บทที่ 4

อภิปรายผลการทดลอง ข้อเสนอแนะ และสรุปผลการทดลอง

อภิปรายผลการทดลอง

ผลการศึกษาการฟอกสีฟันด้วยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในสุนัข แสดงให้เห็นว่าการฟอกสีฟันด้วยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ก่อให้เกิดอันตรายต่อเซลล์และเนื้อเยื่อในโพรงฟัน (Seal และ Wilson,1985) ซึ่งจากสมมุติฐานดังกล่าวในปัจจุบันปรากฏว่ามีการศึกษาเกี่ยวกับผลของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวน้อยมาก และแทบจะไม่ปรากฏงานที่ทำการศึกษาเพื่อที่จะชี้ให้เห็นผลการเปลี่ยนแปลงในระดับการทำหน้าที่ของเซลล์ของเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์ ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งศึกษาผลของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่มีต่อเซลล์สร้างเส้นใยของมนุษย์ดังกล่าว เพื่อที่จะทราบผลของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ระดับความเข้มข้นที่ไม่มีผลต่อการตายของเซลล์ ที่อาจมีผลต่อการสร้างไฟโบรเนกตินและเส้นใยคอลลาเจน ชนิดที่ 1 โดยเลือกใช้ปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเซลล์ในแบบปฐมภูมิ ซึ่งมีข้อดีหลายประการ คือ การเตรียมเซลล์ทำได้ง่าย ได้ปริมาณเซลล์มาก สามารถทำซ้ำได้ และที่สำคัญคือ ตัวอย่างที่นำมาใช้ศึกษาเป็นเซลล์ที่ได้จากเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์ที่มีคุณลักษณะเป็นตัวแทนที่ดี ในการศึกษาการตอบสนองของเซลล์มนุษย์ เพื่อที่จะทราบถึงกลไกการเกิดพิษในระดับเซลล์ที่ก่อให้เกิดการตายของเซลล์ และในระดับที่ไม่มีผลต่อการตายของเซลล์แต่อาจมีผลกระทบต่อการทำหน้าที่เฉพาะอย่างของเซลล์

การวิจัยครั้งนี้วัดความเป็นพิษของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ โดยวัดปริมาณเซลล์ที่ไม่ตายภายหลังจากการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ วัดผลโดยวิธีย้อมสีเซลล์ที่มีชีวิตด้วยสีเมทิลีนบลูที่เสนอโดย Oliver และคณะ (1989) ตามที่ได้กล่าวแล้วในข้างต้น และแสดงผลในเชิงปริมาณของเซลล์ที่ไม่ตาย วิธีดังกล่าวสามารถใช้ศึกษาอัตราการเจริญของเซลล์ โดยวัดปริมาณเซลล์ที่เพิ่มขึ้นในปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเซลล์ เพื่อทดสอบคุณสมบัติของยาและวัสดุทางการแพทย์ที่นำมาใช้ในการรักษา เพื่อติดตามการตอบสนองของเซลล์ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผล สามารถประเมินความเข้ากันได้ระหว่างยาหรือวัสดุทางการแพทย์กับเซลล์และเนื้อเยื่อ ตามที่ได้รายงานไว้โดย Jansen และคณะ (1991)

ความเป็นพิษของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ต่อเซลล์เพาะเลี้ยงในการวิจัยครั้งนี้ พบว่าผลต่อการตายของเซลล์ เริ่มพบที่ความเข้มข้น 12.5 ไมโครโมลาร์ และพบว่าเซลล์ที่ได้จากผู้ป่วยอย่างน้อย 1 ราย ที่พบว่าไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์มีผลทำให้เซลล์ตายที่ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ ซึ่งผลการทดสอบความเป็นพิษของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่ได้นี้อยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Jonas และคณะ (1989) ที่พบว่าไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ก่อให้เกิดการตายของเซลล์ไลน์ชนิด CNCMI-221 ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ โดยความเป็นพิษของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ต่อเซลล์ขึ้นอยู่กับปริมาณของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่เซลล์ได้รับ และนอกจากนี้ปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผลต่อการตอบสนองของเซลล์ ได้แก่ ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเซลล์ ดังรายงานการศึกษาในอดีตของ Hanks และคณะ (1993) ที่ศึกษาผลของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่มีต่อการทำหน้าที่ของดีไฮโดรจีเนส (debydrogenase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการหายใจระดับเซลล์ โดยพบว่าความเป็นพิษของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์มีผลต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 50% (inhibition dose: ID_{50}) ของเซลล์ Balb/c 3T3 จากการเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 1 และ 6 ชั่วโมง ในสภาวะที่มีไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ 0.58 และ 0.44 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ จากผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าระยะเวลาของการเพาะเลี้ยงเซลล์มีผลต่อความเป็นพิษต่อเซลล์ กล่าวคือ เมื่อระยะเวลาเพาะเลี้ยงเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 1 ชั่วโมง เป็น 6 ชั่วโมง ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่าจะเริ่มแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์

การศึกษาในอดีตรายงานความเป็นพิษของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ต่อเซลล์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน อาจเป็นเพราะความแตกต่างของชนิดเซลล์ทดสอบที่ใช้ศึกษา ดังเช่น การศึกษาความเป็นพิษของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่มีต่อเซลล์สร้างเส้นใยที่นำมาจากเหงือก ปรากฏว่าไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์มีผลต่อลักษณะและรูปร่างของเซลล์ที่ 0.18 มิลลิโมลาร์ ในขณะที่ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์เป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.26 มิลลิโมลาร์ขึ้นไป นอกจากนี้แบบแผนการทดลองของการทดสอบเซลล์เพาะเลี้ยง เช่น การกำหนดปริมาณซีรัมที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์มีผลต่อระดับความเป็นพิษต่อเซลล์ ซึ่งในสภาวะที่มีปริมาณซีรัมมาก ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นเดียวกันความเป็นพิษลดน้อยลง เนื่องจากในซีรัมมีเอนไซม์ เช่น เพอร์ออกซิเดสที่ช่วยกำจัดโมเลกุลของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ และในซีรัมยังมีโปรตีนที่สามารถจับได้กับอิออนของโลหะ ทำให้ปริมาณอิออนของโลหะที่เป็นอิสระลดลง ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระที่มีอิออนของโลหะเป็นตัวให้อิเลคตรอนลดน้อยลง ดังนั้นจึงลดโอกาสการเกิดอนุมูลอิสระที่เป็นพิษต่อเซลล์ โปรตีนดังกล่าว ได้แก่ อัลบูมิน เซอร์รูโลพลาสมิน (ceruloplasmin) เฮปปาโตโกลบิน (hepatoglobin) แลคโตเฟอร์ริน (lactoferrin) ทรานส์เฟอร์ริน (transferrin) (Chapple, 1997) นอกจากนี้องค์ประกอบของซีรัมยังมีโปรตีนที่สำคัญชนิดต่าง ๆ ที่ช่วยส่งเสริมให้เซลล์มีการเจริญเพิ่มมากขึ้น เช่น ปัจจัยการเจริญ (growth factor) ฮอร์โมน (hormone) ชนิดต่าง ๆ ที่ทำให้เซลล์ที่มีการบาดเจ็บเพียงเล็กน้อยสามารถคืนกลับสู่สภาวะปกติได้ในเวลาต่อมา ปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผลกระทบต่อการตอบสนองของเซลล์ ได้แก่ เงื่อนไขวิธีการศึกษาเซลล์ที่มีการกำหนดจำนวนครั้งและ

ความถี่ในการรับสัมผัสไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ รายงานผลความเข้มข้นของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในระดับที่มีผลทำให้เซลล์ตายอาจมีความแตกต่างกันเนื่องจากความแตกต่างของแหล่งที่มาของบุคคลที่ต่างกันแม้เซลล์ที่นำมาจากเนื้อเยื่อชนิดเดียวกัน ดังเช่น เซลล์ทดสอบที่นำมาจากเนื้อเยื่อในโพรงฟันแต่มีความแตกต่างกันที่แหล่งที่มาของเซลล์ที่ได้จากผู้ป่วยคนละรายกัน ซึ่งผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าเซลล์สร้างเส้นใยที่ได้จากผู้ป่วยรายที่ 2 มีความไว (sensitivity) ต่อการตอบสนองต่อไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์มากกว่าเซลล์ทดสอบที่ได้จากผู้ป่วยรายที่ 1 โดยพบว่าการเพาะเลี้ยงที่ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่ 50 ไมโครโมลาร์ มีผลต่อการตายของเซลล์ทดสอบที่ได้จากผู้ป่วยรายที่ 1 ในขณะที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่ 12.5 ไมโครโมลาร์ เริ่มมีผลต่อการตายของเซลล์ทดสอบที่ได้จากผู้ป่วยรายที่ 2 นอกจากนี้ยังพบว่าระยะเวลาเพาะเลี้ยง 24 และ 48 ชั่วโมง ไม่มีผลต่อการตายของเซลล์ทดสอบที่ได้จากผู้ป่วยรายที่ 2 แต่ระยะเวลาเพาะเลี้ยงที่นานขึ้นมีผลต่อเซลล์ทดสอบที่ได้จากผู้ป่วยรายที่ 1 คือพบว่าไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 25 ไมโครโมลาร์ ไม่มีผลต่อการตายของเซลล์ที่ 24 ชั่วโมง ในขณะที่การเพาะเลี้ยงในสภาวะดังกล่าวไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์มีผลต่อการตายของเซลล์ที่ 48 ชั่วโมง

กลไกการเกิดพิษของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ต่อเซลล์เพาะเลี้ยงในระดับที่ทำให้เซลล์ตาย อธิบายได้จากการที่โมเลกุลของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์มีขนาดเล็กและเป็นโมเลกุลที่ไม่มีขั้วทางไฟฟ้า สามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์และเข้าสู่ภายในเซลล์ได้ง่าย ปฏิกิริยาการสลายตัวจะได้น้ำและออกซิเจน รวมถึงปฏิกิริยาการสลายตัวที่ได้อนุมูลอิสระที่มีความไวปฏิกิริยาออกซิเดชันสูง คืออนุมูลอิสระของไฮดรอกซิลจากปฏิกิริยา 2 ปฏิกิริยา ซึ่งได้แก่ *ปฏิกิริยาเฟนตอน (Fenton reaction)* ที่มีเฟอร์รัสอิออน (Fe^{2+}) ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเลคตรอนแก่อนุมูลอิสระของไฮดรอกซิล และ *ปฏิกิริยาเฮเบอร์-วิสส์ (Haber-Weiss reaction)* ที่มีซุปเพอร์ออกไซด์ทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์และผลของปฏิกิริยาจะได้อนุมูลอิสระของไฮดรอกซิล

Fenton reaction:

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \text{ ----------> } Fe^{3+} + \cdot OH + OH^-$$

Haber-Weiss reaction:

$$O_2^- + H_2O_2 \text{ ----}^{H+}\text{-------> } O_2 + H_2O + \cdot OH$$

อันตรายที่เซลล์ได้รับ คือ การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระที่มีความไวปฏิกิริยาสูงกับโมเลกุลไขมันที่เยื่อหุ้มเซลล์ก่อให้เกิดปฏิกิริยาไลปิดเพอร์ออกซิเดชันที่เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ทำให้ผนังเซลล์สูญเสียความสามารถในการควบคุมให้สารบางชนิดผ่านเข้า-ออก เป็นผลให้เซลล์บวมและตามมาด้วยการแตกของเซลล์ สำหรับบางเซลล์ที่ผนังเซลล์ยังพอที่จะคงรูปร่างได้

โดยเยื่อหุ้มเซลล์ไม่แตกสลาย แต่หากเซลล์สูญเสียความสามารถในการยึดเกาะกับผิวของจานเพาะเลี้ยงแล้วจะพบว่าเซลล์ดังกล่าวจะมีรูปร่างเป็นทรงกลมแขวนลอยในอาหารเลี้ยงเซลล์ ซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นข้อบ่งชี้ที่บ่งบอกลักษณะของเซลล์ที่ไม่อาจจะมีชีวิตรอดต่อไป

ศึกษาผลต่อการสร้างโปรตีนจากเซลล์ ได้แก่ ไฟโบรเนกติและเส้นใยคอลลาเจนชนิดที่ 1 พบว่าผลของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในระดับความเข้มข้นที่ครอบคลุมช่วงความเข้มข้นที่ไม่มีผลต่อการตายของเซลล์นั้นมีผลกระตุ้นเซลล์สร้างไฟโบรเนกตินเพิ่มมากขึ้นจากการเพาะเลี้ยงที่ 24 ชั่วโมง และเมื่อเพิ่มระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเซลล์ให้นานมากขึ้นโดยเพาะเลี้ยงเซลล์ในสภาวะอย่างเดียวกันที่ 48 ชั่วโมง ปรากฏว่าปริมาณการสร้างไฟโบรเนกตินเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ผลที่ได้แตกต่างจากการศึกษาของ Tipton และคณะ (1995a) ซึ่งได้รายงานไว้ว่าไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์มีผลยับยั้งการสร้างไฟโบรเนกตินของเซลล์จากการเพาะเลี้ยงที่ 24 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 0.18 มิลลิโมลาร์ ความแตกต่างของผลที่ได้ดังกล่าว อาจเป็นเพราะ Tipton และคณะ ทำการวิเคราะห์ไฟโบรเนกตินที่เซลล์สร้างและเป็นชนิดที่ละลายอยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ ในขณะที่การวิจัยครั้งนี้ทำการวิเคราะห์ปริมาณไฟโบรเนกตินชนิดที่ไม่ละลายน้ำซึ่งเป็นไฟโบรเนกตินที่ประกอบอยู่ในเมทริกซ์นอกเซลล์

ภายหลังจากไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์เข้าสู่ภายในเซลล์จะพบว่าอนุมูลอิสระของไฮดรอกซิลที่เกิดขึ้นสามารถทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับโครงสร้างอื่น ๆ ของเซลล์ ซึ่งได้แก่ ออร์แกนเนลล์ของเซลล์ โปรตีน สารพันธุกรรมดีเอนเอ เป็นผลให้คุณสมบัติของโครงสร้างดังกล่าวผิดไปจากปกติ ซึ่งในการวิจัยครั้งนี้การเพิ่มปริมาณของไฟโบรเนกตินที่พบจากการเพาะเลี้ยงที่ 24 ชั่วโมง อาจอธิบายได้ว่าอนุมูลอิสระของไฮดรอกซิลทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสารพันธุกรรมหรืออาจทำปฏิกิริยากับโปรตีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการสร้างเอม-อาร์เอนเอของการสังเคราะห์ไฟโบรเนกติน โดยอาจกระตุ้นให้มีการสังเคราะห์สายเอม-อาร์เอนเอของไฟโบรเนกตินเพิ่มมากขึ้นทำให้มีการสร้างไฟโบรเนกตินเพิ่มมากขึ้น ซึ่งการศึกษาในอดีตที่ผ่านมาของ Olinski และคณะ (1992) ได้รายงานไว้ว่าไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสายดีเอนเอของเซลล์มนุษย์ทำให้มีการเชื่อมต่อ (cross-linking) ของสายดีเอนเอและสายโปรตีนที่ตำแหน่งระหว่างไทมีน (Thymine) และไทโรซีน (Tyrosine) ซึ่งในภาวะปกติจะไม่พบลักษณะดังกล่าว จึงมีความเป็นไปได้ที่ความผิดปกติที่สายดีเอนเอและสายโปรตีนก่อให้เกิดการควบคุมการสังเคราะห์สายเอม-อาร์เอนเอสำหรับหรับการสังเคราะห์โปรตีนบางชนิดผิดไปจากปกติในระหว่างที่มีการสลายตัวของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งพบว่าไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์สลายตัว 50% เมื่อเวลาผ่านไป 6 ชั่วโมง และจะไม่พบไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในอาหารเลี้ยงเซลล์เมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง ซึ่งการวิจัยครั้งนี้เซลล์ทดสอบได้รับไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในครั้งแรกของการทดสอบ การเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ในครั้งต่อ ๆไปใช้ชนิดที่ปราศจากไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ดังนั้นเซลล์ที่บาดเจ็บไม่รุนแรงสามารถคืนกลับสู่สภาพปกติได้ โดยการที่เซลล์ดังกล่าวพยายามปรับกิจกรรมของเซลล์จากระดับพื้นฐาน (euplasia) ไปสู่กิจกรรมระดับเร้า (proplasia) เมื่อภาวะ

แวดล้อมของเซลล์กลับสู่สภาพที่เป็นปกติเนื่องจากการลดน้อยลงจนกระทั่งปราศจากตัวกระตุ้นเซลล์แล้ว เซลล์จะกลับมาสู่กิจกรรมระดับพื้นฐานดังเดิม ในขณะที่เซลล์ที่ได้รับบาดเจ็บที่รุนแรงอาจทำให้เซลล์ตายหรืออาจทำให้เซลล์มีกิจกรรมในระดับถดถอย (retroplasia) เซลล์ขาดความสามารถในการแบ่งตัวและในที่สุดทำให้เซลล์ตายในเวลาต่อมา จากเหตุผลดังกล่าวจึงมีความเป็นไปได้ว่าไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในระดับที่ไม่มีผลทำให้เซลล์ตาย มีผลต่อการตอบสนองของเซลล์ในสภาวะที่มีไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในช่วงแรก โดยการปรับระดับกิจกรรมของเซลล์ให้สูงขึ้นเพื่อความอยู่รอดของเซลล์ โดยจะพบว่ามีการเพิ่มปริมาณการสร้างไฟโบรเนกตินจากการเพาะเลี้ยงที่ 24 ชั่วโมง และเมื่อไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ลดน้อยลงจนกระทั่งไม่มี อยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ จึงทำให้เซลล์สามารถกลับสู่ระดับกิจกรรมพื้นฐานซึ่งจะพบว่าเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์เมื่อเทียบกับเซลล์ในกลุ่มควบคุมสามารถสร้างไฟโบรเนกตินได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากการเพาะเลี้ยงที่ 48 ชั่วโมง อย่างไรก็ดีการเพิ่มขึ้นของไฟโบรเนกตินในช่วง 24 ชั่วโมงแรก ช่วยทำให้การยึดเกาะระหว่างเซลล์ ตลอดจนการยึดเกาะระหว่างเซลล์กับเมทริกซ์นอกเซลล์มีเสถียรภาพมากยิ่งขึ้น นอกจากนี้การจับกันระหว่างโมเลกุลของไฟโบรเนกตินที่เพิ่มมากขึ้นกับโปรตีนที่ผิวเซลล์ที่เรียกว่าไฟโบรเนกตินรีเซบเตอร์ ทำให้เกิดสัญญาณส่งผ่านเข้าสู่นิวเคลียสของเซลล์โดยตรงโดยทำให้เซลล์มีการแบ่งเซลล์แบบไมโตซิสเพิ่มมากขึ้นจากการมีไฟโบรเนกตินเพิ่มขึ้นจึงทำให้การทำหน้าที่ของเซลล์กลับสู่สภาวะปกติได้ในเวลาต่อมา หรือการเพิ่มขึ้นของไฟโบรเนกตินมีผลทำให้เซลล์สร้างและหลั่งสารชีวโมเลกุลชนิดอื่น ๆ ออกสู่เมทริกซ์นอกเซลล์ และโมเลกุลดังกล่าวกลับมามีผลต่อพฤติกรรมและการแสดงออกของเซลล์ เช่น การสร้างและการหลั่งสารที่เกี่ยวข้องในกระบวนการอักเสบ เช่น พรอสตาแกลนดิน ชนิดไอทู (prostaglandin I_2) ทรอมบอกเซน ชนิดเอทู (thromboxane A_2) ฟอสโฟไลเพส ชนิดเอทู (phospholipase A_2) ที่มีผลต่อเซลล์เอง หรืออาจมีผลต่อเซลล์ที่อยู่ใกล้กัน (Wade & Fitzpatrick, 1997; Madesh & Balasubramanian, 1997) อย่างไรก็ตามในอีกด้านหนึ่งจากการที่เซลล์ตอบสนองโดยมีการสร้างไฟโบรเนกตินเพิ่มขึ้นอาจส่งผลให้เซลล์มีความง่าย (susceptibility) ที่ถูกคุกคามจากเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากในสภาวะที่แวดล้อมของเซลล์ที่มีปริมาณไฟโบรเนกตินเพิ่มขึ้นซึ่งไฟโบรเนกตินมีส่วนที่สามารถเกาะยึดได้กับโมเลกุลอื่น ๆ ได้หลายชนิดรวมถึงส่วนที่สามารถจับยึดได้กับเชื้อจุลินทรีย์ ตามที่ได้กล่าวไว้ในปริทัศน์วรรณกรรมของ Uitto (1991) ที่รายงานการจับยึดกันระหว่างโมเลกุลของไฟโบรเนกตินและเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคปริทันต์ ได้แก่ *Treponemma denticola* และ *Staphylococcus aureus* รวมถึงเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ในกลุ่มของ *Streptococcus* และ *Bacteroides*

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณการสร้างเส้นใยคอลลาเจน ชนิดที่ 1 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเซลล์นั้นต้องการเวลาในการเพาะเลี้ยงเป็นเวลาอย่างน้อย 6 วัน (Tipton และคณะ 1995a) เพื่อให้มีปริมาณการสร้างเส้นใยคอลลาเจนมากเพียงพอที่จะสามารถทำการวิเคราะห์ในเชิงปริมาณ ผลที่ได้จากการเปรียบเทียบปริมาณการสร้างเส้นใยคอลลาเจน ชนิดที่ 1 ระหว่างเซลล์ในกลุ่มควบคุมและเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในระดับความเข้ม

ช้นที่ครอบคลุมช่วงความเข้มข้นที่ไม่มีผลต่อการตายของเซลล์ ไม่พบความแตกต่างของปริมาณการสร้างเส้นใยคอลลาเจน ชนิดที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งผลที่ได้แตกต่างจากผลของ Tipton และคณะ (1995a) โดยพบว่าไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่ 0.13 มิลลิโมลาร์ มีผลยับยั้งการสร้างเส้นใยคอลลาเจน ชนิดที่ 1 จากการเพาะเลี้ยง 6 วัน ความแตกต่างของผลการทดลองที่ได้อาจเป็นเพราะผลกระทบจากความแตกต่างในเชิงเวลาระยะเวลาในการวิจัยครั้งนี้ที่การเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลานาน 7 วัน และในขณะที่การคงอยู่ของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ปรากฏเฉพาะในช่วงเวลา 12 ชั่วโมงแรก ประกอบกับการเพาะเลี้ยงเซลล์ในปฏิบัติการครั้งนี้ต้องการศึกษาการสร้างเส้นใยคอลลาเจน จำเป็นต้องเติมวิตามินซี 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเซลล์ เพื่อให้ขบวนการในการเติมกลุ่มไฮดรอกซิลที่สายของโปรตีนเกิดได้อย่างสมบูรณ์ ดังนั้นวิตามินซีซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารรีดิวส์จึงช่วยลดอันตรายจากไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ และลดอันตรายจากอนุมูลอิสระของไฮดรอกซิล โดยการที่วิตามินซีทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเลคตรอนเดี่ยวจากอนุมูลอิสระของไฮดรอกซิล (Peterkofsky และ Prather, 1975)

การศึกษาในครั้งนี้พบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณไฟโบรเนกตินจากการเพาะเลี้ยงที่ 24 ชั่วโมง แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่ 48 ชั่วโมง และไม่พบการเปลี่ยนแปลงของการสร้างเส้นใยคอลลาเจน ชนิดที่ 1 จากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน โดยไม่ได้ทำการศึกษาผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นต่อการการทำหน้าที่ในด้านอื่น ๆ ของเซลล์ นอกจากนี้มีรายงานว่าไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์มีผลต่อการควบคุมระดับแคลเซียมภายในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหัวใจ ซึ่งพบว่ามีผลให้มีการเพิ่มขึ้นของระดับแคลเซียมอิออนภายในเซลล์ และการเพิ่มขึ้นดังกล่าวจะไปกระตุ้นเอนไซม์โปรตีเอส (proteases) และเอนไซม์ฟอสโฟไลเพส (phospholipase) ที่กลับมามีผลทำลายเซลล์เอง (Roveri และคณะ, 1992)

เซลล์และเนื้อเยื่อของร่างกายอาจได้รับไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ได้จากการรับสารดังกล่าวจากยาและอาหารที่มีการปนเปื้อน หรืออาจได้รับจากการสัมผัสโดยตรงจากสารเคมีที่มีไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์เป็นองค์ประกอบ ซึ่งการได้รับไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากปัจจัยภายในร่างกายเองนั้น พบว่าโดยธรรมชาติของร่างกายสามารถสร้างไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ได้โดยเซลล์ที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยาการอักเสบ เช่น เซลล์นิวโทรฟิล อีโอซิโนฟิล ในขบวนการป้องกันตนเอง เพื่อต่อต้านสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นสามารถถูกกำจัดได้โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์คาทาเลสในเพอร์รอกซิโซม (peroxisome) ภายในเซลล์ และเอนไซม์เพอร์ออกซิเดสที่อยู่นอกเซลล์ ร่างกายป้องกันตนเองเพื่อที่จะไม่ให้เซลล์และเนื้อเยื่อได้รับอันตรายที่อาจเกิดจากไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ซึ่งกลไกดังกล่าวนี้ได้พิสูจน์แล้วว่าเนื้อเยื่อในโพรงฟันสามารถตอบสนองต่อสภาวะที่มีไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ เนื่องจากพบว่ามีการเพิ่มการทำหน้าที่ของเอนไซม์ที่อยู่ในเนื้อเยื่อในโพรงฟัน (Bowles และ Burn,1972) นอกจากนี้เอนไซม์ซุปเพอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส ตลอดจนสารที่มีคุณสมบัติเป็นแอนติออกซิแดนท์ ซึ่งได้แก่วิตามินซี

วิตามินอี และเบตาแคโรทีน สำหรับวิตามินอี (α-Tocopherol) จะปกป้องเซลล์จากปฏิกิริยาไลปิดเพอร์ออกซิเดชัน โดยการที่วิตามินอีจะเป็นตัวให้อิเลคตรอนเดี่ยวแก่อนุมูลอิสระเพื่อให้โมเลกุลของอนุมูลดังกล่าวเกิดเสถียรภาพ และเบตาแคโรทีนช่วยปกป้องเยื่อหุ้มเซลล์จากอนุมูลอิสระของไลปิด โดยทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นโดยจะทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเลคตรอนเดี่ยวจากอนุมูลอิสระ จึงเป็นอันสิ้นสุดปฏิกิริยาลูกโซ่ (Mark และคณะ, 1996; Chapple, 1997) ดังนั้นนอกจากจะช่วยทำลายโมเลกุลของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์แล้วยังช่วยยับยั้งการเกิดสารอนุมูลอิสระด้วย อย่างไรก็ตามหากปริมาณของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์และอนุมูลอิสระมีในระดับที่ร่างกายสามารถจัดการทำลายโมเลกุลดังกล่าวได้ การปกป้องตนเองด้วยกระบวนการดังกล่าวสามารถลดอันตรายต่อเซลล์และเนื้อเยื่อได้ แต่หากปริมาณมีมากเกินกว่าที่ร่างกายจะสามารถกำจัดโมเลกุลเหล่านั้นได้ ทำให้เซลล์และเนื้อเยื่ออาจได้รับอันตรายจากปฏิกิริยาออกซิเดชันได้

ข้อเสนอแนะ

การที่ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์เป็นสารที่ไม่คงตัว สลายตัวได้น้ำและออกซิเจนเมื่อเวลาผ่านไป แสงและอุณหภูมิมีผลต่ออัตราการแตกตัวของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ดังนั้นการศึกษาผลของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่มีผลต่อเซลล์ในปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเซลล์นั้น มีความจำเป็นที่ต้องศึกษาเพื่อทำความเข้าใจคุณลักษณะเฉพาะของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในเงื่อนไขแวดล้อมที่ดำเนินการศึกษา ซึ่งการวิจัยครั้งนี้ศึกษาผลของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่มีต่อเซลล์สร้างเส้นใยในปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเซลล์ที่กำหนดให้เพาะเลี้ยงเซลล์ในสภาวะที่มีไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ แล้วจึงทำการวัดผลในส่วนที่ต้องการทราบตามข้อสมมุติฐานที่ตั้งไว้ ซึ่งได้แก่ผลต่อการสร้างไฟโบรเนกติน และเส้นใยคอลลาเจน ชนิดที่ 1 ดังนั้นจึงเริ่มต้นที่การวัดปริมาณไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่คงอยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เวลาต่าง ๆ เพื่อที่จะนำไปสู่การแปลผลการตอบสนองของเซลล์ที่เกิดขึ้น หมายถึงการตอบสนองของเซลล์ที่พบนั้นเกิดขึ้นในขณะที่ยังมีไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์อยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ หรือการตอบสนองของเซลล์เกิดขึ้นภายหลังจากที่ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ได้สลายตัวแล้ว

การวัดปริมาณไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่มีรายงานไว้มีหลายวิธีด้วยกัน แต่วิธีที่ได้รับความนิยม คือ วิธีสเปคโตรโฟโตเมทรีย์ ในการวิจัยครั้งนี้ใช้ปฏิกิริยาของเพอร์ออกซิเดสที่เสนอโดย Mottola และคณะ ในปี 1970 ตามที่ได้กล่าวแล้วในข้างต้น อย่างไรก็ดีพบว่ายังมีความไม่สมบูรณ์บางประการในส่วนรายละเอียดของวิธีการวัดปริมาณไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ดังกล่าว เนื่องจากพบว่าสีม่วงที่เกิดจากปฏิกิริยามีสีเข้มเพิ่มขึ้น ๆ ตามเวลาที่ผ่านไปอย่างต่อเนื่องโดยไม่มีการระบุเวลาการบ่มปฏิกิริยาที่แน่นอน นอกจากนี้ยังพบว่าสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์สามารถทำปฏิกิริยากับสารละลาย LCV ได้สารละลายที่มีสีม่วงแม้ในสภาวะที่ปราศจากไฮโดรเจนเพอร์

ออกไซด์และเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส ซึ่งจากปัญหาดังกล่าวทำให้สารละลายเปรียบเทียบมีสีม่วง จึงได้มีการประยุกต์ใช้ปริมาตรของสารละลายชนิดต่าง ๆในปฏิกิริยาให้น้อยลง โดยยังคงสัดส่วนสารละลายที่สำคัญของสารตั้งต้นและเอนไซม์ตามเดิม (Bowles และ Ugwuneri, 1987; Adibfa และคณะ, 1992; Cooper และคณะ, 1992) พร้อมทั้งให้ข้อเสนอแนะเพิ่มเติมโดย Hanks และคณะ (1993) ในส่วนของการกำหนดเวลาที่แน่นอนหลังจากบ่มปฏิกิริยาเป็นเวลา 15 นาที จึงนำสารละลายที่ได้วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์

ในส่วนของการทดสอบผลของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่มีต่อเซลล์สร้างเส้นใยที่นำมาจากเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์ในปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเซลล์ของการวิจัยครั้งนี้ กำหนดให้เซลล์ได้รับไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์เพียงหนึ่งครั้งของการทดสอบ ผลที่ได้จึงอาจจะยังไม่ชัดเจนเพียงพอที่จะชี้ให้เห็นถึง กรณีที่ต้องการศึกษาผลที่เกิดจากจำนวนครั้ง และความถี่ที่ได้รับไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่เป็นพิษต่อเซลล์ รวมถึงระดับความเข้มข้นที่ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในการทำหน้าที่ในด้านอื่น ๆ ของเซลล์ให้ผิดไปจากปกติ และน่าที่จะได้มีการศึกษาผลของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ตลอดจนโมเลกุลอื่น ๆ ของสารอนุมูลอิสระซึ่งมีความไวปฏิกิริยาสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อสารชีวโมเลกุลของเซลล์และเนื้อเยื่อ การศึกษาผลของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ต่อการสร้างเส้นใยคอลลาเจน ชนิดที่ 1 นั้นมีความสำคัญเนื่องจากเส้นใยคอลลาเจน ชนิดที่ 1 เป็นโปรตีนโครงสร้างหลักของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันหลายชนิด ได้แก่ ผิวหนัง เอ็นยึดข้อต่อ กระดูก ฟัน รวมถึงเอ็นยึดปริทันต์และเนื้อเยื่อในโพรงฟัน ซึ่งลักษณะโครงสร้างของเส้นใยคอลลาเจน มีการปรับรูปร่างของโมเลกุลภายหลังจากการสังเคราะห์และนำออกสู่เมทริกซ์นอกเซลล์ โดยโทรโปคอลลาเจน (tropocollagen) 3 สาย ที่เรียงตัวตามแนวยาวและพันเกลียวกันทำให้เกิดโครงสร้างที่มีการรวมกันเป็นมัดมีขนาดใหญ่ขึ้นและแข็งแรงยิ่งขึ้น โครงสร้างของอวัยวะของร่างกายที่มีเส้นใยคอลลาเจน เป็นองค์ประกอบจึงมีความแข็งแรง ตามปริมาณการสะสมของเส้นใยคอลลาเจน สำหรับเซลล์สร้างเส้นใยที่นำมาจากเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย พบว่ามีเส้นใยคอลลาเจน ชนิดที่ 1 เป็นองค์ประกอบหลัก เส้นใยคอลลาเจนยังมีผลในการควบคุมระดับกิจกรรมตลอดจนการทำหน้าที่ของเซลล์ให้เป็นไปอย่างปกติ นอกจากนี้สารชีวโมเลกุลอื่นที่อยู่รอบ ๆเซลล์ เช่น ไฟโบรเนกตินที่ประกอบอยู่ในเมทริกซ์นอกเซลล์ ซึ่งทำหน้าที่เป็นโมเลกุลเชื่อมต่อระหว่างเซลล์ และสารชีวโมเลกุลอื่น ๆ นอกเหนือจากโปรตีนสองชนิดที่ได้กล่าวนี้ มีความสำคัญต่อโครงสร้างเนื้อเยื่อและการทำหน้าที่ของอวัยวะ ซึ่งหากชนิดและปริมาณของการสร้างโปรตีนเปลี่ยนแปลงไป ย่อมส่งผลต่อโครงสร้างและการทำหน้าที่ของเซลล์ อาจนำไปสู่ความผิดปกติของอวัยวะนั้นได้ เช่น การศึกษาในปฏิบัติการของ Veron และ Maglorie (1993) ศึกษาผลของฟลูออไรด์ต่อเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์ พบว่าฟลูออไรด์มีผลลดการสังเคราะห์เส้นใยคอลลาเจน ชนิดที่ 1 ซึ่งกลไกดังกล่าวนำไปสู่ความผิดปกติของขบวนการสร้างเคลือบฟันในเวลาต่อมา นอกจากนี้การศึกษาของ Ramp และคณะ (1986) โดยเพาะเลี้ยงอวัยวะที่เป็นกระดูกทิเบียของไก่ในสภาวะที่มีไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในอาหารเลี้ยง

เซลล์พบว่าไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.2 และ 2.0 มิลลิโมลาร์ พบว่ามีผลยับยั้งการสังเคราะห์เส้นใยคอลลาเจน ชนิดที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญ และที่ความเข้มข้น 0.02-2.0 มิลลิโมลาร์ พบว่าไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์มีผลลดอัตราการเกิดเมตาโบลิซึมของกลูโคส ซึ่งความผิดปกติของการสร้างเส้นใยคอลลาเจน ชนิดที่ 1 มีผลทำให้เนื้อเยื่อดังกล่าวมีโครงสร้างผิดไปจากปกติได้ เช่น ความผิดปกติในขบวนการสร้างกระดูกและฟันที่พบในผู้ป่วยออสติโอจินิซีสอิมเพอร์เฟคตา (osteogenesis imperfecta) ในกรณีที่มีสาเหตุมาจากความบกพร่องของสารพันธุกรรมที่ควบคุมการสร้างเส้นใยคอลลาเจน ชนิดที่ 1 อาจพบความผิดปกติของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันได้ในหลายอวัยวะ เช่น ในผู้ป่วย มาร์แฟนซินโดรม (Marfan' syndrome) และ เอสเลอร์-แดนลอส ซินโดรม (Ehler-Danlos syndrom) (Gage และคณะ, 1989)

การศึกษาในเชิงพิษวิทยาเพื่อทราบกลไกการเกิดพิษในระดับเซลล์ช่วยให้เกิดความรู้และความเข้าใจสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ในส่วนของผลที่เกิดขึ้นในระดับเนื้อเยื่อและรวมถึงผลที่ความผิดปกติของอวัยวะในร่างกาย (Gregus และ Klassen, 1996) การศึกษาผลกระทบที่เกิดจากสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนไปของเซลล์ที่อาจมีผลต่อการสังเคราะห์โปรตีนชนิดอื่น ๆ ที่อาจส่งผลต่อการทำหน้าที่ของเซลล์และเนื้อเยื่อ ได้แก่ อัลคาไลน์ฟอสฟาเทส (alkaline phosphatase) ฟอสโฟฟอริน (phosphophoryn) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ได้รับการพิสูจน์แล้วว่าเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันสามารถสร้างได้ในร่างกายและในปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเซลล์ (Kasugai และคณะ, 1993) นอกจากนี้การศึกษาโปรตีนที่ผิวเซลล์ ที่ทำหน้าที่เป็นตัวจับยึดกับโมเลกุลของไฟโบรเนกตินที่ผิวเซลล์ ซึ่งการเกาะยึดกันจะก่อให้เกิดการส่งสัญญาณที่อาจไปมีผลในการกระตุ้นหรืออาจยับยั้งการทำหน้าที่บางอย่างของนิวเคลียร์แฟคเตอร์ ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมขบวนการสังเคราะห์โปรตีนของเซลล์ เช่น โปรตีนชนิดเอมเอมพี *(matrix metalloproteinase: MMP)* ซึ่งเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการทำลายเส้นใยคอลลาเจน การศึกษาความเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจศึกษาในระดับโปรตีนที่เซลล์สร้าง หรือศึกษาในระดับโมเลกุลของสารพันธุกรรม เช่น การวัดความเปลี่ยนแปลงของระดับเอม-อาร์เอนเอ ที่บ่งชี้ถึงการแสดงออกของสารพันธุกรรม ตลอดจนการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างของเซลล์กับระดับกิจกรรมทางชีวภาพของเซลล์ ซึ่งในสภาวะปกติเซลล์จะมีระดับกิจกรรมในระดับพื้นฐานลักษณะรูปร่างเซลล์และนิวเคลียสจะแสดงลักษณะที่ปกติ คือ นิวเคลียสจะมีรูปร่างมนกลม มีสัดส่วนของนิวเคลียสต่อไซโตพลาสซึมคงที่ รูปร่างเซลล์คล้ายคลึงกัน การที่เซลล์ได้รับสารที่ก่อพิษต่อเซลล์หรือสิ่งแวดล้อมที่เป็นอยู่เปลี่ยนแปลงไป เซลล์จำเป็นต้องมีการปรับตัวเพื่อความอยู่รอด จึงมีผลทำให้เซลล์มีระดับกิจกรรมที่เปลี่ยนไปจากระดับพื้นฐาน ซึ่งหากอันตรายจากสภาวะแวดล้อมของเซลล์ค่อย ๆ ลดน้อยลง จนกระทั่งหมดไปเซลล์ที่ได้รับบาดเจ็บไม่มาก และได้มีการปรับตัวโดยการปรับกิจกรรมของเซลล์ดังกล่าว ทำให้เซลล์สามารถกลับสู่ภาวะที่ปกติได้ แต่หากว่าการได้รับอันตรายมากเกินกว่าที่เซลล์จะทนทานหรือปรับตัวได้ เซลล์อาจตายหรือเซลล์อาจเข้าสู่ภาวะการเสื่อมอายุของเซลล์ (apoptosis) ที่เป็นผลให้เซลล์หมดความสามารถในการแบ่งตัวแบบไมโตซิสและเซลล์ตายในเวลาต่อมา (Sakaguchi และคณะ, 1998)

สรุปผลการทดลอง

การวิจัยครั้งนี้ทดสอบผลของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ต่อเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันในปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเซลล์ พบว่าไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ความเข้มข้นมากกว่าหรือเท่ากับ 12.5 ไมโครโมลาร์ เป็นพิษต่อเซลล์ ในขณะที่ความเข้มข้นน้อยกว่าหรือเท่ากับ 6.25 ไมโครโมลาร์ ไม่มีผลต่อการตายของเซลล์ จากการเพาะเลี้ยงที่ 24-48 ชั่วโมง และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ในสภาวะที่มีไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในความเข้มข้นที่ครอบคลุมช่วงความเข้มข้นที่ไม่มีผลต่อการตายของเซลล์ทดสอบที่ได้จากผู้ป่วย 2 ราย คือที่ความเข้มข้น 25, 12.5 และ 6.25 ไมโครโมลาร์ พบว่าไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์มีผลทำให้เซลล์เพิ่มการสร้างไฟโบรเนกตินมากขึ้น 2-5 เท่า เมื่อเทียบกับปริมาณที่สร้างในกลุ่มควบคุม ($p<0.05$) จากการเพาะเลี้ยงที่ 24 ชั่วโมง แต่จะไม่เห็นผลที่ชัดเจนเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ($p>0.05$) และเมื่อทำการวิเคราะห์การสร้างเส้นใยคอลลาเจน ชนิดที่ 1 จากการเพาะเลี้ยงเซลล์ในสภาวะอย่างเดียวกันเป็นเวลา 7 วัน ไม่พบความแตกต่างของปริมาณการสร้างเส้นใยคอลลาเจน ชนิดที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย