บทที่ 1

บทนำ

ความรู้พื้นฐานและแนวเหตุผลที่ทำวิจัย

เป้าหมายหลักของการรักษาโรคปริทันต์อักเสบคือพยายามทำให้เกิดการงอกใหม่ของอวัยวะปริทันต์ (regeneration) อันได้แก่ การสร้างเคลือบรากฟันใหม่ การซ่อมแซมเอ็นยึดปริทันต์และกระดูกเบ้าฟันให้อยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกับก่อนเกิดพยาธิสภาพ แต่ยังไม่มีวิธีการรักษาใดๆ ที่ให้ผลแน่นอน หรือสามารถคาดคะเนความสำเร็จได้ ปัญหาอย่างหนึ่งก็คือเคลือบรากฟันที่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการเผยออกของเคลือบรากฟันต่อสภาวะแวดล้อมในช่องปาก การสะสมแร่ธาตุต่างๆ การแทรกซึมของเอนโดทอกซิน (endotoxin) จากแบคทีเรียมีผลต่อการยึดเกาะของเซลล์และเส้นใย (cell and fiber attachment) (Lowenguth และ Blieden ,1993) การกำจัดคราบจุลินทรีย์ หินน้ำลาย และสารพิษต่างๆ จากพื้นผิวรากฟันที่เป็นโรคปริทันต์ จึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการรักษาที่จะทำให้เกิดการงอกใหม่ของอวัยวะปริทันต์ ในการศึกษาที่ผ่านมานั้นมักแนะนำให้กำจัดเคลือบรากฟันที่เป็นโรค (diseased cementum) หรือเคลือบรากฟันที่ปนเปื้อนจากการเผยของรากฟันต่อสภาพแวดล้อมในช่องปากออกให้หมด โดยให้เหตุผลที่ว่าเคลือบรากฟันที่เป็นโรคมีการสะสมสารพิษต่างๆ ที่แบคทีเรียผลิตขึ้น และมีการสะสมแร่ธาตุ แคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม หรือแม้แต่ฟลูออไรด์ พื้นผิวที่มีการสะสมแร่ธาตุเข้าไปมาก ๆ นี้ มีความหนาได้ตั้งแต่ 10 ไมโครเมตร ไปจนถึงมากกว่า 50 ไมโครเมตร สิ่งที่เกิดขึ้นย่อมมีผลต่อการเจริญเติบโตและการยึดเกาะของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และอาจมีความจำเป็นต้องกำจัดเคลือบรากฟันที่เป็นโรคออกไป แต่ก็มีแนวคิดที่ขัดแย้งโดยมีการศึกษาพบว่าเอนโดทอกซินจากแบคทีเรียจะจับยึดบนพื้นผิวรากฟันและจะแทรกซึมลงไปในเนื้อฟันลึกประมาณ 10 - 20 ไมโครเมตร ซึ่งสามารถกำจัดออกโดยวิธีทางกล (mechanical method) เช่น การเกลารากฟันได้ถึงร้อยละกว่า 90 (Hughes และ Smales ,1986 ; Minabe และคณะ ,1994) และจากการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการกำจัดหินน้ำลายและการเกลารากฟันโดยวิธีการต่าง ๆ อันได้แก่ การใช้เครื่องอัลทราโซนิกขูดหินน้ำลาย (ultrasonic scaler) การใช้เครื่องมือ

เกลารากฟัน และการใช้หัวกรอ พบว่าไม่มีวิธีการใดที่จะสามารถกำจัดเคลือบรากฟันออกได้หมด หรือทำให้แน่ใจได้ว่ากำจัดออกได้หมด (Eschler และ Rapley ,1991) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่าในชั้นเคลือบรากฟันที่ลึกลงไปมีโปรตีนหลายชนิดเป็นส่วนประกอบซึ่งมีคุณสมบัติเหนี่ยวนำให้เซลล์เข้ายึดเกาะได้ดี (Fukazawa และ Nishimura ,1994) จึงไม่มีเหตุผลเพียงพอที่จะต้องกำจัดเคลือบรากฟันออกทั้งหมด

มีการศึกษามากมายที่พยายามเปลี่ยนแปลงพื้นผิวรากฟันที่เป็นโรคปริทันต์ (diseased root surface) ให้ได้ลักษณะพื้นผิวที่เหมาะสมสำหรับเซลล์เข้ามายึดเกาะซึ่งเป็นขั้นตอนเริ่มแรกของการงอกใหม่ของอวัยวะปริทันต์ วิธีการหนึ่งที่ถูกนำมาใช้คือการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟัน (scaling and root planing) เพื่อกำจัดสิ่งที่ปนเปื้อนเคลือบรากฟันออกร่วมกับการใช้สารละลายกรดหรือสารเคมีบางชนิดเข้าไปละลายแร่ธาตุ (demineralization) เพื่อให้ได้พื้นผิวที่เหมาะสมช่วยให้เกิดการเคลื่อนตัวเข้ามาของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ (fibroblast) และเกิดการยึดเกาะของเนื้อเยื่อยึดต่อในที่สุด (Wikesjo , Nilveus และ Selvig ,1992) กรดหรือสารเคมีที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงสภาพผิวรากฟันนอกจากจะไปละลายแร่ธาตุส่วนเกิน(hypermineralization) แล้ว ยังสามารถกำจัดชั้นบางๆ ที่ประกอบด้วยสารอินทรีย์และอนินทรีย์รวมทั้งแบคทีเรีย หรือที่เรียกกันว่า ชั้นสเมียร์ (smear layer) (Polson และคณะ ,1984 ; Higashi และ Okamoto, 1995 ; Blomlof , Blomlof และLindskog ,1997) ซึ่งมักเกิดขึ้นเสมอภายหลังการใช้เครื่องมือเกลารากฟันและยังเป็นการเปิดท่อเนื้อฟัน (dentinal tubule) ให้กว้างขึ้น เห็นเส้นใยคอลลาเจนรอบ ๆ ท่อเนื้อฟันได้อย่างชัดเจน (Hanes , O'Brien และ Garnick ,1991b ; Labahn และ คณะ ,1992 ; Madison และ Hokett ,1997) การเผยออกของเส้นใยคอลลาเจนบนผิวรากฟันนี้จะช่วยเสริมศักยภาพในการสร้างอวัยวะปริทันต์ใหม่ (Trombelli และ คณะ ,1995) เช่น กระตุ้นการสร้างเคลือบรากฟันใหม่ (cementogenesis) (Register และ Burdick ,1975 ; Wang และ คณะ , 1993) การสานตัวเข้าด้วยกันของเส้นใยคอลลาเจน (Higashi และ คณะ,1995) การยับยั้งการเคลื่อนตัวลงมาของเยื่อบุผิวเชื่อมต่อ (Larjava และ คณะ , 1988) และชักนำให้เกิดการเคลื่อนตัวเข้ามาใกล้และยึดเกาะบนผิวรากฟันของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ (Fardal และ Lowenberg ,1990)

สารที่ใช้ ในการปรับสภาพพื้นผิวรากฟันมีหลายชนิดเช่น กรดฟอสฟอริก (Biagini และคณะ ,1992) กรดแลกติก (Register และ Burdick ,1975) กรดซิตริก (Register และ Burdick ,1975 ; Karring และคณะ ,1984 ; Hanes , Polson และ Frederick ,1991a ; Chaves และคณะ, 1993) และเตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์ (Wikesjo และคณะ ,1986 ; Trombelli , Scabbia และ Calura ,1994 ; Trombelli และคณะ,1995 ; Isik และคณะ ,1997) แต่ที่ได้รับการศึกษาถึงมากที่สุด คือ กรดซิตริกและเตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์ ความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการใช้งานสำหรับกรดซิตริกคือสารละลายของกรดที่มีความเป็นกรด - ด่างเท่ากับ 1 ระยะเวลาในการใช้ 3 นาที (Register และ Burdick ,1975) ส่วนเตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์ใช้ที่ความเข้มข้น 75 - 100 มก./มล. ความเป็นกรด - ด่างเท่ากับ 1 ระยะเวลาในการใช้ 4 - 5 นาที (Sterrett และ คณะ ,1997) ในการศึกษาในระยะแรกนั้นส่วนใหญ่สารละลายที่ใช้เป็นตัวปรับสภาพพื้นผิวมักใช้กรดซิตริกที่มีความเป็นกรด – ด่าง เท่ากับ 1 เช่น Larjava และ คณะ (1988) ได้ศึกษาผลการเคลื่อนตัว (migration) ของเซลล์เยื่อบุผิวบนพื้นผิวรากฟันที่ถูกละลายแร่ธาตุด้วยกรดซิตริก พบว่าการละลายแร่ธาตุออกจากพื้นผิวรากฟันสามารถยับยั้ง หรือชลอการเคลื่อนตัวของเซลล์เยื่อบุผิวอันจะเป็นผลดีต่อการยึดเกาะของเนื้อเยื่อยึดต่อกับผิวรากฟัน Fardal และ Lowenburg (1990) ได้ศึกษาการเคลื่อนตัว การยึดเกาะ และ การเรียงตัว (orientation) ของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ โดยการเพาะเลี้ยงเซลล์บนผิวรากฟันที่ถูกปรับสภาพด้วยวิธีการต่างๆ พบว่าการขูดหินน้ำลายร่วมกับการปรับสภาพพื้นผิวรากฟันด้วยกรดซิตริกจะทำให้ได้ลักษณะพื้นผิวรากฟันที่เหมาะสำหรับการยึดเกาะและการเรียงตัวของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ และจากการศึกษาของ Hanes และ Polson (1989) ได้พบว่าเซลล์ไฟโบรบลาสต์ยึดเกาะบนเคลือบรากฟันที่ถูกละลายแร่ธาตุด้วยกรดซิตริกได้ดีกว่าฟันที่ไม่ได้รับการปรับสภาพเคลือบรากฟัน และเคลือบรากฟันที่ถูกละลายแร่ธาตุจะเผยให้เห็นคอลลาเจนเมทริกซ์ (collagen matrix) ลึกลงไปประมาณ 12 ไมโครเมตร (micrometer)

สำหรับสารละลายเตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์ที่มีความเป็นกรดเพียงพอสามารถนำมาใช้ปรับสภาพพื้นผิวรากฟันได้เช่นกัน เช่น Trombelli และ คณะ (1995) ได้ศึกษาลักษณะพื้น

ผิวเคลือบรากฟันและชั้นเนื้อฟันบริเวณที่เป็นโรคปริทันต์ที่ปรับสภาพด้วยเตตราไซคลีนไฮโดร-คลอไรด์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (scanning electron microscope,SEM) เขาพบว่าพื้นผิวเคลือบรากฟันที่ถูกปรับสภาพจะมีลักษณะคล้ายร่างแหของเส้นใยคอลลาเจนขนาดเล็ก ไม่พบชั้นสเมียร์ ส่วนชั้นเนื้อฟันที่ถูกปรับสภาพจะมีลักษณะเป็นร่างแหของเส้นใยคอลลาเจนอยู่รอบ ๆ รูเปิดท่อเนื้อฟันและไม่พบชั้นสเมียร์เช่นกัน

มีการศึกษามากมายที่เปรียบเทียบความสามารถระหว่างกรดซิตริกกับเตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์ (Hanes , O' Brien และ Garnick ,1991b ; Lafferty , Gher และ Gray ,1993) โดยพบว่ากรดซิตริกมีประสิทธิภาพในการกำจัดชั้นสเมียร์ได้ดีกว่าเตตราไซคลินไฮโดรคลอไรด์ สามารถละลายแร่ธาตุและขยายรูเปิดท่อเนื้อฟันได้กว้างกว่าและเห็นเส้นใยคอลลาเจนได้อย่างชัดเจน ส่วนการศึกษาทางจุลกายวิภาคศาสตร์ (histologic study) ได้แสดงให้เห็นว่าการปรับสภาพพื้นผิวรากฟันด้วยกรดซิตริกหรือเตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์ จะช่วยกระตุ้นการสร้างเคลือบรากฟันใหม่โดยจะพบว่ามีการแบ่งตัวและการเคลื่อนเข้ามาของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ตั้งแต่วันแรก และพบการสร้างเคลือบรากฟันใหม่ในวันที่ 21 (Wang และ คณะ ,1993) แต่เตตรา-ไซคลีนไฮโดรคลอไรด์ ก็มีลักษณะเด่นอื่น เช่น มีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Seymour และ Heasman ,1995) ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์คอลลาจีเนส (collagenase) (Ingman และ คณะ ,1993) สามารถดูดซึมเข้าผิวรากฟันและคงอยู่ได้นานถึง 14 วัน

การศึกษาที่ผ่านมายังไม่สามารถสรุปถึงความเหมาะสมของสารที่จะนำมาใช้ ไม่ว่าจะเป็นชนิดของสาร ความเข้มข้น ระยะเวลาที่ใช้ และเทคนิคของการใช้ (Codelli , Fry และ Davis ,1991 ; Isik และ คณะ ,1997) และการศึกษาส่วนใหญ่จะเปรียบเทียบความสามารถของสารโดยดูจากลักษณะพื้นผิวที่ได้ภายหลังการปรับสภาพด้วยสารชนิดต่างๆ จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด ส่วนการวิจัยครั้งนี้จะมุ่งไปที่การศึกษาความสามารถในการยึดเกาะของเซลล์ไฟโบรบลาสต์บนผิวรากฟันที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบภายหลังจากการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟัน พร้อมทั้งทากรดซิตริกและเตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์ โดยจะเปรียบเทียบทั้งปริมาณและลักษณะของเซลล์ที่เกาะ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบจำนวนของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวรากฟันที่ถูกปรับสภาพด้วยเตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์ ที่ความเข้มข้น 75 มก./มล. กับสารละลายกรดซิตริกอิ่มตัว
2. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบลักษณะของเซลล์ไฟโบรบลาสต์บนผิวรากฟันที่ถูกปรับสภาพด้วยสารละลายทั้ง 2 ชนิด

โดยตั้งสมมุติฐานของงานวิจัยว่าจำนวนและลักษณะของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ยึดเกาะบนผิวรากฟันที่ถูกปรับสภาพด้วยเตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์ กับ กรดซิตริก ไม่แตกต่างกัน

ขอบเขตการวิจัย

1. จะทำการศึกษาลักษณะพื้นผิวรากฟันที่เป็นโรคปริทันต์ภายหลังกำจัดหินน้ำลายและเกลารากฟัน หลังจากนั้นจะปรับสภาพพื้นผิวด้วยเตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 75 มก./มล. สารละลายกรดซิตริกอิ่มตัวและนอร์มัลเซลายน์
2. ศึกษาเปรียบเทียบการยึดเกาะของเซลล์ไฟโบรบลาสต์บนพื้นผิวรากฟันที่ถูกปรับสภาพด้วยเตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 75 มก./มล. สารละลายกรดซิตริกอิ่มตัวและนอร์มัลเซลายน์ โดยพิจารณาทั้งปริมาณและลักษณะของเซลล์ที่ยึดเกาะ
3. การศึกษาทุกขั้นตอนทำในห้องปฏิบัติการ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้ใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์ในห้องปฏิบัติการโดยเซลล์ที่เพาะเลี้ยงเป็นเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ได้จากเหงือกของคนและเพาะเลี้ยงบนชิ้นรากฟันที่เป็นโรคปริทันต์ซึ่งได้รับการปรับสภาพพื้นผิวด้วยสารละลายเตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์และสารละลายกรดซิตริกอิ่มตัว เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ศึกษาการยึดเกาะของเซลล์บนพื้นผิวรากฟันที่ได้รับการปรับสภาพพื้นผิวด้วยสารละลายทั้ง 2 ชนิดเปรียบเทียบกับผิวรากฟันที่ได้รับการปรับสภาพด้วยนอร์มัลเซลายน์ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด เปรียบเทียบและวิเคราะห์จำนวนเซลล์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวรากฟันโดยใช้สถิติความแปรปรวนแบบแจกแจงทางเดียว

ประโยชน์ของการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาถึงปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเกิดใหม่ของอวัยวะปริทันต์ โดยดูผลของการยึดเกาะของเซลล์ไฟโบรบลาสต์บนพื้นผิวรากฟันที่ถูกปรับสภาพ ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพิจารณาหาวิธีการที่เหมาะสมในการรักษาต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย