

## บทที่ 1

### บทนำ



### ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

จากรายงานการสำรวจสภาพทันตสุขภาพแห่งชาติครั้งที่ 5 พ.ศ. 2543-2544 พบว่าโรคฟันผุเป็นปัญหาทันตสุขภาพที่สำคัญของประชาชนไทย (สาธาณสุข, 2545) ฟันผุทำให้เกิดการทำลายผิวเคลือบฟัน (enamel) เนื้อฟัน (dentin) และเนื้อเยื่อในโพรงฟัน (dental pulp) ซึ่งทำให้เกิดการติดเชื้อ การอักเสบและการตายของเนื้อเยื่อในโพรงฟัน เกิดอาการปวดฟัน การมีหนองปลายรากฟัน ทำให้ผู้ป่วยต้องรักษาคลองรากฟัน หรือต้องถอนฟันซี่นั้น ดังนั้นการรักษาความมีชีวิตของเนื้อเยื่อในโพรงฟันจึงเป็นขั้นตอนสำคัญที่จะทำให้ผู้ป่วยไม่สูญเสียฟันก่อนกำหนด

ฟันมีการตอบสนองชั้นพื้นฐานเพื่อปกป้องความมีชีวิตของตนเองโดยกระบวนการต่างๆดังนี้ การลดอัตราซึมผ่านของสารพิษที่หลังจากเชื้อแบคทีเรียเข้าสู่ชั้นเนื้อฟัน การสร้างส่วนเนื้อฟันขึ้นมาทดแทนส่วนที่ถูกทำลาย การควบคุมและการทำลายเชื้อหรือสารพิษด้วยกระบวนการของภูมิคุ้มกันทำให้เกิดการอักเสบในโพรงฟัน (Kim and Troebridge, 1998) เซลล์ที่มีหน้าที่หลักในการปกป้องเนื้อเยื่อในโพรงฟันคือเซลล์สร้างเนื้อฟัน (odontoblast) ที่เป็นเซลล์ซึ่งพัฒนามาจากเมสเซนไคมอลเซลล์ (mesenchymal cell) เซลล์ชนิดนี้จะเรียงตัวเป็นแถวเดี่ยวขนานกันอยู่รอบเนื้อเยื่อในโพรงฟัน รูปร่างของเซลล์จะต่างกันขึ้นอยู่กับตำแหน่ง เช่น บริเวณเนื้อเยื่อในโพรงฟัน ส่วนตัวฟันจะเรียงเป็นเซลล์รูปร่างสูงยาว (tall columnar shape) ถัดจากตัวฟันลงมาจะเรียงตัวต่ำลง บริเวณรากมีลักษณะเป็นรูปสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ (cuboidal shape) หรือแบน (flatten shape) เมื่อฟันได้รับภัยอันตราย เช่น การเกิดฟันผุ เซลล์สร้างเนื้อฟันจะมีการสร้างเนื้อฟันซ่อมแซม (reparative dentin) เพื่อลดการซึมผ่านของสารที่เป็นอันตรายสู่เนื้อเยื่อในโพรงฟัน อีกทั้งรักษาระยะห่างระหว่างสิ่งรบกวนที่เกิดจากฟันผุกับเนื้อเยื่อในโพรงฟัน ซึ่งเป็นหนึ่งในกลไกการป้องกันตนเองจากภัยอันตรายของเนื้อเยื่อในโพรงฟัน กรณีที่เซลล์สร้างเนื้อฟันถูกทำลายโดยเชื้อแบคทีเรีย หรือสารพิษที่หลังจากเชื้อแบคทีเรีย เซลล์สร้างเส้นใย (fibroblast) และเซลล์อันดิฟเฟอเรนซิเอเตดเมสเซนไคมอล (undifferentiated mesenchymal cell) ที่อยู่

บริเวณชั้นเซลล์ริชโซน (cell rich zone) ซึ่งอยู่ถัดมาจากชั้นของเซลล์สร้างเนื้อฟันจะเคลื่อนที่เข้ามาในบริเวณโอดอนโตบลาสติกโซน (odontoblastic zone) ทำหน้าที่เป็นเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟัน (odontoblast-like cell) เพื่อทดแทนเซลล์สร้างเนื้อฟันที่ตายไป (ธนะเพัญ ศรีสุวรรณ, 2542; Okiji, 2002) เซลล์ที่มีลักษณะคล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟัน ทำหน้าที่สร้างคอลลาเจน สารอินทรีย์ที่ไม่ใช่กลุ่มคอลลาเจน เช่น เดนตินเมทริกซ์โปรตีน 1 หรือ DMP1 (Dentin matrix protein1, DMP1) หลังจากนั้นจะเกิดการตกตะกอนของสารอินทรีย์ทำให้เกิดเนื้อเยื่อแข็งซึ่งจะเป็นส่วนของเนื้อฟันซ่อมแซม

DMP1 เป็นโปรตีนที่มีคุณสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) มีความเป็นกรดค่อนข้างสูง เนื่องจากมีกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบสำคัญ ได้แก่ glutamic acid, aspartic acid และ serine ทำให้มีความสามารถในการเกาะกับแคลเซียมในขบวนการตกผลึก ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นของขบวนการตกตะกอนของแคลเซียม ดังนั้นจึงเชื่อว่า DMP1 มีความเกี่ยวข้องกับการควบคุมขนาดของผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) (D'Souza et al., 1997) อย่างไรก็ดี แม้ว่าในขณะนี้ยังไม่ทราบหน้าที่ที่แท้จริงของ DMP1 แต่นักวิทยาศาสตร์ส่วนใหญ่เชื่อว่า DMP1 มีความเกี่ยวข้องกับการสร้างผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ เนื่องจากมีรายงานที่พบ DMP1 ในเซลล์สร้างเนื้อฟัน เซลล์สร้างกระดูก (osteoblast) และเซลล์สร้างเคลือบรากฟัน (cementoblast) ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีหน้าที่หลักในการสร้างเนื้อเยื่อแข็ง (calcified tissue) ของร่างกาย (D' Souza, 2002)

ในปัจจุบันมีการใช้วัสดุรองพื้นโพรงฟันที่มีส่วนผสมของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ หรือการใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ทาโดยตรงบริเวณที่มีการเผย (expose) ของเนื้อเยื่อในโพรงฟัน ส่งเสริมการเปลี่ยนแปลงของเซลล์อันติฟเฟอเรนซิเอเต็ดเมสเซนไคลมอล และเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟัน ไปเป็นเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟัน (Seux et al., 1991) เพื่อทำหน้าที่ส่งเสริมการสร้างเนื้อเยื่อแข็งของเนื้อฟัน เนื่องจากวัสดุที่มีส่วนผสมของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ที่มีใช้ในปัจจุบันเป็นวัสดุสังเคราะห์ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศและมีราคาสูง การพัฒนาสารจากธรรมชาติที่สามารถนำมาใช้แทนแคลเซียมไฮดรอกไซด์และสามารถผลิตได้ในประเทศจะช่วยลดต้นทุนในการรักษา พืชสมุนไพรที่ปลูกได้และมีอยู่ในประเทศก็เป็นอีกทางเลือกที่น่าสนใจในการนำมาศึกษาเพื่อทดแทนสารนำเข้าจากต่างประเทศ

ว่านหางจระเข้ (Aloe vera) เป็นหนึ่งในพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งในตำรายาไทย ระบุสรรพคุณสำหรับการรักษาแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก บำบัดผิวหนังอักเสบ กลาก ท้องผูก

กระเพาะและลำไส้อักเสบ โดยทั่วไปสารสกัดจากส่วนใบของว่านหางจระเข้แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนหัวและส่วนหาง มีการศึกษาที่นำสารสกัดจากว่านหางจระเข้มาใช้ในทางทันตกรรม เช่น การนำมาใช้ในการรักษาแผลในช่องปาก (Garnick, Singh and Winkley, 1998) และ การนำมารักษาแผลถอนฟันเพื่อช่วยลดการเกิดผลข้างเคียงภายหลังการถอนฟัน (Poor, Hall and Poor, 2002) จากการศึกษาของ Chithra และคณะ ในปีค.ศ.1988 พบว่า สารสกัดจากส่วนหัวของว่านหางจระเข้มีผลช่วยในการหายของแผลบริเวณผิวหนังของหนูทดลองที่ปกติ (Chithra, Sajithlal and Chandrakasan, 1998a) และเป็นโรคเบาหวาน โดยพบว่าเซลล์สร้างเส้นใยของผิวหนังมีการเพิ่มของการสร้างคอลลาเจนมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (Chithra, Sajithlal and Chandrakasan, 1998b) จากการศึกษาของพสุธาและคณะ พบว่าสารสกัดอย่างหยาบจากส่วนหัวของว่านหางจระเข้มีผลต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์สร้างเส้นใยจากเอ็นยึดปริทันต์ และเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟัน เมื่อตรวจวัดด้วยสารเอ็ม ที ที (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5 diphenyltetrazolium bromide, MTT) (พสุธา รัญญะกิจไพศาล, กนกนัดดา ตะเวทีกุล และ กุลวดี เหมกฤษกร, 2547) อย่างไรก็ดี ในงานวิจัยนี้ได้ใช้สารสกัดจากส่วนหัวของว่านหางจระเข้ซึ่งเป็นสารสกัดอย่างหยาบที่ประกอบด้วยสารต่างๆมากมาย ทำให้ยากต่อการชี้ชัดว่าสารใดในว่านหางจระเข้ที่มีผลให้เกิดคุณสมบัติดังกล่าว จึงเป็นอุปสรรคต่อการนำส่วนหัวของว่านหางจระเข้มาใช้ในทางทันตกรรม อีกทั้งยังขาดการศึกษาในเชิงลึกถึงผลของสารสกัดที่บริสุทธิ์ของว่านหางจระเข้ ต่อการแสดงออกของยีนในเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์ นอกจากนี้ ผลของสารสกัดจากส่วนหัวของว่านหางจระเข้ต่อระดับการแสดงออกของอาร์เอ็นเอเข้ารหัส (mRNA) ของยีน DMP1 ซึ่งเป็นหนึ่งในโปรตีนที่พบในเซลล์สร้างเนื้อฟันนั้นยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาผลของสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากส่วนหัวของว่านหางจระเข้ต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์และระดับอาร์เอ็นเอเข้ารหัสของยีน DMP1 ในเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์

## คำถามการวิจัย

2.1 สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากส่วนหัวของว่านหางจระเข้มีผลกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์หรือไม่

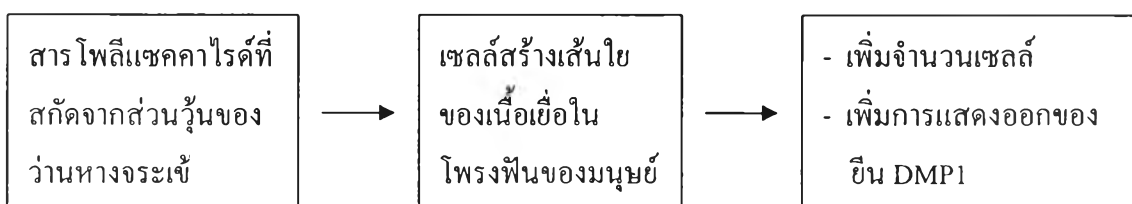
2.2 สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากส่วนหัวของว่านหางจระเข้ มีผลต่อระดับอาร์เอ็นเอเข้ารหัสของยีน DMP1 ในเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์หรือไม่

## วัตถุประสงค์การวิจัย

3.1 เพื่อศึกษาผลของสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากส่วนหัวของว่านหางจระเข้ต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์

3.2 เพื่อศึกษาผลของสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากส่วนหัวของว่านหางจระเข้ต่อระดับอาร์เอ็นเอเข้ารหัสของยีน DMP1 ในเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์

## กรอบแนวคิดในการวิจัย



- MTT

-RT-PCR

## รูปแบบการวิจัย

การวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการโดยวิธีการใช้สารเอ็ม ที ที และเทคนิคอาร์ ที - พี ซี อาร์ (Reverse transcription polymerase chain reaction (RT- PCR) ตามลำดับ

## ขอบเขตการวิจัย

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาค้างนี้ คือ เนื้อเยื่อในโพรงฟันที่ได้จากฟันกรามถาวรบนและล่างซี่ที่ 3 ของผู้ป่วย ที่มีสภาพปกติและสมบูรณ์ โดยฟันกรามที่ใช้ในการทดลองจะต้องมีคุณสมบัติดังนี้ การสร้างปลายรากยังไม่สมบูรณ์ ไม่มีรอยโรคฟันผุ และไม่มีอาการอักเสบของอวัยวะปริทันต์ ฟันที่ใช้ในการศึกษาค้างนี้ได้จากผู้ป่วยที่มารับการรักษาที่ภาควิชาศัลยศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย การศึกษาในครั้งนี้ได้ผ่านการเห็นชอบจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปี 2547 ตามเอกสารเลขที่ วจ 288/2547

สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากส่วนรากของว่านหางจระเข้ได้มาจากส่วนใบของว่านหางจระเข้พันธุ์ Aloe barbadensis Mill นำมาผ่านกระบวนการทำให้ละเอียด การตกตะกอน ผ่านการกรองและทำให้ปราศจากเชื้อตามขั้นตอนที่ได้เคยมีรายงานมาก่อน (McAnalley, 1988; Lee JK et al., 2001)

## ข้อจำกัดในการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการ ดังนั้นผลการศึกษาที่ได้จึงควรทำการทดสอบในสัตว์ทดลองต่อไป

## คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

เซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟัน หมายถึง เซลล์ที่คลานออกมาจากก้อนเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์ที่ได้จากฟันกรามแท่นและล่างซี่ที่ 3 ซึ่งการสร้างปลายรากยังไม่สมบูรณ์ ไม่มีรอยโรคฟันผุ และไม่มีการอักเสบของอวัยวะปริทันต์ หลังจากที่เลี้ยงในจานเพาะเลี้ยง เซลล์มีรูปร่างลักษณะเป็นรูปกระสวย (fusiform) คล้ายเซลล์สร้างเส้นใยทั่วไป

สารสกัดส่วนหัวของว่านหางจระเข้ หมายถึง โพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากขบวนการทำให้ละเอียด การตกตะกอน ผ่านการกรองและทำให้ปราศจากเชื้อตามขั้นตอนที่ได้เคยมีรายงานมาก่อน (McAnalley, 1988; Lee JK et al., 2001)

สารสกัดอย่างหยาบของว่านหางจระเข้ หมายถึง สารสกัดที่ได้จากส่วนหัวของว่านหางจระเข้โดยยังไม่ผ่านขบวนการแยกสารโพลีแซคคาไรด์ (พสุธา ธีญญะกิจไพศาล และคณะ, 2545; พสุธา ธีญญะกิจไพศาล และคณะ, 2547)

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ความรู้พื้นฐานถึงคุณสมบัติของสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากส่วนหัวของว่านหางจระเข้ต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์
2. ความรู้พื้นฐานถึงคุณสมบัติของสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากส่วนหัวของว่านหางจระเข้ต่อระดับอาร์เอ็นเอเข้ารหัสของยีน DMP1 ในเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์
3. ความรู้พื้นฐานที่ได้รับสามารถนำไปเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับงานวิจัยเพื่อประยุกต์ใช้สารสกัดจากส่วนหัวของว่านหางจระเข้สำหรับงานทางทันตกรรม