


ผลของเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ไพโลไร ต่อการเสื่อมของเซลล์เยื่อเมือช่องปาก: การศึกษาในห้องปฏิบัติการ



นางสาวรัชดาภรณ์ ศรีอีสาน

ศูนย์วิทยทรัพยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเวชศาสตร์ช่องปาก ภาควิชาเวชศาสตร์ช่องปาก

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-17-2042-4

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I20919335

EFFECT OF HELICOBACTER PYLORI ON DEGENERATIVE CHANGES OF ORAL EPITHELIUM  
: IN VITRO STUDY



Miss Ruchadaporn Sriesan

ศูนย์วิทยทรัพยากร

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science in Oral Medicine

Department of Oral Medicine

Faculty of Dentistry

Chulalongkorn University

Academic Year 2002

ISBN 974-974-17-2042-4

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ผลของเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลไร ต่อการเสื่อมของเซลล์เยื่อเมือกช่องปาก : การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

โดย

นางสาวรัชดาภรณ์ ศรีอิสาน

สาขาวิชา

เวชศาสตร์ช่องปาก

อาจารย์ที่ปรึกษา

รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ลัดดา เหลืองจามีกร

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ กิตติพงษ์ ดนุไทย


คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

  
..... คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์  
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ สุรสิทธิ์ เกียรติพงษ์สาร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
..... ประธานกรรมการ  
(ศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง กอบกาญจน์ ทองประสม)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ลัดดา เหลืองจามีกร)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ กิตติพงษ์ ดนุไทย)

  
..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ จินตกร คุ้มฉนวนสุชาติ)

  
..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ วรรณดี วีระประดิษฐ์)

รัชดาภรณ์ ศรีอิสาน: ผลของเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลไร ต่อการเสื่อมของเซลล์เยื่อบุผิว  
ช่องปาก: การศึกษาในห้องปฏิบัติการ (EFFECT OF HELICOBACTER PYLORI ON  
DEGENERATIVE CHANGES OF ORAL EPITHELIUM: IN VITRO STUDY)  
อ. ที่ปรึกษา : รศ.ทญ.ลัดดา เหลืองจามิกร , อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.ทพ.กิตติพงษ์ ดนุไทย  
87หน้า. ISBN 974-17-2042-4.

เฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลไร เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในโรกระบบทางเดินอาหาร โดยทำให้เกิดการอักเสบและการทำลายเยื่อบุผิวกระเพาะอาหาร มีรายงานการตรวจพบเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลไร ในช่องปากทั้งในครอบครัวในน้ำลายและที่แผลเยื่อเมือกช่องปาก รวมถึงความสัมพันธ์ของการติดเชื้อกับการเกิดแผลและการเปลี่ยนแปลงของเยื่อเมือกในช่องปากด้วย การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลไร ต่อการเสื่อมของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากที่ได้จากเนื้อเยื่อเหงือกปกติของมนุษย์ในห้องปฏิบัติการ โดยใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเหงือกพร้อมกับเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลไร ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ  $10^8$  CFU/ml เป็นระยะเวลา 6 และ 24 ชั่วโมง และศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน ในการศึกษาได้ใช้เชื้อเอสเคอริเชีย คอไลเป็นแบคทีเรียในกลุ่มเปรียบเทียบ ผลการศึกษาทั้งในระยะเวลา 6 และ 24 ชั่วโมง พบว่าไม่มีการแทรกซึมของเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลไร เข้าไปในเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากหรือเซลล์ไฟโบรบลาสต์ในส่วนของเนื้อเยื่อยึดต่อ แต่ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบการแทรกซึมของเชื้อเข้าไปอยู่ระหว่างเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากและส่วนเนื้อเยื่อยึดต่อ และเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากมีการเปลี่ยนแปลงไปในทางเสื่อมลงตั้งแต่ระยะเวลา 6 ชั่วโมงแรกและมีความรุนแรงมากขึ้นตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น โดยพบการเสื่อมสลายของนิวเคลียส การเกาะกลุ่มของโครมาติน การรวมตัวหนาแน่นขึ้นของโทโนฟิลาเมนต์ และการแยกตัวของเดสโมโซม สำหรับเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากในกลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อเอสเคอริเชีย คอไล ให้ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคล้ายคลึงกับเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลไร ที่ทำให้เกิดการเสื่อมของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากจนถึงทำให้เซลล์ตาย แต่ไม่พบการรวมตัวหนาแน่นขึ้นของโทโนฟิลาเมนต์ ผลการศึกษานี้สรุปได้ว่าเชื้อเฮลิโคแบคเตอร์ ไพโลไร มีผลต่อการเสื่อมของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปากในห้องปฏิบัติการ โดยไม่ต้องมีการแทรกซึมของเชื้อเข้าไปในตัวเซลล์

ภาควิชา เวชศาสตร์ช่องปาก  
สาขาวิชา เวชศาสตร์ช่องปาก  
ปีการศึกษา 2545

ลายมือชื่อนิติ.....*Pratana*.....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....*Om K*.....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....*Pratana*.....*any*



# # 4476120732 : MAJOR ORAL MEDICINE

KEY WORD: *Helicobacter pylori* / Degenerative changes / Oral epithelial cell /

RUCHADAPORN SRIESAN : EFFECT OF HELICOBACTER PYLORI ON DEGENERATIVE CHANGES OF ORAL EPITHELIUM: IN VITRO STUDY. THESIS ADVISOR : ASSOC.PROF.LAKANA LUANGJARMEKORN, THESIS COADVISOR: ASSIST.PROF.KITTIPONG DHANUTHAI, 87 pp. ISBN 974-17-2042-4.

*Helicobacter pylori*, pathogenic bacteria of gastrointestinal system, can induce inflammation and destruction of gastric mucosa. There have been reports of the detection of *Helicobacter pylori* in oral cavity in dental plaque, saliva and mucosal ulcer as well as reports of the relationship between this pathogen, ulcer and oral mucosal changes. The objective of this present study was to determine the effects of *Helicobacter pylori* on degenerative changes of oral epithelium (in vitro study) from human normal gingival co-cultured with *Helicobacter pylori* ( $10^8$  CFU/ml) for 6 and 24 hours and then examined by Transmission Electron Microscope (TEM). This study used *Escherichai coli* as a compared group. At both 6 and 24 hours, penetration of bacteria into oral epithelial cells or fibroblasts was not found, but there was some bacterial migration to the interepithelial locations and to the connective tissue at 24 hours. We found the degenerative changes of epithelial cells such as nuclear degeneration, chromatin clumping, condensation of tonofilaments and separation of desmosomes since the first 6 hours, and these changes also were more severe as time elapsed. The result of the compared group, co-cultured with *Escherichai coli*, was the same as the *Helicobacter pylori* group. Nonetheless, there was no condensation of tonofilaments in the compared group. In conclusion, *Helicobacter pylori* could induce the degenerative changes of the oral epithelium without penetrating into epithelial cells.

Department Oral medicine  
Field of study Oral medicine  
Academic year 2002

Student's signature..... Ruchadaporn.....  
Advisor's signature..... L. Luangjarmekorn.....  
Co-advisor's signature..... Kittipong Dhanuthai.....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของ รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิงลักณา เหลืองจามีกร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ การศึกษาวิจัยครั้งนี้ได้รับความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์กิตติพงษ์ ดนุไทย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร. สมพร สวัสดิธรรม รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร. วันดี อภินทสมิต และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร. มโน คุรัตน์ ที่ได้ให้ความรู้ แนวความคิด ตลอดจนข้อคิดเห็นต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการ ศึกษาวิจัยและให้การดูแลการทดลองในห้องปฏิบัติการโดยตลอด รวมทั้งยังให้คำแนะนำและช่วย แก้ไขข้อบกพร่องในการทำวิทยานิพนธ์จนเป็นที่เรียบร้อย

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณาจารย์ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านของภาควิชาศัลยศาสตร์ช่องปาก และแม็กซิลโลเฟเชียล ภาควิชาทันตพยาธิวิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา ศูนย์วิจัยชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ หน่วยโรคทางเดินอาหาร ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ และ คุณศิริเพ็ญ เวชชการณีย์ เจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย ที่ได้เอื้อเพื่อการจัดเตรียมตัวอย่างเนื้อเยื่อและเครื่องมือวิจัยที่ใช้ในการศึกษา

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณสัตวแพทย์หญิงสมวัย ลีตรานนท์ นิสิตปริญญาวิทยาศาสตรมหา บัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางการแพทย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย ที่ได้เอื้อเพื่อสารเคมีและวัสดุอุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ให้การสนับสนุนการลา ศึกษาต่อในครั้งนี้

ท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดาและมารดา รวมทั้งขอขอบคุณเพื่อน ๆ ที่ได้ให้กำลังใจมาตลอดในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วง ประโยชน์และความรู้ที่ได้จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยขอมอบแด่ทุก ๆ ท่านที่มีส่วนเกี่ยวข้อง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญภาพ.....	ณ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ลักษณะของเชื้อ <i>Helicobacter pylori</i> .....	4
2.2 ระบาดวิทยา.....	5
2.3 ความสำคัญทางคลินิกและกลไกการก่อโรค.....	6
2.4 ผลของเชื้อ <i>Helicobacter pylori</i> ต่อเยื่อเมือกระเพาะอาหาร.....	8
2.5 การวินิจฉัยการติดเชื้อ.....	9
2.6 การรักษา.....	10
2.7 เชื้อ <i>Helicobacter pylori</i> ในช่องปาก.....	11
2.8 เชื้อ <i>Helicobacter pylori</i> ในแผ่นคราบจุลินทรีย์.....	11
2.9 เชื้อ <i>Helicobacter pylori</i> กับแผลเยื่อเมือช่องปาก.....	14
2.10 เชื้อ <i>Helicobacter pylori</i> กับอาการอื่นในช่องปาก.....	16
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	17
3.1 ประชากรและตัวอย่าง.....	17
3.2 วัสดุอุปกรณ์ สารเคมี เชื้อแบคทีเรียและเยื่อเมือช่องปากที่ใช้ในการทดลอง.....	18
3.3 วิธีการทดลอง.....	21
3.3.1 การเพาะเชื้อและแยกเชื้อ <i>Helicobacter pylori</i> .....	21
3.3.2 การเพาะเชื้อและแยกเชื้อ <i>Escherichia coli</i> .....	22
3.3.3 การเตรียมเชื้อ <i>Helicobacter pylori</i> และ <i>Escherichia coli</i> .....	22
3.3.4 การเตรียมน้ำยาเลี้ยงเซลล์.....	22
3.3.5 การเตรียมเยื่อเมือช่องปาก.....	23

3.3.6	การเพาะเลี้ยงเยื่อเมือของปากร่วมกับเชื้อ <i>Helicobacter pylori</i> และ <i>Escherichia coli</i> .....	23
3.3.7	การเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ชนิดส่องผ่าน.....	24
3.3.8	การศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูล.....	25
4	ผลการทดลอง.....	26
4.1	ลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน ของเชื้อ <i>Helicobacter pylori</i> .....	26
4.2	ลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน ของเชื้อ <i>Escherichia coli</i> .....	26
4.3	ลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน ของเยื่อเมือของปากในกลุ่มควบคุมที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง.....	27
4.4	ลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านของเยื่อเมือของปาก ในกลุ่มทดลองที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ <i>Helicobacter pylori</i> ที่ระยะเวลา 6 และ 24 ชั่วโมง.....	28
4.5	ลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านของเยื่อเมือของปาก ในกลุ่มทดลองที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ <i>Escherichia coli</i> ที่ระยะเวลา 6 และ 24 ชั่วโมง.....	29
5	อภิปรายผลการทดลอง สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	30
5.1	อภิปรายผลการทดลอง.....	30
5.2	สรุปผลการทดลอง.....	37
5.3	ข้อเสนอแนะ.....	37
	รายการอ้างอิง.....	72
	ภาคผนวก.....	79
	ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	87



## สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงลักษณะของเชื้อ <i>Helicobacter pylori</i> ..... 39
ภาพที่ 2	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านที่กำลังขยายสูง แสดงลักษณะของเชื้อ <i>Helicobacter pylori</i> ..... 41
ภาพที่ 3	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงลักษณะของเชื้อ <i>Escherichia coli</i> ..... 43
ภาพที่ 4	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงลักษณะของเซลล์เยื่อหุ้มช่องปากที่บริเวณพื้นผิวในกลุ่มควบคุม ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง..... 45
ภาพที่ 5	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงลักษณะของเซลล์เยื่อหุ้มช่องปากในชั้นลึกลงไปในกลุ่มควบคุม ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง..... 47
ภาพที่ 6	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านที่กำลังขยายสูง แสดงลักษณะของเซลล์เยื่อหุ้มช่องปากในกลุ่มควบคุม ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง..... 49
ภาพที่ 7	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงลักษณะของเนื้อเยื่อยึดต่อในกลุ่มควบคุม ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง..... 51
ภาพที่ 8	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงลักษณะของเซลล์เยื่อหุ้มช่องปากในกลุ่มทดลองที่เพาะเลี้ยงร่วมกับ เชื้อ <i>Helicobacter pylori</i> ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง..... 53
ภาพที่ 9	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงลักษณะของเซลล์เยื่อหุ้มช่องปากในกลุ่มทดลองที่เพาะเลี้ยงร่วมกับ เชื้อ <i>Helicobacter pylori</i> ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง..... 55
ภาพที่ 10	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านที่กำลังขยายสูง แสดงลักษณะของเซลล์เยื่อหุ้มช่องปากที่มีการเปลี่ยนแปลงในกลุ่มทดลอง ที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ <i>Helicobacter pylori</i> ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง..... 57

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ 11	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงลักษณะของเนื้อเยื่อยึดต่อในกลุ่มทดลองที่เพาะเลี้ยงร่วมกับ เชื้อ <i>Helicobacter pylori</i> ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง.....	59
ภาพที่ 12	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงลักษณะของเยื่อชีวช่องปากในกลุ่มทดลองที่เพาะเลี้ยงร่วมกับ เชื้อ <i>Helicobacter pylori</i> ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง.....	61
ภาพที่ 13	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงลักษณะของเนื้อเยื่อยึดต่อในกลุ่มทดลองที่เพาะเลี้ยงร่วมกับ เชื้อ <i>Helicobacter pylori</i> ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง.....	63
ภาพที่ 14	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงลักษณะของเยื่อชีวช่องปากในกลุ่มทดลองที่เพาะเลี้ยงร่วมกับ เชื้อ <i>Escherichia coli</i> ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง.....	65
ภาพที่ 15	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงลักษณะของเยื่อชีวช่องปากในกลุ่มทดลองที่เพาะเลี้ยงร่วมกับ เชื้อ <i>Escherichia coli</i> ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง.....	67
ภาพที่ 16	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงการเปรียบเทียบลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อชีวช่องปากใน กลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ <i>Helicobacter pylori</i> กับเซลล์เยื่อชีวช่องปากใน กลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ <i>Escherichia coli</i> ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง.....	69
ภาพที่ 17	ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน แสดงการเปรียบเทียบลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อชีวช่องปากในกลุ่ม ควบคุมกับเซลล์เยื่อชีวช่องปากในกลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ <i>Helicobacter pylori</i> และเซลล์เยื่อชีวช่องปากในกลุ่มที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ <i>Escherichia coli</i> ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง.....	71