

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

โรคปริทันต์ (periodontal disease) เป็นโรคที่มีการติดเชื้อและมีการอักเสบของอวัยวะปริทันต์ (periodontium) อันได้แก่ เหงือก (gingiva) เอ็นยึดปริทันต์ (periodontal ligament) เคลือบรากฟัน (cementum) และกระดูกเบ้าฟัน (alveolar bone) ในปี ค.ศ. 1999 The American Academy of Periodontology (AAP) ได้จำแนกโรคปริทันต์ออกเป็นกลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ โรคเหงือก (gingival disease) ซึ่งมีการอักเสบของเหงือกเพียงอย่างเดียวโดยไม่มีการทำลายอวัยวะปริทันต์และโรคปริทันต์อักเสบ (periodontitis) (ภาพที่ 1) ซึ่งจะมีความรุนแรงมากกว่าโรคเหงือกเนื่องจากเป็นโรคที่มีการอักเสบและมีการทำลายอวัยวะปริทันต์ร่วมด้วย (Armitage, 1999) โดยทั้งสองโรคจะมีกระบวนการที่เป็นปัจจัยหลักในการก่อให้เกิดโรค ซึ่งเมื่อเกิดความสมดุลกันระหว่างปริมาณหรือความรุนแรงของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นองค์ประกอบของคราบจุลินทรีย์นั้นๆ กับกลไกความต้านทานโรคภายในร่างกาย (host response) การทำลายอวัยวะปริทันต์หรือพยาธิสภาพจะไม่เกิดขึ้น



ภาพที่ 1 ลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบ

ในขณะที่หากเกิดการเสียสมดุลระหว่างปัจจัยดังกล่าวจะพบการเพิ่มจำนวนหรือออกขยายของเยื่อผิวเชื่อมต่อ (junctional epithelium) จากรอยต่อเคลือบฟันกับเคลือบรากฟัน (cemento-enamel junction) ลงไปทางปลายรากฟัน ซึ่งเป็นการแสดงออกถึงการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะ

ปริทันต์ร่วมกับการละลายตัวของกระดูกเบ้าฟันจนเกิดร่องลึกปริทันต์ (periodontal pocket) (Lindhe *et al.*, 2008) และดำเนินต่อไปเป็นโรคปริทันต์อักเสบ ซึ่งอาจเกิด การทำลายอย่างรุนแรงเป็นครั้งๆ หรือเกิดการทำลายรุนแรงหลายครั้งที่ไม่พร้อมกันในระยะเวลากระชั้นชิด หรือเกิดการทำลายซ้ำๆ อย่างสม่ำเสมอตลอดระยะเวลาของการดำเนินโรค จนอาจก่อให้เกิดการสูญเสียฟันซี่นั้นได้ถ้าไม่ได้รับการรักษา (Page and Schroeder, 1981)

วัตถุประสงค์ของการรักษาโรคปริทันต์ที่สำคัญคือ การกำจัดจุลชีพก่อโรคร่วมกับความไม่ให้เกิดคราบจุลินทรีย์ใหม่ที่เป็นแหล่งสะสมจุลชีพก่อโรคเพื่อยับยั้งพยาธิกำเนิดของโรค ซึ่งการกำจัดจุลชีพก่อโรคจะเอื้อให้ร่างกายสามารถสร้างเยื่อผิวเหงือก เส้นใยเหงือก เอ็นยึดปริทันต์และกระดูกเบ้าฟันทดแทนเนื้อเยื่อปริทันต์ที่ถูกทำลาย การรักษาโรคปริทันต์ด้วยการกำจัดจุลชีพก่อโรคที่ใช้เป็นมาตรฐานการรักษาในปัจจุบัน ได้แก่ การรักษาด้วยวิธีเชิงกล (mechanical therapy treatment) เช่น การใช้อุปกรณ์ทำความสะอาดฟันและซอกฟัน การขูดหินน้ำลายและเกลารากฟันโดยอาจมีการใช้ยาปฏิชีวนะมาใช้เสริมในการรักษาโรคปริทันต์ร่วมกับวิธีเชิงกล (Newman *et al.*, 2006)

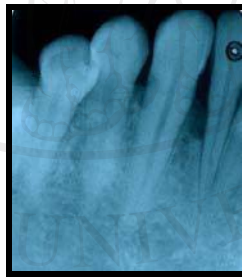
นอกจากนี้กระบวนการรักษาโรคปริทันต์อาจต้องอาศัยการทำศัลยกรรมปริทันต์ (periodontal surgery) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อนำเครื่องมือเข้าไปขูดหินน้ำลายและเกลารากฟันที่ยังหลงเหลืออยู่ตามผิวรากฟัน กำจัดร่องลึกปริทันต์ด้วยการตัดเหงือกและกำจัดเนื้อเยื่อที่เป็นโรค ทำให้เกิดการกลับยึดติด (reattachment) และการยึดติดใหม่ (new attachment) ของอวัยวะปริทันต์ สร้างลักษณะรูปร่างของเหงือกและกระดูกเบ้าฟันในแง่ต่อการรักษานามัยช่องปาก แก้ไขความพิการของเหงือกกับเยื่อเมือก เสริมสร้างการงอกใหม่หรือการเจริญทดแทน สร้างความสวยงามด้วยการตัดและตกแต่งเหงือกในกรณีเหงือกงอกเกินรวมทั้งสร้างสภาวะแวดล้อมของอวัยวะปริทันต์สำหรับงานทันตกรรมบูรณะอย่างเหมาะสม เป็นต้น (Reynolds *et al.*, 2003; Needleman *et al.*, 2006; Lindhe *et al.*, 2008; Sculean *et al.*, 2008; Bateman *et al.*, 2009) ซึ่งวิธีการทางศัลยกรรมปริทันต์ตามการจำแนกของ AAP ในปี ค.ศ.1989 นั้นได้แก่

1. วิธีการแบบตัดแต่ง (resective procedure) ได้แก่ ศัลยกรรมที่มีการปิดกลับแผ่นเหงือกไปทางปลายราก (apically positioned flap surgery) ซึ่งอาจมีการตัดกระดูกร่วมหรือไม่ก็ได้ (apically positioned flap with or without osseous surgery) การตัดรากที่มีการแต่งกระดูกร่วมด้วย (root resection or hemisection with osseous reduction) และการตัดเหงือก (gingivectomy)
2. วิธีการทำให้เกิดการยึดติดของเนื้อเยื่อ (tissue attachment) ได้แก่ การขูดเหงือก (gingival curettage) การตัดเหงือกเพื่อให้เกิดการยึดติดใหม่ (excisional new attachment procedure) และศัลยกรรมเปิดแผ่นเหงือก (flap debridement surgery)

3. วิธีการเพิ่มขนาดของเหงือกและการแก้ไขปัญหาเยื่อเมือก (gingival augmentation and mucogingival surgery) ได้แก่ การปลูกเหงือกแบบอิสระ (free gingival graft) และการผ่าตัดเลื่อนแผ่นเหงือก (pedicle graft)

4. วิธีทำให้เกิดเนื้อเยื่อขึ้นใหม่ (regenerative procedure) ได้แก่ การปลูกกระดูก (bone graft) การชักนำให้เนื้อเยื่อคืนสภาพ (guided tissue regeneration) การเตรียมสภาพผิวรากฟันด้วยกรดซิตริกและสารเคมีอื่นๆ (citric acid and other chemical agents) ศัลยกรรมที่มีการปิดกลับแผ่นเหงือกไปทางตัวฟันเพื่อกำจัดเยื่อผิว (coronally positioned flaps for epithelial exclusion)

จากการที่กระดูกเบ้าฟันถูกทำลายจากโรคปริทันต์ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของกระดูกเบ้าฟันได้หลายลักษณะ เช่น การสูญเสียกระดูกในแนวนอน (horizontal bone loss) (ภาพที่ 2) และการสูญเสียกระดูกในแนวตั้ง (vertical bone loss) (ภาพที่ 3) จนเป็นเหตุทำให้เกิดร่องลึกปริทันต์ขึ้น ซึ่งรูปร่างกระดูกเบ้าฟันที่เกิดความวิการจากการเป็นโรคปริทันต์นี้ จำเป็นที่จะต้องได้รับการแก้ไขให้มีลักษณะที่ถูกต้องทั้งทางกายภาพและทางสรีรวิทยา เพื่อให้ผู้ป่วยสามารถเข้าไปทำความสะอาดฟันได้ดี โดยการทำศัลยกรรมกระดูกปริทันต์ (periodontal osseous surgery) เพื่อกำจัดความวิการของกระดูกเบ้าฟันด้วยวิธีการผ่าตัด



ภาพที่ 2 ลักษณะภาพถ่ายรังสีของกระดูกเบ้าฟันที่ถูกทำลายในแนวนอน



ภาพที่ 3 ลักษณะภาพถ่ายรังสีของกระดูกเบ้าฟันที่ถูกทำลายในแนวตั้ง

การทำศัลยกรรมกระดูกปริทันต์อาจจำแนกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ ตามวิธีการรักษา ได้แก่ การทำศัลยกรรมตัดแต่งกระดูก (resective osseous surgery) และศัลยกรรมเสริมสร้างกระดูกหรือเหนี่ยวนำให้เกิดกระดูก (regenerative osseous surgery) (Newman *et al.*, 2006) โดยวิธีการทำศัลยกรรมตัดแต่งกระดูกหมายถึงการตัดและ/หรือตกแต่งกระดูกเบ้าฟันเพื่อให้รูปร่างของกระดูกเบ้าฟันมีลักษณะถูกต้องตามหลักสรีรวิทยาอีกทั้งยังสามารถกำจัดร่องลึกปริทันต์ได้ ในขณะที่การทำศัลยกรรมปริทันต์เสริมสร้างกระดูกหรือเหนี่ยวนำให้เกิดกระดูกหมายถึง การทำให้กระดูกเบ้าฟันที่ถูกทำลายด้วยโรคปริทันต์กลับมีรูปร่างลักษณะคล้ายของเดิมซึ่งเป็นเป้าหมายที่สำคัญอย่างหนึ่งของการรักษาโรคปริทันต์ เนื่องจากมีการสร้างอวัยวะปริทันต์ขึ้นมาใหม่โดยเกิดการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ในระดับใกล้เคียงกับระดับเดิมก่อนที่จะถูกทำลายด้วยโรคปริทันต์ ซึ่งการเหนี่ยวนำให้เกิดกระดูกสามารถทำได้โดยวิธีการที่ไม่มีการปลูกกระดูก เช่น การใช้แผ่นเยื่อเพื่อชักนำให้สร้างเนื้อเยื่อใหม่ (guided tissue regeneration หรือ GTR) เป็นต้น (Bashutski and Wang, 2009) และวิธีการปลูกกระดูก ซึ่งการปลูกกระดูกนั้นเป็นวิธีที่ทำให้เกิดการยึดติดใหม่ของอวัยวะปริทันต์ (Reynolds *et al.*, 2003) โดยกระดูกที่นิยมนำมาใช้เพื่อแก้ไขรอยโรคอันมีสาเหตุเนื่องมาจากโรคปริทันต์นั้น ได้แก่ กระดูกปลูกถ่ายให้ตนเอง (autograft) และกระดูกปลูกถ่ายเอกพันธุ์ (allograft) เป็นต้น (Hisham *et al.*, 1999; Reynolds *et al.*, 2003; AAP, 2005) ซึ่งผลจากการรักษาด้วยวิธีการปลูกกระดูกดังกล่าวจะทำให้มีการเพิ่มขึ้นของกระดูกที่เคยถูกทำลายไปและเพิ่มระดับการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ซึ่งจะทำให้ร่องลึกปริทันต์นั้นลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับการรักษาด้วยการทำศัลยกรรมเปิดแผ่นเหงือก (open flap debridement) ที่ไม่มีการปลูกกระดูกร่วมด้วย (Reynolds *et al.*, 2003)

ในกรณีที่ใช้กระดูกปลูกถ่ายให้ตนเอง ผู้ป่วยจะต้องได้รับการผ่าตัด 2 บริเวณโดยทำผ่าตัดที่บริเวณตำแหน่งให้สิ่งปลูกถ่าย (donor site) เพื่อเก็บกระดูกมาใส่ในตำแหน่งรับสิ่งปลูกถ่าย (recipient site) ซึ่งอาจทำให้เกิดความไม่สบายจากการมีแผลผ่าตัดเพิ่มและได้ปริมาณของกระดูกที่ไม่เพียงพอกับความต้องการ ในทางตรงกันข้ามการใช้กระดูกปลูกถ่ายเอกพันธุ์ ทำให้ผู้ป่วยไม่ต้องมีแผลผ่าตัดเพิ่มแต่จำเป็นต้องนำกระดูกจากแหล่งอื่นมาปลูกเพื่อที่จะกระตุ้นให้เซลล์ตั้งต้นในการสร้างกระดูก (osteoprogenitor cell) ที่อยู่รอบๆ บริเวณที่รับการปลูกกระดูกเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์สร้างกระดูก (osteoblast) และเกิดการสร้างกระดูกขึ้น (Reynolds *et al.*, 2003) โดยที่กระดูกปลูกถ่ายเอกพันธุ์นั้นเป็นการนำกระดูกจากสิ่งมีชีวิตสายพันธุ์เดียวกัน (มนุษย์) ที่ผ่านกระบวนการทางเคมีและกายภาพแล้วนำมาปลูกถ่ายให้แก่ ผู้ป่วย ซึ่งกระดูกเหล่านี้สามารถผลิตได้จากศูนย์เนื้อเยื่อทั้งจากภายในและภายนอกประเทศ โดยภายในประเทศไทยนั้นศูนย์เนื้อเยื่อชีวภาพกรุงเทพฯ ในพระอุปถัมภ์สมเด็จพระเจ้าพี่นางเธอเจ้าฟ้ากัลยาณิวัฒนา กรมหลวงนราธิวาสราชนครินทร์ เป็นแหล่งในการผลิตกระดูกปลูกถ่ายเอกพันธุ์ที่สำคัญแห่งหนึ่งในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ กระดูก

ปลูกถ่ายเอกพันธ์ที่ได้จากศูนย์เนื้อเยื่อชีวภาพกรุงเทพฯ เป็นกระดูกที่ผ่านกระบวนการแช่เย็นและทำให้แห้งโดยวิธีเคมี (chemical dried preserved หรือ autolysed antigen-extracted allogeneic bone; AAA bone หรือเรียกว่า กระดูกทรูปเปลเอ) ที่ได้มีการละลายส่วนที่เป็นแคลเซียมออกแต่ยังคงไว้ซึ่งส่วนของโบนมอร์โฟเจเนติกโปรตีน (Bone morphogenetic protein หรือ BMP) จึงทำให้มีคุณสมบัติเหนียวสำหรับการสร้างกระดูกที่เหนือกว่ากระดูกที่ผ่านการแช่แข็งแล้วทำให้แห้ง (freeze dried bone) เพราะกระดูกปลูกถ่ายเอกพันธ์ชนิดทรูปเปลเอสามารถเก็บรักษาบีเอ็มพีซึ่งเป็นสารที่สามารถเหนียวสำหรับการสร้างกระดูกได้ (Urist *et al.*, 1975; Urist, 1980; Urist, 1983) อีกทั้งพบสารที่ต้านต่อการปลูกเนื้อเยื่อในปริมาณที่น้อยมาก เนื่องจากสารเหล่านั้นถูกสกัดออกด้วยสารเคมีในขั้นตอนการเตรียมกระดูก ทำให้เกิดการย่อยสลายสารที่ต้านต่อการปลูกเนื้อเยื่อรวมทั้งโปรตีนของเนื้อเยื่อภายในกระดูกออกไป จึงไม่ทำให้เกิดปฏิกิริยาต่อต้านจากผู้ที่ได้รับการปลูกถ่ายกระดูก (Oikarinen and Korhonen, 1979) อย่างไรก็ตามกระดูกชนิดนี้มีข้อด้อยคือมีคุณสมบัติทางชีวกลศาสตร์ลดลงมากเนื่องจากถูกละลายแคลเซียมออก จึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ปลูกทดแทนในตำแหน่งที่ต้องรับแรงมากๆ เช่น ตำแหน่งหัวเข่า เป็นต้น

กระดูกปลูกถ่ายเอกพันธ์ชนิดทรูปเปลเอที่ผลิตโดยศูนย์เนื้อเยื่อชีวภาพกรุงเทพฯ ได้เตรียมจากกระดูกส่วนปลายของกระดูกโคนขา (femur) หรือกระดูกหน้าแข้ง (tibia) ที่แช่แข็งภายใต้อุณหภูมิที่ต่ำมากตามวิธีการของ Urist (1975) และได้มีการพัฒนาออกเป็น 2 รูปแบบ คือ แบบก้อน (chip) ที่มีสีขาวนวล เมื่อนำมาใช้งานจะต้องนำมาแช่น้ำเกลือเพื่อให้กระดูกนุ่มก่อนจึงจะสามารถนำไปใส่ในตำแหน่งรับสิ่งปลูกถ่ายกระดูกได้ ส่วนอีกแบบมีลักษณะเป็นผง (powder) เมื่อนำมาใช้งานสามารถนำเข้าใส่ในตำแหน่งรับสิ่งปลูกถ่ายกระดูกได้โดยตรง

ปัจจุบันได้มีการนำกระดูกปลูกถ่ายเอกพันธ์ชนิดทรูปเปลเอจากศูนย์เนื้อเยื่อชีวภาพกรุงเทพฯ ไปใช้งานทางศัลยกรรมช่องปาก โดยสุภาและขงยุทธ (2535) ได้รายงานถึงอัตราความสำเร็จของการปลูกกระดูกเพื่อทดแทนส่วนของกระดูกขากรรไกรบนและล่างที่มีการสูญเสียเนื้อกระดูกจากพยาธิสภาพต่างๆ และพบว่าประสบความสำเร็จอยู่ในระดับดีถึงดีเยี่ยม โดยอาจเนื่องมาจากคุณสมบัติในการสร้างกระดูกแทนที่กระดูกปลูก (osteoconductive property) และคุณสมบัติในการเหนียวสำหรับการสร้างกระดูก (osteoinductive property) เพราะกระดูกชนิดนี้เป็นกระดูกที่ผ่านกระบวนการแช่น้ำยาเคมีและไม่ทำให้บีเอ็มพีสูญเสียคุณสมบัติ แต่ในทางปริทันต์ยังไม่มีการนำกระดูกชนิดนี้มาใช้ทดแทนกระดูกเบ้าฟันที่สูญเสียไป ดังนั้นจึงนำมาสู่แนวคิดที่จะนำกระดูกชนิดนี้มาใช้ในทางปริทันต์ แต่อย่างไรก็ตามในเบื้องต้นควรจะมีการตรวจสอบคุณสมบัติในการเหนียวให้เกิดการสร้างกระดูกใหม่ การศึกษานี้จึงมุ่งเน้นไปยังการตรวจวัดหาปริมาณของบีเอ็มพี 2 ซึ่งเป็นสารเหนียวสำหรับการสร้างกระดูกชนิดหนึ่ง เนื่องจากบีเอ็มพี 2 เป็นโกรว์ธแฟกเตอร์

(growth factors) ที่มีบทบาทสำคัญในการเจริญเติบโตของกระดูก มีหลายการศึกษาแสดงว่าเมื่อนำกระดูกที่มีโกรว์ธแฟกเตอร์ชนิดบีเอ็มพี 2 ไปปลูกในบริเวณที่ต้องการจะทำให้เซลล์ตั้งต้นในการสร้างกระดูกเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์สร้างกระดูกและทำให้เกิดการสร้างกระดูกในตำแหน่งรับสิ่งปลูกถ่าย (Urist *et al.*, 1967; Eklund *et al.*, 1991; Sigurdsson *et al.*, 1995; Schwartz *et al.*, 1998) ปัจจุบันนี้มีการนำองค์ความรู้นี้มาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์อย่างแพร่หลาย เช่น นำมาใช้ในทางศัลยกรรมกระดูกและข้อ รวมทั้งใช้ในการรักษาความพิการของกระดูกชนิดต่างๆ

จากคุณสมบัติที่กล่าวมาของบีเอ็มพี 2 ทำให้ผู้วิจัยเกิดแนวคิดที่จะนำกระดูกปลูกถ่ายเอกพันธ์ชนิดทรูปเปลเอมาประยุกต์ใช้ในทางศัลยกรรมปริทันต์เพื่อให้เกิดการสร้างกระดูกทดแทนในบริเวณกระดูกเบ้าฟันที่ถูกทำลายจากโรคปริทันต์ โดยการศึกษาจะเป็นเพียงการศึกษานำร่องในห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจวัดปริมาณของบีเอ็มพี 2 ก่อนที่จะนำกระดูกชนิดนี้ไปศึกษาเพิ่มเติมเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในทางคลินิกต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1.2.1 ตรวจสอบและวัดระดับของบีเอ็มพี 2 ในกระดูกปลูกถ่ายเอกพันธ์ชนิดทรูปเปลเอที่ผลิตโดยศูนย์เนื้อเยื่อชีวภาพกรุงเทพฯ ในพระอุปถัมภ์สมเด็จพระเจ้าพี่นางเธอเจ้าฟ้ากัลยาณิวัฒนา กรมหลวงนราธิวาสราชนครินทร์
- 1.2.2 เปรียบเทียบความแตกต่างของระดับบีเอ็มพี 2 ระหว่างกระดูกปลูกถ่ายเอกพันธ์ชนิดทรูปเปลเอแบบก้อนและแบบผง

1.3 สมมติฐานการวิจัย

สามารถตรวจพบบีเอ็มพี 2 ในกระดูกปลูกถ่ายเอกพันธ์ชนิดทรูปเปลเอโดยมีระดับของบีเอ็มพี 2 ในกระดูกปลูกถ่ายเอกพันธ์ชนิดทรูปเปลเอแบบก้อนแตกต่างไปจากแบบผง

1.4 ขอบเขตการวิจัย

ตรวจวัดระดับของบีเอ็มพี 2 ในกระดูกปลูกถ่ายเอกพันธ์ชนิดทรูปเปลเอที่ผลิตจากศูนย์เนื้อเยื่อชีวภาพกรุงเทพฯ ในพระอุปถัมภ์สมเด็จพระเจ้าพี่นางเธอเจ้าฟ้ากัลยาณิวัฒนา กรมหลวงนราธิวาสราชนครินทร์ โดยสุ่มตัวอย่างกระดูกปลูกถ่ายเอกพันธ์ชนิดทรูปเปลเอมาจำนวน 48 ตัวอย่าง (แบบก้อนและแบบผงอย่างละ 24 ตัวอย่างที่มีน้ำหนักเท่ากัน) แล้วนำมาตรวจวิเคราะห์ระดับของบีเอ็มพี 2 ด้วยวิธีอีไลซา (ELISA) และเปรียบเทียบระดับของบีเอ็มพี 2 ระหว่างกระดูกปลูกถ่ายเอกพันธ์ชนิดทรูปเปลเอแบบก้อนและแบบผง