บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ฟลูออไรด์

ฟลูออไรด์ (Fluoride) เป็นธาตุอันดับที่ 17 ในตารางธาตุ (Periodic table) จัดอยู่ในกลุ่ม Halogen เช่นเดียวกับคลอรีน (Chlorine), ไอโอดีน (Iodine) และโบรไมด์ (Bromide) ฟลูออไรด์เป็นธาตุที่มี Electronegativity สูงที่สุดจึงไม่พบอยู่ในสภาพอิสระ เนื่องจากจะมีการจับกันทางเคมี (Chemical binding) กับธาตุกลุ่มโลหะ (Cations) อยู่ในรูปของเกลือฟลูออไรด์ (Fluoride salts) เสมอ เช่น Fluorite หรือ Fluospar (CaF_2) หน่วยของปริมาณฟลูออไรด์ที่นิยมเรียกใช้กันคือพีพีเอ็ม (ppm : part per million) ฟลูออไรด์จะพบตามธรรมชาติทั่วๆไป ทั้งในดิน น้ำ และอากาศ ในอาหารจำพวกพืช, ผัก ก็จะมีปริมาณฟลูออไรด์แตกต่างกันตามพื้นที่ที่ปลูกและสายพันธุ์ โดยเฉพาะในใบชาจะพบว่ามีฟลูออไรด์อยู่มากกว่าพืชชนิดอื่นๆ

ฟลูออไรด์ในอาหารหรือฟลูออไรด์ที่ร่างกายได้รับโดยการกินจะแบ่งตามคุณลักษณะทางเคมีเป็น 2 ลักษณะ คือ

1. สารประกอบที่ละลายน้ำได้ง่าย (Soluble compounds) ได้แก่ NaF, HF, Na_2PO_3F
2. สารประกอบที่ละลายน้ำได้ง่าย (Less soluble compounds) ได้แก่ CaF_2, MgF_2, AlF_3

เมื่อฟลูออไรด์เข้าสู่ร่างกายจะแตกตัวภายใต้สภาวะที่เป็นกรดเนื่องจากน้ำย่อยในกระเพาะอาหาร และซึมผ่านเยื่อบุกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กโดยขบวนการ Acid dependent passive diffusion เข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิต

ฟลูออไรด์ที่ปรากฏอยู่ในร่างกายคนเรานั้น 99% จะอยู่ที่กระดูกและฟัน ส่วนพลาสมา (plasma) จะมีฟลูออไรด์ทั้งที่เป็นรูปไอออน (Ionic form) และรูปนอนไอออน (non-ionic form) รวมกันเป็นปริมาณฟลูออไรด์รวมในพลาสมา (Total plasma fluoride) ซึ่งโดยปกติจะพบได้ในปริมาณระหว่าง 0.7 ถึง 2.4 ไมโครโมลาร์ (micromolar) ซึ่งจัดว่าเป็นระดับที่ปกติ สำหรับฟลูออไรด์ในน้ำลายจะมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.01-0.05 พีพีเอ็ม หรือประมาณ 2 ใน 3 ของฟลูออไรด์ในพลาสมา (Singer and Ophaug,1979; Newbrun,1986; Ehrnebo and Ekstrand,1986; Oliveby et al.,1989; Fejerskov et al.,1996)

ฟลูออไรด์ : ผลทางด้านกายภาพ

เป็นที่ทราบกันดีว่าฟลูออไรด์เป็นสารที่มีประโยชน์ในแง่ของการเสริมสร้างความแข็งแรงให้แก่กระดูกและฟันและช่วยป้องกันฟันผุ (Leverett,1982) โดยมีการนำมาใช้เพื่อป้องกันฟันผุตั้งแต่ประมาณ 50 ปีที่ผ่านมาและยังเป็นที่นิยมใช้กันจนถึงปัจจุบัน ผลของฟลูออไรด์ที่มีต่อเนื้อเยื่ออนินทรีย์ (mineralized tissue) ทั้งในกระดูกและฟันเกิดจากการที่ฟลูออไรด์สามารถเข้าแทนที่ไฮดรอกซีไอออน (hydroxy ion) ในผลึกไฮดรอกซีอาปาไทต์ (hydroxyapatite;$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) เกิดเป็นผลึกฟลูออโรอาปาไทต์ (fluoroapatite;$Ca_{10}(PO_4)_6F_2$) ซึ่งมีความเสถียรและทนทานต่อการกัดกร่อนของกรดมากกว่าผลึกไฮดรอกซีอาปาไทต์ (Aoba,1997)

สารประกอบฟลูออไรด์ที่นิยมนำมาใช้จะอยู่ในรูปของโซเดียมฟลูออไรด์ (Sodium fluoride), สแตนนัสฟลูออไรด์ (Stannous fluoride) หรือ แอซิดูเลตฟอสเฟตฟลูออไรด์ (Acidulated phosphate fluoride, APF) ที่นำมาเตรียมเพื่อการใช้งานในผลิตภัณฑ์หลายชนิดด้วยกัน ในส่วนของการให้ฟลูออไรด์เฉพาะที่ เช่น น้ำยาบ้วนปากผสมฟลูออไรด์ (Fluoride mouthrinse), ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์ (Fluoride toothpaste) และฟลูออไรด์เจล (Fluoride gel) สำหรับการเคลือบฟันในทางทันตกรรมป้องกันเป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการให้ฟลูออไรด์ทางระบบในรูปแบบที่เป็นเม็ด (tablets), สารละลายหยด (drops), เกลือฟลูออไรด์ (Fluoridated salt) หรือนมผสมฟลูออไรด์ (Fluoridated milk) สำหรับรับประทานซึ่งจะกำหนดปริมาณที่ใช้ต่างกันไปแล้วแต่อายุและปริมาณฟลูออไรด์ในน้ำดื่มในบริเวณที่อาศัยอยู่ นอกจากนี้ในหลายๆประเทศก็ได้มีการเติมฟลูออไรด์ลงไปในน้ำประปาด้วย (Water fluoridation) โดยมีความเข้มข้นของฟลูออไรด์ที่ 1 พีพีเอ็ม ซึ่งก็พบว่าช่วยลดอัตราการเกิดโรคฟันผุของประชาชนลงได้

ฟลูออไรด์ : ผลทางด้านชีวภาพ

นอกจากผลทางด้านกายภาพแล้วฟลูออไรด์ยังมีผลทางด้านชีวภาพด้วย โดยพบว่าฟลูออไรด์มีผลต่ออัตราการเจริญ (proliferation), ผลต่อกระบวนการดิฟเฟอเรนชิเอชั่น (differentiation), ผลต่อการสร้างโปรตีนและผลต่อการเหนี่ยวนำการเกิดตะกอนอนินทรีย์ (calcification) ในเนื้อเยื่ออนินทรีย์ได้ (Robinson and Kirkham,1990) และจากการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่าฟลูออไรด์สามารถกระตุ้นการเจริญในเซลล์กระดูกและเซลล์โพรงฟัน รวมทั้งกระตุ้นการแสดงออกของเซลล์ด้านอื่นๆด้วย เช่น การเพิ่มระดับเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase) (Farley et al.,1983; Wergedal et al.,1988; Khokher and

Dandona,1990; Nakade et al.,1999) และการเพิ่มการสร้างเส้นใยคอลลาเจน (collagen) เป็นต้น (Lau et al.,1991; Kassem et al.,1993)

บทบาทของฟลูออไรด์ที่มีต่ออัตราการเจริญและการสร้างเมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix) ดังที่กล่าวมา จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นด้วย โดยพบว่าฟลูออไรด์ในระดับต่ำมีบทบาทในการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ (healing) ของกระดูก (Briancon and Meunier,1981; Ohta et al.,1995; Kleerekoper,1998) ซึ่งพบว่าระดับของฟลูออไรด์ที่มีผลต่อเซลล์กระดูกจะเริ่มที่ประมาณ 10 ไมโครโมลาร์ (μM) หรือประมาณ 0.2 พีพีเอ็ม (1 พีพีเอ็ม=52 μM) ซึ่งเป็นระดับที่พบได้ในเลือด อย่างไรก็ตามกลไกการทำงานของฟลูออไรด์ก็ยังไม่เป็นที่ชัดเจนมากนัก แต่จากการศึกษาในเซลล์กระดูกพบว่าฟลูออไรด์สามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ไทโรซีนไคเนส (tyrosine kinase) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่ส่งผ่านสัญญาณในเซลล์ (Caverzasio et al.,1996; Caverzasio et al.,1997) โดยมีรายงานที่พบว่าฟลูออโรอลูมิเนต (Fluoroaluminate) สามารถผ่านเยื่อบุเซลล์ (cell membrane) เข้าไปจับกับ G-protein ซึ่งเป็นกลุ่มของโปรตีนที่ช่วยในการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ มีโครงสร้างประกอบด้วยโปรตีน 3 หน่วยย่อย (trimeric subunit) ได้แก่ α, β และ γ subunits โปรตีน β และ γ subunits เป็น regulatory subunits คอยควบคุมการทำงานของ α subunit และเป็นตัวที่จับอยู่กับ membrane ทำให้ G-protein จับอยู่กับ membrane ตลอดเวลา ส่วน α subunit จะไปจับกับ GTP แล้วไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ตัวอื่นเพื่อให้เกิดการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ต่อไป ตัว α subunit เองมีหลายชนิด ได้แก่ α_s และ α_i โดย α_s สามารถกระตุ้นให้เกิด cAMP ซึ่งเป็น secondary messenger ทำหน้าที่ส่งผ่านสัญญาณต่อเข้าไปในเซลล์ได้ ในขณะที่ α_i จะยับยั้งการสร้าง cAMP การจับกันระหว่างฟลูออโรอลูมิเนตกับ G alpha protein subunits ทำให้เกิดเป็นโครงสร้างที่เรียกว่า G alpha-GDP-AlF4 complex ซึ่งคล้ายคลึงกับโครงสร้างของ G alpha-GTP complex และสามารถส่งผ่านสัญญาณเข้าสู่เซลล์ได้ ในเซลล์สร้างกระดูก (osteoblasts) ฟลูออโรอลูมิเนตจะกระตุ้น G alpha i proteins นำไปสู่การลดระดับของ cAMP รวมถึงการกระตุ้นโปรตีนไคเนส 3 ชนิด คือ mitogen activated protein kinase, Erks (extracellular signal-regulated kinases) และ p70 S6 kinase ซึ่งโปรตีนไคเนสเหล่านี้เกียวข้องกับการควบคุมขบวนการ gene transcription และ protein synthesis นอกจากนี้ฟลูออโรอลูมิเนตยังไปกระตุ้น pertussis toxin-insensitive G proteins ทำให้เกิดการกระตุ้น cytoplasmic protein tyrosine kinases หลายชนิด ได้แก่ proline rich tyrosine kinase 2 (Src, Pyk2) และ focal adhesion kinase (Fak) พบว่าการกระตุ้น Erks จะทำให้เกิด osteoblast proliferation and differentiation ในขณะที่การกระตุ้น Src, Pyk2 กับ Fak สามารถ modulate adhesion properties ของเซลล์ osteoblasts ได้ (Burgener et al.,1995; Imai et al.,1996; Jeschke et al.,1998; Susa,1998)

ผลเสียของฟลูออไรด์

ถึงแม้ว่าฟลูออไรด์จะมีประโยชน์ต่อกระดูกและฟันทั้งในทางกายภาพและชีวภาพ แต่หากร่างกายได้รับฟลูออไรด์มากเกินไปจากน้ำดื่มที่มีระดับฟลูออไรด์สูง, การรับประทานยาเม็ดฟลูออไรด์ที่มากเกินไป หรือการกลืนยาสีฟันที่มีฟลูออไรด์ก็อาจก่อให้เกิดโทษได้ เช่น เกิดฟันตกกระ, เกิดความผิดปกติของระบบทางเดินอาหารหรืออาจถึงแก่ความตายได้ (Whitford,1992) นอกจากนี้ยังมีการทดลองในเซลล์โพรงฟันและพบว่าฟลูออไรด์ที่ความเข้มข้นมากกว่า 25 พีพีเอ็มสามารถไปยับยั้งการสร้างเส้นใยคอลลาเจน, ลดระดับเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสลงและมีผลลดการเจริญของเซลล์ด้วย (Veron et al.,1993)

ฟลูออไรด์กับเซลล์โพรงฟัน (Pulp cells)

เซลล์สร้างเส้นใยในโพรงฟันเป็นเซลล์ที่พบได้มากที่สุดในเนื้อเยื่อโพรงฟัน และมีบทบาทสำคัญในกระบวนการสร้างและซ่อมแซมเนื้อเยื่อโพรงฟัน โดยเซลล์เหล่านี้ยังสามารถดิฟเฟอเรนชิเอท (differentiate) เป็นเซลล์สร้างเนื้อฟันได้เมื่อมีอันตรายเกิดขึ้นกับฟันหรือเนื้อเยื่อโพรงฟัน (Yamamura,1985) ปัจจุบันการศึกษาถึงผลของฟลูออไรด์ต่อเนื้อเยื่อโพรงฟันยังมีอยู่น้อยมาก มีรายงานของ Nakade และคณะที่พบว่าฟลูออไรด์ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 2 พีพีเอ็มมีผลในการกระตุ้นการเจริญและเพิ่มระดับเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเช่นเดียวกับในเซลล์สร้างกระดูก (Nakade et al.,1999) จากหลักฐานที่กล่าวมาข้างต้นก็แสดงว่าฟลูออไรด์เป็นสารตัวหนึ่งที่น่าจะนำมาใช้เสริมสร้างการซ่อมแซมของเนื้อเยื่อโพรงฟันได้หากได้มีการศึกษาถึงปริมาณที่เหมาะสมที่ควรใช้ต่อไป แต่ถ้าใช้ในความเข้มข้นที่สูงเกินไปก็อาจมีผลเสียต่อเนื้อเยื่อโพรงฟันได้ดังเช่นในการทดลองของ Veron และคณะ นอกจากนี้ในทางคลีนิกเองก็ได้มีการใช้วัสดุพวก glass ionomer ที่ใช้เป็น lining หรือ capping materials ในการบูรณะฟัน ซึ่งตัววัสดุมีคุณสมบัติในการปล่อยฟลูออไรด์ในความเข้มข้นต่ำออกมาได้ (Forsten,1990; Tam et al.,1997) ฟลูออไรด์ที่หลุดออกมาจากซีเมนต์ที่แข็งตัวแล้ว ส่วนมากมาจากฟลูออไรด์ไอออนในเมทริกซ์ โดยจะอยู่ในรูปของโซเดียมฟลูออไรด์, แคลเซียมฟลูออไรด์หรือฟลูออไรด์ไอออนอิสระ ในระยะแรกๆฟลูออไรด์จะหลุดออกมาจากผิวหน้าของซีเมนต์ หลังจากนั้นฟลูออไรด์ที่อยู่ใต้ผิวหน้าจะเคลื่อนที่ไปยังชั้นผิวหน้าและถูกปลดปล่อยออกมา (Thylstrup and Fejerskov,1986; Katsuyama et al.,1993) ปริมาณฟลูออไรด์ที่ปลดปล่อยจะมีปริมาณสูงสุดใน 24 ชั่วโมงแรก (ประมาณ 4.3 พีพีเอ็ม) แล้วจะลดลงเรื่อยๆจนคงที่ (ประมาณ 1 พีพีเอ็ม) ใน 1-2 อาทิตย์ (Momoi and McCabe,1993;

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Mitra,1991) ทำให้เนื้อฟันและเนื้อเยื่อโพรงฟันสามารถได้รับฟลูออไรด์เพิ่มขึ้นด้วย และอาจมีผลต่อกระบวนการซ่อมแซมที่เกิดขึ้นได้

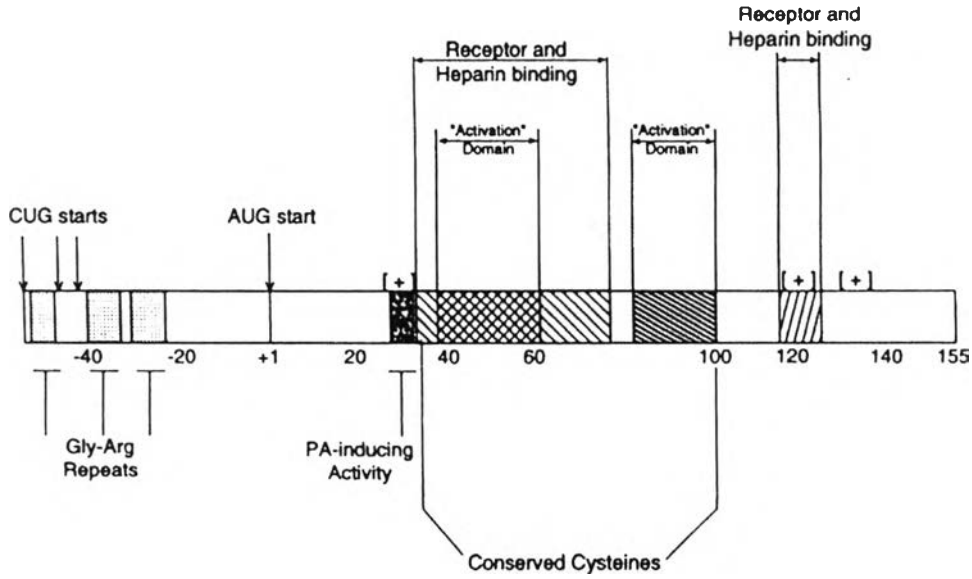
โกร๊ทแฟคเตอร์ (growth factor)

ปัจจัยอีกตัวหนึ่งที่มีอิทธิพลในการซ่อมแซมเนื้อเยื่อโพรงฟันคือโกร๊ทแฟคเตอร์ (growth factor) ซึ่งเป็นกลุ่มของสารหลั่งโปรตีนที่เซลล์สร้างและหลั่งออกมาเพื่อกระตุ้นการเจริญและซ่อมแซมเนื้อเยื่อในร่างกาย (Lynch and Giannobile,1994) จากการศึกษาพบว่าเซลล์โพรงฟันสามารถตอบสนองต่อโกร๊ทแฟคเตอร์หลายชนิด เช่น เบสิค-เอฟจีเอฟ (bFGF ; basic fibroblast growth factor), พีดีจีเอฟ (PDGF ; platelet derived growth factor), วีอีจีเอฟ (VEGF ; vascular endothelial growth factor) และทีจีเอฟเบต้า (TGF-β ; transforming growth factor beta) เป็นต้น ซึ่งมีผลช่วยเพิ่มอัตราการเจริญและการสร้างโปรตีนเมทริกซ์นอกเซลล์บางชนิด (Nakashima,1992; Shiba et al.,1998) ที่จำเป็นต่อการซ่อมแซมเนื้อเยื่อโพรงฟัน

เบสิค-เอฟจีเอฟ (bFGF ; basic fibroblast growth factor)

โกร๊ทแฟคเตอร์ตัวหนึ่งที่มีบทบาทในการซ่อมแซมเนื้อเยื่อโพรงฟันคือ เบสิค-เอฟจีเอฟ (Nakashima,1992) ซึ่งเป็นโปรตีนตัวหนึ่งในกลุ่มของโปรตีน FGF family ที่ประกอบด้วยโพลีเปปไทด์อย่างน้อย 7 ชนิด ได้แก่ acidic FGF, basic FGF, int-2, k-FGF, FGF-5, FGF-6 และ keratinocyte growth factor (KGF) เนื่องจากโปรตีนในกลุ่มนี้สามารถจับกับเฮพพาริน (heparin) ได้ จึงอาจเรียกชื่อได้อีกอย่างว่า heparin binding growth factors สำหรับเบสิค-เอฟจีเอฟถือได้ว่าเป็นโปรโตไทป์ของ FGF มีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 18-25 กิโลดาลตัน (kDa) (Prats et al.,1989; Florkiewicz and Sommer,1989) มีความยาวของสายโพลีเปปไทด์ 155 กรดอะมิโน โดยมีตำแหน่งที่สามารถจับกับ heparin ที่ตำแหน่ง 33-77, 115-124 และ 130-155 นอกจากนี้ยังมีกลุ่มของ basic residues ที่ตำแหน่งของกรดอะมิโนที่ 27-31, threonine 121 และ lysine 132 ในสายของ bFGF ด้วย ซึ่งมีรายงานว่าถ้าเกิด point mutation ที่ไปเปลี่ยนแปลงประจุของบริเวณนี้จะไปลด mitogenic activity ของ recombinant bFGF ได้ และมีรายงานที่พบว่าการขาดกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 27-31 ยังมีผลทำให้ plasminogen activator inducing activity ในเซลล์ที่เพาะเลี้ยงจากเยื่อบุผนังหลอดเลือด (cultured endothelial cells) ลดลงอย่างมากด้วย นอกจากนี้ยังมีตำแหน่งที่เรียกว่า activation domains พบที่ตำแหน่ง 38-61 และ 82-101 ของสายโพลี

เปปไทด์ เป็นตำแหน่งที่จำเป็นต่อ mitogenic activity แต่ไม่ได้เกี่ยวข้องในการจับกับ FGF receptor (Miller and Rizzino,1994) โครงสร้างของเบสิค-เอฟจีเอฟดังแสดงในรูปที่ 1.1



รูปที่ 1.1 แสดงโครงสร้างและหน้าที่ของเบสิค-เอฟจีเอฟ ตัวเลขแสดงตำแหน่งของกรดอะมิโน ตำแหน่งที่มี [+] คือกลุ่มของ basic residues ซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องกับการจับกับเฮพพาริน

เบสิค-เอฟจีเอฟถูกสร้างขึ้นจากเซลล์สร้างเส้นใย (fibroblasts) เป็นส่วนใหญ่ และเป็นโปรตีนที่มีบทบาทอย่างมากต่อเซลล์หลายๆชนิด ได้แก่ เซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม, เซลล์ไลน์ (cell lines) รวมไปถึงเนื้อเยื่อเอนโดเดิร์ม (endoderm), มีโซเดิร์ม (mesoderm) และนิวโรเอกโตเดิร์ม (neuroectoderm) (Chaproniere and McKeehan,1986; Maciag et al.,1981; Chen et al.,1987) โดยจะมีผลในการเพิ่มอัตราการแบ่งตัวของเซลล์สร้างเส้นใย, มีผลต่อการหายของแผลและการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ และยังทำหน้าที่สำคัญในกระบวนการเกิดเส้นเลือดใหม่ ซึ่งเป็นกระบวนการที่สำคัญอย่างหนึ่งในการซ่อมแซม (Montesano et al.,1986; Folkman and Klagsbrun,1987) และมีรายงานว่าเบสิค-เอฟจีเอฟสามารถหลั่งออกมาจากเซลล์บุผนังหลอดเลือด (endothelial cells) และย้อนกลับมามีอิทธิพลต่อการคงมีชีวิต (survival rate) ของเซลล์เหล่านั้นด้วย (Harnett et al.,1999) ซึ่งเป็นขั้นตอนสำคัญในการที่เซลล์บุหลอดเลือดจะสามารถสร้างเส้นเลือดใหม่เข้าไปเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ได้รับอันตราย

นอกจากนี้ยังมีหลักฐานที่แสดงว่าโกร๊ทแฟคเตอร์ตัวนี้มีบทบาทในการกระตุ้นเซลล์โพรงฟัน และเกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดเนื้อฟัน (dentinogenesis) ในระหว่างการสร้างฟันด้วย โดยพบว่าในระหว่างพัฒนาการของหน่อฟัน เบสิค-เอฟจีเอฟอาจทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโพลาร์

(polarization) ของเซลล์สร้างเนื้อฟัน (Cam et al.,1992) รวมทั้งทำหน้าที่ร่วมกับทีจีเอฟเบต้า (TGF beta) และไอจีเอฟ (IGF) ในการกระตุ้นดิฟเฟอเรนชิเอชั่นของเซลล์สร้างเนื้อฟัน (Martin et al.,1998) ในขณะเดียวกันมีรายงานที่แสดงว่าเซลล์ของเนื้อเยื่อโพรงฟันมีรีเซพเตอร์ต่อเบสิค-เอฟจีเอฟ (FGF receptor) บนผิวเซลล์อยู่ตลอดเวลาอีกด้วย (Peters et al.,1992) ซึ่งเป็นการสนับสนุนถึงความสำคัญของเบสิค-เอฟจีเอฟต่อพฤติกรรมของเซลล์เนื้อเยื่อโพรงฟัน

พีดีจีเอฟ (PDGF ; platelet derived growth factor)

โกร๊ทแฟคเตอร์อีกตัวหนึ่งที่มีบทบาทอย่างมากในกระบวนการซ่อมแซมเนื้อเยื่อคือ พีดีจีเอฟ (PDGF ; platelet derived growth factor) ซึ่งเป็นโกร๊ทแฟคเตอร์ที่พบมากภายในเกล็ดเลือด (Raines and Ross,1982) มีผลในการกระตุ้นการเจริญของเซลล์ (Lynch et al.,1987; Tanaka and Liang,1995) และเพิ่มการสร้างเมทริกซ์นอกเซลล์เช่นเดียวกัน (Lepisto et al.,1996; Shiba et al.,1998) พีดีจีเอฟถูกค้นพบจากการหลั่งออกจากเกล็ดเลือดเมื่อมีการรวมกลุ่มกันของเกล็ดเลือดเพื่อปิดปากแผล โดยตัวโครงสร้างมีลักษณะเป็นไดเมอริกโปรตีน (dimeric protein) ประกอบด้วยสายโพลีเป็ปไทด์ 2 สาย คือ พีดีจีเอฟเอ (PDGF-A chain) และพีดีจีเอฟบี (PDGF-B chain) มาจับคู่กันโดยจับกันได้เป็น 3 ลักษณะ คือ พีดีจีเอฟ-เอเอ (PDGF-AA), พีดีจีเอฟ-บีบี (PDGF-BB) และพีดีจีเอฟ-เอบี (PDGF-AB) และมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 28-35 กิโลดาลตัน (kDa) (Bowen-Pope and Seifert,1994) การศึกษาในครั้งนี้ได้เลือกใช้พีดีจีเอฟ-บีบี เนื่องจากพีดีจีเอฟ-บีบีมีบทบาทในการกระตุ้นอัตราการเจริญในเซลล์สร้างเส้นใยมากกว่าชนิดอื่นๆ และมีรายงานจำนวนมากที่แสดงถึงความสำคัญของพีดีจีเอฟในการซ่อมแซมเนื้อเยื่อหลายๆชนิด (Lepisto et al.,1996; Pierce et al.,1989) รวมถึงเนื้อเยื่อปริทันต์ด้วย (Lynch et al.,1989; Wang et al.,1994) แต่ก็ยังไม่มีรายงานใดที่กล่าวถึงบทบาทของพีดีจีเอฟที่มีต่อเซลล์ของเนื้อเยื่อโพรงฟัน

ไฟโบรเนกติน (Fibronectin)

ไฟโบรเนกตินเป็นไกลโคโปรตีนตัวหนึ่งที่มีโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยโปรตีน 2 สายที่มีโครงสร้างเหมือนกัน ยึดติดกันด้วยพันธะคู่ของไดซัลไฟด์ และมีคาร์โบไฮเดรตในรูปโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) ต่ออยู่กับสายโปรตีน มีน้ำหนักโมเลกุล 220-250 กิโลดาลตัน พบได้ 2 แบบ ได้แก่ 1. ไฟโบรเนกตินที่ละลายอยู่ในพลาสมา ซึ่งถูกสร้างมาจากเซลล์ตับ (hepatocytes) และเซลล์บุผนังหลอดเลือด (endothelial cells) 2. ไฟโบรเนกตินที่ประกอบอยู่ในเมทริกซ์นอก

เซลล์ สร้างขึ้นมาจากเซลล์หลายชนิดโดยเฉพาะเซลล์สร้างเส้นใยซึ่งพบมากในเนื้อเยื่อยึดต่อ (connective tissue) รวมทั้งในเนื้อเยื่อโพรงฟัน ไฟโบรเนกตินมีความสำคัญต่อเซลล์ตั้งแต่ในระยะที่มีการพัฒนาการ โดยจะทำหน้าที่ช่วยในการยึดเกาะระหว่างเซลล์กับสารที่อยู่ระหว่างเซลล์ชนิดอื่นๆ รวมถึงการควบคุมการเคลื่อนที่และการเจริญของเซลล์ นอกจากนี้ยังช่วยกระตุ้นให้เซลล์มีพัฒนาการในกระบวนการก่อรูปร่าง (morphogenesis), กระบวนการดิฟเฟอเรนชิเอชั่น รวมถึงการทำหน้าที่ในการสังเคราะห์สาร และยังมีรายงานว่าไฟโบรเนกตินมีบทบาทสำคัญในกระบวนการหายของแผลและการซ่อมแซมเนื้อเยื่อได้อีกด้วย (Greiling and Clark,1997) เนื่องจากโมเลกุลของไฟโบรเนกตินนั้นประกอบด้วยส่วนที่สามารถจับกับโมเลกุลอื่นได้หลายชนิด ทำให้ไฟโบรเนกตินมีคุณสมบัติในการยึดเกาะกับโมเลกุลอื่นๆได้ เช่น ไฟบริโนเจน (fibrinogen), โปรทีโอไกลแคน (proteoglycan) รวมถึงโปรตีนอินทิกริน (integrin) ที่ผิวเซลล์ด้วย (Yamada,1983; Milam et al.,1991; Uitto and Larjava,1991)

การศึกษาในครั้งนี้

จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าบทบาทของฟลูออไรด์ที่มีต่อเซลล์ในแง่ของการเจริญและการสร้างเมทริกซ์นอกเซลล์นั้นคล้ายคลึงกับบทบาทของโกร๊ทแฟคเตอร์ ดังนั้นจึงเป็นประเด็นที่น่าสนใจว่า ฟลูออไรด์และโกร๊ทแฟคเตอร์จะมีบทบาทร่วมกันต่อเซลล์โพรงฟันอย่างไร การศึกษาครั้งนี้ต้องการศึกษาการตอบสนองของเซลล์ที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟันที่มีต่อฟลูออไรด์ในสภาวะที่มีเบสิคเอฟจีเอฟและในสภาวะที่มีพีดีจีเอฟ โดยศึกษาผลของสารทั้งสามชนิดต่ออัตราการเจริญ และการสร้างโปรตีนไฟโบรเนกติน (fibronectin)

ความเข้าใจในบทบาทของฟลูออไรด์ที่มีต่อเซลล์ที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อโพรงฟันในสภาวะที่มีเบสิคเอฟจีเอฟและในสภาวะที่มีพีดีจีเอฟ น่าจะช่วยให้เกิดความเข้าใจในกระบวนการซ่อมแซมเนื้อเยื่อโพรงฟัน อันจะเป็นประโยชน์ต่องานวิจัย และการนำเอาฟลูออไรด์ไปใช้ในอนาคตต่อไป

สมมติฐานการวิจัย (Hypothesis)

ในการเพาะเลี้ยงเซลล์สร้างเส้นใย (fibroblast) จากเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์

1. ในสภาวะที่มีปริมาณของฟลูออไรด์ที่แตกต่างกัน จะมีผลต่ออัตราการเจริญและการสร้างไฟโบรเนกตินของเซลล์ได้แตกต่างกัน
2. ในสภาวะที่มีปริมาณของโกร๊ทแฟคเตอร์ 2 ชนิด คือ เบสิค-เอฟจีเอฟ และพีดีจีเอฟ ในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน จะมีผลต่ออัตราการเจริญและการสร้างไฟโบรเนกตินของเซลล์ได้แตกต่างกัน
3. ในสภาวะที่มีฟลูออไรด์และโกร๊ทแฟคเตอร์ร่วมกัน จะมีผลเพิ่มอัตราการเจริญและการสร้างไฟโบรเนกติน

วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives)

เพื่อศึกษาผลของฟลูออไรด์, เบสิค-เอฟจีเอฟ และพีดีจีเอฟ ที่มีอิทธิพลต่อพฤติกรรมของเซลล์สร้างเส้นใยที่นำมาจากเนื้อเยื่อจากโพรงฟันของมนุษย์ในแง่ของ

- ผลต่อการกระตุ้นการเจริญของเซลล์
- ผลต่อการสร้างไฟโบรเนกติน

ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาทดลองในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเซลล์สร้างเส้นใยที่นำมาจากเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์ โดยใช้ฟันตัวอย่างเป็นฟันกรามซี่ที่ 3 ของผู้ป่วยที่มาถอนฟันด้วยเหตุผลทางทันตกรรมจัดฟัน โดยจะต้องเป็นฟันที่มีสภาพสมบูรณ์ปกติ ไม่มีโรคฟันผุ ไม่มีโรคของเนื้อเยื่อในโพรงฟัน และไม่มีการอักเสบของอวัยวะปริทันต์ แล้วนำส่วนของเนื้อเยื่อโพรงฟันมาทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ (culture) ตามวิธีการของปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเซลล์เพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ให้มากพอ หลังจากนั้นนำเซลล์ที่ได้มาทดสอบกับฟลูออไรด์, เบสิค-เอฟจีเอฟ และพีดีจีเอฟ ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันนาน 48 ชั่วโมง โดยมีวัตถุประสงค์หลัก คือ

1. หาระดับความเข้มข้นของสารทั้ง 3 ชนิดที่มีผลต่ออัตราการเจริญของเซลล์
2. ศึกษาผลของสารทั้ง 3 ชนิด ว่ามีผลต่อหน้าที่การทำงานของเซลล์หรือไม่ โดยดูที่ผลต่อการสร้างไฟโบรเนกติน

ข้อตกลงเบื้องต้น

1. ฟันตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ เลือกใช้ฟันกรามซี่ที่ 3 ของผู้ป่วยอายุระหว่าง 18-25 ปีที่มาถอนฟันด้วยเหตุผลทางทันตกรรมจัดฟัน ฟันที่นำมาใช้ต้องเป็นฟันที่มีสภาพสมบูรณ์ปกติ ไม่มีโรคฟันผุ ไม่มีโรคของเนื้อเยื่อในโพรงฟัน และไม่มีการอักเสบของอวัยวะปริทันต์
2. ฟันที่นำมาใช้ศึกษา ต้องมีรากฟันอยู่ในสภาพสมบูรณ์ หรือมีการสร้างรากฟันมาแล้วเกือบสมบูรณ์
3. ฟันที่ไม่ได้ตามเงื่อนไขดังกล่าว จะไม่นำมาใช้ในการศึกษา

คำสำคัญ (Key words)

ฟลูออไรด์	เบสิค-เอฟจีเอฟ	พีดีจีเอฟ
เซลล์สร้างเส้นใย	การตอบสนองของเซลล์	ไฟโบรเนกติน

รูปแบบการวิจัย (Research design)

การศึกษาเชิงทดลอง (experimental study)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ทำให้เกิดความรู้และความเข้าใจถึงการตอบสนองของเซลล์โพรงฟันที่มีต่อฟลูออไรด์ เบสิค-เอฟจีเอฟ และพีดีจีเอฟ
2. สามารถนำความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในงานทันตกรรม เพื่อให้เกิดประโยชน์แก่ผู้ป่วยได้มากขึ้น
3. เป็นแนวทางในการวิจัยเพื่อศึกษากระบวนการซ่อมแซมของเนื้อเยื่อโพรงฟัน รวมทั้งผลของฟลูออไรด์ เบสิค-เอฟจีเอฟ และพีดีจีเอฟเพิ่มเติมในภายหน้า