

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร ปี 2556

“ผลของสารสกัดจากใบข่อยต่อการแสดงออกของรีเซพเตอร์ แอคติเวเตอร์ ออฟ นิวเคลียร์ แฟกเตอร์ ไลแกน และ ออสทีโอโพโรทีเจริน ในเซลล์สร้างกระดูกที่ถูกกระตุ้นด้วยเชื้อ *พอร์ไฟโรโมแนส จิงจิवालิส*”

โรคปริทันต์อักเสบเป็นโรคที่เกิดจากการติดเชื้อที่สำคัญได้แก่ เชื้อ *พอร์ไฟโรโมแนส จิงจิवालิส* ในช่วงแรก เชื้อก่อโรคปริทันต์บุกรุกเข้ามาในอวัยวะปริทันต์ จะเกิดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายเฉพาะที่ นอกจากนั้น เชื้อและสารที่ผลิตจากเชื้อก่อให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อโดยตรง หากไม่สามารถควบคุมโรคได้ จะมีการลุกลามของโรค ส่งผลให้เกิดการทำลายกระดูกเบ้าฟันและเกิดการสูญเสียฟัน การรักษาและควบคุมโรคในปัจจุบันจึงมุ่งเน้นที่การกำจัดเชื้อก่อโรค ลดการอักเสบ และการส่งเสริมภูมิคุ้มกัน รวมทั้งกระตุ้นการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ ข่อยเป็นสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อและลดการอักเสบ ได้มีงานวิจัยที่นำสารสกัดจากใบข่อยมาใช้รักษาโรคปริทันต์อักเสบร่วมกับการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟัน แต่ยังไม่มีการรายงานถึงกลไกของสารสกัดจากใบข่อยในการต้านการทำลายกระดูกเบ้าฟันที่ติดเชื้อในโรคปริทันต์ การวิจัยในห้องปฏิบัติการนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาผลของสารสกัดจากใบข่อยต่อการแสดงออกของยีนที่เป็นแม่แบบในการสร้างสารที่ควบคุมสมดุลการสร้างและการทำลายกระดูกเบ้าฟันที่สังเคราะห์จากเซลล์สร้างกระดูก (osteoblast) ได้แก่ จินรีเซพเตอร์ แอคติเวเตอร์ ออฟ นิวเคลียร์ แฟกเตอร์ ไลแกน (แรงค์แอล) และ ออสทีโอโพโรทีเจริน (โอพีจี) โดยทำการตรวจการแสดงออกของยีนทั้งสองและสัดส่วนการแสดงผล เพื่อวิเคราะห์กลไกการลดการละลายตัวของกระดูก ที่เกิดขึ้นภายใต้การควบคุมของเซลล์สร้างกระดูก

ในการศึกษานี้ ใช้เซลล์สร้างกระดูกมนุษย์ปฐมภูมิและนำมากระตุ้นด้วยส่วนสกัดเซลล์แตกของเชื้อ *พอร์ไฟโรโมแนส จิงจิवालิส* เป็นแบบจำลองในการทดสอบ ผลการทดสอบความเป็นพิษของเชื้อและสารสกัดจากใบข่อยความเข้มข้นต่างๆ ต่อเซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิโดยวิธีเอ็มทีที (MTT assay) พบว่า หลังจากเซลล์สร้างกระดูกสัมผัสกับสารทั้งสองเป็นเวลา 2, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง เซลล์สร้างกระดูกมีการตายเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารที่เพิ่มขึ้น จากการคำนวณค่าความเข้มข้นของสารที่ทำให้เซลล์สร้างกระดูกตายร้อยละ 20 (IC20) และ 50 (IC50) พบว่า ที่เวลา 48 ชั่วโมงหลังการสัมผัส ค่า IC20 และ IC50 ของเชื้อที่ถูกทำให้แตกตัว มีค่าเท่ากับ 30.1 และ 96.42 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนค่า IC20 และ IC50 ของสารสกัดใบข่อย เท่ากับ 0.14 และ 0.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากผลการศึกษาดังกล่าวจึงเลือกช่วงเวลา 24 และ 48 ชั่วโมงไปทำการศึกษาระดับการแสดงออกของยีน *แรงค์แอล* และ *โอพีจี* ของส่วนผสมระหว่าง

ส่วนสกัดเซลล์แตกของเชื้อ *พอร์ไฟโรโมแนส* จึงจิวาลิสความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดจากใบข่อยเข้มข้น 0.1, 0.2 และ 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ เพื่อจะเลือกความเข้มข้นของสารสกัดจากใบข่อยที่เหมาะสมต่อไป จากข้อมูลสัดส่วนการแสดงออกของ *เงินแรงค์แอล* ต่อ *เงินโอพีจี* เมื่อเซลล์สัมผัสกับสารทดสอบทั้ง 2 ชนิดที่มีสารสกัดจากใบข่อยเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่ามีสัดส่วนการแสดงออกของ *เงินแรงค์แอล* ต่อ *เงินโอพีจี* น้อยที่สุดคือ 0.59 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์สร้างกระดูกที่ไม่ได้ถูกกระตุ้น จึงเลือกศึกษาที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง และทดสอบในสารทดสอบ 2 ชนิดโดยใช้ความเข้มข้นของส่วนสกัดเซลล์แตกของเชื้อความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรผสมกับสารสกัดจากใบข่อยเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเพื่อศึกษากับเซลล์สร้างกระดูกของอาสาสมัครทั้ง 4 คนต่อไป

เมื่อเซลล์สร้างกระดูกของอาสาสมัครทั้ง 4 คนได้รับการกระตุ้นด้วยส่วนสกัดเซลล์แตกของเชื้อ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในเซลล์จากอาสาสมัครส่วนใหญ่พบว่าการแสดงออกของ *เงินแรงค์แอล* เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่มีการแสดงออกลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเพียง 1 คน ซึ่งแนวโน้มการแสดงออกของ *เงินแรงค์แอล* ที่เพิ่มขึ้นสอดคล้องกับหลายการศึกษาก่อนหน้านี้ ในขณะที่ *เงินโอพีจี* มีการแสดงออกลดลงเมื่อสัมผัสส่วนสกัดเซลล์แตกของเชื้อในอาสาสมัครส่วนใหญ่เช่นกัน เมื่อเซลล์สร้างกระดูกของอาสาสมัครทั้ง 4 คนสัมผัสสารสกัดจากใบข่อยเป็นเวลา 24 ชั่วโมงพบการแสดงออกของ *เงินแรงค์แอล* และ *เงินโอพีจี* มีค่าใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมที่เป็นเซลล์สร้างกระดูกซึ่งไม่ถูกกระตุ้น รวมถึงสัดส่วนการแสดงออกของ *เงินแรงค์แอล* ต่อ *เงินโอพีจี* ก็ให้ผลใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมที่เป็นเซลล์สร้างกระดูกเช่นกัน นั่นคือสารสกัดจากใบข่อยไม่ได้มีผลต่อการแสดงออกของเงินทั้งสอง

เมื่อเซลล์สร้างกระดูกของอาสาสมัครทั้ง 4 คนสัมผัสสารทดสอบ 2 ชนิดโดยใช้ความเข้มข้นของส่วนสกัดเซลล์แตกของเชื้อ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรผสมกับสารสกัดจากใบข่อยเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าการแสดงออกของ *เงินแรงค์แอล* เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมในอาสาสมัครทั้ง 3 คน ส่วนอีก 1 คน มีการแสดงออกใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม ส่วนการแสดงออกของ *เงินโอพีจี* มีความแปรปรวนมากกว่า โดยพบว่าเซลล์จากอาสาสมัคร 2 คน มีการแสดงออกของ *เงินโอพีจี* ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม มี 1 คนที่มีการแสดงออกของเงินเท่าเดิม และอีก 1 คนมีการแสดงออกเพิ่มขึ้น เมื่อพิจารณาสัดส่วนการแสดงออกของ *เงินแรงค์แอล* ต่อ *เงินโอพีจี* พบว่าเซลล์สร้างกระดูกจากอาสาสมัคร 3 ใน 4 คน มีค่าสัดส่วนเพิ่มสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่เป็นเซลล์สร้างกระดูกซึ่งไม่ถูกกระตุ้นและเพิ่มสูงกว่ากลุ่มเซลล์สร้างกระดูกที่ถูกกระตุ้นด้วยส่วนสกัดเซลล์แตกของเชื้อ ส่วนอีก 1 คน มีค่าสัดส่วนลดลง จะเห็นว่ารูปแบบการแสดงออกของ *เงินแรงค์แอล* *เงินโอพีจี* และสัดส่วนการแสดงออกของ *เงินแรงค์แอล* ต่อ

จีน โอพีจี ในอาสาสมัคร 3 คน มีรูปแบบเหมือนกันแต่อีก 1 คนจะแตกต่างที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากการตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นในแต่ละคนไม่เหมือนกัน

เป็นที่ทราบกันอย่างแพร่หลายว่าการสร้างหรือการละลายกระดูก จะขึ้นกับสัดส่วนการส่งออกของ จินแรงค์แอลต่อจีน โอพีจี ซึ่งสัดส่วนการส่งออกของจินดังกล่าวจะเพิ่มขึ้นเมื่อเซลล์สร้างกระดูกสัมผัส สารทดสอบทั้ง 2 ชนิด แต่ก็ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าสารสกัดจากใบข่อยมีผลละลายกระดูก เนื่องจากการส่งออกของจินแรงค์แอลของเซลล์สร้างกระดูกจะส่งผลให้ให้เกิดการละลายของกระดูกทางอ้อม แต่ถ้า แมกโคฟาจที่ถูกกระตุ้น ไปจับกับที ลิมโฟไซต์ทำให้ที ลิมโฟไซต์มีการส่งออกของจินแรงค์แอล จะส่งผลให้ให้เกิดการละลายของกระดูกโดยตรง จึงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม ทั้งนี้การศึกษานี้ทดลองในเซลล์ ซึ่งเป็นผลเพียงด้านหนึ่งที่เกิดขึ้นจากเซลล์เพียงชนิดเดียวที่ถูกเลี้ยงในภาวะแวดล้อมจำลอง ในขณะที่ในสิ่งมีชีวิตมีเนื้อเยื่อชนิดต่างๆ ทำงานร่วมกัน ดังนั้นการแปลผลการทดสอบที่ได้จากการเลี้ยงเซลล์จึงมีข้อจำกัด โดยเฉพาะการปรับใช้ผลในทางคลินิก