บทที่ 5

สรุปผลการศึกษา การอภิปรายและข้อเสนอแนะ

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์และ ระดับอาร์เอ็นเอนำรหัสของยีน DMP1 ในเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์ โดยเป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการ วิเคราะห์การเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการเอ็ม ที ที และ วิเคราะห์ระดับการแสดงออกของยีน DMP1 ด้วยเทคนิค อาร์ ที – พี ซี อาร์ ผลการศึกษาในแต่ละกลุ่มตัวอย่างถูกนำมาวิเคราะห์การเพิ่มจำนวนเซลล์โดยสถิติทดสอบแบบแจกแจงทางเดียวและความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วยแบบทดสอบของแทมเฮน และผลการศึกษาของทุกกลุ่มตัวอย่างโดยใช้การวิเคราะห์ด้วยสถิติการทดสอบชนิดไม่ใช่พาราเมตริก วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบแจกแจงทางเดียวชนิด Kruskal-Wallis ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของความเข้มข้นของสารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้กับการเพิ่มจำนวนเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟัน ที่ระดับความเข้มข้นของสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ 0.25 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และเนื่องจากที่ความเข้มข้นของสารโพลีแซคคาไรด์ดังกล่าวไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์ จึงเป็นความเข้มข้นที่ถูกเลือกเพื่อนำมาศึกษาถึงการแสดงออกของยีน DMP1 จากการวิเคราะห์ระดับการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสของยีน DMP1 ด้วยสถิติทดสอบค่าเฉลี่ยประชากรเดียวแบบที เปรียบเทียบกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพิ่มระดับการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสของยีน DMP1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สรุปผลการศึกษา

1. การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของความเข้มข้นของสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้กับการเพิ่มจำนวนเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟัน ($p>0.05$)

2. ความเข้มข้นของสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพิ่มการแสดงออกของยีน DMP1 ให้เพิ่มขึ้นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

การอภิปรายผล

ในการศึกษาที่ผ่านมามีการทดสอบผลของส่วนวุ้นของว่านหางจระข้ต่อเซลล์หลายชนิด ทั้งเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันของหนู (RPC-C2A) (พรพจน์ เพื่องธารทิพย์, ลัดดา วงษ์วีระวินิจ และ โสภี ภูมิสวัสดิ์, 2547) เซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อเหงือก (พสุธา และคณะ, 2545) เซลล์เอ็นยึดปริทันต์และเซลล์สร้างเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อในโพรงฟัน (พสุธา และคณะ, 2547) อย่างไรก็ดีในงานวิจัยข้างต้นเป็นการนำที่สารสกัดอย่างหยาบจากส่วนวุ้นที่ประกอบด้วยองค์ประกอบรวมของส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ เช่น โปรตีนและโพลีแซคคาไรด์ ทำให้ไม่สามารถสรุปได้ว่าสารใดในส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ทำให้เกิดผลต่อเซลล์ที่นำมาศึกษา ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการสกัดแยกสารโพลีแซคคาไรด์จากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ เพื่อนำมาศึกษาผลของโพลีแซคคาไรด์ในส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่มีต่อเซลล์ในโพรงประสาทฟัน

การศึกษาถึงผลของสารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ต่อเซลล์สร้างเนื้อฟันโดยตรงทำได้ยากเนื่องจากลักษณะโดยทั่วไปของเซลล์สร้างเนื้อฟันเป็นเซลล์ที่อยู่ในสภาวะซึ่งไม่สามารถเพิ่มจำนวนเซลล์ได้อีก และตำแหน่งของเซลล์ที่มีส่วนแขน (odontoblastic process) ยื่นยาวเข้ามาอยู่ในส่วนเนื้อฟัน การแยกเซลล์สร้างเนื้อฟันเพื่อนำมาศึกษา มีโอกาสที่จะทำให้ส่วนของตัวเซลล์ และส่วนแขน แยกขาดออกจากกัน และอาจก่อให้เกิดการตายของเซลล์ได้ (Schiess , Okigaki and Rounds, 1966) แต่ทั้งนี้ยังมี

การพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงเพื่อนำมาศึกษาเกี่ยวกับเซลล์สร้างเนื้อฟันโดยตรง (Tjäderhane et al., 1998) ซึ่งวิธีการเพาะเลี้ยงนี้ยังไม่เหมาะสมกับการทดสอบผลของสารที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ อย่างไรก็ดีจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า เซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟัน เป็นเซลล์อีกชนิดหนึ่งที่มีการเปลี่ยนแปลงเพื่อทำหน้าที่เป็นเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟันได้ (Fitzerald, Chiego and Heys , 1990; Tziafas et al., 2000) เซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันจึงเป็นเซลล์ที่ถูกนำมาศึกษาถึงการเพิ่มจำนวนและการแสดงออกของยีน DMP1 ที่มีความเกี่ยวข้องกับเซลล์สร้างเนื้อฟัน เพื่อเป็นตัวแทนเซลล์สร้างเนื้อฟันในการศึกษาทางห้องปฏิบัติการในครั้งนี้ โดยทั่วไปเนื้อเยื่อในโพรงฟันประกอบด้วยเซลล์หลายชนิด เช่น เซลล์อันดิฟเฟอเรนชิเอเต็ดเมสเซนไคมอล เซลล์สร้างเส้นใย เซลล์สร้างเนื้อฟัน และเซลล์ที่มีความเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน (Takashi, 2002) การแยกส่วนของเนื้อเยื่อในโพรงฟันเพื่อนำมาเลี้ยงจึงมีโอกาสที่จะได้เซลล์ชนิดอื่นๆนอกจากเซลล์สร้างเส้นใยในช่วงต้นของการเลี้ยงเซลล์ที่คลานออกมาจากชิ้นเนื้อ แต่เนื่องจากอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ใช้เหมาะสมกับการเจริญของเซลล์สร้างเส้นใย ดังนั้นการเลือกใช้เซลล์ในรุ่นที่ 3-4 ในการนำมาศึกษา ประกอบกับการดูลักษณะของเซลล์ที่เป็นรูปกระสวยด้วยกล้องจุลทรรศน์ ทำให้ผู้วิจัยเชื่อว่าเซลล์ที่ได้นำมาศึกษานั้นเป็นเซลล์สร้างเส้นใยที่แยกมาจากเนื้อเยื่อในโพรงฟัน

จากผลการวิเคราะห์แนวโน้มผลของสารโพลีแซคคาไรด์ต่อเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์ในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง ตัวอย่างที่ 1 ไม่พบความแตกต่างในการเพิ่มจำนวนเซลล์ แต่พบความเข้มข้นที่ลดจำนวนเซลล์ลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเข้มข้นของสารโพลีแซคคาไรด์ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตัวอย่างที่ 2 พบความแตกต่างในการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่ความเข้มข้นของสารโพลีแซคคาไรด์ 0.25 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และตัวอย่างที่ 3 พบความเข้มข้นที่ลดจำนวนเซลล์ลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเข้มข้นของสารโพลีแซคคาไรด์ 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นแนวโน้มในการตอบสนองในแง่ส่งเสริมการเพิ่มจำนวนเซลล์ของสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้แตกต่างกันไป ผลการตอบสนองในรูปแบบที่แตกต่างกันนี้อาจมาจากตัวอย่างฟันที่ได้มาจากบุคคลที่แตกต่างกัน ในการศึกษาต่อไปควรมีการวิเคราะห์ถึงความสัมพันธ์ของปัจจัยความแตกต่างของตัวอย่างฟัน ทั้งในแง่ของอายุ เพศ สุขภาพ ซี่ฟันและปัจจัยอื่นๆที่ใช้ศึกษาของผู้ป่วยร่วมด้วย นอกจากนี้การเพิ่มจำนวนตัวอย่างให้มากขึ้นจะสามารถบอกแนวโน้มที่ชัดเจนถึงผลของ

สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์ได้ดียิ่งขึ้น อย่างไรก็ดีในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้สารโพลีแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้น 0.25 0.5 และ 1มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งพบว่าไม่เป็นพิษต่อเซลล์ในการทดสอบการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสของยีน DMP1

ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยพบว่าผลจากการทดสอบสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ ที่ความเข้มข้นต่างๆกันกับเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์ และทำการวิเคราะห์การเพิ่มจำนวนเซลล์และความเป็นพิษด้วยสารเอ็ม ที ที ในทุกกลุ่มตัวอย่างรวมกันพบว่าสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่ความเข้มข้นต่างๆ ไม่มีผลกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีการทางสถิติ แม้ว่าค่าเฉลี่ยของร้อยละปริมาณเซลล์ของสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ ความเข้มข้น 0.25 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์ ร้อยละ 51.74 ร้อยละ 31.15 และร้อยละ 3.79 ตามลำดับ แต่ยังไม่มีความแตกต่างที่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีการทางสถิติ ในการศึกษานี้ผู้วิจัยยังพบว่าสารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ความเข้มข้น 2 และ 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีแนวโน้มในการทำให้จำนวนเซลล์ลดลง อย่างไรก็ดีไม่พบความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีการทางสถิติ แต่จากการวิเคราะห์โดยแยกแต่ละกลุ่มตัวอย่างพบว่า ตัวอย่างที่ 1 และ 3 มีการแสดงออกของการลดจำนวนเซลล์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเข้มข้นของสารโพลีแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรนี้จึงอาจเป็นความเข้มข้นที่เริ่มก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ เมื่อทำการทดสอบสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ที่มีความเข้มข้นสูงขึ้นไป คาดว่าผลการทดสอบน่าจะมีแนวโน้มทำให้จำนวนเซลล์ลดลง จึงไม่ใช้ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและความเข้มข้นที่สูงขึ้นไปในการศึกษาการแสดงออกของยีน DMP1

โปรตีนในกลุ่มที่ไม่ใช่คอลลาเจน (noncollagenous protein) ที่มีบทบาทในขบวนการการตกตะกอนแคลเซียมในกระบวนการสร้างเนื้อฟันกลุ่มที่สำคัญที่พบในเซลล์สร้างเนื้อฟันคือ ฟอสโฟโปรทีน ได้แก่ Dentinsialophosphoprotein และ DMP1 นอกจากนี้โปรตีนอื่นๆในกลุ่มนี้ที่มีความเกี่ยวข้องกับขบวนการสร้างเนื้อฟันและเนื้อเยื่อแข็ง ได้แก่ Osteonectin, Osteocalcin, Osteopontin และ Bone sialoprotein โดยทำหน้าที่ควบคุมขนาดและรูปร่างของผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ จึงมีหน้าที่ทางชีวโมเลกุลที่เกี่ยวข้อง

กับการสร้างเนื้อเยื่อแข็งของกระดูกและการพัฒนาของฟัน การแสดงออกของยีน DMP 1 จึงเป็นการแสดงถึงพัฒนาการไปเป็นเซลล์ที่มีความเฉพาะ (differentiation) จากเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันไปเป็นเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟัน และระดับของการแสดงออกของยีนที่เพิ่มมากขึ้นนั้นเป็นการบ่งบอกถึงระดับการพัฒนาการไปเป็นเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟันที่เพิ่มมากขึ้น เพื่อการทำงานซ่อมสร้างเนื้อฟันที่ถูกทำลายได้มากขึ้นด้วย (Hao et al., 2002) DMP1 เป็นโปรตีนที่สามารถพบได้ทั้งในเซลล์สร้างเนื้อฟัน เซลล์สร้างเคลือบรากฟัน และเซลล์สร้างกระดูก (Garant PR, 2003) อย่างไรก็ดีในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์สร้างเส้นใยที่แยกมาจากเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์ ดังนั้นระดับของยีน DMP1 ที่วิเคราะห์ได้จากการศึกษาครั้งนี้จึงน่าจะมาจากเซลล์ที่พัฒนาไปเป็นเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟันและมีการสร้างเมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix) เพื่อสร้างส่วนประกอบที่สำคัญของเนื้อฟันซ่อมแซม ซึ่ง DMP1 เป็นเมทริกซ์นอกเซลล์ชนิดหนึ่งที่สร้างจากเซลล์สร้างเนื้อฟัน

จากผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค อาร์ ที-พี ซี อาร์ เพื่อดูการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสของยีน DMP1 พบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัดโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่งเสริมการแสดงออกของยีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p<0.05$) ซึ่งการแสดงออกของยีนที่พบในเซลล์สร้างเนื้อฟันที่เพิ่มมากขึ้นนั้นหมายความถึงการเปลี่ยนแปลงที่เพิ่มมากขึ้นของเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันไปเป็นเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟันเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีสารโพลีแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้นดังกล่าว อย่างไรก็ดีจากการวิเคราะห์ความเข้มของแถบแสงในกลุ่มควบคุมพบว่ามีความเข้มของแถบแสง ซึ่งแสดงว่ามีการแสดงออกของยีน DMP1 แม้ว่าความเข้มของแถบน้อยกว่ากลุ่มทดลอง แต่เนื่องจากการศึกษาที่ผ่านมาไม่พบรายงานการแสดงออกของยีน DMP1 ในเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์มาก่อนจึงเป็นข้อมูลที่น่าสนใจในการศึกษาเพิ่มเติมถึงการแสดงออกของยีน DMP1 ในเซลล์ชนิดนี้

นอกจากการส่งเสริมการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ไปเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่เฉพาะที่พบในการศึกษาครั้งนี้แล้ว ยังมีการศึกษาอื่นที่พบว่าสารโพลีแซคคาไรด์ชนิด acemannan ที่สกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้มีผลในการส่งเสริมการเปลี่ยนแปลงพัฒนาของเซลล์ dendritic ไปเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่ได้อย่างสมบูรณ์ (Lee et al., 2001) เมื่อทำการวิเคราะห์ผลการศึกษาในส่วนของการแสดงออกของยีน DMP 1 ที่ความเข้มข้นของสารโพลีแซคคา

ไรด์ที่สกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่งเสริมการเปลี่ยนแปลงจากเซลล์สร้างเส้นใยไปเป็นเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟันให้เพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นความเข้มข้นของสารโพลีแซคคาไรด์ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จึงเป็นความเข้มข้นที่อาจกระตุ้นให้เซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟัน ผลที่ได้จากการศึกษาถึงสารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ ต่อเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์ในครั้งนี้ จึงเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่จะนำไปสู่การพัฒนาการประยุกต์ใช้ว่านหางจระเข้ในทางทันตกรรมต่อไป

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาต่อไปในอนาคตน่าจะมีการศึกษาถึงผลของสารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ต่อการแสดงออกของยีนโปรตีนสารนอกเซลล์ชนิดอื่นๆที่มีบทบาทในกระบวนการสร้างเนื้อฟัน เช่น Dentin sialophosphoprotein, Osteopontin หรือการแสดงออกของเอนไซม์ที่มีบทบาทในขบวนการสร้างเนื้อฟัน เช่น Alkaline phosphatase เพื่อแสดงถึงความสามารถในการกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงของเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อในโพรงฟันไปเป็นเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟัน

นอกจากนี้การศึกษาผลของสารสกัดจากส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ต่อการสร้างใหม่ของเนื้อฟันในสัตว์ทดลอง ก็เป็นอีกหนึ่งการศึกษาที่น่าจะทำการศึกษาต่อไปในอนาคตภายหลังจากได้ข้อมูลในการศึกษาครั้งนี้