

บทที่ 2

บททวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

เชื้อแอกกรีเกรทีแบคทีเรีย แอกทีโนมัยซีเทม โคมิแทนส์ เป็นแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมลบ (gram-negative) รูปร่างกลมรี ปรับตัวได้กับออกซิเจน (facultative anaerobe) และสามารถสร้างปัจจัยความรุนแรง (virulence factors) ต่ออวัยวะปริทันต์ได้หลายชนิด เช่น ชีวพิษภายในตัว (endotoxin) เอนไซม์สลายคอลลาเจน (collagenase) สารยับยั้งขบวนการเคมีโมแทกซิส (chemotactic inhibitor) ชัยโตท็อกซิกแฟกเตอร์ (cytotoxic factor) ตลอดจนถึง ลิวโคท็อกซิน (leukotoxin) และไซโตลีสัลติสเทนดิงท็อกซินหรือซีดีที (cytotoxic distending toxin; CDT)⁽¹²⁻¹⁵⁾ นอกจากบทบาทในการก่อโรคปริทันต์อักเสบแล้ว ปัจจัยเหล่านี้ยังเป็นสาเหตุของการติดเชื้อชนิดอื่นอีก ได้แก่ โรคติดเชื้อที่หัวใจชนิดต่างๆ (bacterial endocarditis, pericarditis) และโรคของหลอดเลือดหัวใจ (cardiovascular disease) การติดเชื้อที่เยื่อหุ้มสมอง (meningitis) และการติดเชื้อในกระแสเลือด (septicemia) ที่มีสาเหตุจากการติดเชื้อจากช่องปาก⁽¹⁶⁻¹⁸⁾

ในปัจจุบันได้มีการศึกษามากขึ้นเกี่ยวกับไซโตลีสัลติสเทนดิงท็อกซินหรือซีดีทีของเชื้อแอกกรีเกรทีแบคทีเรีย แอกทีโนมัยซีเทม โคมิแทนส์ พบว่ามีบทบาทในการไปยับยั้งวัฏจักรเซลล์ (cell cycle) ในระยะ G2 ทำให้เซลล์ไม่เข้าสู่ขบวนการแบ่งเซลล์ (mitosis)⁽¹⁵⁾ ส่วนประกอบของท็อกซินแบ่งออกเป็น 3 ส่วนได้แก่ ซีดีทีเอ บี และซี (CdtA, CdtB, CdtC) โดยซีดีทีบีทำหน้าที่ยับยั้งวัฏจักรเซลล์ ส่วนซีดีทีเอและซีดีทีซีจับกันเป็นคู่เพื่อส่งซีดีทีบีเข้าสู่เซลล์ เมื่อท็อกซินเข้าสู่นิวเคลียสส่วนซีดีทีบีจะทำหน้าที่คล้ายเอนไซม์ดีเอ็นเอส วัน (DNase I) ย่อยสายดีเอ็นเอ เซลล์จึงตอบสนองโดยการหยุดการแบ่งเซลล์และตายในที่สุด โปรตีนทั้งสามชนิดนี้ถูกกำหนดการสร้างโดย ยีนซีดีทีเอ (*cdtA*), ยีนซีดีทีบี (*cdtB*) และ ยีนซีดีทีซี (*cdtC*) โดยยีนเหล่านี้เรียงตามลำดับอยู่ในซีดีทีโอเปอรอน (*cdt operon*) โดยทางด้านหน้าพบโอเพนรีดดิ้งเฟรม (open reading frame) 2 ตำแหน่งซึ่งยังไม่ทราบหน้าที่แน่ชัด ปัจจุบันนี้มีการศึกษาเกี่ยวกับไซโตลีสัลติสเทนดิงท็อกซินของเชื้อแอกกรีเกรทีแบคทีเรีย แอกทีโนมัยซีเทม โคมิแทนส์ จากหลายประเทศ เช่น บราซิล เคนยา ญี่ปุ่นและสวีเดน โดยพบยีนซีดีทีเอ ซีดีทีบี ซีดีทีซี ใน 34 จาก 40 สายพันธุ์⁽¹⁹⁾ ในปี 2002 Tan และคณะ พบความสัมพันธ์ของการพบยีนซีดีทีกับการเกิดโรคปริทันต์ที่รุนแรง⁽²⁰⁾ ส่วน Leung และคณะ รายงานว่าเชื้อ แอกกรีเกรทีแบคทีเรีย แอกทีโนมัยซีเทม โคมิแทนส์ สายพันธุ์ที่ไม่พบยีนซีดีทีมีผลในการทำลายเซลล์ต่ำ⁽²¹⁾

เชื้อฟอร์โฟโรโมแนส จิงจิวัลิส จัดอยู่ในกลุ่มเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเม็ดสีดำ (black-pigmented bacteria) คุณสมบัติของแบคทีเรียชนิดนี้คือ ลักษณะโคโลนี (colony) ของเชื้อกลมมน ขอบเรียบ มันวาว และมีสีดำ ลักษณะเซลล์ ย้อมติดสีแกรมลบ (gram negative) ไม่สามารถเคลื่อนไหวได้ ไม่สร้างสปอร์ เจริญโดยไม่ใช้ออกซิเจน (strictly anaerobe) เชื้อนี้สามารถสร้างปัจจัยความรุนแรงได้หลายชนิด แบ่ง

ออกเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ ได้แก่ ฟิมเบรีย (fimbriae) โปรตีนคอลลาจีเนส (collagenase) ทริปซินไลค์โปรตีนเอส (trypsin-like proteinase) หรือ จิงจีเพน (gingipain) และโปรตีนฮีแมกกลูตินิน (hemagglutinin) เป็นต้น มีการศึกษาพบว่ายีนที่กำหนดการสร้างปัจจัยความรุนแรงของเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจีวาลิส มีอยู่สองชนิดได้แก่ ยีนฟิมเอ (*fimA*) ที่กำหนดการสร้างฟิมเบรีย (fimbriae) และยีนพีอาร์ทีซี (*priC*) ที่กำหนดการสร้างโปรตีนคอลลาจีเนสอันเป็นปัจจัยความรุนแรงหลักที่เป็นสาเหตุของการลุกลามของโรคที่พบบ่อยในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบ⁽²²⁻²⁵⁾

ฟิมเบรียของเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจีวาลิส จัดเป็นปัจจัยความรุนแรงที่สำคัญในการก่อโรคปริทันต์อักเสบ มีลักษณะเป็นเส้นขนสั้น ๆ อยู่ล้อมรอบผนังเซลล์ของแบคทีเรีย มีบทบาทในการยึดจับและทำให้เกิดการรวมกลุ่มกันของเชือบนเซลล์เนื้อเยื่อในช่องปากหลายชนิดนอกจากนั้นยังสามารถกระตุ้นให้เซลล์เนื้อเยื่อในช่องปากหลั่งสารที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกัน ได้แก่ ไซโตไคน์ (cytokine) ต่างๆ ได้ เชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจีวาลิส มีการแสดงออกของโมเลกุลฟิมเบรีย สองชนิดได้แก่ ฟิมเบรียหลัก (major fimbriae) และฟิมเบรียรอง (minor fimbriae) โดยมียีนฟิมเอ (*fimA*) เป็นตัวกำหนดการสร้างฟิมเบรียหลักที่มีขนาด 43 กิโลดาลตัน ฟิมเบรียหลักประกอบด้วยโปรตีนที่มีการต่อกันของโปรตีนหน่วยย่อยฟิมบริลลิน (fimbriillin monomer subunit protein) ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 6 กลุ่มตามลำดับนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน คือ ฟิมเบรียชนิดที่ 1-5 และกลุ่มฟิมเบรียชนิดที่ 1บี (type I-V, Ib) มีหลายการศึกษาพบว่าฟิมเบรียชนิดที่ 2 (type II) มีความสามารถในการเกาะและบุกรุกเข้าสู่ผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อในช่องปากได้ดี ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความรุนแรงในการก่อโรคมกกว่าฟิมเบรียชนิดอื่น จึงเป็นสิ่งที่แสดงให้เห็นว่าความหลากหลายของฟิมเบรียนี้มีความสัมพันธ์ในการเกิดโรคปริทันต์อักเสบ⁽²⁶⁾

²⁹⁾ ส่วนปัจจัยความรุนแรงที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งของเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจีวาลิส คือ เอนไซม์คอลลาจีเนส ที่กำหนดการสร้างโดยยีนพีอาร์ทีซี (*priC*) ยีนนี้มีขนาด 1,002 คู่เบส และเป็นโปรตีนขนาด 333 อะมิโนเอซิด หรือขนาด 37.8 กิโลดาลตัน โปรตีนชนิดนี้จะทำงานได้เมื่ออยู่เป็นคู่ (dimer) และมีคุณสมบัติในการย่อยสลายคอลลาเจนชนิดที่ 1 (collagen type I) แต่ไม่สลายเจลาติน (gellatin) และไม่ทนต่อความร้อน คอลลาเจนชนิดที่ 1 นี้เป็นส่วนประกอบหลักของอวัยวะปริทันต์ ดังนั้นเอนไซม์คอลลาจีเนสจึงมีบทบาทสำคัญในการทำลายเนื้อเยื่อและทำให้รอยโรคลุกลาม⁽³⁰⁾

เชือบานเนอเรลลา ฟอร์ซัยเซีย เป็นเชื้อที่มีโคไลนขนาดเล็กมาก ลักษณะเซลล์คล้ายกระสวย (spindle-shaped) ย้อมติดสีแกรมลบ (gram negative) ปลายด้านหัวและท้ายตัด ขนาดกว้าง 0.3-0.5 ไมครอน ยาว 1-5 ไมครอน อาจพบรูปร่างไม่แน่นอน (pleomorphic) ไม่สามารถเคลื่อนไหว ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ช้าในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (strictly anaerobe) จึงต้องมีการใช้กรดเอ็นอะเซตทิลมิวรามิค (N-acetylmuramic acid) ช่วยเสริมในการเจริญเติบโต⁽³¹⁾ เชื้อชนิดนี้สามารถสร้างปัจจัยความรุนแรงได้หลายชนิด ได้แก่ โมเลกุลที่ช่วยในการยึดเกาะที่มีลิวซีนมาก (leucine-rich adhesion molecule) บนผนังเซลล์แบคทีเรีย ซึ่งเกี่ยวข้องกับการทำลายกระดูกเบ้าฟันในหนู โปรตีนฮีแมกกลูตินิน และปัจจัยที่

ทำให้เซลล์ตาย (apoptotic-inducing factor) นอกจากนั้นยังพบเอนไซม์อื่นๆ อีก เช่น เอนไซม์ไฮอาลิเดส (sialidase) ทริปซินไลก์โปรตีนเอส และซิสเทอีนโปรติเอส (cysteine protease) เป็นต้น⁽³²⁻³⁴⁾

เอนไซม์ซิสเทอีนโปรติเอส ถูกศึกษามากในเชื้อแทนเนอเรลลา ฟอร์ซัยเรีย เอนไซม์ชนิดนี้ กำหนดการสร้างโดยยีนพีอาร์ทีเอช (*prtH*) ได้เป็นโปรตีนขนาด 48 กิโลดาลตัน มีคุณสมบัติในการย่อยโปรตีนและทำให้เกิดเลือดแดงแตกสลาย⁽³⁵⁾ นอกจากนั้นเอนไซม์นี้ยังมีฤทธิ์ในการย่อยไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ในหลอดทดลอง แต่บทบาทในสิ่งมีชีวิตของเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด ปัจจุบันพบหลักฐานที่ชี้ถึงความสัมพันธ์ของเชื้อแทนเนอเรลลา ฟอร์ซัยเรียกับโรคปริทันต์คือ สามารถพบเชื้อนี้ได้บ่อยในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบ โดย Tan และคณะ ได้รายงานการพบผู้ป่วยโรคปริทันต์ที่ติดเชื้อชนิดนี้นอกจากนั้นยังพบว่าเชื้อชนิดนี้มียีนพีอาร์ทีเอชสูงถึงร้อยละ 85 ในขณะที่พบยีนนี้ในคนปกติได้เพียงร้อยละ 10⁽³⁶⁾ ต่อมาในปี 2007 Hamlet และคณะ ได้ทำการศึกษาในประชากรชาวออสเตรเลีย พบว่าเชื้อแทนเนอเรลลา ฟอร์ซัยเรีย สายพันธุ์ที่มียีนพีอาร์ทีเอชมีความสัมพันธ์กับโรคปริทันต์อักเสบ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการทำนายการดำเนินของโรคได้ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่าการพบสายพันธุ์ของเชื้อแทนเนอเรลลา ฟอร์ซัยเรีย ที่มียีนพีอาร์ทีเอชจำนวนมากมีความเกี่ยวข้องกับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ (attachment loss) ด้วย⁽³⁷⁾

ปัจจุบันวิธีทางอณูชีววิทยาได้มีการพัฒนามาเป็นลำดับโดยเฉพาะวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส หรือพีซีอาร์ (polymerase chain reaction; PCR) วิธีการนี้ได้ถูกนำมาใช้ในการศึกษาอย่างหลากหลาย โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาชิ้นส่วนของยีนที่สนใจโดยอาศัยปฏิกิริยาเพิ่มชิ้นส่วนยีนที่ต้องการตรวจให้มีปริมาณมากขึ้นและนำชิ้นส่วนยีนที่เพิ่มปริมาณนี้มาวัดด้วยวิธีเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (gel electrophoresis) วิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสนี้มีข้อดีคือ มีความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) สูง อีกทั้งยังสะดวก รวดเร็ว และประหยัดเวลา ทำให้ทราบผลเร็ว อันจะนำไปสู่การวางแผนการรักษาที่ถูกต้องและรวดเร็ว

การศึกษการตรวจวินิจฉัยสารพันธุกรรมของเชื้อแอกริเกรทีแบคทีเรีย แอคติโนมัยซีเทม โคมิแทนส์ และยีนซีดีทีเอ ซีดีทีบี ซีดีทีซี ซึ่งกำหนดการสร้างไซโตลิซดิสเทนดิงท็อกซิน ด้วยวิธีปฏิกิริยา ลูกโซ่พอลิเมอเรสแบบพื้นฐาน โดย Ahmed และคณะปี 2001 พบทั้งสามยีนในทุกสายพันธุ์และ ร้อยละ 86 พบการแสดงออกความเป็นพิษสูงของโปรตีนซีดีที⁽³⁸⁾ ในปี 2002 Tan และคณะพบความสัมพันธ์ของ ซีดีทียีน (*cdt* genotype) ในผู้ป่วยปริทันต์ชนิดรุนแรงคาดว่าบทบาทของโปรตีนนี้ไปทำลายระบบภูมิคุ้มกันของเซลล์เจ้าบ้าน⁽²⁰⁾ ในปีเดียวกัน Fabris และคณะศึกษายีนซีดีทีเอ บี และซี และการแสดงออกของยีนนี้พบว่าเชื้อแอกริเกรทีแบคทีเรีย แอคติโนมัยซีเทม โคมิแทนส์ ที่แยกได้จากประเทศต่างๆ ได้แก่ บราซิล เคนยา ญี่ปุ่นและสวีเดน พบยีนนี้สูงถึงร้อยละ 85 และมีการแสดงออกของท็อกซินนี้ แต่บางสายพันธุ์ที่พบการหายไปของยีนบางยีนจะไม่พบการแสดงออกของท็อกซินนี้⁽¹⁹⁾ ในปี 2003 Yamano และคณะยืนยันการพบไซโตลิซดิสเทนดิงท็อกซิน เป็นท็อกซินที่จำเพาะของเชื้อแอกริเกรทีแบคทีเรีย แอคติโนมัยซีเทม โคมิแทนส์เท่านั้น ไม่พบในเชื้อชนิดอื่นในช่องปากและพบการแสดงออก

ของระดับความเป็นพิษที่หลากหลายเพราะพบความแตกต่างของลำดับเบสได้ในช่วงต่างๆ⁽³⁹⁾ Tan และคณะในปี 2005 พบส่วนอินตรอน (intron) แทรกในส่วนยีนซีดีที ของเชื้อแบคทีเรียแบคทีเรียแอคทีโนไมซีเทม โคมิเทนส์ คาดว่าเป็นส่วนเร่งปฏิกิริยาการจับของอาร์เอ็นเอ⁽⁴⁰⁾

การศึกษาในชาวจีน โดย Wu และคณะในปี 2007 พบเชื้อฟอร์ไฟโรโมแนส จิงจิवालิส ที่ตรวจพบยีนพีอาร์ทีซี และยีนฟิมเอ (16SrDNAPg+, *priC*+, *fimA*+) ในร่องลึกปริทันต์ที่มากกว่า 6 มิลลิเมตร และสัมพันธ์กับสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ (attachment loss) ในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรัง⁽²⁵⁾ อย่างไรก็ตามเชื้อฟอร์ไฟโรโมแนส จิงจิवालิส บางสายพันธุ์ที่ไม่พบยีนพีอาร์ทีซีและ/หรือยีนฟิมเอ พบการแสดงออกของความรุนแรงที่แตกต่างกัน⁽²²⁻²⁵⁾

การตรวจวินิจฉัยสารพันธุกรรมของเชื้อแท่นเนอเรลลา ฟอร์ซัยเซียและยีนพีอาร์ทีเอช ที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ซิสเทอีน โปรติเอส โดย Tan และคณะในปี 2001 รายงานความสัมพันธ์การพบยีนนี้ในผู้ป่วยโรคปริทันต์และพบในคนปกติได้น้อย⁽³⁶⁾ ในปี 2007 คณะของ Hamlet รายงานการพบยีนพีอาร์ทีเอช เกี่ยวข้องกับปริมาณการพบเชื้อแท่นเนอเรลลา ฟอร์ซัยเซียที่สูง⁽⁴¹⁾ ต่อมาผู้วิจัยในกลุ่มเดียวกันทำการศึกษาพบว่าการตรวจพบยีนนี้สูงและเกี่ยวข้องกับการสูญเสียการเกาะยึดของอวัยวะปริทันต์ (attachment loss)⁽³⁷⁾