกอบ 11 | 34 |
| ภาพประกอบ 12 | 34 |
| ภาพประกอบ 13-16 | 36 |
| ภาพประกอบ 17-20 | 39 |
| ภาพประกอบ 21-24 | 42 |
| ภาพประกอบ 25-28 | 45 |
| ภาพประกอบ 29 | 47 |
| ภาพประกอบ 30 | 48 |
| ภาพประกอบ 31 | 48 |
| ภาพประกอบ 32 | 49 |
| ภาพประกอบ 33 | 50 |
| ภาพประกอบ 34 | 51 |
| ภาพประกอบ 35 | 51 |
| ภาพประกอบ 36 | 52 |
| ภาพประกอบ 37 | 53 |

| | | |
|--------------|---|----|
| ภาพประกอบ 38 | การแสดงออกของอินดิคาเตอร์ในไตรกลีเซอไรด์ซินเทสในหนูกลุ่ม DM | 54 |
| ภาพประกอบ 39 | การแสดงออกของอินดิคาเตอร์ในไตรกลีเซอไรด์ซินเทสในหนูกลุ่ม DMPD | 54 |
| ภาพประกอบ 40 | การแสดงออกของอินดิคาเตอร์ในไตรกลีเซอไรด์ซินเทสในหนูกลุ่ม DMPDC | 55 |
| ภาพประกอบ 41 | กราฟแท่งแสดงจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกลบโดยเฉลี่ยของสารสื่อประสาททั้งสี่ในกลุ่มทดลอง 2 สัปดาห์ | 56 |
| ภาพประกอบ 42 | กราฟแท่งแสดงจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกลบโดยเฉลี่ยของสารสื่อประสาททั้งสี่ในกลุ่มทดลอง 4 สัปดาห์ | 56 |
| ภาพประกอบ 43 | กราฟแท่งแสดงจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกลบโดยเฉลี่ยของสารสื่อประสาททั้งสี่ในกลุ่มทดลอง 6 สัปดาห์ | 57 |
| ภาพประกอบ 44 | กราฟแท่งแสดงจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกลบโดยเฉลี่ยของสารสื่อประสาททั้งสี่ในกลุ่มทดลอง 12 สัปดาห์ | 57 |
| ภาพประกอบ 45 | กราฟแสดงแนวโน้มการแสดงออกของอินดิคาเตอร์ลิควิน-1 เบตาในกลุ่มทดลองทั้งสี่กลุ่มเปรียบเทียบตามระยะเวลา | 58 |
| ภาพประกอบ 46 | กราฟแสดงแนวโน้มการแสดงออกของทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาในกลุ่มทดลองทั้งสี่กลุ่มเปรียบเทียบตามระยะเวลา | 58 |
| ภาพประกอบ 47 | กราฟแสดงแนวโน้มการแสดงออกของอินดิคาเตอร์ในไตรกลีเซอไรด์ซินเทสในกลุ่มทดลองทั้งสี่กลุ่มเปรียบเทียบตามระยะเวลา | 59 |
| ภาพประกอบ 48 | แสดงกลไกของของสเตรปโตโซโทซินในระดับเซลล์โดยเป็นสารตั้งต้นของไนตริกออกไซด์ (NO) | 61 |
| ภาพประกอบ 49 | แสดงที่มาของไนโคตินามายด์ | 63 |
| ภาพประกอบ 50 | แสดงปัจจัยในเรื่องสารสื่อประสาทของโรคเบาหวานที่สร้างความรุนแรงต่อโรคปริทันต์อักเสบ | 66 |

บทที่ 1

บทนำ

โรคเบาหวานเกิดจากความผิดปกติในระบบเมตาบอลิซึมของสารจำพวกคาร์โบไฮเดรต ไขมัน และ โปรตีน โดยพบความผิดปกติของการหลั่งหรือการทำงานของอินซูลิน ส่งผลกระทบต่อการนำ คาร์โบไฮเดรตประเภทกลูโคสไปใช้ประโยชน์ในร่างกาย ผู้ป่วยที่เป็นโรคดังกล่าวมักจะมีภาวะการมี น้ำตาลในเลือดสูงเกินปกติ (hyperglycemia) ในปี 1999 American Diabetes Association ได้แบ่ง โรคเบาหวาน ออกเป็น 4 ชนิด ดังนี้

เบาหวานชนิดที่ 1 เกิดจาก beta cell ของตับอ่อนถูกทำลาย โดยมากมักพบผู้ป่วยตั้งแต่อายุ ยังน้อย มีอาการรุนแรงกว่าโดยร่างกายไม่สามารถผลิตอินซูลิน ได้เลย

เบาหวานชนิดที่ 2 เป็นผลจากความผิดปกติของอินซูลินเองหรือความบกพร่องของตัวรับ (receptor) ทำให้การทำงานของอินซูลินสูญเสียไปและเกิดภาวะต้านทานต่ออินซูลิน (insulin resistance)

โรคเบาหวานขณะตั้งครรภ์ (gestational diabetes mellitus) มักพบว่าผู้ป่วยจะมีระดับ น้ำตาลในเลือดไม่คงที่โดยเกิดร่วมกับภาวะตั้งครรภ์ ผู้ป่วยในกลุ่มนี้มีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคเบา หวานชนิดที่ 2 เพิ่มขึ้น

ชนิดจำเพาะอื่นๆ (other specific types) เป็นชนิดที่พบน้อย เกิดจากสาเหตุเช่นความ บกพร่องทางพันธุกรรมของ beta cell ในตับอ่อนหรือด้านการทำงานของอินซูลิน การมีโรคทางระบบ ร่วมด้วย เช่น โรคทางระบบต่อมไร้ท่อที่ทำให้ระดับเอนไซม์บางตัวไม่สมดุลแล้วส่งผลต่อระดับน้ำตาล ในเลือด⁽⁴⁶⁾

แม้จะมีความแตกต่างในเรื่องสาเหตุแต่เมื่อเป็นในระยะเวลานานมักเกิดภาวะแทรกซ้อนต่อร่างกาย เช่น ระบบไหลเวียนโลหิต ระบบประสาท เป็นต้น

ในขณะที่โรคปริทันต์อักเสบเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในคราบจุลินทรีย์ ก่อให้เกิดการ อักเสบของอวัยวะปริทันต์ พบการทำลายอวัยวะรองรับฟัน ทั้งในส่วนของเหงือกจนถึงมีการทำลาย ของกระดูกรองรับฟัน ผู้ป่วยจะทุกข์ทรมานจากการอักเสบ เหงือกบวม เป็นหนอง พบฟันโยกซึ่งอาจ เป็นเฉพาะที่หรือพบได้ทั่วช่องปาก^(4,5)

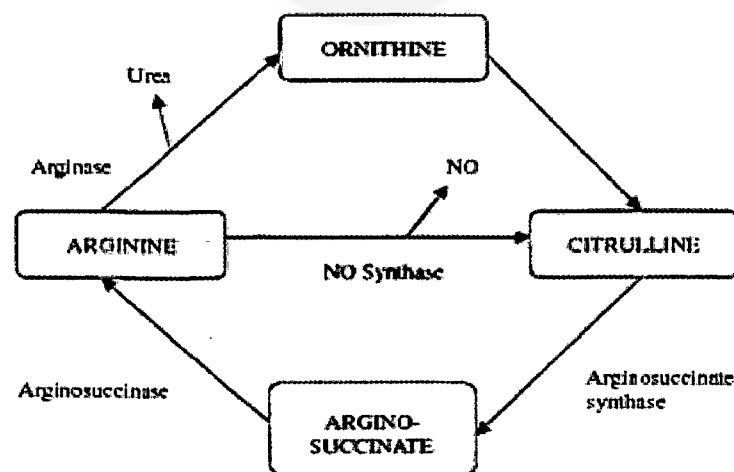
ขณะเกิดการรุกรานของเชื้อแบคทีเรียจากโรคปริทันต์ จะมีการหลั่งสารสื่ออักเสบ (inflammatory mediators) ซึ่งเป็นกระบวนการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันปกติของร่างกายหรือ innate immune response ช่วยต้านการรุกรานจากเชื้อแบคทีเรีย แต่เมื่อใดก็ตามที่มีการหลั่งสารเหล่านี้มากเกินไป ร่างกายมีการตอบสนองโดยการหลั่งสารอักเสบดังกล่าว เช่น tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6) ซึ่งโดยส่วนใหญ่แล้วกลไกของสารอักเสบดังกล่าวมี บทบาททั้งในเรื่องการละลายของกระดูก (bone resorption) การทำลายเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue destruction) ตลอดจนกลไกของการเกิด apoptosis⁽⁶⁾

Interleukin-1 (IL-1) เป็น proinflammatory cytokine ที่ออกฤทธิ์กว้างและเกี่ยวข้องกับการ อักเสบโดยตรง สามารถ upregulate adhesion molecules ทำให้เกิด inflammatory infiltration กระตุ้นการหลั่ง prostaglandin E2 (PGE2), Matrix metallo proteinase (MMPs) และการสร้าง

osteoclast เกิดการสูญเสียกระดูกตามมา⁽⁶⁾ โดยปกติแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ IL-1 α และ IL-1 β จากการศึกษาของ Jandinski และ Stashenko (1991) พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของระดับ IL-1 β อย่างมีนัยสำคัญในผู้ป่วยโรคปริทันต์ที่มีการสูญเสีย attachment ไปอย่างรวดเร็ว^(7,8) หรือในผู้ป่วยที่เป็น active periodontitis จะมีระดับ IL-1 β ใน GCF ที่สูงขึ้น⁽⁹⁻¹²⁾ พบว่าผู้ป่วยที่มี IL-1 genotype จะมีความเสี่ยงต่อโรคปริทันต์อักเสบมากกว่าคนปกติและเมื่อมีการขัดขวาง receptor ต่อ IL-1 และ TNF- α พบว่าสามารถลดระดับ bone loss และ osteoclast formation ได้ถึง 60 และ 67% ตามลำดับ⁽¹³⁾

ในขณะที่ TNF- α ออกฤทธิ์กว้างและคล้ายกับ IL-1 แต่เด่นในกระบวนการ apoptosis หรือ program cell death มีการทดลองใช้ IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) และ TNF antagonist พบว่าสามารถยับยั้งกระบวนการ signal transduction ส่งผลให้การทำลายอวัยวะปริทันต์ลดลง^(14,15) และพบว่าเมื่อมีการยับยั้ง IL-1 และ TNF antagonist จะทำให้เกิดกระบวนการอักเสบรุนแรงขึ้น เกิดการรวมกลุ่มกันของ osteoclast และทำให้เกิดการทำลาย periodontal attachment และกระดูก

ส่วน nitric oxide (NO) เป็นสารอนุมูลอิสระ มีบทบาทในการเกิดพยาธิสภาพของร่างกายสัมพันธ์กับกระบวนการอักเสบ ถูกสร้างจากเอ็นไซม์ nitric oxide synthase (NOS) โดยเป็นผลิตภัณฑ์ขณะที่มีการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนแอล-อาร์จินีน (L-arginine) ไปเป็นซิทรูลีน (citrulline) ซึ่ง NOS แบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ nNOS, eNOS และ iNOS หรือ inducible nitric oxide ซึ่งชนิดสุดท้ายผลิต nitric oxide มากที่สุด⁽¹⁶⁾ iNOS จะผลิต NO ความเข้มข้นสูงเมื่อได้รับการกระตุ้นให้เกิดการอักเสบโดย lipopolysaccharide ของแบคทีเรีย⁽¹⁷⁾ ปัจจัยอื่นๆที่กระตุ้นการหลั่งเอ็นไซม์ชนิดนี้ได้แก่สารอักเสบอย่าง Interferon- γ , TNF- α , IL-1, IL-10, IL-12, platelet activating factor (PAF) และ nuclear factor- κ B⁽¹⁶⁾ NO เป็นสารที่มีช่วงอายุสั้นแต่ก็สามารถทำให้เกิดกระบวนการ lipid peroxidation, การทำลาย protein และ DNA ตลอดจนกระตุ้นการหลั่งสารอักเสบต่างๆ⁽¹⁶⁾ การเพิ่มขึ้นของระดับ NO พบได้ในกระบวนการอักเสบของร่างกายทั้ง arthritis, colitis^(18,19) รวมถึงโรคเบาหวาน และเมื่อทดลองในสัตว์ทดลองพบว่าเมื่อฉีดยาต้าน iNOS ซึ่งเป็นสารประเภท mercaptoalkylguanidines (MEGs) จะสามารถลดการอักเสบ, haemorrhagic shock และ arthritis score ได้⁽²⁰⁻²²⁾



ภาพประกอบ 1 ต้นกำเนิดของไนตริกออกไซด์ซินเทส

ที่มา: Gullu C, Ozmeric N, Tokman B, Elgun S, Balos K. Effectiveness of scaling and root planing versus modified Widman flap on nitric oxide synthase and arginase activity in patients with chronic periodontitis. J Periodontal Res. 2005 Apr;40(2):168-75.

มีหลายการศึกษาพบว่า NO มีบทบาทสำคัญต่อโรคเบาหวานทั้ง 2 ชนิด โดยพบว่าขณะเป็นโรคเบาหวานร่างกายจะมีการผลิต NO ออกมาเป็นจำนวนมาก สารดังกล่าวร่วมกับ IL-1 จะยับยั้งการทำงานของ beta cell ในการผลิตอินซูลินนำไปสู่ภาวะต้านต่ออินซูลิน⁽²³⁻²⁵⁾ และส่งผลให้เกิดภาวะแทรกซ้อนของระบบหลอดเลือดจากการทำงานที่ผิดปกติไปของระบบไหลเวียนโลหิต⁽²⁶⁾

เมื่อมีการตรวจระดับ nitric oxide metabolites, TNF- α , IL-2RP ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 พบว่ามีระดับ NO activities และ TNF- α สูงกว่ากลุ่มคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ⁽²⁷⁾ และเมื่อทดลองฉีด thiazolidinediones ซึ่งเป็นอินซูลินชนิดหนึ่ง พบว่าเข้าไปยับยั้งกระบวนการของ iNOS ทำให้ภาวะแทรกซ้อนที่เกิดจากโรคเบาหวานลดลง⁽²⁸⁾

มีการทดสอบระดับ iNOS ในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์ (ligature-induced periodontitis) พบว่ามีระดับ NO สูงขึ้นและเมื่อฉีดสารต้าน iNOS ประเภท MEGs พบว่ามีภาวะกระดูกลดน้อยลง⁽²⁹⁾ และในปี 2000 Lappin และคณะตรวจสอบระดับ iNOS ในกลุ่มผู้ป่วยที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมโดยการตัดชิ้นเนื้อตรวจทางอิมมูโนฮิสโตเคมี พบว่าผู้ป่วยที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบจะมีระดับ iNOS ที่สูงกว่ากลุ่มควบคุม กล่าวโดยสรุปก็คือ NO เป็น inflammatory marker ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการอักเสบของโรคปริทันต์อักเสบ⁽³⁰⁾

ปัจจุบันเราทราบว่าโรคปริทันต์อักเสบมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับสถานะของโรคเบาหวานทั้ง 2 ชนิด โดยพบว่าผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานจะมีความชุกและความรุนแรงของโรคปริทันต์อักเสบบวกกว่าคนปกติ และหากผู้ป่วยควบคุมระดับน้ำตาลไม่ได้จะเกิดการทำลายอวัยวะปริทันต์ที่รุนแรงขึ้น การเปลี่ยนแปลงระบบภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยเบาหวานเป็นสาเหตุสำคัญทำให้การทำลายของอวัยวะปริทันต์รุนแรง การทำงานที่ผิดปกติของ Immune cell อันได้แก่ neutrophil, monocyte และ macrophage จะสามารถพบได้ในผู้ป่วยเบาหวาน มักพบว่า neutrophil มีความบกพร่องในกระบวนการ adhesion, chemotaxis และ phagocytosis ทำให้การทำลายเชื้อแบคทีเรียจากโรคปริทันต์อักเสบไม่ดีเท่าที่ควร ในขณะที่ monocyte และ macrophage จะตอบสนองต่อการรุกรานของแบคทีเรียโดยการหลั่งสารอักเสบที่มากขึ้น เช่น TNF- α และ IL-1 β เป็นต้น ทำให้การทำลายอวัยวะปริทันต์รุนแรงขึ้น^(1,2)

ความรุนแรงของโรคปริทันต์อักเสบในผู้ป่วยเบาหวานยังสัมพันธ์กับ connective tissue metabolism ด้วย โดยพบว่าผู้ป่วยเบาหวานจะมีความสามารถในการสร้างและซ่อมแซมกระดูกจะลดน้อยลง เนื่องจากเซลล์ fibroblast และ osteoblast จะเข้าสู่กระบวนการ apoptosis มากขึ้น นอกจากนี้ในผู้ป่วยที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูง โปรตีนจะเปลี่ยนแปลงเป็น advanced glycation end products (AGEs) สะสมในรูป AGE-modified collagen ซึ่งส่งผลต่อคุณภาพของกระดูกของผู้ป่วย หลายการวิจัยมุ่งความสนใจในเรื่อง AGEs และ Receptor (RAGEs) โดยพบว่าสัมพันธ์กับการหลั่งสารสื่ออักเสบซึ่งส่งผลให้ความรุนแรงของโรคปริทันต์ได้⁽¹⁾

จากการศึกษานำร่องในหนูเบาหวาน streptozotocin-induced diabetes rats ของณรงค์ศักดิ์และคณะ (2006)⁽³³⁾ พบว่าหนูเบาหวานจะมีการอักเสบบริเวณเนื้อเยื่อปริทันต์และระดับการ

ทำลายกระดูกมากกว่ากลุ่มควบคุม แม้ว่าจะไม่มีการเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบแต่อย่างใด และเมื่อตรวจทางอิมมูโนฮิสโตเคมีพบว่าระดับ iNOS และ TNF- α จะพบเฉพาะกลุ่มหนูที่เป็นเบาหวาน บริเวณที่แสดงการอักเสบอยู่

จากข้อมูลข้างต้น โรคเบาหวานเป็นโรคทางระบบที่มีภาวะแทรกซ้อนต่างๆซึ่งรวมถึงโรคปริทันต์อักเสบเป็นเป้าหมายหนึ่งในการศึกษาถึงยารักษาโรคหรือการป้องกันโรคและภาวะแทรกซ้อนดังกล่าว สมุนไพรขมิ้นชัน (*curcuma longa L.*) หรือเคอร์คิวมินเป็นสมุนไพรตัวหนึ่งที่ถูกนำมาใช้รักษาโรคต่างๆ มีการศึกษาถึงผลของการรับประทานสมุนไพรดังกล่าวต่อการต้านเชื้อแบคทีเรียในกระเพาะอาหาร การลดการอักเสบ (35,36) ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด (41,42) การลด oxidative stress และเพิ่ม antioxidant โดยพบว่าหนูเบาหวานที่ทาน tetrahydrocurcumin (THC) เป็นระยะเวลาานจะมีระดับอินซูลินและ plasma antioxidant glutathione เพิ่มขึ้นส่งผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดและกระบวนการ lipid peroxidation ลดลง (37,38,42) นอกจากนี้เคอร์คิวมินยังช่วยลดภาวะแทรกซ้อนต่อระบบหัวใจและหลอดเลือดจากโรคเบาหวาน (39,40,44) ในหลายการศึกษาพบว่าเคอร์คิวมินออกฤทธิ์ยับยั้งสารสื่ออักเสบหลายชนิดเช่น NFkappaB, cyclooxygenase-2 (COX-2), lipooxygenase (LOX), inducible nitric oxide synthase (36,45) โดยสามารถลดระดับ TNF, IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12 และออกฤทธิ์ยับยั้ง transcription factor ของ NFkappaB (42,43,45) ในขณะที่พบว่ายังไม่มีการศึกษาใดที่แสดงผลของเคอร์คิวมินต่อการอักเสบของอวัยวะปริทันต์ทั้งขณะเป็นโรคปริทันต์อักเสบเพียงอย่างเดียวและโรคปริทันต์อักเสบร่วมกับโรคเบาหวานมาก่อน

ดังนั้นเคอร์คิวมินจึงถูกนำมาทดสอบถึงคุณสมบัติในการลดการอักเสบของอวัยวะปริทันต์ในหนูเบาหวานที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบในการศึกษานี้ โดยมุ่งดูการแสดงออกของ inflammatory marker อันได้แก่ iNOS, TNF- α และ IL-1 β เปรียบเทียบกันระหว่างหนูเบาหวานที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบที่ทานเคอร์คิวมิน หนูเบาหวานที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบที่ไม่ได้ทานเคอร์คิวมิน หนูที่เป็นเบาหวานเพียงอย่างเดียว และหนูที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบเพียงอย่างเดียว

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อศึกษาเปรียบเทียบระดับ iNOS, TNF- α และ IL-1 β ในหนูเบาหวานที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบ กับหนูเบาหวาน และหนูที่ไม่ได้เป็นเบาหวานที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบ และดูผลของสมุนไพรขมิ้นชันต่อระดับ inflammatory marker ดังกล่าวในหนูเบาหวานที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบ และหนูที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบเพียงอย่างเดียว

สมมติฐานของการวิจัย

ระดับของ iNOS, IL-1 β และ TNF- α ในหนูเบาหวานที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคปริทันต์อักเสบมีค่าสูงกว่ากลุ่มหนูเบาหวานที่ไม่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบ และสมุนไพรขมิ้นชันมีผลช่วยลดการแสดงออกของ inflammatory marker ดังกล่าวได้ในหนูเบาหวานที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบถึงบทบาทของ iNOS ซึ่งเป็น inflammatory marker ที่สำคัญ ในขณะที่เป็นโรคเบาหวานร่วมกับโรคปริทันต์อักเสบ และผลของสมุนไพรขมิ้นชันในการช่วยลดการอักเสบเพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาการรักษาโรคปริทันต์อักเสบที่เป็นเบาหวานร่วมด้วยโดยใช้เป็นยา local delivery drug ใส่งในร่องเหงือก

หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

หน่วยงานวิจัยด้านสาธารณสุข โดยเฉพาะกลุ่มงานเวชศาสตร์การแพทย์ ในการหาทางรักษาและป้องกันโรคปริทันต์อักเสบขณะเป็นเบาหวานโดยมุ่งเน้นการใช้สมุนไพรขมิ้นชันเป็นยารักษาโรค

การวิจัยที่เกี่ยวข้อง และคล้ายคลึงกับงานวิจัยครั้งนี้

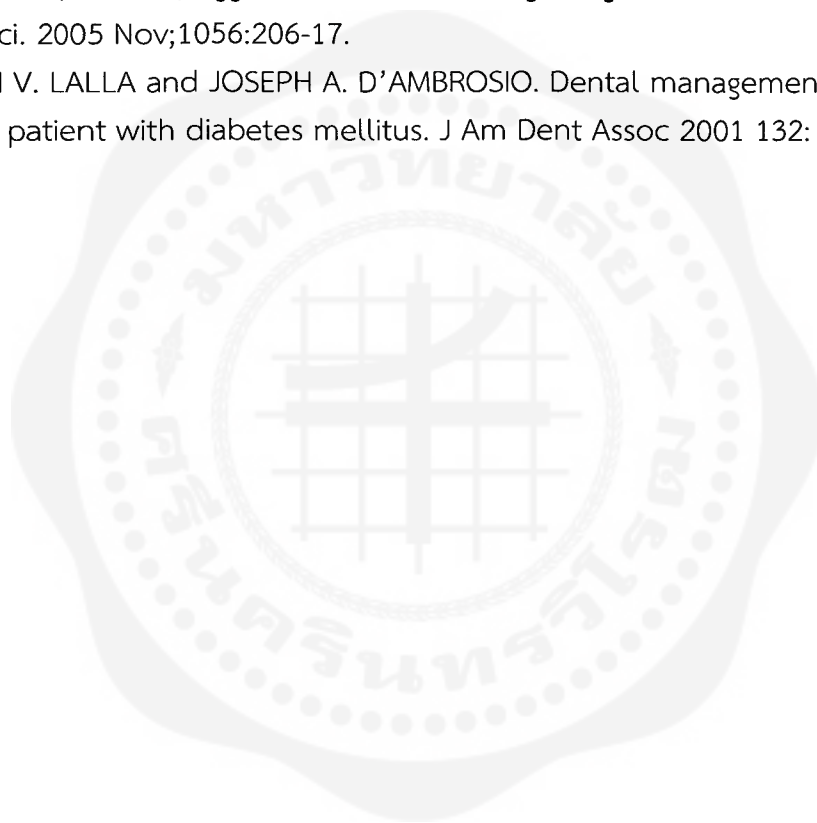
การศึกษาค้นคว้าที่เกี่ยวข้องและคล้ายคลึงกับงานวิจัยครั้งนี้ ได้แก่การศึกษาของ Zhang และคณะ (2003) ⁽³¹⁾ ทดลองวัดระดับ TNF- α ในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานโดยการฉีด streptozotocin เข้าที่บริเวณหน้าท้อง และทำการผูกไหมที่บริเวณฟันกรามเพื่อสร้างภาวะของโรคปริทันต์อักเสบ วัดระดับ TNF- α โดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีที่เวลา 12 สัปดาห์พบว่า มีระดับสารสื่ออักเสบดังกล่าวสูงกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับหนูที่ไม่เป็นโรคปริทันต์อักเสบ

การศึกษาของ Liu และคณะ (2006) ⁽³²⁾ ทดลองในหนู Zucker diabetic fatty (ZDF) rat ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์โดยการผูกไหม P.gingivalis ที่บริเวณฟันกรามบน พบว่าหนูที่เบาหวานที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคปริทันต์เกิด inflammatory infiltrate มากกว่าหนูเบาหวานที่ไม่เป็นโรคปริทันต์ และพบมีการทำลายกระดูกมากกว่าและเกิดการยับยั้ง osteoblast ในการสร้างกระดูกใหม่

16. Brennan PA, Thomas GJ, Langdon JD. The role of nitric oxide in oral diseases. *Arch Oral Biol.* 2003;48(2):93-100.
17. Southan GJ, Szabo C. Selective pharmacological inhibition of distinct nitric oxide synthase isoforms (Abstract). *Biochem Pharmacol.* 1996;51(4):383-94.
18. Boughton-Smith NK, Evans SM, Hawkey CJ, Cole AT, Balsitis M, Whittle BJ. Nitric oxide synthase activity in ulcerative colitis and Crohn's disease(Abstract).*Lancet.* 1993;342(8867):338-40.
19. Middleton SJ, Shorthouse M, Hunter JO. Increased nitric oxide synthesis in ulcerative colitis (Abstract). *Lancet.* 1993;341(8843):465-6.
20. Zingarelli B, Southan GJ, Gilad E, O'Connor M, Salzman AL, Szabo C. The inhibitory effects of mercaptoalkylguanidines on cyclo-oxygenase activity(Abstract). *Br J Pharmacol.* 1997;120:357-366
21. Brahn E, Banquerigo ML, Firestein GS, Boyle DL, Salzman AL, Szabo C. Collagen induced arthritis: reversal by mercaptoalkylguanidines, a novel anti-inflammatory agent with a combined mechanism of action (Abstract). *J Rheumatol* 1998;25:1785-1793
22. Cuzzocrea S, Zingarelli B, Hake P, Salzman AL, Szabo C. Antiinflammatory effects of mercaptoethylguanidine, a combined inhibitor of nitric oxide synthase and peroxynitrite scavenger, in carrageenan-induced models of inflammation(Abstract). *Free Radic Biol Med.* 1998;24(3):450-9.
23. Kaneki M, Shimizu N, Yamada D, Chang K. Nitrosative Stress and Pathogenesis of Insulin Resistance (Abstract). *Antioxid Redox Signal.* 2007 Jan 1.
24. Eizirik DL, Flodstrom M, Karlens AE, Welsh N. The harmony of the spheres: inducible nitric oxide synthase and related genes in pancreatic beta cells (Abstract). *Diabetologia.* 1996;39(8):875-90.
25. Eizirik DL, Leijerstam F. The inducible form of nitric oxide synthase (iNOS) in insulin-producing cells (Abstract). *Diabete Metab.* 1994;20(2):116-22.
26. Kitayama J, Faraci FM, Gunnett CA, Heistad DD. Impairment of dilator responses of cerebral arterioles during diabetes mellitus: role of inducible NO synthase (Abstract). *Stroke.* 2006;37(8):2129-33.
27. Pereira FO, Frode TS, Medeiros YS. Evaluation of tumour necrosis factor alpha, interleukin-2 soluble receptor, nitric oxide metabolites, and lipids as inflammatory markers in type 2 diabetes mellitus. *Mediators Inflamm.* 2006(1):39062.
28. Da Ros R, Assaloni R, Ceriello A. The preventive anti-oxidant action of thiazolidinediones: a new therapeutic prospect in diabetes and insulin resistance (Abstract). *Diabet Med.* 2004;21(11):1249-52.

29. Lohinai Z, Benedek P, Feher E, Gyorfı A, Rosivall L, Fazekas A. Protective effects of mercaptoethylguanidine, a selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase, in ligature-induced periodontitis in the rat (Abstract). *Br J Pharmacol.* 1998;123(3): 353-60
30. Lappin DF, Kjeldsen M, Sander L, Kinane DF. Inducible nitric oxide synthase expression in periodontitis. *J Periodontal Res.* 2000 Dec;35(6):369-73.
31. Zhang YM, Su Y, Jin ZQ. Research on histologic changes of periodontal tissue, testification of TNF-alpha and their relationship in diabetics rats(Abstract). *Shanghai Kou Qiang Yi Xue.* 2003 Oct;12(5) :352-5.
32. Liu R, Bal HS, Desta T, Krothapalli N, Alyassi M, Luan Q. Diabetes enhances periodontal bone loss through enhanced resorption and diminished bone formation. *J Dent Res.* 2006 Jun;85(6):510-4.
33. Laosrisin N, Sappayatosok K, Anupunpisit .Periodontal destruction pattern and immunolocalization of TNF- α and iNOS in streptozotozin-induced diabetes rats. (Abstract No. 5008).2006
34. Gullu C, Ozmeric N, Tokman B, Elgun S, Balos K. Effectiveness of scaling and root planing versus modified Widman flap on nitric oxide synthase and arginase activity in patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res.* 2005 Apr;40(2):168-75.
35. คณะกรรมการแห่งชาติด้านยา. บัญชียาจากสมุนไพร พ.ศ.2549. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย;2549
36. Bengmark S. Curcumin, an atoxic antioxidant and natural NFkappaB, cyclooxygenase-2, lipooxygenase, and inducible nitric oxide synthase inhibitor: a shield against acute and chronic diseases(Abstact). *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2006 Jan-Feb;30(1):61-2.
37. Murugan P, Pari L. Antioxidant effect of tetrahydrocurcumin in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Life Sci.* 2006 Sep 27;79(18):1720-8. Epub 2006 Jun 9.
38. Murugan P, Pari L. Effect of tetrahydrocurcumin on plasma antioxidants in streptozotocin-nicotinamide experimental diabetes. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2006;17(4):231-44.
39. Ramaswami G, Chai H, Yao Q, Lin PH, Lumsden AB, Chen C. Curcumin blocks homocysteine-induced endothelial dysfunction in porcine coronary arteries. *J Vasc Surg.* 2004 Dec;40(6):1216-22.
40. Mohanty I, Arya DS, Gupta SK. Effect of *Curcuma longa* and *Ocimum sanctum* on myocardial apoptosis in experimentally induced myocardial ischemic-reperfusion injury. *BMC Complement Altern Med.* 2006 Feb 19;6:3.

41. Arun N, Nalini N. Efficacy of turmeric on blood sugar and polyol pathway in diabetic albino rats(Abstract). *Plant Foods Hum Nutr.* 2002 Winter;57(1):41-52.
42. Sharma S, Kulkarni SK, Chopra K. Curcumin, the active principle of turmeric (*Curcuma longa*), ameliorates diabetic nephropathy in rats(Abstract). *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2006 Oct;33(10):940-5.
43. Jagetia GC, Aggarwal BB. "Spicing up" of the immune system by curcumin. *J Clin Immunol.* 2007 Jan;27(1):19-35. Epub 2007 Jan 9.
44. Farhangkhoei H, Khan ZA, Chen S, Chakrabarti S. Differential effects of curcumin on vasoactive factors in the diabetic rat heart. *Nutr Metab (Lond).* 2006 Jul 18;3:27
45. Shishodia S, Sethi G, Aggarwal BB. Curcumin: getting back to the roots. *Ann N Y Acad Sci.* 2005 Nov;1056:206-17.
46. RAJESH V. LALLA and JOSEPH A. D'AMBROSIO. Dental management considerations for the patient with diabetes mellitus. *J Am Dent Assoc* 2001 132: 1425-32.



บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และได้นำเสนอตามหัวข้อต่อไปนี้

1. พยาธิกำเนิดและอาการของโรคเบาหวานชนิดที่ 1 และ 2
2. ระบาดวิทยาของโรคเบาหวาน
3. ผลกระทบของโรคเบาหวานต่อโรคปริทันต์อักเสบ
4. ผลกระทบของโรคปริทันต์อักเสบต่อโรคเบาหวาน
5. ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายในผู้ป่วยโรคเบาหวาน
6. บทบาทของสารสื่ออักเสบในโรคเบาหวาน
7. กลไกของสารสื่ออักเสบในโรคปริทันต์อักเสบ
8. บทบาทของไนตริกออกไซด์ในโรคเบาหวาน
9. บทบาทของไนตริกออกไซด์ในโรคปริทันต์อักเสบ
10. บทบาทของสารสื่ออักเสบและไนตริกออกไซด์ในโรคปริทันต์อักเสบที่สัมพันธ์กับโรคเบาหวาน

1. พยาธิกำเนิดและอาการของโรคเบาหวานชนิดที่ 1 และ 2 (American Diabetes Association ปี 1999) [2-4]

เบาหวานชนิดที่ 1 ในอดีตเรียกว่า insulin-dependent diabetes เกิดจากเบตาเซลล์ของตับอ่อนถูกทำลายทำให้ร่างกายไม่สามารถผลิตอินซูลินได้เลย โดยมากมักพบผู้ป่วยตั้งแต่อายุน้อย เมื่อร่างกายเกิดภาวะขาดอินซูลิน น้ำตาลไม่สามารถเข้าไปในเซลล์เพื่อให้พลังงานได้ จึงตกค้างในเลือดจนเกิดภาวะปริมาณน้ำตาลในเลือดสูง ส่วนเซลล์เมื่อไม่ได้รับน้ำตาลก็ต้องหาแหล่งพลังงานใหม่มาทดแทน จึงหันไปย่อยสลายไขมันและโปรตีนเพื่อให้ได้พลังงาน กระบวนการสลายไขมันในระบบนี้จะทำให้เกิด สารคีโตน (ketone) ซึ่งมีฤทธิ์เป็นกรดและเป็นพิษต่อร่างกายออกมาด้วย

ปกติการย่อยสลายไขมันและโปรตีนเกิดอย่างช้าๆทำให้สารคีโตนในร่างกายอยู่ในปริมาณที่ควบคุมได้ แต่ในกรณีของผู้ป่วยเบาหวานชนิดนี้ อัตราการสลายไขมันจะเกิดขึ้นเร็วมาก ทำให้มีสารคีโตนค้างอยู่ในกระแสเลือด จึงเกิดภาวะการคั่งในเลือดของสารคีโตน (diabetes ketoacidosis)

อาการของภาวะกรดคั่งในเลือดจากสารคีโตนนั้น คือ หายใจหอบลึก เมื่อหายใจออกมาจะมีกลิ่นเหม็นผลไม้ ชีพจรเต้นเร็ว คลื่นไส้-อาเจียน ระดับความรู้สึกตัวจะค่อยๆ ลดลง ถ้าไม่ได้รับการรักษาทันท่วงทีจะช็อกหมดสติจากภาวะกรดคั่งในเลือดได้ อาการที่เกิดขึ้นนี้มักเป็นอย่างรุนแรงและเกิดขึ้นโดยกะทันหัน

เบาหวานชนิดที่ 2 เป็นผลจากความผิดปกติของอินซูลินเองหรือความบกพร่องของตัวรับ ทำให้การทำงานของอินซูลินสูญเสียไปและเกิดภาวะต้านทานต่ออินซูลิน (insulin resistance) พบได้บ่อยในผู้สูงอายุที่มีอายุมากกว่า 40 ปีขึ้นไป และจะมีอัตราการป่วยที่เพิ่มขึ้นตามสัดส่วนอายุ

นอกจากอายุแล้วกรรมพันธุ์เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเป็นเบาหวานชนิดนี้ โดยเฉพาะผู้ที่มีญาติสายตรงเป็นโรคเบาหวานและเมื่ออายุมากขึ้นโอกาสที่จะเป็นโรคเบาหวานก็ยิ่งสูงขึ้น

เบาหวานชนิดที่ 2 นี้ตัวย่อจะสามารถสร้างอินซูลินได้ แต่ปริมาณที่ได้ก็ไม่เพียงพอต่อความต้องการหรืออีกกรณีหนึ่งอาจเกิดจากเซลล์ร่างกายเกิดภาวะต้านทานต่ออินซูลิน ภาวะเช่นนี้จึงไม่ได้ทำให้ร่างกายขาดอินซูลินโดยสิ้นเชิงเหมือนผู้ที่เบาหวานชนิดที่ 1 ดังนั้นผู้ที่เบาหวานชนิดที่ 2 บางรายจึงอาจไม่มีอาการแสดงออกของโรคเลย หรืออาจจะมีอาการแบบค่อยเป็นค่อยไป จนถึงขั้นแสดงอาการรุนแรง หหมดสติและเสียชีวิตได้

1.1 อาการ

ผู้ป่วยจะมีอาการปัสสาวะบ่อย กระหายน้ำ ตื่นน้ำบ่อย ออยากอาหารบ่อย อ่อนเพลีย ในบางรายอาจสังเกตว่าปัสสาวะมีมดขึ้น

ในรายที่เป็นเบาหวานชนิดที่ 1 อาการต่าง ๆ มักเกิดขึ้นรวดเร็วร่วมกับน้ำหนักตัวลดลง กินเวลาเป็นเพียงสัปดาห์หรือเดือน ในเด็กอาจมีอาการปัสสาวะรดที่นอนตอนกลางคืน

ในรายที่เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 อาการมักค่อยเป็นค่อยไป น้ำหนักตัวอาจลดบ้างเล็กน้อย บางรายอาจมีน้ำหนักขึ้นหรือรูปร่างอ้วน ผู้หญิงบางคนอาจมาพบแพทย์ด้วยอาการคันตามช่องคลอดหรือตกขาว ในรายที่เป็นไม่มาก อาจไม่มีอาการผิดปกติอย่างชัดเจน และตรวจพบโดยบังเอิญจากการตรวจปัสสาวะหรือตรวจเลือดขณะที่ไปหาแพทย์ด้วยสาเหตุโรคอื่น บางครั้งอาจมีอาการคันตามตัว เป็นฝีบ่อยหรือเป็นแผลเรื้อรังรักษาหายช้า

ผู้ป่วยที่เป็นมานานโดยไม่ได้รับการรักษา อาจมาพบแพทย์ด้วยภาวะแทรกซ้อนต่าง ๆ เช่น ชาหรือปวดแสบปวดร้อนตามปลายมือปลายเท้า ตาพร่ามัว เป็นต้น

1.2 ภาวะแทรกซ้อน (complications)

โรคเบาหวานสามารถทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนหลายชนิดโดยมักจะเกิดเมื่อเป็นโรคเบาหวานมานานไม่ได้รับการรักษาอย่างจริงจัง หรือปล่อยปละละเลย ได้แก่

1. ตา อาจเป็นต้อกระจก ประสาทตาหรือจอประสาทตา (retina) เสื่อม หรือเลือดออกในน้ำวุ้นลูกตา (vitreous hemorrhage) ทำให้มีอาการตามัวลงเรื่อย ๆ หรือมองเห็นจุดดำลอยไปลอยมา และอาจทำให้ตาบอดในที่สุด

2. ระบบประสาท ผู้ป่วยอาจเป็นปลายประสาทอักเสบ มีอาการชาหรือปวดร้อนตามปลายมือปลายเท้า ซึ่งอาจทำให้มีแผลเกิดขึ้นที่เท้าได้ง่าย อาจลุกลามจนเท้าเน่า บางรายอาจมีอาการวิงเวียนเนื่องจากมีภาวะความดันต่ำในท่ายืน บางรายอาจไม่มีความรู้สึกทางเพศ หรือท้องเดินตอนกลางคืนบ่อย กระเพาะปัสสาวะไม่ทำงาน กลั้นปัสสาวะไม่อยู่ หรือไม่มีแรงเบ่งปัสสาวะ

3. ไต มักจะเสื่อม จนเกิดภาวะไตวาย มีอาการ บวม ชีต ความดันโลหิตสูง ซึ่งเป็นสาเหตุการเสียชีวิตของผู้ป่วยเบาหวานที่พบได้ค่อนข้างบ่อย

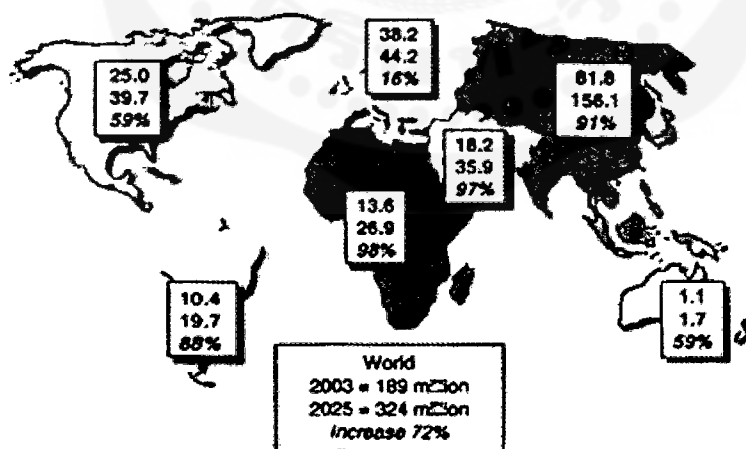
4. ผนังหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) ทำให้เป็นโรคความดันโลหิตสูง, อัมพาต, โรคหัวใจขาดเลือด ถ้าหลอดเลือดที่เท้าตีบแข็ง เลือดไปเลี้ยงเท้าไม่พออาจทำให้เท้าเย็นเป็นตะคริวหรือปวดขณะเดินมาก ๆ หรืออาจทำให้เป็นแผลหายยากหรือเท้าเน่า ซึ่งอาจเกิดร่วมกับการติดเชื้อ

5. การเปลี่ยนแปลงในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ทำให้เป็นโรคติดเชื้อได้ง่าย เช่น วัณโรคปอด, กระเพาะปัสสาวะอักเสบ กรวยไตอักเสบ ช่องคลอดอักเสบ เป็นฝีพุพองบ่อย เท้าเป็นแผลซึ่งอาจลุกลามจนเท้าเน่า เป็นต้น

6. ภาวะคีโตซิส (Ketosis) พบเฉพาะในผู้ป่วยที่เป็นเบาหวานชนิดที่ 1 ที่ขาดการฉีดอินซูลินนาน ๆ ร่างกายจะมีการคั่งของสารคีโตน ซึ่งเกิดจากการเผาผลาญไขมัน ผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน กระหายน้ำอย่างมาก หายใจหอบลึก และลมหายใจมีกลิ่นหอม มีไข้ ภาวะกรวยไต มีภาวะขาดน้ำ รุนแรง อาจมีอาการปวดท้อง ท้องเดิน ผู้ป่วยจะซึมลงเรื่อย ๆ จนกระทั่งหมดสติ หากรักษาไม่ทันอาจทำให้เสียชีวิต

2. ระบาดวิทยาของโรคเบาหวาน

จากข้อมูลของสมาพันธ์โรคเบาหวานสากล (IDF) และองค์การอนามัยโลก^[5, 6] พบว่าในทุกปีจะมีผู้ป่วยโรคเบาหวานเพิ่มขึ้นกว่า 7 ล้านคน จำนวนผู้ป่วยเบาหวานนี้พบว่าเพิ่มในทุกประเทศ โดยในประเทศกำลังพัฒนาจะมีจำนวนผู้ป่วยเพิ่มขึ้นมากที่สุด โรคเบาหวานได้คร่าชีวิตผู้ป่วยเกือบ 4 ล้านคนทุกปี ทั้งนี้เนื่องจากมีประชาชน 246 ล้านคนเป็นโรคเบาหวานในปัจจุบัน และคาดว่าภายใน 20 ปีข้างหน้าจะมีผู้ป่วยโรคเบาหวานกว่า 380 ล้านคนหากไม่มีการควบคุม จึงทำให้เชื่อว่าโรคเบาหวานจะเป็นโรคที่ทำลายภาวะเศรษฐกิจของประชาคมโลก โดยมีผู้เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 เพิ่มขึ้นมากที่สุด ซึ่งเกิดจากรูปแบบการใช้ชีวิตที่เร่งรีบและมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมาก สิ่งนี้ทำให้เห็นว่ารูปแบบการใช้ชีวิตเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดโรค ผู้ที่เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 มีโอกาสเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจ (cardiovascular disease) ได้มากกว่าคนปกติถึง 2-4 เท่า และ 80 % ของคนที่เป็นโรคเบาหวานเสียชีวิตเพราะโรคนี้ ในขณะที่การเสียชีวิตก่อนวัยอันควรจากโรคเบาหวานเกิดขึ้นกับเด็กอายุ 12-14 ปีโดยเฉลี่ย^[4, 5, 7] คนที่เป็นโรคเบาหวานต้องเสียค่าใช้จ่ายทางการแพทย์มากกว่าคนปกติ 2-5 เท่า โดยองค์การอนามัยโลกประมาณการว่างบประมาณเพื่อสุขภาพกว่า 15 % ถูกใช้ไปกับการเจ็บป่วยที่เกี่ยวข้องกับโรคเบาหวาน^[6]



ภาพประกอบ 2 จำนวนผู้ที่เป็นเบาหวานในภูมิภาคต่างๆ ของโลกในปี ค.ศ. 2003 และ 2025 ที่มา: กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. สถานการณ์ปัญหาเบาหวานและน้ำตาลในเลือดสูง (ออนไลน์); เปิดเมื่อวันที่ 5 พฤษภาคม 2550, จาก URL: http://www.tncd.reducerisk.com/cms/index.php?option=com_content&task=view&id=78&Itemid=9

สำหรับในประเทศไทยจากข้อมูลของกระทรวงสาธารณสุขพบว่าปัจจุบันคนที่วัย 35 ปีขึ้นไปป่วยเป็นเบาหวานมากถึง 2.4 ล้านคน ผู้ป่วยโรคเบาหวานของไทยส่วนใหญ่เป็นชนิดที่ 2 ผู้ใหญ่อายุเกิน 35 ปี พบได้ประมาณ 9.6 % อายุเกิน 65 ปีขึ้นไปพบประมาณ 17 % และในเด็กอ้วนน้ำหนักเกินพบประมาณ 22 % ในขณะที่โรคเบาหวานชนิดที่ 1 พบได้น้อยไม่ถึง 1 % ที่น่าวิตกคือผู้ที่เข้ารับการรักษากว่าครึ่งหนึ่งไม่ทราบมาก่อนว่าป่วยเป็นเบาหวาน [8]

3. ผลกระทบของโรคเบาหวานต่อโรคปริทันต์อักเสบ

ดังที่กล่าวไปแล้วในเบื้องต้นว่าโรคเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบมีความสัมพันธ์แบบสองทาง ในแง่มุมหนึ่งมีการจัดโรคปริทันต์อักเสบให้เป็นหนึ่งในภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน ในปี 1999 และ 2006 American Academy of Periodontology ได้ตีพิมพ์บทความเกี่ยวกับโรคเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบ [9, 10] ในรายงานได้ระบุถึงสาเหตุหลักที่ทำให้ผู้ป่วยเบาหวานมีโอกาสเสี่ยงในการเกิดโรคปริทันต์อักเสบมากขึ้นเนื่องจากความเปลี่ยนแปลงในการตอบสนองของภูมิคุ้มกันของร่างกายเป็นหลักอันได้แก่

โพลีมอร์โฟนิวเคลียร์เซลล์ ในผู้ป่วยเบาหวานมีการทำงานที่ลดประสิทธิภาพลง โดยเฉพาะในกระบวนการเคโมแทกซิส, การยึดติดของนิวโทรฟิลและการฟาโกไซโตซิส ความบกพร่องดังกล่าวทำให้ความสามารถในการกำจัดเชื้อในร่องลึกปริทันต์ลดลง เกิดการทำลายมากขึ้นโดยมีการพิสูจน์แนวคิดดังกล่าวในหลายการศึกษาในมนุษย์ ขณะที่การศึกษาในหนูยืนยันว่าขณะเป็นเบาหวานจะมีการทำงานที่บกพร่องไปของ โพลีมอร์โฟนิวเคลียร์เซลล์ และเมื่อทำการฉีดอินซูลินพบว่าโพลีมอร์โฟนิวเคลียร์เซลล์จะสามารถกลับมาทำงานเป็นปกติได้

โมโนไซต์/มาโครเฟจ มีการตอบสนองที่รุนแรงขึ้นต่อแบคทีเรียหรือสิ่งแปลกปลอม ส่งผลให้มีการหลั่งสารสื่ออักเสบออกมาเป็นจำนวนมาก Salvi และคณะ (1997) ทำการตรวจ โมโนไซต์ในกระแสโลหิตของผู้ป่วยเบาหวานพบที่มีการตอบสนองต่อเชื้อไฟโรโมแนสจิงจิวัลลิส (P.gingivalis) โดยการแสดงออกของทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา ที่มากกว่ากลุ่มควบคุม [11] มีการศึกษาในสัตว์ทดลองโดย Naguib และคณะ (2004) พบว่าเมื่อถูกกระตุ้นโดยเชื้อไฟโรโมแนสจิงจิวัลลิสระดับของสารสื่ออักเสบจะมีการหลั่งออกมามากกว่าปกติ [12] นอกจากนี้ Salvi และคณะ (1997) ยังพบว่าระดับสารสื่ออักเสบในน้ำเหลืองเหงือก (gingival crevicular fluid:GCF) ของผู้ป่วยเบาหวานจะมีการตอบสนองในแบบเดียวกับในกระแสโลหิต [13] โดยพบว่าระดับสารสื่ออักเสบใน น้ำเหลืองเหงือก สัมพันธ์โดยตรงกับระดับน้ำตาลในเลือด HbA1c ของผู้ป่วยเบาหวาน [14]

การเปลี่ยนแปลงความสามารถในการฟื้นฟูกระดูก พบว่าระดับน้ำตาลในเลือดที่สูงขึ้นส่งผลยับยั้งการสร้างคอลลาเจนและการแบ่งตัวของออสติโอเบลาสต์ทำให้การสร้างกระดูกลดลง มีการศึกษา Cbfa1 และ Dlx5 ซึ่งเป็นตัววัดระดับออสติโอเบลาสต์ ในหนูพบว่าจะมีระดับการแบ่งตัวที่ลดลงเมื่อระดับน้ำตาลในเลือดสูงและจะกลับสู่ระดับปกติเมื่อทำการฉีดอินซูลิน [15] นอกจากนี้โรคเบาหวานยังส่งผลทำให้ไฟโบร บลาสต์และออสติโอเบลาสต์เข้าสู่ภาวะอะพอโทซิส เร็วขึ้นเมื่อกระตุ้นด้วยไฟโรโมแนสจิงจิวัลลิส [16-18]

ระดับน้ำตาลในน้ำเหลืองเหงือก จากรายงานของ Ficara และคณะ (1975) พบว่าระดับน้ำตาลกลูโคสในน้ำเหลืองเหงือกมีค่าสูงขึ้นในผู้ป่วยเบาหวาน [19] โดยพบว่าระดับน้ำตาลดังกล่าวส่งผล

ต่อการหายของบาดแผลในร่องลึกปริทันต์โดยยับยั้งเซลล์ที่จำเป็นต่อการเกิดการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ [20]

การเปลี่ยนแปลงของระบบหลอดเลือด เป็นลักษณะเฉพาะตัวของอาการแทรกซ้อนขณะเป็นโรคเบาหวาน มักเกิดการเปลี่ยนแปลงในด้านโครงสร้างของหลอดเลือด การรบกวนการงอกใหม่ (regeneration) ของหลอดเลือดขนาดเล็ก ซึ่งส่งผลต่ออวัยวะต่างๆทั้งจอประสาทตา ปลายมือและเท้า รวมถึงอวัยวะปริทันต์ [21, 22]

เมตาบอลิซึมของคอลลาเจนและแอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรตีน จากการศึกษาพบว่าระดับน้ำตาลในเลือดมีผลต่อคอลลาเจน ทั้งในกระบวนการสังเคราะห์ (synthesis), แมทจูเรชัน (maturation) และโฮมีโอสเตซิส (homeostasis) จากการศึกษาเซลล์ไฟโบรบลาสต์ในผิวหนังหนูพบว่าระดับน้ำตาลในเลือดที่สูงจะทำให้เซลล์มีการเจริญเติบโตและแบ่งตัวลดลง ทำให้การสังเคราะห์คอลลาเจน และไกลโคซามิโนไกลแคน (glycosaminoglycan) ลดลง [23, 24] การศึกษาเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากเหงือกของมนุษย์พบว่าผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานจะสังเคราะห์คอลลาเจน ได้น้อยกว่าคนปกติ [25] นอกจากกระบวนการสังเคราะห์ที่ลดลงแล้วยังพบว่าในผู้ป่วยเบาหวานจะมีระดับเอนไซม์คอลลาจีเนสในน้ำเหลืองเหงือกที่สูงขึ้น [26] ในหนูทดลองเจอร์มฟรี (Germ free) พบว่าเมื่อทำการฉีดสเตอริไลซ์โตซินเพื่อเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานจะมีระดับเอนไซม์ดังกล่าวสูงขึ้นเช่นกัน [27]

ประการสำคัญคือในขณะที่เป็นโรคเบาหวาน คอลลาเจน จะเกิดกระบวนการไกลโคซิเลชัน (glycosylation) มากขึ้น เกิดการสะสมในรูปแอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรตีนซึ่งจัดเป็นไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ที่ส่งผลต่อปฏิกริยาระหว่างเซลล์ต่อเซลล์และระหว่างเซลล์กับเมทริกซ์ พบว่าแอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรตีนมีส่วนสำคัญต่อภาวะแทรกซ้อนหลายชนิดในโรคเบาหวาน Schmidt และคณะ (1996) พบว่าผู้ป่วยเบาหวานมีการสะสมแอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรตีนในอวัยวะปริทันต์มากกว่าคนปกติ [28] แอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรตีน ที่เพิ่มปริมาณมากขึ้นจะเข้าเกาะที่ผนังหลอดเลือดและมีคุณสมบัติที่ยึดเกาะได้ดีกับไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ (low-density lipoprotein-LDL) ทำให้เกิดภาวะหลอดเลือดอุดตัน [29] แอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรตีน ที่เพิ่มขึ้นยังสัมพันธ์กับระดับวาสคูลาร์ เอ็นโดทีเลียลโกรท แฟกเตอร์ (vascular endothelial growth factor: VEGF) ซึ่งเป็นสารสื่ออักเสบที่มีบทบาทสำคัญต่อความผิดปกติของระบบหลอดเลือดขนาดเล็กในผู้ป่วยเบาหวาน [30, 31] อีกทั้งแอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรตีน ยังเข้าสะสมใน คอลลาเจน ในกระดูกทำให้การเมตาบอลิซึมมีความผิดปกติทำให้การสร้างกระดูกลดลง [32] การสะสมแอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรตีนดังกล่าวจะสัมพันธ์กับระยะเวลาของการเป็นเบาหวานและการควบคุมระดับน้ำตาลของผู้ป่วย โดยหากผู้ป่วยสามารถควบคุมระดับน้ำตาลได้ดี ระดับ แอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรตีน จะลดลง [33, 34]

โดยปกติ แอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรตีน เข้าจับกับตัวรับที่พบบนผิวเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ, เซลล์เยื่อผิวหลอดเลือด, เซลล์ประสาท, โมโนไซต์และมาโครเฟจ มีการศึกษาในเนื้อเยื่อเหงือกของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 พบเอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA) ของตัวรับดังกล่าวมากกว่าในคนปกติ [35, 36] การจับกันของทั้งคู่จะทำให้วาสคูลาร์ เพอร์มิเอบิลิตี (vascular permeability) เพิ่มขึ้น, โมโนไซต์ปลดปล่อยสารสื่ออักเสบเช่น นิวเคลียร์แฟกเตอร์-แคปตาปี, อินเตอร์ลิวคิน-1เบตาและทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา ออกมามากทำให้การทำลายอวัยวะปริทันต์รุนแรงขึ้นโดยเฉพาะในผู้ป่วยเบาหวาน [29, 36] และเมื่อทำการขัดขวางการทำงานของตัวรับแอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรตีนในสัตว์ทดลองพบว่าสามารถลดระดับ ทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา, อินเตอร์ลิวคิน-6 และ เอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรทีเนส

ในหนังสือ ลดการสะสมแอตวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรตักส์ ในอวัยวะปริทันต์และพบการทำลายกระดูก
ลดลง [37]

4. ผลกระทบของโรคปริทันต์อักเสบต่อโรคเบาหวาน

โรคปริทันต์อักเสบส่งผลกระทบต่อสภาวะของโรคเบาหวาน โดยเพิ่มโอกาสของความบกพร่อง
ในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด จากการศึกษาแบบลองจิจูดินอล (longitudinal) เป็นเวลา 2 ปีพบ
ว่าผู้ป่วยเบาหวานร่วมกับโรคปริทันต์อักเสบจะมีควบคุมระดับน้ำตาลได้แย่กว่าผู้ป่วยเบาหวานเพียง
อย่างเดียว [38] ระดับความรุนแรงของโรคปริทันต์อักเสบสัมพันธ์กับความสามารถในการควบคุมภาวะ
ของโรคเบาหวาน [39] โดย Saito และคณะ (2004) พบว่าในผู้ป่วยที่ปรากฏร่องลึกปริทันต์ความลึกมาก
จะสัมพันธ์กับการควบคุมระดับน้ำตาลที่แย่ลง [40] การศึกษาของ Andersen และคณะ (2006) ในหนู
เบาหวานโกโตคากิซาคิชนิดที่ 2 (Goto-Kakizaki rat -GK rats) พบว่าในหนูเบาหวานที่ถูกเหนี่ยวนำให้
เป็นโรคปริทันต์อักเสบจะมีระดับน้ำตาลที่สูงกว่าประมาณ 30 % เมื่อเปรียบเทียบกับหนูที่เป็นเบาหวาน
เพียงอย่างเดียว [41]

มีหลายการศึกษาที่ต้องการดูผลของการรักษาโรคปริทันต์อักเสบต่อการควบคุมระดับน้ำตาล
ในผู้ป่วยเบาหวาน เริ่มแรกในช่วงปี 1960 พบว่าผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 มีความจำเป็นได้รับอินซูลิน
ลดลงหลังจากการรักษาโรคปริทันต์อักเสบโดยการเกลารากฟัน, การทำจิงจิเวคโตมีเฉพาะที่
(localized gingivectomy) และการให้ยาปฏิชีวนะ [42] การศึกษาในเรื่องดังกล่าวมักประกอบด้วย
การรักษาโรคปริทันต์อักเสบทั้งการขูดหินปูน/เกลารากฟันเพียงอย่างเดียวหรือร่วมกับการให้ยาปฏิชีวนะ
ต่างๆ เช่น เตตราไซคลินซึ่งมีผลในการช่วยลดระดับคอแลลาจินเอสที่มักเพิ่มขึ้นขณะเป็นเบาหวาน [43] รวม
ถึงดอกซีไซคลินเป็นต้น [44-46] ในการศึกษาเหล่านี้พบว่าภายหลังการรักษาโรคปริทันต์อักเสบสามารถ
ลดระดับ HbA1c ได้ประมาณ 10 % ในการทบทวนวรรณกรรมของ Taylor (2003) [47] ได้ระบุถึงผล
ของการรักษาโรคปริทันต์อักเสบต่อการควบคุมระดับน้ำตาล พบว่าให้ผลที่หลากหลายขึ้นกับปัจจัย
ต่างๆ ทั้งรูปแบบของการศึกษา, ชนิดของโรคเบาหวาน, สภาวะเริ่มแรกของทั้งโรคปริทันต์อักเสบและโรค
เบาหวาน เป็นต้น แม้ผลจะไม่เป็นไปในทิศทางเดียวกันในทุกการศึกษา แต่ส่วนใหญ่สามารถสรุปได้
ว่าการรักษาและป้องกันโรคปริทันต์อักเสบมีส่วนช่วยในการรักษาระดับน้ำตาลในเลือด

| Authors | Study design | duration | HbA1c | | | |
|-----------------------|--|----------|-------------------------------------|------|------------------|--------|
| | | | Baseline (%) | | Change (+/- %) | |
| Miller et al. 1992 | Type 1 DM Test (n=9) SCRCP | 2 mo | 9.4 | | -0.4 | |
| | No control | | | | No stat analysis | |
| Aldridge et al. 1995 | Type 1 DM Test (n=12) SCRCP | 2 mo | Test 9.8 | | Test +0.6 | |
| | Control (n=10) no Treatment | | Control 9.7 | | Control -0.2 | |
| | | | | | NS | |
| Smith et al. 1996 | Type 1 DM Test (n=18) SCRCP | 2 mo | 8.2 | | +0.1 | |
| | No control | | | | NS | |
| Westfelt et al. 1996 | Type 1 DM (n=14) SCRCP | 2, 5 yr | | | 0-2 yr | 0-5 yr |
| | Type 2 DM (n=6) SCRCP | | < 6.0 | n=2 | n=3 | n=3 |
| | Total Test (n=20) no control | | 6.0-7.9 | n=6 | n=4 | n=5 |
| | | | 8.0-9.9 | n=10 | n=11 | n=9 |
| | | | ≥ 10 | n=2 | n=2 | n=2 |
| | This study did not report mean HbA1c, but reported only the number of subjects in each HbA1c category. | | | | NS | |
| Grossi et al. 1997 | Type 2 DM (n=113) | 3, 6 mo | | | 3 mo | 6 mo |
| | 1. SCRCP / H ₂ O+Doxy | | 1. 10.5 | | -0.9 | -0.2 |
| | 2. SCRCP / CHX+Doxy | | 2. 10.4 | | -0.5 | -0.1 |
| | 3. SCRCP / Iodine+Doxy | | 3. 10.3 | | -0.5 | -0.1 |
| | 4. SCRCP / CHX+placebo | | 4. 10.7 | | -0.1 | -0.2 |
| | 5. SCRCP / H ₂ O+placebo | | 5. 9.2 | | -0.2 | -0.1 |
| | Doxy 100 mg / d 2 wk | | | | | |
| Christgau et al. 1998 | Test : Type 1 DM (n=7) | 4 mo | | | | |
| | Type 2 DM (n=13) | | DM 6.5 | | DM +0.2 | |
| | Control : No DM (n=20) | | No DM 4.3 | | No DM +0.4 | |
| | SCRCP all groups | | | | NS | |
| Stewart et al. 2001 | Type 2 DM Test (n=36) SCRCP | 10 mo | Test 9.5 | | Test -1.9 | |
| | Control (n=36) no Treatment | | Control 8.5 | | Control -0.8 | |
| | | | Sig. diff. within and between group | | | |

| Authors | Study design | duration | HbA1c | |
|-----------------------|---|----------|---------------------------|-----------------------------------|
| | | | Baseline (%) | Change (+/- %) |
| Iwamoto et al. 2001 | Type 2 DM Test (n=13) SCRP + Local minocycline 4 times No control | 2 mo | 7.96 | -0.84 |
| Rodrigeus et al. 2003 | Type 2 DM Test (n=15) SCRP + Amox/Clav Control (n=15) SCRP | 3 mo | Test 9.5 Control 8.8 | Test -0.3 Control -1.2 |
| Kiran et al. 2005 | Type 2 DM Test (n=22) SCRP Control (n=22) no Treatment | 3 mo | Test 7.31 Control 7.00 | Test -0.86 Control +0.31 |
| Jones et al. 2007 | Type 2 DM Test (n=15) SCRP + Doxy 100 mg/d 2wk + CHX 4 mo Control (n=83) no Treatment | 4 mo | Test 9.9 Control 10.2 | Test -0.65 Control -0.51 NS |

ตัวอย่างการศึกษาผลของการรักษาโรคปริทันต์อักเสบช่วยส่งเสริมการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด

5. ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายในผู้ป่วยโรคเบาหวาน

เป็นที่ทราบกันดีว่าโรคเบาหวานมักมีภาวะแทรกซ้อนเกิดขึ้นมากมายรวมถึงโรคปริทันต์อักเสบ ภาวะแทรกซ้อนดังกล่าวจะสัมพันธ์กับการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด โดยเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของระบบภูมิคุ้มกันของเซลล์ (cell mediated immune response) เช่น การยึดติดของนิวโทรฟิล, การเคโมแทกซิส, การฟาโกไซโตซิสและความสามารถในการกำจัดแบคทีเรีย ความบกพร่องของดังกล่าวจะนำไปสู่ภาวะการติดเชื้อและเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรคปริทันต์อักเสบ โดยพบว่าชนิดจำกัดของระดับกลูโคสในกระแสเลือดต่อการทำงานที่บกพร่องของเม็ดเลือดกรานูโลไซต์ (granulocyte) อยู่ในช่วง 198-270 mg/dl ซึ่งภาวะดังกล่าวทั้งกรานูโลไซต์และทีเซลล์ (T-cell) จะกลับสู่สภาวะปกติได้เมื่อมีการฉีดอินซูลินเข้าสู่ร่างกาย^[48]

6. บทบาทของสารสื่ออักเสบในโรคเบาหวาน

ขณะเป็นโรคเบาหวานมักพบการหลั่งสารสื่ออักเสบออกมามากกว่าปกติ โดยมีการศึกษาถึงสารสื่ออักเสบชนิดต่างๆในอวัยวะที่แตกต่ากัน การศึกษาในมนุษย์พบว่าในเด็กที่ป่วยเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 1 มีระดับของ อินเตอร์ลิวคิน-1, อินเตอร์ลิวคิน-6 และ ทุเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา มากกว่ากลุ่มเด็กปกติ โดยเฉพาะในกรณีของเด็กที่เพิ่งตรวจพบเบาหวานจะมีระดับ อินเตอร์ลิวคิน-6 และ ทุเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา มากกว่าเด็กที่ป่วยมาเป็นเวลานาน^[49] อีกการศึกษาหนึ่งในเด็กที่เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 1 จำนวน 27 ราย เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 25 รายพบว่า ในกลุ่มเบาหวานมีระดับของ อินเตอร์ลิวคิน-1เบตา และ ทุเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา สูงกว่ากลุ่มควบคุม^[50]

ขณะที่ในโรคเบาหวานชนิดที่ 2 พบว่าระดับสารสื่ออักเสบหลายๆชนิดมีค่าสูงขึ้น เช่น ทุเมอร์เนโครซิส แพกเตอร์-แอลฟา ในกล้ามเนื้อลายของผู้ป่วย^[51] ทุเมอร์เนโครซิสแพกเตอร์-แอลฟา และตัวรับชนิดอิน เตอร์ลิวคิน-2 โซลูเบิล (IL-2 soluble receptor -sIL-2R)^[52] ระดับของสารสื่ออักเสบสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดระดับความรุนแรงในการทำลาย เบตาเซลล์ ของตับอ่อนซึ่งส่งผลต่อภาวะของโรคเบาหวานขณะ นั้นๆได้^[53] อีกทั้งพบว่าระดับสารสื่ออักเสบที่สูงขึ้นยังสัมพันธ์กับภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวานเช่น มีผลต่อจอประสาทตา^[54] ระบบหลอดเลือดหัวใจ^[55] เป็นต้น

7. กลไกของสารสื่ออักเสบในโรคปริทันต์อักเสบ

จากการศึกษาของ Stashenko และคณะ (1991) พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของระดับ อินเตอร์ลิวคิน-1เบตาและทุเมอร์เนโครซิสแพกเตอร์-แอลฟา อย่างมีนัยสำคัญในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบที่มีการ สูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ (periodontal attachment) ไปอย่างรวดเร็ว^[56] หรือในผู้ป่วย ที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบรุนแรงจะมีระดับ อินเตอร์ลิวคิน-1เบตาในน้ำเหลืองเหงือกที่สูงขึ้น^[57-61] Hou และคณะ (1995) พบว่าเมื่อทำการรักษาโรคปริทันต์อักเสบจะมีระดับสารสื่ออักเสบดังกล่าวลดลง^[58] ในผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของอินเตอร์ลิวคิน-1 ในระดับยีน (genotype polymorphisms) จะมีความ เสี่ยงต่อโรคปริทันต์อักเสบมากกว่าคนปกติ^[62, 63] และเมื่อมีการขัดขวางตัวรับต่ออินเตอร์ลิวคิน-1 และ ทุเมอร์เนโครซิสแพกเตอร์-แอลฟา พบว่าสามารถลดระดับการสูญเสียกระดูกและการสร้างออสติโอ คลาสต์ได้ถึง 60 และ 67 %ตามลำดับ^[64]

ขณะที่มีการทดลองใช้ยาต้านต่อตัวรับของอินเตอร์ลิวคิน-1 (IL-1 receptor antagonist-IL-1Ra) และยาต้านต่อทุเมอร์เนโครซิสแพกเตอร์ (TNF antagonist) พบว่าสามารถยับยั้งกระบวนการ ส่งสัญญาณ (signal transduction) ส่งผลให้การทำลายอวัยวะปริทันต์ลดลง และพบว่าเมื่อมีการยับยั้ง ยาต้านต่อตัวรับของอินเตอร์ลิวคิน-1 และยาต้านต่อทุเมอร์เนโครซิสแพกเตอร์จะทำให้เกิดกระบวนการ อักเสบรุนแรงขึ้น เกิดการรวมกลุ่มกันของออสติโอคลาสต์ ทำให้เกิดการทำลายการยึดเกาะของอวัยวะ ปริทันต์และกระดูกมากขึ้น^[65, 66]

8. บทบาทของไนตริกออกไซด์ในโรคเบาหวาน

จากการศึกษาพบว่า ไนตริกออกไซด์ มีบทบาทสำคัญต่อโรคเบาหวานทั้ง 2 ชนิดโดยที่เซลล์และ มาโครเฟจมีการหลั่งอินเตอร์ลิวคิน-1 ออกมาโดยอินเตอร์ลิวคิน-1 ร่วมกับไนตริกออกไซด์จะเข้ายับยั้ง การทำงานของเบตาเซลล์ของตับอ่อน และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่อยู่บริเวณไมโตรคอนเดรีย (mitochondria) ของเบตาเซลล์ กระตุ้นการหลั่งไซโคลออกซีจีเนสและคอกซ์-2 (COX-2) เกิดการ หลั่งสารสื่ออักเสบเช่นพรอสตาแกลนดิน (prostaglandin) และ thromboxane ตาม มา ทั้งพรอสตาแกลนดินและไนตริกออกไซด์จะส่งผลทำให้เกิดกระบวนการอักเสบและการทำลายเบตา เซลล์ที่ยาวนานขึ้น^[67] นอกจากนี้ยังส่งผลให้เกิดภาวะกดไนโตรเซทีฟ (nitrosative stress) และเกิด ภาวะต้านต่ออินซูลิน^[68] มีการศึกษาพบว่าในสัตว์ทดลองที่เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 1 จะมีการผลิตไนตริ กออกไซด์ ออกมาเป็นจำนวนมาก โดยเกิดจากการที่เซลล์ที่ทำหน้าที่ผลิตอินซูลินในตับอ่อน (insulin- producing cell) มีการเผยแผ่ (exposed) ต่อสารสื่ออักเสบโดยเฉพาะอินเตอร์ลิวคิน-1 ทำให้เกิดการก ระตุ้นการแสดงออกของอินดิวิเชเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทสเอ็มอาร์เอ็นเอเกิดผลิตภัณฑ์คือไนตริกออก ไซด์ซึ่งจะทำอันตรายต่อเบตาเซลล์ ของตับอ่อนเป็นผลทำให้สภาวะเบาหวานแย่ลง^[69] สารสื่ออักเสบ

ชนิดอื่นๆ เช่น อินเตอร์เฟอรอน-แกมมาและทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา ยังมีส่วนช่วยกระตุ้นอินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทสในเซลล์ตับอ่อน^[70, 71] ทำให้เกิดภาวะต้านต่ออินซูลินในที่สุด

การศึกษาในโรคเบาหวานชนิดที่ 2 พบว่าผู้ป่วยเบาหวานจะมีระดับเมตาบอลิซึมของไนตริกออกไซด์ (nitric oxide metabolite :NO(x)) และทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา ที่สูงกว่าคนปกติ^[52] ขณะที่ Torres และคณะ (2004) พบว่าทั้งระดับทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาและอินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส ในกล้ามเนื้อลายของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 มีค่าสูงกว่าในกลุ่มควบคุม^[51] ไนตริกออกไซด์ ที่เพิ่มสูงขึ้นมีบทบาทร่วมกับสารสื่ออักเสบอื่นๆในการเกิดภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน เช่น ความผิดปกติของเรตินา (retinopathy)^[54], การทำงานที่ผิดปกติของเยื่อหลอดเลือด (endothelial dysfunction)^[72], การอักเสบของหลอดเลือด^[73] เป็นต้น มีการศึกษายาไทโซลิไดเนดิโอนส์ (thiazolidinediones) โดยใช้รักษาโรคเบาหวานและภาวะแทรกซ้อนโดยพบว่าสามารถต่อต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งการเกิดภาวะก่อกอกซิเดทีฟ (oxidative stress) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพาธเวย์ (pathway) ของอินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส และนิวเคลียร์แฟกเตอร์-แคปปาบีและกระบวนการของอินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลง^[74]

9. บทบาทของไนตริกออกไซด์ในโรคปริทันต์อักเสบ

ไนตริกออกไซด์มีบทบาทสำคัญต่อพยาธิกำเนิดในโรคปริทันต์อักเสบ โดยพบว่ามีบทบาททั้งในการปกป้อง (protective) และการทำลายเนื้อเยื่อ (destructive) บทบาทในการปกป้องเช่น การกำจัดเชื้อแบคทีเรียและการรักษาสมดุลของออกซิเจนเรดิคัล (neutralizing O₂⁻)^[75] มีการศึกษาโดย Lohinai และคณะ (1998) พบว่าแบคทีเรียในช่องปากเป็นตัวกระตุ้นการแสดงออกของ อินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส ในเนื้อเยื่อปริทันต์^[76] อีกทั้ง Gyurko และคณะ (2003) ยังพบว่าหนูที่ขาด อินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส จะมีความบกพร่องในการกำจัดเชื้อพอไฟโรโมนเนสจึงจิวัลิส^[77] อินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส ยังมีบทบาทสำคัญในเนื้อเยื่อของโรคปริทันต์อักเสบ ในหลายการศึกษาพบว่า มีระดับอินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส เพิ่มสูงขึ้นโดยสามารถพบได้ทั้งในเซลล์มาโครเฟจ, โพลีมอร์โฟนิวเคลียร์เซลล์, ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) และไฟโบรบลาสต์ โดยการกระตุ้นของสารสื่ออักเสบหรือลิโปโพลีแซคคาไรด์จากแบคทีเรีย^[75] จากการศึกษาในหนูทดลองพบว่าเชื้อก่อโรคปริทันต์อักเสบสามารถกระตุ้นการผลิตไนตริก ออกไซด์ในมาโครเฟจ ได้^[78-80]

จากหลายๆการศึกษาในมนุษย์โดยเฉพาะเนื้อเยื่อเหงือกของผู้ป่วยที่มีเหงือกอักเสบ Matejka และคณะ (1998) พบว่ามีระดับอาร์จินีนและซิทรูลินซึ่งเป็นสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ในปฏิกิริยาการผลิตไนตริกออกไซด์ มากกว่าในกลุ่มควบคุม^[81] ต่อมา Lappin และคณะ (2000) ได้ศึกษาเนื้อเยื่อเหงือกของผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบ 16 รายพบว่า อินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส จะมีการแสดงออกมากกว่าในเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เหงือกปกติ^[82] ขณะที่ Hirose และคณะ (2001) ศึกษาถึงเอ็มอาร์เอ็นเอของ อินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส และ อินเตอร์ลิวคิน-6 พบระดับแสดงออกมากกว่าในเนื้อเยื่อกลุ่มโรคปริทันต์อักเสบ^[83] และเมื่อดูระดับการแสดงออกของ อินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส ที่ความรุนแรงของเหงือกอักเสบต่างๆกัน Batista และคณะ (2002) พบว่าในกลุ่มโรคปริทันต์อักเสบและเหงือกอักเสบมีการแสดงออกของ อินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส มากกว่ากลุ่มเหงือกปกติ^[84] และเมื่อทำการรักษาโรคปริทันต์อักเสบโดยการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟันพบว่าระดับการแสดงออกของ อินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส มีค่าลดลง^[85]

ในขณะที่มีการศึกษาในสัตว์ทดลองเพื่อตรวจสอบแนวคิดดังกล่าวข้างต้น โดย Lohinai และคณะ (1998) ศึกษาเนื้อเยื่อเหงือกของหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบพบว่ามี การแสดงออกอย่าง มากของ อินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส และเมื่อมีการฉีดสารต่อต้านอินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส (iNOS inhibitor) ชนิดเมอร์แคปโตอัลคิลกวานิดีนส์(30 mg kg⁻¹, i.p., q.i.d. for 8 days) พบว่าสามารถลดการทำลายกระดูกในบริเวณที่ทำการผูกไหมได้อย่างมีนัยสำคัญ ^[76] เช่นเดียวกับการศึกษาของ Leitao และคณะ (2005) ที่พบว่าสารต่อต้านไนตริกออกไซด์ซินเทส ชนิดแอล-อาร์จินีนเมทิลเอสเทอร์ (L-arginine methyl ester:L-NAME) สามารถลดการทำลายกระดูกในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบได้อย่างมีนัยสำคัญ ^[86]

10. บทบาทของสารสื่ออักเสบและไนตริกออกไซด์ในโรคปริทันต์อักเสบที่สัมพันธ์กับโรคเบาหวาน

ในขณะที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบร่วมกับโรคเบาหวานมักพบระดับสารสื่ออักเสบที่สูงขึ้นทั้งการศึกษาในมนุษย์และสัตว์ทดลอง Zhang และคณะ (2003) ทดลองวัดระดับทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา ในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 1 วัดระดับทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา โดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีที่เวลา 12 สัปดาห์พบว่าหนูในกลุ่มเบาหวานมีระดับสารสื่ออักเสบดังกล่าวสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับหนูที่ไม่เป็นโรคเบาหวานโดยทั้งสองกลุ่มต่างได้รับการเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบ ^[87] Gomes และคณะ (2006) ศึกษาในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบร่วมกับโรคเบาหวานชนิดที่ 2 พบระดับเอ็มอาร์เอ็นเอของอินเตอร์เฟอรอน-แกมมาในกลุ่มที่เป็นโรคปริทันต์อักเสबरุนแรง (severe periodontitis) มากกว่ากลุ่มที่เป็นโรคในระดั บปานกลาง (moderate periodontitis) ^[88] ขณะที่ Engbretson และคณะ (2006) พบว่าระดับความรุนแรงของโรคปริทันต์อักเสบในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบร่วมกับโรคเบาหวานชนิดที่ 2 มีความสัมพันธ์กับระดับทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาในเลือด ^[89] นอกจากนี้ยังพบระดับอินเตอร์ลิวคิน-1เบตาสูงขึ้นในเนื้อเยื่อไขมันอะดิโพส (adipose tissue) ของหนูเบาหวานที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ^[41]

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าการศึกษาระดับ ไนตริกออกไซด์ ในขณะที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบร่วมกับโรคเบาหวานยังไม่เป็นที่แพร่หลายนัก โดยพบเพียงการศึกษาทางอิมมูโนฮิสโตเคมีของ Skaleric และคณะ (2006) ในชิ้นเนื้อเหงือกของผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบร่วมกับโรคเบาหวานชนิดที่ 1 เปรียบเทียบกับกลุ่มที่เป็นโรคเบาหวานเพียงอย่างเดียวโดยพบการแสดงออกของอินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส เฉพาะในกลุ่มทดลองเท่านั้นและพบว่ายิ่งระดับ ไนตริกออกไซด์ สูงขึ้นเท่าใดจะสัมพันธ์กับจำนวนเชื้อพรีโวกเทลลาอินเตอร์มีเดีย (P. intermedia) ที่ลดลง ^[90]

ในการทดลองของณรงค์ศักดิ์และคณะ ^[91] เปรียบเทียบการแสดงออกของอินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทสและทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา พบการแสดงออกของสารสื่ออักเสบทั้งสองเฉพาะในชิ้นเนื้อเหงือกของหนูเบาหวานเท่านั้นแม้ว่าจะไม่มีการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคปริทันต์อักเสบเลยก็ตาม ในศึกษานี้จึงมุ่งศึกษากลไกการทำลายอวัยวะปริทันต์ของสารสื่ออักเสบดังกล่าวในหนูเบาหวานโดยทำการที่เหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมแล้วตรวจวัดระดับการแสดงออกของตัวชี้วัดสถานะการอักเสบได้แก่ ทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา, อินเตอร์ลิวคิน-1เบตาและอินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส โดยติดตามระดับสารสื่ออักเสบดังกล่าวตามระยะเวลา

บทที่ 3

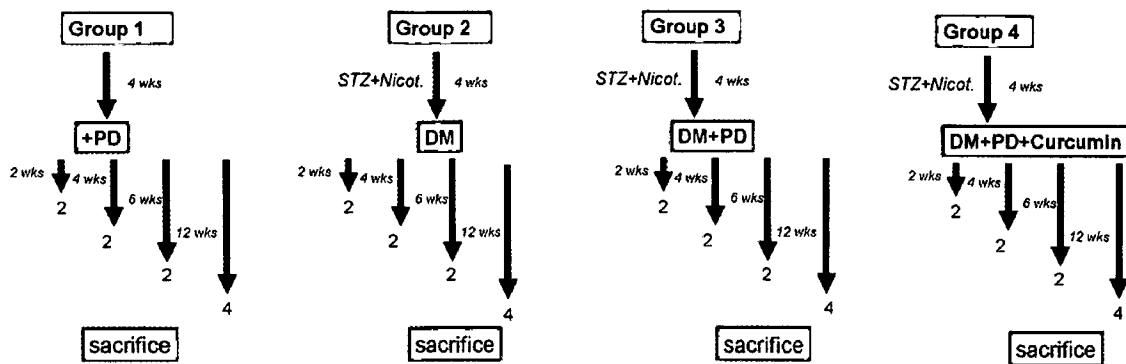
วิธีดำเนินงานวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (experimental study) ใช้เทคนิคสุ่มตัวอย่าง (randomized controlled trial study) โดยกำหนดให้สัตว์ประเภทหนู rat น้ำหนักประมาณ 230-260 กรัม กลุ่มควบคุมมีจำนวนประมาณ 10 ตัว และกลุ่มทดลอง 30 ตัว เลี้ยงในห้องสัตว์ทดลอง โดยให้อาหารและน้ำอย่างพอเพียง การวิจัยนี้ได้ผ่านความเห็นชอบจากกรรมการตรวจสอบจริยธรรมงานวิจัยในสัตว์ทดลองของคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

การทำให้สัตว์ทดลองมีสภาวะเบาหวานเพื่อการเก็บตัวอย่าง

1. กลุ่มที่ 1 หนูจำนวน 10 ตัว ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบ (PD) ทำการวางยาสลบหนูโดยการฉีดคีตامين (ketamine 60 mg/kg.) เข้าบริเวณหน้าท้องหนู (intraperitoneal injection) แล้วทำการผูกไหมรอบคอพินของพินกรามบนซี่ที่ 1 ทั้งสองข้าง ทำการการุณยฆาตด้วยวิธีดึงคอ (cervical dislocation) ภายใต้ยาสลบอีเทอร์ (ether) ที่เวลา 2 สัปดาห์ 2 ตัว ที่ 4 สัปดาห์ 2 ตัว ที่ 6 สัปดาห์ 2 ตัว และที่ 12 สัปดาห์ 4 ตัวตามลำดับ
2. กลุ่มที่ 2 สัตว์ประเภทหนู rat จะถูกทำให้เกิดสภาวะเบาหวานโดย การใช้สาร streptozotocin ความเข้มข้น 50 mg/kg และ nicotinamide 120 mg/kg ฉีดเข้าทางหน้าท้องหนู (intraperitoneal injection, i.p.) เลี้ยงไว้ 4 สัปดาห์ สัตว์ทดลองจะแสดงลักษณะที่บ่งบอกถึงสภาวะเบาหวาน โดยมีเกณฑ์ดังนี้ กินน้ำมาก ปัสสาวะบ่อย ตาเป็นต้อกระจก ระดับน้ำตาลในเลือดสูง เมื่อเปรียบเทียบกับระดับน้ำตาลกับในกลุ่มที่ 1
3. กลุ่มที่ 3 คือ หนูที่ถูกทำให้เกิดสภาวะเบาหวานและถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบร่วมด้วย (DMPD) 10 ตัว ซึ่งเมื่อมีลักษณะของสภาวะเบาหวานหรือ 4 สัปดาห์ภายหลังฉีดสาร สเตรีปโตไซโตซินและนิโคตินามายด์แล้ว ให้ทำการฆ่าที่ระยะเวลา 2, 4, 6 และ 12 สัปดาห์ตามลำดับ
4. กลุ่มที่ 4 คือ หนูที่ถูกทำให้เกิดสภาวะเบาหวานและถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบร่วมด้วย เหมือนกลุ่มที่ 3 แต่ให้หนูทานเคอร์คิวมินเป็นประจำทุกวัน (DMPDC) 10 ตัว เคอร์คิวมินที่ใช้ในการทดลอง เป็นสารสกัดบริสุทธิ์จากบริษัท Sigma (St. Louis, Missouri, USA) รหัส C1386-50G โดยให้ทานเป็นประจำขนาด 0.5% w/w ทำการฆ่าตามระยะเวลาเหมือนกลุ่มDMPD

ในหนูทุกกลุ่มจะมีการตรวจระดับน้ำตาลในเลือด (Fasting blood sugar-FBS) เป็นประจำทุกสัปดาห์



ภาพประกอบ 3 แผนผังแสดงกรอบการทำงานในกลุ่มทดลองทั้งหมด

การเก็บรวบรวมข้อมูล

การเก็บชิ้นเนื้อ

ในหนูทั้ง 3 กลุ่มชิ้นเนื้อที่นำมาศึกษาจะแบ่งเป็นสองส่วน ประกอบด้วย

1. ส่วนของอวัยวะรองรับฟัน
2. เนื้อเยื่อเหงือกจากด้านแก้ม (buccal mucosa)

เมื่อทำการฆ่าตามระยะเวลาที่กำหนดนำซากกรูหนุที่ผ่านการแช่ในฟอร์มาลิน (formalin) มาตัดชิ้นเนื้อเยื่อเหงือกจากด้านแก้มของบริเวณฟันกรามบนซี่ที่ 1 ฝังลงในพาราฟิน (paraffin blocks) ส่วนของซากกรูหนุส่วนที่เหลือซึ่งเป็นฟันและอวัยวะรองรับฟันนำมาย่อยแคลเซียม (decalcified) ด้วยสารละลายกรดไนตริก (nitric) จนกระทั่งสามารถตัดส่วนของกระดูกได้ขาด ตัดแต่งชิ้นเนื้อให้ครอบคลุมบริเวณฟันกรามซี่ที่ 1 และ 2 นำชิ้นเนื้อดังกล่าวฝังลงในพาราฟิน

การเตรียมชิ้นเนื้อเพื่อศึกษาการทำลายเนื้อเยื่อปริทันต์ในหนู

1. ตัดเนื้อเยื่อส่วนของอวัยวะรองรับฟันในพาราฟินด้วยเครื่องไมโครทอม (microtome) ให้ได้บริเวณฟันที่ติดกับกระดูกรองรับฟัน ด้วยความหนา 3-5 ไมครอน และวางบนแผ่นสไลด์แก้วที่ได้รับการฉาบด้วยอัลบูมิน

2. นำสไลด์ดังกล่าวย้อมสีฮีมาท็อกซิลินอีโอซิน โดยตรวจดูการทำลายของเนื้อเยื่อปริทันต์และอวัยวะรองรับฟัน ใช้ส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (cemento-enamel junction-CEJ) เป็นจุดอ้างอิงเปรียบเทียบในหนูทั้ง 3 กลุ่ม

ขั้นตอนการย้อมสีฮีมาท็อกซิลินอีโอซิน (H&E)

1. กำจัดพาราฟินโดยการแช่ในไซลีน โดยเปลี่ยนไซลีนใหม่ทุกๆ 5 นาที 3 ครั้ง เพิ่มปริมาณน้ำในชิ้นเนื้อ (rehydrate) โดยแช่ใน 100% แอลกอฮอล์ 5 นาที 95 % แอลกอฮอล์และ 80 % แอลกอฮอล์ อย่างละ 3 นาที
2. ล้างน้ำเปล่า (tap water) เป็นเวลา 5 นาที
3. ย้อมสีฮีมาท็อกซิลิน (Mayer's hematoxylin) 3 นาที

4. ล้างน้ำเปล่าเป็นเวลา 5 นาที
5. แช่ใน 1 % แอซิดแอลกอฮอล์ (acid alcohol) เป็นเวลา 30 วินาที
6. ล้างน้ำเปล่าเป็นเวลา 1 นาที
7. ย้อมทับในอีโอซิน 30 วินาที
8. ดึงน้ำออกจากชิ้นเนื้อ (dehydrate) โดยผ่าน 95 % แอลกอฮอล์, และ 100 % แอลกอฮอล์.
9. ทำความสะอาดโดยแช่สไลด์ในไซลีนและทำการปิดด้วยแผ่นแก้ว (cover slip)

การเตรียมชิ้นเนื้อเพื่อศึกษาการแสดงออกของสารสื่ออักเสบ

1. ตัดเนื้อเยื่อให้ได้ความหนา 3-5 ไมครอน และวางบนแผ่นสไลด์แก้วที่ได้รับการฉาบด้วยอัลบูมิน (albumin) เตรียมย้อมสีฮีมาทอกซิลินอีโอซินเพื่อช่วยในการเลือกบริเวณที่สนใจ (hot spot) 2 ตำแหน่ง โดยเลือกบริเวณที่มีเซลล์อักเสบ (inflammatory infiltrate) มากที่สุด โดยมีการปรับมาตรฐาน (calibration) กันระหว่างผู้วิจัยกับทันตพยาธิแพทย์ผู้ควบคุม
2. เมื่อเลือกบริเวณที่ต้องการดูในสไลด์ได้แล้วจะทำการตัดชิ้นเนื้อในพาราฟินอีกครั้ง และวางบนสไลด์แก้วที่ฉาบด้วยโพลีเอทิลีนไกลคอล (polyethylene glycol) เพื่อทำการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมีเพื่อการแสดงออกของสารสื่ออักเสบทั้งสาม

ขั้นตอนการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมี

1. อบสไลด์ที่ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กำจัดพาราฟิน (deparaffinized) ด้วยการแช่ในไซลีนและเพิ่มปริมาณน้ำในชิ้นเนื้อด้วยแอลกอฮอล์และน้ำกลั่น
2. ทำการเผยแพร่ตำแหน่งการจดจำที่จำเพาะของแอนติบอดีต่อแอนติเจน (antigen retrieval) ใน 10mM TE buffer pH 9.0 ด้วยเตาไมโครเวฟที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส ที่กำลัง 700 วัตต์ เป็นเวลา 10 นาที ปล่อยให้เย็นลง ก่อนจะล้างน้ำเปล่าและแช่ใน TBS (tris buffer saline pH 7.3)
3. ทำการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เอนโดจีเนสเพอออกซิเดสภายในเซลล์ (block endogenous peroxidase) โดยการแช่สไลด์ด้วย 2% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) ในเมทานอล (methanol) เป็นเวลา 10 นาที
4. ล้างในน้ำเปล่า 5 นาทีแล้วล้างต่อด้วย TBS
5. ใส่แอนติบอดีปฐมภูมิ (primary antibodies) ดังตาราง 2 (ความเข้มข้นแอนติบอดีร้อยละ 5 ใน TBS ที่มีโบวายนซีรัมอัลบูมิน (Bovine serum albumin ร้อยละ 1 ผสมอยู่) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสตลอดคืน
6. ใส่แอนติบอดีทุติยภูมิที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์เพอออกซิเดส (peroxidase conjugated secondary antibody) ดังตารางที่ 1 (ความเข้มข้นแอนติบอดีร้อยละ 5 ใน TBS ที่มีโบวายนซีรัมอัลบูมิน (Bovine serum albumin) ร้อยละ 1 ผสมอยู่) เป็นเวลา 60 นาที
7. ใส่ตัวทำปฏิกิริยา (substrate) คือ DAB เป็นเวลา 10 นาที
8. ย้อมทับด้วยฮีมาทอกซิลิน (จุ่มอย่างรวดเร็ว)
9. ดึงน้ำออกจากชิ้นเนื้อด้วยแอลกอฮอล์และไซลีน ก่อนจะปิดทับด้วยแผ่นแก้ว

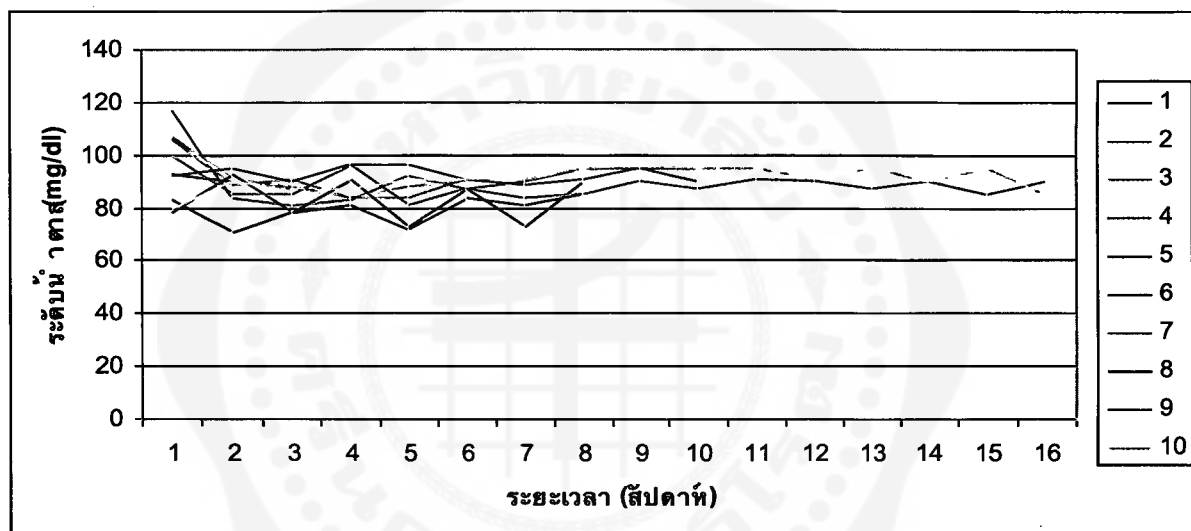
บทที่ 4

ผลการวิจัย

การเปลี่ยนแปลงระดับน้ำตาลในเลือดของหนูแต่ละกลุ่มตลอดการศึกษา

กลุ่ม PD

ในการทดลองนี้ใช้ PD เป็นกลุ่มเปรียบเทียบ พบว่ามีค่าระดับน้ำตาลต่ำสุด 71 mg/dl และสูงสุด 117 mg/dl ภาพประกอบ 4 แสดงให้เห็นระดับน้ำตาลของกลุ่ม PD โดยไม่พบการแกว่งค่าของระดับน้ำตาลมากนักตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง กลุ่มทดลองมีการเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบในช่วงสัปดาห์ที่ 4 (ภาพประกอบ 5)

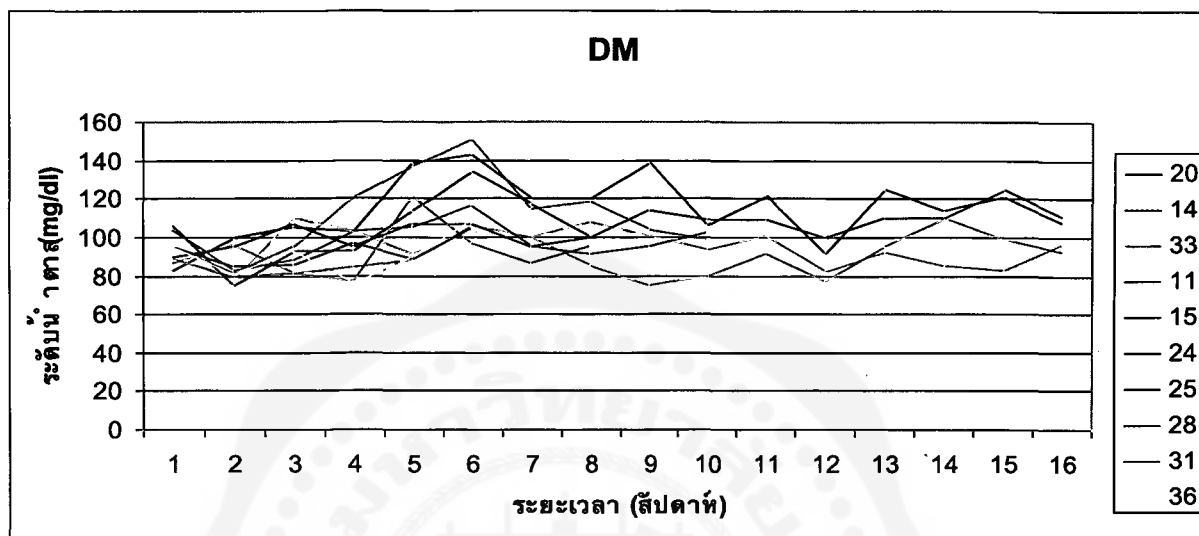


ภาพประกอบ 5 กราฟแสดงระดับน้ำตาลตลอด 16 สัปดาห์ของหนูในกลุ่ม PD

4 สัปดาห์แรกเป็นช่วงการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคปริทันต์อักเสบ โดยกลุ่ม PD มีการเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบ ในช่วงสัปดาห์ที่ 4 นับเป็นสัปดาห์ที่ 1-12 ในการจัดเข้าในแต่ละกลุ่มการทดลอง พบว่าระดับน้ำตาลของหนูในกลุ่มนี้มีการแกว่งตัวเพียงเล็กน้อยตลอดระยะเวลาการทดลอง

กลุ่ม DM

กลุ่ม DM มีค่าระดับน้ำตาลต่ำสุด 75 mg/dl และสูงสุด 143 mg/dl โดยพบว่าจะมีระดับน้ำตาลสูงขึ้นกว่า baseline ของหนูแต่ละตัวอย่างชัดเจนตั้งแต่ช่วง 2-6 สัปดาห์แรกภายหลังทำการฉีดสารสเตโริโดโซโตซินและนิโคตินามายด์ หลังจากนั้นระดับน้ำตาลจะลดลงโดยพบว่าจะมีระดับน้ำตาลจะมีการแกว่งตัวขึ้นลงตลอดช่วงระยะเวลาดังกล่าว (ภาพประกอบ 6)

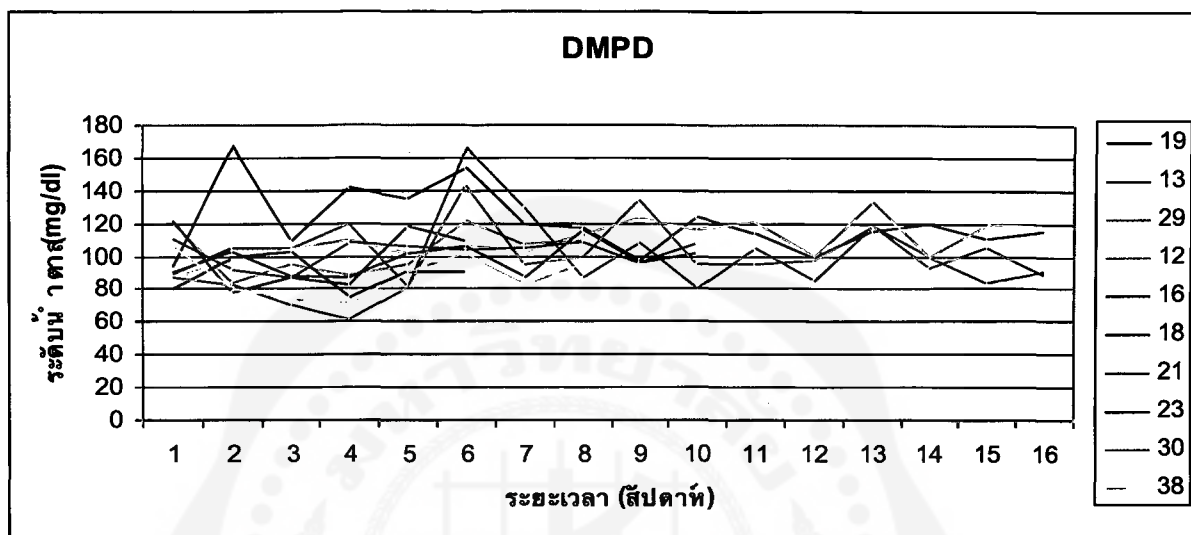


ภาพประกอบ 6 กราฟแสดงระดับน้ำตาลตลอด 16 สัปดาห์ของหนูกลุ่ม DM

แสดงระดับน้ำตาลของหนูกลุ่ม DM ซึ่งมีการเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานตั้งแต่เริ่มการทดลองและคาดการณ์ว่าเป็นโรคเบาหวานในสัปดาห์ที่ 4 พบว่าส่วนใหญ่ระดับน้ำตาลจะสูงขึ้นภายหลังเหนี่ยวนำ 2-6 สัปดาห์ หลังจากนั้นระดับน้ำตาลจะแกว่งตัวขึ้นลงตลอดระยะเวลาการทดลอง

กลุ่ม DMPD

กลุ่ม DMPD มีค่าระดับน้ำตาลต่ำสุด 72 mg/dl และสูงสุด 168 mg/dl พบแนวโน้มของระดับน้ำตาลเป็นเช่นเดียวกับกลุ่ม DM คือส่วนใหญ่จะมีระดับน้ำตาลสูงขึ้นหลังจากเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานประมาณ 6 สัปดาห์และระดับน้ำตาลดังกล่าวจะมีการแกว่งตัวขึ้นลงตลอดระยะเวลาในการทดลอง (ภาพประกอบ 7)

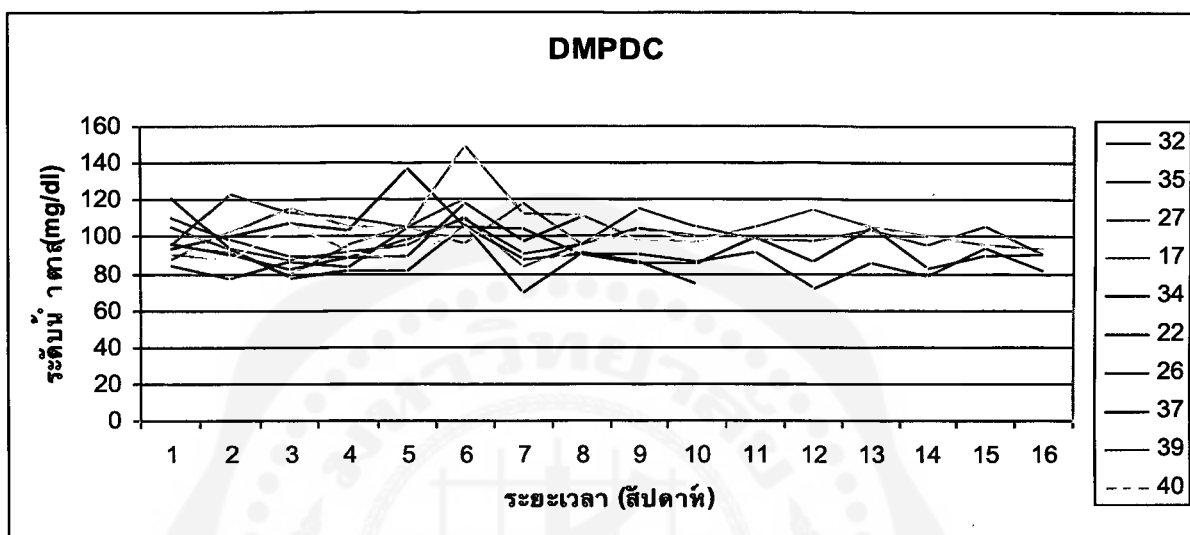


ภาพประกอบ 7 กราฟแสดงระดับน้ำตาลตลอด 16 สัปดาห์ของหนูกลุ่ม DMPD

4 สัปดาห์แรกเป็นช่วงการเหนี่ยวนำให้เกิดเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบกลุ่ม DMPD มีการเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานตั้งแต่เริ่มการทดลองและคาดการณ์ว่าเป็นโรคเบาหวานในสัปดาห์ที่ 4 ในการจัดเข้าในแต่ละกลุ่มการทดลองพบว่าส่วนใหญ่ระดับน้ำตาลจะสูงขึ้นภายหลังจากเหนี่ยวนำประมาณ 6 สัปดาห์ หลังจากนั้นระดับน้ำตาลจะแกว่งตัวขึ้นลงตลอดระยะเวลาการทดลอง

กลุ่ม DMPDC

กลุ่ม DMPDC มีค่าระดับน้ำตาลต่ำสุด 70 mg/dl และสูงสุด 149 mg/dl พบแนวโน้มของระดับน้ำตาลเป็นเช่นเดียวกับกลุ่ม DM และกลุ่ม DMPD คือส่วนใหญ่จะมีระดับน้ำตาลสูงขึ้นหลังจากเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานประมาณ 6 สัปดาห์และระดับน้ำตาลดังกล่าวจะมีการแกว่งตัวขึ้นลงตลอดระยะเวลาในการทดลอง (ภาพประกอบ 8)

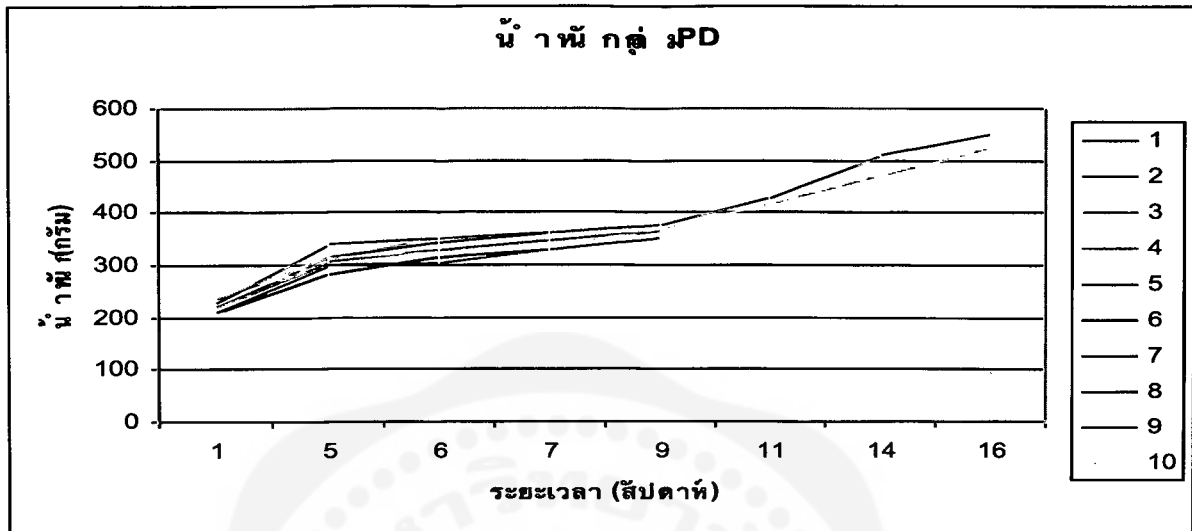


ภาพประกอบ 8 กราฟแสดงระดับน้ำตาลตลอด 16 สัปดาห์ของหนูกลุ่ม DMPDC

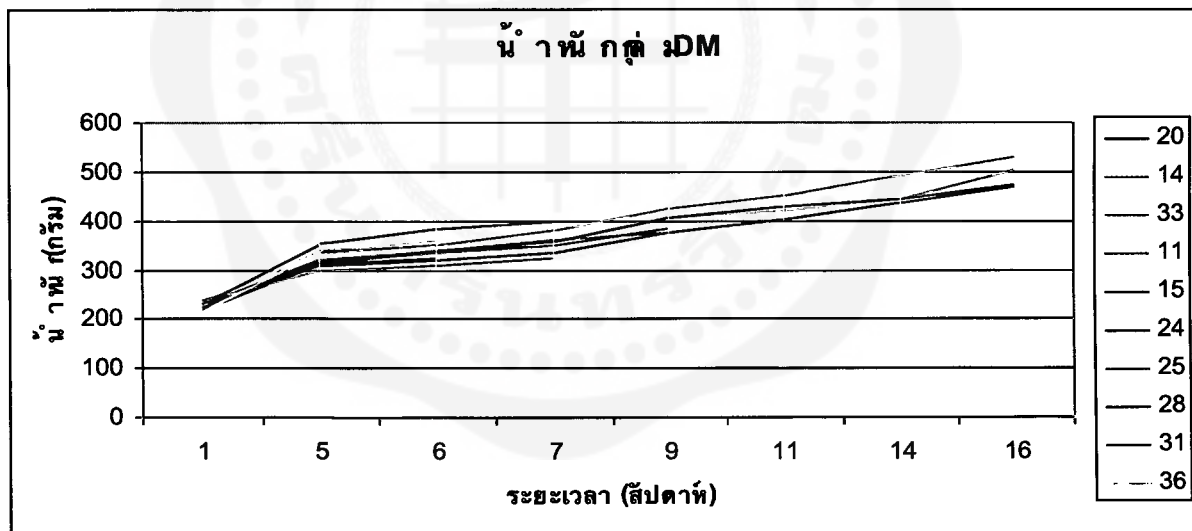
พบว่าส่วนใหญ่ระดับน้ำตาลจะสูงขึ้นภายหลังจากเหนี่ยวนำประมาณ 6 สัปดาห์ หลังจากนั้นระดับน้ำตาลจะแกว่งตัวขึ้นลงตลอดระยะเวลาการทดลอง เช่นเดียวกับระดับน้ำตาลของหนูกลุ่ม DMPD

น้ำหนักหนูแต่ละกลุ่มตลอดช่วงระยะเวลาการทดลอง

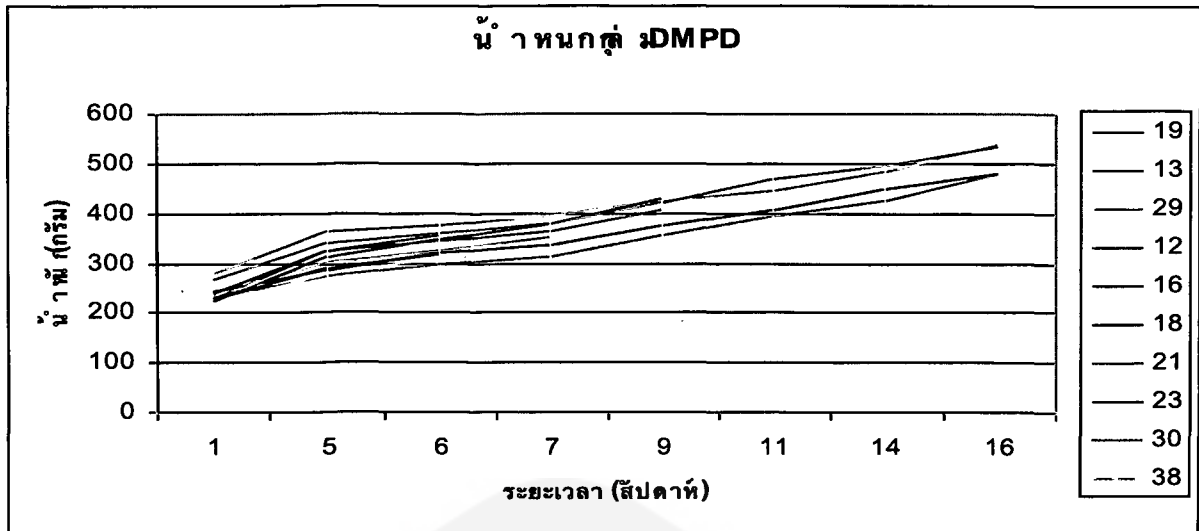
พบว่าในทุกกลุ่มทดลองหนูมีน้ำหนักตัวมากขึ้นตามระยะเวลาดังภาพประกอบ 9-12



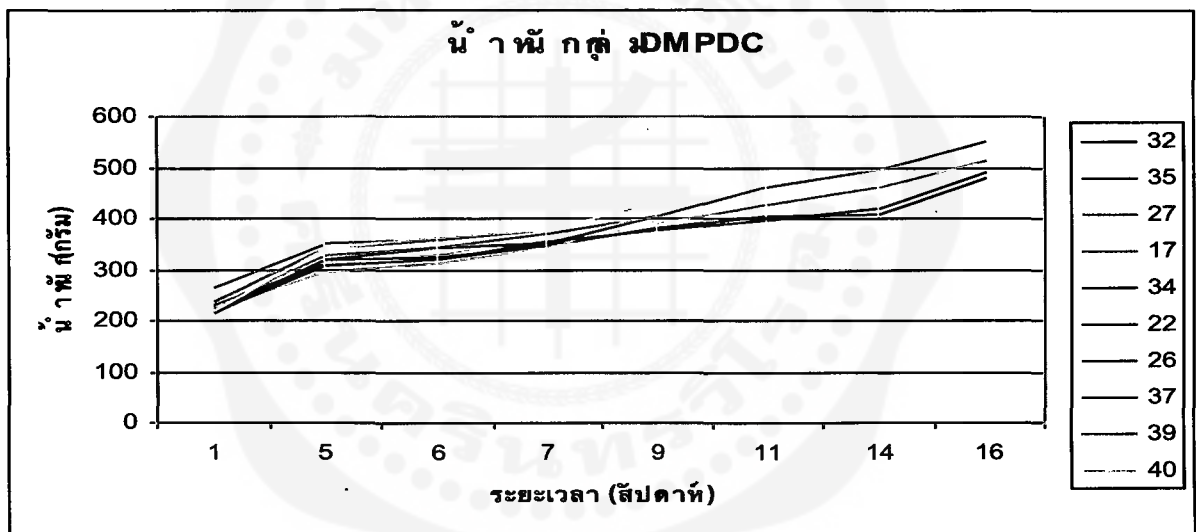
ภาพประกอบ 9 กราฟแสดงน้ำหนักหนูในกลุ่ม PD



ภาพประกอบ 10 กราฟแสดงน้ำหนักหนูในกลุ่ม DM



ภาพประกอบ 11 กราฟแสดงน้ำหนักหนูในกลุ่ม DMPD



ภาพประกอบ 12 กราฟแสดงน้ำหนักหนูในกลุ่ม DMPDC

ลักษณะการทำลายเนื้อเยื่อปริทันต์ในหนูแต่ละกลุ่ม

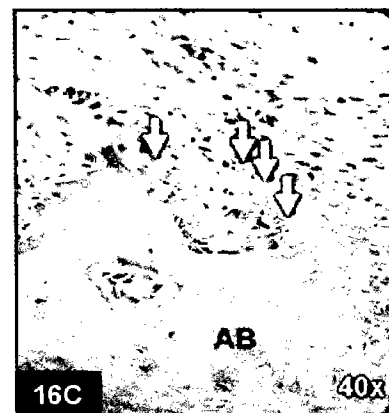
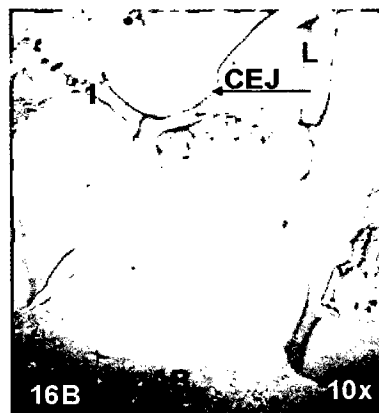
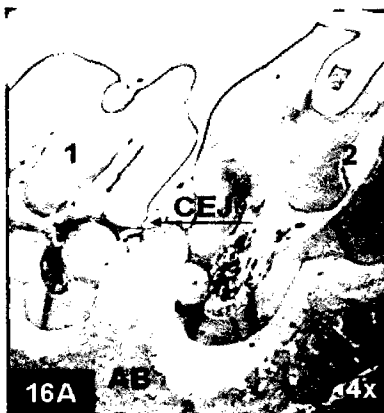
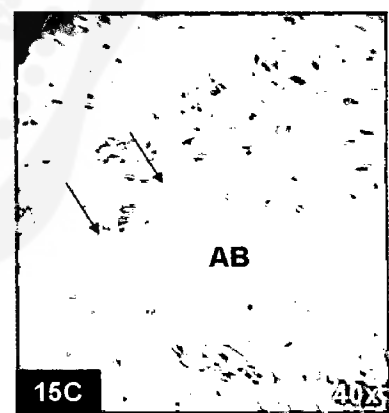
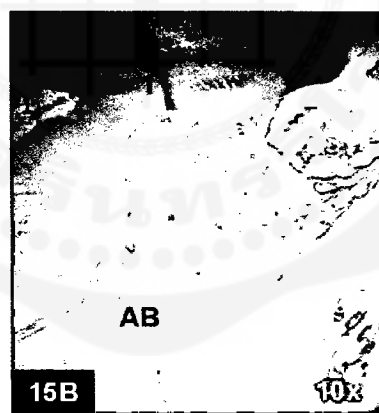
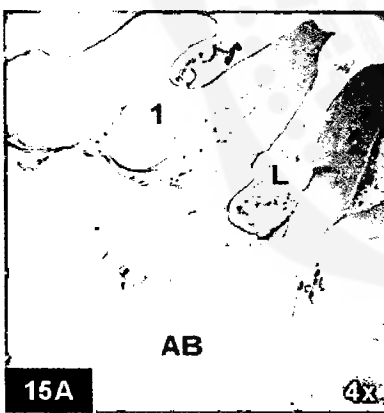
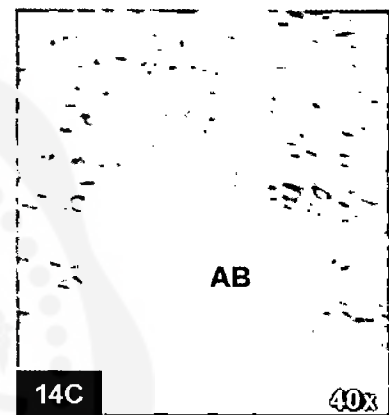
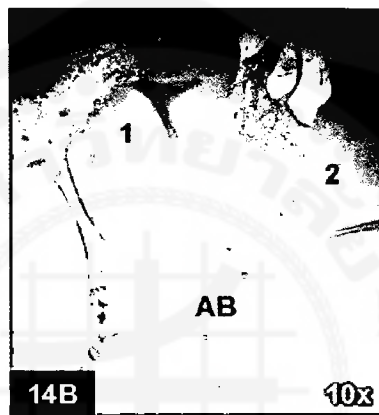
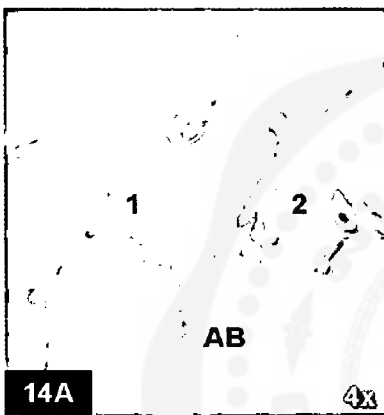
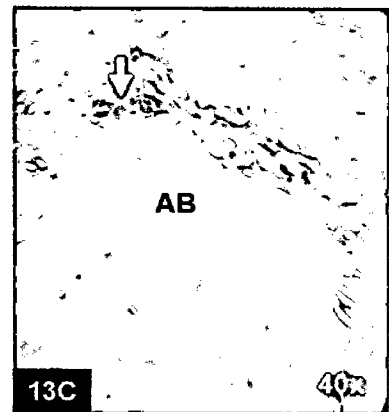
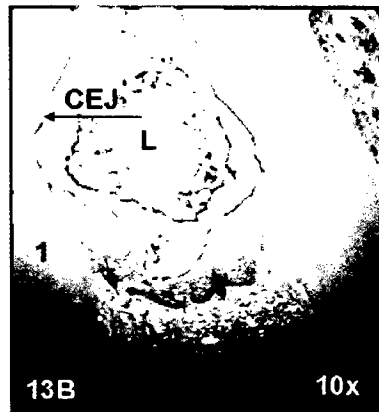
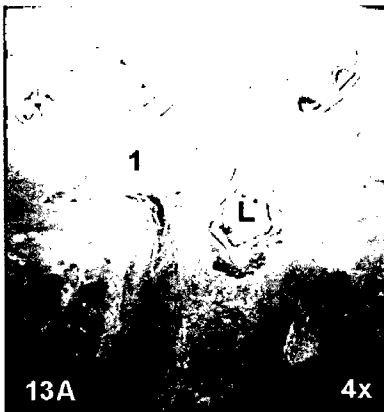
2 สัปดาห์

ในกลุ่ม PD ขึ้นเนื้อจากหนูทั้งสองตัว (ตัวที่ 3 และ 4) พบว่าเริ่มมีการละลายตัวของกระดูกเบ้าฟัน (alveolar bone) โดยเฉพาะบริเวณสันกระดูกเบ้าฟัน เริ่มพบการเคลื่อนที่ของเยื่อบุผิวเชื่อมต่อลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมลในชั้นเนื้อจากหนูทั้งสองตัว

กลุ่ม DM ขึ้นเนื้อจากหนูทั้งสองตัว (ตัวที่ 15 และ 36) พบว่ามีการทำลายกระดูกไปเพียงเล็กน้อยโดยตัวที่ 36 มีการทำลายกระดูกเบ้าฟันที่รุนแรงกว่าตัวที่ 15 อย่างไรก็ตามพบว่าในหนูทั้งสองตัวพบว่าเยื่อบุผิวเชื่อมต่อยังคงอยู่ที่ส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล

กลุ่ม DMPD (ตัวที่ 18 และ 23) พบการทำลายกระดูกเบ้าฟันที่รุนแรงกว่ากลุ่ม PD และพบการเคลื่อนที่ของเยื่อบุผิวเชื่อมต่อลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมลในชั้นเนื้อจากหนูทั้งสองตัวเช่นเดียวกับกลุ่ม PD

กลุ่ม DMPDC (ตัวที่ 35) พบการทำลายกระดูกเบ้าฟันที่รุนแรงเช่นเดียวกับกลุ่ม DMPD อีกทั้งยังพบการเคลื่อนที่ของเยื่อบุผิวเชื่อมต่อลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล



ภาพประกอบ 13-16 ลักษณะการทำลายอวัยวะปริทันต์ในกลุ่ม 2 สัปดาห์

กลุ่ม PD พบลักษณะของร่องลึก (groove) ระหว่างฟันกรามซี่ที่ 1 และ 2 เนื่องมาจากการผูกไหม (L) (ภาพประกอบ 13A) เกิดการกระจุกตัวของเซลล์อักเสบ (ลูกศรชี้-ภาพประกอบ 13B) การเคลื่อนตัวของเยื่อผิวเชื่อมต่อลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (CEJ-ภาพประกอบ 13B) และพบการละลายตัวของกระดูกเบ้าฟัน (AB) โดยเฉพาะบริเวณสันกระดูก (ภาพประกอบ 13C)

กลุ่ม DM ไม่พบทั้งลักษณะร่องลึก (ภาพประกอบ 14A) เยื่อผิวเชื่อมต่ออยู่ที่ส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ภาพประกอบ 14B) และการพบละลายตัวของสันกระดูกเบ้าฟันเพียงเล็กน้อย (ภาพประกอบ 14C)

กลุ่ม DMPD เกิดลักษณะร่องลึกจากการผูกไหม (ภาพประกอบ 15A) การเคลื่อนตัวของเยื่อผิวเชื่อมต่อลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ภาพประกอบ 15B) และการทำลายสันกระดูกเบ้าฟันที่รุนแรง (ลูกศรชี้-ภาพประกอบ 15C) เช่นเดียวกับกลุ่ม PD

กลุ่ม DMPDC พบการเคลื่อนที่ลงของเยื่อผิวเชื่อมต่อลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ภาพประกอบ 16A และ 16B) โดยเกิดแองริซอร์ปชันลาคูนาที่บริเวณสันกระดูกเบ้าฟันโดยเกิดการทำลายสันกระดูกโดยเซลล์ออสติโอคลาสต์ (ลูกศรชี้-ภาพประกอบ 16C)



4 สัปดาห์

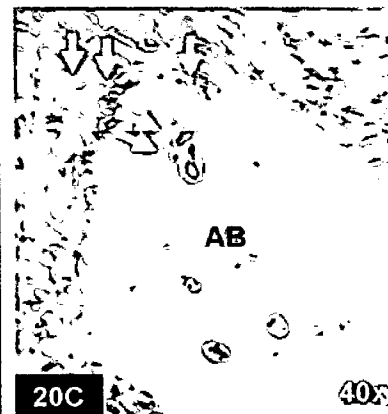
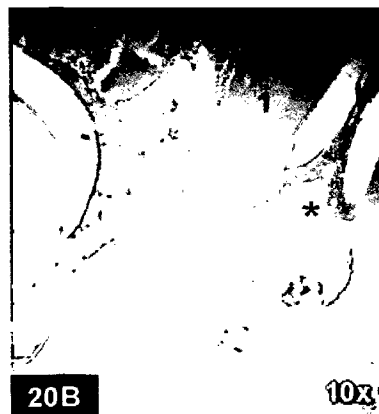
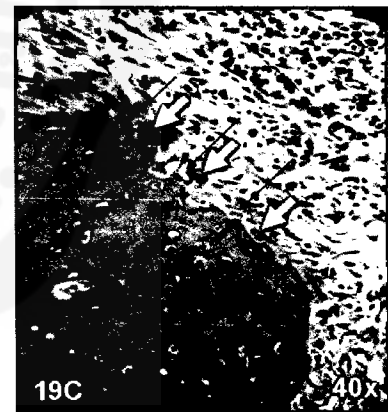
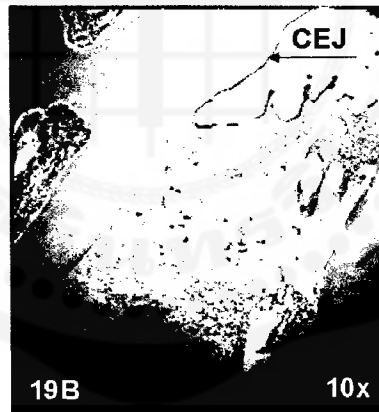
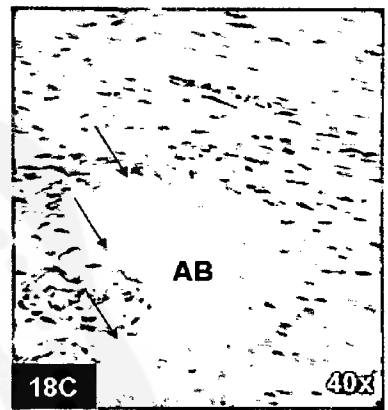
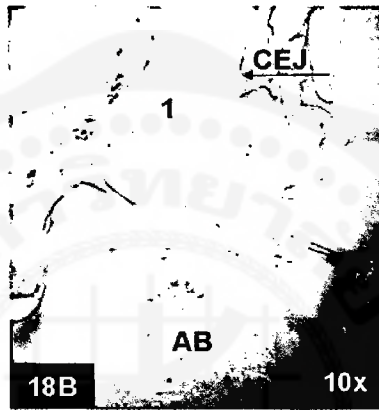
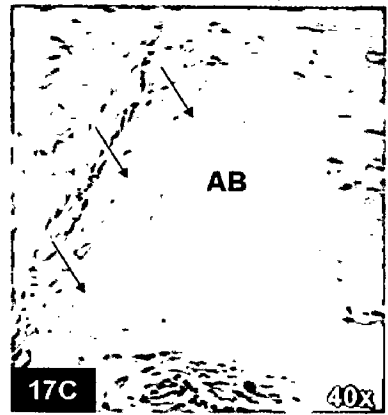
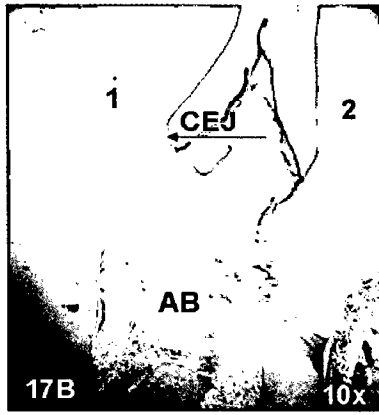
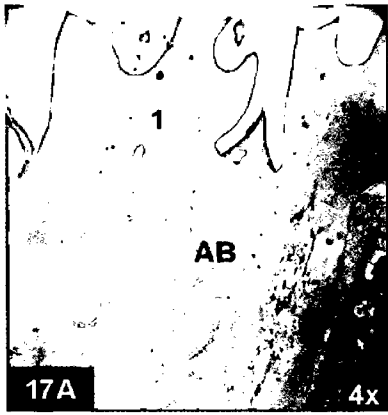
ในกลุ่ม PD ขึ้นเนื้อจากหนู 2 ตัว (ตัวที่ 5 และ 6) ต่างพบการเคลื่อนที่ของเยื่อบุผิวเชื่อมต่อลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมลและพบการละลายตัวของสันกระดูกเบ้าฟันที่รุนแรงกว่ากลุ่ม PD 2 สัปดาห์

ขณะที่กลุ่ม DM (ขึ้นเนื้อจากหนูตัวที่ 28 และ 31) พบการละลายตัวของสันกระดูกเบ้าฟันที่รุนแรงกว่ากลุ่ม DM 2 สัปดาห์แต่เยื่อบุผิวเชื่อมต่อยังคงอยู่ที่ส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมลเช่นเดียวกับกลุ่ม DM 2 สัปดาห์

กลุ่ม DMPD (ขึ้นเนื้อจากหนูตัวที่ 12 และ 38) พบการเคลื่อนที่ของเยื่อบุผิวเชื่อมต่อ (epithelial apical migration) ลงใต้ส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล โดยไม่พบความแตกต่างในด้านความรุนแรงของการละลายตัวของสันกระดูกเบ้าฟันระหว่างกลุ่ม PD และ DMPD เด่นชัด

กลุ่ม DMPDC (ขึ้นเนื้อจากหนูตัวที่ 26 และ 37) ต่างพบการทำลายสันกระดูกเบ้าฟันอย่างรุนแรงเช่นเดียวกับที่พบในกลุ่ม PD และ DMPD และพบการเคลื่อนที่ของเยื่อบุผิวเชื่อมต่อลงใต้ส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล





ภาพประกอบ 17-20 รูปแบบการทำลายอวัยวะปริทันต์ในกลุ่ม 4 สัปดาห์

กลุ่ม PD พบการทำลายกระดูกเข้าฟัน (ภาพประกอบ 17A และ ลูกศรชี้-ภาพประกอบ 17C) พบการเคลื่อนที่ของเยื่อบุผิวเชื่อมต่อลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ลูกศรชี้-ภาพประกอบ 147)

กลุ่ม DM เยื่อบุผิวเชื่อมต่อยังคงเกาะที่ส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ลูกศรชี้-ภาพประกอบ 18B) และพบการทำลายสันกระดูกเข้าฟันเพียงเล็กน้อย (ลูกศรชี้-ภาพประกอบ 18C)

กลุ่ม DMPD พบร่องลึกระหว่างฟันกรามทั้งสองซี่เนื่องมาจากการผุใหม่ (ภาพประกอบ 19A) มีการเคลื่อนที่ของเยื่อบุผิวเชื่อมต่อลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ลูกศรชี้-ภาพประกอบ 19B) และเกิดลักษณะรีซอร์ปชันลาคุนา (resorption lacuna) บริเวณสันกระดูกเข้าฟันที่ถูกทำลายโดยเซลล์ออสติโอคลาสต์ (ลูกศรชี้สีขาว-ภาพประกอบ 19C)

กลุ่ม DMPDC พบการทำลายกระดูกเข้าฟันอย่างรุนแรง(ลูกศรชี้-ภาพประกอบ 20A) และการกระจุกตัวของเซลล์อีกเสบ

(*) (ภาพประกอบ 20B) โดยบริเวณสันกระดูกเข้าฟันเกิดการทำลายสันกระดูกโดยเซลล์ออสติโอคลาสต์ (ลูกศรชี้สีขาว-ภาพประกอบ 20C)



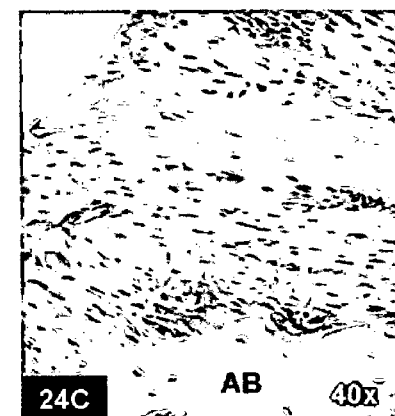
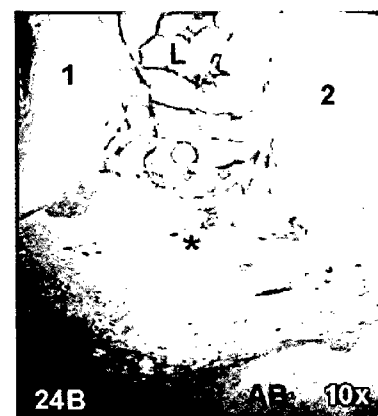
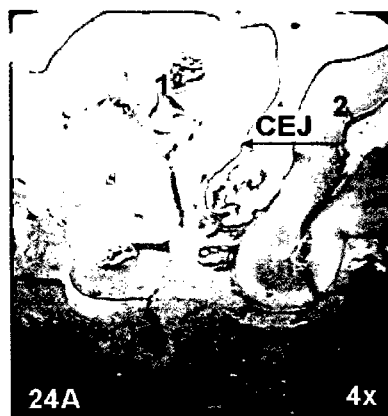
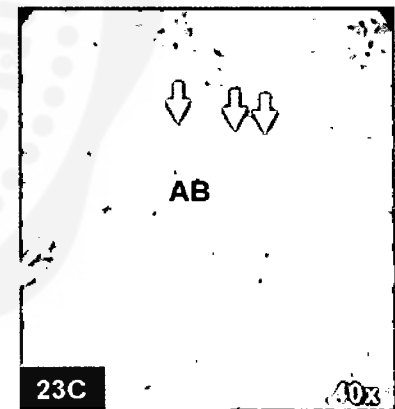
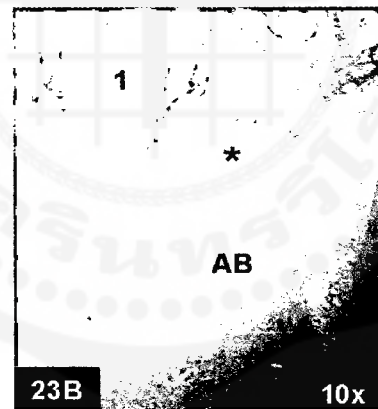
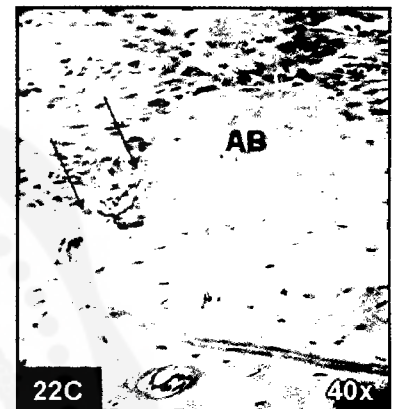
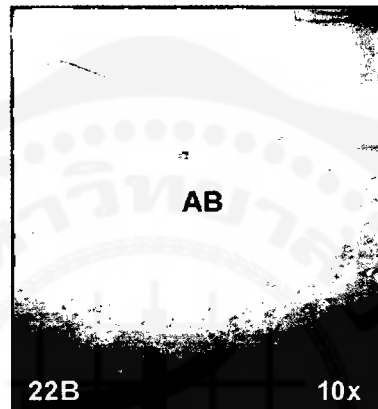
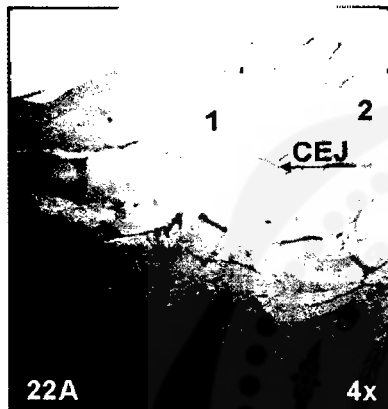
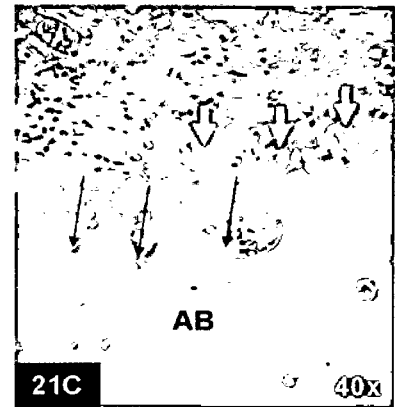
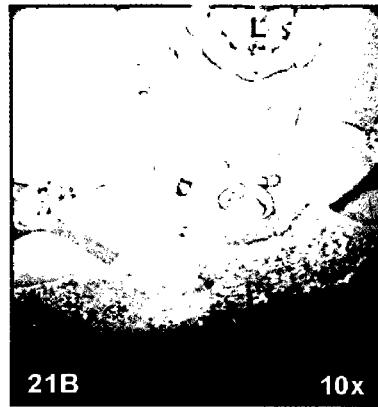
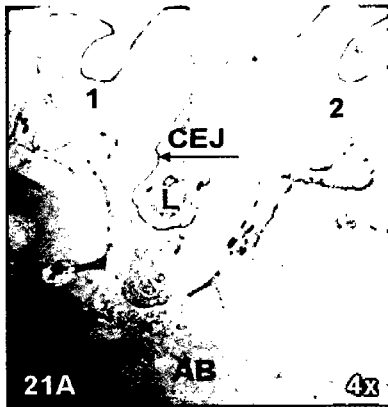
6 สัปดาห์

ในกลุ่ม PD ขึ้นเนื่องจากหนูทั้ง 2 ตัว (ตัวที่ 2 และ 7) พบการทำลายสันกระดูกเข้าฟันที่รุนแรงกว่าเมื่อ 4 สัปดาห์ พบการเคลื่อนที่ของเยื่อหุ้มฟันเชื่อมต่อดังใต้ส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล

ขณะที่กลุ่ม DM ขึ้นเนื่องจากหนูตัวที่ 25 พบการละลายตัวของกระดูกเข้าฟันที่รุนแรงคล้ายคลึงกับกลุ่ม 4 สัปดาห์ขณะที่ขึ้นเนื่องจากหนูตัวที่ 14 กลับพบการละลายตัวของกระดูกเข้าฟันเพียงเล็กน้อยโดยพบเยื่อหุ้มฟันเชื่อมต่อยังคงอยู่ที่ส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมลในขึ้นเนื่องจากหนูทั้งสองตัว

กลุ่ม DMPD ขึ้นเนื่องจากหนูทั้งสองตัว (ตัวที่ 16 และ 21) ต่างพบการเคลื่อนที่ของเยื่อหุ้มฟันเชื่อมต่อดังใต้ส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมลและการทำลายกระดูกเข้าฟันที่รุนแรงน้อยกว่าขึ้นเนื่องจากกลุ่ม PD อย่างไรก็ตามความรุนแรงของการทำลายอวัยวะปริทันต์ไม่แตกต่างจากกลุ่ม 4 สัปดาห์เด่นชัดนัก

กลุ่ม DMPDC ขึ้นเนื่องจากหนูตัวที่ 17,22 และ 40 ขึ้นเนื่องจากหนูทั้งสามพบการทำลายกระดูกเข้าฟันที่รุนแรงและการเคลื่อนที่ของเยื่อหุ้มฟันเชื่อมต่อดังใต้ส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมลไม่แตกต่างจากขึ้นเนื้อในกลุ่ม PD และ DMPD แต่อย่างใด โดยพบว่าการทำลายอวัยวะปริทันต์รุนแรงกว่าช่วงสัปดาห์ก่อนหน้า



ภาพประกอบ 21-24 รูปแบบการทำลายอวัยวะปริทันต์ในกลุ่ม 6 สัปดาห์

กลุ่ม PD พบการเคลื่อนตัวของเยื่อหุ้มไขว้เชื่อมต่อ ลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ภาพประกอบ 21A) และการทำลายกระดูกอย่างรุนแรง (ภาพประกอบ 21B) เกิดลักษณะการทำลายกระดูกเป็นแอ่งรีซอร์ปชั้นลาคูนา (ลูกศรสีดำ-ภาพประกอบ 21C) โดยเซลล์ออสติโอคลาสต์ (ลูกศรสีขาว-ภาพประกอบ 21C)

กลุ่ม DM พบการยึดเกาะของเยื่อหุ้มไขว้ยังคงอยู่ที่ส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ภาพประกอบ 22A) และพบการทำลายกระดูกใกล้เคียงกับกลุ่ม DM 4 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 22B และตำแหน่งลูกศรชี้ภาพประกอบ 22C)

กลุ่ม DMPD พบลักษณะร่องลึกจากการผูกไหม (L) ที่รุนแรงและการเคลื่อนตัวของเยื่อหุ้มไขว้เชื่อมต่อลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ภาพประกอบ 23A) และการกระดูกตัวอย่างหนาแน่นของเซลล์อักเสบ (ลูกศรชี้-ภาพประกอบ 23B) อีกทั้งพบการทำลายกระดูกเข้าฟันโดยเซลล์ออสติโอคลาสต์ (ลูกศรชี้-ภาพประกอบ 23C)

กลุ่ม DMPDC พบการเคลื่อนที่ลงของเยื่อหุ้มไขว้เชื่อมต่อลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ภาพประกอบ 24A) การกระดูกตัวของเซลล์อักเสบหนาแน่นบริเวณเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (* - ภาพประกอบ 24B) โดยเกิดแอ่งรีซอร์ปชั้นลาคูนาที่บริเวณสันกระดูกเข้าฟันโดยเกิดการทำลายสันกระดูกโดยเซลล์ออสติโอคลาสต์ (ลูกศรชี้-ภาพประกอบ 24C)



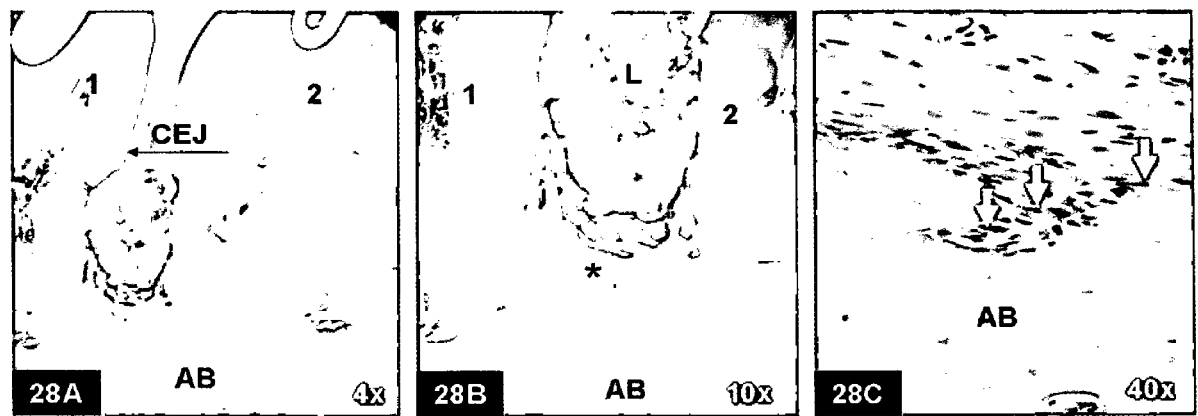
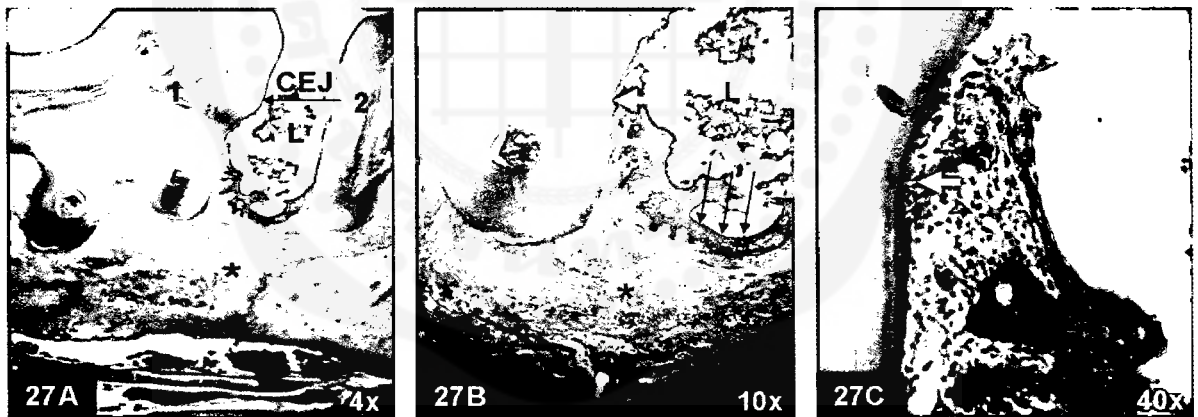
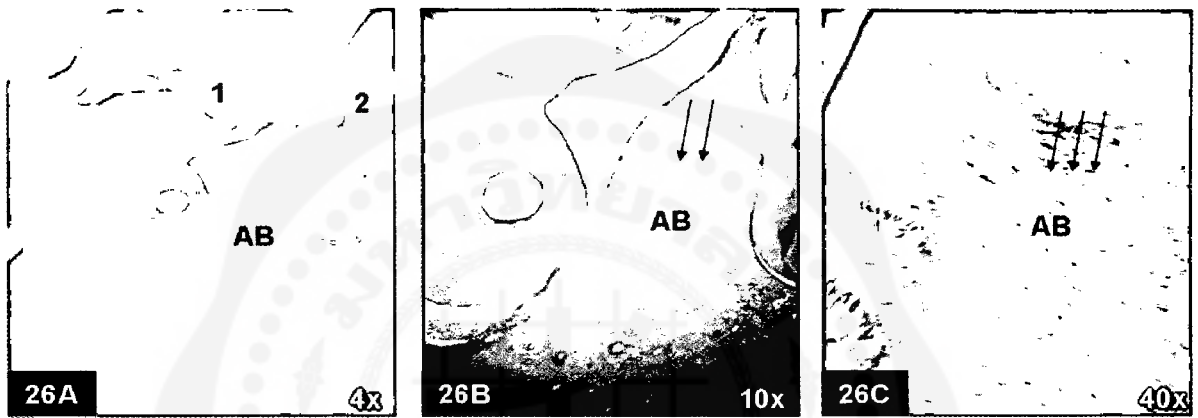
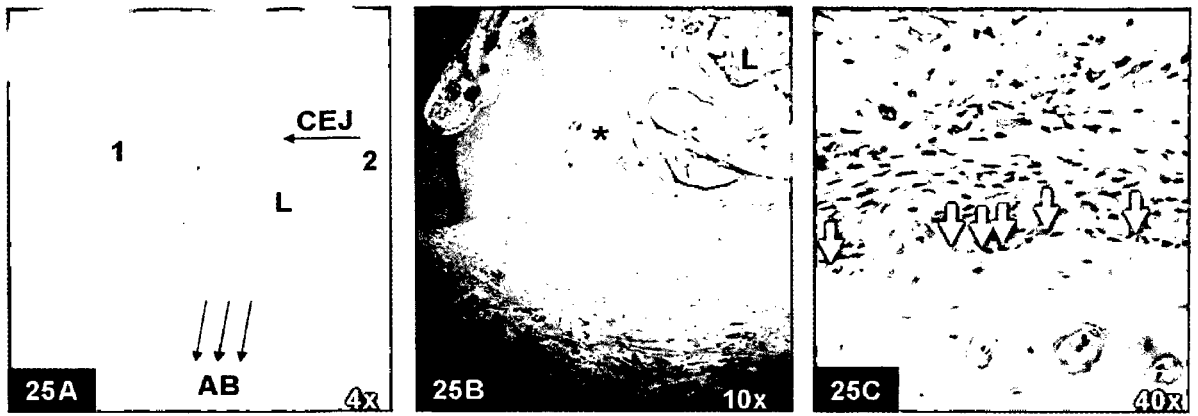
12 สัปดาห์

ในกลุ่ม PD ขึ้นเนื้อจากหนูทั้ง 2 ตัว (ตัวที่ 9 และ 10) พบการทำลายกระดูกเข้าฟันรุนแรงอย่างมากเช่นเดียวกับ 6 สัปดาห์ พบการเคลื่อนที่ของเยื่อบุผิวเชื่อมต่อลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล

กลุ่ม DM ขึ้นเนื้อจากหนูทั้ง 4 ตัว (ตัวที่ 11, 20, 24 และ 33) ต่างพบการละลายตัวของกระดูกเข้าฟันเพียงเล็กน้อยและเยื่อบุผิวเชื่อมต่อยังคงอยู่ที่ส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมลในชั้นเนื้อจากหนูทั้งสี่ตัว

กลุ่ม DMPD ขึ้นเนื้อจากหนู 2 ตัว (ตัวที่ 13 และ 19 โดยเกิดข้อผิดพลาดในการตัดชิ้นเนื้อในหนูตัวที่ 30 และ 39) พบการทำลายกระดูกเข้าฟันที่รุนแรงอย่างมากเช่นเดียวกับ 6 สัปดาห์และพบการเคลื่อนที่ของเยื่อบุผิวเชื่อมต่อลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมลแต่ไม่แตกต่างจากชั้นเนื้อในกลุ่ม PD แต่อย่างใด

กลุ่ม DMPDC ขึ้นเนื้อจากหนู 4 ตัว (ตัวที่ 27, 32, 34 และ 39) พบการเคลื่อนที่ลงของเยื่อบุผิวเชื่อมต่อลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมลเช่นเดียวกับกลุ่ม PD และ DMPD โดยที่บริเวณสันกระดูกเข้าฟันพบทำลายสันกระดูกรุนแรงกว่ากลุ่ม 6 สัปดาห์



ภาพประกอบ 25-28 รูปแบบการทำลายอวัยวะปริทันต์ในกลุ่ม 12 สัปดาห์

กลุ่ม PD แสดงการทำลายกระดูก (AB) รุนแรงอย่างมากโดยพบเศษไหมและคราบอาหาร (L) เกิดลักษณะร่องลึกจากการผูกไหมอย่างรุนแรง และพบการเคลื่อนที่ลงของเยื่อหุ้มไขว้เชื่อมต่อลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ภาพประกอบ 25A) ร่วมกับการกระดูกตัวของเซลล์อักเสบจำนวนมากบริเวณเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (*) (ภาพประกอบ 25B) และเกิดลักษณะแองริซอร์ปชันลามานาโดยเซลล์ออสติโอคลาสต์ (ลูกศรชี้-ภาพประกอบ 25C)

กลุ่ม DM แสดงการปรากฏของเซลล์อักเสบและพบการทำลายสันกระดูกเข้าฟันเพียงเล็กน้อย (ภาพประกอบ 26B และ 26C)

กลุ่ม DMPD พบลักษณะร่องลึกระหว่างซี่ฟัน เศษอาหารและเศษไหมพบได้ในบริเวณระหว่างฟันทั้งสองซี่ (L) (ภาพประกอบ 27A) ปรากฏการบริเวณที่มีการทำลายสันกระดูกเข้าฟันที่รุนแรง (*) (ภาพประกอบ 27B) อีกทั้งพบเซลล์อักเสบอยู่กันอย่างหนาแน่นบริเวณเนื้อเยื่อยึดต่อ (Δ) และการเคลื่อนตัวของเยื่อหุ้มไขว้เชื่อมต่อ (ลูกศรชี้) ลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ภาพประกอบ 27C)

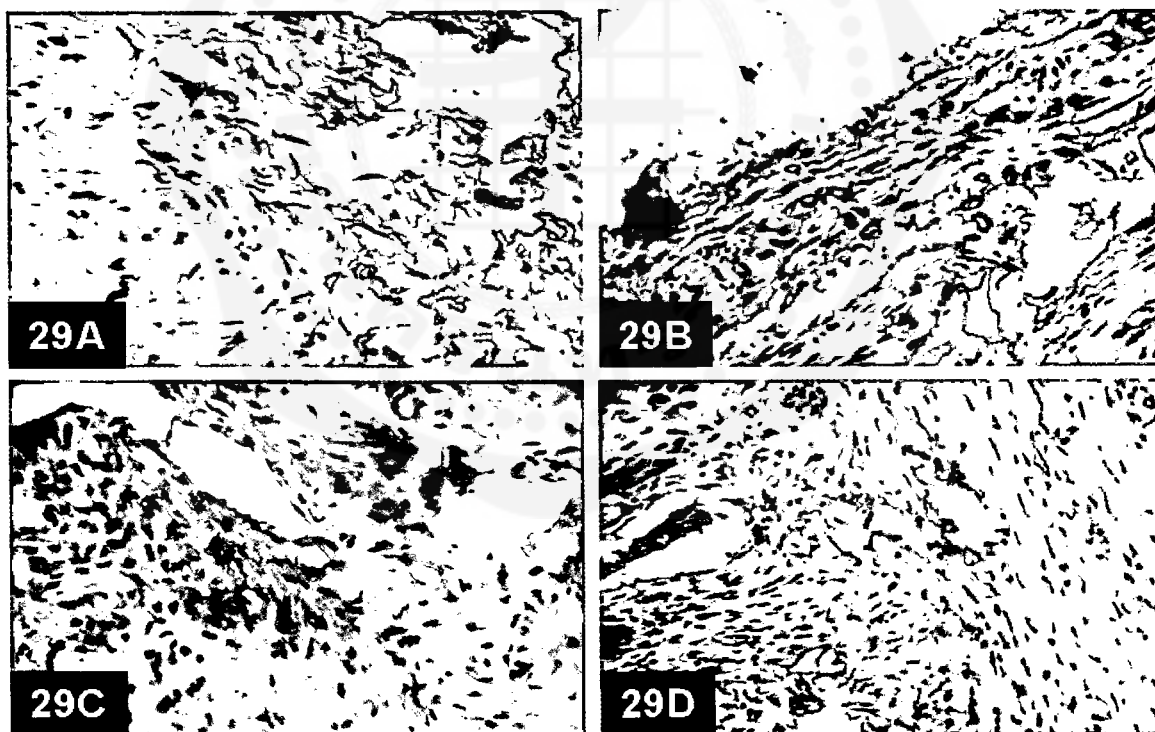
กลุ่ม DMPDC พบการเคลื่อนที่ลงของเยื่อหุ้มไขว้เชื่อมต่อลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ภาพประกอบ 28A) เช่นเดียวกับกลุ่มสัปดาห์ก่อนหน้า การกระดูกตัวของเซลล์อักเสบหนาแน่นบริเวณเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (*) (ภาพประกอบ 28B) โดยเกิดแองริซอร์ปชันลามานาที่บริเวณสันกระดูกเข้าฟันโดยเกิดการทำลายสันกระดูกอย่างรุนแรงโดยเซลล์ออสติโอคลาสต์ (ลูกศรชี้ -ภาพประกอบ 28C)

การแสดงผลของสารสื่ออักเสบในหนูแต่ละกลุ่ม

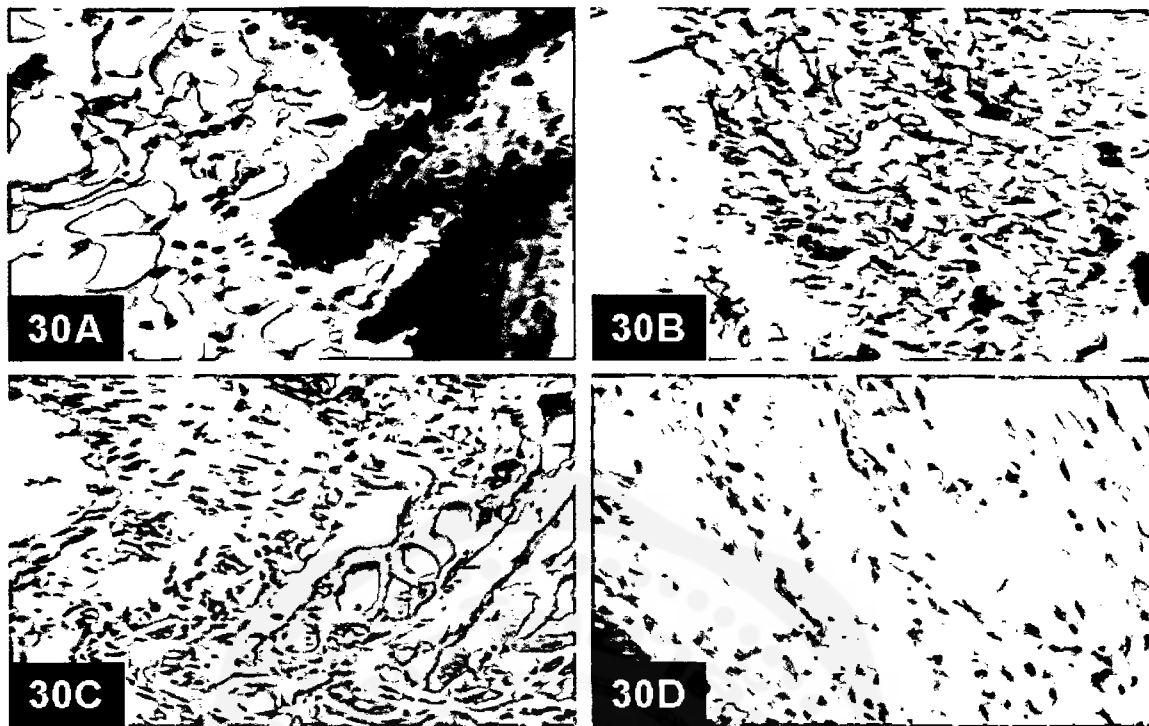
การแสดงผลของอินเตอร์ลิวคิน-1 เบตา

พบว่าในกลุ่ม PD การแสดงผลของเซลล์อักเสบที่เพิ่มจำนวนมากขึ้นตามระยะเวลา โดยพบการแสดงผลทั้งโมโนนิวเคลียร์เซลล์และโพลีมอร์โฟนิวเคลียร์เซลล์ การแสดงผลของสารสื่ออักเสบดังกล่าวมีน้อยในกลุ่ม 2 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 29A) และเพิ่มจำนวนมากขึ้นจนมีเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกของ DAB (positive cell) อยู่กันอย่างหนาแน่นในกลุ่ม 12 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 29D) ขณะที่กลุ่ม DM มีเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกจำนวนมากในกลุ่ม 4-6 สัปดาห์และแสดงผลน้อยลงในกลุ่ม 12 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 30B-30D) กลุ่ม DMPD มีการแสดงผลค่อนข้างน้อยในกลุ่ม 2-4 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 31A และ 31B) และทวีจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกมากขึ้นจนมีจำนวนเซลล์อย่างมากในกลุ่ม 12 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 31D) กลุ่ม DMPDC มีการแสดงผลของเซลล์อักเสบอย่างมากในกลุ่ม 4-6 สัปดาห์แต่กลับพบว่าการแสดงผลลดลงอย่างชัดเจนในกลุ่ม 12 สัปดาห์

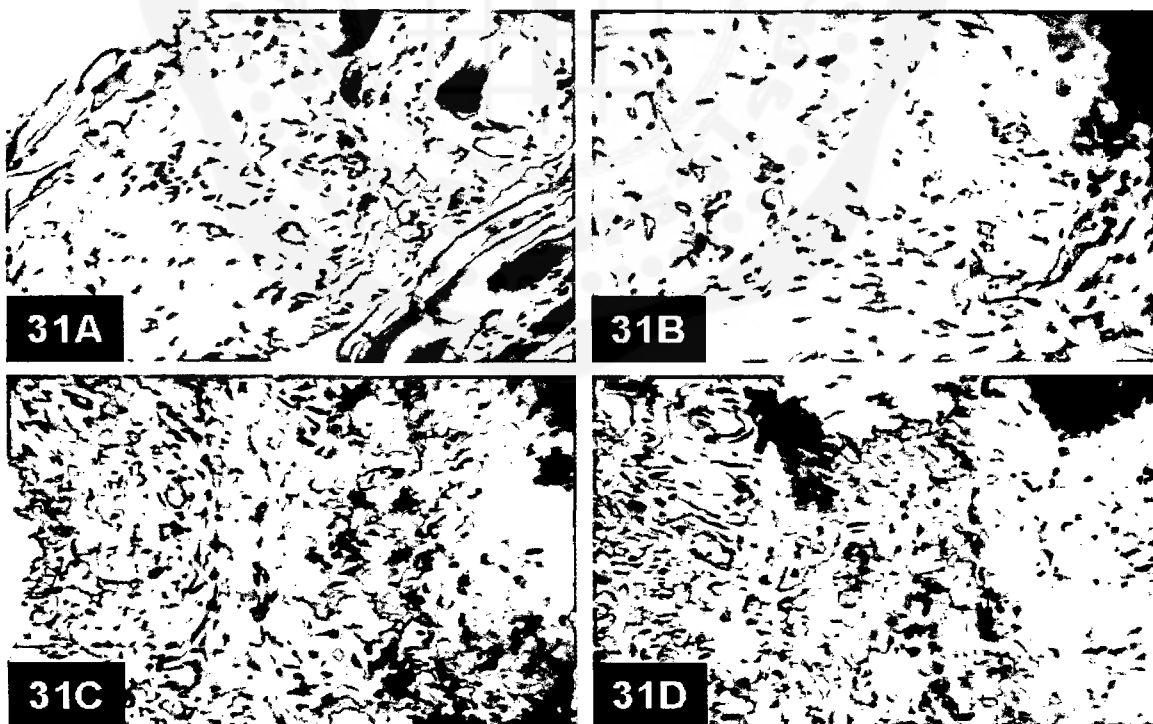
ภาพประกอบ 29-32 ตัวอย่างการแสดงผลของอินเตอร์ลิวคิน-1 เบตาในหนูแต่ละกลุ่ม



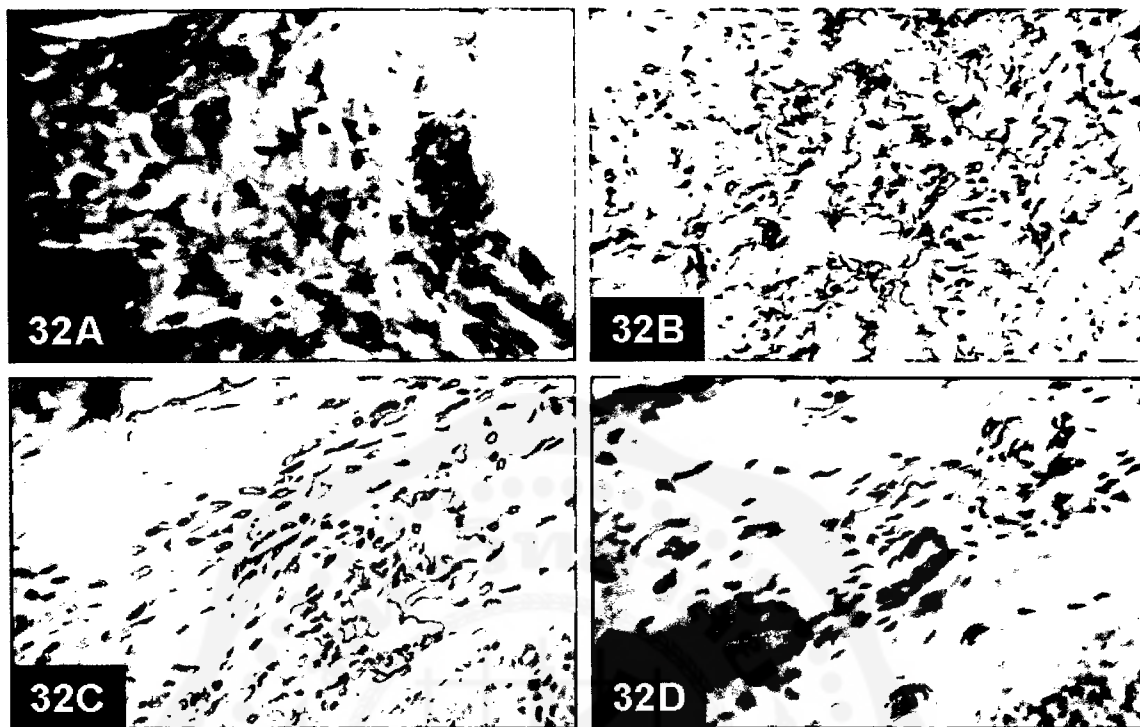
ภาพประกอบ 29 การแสดงผลของอินเตอร์ลิวคิน-1 เบตาในหนูกลุ่ม PD



ภาพประกอบ 30 การแสดงออกของอินเทอร์ลิวคิน-1 เบตาในหนูกลุ่ม DM



ภาพประกอบ 31 การแสดงออกของอินเทอร์ลิวคิน-1 เบตาในหนูกลุ่ม DMPD



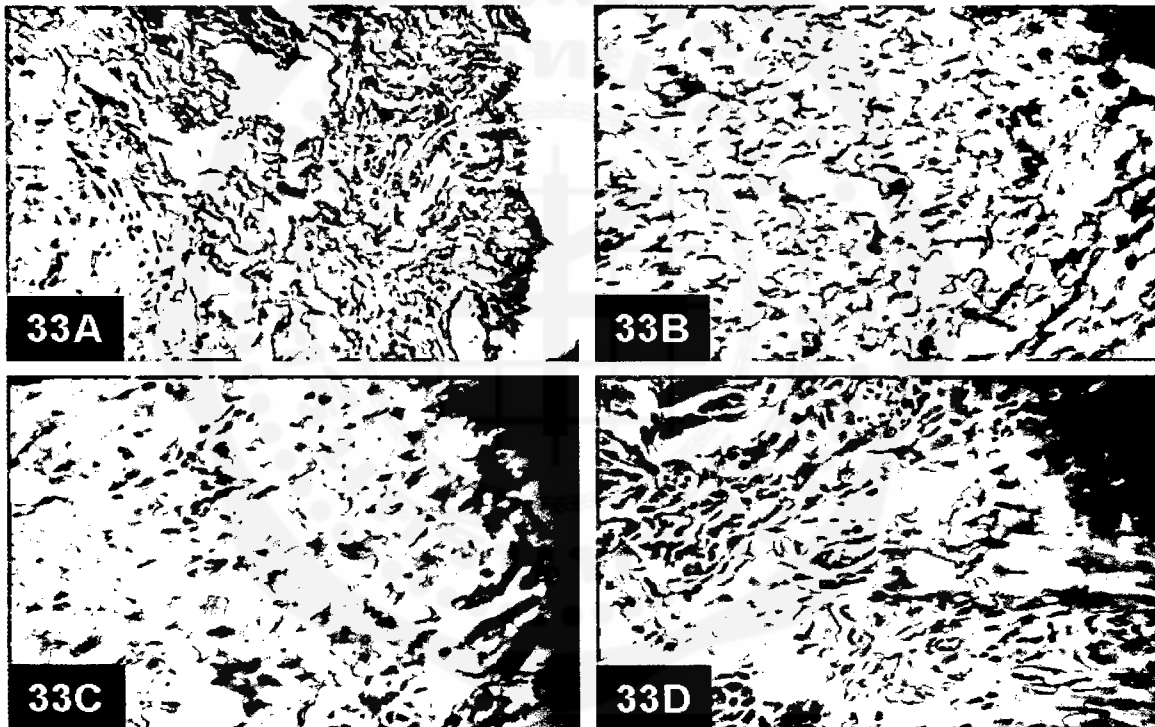
ภาพประกอบ 32 การแสดงออกของอินเทอร์ลิวคิน-1 เบตาในหนูกุ่ม DMPDC

หนูกุ่ม PD มีจำนวนเซลล์ที่แสดงออกเพิ่มขึ้นตามระยะเวลา (ภาพประกอบ 29A-29D) โดยพบการแสดงออกของเซลล์อักเสบที่อยู่รวมกันอย่างหนาแน่นในระยะเวลา 12 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 29D) ขณะที่การแสดงออกในกุ่ม DM พบว่ามีการแสดงออกอย่างมากในกุ่ม 4-6 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 30B และ 30C) โดยการแสดงออกในกุ่ม DM จะลดลงในกุ่ม 12 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 30D) ส่วนการแสดงออกของกุ่ม DMPDC จะเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาเช่นเดียวกับกุ่ม PD (ภาพประกอบ 31A-31D) และพบว่ากุ่ม DMPDC ซึ่งได้รับยาเคอร์คิวมินมีการแสดงออกมากในกุ่ม 4 สัปดาห์ก่อนจะลดน้อยลงอย่างชัดเจนในกุ่ม 12 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 32A-32D)

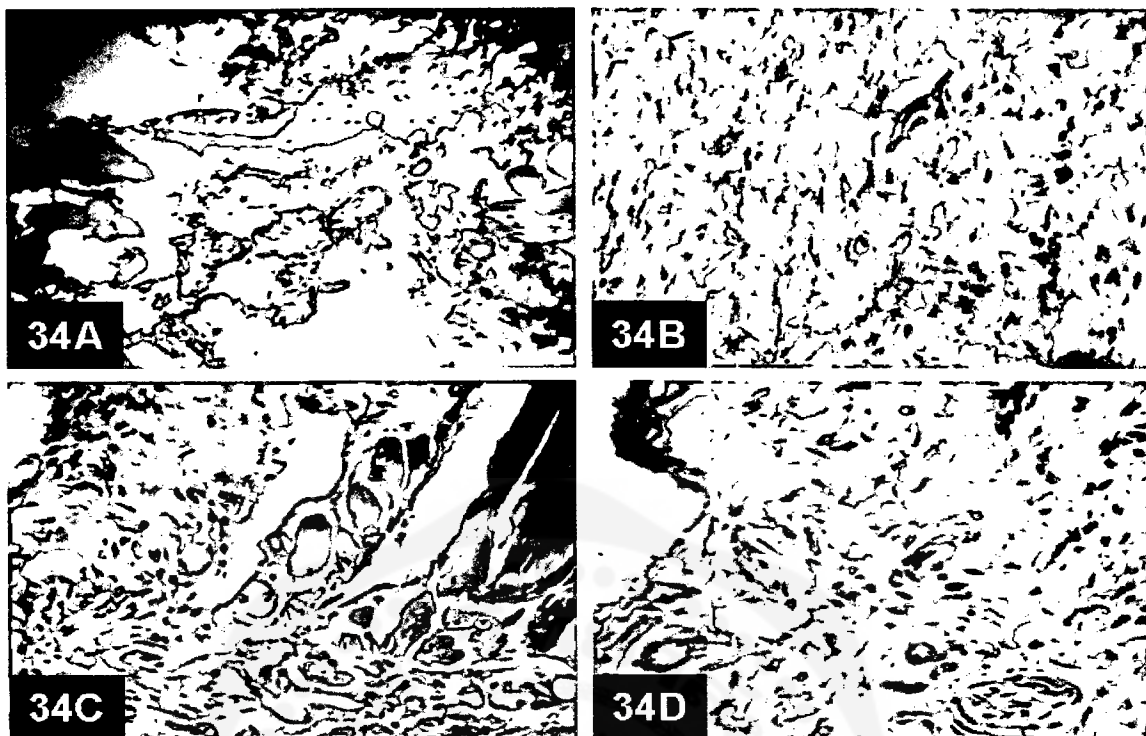
การแสดงออกของทูเมอร์เนโครซิสแพกเตอร์-แอลฟา

การแสดงออกของทูเมอร์เนโครซิสแพกเตอร์-แอลฟาทั้งในกลุ่ม PD และ DMPD เป็นไปในลักษณะเดียวกัน โดยกลุ่ม PD 2-4 สัปดาห์พบการแสดงออกของเซลล์อักเสบค่อนข้างน้อย (ภาพประกอบ 33A และ 33B) ก่อนจะเพิ่มจำนวนสูงในกลุ่ม 12 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 33D) ขณะที่กลุ่ม DM จะมีการแสดงออกของเซลล์อักเสบในกลุ่ม 4 สัปดาห์มากกว่าในกลุ่ม 6 และ 12 สัปดาห์เล็กน้อย (ภาพประกอบ 34B และ 34D) กลุ่ม DMPD มีการแสดงออกที่เพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลา โดยเซลล์อักเสบที่พบการแสดงออกในกลุ่ม 12 สัปดาห์มากกว่าสัปดาห์อื่นๆ เช่นเดียวกับกลุ่ม PD (ภาพประกอบ 35A และ 35D) กลุ่ม DMPDC มีการแสดงออกของเซลล์อักเสบอย่างมากในกลุ่ม 4 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 36B) ก่อนจะพบว่าการแสดงออกเริ่มลดลงในกลุ่ม 6 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 36C) และพบเซลล์ติดสีบวกร้านน้อยมากในกลุ่ม 12 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 36D)

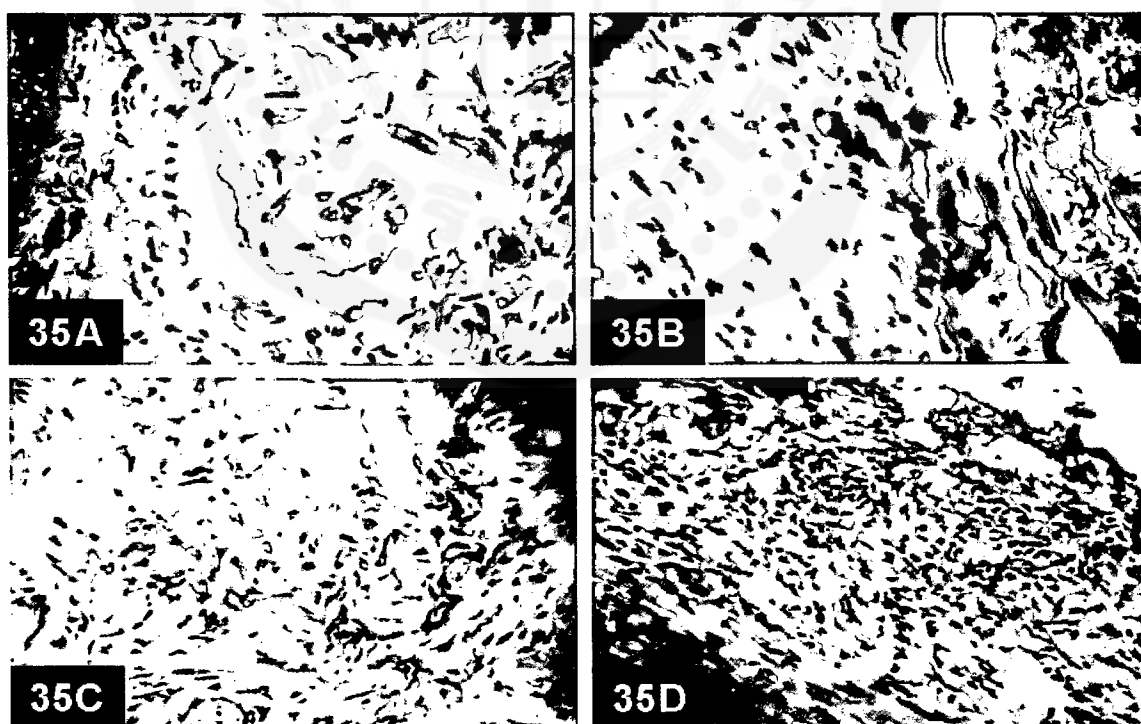
ภาพประกอบ 33-36 ตัวอย่างการแสดงออกของทูเมอร์เนโครซิสแพกเตอร์-แอลฟาในหนูแต่ละกลุ่ม



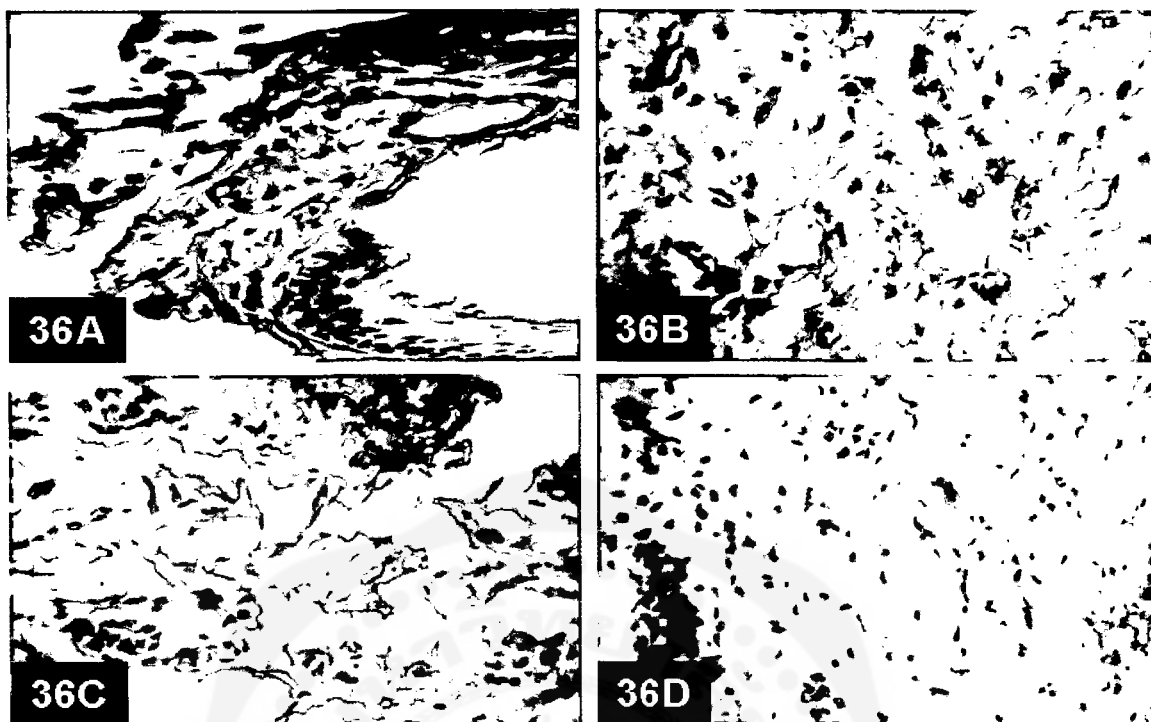
ภาพประกอบ 33 การแสดงออกของทูเมอร์เนโครซิสแพกเตอร์-แอลฟาในหนูกลุ่ม PD



ภาพประกอบ 34 การแสดงออกของทูเมอร์เนโครซิสแพกเตอร์-แอลฟาในหนูกลุ่ม DM



ภาพประกอบ 35 การแสดงออกของทูเมอร์เนโครซิสแพกเตอร์-แอลฟาในหนูกลุ่ม DMPD



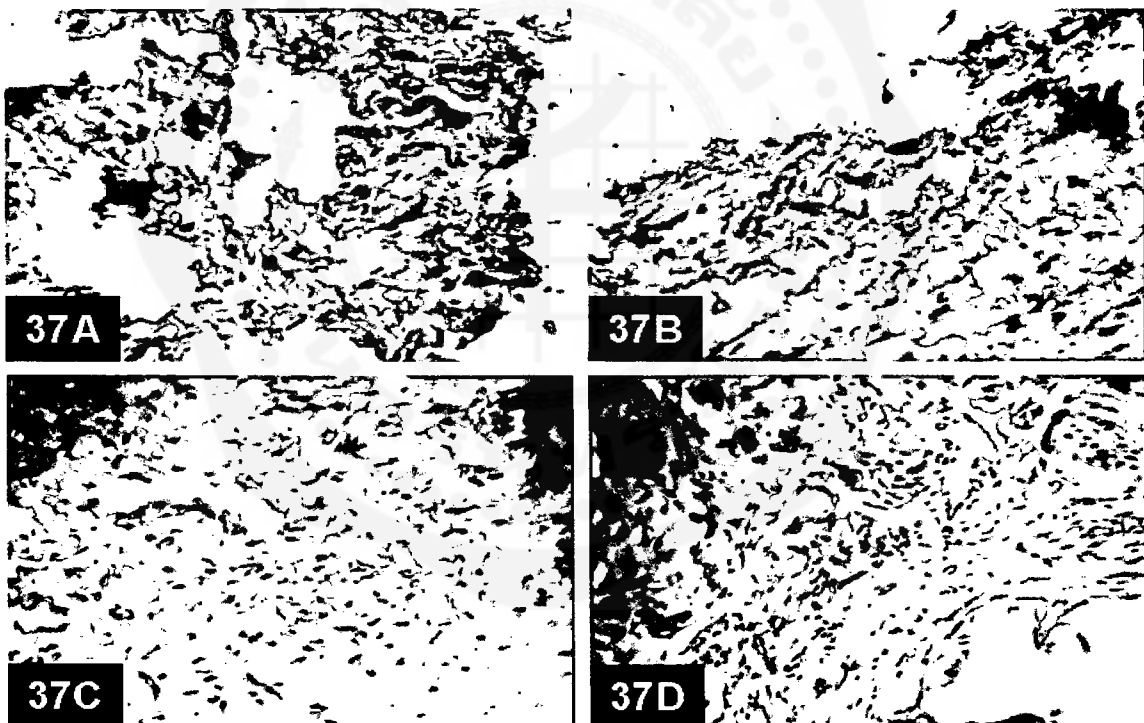
ภาพประกอบ 36 การแสดงออกของทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาในหนูกลุ่ม DMPDC

การแสดงออกของเซลล์อักเสบในหนูกลุ่ม PD พบว่ามีเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกจำนวนมากที่สุดในกลุ่ม 12 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 33D) กลุ่ม DM มีเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกกระจุกตัวอย่างหนาแน่นในกลุ่ม 4 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 34B) ก่อนจะลดลงในกลุ่ม 6-12 สัปดาห์ (รูป 34C และ 34D) ขณะที่กลุ่ม DMPD มีจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกอย่างมากในกลุ่ม 6-12 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 35C และ 35D) เช่นเดียวกับกลุ่ม DMPDC ที่มีการแสดงออกมากในกลุ่ม 4 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 36B) ก่อนจะพบว่าในกลุ่ม 6 สัปดาห์การแสดงออกของเซลล์อักเสบลดน้อยลง (ภาพประกอบ 36C) และลดลงอย่างชัดเจนในกลุ่ม 12 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 36D)

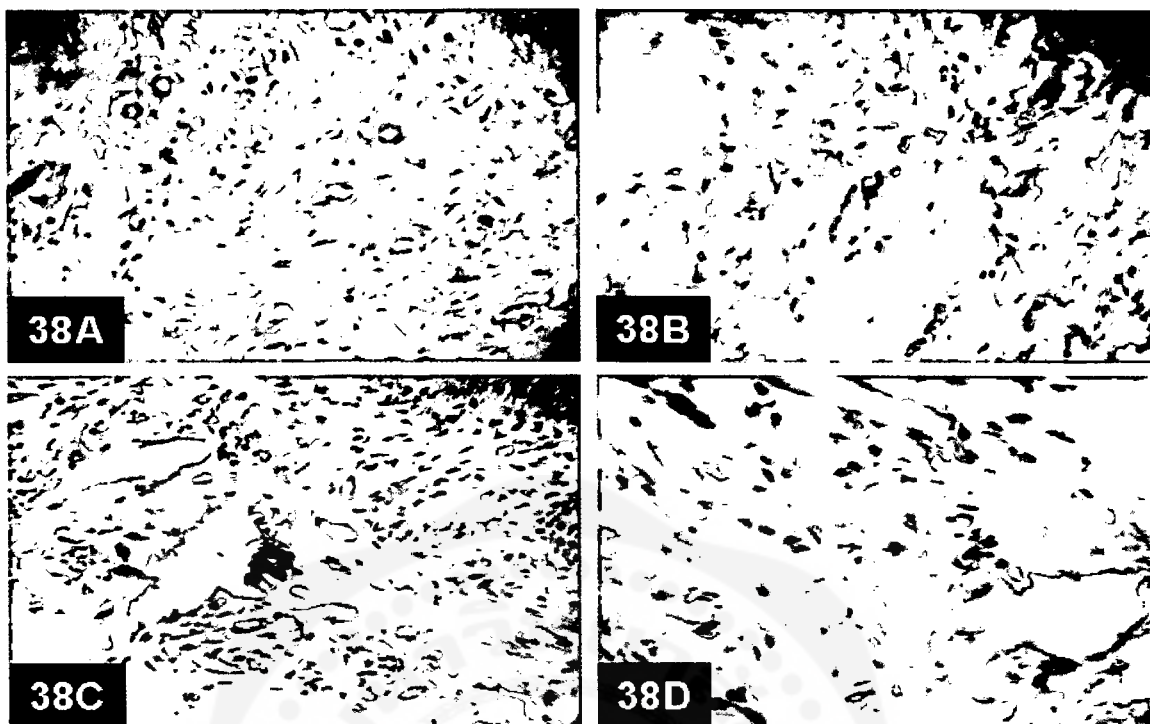
การแสดงผลของอินดิคาเตอร์ในทรินอกไซด์ซินเทส

การแสดงผลของอินดิคาเตอร์ในทรินอกไซด์ซินเทสในกลุ่ม PD พบว่ามีการแสดงผลของเซลล์อีกเสบ น้อยในกลุ่ม 4 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 37B) แต่ในกลุ่ม 6 และ 12 สัปดาห์กลับมีการกระจุกตัวของเซลล์ ที่ยึดติดสืบวกันอย่างหนาแน่น (ภาพประกอบ 37C และ 37D) กลุ่ม DM มีการแสดงผลของเซลล์ อีกเสบอย่างมากในกลุ่ม 6 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 38C) โดยพบการแสดงผลออกค่อนข้างน้อยในกลุ่ม 2, 4 และ 12 สัปดาห์ กลุ่ม DMPD พบว่ามีการแสดงผลที่รุนแรงเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาโดยมีเซลล์ที่ยึดม ติดสืบวรวมกลุ่มเป็นจำนวนมากในกลุ่ม 6 และ 12 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 39C และ 39D) กลุ่ม DMPDC มีการแสดงผลของเซลล์อีกเสบอย่างมากในกลุ่ม 4 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 40B) และพบ ว่าการแสดงผลเริ่มลดลงในกลุ่ม 6 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 40C) โดยพบเซลล์ติดสืบวจำนวนน้อยมาก ในกลุ่ม 12 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 40D)

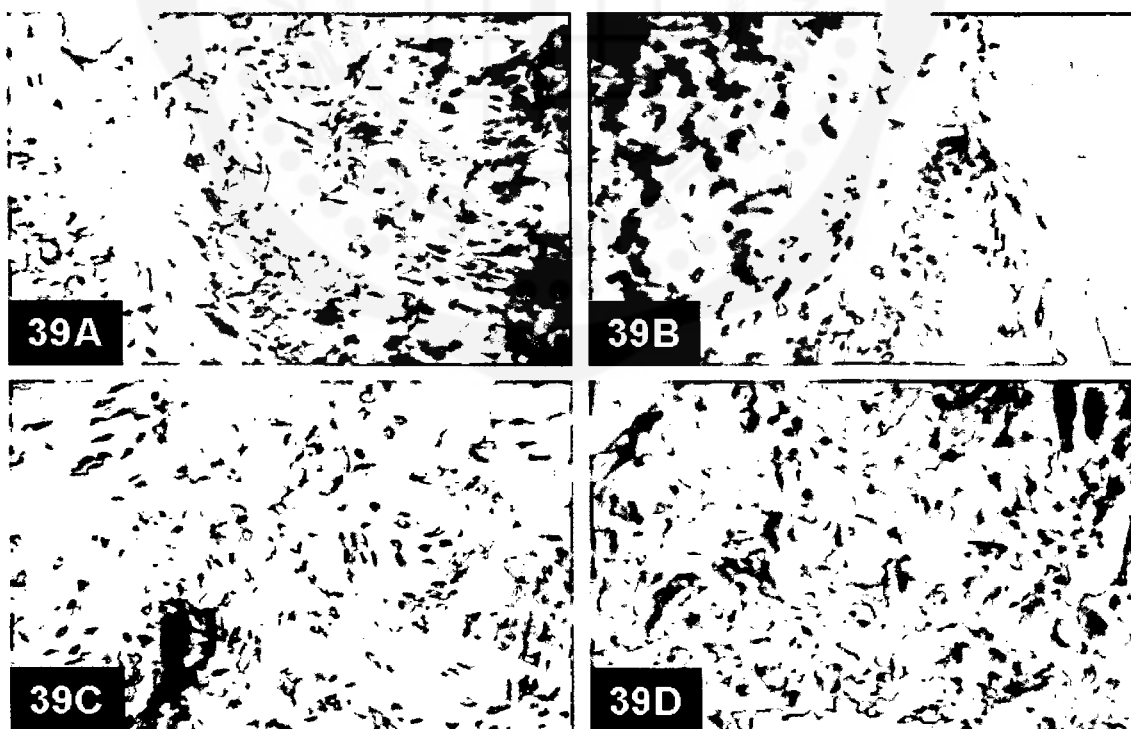
ภาพประกอบ 37-40 ตัวอย่างแสดงการแสดงผลของอินดิคาเตอร์ในทรินอกไซด์ซินเทสในหนูแต่ละ กลุ่ม



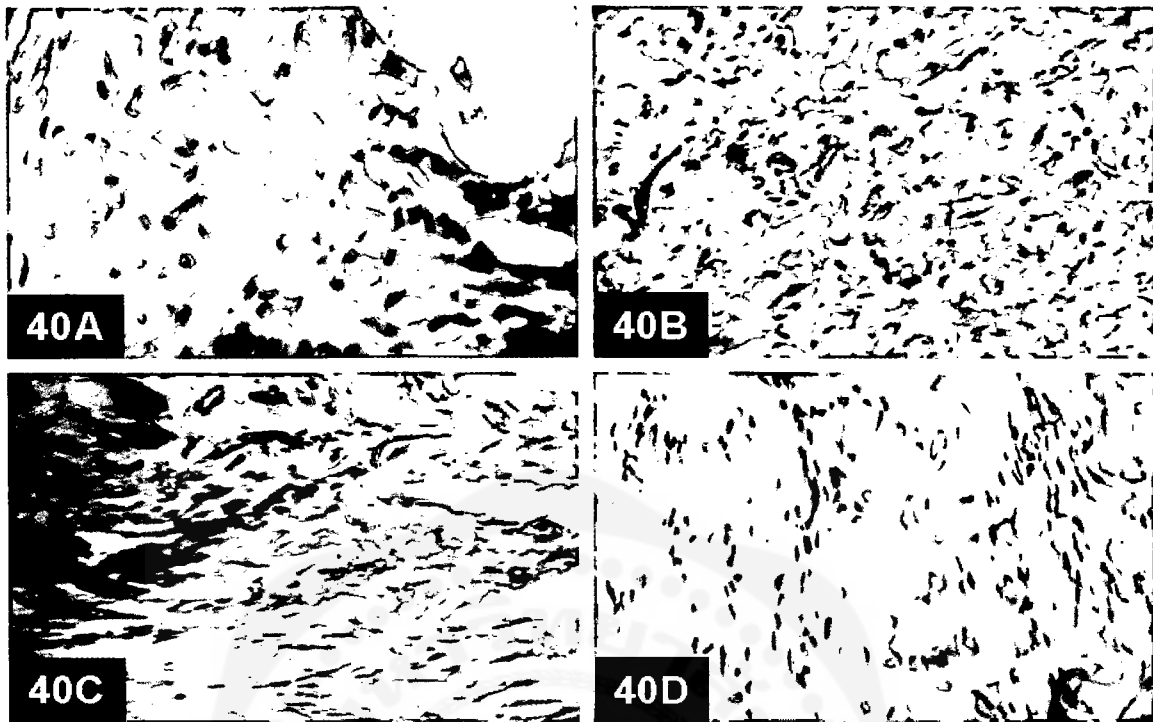
ภาพประกอบ 37 การแสดงผลของอินดิคาเตอร์ในทรินอกไซด์ซินเทสในหนูกลุ่ม PD



ภาพประกอบ 38 การแสดงออกของอินดิชิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทสในหนูกลุ่ม DM



ภาพประกอบ 39 การแสดงออกของอินดิชิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทสในหนูกลุ่ม DMPD

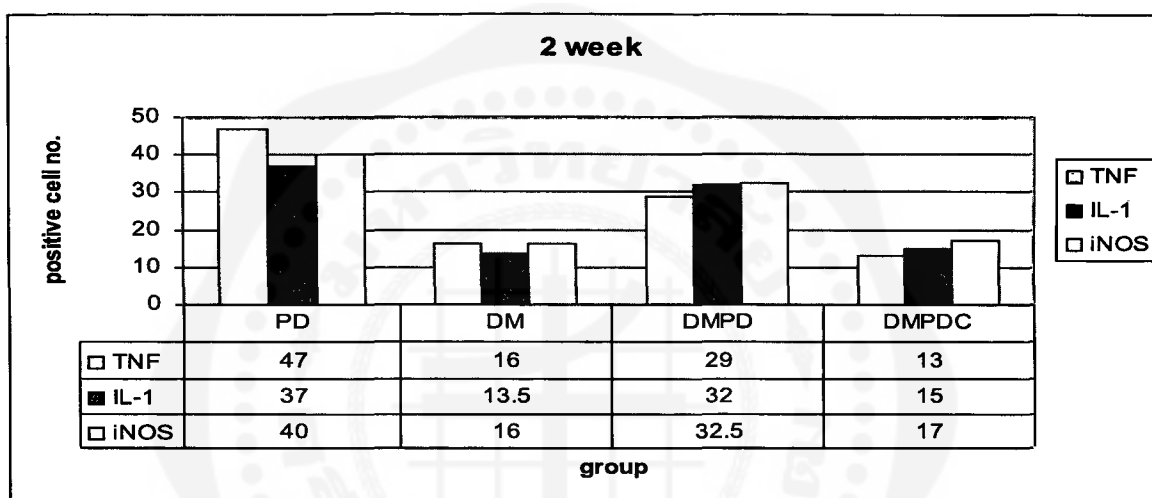


ภาพประกอบ 40 การแสดงออกของอินดิวิเชเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทสในหนูกลุ่ม DMPDC

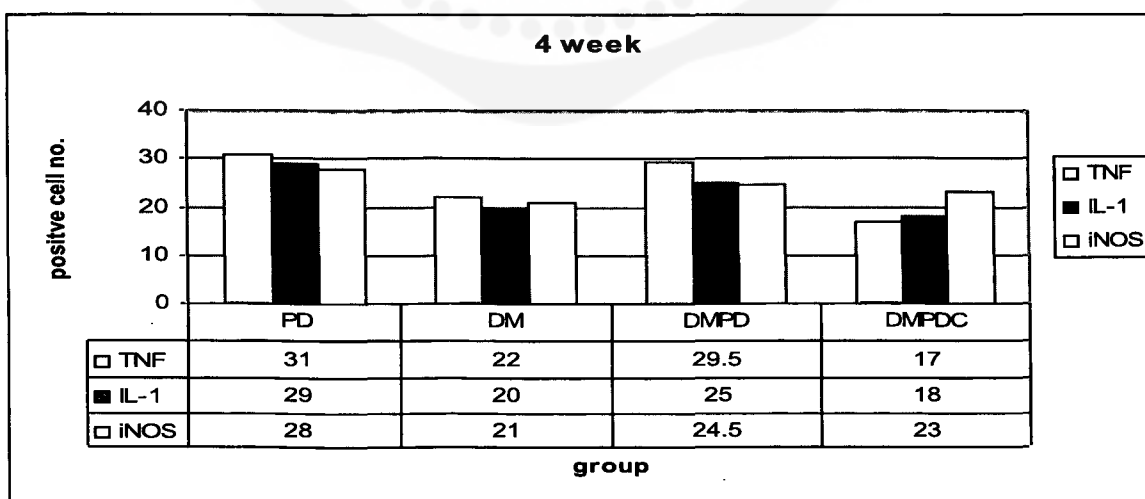
การแสดงออกของอินดิวิเชเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทสพบว่ากลุ่ม PD มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง (ภาพประกอบ 37A-37D) โดยกลุ่ม 6 และ 12 สัปดาห์มีเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกอยู่กันอย่างหนาแน่น (ภาพประกอบ 37C และ 37D) กลุ่ม DM พบการแสดงออกอย่างมากในช่วง 6 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 38C) ขณะที่กลุ่ม DM 12 สัปดาห์ มีเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกค่อนข้างน้อย (ภาพประกอบ 38D) ขณะที่กลุ่ม DMPD มีจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกอยู่กันอย่างหนาแน่นในกลุ่ม 6-12 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 39C และ 39D) กลุ่ม DMPDC ที่มีการแสดงออกอย่างมากในกลุ่ม 4 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 40B) ก่อนจะพบว่าในกลุ่ม 6-12 สัปดาห์การแสดงออกของเซลล์อีกเสบลดน้อยลงอย่างชัดเจน (ภาพประกอบ 40C และ 40D)

ผลการเปรียบเทียบการแสดงออกของตัวชี้วัดสถานะการอักเสบในหนูแต่ละกลุ่ม

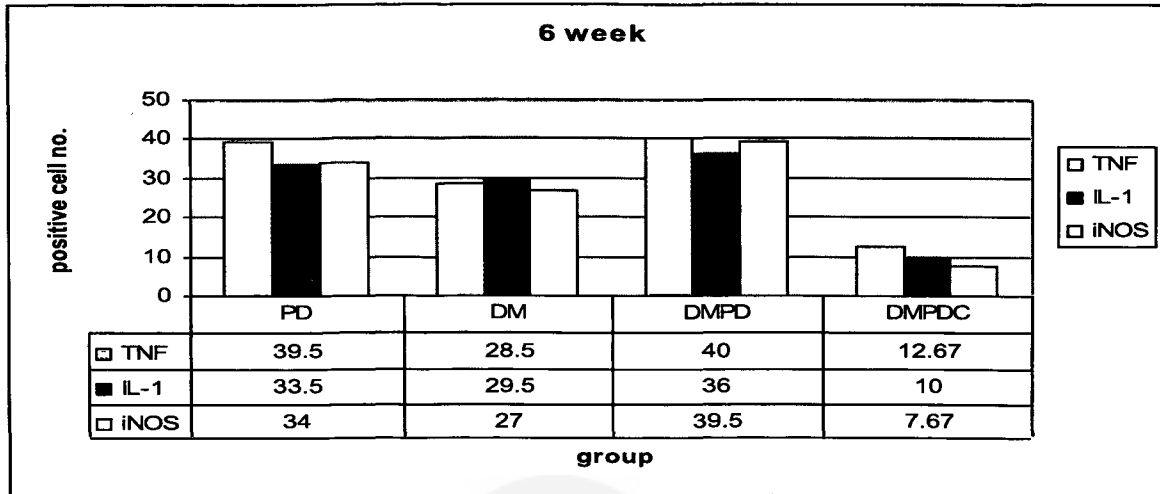
จากการนับจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกในกลุ่มทดลองต่างๆพบว่าในกลุ่ม 2 สัปดาห์แรกการแสดงออกของเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกของตัวชี้วัดสถานะการอักเสบทั้งสาม (อินได้แก่ อินเตอร์ลิวคิน-1 เบตา, ทูเมอร์เนครอซิสแฟกเตอร์-แอลฟาและอินดิวิชซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส) มีการแสดงออกมากในกลุ่ม DMPD และ PD โดยมีเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกจำนวนมาก โดยความแตกต่างระหว่างสองกลุ่มมีไม่มากนัก ขณะที่การแสดงออกของกลุ่ม DM มีจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกน้อยกว่ากว่า ขณะที่การแสดงออกของเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกในกลุ่ม DMPDC มีจำนวนน้อยกว่ากลุ่ม DMPD แต่ใกล้เคียงกับกลุ่ม DM (ภาพประกอบ 41)



ภาพประกอบ 41 กราฟแท่งแสดงจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกโดยเฉลี่ยของสารสื่ออักเสบทั้งสิ้นในกลุ่มทดลอง 2 สัปดาห์

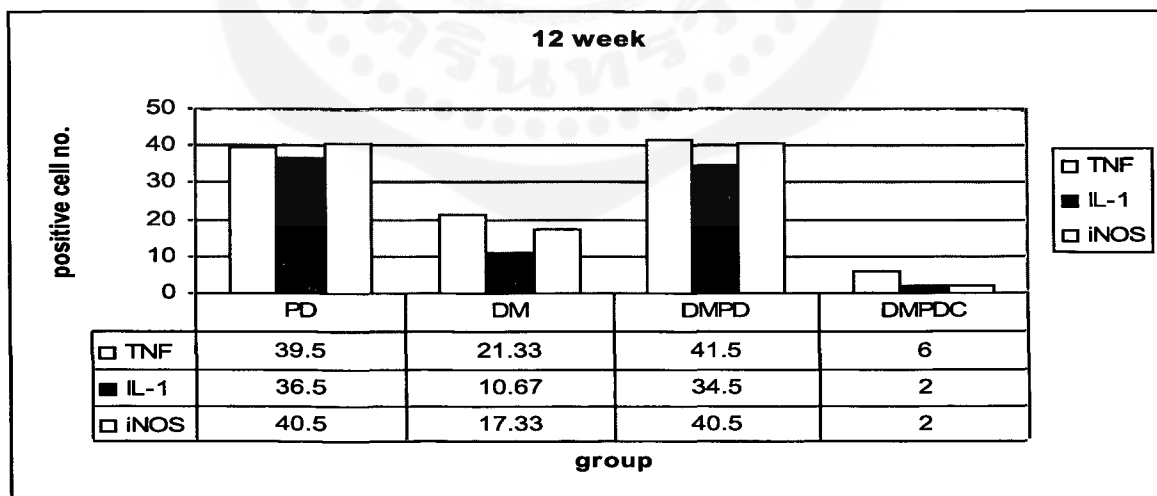


ภาพประกอบ 42 กราฟแท่งแสดงจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกโดยเฉลี่ยของสารสื่ออักเสบทั้งสิ้นในกลุ่มทดลอง 4 สัปดาห์



ภาพประกอบ 43 กราฟแท่งแสดงจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกโดยเฉลี่ยของสารสื่ออักเสบทั้งสิ้นในกลุ่มทดลอง 6 สัปดาห์

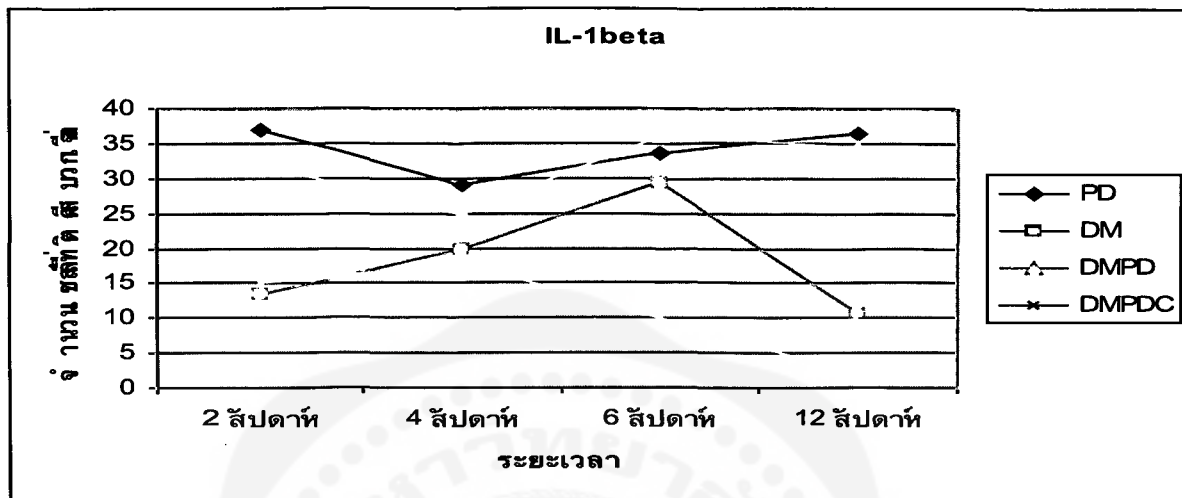
ในช่วงสัปดาห์ที่ 4 พบว่าจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกของทั้งกลุ่ม DMPD และ PD มีจำนวนเท่าๆกัน เช่นเดียวกับกลุ่ม DM และ DMPDC มีจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกที่สูงขึ้นใกล้เคียงกับกลุ่ม PD และ DMPD (ภาพประกอบ 42) ขณะที่ช่วงสัปดาห์ที่ 6 จำนวนเซลล์ที่ติดสีบวกของกลุ่ม DMPDC มีจำนวนน้อยกว่าอีก 3 กลุ่มอย่างชัดเจน (ภาพประกอบ 43) และในสัปดาห์ที่ 12 พบว่ากลุ่ม DMPD มีจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกที่ใกล้เคียงกับกลุ่ม PD โดยพบการแสดงออกของตัวชี้วัดสถานะการอักเสบทั้งสามในกลุ่ม DM ต่ำกว่าอีกสองกลุ่มอย่างชัดเจนอีกทั้งยังพบว่าการแสดงออกในกลุ่ม DMPDC ลดลงมีจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับอีกทั้งสามกลุ่มควบคุม (ภาพประกอบ 44)



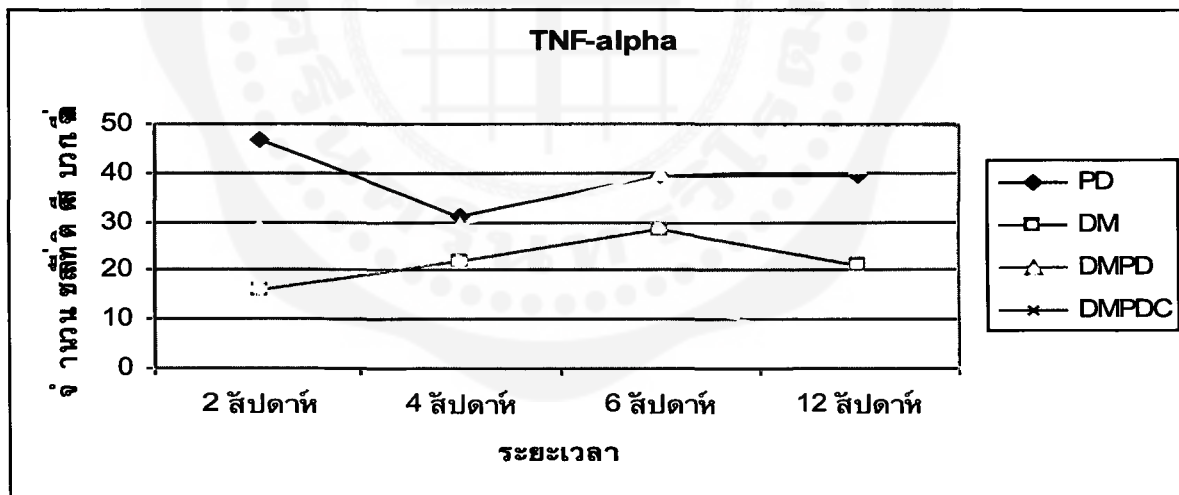
ภาพประกอบ 44 กราฟแท่งแสดงจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกโดยเฉลี่ยของสารสื่ออักเสบทั้งสิ้นในกลุ่มทดลอง 12 สัปดาห์

แนวโน้มของการแสดงออกของตัวชี้วัดสถานะการอักเสบในหนูแต่ละกลุ่มเปรียบเทียบตามระยะเวลา

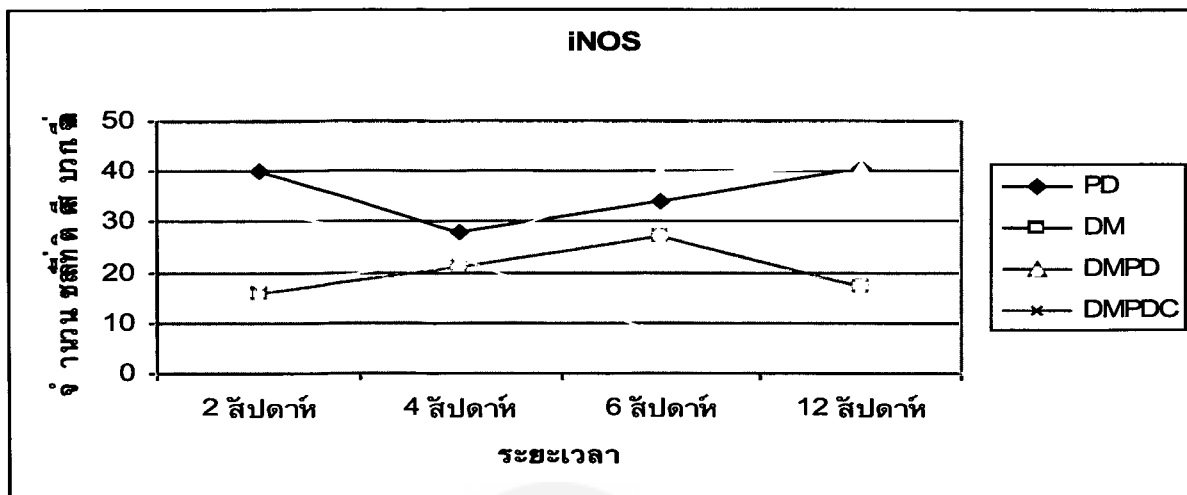
แนวโน้มของการแสดงออกของตัวชี้วัดสถานะการอักเสบทั้งสาม พบว่ามีการโน้มเอียงไปในทิศทางเดียวกันทั้งสามชนิดเมื่อแบ่งตามกลุ่มต่างๆของการทดลอง แม้ค่าอาจมีการแกว่งบ้างดังที่แสดงในภาพประกอบ 45-47



ภาพประกอบ 45 กราฟแสดงแนวโน้มการแสดงออกของอินเตอร์ลิวคิน-1 เบตาในกลุ่มทดลองทั้งสี่กลุ่มเปรียบเทียบตามระยะเวลา



ภาพประกอบ 46 กราฟแสดงแนวโน้มการแสดงออกของทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาในกลุ่มทดลองทั้งสี่กลุ่มเปรียบเทียบตามระยะเวลา



ภาพประกอบ 47 กราฟแสดงแนวโน้มการแสดงออกของอินดิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทสในกลุ่มทดลองทั้งสี่กลุ่มเปรียบเทียบตามระยะเวลา

จากภาพประกอบ 45-47 แสดงให้เห็นว่ากลุ่ม PD และ DMPD มีแนวโน้มของการแสดงออกของสารสื่ออักเสบทั้งสามที่เพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาในการทดลอง โดยพบว่าการแสดงออกในช่วง 6 สัปดาห์สูงกว่า 4 สัปดาห์แต่ไม่แตกต่างกับช่วง 12 สัปดาห์แต่อย่างเด่นชัด

กลุ่ม DM พบว่าตัวบ่งชี้สภาวะการอักเสบทั้งสามมีปริมาณสูงขึ้นในช่วง 2-6 สัปดาห์แรก จากนั้นจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกมีจำนวนลดลงภายหลังสัปดาห์ที่ 6 และลดต่ำลงเมื่อเข้าช่วงสัปดาห์ที่ 12

ขณะที่กลุ่ม DMPDC มีแนวโน้มการแสดงออกของตัวบ่งชี้สภาวะการอักเสบทั้งสามสูงขึ้นในช่วง 2-4 สัปดาห์แต่หลังจากนั้นการแสดงออกจะลดลงจนต่ำสุดที่กลุ่ม 12 สัปดาห์

บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลอง

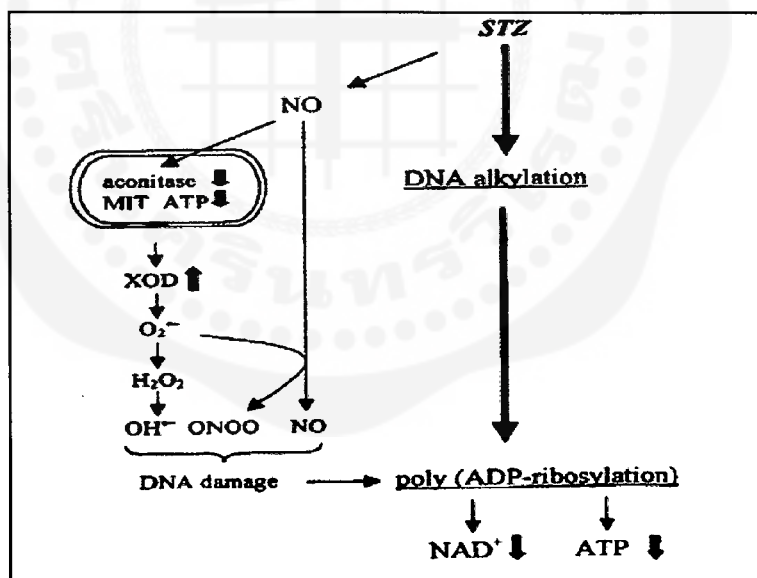
การเหนี่ยวนำให้หนูเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 และการเปลี่ยนแปลงระดับน้ำตาลในเลือดของหนูแต่ละกลุ่มตลอดการศึกษา

การศึกษานี้มีความสนใจที่จะศึกษาการแสดงออกของสารสื่ออักเสบในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 (DM และ DMPD) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบ (PD) ด้วยเห็นว่าโรคเบาหวานที่เกิดขึ้นในคนส่วนใหญ่มากกว่า 90 % ของผู้ป่วยเบาหวานทั่วโลกเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 โดยเป็นผลจากความผิดปกติของอินซูลินเองหรือความบกพร่องของตัวรับทำให้การทำงานของอินซูลินสูญเสียไปและเกิดภาวะต้านทานต่ออินซูลิน ซึ่งในการวิจัยส่วนใหญ่ที่ผ่านมา ส่วนใหญ่มักทำการศึกษาในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 1 อย่างไรก็ตาม ได้มีผู้เสนอแบบจำลองในสัตว์ทดลองของโรคเบาหวานชนิดที่ 2 และเพื่อค้นหายาที่ใช้รักษาให้กับโรคเบาหวาน (104-108) การศึกษานี้จึงทำการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ตามการศึกษาของ Masiello และคณะ (104) โดยการฉีดนิโคตินาไมด์ 230 mg/kg เข้าบริเวณหน้าท้องหนูและสารสเตอโริโดโซโทซิน 65 mg/kg เข้าทางหลอดเลือดดำทางหางหนู ผลของการเหนี่ยวนำแสดงให้เห็นว่าจากระดับน้ำตาลในหนูกลุ่มเบาหวาน (DM และ DMPD) จะเริ่มสูงขึ้นอย่างชัดเจนหลังจากเริ่มทำการเหนี่ยวนำประมาณ 3-6 สัปดาห์ หลังจากนั้นจะมีการแกว่งตัวขึ้นลงตลอดระยะเวลาของการศึกษาประกอบด้วยลักษณะทางกายภาพที่หนูจะปัสสาวะบ่อย ทั้งนี้ความแตกต่างในเรื่องระดับน้ำตาลระหว่างทั้ง DM และ DMPD พบไม่มีความเด่นชัด (กลุ่ม DM ระดับน้ำตาลต่ำสุด 75 mg/dl สูงสุด 143 mg/dl และกลุ่ม DMPD ระดับน้ำตาลต่ำสุด 72 mg/dl และสูงสุด 168 mg/dl) ขณะที่กลุ่ม PD ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมของการศึกษานี้จะมีระดับน้ำตาลที่ต่ำกว่า (ค่าระดับน้ำตาลต่ำสุด 71 mg/dl และสูงสุด 117 mg/dl)

จากการศึกษาของ Masiello และคณะพบว่าหนูที่ได้รับการเหนี่ยวนำโดยการฉีดปริมาณของสารทั้งสองที่เหมาะสมจะเป็นแบบจำลองที่ดีของโรคเบาหวานชนิดที่ 2 โดยพบว่าปริมาณของนิโคตินาไมด์ 230 mg/kg และสเตอโริโดโซโทซิน 65 mg/kg สร้างสภาวะของหนูให้มีระดับน้ำตาลในเลือดที่ยาวนานและสูงสุด (104) อย่างไรก็ตามพบว่าระดับน้ำตาลเฉลี่ยของการศึกษานี้ต่ำกว่าค่าเฉลี่ยของ Masiello โดยกลุ่มควบคุมของ Masiello มีระดับน้ำตาลเฉลี่ย 121 ± 3 mg/dl และกลุ่มเบาหวานมีระดับน้ำตาลเฉลี่ย 155 ± 3 mg/dl ขณะที่การศึกษานี้ระดับน้ำตาลเฉลี่ยของกลุ่มควบคุม 12 สัปดาห์ 90 ± 4.4 mg/dl และ 88 ± 4.7 mg/dl ขณะที่ระดับน้ำตาลเฉลี่ยของกลุ่มเบาหวาน 12 สัปดาห์ มีค่า 114.31 ± 16.97 , 107.43 ± 13.65 , 94.81 ± 9.56 และ 90.37 ± 10.16 mg/dl ความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจเนื่องมาจากวิธีการวัดระดับน้ำตาลในเลือดที่แตกต่างกันโดยการศึกษาของ Masiello และคณะใช้การวัด basal plasma glucose ในหนูซึ่งไม่ได้ทำการอดอาหารเนื่องจากวัตถุประสงค์ของการศึกษาดังกล่าวมุ่งหาความผิดปกติในการทำงานของตับอ่อนในหนูเบาหวานเป็นหลักซึ่งต่างจากการศึกษานี้ที่ใช้การวัด fasting blood sugar ซึ่งเป็นมาตรฐานที่ใช้ในการตรวจผู้ป่วยเบาหวาน นอกจากนี้ความแตกต่างในเรื่องชนิดของหนู สายพันธุ์ เพศ รวมถึงอายุของหนูก็สามารถส่งผลต่อระดับน้ำตาลที่สูงขึ้นภายหลังการเหนี่ยวนำได้

ในด้านแนวโน้มของระดับน้ำตาลในการศึกษานี้พบว่าในกลุ่มที่มีการเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานจะมีระดับน้ำตาลสูงขึ้นภายหลังการฉีดสารทั้งสองประมาณ 3 สัปดาห์เมื่อเข้าสู่จุดสูงสุดในช่วง 6 สัปดาห์ค่าดังกล่าวจะลดลงและมีการแกว่งตัวตลอดช่วงเวลาที่ทำการศึกษาของหนูแต่ละกลุ่ม เช่นเดียวกับการศึกษาของ Masiello และคณะที่พบระดับน้ำตาลสูงขึ้นในสัปดาห์ที่สองหลังจากนั้นจะลดลงและแกว่งตัวขึ้นลงอยู่ตลอด 9 สัปดาห์ของการทดลอง จึงน่าจะเป็นลักษณะเฉพาะตัวของภาวะโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ในสัตว์ทดลองที่สอดคล้องกับในมนุษย์ซึ่งมีการแกว่งตัวขึ้นลงได้อยู่ตลอดเวลา

สเตรปโตโทซิโทซินเป็นยาปฏิชีวนะที่สังเคราะห์ได้จากเชื้อแบคทีเรียสเตรปโตไมซิส อะโครโมจิเนส (*streptomyces achromogenes*) ถูกนำมาใช้เพื่อสร้างภาวะเบาหวานในสัตว์ทดลองครั้งแรกในปี 1963⁽¹⁰⁹⁾ โดยมีพิษทำลายเบตาเซลล์ของตับอ่อน⁽¹¹⁰⁾ สารชนิดนี้เมื่อใช้ความเข้มข้นราว 40-60 mg/kg สามารถสร้างสภาวะของโรคเบาหวานชนิดที่ 1 และคีโตซีสได้เป็นอย่างดี⁽¹¹¹⁾ กลไกการทำงานของสารนี้พบว่ามีผลต่อดีเอ็นเอในนิวเคลียส โดยเข้ากระตุ้นสารอนุมูลอิสระโดยเฉพาะไนตริกออกไซด์^(112, 113) เกิดการสร้างคาร์บอนเนียมไอออน (carbonium ion) ซึ่งจะทำให้เกิดปฏิกิริยาอัลคิลเลชัน (alkylation)^(114, 115) กับสายเบสของดีเอ็นเอนอกจากนี้ยังมีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ของเบตาเซลล์และสามารถทำลายเกลียวของดีเอ็นเอ กระตุ้นโพลีอะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์โรโบซินทีเทส (poly ADP-ribose synthetase) เกิดการทำลายนิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ (NAD^+) (ภาพประกอบ 48) ซึ่งเป็นโคเอนไซม์ (coenzyme) ที่สำคัญในกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ นำไปสู่การตายของเซลล์ในที่สุด^(116, 117)



ภาพประกอบ 48 แสดงกลไกของของสเตรปโตโทซิโทซินในระดับเซลล์โดยเป็นสารตั้งต้นของไนตริกออกไซด์ (NO) เข้าสร้างภัยอันตรายต่อสาย DNA ของเซลล์ในตับอ่อนทำให้การสร้าง NAD^+ และ ATP ในกระบวนการหายใจระดับเซลล์ลดลงทำให้เซลล์ตายในที่สุด

ที่มา : Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res.* 2001;50(6):537-46.⁽¹¹⁷⁾

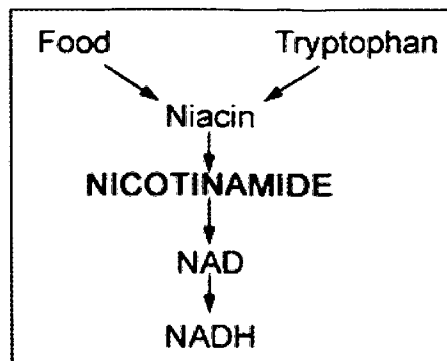
ปริมาณของสเตรปโตโซโทซินสามารถกำหนดให้ทำลายเบตาเซลล์เพียงบางส่วนและสร้างสภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ได้โดยไม่เกิดภาวะคีโตซิสแต่พบว่าเป็นการยากที่จะกำหนดปริมาณที่แน่นอนที่สามารถทำให้โรคคงสภาวะอยู่โดยไม่กลับคืนเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 1⁽¹¹⁸⁾ สเตรปโตโซโทซินเป็นสารที่นิยมใช้ในการนี้เนื่องจากมีความจำเพาะในการทำลายเบตาเซลล์มากแต่ก็ได้ผลแตกต่างกันไปตามชนิด สายพันธุ์ เพศและสภาวะร่างกายของสัตว์ทดลองอันเป็นปัจเจกในแต่ละตัว⁽¹¹⁹⁾ เนื่องจากโรคเบาหวานเป็นโรคที่เป็นในผู้คนจำนวนมาก และยิ่งยากต่อการรักษาหรือควบคุม จึงมีความพยายามในการสร้างแบบจำลองของหนูเบาหวานชนิดที่ 2 เกิดขึ้นอีกหลายรูปแบบ ได้แก่

Neonatal streptozotocin-induced rat (n-STZ) เป็นหนึ่งในความพยายามสร้างแบบจำลองหนูเบาหวาน โดยทำการฉีดสเตรปโตโซโทซิน 80-100 mg/kg เข้าหลอดเลือดดำหรือหน้าท้องของหนูตั้งแต่วัยแรกเกิดโดยแบ่งออกเป็นหลายชนิดทั้งการฉีดสารทันทีที่หนูเกิด (n0)⁽¹¹⁹⁾, วันที่ 2 (n2)⁽¹²⁰⁾ หรือวันที่ 5 (n5)⁽¹²¹⁾ เป็นต้น โดยมีผลการทดลองที่แสดงว่าแบบจำลองชนิดนี้สามารถสร้างสภาวะของโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ที่คล้ายคลึงกับที่เกิดในมนุษย์ โดยพบความสามารถบรรจุอินซูลินของตับอ่อนลดลงทำให้มีการเพิ่มขึ้นของระดับกลูโคสในกระแสเลือด แต่บางการศึกษาพบว่าแบบจำลองดังกล่าวไม่มีการตอบสนองของกลูโคสต่อยาต้านเบาหวานโทลบูทามายด์ (Tolbutamide)⁽¹²²⁾ และบางการศึกษาพบว่าภาวะน้ำตาลในเลือดสูงเป็นไปเพียงชั่วคราวหนึ่ง^(123, 124) และบางครั้งพบว่าหนูเกิดใหม่อาจเกิดภาวะต้านต่อสเตรปโตโซโทซิน^(119, 124)

Zucker diabetic fatty rat (ZDF-rat) เป็นอีกหนึ่งแบบจำลองของหนูเบาหวานชนิดที่ 2 ที่เป็นที่นิยมโดยเป็นหนูที่ตัวรับของเลปติน (Leptin receptor) มีการกลายพันธุ์ หนูจะอ้วนและมีระดับน้ำตาลในเลือดสูง โดยมีความบกพร่องในการสร้างเบตาเซลล์ทำให้ผลิตอินซูลินไม่เพียงพอกับความต้องการของร่างกายอย่างไรก็ตามพบว่าหนูชนิดนี้มีการสร้างไอส์เล็ต อะมีลอยด์ (islet amyloid) ที่ต่างจากที่พบในโรคเบาหวานในมนุษย์⁽¹²⁵⁾

Goto-Kakizaki rat (GK-rat) เป็นหนูที่ผอมและมีการลดลงของเบตาเซลล์ตั้งแต่กำเนิดโดยเป็นความบกพร่องของการแบ่งเซลล์⁽¹²⁶⁾ หนูดังกล่าวเกิดภาวะต้านต่ออินซูลินในตับและกล้ามเนื้ออย่างไรก็ตาม การที่เบตาเซลล์ของหนูชนิดนี้ไม่ตอบสนองต่อกลูโคส และโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ในมนุษย์ก็ไม่ได้มีความบกพร่องในการแบ่งเซลล์ตั้งแต่กำเนิด จึงทำให้แบบจำลองหนูชนิดนี้มีข้อจำกัดในการเป็นตัวแทนของโรคดังกล่าว⁽¹²⁵⁾

ขณะที่สเตรปโตโซโทซินเป็นพิษต่อเบตาเซลล์ของตับอ่อน นิโคตินามายด์กลับเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยเป็นกลุ่มวิตามินบีในอาซินที่สามารถต้านฤทธิ์ของสเตรปโตโซโทซินโดยทำการขจัดสารอนุมูลอิสระ และเมื่อใช้ร่วมกับสเตรปโตโซโทซิน จึงทำให้เกิดภัยอันตรายต่อเบตาเซลล์เพียงบางส่วน⁽¹²⁷⁾ นิโคตินามายด์เป็นสารตั้งต้นของนิโคตินามายด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ (ภาพประกอบ 49) มีฤทธิ์ต้านต่อโพลีอะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์โรโบซินทิเทส อันเป็นเอนไซม์ที่ทำลายนิโคตินามายด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ซึ่งถูกกระตุ้นโดยสเตรปโตโซโทซิน^(119, 128)



ภาพประกอบ 49 แสดงที่มาของนิโคตินาไมด์จากวิตามินบี 3 หรือไนอาซิน นิโคตินาไมด์จะเปลี่ยนไปเป็นนิโคตินาไมด์อะดีนีน ไดนิวคลีโอไทด์ ซึ่งเมื่อรับอิเล็กตรอนในกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์จะเปลี่ยนไปเป็นรีดิวซ์ฟอร์ม (NADH)

ดัดแปลงจาก <http://hopes.stanford.edu/treatmts/ebuffer/j3.html>

ประสิทธิภาพของการป้องกันดังกล่าวขึ้นกับความเข้มข้นของสเตอริบไตโซโทซินและนิโคตินาไมด์ที่ใช้ซึ่งมีการใช้ในความเข้มข้นที่ต่างกันไปในการศึกษาอื่นๆ (104, 120, 129-131)

โดยสรุปแม้ว่าจนถึงปัจจุบันยังไม่มีแบบจำลองหนูเบาหวานใดที่เป็นตัวแทนของโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ได้อย่างสมบูรณ์ หนูเบาหวานที่ได้รับการเหนี่ยวนำโดยการฉีดทั้งสเตอริบไตโซโทซินและนิโคตินาไมด์ตามการศึกษาของ Masiello และคณะ สามารถกำจัดข้อด้อยของหนูเบาหวานรูปแบบอื่นๆ ก่อนหน้าได้ในหลายประการ โดยพบว่าตอบสนองต่อกลูโคสและตอบสนองต่อยารักษาโรคเบาหวาน เช่น โทลบูทามาไมด์ หรืออนุพันธ์ของซัลโฟนิลยูเรีย (Sulfonylureas) จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการพบการสร้างอินซูลินในตับอ่อนลดลงคิดเป็น 40 % ของลักษณะปกติ นอกจากนี้พบว่าเป็นวิธีที่ง่ายในการเตรียมสภาวะของโรคเรื้อรังที่คงอยู่ยาวนาน จึงสามารถใช้เป็นตัวแทนของโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ในการศึกษานี้ได้เป็นอย่างดี (104)

ลักษณะการทำลายเนื้อเยื่อปริทันต์ในหนูแต่ละกลุ่ม

การศึกษานี้เป็นอีกหนึ่งการศึกษาที่แสดงให้เห็นถึงความสำเร็จในการสร้างสภาวะของโรคปริทันต์อักเสบได้ในสัตว์ทดลอง โดยการผูกไหมเพื่อสร้างสภาวะของโรคดังกล่าว มีการศึกษาทั้งในสุนัขและหนู เพื่อดูปัจจัยที่ทำให้เกิดความรุนแรงของการอักเสบ การศึกษาโรคปริทันต์อักเสบในหนูถูกทดลองครั้งแรกโดย Rovin และคณะในปี 1966 (132) เช่นเดียวกับการศึกษานี้ที่มุ่งผลทั้งในเรื่องการระคายเคืองเฉพาะที่ (local irritation) และการก่อโรคของแบคทีเรียโดยการผูกไหม 4-0 รอบคอพินแกรมบนซี่ที่ 1

จากภาพ H&E พบว่าหนูกลุ่ม PD, DMPD และ DMPDC เกิดการอักเสบบริเวณอวัยวะปริทันต์จนกระทั่งเกิดการทำลายอวัยวะปริทันต์ซึ่งจะทวีความรุนแรงตามระยะเวลาจนเกิดการทำลายอวัยวะรอบรับฟันในที่สุด ในหนูที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบ (กลุ่ม PD) พบการละลายตัวของสันกระดูกเบ้าฟันตั้งแต่ช่วง 2 สัปดาห์แรก อีกทั้งยังพบเซลล์อักเสบทั้งโพลีมอร์โฟนิวเคลียร์ลิวโคไซต์เซลล์ โมโนนิวเคลียร์เซลล์ซึ่งเป็นลักษณะเดียวกับกระบวนการอักเสบในมนุษย์ ความรุนแรงของการอักเสบเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาการผูกไหม โดยพบการเคลื่อนที่ของเยื่อผิวเชื่อมต่อลงใต้ต่อส่วน

เชื่อมต่อซีเมนโตอีนามาเลตตั้งแต่ 2 สัปดาห์ ในช่วงสัปดาห์ท้ายๆของการทดลองพบว่ามีกระดูกตัวอย่างหนาแน่นของทั้งเซลล์ลิโพไซด์และออสติโอคลาสต์ซึ่งทำให้เกิดการทำลายกระดูกรุนแรงอย่างมาก

ผลจากการศึกษาครั้งนี้ ไม่ได้มีการแสดงให้เห็นว่าผลของการเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานไม่มีต่อความรุนแรงของโรคปริทันต์อักเสบที่เด่นชัดนัก เนื่องจากพบว่าความแตกต่างในด้านความรุนแรงของกระบวนการอักเสบและการทำลายกระดูกระหว่างหนูกลุ่ม DMPD และ PD มีไม่มากนัก ในทางตรงกันข้ามพบว่าหนูในกลุ่ม DM ไม่ปรากฏลักษณะการทำลายอวัยวะปริทันต์ที่รุนแรงใดๆตลอดช่วงการศึกษา อาจเนื่องจากหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ในครั้งนี้มีระดับน้ำตาลที่ไม่สูงนัก เมื่อเทียบกับการศึกษาอื่นๆก่อนหน้านี้ที่หนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 1 ซึ่งมักพบการทำลายอวัยวะปริทันต์ที่รุนแรงมากกว่า⁽³¹⁾ อย่างไรก็ตามมีหลักฐานยืนยันถึงผลกระทบของโรคเบาหวานทั้งสองชนิดที่มีต่อโรคปริทันต์อักเสบ โดยพบว่าระดับน้ำตาลที่สูงขึ้นย่อมเพิ่มความเสี่ยงต่อการเป็นโรคปริทันต์อักเสบเนื่องจากเกิดการเปลี่ยนแปลงในการตอบสนองของภูมิคุ้มกันของร่างกาย ทั้งความบกพร่องของโพลิเมอร์โอฟิวเคลียร์เซลล์ การที่โมโนไซต์ มาโครฟาจมีการตอบสนองที่รุนแรงต่อแบคทีเรียโดยการหลั่งสารสื่ออักเสบ⁽⁴²⁻⁴⁵⁾ ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการฟื้นฟูกระดูก⁽⁴⁷⁻⁴⁹⁾ การเปลี่ยนแปลงของระบบหลอดเลือดและเมตาบอลิซึมของคอลลาเจนและแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นดีโปรตีน⁽⁵⁴⁻⁵⁸⁾ เป็นต้น นอกจากนี้ผลของการให้สารเคอร์คิวมินให้รับประทานในปริมาณที่ค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับน้ำหนักตัวหนู ก็ไม่สามารถให้ผลช่วยลดการทำลายอวัยวะปริทันต์ที่แตกต่างได้ในภาพ H&E

ผลการแสดงออกของสารสื่ออักเสบทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาตัวชี้วัดภาวะการอักเสบ อันได้แก่ อินดิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส ทุเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาและอินเตอร์ลิวคิน-1 เบตาว่าจะมีการแสดงออกอย่างไรในสัตว์ทดลองที่เป็นเบาหวานที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบ ที่ได้รับเคอร์คิวมิน (DMPDC) และกลุ่มที่ไม่ได้รับเคอร์คิวมิน (DMPD) เปรียบเทียบกับสัตว์ที่เป็นโรคเบาหวานเพียงอย่างเดียว (DM) และสัตว์ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบเพียงอย่างเดียว (PD) โดยเป็นการศึกษาแรกที่พยายามแสดงผลในหนูโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีต่อโรคปริทันต์อักเสบผ่านกลไกของสารสื่ออักเสบดังกล่าว ซึ่งผลการศึกษานี้ก็พบว่าการแสดงออกของสารสื่ออักเสบทั้งสามชนิดนั้น ต่างก็มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันในหนูทั้ง 4 กลุ่ม

หนูในกลุ่ม PD มีแนวโน้มการแสดงออกของสารสื่ออักเสบทั้งสามที่เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการผูกไหมซึ่งสอดคล้องกับความรุนแรงของการทำลายอวัยวะปริทันต์ดังปรากฏในเนื้อเยื่อที่ย้อม H&E เช่นเดียวกับผลที่เกิดในหลายการศึกษาทั้งในชิ้นเนื้อของมนุษย์และสัตว์ทดลองที่พบว่าความเป็นโรคสามารถส่งผลแตกต่างต่อการแสดงออกของสารสื่ออักเสบเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม^(15, 28, 32, 33)

การแสดงออกของสารสื่ออักเสบทั้งสามในกลุ่ม 2 สัปดาห์แรกพบว่ากลุ่ม DM มีการแสดงออกน้อยกว่ากลุ่มอื่นเล็กน้อย แต่เมื่อเวลาผ่านไป 4 ถึง 6 สัปดาห์ การแสดงออกของสารสื่ออักเสบทั้งสามในหนูกลุ่ม DM จึงชัดเจนขึ้น แต่ก็เห็นว่ามีปริมาณเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกรมีระดับที่น้อยกว่าที่พบในหนูกลุ่ม PD และ DMPD ซึ่งเชื่อว่าเป็นผลมาจากการที่หนูกลุ่มนี้มีเบาหวานเพียงอย่างเดียว โดยไม่มีการ

ทำให้เกิดการติดเชื้อที่บริเวณเหงือกแต่อย่างไร การตรวจดูการแสดงออกของสารสื่ออักเสบที่เป็นการดูเฉพาะที่ที่เหงือกจึงเป็นไปได้ที่มีความไม่คงที่ โดยเฉพาะที่เวลาผ่านไป 12 สัปดาห์ ก็สามารถพบการแสดงออกของสารสื่ออักเสบเริ่มมีการลดลง (ภาพประกอบ 45-47) ซึ่งอาจเป็นไปได้ ถึงการมีการฟื้นฟูการทำงานของเบตาเซลล์ในตับอ่อนของหนูทดลองได้

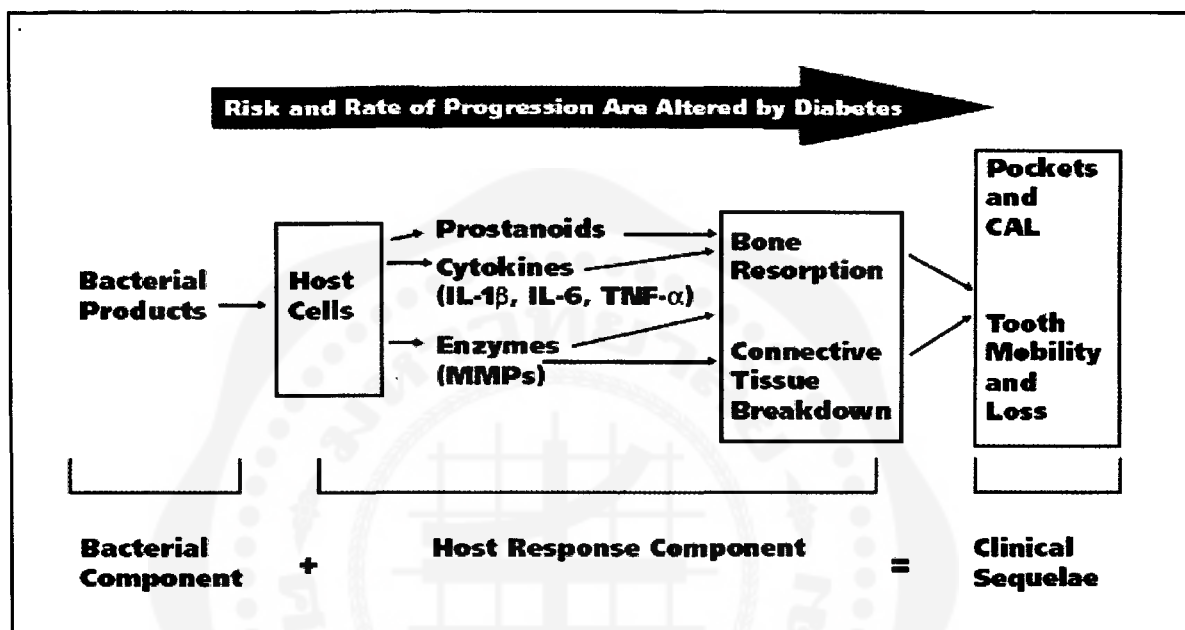
แม้ว่าจะพบการแสดงออกของสารสื่ออักเสบในหนูกลุ่ม DM มีระดับเพิ่มสูงขึ้นในกลุ่ม 4 และ 6 สัปดาห์ก็ตาม แต่กลับไม่พบลักษณะการทำลายของกระดูกเข้าฟันที่รุนแรงในหนูกลุ่มนี้ เท่ากับที่พบการทำลายในหนูอีก 2 กลุ่ม (PD และ DMPD) ที่เป็นเช่นนี้น่าจะเป็นหลักฐานที่แสดงให้เห็นว่าการการทำลายกระดูกเข้าฟันในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบหรือในผู้ป่วยที่เป็นทั้งโรคปริทันต์อักเสบและโรคเบาหวานนั้น เริ่มจากพยาธิกำเนิดของโรคจนเกิดการทำลายนั้น น่าจะเป็นผลที่เกิดจากผลกระทบของปัจจัยเฉพาะที่ที่อยู่รอบๆ ฟันหรือบริเวณเนื้อเยื่อปริทันต์มากกว่า ซึ่งจะส่งผลที่เด่นชัดกว่าผลที่เกิดจากปัจจัยทางระบบของภาวะเบาหวาน หรือกล่าวอีกนัยหนึ่ง แสดงว่าในเกิดการการทำลายกระดูกเข้าฟันที่ถือเป็นพยาธิสภาพของโรคปริทันต์อักเสบเป็นผลที่เกิดจากการเกิดการอักเสบเฉพาะที่ (local inflammation) ที่จะต้องมีความรุนแรงที่มากพอ เช่นจากการสะสมของแบคทีเรียที่มีความเป็นพิษ หรือจากสิ่งกระตุ้นจากภายนอก เช่นเดียวกับการระคายเคืองของการผูกด้วยไหมรอบซี่ฟัน และไหมที่ตกค้างอยู่ภายในซอกฟันเป็นเวลาที่มากพอเท่านั้น มากกว่าที่จะสามารถเกิดขึ้นได้เองจากเพียงการมีการอักเสบทางระบบ (systemic inflammation)

ส่วนการแสดงออกของสารสื่ออักเสบในหนูกลุ่มที่ได้รับเคอร์คิวมิน (DMPDC) พบมีการแสดงออกไม่สูงมากนัก ตั้งแต่ในช่วง 2-4 wk จะลดลงอย่างชัดเจนในช่วง 6-12 สัปดาห์ โดยในช่วง 12 สัปดาห์พบการแสดงออกของสารสื่ออักเสบน้อยมาก ซึ่งเชื่อได้ว่าเป็นผลของสารสกัดเคอร์คิวมินในปริมาณสูงที่ช่วยลดการอักเสบเฉพาะที่ของโรคปริทันต์อักเสบที่เหงือกได้ หากมีการได้รับตั้งแต่แรก

การศึกษานี้พยายามแสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีต่อโรคปริทันต์อักเสบผ่านทางบทบาทของสารสื่ออักเสบทั้งสาม และผลของสารสกัดเคอร์คิวมินในการช่วยลดการอักเสบเฉพาะที่ของโรคปริทันต์อักเสบ โดยหนูกลุ่ม DMPD มีการแสดงออกที่เพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลา ทำให้เชื่อได้ว่าภาวะของโรคเบาหวานมีผลต่อความรุนแรงของโรคปริทันต์อักเสบผ่านสารสื่ออักเสบไม่มากนักน้อย แต่เนื่องจากไม่สามารถแสดงความแตกต่างทางสถิติของจำนวนเซลล์ที่แสดงออกระหว่างตัวแทนในกลุ่ม PD และ DMPD สาเหตุอาจเนื่องจากการเหนี่ยวนำโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ในการศึกษาที่ไม่พบระดับน้ำตาลที่สูงมากและข้อจำกัดในเรื่องกลุ่มตัวอย่างที่น้อยทำให้ทำได้เพียงการวิเคราะห์ข้อมูลในเชิงพรรณนา ซึ่งอาจต้องเพิ่มจำนวนตัวอย่างในการศึกษาครั้งต่อไปเพื่อแสดงความแตกต่างในเชิงสถิติ เพราะมีหลายการศึกษาพบว่าระดับน้ำตาลที่สูงขึ้นในโรคเบาหวานส่งผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายให้กระตุ้นการหลั่งสารสื่ออักเสบมากกว่าปกติ (80-85) อีกทั้งยังเชื่อมโยงกับโรคปริทันต์อักเสบอันเป็นภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวานที่เกิดทั้งในสัตว์ทดลองและมนุษย์ (29, 30)

มีหลายการศึกษาที่ระบุถึงกลไกของระบบภูมิคุ้มกันในโรคเบาหวานทั้งชนิดที่ 1 และ 2 ที่สัมพันธ์กับโรคปริทันต์อักเสบผ่านสารสื่ออักเสบหลายชนิด (45, 72, 100-103, 133, 134) ทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาถูกกล่าวว่ามีสัมพันธ์กับภาวะการต้านต่ออินซูลิน (135) โดยมีฤทธิ์ต้านทานเอนไซม์ไทโรซีนไคเนส (tyrosine kinase) ของตัวรับของอินซูลิน (136, 137) , โรคเบาหวาน (138, 139) และสัมพันธ์กับโรคปริทันต์อักเสบ (140) โดยพบสารสื่ออักเสบดังกล่าวในโรคเบาหวานที่สัมพันธ์กับโรคปริทันต์อักเสบอยู่ในระดับสูง เชื่อว่าเกิดจากภาวะเบาหวานอาจกระตุ้นให้เซลล์โมโนไซต์ในผู้ป่วยมีการหลั่งทูเมอร์เน

โครซิสแฟกเตอร์-แอลฟามากขึ้นเมื่อมีการกระตุ้นจากเชื้อแบคทีเรียที่เรียกว่าโรคปริทันต์อักเสบ⁽⁴²⁾ นอกจากนี้ในสภาวะเบาหวาน คอลลาเจนในร่างกายจะเกิดการสะสมในรูปแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นดีโปรดักส์ซึ่งเข้าจับได้ง่ายกับเซลล์มาโครฟาจ โมโนไซต์และเซลล์บุหลอดเลือดซึ่งกระตุ้นการหลั่งสารสื่ออักเสบ อาทิ อินเตอร์ลิวคิน-1 เบตา ทุเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา รวมถึงเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรทีเนสซึ่งกระตุ้นกระบวนการอักเสบจนสามารถสร้างภัยอันตรายต่ออวัยวะปริทันต์ได้⁽¹⁴¹⁾ (ภาพประกอบ 50)



ภาพประกอบ 50 แสดงปัจจัยในเรื่องสารสื่ออักเสบของโรคเบาหวานที่สร้างความรุนแรงต่อโรคปริทันต์อักเสบ
ที่มา : Ryan ME, Carnu O, Kamer A. The influence of diabetes on the periodontal tissues. J Am Dent Assoc. 2003 Oct;134 Spec No:34S-40S.⁽¹⁴¹⁾

ขณะที่อินทิวซิเบลไนตริกออกไซด์ซินเทสหรือไนตริกออกไซด์เป็นสารอนุมูลอิสระซึ่งมีการศึกษาพบว่าเมื่อถูกกระตุ้นจากภาวะโรคปริทันต์อักเสบส่งผลให้เซลล์อักเสบสามารถหลั่งไนตริกออกไซด์ได้ทั้ง in vitro และ in vivo สอดคล้องกับในการศึกษาที่ใช้กระบวนการทางอิมมูโนฮิสโตเคมีพบการแสดงออกของทั้งโมโนนิวเคลียร์เซลล์ ลิมโฟไซด์และโพลีมอร์โฟนิวเคลียร์เซลล์ในชั้นเหงือกหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบ ขณะที่การศึกษาของ Lappin และคณะพบการแสดงออกของมาโครฟาจและเซลล์บุหลอดเลือดในชั้นเหงือกของผู้ป่วยที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบ⁽²⁸⁾ และ Batista และคณะพบว่าโพลีมอร์โฟนิวเคลียร์ลิวโคไซด์เซลล์เป็นเซลล์สำคัญที่หลั่งไนตริกออกไซด์ในโรคปริทันต์อักเสบในมนุษย์⁽¹⁵⁾ เช่นเดียวกับในภาวะเบาหวานที่พบว่าไนตริกออกไซด์มีส่วนในพยาธิกำเนิดของโรคในหลายๆการศึกษา^(24-26, 91, 92) อย่างไรก็ตามมีเพียงการศึกษาของ Skaleric และคณะ (2006)⁽¹⁰³⁾ ที่ศึกษาการแสดงออกของอินทิวซิเบลไนตริกออกไซด์ซินเทสทางอิมมูโนฮิสโตเคมีและพบว่าระดับไนตริกออกไซด์ด้วยวิธีอิมมูโนฟลูออเรสเซนส์ (immunofluorescence) ในน้ำเหลืองเหงือกของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 ร่วมกับโรคปริทันต์อักเสบสูงกว่ากลุ่มควบคุม

การศึกษานี้จึงเป็นการศึกษาแรกที่มุ่งหาแนวโน้มและความสัมพันธ์ของไนตริกออกไซด์ในภาวะโรคเบาหวานชนิดที่ 2 อันเกิดส่วนใหญ่ในมนุษย์ร่วมกับโรคปริทันต์อักเสบในสัตว์ทดลองโดยติดตามการเพิ่มระดับความรุนแรงเป็นระยะเวลาถึง 16 สัปดาห์ โดยใช้กระบวนการทางอิมมูโนฮิสโตเคมีและเปรียบเทียบกับสารสีอ็อกเสบที่มีการศึกษาแล้วว่ามิบทยาในโรคเบาหวานที่สัมพันธ์กับโรคปริทันต์อักเสบ

กล่าวโดยสรุปแล้ว การศึกษานี้แม้ว่าไม่สามารถแสดงให้เห็นถึงผลของโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีต่อภาวะความรุนแรงในโรคปริทันต์อักเสบผ่านทางสารสีอ็อกเสบทั้งสามได้ชัดเจนนัก แต่ผลของการศึกษานี้ ก็มีทิศทางที่สอดคล้องไปกับผลการศึกษาอื่นๆ ทำให้เชื่อได้ถึงผลของภาวะการมีโรคเบาหวานน่าจะมีส่วนต่อโรคปริทันต์อักเสบผ่านโดยกลไกของสารสีอ็อกเสบทั้งสามได้ นอกจากนี้ผลของสารประกอบเคอร์คิวมินที่มีต่อการลดลงของการแสดงออกของสารสีอ็อกเสบทั้งสามตลอดระยะเวลาที่ศึกษา และลดลงอย่างมากในช่วง 12 สัปดาห์ จึงเป็นแนวทางในการนำมาใช้พัฒนาเพื่อเป็น supplement ในการรักษาโรคปริทันต์อักเสบเพื่อผลในลดการแสดงออกของสารสีอ็อกเสบ ทำให้ผลของการรักษาโรคปริทันต์อักเสบดีขึ้นได้ รวมไปถึงเพื่อเป็นแนวทางในการผลิตยาเฉพาะที่จากสมุนไพรขมิ้นชันในการรักษาโรคปริทันต์อักเสบขึ้นใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพด้วย

อนึ่ง ควรมีการพิจารณาเพื่อปรับปรุงแก้ไขในเรื่องเทคนิคของการเหนี่ยวนำโรคเบาหวาน ซึ่งมีความแตกต่างในเรื่องขนาดของยาในหลายการศึกษา พัฒนาเทคนิคในการผูกไหม ซึ่งในบางการศึกษามีการเคลือบสารที่มีเชื้อแบคทีเรียลงบนไหมเพื่อเพิ่มความรุนแรงของโรคโดยใช้เชื้อแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ ได้แก่ พอร์ไฟโรโมนแนส จิงจิวาลิส (*P. gingivalis*)⁽⁴⁸⁾ รวมถึงประเด็นในเรื่องกลุ่มตัวอย่างที่ควรเพิ่มจำนวนในการศึกษาครั้งต่อไป ส่วนในวิธีการทางอิมมูโนฮิสโตเคมี ในการนับเซลล์ของการศึกษานี้ใช้การนับแบบ manual โดยนับต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ ที่กำลังขยาย 40 เท่า โดยไม่นับเซลล์ไฟโบรบลาสต์เนื่องจากพิจารณาว่าไม่ใช่เซลล์ในกระบวนการอักเสบ ซึ่งวิธีดังกล่าวอาจมีข้อผิดพลาดในเรื่องการระบุเซลล์ ซึ่งการศึกษาในครั้งต่อไป อาจพิจารณาด้วยการทำ double staining เพื่อความแม่นยำยิ่งขึ้นในการระบุเซลล์อักเสบ

เอกสารอ้างอิง

- [1] Seymour GJ, Ford PJ, Cullinan MP, Leishman S, Yamazaki K. Relationship between periodontal infections and systemic disease. *Clin Microbiol Infect.* 2007 Oct;13 Suppl 4:3-10.
- [2] Lalla RV, D'Ambrosio JA. Dental management considerations for the patient with diabetes mellitus. *J Am Dent Assoc.* 2001 Oct;132(10):1425-32.
- [3] Clinic Online by World Medic. เบาหวาน (ออนไลน์); เปิดเมื่อวันที่ 7 มิถุนายน 2550, จาก URL: <http://www.clinic.worldmedic.com/disease/endo1.html>
- [4] ภาควิชาวิทยาศาสตร์การกีฬา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.โรคเบาหวาน (ออนไลน์); เปิดเมื่อวันที่ 3 พฤษภาคม 2550, จาก URL: <http://sports.swu.ac.th/EXP/diabete/1.htm>.
- [5] International Diabetes Federation. Diabetes epidemic out of control.19th world diabetes congress, 2006 december 4; Cape Town, South Africa.2006.
- [6] World health organization. Diabetes [Serial online]. 2006 September. Retrived June 7, 2007, from URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/index.html>.
- [7] กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. สถานการณ์ปัญหาเบาหวานและน้ำตาลในเลือดสูง (ออนไลน์); เปิดเมื่อวันที่ 5 พฤษภาคม 2550, จาก URL: http://www.tncd.reducerisk.com/cms/index.php?option=com_content&task=view&id=78&Itemid=9
- [8] สำนักงานกองทุนสร้างเสริมสุขภาพ. หมอเตือนอายุ 35 ขึ้นไปควรตรวจ "โรคเบาหวาน" (ออนไลน์); เปิดเมื่อวันที่ 5 พฤษภาคม 2550, จาก URL: <http://www.thaihealth.or.th/cms/detail.php?id=702>
- [9] Mealey B. Diabetes and periodontal diseases. *J Periodontol.* 1999 Aug;70(8):935-49.
- [10] Mealey BL, Oates TW. Diabetes mellitus and periodontal diseases. *J Periodontol.* 2006 Aug;77(8):1289-303.
- [11] Salvi GE, Collins JG, Yalda B, Arnold RR, Lang NP, Offenbacher S. Monocytic TNF alpha secretion patterns in IDDM patients with periodontal diseases. *J Clin Periodontol.* 1997 Jan;24(1):8-16.
- [12] Naguib G, Al-Mashat H, Desta T, Graves DT. Diabetes prolongs the inflammatory response to a bacterial stimulus through cytokine dysregulation. *J Invest Dermatol.* 2004 Jul;123(1):87-92.
- [13] Salvi GE, Yalda B, Collins JG, Jones BH, Smith FW, Arnold RR, et al. Inflammatory mediator response as a potential risk marker for periodontal diseases in insulin-dependent diabetes mellitus patients. *J Periodontol.* 1997 Feb;68(2):127-35.

- [14] Engebretson SP, Hey-Hadavi J, Ehrhardt FJ, Hsu D, Celenti RS, Grbic JT, et al. Gingival crevicular fluid levels of interleukin-1beta and glycemic control in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes. *J Periodontol*. 2004 Sep;75(9):1203-8.
- [15] Lu H, Kraut D, Gerstenfeld LC, Graves DT. Diabetes interferes with the bone formation by affecting the expression of transcription factors that regulate osteoblast differentiation. *Endocrinology*. 2003 Jan;144(1):346-52.
- [16] He H, Liu R, Desta T, Leone C, Gerstenfeld LC, Graves DT. Diabetes causes decreased osteoclastogenesis, reduced bone formation, and enhanced apoptosis of osteoblastic cells in bacteria stimulated bone loss. *Endocrinology*. 2004 Jan;145(1):447-52.
- [17] Liu R, Bal HS, Desta T, Krothapalli N, Alyassi M, Luan Q, et al. Diabetes enhances periodontal bone loss through enhanced resorption and diminished bone formation. *J Dent Res*. 2006 Jun;85(6):510-4.
- [18] Liu R, Desta T, He H, Graves DT. Diabetes alters the response to bacteria by enhancing fibroblast apoptosis. *Endocrinology*. 2004 Jun;145(6):2997-3003.
- [19] Ficara AJ, Levin MP, Grower MF, Kramer GD. A comparison of the glucose and protein content of gingival fluid from diabetics and nondiabetics. *J Periodontal Res*. 1975 Jul;10(3):171-5.
- [20] Nishimura F, Takahashi K, Kurihara M, Takashiba S, Murayama Y. Periodontal disease as a complication of diabetes mellitus. *Ann Periodontol*. 1998 Jul;3(1):20-9.
- [21] Frantz TG, Reeve CM, Brown AL, Jr. The ultrastructure of capillary basement membranes in the attached gingiva of diabetic and nondiabetic patients with periodontal disease. *J Periodontol*. 1971 Jul;42(7):406-11.
- [22] Seppala B, Sorsa T, Ainamo J. Morphometric analysis of cellular and vascular changes in gingival connective tissue in long-term insulin-dependent diabetes. *J Periodontol*. 1997 Dec;68(12):1237-45.
- [23] Weringer EJ, Arquilla ER. Wound healing in normal and diabetic Chinese hamsters. *Diabetologia*. 1981 Oct;21(4):394-401.
- [24] Willershausen-Zonnchen B, Lemmen C, Hamm G. Influence of high glucose concentrations on glycosaminoglycan and collagen synthesis in cultured human gingival fibroblasts. *J Clin Periodontol*. 1991 Mar;18(3):190-5.
- [25] el-Kishky M, Mahfouz SA, el-Habbak SM. An in vitro study of hydroxyproline synthesis by gingival fibroblasts in patients with juvenile diabetes. *Egypt Dent J*. 1986 Jan;32(1):15-27.
- [26] Sorsa T, Ingman T, Suomalainen K, Halinen S, Saari H, Konttinen YT, et al. Cellular source and tetracycline-inhibition of gingival crevicular fluid collagenase of patients with labile diabetes mellitus. *J Clin Periodontol*. 1992 Feb;19(2):146-9.

- [27] Golub LM, Lee HM, Lehrer G, Nemiroff A, McNamara TF, Kaplan R, et al. Minocycline reduces gingival collagenolytic activity during diabetes. Preliminary observations and a proposed new mechanism of action. *J Periodontal Res.* 1983 Sep;18(5):516-26.
- [28] Schmidt AM, Weidman E, Lalla E, Yan SD, Hori O, Cao R, et al. Advanced glycation endproducts (AGEs) induce oxidant stress in the gingiva: a potential mechanism underlying accelerated periodontal disease associated with diabetes. *J Periodontal Res.* 1996 Oct;31(7):508-15.
- [29] Schmidt AM, Yan SD, Wautier JL, Stern D. Activation of receptor for advanced glycation end products: a mechanism for chronic vascular dysfunction in diabetic vasculopathy and atherosclerosis. *Circ Res.* 1999 Mar 19;84(5):489-97.
- [30] Chiarelli F, Santilli F, Mohn A. Role of growth factors in the development of diabetic complications. *Horm Res.* 2000;53(2):53-67.
- [31] Paques M, Massin P, Gaudric A. Growth factors and diabetic retinopathy. *Diabetes Metab.* 1997 Apr;23(2):125-30.
- [32] Gunczler P, Lanes R, Paoli M, Martinis R, Villaroel O, Weisinger JR. Decreased bone mineral density and bone formation markers shortly after diagnosis of clinical type 1 diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2001 May;14(5):525-8.
- [33] Odetti P, Traverso N, Cosso L, Noberasco G, Pronzato MA, Marinari UM. Good glycaemic control reduces oxidation and glycation end-products in collagen of diabetic rats. *Diabetologia.* 1996 Dec;39(12):1440-7.
- [34] Turk Z, Misur I, Turk N, Benko B. Rat tissue collagen modified by advanced glycation: correlation with duration of diabetes and glycemic control. *Clin Chem Lab Med.* 1999 Aug;37(8):813-20.
- [35] Katz J, Bhattacharyya I, Farkhondeh-Kish F, Perez FM, Caudle RM, Heft MW. Expression of the receptor of advanced glycation end products in gingival tissues of type 2 diabetes patients with chronic periodontal disease: a study utilizing immunohistochemistry and RT-PCR. *J Clin Periodontol.* 2005 Jan;32(1):40-4.
- [36] Schmidt AM, Hori O, Cao R, Yan SD, Brett J, Wautier JL, et al. RAGE: a novel cellular receptor for advanced glycation end products. *Diabetes.* 1996 Jul;45 Suppl 3:S77-80.
- [37] Lalla E, Lamster IB, Feit M, Huang L, Spessot A, Qu W, et al. Blockade of RAGE suppresses periodontitis-associated bone loss in diabetic mice. *J Clin Invest.* 2000 Apr;105(8):1117-24.
- [38] Taylor GW, Burt BA, Becker MP, Genco RJ, Shlossman M, Knowler WC, et al. Severe periodontitis and risk for poor glycemic control in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Periodontol.* 1996 Oct;67(10 Suppl):1085-93.

- [39] Grossi SG, Genco RJ. Periodontal disease and diabetes mellitus: a two-way relationship. *Ann Periodontol*. 1998 Jul;3(1):51-61.
- [40] Saito T, Shimazaki Y, Kiyohara Y, Kato I, Kubo M, Iida M, et al. The severity of periodontal disease is associated with the development of glucose intolerance in non-diabetics: the Hisayama study. *J Dent Res*. 2004 Jun;83(6):485-90.
- [41] Pontes Andersen CC, Buschard K, Flyvbjerg A, Stoltze K, Holmstrup P. Periodontitis deteriorates metabolic control in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *J Periodontol*. 2006 Mar;77(3):350-6.
- [42] Williams RC, Jr., Mahan CJ. Periodontal disease and diabetes in young adults. *Jama*. 1960 Feb 20;172:776-8.
- [43] Golub LM, Lee HM, Ryan ME, Giannobile WV, Payne J, Sorsa T. Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown by multiple non-antimicrobial mechanisms. *Adv Dent Res*. 1998 Nov;12(2):12-26.
- [44] Grossi SG, Skrepcinski FB, DeCaro T, Robertson DC, Ho AW, Dunford RG, et al. Treatment of periodontal disease in diabetics reduces glycated hemoglobin. *J Periodontol*. 1997 Aug;68(8):713-9.
- [45] Grossi SG, Skrepcinski FB, DeCaro T, Zambon JJ, Cummins D, Genco RJ. Response to periodontal therapy in diabetics and smokers. *J Periodontol*. 1996 Oct;67(10 Suppl):1094-102.
- [46] Miller LS, Manwell MA, Newbold D, Reding ME, Rasheed A, Blodgett J, et al. The relationship between reduction in periodontal inflammation and diabetes control: a report of 9 cases. *J Periodontol*. 1992 Oct;63(10):843-8.
- [47] Taylor GW. The effect of periodontal treatment on diabetes. *J Am Dent Assoc*. 2003 Oct;134:41-8.
- [48] McKenna SJ. Dental management of patients with diabetes. *Dent Clin North Am*. 2006 Oct;50(4):591-606, vii.
- [49] Erbagci AB, Tarakcioglu M, Coskun Y, Sivasli E, Sibel Namiduru E. Mediators of inflammation in children with type I diabetes mellitus: cytokines in type I diabetic children. *Clin Biochem*. 2001 Nov;34(8):645-50.
- [50] Dogan Y, Akarsu S, Ustundag B, Yilmaz E, Gurgoze MK. Serum IL-1beta, IL-2, and IL-6 in insulin-dependent diabetic children. *Mediators Inflamm*. 2006;2006(1):59206.
- [51] Torres SH, De Sanctis JB, de LBM, Hernandez N, Finol HJ. Inflammation and nitric oxide production in skeletal muscle of type 2 diabetic patients. *J Endocrinol*. 2004 Jun;181(3):419-27.
- [52] Pereira FO, Frode TS, Medeiros YS. Evaluation of tumour necrosis factor alpha, interleukin-2 soluble receptor, nitric oxide metabolites, and lipids as inflammatory markers in type 2 diabetes mellitus. *Mediators Inflamm*. 2006;2006(1):39062.

- [53] el-Nawawy A, Soliman T, el-Azzouni O, Abbassy AA, Massoud MN, Marzouk S, et al. Interleukin-1-beta, tumor necrosis factor-alpha, insulin secretion and oral glucose tolerance in non-diabetic siblings of children with IDDM. *Indian J Pediatr.* 1998 May-Jun; 65(3):455-60.
- [54] Doganay S, Evereklioglu C, Er H, Turkoz Y, Sevinc A, Mehmet N, et al. Comparison of serum NO, TNF-alpha, IL-1beta, sIL-2R, IL-6 and IL-8 levels with grades of retinopathy in patients with diabetes mellitus. *Eye.* 2002 Mar;16(2):163-70.
- [55] Lu L, Zhang Q, Pu LJ, Xu XW, Zhang RY, Zhang JS, et al. Elevation of tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1beta and interleukin-6 levels in aortic intima of Chinese Guizhou minipigs with streptozotocin-induced diabetes. *Chin Med J (Engl).* 2007 Mar 20;120(6):479-84.
- [56] Stashenko P, Jandinski JJ, Fujiyoshi P, Rynar J, Socransky SS. Tissue levels of bone resorptive cytokines in periodontal disease. *J Periodontol.* 1991 Aug;62(8):504-9.
- [57] Ebersole JL, Singer RE, Steffensen B, Filloon T, Kornman KS. Inflammatory mediators and immunoglobulins in GCF from healthy, gingivitis and periodontitis sites. *J Periodontal Res.* 1993 Nov;28(6 Pt 2):543-6.
- [58] Hou LT, Liu CM, Rossomando EF. Crevicular interleukin-1 beta in moderate and severe periodontitis patients and the effect of phase I periodontal treatment. *J Clin Periodontol.* 1995 Feb;22(2):162-7.
- [59] Jandinski JJ, Stashenko P, Feder LS, Leung CC, Peros WJ, Rynar JE, et al. Localization of interleukin-1 beta in human periodontal tissue. *J Periodontol.* 1991 Jan; 62(1):36-43.
- [60] Preiss DS, Meyle J. Interleukin-1 beta concentration of gingival crevicular fluid. *J Periodontol.* 1994 May;65(5):423-8.
- [61] Yavuzyilmaz E, Yamalik N, Bulut S, Ozen S, Ersoy F, Saatci U. The gingival crevicular fluid interleukin-1 beta and tumour necrosis factor-alpha levels in patients with rapidly progressive periodontitis. *Aust Dent J.* 1995 Feb;40(1):46-9.
- [62] Lopez NJ, Jara L, Valenzuela CY. Association of interleukin-1 polymorphisms with periodontal disease. *J Periodontol.* 2005 Feb;76(2):234-43.
- [63] McDevitt MJ, Wang HY, Knobelmann C, Newman MG, di Giovine FS, Timms J, et al. Interleukin-1 genetic association with periodontitis in clinical practice. *J Periodontol.* 2000 Feb;71(2):156-63.
- [64] Kornman KS, Crane A, Wang HY, di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, et al. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1997 Jan;24(1):72-7.
- [65] Dinarello CA. Therapeutic strategies to reduce IL-1 activity in treating local and systemic inflammation. *Curr Opin Pharmacol.* 2004 Aug;4(4):378-85.

- [66] Levine SJ. Mechanisms of soluble cytokine receptor generation. *J Immunol.* 2004 Nov 1;173(9):5343-8.
- [67] McDaniel ML, Kwon G, Hill JR, Marshall CA, Corbett JA. Cytokines and nitric oxide in islet inflammation and diabetes. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1996 Jan;211(1):24-32.
- [68] Kaneki M, Shimizu N, Yamada D, Chang K. Nitrosative stress and pathogenesis of insulin resistance. *Antioxid Redox Signal.* 2007 Mar;9(3):319-29.
- [69] Eizirik DL, Leijerstam F. The inducible form of nitric oxide synthase (iNOS) in insulin-producing cells. *Diabete Metab.* 1994 Mar-Apr;20(2):116-22.
- [70] Darville MI, Eizirik DL. Regulation by cytokines of the inducible nitric oxide synthase promoter in insulin-producing cells. *Diabetologia.* 1998 Sep;41(9):1101-8.
- [71] Eizirik DL, Flodstrom M, Karlsen AE, Welsh N. The harmony of the spheres: inducible nitric oxide synthase and related genes in pancreatic beta cells. *Diabetologia.* 1996 Aug;39(8):875-90.
- [72] Kitayama J, Faraci FM, Gunnnett CA, Heistad DD. Impairment of dilator responses of cerebral arterioles during diabetes mellitus: role of inducible NO synthase. *Stroke.* 2006 Aug;37(8):2129-33.
- [73] Ceriello A. Oxidative stress and diabetes-associated complications. *Endocr Pract.* 2006 Jan-Feb;12 Suppl 1:60-2.
- [74] Da Ros R, Assaloni R, Ceriello A. The preventive anti-oxidant action of thiazolidinediones: a new therapeutic prospect in diabetes and insulin resistance. *Diabet Med.* 2004 Nov;21(11):1249-52.
- [75] Kendall HK, Marshall RI, Bartold PM. Nitric oxide and tissue destruction. *Oral Dis.* 2001 Jan;7(1):2-10.
- [76] Lohinai Z, Benedek P, Feher E, Gyorfı A, Rosivall L, Fazekas A, et al. Protective effects of mercaptoethylguanidine, a selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase, in ligature-induced periodontitis in the rat. *Br J Pharmacol.* 1998 Feb;123(3): 353-60.
- [77] Gyurko R, Boustany G, Huang PL, Kantarci A, Van Dyke TE, Genco CA, et al. Mice lacking inducible nitric oxide synthase demonstrate impaired killing of *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun.* 2003 Sep;71(9):4917-24.
- [78] Blix IJ, Helgeland K. LPS from *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and production of nitric oxide in murine macrophages J774. *Eur J Oral Sci.* 1998 Feb;106(1): 576-81.
- [79] Frolov I, Hourı-Hadad Y, Soskolne A, Shapira L. In vivo exposure to *Porphyromonas gingivalis* up-regulates nitric oxide but suppresses tumour necrosis factor-alpha production by cultured macrophages. *Immunology.* 1998 Mar;93(3):323-8.

- [80] Rosen G, Sela MN, Naor R, Halabi A, Barak V, Shapira L. Activation of murine macrophages by lipoprotein and lipooligosaccharide of *Treponema denticola*. *Infect Immun*. 1999 Mar;67(3):1180-6.
- [81] Matejka M, Partyka L, Ulm C, Solar P, Sinzinger H. Nitric oxide synthesis is increased in periodontal disease. *J Periodontal Res*. 1998 Nov;33(8):517-8.
- [82] Lappin DF, Kjeldsen M, Sander L, Kinane DF. Inducible nitric oxide synthase expression in periodontitis. *J Periodontal Res*. 2000 Dec;35(6):369-73.
- [83] Hirose M, Ishihara K, Saito A, Nakagawa T, Yamada S, Okuda K. Expression of cytokines and inducible nitric oxide synthase in inflamed gingival tissue. *J Periodontol*. 2001 May;72(5):590-7.
- [84] Batista AC, Silva TA, Chun JH, Lara VS. Nitric oxide synthesis and severity of human periodontal disease. *Oral Dis*. 2002 Sep;8(5):254-60.
- [85] Gullu C, Ozmeric N, Tokman B, Elgun S, Balos K. Effectiveness of scaling and root planing versus modified Widman flap on nitric oxide synthase and arginase activity in patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res*. 2005 Apr;40(2):168-75.
- [86] Leitao RF, Ribeiro RA, Chaves HV, Rocha FA, Lima V, Brito GA. Nitric oxide synthase inhibition prevents alveolar bone resorption in experimental periodontitis in rats. *J Periodontol*. 2005 Jun;76(6):956-63.
- [87] Zhang YM, Su Y, Jin ZQ. [Research on histologic changes of periodontal tissue, testification of TNF-alpha and their relationship in diabetics rats]. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*. 2003 Oct;12(5):352-5.
- [88] Gomes MA, Rodrigues FH, Afonso-Cardoso SR, Buso AM, Silva AG, Favoreto S, Jr., et al. Levels of immunoglobulin A1 and messenger RNA for interferon gamma and tumor necrosis factor alpha in total saliva from patients with diabetes mellitus type 2 with chronic periodontal disease. *J Periodontal Res*. 2006 Jun;41(3):177-83.
- [89] Engebretson SP, Vossughi F, Hey-Hadavi J, Emingil G, Grbic JT. The influence of diabetes on gingival crevicular fluid beta-glucuronidase and interleukin-8. *J Clin Periodontol*. 2006 Nov;33(11):784-90.
- [90] Gaspirc B, Masera A, Skaleric U. Immunolocalization of inducible nitric oxide synthase in localized juvenile periodontitis patients. *Connect Tissue Res*. 2002;43(2-3):413-8.
- [91] Laosrisin N, Sappayatosok K, Anupunpisit V. Periodontal destruction pattern and immunolocalization of TNF- α and iNOS in streptozotocin-induced diabetes rats. (Abstract No.5008).2006

คณะผู้วิจัย

- 1 ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย (ไทย) รศ.ทพ.ดร. ณรงค์ศักดิ์ เหล่าศรีสิน
(อังกฤษ) Narongsak Laosrisin, Ass.Prof.Dr.
หมายเลขประจำตัวบัตรประชาชน
ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์ ได้รับเงินเดือนระดับ 9 ชั้น
เลขประจำตำแหน่ง 2261

สถานที่ติดต่อ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
สุขุมวิท 23 แขวงคลองเตย เขตวัฒนา กรุงเทพฯ
10110 โทร 02 6641000 ต่อ 5112

ประวัติการศึกษา

| คุณวุฒิ | ปี พ.ศ. ที่จบ | ชื่อสถานที่ศึกษา |
|---|---------------|--|
| 1.3.1 ทันตแพทยศาสตรบัณฑิต | 2528 | จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, ประเทศไทย |
| 1.3.2 Cert in Japanese language | 2528 | Osaka University of Foreign Studies, Japan |
| 1.3.3 Cert in Periodontology | 2529 | Tokyo medical and Dental University, Japan |
| 1.3.4 Ph.D. in Dental Science | 2533 | Tokyo medical and Dental University, Japan |
| 1.3.5 อนุมัติบัตรแสดงความรู้ความสามารถในการประกอบวิชาทันตกรรม สาขา ปริทันตวิทยา | 2539 | ทันตแพทยสภา, ประเทศไทย |

สาขาวิชาที่มีความชำนาญ สาขาปริทันตวิทยา

ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว :

1. Narongsak Laosrisin, Keisuke Nakashima and Isao Ishikawa: Detection of Bacteroides gingivalis antigenic proteins by immunoblotting analysis. The Journal of Periodontology. 1990; 61(5): 261-268

2. Isao Ishikawa, Makoto Umeda and Narongsak Laosrisin: Clinical, Bacteriological, and Immunological Examinations and Treatment Process of Two Papillon Lefevre Syndrome Patients. *The Journal of Periodontology*. 1994; 65(4): 364-371
3. Elizabeth A. Boutsis, Makoto Umeda, Narongsak Laosrisin and Isao Ishikawa: Follow-up of Two Papillon Lefevre Syndrome and Presentation of Two New Cases. *The International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*. 1997; 17(4): 335-347
4. ณรงค์ศักดิ์ เหล่าศรีสิน, ดวงรัตน์ ครองระวะ และ นุชจรี พงษ์นริศร 2535, “การเปลี่ยนแปลงสภาวะปริทันต์ภายหลังการรักษาในระยะเริ่มแรก” วารสารทันตแพทยศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 15(3) หน้า 187 - 192
5. ชิตนี วีรประดิษฐ์ศิลป์, ศิริพร รัตนเขตกุล, สุรสา ตั้งใจตรง และณรงค์ศักดิ์ เหล่าศรีสิน 2535, “ความรู้ และ ทักษะเกี่ยวกับโรคปริทันต์ ของผู้ป่วยที่มาใช้บริการ ในแผนกทันตกรรม ของโรงพยาบาลรัฐบาล และโรงพยาบาลเอกชน ในเขตกรุงเทพมหานคร” วารสารทันตแพทยศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 15(2) หน้า 113-128
6. จินตกร คุ้มณสุขชาติ และ ณรงค์ศักดิ์ เหล่าศรีสิน 2541, การตรวจวิเคราะห์ชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่พบในร่องลึกปริทันต์ของผู้ป่วยด้วยโรคปริทันต์อักเสบในคนไทย วารสารทันตแพทยศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 21(1) หน้า 31 – 35
7. ณรงค์ศักดิ์ เหล่าศรีสิน จิตติมา เอื้อรัตนวงศ์ บุรยา เปล่งสงวน วิมลพรรณ นนทรี และ ลลนา คงคาเนรมิตร, การพัฒนายาในกลุ่มเซฟาโลสปอริน (Cephalosporins) ในรูปแบบเจลเพื่อการรักษาผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบ (กำลังดำเนินการเผยแพร่)
8. พลภัทร์ จรัสชัยวรรณ ดวงพร ศรีสุภาพ และ ณรงค์ศักดิ์ เหล่าศรีสิน, ความชุกของพอร์ไฟโรโมนเนส จิงจีวาเลียส และชนิดของพิมเบรียในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบคนไทย (กำลังดำเนินการเผยแพร่)
9. กนิษฐ นันทเสนีย์ นิรดา ธเนศวร และ ณรงค์ศักดิ์ เหล่าศรีสิน, ผลของ E.coli LPS ต่อการแสดงออกของ HGMB-1 ในเซลล์เอ็นยัดปริทันต์ของมนุษย์ (Effect of LPS on HGMB 1-expression in human periodontal ligament fibroblast) (กำลังดำเนินการเผยแพร่)
10. ศรีนทิพย์ อังศุโกโคย สิริลักษณ์ ตีรณธนากุล และ ณรงค์ศักดิ์ เหล่าศรีสิน, การแสดงออกของพาร์-2 ในเซลล์เอ็นยัดปริทันต์ของมนุษย์เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยเชื้อก่อโรคปริทันต์ (Expression of PAR-2 in Human periodontal ligament cells activated by Periodontopathic bacteria) (กำลังดำเนินการเผยแพร่)

บทความทางวิชาการ

1. Laosrisin N: Chapter 11th - Progress of periodontal research and practice in Thailand. In: Bartold PM, Ishikawa I, Sirirat M, editors. Progress of periodontal research and practice in the Asain Pacific country. Proceedings of the 3rd Asain Pacific Society of Periodontology Meeting. Bangkok, Thailand, 1999, p.109-115.

2. Loasrisin N: Chapter 5th - Conservative periodontal therapy as a predictable procedure in Thailand. In: Bartold PM, Ishikawa I, Taiyeb Ali TB, editors. New millennium challenges in periodontology in the Asain Pacific region. Proceedings of the 4th Asain Pacific Society of Periodontology Meeting. Kuala Lumpur, Malaysia, 2001; 43-54
3. Loasrisin N: Chapter 8th - Clinical application of current research in periodontal pharmacotherapeutics. In: Bartold PM, Ishikawa I, Arunachalam D, editors. Resharch advances and periodontics : Bridging the gap. Proceedings of the 6th Asain Pacific Society of Periodontology Meeting. Chennai, India, 2005; 60-82
4. สุรศักดิ์ บุญญาศิริรัตน์, ณรงค์ศักดิ์ เหล่าศรีสิน 2535, "สารรักษาภาวะไวต่อความรู้สึกของฟัน" วารสารทันตแพทยศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 15(2) หน้า 151-161
5. ฐิติพร พานโพธิ์ทอง, ณรงค์ศักดิ์ เหล่าศรีสิน 2535, "การตัดแบ่งครึ่งฟันปละการตัดรากในฟันที่มีรอยโรคบริเวณช่องรากฟันกราม" วารสารทันตแพทยศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 15(3) หน้า 221-232
6. ณรงค์ศักดิ์ เหล่าศรีสิน 2535, "การวินิจฉัยโรคปริทันต์แนวใหม่" วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์ ทันตแพทยสมาคมแห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์ 42(4) หน้า 194 –205

การเสนอผลงานและการได้รับเชิญเพื่อเผยแพร่ชื่อเสียงของมหาวิทยาลัย

1. ตัวแทนประเทศไทย ในการประชุม Asian Pacific Society of Periodontology Meeting ครั้งที่ 3 และเสนอผลงานวิจัย เรื่อง The Progression of Periodontal Research and Practice in Thailand ปี พ.ศ. 2542 กรุงเทพฯ ประเทศไทย
2. ตัวแทนประเทศไทย ในการประชุม Asian Pacific Society of Periodontology Meeting ครั้งที่ 4 และเสนอผลงานวิจัย เรื่อง Conservative periodontal therapy as a predictable in Thailand วันที่ 24-25 กันยายน พ.ศ. 2544 กรุงกัวลาลัมเปอร์ ประเทศมาเลเซีย
3. เสนอผลงานวิจัยในการประชุมวิชาการ International Association for Dental Research ครั้งที่ 83 เรื่อง Development of Cephalosporin Oral Gel for Periodontal Treatment วันที่ 11 มีนาคม พ.ศ. 2548 ณ กรุงบัลติมอร์ ประเทศสหรัฐอเมริกา
4. ตัวแทนประเทศไทย ในการประชุม Asian Pacific Society of Periodontology Meeting ครั้งที่ 6 และเสนอผลงานวิจัย เรื่อง Clinical application of current research in periodontal pharmacotherapeutics วันที่ 4 พฤศจิกายน พ.ศ. 2548 กรุงChennai ประเทศอินเดีย
5. ตัวแทนประเทศไทย ในการประชุม Euro Perio 5 จัดโดย European Society of Periodontology Meeting ครั้งที่ 5 และเสนอผลงานวิจัย เรื่อง Recent progress in the

field of periodontology in Thailand วันที่ 29 มิถุนายน พ.ศ. 2549 กรุงMadrid ประเทศสเปน

6. เสนอผลงานวิจัยในการประชุมวิชาการ American Academy of Periodontology ครั้งที่ 92 เรื่อง Periodontal destruction pattern and immunolocalization of TNF- α and iNOS in streptozotocin-induced diabetes rats (Abstract No. 5008) วันที่ 18 กันยายน พ.ศ. 2549 ณ เมืองซานดิเอโก ประเทศสหรัฐอเมริกา

งานวิจัยที่กำลังทำ :

ผลการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางคลินิกและทางจุลชีววิทยาภายหลังการรักษาโรคปริทันต์อักเสบด้วยเครื่องชุดไต้เหงือกอัลตราโซนิกร่วมกับน้ำยาบ้วนปากประเภทเอสเซนเชียลออยล์

Clinical and microbiological change in periodontal treatment by subgingival ultrasonic debridement conjugated with essential oil mouth rinse.

