

การแสดงออกของอินเตอร์ลิวคิน-1 เบตา ทุเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาและอินดิวิซิเบิลไนตริก
ออกไซด์ซินเทสในหนูที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบ



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาปริทันตวิทยา

มีนาคม 2552

การแสดงออกของอินเตอร์ลิวคิน-1 เบตา ทุเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาและอินดิวิชเบิลไนตริก
ออกไซด์ซินเทสในหนูที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบ



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาปริทันตวิทยา

มีนาคม 2552

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

การแสดงออกของอินเตอร์ลิวคิน-1 เบตา ทุเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาและอินดิวิชเบิลไนตริก
ออกไซด์ซินเทสในหนูที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบ



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาปริทันตวิทยา
มีนาคม 2552

สุรัชย์ กฤษณาวารินทร์ (2551) การแสดงออกของอินเตอรลิควิน-1 เบตา ทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาและอินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทสในหนูที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานและโรค ปริทันต์อักเสบปริณูณานิพนธ์ วท.ม.(ปริทันตวิทยา). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. คณะกรรมการควบคุม: รองศาสตราจารย์ ทนต์แพทย์ ดร.ณรงค์ศักดิ์ เหล่าศรีสิน รองศาสตราจารย์ ทนต์แพทย์ กิตติพงษ์ ดนุไทย รองศาสตราจารย์ ดร. วิภาวี อนุพันธ์พิศิษฐ์

โรคเบาหวานเป็นโรคเรื้อรังที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับความรุนแรงของโรคปริทันต์อักเสบ โดยโรคปริทันต์อักเสบจัดเป็นหนึ่งในภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน พบว่าสารสื่ออักเสบมีบทบาทสำคัญต่อความรุนแรงของโรคเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบโดยพบการเพิ่มขึ้นของระดับสารสื่ออักเสบทั้งในซีรัมและในชิ้นเนื้ออก ขณะที่อิทธิพลของโรคเบาหวานที่มีต่อความรุนแรงของโรคปริทันต์อักเสบผ่านบทบาทของสารสื่ออักเสบยังไม่ทราบแน่ชัด

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาอิทธิพลของโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีต่อความรุนแรงของโรคปริทันต์อักเสบผ่านกลไกของสารสื่ออักเสบอื่นได้แก่ อินเตอรลิควิน-1 เบตา ทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา และอินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทสในชิ้นเนื้ออกของหนูเบาหวานที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบ (DMPD)

วิธีดำเนินการวิจัย นำหนูวิสตาร์เพศผู้จำนวน 30 ตัว แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มๆละ 10 ตัวได้แก่ กลุ่มเบาหวานชนิดที่ 2 กลุ่มปริทันต์อักเสบและกลุ่มเบาหวานชนิดที่ 2 ร่วมกับปริทันต์อักเสบ ในหนูกลุ่มเบาหวานชนิดที่ 2 จะถูกเหนี่ยวนำด้วยการฉีดสารนิโคตินาไมด์ 230 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมทางหน้าท้องหนูและสารสเตโรบิลไฮโดรเจนความเข้มข้น 65 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมทางหลอดเลือดดำ ส่วนในกลุ่มปริทันต์อักเสบทำการผูกไหมขนาด 4-0 รอบฟันกรามบนซี่ที่ 1 ในกลุ่มสุดท้ายจะถูกเหนี่ยวนำทั้งสองสภาวะ หลังจากนั้นจึงทำการการุณยฆาตที่เวลา 2, 4, 6 และ 12 สัปดาห์ นำกระดูขากรรไกรบนพร้อมชิ้นเนื้อเนื้อเยื่อทั้งหมดทำการตัดสไลด์เนื้อเยื่อที่ความหนา 5 ไมครอน จากนั้นตรวจดูการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อต่างๆทางจุลกายวิภาคและทางอิมมูโนฮิสโตเคมีเพื่อประเมินการแสดงออกของสารสื่ออักเสบทั้ง 3 ชนิด

ผลการวิจัย พบแนวโน้มการแสดงออกของสารสื่ออักเสบทั้งสามเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในกลุ่ม DMPD และ PD และการแสดงออกของหนูในกลุ่ม DM ลดลงในช่วง 12 สัปดาห์ แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างชัดเจนในเรื่องการแสดงออกของสารสื่ออักเสบระหว่างกลุ่ม PD และ DMPD

บทสรุป ภายใต้สภาวะของการวิจัยนี้แสดงว่าสารสื่ออักเสบทั้งสามชนิดมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการอักเสบของโรคปริทันต์อักเสบที่สัมพันธ์ใกล้ชิดกับโรคเบาหวานชนิดที่ 2

THE EXPRESSION OF INTERLEUKIN -1BETA, TUMOR NECROSIS FACTOR - ALPHA AND
INDUCIBLE NITRIC OXIDE SYNTHASE IN DIABETES INDUCED RATS WITH PERIODONTITIS



AN ABSTRACT
BY
SURACHAI KRISSANAVARIN

Presented in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Master of Science Degree in Periodontology
at Srinakharinwirot University

March 2009

Surachai Krissanavarin.(2009). *The expression of interleukin-1beta, tumor necrosis factor-alpha and inducible nitric oxide synthase in diabetes induced rats with periodontitis.* Master thesis, M.S. (Periodontology). Bangkok: Graduate School, Srinakharinwirot University. Advisor Committee: Assoc. Prof. Dr. Narongsak Laosrisin, Assoc. Prof. Dr.Kittipong Dhanuthai, Assoc. Prof. Dr. Vipavee Anupunpisit

Diabetes mellitus is a chronic inflammatory disease that is closely related to periodontitis. Inflammatory cytokines such as tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), interleukin-1beta (IL-1 β) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) have been reported to play a key role in pathogenesis of both diseases but the role of these cytokines in the severity of diabetes associated periodontitis remains unclear.

Objectives: The influence of diabetes mellitus type 2 on the severity of periodontitis through the role of 3 inflammatory markers were investigated in this study.

Materials and Methods: 30 Male Wistar rats were divided equally into 3 groups. The rats in diabetes group (DM, n=10) were injected with nicotinamide (230 mg/kg, i.p) and streptozotocin (65 mg/kg, i.v) compared with periodontitis group (PD, n=10) in which 4-0 silk ligatures were placed around the cervical area of 1st upper molars and diabetes associated periodontitis group (DMPD, n=10). All of them were later sacrificed at 2, 4, 6 and 12 weeks and their maxilla including gingival tissues were evaluated histologically. Paraffin sections of gingival tissues were immunohistologically stained to investigate the expression of 3 inflammatory markers.

Results: The expression of all 3 inflammatory markers were increased with duration of time especially in PD and DMPD groups, but there's no clearly difference in the expression between PD and DMPD groups. In DM group, the expression of the inflammatory markers were decreased at 12 week,

Conclusions : The results suggest that TNF- α , IL-1 β and iNOS may play an important role in local inflammatory response involving periodontal destruction in type 2 diabetes mellitus.

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความช่วยเหลือและคำแนะนำอย่างดียิ่งจากคณาจารย์หลายท่าน ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ทนต์แพทย์ ดร.ณรงค์ศักดิ์ เหล่าศรีสิน ประธานควบคุมปริญญานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. วิภาวี อนุพันธ์พิศิษฐ์และรองศาสตราจารย์ทนต์แพทย์ กิตติพงษ์ ดนุไทย กรรมการควบคุมปริญญานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำแนวทาง ข้อมูลและข้อคิดเห็นต่างๆ ที่มีประโยชน์ต่อการทำวิจัยในครั้งนี้ด้วยดีตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทนต์แพทย์ สุวิทย์ วิมลจิตต์ และรองศาสตราจารย์ ทนต์แพทย์หญิง ดร. สมพร สวัสดิธรรมที่กรุณาร่วมเป็นกรรมการสอบโครงร่างปริญญานิพนธ์และสอบป้องกันปริญญานิพนธ์ ตลอดจนให้คำแนะนำและข้อเสนอแนะต่างๆของการวิจัยรวมทั้งให้ความกรุณาตรวจแก้ไขปริญญานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทนต์แพทย์ ดร.ไกรสร ทรัพย์ะโตษกที่กรุณาให้คำแนะนำและช่วยเหลือการทำวิจัยครั้งนี้อีกทั้งให้ความกรุณาช่วยตรวจแก้ไขเนื้อหาของปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเลี้ยงสัตว์ทดลอง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ทุกท่านที่ให้การช่วยเหลือตลอดมา

และขอขอบพระคุณคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ ภาควิชาทันตพยาธิวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทุกท่านที่ให้การช่วยเหลือและการต้อนรับอันอบอุ่นตลอดระยะเวลาที่ทำวิจัยนี้

ท้ายที่สุดนี้ผู้วิจัยใคร่ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดาที่รักยิ่ง ผู้เป็นแรงบันดาลใจ และให้การสนับสนุนคอยให้กำลังใจจนสำเร็จการศึกษา

สุรัชย์ กฤษณาวารินทร์

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง.....	1
ความมุ่งหมายของการวิจัย.....	6
ความสำคัญของการวิจัย.....	6
ขอบเขตของการวิจัย.....	6
กรอบแนวคิดของการวิจัย.....	7
สมมติฐานในการวิจัย.....	7
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	8
พยาธิกำเนิดและอาการของโรคเบาหวานชนิดที่ 1 และ 2.....	8
ระบาดวิทยาของโรคเบาหวาน.....	10
ผลกระทบของโรคเบาหวานต่อโรคปริทันต์อักเสบ.....	12
ผลกระทบของโรคปริทันต์อักเสบต่อโรคเบาหวาน.....	14
ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายในผู้ป่วยโรคเบาหวาน.....	17
บทบาทของสารสื่ออักเสบในโรคเบาหวาน.....	17
กลไกของสารสื่ออักเสบในโรคปริทันต์อักเสบ.....	18
บทบาทของไนตริกออกไซด์ในโรคเบาหวาน.....	18
บทบาทของไนตริกออกไซด์ในโรคปริทันต์อักเสบ.....	19
บทบาทของสารสื่ออักเสบและไนตริกออกไซด์ในโรคปริทันต์อักเสบที่สัมพันธ์กับโรคเบาหวาน.....	20
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	22
การกำหนดประชากรและการสุ่มตัวอย่าง.....	22
การสร้างเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย.....	22
การเก็บรวบรวมข้อมูล.....	23
การศึกษาการแสดงออกของสารสื่ออักเสบ.....	26

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
4 ผลการวิจัย.....	28
การเปลี่ยนแปลงระดับน้ำตาลในเลือดของหนูแต่ละกลุ่มตลอดการศึกษา.....	28
น้ำหนักหนูแต่ละกลุ่มตลอดช่วงระยะเวลาการทดลอง.....	31
ลักษณะการทำลายเนื้อเยื่อปรีทันต์ในหนูแต่ละกลุ่ม.....	33
การแสดงออกของสารสื่ออักเสบในหนูแต่ละกลุ่ม.....	45
การแสดงออกของอินเตอร์ลิวคิน-1 เบตา.....	45
การแสดงออกของทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา.....	47
การแสดงออกของอินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส.....	49
ผลการเปรียบเทียบการแสดงออกของตัวชี้วัดสภาวะการอักเสบในหนูแต่ละกลุ่ม...	51
แนวโน้มของการแสดงออกของตัวชี้วัดสภาวะการอักเสบในหนูแต่ละกลุ่มเปรียบ	
เทียบตามระยะเวลา.....	54
5 อภิปรายผล.....	56
การเหนี่ยวนำให้หนูเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 และการเปลี่ยนแปลงระดับน้ำตาล	
ในเลือดของหนูแต่ละกลุ่มตลอดการศึกษา.....	56
ลักษณะการทำลายเนื้อเยื่อปรีทันต์ในหนูแต่ละกลุ่ม.....	61
ผลการแสดงออกของสารสื่ออักเสบทางอิมมูโนฮิสโตเคมี.....	62
บรรณานุกรม.....	66
ภาคผนวก.....	81
ประวัติย่อผู้วิจัย.....	90

บัญชีตาราง

ตาราง	หน้า
1 แสดงตัวอย่างการศึกษาผลของการรักษาโรคปริทันต์อักเสบช่วยส่งเสริมการควบคุม ระดับน้ำตาลในเลือด.....	16
2 แสดงแอนติบอดีที่ใช้ในการค้นหา specific markers ทั้งสาม.....	26



บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 ต้นกำเนิดของไนตริกออกไซด์ซินเทส.....	3
2 จำนวนผู้ที่เป็นเบาหวานในภูมิภาคต่างๆของโลกในปี ค.ศ. 2003 และ 2025	11
3 แผนผังแสดงกรอบการทำงานในกลุ่มทดลองทั้งหมด.....	23
4 วิธีการหาค่าเฉลี่ยของการแสดงออกของสารสื่ออักเสบในหนูแต่ละกลุ่ม.....	27
5 กราฟแสดงระดับน้ำตาลตลอด 16 สัปดาห์ของหนูกลุ่ม PD.....	28
6 กราฟแสดงระดับน้ำตาลตลอด 16 สัปดาห์ของหนูกลุ่ม DM	29
7 กราฟแสดงระดับน้ำตาลตลอด 16 สัปดาห์ของหนูกลุ่ม DMPD.....	30
8 กราฟแสดงน้ำหนักหนูในกลุ่ม PD	31
9 กราฟแสดงน้ำหนักหนูในกลุ่ม DM	31
10 กราฟแสดงน้ำหนักหนูในกลุ่ม DMPD	32
11 รูปแบบการทำลายอวัยวะปริทันต์ในกลุ่ม PD 2 สัปดาห์.....	34
12 รูปแบบการทำลายอวัยวะปริทันต์ในกลุ่ม DM 2 สัปดาห์.....	34
13 รูปแบบการทำลายอวัยวะปริทันต์ในกลุ่ม DMPD 2 สัปดาห์.....	34
14 รูปแบบการทำลายอวัยวะปริทันต์ในกลุ่ม PD 4 สัปดาห์	37
15 รูปแบบการทำลายอวัยวะปริทันต์ในกลุ่ม DM 4 สัปดาห์.....	37
16 รูปแบบการทำลายอวัยวะปริทันต์ในกลุ่ม DMPD 4 สัปดาห์.....	37
17 รูปแบบการทำลายอวัยวะปริทันต์ในกลุ่ม PD 6 สัปดาห์.....	40
18 รูปแบบการทำลายอวัยวะปริทันต์ในกลุ่ม DM 6 สัปดาห์	40
19 รูปแบบการทำลายอวัยวะปริทันต์ในกลุ่ม DMPD 6 สัปดาห์.....	40
20 รูปแบบการทำลายอวัยวะปริทันต์ในกลุ่ม PD 12 สัปดาห์.....	43
21 รูปแบบการทำลายอวัยวะปริทันต์ในกลุ่ม DM 12 สัปดาห์.....	43
22 รูปแบบการทำลายอวัยวะปริทันต์ในกลุ่ม DMPD 12 สัปดาห์.....	43
23 การแสดงออกของอินเตอรลิวคิน-1 เบตาในหนูกลุ่ม PD.....	45
24 การแสดงออกของอินเตอรลิวคิน-1 เบตาในหนูกลุ่ม DM.....	46
25 การแสดงออกของอินเตอรลิวคิน-1 เบตาในหนูกลุ่ม DMPD.....	46
26 การแสดงออกของทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาในหนูกลุ่ม PD.....	47
27 การแสดงออกของทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาในหนูกลุ่ม DM.....	48

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
28 การแสดงออกของทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาในหนูกลุ่ม DMPD.....	48
29 การแสดงออกของอินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทสในหนูกลุ่ม PD.....	49
30 การแสดงออกของอินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทสในหนูกลุ่ม DM.....	50
31 การแสดงออกของอินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทสในหนูกลุ่ม DMPD.....	50
32 กราฟแท่งแสดงจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกโดยเฉลี่ยของสารสื่ออักเสบ ทั้งสามในกลุ่มทดลอง 2 สัปดาห์.....	51
33 กราฟแท่งแสดงจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกโดยเฉลี่ยของสารสื่ออักเสบ ทั้งสามในกลุ่มทดลอง 4 สัปดาห์.....	52
34 กราฟแท่งแสดงจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกโดยเฉลี่ยของสารสื่ออักเสบ ทั้งสามในกลุ่มทดลอง 6 สัปดาห์.....	52
35 กราฟแท่งแสดงจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกโดยเฉลี่ยของสารสื่ออักเสบ ทั้งสามในกลุ่มทดลอง 12 สัปดาห์.....	53
36 กราฟแสดงแนวโน้มการแสดงออกของอินเตอร์ลิวคิน-1 เบตาในกลุ่มทดลอง ทั้งสามกลุ่มเปรียบเทียบตามระยะเวลา.....	54
37 กราฟแสดงแนวโน้มการแสดงออกของทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา ในกลุ่มทดลองทั้งสามกลุ่มเปรียบเทียบตามระยะเวลา.....	54
38 กราฟแสดงแนวโน้มการแสดงออกของอินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส ในกลุ่มทดลองทั้งสามกลุ่มเปรียบเทียบตามระยะเวลา.....	55
39 กลไกของของสเตรปโตโซโทซินในระดับเซลล์.....	58
40 แหล่งที่มาของนิโคตินามายด์.....	60
41 ปัจจัยในเรื่องสารสื่ออักเสบของโรคเบาหวานที่สร้างความรุนแรงต่อโรคปริทันต์ อักเสบ.....	64

บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

โรคเบาหวานเกิดจากความผิดปกติในระบบเมตาบอลิซึมของสารจำพวกคาร์โบไฮเดรต ไขมัน และ โปรตีน โดยพบความผิดปกติของการหลั่งหรือการทำงานของอินซูลิน ส่งผลกระทบต่อการนำคาร์โบไฮเดรตประเภทกลูโคสไปใช้ประโยชน์ในร่างกาย ผู้ป่วยที่เป็นโรคดังกล่าวมักจะเกิดภาวะการมีน้ำตาลในเลือดสูงเกินปกติ (hyperglycemia) ในปี 1999 American Diabetes Association ได้แบ่งโรคเบาหวาน ออกเป็น 4 ชนิดดังนี้⁽¹⁾

1. เบาหวานชนิดที่ 1 เกิดจากเบตาเซลล์ (Beta cell) ของตับอ่อนถูกทำลาย โดยมากมักพบผู้ป่วยตั้งแต่อายุน้อย มีอาการรุนแรงกว่าโดยร่างกายไม่สามารถผลิตอินซูลิน ได้เลย
2. เบาหวานชนิดที่ 2 เป็นผลจากความผิดปกติของอินซูลินเองหรือความบกพร่องของตัวรับ (receptor) ทำให้การทำงานของอินซูลินสูญเสียไปและเกิดภาวะต้านทานต่ออินซูลิน (insulin resistance)
3. โรคเบาหวานขณะตั้งครรภ์ (gestational diabetes mellitus) มักพบว่าผู้ป่วยจะมีระดับน้ำตาลในเลือดไม่คงที่โดยเกิดร่วมกับภาวะตั้งครรภ์ ผู้ป่วยในกลุ่มนี้จะมีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 เพิ่มขึ้น
4. ชนิดจำเพาะอื่นๆ (other specific types) เกิดจากสาเหตุเช่นความบกพร่องทางพันธุกรรมของ เบตาเซลล์ ในตับอ่อนหรือด้านการทำงานของอินซูลิน การมีโรคทางระบบร่วมด้วย เช่น โรคทางระบบต่อมไร้ท่อที่ทำให้ระดับเอนไซม์บางตัวไม่สมดุลย์แล้วส่งผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด

จากการสำรวจขององค์การอนามัยโลก (WHO) พบผู้ป่วยเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ในสัดส่วนที่สูงกว่าชนิดที่ 1 โดยกว่าร้อยละ 90 ของผู้ป่วยทั่วโลกเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ส่วนอีกสามชนิดที่เหลือพบได้น้อย⁽²⁾

ในขณะที่โรคปริทันต์อักเสบเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในคราบจุลินทรีย์ที่ยึดเกาะบริเวณผิวฟันบริเวณใกล้ขอบเหงือกและใต้เหงือก ก่อให้เกิดการอักเสบของอวัยวะปริทันต์ พบการทำลายอวัยวะรองรับฟัน ทั้งในส่วนของเหงือกจนถึงมีการทำลายของกระดูกรองรับฟัน ผู้ป่วยจะทุกข์ทรมานจากการอักเสบ เหงือกบวม เป็นหนอง พบฟันโยกซึ่งอาจเป็นเฉพาะที่หรือพบได้ทั่วช่องปาก หากไม่ได้รับการรักษาที่ถูกต้องและเหมาะสม ก็สามารถนำไปสู่การสูญเสียฟันในที่สุด^(3, 4)

กลไกการทำลายอวัยวะปริทันต์ในขณะที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบมีทั้งทางตรง (direct mechanism) และทางอ้อม (indirect mechanism) กลไกทางตรงเช่น การที่เชื้อแบคทีเรียปล่อย เอนไซม์ย่อยโปรตีนโดยตรง (proteolytic enzymes) การสร้างสารพิษเอ็นโดทอกซิน (endotoxin) ไลโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide) กลไกทางอ้อมเกิดในขณะที่มีการรุกรานของเชื้อแบคทีเรีย หรือสารพิษของเชื้อแบคทีเรีย มีการหลั่งสารสื่ออักเสบ (inflammatory mediators) ซึ่งเป็น กระบวนการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันปกติของร่างกายหรือ innate immune response ช่วยต้านการ รุกรานจากเชื้อแบคทีเรีย มักพบว่าขณะเป็นโรคปริทันต์อักเสบร่างกายจะมีการหลั่งสารเหล่านี้ออกมา มากกว่าปกติ เช่น ทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา (tumor necrosis factor- α) อินเตอร์ลิวคิน-1 (interleukin-1) อินเตอร์ลิวคิน-6 (interleukin-6) โดยส่วนใหญ่แล้วกลไกของสารอักเสบดังกล่าวมี บทบาททั้งในเรื่องการละลายของกระดูก (bone resorption) การทำลายเนื้อเยื่อยึดต่อ (connective tissue destruction) ตลอดจนกลไกของการเกิดอะพอพโทซิส⁽⁵⁾

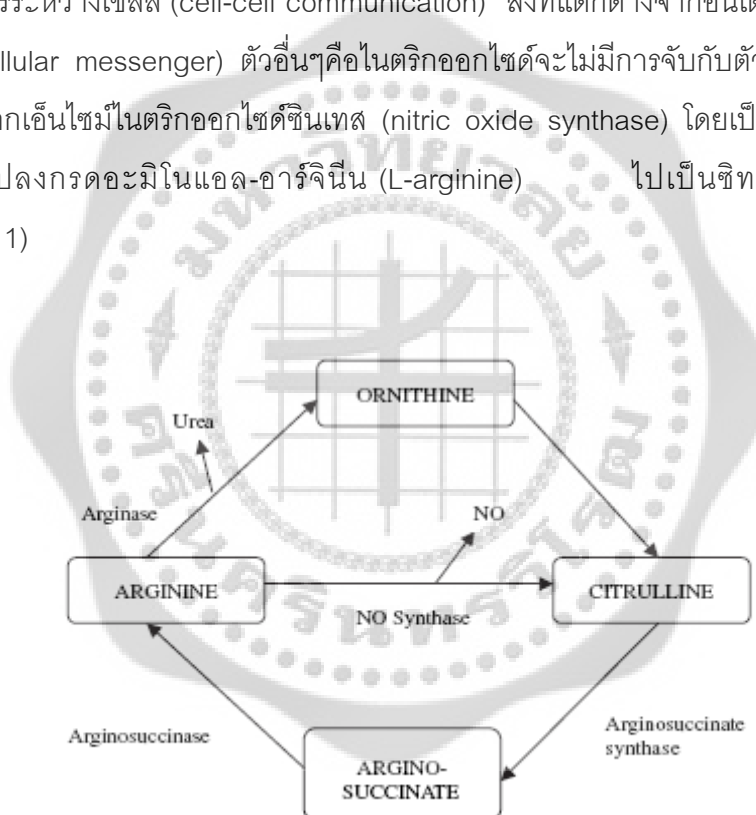
อินเตอร์ลิวคิน-1 เป็นสารสื่ออักเสบที่ออกฤทธิ์กว้างและเกี่ยวข้องกับการอักเสบโดยตรง โดย ปกติแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ อินเตอร์ลิวคิน-1 แอลฟา (IL-1 α) และอินเตอร์ลิวคิน-1 เบตา (IL-1 β) พบว่าทั้งสองชนิดออกฤทธิ์คล้ายกัน โดยพบตัวรับ (receptor) 2 ชนิด คือ อินเตอร์ลิวคิน-1อาร์1 (IL-1R1) และ อินเตอร์ลิวคิน-1อาร์2 (IL-1R2) พบว่าอินเตอร์ลิวคิน-1อาร์1 ควบคุมกลไกส่วนใหญ่ของ อินเตอร์ลิวคิน-1 ส่วนอินเตอร์ลิวคิน-1อาร์2 เป็นตัวรับชนิดลวง (decoy receptor) ยับยั้งการทำงานของ อินเตอร์ลิวคิน-1⁽⁵⁾ ในหลายการศึกษาพบว่าขณะเป็นโรคปริทันต์อักเสบจะมีระดับสารสื่ออักเสบ ชนิดดังกล่าวสูงขึ้น⁽⁶⁻¹¹⁾

ในขณะที่ทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาออกฤทธิ์กว้างและคล้ายกับอินเตอร์ลิวคิน-1 แต่ เด่นในกระบวนการอะพอพโทซิส (apoptosis) ของเมทริกซ์ ปรอดิวซิงเซลล์ (matrix producing cells) ทำให้เกิดการจำกัดการซ่อมสร้างของกระดูก ทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟามีตัวรับ 2 ชนิด คือ ตัวรับชนิดที่ 1 (TNFR1) และชนิดที่ 2 (TNFR2) ซึ่งมีผลทำให้การส่งสัญญาณต่างกัน พบว่าใน กระบวนการอักเสบมีการส่งสัญญาณผ่านตัวรับชนิดที่ 1 เป็นส่วนใหญ่

ทั้งอินเตอร์ลิวคิน-1 และทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา ต่างก็เป็นสารสื่ออักเสบที่ถูกสร้าง จากเซลล์หลายชนิด เช่น โมโนไซต์ (monocytes) มาโครฟาจ (macrophages) ไฟโบรบลาสต์ (fibroblasts) และเซลล์บุหลอดเลือด (endothelial cells) ทั้งสองสามารถกระตุ้นโมเลกุล (upregulate adhesion molecules) บนลิวโคไซต์ (leukocytes) และเซลล์บุหลอดเลือดทำให้เกิด การแทรกซึมการอักเสบ (inflammatory infiltration) กระตุ้นการหลั่งพรอสตาแกลนดินอี-2 (prostaglandin E-2), เอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรตีนเอส (Matrix metalloproteinases) อีกทั้งยังมีผล

ร่วมกัน (synergistic effect) ให้กระตุ้นการสร้างออสติโอคลาสต์ (osteoclast) ทำให้เกิดการสูญเสียกระดูกตามมา⁽⁵⁾

ส่วนไนตริกออกไซด์ (nitric oxide) เป็นสารอนุมูลอิสระไม่มีชีวิตที่มีช่วงอายุสั้น มีบทบาททั้งการป้องกันสิ่งแปลกปลอมและมีส่วนร่วมในการเกิดพยาธิสภาพของร่างกายโดยสัมพันธ์กับกระบวนการอักเสบ นับตั้งแต่ถูกค้นพบในช่วงปี 1980 จนถึงปัจจุบันทำให้ทราบว่าไนตริกออกไซด์เป็นโมเลกุลที่มีบทบาทด้านสรีรวิทยาทั้งในและนอกเซลล์ มีบทบาทในกระบวนการขยายตัวของหลอดเลือด (vasodilatation), การส่งกระแสประสาท (neurotransmission) การยับยั้งการเกาะตัวของเกร็ดเลือด เนื่องจากเป็นโมเลกุลไม่มีชีวิตทำให้สามารถผ่านเข้าออกเซลล์ได้อย่างอิสระจึงมีบทบาทในเรื่องการสื่อสารระหว่างเซลล์ (cell-cell communication) สิ่งที่แตกต่างกันจากอินเตอร์เซลล์ลูลาร์เมสเซนเจอร์ (intercellular messenger) ตัวอื่นๆคือไนตริกออกไซด์จะไม่มีการจับกับตัวรับใดๆ ไนตริกออกไซด์ถูกสร้างจากเอนไซม์ไนตริกออกไซด์ซินเทส (nitric oxide synthase) โดยเป็นผลิตภัณฑ์ขณะที่มีการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนแอล-อาร์จินีน (L-arginine) ไปเป็นซิทรูลีน (citrulline)⁽¹²⁾ (ภาพประกอบ 1)



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.

เอ็นไซม์ไนตริกออกไซด์ซินเทสแบ่งออกเป็น 3 ชนิดตามลักษณะยีน (gene) และตำแหน่งที่อยู่ ได้แก่ นิวโรนอลไนตริกออกไซด์ซินเทส (neuronal NOS) เอนโดทีเลียมไนตริกออกไซด์ซินเทส (endothelial NOS) และอินดิวซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส (inducible NOS) สองชนิดแรกการทำงานจะขึ้นกับระดับ แคลเซียมภายในเซลล์โดยควบคุมผ่านการจับกับแคลโมดูลิน (calmodulin) ในขณะที่ชนิดสุดท้ายเป็นอิสระต่อระดับแคลเซียมและพบว่าผลิตไนตริกออกไซด์มากที่สุด⁽¹³⁾ เราสามารถพบอินดิวซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส ได้ในเซลล์หลายชนิด เช่น มาโครฟาจ หรือพอลิมอร์ฟोनิวเคลียร์เซลล์ (polymorphonuclear cells) และแสดงออกอย่างมากเมื่อได้รับการกระตุ้นให้เกิดการอักเสบโดยลิโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide) ของแบคทีเรีย⁽¹⁴⁾ ปัจจัยอื่นๆ ที่กระตุ้นการหลั่งเอ็นไซม์ชนิดนี้ได้แก่สารสื่ออักเสบอย่างอินเตอร์เฟอรอน-แกมมา (Interferon- γ) ทุเมอรเนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา อินเตอร์ลิวคิน-1 อินเตอร์ลิวคิน-10 อินเตอร์ลิวคิน-12 แพลตเลตแอกติเวติงแฟกเตอร์ (platelet activating factor) และ นิวเคลียร์แฟกเตอร์-แคปปาบี (nuclear factor- κ B)^(13, 15) แม้ว่าไนตริกออกไซด์ จะเป็นสารที่มีช่วงอายุสั้นแต่เมื่อถูกผลิตออกมาสามารถทำให้พืชต่อเซลล์แปลกปลอม เช่น เซลล์ที่ติดเชื้อ แบคทีเรียหรือโปรโตซัว เป็นต้น⁽¹⁵⁾ นอกจากนี้ไนตริกออกไซด์ในระดับสูงจะทำให้เกิดกระบวนการที่เป็นพืชต่อเซลล์ร่างกาย เช่น กระบวนการไลปิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) ไนเตรชัน (nitration) ไนโตรเซชัน (nitrosation) เกิดการทำลายโปรตีนและดีเอ็นเอซึ่งอาจนำไปสู่การอะพอโทซิสหรือเนโครซิส (necrosis) ของเซลล์ อีกปฏิกิริยาที่สำคัญของไนตริกออกไซด์คือการทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของออกซิเจน ซูเปอร์ออกไซด์เรดิคัล (superoxide radical : O_2^{2-}) และโลหะ เช่น เหล็ก ทองแดงหรือสังกะสีซึ่งปกติจะเข้าจับกับโปรตีน ไนตริก ออกไซด์จะเข้ารวมกับเมทัลโลโปรตีน (metalloprotein) ดังกล่าวโดยการแย่งจับที่แอคทีฟไซต์ (active site) นอกจากนี้ไนตริกออกไซด์สามารถกระตุ้นการหลั่ง เอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรทีเนส รวมถึงไซโคลออกซิจีเนส (cyclooxygenases) และสารสื่ออักเสบต่างๆ^(12, 13, 16, 17) การเพิ่มขึ้นของระดับไนตริกออกไซด์ พบได้ในกระบวนการอักเสบของร่างกายในบริเวณต่างๆ^(18, 19) โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคระบบทางเดินหายใจ เช่น หอบหืด โรคมะเร็ง การต่อต้านของร่างกายเมื่อมีการปลูกถ่ายอวัยวะรวมทั้งโรคเบาหวาน ดังที่กล่าวมาจึงทำให้มีการศึกษาไนตริกออกไซด์หรืออินดิวซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทสกันอย่างกว้างขวางในระยะหลังๆ⁽¹²⁾

ไนตริกออกไซด์และสารอนุมูลอิสระตัวอื่นๆยังมีบทบาทในการกระตุ้นนิวโทรฟิลโปร-คอลลาจีเนส (neutrophil pro-collagenase) ซึ่งสามารถดัดการสร้างโปรตีโอไกลแคน (proteoglycan) และคอลลาเจนได้^(20, 21) โดยพบว่าอาจเป็นกลไกที่ทำให้ไนตริกออกไซด์ ควบคุมการสูญเสียคอลลาเจนในรอยโรคที่บริเวณเหงือก⁽²²⁾ การแสดงออกของอินดิวซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส จะยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ ไฟโบรบลาสต์และเหนี่ยวนำให้เกิดการอะพอโทซิส⁽²³⁾

จากการศึกษาพบว่า ไนตริกออกไซด์ มีบทบาทสำคัญต่อโรคเบาหวานทั้ง 2 ชนิด โดยพบว่า ขณะเป็นโรคเบาหวานร่างกายจะมีการผลิตไนตริกออกไซด์ออกมาเป็นจำนวนมาก โดยเข้ายับยั้งการทำงานของเบตาเซลล์ของตับอ่อนในการผลิตอินซูลินนำไปสู่ภาวะต้านต่ออินซูลิน⁽²⁴⁻²⁶⁾ และส่งผลให้เกิดภาวะแทรกซ้อนของระบบหลอดเลือดจากการทำงานที่ผิดปกติไปของระบบไหลเวียนโลหิต⁽²⁷⁾

เช่นเดียวกับขณะเป็นโรคปริทันต์อักเสบที่พบระดับอินดิคเตอร์ไนตริกออกไซด์ซินเทส มีค่าสูงขึ้น ไนตริกออกไซด์มีบทบาทในด้านพยาธิวิทยาในโรคดังกล่าวและเกี่ยวข้องกับกลไกในการสูญเสียกระดูกทั้งทางตรงและทางอ้อมคือผ่านการกระตุ้นสารสื่ออักเสบแล้วจึงเกิดการละลายของกระดูกตามมาแนวคิดดังกล่าวมีการตรวจสอบทั้งในสัตว์ทดลองและในมนุษย์ พบว่าเมื่อฉีดยาต้านอินดิคเตอร์ไนตริกออกไซด์ซินเทส ซึ่งเป็นสารประเภทเมอร์แคปโตอัลคิลกวานิดีนส์ (mercaptoalkylguanidines:MEGs) จะสามารถลดการอักเสบได้ โดยสรุปก็คือไนตริกออกไซด์หรืออินดิคเตอร์ไนตริกออกไซด์ซินเทส เป็นตัวชี้วัดสภาวะการอักเสบ (inflammatory marker) ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการอักเสบของทั้งโรคปริทันต์อักเสบและโรคเบาหวาน และเนื่องจากไนตริกออกไซด์เป็นสารที่มีช่วงชีวิตสั้นมากในช่วงไม่กี่วินาที การทดลองส่วนใหญ่จึงวัดระดับไนตริกออกไซด์ ผ่านการแสดงผลของอินดิคเตอร์ไนตริกออกไซด์ซินเทสแทน^(16, 28)

ปัจจุบันเราทราบว่าโรคปริทันต์อักเสบมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับสภาวะของโรคเบาหวาน โดยพบว่าผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานจะมีความชุกและความรุนแรงของทั้งโรคเหงือกอักเสบและโรคปริทันต์อักเสบที่มากกว่าคนปกติ และหากผู้ป่วยควบคุมระดับน้ำตาลไม่ได้จะเกิดการทำลายอวัยวะปริทันต์ที่รุนแรงขึ้น พบว่า การเปลี่ยนแปลงระบบภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยเบาหวานเป็นสาเหตุสำคัญทำให้การทำลายของอวัยวะปริทันต์รุนแรง การทำงานที่ผิดปกติของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย (immune cell) อันได้แก่ นิวโทรฟิล, โมโนไซต์และมาโครฟาจะสามารถพบได้ในผู้ป่วยเบาหวาน มักพบว่านิวโทรฟิลมีความบกพร่องในกระบวนการยึดเกาะ (adhesion) เคโมแทกซิส (chemotaxis) และฟาโกไซโตซิส (phagocytosis) ทำให้การทำลายเชื้อแบคทีเรียจากโรคปริทันต์อักเสบไม่ดีเท่าที่ควร ในขณะที่โมโนไซต์และมาโครฟาจะตอบสนองต่อการรุกรานของแบคทีเรียโดยการหลั่งสารอักเสบที่มากขึ้น ทำให้การทำลายอวัยวะปริทันต์รุนแรงขึ้น^(29, 30)

ในทางตรงกันข้ามกันมีหลายการศึกษาที่พบว่าโรคปริทันต์อักเสบลบส่งผลต่อภาวะต้านต่ออินซูลินในโรคเบาหวานให้ทวีความรุนแรงยิ่งขึ้น นั่นคือความสัมพันธ์ระหว่างโรคเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบเป็นแบบสองทาง

ความรุนแรงของโรคปริทันต์อักเสบในผู้ป่วยเบาหวานยังสัมพันธ์กับกระบวนการเมตาบอลิซึมของเนื้อเยื่อยึดต่อ (connective tissue metabolism) ด้วย โดยพบว่าผู้ป่วยเบาหวานจะมีความสามารถในการสร้างและซ่อมแซมกระดูกจะลดน้อยลง เนื่องจากเซลล์ไฟโบรบลาสต์และออสติ

โอบลาสต์จะเข้าสู่กระบวนการอะพอโทซิส มากขึ้น นอกจากนี้ในผู้ป่วยที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูง โปรตีนจะเปลี่ยนแปลงเป็นแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นดีโปรดักส์ (advanced glycation end products:AGEs) สะสมในรูป แอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นดีโปรดักส์โมดิฟายด์คอลลาเจน (AGE-modified collagen) ซึ่งส่งผลต่อคุณภาพของกระดูกของผู้ป่วย หลายการวิจัยมุ่งความสนใจในเรื่อง แอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นดีโปรดักส์และตัวรับ(Receptor advanced glycation end products:RAGEs) โดยพบว่าสัมพันธ์กับการหลั่งสารสื่ออักเสบซึ่งส่งผลทวีความรุนแรงของโรคปริทันต์ได้⁽³⁰⁾ และจากการ ทำการศึกษาเบื้องต้นในหนูเบาหวานที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารสเต็ปโตโซโตซิน (Streptozotocin:STZ) ของณรงค์ศักดิ์และคณะ⁽³¹⁾ พบว่าหนูเบาหวานมีระดับการทำลายกระดูกมากกว่ากลุ่มควบคุม และ เมื่อตรวจทางอิมมูโนฮิสโตเคมีพบว่าระดับ อินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส และ ทุเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา จะพบเฉพาะกลุ่มหนูที่เป็นเบาหวานและไม่พบการแสดงออกของสารสื่ออักเสบทั้งสองในกลุ่มควบคุม

ความมุ่งหมายของการวิจัย

เพื่อศึกษาว่าทุเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา อินเตอร์ลิวคิน-1เบตา และอินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส ซึ่งเป็นตัวชี้วัดสภาวะการอักเสบจะมีระดับการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีมากเพียงใดในสัตว์ทดลองที่เป็นเบาหวานที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบ เปรียบเทียบกับสัตว์ที่เป็นโรคเบาหวานเพียงอย่างเดียวและสัตว์ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบเพียงอย่างเดียว

ความสำคัญของงานวิจัย

ศึกษา อินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส ทุเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา และอินเตอร์ลิวคิน-1 เบตาว่า ตัวชี้วัดสภาวะการอักเสบเหล่านี้มีบทบาทหรือไม่อย่างไรในขณะที่เป็นโรคเบาหวาน ร่วมกับโรคปริทันต์อักเสบ

ขอบเขตของการวิจัย

เป็นการวิจัยที่กระทำในสัตว์ทดลองคือ หนูวิสตา (Wistar rats) มีข้อจำกัดคือเป็นการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะโรคปริทันต์อักเสบโดยการทดลอง (experimental periodontitis) ทำโดยผูกไหมที่บริเวณคอพั้งของหนู (silk-ligature) ซึ่งภาวะของโรคปริทันต์อักเสบดังกล่าวมักเป็นผลจากการระคายเคืองควบคู่กับกลไกการทำลายของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคและกลไกการต่อต้านแบคทีเรียของร่างกาย นอกจากนี้การเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานในการศึกษานี้โดยใช้นิโคตินามายด์

(nicotinamide) ร่วมกับสเตรปโตโซโตซิน เป็นแบบจำลองของโรคเบาหวานชนิดที่ 2 เท่านั้นจึงไม่สามารถเป็นตัวแทนของโรคเบาหวานทุกชนิดได้อย่างแท้จริง

นิยามศัพท์เฉพาะ

1. Periodontitis : โรคปริทันต์อักเสบ

โรคที่เกิดการอักเสบบริเวณเหงือกแล้วลุกลามทำลายอวัยวะปริทันต์อันได้แก่ เอ็นยึดปริทันต์ (periodontal ligament), เคลือบรากฟัน (cementum) และกระดูกเบ้าฟัน (alveolar bone)

2. Immunohistochemistry : อิมมูโนฮิสโตเคมี

เป็นกระบวนการศึกษาที่รวบรวมความรู้ทางด้านจุลกายวิภาคศาสตร์และวิทยาอิมมูโนเข้าด้วยกัน โดยมุ่งหาแอนติเจนที่จำเพาะ (specific antigen) ในเนื้อเยื่อที่ต้องการทราบโดยใช้หลักการจับกันระหว่างแอนติเจน-แอนติบอดี (antigen-antibody)

กรอบแนวคิดในการวิจัย

มีการศึกษาการแสดงออกของ อินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส ในเนื้อเยื่อเหงือกขณะเป็นโรคปริทันต์อักเสบทั้งในมนุษย์^(15, 28, 32, 33) และสัตว์ทดลอง⁽¹⁶⁾ โดยพบว่าการแสดงออกมากว่าปกติขณะเป็นโรคดังกล่าว เช่นเดียวกับขณะที่เป็นโรคเบาหวานพบว่า ไนตริกออกไซด์ มีบทบาทต่อโรคเบาหวานและสัมพันธ์กับภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวานต่างๆ^(27, 31, 34-36) แต่พบว่ายังไม่มีการศึกษาใดที่ระบุถึงบทบาทของ ไนตริกออกไซด์ หรือ อินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส ขณะเป็นโรคปริทันต์อักเสบร่วมกับโรคเบาหวานมาก่อน จึงเป็นที่มาของการศึกษานี้ที่ต้องการค้นหาบทบาทของ อินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส ร่วมกับสารสื่ออักเสบที่เป็นมาตรฐานอันได้แก่ อินเตอร์ลิวคิน-1เบตา และ ทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา ขณะเป็นภาวะร่วมกันของโรคทั้งสองเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เป็นเบาหวานเพียงอย่างเดียว

สมมติฐานของการวิจัย

ระดับการแสดงออกทางอิมมูโนฮิสโตเคมีของ อินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส, อินเตอร์ลิวคิน-1เบตาและทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา ในหนูเบาหวานที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคปริทันต์อักเสบมีระดับสูงกว่ากลุ่มหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้โรคเบาหวานเพียงอย่างเดียวและหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบเพียงอย่างเดียว

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) ^(1, 37, 38)

เบาหวานชนิดที่ 1 ในอดีตเรียกว่า insulin-dependent diabetes เกิดจากเบตาเซลล์ของตับอ่อนถูกทำลายทำให้ร่างกายไม่สามารถผลิตอินซูลินได้เลย โดยมักมักพบผู้ป่วยตั้งแต่อายุน้อย เมื่อร่างกายเกิดภาวะขาดอินซูลิน น้ำตาลไม่สามารถเข้าไปในเซลล์เพื่อให้พลังงานได้ จึงตกค้างในเลือดจนเกิดภาวะปริมาณน้ำตาลในเลือดสูง ส่วนเซลล์เมื่อไม่ได้รับน้ำตาลก็ต้องหาแหล่งพลังงานใหม่ มาทดแทน จึงหันไปย่อยสลายไขมันและโปรตีนเพื่อให้ได้พลังงาน กระบวนการสลายไขมันในระบบนี้จะทำให้เกิด สารคีโตน (ketone) ซึ่งมีฤทธิ์เป็นกรดและเป็นพิษต่อร่างกายออกมาด้วย

ปกติการย่อยสลายไขมันและโปรตีนเกิดอย่างช้าๆทำให้สารคีโตนในร่างกายอยู่ในปริมาณที่ควบคุมได้ แต่ในกรณีของผู้ป่วยเบาหวานชนิดนี้ อัตราการสลายไขมันจะเกิดขึ้นเร็วมาก ทำให้มีสารคีโตนค้างอยู่ในกระแสเลือด จึงเกิดภาวะการคั่งในเลือดของสารคีโตน (diabetes ketoacidosis)

อาการของภาวะกรดคั่งในเลือดจากสารคีโตนนั้น คือ หายใจหอบลึก เมื่อหายใจออกมาจะมีกลิ่นเหมือนผลไม้ ชีพจรเต้นเร็ว คลื่นไส้ อาเจียน ระดับความรู้สึกตัวจะค่อยๆ ลดลง ถ้าไม่ได้รับการอย่างทันท่วงทีจะช็อกหมดสติจากภาวะกรดคั่งในเลือดได้ อาการที่เกิดขึ้นนี้มักเป็นอย่างรุนแรงและเกิดขึ้นโดยกะทันหัน

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

นอกจากอายุแล้วกรรมพันธุ์เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเป็นเบาหวานชนิดนี้ โดยเฉพาะผู้ที่มีญาติสายตรงเป็นโรคเบาหวานและเมื่ออายุมากขึ้นโอกาสที่จะเป็นโรคเบาหวานก็ยิ่งสูงขึ้น

เบาหวานชนิดที่ 2 นี้ตัวยาล้วนจะสามารถสร้างอินซูลินได้ แต่ปริมาณที่ได้ก็ไม่เพียงพอต่อความต้องการหรืออีกกรณีหนึ่งอาจเกิดจากเซลล์ร่างกายเกิดภาวะต้านทานต่ออินซูลิน ภาวะเช่นนี้จึงไม่ได้ทำให้ร่างกายขาดอินซูลินโดยสิ้นเชิงเหมือนผู้ที่เป็นเบาหวานชนิดที่ 1 ดังนั้นผู้ที่เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 บางรายจึงอาจไม่มีอาการแสดงออกของโรคเลย หรืออาจจะมีอาการแบบค่อยเป็นค่อยไป จนถึงขั้นแสดงอาการรุนแรง หมดสติและเสียชีวิตได้

1.1 อาการ

ผู้ป่วยจะมีอาการปัสสาวะบ่อย กระหายน้ำ ตื่นน้ำบ่อย ออยากอาหารบ่อย อ่อนเพลีย ในบางรายอาจสังเกตได้ว่าปัสสาวะมีมากขึ้น

ในรายที่เป็นเบาหวานชนิดที่ 1 อาการต่าง ๆ มักเกิดขึ้นรวดเร็วร่วมกับน้ำหนักตัวลดลง กินเวลาเป็นเพียงสัปดาห์หรือเดือน ในเด็กอาจมีอาการปัสสาวะรดที่นอนตอนกลางคืน

ในรายที่เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 อาการมักค่อยเป็นค่อยไป น้ำหนักตัวอาจลดบ้างเล็กน้อย บางรายอาจมีน้ำหนักขึ้นหรือรูปร่างอ้วน ผู้หญิงบางคนอาจมาพบแพทย์ด้วยอาการคันตามช่องคลอดหรือตกขาว ในรายที่เป็นไม่มาก อาจไม่มีอาการผิดปกติอย่างชัดเจน และตรวจพบโดยบังเอิญจากการตรวจปัสสาวะหรือตรวจเลือดขณะที่ไปหาแพทย์ด้วยสาเหตุโรคอื่น บางครั้งอาจมีอาการคันตามตัว เป็นผื่นบวม หรือเป็นแผลเรื้อรังรักษาหายช้า

ผู้ป่วยที่เป็นมานานโดยไม่ได้รับการรักษา อาจมาพบแพทย์ด้วยภาวะแทรกซ้อนต่าง ๆ เช่น ชา หรือปวดแสบปวดร้อนตามปลายมือปลายเท้า 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 มีอาการชาหรือปวดร้อนตามปลายมือ ปลายเท้า ซึ่งอาจทำให้มีแผลเกิดขึ้นที่เท้าได้ง่าย อาจลุกลามจนเท้าเน่า (เนโครซิส) บางรายอาจมีอาการวิงเวียนเนื่องจากมีภาวะความดันต่ำในท่ายืน บางรายอาจไม่มีความรู้สึกทางเพศ หรือท้องเดิน ตอนกลางคืนบ่อย กระเพาะปัสสาวะไม่ทำงาน กลั้นปัสสาวะไม่อยู่ หรือไม่มีแรงเบ่งปัสสาวะ

3. ไต มักจะเสื่อม จนเกิดภาวะไตวาย มีอาการ บวม ชีด ความดันโลหิตสูง ซึ่งเป็นสาเหตุการเสียชีวิตของผู้ป่วยเบาหวานที่พบได้ค่อนข้างบ่อย

4. ผนังหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) ทำให้เป็นโรคความดันโลหิตสูง อัมพาต โรคหัวใจขาดเลือด ถ้าหลอดเลือดที่เท้าตีบแข็ง เลือดไปเลี้ยงเท้าไม่พออาจทำให้เท้าเย็นเป็นตะคริว หรือปวดขณะเดินมาก ๆ หรืออาจทำให้เป็นแผลหายยากหรือเท้าเน่า ซึ่งอาจเกิดร่วมกับการติดเชื้อ

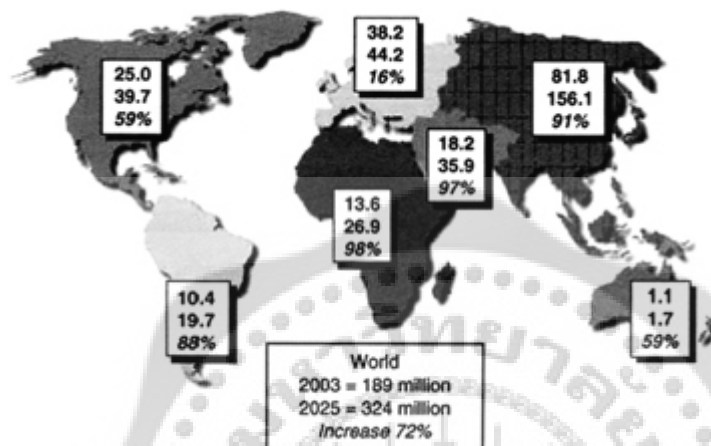
5. การเปลี่ยนแปลงในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ทำให้เป็นโรคติดเชื้อได้ง่าย เช่น วัณโรค ปอด กระเพาะปัสสาวะอักเสบ กรวยไตอักเสบ ช่องคลอดอักเสบ เป็นฝีพุพองบ่อย เท้าเป็นแผลซึ่งอาจลุกลามจนเท้าเน่า เป็นต้น

6. ภาวะคีโตซิส (Ketosis) พบเฉพาะในผู้ป่วยที่เป็นเบาหวานชนิดที่ 1 ที่ขาดการฉีดอินซูลิน นาน ๆ ร่างกายจะมีการคั่งของสารคีโตน ซึ่งเกิดจากการเผาผลาญไขมัน ผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้อาเจียน กระหายน้ำอย่างมาก หายใจหอบลึก และลมหายใจมีกลิ่นหอม มีไข้ กระวนกระวาย มีภาวะขาดน้ำรุนแรง อาจมีอาการปวดท้อง ท้องเดิน ผู้ป่วยจะซึมลงเรื่อย ๆ จนกระทั่งหมดสติ หากรักษาไม่ทันอาจทำให้เสียชีวิต

2. ระบาดวิทยาของโรคเบาหวาน

จากข้อมูลของสมาพันธ์โรคเบาหวานสากล (IDF) และองค์การอนามัยโลก ^(2, 39) พบว่าในทุกปีจะมีผู้ป่วยโรคเบาหวานเพิ่มขึ้นกว่า 7 ล้านคน จำนวนผู้ป่วยเบาหวานนี้พบว่าเพิ่มในทุกประเทศ โดยในประเทศกำลังพัฒนาจะมีจำนวนผู้ป่วยเพิ่มขึ้นมากที่สุด โรคเบาหวานได้คร่าชีวิตผู้ป่วยเกือบ 4 ล้านคนทุกปี ทั้งนี้เนื่องจากมีประชาชน 246 ล้านคนเป็นโรคเบาหวานในปัจจุบัน และคาดว่าภายใน 20 ปีข้างหน้าจะมีผู้ป่วยโรคเบาหวานกว่า 380 ล้านคนหากไม่มีการควบคุม จึงทำให้เชื่อว่าโรคเบาหวานจะเป็นโรคที่ทำลายภาวะเศรษฐกิจของประชาคมโลก โดยมีผู้เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 เพิ่มขึ้นมากที่สุด ซึ่งเกิดจากรูปแบบการใช้ชีวิตที่เร่งรีบและการเปลี่ยนแปลงอย่างมาก สิ่งนี้ทำให้เห็นว่ารูปแบบการใช้ชีวิตเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดโรค ผู้ที่เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 มีโอกาสเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจ (cardiovascular disease) ได้มากกว่าคนปกติถึง 2-4 เท่า และร้อยละ 80 ของคนที่เป็นโรคเบาหวานเสียชีวิตเพราะโรคนี้ ในขณะที่การเสียชีวิตก่อนวัยอันควรจากโรคเบาหวานเกิดขึ้นกับเด็กอายุ 12-14 ปี โดยเฉลี่ย ⁽³⁸⁻⁴⁰⁾ คนที่เป็นโรคเบาหวานต้องเสียค่าใช้จ่ายทางการแพทย์มากกว่าคนปกติ 2-5 เท่า โดย

องค์การอนามัยโลกประมาณการว่างบประมาณเพื่อสุขภาพกว่าร้อยละ 15 ถูกใช้ไปกับการเจ็บป่วยที่เกี่ยวข้องกับโรคเบาหวาน⁽²⁾



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

ข้อมูลจากกรมควบคุมโรคพบว่าในแต่ละพื้นที่ในโลกมีอัตราเพิ่มของอุบัติการณ์ของโรคเบาหวานเพิ่มขึ้น ซึ่งถ้ามีการเพิ่มขึ้นตามอัตราดังกล่าวจนถึงปี ค.ศ. 2025 จะพบผู้ป่วยโรคเบาหวานสูงถึง 324 ล้านคนทั่วโลก (ภาพประกอบ 2)

สำหรับในประเทศไทยจากข้อมูลของกระทรวงสาธารณสุขพบว่าปัจจุบันคนที่วัย 35 ปีขึ้นไปป่วยเป็นเบาหวานมากถึง 2.4 ล้านคน ผู้ป่วยโรคเบาหวานของไทยส่วนใหญ่เป็นชนิดที่ 2 ผู้ใหญ่อายุเกิน 35 ปี พบได้ประมาณร้อยละ 9.6 อายุเกิน 65 ปีขึ้นไปพบประมาณร้อยละ 17 และในเด็กอ้วนน้ำหนักเกินพบประมาณร้อยละ 22 ในขณะที่โรคเบาหวานชนิดที่ 1 พบได้น้อยไม่ถึงร้อยละ 1 ที่น่าวิตกคือผู้ที่เข้ารับการรักษากว่าครึ่งหนึ่งไม่ทราบมาก่อนว่าป่วยเป็นเบาหวาน⁽⁴¹⁾

3. ผลกระทบของโรคเบาหวานต่อโรคปริทันต์อักเสบ

ดังที่กล่าวไปแล้วในเบื้องต้นว่าโรคเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบมีความสัมพันธ์แบบสองทาง ในแง่มุมหนึ่งมีการจัดโรคปริทันต์อักเสบให้เป็นหนึ่งในภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน ในปี 1999 และ 2006 American Academy of Periodontology ได้ตีพิมพ์บทความเกี่ยวกับโรคเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบ^(29, 30) ในรายงานได้ระบุถึงสาเหตุหลักที่ทำให้ผู้ป่วยเบาหวานมีโอกาเสี่ยงในการเกิดโรคปริทันต์อักเสบมากขึ้นเนื่องจากความเปลี่ยนแปลงในการตอบสนองของภูมิคุ้มกันของร่างกายเป็นหลักอันได้แก่

โพลีเมอร์ฟนิวเคลียร์เซลล์ ในผู้ป่วยเบาหวานมีการทำงานที่ลดประสิทธิภาพลง โดยเฉพาะในกระบวนการเคมีแทกซิส การยึดติดของนิวโทรฟิลและการฟาโกไซโตซิส ความบกพร่องดังกล่าวทำให้ความสามารถในการกำจัดเชื้อในร่องลึกปริทันต์ลดลง เกิดการทำลายมากขึ้นโดยมีการพิสูจน์แนวคิดดังกล่าวในหลายการศึกษาในมนุษย์ ขณะที่การศึกษาในหนูยืนยันว่าขณะเป็นเบาหวานจะมีการทำงานที่บกพร่องไปของ โพลีเมอร์ฟนิวเคลียร์เซลล์ และเมื่อทำการฉีดอินซูลินพบว่าโพลีเมอร์ฟนิวเคลียร์เซลล์จะสามารถกลับมาทำงานเป็นปกติได้

โมโนไซต์/มาโครฟาจ มีการตอบสนองที่รุนแรงขึ้นต่อแบคทีเรียหรือสิ่งแปลกปลอม ส่งผลให้มีการหลั่งสารสื่ออักเสบออกมาเป็นจำนวนมาก Salvi และคณะ (1997) ทำการตรวจ โมโนไซต์ในกระแสน้ำไหลของผู้ป่วยเบาหวานพบว่าการตอบสนองต่อเชื้อไฟโรโมแนสจิงจิวัลลิส (*P.gingivalis*) โดยการแสดงออกของทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา ที่มากกว่ากลุ่มควบคุม⁽⁴²⁾ มีการศึกษาในสัตว์ทดลองโดย Naguib และคณะ (2004) พบว่าเมื่อถูกกระตุ้นโดยเชื้อไฟโรโมแนสจิงจิวัลลิสระดับของสารสื่ออักเสบจะมีการหลั่งออกมามากกว่าปกติ⁽⁴³⁾ นอกจากนี้ Salvi และคณะ (1997) ยังพบว่าระดับสารสื่ออักเสบในน้ำเหลืองเหงือก (gingival crevicular fluid:GCF) ของผู้ป่วยเบาหวานจะมีการตอบสนองในแบบเดียวกับในกระแสน้ำไหล⁽⁴⁴⁾ โดยพบว่าระดับสารสื่ออักเสบใน น้ำเหลืองเหงือกสัมพันธ์โดยตรงกับระดับน้ำตาลในเลือด HbA1c ของผู้ป่วยเบาหวาน⁽⁴⁵⁾

การเปลี่ยนแปลงความสามารถในการฟื้นฟูกระดูก พบว่าระดับน้ำตาลในเลือดที่สูงขึ้นส่งผลยับยั้งการสร้างคอลลาเจนและการแบ่งตัวของออสติโอเบลาสต์ทำให้การสร้างกระดูกลดลง มีการศึกษา Cbfa1 และ Dlx5 ซึ่งเป็นตัววัดระดับออสติโอเบลาสต์ ในหนูพบว่าจะมีระดับการแบ่งตัวที่ลดลงเมื่อระดับน้ำตาลในเลือดสูงและจะกลับสู่ระดับปกติเมื่อทำการฉีดอินซูลิน⁽⁴⁶⁾ นอกจากนี้โรคเบาหวานยังส่งผลทำให้ไฟโบร บลาสต์ และ ออสติโอเบลาสต์ เข้าสู่ภาวะอะพอโทซิส เร็วขึ้นเมื่อกระตุ้นด้วยไฟโรโมแนสจิงจิวัลลิส⁽⁴⁷⁻⁴⁹⁾

ระดับน้ำตาลในน้ำเหลืองเหงือก จากรายงานของ Ficara และคณะ (1975) พบว่าระดับน้ำตาลกลูโคสในน้ำเหลืองเหงือกมีค่าสูงขึ้นในผู้ป่วยเบาหวาน⁽⁵⁰⁾ โดยพบว่าระดับน้ำตาลดังกล่าว

ส่งผลต่อการหายของบาดแผลในร่องลึกปริทันต์โดยยับยั้งเซลล์ที่จำเป็นต่อการเกิดการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์⁽⁵¹⁾

การเปลี่ยนแปลงของระบบหลอดเลือด เป็นลักษณะเฉพาะตัวของอาการแทรกซ้อนขณะเป็นโรคเบาหวาน มักเกิดการเปลี่ยนแปลงในด้านโครงสร้างของหลอดเลือด การรบกวนการงอกใหม่ (regeneration) ของหลอดเลือดขนาดเล็ก ซึ่งส่งผลต่ออวัยวะต่างๆทั้งจอประสาทตา ปลายมือและเท้า รวมถึงอวัยวะปริทันต์^(52, 53)

เมตาบอลิซึมของคอลลาเจนและแอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรตีน จากการศึกษาพบว่าระดับน้ำตาลในเลือดมีผลต่อคอลลาเจน ทั้งในกระบวนการสังเคราะห์ (synthesis), แมทูเรชัน (maturation) และโฮมีโอสเตซิส (homeostasis) จากการศึกษาเซลล์ไฟโบรบลาสต์ในผิวหนังพบว่าระดับน้ำตาลในเลือดที่สูงจะทำให้เซลล์มีการเจริญเติบโตและแบ่งตัวลดลง ทำให้การสังเคราะห์คอลลาเจน และไกลโคซามิโนไกลแคน (glycosaminoglycan) ลดลง^(54, 55) การศึกษาเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากเหงือกของมนุษย์พบว่าผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานจะสังเคราะห์คอลลาเจน ได้น้อยกว่าคนปกติ⁽⁵⁶⁾ นอกจากกระบวนการสังเคราะห์ที่ลดลงแล้วยังพบว่าในผู้ป่วยเบาหวานจะมีระดับเอนไซม์คอลลาจีเนสในน้ำเหลืองเหงือกที่สูงขึ้น⁽⁵⁷⁾ ในหนูทดลองเจอร์มฟรี (Germ free) พบว่าเมื่อทำการฉีดสเตโรยโตไซโตซินเพื่อเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานจะมีระดับเอนไซม์ดังกล่าวสูงขึ้นเช่นกัน⁽⁵⁸⁾

ประการสำคัญคือในขณะที่เป็นโรคเบาหวาน คอลลาเจน จะเกิดกระบวนการไกลโคซิเลชัน (glycosylation) มากขึ้น เกิดการสะสมในรูปแอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรตีนซึ่งจัดเป็นไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ที่ส่งผลต่อปฏิกิริยาระหว่างเซลล์ต่อเซลล์และระหว่างเซลล์กับเมทริกซ์ พบว่าแอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรตีนมีส่วนสำคัญต่อภาวะแทรกซ้อนหลายชนิดในโรคเบาหวาน Schmidt และคณะ (1996) พบว่าผู้ป่วยเบาหวานมีการสะสมแอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรตีนในอวัยวะปริทันต์มากกว่าคนปกติ⁽⁵⁹⁾ แอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรตีน ที่เพิ่มปริมาณมากขึ้นจะเข้าเกาะที่ผนังหลอดเลือดและมีคุณสมบัติที่ยึดเกาะได้ดีกับไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ (low-density lipoprotein-LDL) ทำให้เกิดภาวะหลอดเลือดอุดตัน⁽⁶⁰⁾ แอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรตีน ที่เพิ่มขึ้นยังสัมพันธ์กับระดับวาสคิวลาร์ เอนโดทีเลียลโกรวท์ แฟกเตอร์ (vascular endothelial growth factor: VEGF) ซึ่งเป็นสารสื่ออักเสบที่มีบทบาทสำคัญต่อความผิดปกติของระบบหลอดเลือดขนาดเล็กในผู้ป่วยเบาหวาน^(61, 62) อีกทั้งแอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรตีน ยังเข้าสะสมใน คอลลาเจน ในกระดูกทำให้การเมตาบอลิซึมมีความผิดปกติทำให้การสร้างกระดูกลดลง⁽⁶³⁾ การสะสมแอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรตีนดังกล่าวจะสัมพันธ์กับระยะเวลาของการเป็นเบาหวานและการควบคุมระดับน้ำตาลของผู้ป่วย โดยหากผู้ป่วยสามารถควบคุมระดับน้ำตาลได้ดี ระดับ แอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรตีน จะลดลง^(64, 65)

โดยปกติ แอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรดักส์ เข้าจับกับตัวรับที่พบบนผิวเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ, เซลล์เยื่อเมือกหลอดเลือด, เซลล์ประสาท, โมโนไซต์และมาโครฟาจ มีการศึกษาในเนื้อเยื่อเนื้องอกของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 พบเอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA) ของตัวรับดังกล่าวมากกว่าในคนปกติ^(66, 67) การจับกันของทั้งคู่จะทำให้วาสคิวลาร์ เพอร์มิเอบิลิตี (vascular permeability) เพิ่มขึ้น, โมโนไซต์ปลดปล่อยสารสื่ออักเสบเช่น นิวเคลียร์แฟกเตอร์-แคปปี, อินเตอร์ลิวคิน-1เบตาและ ทุเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา ออกมามากทำให้การทำลายอวัยวะปริทันต์รุนแรงขึ้นโดยเฉพาะในผู้ป่วยเบาหวาน^(60, 67) และเมื่อทำการขัดขวางการทำงานของตัวรับแอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรดักส์ในสัตว์ทดลองพบว่าสามารถลดระดับ ทุเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา, อินเตอร์ลิวคิน-6 และ เอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรทีเนสในเนื้องอก ลดการสะสมแอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรดักส์ ในอวัยวะปริทันต์และพบการทำลายกระดูกลดลง⁽⁶⁸⁾

4. ผลกระทบของโรคปริทันต์อักเสบต่อโรคเบาหวาน

โรคปริทันต์อักเสบส่งผลกระทบต่อสถานะของโรคเบาหวาน โดยเพิ่มโอกาสของความบกพร่องในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด จากการศึกษาในระยะยาว (longitudinal study) เป็นเวลา 2 ปีพบว่าผู้ป่วยเบาหวานร่วมกับโรคปริทันต์อักเสบจะมีควบคุมระดับน้ำตาลได้แย่กว่าผู้ป่วยเบาหวานเพียงอย่างเดียว⁽⁶⁹⁾ ระดับความรุนแรงของโรคปริทันต์อักเสบสัมพันธ์กับความสามารถในการควบคุมภาวะของโรคเบาหวาน⁽⁷⁰⁾ โดย Saito และคณะ (2004) พบว่าในผู้ป่วยที่ปรากฏร่องลึกปริทันต์ความลึกมากจะสัมพันธ์กับการควบคุมระดับน้ำตาลที่แย่ลง⁽⁷¹⁾ การศึกษาของ Andersen (2006) ในหนูเบาหวานโกโตคาซากิชนิดที่ 2 (Goto-Kakizaki rat -GK rats) พบว่าในหนูเบาหวานที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบจะมีระดับน้ำตาลที่สูงกว่าประมาณร้อยละ 30 เมื่อเปรียบเทียบกับหนูที่เป็นเบาหวานเพียงอย่างเดียว⁽⁷²⁾

มีหลายการศึกษาที่ต้องการดูผลของการรักษาโรคปริทันต์อักเสบต่อการควบคุมระดับน้ำตาลในผู้ป่วยเบาหวาน เริ่มแรกในช่วงปี 1960 พบว่าผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 มีความจำเป็นได้รับอินซูลินลดลงภายหลังจากการรักษาโรคปริทันต์อักเสบโดยการเกลารากฟัน, การทำจิงจิเวคโตมีเฉพาะที่ (localized gingivectomy) และการให้ยาปฏิชีวนะ⁽⁷³⁾ การศึกษาในเรื่องดังกล่าวมักประกอบด้วยการรักษาโรคปริทันต์อักเสบทั้งการขูดหินปูน/เกลารากฟันเพียงอย่างเดียวหรือรวมกับการให้ยาปฏิชีวนะต่างๆ เช่น เตตราไซคลินซึ่งมีผลในการช่วยลดระดับคอลลาจีเนสที่มักเพิ่มขึ้นขณะเป็นเบาหวาน⁽⁷⁴⁾ รวมถึงดอกซีไซคลินเป็นต้น⁽⁷⁵⁻⁷⁷⁾ ในการศึกษาเหล่านี้พบว่าภายหลังการรักษาโรคปริทันต์อักเสบสามารถลดระดับ HbA1c ได้ประมาณร้อยละ 10 ในการทบทวนวรรณกรรมของ Taylor (2003)⁽⁷⁸⁾ พบว่าผลของการรักษาโรคปริทันต์อักเสบที่มีต่อการควบคุมระดับน้ำตาลมีผลที่หลากหลายขึ้นกับ

ปัจจัยต่างๆทั้งรูปแบบของการศึกษา, ชนิดของโรคเบาหวาน, สภาวะเริ่มแรกของทั้งโรคปริทันต์อักเสบ และโรคเบาหวาน เป็นต้น แม้ผลจะไม่เป็นไปในทิศทางเดียวกันในทุกการศึกษา แต่ส่วนใหญ่สามารถสรุปได้ว่าการรักษาและป้องกันโรคปริทันต์อักเสบมีส่วนช่วยในการรักษาระดับน้ำตาลในเลือด (ตาราง 1)



ตาราง 1 ตัวอย่างการศึกษาผลของการรักษาโรคปริทันต์อักเสบช่วยส่งเสริมการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด

ผลของการรักษาโรคปริทันต์อักเสบช่วยส่งเสริมการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด					
ผู้วิจัย/ปีที่ศึกษา	รูปแบบการศึกษา	ชนิดของเบาหวาน	สถานะของโรคปริทันต์อักเสบขณะเริ่มศึกษา	รูปแบบการรักษาโรคปริทันต์อักเสบ	ผลต่อ metabolic control
Grossi 1996,1997	RCT	ชนิดที่ 2	Advanced periodontitis	กลุ่มทดลองได้รับทั้ง systemic doxycycline และ ultrasonic bacteriocidal curettage	กลุ่มทดลอง มีระดับ HbA1c ลดลง ($P \leq 0.04$)
Iwamoto 2001	Treatment study, non-RCT	ชนิดที่ 2	Gingivitis, chronic periodontitis	Mechanical debridement และ local minocycline ใน periodontal pocket สัปดาห์ละครั้ง 4 สัปดาห์	HbA1c ลดลง โดย circulating ทุเมอริน ไครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ
Miller 1992	Treatment study, non-RCT	ชนิดที่ 1	Moderate to advanced periodontitis	ชุดหินปูน/เกลารากฟัน ร่วมกับ บ้วนน้ำยา Chlorhexidine และ systemic doxycycline	กลุ่มที่เหงือกอักเสบ ลดลงจะมี HbA1c และ glycated albumin ลดลง ($P \leq 0.01$)
Seppala 1993,1994	Treatment study, non-RCT	ชนิดที่ 1	Chronic periodontitis	ชุดหินปูน/เกลารากฟัน การทำ ศัลยกรรมปริทันต์และถอนฟัน	ทั้งผู้ป่วย PIDD และ CIDD มีระดับ HbA1c ลดลง ($P < 0.68$)
Stewart 2001	Treatment study, non-RCT	ชนิดที่ 2	Periodontitis	กลุ่มทดลองได้รับการชุดหินปูน/เกลารากฟัน, subgingival curettage, OHI	HbA1c ลดลงอย่างมีนัยสำคัญร้อยละ 17.1 โดยมีความแตกต่างในระหว่างกลุ่ม ($P = .02$)

RCT: Randomized clinical trial

PIDD: Poorly controlled insulin-dependent diabetes

CIDD: Controlled insulin-dependent diabetes

OHI: Oral hygiene instruction.

ดัดแปลงจาก Taylor GW. The effect of periodontal treatment on diabetes. J Am Dent Assoc. 2003 Oct;134:41-8.

5. ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายในผู้ป่วยโรคเบาหวาน

เป็นที่ทราบกันดีว่าโรคเบาหวานมักมีภาวะแทรกซ้อนเกิดขึ้นมากมายรวมถึงโรคปริทันต์อักเสบ ภาวะแทรกซ้อนดังกล่าวจะสัมพันธ์กับการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด โดยเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของระบบภูมิคุ้มกันของเซลล์ (cell mediated immune response) เช่น การยึดติดของนิวโทรฟิล, การเคโมแทกซิส, การฟาโกไซโตซิสและความสามารถในการกำจัดแบคทีเรีย ความบกพร่องของดังกล่าวจะนำไปสู่ภาวะการติดเชื้อและเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรคปริทันต์อักเสบ โดยพบว่า ซีดจำกัดของระดับกลูโคสในกระแสเลือดต่อการทำงานที่บกพร่องของเม็ดเลือดกรานูโลไซต์ (granulocyte) อยู่ในช่วง 198-270 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (mg/dl) ซึ่งภาวะดังกล่าวทั้งกรานูโลไซต์และ ทีเซลล์ (T-cell) จะกลับสู่สภาวะปกติได้เมื่อมีการฉีดอินซูลินเข้าสู่ร่างกาย⁽⁷⁹⁾

6. บทบาทของสารสื่ออักเสบในโรคเบาหวาน

ขณะเป็นโรคเบาหวานมักพบการหลั่งสารสื่ออักเสบออกมามากกว่าปกติ โดยมีการศึกษาถึงสารสื่ออักเสบชนิดต่างๆในอวัยวะที่แตกต่างกัน การศึกษาในมนุษย์พบว่าในเด็กที่ป่วยเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 1 มีระดับของ อินเตอร์ลิวคิน-1, อินเตอร์ลิวคิน-6 และ ทุเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา มากกว่ากลุ่มเด็กปกติ โดยเฉพาะในกรณีของเด็กที่เพิ่งตรวจพบเบาหวานจะมีระดับ อินเตอร์ลิวคิน-6 และ ทุเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา มากกว่าเด็กที่ป่วยมาเป็นเวลานาน⁽⁸⁰⁾ อีกการศึกษาหนึ่งในเด็กที่เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 1 จำนวน 27 ราย เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 25 รายพบว่า ในกลุ่มเบาหวานมีระดับของ อินเตอร์ลิวคิน-1เบตา และ ทุเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา สูงกว่ากลุ่มควบคุม⁽⁸¹⁾ ขณะที่ในโรคเบาหวานชนิดที่ 2 พบว่าระดับสารสื่ออักเสบหลายชนิดมีค่าสูงขึ้น เช่น ทุเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา ในกล้ามเนื้อลายของผู้ป่วย⁽⁸²⁾ ทุเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา และ ตัวรับชนิดอินเตอร์ลิวคิน-2 โซลูเบิล (IL-2 soluble receptor -sIL-2R)⁽⁸³⁾ ระดับของสารสื่ออักเสบสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดระดับความรุนแรงในการทำลาย เบตาเซลล์ ของตับอ่อนซึ่งส่งผลต่อภาวะของโรคเบาหวานชนิดนั้นๆได้⁽⁸⁴⁾ อีกทั้งพบว่าระดับสารสื่ออักเสบที่สูงขึ้นยังสัมพันธ์กับภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวานเช่น มีผลต่อจอประสาทตา⁽³⁴⁾ ระบบหลอดเลือดหัวใจ⁽⁸⁵⁾ เป็นต้น

7. กลไกของสารสื่ออักเสบในโรคปริทันต์อักเสบ

จากการศึกษาของ Stashenko และคณะ (1991) พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของระดับ อินเตอร์ลิวคิน-1 เบตาและทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา อย่างมีนัยสำคัญในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบที่มีการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ (periodontal attachment) ไปอย่างรวดเร็ว⁽¹⁰⁾ หรือในผู้ป่วยที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบรุนแรงจะมีระดับ อินเตอร์ลิวคิน-1 เบตาในน้ำเหลืองเหงือกที่สูงขึ้น^(6-9, 11) Hou และคณะ (1995) พบว่าเมื่อทำการรักษาโรคปริทันต์อักเสบจะมีระดับสารสื่ออักเสบดังกล่าวลดลง⁽⁷⁾ ในผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของอินเตอร์ลิวคิน-1 ในระดับยีน (genotype polymorphisms) จะมีความเสี่ยงต่อโรคปริทันต์อักเสบมากกว่าคนปกติ^(86, 87) และเมื่อมีการขัดขวางตัวรับต่ออินเตอร์ลิวคิน-1 และทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา พบว่าสามารถลดระดับการสูญเสียกระดูกและการสร้างออสติโอคลาสต์ได้ถึงร้อยละ 60 และ 67 ตามลำดับ⁽⁸⁸⁾

ขณะที่มีการทดลองใช้ยาต้านต่อตัวรับของอินเตอร์ลิวคิน-1 (IL-1 receptor antagonist-IL-1Ra) และยาต้านต่อทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์ (TNF antagonist) พบว่าสามารถยับยั้งกระบวนการส่งสัญญาณ (signal transduction) ส่งผลให้การทำลายอวัยวะปริทันต์ลดลง และพบว่าเมื่อมีการยับยั้งยาต้านต่อตัวรับของอินเตอร์ลิวคิน-1 และยาต้านต่อทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์จะทำให้เกิดกระบวนการอักเสบรุนแรงขึ้น เกิดการรวมกลุ่มกันของออสติโอคลาสต์ ทำให้เกิดการทำลายการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์และกระดูกมากขึ้น^(89, 90)

8. บทบาทของไนตริกออกไซด์ในโรคเบาหวาน

จากการศึกษาพบว่า ไนตริกออกไซด์ มีบทบาทสำคัญต่อโรคเบาหวานทั้ง 2 ชนิดโดยทีเซลล์และ มาโครฟาจมีการหลั่งอินเตอร์ลิวคิน-1 ออกมาโดยอินเตอร์ลิวคิน-1 ร่วมกับไนตริกออกไซด์จะเข้ายับยั้งการทำงานของเบตาเซลล์ของตับอ่อน และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่อยู่บริเวณไมโทคอนเดรีย (mitochondria) ของเบตาเซลล์ กระตุ้นการหลั่งไซโคลออกซีจีเนสและคอกซ์-2 (COX-2) เกิดการหลั่งสารสื่ออักเสบเช่นพรอสตาแกลนดิน (prostaglandin) และ thromboxane ตามมา ทั้งพรอสตาแกลนดินและไนตริกออกไซด์จะส่งผลทำให้เกิดกระบวนการอักเสบและการทำลายเบตาเซลล์ที่ยาวนานขึ้น⁽⁹¹⁾ นอกจากนี้ยังส่งผลให้เกิดภาวะกดไนโตรเซทีฟ (nitrosative stress) และเกิดภาวะต้านต่ออินซูลิน⁽²⁶⁾ มีการศึกษาพบว่าในสัตว์ทดลองที่เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 1 จะมีการผลิตไนตริกออกไซด์ ออกมาเป็นจำนวนมาก โดยเกิดจากการที่เซลล์ที่ทำหน้าที่ผลิตอินซูลินในตับอ่อน (insulin-producing cell) มีการเผยแผ่ (exposed) ต่อสารสื่ออักเสบโดยเฉพาะอินเตอร์ลิวคิน-1 ทำให้เกิดการกระตุ้นการแสดงออกของอินดิวิชเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทสเอ็มอาร์เอ็นเอเกิดผลิตภัณฑ์คือไนตริกออกไซด์ซึ่งจะทำอันตรายต่อเบตาเซลล์ ของตับอ่อนเป็นผลทำให้สภาวะ

เบาหวานแย่ง (25) สารสื่ออักเสบชนิดอื่นๆ เช่น อินเตอร์เฟอรอน-แกมมาและทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟายังมีส่วนช่วยกระตุ้นอินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทสในเซลล์ตับอ่อน (24, 92) ทำให้เกิดภาวะต้านต่ออินซูลินในที่สุด

การศึกษาในโรคเบาหวานชนิดที่ 2 พบว่าผู้ป่วยเบาหวานจะมีระดับเมตาบอไลต์ของไนตริกออกไซด์ (nitric oxide metabolite :NO(x)) และทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา ที่สูงกว่าคนปกติ (83) ขณะที่ Torres และคณะ (2004) พบว่าทั้งระดับทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาและอินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส ในกล้ามเนื้อลายของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 มีค่าสูงกว่าในกลุ่มควบคุม (82) ไนตริกออกไซด์ ที่เพิ่มสูงขึ้นมีบทบาทร่วมกับสารสื่ออักเสบอื่นๆ ในการเกิดภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน เช่น ความผิดปกติของเรตินา (retinopathy) (34), การทำงานที่ผิดปกติของเยื่อหลอดเลือด (endothelial dysfunction) (27), การอักเสบของหลอดเลือด (35) เป็นต้น มีการศึกษายาไทโซลิไดเนดีโอนส์ (thiazolidinediones) โดยใช้รักษาโรคเบาหวานและภาวะแทรกซ้อนโดยพบว่าสามารถต่อต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งการเกิดภาวะออกซิเดทีฟ (oxidative stress) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพาทเวย์ (pathway) ของอินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส และนิวเคลียร์แฟกเตอร์-แคปปาบีและกระบวนการของอินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลง (36)

9. บทบาทของไนตริกออกไซด์ในโรคปริทันต์อักเสบ

ไนตริกออกไซด์มีบทบาทสำคัญต่อพยาธิกำเนิดในโรคปริทันต์อักเสบ โดยพบว่ามีบทบาททั้งในการปกป้อง (protective) และการทำลายเนื้อเยื่อ (destructive) บทบาทในการปกป้องเช่น การกำจัดเชื้อแบคทีเรียและการรักษาสมดุลย์ของออกซิเจนเรดิคัล (neutralizing O_2^-) (12) มีการศึกษาโดย Lohinai และคณะ (1998) พบว่าแบคทีเรียในช่องปากเป็นตัวกระตุ้นการแสดงออกของ อินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส ในเนื้อเยื่อปริทันต์ (16) อีกทั้ง Gyurko และคณะ (2003) ยังพบว่าหนูที่ขาดอินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส จะมีความบกพร่องในการกำจัดเชื้อพอไฟโรไมแนสจึงฉวยโอกาส (93) อินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส ยังมีบทบาทสำคัญในเนื้อเยื่อของโรคปริทันต์อักเสบ ในหลายการศึกษาพบว่าระดับอินดิวิเบิลไนตริก ออกไซด์ซินเทสเพิ่มสูงขึ้นโดยสามารถพบได้ทั้งในเซลล์มาโครฟาจ (32), โพลีมอร์โฟนิวเคลียร์เซลล์, ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) และไฟโบรบลาสต์ โดยการกระตุ้นของสารสื่ออักเสบหรือลิโปโพลีแซคคาไรด์จากแบคทีเรีย (12) จากการศึกษาในหนูทดลองพบว่าเชื้อก่อโรคปริทันต์อักเสบสามารถกระตุ้นการผลิตไนตริก ออกไซด์ในมาโครฟาจ ได้ (94-96)

จากหลายๆการศึกษาในมนุษย์โดยเฉพาะเนื้อเยื่อเหงือกของผู้ป่วยที่มีเหงือกอักเสบ Matejka และคณะ (1998) พบว่ามีระดับอาร์จินีนและซิทรูลินซึ่งเป็นสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ในปฏิกิริยาการผลิตไนตริกออกไซด์ มากกว่าในกลุ่มควบคุม (97) ต่อมา Lappin และคณะ (2000) ได้ศึกษาเนื้อเยื่อ

เหงือกของผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบ 16 รายพบว่า อินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส จะมีการแสดงออกมากกว่าในเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เหงือกปกติ⁽²⁸⁾ ขณะที่ Hirose และคณะ (2001) ศึกษาถึงเอ็มอาร์เอ็นเอของ อินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส และ อินเตอร์ลิวคิน-6 พบระดับแสดงออกมากกว่าในเนื้อเยื่อกลุ่มโรคปริทันต์อักเสบ⁽³³⁾ และเมื่อดูระดับการแสดงออกของ อินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส ที่ความรุนแรงของเหงือกอักเสบต่างกัน Batista และคณะ (2002) พบว่าในกลุ่มโรคปริทันต์อักเสบและเหงือกอักเสบมีการแสดงออกของ อินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส มากกว่ากลุ่มเหงือกปกติ⁽¹⁵⁾ และเมื่อทำการรักษาโรคปริทันต์อักเสบโดยการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟันพบว่าระดับการแสดงออกของ อินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส มีค่าลดลงลง⁽⁹⁸⁾

ในขณะที่มีการศึกษาในสัตว์ทดลองเพื่อตรวจสอบแนวคิดดังกล่าวข้างต้น โดย Lohinai และคณะ (1998) ศึกษาเนื้อเยื่อเหงือกของหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบพบว่ามีการแสดงออกอย่างมากของ อินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส และเมื่อมีการฉีดสารต่อต้านอินดิวิซิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส (iNOS inhibitor) ชนิดเมอร์แคปโตอัลคิลกวานิดีนส์ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg) เข้าทางหน้าท้องหนู (intraperitoneal) วันละ 3 ครั้งเป็นเวลา 8 วันพบว่าสามารถลดการทำลายกระดูกในบริเวณที่ทำการผูกไหมได้อย่างมีนัยสำคัญ⁽¹⁶⁾ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Leitao และคณะ (2005) ที่พบว่าสารต่อต้านไนตริกออกไซด์ซินเทส ชนิดแอล-อาร์จินีนเมทิลเอสเตอร์ (L-arginine methyl ester:L-NAME) สามารถลดการทำลายกระดูกในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบได้อย่างมีนัยสำคัญ⁽⁹⁹⁾

10. บทบาทของสารสื่ออักเสบและไนตริกออกไซด์ในโรคปริทันต์อักเสบที่สัมพันธ์กับโรคเบาหวาน

ในขณะที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบร่วมกับโรคเบาหวานมักพบระดับสารสื่ออักเสบที่สูงขึ้นทั้งการศึกษาในมนุษย์และสัตว์ทดลอง Zhang และคณะ (2003) ทดลองวัดระดับทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา ในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 1 วัดระดับทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาโดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีที่เวลา 12 สัปดาห์พบว่าหนูในกลุ่มเบาหวานมีระดับสารสื่ออักเสบดังกล่าวสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับหนูที่ไม่เป็นโรคเบาหวานโดยทั้งสองกลุ่มต่างได้รับการเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบ⁽¹⁰⁰⁾ Gomes และคณะ (2006) ศึกษาในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบร่วมกับโรคเบาหวานชนิดที่ 2 พบระดับเอ็มอาร์เอ็นเอของอินเตอร์เฟอรอน-แกมมาในกลุ่มที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบรุนแรง (severe periodontitis) มากกว่ากลุ่มที่เป็นโรคในระดับปานกลาง (moderate periodontitis)⁽¹⁰¹⁾ ขณะที่ Engbretson และคณะ (2007) พบว่าระดับความรุนแรงของโรคปริทันต์อักเสบในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบร่วมกับโรคเบาหวานชนิดที่ 2 มีความสัมพันธ์กับระดับทูเมอร์เนโคร

ซิสแฟกเตอร์-แอลฟาในเลือด⁽¹⁰²⁾ นอกจากนี้ยังพบระดับอินเทอร์ลิวคิน- 1 เบตาสูงขึ้นในเนื้อเยื่อไขมันอะดิโพส (adipose tissue) ของหนูเบาหวานที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม⁽⁷²⁾

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าการศึกษาระดับไนตริกออกไซด์ในขณะเป็นโรคปริทันต์อักเสบร่วมกับโรคเบาหวานยังไม่เป็นที่แพร่หลายนัก โดยพบเพียงการศึกษาทางอิมมูโนฮิสโตเคมีของ Skaleric และคณะ (2006) ในชิ้นเนื้อเยื่อของผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบร่วมกับโรคเบาหวานชนิดที่ 1 เปรียบเทียบกับกลุ่มที่เป็นโรคเบาหวานเพียงอย่างเดียวโดยพบการแสดงออกของอินดิคเตอร์ไนตริกออกไซด์ซินเทส เฉพาะในกลุ่มทดลองเท่านั้นและพบว่ายกระดับ ไนตริกออกไซด์ สูงขึ้นเท่าใดจะสัมพันธ์กับจำนวนเชื้อพรีโวลเทลลาอินเตอร์มีเดีย (*P. intermedia*) ที่ลดลง⁽¹⁰³⁾

ในการทดลองของณรงค์ศักดิ์และคณะ⁽³¹⁾ เปรียบเทียบการแสดงออกของอินดิคเตอร์ไนตริกออกไซด์ซินเทสและทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาพบการแสดงออกของสารสื่ออักเสบทั้งสอง เฉพาะในชิ้นเนื้อเยื่อของหนูเบาหวานเท่านั้นแม้ว่าจะไม่มีการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคปริทันต์อักเสบเลยก็ตาม ในศึกษานี้จึงมุ่งศึกษากลไกการทำลายอวัยวะปริทันต์ของสารสื่ออักเสบดังกล่าวในหนูเบาหวาน โดยทำการที่เหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมแล้วตรวจวัดระดับการแสดงออกของตัวชี้วัดสภาวะการอักเสบได้แก่ ทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา อินเทอร์ลิวคิน-1เบตา และอินดิคเตอร์ไนตริกออกไซด์ซินเทส โดยติดตามระดับสารสื่ออักเสบดังกล่าวตามระยะเวลา

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้

1. การกำหนดประชากรและการสุ่มตัวอย่าง
2. การสร้างเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย
3. การเก็บรวบรวมข้อมูล
4. การจัดกระทำข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูล

การกำหนดประชากรและการสุ่มตัวอย่าง

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (experimental study) ใช้หนูวิสตาร์ (wistar rat) น้ำหนักประมาณ 230-260 กรัม จำนวนทั้งหมด 30 ตัว เลี้ยงในห้องสัตว์ทดลอง โดยให้อาหารและน้ำอย่างพอเพียง โครงการวิจัยทั้งหมดผ่านความเห็นชอบจากกรรมการตรวจสอบจริยธรรมงานวิจัยในสัตว์ทดลองของคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

การสร้างเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

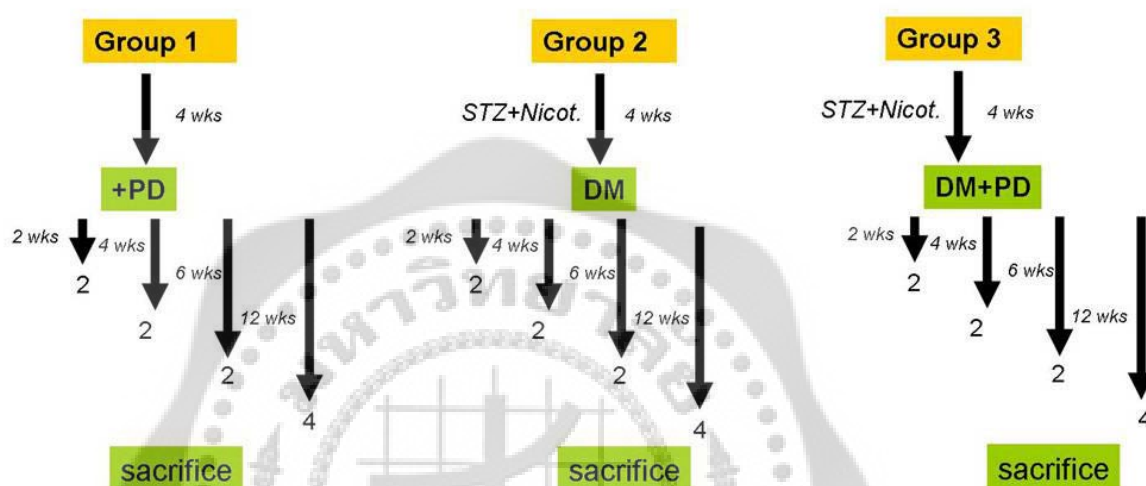
การทำให้สัตว์ทดลองมีสภาวะเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบเป็นไปตามแผนผังดังภาพประกอบ 3 โดยแบ่งหนูออกเป็น 3 กลุ่มๆละ 10 ดังนี้

กลุ่มที่ 1 หนูจำนวน 10 ตัว ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบ (PD) ทำการวางยาสลบหนูโดยการฉีดคีตาเมีน (ketamine 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเข้าบริเวณหน้าท้องหนู (intraperitoneal injection) แล้วทำการผูกไหมรอบคอพันของฟันกรามบนซี่ที่ 1 ทั้งสองข้าง ทำการการุณยฆาตด้วยวิธีดึงคอ (cervical dislocation) ภายใตยาสลบอีเทอร์ (ether) ที่เวลา 2 สัปดาห์ 2 ตัว ที่ 4 สัปดาห์ 2 ตัว ที่ 6 สัปดาห์ 2 ตัว และที่ 12 สัปดาห์ 4 ตัวตามลำดับ

กลุ่มที่ 2 หนูจะถูกทำให้เกิดสภาวะเบาหวาน (DM) จำนวน 10 ตัวโดยใช้สารนิโคตินา มายด์ 230 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามวิธีของ Masiello และคณะ (1998) ⁽¹⁰⁴⁾ ฉีดเข้าทางหน้าท้องหนู หลังจากนั้น 15 นาทีทำการฉีดสเตร็ปโตโซโทซินความเข้มข้น 65 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมฉีดเข้าหลอดเลือดดำที่หางหนู (intravenous injection) เลี้ยงไว้ประมาณ 4 สัปดาห์ หนูจะแสดงลักษณะที่บ่งบอกถึงสภาวะเบาหวาน โดยมีเกณฑ์ดังนี้ กินน้ำมาก ปัสสาวะบ่อย ตาเป็นต้อกระจก ระดับน้ำตาลในเลือดสูง เมื่อเปรียบเทียบระดับน้ำตาลกับในกลุ่มที่ 1

กลุ่มที่ 3 คือ หนูที่ถูกทำให้เกิดสภาวะเบาหวานและถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบร่วมด้วย (DMPD) 10 ตัว ซึ่งเมื่อมีลักษณะของสภาวะเบาหวานหรือ 4 สัปดาห์ภายหลังฉีดสาร สเตริปโตไซโตซินและนิโคตินาไมด์แล้ว ให้ทำการฆ่าที่ระยะเวลา 2, 4, 6 และ 12 สัปดาห์ตามลำดับ

ในหนูทุกกลุ่มจะมีการตรวจระดับน้ำตาลในเลือด (Fasting blood sugar-FBS) เป็นประจำทุกสัปดาห์



ภาพประกอบ 3 แผนผังแสดงกรอบการทำงานในกลุ่มทดลองทั้งหมด

การเก็บรวบรวมข้อมูล

การเก็บชิ้นเนื้อ

ในหนูทั้ง 3 กลุ่มชิ้นเนื้อที่นำมาศึกษาจะแบ่งเป็นสองส่วน ประกอบด้วย

1. ส่วนของอวัยวะรองรับฟัน
2. เนื้อเยื่อเหงือกหนูกจากด้านแก้ม (buccal mucosa)

เมื่อทำการฆ่าตามระยะเวลาที่กำหนด นำซากกรไกหนูที่ผ่านการแช่ในฟอร์มาลิน (formalin) มาตัดชิ้นเนื้อเยื่อเหงือกจากด้านแก้มของบริเวณฟันกรามบนซี่ที่ 1 ฝังลงในพาราฟิน (paraffin blocks) ส่วนของซากกรไกส่วนที่เหลือซึ่งเป็นฟันและอวัยวะรองรับฟันนำมาย่อยแคลเซียม (decalcified) ด้วยสารละลายกรดไนตริก (nitric) จนกระทั่งสามารถตัดส่วนของกระดูกได้ขาด ตัดแต่งชิ้นเนื้อให้ครอบคลุมบริเวณฟันกรามซี่ที่ 1 และ 2 นำชิ้นเนื้อดังกล่าวฝังลงในพาราฟิน

การเตรียมชิ้นเนื้อเพื่อศึกษาการทำลายเนื้อเยื่อปริทันต์ในหนู

1. ตัดเนื้อเยื่อส่วนของอวัยวะรองรับฟันในพาราฟินด้วยเครื่องไมโครทอม (microtome) ให้ได้บริเวณพื้นที่ติดกับกระดูกรองรับฟัน ด้วยความหนา 5 ไมครอน และวางบนแผ่นสไลด์แก้วที่ได้รับการฉาบด้วยอัลบูมิน

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

ขั้นตอนการย้อมสีอีมาที่ออกซิไลน์โอซิน (H&E)

1. กำจัดพาราฟินโดยการแช่ในไซลีน โดยเปลี่ยนไซลีนใหม่ทุกๆ 5 นาที 3 ครั้ง เพิ่มปริมาณน้ำในชิ้นเนื้อ (rehydrate) โดยแช่ในแอลกอฮอล์สัมบูรณ์ (absolute alcohol) 5 นาที แอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 95 และแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 80 อย่างละ 3 นาที

2. ล้างน้ำเปล่า (tap water) เป็นเวลา 5 นาที

3. ย้อมสีอีมาที่ออกซิไลน์ของเมเยอร์ (Mayer's hematoxylin) 3 นาที

4. ล้างน้ำเปล่าเป็นเวลา 5 นาที

5. แช่ในแอซิดแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 1 (acid alcohol) เป็นเวลา 30 วินาที

6. ล้างน้ำเปล่าเป็นเวลา 1 นาที

7. ย้อมทับในอีโอซิน 30 วินาที

8. ดึงน้ำออกจากชิ้นเนื้อ (dehydrate) โดยผ่านแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 95, และแอลกอฮอล์สัมบูรณ์

9. ทำความสะอาดโดยแช่สไลด์ในไซลีนและทำการปิดด้วยแผ่นแก้ว (cover slip)

การเตรียมชิ้นเนื้อเพื่อศึกษาการแสดงออกของสารสื่ออักเสบ

1. ตัดเนื้อเยื่อให้ได้ความหนา 5 ไมครอน และวางบนแผ่นสไลด์แก้วที่ได้รับการฉาบด้วยอัลบูมิน (albumin) เตรียมย้อมสีอีมาที่ออกซิไลน์โอซินเพื่อช่วยในการเลือกบริเวณที่สนใจ (hot spot) 2 ตำแหน่ง โดยเลือกบริเวณที่มีเซลล์อักเสบมากที่สุด โดยมีการปรับมาตรฐาน (calibration) กันระหว่างผู้วิจัยกับทันตพยาธิแพทย์

2. เมื่อเลือกบริเวณที่ต้องการดูในสไลด์ได้แล้วจะทำการตัดชิ้นเนื้อในพาราฟินอีกครั้ง และวางบนสไลด์แก้วที่ฉาบด้วยโพลีเอทิลีนไกลคอล (polyethylene glycol) เพื่อทำการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมีเพื่อการศึกษาการแสดงออกของสารสื่ออักเสบทั้งสาม

ขั้นตอนการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมี

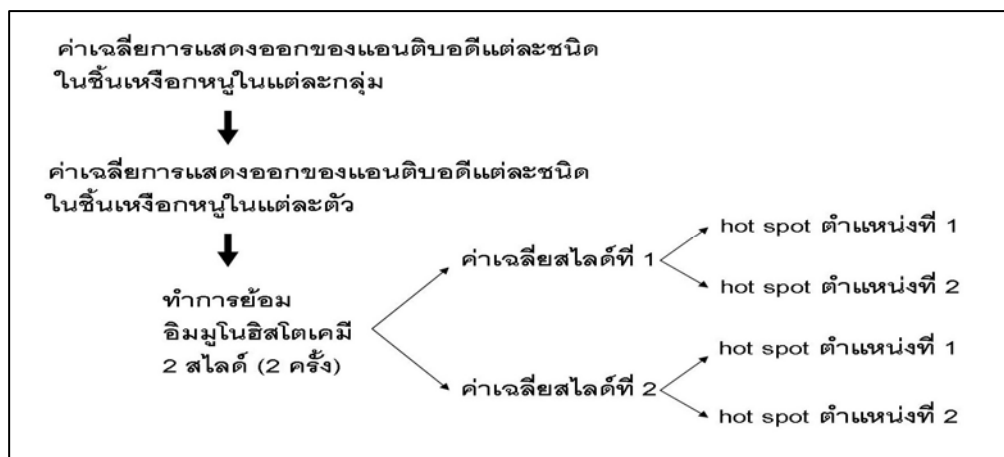
1. อบสไลด์ที่ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กำจัดพาราฟิน (deparaffinised) ด้วยการแช่ในไซลีนและเพิ่มปริมาณน้ำในชั้นเนื้อด้วยแอลกอฮอล์และน้ำกลั่น
2. ทำการเผยแพร่ตำแหน่งการจดจำที่จำเพาะของแอนติบอดีต่อแอนติเจน (antigen retrieval) ใน 10mM TE buffer pH 9.0 ด้วยเตาไมโครเวฟที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส ที่กำลัง 700 วัตต์ เป็นเวลา 10 นาที ปล่อยให้เย็นลง ก่อนจะล้างน้ำเปล่าและแช่ใน TBS (tris buffer saline pH 7.3)
3. ทำการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เอนโดจีนัสเพอร์ออกซิเดสภายในเซลล์ (block endogenous peroxidase) โดยการแช่สไลด์ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) ความเข้มข้นร้อยละ 2 ในเมทานอล (methanol) เป็นเวลา 10 นาที
4. ล้างในน้ำเปล่า 5 นาทีแล้วล้างต่อด้วย TBS
5. ใส่แอนติบอดีปฐมภูมิ (primary antibodies) ดังตาราง 2 (ความเข้มข้นแอนติบอดีร้อยละ 5 ใน TBS ที่มีโบวายนซีรั่มอัลบูมิน (Bovine serum albumin ร้อยละ 1 ผสมอยู่) ทั้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสตลอดคืน
6. ใส่แอนติบอดีทุติยภูมิที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส (peroxidase conjugated secondary antibody) ดังตาราง 2 (ความเข้มข้นแอนติบอดีร้อยละ 5 ใน TBS ที่มีโบวายนซีรั่มอัลบูมิน (Bovine serum albumin) ร้อยละ 1 ผสมอยู่) เป็นเวลา 60 นาที
7. ใส่ตัวทำปฏิกิริยา (substrate) คือ DAB เป็นเวลา 10 นาที
8. ย้อมทับด้วยฮีมาทอกซาลีน (จุ่มอย่างรวดเร็ว)
9. ดึงน้ำออกจากชิ้นเนื้อด้วยแอลกอฮอล์และไซลีน ก่อนจะปิดทับด้วยแผ่นแก้ว

ตาราง 2 แอนติบอดีที่ใช้ในการค้นหา specific marker ทั้งสาม

Specific marker	Primary antibody	Secondary antibody
IL-1 β	Clone sc-7884 Rabbit anti Human polyclonal Ab (Santa Cruz biotechnology)	Clone P-0448 Goat anti Rabbit polyclonal Ab (DAKO, Glostrup, Denmark)
TNF- α	Clone sc-1351 Goat anti Mouse polyclonal Ab (Santa Cruz biotechnology)	Clone P-0449 Rabbit anti Goat polyclonal Ab (DAKO, Glostrup, Denmark)
iNOS	Clone NOS2[N20]:sc-651 Rabbit anti Mouse polyclonal Ab (Santa Cruz biotechnology)	Clone P-0448 Goat anti Rabbit polyclonal Ab (DAKO, Glostrup, Denmark)

การศึกษาการแสดงออกของสารสื่ออักเสบ

ทำการสำรวจสไลด์ที่ได้รับการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมีที่กำลังขยาย 10 เท่าโดยโฟกัส (focus) ที่ hot spot ที่เลือกได้จากภาพสีมาที่ออกซิเจนไอออน หลังจากนั้นเพิ่มกำลังขยายของกล้องจุลทรรศน์เป็น 40x ทำการบันทึกภาพ hot spot ทั้งสองตำแหน่ง จากภาพถ่ายของ hot spot แต่ละตำแหน่งทำการนับเซลล์อักเสบแบบแมนนวล (manual) ยกเว้นเซลล์ไฟโบรบลาสต์โดยผู้วิจัยและทันตพยาธิแพทย์ หาค่าเฉลี่ยของเซลล์ที่ติดสีบวกในการย้อมแต่ละครั้งจาก hot spot ทั้งสอง โดยในเนื้อเยื่อจากหนูแต่ละตัวการจะมีการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมีสองครั้งแล้วหาค่าเฉลี่ยของการแสดงออกของสารสื่ออักเสบแต่ละชนิด (ภาพประกอบ 4)



ภาพประกอบ 4 แสดงวิธีการหาค่าเฉลี่ยของการแสดงผลออกของสารสีอึกเสบในหนูแต่ละกลุ่ม

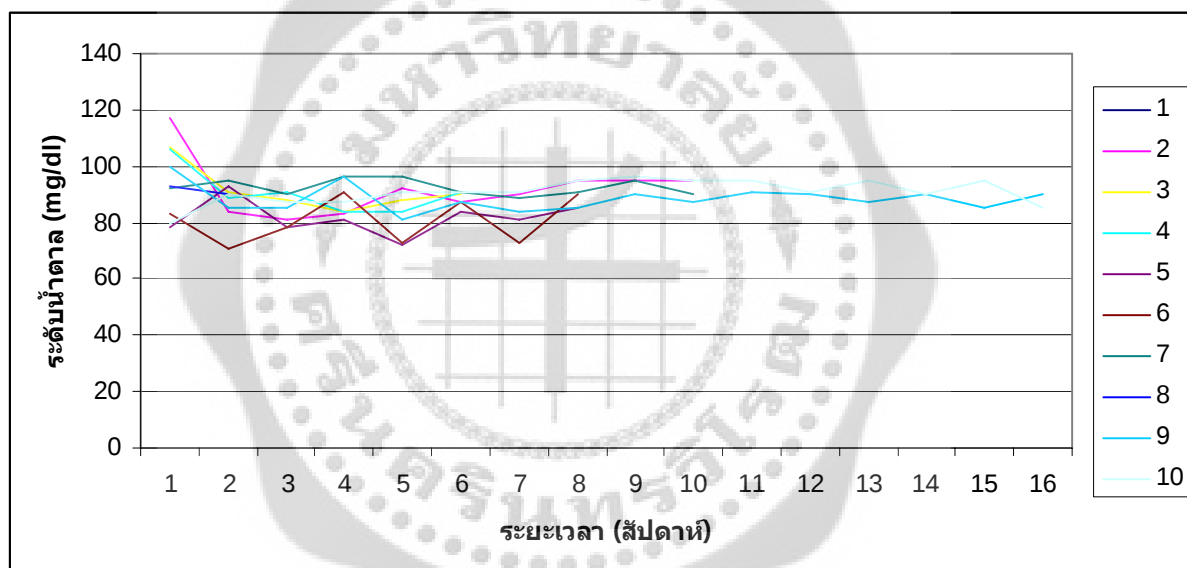


บทที่ 4

ผลการวิจัย

การเปลี่ยนแปลงระดับน้ำตาลในเลือดของหนูแต่ละกลุ่มตลอดการศึกษา กลุ่ม PD

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

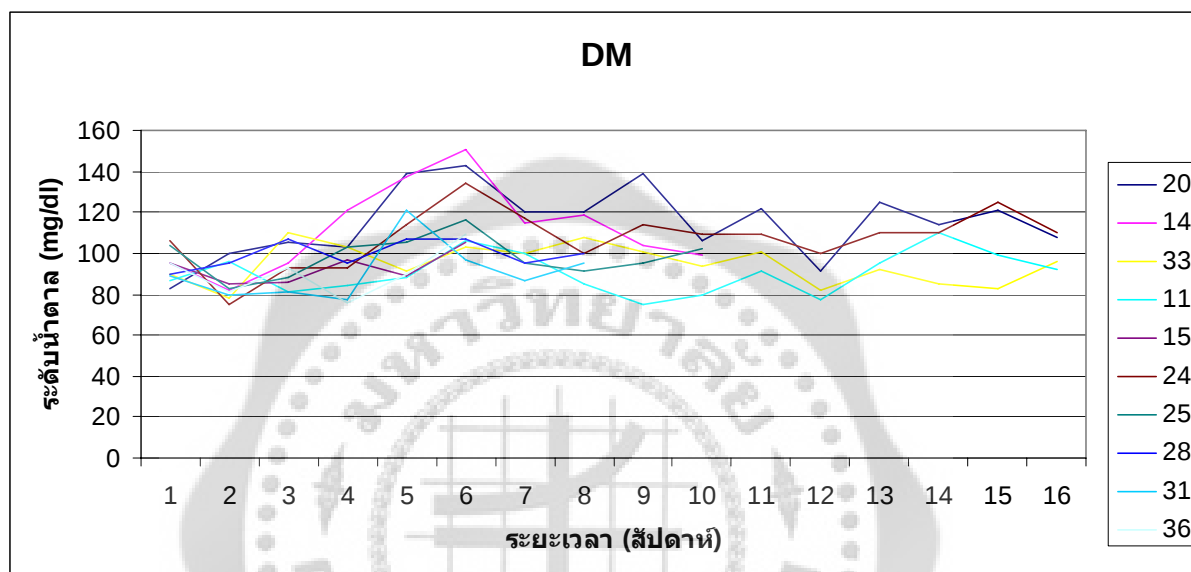


ภาพประกอบ 5 กราฟแสดงระดับน้ำตาลตลอด 16 สัปดาห์ของหนูในกลุ่ม PD

4 สัปดาห์แรกเป็นช่วงการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคปริทันต์อักเสบ โดยกลุ่ม PD มีการเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบในช่วงสัปดาห์ที่ 4 นับเป็นสัปดาห์ที่ 1-12 ในการจัดเข้าในแต่ละกลุ่มการทดลอง พบว่าระดับน้ำตาลของหนูในกลุ่มนี้มีการแกว่งตัวเพียงเล็กน้อยตลอดระยะเวลาการทดลอง

กลุ่ม DM

กลุ่ม DM มีค่าระดับน้ำตาลต่ำสุด 75 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรและสูงสุด 143 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรโดยพบว่าจะมีระดับน้ำตาลสูงขึ้นกว่า baseline ของหนูแต่ละตัวอย่างชัดเจนตั้งแต่ช่วง 2-6 สัปดาห์แรก ภายหลังทำการฉีดสารสเตโรปโตโซโตซินและนิโคตินามายด์ หลังจากนั้นระดับน้ำตาลจะลดลงโดยพบว่าระดับน้ำตาลจะมีการแกว่งตัวขึ้นลงตลอดช่วงระยะเวลาดังกล่าว (ภาพประกอบ 6)

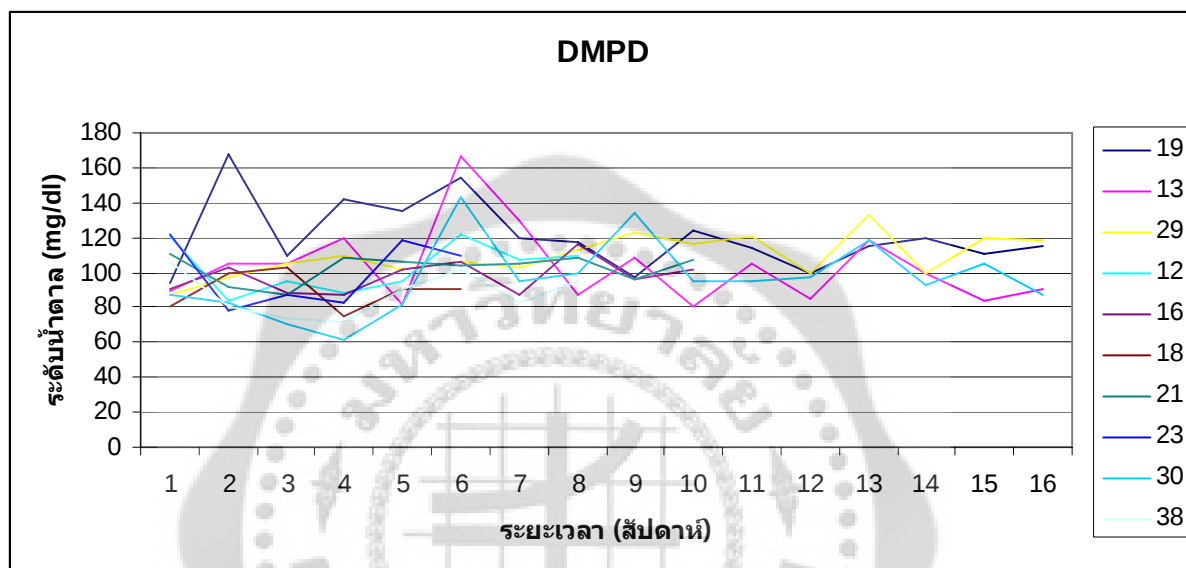


ภาพประกอบ 6 กราฟแสดงระดับน้ำตาลตลอด 16 สัปดาห์ของหนูกลุ่ม DM

แสดงระดับน้ำตาลของหนูกลุ่ม DM ซึ่งมีการเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานตั้งแต่เริ่มการทดลองและคาดการณ์ว่าเป็นโรคเบาหวานในสัปดาห์ที่ 4 พบว่าส่วนใหญ่ระดับน้ำตาลจะสูงขึ้น ภายหลังเหนี่ยวนำ 2-6 สัปดาห์ หลังจากนั้นระดับน้ำตาลจะแกว่งตัวขึ้นลงตลอดระยะเวลาการทดลอง

กลุ่ม DMPD

กลุ่ม DMPD มีค่าระดับน้ำตาลต่ำสุด 72 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรและสูงสุด 168 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรพบแนวโน้มของระดับน้ำตาลเป็นเช่นเดียวกับกลุ่ม DM คือส่วนใหญ่จะมีระดับน้ำตาลสูงขึ้นหลังจากเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานประมาณ 6 สัปดาห์และระดับน้ำตาลดังกล่าวจะมีการแกว่งตัวขึ้นลงตลอดระยะเวลาในการทดลอง (ภาพประกอบ 7)

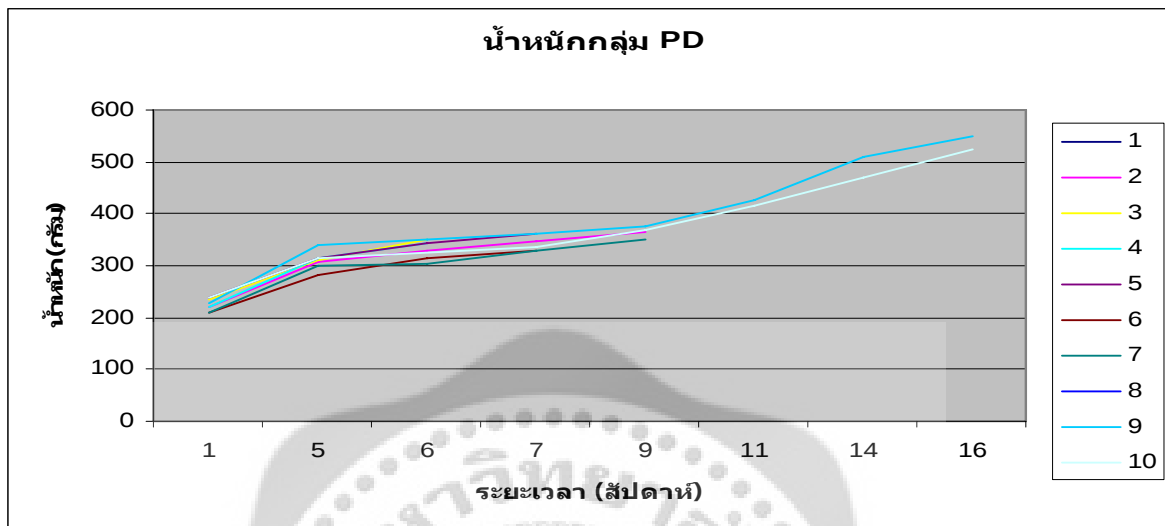


ภาพประกอบ 7 กราฟแสดงระดับน้ำตาลตลอด 16 สัปดาห์ของหนูกลุ่ม DMPD

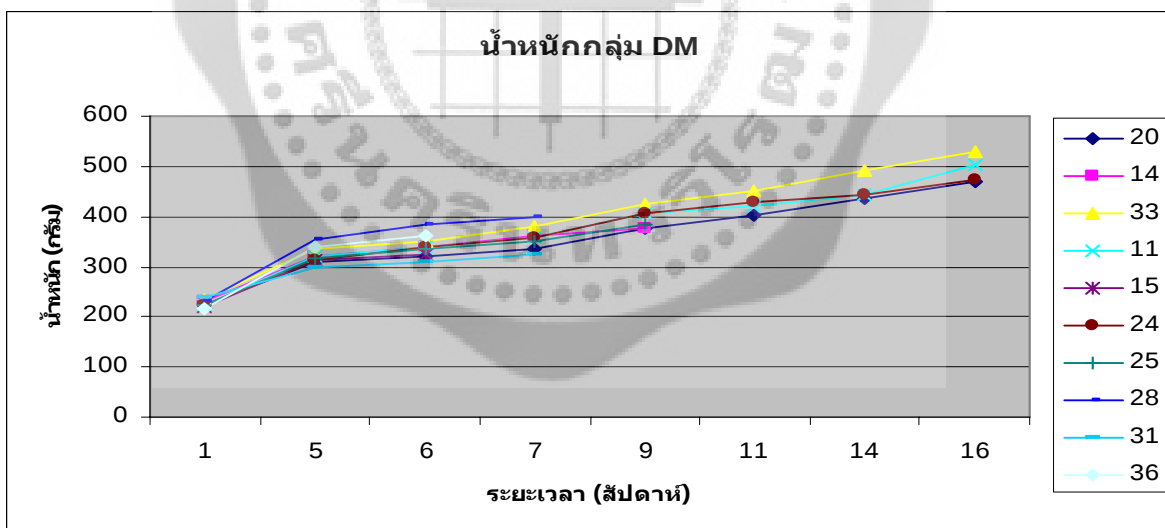
4 สัปดาห์แรกเป็นช่วงการเหนี่ยวนำให้เกิดเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบกลุ่ม DMPD มีการเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานตั้งแต่เริ่มการทดลองและคาดการณ์ว่าเป็นโรคเบาหวานในสัปดาห์ที่ 4 ในการจัดเข้าในแต่ละกลุ่มการทดลอง พบว่าส่วนใหญ่ระดับน้ำตาลจะสูงขึ้นภายหลังเหนี่ยวนำประมาณ 6 สัปดาห์ หลังจากนั้นระดับน้ำตาลจะแกว่งตัวขึ้นลงตลอดระยะเวลาการทดลอง

น้ำหนักหนูแต่ละกลุ่มตลอดช่วงเวลาการทดลอง

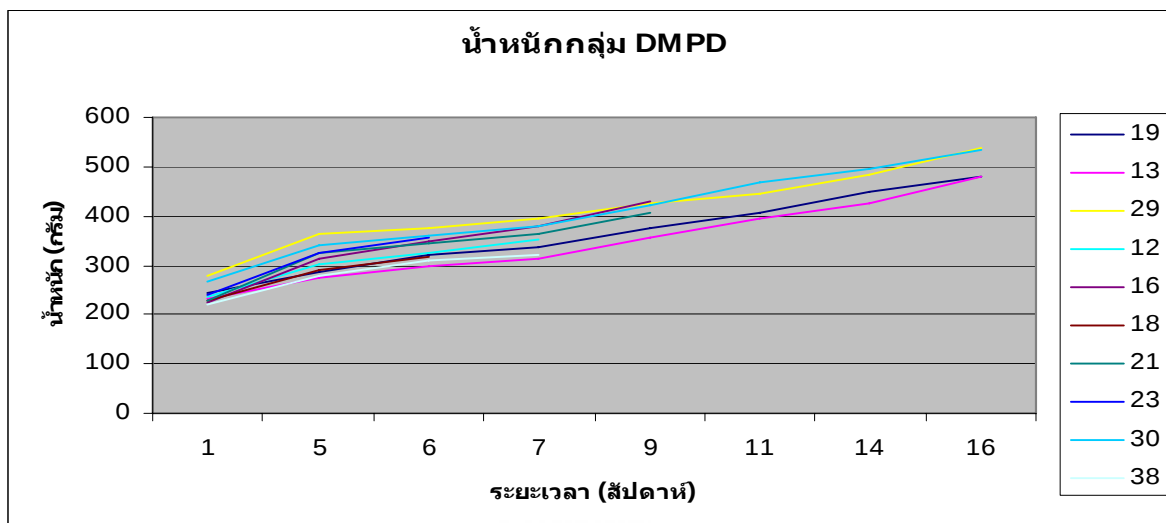
พบว่าในทุกกลุ่มทดลองหนูมีน้ำหนักตัวมากขึ้นตามระยะเวลาดังภาพประกอบ 8-10



ภาพประกอบ 8 กราฟแสดงน้ำหนักหนูในกลุ่ม PD



ภาพประกอบ 9 กราฟแสดงน้ำหนักหนูในกลุ่ม DM



ภาพประกอบ 10 กราฟแสดงน้ำหนักหนูในกลุ่ม DMPD



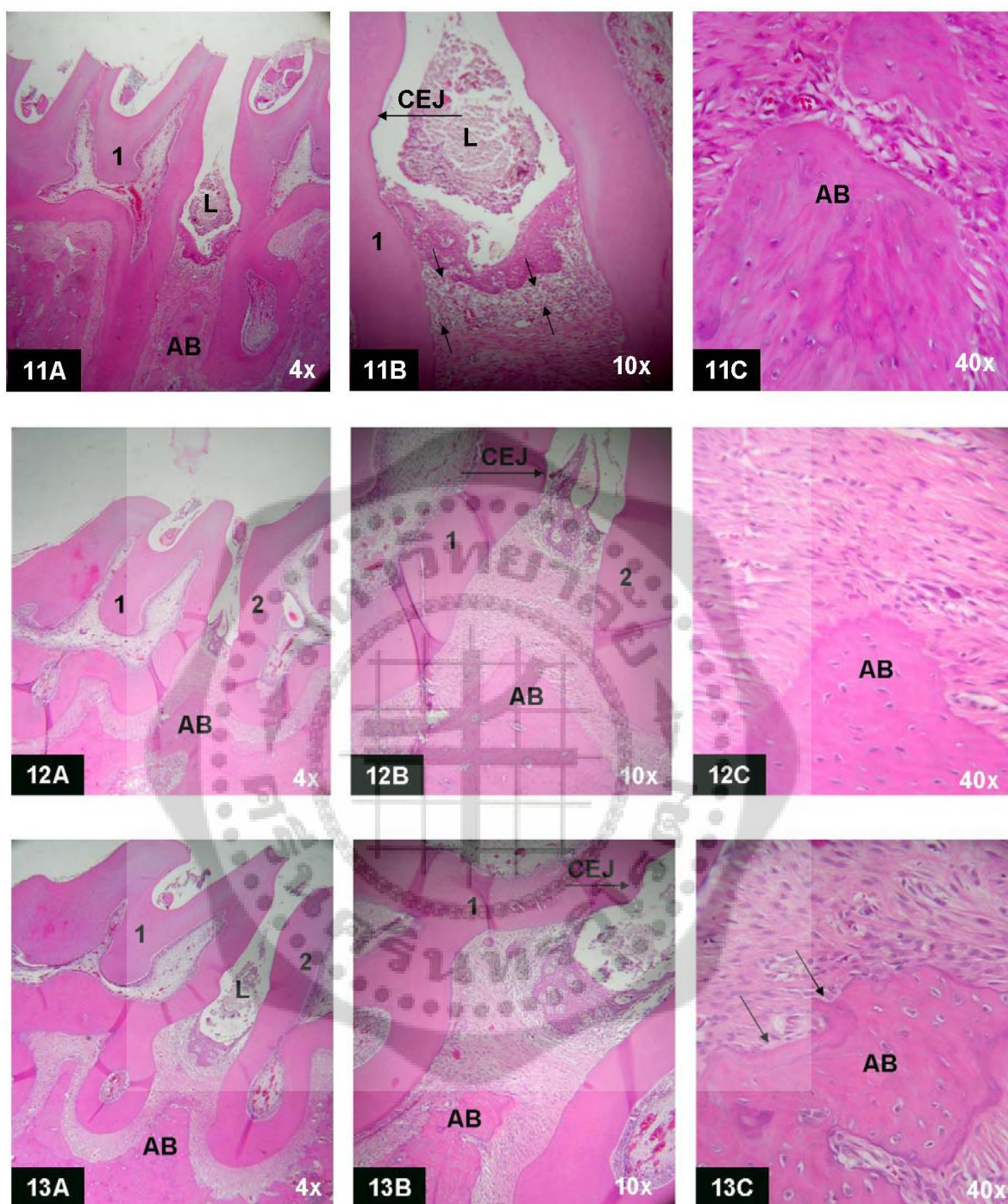
ลักษณะการทำลายเนื้อเยื่อปริทันต์ในหนูแต่ละกลุ่ม 2 สัปดาห์

ในกลุ่ม PD ขึ้นเนื้อจากหนูทั้งสองตัว (ตัวที่ 3 และ 4) พบว่าเริ่มมีการละลายตัวของกระดูกเบ้าฟัน (alveolar bone) โดยเฉพาะบริเวณสันกระดูกเบ้าฟัน เริ่มพบการเคลื่อนที่ของเยื่อปริทันต์เชื่อมต่อดังใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมลในขึ้นเนื้อจากหนูทั้งสองตัว (ภาพประกอบ 11)

กลุ่ม DM ขึ้นเนื้อจากหนูทั้งสองตัว (ตัวที่ 15 และ 36) พบว่ามีการทำลายกระดูกไปเพียงเล็กน้อยโดยตัวที่ 36 มีการทำลายกระดูกเบ้าฟันที่รุนแรงกว่าตัวที่ 15 อย่างไรก็ตามพบว่าในหนูทั้งสองตัวพบว่าเยื่อปริทันต์เชื่อมต่อยังคงอยู่ที่ส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ภาพประกอบ 12)

กลุ่ม DMPD (ตัวที่ 18 และ 23) พบการทำลายกระดูกเบ้าฟันที่รุนแรงกว่ากลุ่ม PD และพบการเคลื่อนที่ของเยื่อปริทันต์เชื่อมต่อดังใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมลในขึ้นเนื้อจากหนูทั้งสองตัว เช่นเดียวกับกลุ่ม PD (ภาพประกอบ 13)





ภาพประกอบ 11-13 ลักษณะการทำลายอวัยวะปริทันต์ในกลุ่ม 2 สัปดาห์

กลุ่ม PD พบลักษณะของร่องลึก (groove) ระหว่างฟันกรามซี่ที่ 1 และ 2 เนื่องมาจากการผุกไหม (L) (ภาพประกอบ 11A) เกิดการกระจุกตัวของเซลล์อีแกน (ลูกศรชี้-ภาพประกอบ 11B) การเคลื่อนตัวของเยื่อบุผิวเชื่อมต่อลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (CEJ-ภาพประกอบ 11B) และพบการละลายตัวของกระดูกเบ้าฟัน (AB) โดยเฉพาะบริเวณสันกระดูก (ภาพประกอบ 11C)

กลุ่ม DM ไม่พบทั้งลักษณะร่องลึก (ภาพประกอบ 12A) เยื่อบุผิวเชื่อมต่ออยู่ที่ส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ภาพประกอบ 12B) และการพบละลายตัวของสันกระดูกเบ้าฟันเพียงเล็กน้อย (ภาพประกอบ 12C)

กลุ่ม DMPD เกิดลักษณะร่องลึกจากการผุกไหม (ภาพประกอบ 13A) การเคลื่อนตัวของเยื่อบุผิวเชื่อมต่อลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ภาพประกอบ 13B) และการทำลายสันกระดูกเบ้าฟันที่รุนแรง (ลูกศรชี้-ภาพประกอบ 13C) เช่นเดียวกับกลุ่ม PD



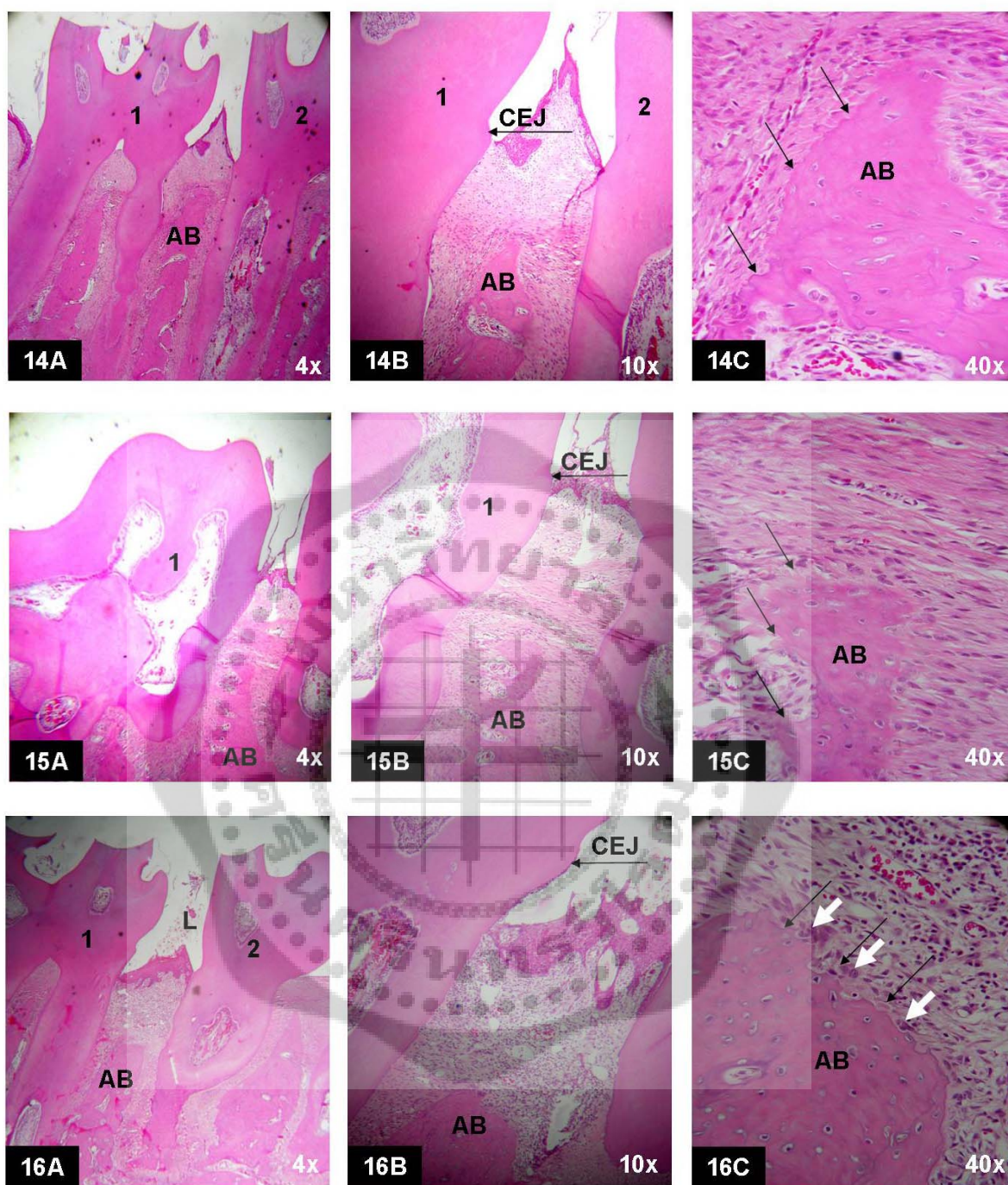
4 สัปดาห์

ในกลุ่ม PD ขึ้นเนื้อจากหนู 2 ตัว (ตัวที่ 5 และ 6) พบการเคลื่อนที่ของเยื่อหุ้มเซลล์เชื่อมต่อกันได้ ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมลและพบการละลายตัวของสันกระดูกเบ้าฟันที่รุนแรงกว่ากลุ่ม PD 2 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 14)

ขณะที่กลุ่ม DM (ขึ้นเนื้อจากหนูตัวที่ 28 และ 31) พบการละลายตัวของสันกระดูกเบ้าฟันที่รุนแรงกว่ากลุ่ม DM 2 สัปดาห์แต่เยื่อหุ้มเซลล์ยังคงอยู่ที่ส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมลเช่นเดียวกับกลุ่ม DM 2 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 15)

กลุ่ม DMPD (ขึ้นเนื้อจากหนูตัวที่ 12 และ 38) พบการเคลื่อนที่ของเยื่อหุ้มเซลล์เชื่อมต่อกัน (epithelial apical migration) ลงได้ส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ภาพประกอบ 16) โดยไม่พบความแตกต่างในด้านความรุนแรงของการละลายตัวของสันกระดูกเบ้าฟันระหว่างกลุ่ม PD และ DMPD เด่นชัด





ภาพประกอบ 14-16 รูปแบบการทำลายอวัยวะปริทันต์ในกลุ่ม 4 สัปดาห์

กลุ่ม PD พบการทำลายกระดูกเบ้าฟัน (ภาพประกอบ 14A และ ลูกศรชี้-ภาพประกอบ 14C) พบการเคลื่อนที่ของเยื่อหุ้มเชื่อมต่อดังได้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล(ลูกศรชี้-ภาพประกอบ 14B)

กลุ่ม DM เยื่อหุ้มเชื่อมต่อยังคงเกาะที่ส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ลูกศรชี้-ภาพประกอบ 15B) และพบการทำลายสันกระดูกเบ้าฟันเพียงเล็กน้อย (ลูกศรชี้-ภาพประกอบ 15C)

กลุ่ม DMPDพบร่องลึกระหว่างฟันกรามทั้งสองซี่เนื่องมาจากการผุใหม่ (ภาพประกอบ 16A) มีการเคลื่อนที่ของเยื่อหุ้มเชื่อมต่อดังได้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ลูกศรชี้-ภาพประกอบ 16B) และเกิดลักษณะรีซอร์ปชันลาคุนา (resorption lacuna) บริเวณสันกระดูกเบ้าฟันที่ถูกทำลายโดยเซลล์ออสติโอคลาสต์ (ลูกศรชี้ขาว-ภาพประกอบ 16C)



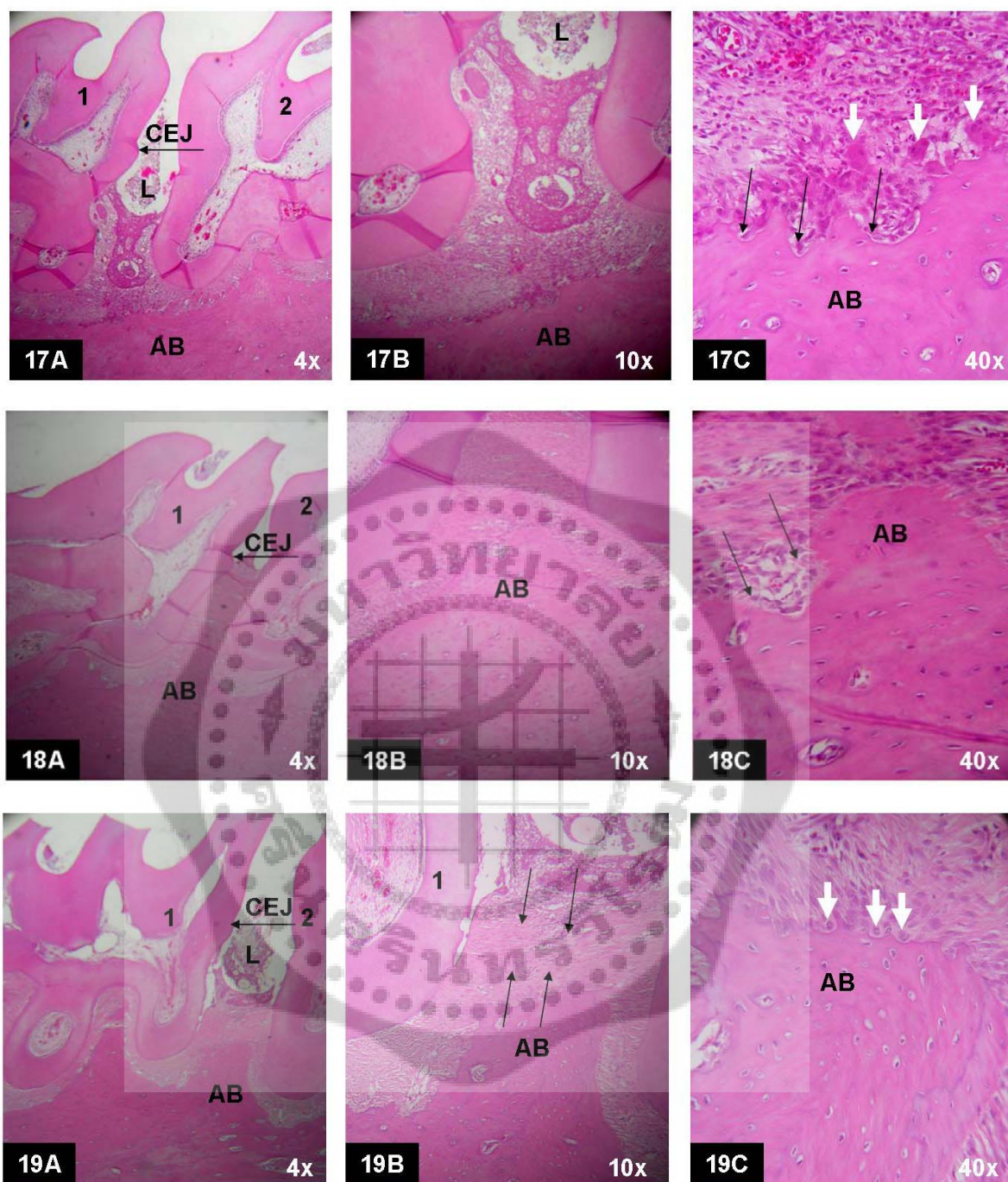
6 สัปดาห์

ในกลุ่ม PD ขึ้นเนื้อจากหนูทั้ง 2 ตัว (ตัวที่ 2 และ 7) พบการทำลายสันกระดูกเบ้าฟันที่รุนแรงกว่าเมื่อ 4 สัปดาห์ พบการเคลื่อนที่ของเยื่อบุผิวเชื่อมต่อลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ภาพประกอบ 17)

ขณะที่กลุ่ม DM ขึ้นเนื้อจากหนูตัวที่ 25 พบการละลายตัวของกระดูกเบ้าฟันที่รุนแรงคล้ายคลึงกับกลุ่ม 4 สัปดาห์ขณะที่ขึ้นเนื้อจากหนูตัวที่ 14 กลับพบการละลายตัวของกระดูกเบ้าฟันเพียงเล็กน้อยโดยพบเยื่อบุผิวเชื่อมต่อยังคงอยู่ที่ส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมลในขึ้นเนื้อจากหนูทั้งสองตัว (ภาพประกอบ 18)

กลุ่ม DMPD ขึ้นเนื้อจากหนูทั้งสองตัว (ตัวที่ 16 และ 21) ต่างพบการเคลื่อนที่ของเยื่อบุผิวเชื่อมต่อลงใต้ส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมลและการทำลายกระดูกเบ้าฟันที่รุนแรงน้อยกว่าขึ้นเนื้อจากกลุ่ม PD อย่างไรก็ตามความรุนแรงของการทำลายอวัยวะปริทันต์ไม่แตกต่างจากกลุ่ม 4 สัปดาห์เด่นชัดนัก (ภาพประกอบ 19)





ภาพประกอบ 17-19 รูปแบบการทำลายอวัยวะปริทันต์ในกลุ่ม 6 สัปดาห์

กลุ่ม PD พบการเคลื่อนตัวของเยื่อหุ้มผิวเชื่อมต่อ ลงได้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ภาพประกอบ 17A) และการทำลายกระดูกอย่างรุนแรง (ภาพประกอบ 17B) เกิดลักษณะการทำลายกระดูกเป็นแอ่งรีซอร์ปชันลาคุนา (ลูกศรสีดำ-ภาพประกอบ 17C) โดยเซลล์ออสติโอคลาสต์ (ลูกศรสีขาว-ภาพประกอบ 17C)

กลุ่ม DM พบการยึดเกาะของเยื่อหุ้มผิวยังคงอยู่ที่ส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ภาพประกอบ 18A) และพบการทำลายกระดูกใกล้เคียงกับกลุ่ม DM 4 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 18B และตำแหน่งลูกศรชี้ภาพประกอบ 18C)

กลุ่ม DMPD พบลักษณะร่องลึกจากการผูกไหม (L) ที่รุนแรงและการเคลื่อนตัวของเยื่อหุ้มผิวเชื่อมต่อลงได้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ภาพประกอบ 19A) และการกระดูกตัวอย่างหนาแน่นของเซลล์อักเสบ (ลูกศรชี้-ภาพประกอบ 19B) อีกทั้งพบการทำลายกระดูกเข้าฟันโดยเซลล์ออสติโอคลาสต์ (ลูกศรชี้-ภาพประกอบ 19C)



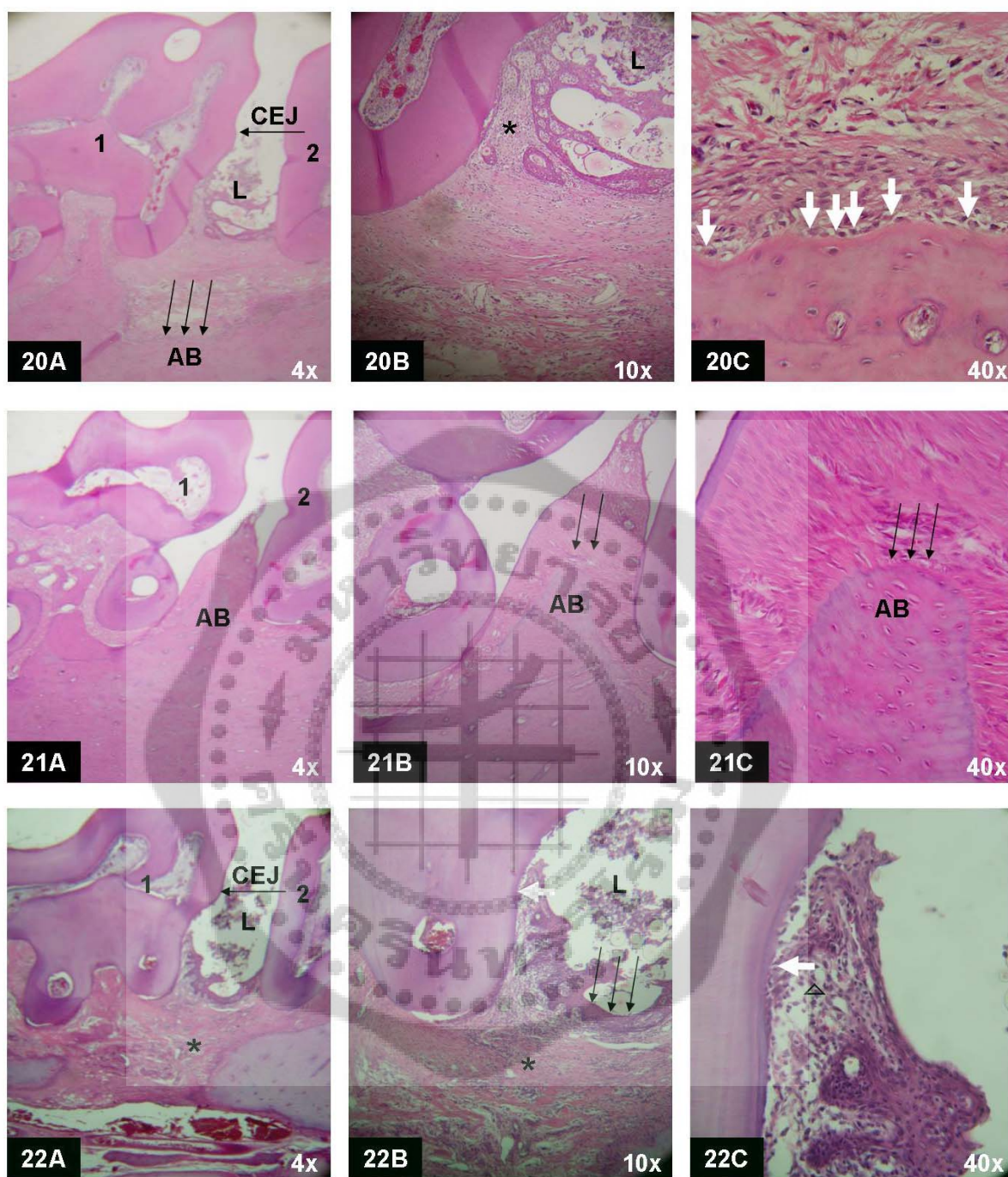
12 สัปดาห์

ในกลุ่ม PD ขึ้นเนื้อจากหนูทั้ง 2 ตัว (ตัวที่ 9 และ 10) พบการทำลายกระดูกเบ้าฟันรุนแรงอย่างมากเช่นเดียวกับ 6 สัปดาห์ พบการเคลื่อนที่ของเยื่อหุ้มฟันเชื่อมต่อดังได้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ภาพประกอบ 20)

กลุ่ม DM ขึ้นเนื้อจากหนูทั้ง 4 ตัว (ตัวที่ 11, 20, 24 และ 33) ต่างพบการละลายตัวของกระดูกเบ้าฟันเพียงเล็กน้อยและเยื่อหุ้มฟันเชื่อมต่อยังคงอยู่ที่ส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมลในชั้นเนื้อจากหนูทั้งสี่ตัว (ภาพประกอบ 21)

กลุ่ม DMPD ขึ้นเนื้อจากหนู 2 ตัว (ตัวที่ 13 และ 19 โดยเกิดข้อผิดพลาดในการตัดชิ้นเนื้อในหนูตัวที่ 30 และ 39) พบการทำลายกระดูกเบ้าฟันที่รุนแรงอย่างมากเช่นเดียวกับ 6 สัปดาห์และพบการเคลื่อนที่ของเยื่อหุ้มฟันเชื่อมต่อดังได้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมลแต่ไม่แตกต่างจากชั้นเนื้อในกลุ่ม PD แต่อย่างใด (ภาพประกอบ 22)





ภาพประกอบ 20-22 รูปแบบการทำลายอวัยวะปริทันต์ในกลุ่ม 12 สัปดาห์

กลุ่ม PD แสดงการทำลายกระดูก (AB) รุนแรงอย่างมากโดยพบเศษไหมและคราบอาหาร (L) เกิดลักษณะร่องลึกจากการผูกไหมอย่างรุนแรง และพบการเคลื่อนที่ลงของเยื่อบุผิวเชื่อมต่อลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ภาพประกอบ 20A) ร่วมกับการกระดูกตัวของเซลล์อักเสบจำนวนมากบริเวณเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (*) (ภาพประกอบ 20B) และเกิดลักษณะแอ่งรีซอร์ปชันขนาดใหญ่โดยเซลล์ออสติโอคลาสต์ (ลูกศรชี้-ภาพประกอบ 20C)

กลุ่ม DM แสดงการปรากฏของเซลล์อักเสบและพบการทำลายสันกระดูกเบ้าฟันเพียงเล็กน้อย (ภาพประกอบ 21B และ 21C)

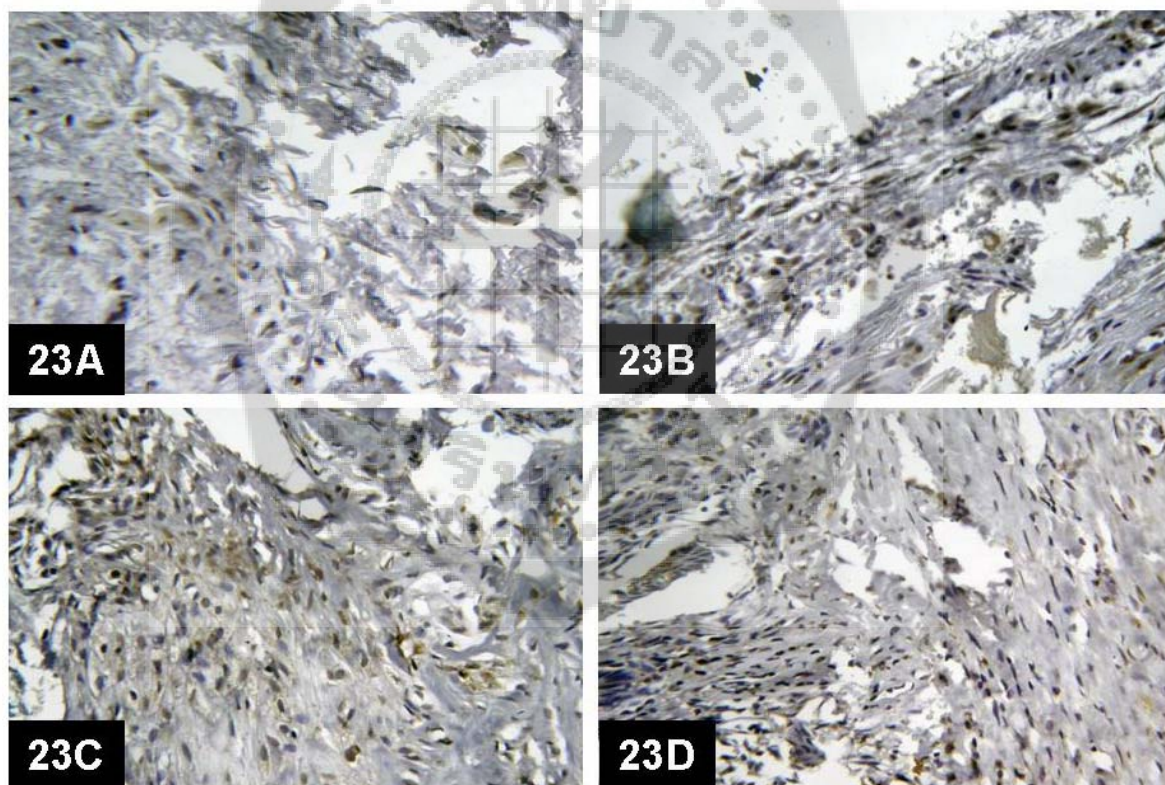
กลุ่ม DMPD พบลักษณะร่องลึกระหว่างซี่ฟัน เศษอาหารและเศษไหมพบได้ในบริเวณระหว่างฟันทั้งสองซี่ (L) (ภาพประกอบ 22A) ปรากฏการบริเวณที่มีการทำลายสันกระดูกเบ้าฟันที่รุนแรง (*) (ภาพประกอบ 22B) อีกทั้งพบเซลล์อักเสบอยู่กันอย่างหนาแน่นบริเวณเนื้อเยื่อยึดต่อ (Δ) และการเคลื่อนตัวของเยื่อบุผิวเชื่อมต่อ (ลูกศรชี้) ลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมล (ภาพประกอบ 22C)



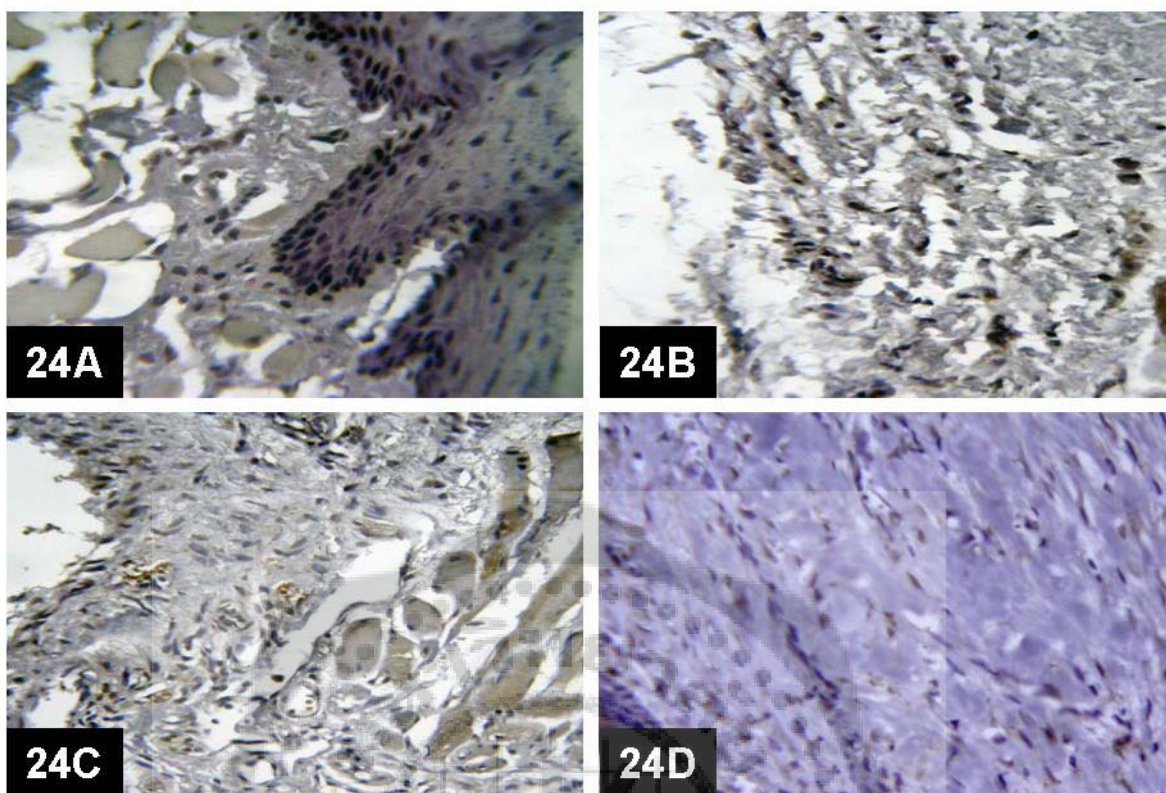
การแสดงออกของสารสื่ออักเสบในหนูแต่ละกลุ่ม

การแสดงออกของอินเตอร์ลิวคิน-1 เบตา

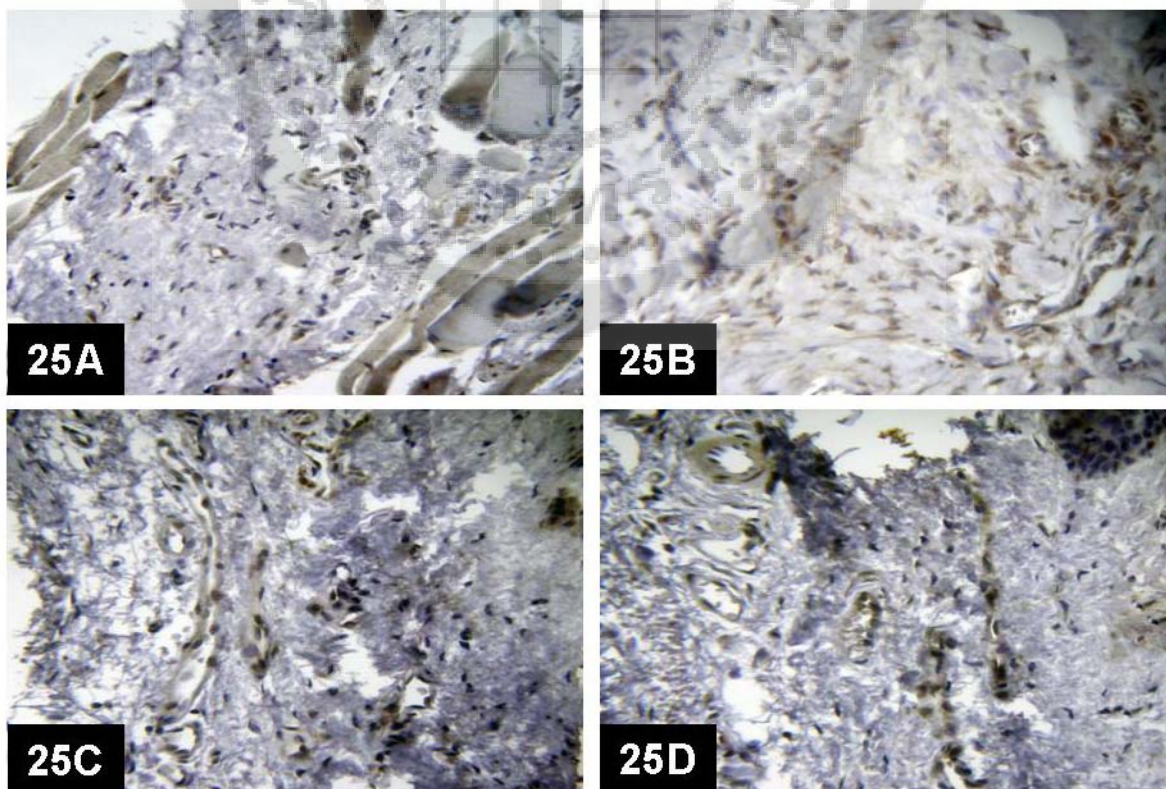
พบว่าในกลุ่ม PD การแสดงออกของเซลล์อักเสบที่เพิ่มจำนวนมากขึ้นตามระยะเวลาดังภาพประกอบ 23A-23D โดยพบการแสดงออกทั้งโมโนนิวเคลียร์เซลล์และพอลีมอร์โฟนิวเคลียร์เซลล์ การแสดงออกของสารสื่ออักเสบดังกล่าวมีน้อยในกลุ่ม 2 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 23A) และเพิ่มจำนวนขึ้นจนมีเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกของ DAB (positive cell) อยู่กันอย่างหนาแน่นในกลุ่ม 12 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 23D) ขณะที่กลุ่ม DM มีเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกจำนวนมากในกลุ่ม 4-6 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 24B และ 24C) และแสดงออกน้อยลงในกลุ่ม 12 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 24D) กลุ่ม DMPD มีการแสดงออกค่อนข้างน้อยในกลุ่ม 2-4 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 25A และ 25B) และทวีจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกมากขึ้นตามระยะเวลาจนมีจำนวนเซลล์อย่างมากในกลุ่ม 12 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 25D)



ภาพประกอบ 23 การแสดงออกของอินเตอร์ลิวคิน-1 เบตาในหนูกลุ่ม PD



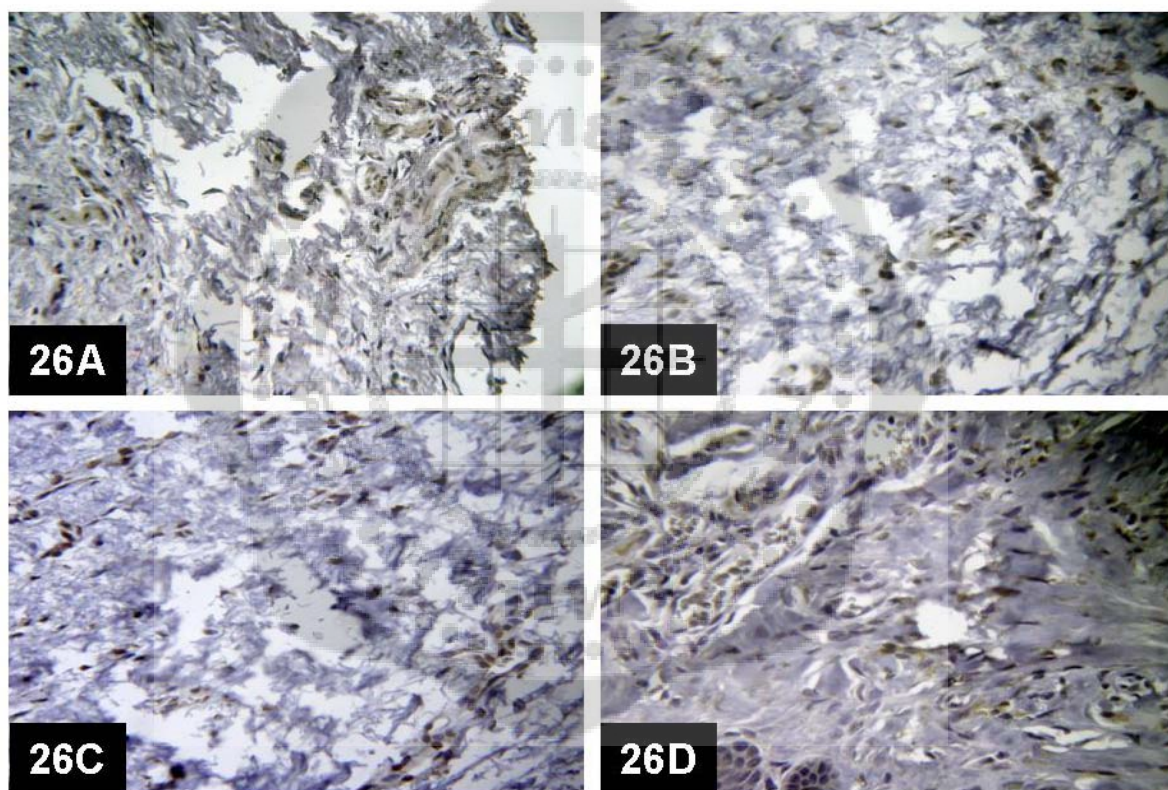
ภาพประกอบ 24 การแสดงออกของอินเตอรลิวคิน-1 เบตาในหนูกลุ่ม DM



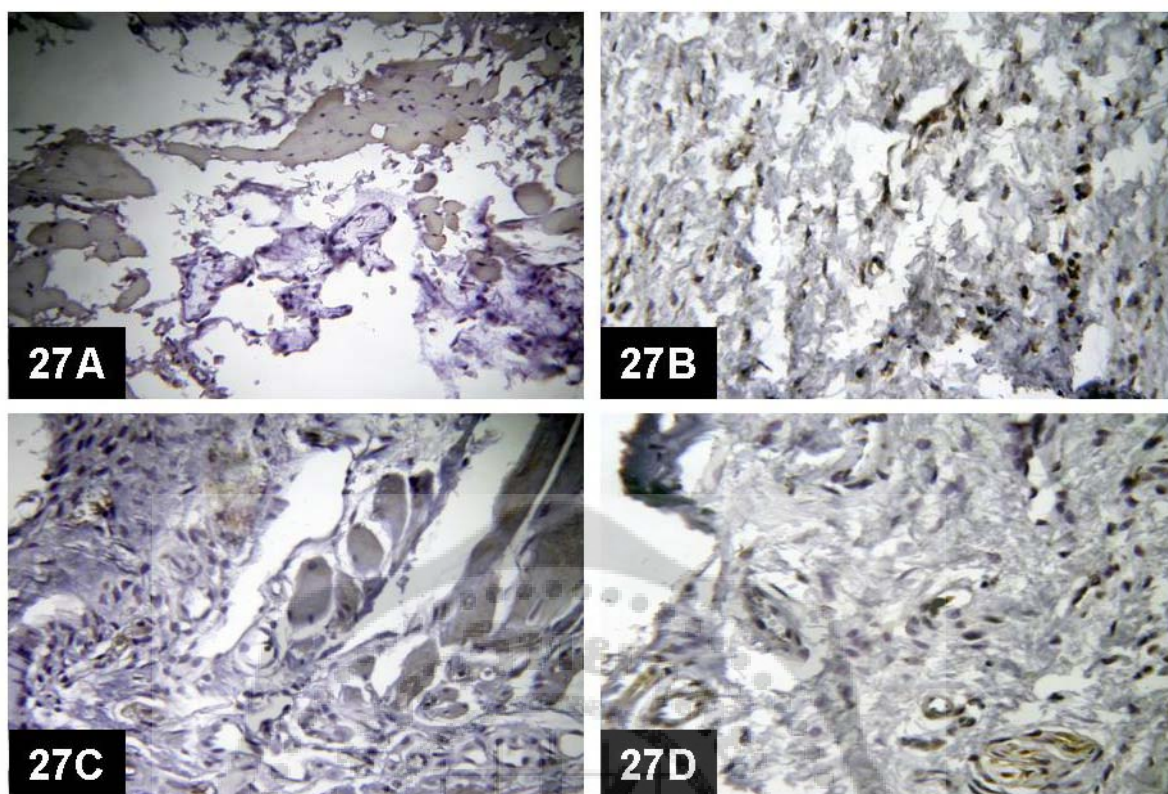
ภาพประกอบ 25 การแสดงออกของอินเตอรลิวคิน-1 เบตาในหนูกลุ่ม DMPD

การแสดงออกของทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา

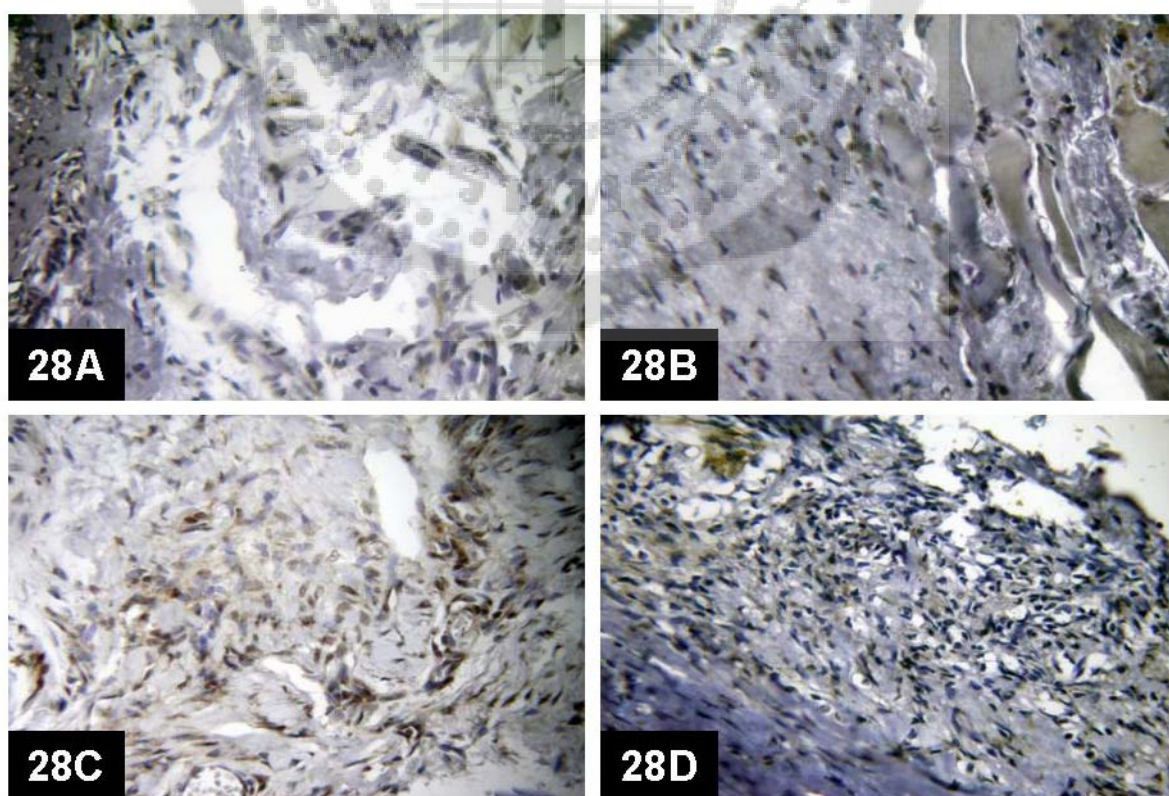
การแสดงออกของทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาทั้งในกลุ่ม PD และ DMPD เป็นไปในลักษณะเดียวกัน โดยกลุ่ม PD 2-4 สัปดาห์พบการแสดงออกของเซลล์อักเสบค่อนข้างน้อย (ภาพประกอบ 26A และ 26B) ก่อนจะเพิ่มจำนวนสูงในกลุ่ม 12 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 26D) ขณะที่กลุ่ม DM จะมีการแสดงออกของเซลล์อักเสบอย่างมากในกลุ่ม 4 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 27B) ก่อนจะลดลงในกลุ่ม 6 และ 12 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 27C และ 27D) กลุ่ม DMPD มีการแสดงออกที่เพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลา โดยมีเซลล์อักเสบที่ย้อมติดสีบวกร้อยละจำนวนมากในกลุ่ม 6-12 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 28C และ 28D) โดยมากกว่าช่วง 2-4 สัปดาห์อย่างชัดเจน (ภาพ 28A และ 28B)



ภาพประกอบ 26 การแสดงออกของทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาในหนูกลุ่ม PD



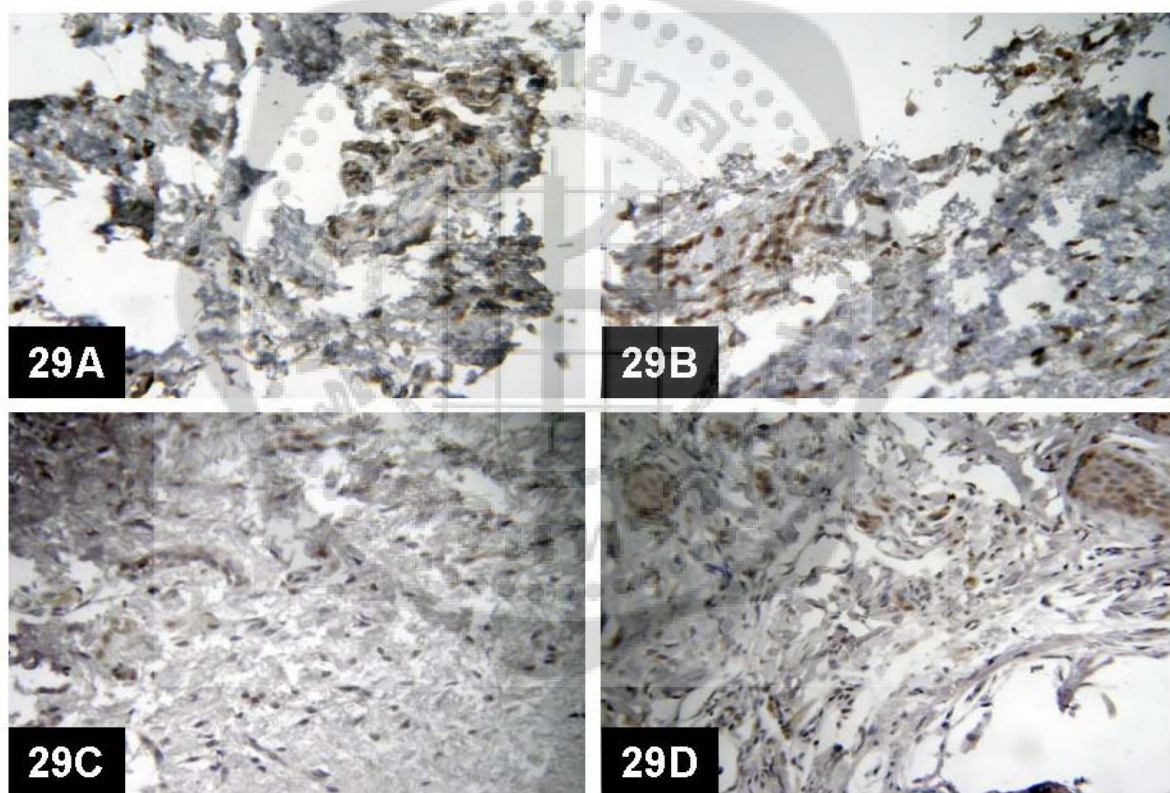
ภาพประกอบ 27 การแสดงออกของทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาในหนูกลุ่ม DM



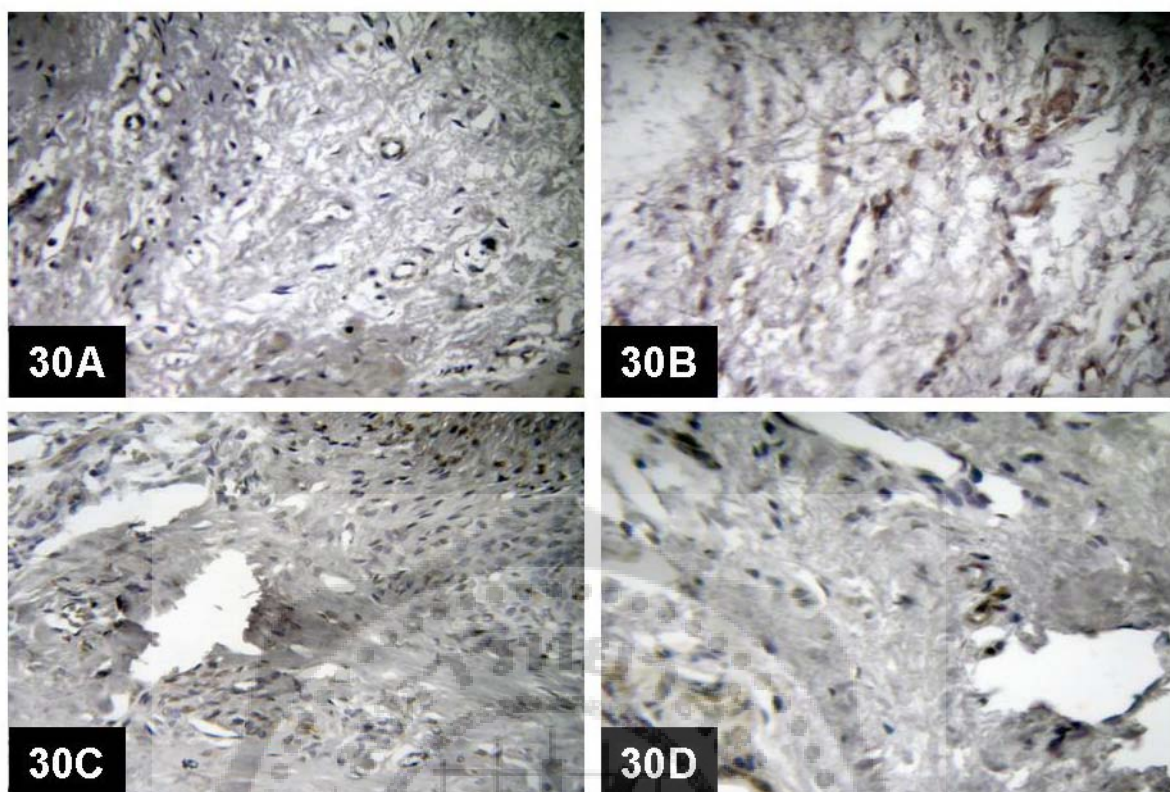
ภาพประกอบ 28 การแสดงออกของทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาในหนูกลุ่ม DMPD

การแสดงออกของอินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส

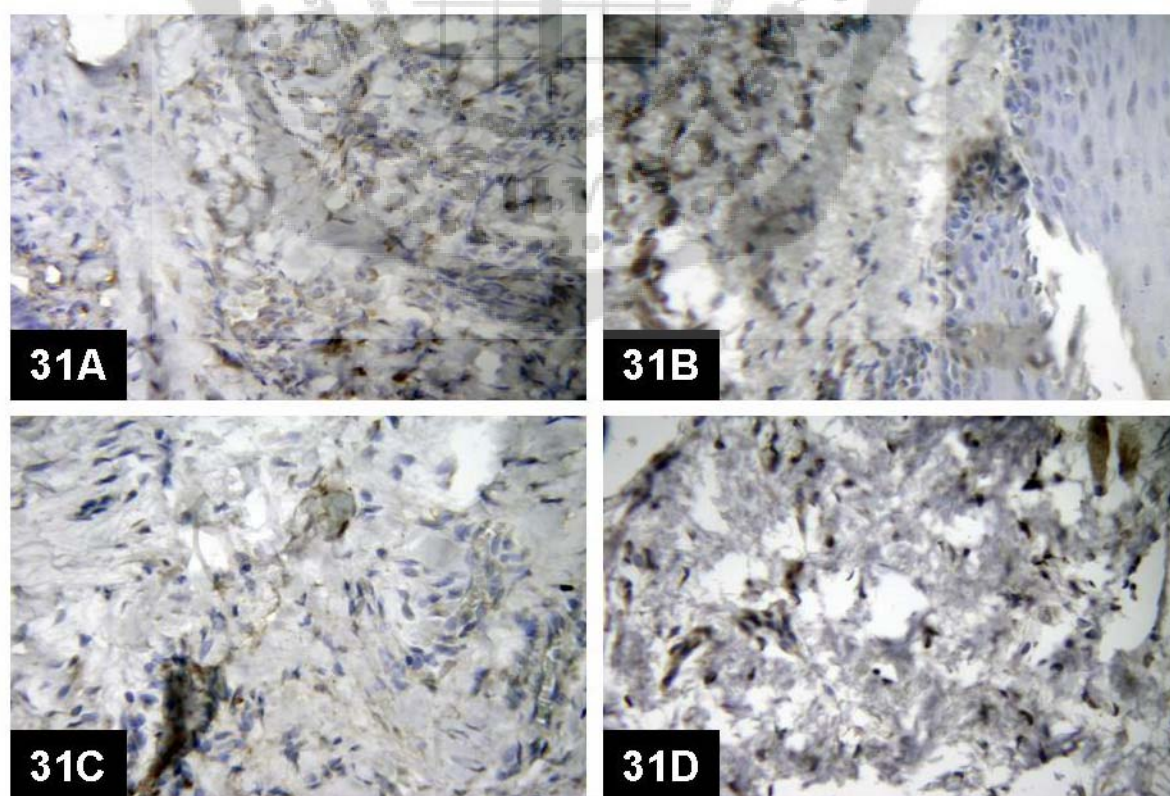
การแสดงออกของอินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทสในกลุ่ม PD มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องดังภาพประกอบ 29A-29D โดยพบการแสดงออกของเซลล์อักเสบน้อยในกลุ่ม 4 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 29B) แต่ในกลุ่ม 6 และ 12 สัปดาห์กลับมีการกระตุ้นของเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกรอย่างหนาแน่น (ภาพประกอบ 29C และ 29D) กลุ่ม DM พบการแสดงออกค่อนข้างน้อยในกลุ่ม 2, 4 และ 12 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 30A, 30B และ 30D) แต่กลับมีการแสดงออกของเซลล์อักเสบอย่างมากในกลุ่ม 6 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 30C) กลุ่ม DMPD พบว่ามีการแสดงออกที่รุนแรงเพิ่มขึ้นตามระยะเวลา โดยมีเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกรวมกลุ่มเป็นจำนวนมากในกลุ่ม 6 และ 12 สัปดาห์ (ภาพประกอบ 31C และ 31D)



ภาพประกอบ 29 การแสดงออกของอินดิวิเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทสในหนูกลุ่ม PD



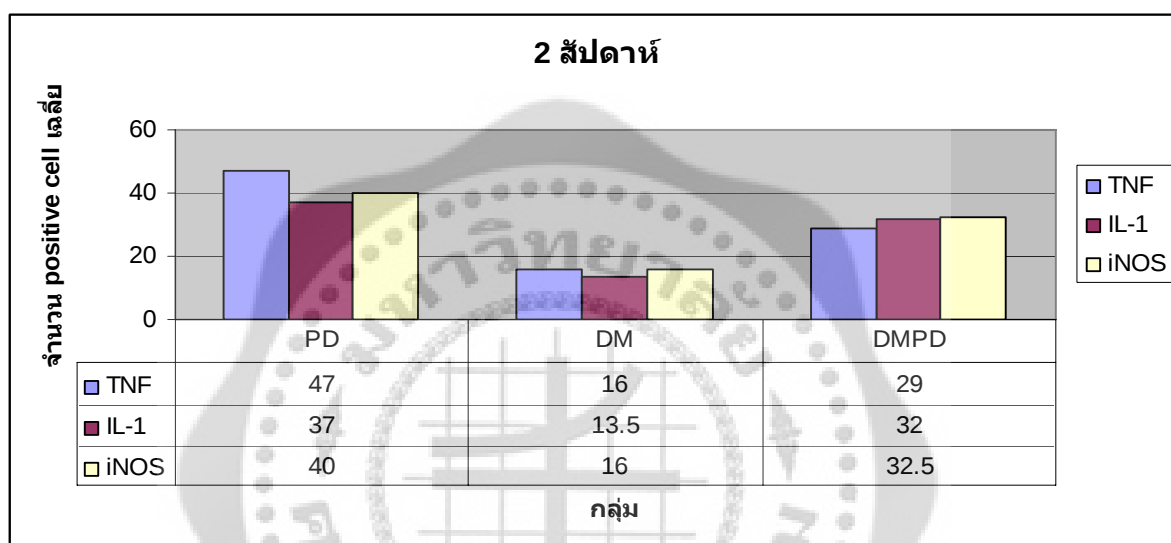
ภาพประกอบ 30 การแสดงออกของอินดิคเตอร์ในกระดูกขากรรไกรบนในหนูกลุ่ม DM



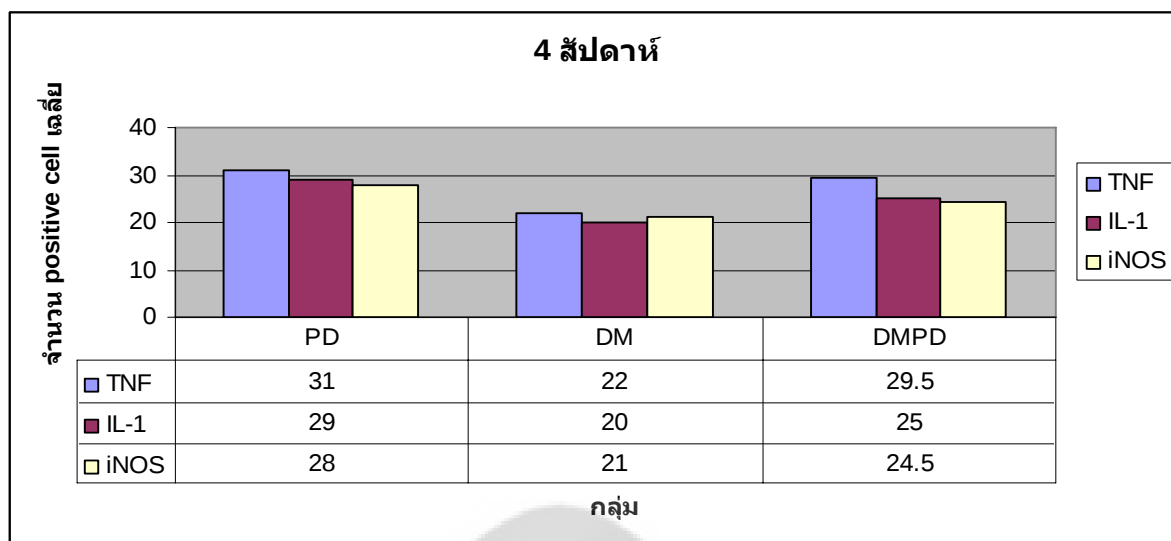
ภาพประกอบ 31 การแสดงออกของอินดิคเตอร์ในกระดูกขากรรไกรบนในหนูกลุ่ม DMPD

ผลการเปรียบเทียบการแสดงออกของตัวชี้วัดสภาวะการอักเสบในหนูแต่ละกลุ่ม

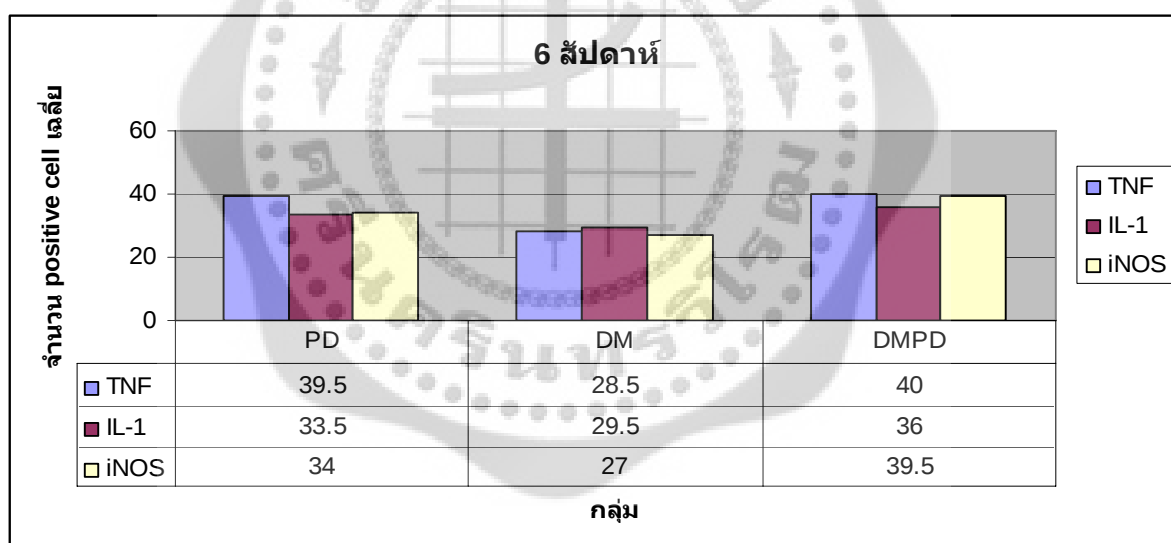
จากการนับจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกในกลุ่มทดลองต่างๆพบว่าในกลุ่ม 2 สัปดาห์แรกการแสดงออกของเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกของตัวชี้วัดสภาวะการอักเสบทั้งสาม (อันได้แก่ อินเตอร์ลิวคิน-1 เบตา ทู เมอร์เนครอซีสแฟกเตอร์-แอลฟาและอินดิวิชชีเบิลไนตริกออกไซด์ซินเทส) มีการแสดงออกมากในกลุ่ม DMPD และ PD โดยมีเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกจำนวนมาก โดยความแตกต่างระหว่างสองกลุ่มมีไม่มากนัก ขณะที่การแสดงออกของกลุ่ม DM มีจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกน้อยกว่ากว่า (ภาพประกอบ 32)



ภาพประกอบ 32 กราฟแท่งแสดงจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกโดยเฉลี่ยของสารสื่ออักเสบทั้งสามในกลุ่มทดลอง 2 สัปดาห์



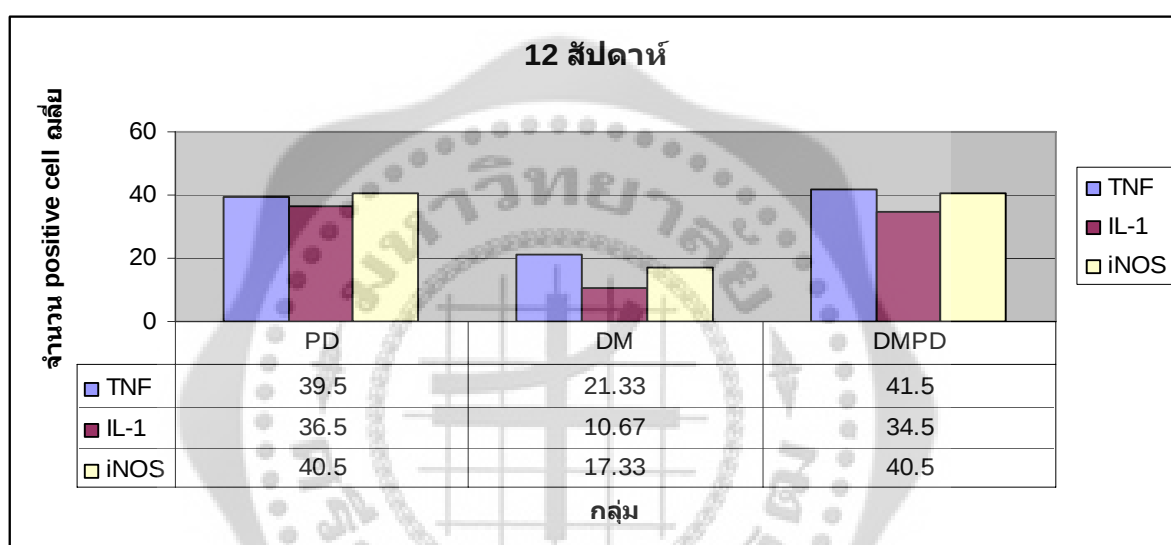
ภาพประกอบ 33 กราฟแท่งแสดงจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกโดยเฉลี่ยของสารสื่ออักเสบทั้งสามในกลุ่มทดลอง 4 สัปดาห์



ภาพประกอบ 34 กราฟแท่งแสดงจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกโดยเฉลี่ยของสารสื่ออักเสบทั้งสามในกลุ่มทดลอง 6 สัปดาห์

ในช่วงสัปดาห์ที่ 4-6 พบว่าจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกของทั้งกลุ่ม DMPD และ PD มีจำนวนเท่าๆกัน เช่นเดียวกับกลุ่ม DM มีจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกที่สูงขึ้นใกล้เคียงกับกลุ่ม PD และ DMPD (ภาพประกอบ 33 และ 34)

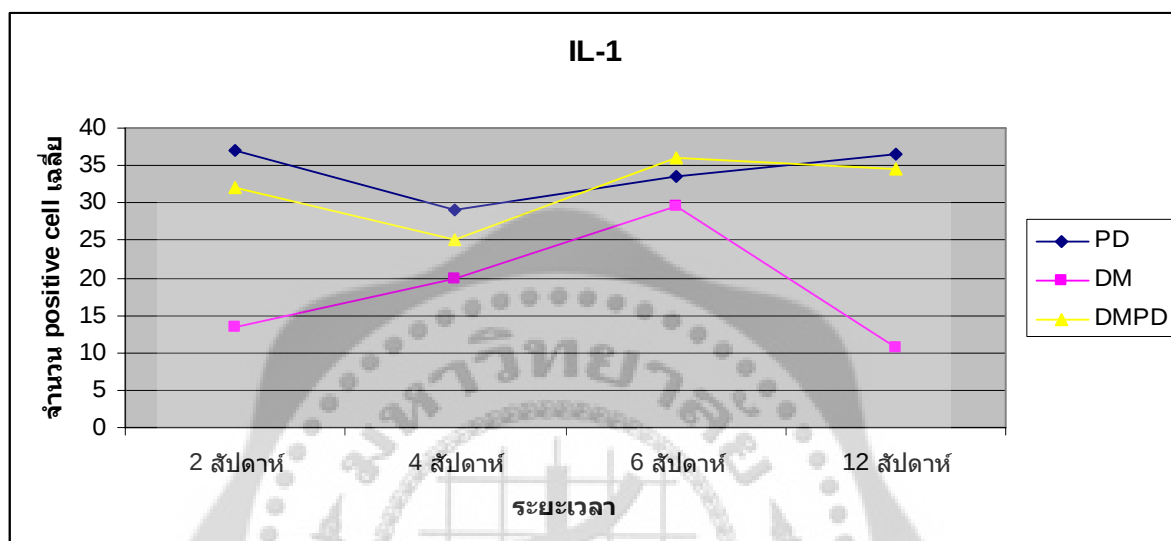
ในสัปดาห์ที่ 12 พบว่ากลุ่ม DMPD มีจำนวน เซลล์ที่ย้อมติดสีบวกที่ใกล้เคียงกับกลุ่ม PD โดยพบการแสดงออกของตัวชี้วัดสภาวะการอักเสบทั้งสาม ในกลุ่ม DM ต่ำกว่าอีกสองกลุ่มอย่างชัดเจน (ภาพประกอบ 35)



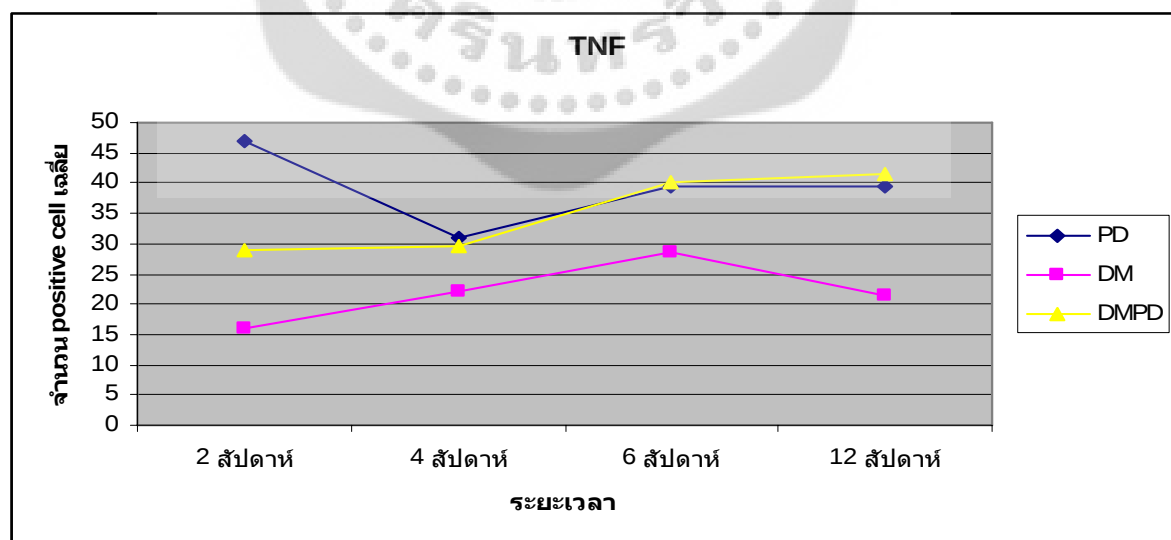
ภาพประกอบ 35 กราฟแท่งแสดงจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกโดยเฉลี่ยของสารสื่ออักเสบทั้งสามในกลุ่มทดลอง 12 สัปดาห์

แนวโน้มของการแสดงออกของตัวชี้วัดสภาวะการอักเสบในหนูแต่ละกลุ่มเปรียบเทียบตามระยะเวลา

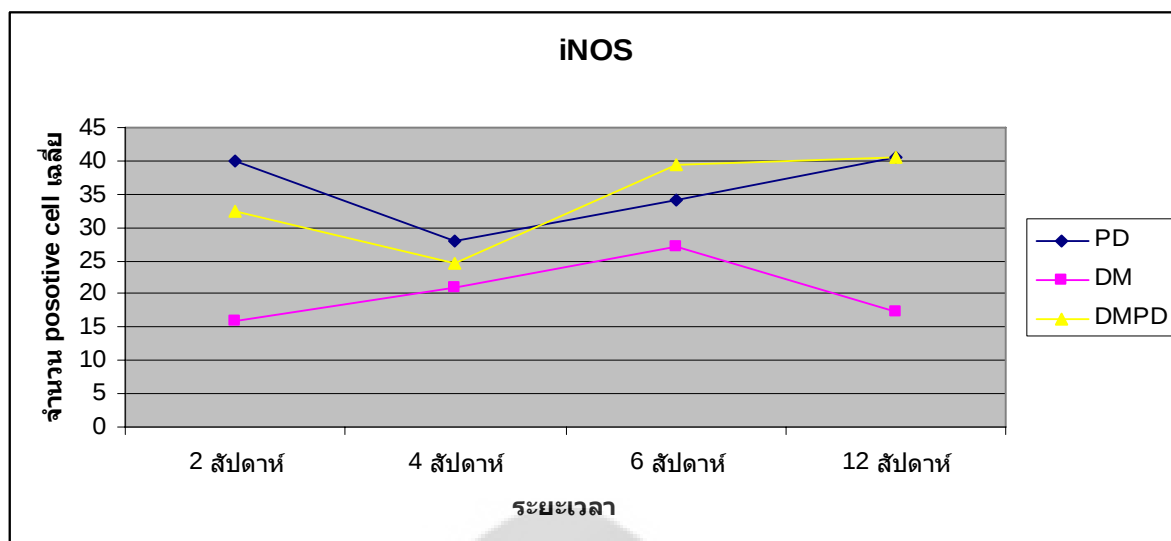
แนวโน้มของการแสดงออกของตัวชี้วัดสภาวะการอักเสบทั้งสาม พบว่ามีการโน้มเอียงไปในทิศทางเดียวกันทั้งสามชนิดเมื่อแบ่งตามกลุ่มต่างๆของการทดลอง แม้ค่าอาจมีการแกว่งบ้างดังที่แสดงในภาพประกอบ 36-38



ภาพประกอบ 36 กราฟแสดงแนวโน้มการแสดงออกของอินเตอร์ลิวคิน-1 เบตาในกลุ่มทดลองทั้งสามกลุ่มเปรียบเทียบตามระยะเวลา



ภาพประกอบ 37 กราฟแสดงแนวโน้มการแสดงออกของทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาในกลุ่มทดลองทั้งสามกลุ่มเปรียบเทียบตามระยะเวลา



ภาพประกอบ 38 กราฟแสดงแนวโน้มการแสดงออกของอินดิคเตอร์ไบนารีในไตรคอกไฮด์ซินเทสในกลุ่มทดลองทั้งสามกลุ่มเปรียบเทียบตามระยะเวลา

จากภาพประกอบ 36-38 แสดงให้เห็นว่ากลุ่ม PD และ DMPD มีแนวโน้มของการแสดงออกของสารสื่ออักเสบทั้งสามที่เพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาในการทดลอง โดยพบว่าการแสดงออกในช่วง 6 สัปดาห์สูงกว่า 4 สัปดาห์แต่ไม่แตกต่างกับช่วง 12 สัปดาห์แต่อย่างเด่นชัด

ในขณะที่กลุ่ม DM พบว่าตัวบ่งชี้สภาวะการอักเสบทั้งสามมีปริมาณสูงขึ้นในช่วง 2-6 สัปดาห์แรก จากนั้นจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกลดลงหลังจากสัปดาห์ที่ 6 และลดต่ำลงเมื่อเข้าสู่ช่วงสัปดาห์ที่ 12

บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลอง

การเหนี่ยวนำให้หนูเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 และการเปลี่ยนแปลงระดับน้ำตาลในเลือดของหนูแต่ละกลุ่มตลอดการศึกษา

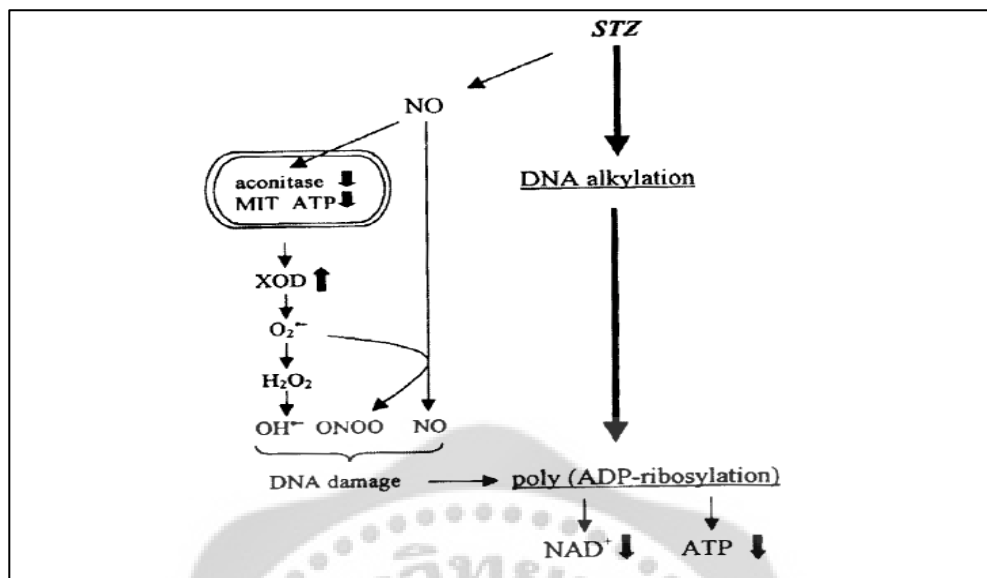
การศึกษานี้มีความสนใจที่จะศึกษาการแสดงออกของสารสื่ออักเสบในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 (DM และ DMPD) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบ (PD) ด้วยเห็นว่าโรคเบาหวานที่เกิดขึ้นในคนส่วนใหญ่มักร้อยละ 90 ของผู้ป่วยเบาหวานทั่วโลกเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 โดยเป็นผลจากความผิดปกติของอินซูลินเองหรือความบกพร่องของตัวรับ ทำให้การทำงานของอินซูลินสูญเสียไปและเกิดภาวะต้านทานต่ออินซูลิน ซึ่งในการวิจัยส่วนใหญ่ที่ผ่านมา ส่วนใหญ่มักทำการศึกษาในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 1 อย่างไรก็ตาม ได้มีผู้เสนอแบบจำลองในสัตว์ทดลองของโรคเบาหวานชนิดที่ 2 และเพื่อค้นหาที่ใช้รักษาให้กับโรคเบาหวาน⁽¹⁰⁴⁻¹⁰⁸⁾ การศึกษานี้จึงทำการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ตามการศึกษาของ Masiello และคณะ⁽¹⁰⁴⁾ โดยการฉีดนิโคตินามายด์ 230 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเข้าบริเวณหน้าท้องหนู และสารสเตريبโตโซโทซิน 65 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเข้าทางหลอดเลือดดำทางหางหนู ผลของการเหนี่ยวนำแสดงให้เห็นว่าจากระดับน้ำตาลในหนูกลุ่มเบาหวาน (DM และ DMPD) จะเริ่มสูงขึ้นอย่างชัดเจนหลังจากเริ่มทำการเหนี่ยวนำประมาณ 3-6 สัปดาห์ หลังจากนั้นจะมีการแกว่งตัวขึ้นลงตลอดระยะเวลาของการศึกษาประกอบกับลักษณะทางกายภาพที่หนูจะปัสสาวะบ่อย ทั้งนี้ความแตกต่างในเรื่องระดับน้ำตาลระหว่างทั้ง DM และ DMPD พบไม่มีความเด่นชัด (กลุ่ม DM ระดับน้ำตาลต่ำสุด 75 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร สูงสุด 143 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรและกลุ่ม DMPD ระดับน้ำตาลต่ำสุด 72 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรและสูงสุด 168 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร) ขณะที่กลุ่ม PD ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมของการศึกษานี้จะมีระดับน้ำตาลที่ต่ำกว่า (ค่าระดับน้ำตาลต่ำสุด 71 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรและสูงสุด 117 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)

จากการศึกษาของ Masiello และคณะพบว่าหนูที่ได้รับการเหนี่ยวนำโดยการฉีดปริมาณของสารทั้งสองที่เหมาะสมจะเป็นแบบจำลองที่ดีของโรคเบาหวานชนิดที่ 2 โดยพบว่าปริมาณของนิโคตินามายด์ 230 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมและสเตريبโตโซโทซิน 65 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสร้างสภาวะของหนูให้มีระดับน้ำตาลในเลือดที่ยาวนานและสูงสุด⁽¹⁰⁴⁾ อย่างไรก็ตามพบว่าระดับน้ำตาลเฉลี่ยของการศึกษานี้ต่ำกว่าค่าเฉลี่ยของ Masiello โดยกลุ่มควบคุมของ Masiello มีระดับน้ำตาลเฉลี่ย 121 ± 3 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรและกลุ่มเบาหวานมีระดับน้ำตาลเฉลี่ย 155 ± 3 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรขณะที่การศึกษานี้

ระดับน้ำตาลเฉลี่ยของกลุ่มควบคุม 12 สัปดาห์ 90 ± 4.4 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรและ 88 ± 4.7 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรขณะที่ระดับน้ำตาลเฉลี่ยของกลุ่มเบาหวาน 12 สัปดาห์ มีค่า 114.31 ± 16.97 , 107.43 ± 13.65 , 94.81 ± 9.56 และ 90.37 ± 10.16 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจเนื่องมาจากวิธีการวัดระดับน้ำตาลในเลือดที่แตกต่างกันโดยการศึกษาของ Masiello และคณะใช้การวัดระดับน้ำตาลในพลาสมาพื้นฐาน (basal plasma glucose) ในหนูซึ่งไม่ได้ทำการอดอาหารเนื่องจากวัตถุประสงค์ของการศึกษาดังกล่าวมุ่งหาความผิดปกติในการทำงานของตับอ่อนในหนูเบาหวานเป็นหลักซึ่งต่างจากการศึกษานี้ที่ใช้การวัดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดหลังอดอาหาร (fasting blood sugar) ซึ่งเป็นมาตรฐานที่ใช้ในการตรวจผู้ป่วยเบาหวาน นอกจากนี้ความแตกต่างในเรื่องชนิดของหนู สายพันธุ์ เพศ รวมถึงอายุของหนูก็สามารถส่งผลต่อระดับน้ำตาลที่สูงขึ้นภายหลังการเหนี่ยวนำได้

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

สเตรปโตโทซินเป็นยาปฏิชีวนะที่สังเคราะห์ได้จากเชื้อแบคทีเรียสเตรปโตไมซิส อะโครโมจีเนส (*streptomyces achromogenes*) ถูกนำมาใช้เพื่อสร้างภาวะเบาหวานในสัตว์ทดลองครั้งแรกในปี 1963 ⁽¹⁰⁹⁾ โดยมีพิษทำลายเบตาเซลล์ของตับอ่อน ⁽¹¹⁰⁾ สารชนิดนี้เมื่อใช้ความเข้มข้นราว 40-60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสามารถสร้างสภาวะของโรคเบาหวานชนิดที่ 1 และคีโตซิสได้เป็นอย่างดี ⁽¹¹¹⁾ กลไกการทำงานของสารนี้พบว่ามีผลต่อดีเอ็นเอในนิวเคลียส โดยเข้ากระตุ้นสารอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะไนตริกออกไซด์ ^(112, 113) เกิดการสร้างคาร์บอนเนียมไอออน (carbonium ion) ซึ่งจะทำให้เกิดปฏิกิริยาอัลคิลเลชัน (alkylation) ^(114, 115) กับสายเบสของดีเอ็นเอนอกจากนี้ยังมีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ของเบตาเซลล์และสามารถทำลายเกลียวของดีเอ็นเอ กระตุ้นโพลีอะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ไรโบซินทีเทส (poly ADP-ribose synthetase) เกิดการทำลายนิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ (NAD⁺) (ภาพประกอบ 39) ซึ่งเป็นโคเอนไซม์ (coenzyme) ที่สำคัญในกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์นำไปสู่การตายของเซลล์ในที่สุด ^(116, 117)



ภาพประกอบ 39 แสดงกลไกของของสเตรปโตโซโทซินในระดับเซลล์โดยเป็นสารตั้งต้นของไนตริกออกไซด์ (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 และยังยากต่อการรักษาหรือควบคุม จึงมีความพยายามในการสร้างแบบจำลองของหนูเบาหวานชนิดที่ 2 เกิดขึ้นอีกหลายรูปแบบ ได้แก่

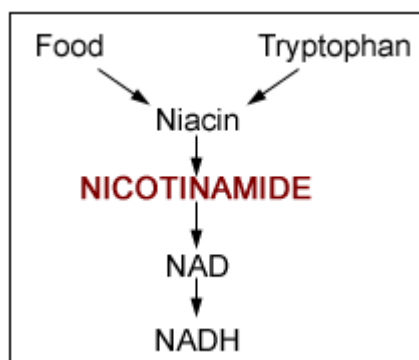
Neonatal streptozotocin-induced rat (n-STZ) เป็นหนึ่งในความพยายามสร้างแบบจำลองหนูเบาหวาน โดยทำการฉีดสเตรปโตโซโทซิน 80-100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเข้าหลอดเลือดดำหรือหน้าท้องของหนูตั้งแต่วัยแรกเกิดโดยแบ่งออกเป็นหลายชนิดทั้งการฉีดสารทันทีที่หนูเกิด

(n0)⁽¹¹⁹⁾, วันที่ 2 (n2)⁽¹²⁰⁾ หรือวันที่ 5 (n5)⁽¹²¹⁾ เป็นต้น โดยมีผลการทดลองที่แสดงว่าแบบจำลองชนิดนี้สามารถสร้างสภาวะของโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ที่คล้ายคลึงกับที่เกิดในมนุษย์ โดยพบความสามารถบรรจุอินซูลินของตับอ่อนลดลงทำให้มีการเพิ่มขึ้นของระดับกลูโคสในกระแสเลือด แต่บางการศึกษาพบว่าแบบจำลองดังกล่าวไม่มีการตอบสนองของกลูโคสต่อยาต้านเบาหวานโกลบูตามายด์ (Tolbutamide)⁽¹²²⁾ และบางการศึกษาพบว่าภาวะน้ำตาลในเลือดสูงเป็นไปเพียงชั่วขณะหนึ่ง^(123, 124) และบางครั้งพบว่าหนูเกิดใหม่อาจเกิดภาวะต้านต่อสเตียรอยด์โตโซโทซิน^(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⁾ หนูดังกล่าวเกิดภาวะต้านต่ออินซูลินในตับและกล้ามเนื้อลาย อย่างไรก็ตาม การที่เบตาเซลล์ของหนูชนิดนี้ไม่ตอบสนองต่อกลูโคส และโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ในมนุษย์ก็ไม่ได้มีความบกพร่องในการแบ่งเซลล์ตั้งแต่กำเนิด จึงทำให้แบบจำลองหนูชนิดนี้มีข้อจำกัดในการเป็นตัวแทนของโรคดังกล่าว⁽¹²⁵⁾

ขณะที่สเตียรอยด์โตโซโทซินเป็นพิษต่อเบตาเซลล์ของตับอ่อน นิโคตินามายด์กลับเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยเป็นกลุ่มวิตามินบีในอาซินที่สามารถต้านฤทธิ์ของสเตียรอยด์โตโซโทซินโดยทำการขจัดสารอนุมูลอิสระ และเมื่อใช้ร่วมกับสเตียรอยด์โตโซโทซิน จึงทำให้เกิดภัยอันตรายต่อเบตาเซลล์เพียงบางส่วน⁽¹²⁷⁾ นิโคตินามายด์เป็นสารตั้งต้นของนิโคตินามายด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ (ภาพประกอบ 40) มีฤทธิ์ต้านต่อโพลีอะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ไรโบซินทิเทส อันเป็นเอนไซม์ที่ทำลายนิโคตินามายด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ซึ่งถูกกระตุ้นโดยสเตียรอยด์โตโซโทซิน^(119, 128)



ภาพประกอบ 40 แสดงที่มาของนิโคตินาไมด์จากวิตามินบี 3 หรือไนอาซิน นิโคตินาไมด์จะเปลี่ยนไปเป็นนิโคตินาไมด์อะดีนีน ไดนิวคลีโอไทด์ ซึ่งเมื่อรับอิเล็กตรอนในกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์จะเปลี่ยนไปเป็นรีดิวซ์ฟอร์ม (NADH)
ดัดแปลงจาก <http://hopes.stanford.edu/treatmts/ebuffer/j3.html>

ประสิทธิภาพของการป้องกันดังกล่าวขึ้นกับความเข้มข้นของสเตียรอยด์โทโทซินและนิโคตินาไมด์ที่ใช้ซึ่งมีการใช้ในความเข้มข้นที่ต่างกันไปในการศึกษาอื่นๆ (104, 120, 129-131)

โดยสรุปแม้ว่าจนถึงปัจจุบันยังไม่มีแบบจำลองหนูเบาหวานใดที่เป็นตัวแทนของโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ได้อย่างสมบูรณ์ หนูเบาหวานที่ได้รับการเหนี่ยวนำโดยการฉีดทั้งสเตียรอยด์โทโทซินและนิโคตินาไมด์ตามการศึกษาของ Masiello และคณะ สามารถกำจัดข้อด้อยของหนูเบาหวานรูปแบบอื่นๆ ก่อนหน้าได้ในหลายประการ โดยพบว่าตอบสนองต่อกลูโคสและตอบสนองต่อยารักษาโรคเบาหวาน เช่น โทลบูทามายด์ หรืออนุพันธ์ของซัลโฟนิลยูเรีย (Sulfonylureas) จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการพบการสร้างอินซูลินในตับอ่อนลดลงคิดเป็นร้อยละ 40 ของลักษณะปกติ นอกจากนี้พบว่าเป็นวิธีที่ง่ายในการเตรียมสภาวะของโรคเรื้อรังที่คงอยู่ยาวนาน จึงสามารถใช้เป็นตัวแทนของโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ในศึกษานี้ได้เป็นอย่างดี (104)

ลักษณะการทำลายเนื้อเยื่อปริทันต์ในหนูแต่ละกลุ่ม

การศึกษานี้เป็นอีกหนึ่งการศึกษาที่แสดงให้เห็นถึงความสำเร็จในการสร้างสภาวะของโรคปริทันต์อักเสบได้ในสัตว์ทดลอง โดยการผูกไหมเพื่อสร้างสภาวะของโรคดังกล่าว มีการศึกษาทั้งในสุนัขและหนูเพื่อปัจจัยที่ทำให้เกิดความรุนแรงของการอักเสบ การศึกษาโรคปริทันต์อักเสบในหนูถูกทดลองครั้งแรกโดย Rovin และคณะในปี 1966 ⁽¹³²⁾ เช่นเดียวกับการศึกษานี้ที่มุ่งผลทั้งในเรื่องการระคายเคืองเฉพาะที่ (local irritation) และการก่อโรคของแบคทีเรียโดยการผูกไหม 4-0 รอบคอฟันกรามบนซี่ที่ 1

จากภาพ H&E พบว่าหนูกลุ่ม PD และ DMPD เกิดการอักเสบบริเวณอวัยวะปริทันต์จนกระทั่งเกิดการทำลายอวัยวะปริทันต์ซึ่งจะทวีความรุนแรงตามระยะเวลาจนเกิดการทำลายอวัยวะรองรับฟันในที่สุด ในหนูที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบ (กลุ่ม PD) พบการละลายตัวของสันกระดูกเบ้าฟันตั้งแต่ช่วง 2 สัปดาห์แรก อีกทั้งยังพบเซลล์อักเสบทั้งโพลีมอร์โฟนิวเคลียร์ลิวโคไซต์เซลล์ โมโนนิวเคลียร์เซลล์ซึ่งเป็นลักษณะเดียวกับกระบวนการอักเสบในมนุษย์ ความรุนแรงของการอักเสบเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาการผูกไหม โดยพบการเคลื่อนที่ของเยื่อบุผิวเชื่อมต่อลงใต้ต่อส่วนเชื่อมต่อซีเมนโตอีนาเมลตั้งแต่ 2 สัปดาห์ ในช่วงสัปดาห์ท้ายๆของการทดลองพบว่าการกระดูกตัวอย่างหนาแน่นของทั้งเซลล์ลิ้มไฟไซต์และออสติโอคลาสต์ซึ่งทำให้เกิดการทำลายกระดูกรุนแรงอย่างมาก

ในการศึกษานี้ไม่สามารถแสดงให้เห็นถึงผลของโรคเบาหวานที่มีต่อความรุนแรงของโรคปริทันต์อักเสบที่เด่นชัดนัก เนื่องจากพบว่าความแตกต่างในด้านความรุนแรงของกระบวนการอักเสบและการทำลายกระดูกระหว่างหนูกลุ่ม DMPD และ PD มีไม่มากนัก ขณะพบว่าหนูในกลุ่ม DM ไม่ปรากฏลักษณะการทำลายอวัยวะปริทันต์ที่รุนแรงใดๆตลอดช่วงการศึกษา อาจเนื่องจากหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 มีระดับน้ำตาลที่ไม่สูงนัก เมื่อเทียบกับการศึกษาอื่นๆก่อนหน้านี้ที่ใช้หนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 1 ซึ่งมักพบการทำลายอวัยวะปริทันต์ที่รุนแรงมากกว่า ⁽³¹⁾ อย่างไรก็ตามมีหลักฐานยืนยันถึงผลกระทบของโรคเบาหวานทั้งสองชนิดที่มีต่อโรคปริทันต์อักเสบ โดยพบว่าระดับน้ำตาลที่สูงขึ้นย่อมเพิ่มความเสี่ยงต่อการเป็นโรคปริทันต์อักเสบเนื่องจากเกิดการเปลี่ยนแปลงในการตอบสนองของภูมิคุ้มกันของร่างกาย ทั้งความบกพร่องของโพลีมอร์โฟนิวเคลียร์เซลล์ การที่โมโนไซต์ มาโครฟาจมีการตอบสนองที่รุนแรงต่อแบคทีเรียโดยการหลั่งสารสื่ออักเสบ ⁽⁴²⁻⁴⁵⁾ ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการฟื้นฟูกระดูก ⁽⁴⁷⁻⁴⁹⁾ การเปลี่ยนแปลงของระบบหลอดเลือดและเมตาบอลิซึมของคอลลาเจนและแอดวานซ์ไกลเคชันเอ็นดีโปรตีนส์ ⁽⁵⁴⁻⁵⁸⁾ เป็นต้น

ผลการแสดงออกของสารสื่ออักเสบทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาตัวชี้วัดภาวะการอักเสบ อันได้แก่ อินดิวิชเบิลไนโตรริกออกไซด์ซินเทส ทุเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาและอินเตอร์ลิวคิน-1 เบตาว่าจะมีการแสดงออกอย่างไรในสัตว์ทดลองที่เป็นเบาหวานที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบ (DMPD) เปรียบเทียบกับสัตว์ที่เป็นโรคเบาหวานเพียงอย่างเดียว (DM) และสัตว์ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบเพียงอย่างเดียว (PD) โดยเป็นการศึกษาแรกที่พยายามแสดงผลในหนูโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีต่อโรคปริทันต์อักเสบผ่านกลไกของสารสื่ออักเสบดังกล่าว ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้ก็พบว่าการแสดงออกของสารสื่ออักเสบทั้งสามชนิดนั้น ต่างก็มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันในหนูทั้ง 3 กลุ่ม

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

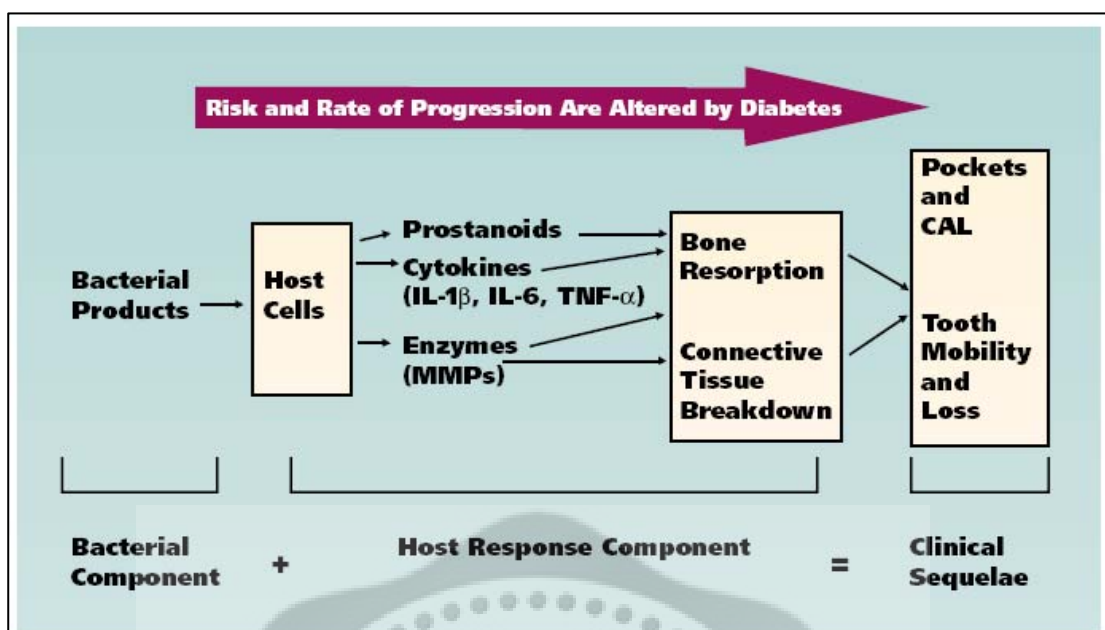
การแสดงออกของสารสื่ออักเสบทั้งสามในกลุ่ม 2 สัปดาห์แรกพบว่ากลุ่ม DM มีการแสดงออกน้อยกว่ากลุ่มอื่นเล็กน้อย แต่เมื่อเวลาผ่านไป 4 ถึง 6 สัปดาห์ การแสดงออกของสารสื่ออักเสบทั้งสามในหนูกลุ่ม DM จึงชัดเจนขึ้น โดยมีปริมาณเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกมากขึ้นจนมีระดับใกล้เคียงกับของหนูกลุ่ม PD และ DMPD จึงเป็นการชี้ให้เห็นถึงสภาวะที่มีการปรับเปลี่ยนตลอดเวลาของการดำเนินไปของโรคเบาหวานซึ่งเป็นโรคเรื้อรังที่แม้ว่าระดับน้ำตาลของกลุ่ม 4 และ 6 สัปดาห์จะมีค่าลดลง แต่กลับยังพบการแสดงออกของสารสื่ออักเสบที่มากขึ้น แต่เมื่อเวลาผ่านไป 12 สัปดาห์ ก็พบการแสดงออกของสารสื่ออักเสบเริ่มมีการลดลง (ภาพประกอบ 36-38) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า เกิดจากมีการฟื้นฟูการทำงานของเบตาเซลล์ในตับอ่อนของหนูทดลอง

แม้ว่าจะพบการแสดงออกของสารสื่ออักเสบในหนูกลุ่ม DM มีระดับเพิ่มสูงขึ้นในกลุ่ม 4 และ 6 สัปดาห์ก็ตาม แต่กลับไม่พบลักษณะการทำลายของกระดูกเบ้าฟันที่รุนแรงในหนูกลุ่มนี้ เท่ากับที่พบการทำลายในหนูอีก 2 กลุ่ม (PD และ DMPD) ที่เป็นเช่นนี้น่าจะเป็นหลักฐานที่แสดงให้เห็นว่าการเกิดการทำลายกระดูกเบ้าฟันในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบหรือในผู้ป่วยที่เป็นทั้งโรคปริทันต์อักเสบและโรคเบาหวานนั้น เริ่มจากพยาธิกำเนิดของโรคจนเกิดการทำลายนั้น น่าจะเป็นผลที่เกิดจากผลกระทบของปัจจัยเฉพาะที่ที่อยู่รอบๆ ฟันหรือบริเวณเนื้อเยื่อปริทันต์มากกว่า ซึ่งจะส่งผลที่เด่นชัดกว่าผลที่เกิดจากปัจจัยทางระบบของภาวะเบาหวาน หรือกล่าวอีกนัยหนึ่ง แสดงว่าในเกิดการทำลายกระดูกเบ้าฟันที่ถือเป็นพยาธิสภาพของโรคปริทันต์อักเสบเป็นผลที่เกิดจากการเกิดการอักเสบเฉพาะที่ (local inflammation) ที่จะต้องมีความรุนแรงที่มากพอ เช่นจากการสะสมของแบคทีเรียที่มีความเป็นพิษ หรือ

จากสิ่งกระตุ้นจากภายนอก เช่นเดียวกับการระคายเคืองของการผูกด้วยไหมรอบซี่ฟัน และไหมที่ตกค้างอยู่ในซอกฟันเป็นเวลาที่มากพอเท่านั้น มากกว่าที่จะสามารถเกิดขึ้นได้เองจากเพียงการมีการอักเสบทางระบบ (systemic inflammation)

การศึกษานี้พยายามแสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีต่อโรคปริทันต์อักเสบผ่านทางบทบาทของสารสื่ออักเสบทั้งสาม โดยหนูกลุ่ม DMPD มีการแสดงออกที่เพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาทำให้เชื่อได้ว่าภาวะของโรคเบาหวานมีผลต่อความรุนแรงของโรคปริทันต์อักเสบผ่านสารสื่ออักเสบไม่มากนักน้อย 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) ทุมเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟาถูกกล่าวถึงว่าสัมพันธ์กับภาวะการต้านต่ออินซูลิน⁽¹³⁵⁾ โดยมีฤทธิ์ต้านทานเอนไซม์ไทโรซีนไคเนส (tyrosine kinase) ของตัวรับของอินซูลิน^(136, 137), โรคเบาหวาน^(138, 139) และสัมพันธ์กับโรคปริทันต์อักเสบ⁽¹⁴⁰⁾ โดยพบสารสื่ออักเสบดังกล่าวในโรคเบาหวานที่สัมพันธ์กับโรคปริทันต์อักเสบอยู่ในระดับสูง เชื่อว่าเกิดจากภาวะเบาหวานอาจกระตุ้นให้เซลล์โมโนไซต์ในผู้ป่วยมีการหลั่งทุมเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟามากขึ้นเมื่อมีการกระตุ้นจากเชื้อแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์อักเสบ⁽⁴²⁾ นอกจากนี้ในสภาวะเบาหวาน คอลลาเจนในร่างกายจะเกิดการสะสมในรูปแอดวานซ์ไกลเคชั่นเอ็นดีโปรตีนซึ่งเข้าจับได้ง่ายกับเซลล์มาโครฟาจ โมโนไซต์และเซลล์บุหลอดเลือดซึ่งกระตุ้นการหลั่งสารสื่ออักเสบ อาทิ อินเตอร์ลิวคิน-1 เบตา ทุมเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา รวมถึงเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรทีเนสซึ่งกระตุ้นกระบวนการอักเสบจนสามารถสร้างภัยอันตรายต่ออวัยวะปริทันต์ได้⁽¹⁴¹⁾ (ภาพประกอบ 41)



ภาพประกอบ 41 แสดงปัจจัยในเรื่องราวการเสื่อมของโรคเบาหวานที่สร้างความรุนแรงต่อโรคปริทันต์อักเสบ

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⁾

ขณะที่อินดิวิเดิลไนตริกออกไซด์ซินเทสหรือไนตริกออกไซด์เป็นสารอนุมูลอิสระซึ่งมีการศึกษาพบว่าเมื่อถูกกระตุ้นจากภาวะโรคปริทันต์อักเสบส่งผลให้เซลล์อักเสบสามารถหลั่งไนตริกออกไซด์ได้ทั้ง in vitro และ in vivo สอดคล้องกับในการศึกษานี้ที่ใช้กระบวนการทางภูมิคุ้มโนซิสโตเคมีพบการแสดงออกของทั้งโมโนนิวเคลียร์เซลล์ ลิมโฟไซต์และพอลิมอร์โฟนิวเคลียร์เซลล์ในชั้นเหงือกหนูกที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคปริทันต์อักเสบ ขณะที่การศึกษาของ Lappin และคณะพบการแสดงออกของมาโครฟาจและเซลล์บุหลอดเลือดในชั้นเหงือกของผู้ป่วยที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบ⁽²⁸⁾ และ Batista และคณะพบว่าพอลิมอร์โฟนิวเคลียร์ลิวโคไซต์เซลล์เป็นเซลล์สำคัญที่หลั่งไนตริกออกไซด์ในโรคปริทันต์อักเสบในมนุษย์⁽¹⁵⁾ เช่นเดียวกับในภาวะเบาหวานที่พบว่าไนตริกออกไซด์มีส่วนในพยาธิกำเนิดของโรคในหลายๆการศึกษา^(24-26, 91, 92) อย่างไรก็ตามมีเพียงการศึกษาของ Skaleric และคณะ (2006)⁽¹⁰³⁾ ที่ศึกษาการแสดงออกของอินดิวิเดิลไนตริกออกไซด์ซินเทสทางภูมิคุ้มโนซิสโตเคมีและพบว่าระดับไนตริกออกไซด์ด้วยวิธีภูมิโนฟลูออเรสเซนส์ (immunofluorescence) ในน้ำเหลืองเหงือกของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 ร่วมกับโรคปริทันต์อักเสบสูงกว่ากลุ่มควบคุม

การศึกษานี้จึงเป็นการศึกษาแรกที่มุ่งหาแนวโน้มและความสัมพันธ์ของไนตริกออกไซด์ในภาวะโรคเบาหวานชนิดที่ 2 อันเกิดส่วนใหญ่ในมนุษย์ร่วมกับโรคปริทันต์อักเสบในสัตว์ทดลองโดยติดตามการเพิ่มระดับความรุนแรงเป็นระยะเวลาถึง 16 สัปดาห์ โดยใช้กระบวนการทางอิมมูโนฮิสโตเคมีและเปรียบเทียบกับสารสื่ออักเสบที่มีการศึกษาแล้วว่ามียบทบาทในโรคเบาหวานที่สัมพันธ์กับโรคปริทันต์อักเสบ

ซึ่งโดยสรุปแล้วการศึกษานี้แม้ว่าไม่สามารถแสดงให้เห็นถึงผลของโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีต่อภาวะความรุนแรงในโรคปริทันต์อักเสบผ่านทางสารสื่ออักเสบทั้งสามได้ชัดเจนนัก แต่ผลของการศึกษานี้รวมถึงหลักฐานจากการศึกษาอื่นๆทำให้เชื่อได้ถึงผลของภาวะโรคดังกล่าวที่มีต่อโรคปริทันต์อักเสบผ่านกลไกของสารสื่ออักเสบทั้งสามจึงเป็นแนวทางในการค้นหาวิธีการรักษาภาวะความรุนแรงของโรคทั้งสองโดยการค้นหาเพื่อต้านสารสื่ออักเสบทั้งสามในอนาคต

มีเนื้อหาที่ควรนำมาพิจารณาเพื่อปรับปรุงแก้ไขในเรื่องเทคนิคของการเหนี่ยวนำโรคเบาหวานซึ่งมีความแตกต่างในเรื่องขนาดของยาในหลายการศึกษา เทคนิคในการผูกไหมในบางการศึกษามีการเคลือบสารที่มีเชื้อแบคทีเรียลงบนไหมเพื่อเพิ่มความรุนแรงของโรคโดยใช้เชื้อแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์ ได้แก่ พอร์ไฟโรโมแนส จิงจีวาลิส (*P. gingivalis*) ⁽⁴⁸⁾ รวมถึงประเด็นในเรื่องกลุ่มตัวอย่างที่ควรเพิ่มจำนวนในการศึกษาครั้งต่อไป

ในกระบวนการทางอิมมูโนฮิสโตเคมี ในเรื่องการนับเซลล์การศึกษานี้ใช้การนับแบบ manual โดยนับต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ ที่กำลังขยาย 40 เท่า โดยไม่นับเซลล์ไฟโบรบลาสต์เนื่องจากไม่ใช่เซลล์ในกระบวนการอักเสบ ซึ่งวิธีดังกล่าวอาจมีข้อผิดพลาดในเรื่องการระบุเซลล์ซึ่งการศึกษาต่อไปควรได้รับการแก้ไขด้วยการทำ double staining เพื่อความแม่นยำยิ่งขึ้นในการระบุเซลล์



บรรณานุกรม

1. Lalla RV, D'Ambrosio JA. Dental management considerations for the patient with diabetes mellitus. J Am Dent Assoc. 2001 Oct;132(10):1425-32.
2. World health organization. Diabetes [Serial online]. 2006 September. Retrived June 7, 2007, from URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/index.html>.
3. Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. J Periodontol. 1992 Apr;63(4 Suppl):322-31.
4. ชนินทร์ เตชะประเสริฐวิทยา.โรคปริทันต์และกระบวนการรักษา.กรุงเทพฯ:เเยียร์บุ๊กพับลิช เซอร์;2544.
5. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. J Periodontol. 2003 Mar;74(3):391-401.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. Preiss DS, Meyle J. Interleukin-1 beta concentration of gingival crevicular fluid. J Periodontol. 1994 May;65(5):423-8.
10. 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.
11. Yavuzylmaz 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.
12. Kendall HK, Marshall RI, Bartold PM. Nitric oxide and tissue destruction. Oral Dis. 2001 Jan;7(1):2-10.

13. Brennan PA, Thomas GJ, Langdon JD. The role of nitric oxide in oral diseases. *Arch Oral Biol.* 2003 Feb;48(2):93-100.
14. Southan GJ, Szabo C. Selective pharmacological inhibition of distinct nitric oxide synthase isoforms. *Biochem Pharmacol.* 1996 Feb 23;51(4):383-94.
15. 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.
16. Lohinai Z, Benedek P, Feher E, Gyorfi 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.
17. Murrell GA, Jang D, Williams RJ. Nitric oxide activates metalloprotease enzymes in articular cartilage. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995 Jan 5;206(1):15-21.
18. Boughton-Smith NK, Evans SM, Hawkey CJ, Cole AT, Balsitis M, Whittle BJ, et al. Nitric oxide synthase activity in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Lancet.* 1993 Aug 7;342(8867):338-40.
19. Middleton SJ, Shorthouse M, Hunter JO. Increased nitric oxide synthesis in ulcerative colitis. *Lancet.* 1993 Feb 20;341(8843):465-6.
20. Bruch-Gerharz D, Ruzicka T, Kolb-Bachofen V. Nitric oxide in human skin: current status and future prospects. *J Invest Dermatol.* 1998 Jan;110(1):1-7.
21. Taskiran D, Stefanovic-Racic M, Georgescu H, Evans C. Nitric oxide mediates suppression of cartilage proteoglycan synthesis by interleukin-1. *Biochem Biophys Res Commun.* 1994 Apr 15;200(1):142-8.
22. Okamoto T, Akaike T, Nagano T, Miyajima S, Suga M, Ando M, et al. Activation of human neutrophil procollagenase by nitrogen dioxide and peroxynitrite: a novel mechanism for procollagenase activation involving nitric oxide. *Arch Biochem Biophys.* 1997 Jun 15;342(2):261-74.
23. Gansauge S, Gansauge F, Nussler AK, Rau B, Poch B, Schoenberg MH, et al. Exogenous, but not endogenous, nitric oxide increases proliferation rates in senescent human fibroblasts. *FEBS Lett.* 1997 Jun 30;410(2-3):160-4.

24. 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.
25. 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.
26. Kaneki M, Shimizu N, Yamada D, Chang K. Nitrosative stress and pathogenesis of insulin resistance. *Antioxid Redox Signal*. 2007 Mar;9(3):319-29.
27. 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.
28. Lappin DF, Kjeldsen M, Sander L, Kinane DF. Inducible nitric oxide synthase expression in periodontitis. *J Periodontal Res*. 2000 Dec;35(6):369-73.
29. Mealey B. Diabetes and periodontal diseases. *J Periodontol*. 1999 Aug;70(8):935-49.
30. Mealey BL, Oates TW. Diabetes mellitus and periodontal diseases. *J Periodontol*. 2006 Aug;77(8):1289-303.
31. 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
32. Gaspiric 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.
33. 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.
34. 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.
35. Ceriello A. Oxidative stress and diabetes-associated complications. *Endocr Pract*. 2006 Jan-Feb;12 Suppl 1:60-2.

36. 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.
37. Clinic Online by World Medic. เบาหวาน (ออนไลน์); เปิดเมื่อวันที่ 7 มิถุนายน 2550, จาก URL: <http://www.clinic.worldmedic.com/disease/endo1.html>
38. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การกีฬา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. โรคเบาหวาน (ออนไลน์); เปิดเมื่อวันที่ 3 พฤษภาคม 2550, จาก URL: <http://sportsci.swu.ac.th/EXP/diabete/1.htm>.
39. International Diabetes Federation. Diabetes epidemic out of control. 19th world diabetes congress, 2006 december 4; Cape Town, South Africa. 2006.
40. 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
41. สำนักงานกองทุนสร้างเสริมสุขภาพ. หมอเตือนอายุ 35 ขึ้นไปควรตรวจ "โรคเบาหวาน" (ออนไลน์); เปิดเมื่อวันที่ 5 พฤษภาคม 2550, จาก URL: <http://www.thaihealth.or.th/cms/detail.php?id=702>
42. 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.
43. 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.
44. 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.
45. 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.

46. 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.
47. 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.
48. 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.
49. 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.
50. 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.
51. 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.
52. 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.
53. 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.
54. Weringer EJ, Arquilla ER. Wound healing in normal and diabetic Chinese hamsters. *Diabetologia*. 1981 Oct;21(4):394-401.
55. 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.

56. 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.
57. 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.
58. 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.
59. 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.
60. 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.
61. Chiarelli F, Santilli F, Mohn A. Role of growth factors in the development of diabetic complications. *Horm Res*. 2000;53(2):53-67.
62. Paques M, Massin P, Gaudric A. Growth factors and diabetic retinopathy. *Diabetes Metab*. 1997 Apr;23(2):125-30.
63. 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.
64. 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.
65. 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.

66. 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.
67. 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.
68. 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.
69. 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.
70. Grossi SG, Genco RJ. Periodontal disease and diabetes mellitus: a two-way relationship. *Ann Periodontol*. 1998 Jul;3(1):51-61.
71. 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.
72. 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.
73. Williams RC, Jr., Mahan CJ. Periodontal disease and diabetes in young adults. *Jama*. 1960 Feb 20;172:776-8.
74. 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.
75. 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.

76. 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.
77. 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.
78. Taylor GW. The effect of periodontal treatment on diabetes. *J Am Dent Assoc.* 2003 Oct;134:41-8.
79. McKenna SJ. Dental management of patients with diabetes. *Dent Clin North Am.* 2006 Oct;50(4):591-606, vii.
80. 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.
81. 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.
82. 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.
83. 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.
84. 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.
85. 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.

86. Lopez NJ, Jara L, Valenzuela CY. Association of interleukin-1 polymorphisms with periodontal disease. *J Periodontol.* 2005 Feb;76(2):234-43.
87. 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.
88. 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.
89. Dinarello CA. Therapeutic strategies to reduce IL-1 activity in treating local and systemic inflammation. *Curr Opin Pharmacol.* 2004 Aug;4(4):378-85.
90. Levine SJ. Mechanisms of soluble cytokine receptor generation. *J Immunol.* 2004 Nov 1;173(9):5343-8.
91. 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.
92. 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.
93. 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.
94. 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.
95. Frolov I, Houry-Hadad Y, Soskolne A, Shapira L. In vivo exposure to *Porphyromonas gingivalis* up-regulates nitric oxide but suppresses tumour necrosis factor- α production by cultured macrophages. *Immunology.* 1998 Mar;93(3):323-8.
96. 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.
97. 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.

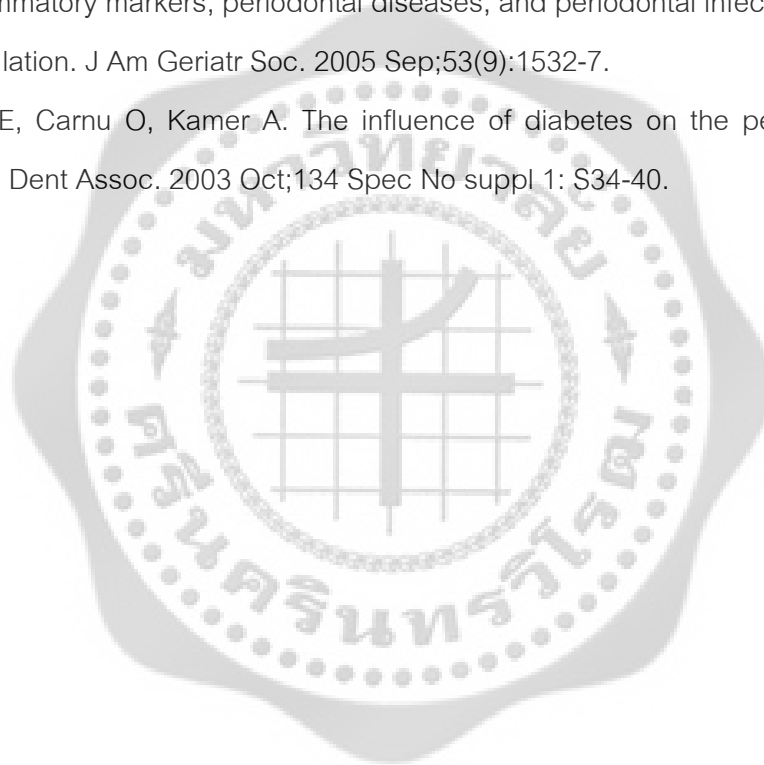
98. Gullu C, Ozmeric N, Tokman B, Elgun S, Balos K. Effectiveness of scaling and root planing versus modified Widman flap on nitric oxide synthase and arginase activity in patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res.* 2005 Apr;40(2):168-75.
99. Leitaó RF, Ribeiro RA, Chaves HV, Rocha FA, 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.
100. 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.
101. 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.
102. Engebretson S, Chertog R, Nichols A, Hey-Hadavi J, Celenti R, Grbic J. Plasma levels of tumour necrosis factor-alpha in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes. *J Clin Periodontol.* 2007 Jan;34(1):18-24.
103. Skaleric U, Gaspirc B, McCartney-Francis N, Masera A, Wahl SM. Proinflammatory and antimicrobial nitric oxide in gingival fluid of diabetic patients with periodontal disease. *Infect Immun.* 2006 Dec;74(12):7010-3.
104. Masiello P, Broca C, Gross R, Roye M, Manteghetti M, Hillaire-Buys D, et al. Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. *Diabetes.* 1998 Feb;47(2):224-9.
105. Arulmozhi DK, Kurian R, Bodhankar SL, Veeranjanyulu A. Metabolic effects of various antidiabetic and hypolipidaemic agents on a high-fat diet and multiple low-dose streptozocin (MLDS) mouse model of diabetes. *J Pharm Pharmacol.* 2008 Sep;60(9):1167-73.
106. Murugan P, Pari L. Antioxidant effect of tetrahydrocurcumin in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Life Sci.* 2006 Sep 27;79(18):1720-8.

107. Masiello P, Novelli M, Fierabracci V, Bergamini E. Protection by 3-aminobenzamide and nicotinamide against streptozotocin-induced beta-cell toxicity in vivo and in vitro. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*. 1990 Jul;69(1):17-32.
108. Pari L, Ashokkumar N. Effect of N-benzoyl-D-phenylalanine, a new potential oral antidiabetic agent, in neonatal streptozotocin-induced diabetes in rats. *Pharmacol Rep*. 2005 Jul-Aug;57(4):498-503.
109. Rakieten N, Rakieten ML, Nadkarni MV. Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917). *Cancer Chemother Rep*. 1963 May;29:91-8.
110. Junod A, Lambert AE, Orci L, Pictet R, Gonet AE, Renold AE. Studies of the diabetogenic action of streptozotocin. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1967 Oct;126(1):201-5.
111. Ganda OP, Rossini AA, Like AA. Studies on streptozotocin diabetes. *Diabetes*. 1976 Jul;25(7):595-603.
112. Kroncke KD, Fehsel K, Sommer A, Rodriguez ML, Kolb-Bachofen V. Nitric oxide generation during cellular metabolism of the diabetogenic N-methyl-N-nitroso-urea streptozotocin contributes to islet cell DNA damage. *Biol Chem Hoppe Seyler*. 1995 Mar;376(3):179-85.
113. Turk J, Corbett JA, Ramanadham S, Bohrer A, McDaniel ML. Biochemical evidence for nitric oxide formation from streptozotocin in isolated pancreatic islets. *Biochem Biophys Res Commun*. 1993 Dec 30;197(3):1458-64.
114. Elsner M, Guldbakke B, Tiedge M, Munday R, Lenzen S. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin. *Diabetologia*. 2000 Dec;43(12):1528-33.
115. Delaney CA, Dunger A, Di Matteo M, Cunningham JM, Green MH, Green IC. Comparison of inhibition of glucose-stimulated insulin secretion in rat islets of Langerhans by streptozotocin and methyl and ethyl nitrosoureas and methanesulphonates. Lack of correlation with nitric oxide-releasing or O6-alkylating ability. *Biochem Pharmacol*. 1995 Dec 22;50(12):2015-20.

116. Portha B, Blondel O, Serradas P, McEvoy R, Giroix MH, Kergoat M, et al. The rat models of non-insulin dependent diabetes induced by neonatal streptozotocin. *Diabetes Metab.* 1989 Mar-Apr;15(2):61-75.
117. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res.* 2001;50(6):537-46.
118. Arulmozhi DK, Veeranjanyulu A, Bodhankar SL. Neonatal streptozotocin-induced rat model of Type 2 diabetes mellitus: A glance. *Indian J Pharmacol* 2004;36(4):217-21.
119. Okamoto H. Regulation of proinsulin synthesis in pancreatic islets and a new aspect to insulin dependant diabetes. *Mol Cell Biochem* 1981;37:43-61.
120. Novelli M, Fabregat ME, Fernandez-Alvarez J, Gomis R, Masiello P. Metabolic and functional studies on isolated islets in a new rat model of type 2 diabetes. *Mol Cell Endocrinol.* 2001 Apr 25;175(1-2):57-66.
121. Portha B, Picolon L, Rosselin G. Chemical diabetes in the adult rat as the spontaneous evolution of neonatal diabetes. *Diabetologia.* 1979;17:371-7.
122. Weir GC, Clore ET, Zmachinski CJ, Bonner-Weir S. Islet secretion in a new experimental model for non-insulin-dependent diabetes. *Diabetes.* 1981 Jul;30(7):590-5.
123. Junod A, Lambert AE, Stauffacher W, Renold AE. Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. *J Clin Invest.* 1969 Nov;48(11):2129-39.
124. Blondel O, Bailbe D, Portha B. Relation of insulin deficiency to impaired insulin action in NIDDM adult rats given streptozocin as neonates. *Diabetes.* 1989 May;38(5):610-7.
125. Cefalu WT. Animal models of type 2 diabetes: clinical presentation and pathophysiological relevance to the human condition. *Ilar J.* 2006;47(3):186-98.
126. Portha B, Giroix MH, Serradas P, Gangnerau MN, Movassat J, Rajas F, et al. beta-cell function and viability in the spontaneously diabetic GK rat: information from the GK/Par colony. *Diabetes.* 2001 Feb;50 Suppl 1:S89-93.
127. Srinivasan K, Ramarao P. Animal models in type 2 diabetes research: an overview. *Indian J Med Res.* 2007 Mar;125(3):451-72.

128. Yamamoto H, Uchigata Y, Okamoto H. Streptozotocin and alloxan induce DNA strand breaks and poly(ADP-ribose) synthetase in pancreatic islets. *Nature*. 1981 Nov 19;294(5838):284-6.
129. Larsen MO, Rolin B, Wilken M, Carr RD, Gotfredsen CF. Measurements of insulin secretory capacity and glucose tolerance to predict pancreatic beta-cell mass in vivo in the nicotinamide/streptozotocin Gottingen minipig, a model of moderate insulin deficiency and diabetes. *Diabetes*. 2003 Jan;52(1):118-23.
130. Fierabracci V, De Tata V, Pocai A, Novelli M, Barbera A, Masiello P. Oral tungstate treatment improves only transiently alteration of glucose metabolism in a new rat model of type 2 diabetes. *Endocrine*. 2002 Nov;19(2):177-84.
131. Kuntz E, Pinget M, Damge P. Cholecystokinin octapeptide: a potential growth factor for pancreatic beta cells in diabetic rats. *Jop*. 2004 Nov;5(6):464-75.
132. Rovin S, Costich ER, Gordon HA. The influence of bacteria and irritation in the initiation of periodontal disease in germfree and conventional rats. *J Periodontal Res*. 1966;1(3):193-204.
133. 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.
134. Duarte PM, de Oliveira MC, Tambeli CH, Parada CA, Casati MZ, Nociti FH, Jr. Overexpression of interleukin-1beta and interleukin-6 may play an important role in periodontal breakdown in type 2 diabetic patients. *J Periodontal Res*. 2007 Aug;42(4):377-81.
135. Mishima Y, Kuyama A, Tada A, Takahashi K, Ishioka T, Kibata M. Relationship between serum tumor necrosis factor-alpha and insulin resistance in obese men with Type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. 2001 May;52(2):119-23.
136. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*. 1993 Jan 1;259(5091):87-91.
137. Hotamisligil GS. Mechanisms of TNF-alpha-induced insulin resistance. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 1999;107(2):119-25.

138. Lechleitner M, Herold M, Dzien-Bischinger C, Hoppichler F, Dzien A. Tumour necrosis factor-alpha plasma levels in elderly patients with Type 2 diabetes mellitus-observations over 2 years. *Diabet Med*. 2002 Nov;19(11):949-53.
139. Spranger J, Kroke A, Mohlig M, Hoffmann K, Bergmann MM, Ristow M, et al. Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. *Diabetes*. 2003 Mar;52(3):812-7.
140. Bretz WA, Weyant RJ, Corby PM, Ren D, Weissfeld L, Kritchevsky SB, et al. Systemic inflammatory markers, periodontal diseases, and periodontal infections in an elderly population. *J Am Geriatr Soc*. 2005 Sep;53(9):1532-7.
141. Ryan ME, Carnu O, Kamer A. The influence of diabetes on the periodontal tissues. *J Am Dent Assoc*. 2003 Oct;134 Spec No suppl 1: S34-40.





ภาคผนวก

ระดับน้ำตาลในเลือด (FBS) ของหนูแต่ละตัวทั้ง 16 สัปดาห์ของการทดลองหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อ

เดซิลิตร

กลุ่ม	สัปดาห์ ที่	1	2	3	4	5	6	7	8
	หนูตัวที่	9/11/2550	19/11/50	26/11/2550	1/12/2550	8/12/2550	14/12/2550	22/12/2550	29/12/2550
PD	1*	95							
	2	117	84	81	83	92	87	90	95
	3	107	91	88	84	88	90	sacrifice	sacrifice
	4	106	89	91	84	84	91	sacrifice	sacrifice
	5	78	93	78	81	72	84	81	85
	6	83	71	78	91	73	87	84	90
	7	92	95	90	96	96	91	89	91
	8*	93	90						
	9	100	85	85	96	81	87	84	85
	10	80	90	87	87	91	91	91	95
DM	20	83	100	105	103	139	143	120	120
	14	95	82	95	121	137	151	115	119
	33	90	78	110	103	91	103	100	108
	11	87	96	81	84	88	106	100	85
	15	95	85	86	97	89	105	sacrifice	sacrifice
	24	106	75	93	93	114	134	117	100
	25	104	83	88	103	105	116	95	91
	28	90	95	107	95	107	107	95	100
	31	89	80	81	77	121	97	87	95
	36	95	81	93	76	90	109	sacrifice	sacrifice
DMPD	19	94	168	110	142	135	154	120	117
	13	90	105	105	120	82	167	130	87
	29	87	97	105	110	102	106	103	113
	12	121	84	95	88	95	122	107	110
	16	91	103	88	87	102	106	87	116
	18	80	99	103	75	91	91	sacrifice	sacrifice
	21	111	92	87	108	106	104	105	109
	23	122	78	87	83	119	110	sacrifice	sacrifice
	30	87	83	70	62	82	143	95	99
	38	106	80	74	72	91	102	83	95

*หนูตายระหว่างการทดลอง

ระดับน้ำตาลในเลือด (FBS) ของหนูแต่ละตัวทั้ง 16 สัปดาห์ของการทดลองหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อ
เดซิลิตร(ต่อ)

กลุ่ม	สัปดาห์ ที่	9	10	11	12	13	14	15	16
	หนูตัวที่	5/1/2551	12/1/2551	19/1/2551	26/1/2551	2/2/2551	9/2/2551	16/2/2551	22/2/2551
PD	1*								
	2	95	95s	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	3	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	4	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	5	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	6	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	7	95	90	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	8*								
	9	90	87	91	90	87	90	85	90
	10	96	95	95	91	95	90	95	85
DM	20	139	106	122	91	125	114	121	108
	14	104	99	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	33	101	94	101	82	92	85	83	96
	11	75	80	91	77	95	110	99	92
	15	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	24	114	109	109	100	110	110	125	110
	25	95	102s	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	28	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	31	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	36	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
DMPD	19	97	124	114	99	115	120	111	115
	13	109	81	105	85	119	100	84	91
	29	123	116	121	99	133	99	120	119
	12	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	16	96	102	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	18	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	21	96	107	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	23	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	30	134	95	95	97	118	93	105	87
	38	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice

*หนูตายระหว่างการทดลอง

ค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาลในเลือด (FBS) ของหนูแต่ละตัวแบ่งตามกลุ่มหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

Descriptive Statistics

PD						
Rat no.	Group	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation	Variance
8*	dead*	90	93	91.5	2.12132	4.5
3	2 wk	84	107	91.3333	8.04156	64.667
4	2 wk	84	106	90.8333	8.08497	65.367
5	4 wk	72	93	81.5	6.16441	38
6	4 wk	71	91	80.75	8.08438	65.357
2	6 wk	81	117	91.9	10.25725	105.211
7	6 wk	89	96	92.5	2.71825	7.389
9	12 wk	81	100	88.3125	4.7289	22.363
10	12 wk	80	96	90.875	4.44035	19.717

* หนูตายระหว่างการทดลอง

Descriptive Statistics

DM						
Rat no.	Group	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation	Variance
15	2 wk	85	105	92.8333	7.65289	58.567
36	2 wk	76	109	90.6667	11.57008	133.867
28	4 wk	90	107	99.5	6.76123	45.714
31	4 wk	77	121	90.875	14.08583	198.411
14	6 wk	82	151	111.8	21.07025	443.956
25	6 wk	83	116	97.5	9.61769	92.5
20	12 wk	83	143	114.3125	16.97731	288.229
24	12 wk	75	134	107.4375	13.65757	186.529
33	12 wk	78	110	94.8125	9.56535	91.496
11	12 wk	75	110	90.375	10.16448	103.317

ค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาลในเลือด (FBS) ของหนูแต่ละตัวแบ่งตามกลุ่มหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อเดซิลิตร(ต่อ)

Descriptive Statistics

DMPD						
Rat no.	Group	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation	Variance
18	2 wk	75	103	89.8333	10.74089	115.367
23	2 wk	78	122	99.8333	19.42593	377.367
12	4 wk	84	122	102.75	14.4593	209.071
38	4 wk	72	106	87.875	12.64276	159.839
16	6 wk	87	116	97.8	9.65862	93.289
21	6 wk	87	111	102.5	8.01734	64.278
13	12 wk	81	167	103.75	22.50481	506.467
30	12 wk	62	143	96.5625	20.96654	439.596
19	12 wk	94	168	120.9375	20.1543	406.196
29	12 wk	87	133	109.5625	11.93297	142.396

น้ำหนักหนูแต่ละตัว (กรัม) แบ่งตามกลุ่ม

กรงที่	สัปดาห์ ที่	1	5	6	7	9	11	14	16
	หนูตัวที่	9/11/2550	8/12/2550	14/12/2550	22/12/2550	5/1/2551	19/1/2551	9/2/2551	22/2/2551
PD	1*	220	DEAD	DEAD	DEAD	DEAD	DEAD	DEAD	DEAD
	2	222	309	330	346	365	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	3	235	310	350	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	4	220	313	345	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	5	238	315	345	360	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	6	211	283	315	330	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	7	211	300	305	329	350	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	8	273	DEAD	DEAD	DEAD	DEAD	DEAD	DEAD	DEAD
	9	229	340	350	360	375	425	510	550
	10	238	315	325	337	370	415	470	525
DM	20	223	309	320	336	375	403	435	470
	14	230	320	340	360	375	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	33	236	336	350	380	425	450	493	530
	11	223	320	340	357	405	420	445	503
	15	220	313	325	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	24	224	313	340	357	405	430	445	475
	25	222	315	337	351	385	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	28	230	355	383	399	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	31	239	300	310	325	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	36	217	340	360	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice

* หนูตายระหว่างการทดลอง

น้ำหนักหนูแต่ละตัว (กรัม) แบ่งตามกลุ่ม (ต่อ)

กรงที่	สัปดาห์ที่	1	5	6	7	9	11	14	16
	หนูตัวที่	9/11/2550	8/12/2550	14/12/2550	22/12/2550	5/1/2551	19/1/2551	9/2/2551	22/2/2551
DMPD	19	245	285	320	338	375	405	450	480
	13	232	275	297	313	355	395	425	480
	29	278	362	377	395	425	445	485	540
	12	236	300	327	353	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	16	226	315	350	380	428	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	18	227	290	317	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	21	230	325	345	363	405	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	23	239	325	356	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice
	30	267	340	360	380	420	470	495	535
	38	220	280	310	320	sacrifice	sacrifice	sacrifice	sacrifice



จำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกในแต่ละสไลด์โดยระบุจำนวนเซลล์ในทั้งสอง hot spot แบ่งตาม
แอนติบอดี

IL-1 2 Week		Slide ที่ 1			Slide ที่ 2			
ตัวที่		HS1.1	HS1.2	เฉลี่ย slide 1	HS2.1	HS2.2	เฉลี่ย slide 2	เฉลี่ย 2 slide
4	4PD	40	38	39	39	31	35	37
15	15DM	14	10	12	12	8	10	11
36	36DM	18	14	16	17	15	16	16
18	18DMPD	30	34	32	34	26	30	31
23	23DMPD	40	30	35	22	40	31	33

IL-1 4 Week		Slide ที่ 1			Slide ที่ 2			
ตัวที่		HS1.1	HS1.2	เฉลี่ย slide 1	HS2.1	HS2.2	เฉลี่ย slide 2	เฉลี่ย 2 slide
5	5PD	18	16	17	20	24	22	18
6	6PD	47	41	44	40	32	36	40
28	28DM	15	0	15	19	0	19	17
31	31DM	34	16	20	34	18	26	23
12	12DMPD	31	15	23	39	15	27	25
38	38DMPD	27	13	20	36	24	30	25

IL-1 6 Week		Slide ที่ 1			Slide ที่ 2			
ตัวที่		HS1.1	HS1.2	เฉลี่ย slide 1	HS2.1	HS2.2	เฉลี่ย slide 2	เฉลี่ย 2 slide
2	2PD	42	28	35	44	30	37	36
7	7PD	28	32	30	34	30	32	31
25	25DM	40	0	40	28	0	28	34
14	14DM	23	0	23	27	0	27	25
16	16DMPD	32	38	35	28	38	33	34
21	21DMPD	42	30	36	48	32	40	38

IL-1 12 Week		Slide ที่ 1			Slide ที่ 2			
ตัวที่		HS1.1	HS1.2	เฉลี่ย slide 1	HS2.1	HS2.2	เฉลี่ย slide 2	เฉลี่ย 2 slide
9	9PD	30	18	24	34	16	25	27
10	10PD	52	32	42	48	52	50	46
20	20DM	7	0	7	9	0	9	8
11	11DM	32	24	28	28	16	22	25
24	24DM	16	0	16	22	0	22	19
19	19DMPD	38	32	35	37	25	31	33
29	29DMPD	40	36	38	35	33	34	36

จำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกในแต่ละสไลด์โดยระบุจำนวนเซลล์ในทั้งสอง hot spot แบ่งตามแอนติบอดี (ต่อ)

TNF 2 Week		Slide ที่ 1			Slide ที่ 2			
ตัวที่		HS1.1	HS1.2	เฉลี่ย slide 1	HS2.1	HS2.2	เฉลี่ย slide 2	เฉลี่ย 2 slide
4	4PD	64	50	57	50	54	47	47
15	15DM	14	12	13	9	9	9	12
36	36DM	20	16	18	24	20	22	20
18	18DMPD	30	18	24	18	22	20	22
23	23DMPD	40	34	37	40	35	30	36

TNF 4 Week		Slide ที่ 1			Slide ที่ 2			
ตัวที่		HS1.1	HS1.2	เฉลี่ย slide 1	HS2.1	HS2.2	เฉลี่ย slide 2	เฉลี่ย 2 slide
5	5PD	35	37	32	40	24	32	32
6	6PD	30	26	28	40	28	34	31
28	28DM	12	0	12	12	0	12	12
31	31DM	32	28	30	35	33	34	32
12	12DMPD	41	15	28	40	20	30	29
38	38DMPD	38	24	31	40	28	29	30

TNF 6 Week		Slide ที่ 1			Slide ที่ 2			
ตัวที่		HS1.1	HS1.2	เฉลี่ย slide 1	HS2.1	HS2.2	เฉลี่ย slide 2	เฉลี่ย 2 slide
2	2PD	50	42	46	42	38	40	43
7	7PD	40	32	36	39	33	36	36
25	25DM	25	0	25	27	0	27	26
14	14DM	37	0	37	25	0	25	31
16	16DMPD	43	23	33	45	25	35	34
21	21DMPD	44	40	42	52	48	50	46

TNF 12 Week		Slide ที่ 1			Slide ที่ 2			
ตัวที่		HS1.1	HS1.2	เฉลี่ย slide 1	HS2.1	HS2.2	เฉลี่ย slide 2	เฉลี่ย 2 slide
9	9PD	38	30	34	28	28	28	31
10	10PD	48	44	46	48	52	50	48
20	20DM	26	0	26	14	0	14	20
11	11DM	20	16	18	30	34	32	25
24	24DM	20	0	20	18	0	18	19
19	19DMPD	45	35	40	46	46	46	43
29	29DMPD	40	44	42	43	33	38	40

จำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีบวกในแต่ละสไลด์โดยระบุจำนวนเซลล์ในทั้งสอง hot spot แบ่งตามแอนติบอดี (ต่อ)

iNOS	2 Week	Slide ที่ 1			Slide ที่ 2			
ตัวที่		HS1.1	HS1.2	เฉลี่ย slide 1	HS2.1	HS2.2	เฉลี่ย slide 2	เฉลี่ย 2 slide
4	4PD	55	39	47	35	31	33	40
15	15DM	11	7	9	7	7	7	8
36	36DM	26	18	22	28	24	26	24
18	18DMPD	40	38	39	37	33	35	37
23	23DMPD	34	26	30	27	25	26	28

iNOS	4 Week	Slide ที่ 1			Slide ที่ 2			
ตัวที่		HS1.1	HS1.2	เฉลี่ย slide 1	HS2.1	HS2.2	เฉลี่ย slide 2	เฉลี่ย 2 slide
5	5PD	32	28	30	37	31	34	32
6	6PD	31	25	28	22	18	20	24
28	28DM	18	0	18	24	0	24	21
31	31DM	16	16	16	22	30	26	21
12	12DMPD	30	24	27	24	18	21	24
38	38DMPD	28	22	25	29	21	25	25

iNOS	6 Week	Slide ที่ 1			Slide ที่ 2			
ตัวที่		HS1.1	HS1.2	เฉลี่ย slide 1	HS2.1	HS2.2	เฉลี่ย slide 2	เฉลี่ย 2 slide
2	2PD	40	34	37	35	27	31	34
7	7PD	37	31	34	38	30	34	34
25	25DM	36	0	36	30	0	30	33
14	14DM	25	0	25	17	0	17	21
16	16DMPD	40	32	36	42	30	36	36
21	21DMPD	40	40	40	40	52	46	43

iNOS	12 Week	Slide ที่ 1			Slide ที่ 2			
ตัวที่		HS1.1	HS1.2	เฉลี่ย slide 1	HS2.1	HS2.2	เฉลี่ย slide 2	เฉลี่ย 2 slide
9	9PD	38	26	32	42	22	32	32
10	10PD	47	33	45	57	51	54	49
20	20DM	8	0	8	14	0	14	11
11	11DM	30	26	28	28	20	24	26
24	24DM	12	0	12	18	0	18	15
19	19DMPD	35	35	35	36	30	33	34
29	29DMPD	59	49	54	47	33	40	47



ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ ชื่อสกุล	นายสุรัชย์ กฤษณาวารินทร์
วันเดือนปีเกิด	14 มกราคม 2523
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	76/11 เพชรเกษม 31 กรุงเทพฯ 10160
ตำแหน่งหน้าที่การงานในปัจจุบัน	ทันตแพทย์เอกชน
สถานที่ทำงานในปัจจุบัน	คลินิกทันตกรรมแนวใหม่ 134 9 พุทธมณฑลสาย 4 กระจุกมลิ้ม สามพราน นครปฐม
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ 2540	จบระดับมัธยมศึกษา จากโรงเรียนเทพศิรินทร์
พ.ศ 2546	ทันตแพทยศาสตรบัณฑิต จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
พ.ศ 2552	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาปริทัศน์วิทยาจากคณะทันตแพทยศาสตร์ จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ