

ผลการศึกษา

การคัดเลือกตัวอย่างที่ทำการศึกษา

แบ่งกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยที่ทำการศึกษาก่อเป็น 4 กลุ่มตามการวินิจฉัยโรคของ The American Academy of Periodontology (AAP) 1999 คือ กลุ่มผู้มีสุขภาพเหงือกดี กลุ่มผู้ป่วยโรคเหงือกอักเสบ กลุ่มผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบชนิดก้าวหน้า และกลุ่มผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรัง กลุ่มละ 10 คน รวมมีผู้ป่วยเข้าร่วมงานวิจัยทั้งสิ้นจำนวน 40 คน เป็นเพศชาย 18 คน เพศหญิง 22 คน อายุระหว่าง 18-71 ปี กลุ่มผู้มีสุขภาพเหงือกดีจำนวน 10 คน มีอายุระหว่าง 22-35 ปี อายุเฉลี่ย 29.20 ± 4.19 ปี กลุ่มผู้ป่วยโรคเหงือกอักเสบจำนวน 10 คน มีอายุระหว่าง 19-71 ปี อายุเฉลี่ย 32.10 ± 18.74 ปี กลุ่มผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบชนิดก้าวหน้าจำนวน 10 คน มีอายุระหว่าง 18-44 ปี อายุเฉลี่ย 31.60 ± 6.74 ปี และกลุ่มผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรังจำนวน 10 คน มีอายุระหว่าง 39-61 ปี อายุเฉลี่ย 49.40 ± 7.69 ปี (ตารางที่ 2) จากสถิติ T-test พบว่าอายุของกลุ่มผู้มีสุขภาพเหงือกดี กลุ่มผู้ป่วยโรคเหงือกอักเสบ และกลุ่มผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบชนิดก้าวหน้าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนอายุของกลุ่มผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรังมีความแตกต่างจากผู้ป่วยกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$

กลุ่มประชากรที่ศึกษา	เพศ (คน)		อายุเฉลี่ย (ปี)
	ชาย	หญิง	
สุขภาพเหงือกดี	5	5	29.20 ± 4.19
โรคเหงือกอักเสบ	4	6	32.10 ± 18.74
โรคปริทันต์อักเสบชนิดก้าวหน้า	3	7	31.60 ± 6.74
โรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรัง	6	4	49.40 ± 7.69

ตารางที่ 2 จำนวน เพศ และอายุเฉลี่ยของประชากรกลุ่มต่างๆ

ก่อนทำการตรวจลักษณะทางคลินิก มีการปรับมาตรฐานการวัดค่าทางคลินิกภายในตัวผู้ตรวจ (intra-examiner calibration) พบว่าค่าของร่องลึกปริทันต์ที่มีความคลาดเคลื่อนภายใน 1 มิลลิเมตร มีค่า weight kappa เท่ากับ 0.98 ส่วนค่าของระดับการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ที่มีความคลาดเคลื่อนภายใน 1 มิลลิเมตร มีค่า weight kappa เท่ากับ 0.96

การคัดเลือกตำแหน่งที่ทำการศึกษา

ภายหลังการคัดเลือกประชากรที่ศึกษา ทำการเลือกตำแหน่งที่เก็บตัวอย่างน้ำเหลืองเหงือกได้ทั้งหมด 300 ตำแหน่ง แบ่งเป็น ตำแหน่งที่สุขภาพเหงือกดีจากผู้ที่มีสุขภาพเหงือกดีและตำแหน่งที่มีเหงือกอักเสบจากผู้ป่วยโรคเหงือกอักเสบอย่างละ 50 ตำแหน่ง ส่วนผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบชนิดก้าวหน้า

และผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรัง เก็บตัวอย่างจากตำแหน่งที่มีร่องลึกปริทันต์น้อยกว่าหรือเท่ากับ 4 มิลลิเมตร 50 ตำแหน่ง และร่องลึกปริทันต์มากกว่าหรือเท่ากับ 6 มิลลิเมตร 50 ตำแหน่ง (ตารางที่ 3)

ตำแหน่งที่คัดเลือก		จำนวนตำแหน่ง
สุขภาพเหงือกดี		50
โรคเหงือกอักเสบ		50
โรคปริทันต์อักเสบชนิดก้าวหน้า	ร่องลึกปริทันต์น้อย	50
	ร่องลึกปริทันต์มาก	50
โรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรัง	ร่องลึกปริทันต์น้อย	50
	ร่องลึกปริทันต์มาก	50

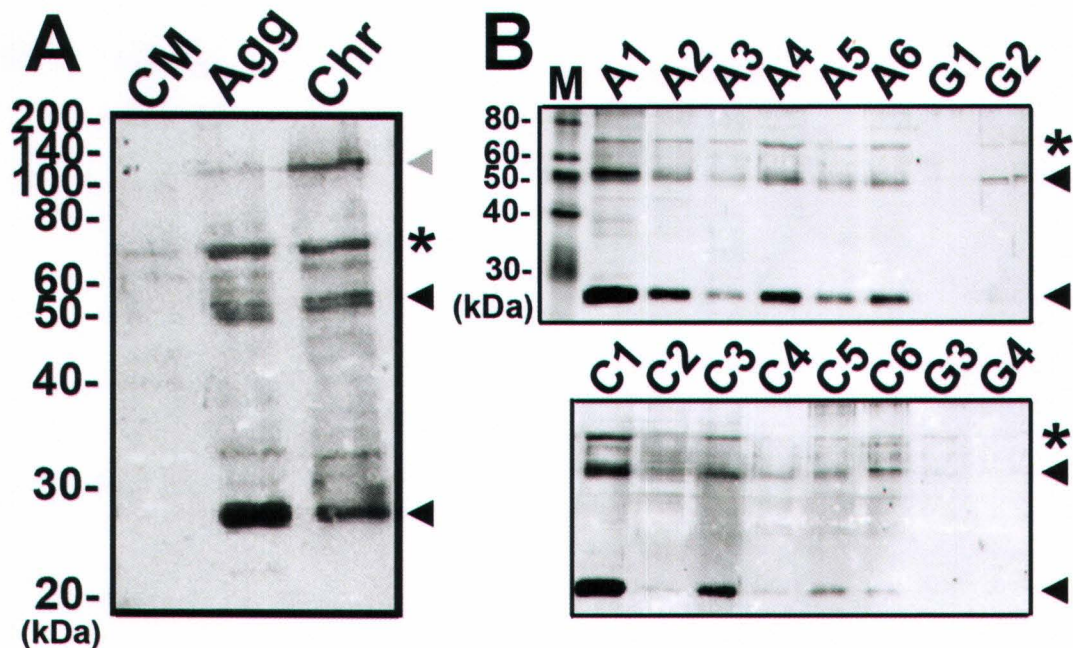
ตารางที่ 3 จำนวนตำแหน่งที่เก็บตัวอย่างน้ำเหลืองเหงือกในประชากรกลุ่มต่างๆ

การตรวจ ADAM 8 ในน้ำเหลืองเหงือก

1. ผลการตรวจโปรตีนด้วยวิธี western blot

จากการตรวจ ADAM 8 ในเบื้องต้นจากตัวอย่างของผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบชนิดก้าวหน้า (Agg) และโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรัง (Chr) อย่างละ 1 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ได้จากอาหารเลี้ยงเซลล์ human chondrosarcoma cell line SW1353 ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวควบคุมที่ให้ผลบวก (positive control) พบว่ามีแถบของผลิตภัณฑ์ในตำแหน่ง 70 กิโลดาลตันปรากฏขึ้นดังแสดงในภาพ 24 A (ดอกจัน) ซึ่งสอดคล้องกับขนาดของ ADAM 8 ที่อยู่ในสารละลายที่พบในอาหารเลี้ยงเซลล์สลายกระดูกของมนุษย์ที่ 70 กิโลดาลตัน (Choi และคณะ, 2001) สังเกตแถบที่ขนาดต่ำกว่า 70 กิโลดาลตัน คือที่ต่ำกว่า 30 กิโลดาลตันและที่ 50 กิโลดาลตัน (หัวลูกศรสีดำ) น่าจะเป็นโปรตีน ADAM 8 ที่ขนาดเล็กลงหลังจากการถูกย่อยสลาย ส่วนแถบที่สูงกว่า 100 กิโลดาลตัน (หัวลูกศรสีเทา) น่าจะเป็นเปปไทด์สายตั้งต้นของ ADAM 8 (ภาพ 24 A)

เมื่อนำตัวอย่างจากผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบชนิดก้าวหน้า 6 ตัวอย่างจากผู้ป่วย 6 คน (A1-A6) มาศึกษาเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ได้จากที่ได้จากผู้ป่วยโรคเหงือกอักเสบ 2 ตัวอย่างจากผู้ป่วย 2 คน (G1 และ G2) พบว่ามีแถบความเข้มปรากฏขึ้นในตำแหน่ง 70, 50 และต่ำกว่า 30 กิโลดาลตันในตัวอย่าง A1-A6 ในระดับความเข้มของแถบสีแตกต่างกัน ในขณะที่ตัวอย่าง G1 ไม่พบแถบสีเข้มและพบเล็กน้อยในตัวอย่าง G2 (ภาพ 24 B บน) ส่วนตัวอย่างจากโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรัง (ภาพ 24 B ล่าง) จำนวน 6 ตัวอย่างจากผู้ป่วย 6 คน (C1-C6) เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ได้จากที่ได้จากผู้ป่วยโรคเหงือกอักเสบ 2 ตัวอย่างจากผู้ป่วย 2 คน (G3 และ G4) พบว่าให้ผลเช่นเดียวกัน คือไม่พบแถบสีเข้มหรือพบเพียงเล็กน้อยในตัวอย่างที่เป็นโรคเหงือกอักเสบ (G3 และ G4) ในขณะที่พบแถบสีเข้มที่แตกต่างกันในตัวอย่างจากผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรัง (C1-C6)



ภาพ 24 แอบโปรตีน ADAM 8 ที่ถูกแยกด้วยวิธี western blot

2. ผลการศึกษาระดับ ADAM 8 ด้วยวิธี ELISA

หาค่าอัตราการคืนสภาพของสาร ADAM 8 (recovery rate) โดยใส่ recombinant human ADAM 8 ที่ทราบความเข้มข้นใน peripaper strip แล้วนำมาหาระดับ ADAM 8 ด้วยวิธี ELISA จากนั้นนำมาคำนวณกลับเป็นร้อยละของอัตราการคืนสภาพ ได้อัตราการคืนสภาพของสาร ADAM 8 เท่ากับร้อยละ 93

จากการตรวจวัดระดับ ADAM 8 ในน้ำเหลืองเหงือกของผู้ป่วยโรคปริทันต์กลุ่มต่างๆ จำนวน 300 ตัวอย่าง พบว่าข้อมูลที่ได้เป็นข้อมูลที่มีการกระจายแบบไม่ปกติ เนื่องจากเมื่อนำมาคำนวณโดยใช้สถิติ Komologorov-Smirnov one sample test แล้วได้ค่า $p < 0.05$ จึงใช้ค่ามัธยฐาน (median) เป็นตัวบอกระดับของ ADAM 8 โดยพบว่าในกลุ่มที่มีสุขภาพเหงือกดีมีระดับของ ADAM 8 เท่ากับ 2.73 นาโนกรัม/มิลลิลิตร กลุ่มโรคเหงือกอักเสบมีค่าเท่ากับ 36.28 นาโนกรัม/มิลลิลิตร กลุ่มโรคปริทันต์อักเสบชนิดก้าวหน้าที่มีร่องลึกปริทันต์น้อยมีระดับ ADAM 8 เท่ากับ 76.90 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ส่วนกลุ่มที่มีร่องลึกปริทันต์มากมีค่าเท่ากับ 96.33 นาโนกรัม/มิลลิลิตร กลุ่มโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรังที่มีร่องลึกปริทันต์น้อยมีค่าเท่ากับ 92.08 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และกลุ่มที่มีร่องลึกปริทันต์มากมีค่าเท่ากับ 196.66 นาโนกรัม/มิลลิลิตร (ตารางที่ 4)

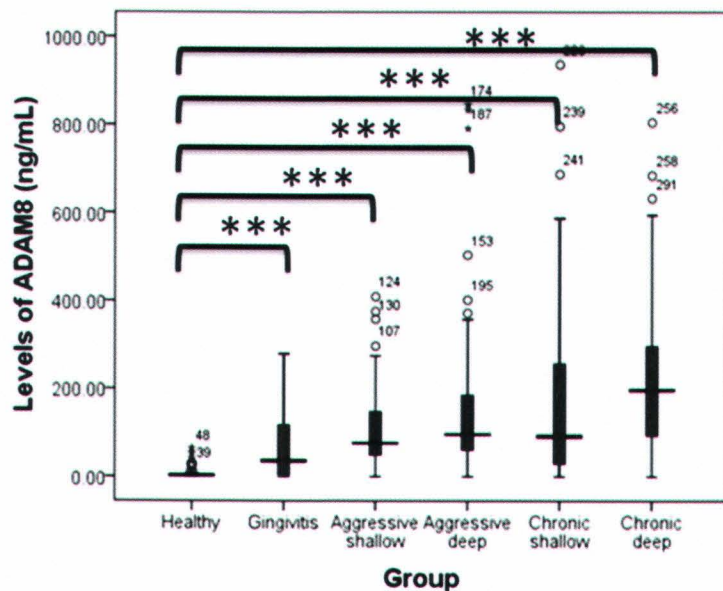
กลุ่ม		ระดับ ADAM 8 (ng/mL)		
		ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด	ค่ามัธยฐาน
สุขภาพเหงือกดี		0	64.90	2.73
โรคเหงือกอักเสบ		0	279.03	36.28
โรคปริทันต์อักเสบชนิด ก้าวหน้า	ร่องลึกปริทันต์น้อย	0	409.05	76.90
	ร่องลึกปริทันต์มาก	0	845.84	96.33
โรคปริทันต์อักเสบชนิด เรื้อรัง	ร่องลึกปริทันต์น้อย	0	936.90	92.08
	ร่องลึกปริทันต์มาก	0	805.24	196.66

ตารางที่ 4 ระดับ ADAM 8 ของกลุ่มต่างๆ

3. ผลการศึกษาเปรียบเทียบค่ามัธยฐานของระดับ ADAM8 ในน้ำเหลืองเหงือกของกลุ่มต่าง ๆ

เปรียบเทียบค่ามัธยฐานของระดับ ADAM 8 ในน้ำเหลืองเหงือกของผู้ป่วยในกลุ่มต่างๆ ด้วยการใช้สถิติแบบ Nonparametric test ร่วมกับการใช้ Mann-Whitney U test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติเท่ากับ 0.05 โดยเมื่อเปรียบเทียบค่ามัธยฐานของระดับ ADAM 8 ระหว่างกลุ่มที่มีสุขภาพเหงือกดีและโรคปริทันต์ชนิดต่างๆ พบว่า

- ค่ามัธยฐานของระดับ ADAM 8 ระหว่างกลุ่มที่มีสุขภาพเหงือกดีและโรคเหงือกอักเสบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$)
 - ค่ามัธยฐานของระดับ ADAM 8 ระหว่างกลุ่มที่มีสุขภาพเหงือกดีและโรคปริทันต์อักเสบชนิดก้าวหน้าในร่องลึกปริทันต์น้อยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$)
 - ค่ามัธยฐานของระดับ ADAM 8 ระหว่างกลุ่มที่มีสุขภาพเหงือกดีและโรคปริทันต์อักเสบชนิดก้าวหน้าในร่องลึกปริทันต์มากมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$)
 - ค่ามัธยฐานของระดับ ADAM 8 ระหว่างกลุ่มที่มีสุขภาพเหงือกดีและโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรังในร่องลึกปริทันต์น้อยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$)
 - ค่ามัธยฐานของระดับ ADAM 8 ระหว่างกลุ่มที่มีสุขภาพเหงือกดีและโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรังในร่องลึกปริทันต์มากมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$)
- ดังแสดงในภาพ 25

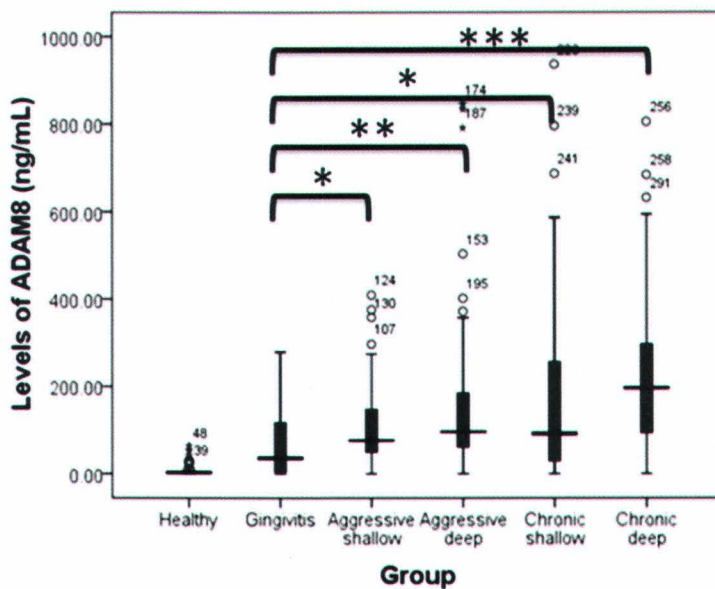


ภาพ 25 ระดับ ADAM 8 ในกลุ่มที่มีสุขภาพเหงือกดีเปรียบเทียบกับโรคปริทันต์กลุ่มต่างๆ
(*** คือ $p < 0.001$)

เมื่อเปรียบเทียบค่ามัธยฐานของระดับ ADAM 8 ระหว่างโรคเหงือกอักเสบและโรคปริทันต์ชนิดต่างๆ พบว่า

- ค่ามัธยฐานของระดับ ADAM 8 ระหว่างโรคเหงือกอักเสบและโรคปริทันต์อักเสบชนิดก้าวหน้าในร่องลึกปริทันต์น้อยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)
- ค่ามัธยฐานของระดับ ADAM 8 ระหว่างโรคเหงือกอักเสบและโรคปริทันต์อักเสบชนิดก้าวหน้าในร่องลึกปริทันต์มากมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)
- ค่ามัธยฐานของระดับ ADAM 8 ระหว่างโรคเหงือกอักเสบและโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรังในร่องลึกปริทันต์น้อยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)
- ค่ามัธยฐานของระดับ ADAM 8 ระหว่างโรคเหงือกอักเสบและโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรังในร่องลึกปริทันต์มากมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$)

ดังแสดงในภาพ 26

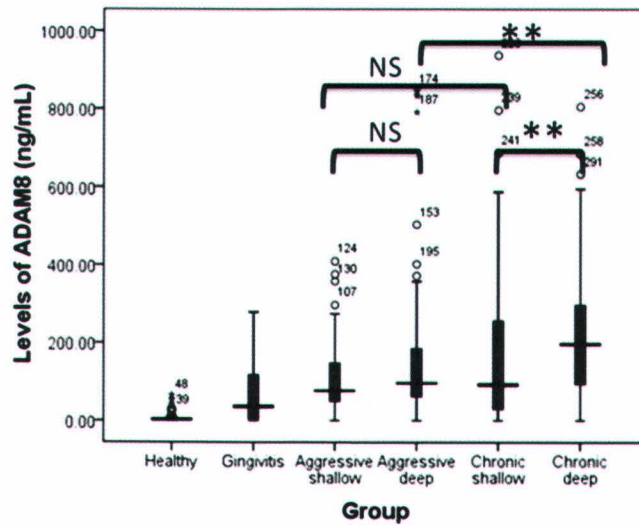


ภาพ 26 ระดับ ADAM 8 ในกลุ่มเหงือกอักเสบเปรียบเทียบกับโรคปริทันต์กลุ่มต่างๆ

(* คือ $p < 0.05$, ** คือ $p < 0.01$, *** คือ $p < 0.001$)

เมื่อเปรียบเทียบค่ามัธยฐานของระดับ ADAM 8 ระหว่างโรคปริทันต์ชนิดต่างๆ พบว่า

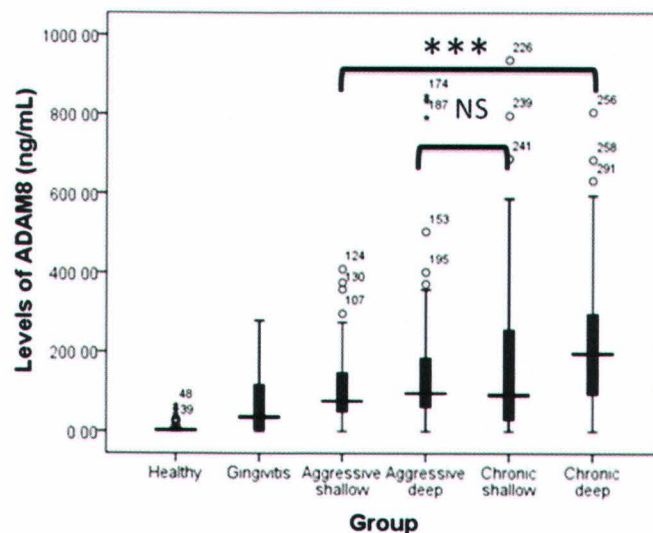
- ค่ามัธยฐานของระดับ ADAM 8 ระหว่างโรคปริทันต์อักเสบชนิดก้าวหน้าที่มีร่องลึกปริทันต์น้อย และโรคปริทันต์อักเสบชนิดก้าวหน้าที่มีร่องลึกปริทันต์มากไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
- ค่ามัธยฐานของระดับ ADAM 8 ระหว่างโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรังที่มีร่องลึกปริทันต์น้อยและโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรังที่มีร่องลึกปริทันต์มากมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)
- ค่ามัธยฐานของระดับ ADAM 8 ระหว่างโรคปริทันต์อักเสบชนิดก้าวหน้าที่มีร่องลึกปริทันต์น้อย และโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรังที่มีร่องลึกปริทันต์น้อยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
- ค่ามัธยฐานของระดับ ADAM 8 ระหว่างโรคปริทันต์อักเสบชนิดก้าวหน้าที่มีร่องลึกปริทันต์มาก และโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรังที่มีร่องลึกปริทันต์มากมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ดังแสดงในภาพ 27



ภาพ 27 ระดับ ADAM 8 ในผู้ป่วยโรคปริทันต์ชนิดต่างๆ

(NS คือไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ, ** คือ $p < 0.01$)

- ค่ามัธยฐานของระดับ ADAM 8 ระหว่างโรคปริทันต์อักเสบชนิดก้ำกั้วที่มีร่องลึกปริทันต์น้อย และโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรังที่มีร่องลึกปริทันต์มากมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$)
- ค่ามัธยฐานของระดับ ADAM 8 ระหว่างโรคปริทันต์อักเสบชนิดก้ำกั้วที่มีร่องลึกปริทันต์มาก และโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรังที่มีร่องลึกปริทันต์น้อยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในภาพ 28

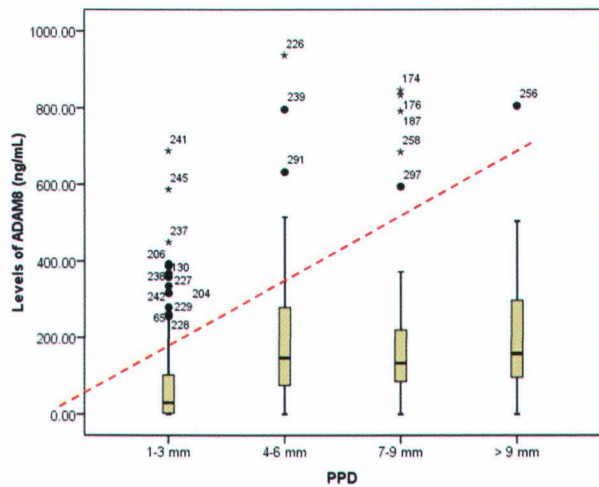


ภาพ 28 ระดับ ADAM 8 ในผู้ป่วยโรคปริทันต์ชนิดต่างๆ

(NS คือไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ, *** คือ $p < 0.001$)

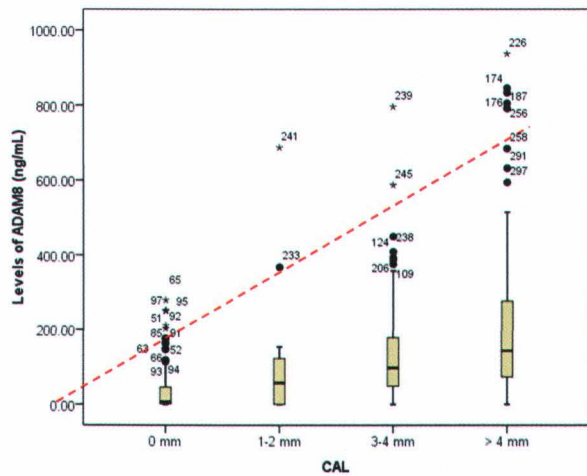
4. ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ ADAM 8 กับค่าพารามิเตอร์ทางคลินิก

หาความสัมพันธ์ระหว่างระดับ ADAM 8 กับค่าพารามิเตอร์ทางคลินิก ได้แก่ ร่องลึกปริทันต์ (PPD) และระดับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ (CAL) ดัชนีเหงือกอักเสบ และดัชนีคราบจุลินทรีย์ โดยใช้วิธี Spearman rank order correlation ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติเท่ากับ 0.05 โดยแบ่ง PPD ออกเป็น 4 ระดับคือ 1-3, 4-6, 7-9 และ > 9 มิลลิเมตร ส่วน CAL แบ่งออกเป็น 4 ระดับเช่นกัน ได้แก่ 0, 1-2, 3-4 และ > 4 มิลลิเมตร พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างระดับของ ADAM 8 กับร่องลึกปริทันต์มีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.01$) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.439 (ภาพ 29)



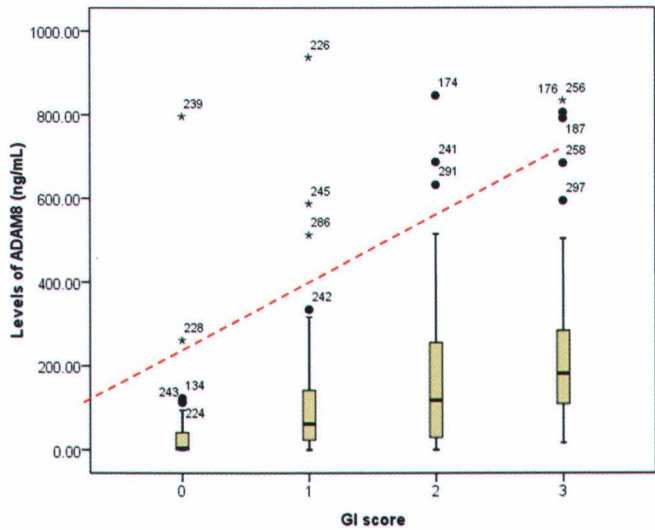
ภาพ 29 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ ADAM 8 กับร่องลึกปริทันต์ ($r = 0.439, p = 0.01$)

ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ ADAM 8 กับระดับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์มีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.01$) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.518 (ภาพ 30) ($r = 0.518, p = 0.01$)



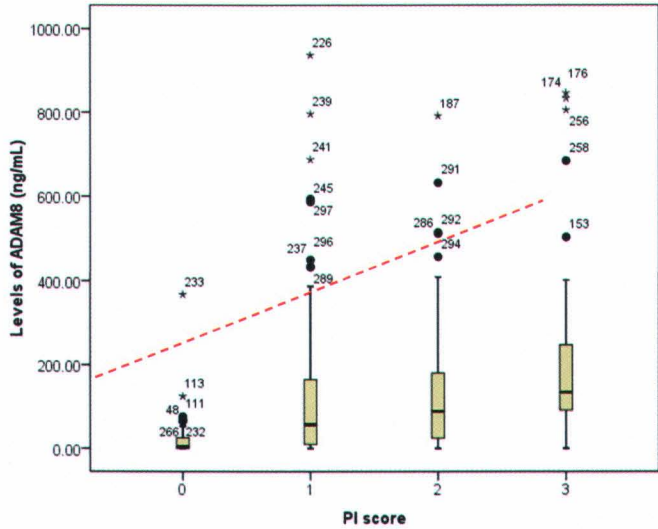
ภาพ 30 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ ADAM 8 กับระดับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์

ในขณะที่ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ ADAM 8 กับดัชนีเหงือกอักเสบ (GI score) มีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.01$) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.543 (ภาพ 31)



ภาพ 31 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ ADAM 8 กับดัชนีเหงือกอักเสบ ($r = 0.543$, $p = 0.01$)

ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างระดับ ADAM 8 กับดัชนีคราบจุลินทรีย์ (PI score) มีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.01$) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.382 (ภาพ 32)



ภาพ 32 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ ADAM 8 กับดัชนีคราบจุลินทรีย์ ($r = 0.382$, $p = 0.01$)