

แบบสรุปผู้บริหาร
(Executive Summary)

1. รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัย / แผนงานวิจัย

1.1 ชื่อเรื่อง

(ภาษาไทย) โรคปริทันต์และโรคหัวใจและหลอดเลือด
(ภาษาอังกฤษ) Periodontal Disease and Cardiovascular Disease

1.2 ชื่อคณะผู้วิจัย

ผู้อำนวยการแผนงาน

รศ.ทญ.ดร.รังสิณี มหานนท์ ภาควิชาปริทันตวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
โทรศัพท์ 0-2218-8861-2 โทรสาร 0-2218-8861

ผู้ร่วมงานวิจัย

ผศ.ทญ.อรอนงค์ วนิชจักรวงศ์ ภาควิชาปริทันตวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทรศัพท์ 0-2218-8850 โทรสาร 0-2218-8851

รศ.ทญ.นวลณี หงษ์ประสงค์ ภาควิชาปริทันตวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทรศัพท์ 0-2218-8850 โทรสาร 0-2218-8851

ผศ.ทญ.สุวภา ประภาภมร ภาควิชาปริทันตวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทรศัพท์ 0-2218-8850 โทรสาร 0-2218-8851

ผศ.ทพ.ถิรพัฒน์ เปรมศิริรัตนันตร์ ภาควิชาปริทันตวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทรศัพท์ 0-2218-8850 โทรสาร 0-2218-8851

ผศ.ทพ.สุพจน์ ตามสายลม ภาควิชาปริทันตวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทรศัพท์ 0-2218-8850 โทรสาร 0-2218-8851

ผศ.ทญ.อรรวรรณ จรัสกลางกูร ภาควิชาปริทันตวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทรศัพท์ 0-2218-8850 โทรสาร 0-2218-8851

อ.ทพ.ขจร กังสดาลพิภพ ภาควิชาปริทันตวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทรศัพท์ 0-2218-8850 โทรสาร 0-2218-8851

อ.ทญ.วิทิศา คงศักดิ์ ภาควิชาปริทันตวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทรศัพท์ 0-2218-8850 โทรสาร 0-2218-8851

อ.ทญ.ดร.จันทร์กรร เจ่มไพบูลย์ ภาควิชาปริทันตวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทรศัพท์ 0-2218-8850 โทรสาร 0-2218-8851

รศ.ทพ.ดร.กิตติ ต.รุ่งเรือง ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โทรศัพท์ 0-2218-8680 โทรสาร 0-2218-8680

อ.ทพญ. พรณวดี พันธุ์ ภาควิชาปริทันตวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

โทรศัพท์: 053-944467

ศ.นพ.รัชตะ รัชตะนาวัน ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี โทรศัพท์

0-2201-1714 โทรสาร 0-2201-1715

ศ.นพ.ปิยะมิตร ศรีธรา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี โทรศัพท์

0-2201-1617 โทรสาร 0-2201-1668

อ.นพ.สุกิจ เข้มวงษ์ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี โทรศัพท์

0-2201-1617 โทรสาร 0-2201-1668

ผศ.นพ.สุชาติ ไชยโรจน์ ภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี โทรศัพท์

0-2201-1617 โทรสาร 0-2201-1668

อ.นพ.ปริญญ์ สาธกกิจ ภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี โทรศัพท์

0-2201-1617 โทรสาร 0-2201-1668

พญ.นงนุช อังกรานันท์ การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย ฝ่ายการแพทย์และอนามัย การไฟฟ้า

ฝ่ายผลิต บางกรวย นนทบุรี โทรศัพท์ 0-2436-5816

1.3 งบประมาณและระยะเวลาทำวิจัย

ได้รับงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2553 งบประมาณที่ได้รับ 2,906,800 บาท

ระยะเวลาดำเนินการวิจัย 17 เดือน ตั้งแต่ 29 ตุลาคม 2553 ถึง มีนาคม 2555

2. สรุปโครงการวิจัย

ข้อมูลทางระบาดวิทยาที่ผ่านมาเสนอว่าโรคปริทันต์อักเสบมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด แต่อย่างไรก็ตามยังขาดข้อสรุปที่ชัดเจน โครงการวิจัยชุดนี้เป็นการทำงานต่อเนื่อง 2 ปี มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของโรคปริทันต์อักเสบและโรคหัวใจและหลอดเลือดอย่างมีระบบ และมีวัตถุประสงค์จำเพาะ ดังนี้

1. ศึกษาทางระบาดวิทยาในระยะยาว สภาวะปริทันต์ในพนักงานการไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโรคปริทันต์อักเสบกับโรคหัวใจและหลอดเลือด

2. ศึกษาปริมาณความชุกของเชื้อก่อโรคปริทันต์อักเสบ (*Porphyromonas gingivalis*, Pg; *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, Aa; *Tannerella forsythia*, Tf) ในคราบจุลินทรีย์ของพนักงานการไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย โดยวิธีเรียลไทม์พีซีอาร์ (real-time PCR) และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเชื่อดังกล่าวกับการเกิดโรคปริทันต์ การเสียชีวิต และการเจ็บป่วยจากโรคหัวใจและหลอดเลือด

3. ศึกษาบทบาทของ inflammasome activation และ Toll-like receptor activation ในระบบภูมิคุ้มกันอินเนตของเซลล์เยื่อบุหลอดเลือดแดงมนุษย์

4. ศึกษาผลกระทบของบูห์รีที่มีต่อ inflammasome activation ของเซลล์เยื่อบุหลอดเลือดแดงมนุษย์

5. ศึกษาบทบาทของ T cells ใน atherosclerosis โดยวัดความถี่ของ antigen specific T cells ในเลือดของผู้ป่วย acute coronary artery syndrome กับ ผู้ที่มีหลอดเลือดหัวใจปกติ

จากการวิเคราะห์โรคทั้งสองอย่างมีลักษณะ และติดตามการสำรวจในกลุ่มตัวอย่าง EGAT จำนวน 2,005 คน เวลา 5 ปี พบว่ากลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่ ร้อยละ 66.3 มีการลุกลามของโรคปริทันต์อักเสบ ในขณะที่อุบัติการณ์ของโรคหัวใจและหลอดเลือดพบเพียงร้อยละ 2.6 ในช่วงเวลา 5 ปี จากการวิเคราะห์โดยสถิติ Pearson chi-square test, Binary logistic regression และ Survival analysis ไม่พบความสัมพันธ์ของโรคปริทันต์อักเสบ ณ จุดเริ่มต้นและอุบัติการณ์ของโรคหัวใจและหลอดเลือดในช่วง 5 ปี และเมื่อติดตามต่อไปในปีที่ 7 จากข้อมูลแบบสอบถามซึ่งมีข้อด้อยในแง่ความเที่ยงตรง ข้อมูลล่าสุดในปีที่ 7 พบการเพิ่มขึ้นของอุบัติการณ์โรคหัวใจและหลอดเลือดเป็นร้อยละ 4.6 ถึงแม้จะมีแนวโน้มของค่าสถิติในแง่ความสัมพันธ์ของโรคทั้งสองมากขึ้น แต่ก็ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นการติดตามอุบัติการณ์ของโรคต่อไปในปีที่ 10 (พ.ศ.2555) นี้จะนำไปสู่ข้อสรุปที่ชัดเจน

จากการวิเคราะห์เชื้อก่อโรคปริทันต์จากคราบจุลินทรีย์ใต้เหงือกในกลุ่มตัวอย่าง EGAT โดยใช้วิธี Realtime PCR และนำมาทำ ROC curve analysis พบว่าปริมาณ Pg สามารถบอกการมีโรคปริทันต์อักเสบได้ดีที่สุด และเมื่อทำการวิเคราะห์ถดถอยโลจิสติก โดยปรับค่าตัวแปรรบกวนต่างๆ ได้แก่ อายุ เพศ การสูบบุหรี่ และโรคเบาหวาน พบว่าคนที่พบเชื้อ Pg จะมีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคปริทันต์อักเสบเป็น 6.0 เท่า ขณะที่การตรวจพบเชื้อ Aa และ Tf จะเพิ่มความเสี่ยงเป็น 3.2 เท่า และ 3.5 เท่า ตามลำดับ เมื่อทำการวิเคราะห์ถดถอยโลจิสติก จากข้อมูลระดับชาติเบื้องต้น ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างเชื้อก่อโรคปริทันต์กับการเป็นโรคหัวใจและหลอดเลือด ดังนั้นการศึกษาระยะยาวจะช่วยให้ได้ข้อสรุปที่ชัดเจนมากขึ้น

จากการศึกษาในหลอดทดลองเกี่ยวกับบทบาทของปัจจัยเสี่ยงต่างๆของโรคหัวใจและหลอดเลือด เช่น เชื้อก่อโรคปริทันต์ cholesterol และบูห์รี ที่มีต่อ inflammatory response ของ HCAEC ซึ่งนำไปสู่การผลิต mediators หรือ cytokines นั้น ผลการวิเคราะห์ HCAEC พบว่าเซลล์ชนิดนี้มีการแสดงออกของ Toll-like receptors (TLRs) หลากหลายชนิดซึ่งเป็น innate immune receptor ที่สำคัญในการตอบสนองต่อเชื้อโรค เมื่อกระตุ้น HCAEC ผ่านทาง TLR เช่น กระตุ้นด้วย Pg LPS พบว่า HCAEC ผลิต IL-8 และ MCP-1 ซึ่งมีความสำคัญในการ recruit และ activate immune cells นอกจากนี้ cholesterol และ cigarette smoke extract ก็สามารถกระตุ้นการผลิต IL-8 ได้เช่นกัน นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษากการกระตุ้น HCAEC ผ่านทาง inflammasome โดยใช้ Pg LPS หรือ prototype: *Escherichia coli* LPS เป็น signal ที่ 1 และใช้ cholesterol crystals หรือ prototype: Adenosine 5'-triphosphate disodium salt (ATP) เป็น signal ที่ 2 ผู้วิจัยไม่พบการผลิต IL-1 β ซึ่งเป็น product ของ inflammasome activation ในขณะที่เดียวกันการกระตุ้นดังกล่าวนำไปสู่การ

ผลิต IL-8 จาก HCAEC และใน system นี้สามารถกระตุ้น control cell : THP-1 macrophage ให้ผลิต IL-1 β ในระดับสูงได้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงคิดว่า IL-1 β ที่ตรวจพบเป็นปริมาณสูงในรอยโรค atherosclerosis นั้นไม่น่าจะมีผลมาจาก inflammasome activation ของ HCAEC แต่อาจสืบเนื่องจากกลไกของ inflammasome activation ของเซลล์อื่น เช่น macrophage ซึ่งในปัจจุบันยังขาดข้อมูลใน primary human macrophage ที่ induce โดย Pg LPS และ cholesterol crystals จึงควรมีการศึกษาต่อไป

การศึกษายาทบทางของ T cells ใน atherosclerosis นั้นไม่ควรทำการทดลองต่อไป เมื่อกลุ่มผู้วิจัยพบว่า synthetic peptide ของ *P. gingivalis* GroEL จาก commercial source ไม่สามารถกระตุ้น peripheral blood mononuclear cell (PBMC) ในผู้ป่วย acute coronary artery syndrome 3 ราย ผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบ 2 ราย และผู้ป่วยที่มีหลอดเลือดปกติ 1 ราย รวมทั้งตัวกระตุ้นอื่น คือ human heat shock protein 60 และ oxidized LDL ก็ไม่สามารถกระตุ้น T cells ได้ ในขณะที่ positive control antigen คือ Staphylococcal enterotoxin B (SEB) สามารถกระตุ้น PBMC ให้ผลิต intracellular cytokine IFN- γ และ IL-2 ได้อย่างชัดเจน

จะเห็นได้ว่าผลงานวิจัย 2 ปี ของโครงการวิจัยชุดนั้นยังไม่สามารถสรุปผลอย่างชัดเจนได้ถึงแม้ว่าการศึกษาระบาดวิทยาระยะยาว 5 ปีจะไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างโรคปริทันต์อักเสบและโรคหัวใจและหลอดเลือด ดังที่กล่าวข้างต้นว่าระยะเวลาสำรวจอาจจะสั้นเกินไป ซึ่งโดยทั่วไปจะใช้เวลาติดตามการสำรวจประมาณ 10-20 ปี และในกลุ่มประชากรจำนวนมาก รวมทั้งกลุ่มประชากรในระดับอายุต่าง ๆ กัน ดังนั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมอย่างต่อเนื่อง ส่วนข้อมูลระบาดวิทยาของเชื้อก่อโรคปริทันต์ในคราบจุลินทรีย์ได้เหียงนั้นเป็นข้อมูลที่ได้จากตัวอย่างขนาดใหญ่ที่ยังไม่เคยมีรายงาน และใช้เทคนิคที่ sensitive และ standard ผลงานวิจัยให้องค์ความรู้ใหม่อย่างเด่นชัดของบทบาทเชื้อทั้ง 3 ชนิดในโรคปริทันต์อักเสบในกลุ่มตัวอย่างของประชากรไทย หากแต่อย่างขาดข้อมูลที่ชัดเจนของอุบัติการณ์โรคหัวใจและหลอดเลือดเพื่อนำมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของโรคทั้งสอง นอกจากนี้ยังเป็นที่น่าคิดว่ายังมีเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นๆ นอกเหนือจาก Pg, Aa และ Tf เช่น *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola* ที่ยังขาดการศึกษา ในงานวิจัยทางด้านระบบภูมิคุ้มกันอันเนตของเซลล์เยื่อหลอดเลือดมนุษย์บ่งชี้ว่า เซลล์ชนิดนี้ไม่สามารถถูกกระตุ้นผ่านทาง inflammasome activation ด้วยเชื้อก่อโรคปริทันต์อักเสบ *P. gingivalis* LPS และ cholesterol crystal แต่ในขณะเดียวกันเซลล์ชนิดนี้ยังคงถูกกระตุ้นผ่านทาง Toll-like receptor ได้ สารสื่ออักเสบชนิดที่สำคัญซึ่งเป็นผลผลิตจากการกระตุ้นผ่านทาง inflammasome คือ IL-1 β สามารถพบเป็นปริมาณมากใน human atherosclerotic lesion นั้นไม่น่าจะเป็นผลมาจากการกระตุ้นผ่านทาง inflammasome ของเซลล์เยื่อหลอดเลือดมนุษย์ แต่มาจากเซลล์ชนิดอื่น เช่น macrophage กลุ่มผู้วิจัยได้ establish model ของ inflammasome activation ใน human immortalized cell lines คือ THP-1 macrophage ได้สำเร็จ และเริ่มพัฒนาการเลี้ยงใน human primary macrophage ชนิด M1 และ M2 พร้อมทั้งจะเจาะลึกถึงบทบาทของ subpopulation M1 และ M2 ในแง่ inflammasome activation โดยเชื้อก่อโรคปริทันต์อักเสบ และ cholesterol

crystals ซึ่งน่าจะเป็นกลไกสำคัญในการเชื่อมโยงโรคปริทันต์อักเสบและโรคหัวใจและหลอดเลือด และยังขาดการศึกษาวิจัย

ประโยชน์ที่ได้รับ คือการสร้างฐานข้อมูลที่ละเอียดและถูกต้องทางด้านสภาวะปริทันต์และเชื้อก่อโรคปริทันต์อักเสบ รวมทั้งการเจ็บป่วยและการเสียชีวิตจากโรคหัวใจและหลอดเลือดในกลุ่มประชากรไทย ซึ่งข้อมูลสำคัญนี้เป็นประโยชน์ต่อกระทรวงสาธารณสุข และเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อศึกษาในระยะยาวถึงความสัมพันธ์ระหว่างโรคปริทันต์อักเสบกับโรคหัวใจและหลอดเลือด รวมทั้งสร้างองค์ความรู้ใหม่เกี่ยวกับบทบาทของโรคปริทันต์อักเสบที่มีต่อโรคหัวใจและหลอดเลือด ความรู้ความเข้าใจที่ได้มีการเผยแพร่ผลงานวิจัยในงานประชุมเสนอผลงานโครงการวิจัยระยะยาวถึงอิทธิพลของปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจหลอดเลือดและเมแทบอลิซึมในพนักงานการไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทยเรื่อง “EGAT กับงานปริทันต์ (Periodontal research in EGAT) Epidemiology Microbiology & Immunology ผศ.ทญ.อรรณณ จรัสกุลกูร, ผศ.ทพ.ดร.กิตติ ต.รุ่งเรือง, อ.ทญ.ดร.จันทร์กร แจ่มไพบูลย์” วันที่ 15 ธันวาคม 2553

ทางคณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า โครงการวิจัยนี้จะให้ข้อมูลที่สำคัญต่อการกระทรวงสาธารณสุขทางด้านสภาวะปริทันต์ในประชากรไทย แล้วยังทำให้ทราบว่าโรคปริทันต์และโรคหลอดเลือดและหัวใจมีความสัมพันธ์กันหรือไม่ ซึ่งถ้าหากผลกระทบนี้ได้รับการวิจัยและยืนยันอย่างมีระบบ การควบคุมการติดเชื้อจากโรคปริทันต์อักเสบก็จะนำไปสู่การป้องกันหรือยับยั้งการเกิดหรือความรุนแรงของโรคหลอดเลือดและหัวใจอย่างมีประสิทธิภาพ และมีประโยชน์อย่างมากต่อกิจกรรม การป้องกัน การรักษา และส่งเสริมสุขภาพของประชาชน

3. บทคัดย่อภาษาไทยและบทคัดย่อภาษาอังกฤษ (Abstract)

บทคัดย่อ

จากการวิเคราะห์โรคทั้งสองอย่างมีหลักเกณฑ์ และติดตามการสำรวจในกลุ่มตัวอย่าง EGAT เวลา 5 ปี พบว่ากลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่ ร้อยละ 66.3 มีการลุกลามของโรคปริทันต์อักเสบ ในขณะที่อุบัติการณ์ของโรคหัวใจและหลอดเลือดพบเพียงร้อยละ 2.6 ในช่วงเวลา 5 ปี จากการวิเคราะห์โดยสถิติ Pearson chi-square test, Binary logistic regression และ Survival analysis ไม่พบความสัมพันธ์ของโรคปริทันต์อักเสบ ณ จุดเริ่มต้นและอุบัติการณ์ของโรคหัวใจและหลอดเลือดในช่วง 5 ปี และ ข้อมูลล่าสุดในปีที่ 7 ด้วยการสัมภาษณ์ซักประวัติทางโทรศัพท์และการส่งแบบสอบถาม แสดงการเพิ่มขึ้นของอุบัติการณ์โรคหัวใจและหลอดเลือดเป็นร้อยละ 4.6 ถึงแม้จะมีแนวโน้มของความสัมพันธ์ของโรคทั้งสอง แต่ก็ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นการติดตามอุบัติการณ์ของโรคต่อไปในปีที่ 10 (พ.ศ.2555) นี้จะนำไปสู่ข้อสรุปที่ชัดเจน

จากการวิเคราะห์เชื้อก่อโรคปริทันต์จากคราบจุลินทรีย์ได้เหือกในกลุ่มตัวอย่าง EGAT โดยใช้วิธี Realtime PCR และนำมาทำ ROC curve analysis พบว่าปริมาณ Pg สามารถบอกการมีโรคปริทันต์อักเสบได้ดีที่สุด และเมื่อทำการวิเคราะห์ถดถอยโลจิสติก โดยปรับค่าตัวแปรรบกวนต่างๆ ได้แก่ อายุ เพศ การสูบบุหรี่ และโรคเบาหวาน พบว่าคนที่พบเชื้อ Pg จะมีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคปริทันต์อักเสบเป็น 6.0 เท่า

ขณะที่การตรวจพบเชื้อ Aa และ Tf จะเพิ่มความถี่เป็น 3.2 เท่า และ 3.5 เท่า ตามลำดับ เมื่อทำการวิเคราะห์หัตถดอยโลจิสติก จากข้อมูลระดับวิทยาเบื้องต้น ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างเชื้อก่อโรคปริทันต์กับการเป็นโรคหัวใจและหลอดเลือด ดังนั้นการศึกษาระยะยาวจะช่วยให้ได้ข้อสรุปที่ชัดเจนมากขึ้น

จากการศึกษาในหลอดทดลองเกี่ยวกับปัจจัยเสี่ยงต่างๆของโรคหัวใจและหลอดเลือด เช่น เชื้อก่อโรคปริทันต์ cholesterol และบุหรี่ ใน inflammatory response ของ HCAEC ซึ่งนำไปสู่การผลิต mediators หรือ cytokine นั้น ผลการวิเคราะห์ HCAEC พบว่าเซลล์ชนิดนี้มีการแสดงออกของ Toll-like receptors (TLRs) หลากหลายชนิดซึ่งเป็น innate immune receptor ที่สำคัญในการตอบสนองต่อเชื้อโรค เพื่อกระตุ้น HCAEC ผ่านทาง TLR เช่น กระตุ้นด้วย Pg LPS พบว่า HCAEC ผลิต IL-8 และ MCP-1 ซึ่งมีความสำคัญในการ recruit และ activate immune cells นอกจากนี้ cholesterol และ cigarette smoke extract ก็สามารถกระตุ้นการผลิต IL-8 ได้เช่นกัน นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษากการกระตุ้น HCAEC ผ่านทาง inflammasome โดยใช้ Pg LPS หรือ prototype: *Escherichia coli* LPS เป็น signal ที่ 1 และใช้ cholesterol crystals หรือ prototype: Adenosine 5'-triphosphate disodium salt (ATP) เป็น signal ที่ 2 ผู้วิจัยไม่พบการผลิต IL-1 β ซึ่งเป็น product ของ inflammasome activation ในขณะเดียวกันการกระตุ้นดังกล่าวนำไปสู่การผลิต IL-8 จาก HCAEC และใน system นี้สามารถกระตุ้น control cell : THP-1 macrophage ให้ผลิต IL-1 β ในระดับสูงได้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงคิดว่า IL-1 β ที่ตรวจพบเป็นปริมาณสูงในโรค atherosclerosis นั้นไม่น่าจะมีผลมาจาก inflammasome activation ของ HCAEC แต่อาจสืบเนื่องจากกลไกของ inflammasome activation ของเซลล์อื่น เช่น macrophage ซึ่งในปัจจุบันยังขาดข้อมูลใน primary human macrophage ที่ induce โดย Pg LPS และ cholesterol crystals จึงควรมีการศึกษาต่อไป

Abstract

Previous epidemiology data has suggested association between periodontitis and cardiovascular disease. However, it remains inconclusive and needs further investigations. Our two year-research aims to systemically investigate the link between the two diseases. The longitudinal study of periodontal status and incidence of cardiovascular diseases in the employees of the Electricity Generating Authority of Thailand (EGAT) workers was conducted. In addition, underlying disease mechanisms that link between the two diseases were investigated. These include the study of the role of periodontal key pathogens (*Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) and *Tannerella forsythia* (Tf) and the role of host immunity, of particular the innate immune response of human coronary artery endothelial cells (HCAEC).

Standard diagnosis of periodontal disease and cardiovascular disease was carried out in a 5 year survey in 2005 EGAT workers. Incidence of periodontal disease progression was 66.3% while 2.6% had incidence of cardiovascular disease during 5 years. No association was found between periodontitis and cardiovascular diseases as analysed by using Pearson chi-square test, Binary logistic regression and survival analysis. Additional 7 year- follow up data, which was acquired by questionnaires, interviews and medical records showed 4.6% with the incidence of cardiovascular disease. This increase of such incidence after 7 yr seems to indicate a trend towards the link between the two diseases, however the significant association was not found. Further analysis using a 10 year-follow up study of the cardiovascular disease in 2012 may be required to clarify this association.

Realtime RT-PCR analysis was used to quantitate three key periodontal pathogens from subgingival plaque of EGAT workers. ROC curve analysis showed the quantity of Pg was the best predictor for chronic periodontitis. After age, gender, smoking status and diabetes were adjusted for in logistic regression analysis, persons with Pg above the threshold level were 6.0 times more likely to have chronic periodontitis than persons having these microorganisms below the threshold level. The presence of Aa or Tf above the threshold level also represented significant risks of having chronic periodontitis with the odds ratio of 3.2 and 3.5, respectively. Using logistic regression analysis of crosssectional data, there was no significant association between these 3 microorganisms or chronic periodontitis and cardiovascular disease in this study population. Longitudinal study may be required to confirm the association.

In vitro study of human coronary artery endothelial cells (HCAEC) was carried out to investigate the inflammatory response of the cells to risk factors in cardiovascular disease, including key periodontal pathogens, cholesterol and smoking. HCAEC were found to express a variety of innate sensing receptors called Toll-like receptors. TLR activation is known to be critical for pathogen elimination. Pg LPS, a TLR2 ligand, activated HCAEC to produce IL-8 and MCP-1. Both of these cytokines are important for immune cell recruitment and activation. Like Pg LPS, cholesterol and cigarette smoke extract were shown to induce IL-8 from HCAEC. Besides TLR activation, the role of innate immune response via inflammasome activation in HCAEC was investigated. A key periodontal pathogen- Pg LPS or the prototype: *Escherichia coli* LPS were used as the first signal and cholesterol crystals or the prototype: Adenosine 5'-triphosphate disodium salt (ATP) were used as the second signal for inflammasome activation. No IL-1 β , an inflammasome product, was detected. However, under the same culture condition, high levels of IL-8 production were detected from activated HCAEC culture. THP-1 macrophages were used as positive control cells for inflammasome activation. Unlike HCAEC, these activated macrophages

secreted high levels of IL-1 β under the same culture system. It is known that high IL-1 β levels have been observed in human atherosclerotic lesion. The source of this cytokine is not likely to be derived from inflammasome activation in HCAEC but rather from other cell types such as activated tissue macrophage. Research into the ability of cholesterol crystals and Pg LPS in primary human macrophage is further required.