บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญ

การติดเชื้อภายในคลองรากฟัน และการเกิดรอยโรครอบรากฟันมีสาเหตุจากการรุกรานของเชื้อจุลชีพหรือจากการแพร่กระจายของผลิตภัณฑ์ของเชื้อจุลชีพเข้าสู่เนื้อเยื่อในฟัน (Kakehashi *et al.*, 1965; Moller *et al.*, 1981) ก่อให้เกิดการกระตุ้นการตอบสนองของภูมิคุ้มกันภายในร่างกายเพื่อควบคุมและจำกัดการติดเชื้อให้คงอยู่ภายในคลองรากฟัน เชื้อจุลชีพและผลิตภัณฑ์ของเชื้อจุลชีพที่อยู่ในเนื้อเยื่อในโพรงฟันก่อให้เกิดปฏิกิริยาการอักเสบของเนื้อเยื่อในโพรงฟัน และเนื้อเยื่อบริเวณรอบรากฟัน ซึ่งต่อมาสามารถนำไปสู่การทำลายเอ็นยึดปริทันต์และเนื้อเยื่อรอบรากฟันส่งผลให้เกิดรอยโรครอบรากฟัน (Nair, 1997) ดังนั้นหลักการของการรักษาคลองรากฟันจึงมุ่งเน้นที่จะกำจัดเชื้อจุลชีพ และผลิตภัณฑ์ของเชื้อจุลชีพเพื่อทำให้คลองรากฟันอยู่ในสภาวะที่เหมาะสม และเอื้อให้เกิดการหายของรอยโรครอบรากฟันแบบมีเนื้อเยื่อแข็งเข้ามาแทนที่ (Nair, 2004) ด้วยสาเหตุดังกล่าวการเพาะเชื้อเพื่อตรวจหาเชื้อจุลชีพภายในคลองรากฟัน จึงเป็นวิธีที่ใช้บ่งชี้ถึงสภาวะของเชื้อจุลชีพภายในคลองรากฟัน และบ่งชี้ว่าคลองรากฟันนั้นอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมในการอุดคลองรากฟันแล้วหรือไม่ สำหรับในการวิจัยผลของการเพาะเชื้อสามารถนำมาใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพของการรักษาคลองรากฟัน หรือศึกษาประสิทธิภาพของยาที่ใช้ในการรักษาคลองรากฟัน ว่ามีผลต่อการกำจัดเชื้อจุลชีพที่อยู่ในคลองรากฟันอย่างไร มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับผลของการเพาะเชื้อที่ส่งผลต่อผลสำเร็จในการรักษาคลองรากฟัน โดยได้ทำการเพาะเชื้อจากตัวอย่างที่เก็บได้ในคลองรากฟันก่อนการอุดคลองรากฟัน พบว่าในกลุ่มตัวอย่างฟันที่มีผลการเพาะเชื้อเป็นลบมีการหายของรอยโรครอบรากฟันได้ถึงร้อยละ 94 ซึ่งเป็นตัวเลขที่มากกว่ากลุ่มตัวอย่างฟันที่ผลการเพาะเชื้อที่เป็นบวก ที่มีการหายของรอยโรครอบรากฟันเพียงร้อยละ 68 (Sjogren *et al.*, 1997) และจากรายงานผลการศึกษาที่มีเพาะเชื้อจากตัวอย่างที่เก็บจากคลองรากฟันก่อนการอุดคลองรากฟัน แล้วทำการติดตามผลการรักษาคลองรากฟันเป็นเวลาสองปี พบว่ากลุ่มตัวอย่างฟันที่มีผลการเพาะเชื้อเป็นลบ มีการหายของเนื้อเยื่อปริทันต์อย่างสมบูรณ์ในภาพถ่ายรังสีถึงร้อยละ 80 และมีการหายของเนื้อเยื่อปริทันต์อย่างสมบูรณ์ในภาพถ่ายรังสีมากกว่ากลุ่มตัวอย่างฟันที่ผลการเพาะเชื้อเป็นบวกถึงเท่าตัว (Molander *et al.*, 2007) แต่การเพาะเชื้อมีข้อจำกัดเนื่องจากตัวอย่างที่เก็บจากคลองรากฟันนั้นจำเป็นที่จะต้องมีวิธีการเก็บ การขนส่งที่เหมาะสม ควรนำมาเพาะเชื้อทันทีเพื่อให้ได้ผลที่ถูกต้องและน่าเชื่อถือ รวมทั้งการเพาะเชื้อเป็นกระบวนการที่มีค่าใช้จ่ายสูง ต้องใช้อุปกรณ์ ใช้แรงงาน และใช้เวลามาก จึงไม่สะดวกในการทำงานทางคลินิก

นอกเหนือไปจากการเพาะเชื้อจากตัวอย่างที่เก็บจากคลองรากฟัน จะมีวิธีอื่นใดที่สามารถนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงสภาวะภายในคลองรากฟัน และสภาวะของเนื้อเยื่อรอบรากฟันว่าเหมาะสมในการอุดคลองรากฟันแล้วหรือไม่ จากการศึกษารายงานว่าสารชีวโมเลกุล (Biomolecules) ที่พบได้ในส่วนของเมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix; ECM) นั้นสามารถนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้สภาวะ (Biomarkers) ในกระบวนการสร้างและสลาย (metabolism) และการดำเนินของโรคแผลเรื้อรังที่ผิวหนัง

ได้ (Moseley *et al.*, 2004) ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับสารชีวโมเลกุลที่พบในบริเวณรอยโรครอบรากฟัน ก็อาจเป็นอีกวิธีหนึ่งที่จะสามารถค้นหาตัวบ่งชี้สภาวะภายในคลองรากฟัน และสภาวะของเนื้อเยื่อรอบรากฟัน

การเกิดรอยโรครอบรากฟันนั้นเกี่ยวข้องกับการอักเสบ และการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Birkedal-Hansen, 1993) การอักเสบทำให้หลอดเลือดเกิดการขยายตัวและทำให้ของเหลวในหลอดเลือดสามารถซึมผ่านออกมามากขึ้น ส่งผลให้มีสิ่งรั่วขัน (exudates) ออกมาจากเส้นเลือดและคั่งค้างอยู่ในบริเวณเนื้อเยื่อที่มีการอักเสบ สิ่งรั่วขันมีการผสมผสานเข้ากับสารชีวโมเลกุลที่สร้างและหลั่งออกมาจากเซลล์ในบริเวณที่เกิดการอักเสบ สารชีวโมเลกุลที่สร้างและหลั่งจากเชื้อจุลชีพ และเศษเนื้อเยื่อของร่างกายที่ถูกทำลายในบริเวณนั้น จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสิ่งรั่วขันสามารถซึมผ่านเข้ามาภายในช่องว่างของคลองรากฟันได้เป็นสิ่งรั่วขันในคลองรากฟัน (root canal exudates) (Alptekin *et al.*, 2005; Matsuo *et al.*, 1994; Wahlgren *et al.*, 2002)

ในปัจจุบันมีการศึกษามากมายที่ศึกษาสารชีวโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับรอยโรครอบรากฟัน จากการศึกษาดังกล่าวพบว่าในรอยโรครอบรากฟันนั้นมีสารชีวโมเลกุลอยู่หลายชนิด ยกตัวอย่างเช่น *แบคทีเรียลเอ็น*โดท็อกซิน (bacterial endotoxin) แบคทีเรียลเอ็นไซม์ (bacterial enzyme) โพลีเอมีน (polyamines) อิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulin) อินเตอร์ลิวคิน (interleukin) พรอสตาแกลนดินอี-2 (prostaglandin E2) ไนตริกออกไซด์ (nitric oxide) นิวโทรฟิล อีลาเทส (neutrophil elatase) และ เมทริกเมทัลโลโปรติเนส (Matrix metalloproteinases; MMPs) (Alptekin *et al.*, 2005; Anderson *et al.*, 2002; Hannas *et al.*, 2007; Leonardi *et al.*, 2005; Matsuo *et al.*, 1994; Matsuo *et al.*, 1995; Shimauchi *et al.*, 1997; Shimauchi *et al.*, 2001; Wahlgren *et al.*, 2002)

เมทริกเมทัลโลโปรติเนสเป็นเอ็นไซม์ชนิดหนึ่งที่ถูกสร้างขึ้นทั้งในสภาวะที่ร่างกายปกติ และในสภาวะที่ร่างกายเกิดพยาธิสภาพ มีหน้าที่ในการย่อยสลายโปรตีนและมีบทบาทสำคัญในกระบวนการต่าง ๆ ของร่างกาย รวมทั้งมีบทบาทสำคัญในการเกิดพยาธิสภาพต่าง ๆ ยกตัวอย่างเช่น ภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง โรคข้ออักเสบรูมาทอยด์ โรคข้อกระดูกอักเสบ โรคแผลร้อนในวกกลับ (Hadler-Olsen *et al.*, 2011; Hayrinen-Immonen *et al.*, 1993; Malemud, 2006) นอกจากนี้เมทริกเมทัลโลโปรติเนสยังมีบทบาทสำคัญในกระบวนการรุกราน (invasion) และแพร่กระจาย (metastasis) ของมะเร็ง (Kato *et al.*, 2005; Malemud, 2006; บรัศว์รักษ์, 2007) รวมทั้งมีส่วนสำคัญในการเกิด และการดำเนินของโรคภายในช่องปากทั้งโรคปริทันต์และรอยโรครอบรากฟัน (Hannas *et al.*, 2007; Sorsa *et al.*, 2004)

การวิจัยนี้ต้องการศึกษาปริมาณของเมทริกเมทัลโลโปรติเนสชนิดที่ 2 และ เมทริกเมทัลโลโปรติเนสชนิดที่ 8 ในสิ่งรั่วขันในคลองรากฟัน ของฟันที่อยู่ในระหว่างการรักษาคลองรากฟัน ตั้งแต่เริ่มต้นจนกระทั่งได้ผลการเพาะเชื้อที่เป็นลบและสามารถทำการอุดคลองรากฟันได้

เหตุผลที่ต้องวิจัยในคน

เนื่องจากขั้นตอนต่าง ๆ ของการรักษาคลองรากฟันมีเป้าหมายในการกำจัดเชื้อที่เป็นสาเหตุภายในระบบคลองรากฟันให้มีปริมาณลดน้อยลง จนกระทั่งคลองรากฟันนั้นอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการหายของรอยโรครอบรากฟัน ดังนั้นในระหว่างที่ทำการรักษาคลองรากฟันปริมาณเชื้อจุลชีพจะมีปริมาณที่ลดน้อยลง ส่งผลให้การอักเสบของเนื้อเยื่อบริเวณรอบรากฟันลดลงไปและมีผลให้เนื้อเยื่อรอบรากฟันมีสภาวะที่พร้อมเข้าสู่ขั้นตอนของการซ่อมสร้างเนื้อเยื่อ รวมถึงมีการสร้างกระดูกขึ้นมาทดแทนที่สูญเสียไปในบริเวณที่เกิดรอยโรครอบรากฟัน

ดังนั้นเพื่อให้เป็นไปตามวัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัย ผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาปริมาณของเมทริกเมทัลโลโปรติเนสชนิดที่ 2 และเมทริกเมทัลโลโปรติเนสชนิดที่ 8 ที่อยู่ในสิ่งรั่วข้นในคลองรากฟันของมนุษย์ ที่อยู่ในระหว่างการรักษาคลองรากฟันที่มีการอักเสบติดเชื้อจนก่อให้เกิดรอยโรครอบรากฟัน โดยองค์ความรู้ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นพื้นฐานของงานวิจัยในอนาคตต่อไป

ทบทวนวรรณกรรม

สิ่งรั่วข้นในคลองรากฟัน

การกระตุ้นจากเชื้อจุลชีพ หรือจากการแพร่กระจายของผลิตภัณฑ์ของเชื้อจุลชีพก่อให้เกิดปฏิกิริยาการอักเสบและทำลายเนื้อเยื่อบริเวณรอบรากฟัน ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบของเซลล์และองค์ประกอบของเมทริกซ์นอกเซลล์ เกิดขึ้นในบริเวณดังกล่าว โดยมีการเหนี่ยวนำเซลล์ภูมิคุ้มกันของร่างกายให้เข้ามาในบริเวณที่เกิดการอักเสบเช่น โพลีมอร์โฟนิวเคลียร์ ลิวโคไซต์ (polymorphonuclear leukocytes; PMN) ลิมโฟไซต์ (lymphocytes) มาโครฟาจ (macrophages) ออสติโอคลาสต์ (osteoclasts) และ เซลล์เยื่อบุผิว (epithelial cells) เป็นต้นเมื่อเซลล์ภูมิคุ้มกันเข้ามาในบริเวณที่เกิดการอักเสบ ทำให้องค์ประกอบของเซลล์ในบริเวณดังกล่าวเกิดการเปลี่ยนแปลงไป ร่วมกับการตอบสนองของเซลล์ภูมิคุ้มกันต่อสิ่งกระตุ้นทำให้องค์ประกอบของสารองค์ประกอบนอกเซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงไป (Nair, 1997; 2004) ส่งผลให้สารชีวโมเลกุลต่าง ๆมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น ตัวอย่างเช่น อินเตอร์ลิวคินชนิดที่ 1 6 และ 8 *ทิวเมอร์*เนคโครติกแฟคเตอร์ (tumor necrotic factor; TNF) อินเตอร์เฟอรอน (interferon; IFN) โคโลนีสติมูเลติงแฟคเตอร์ (colony-stimulating factors; CSFs) นอกจากนี้ปัจจัยการเจริญเติบโต (growth factors) ต่าง ๆ ยกตัวอย่างเช่น ทรานสฟอร์มมิงโกรว์ทแฟกเตอร์ (transforming growth factor; TGF) อีพิเดอร์มัลโกรว์ทแฟคเตอร์ (epidermal growth factor; EGF) ไอโคซานอยด์ (eicosanoid) อิมมูโนโกลบูลิน เมทริกเมทัลโลโปรติเนส ฯลฯ มีการหลั่งออกมามากขึ้นและทำให้สิ่งรั่วข้นในบริเวณที่มีการอักเสบมีสารชีวโมเลกุลเหล่านี้ปะปนอยู่ สิ่งรั่วข้นนั้นสามารถซึมผ่านเข้ามาภายในคลองรากฟันเรียกว่าสิ่งรั่วข้นในคลองรากฟัน และสามารถตรวจพบสารชีวโมเลกุลเหล่านี้ได้ในสิ่งรั่วข้นในคลองรากฟัน (Kuo *et al.*, 1998a; 1998b; Sorsa *et al.*, 2004)

เมทริกเมทัลโลโปรติเนส

เมทริกเมทัลโลโปรติเนส เป็นเอ็นไซม์ชนิดหนึ่งในร่างกายที่ถูกสร้างขึ้นทั้งในสภาวะที่ร่างกายปกติ และในสภาวะที่ร่างกายเกิดพยาธิสภาพ มีหน้าที่ในการย่อยสลายโปรตีนโดยการทำงานของเอ็นไซม์ในกลุ่มนี้จำเป็นที่จะต้องมีอิออนของสังกะสี (Zinc ion ; Zn^{2+}) ร่วมด้วยในการทำงาน บทบาทของเมทริกเมทัลโลโปรติเนสนั้นมีหน้าที่ในการย่อยสลายโมเลกุลที่เป็นส่วนประกอบของของเมทริกซ์นอกเซลล์ ได้แก่ คอลลาเจน (collagens) ไกลโคโปรตีน (glycoproteins) และ โปรติโอไกลแคน (proteoglycans) นอกจากนี้เมทริกเมทัลโลโปรติเนสยังมีบทบาทสำคัญในกระบวนการต่าง ๆ เช่นการเปลี่ยนสภาพของเซลล์ (differentiation) การปรับเปลี่ยนโครงสร้างของเนื้อเยื่อ (tissue remodeling) การเกิดเอ็มบริโอ (embryogenesis) และการหายของแผล (would healing) (Birkedal-Hansen *et al.*, 1993) เอ็นไซม์ในกลุ่มของเมทริกเมทัลโลโปรติเนสนั้นมีสมาชิกอยู่มากมาย และมีความจำเพาะต่อสารตั้งต้น (substrate) ที่แตกต่างกัน ในปัจจุบันเราพบเมทริกเมทัลโลโปรติเนสในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมแล้วมากกว่า 25 ชนิด (Hannas *et al.*, 2007; Sorsa *et al.*, 2004)

เมทริกเมทัลโลโปรติเนสแต่ละชนิดมีโครงสร้างพื้นฐานที่เหมือนกันอยู่ 3 ส่วน คือ โปร-เพปไทด์ (pro-peptide) แคทาลิติกโดเมน (catalytic domain) และ ฮีโมเพกซินโดเมน (haemopexin domain) ซึ่งส่วนแคทาลิติกโดเมน และฮีโมเพกซินโดเมนเชื่อมเข้าด้วยกันด้วยกรดอะมิโนสายยาวที่มีลักษณะโค้งงอคล้ายบานพับประตู (hinge region) โครงสร้างในส่วนของโปร-เพปไทด์อยู่ในส่วนปลายด้านไนโตรเจนมีลำดับกรดอะมิโออนุรักษ์ (PRCGxPD) โดยที่กรดอะมิโนซิสตีอีน (cystein) ที่อยู่ในส่วนลำดับอนุรักษ์นี้มีหน้าที่ควบคุมการทำงานของเอ็นไซม์ โดยกรดอะมิโนซิสตีอีนนั้นมีหน้าที่เข้าไปจับกับอะตอมของสังกะสีในตำแหน่งกัมมันต์ (active site) ที่อยู่ภายในโครงสร้างส่วนแคทาลิติกโดเมน ส่งผลให้เอ็นไซม์เมทริกเมทัลโลโปรติเนสไม่สามารถทำงานได้ ลักษณะการควบคุมการทำงานในรูปแบบนี้เรียกว่า ซิสตีอีน สวิตช์ (cysteine switch) เอ็นไซม์เมทริกเมทัลโลโปรติเนสที่ยังไม่ได้กำจัดโครงสร้างส่วนของโปร-เพปไทด์ออกไปถูกเรียกว่า เมทริกเมทัลโลโปรติเนสไร้ฤทธิ์ (zymogen, inactive MMPs) หรือโปร-เมทริกเมทัลโลโปรติเนส (proMatrix metalloproteinases; proMMPs) ซึ่งเมทริกเมทัลโลโปรติเนสไร้ฤทธิ์นี้เป็นเอ็นไซม์ที่อยู่ในรูปไม่พร้อมทำงาน และจะต้องผ่านกระบวนการกำจัดส่วนโปร-เพปไทด์ออกจึงจะสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพที่เรียกว่า เมทริกเมทัลโลโปรติเนสมีฤทธิ์ (active MMPs)

โครงสร้างส่วนแคทาลิติกโดเมนของเมทริกเมทัลโลโปรติเนส เป็นส่วนที่อยู่ถัดมาจากส่วนของโปร-เพปไทด์เป็นส่วนที่ทำหน้าที่ของเอ็นไซม์ โดยมีตำแหน่งกัมมันต์อยู่ในโครงสร้างส่วนนี้โดยตำแหน่งกัมมันต์เป็นกรดอะมิโนเรียงตัวเป็นลำดับอนุรักษ์ (HExxHxxGxxH) โดยกรดอะมิโนฮีสติดีน (histidine) ที่มีอยู่ 3 ตัว ในส่วนลำดับอนุรักษ์นี้จะทำหน้าที่จับกับอิออนของสังกะสี ซึ่งเป็นสิ่งที่จำเป็นต่อการทำงานของเอ็นไซม์ชนิดนี้ (Birkedal-Hansen *et al.*, 1993) ส่วนแคทาลิติกโดเมนของเมทริกเมทัลโลโปรติเนสแต่ละชนิดมีรูปร่างของตำแหน่งกัมมันต์แตกต่างกัน ทำให้เกิดความจำเพาะต่อสารตั้ง

ต้นที่ต่างกัน ในส่วนสุดท้ายคือส่วนของฮีโมเพกซินโดเมนเป็นส่วนที่อยู่ปลายด้านคาร์บอนของ เป็นส่วนที่ทำให้เกิดความจำเพาะต่อสารตั้งต้นและเป็นส่วนที่จับเข้ากับตัวยับยั้งของ เมทริกเมทัลโลโปรติเนสอย่างเช่น TIMPs (tissue inhibitor of metalloproteinases) (Birkedal-Hansen *et al.*, 1993; Visse and Nagase, 2003; บรัศว์รักษ์, 2007)

ชนิดของเมทริกเมทัลโลโปรติเนส

แบ่งเมทริกเมทัลโลโปรติเนสตามตำแหน่งที่พบออกเป็น 2 กลุ่มคือเมทริกเมทัลโลโปรติเนสที่หลั่งออกมาทำงานภายนอกเซลล์ (secreted MMPs) และเมทริกเมทัลโลโปรติเนสที่ทำงานและปรากฏอยู่บนผิวเซลล์ (membrane type MMPs)

เมทริกเมทัลโลโปรติเนสที่หลั่งออกมาทำงานภายนอกเซลล์ เป็นเมทริกเมทัลโลโปรติเนสที่ถูกสร้างขึ้นภายในเซลล์แล้วหลั่งออกมาเพื่อทำงานภายนอกเซลล์ ซึ่งสามารถแบ่งย่อยได้อีกเป็น 5 กลุ่มย่อย (Visse and Nagase, 2003) คือ

1. **คอลลาจีเนส (collagenases)** เป็นเมทริกเมทัลโลโปรติเนสที่สามารถตัดย่อย คอลลาเจนชนิดที่ I, II และ III ในจุดจำเพาะ คือ จุดเศษสามส่วนสี่จากปลายด้านไนโตรเจนของคอลลาเจน เมทริกเมทัลโลโปรติเนสกลุ่มนี้มีจำนวนสมาชิกอยู่ 4 ชนิดดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงเมทริกเมทัลโลโปรติเนสในกลุ่มคอลลาจีเนส และสารตั้งต้นจำเพาะของเมทริกเมทัลโลโปรติเนสแต่ละตัว (ดัดแปลงจาก (บรัศว์รักษ์, 2007))

Genes	Name	Substrates
MMP-1	collagenase-1	Native collagen types:III>I>II, VII, X Gelatin, Aggrecan, Link protein, Entactin, Tenascin, Perlecan
MMP-8	collagenase-2	Native collagen types:I>II>III, VII, X Gelatin, Entactin, Aggrecan, Tenascin
MMP-13	collagenase-3	Native collagen types:II>III>I, VII, X Gelatin, Entactin, Tenascin, Aggrecan
MMP-18	collagenase-4	Native collagen type I, II, III Gelatin

2. **เจลาติเนส (gelatinases)** เป็นเมทริกเมทัลโลโปรติเนสที่ย่อยเจลาติน (gelatin) คอลลาเจนบางชนิด และคอลลาเจนที่เสียรูปร่างแล้ว (degraded collagen) เมทริกเมทัลโลโปรติเนสกลุ่มนี้มีสมาชิกอยู่ 2 ชนิดดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงเมทริกเมทัลโลโปรติเนสในกลุ่มเจลาติเนส และสารตั้งต้นจำเพาะของเมทริกเมทัลโลโปรติเนสแต่ละตัว (ดัดแปลงจาก (บรัศว์รักษ์, 2007))

Genes	Name	Substrates
MMP-2	Gelatinase A	Denatured collagens (gelatin) Native collagen types:I, IV, V, VII, X, XI Elastin, Fibronectin, Laminin-5, Aggrecan, Brevican, Neurocan, BM-40, Decorin, Vitronectin
MMP-9	Gelatinase B	Denatured collagens (gelatin) Native collagen types:I, IV, V, VII, X, XI Elastin, Fibronectin, Laminin, Aggrecan, Link protein, Vitronectin

3. **สโตรเมไลซิน (stromelysins)** เป็นเมทริกเมทัลโลโปรติเนสที่สามารถย่อยส่วนประกอบของของเมทริกซ์นอกเซลล์บางชนิด และสามารถกระตุ้นโปร-เมทริกเมทัลโลโปรติเนสชนิดอื่นให้อยู่ในสภาวะที่มีฤทธิ์ได้ เมทริกเมทัลโลโปรติเนสในกลุ่มนี้มีสมาชิกอยู่ 3 ชนิดด้วยกัน ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงเมทริกเมทัลโลโปรติเนสในกลุ่มสโตรเมไลซิน และสารตั้งต้นจำเพาะของเมทริกเมทัลโลโปรติเนสแต่ละตัว (ดัดแปลงจาก (บรัศว์รักษ์, 2007))

Genes	Name	Substrates
MMP-3	Stromelysin-1	Aggrecan, Laminin, Fibronectin, Non triple helical regions of native collagen types: II, III, IV, V, IX, X, XI Gelatin, Entactin, Perlecan, Decorin, Tenascin, Vitronectin, Fibrin/fibrinogen, Link protein, Elastin
MMP-10	Stromelysin-2	Gelatin type I, III IV, V Fibronectin, Proteoglycan
MMP-11	Stromelysin-3	Fibronectin, Laminin, Aggrecan

4. **เมทริไลซิน (matrilysins)** เป็นเมทริกเมทัลโลโปรติเนสที่สามารถย่อยส่วนประกอบบางชนิดของเมทริกซ์นอกเซลล์ และสามารถกระตุ้นการทำงานของโปร-เมทริกเมทัลโลโปรติเนส รวมทั้งกระตุ้นโมเลกุลบนผิวเซลล์ (cell surface molecule) บางชนิดได้ เมทริกเมทัลโลโปรติเนส ในกลุ่มนี้มีสมาชิกจำนวน 2 ชนิดตามตารางที่ 4

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 14 ส.ค. 2554
เลขทะเบียน 242809
เลขเรียกหนังสือ

ตารางที่ 4 แสดงเมทริกเมทัลโลโปรติเนสในกลุ่มเมทริไลซิน และสารตั้งต้นจำเพาะของเมทริกเมทัลโลโปรติเนสแต่ละตัว (ดัดแปลงจาก (บรัศว์รักษ์, 2007))

Genes	Name	Substrates
MMP-7	Matrilysin	Fibronectin, Laminin Non helical segments of native collagen types: IV, V, IX, X, XI Gelatin, Aggrecan, Entactin, Tenascin, Vitronectin, Fibrin/fibrinogen
MMP-26	Matrilysin-2	Native type IV collagen Gelatin, Fibronectin, Fibrin/fibrinogen

5. **เมทัลโลโปรติเนสกลุ่มอื่น ๆ (other MMPs)** เป็นเมทริกเมทัลโลโปรติเนสที่หลั่งออกจากเซลล์กลุ่มสุดท้าย เป็นเมทริกเมทัลโลโปรติเนสที่มีโครงสร้างไม่เข้าพวกกับกลุ่มอื่น ๆ ข้างต้น เมทริกเมทัลโลโปรติเนสในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่หลั่งออกมาจากมาโครฟาจ และมีความเกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ของมาโครฟาจ มีสมาชิกตามตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงเมทริกเมทัลโลโปรติเนสในกลุ่มอื่น ๆ และสารตั้งต้นจำเพาะของเมทริกเมทัลโลโปรติเนสแต่ละตัว (ดัดแปลงจาก (บรัศว์รักษ์, 2007))

Genes	Name	Substrates
MMP-12	metalloelastase	Elastin, Fibronectin, Laminin, Proteoglycan, Fibrin/fibrinogen
MMP-19	RASI, Stromelysin-4	Native type IV collagen, Gelatin, Laminin, Fibronectin, Tenascin, Entactin, Aggrecan, COMP, Fibrin/fibrinogen
MMP-20	Enamelysin	Amelogenin, COMP, Aggrecan
MMP-21	XMMP (Xenopus)	no substrates defined
MMP-22	CMMP (chicken)	no substrates defined
MMP-27	CMMP (human homologue)	no substrates defined
MMP-23	CA-MMP	Gelatin
MMP-28	Epilysin	no substrates defined

เมทริกเมทัลโลโปรติเนสที่หลั่งออกมาทำงานบนผิวเซลล์ เป็นเมทริกเมทัลโลโปรติเนสที่ถูกสร้างภายในเซลล์และถูกส่งมาทำงานบนผิวเซลล์ โดยมีส่วนหนึ่งของเอ็นไซม์ที่ยื่นเข้าไปอยู่ภายในเซลล์ (transmembrane domain และ intra cytoplasmic domain) เมทริกเมทัลโลโปรติเนสชนิดนี้มีบทบาทคล้ายคลึงกับเมทริกเมทัลโลโปรติเนสที่หลั่งออกจากเซลล์ ต่างกันเพียงแต่เมทริกเมทัลโลโปรติเนสชนิดนี้ทำงานบนผิวเซลล์ มีจำนวนสมาชิก 6 ชนิด ตามตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงเมทริกเมทัลโลโปรติเนสที่อยู่ติดกับผิวเซลล์ และสารตั้งต้นจำเพาะของเมทริกเมทัลโลโปรติเนสแต่ละตัว (ดัดแปลงจาก (บรัศว์รักษ์, 2007))

Genes	Name	Substrates
MMP-14	MT1-MMP	Native collagen types:I, II, III Gelatin, Fibronectin, Vitronectin, Aggrecan
MMP-15	MT2-MMP	Proteoglycan
MMP-16	MT3-MMP	Native type III collagen Fibronectin
MMP-17	MT4-MMP	Gelatin, Fibrin/fibrinogen
MMP-24	MT5-MMP	Fibronectin, Proteoglycans, Gelatin
MMP-25	MT6-MMP	Native type IV collagen Gelatin, Fibronectin, Proteoglycans (DSPG, CSPG), Laminin-1, Fibrin/fibrinogen

การทำงานของเมทริกเมทัลโลโปรติเนส

เอ็นไซม์เมทริกเมทัลโลโปรติเนสถูกควบคุมในระดับการสังเคราะห์ (transcriptional level) และระดับการกระตุ้นและยับยั้ง (activation and inhibition level) โดยในระดับการสังเคราะห์มีกลไกของการลอกรหัส (MMPs transcriptional regulatory) ควบคุมอยู่ โดยในภาวะปกติจะมีการแสดงออกที่น้อย จนกระทั่งมีปัจจัยต่าง ๆ เข้ามากระตุ้น เช่น การบาดเจ็บ การอักเสบ หรือการติดเชื้อ ซึ่งปัจจัยกระตุ้นเหล่านี้ส่งผลให้องค์ประกอบของเซลล์ และองค์ประกอบของสารองค์ประกอบนอกเซลล์ เกิดการเปลี่ยนแปลง มีการหลั่งโมเลกุลต่าง ๆ ซึ่งผลทั้งหลายเหล่านี้สามารถชักนำให้เกิดการสังเคราะห์เมทริกเมทัลโลโปรติเนสที่มากขึ้น

กระบวนการกระตุ้นเมทริกเมทัลโลโปรติเนส เป็นกระบวนการที่นำเอาส่วนโปร-เพปไทด์ที่อยู่บนเมทริกเมทัลโลโปรติเนสไร้ฤทธิ์ออกไป เพื่อให้เอ็นไซม์อยู่ในรูปที่มีฤทธิ์ และสามารถทำงานได้ กระบวนการดังกล่าวนี้สามารถเกิดขึ้นได้ด้วยการที่ เมทริกเมทัลโลโปรติเนสกำจัดส่วนโปร-เพปไทด์ออกด้วยตัวเอง (autolysis) หรือมีการกระตุ้นจากเอ็นไซม์ชนิดอื่น เช่น เอ็นไซม์พลาสมิน (plasmin) เอ็นไซม์ฟิวริน (furin) หรือเมทริกเมทัลโลโปรติเนส ส่วนกระบวนการยับยั้งเอ็นไซม์เมทริกเมทัลโลโปรติ

เนสถูกควบคุมการทำงานโดย TIMPs ซึ่งมีสมาชิกในกลุ่มคือ TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 และ TIMP-4 (Visse and Nagase, 2003; บรัศว์รักษ์, 2007)

คุณลักษณะเฉพาะตัวของเมทริกเมทัลโลโปรติเนสชนิดที่สอง (MMP-2)

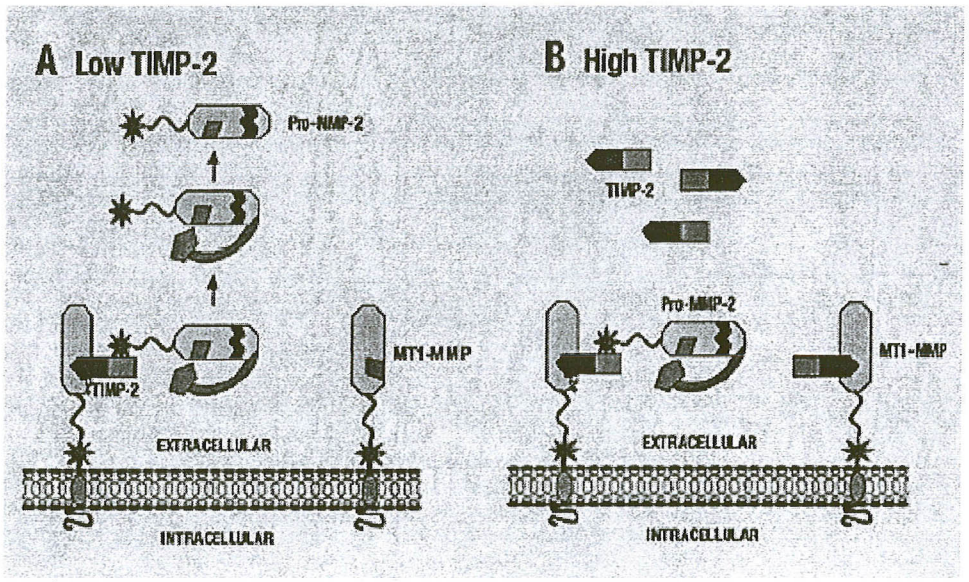
เมทริกเมทัลโลโปรติเนสชนิดที่สอง หรือ matrix metalloproteinase-2 (MMP-2, gelatinases A, 72 kDa type IV collagenase) เป็นเอ็นไซม์เมทริกเมทัลโลโปรติเนสในกลุ่มเจลาติเนสที่มีความสามารถในการย่อยเจลาติน และคอลลาเจน ชนิดที่ I, IV, V, VII, X, XII รวมทั้งส่วนประกอบต่าง ๆ ของเมทริกซ์นอกเซลล์ โดยเริ่มแรก MMP-2 จะถูกหลั่งออกมาในรูปของเมทริกเมทัลโลโปรติเนสไร้ฤทธิ์ หรือโปร-เมทริกเมทัลโลโปรติเนสชนิดที่สอง (proMMP-2) โดยเซลล์ที่สามารถหลั่งเอ็นไซม์ชนิดนี้ คือ เซลล์สร้างเส้นใย (fibroblasts) เคราติโนไซต์ที่เป็นเนื้องอกร้าย (malignant keratinocytes) โมโนไซต์ (monocytes) มาโครฟาจ และเซลล์สร้างกระดูก จากการศึกษาพบว่าเอ็นไซม์ชนิดนี้ไม่สามารถถูกสร้างและหลั่งออกมาจากโพลีมอร์โฟนิวเคลียร์ ลิวโคไซต์ (Bennett *et al.*, 2000; Hipps *et al.*, 1991; Makela *et al.*, 1994; Rifas *et al.*, 1989; Tjaderhane *et al.*, 1998; Tjaderhane *et al.*, 2001)

ในสภาวะที่ร่างกายปกติมีการสังเคราะห์และหลั่ง MMP-2 ออกมาตลอดเวลา โดยสามารถพบ MMP-2 ได้ในน้ำเลือด (plasma) ประมาณ 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่เมื่อมีปัจจัยต่าง ๆ เข้ามากระตุ้นเซลล์ที่ทำหน้าที่สังเคราะห์ MMP-2 อย่างเช่น อินเตอร์ลิวคิน-1β (IL-1β) และ *ทิวเมอร์*เนคโครติกแฟคเตอร์-α (TNF-α) เซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อเหงือกมีการเพิ่มการสังเคราะห์ MMP-2 มากขึ้น (Birkedal-Hansen *et al.*, 1993) และ อินเตอร์ลิวคิน-6 ก็สามารถกระตุ้นให้เซลล์สร้างกระดูก (osteoclasts) หลั่ง MMP-2 มากขึ้น (Damiens *et al.*, 2000) รวมทั้งปัจจัยการเจริญเติบโตอย่างทรานสฟอร์มมิงโกรว์ทแฟกเตอร์-β1 ก็สามารถกระตุ้นให้เซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อเหงือกมีการสร้าง MMP-2 ให้มากขึ้นได้เช่นกัน (Overall *et al.*, 1991)

เมื่อ MMP-2 ถูกสร้างและหลั่งออกมาจากเซลล์ในรูปของ proMMP-2 โดยโมเลกุล proMMP-2 ถูกควบคุมด้วยโมเลกุลอย่าง TIMPs โดย TIMPs เข้ามาจับกับ proMMP-2 ทำให้ proMMP-2 ไม่สามารถทำงานได้ ชนิดของ TIMPs ที่สามารถเข้ามาจับและยับยั้งการทำงานของ proMMP-2 คือ TIMP-2 TIMP-3 และ TIMP-4 แต่ในขณะเดียวกันกระบวนการกระตุ้น proMMP-2 ให้เปลี่ยนไปอยู่ในรูปมีฤทธิ์ (active MMP-2) นั้นก็จำเป็นต้องมีโมเลกุล TIMP-2 ร่วมอยู่ในกระบวนการด้วย (Bigg *et al.*, 2001; Visse and Nagase, 2003)

ProMMP-2 สามารถเปลี่ยนไปเป็น active MMP-2 โดยผ่านกระบวนการตัดส่วนโปร-เพปไทด์ของ proMMP-2 ออกไป ในกระบวนการกระตุ้น proMMP-2 โดยมีโมเลกุลอีก 2 ตัวที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการนี้คือ TIMP-2 และ MT1-MMP โดยในสภาวะที่ TIMP-2 มีปริมาณต่ำ และ proMMP-2 ถูกจับโดย TIMP-2 โมเลกุล TIMP-2 จะเข้าไปจับกับ MT1-MMP โดยดึง proMMP-2 ไปด้วยทำให้เกิดเป็นโมเลกุลสามโมเลกุลติดกัน (MT1-MMP--TIMP-2--proMMP-2) ต่อมามีการกระตุ้นให้ MT1-MMP อีกตัวหนึ่งที่ยังไม่มี TIMP-2 เข้ามาจับเข้ามาจับกับโมเลกุลสามโมเลกุลติดกันในส่วนโปร-เพปไทด์ของ proMMP-2 ทำให้เกิดกระบวนการการตัดโปร-เพปไทด์ของ proMMP-2 ออกไปและเปลี่ยน proMMP-2

ให้ไปอยู่ในรูปของ active MMP-2 และปล่อย active MMP-2 ให้ออกมาทำงาน แต่ในสภาวะที่ TIMP-2 มีปริมาณสูง MT1-MMP ถูกจับโดย TIMP-2 จนหมดทำให้ไม่มี MT1-MMP เหลือที่จะมาจับกับ proMMP-2 ในส่วนโปร-เพปไทด์ทำให้ไม่สามารถกระตุ้น proMMP2 ให้เปลี่ยนไปเป็น active MMP-2 ได้ ดังนั้นโมเลกุล TIMP-2 ในสภาวะที่มีความเข้มข้นน้อยทำหน้าที่กระตุ้น proMMP-2 แต่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นสูงทำหน้าที่ยับยั้ง proMMP-2 ไม่ให้เปลี่ยนไปเป็น active MMP-2(รูป 1.1) (Bozzuto *et al.*, 2010; Buzoglu *et al.*, 2009; Egeblad and Werb, 2002; Wang *et al.*, 2000)



รูปที่ 1 กระบวนการกระตุ้น proMMP-2 A) ในสภาวะที่ TIMP-2 มีความเข้มข้นน้อยทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้น proMMP-2 B) สภาวะที่ TIMP-2 มีความเข้มข้นสูงทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้ง proMMP-2 ไม่ให้เปลี่ยนไปเป็น active MMP-2 (Bozzuto *et al.*, 2010)

คุณลักษณะเฉพาะตัวของเมทริกเมทัลโลโปรติเนสชนิดที่แปด (MMP-8)

เมทริกเมทัลโลโปรติเนสชนิดที่แปด หรือ matrix metalloproteinase-8 (MMP-8, collagenase-2) เป็นคอลลาจีเนสที่พบมากในเนื้อเยื่อปริทันต์ที่มีการอักเสบของมนุษย์ เป็นเอ็นไซม์ที่มีโครงสร้างของน้ำตาลเป็นจำนวนมากและมีขนาดโมเลกุลที่ใหญ่โดยมีขนาด 70-80 กิโลดัลตัน เอ็นไซม์ชนิดนี้สร้างจากโพลีมอร์โฟนิวเคลียร์ ลิวโคไซต์ และจากการศึกษาในปัจจุบันพบว่ามีเซลล์อีกหลายชนิดที่มีการแสดงออกของยีนชนิดนี้ เช่น เซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในฟัน, เซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อเหงือก, โอดอนโตบลาสต์, เนื้อเยื่อบุผิวที่มีการอักเสบ และเซลล์พลาสมา (Bachmeier *et al.*, 2000; Ding *et al.*, 1997; Hanemaaijer *et al.*, 1997; Tonetti *et al.*, 1993; Wahlgren *et al.*, 2001) MMP-8 มีความสามารถในการย่อยคอลลาเจนชนิดที่ I ได้ดีที่สุด รองลงมาคือคอลลาเจนชนิดที่ II และ III นอกจากนี้ยังสามารถย่อยคอลลาเจนชนิดที่ VII และ X รวมทั้งส่วนประกอบของเมทริกซ์นอกเซลล์อย่างเจลาติน เอนแทคติน (entactin) ทีแนสซิน (tenascin) และแอกกรีแคน (aggrecan) ได้อีกด้วย (Visse and Nagase, 2003)

กระบวนการควบคุมในการสังเคราะห์ MMP-8 มีปัจจัยกระตุ้นต่าง ๆ มีผลให้มีการสร้าง MMP-8 เพิ่มขึ้นหรือลดลงได้ยกตัวอย่างเช่น เมื่อมีการกระตุ้นเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อเหงือกด้วย อินเตอร์ลิวคิน-1β ส่งผลให้มีการเพิ่มการแสดงออกของยีน MMP-8 แต่ในทางกลับกันเมื่อมีการกระตุ้นด้วย ทรานสฟอร์มมิงโกรว์ทแฟกเตอร์-β1 กลับทำให้เซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อเหงือกมีการแสดงออกของยีน MMP-8 ลดลงแต่ไปเพิ่มการแสดงออกของยีนของ MMP-2 แทน (Birkedal-Hansen *et al.*, 1993; บรัศว์รักษ์, 2007)

เมทริกเมทัลโลโปรติเนสกับโรคในช่องปาก

มีการศึกษาหลายการศึกษาที่มีรายงานถึงความเกี่ยวข้องระหว่าง เอ็นไซม์เมทริกเมทัลโลโปรติเนสกับโรคในช่องปาก ยกตัวอย่างเช่นโรคแผลร้อนในวกกลับที่สามารถพบ MMP-1, MMP-3 และ MMP-8 ในรอยโรคแผลร้อนในวกกลับและในเนื้อเยื่อบริเวณใกล้เคียงกับรอยโรค (Hayrinen-Immonen *et al.*, 1993) เมทริกเมทัลโลโปรติเนสมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดมะเร็งในช่องปาก (oral carcinogenesis) โดยสามารถพบ MMP-2 และ MMP-9 ในบริเวณเยื่อฐาน (basement membrane) ตำแหน่งที่กำลังเกิดกระบวนการเกิดมะเร็งในช่องปาก (Thomas *et al.*, 1999) รวมทั้ง MMP-2 และ MMP-9 ยังมีบทบาทที่สำคัญในกระบวนการรุกรานและแพร่กระจายของมะเร็งเซลล์สความัสอีกด้วย (Kato *et al.*, 2005)

ในทางปริทันตวิทยา มีการศึกษาที่แสดงถึงความเกี่ยวข้องระหว่างเมทริกเมทัลโลโปรติเนสกับโรคในทางปริทันต์ จากการศึกษาน้ำลายของคนที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคปริทันต์อักเสบและคนที่มีสุขภาพเหงือกที่สมบูรณ์ พบว่าในตัวอย่างน้ำลายของคนที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบมีระดับของ MMP-2 และ MMP-9 สูงแต่หลังจากได้รับการรักษาโรคปริทันต์อักเสบแล้วระดับของ MMP-2 และ MMP-9 ในน้ำลายมีระดับที่ลดต่ำลงจนใกล้เคียงกับน้ำลายของตัวอย่างที่มีสุขภาพเหงือกที่สมบูรณ์ (Makela *et al.*, 1994) และได้มีการศึกษาเมทริกเมทัลโลโปรติเนสในตัวอย่างเนื้อเยื่อที่อยู่ในสภาวะปกติ และตัวอย่างเนื้อเยื่อที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคปริทันต์อักเสบเรื้อรังในผู้ใหญ่ โดยสามารถพบ proMMP-2 และ proMMP-9 ได้ในตัวอย่างเนื้อเยื่อทั้งสองกลุ่ม แต่สำหรับ activeMMP-2 พบได้เฉพาะในตัวอย่างที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคปริทันต์เท่านั้น จึงอาจกล่าวได้ว่า activeMMP-2 เป็นโมเลกุลที่สามารถบ่งบอกถึงโรคที่มีการทำลายของเนื้อเยื่อร่วมด้วย (Korostoff *et al.*, 2000) จากการศึกษาถึงปริมาณของ MMP-8 ในน้ำลายและปริมาณของ MMP-2 กับ MMP-9 ในน้ำร่องเหงือก (gingival cravicular fluid) ของผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคปริทันต์ โดยพบว่าเมทริกเมทัลโลโปรติเนสทั้งสามชนิดนี้สามารถนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้สภาวะ บ่งชี้ถึงความรุนแรงของโรคปริทันต์ได้ โดยในตัวอย่างจากผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคปริทันต์อักเสบพบ MMP-8 และ MMP-9 ในปริมาณที่สูงกว่าในตัวอย่างจากผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคเหงือกอักเสบแต่สำหรับตัวอย่างจากผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยเป็นโรคเหงือกอักเสบพบว่าปริมาณของ MMP-2 ในน้ำร่องเหงือกมากกว่าปริมาณที่พบในตัวอย่างที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบ (Rai *et al.*, 2008)

นอกจากในเนื้อเยื่อปริทันต์แล้ว ในฟันก็ยังสามารถพบเอ็นไซม์เมทริกเมทัลโลโปรติเนสได้ โดยสามารถพบ MMP-2 ในรูปแบบที่มีฤทธิ์และ รูปไร้ฤทธิ์ในเนื้อฟันในส่วนพรีเด็นทีน (pre-dentin) (Martin-De Las Heras *et al.*, 2000) และพบ MMP-2, MMP-8 และ MMP-9 ในรอยโรคฟันผุในส่วนของเนื้อฟันที่มีการสูญเสียแร่ธาตุ (demineralized dentin) (Tjaderhane *et al.*, 1998) นอกเหนือจากในเนื้อฟัน หรือในรอยโรคฟันผุ ได้มีการรายงานถึงการพบ MMP-2, MMP-3, MMP-9 และ MMP-20 ในเนื้อเยื่อในฟันที่วินิจฉัยเป็นฟันปกติ และไม่มีรอยโรครอบรากฟัน (Gusman *et al.*, 2002; Sulkala *et al.*, 2002) และมีการศึกษาที่พบ MMP-8 ในเนื้อเยื่อในฟันที่มีการอักเสบโดยมีเซลล์ที่มีการบ่งบอกถึงการแสดงออกของยีน MMP-8 คือ นิวโทรฟิล (neutrophils) มาโครฟาจ และเซลล์พลาสมา (plasma cells) (Wahlgren *et al.*, 2002) และสามารถพบปริมาณของ MMP-2, MMP-3 และ MMP-9 ที่เปลี่ยนแปลงไปจากภาวะปกติ (Gusman *et al.*, 2002; Tsai *et al.*, 2005) โดย MMP-2 และ MMP-3 มีปริมาณที่ลดลงแต่ MMP-9 มีปริมาณที่มากขึ้นเมื่อเทียบกับเนื้อเยื่อในฟันที่วินิจฉัยเป็นฟันปกติ และไม่มีรอยโรครอบรากฟัน

เมื่อเนื้อเยื่อในฟันมีการอักเสบดำเนินต่อไปอย่างต่อเนื่อง ก่อให้เกิดรอยโรคในบริเวณรอบรากฟัน ซึ่งเป็นผลจากกระบวนการอักเสบและการทำลายเนื้อเยื่อบริเวณรอบรากฟัน ได้มีการศึกษาหลายการศึกษาที่รายงานว่าเมทริกเมทัลโลโปรติเนสมีความเกี่ยวข้องกับรอยโรครอบรากฟัน จากการศึกษาเนื้อเยื่อในฟันและเนื้อเยื่อบริเวณปลายรากฟันพบว่าปริมาณของ MMP-1, MMP-2 และ MMP-3 ในเนื้อเยื่อในฟันที่มีการอักเสบและเนื้อเยื่อบริเวณรอยโรครอบรากฟันนั้นมีปริมาณของเมทริกเมทัลโลโปรติเนสทั้งสามชนิดมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณของเมทริกเมทัลโลโปรติเนสที่อยู่ในเนื้อเยื่อในฟันที่วินิจฉัยเป็นฟันปกติ และไม่มีรอยโรครอบรากฟัน (Shin *et al.*, 2002) ต่อมาได้มีการรายงานถึงปริมาณของ MMP-8 ที่ลดลงในสิ่งรั่วข้นในคลองรากฟันในระหว่างการรักษาคลองรากฟันโดยพบว่าปริมาณ MMP-8 ในสิ่งรั่วข้นในคลองรากฟันของฟันอยู่ในระหว่างการรักษาคลองรากฟันในการนัดครั้งที่สองและสามมีระดับที่ลดต่ำลงเมื่อเทียบกับปริมาณของ MMP-8 ในสิ่งรั่วข้นในคลองรากฟันของฟันที่ได้รับการรักษาคลองรากฟันในการนัดครั้งแรก (Wahlgren *et al.*, 2002) และระดับของ MMP-13 มีการเพิ่มขึ้นในรอยโรคปลายรากที่มีเนื้อเยื่อบุผิวอยู่ (Leonardi *et al.*, 2005) ต่อมาได้มีการศึกษาเนื้อเยื่อบริเวณรอบรากฟันที่มีรอยโรคเรื้อรังพบว่าปริมาณรวมของ MMP-1, MMP-8 และ MMP-13 มีปริมาณมากขึ้นตามความรุนแรง และขนาดของรอยโรครอบรากฟัน (Andonovska *et al.*, 2008)

นอกจากจะพบเมทริกเมทัลโลโปรติเนสได้ในรอยโรครอบรากฟัน และในสิ่งรั่วข้นในคลองรากฟันของฟันที่มีรอยโรครอบรากฟันแล้ว เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ MMP-2 และ MMP-9 ในน้ำร่องเหงือกระหว่างฟันที่บริเวณรอบรากฟันอยู่ในสภาวะปกติ กับฟันที่มีรอยโรครอบรากฟันพบว่าน้ำร่องเหงือกของฟันที่มีรอยโรครอบรากฟันมีปริมาณเมทริกเมทัลโลโปรติเนสสูงกว่าน้ำร่องเหงือกของฟันที่บริเวณรอบฟันอยู่ในสภาวะปกติ (Belmar *et al.*, 2008) และต่อมาได้มีการศึกษาหนองที่พบอยู่ภายในคลอง

รากฟันที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นฝีรอบปลายรากฟันเฉียบพลัน (acute apical abscess) และ ฝีรอบปลายรากฟันเรื้อรัง (chronic apical abscess) พบว่าสามารถตรวจสอบ MMP-9 ได้ในหนองของกลุ่มตัวอย่างทั้งสองกลุ่มแต่ MMP-2 สามารถพบได้เฉพาะในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นฝีรอบปลายรากฟันเฉียบพลันเท่านั้น (Buzoglu *et al.*, 2009) และในรอยโรครอบรากฟันแบบแกรนูโลมา (granulomas) เซลล์นิวโทรฟิล และเซลล์อักเสบตัวอื่น ๆ มีการแสดงออกของ MMP-9 และ MMP-13 มากกว่าในรอยโรครอบรากฟันแบบถุงน้ำ (cyst) (de Paula-Silva *et al.*, 2009) และในการศึกษาฟันสุนัขที่มีรอยโรครอบรากฟัน พบว่าเนื้อเยื่อปลายรากของฟันสุนัขที่ได้รับการรักษาคลองรากฟันที่มีการนัดสองครั้ง และใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นยาที่ใส่ในคลองรากฟัน มีระดับของ MMP-1, MMP-2, MMP-8 และ MMP-9 ต่ำกว่าฟันที่ได้รับการรักษารากฟันแบบครั้งเดียว (Paula-Silva *et al.*, 2010)

การศึกษาที่เกี่ยวกับเอ็นไซม์เมทริกเมทัลโลโปรติเนสที่พบในรอยโรครอบรากฟันในระหว่างการรักษาคลองรากฟันมีผู้ทำการศึกษาน้อย และไม่เพียงพอที่จะสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการรักษาทางทันตกรรม ทางผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาความเปลี่ยนแปลงของปริมาณเอ็นไซม์เมทริกเมทัลโลโปรติเนสในสิ่งรั่วข้นในคลองรากฟันของฟันที่อยู่ในระหว่างการรักษาคลองรากฟัน การศึกษาในครั้งนี้เลือกศึกษา MMP-2 เนื่องจากเป็นเมทริกเมทัลโลโปรติเนสที่ถูกสร้างและหลั่งจากเซลล์สร้างเส้นใย (Makela *et al.*, 1994) ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีอยู่เป็นจำนวนมากในเนื้อเยื่อปริทันต์ และเกี่ยวข้องกับกระบวนการทำลาย รวมถึงมีบทบาทที่สำคัญต่อกระบวนการหายของรอยโรครอบรากฟัน ในสภาวะที่มีการติดเชื้อภายในคลองรากฟัน อาจกล่าวได้ว่าเนื้อเยื่อปริทันต์รอบรากฟันจะเป็นด่านแรกที่มีหน้าที่ป้องกันเชื้อจุลชีพและผลิตภัณฑ์ของเชื้อจุลชีพที่เป็นผลจากการติดเชื้อในคลองรากฟัน ส่งผลให้เกิดกระบวนการอักเสบในบริเวณดังกล่าวทำให้เซลล์สร้างเส้นใยถูกกระตุ้นให้มีการสร้างและหลั่ง MMP-2 ออกมาและคั่งค้างอยู่ในบริเวณที่เกิดการอักเสบเป็นจำนวนมาก ในทำนองเดียวกัน MMP-8 เป็นเมทริกเมทัลโลโปรติเนสอีกชนิดหนึ่งที่เลือกศึกษา เนื่องจากมีการศึกษาแล้วว่าสามารถตรวจพบ MMP-8 ได้ในเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน รวมถึงสิ่งรั่วข้นในคลองรากฟันที่อยู่ในระหว่างการรักษาคลองรากฟัน (Wahlgren *et al.*, 2002) MMP-8 เป็นเอ็นไซม์ที่ถูกสร้างจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด โพลีมอร์โฟนิวเคลียร์ ลิวโคไซต์ (Ding *et al.*, 1997) ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบเฉียบพลัน ในสภาวะที่มีการติดเชื้อภายในคลองรากฟัน ส่งผลให้เกิดกระบวนการอักเสบในบริเวณเนื้อเยื่อรอบรากฟัน เซลล์บริเวณรอบรากฟันจะเหนี่ยวนำให้ เซลล์โพลีมอร์โฟนิวเคลียร์ ลิวโคไซต์ เข้ามาในบริเวณดังกล่าว และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนี้จะถูกกระตุ้นให้ทำหน้าที่สร้างและหลั่ง MMP-8 ออกสู่เนื้อเยื่อรอบรากฟัน และคั่งค้างอยู่ในบริเวณนี้ ด้วยสาเหตุดังกล่าว MMP-2 และ MMP-8 จึงเป็นเอ็นไซม์ที่มีความเป็นไปได้ที่จะใช้เป็นตัวบ่งชี้สภาวะของการดำเนินโรค รวมทั้งสภาวะของการหายของรอยโรครอบรากฟัน

วัตถุประสงค์

1. เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ MMP-2 และMMP-8 ในสิ่งรั่วข้นในคลองรากฟันของฟันสองกลุ่ม
   a. ฟันที่วินิจฉัยเป็นฟันปกติและไม่มีรอยโรครอบรากฟัน
   b. ฟันที่วินิจฉัยเป็นฟันตายและมีรอยโรครอบรากฟัน
2. เพื่อวิเคราะห์แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเชิงปริมาณของ MMP-2 และMMP-8 ในสิ่งรั่วข้นในคลองรากฟันของฟันที่อยู่ในระหว่างการรักษาคลองรากฟัน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถนำความรู้ที่ได้มาประยุกต์ใช้ในการวางแผน และทำการรักษาคลองรากฟันที่มีการติดเชื้อภายในคลองรากฟัน
2. เพื่อค้นหาตัวบ่งชี้ถึงสภาวะของโรคของฟันที่มีการอักเสบติดเชื้อภายในคลองรากฟัน และมีรอยโรครอบรากฟัน
3. เพื่อเป็นพื้นฐานของงานวิจัยในอนาคต

รูปแบบการวิจัย

การวิจัยทางคลินิก

สถานที่ศึกษาวิจัย

1. คลินิกทันตกรรม คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. ศูนย์วิจัยทางทันตแพทยศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่