

บทคัดย่อ

ข้อมูลทางระบาดวิทยาในอดีตเสนอว่าโรคปริทันต์อักเสบมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด แต่อย่างไรก็ตามยังขาดข้อสรุปที่ชัดเจน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากลักษณะการศึกษาส่วนใหญ่ที่ผ่านมาเป็นการศึกษา ณ เวลาหนึ่ง และการตรวจวัดสภาวะปริทันต์ที่ไม่ละเอียด หรือความแตกต่างของเชื้อชาติ และถิ่นที่อยู่ของกลุ่มตัวอย่าง รวมทั้งขาดข้อมูลเกี่ยวกับกลไกที่เชื่อมโยงโรคทั้งสอง เช่น บทบาทของเชื้อก่อโรคปริทันต์อักเสบ และบทบาทของระบบภูมิคุ้มกันอินเนตและอะแดปทีฟของเซลล์หลอดเลือด แผนงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของโรคปริทันต์อักเสบ และโรคหัวใจและหลอดเลือดอย่างมีระบบ ผลงานวิจัยปีที่ 1 ของแผนงาน 3 ปีนำมารายงาน ผลการศึกษาระยะยาวสภาวะของโรคปริทันต์ต่อการเกิดอุบัติการณ์ของโรคหัวใจและหลอดเลือดในกลุ่มตัวอย่าง (อายุ 50 – 73 ปี) ของพนักงานการไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย พบว่า เมื่อเริ่มต้นการสำรวจพบคนเป็นโรคปริทันต์อักเสบ 1,684 คน จากทั้งหมด 2,005 คน (ร้อยละ 84) และ 5 ปีต่อมาพบอุบัติการณ์ของโรคหัวใจและหลอดเลือด 146 คน (ร้อยละ 7) การวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นพบว่าแนวโน้มของการเกิดอุบัติการณ์ของโรคหลอดเลือดหัวใจตีบตันสูงขึ้นในกลุ่มตัวอย่างที่มีระดับความรุนแรงของโรคปริทันต์อักเสบมากขึ้นตามลำดับ (p trend = 0.057) โดยพบว่าในกลุ่มตัวอย่างที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบระดับปานกลางถึงรุนแรงเกิดอุบัติการณ์ของโรคหลอดเลือดหัวใจตีบตันมากกว่ากลุ่มที่ไม่เป็นหรือเป็นโรคปริทันต์อักเสบในระดับน้อยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.035$) (Pearson chi-square test) ตัวอย่างคราบจุลินทรีย์ใต้เหงือกของกลุ่มตัวอย่าง (อายุ 35 – 59 ปี) ของพนักงานการไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย นำมาวิเคราะห์เบื้องต้นเพื่อตรวจปริมาณเชื้อก่อโรคปริทันต์ 3 ชนิด (*Porphyromonas gingivalis*, Pg; *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, Aa; *Tannerella forsythia*, Tf) จาก 500 ตัวอย่างโดยวิธีเรียลไทม์พีซีอาร์ พบว่าตรวจพบ Aa ร้อยละ 43, Pg ร้อยละ 76, Tf ร้อยละ 96 เมื่อทำการวิเคราะห์ถดถอยโลจิสติกพบว่าคนที่มีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคปริทันต์อักเสบ 2.2 เท่า และคนที่มีความเสี่ยง 6.7 เท่า แต่คนที่มีความเสี่ยง ไม่พบว่าการเพิ่มความเสี่ยง สำหรับการหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อก่อโรคปริทันต์อักเสบและโรคหัวใจและหลอดเลือด ยังไม่สามารถทำได้ ในปีแรกเนื่องจากมีจำนวนของอุบัติการณ์ของโรคหัวใจและหลอดเลือดน้อยเกินกว่าที่จะวิเคราะห์ได้ คาดว่าภายหลัง 2 ปีจากข้อมูลกลุ่มตัวอย่างที่เพิ่มมากขึ้นจะพอเพียงในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ การตรวจหาเชื้อก่อโรคปริทันต์อักเสบ (Aa, Pg, Tf) จากชิ้นเนื้อผนังหลอดเลือด aorta, radial และ internal mammary artery ในผู้ป่วย acute coronary artery syndrome 2 ราย โดยวิธี RT-PCR ไม่พบเชื้อทั้ง 3 การตรวจไม่พบเชื้อเหล่านั้นจึงขอยุติการศึกษาการตรวจหาเชื้อก่อโรคปริทันต์ในหลอดเลือด ขบวนการอักเสบในรอยโรคหลอดเลือดแดงแข็งเป็นผลของการกระตุ้นในระบบภูมิคุ้มกันอินเนตและอะแดปทีฟอย่างต่อเนื่องและมากมาย ซึ่ง human coronary artery endothelial cells (HCAEC) และ human coronary artery smooth muscle cells (HCASMC) เป็นเซลล์ของผนังหลอดเลือดหัวใจที่มีโอกาสที่จะ expose กับ ปัจจัยเสี่ยงต่างๆ เช่น dental plaque bacteria, cholesterol และ smoking และเป็นเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันอินเนตที่มีความสำคัญ คณะผู้วิจัยได้รายงานผลการทดลองเบื้องต้นแสดงให้เห็นว่า HCAEC และ HCASMC มีการ

แสดงออกของ Toll-like receptor หลายชนิด ซึ่ง TLR เป็น innate immune receptor ที่สำคัญในการรับรู้และตอบสนองต่อ infection *P.gingivalis* LPS สามารถกระตุ้น HCAEC ให้ผลิต cytokine IL-8 และ MCP-1 ซึ่งมีความสำคัญในการ recruit และ activate immune cells นอกจากนี้คณะผู้วิจัยแสดงให้เห็นว่า cholesterol และ smoking สามารถกระตุ้น HCAEC ให้ผลิต IL-8 ได้เช่นกัน สำหรับการศึกษาบทบาท T cells ใน atherosclerosis ข้อมูลเบื้องต้นตรวจไม่พบ T cells ที่มีความจำเพาะต่อ human heat shock protein และ OxLDL ในผู้ป่วย acute coronary artery syndrome 2 รายและไม่พบ T cells ที่มีความจำเพาะต่อ *P.gingivalis* GroEL ในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบ 2 ราย เนื่องจาก *P.gingivalis* GroEL เป็น short peptide คณะผู้วิจัยจะใช้โปรตีนของ PgGroEL แทน peptide ในการกระตุ้น T cells ในการทดลองครั้งต่อไป และจะเพิ่มจำนวนผู้ป่วยที่จะศึกษา จะเห็นได้ว่าผลเบื้องต้นของแผนงานวิจัยนั้น พบความสัมพันธ์ของโรคปริทันต์อักเสบและโรคหัวใจและหลอดเลือดจากการศึกษาระบาดวิทยาระยะยาว ดังนั้นการทำโครงการต่อไปในปีที่ 2 จึงมีความจำเป็นเพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลรายละเอียดและการวิเคราะห์ที่แม่นยำและชัดเจนอย่างมีระบบ เพื่อยืนยันถึงความสัมพันธ์ระหว่างโรคปริทันต์อักเสบและโรคหัวใจและหลอดเลือด

Abstract

Epidemiology data has suggested association between periodontitis and cardiovascular disease. However, it remains inconclusive and needs further investigations. Most of previous studies were cross-sectional with crude and different in defining periodontal status. Studied population were from different races and geography. In addition, underlying disease mechanisms that link between periodontitis and cardiovascular diseases are still lacking. This may include the innate and adaptive immunity against infectious agents and the role of periodontal key pathogens. Our three year research plan aims to systemically investigate the link between the two diseases. During the first year, longitudinal study of periodontal status and incidence of cardiovascular diseases in EGAT workers (age50-73), were analyzed. From total of 2005 workers, 1,684 (84%) had periodontitis. Five years followed up, 146 (7%) had incidence of cardiovascular disease. Our preliminary data analysis demonstrated that the incidence tended to increase in subjects with more severity of periodontal disease (p trend =0.057). The result showed that moderate to severe periodontitis had more significant incidence of cardiovascular disease than no or mild periodontitis group ($p=0.035$) (Pearson chi-square test). 500 subgingival plaque samples were collected from different EGAT worker group (age35-59) for investigating association between key periodontal pathogens (*Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa), *Porphyromonas gingivalis* (Pg) and *Tannerella forsythia* (Tf)), and cardiovascular disease. One hundred and eighty three subjects (37%) had periodontitis. Realtime PCR analysis revealed that Aa, Pg, and Tf were found 43%, 76%, and 97% of this study group, respectively. By using logistic regression analysis, persons with Aa were 2,2 times more likely to have peroidontitis,

persons with Pg were 6.7, whereas no significant association was observed between Tf and periodontal status. The association between these 3 key periodontal pathogens and cardiovascular disease could not be evaluated from the first year data because the number of subjects with cardiovascular events was too low for statistical analysis. Proper analysis may be carried out after the second year project when appropriate numbers of studied samples and events are reached. In addition, we investigated the presence of Pg, Aa, and Tf in artery walls (aorta, radial artery and internal mammary artery) from two patients with severe coronary artery syndrome by RT-PCR. None of these bacteria were present. This may be due to limitation to access atherosclerotic coronary artery, therefore the studied vessels were not true representatives for our study. Regarding disease mechanisms that link between periodontitis and atherosclerosis, we hypothesized that the innate response of human coronary artery endothelial cells (HCAEC) and human coronary artery smooth muscle cells (HCASMC) to infectious agents via Toll-like receptors (TLRs) may be responsible for vascular inflammation and damage. Here we demonstrated that both cell types expressed a variety of TLRs and upon TLR ligation, these cells produced chemokines, IL-8 and MCP-1 and expressed adhesion molecules, suggesting their role in innate immune response in atherosclerosis. Role of T cells specific to endogenous agents such as human heat shock proteins (hHSP) and oxidized LDL (OxLDL) and cross reactive T cells such as T cells specific to *P. gingivalis* GroEL (HSP of *P.gingivalis*) have been suggested to be involved in atherosclerosis. We established an *in vitro* model of antigen specific T cell culture and measured the frequency of such T cells using intracellular cytokine staining. The synthetic peptide of *P. gingivalis* GroEL did not stimulate PBMC derived from 2 severe periodontitis patients (one patient had *P.gingivalis* in plaque sample). This may be to the limited T cell epitopes of the synthetic peptides. The protein preparation of *P. gingivalis* GroEL for PBMC stimulation will be further obtained from University of Otago, New Zealand. OxLDL and hHSP were ordered. Next year we will establish the T cells specific to protein of PgGroEL, OxLDL and hHSP and measured then frequency for comparison between the groups of atherosclerosis patients and normal control subjects. Overall, the association between periodontitis and atherosclerosis was observed, it is necessary to continue research in the second year to obtain more samples, precise and concrete data for systematically analysis to confirm the relationship between periodontitis and cardiovascular disease.

คำสำคัญ (Key words)

โรคปริทันต์ (Periodontal disease), โรคหัวใจและหลอดเลือด (Cardiovascular disease), เชื้อที่ก่อให้เกิด
โรคปริทันต์อักเสบ (Periodontal pathogens), ระบบภูมิคุ้มกัน innate (Innate Immunity), ระบาดวิทยา
(Epidemiology)