การศึกษาระดับกลูโคสและอินเตอร์ลิวคิน-18 ในน้ำลายผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2

THE STUDY OF SALIVARY GLUCOSE AND INTERLEUKIN-18 LEVELS IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS

พีรยาภรณ์ พวงมลิวัลย์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2565

การศึกษาระดับกลูโคสและอินเตอร์ลิวคิน-18 ในน้ำลายผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2

พีรยาภรณ์ พวงมลิวัลย์

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาทันตกรรมทั่วไปขั้นสูง
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ปีการศึกษา 2565
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

THE STUDY OF SALIVARY GLUCOSE AND INTERLEUKIN-18 LEVELS IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS

PIRAYAPORN PUANGMALIWAN

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of MASTER OF SCIENCE

(Master of Science (Advanced General Dentistry))

Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University

2022

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

การศึกษาระดับกลูโคสและอินเตอร์ลิวคิน-18 ในน้ำลายผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2

ของ

พีรยาภรณ์ พวงมลิวัลย์

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาทันตกรรมทั่วไปขั้นสูง
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

..... ที่ปรึกษาหลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร.ทันตแพทย์หญิงพรสวรรค์ ธนธรวงศ์)

..... ประธาน
(ศาสตราจารย์ ดร.นายแพทย์วีรพันธุ์ โชวิฑูรกิจ)

..... ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.ทันตแพทย์หญิงสิริบังอร พิบูลนิยม โชวิฑูรกิจ)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ทันตแพทย์หญิงภาวิณีย์ปฏิพัทธ์วุฒิกุล ดิดรอน)

ชื่อเรื่อง	การศึกษาระดับกลูโคสและอินเตอร์ลิวคิน-18 ในน้ำลายผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2
ผู้วิจัย	พีรยาภรณ์ พวงมลิวัลย์
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.ทันตแพทย์หญิง พรสวรรค์ ธนธรวงศ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.ทันตแพทย์หญิง สิริบังอร พิบูลนิยม โชวิฑูรกิจ

งานวิจัยทางคลินิกนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา (1) ความสัมพันธ์ของระดับกลูโคสในน้ำลายกับระดับกลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหาร (FPG) (2) ความสัมพันธ์ของระดับอินเตอร์ลิวคิน18 (IL-18) ในน้ำลายกับระดับกลูโคสในน้ำลาย (3) ความสัมพันธ์ของจำนวนซี่ฟัน ค่าดัชนีคราบจุลินทรีย์ เปอร์เซ็นต์ตำแหน่งการมีเลือดออกหลังโพรบ ความลึกของร่องลึกปริทันต์ ระดับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์และอัตราการไหลของน้ำลายกับระดับกลูโคสและอินเตอร์ลิวคิน18 ในน้ำลาย การศึกษานี้มีจำนวนผู้เข้าร่วมโครงการทั้งหมด 64 คน แบ่งออกเป็นผู้มีสุขภาพดี (n=25) ผู้ป่วยเบาหวานที่ควบคุมระดับกลูโคสในเลือดได้ดี (n=16) ซึ่งมีระดับฮีโมโกลบินเอวันซี (HbA1C) น้อยกว่า 7 และผู้ป่วยเบาหวานที่ควบคุมระดับกลูโคสในเลือดได้ไม่ดี (n=23) ซึ่งมีระดับฮีโมโกลบินเอวันซีตั้งแต่ 7 ขึ้นไป เก็บตัวอย่างเลือด ตัวอย่างน้ำลายขณะพัก และข้อมูลสภาวะปริทันต์ของผู้เข้าร่วมโครงการ วิเคราะห์ระดับกลูโคสในน้ำลาย และระดับอินเตอร์ลิวคิน18 ในน้ำลาย และหาความสัมพันธ์กับตัวแปรทางคลินิก ผลการศึกษาพบว่า (1) ระดับกลูโคสในน้ำลาย และระดับอินเตอร์ลิวคิน18 ในน้ำลายของกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานทั้ง 2 กลุ่ม สูงกว่ากลุ่มผู้มีสุขภาพดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) (2) จากการวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณ พบว่าระดับกลูโคสในน้ำลายมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทั้งระดับกลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหาร ($\beta = 0.396$, $p = 0.001$) ระดับฮีโมโกลบินเอวันซี ($\beta = 0.47$, $p <0.001$) และเพศชาย ($\beta = 0.235$, $p = 0.036$) โดยเป็นอิสระต่ออายุ จำนวนซี่ฟัน สภาวะปริทันต์ และอัตราการไหลของน้ำลาย (3) จากการวิเคราะห์สหสัมพันธ์โดยควบคุมปัจจัยเพศและอายุ พบว่าระดับกลูโคสในน้ำลายไม่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระดับอินเตอร์ลิวคิน18 ในน้ำลาย (4) จากการวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณ พบว่า จำนวนซี่ฟัน ค่าดัชนีคราบจุลินทรีย์ เปอร์เซ็นต์ตำแหน่งการมีเลือดออกหลังโพรบ ความลึกของร่องลึกปริทันต์ ค่าระดับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์และอัตราการไหลของน้ำลาย ไม่มีความสัมพันธ์กับทั้งระดับกลูโคสในน้ำลายและระดับอินเตอร์ลิวคิน18 ในน้ำลาย แต่พบว่าอินเตอร์ลิวคิน18 ในน้ำลาย มีความสัมพันธ์กับอายุอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\beta = 0.459$, $p = 0.002$) จากผลการศึกษาทั้งหมดสรุปได้ว่าระดับกลูโคสในน้ำลายมีความสัมพันธ์กับระดับกลูโคสในเลือดและมีแนวโน้มที่จะใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของระดับกลูโคสในเลือดได้โดยสภาวะปริทันต์ไม่มีผลต่อความสัมพันธ์นี้ ส่วนระดับอินเตอร์ลิวคิน18 ในน้ำลายมีระดับสูงขึ้นในผู้ป่วยเบาหวานและมีความสัมพันธ์กับอายุ

คำสำคัญ : กลูโคสในน้ำลาย, ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ, โรคเบาหวานชนิดที่ 2, อินเตอร์ลิวคิน18 ในน้ำลาย

Title	THE STUDY OF SALIVARY GLUCOSE AND INTERLEUKIN-18 LEVELS IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS
Author	PIRAYAPORN PUANGMALIWAN
Degree	MASTER OF SCIENCE
Academic Year	2022
Thesis Advisor	Associate Professor Dr. Bhornsawan Thanathornwong
Co Advisor	Associate Professor Dr. Siribang-on Piboonniyom Khovidhunkit

This aims of this clinical research are to investigate the following: (1) the relationship between salivary glucose and fasting plasma glucose (FPG) levels; (2) the relationship between salivary interleukin-18 (IL-18) and salivary glucose levels; and (3) the relationship of periodontal parameters, including number of teeth, plaque index, percentage of sites with bleeding on probing, probing depth, periodontal clinical attachment loss and salivary flow rate with salivary glucose and salivary IL-18 levels. A total of 64 subjects consisted of healthy subjects (n=25), type 2 diabetic subjects with controlled glycemic status (HbA1C<7) (n=16), and type 2 diabetic subjects with an uncontrolled glycemic status (HbA1C≥7) (n=25). Serum, unstimulated whole saliva, and periodontal parameters were systematically collected. Salivary glucose and salivary IL-18 levels and their relationship with clinical parameters were determined. The results revealed the following: (1) salivary glucose and salivary IL-18 levels of diabetic groups were significantly higher than those of the healthy group ($p<0.01$); (2) the multiple regression analysis revealed significant associations of salivary glucose levels with FPG ($\beta = 0.396$, $p = 0.001$), HbA1C ($\beta = 0.47$, $p < 0.001$), and male gender ($\beta = 0.235$, $p = 0.036$) independent from age, number of teeth, periodontal status, and salivary flow rate; (3) partial correlation analysis controlling age and gender showed no significant correlation between salivary glucose and salivary IL-18 levels; (4) neither salivary glucose nor salivary IL-18 were associated with number of teeth, periodontal parameters, and salivary flow rate. However, salivary IL-18 levels were associated with age ($\beta = 0.459$, $p = 0.002$). It can be concluded that salivary glucose levels were associated with blood glucose levels independently from periodontal condition and had a potential to be a biomarker of glycemic status. Salivary IL-18 levels were increased in type 2 diabetic subjects and associated with age.

Keyword : Salivary glucose, Biomarker, Type 2 diabetes mellitus, Salivary interleukin-18

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความอุตสาหะ มานะ พยายามของผู้วิจัย รวมถึงการได้รับความเมตตา ความดูแลเอาใจใส่และความช่วยเหลือจากคณาจารย์หลักสูตรสาขาทันตกรรมทั่วไปขั้นสูง คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒทุกท่าน และคณะกรรมการผู้ควบคุมปริญญานิพนธ์ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ

อ.ดร.ทพญ.สุธีรา เตชะธนะวัฒน์

รศ.ดร.ทพญ.พรสวรรค์ ธนธรวงศ์

รศ.ดร.ทพญ.สิริบังอร พิบูลนิยม โชติพูรกิจ

ศาสตราจารย์ ดร.นายแพทย์ วีรพันธุ์ โชติพูรกิจ

อาสาสมัครผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน เจ้าหน้าที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์และเจ้าหน้าที่คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล คุณพ่อคุณแม่ พี่-น้อง และเพื่อนๆทุกคนของผู้วิจัย ที่ได้ให้การสนับสนุน ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจที่ดีให้เสมอมา

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณทุนวิจัยจากคณะทันตแพทยศาสตร์และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒที่ช่วยให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

พีรยาภรณ์ พวงมลิวัลย์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญรูปภาพ ..... ฎ

บทที่ 1 บทนำ 1

ภูมิหลัง 1

ความมุ่งหมายของงานวิจัย 2

ความสำคัญของงานวิจัย 2

ขอบเขตการวิจัย 3

ประชากรที่ใช้ในการวิจัย 3

ตัวแปรที่ศึกษา 3

นิยามคำศัพท์เฉพาะ 3

กรอบแนวคิดงานวิจัย 4

สมมติฐานงานวิจัย 5

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 6

ส่วนที่ 1 โรคเบาหวาน 6

ชนิดของโรคเบาหวาน 6

การวินิจฉัยโรคเบาหวานและเป้าหมายการรักษา 6

สถานการณ์โรคเบาหวานในปัจจุบัน 8

ภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน 8
ความสัมพันธ์ของโรคเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบ 9
ส่วนที่ 2 น้ำลาย 14
บทบาทของน้ำลายในการวินิจฉัยโรคในช่องปากและโรคทางระบบ 14
การศึกษาตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของโรคเบาหวาน 14
ส่วนที่ 3 หลักการ ELISA และ glucose assay 17
หลักการของ ELISA 17
ประเภทของ ELISA 18
ELISA standard curve 21
หลักการของ Glucose assay 21
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 23
การกำหนดประชากรและการสุ่มกลุ่มตัวอย่าง 23
ประชากร 23
การเลือกกลุ่มตัวอย่าง 23
ขนาดตัวอย่าง และการคำนวณ 23
วิธีการวิจัย/วิธีดำเนินการวิจัย 25
ขั้นตอนการดำเนินงานทางคลินิก 25
ขั้นตอนการดำเนินงานในห้องปฏิบัติการ 27
การเก็บรวบรวมข้อมูล 29
การจัดกระทำข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูล 30
บทที่ 4 31
ผลการดำเนินงานวิจัย 31
ลักษณะของผู้เข้าร่วมโครงการ 31

สภาวะในช่องปาก....34
ระดับ IL-18 และระดับกลูโคสในน้ำลาย....36
ความสัมพันธ์ของระดับ IL-18 และ ระดับกลูโคสในน้ำลายกับตัวแปรทางคลินิก....38
ตัวแปรทางคลินิกที่มีผลต่อระดับ IL-18 และระดับกลูโคสในน้ำลาย....41
บทที่ 5....44
ผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ....44
อภิปรายผลการวิจัย....44
สรุปผลการวิจัย....47
บรรณานุกรม....48
ภาคผนวก....49
ประวัติผู้เขียน....50

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 สรุปการแปลผลระดับพลาสมากลูโคสและ HbA1C เพื่อการวินิจฉัย 7

ตาราง 2 สรุปเป้าหมายการควบคุมเบาหวานสำหรับผู้ใหญ่ 8

ตาราง 3 การเตรียมสารมาตรฐานกลูโคส 28

ตาราง 4 ลักษณะและข้อมูลพื้นฐานของผู้เข้าร่วมโครงการ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม (control) กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ดี (CDM) และกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ไม่ดี (UCDM) 31

ตาราง 5 ข้อมูลสภาวะในช่องปากของผู้เข้าร่วมโครงการ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม (control) กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ดี (CDM) และกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ไม่ดี (UCDM) 34

ตาราง 6 ระดับ IL-18 และกลูโคสในน้ำลายของผู้เข้าร่วมโครงการ 3 กลุ่ม คือกลุ่มควบคุม (control) กลุ่มผู้ป่วยที่คุมระดับกลูโคสได้ดี (CDM) และกลุ่มเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ไม่ดี (UCDM) 36

ตาราง 7 ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรทางคลินิกอื่นๆกับระดับ IL-18 และกลูโคสในน้ำลาย 39

ตาราง 8 ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรทางคลินิกอื่นๆกับระดับ IL-18 และระดับกลูโคสในน้ำลาย เมื่อควบคุมตัวแปรคืออายุและเพศ 40

ตาราง 9 การวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณระหว่างตัวแปรทางคลินิกกับระดับ IL-18 ในน้ำลาย โดยใช้ตัวแปรอิสระได้แก่ อายุ เพศ ค่าระดับกลูโคสเฉลี่ยในเลือดช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา (HbA1C) จำนวนซี่ฟัน ดัชนีคราบจุลินทรีย์ ความลึกของร่องลึกปริทันต์ และอัตราการไหลของน้ำลาย ... 42

ตาราง 10 การวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณระหว่างตัวแปรทางคลินิกกับระดับกลูโคสในน้ำลาย โดยใช้ตัวแปรอิสระได้แก่ อายุ เพศ ค่าระดับกลูโคสเฉลี่ยในเลือดช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา (HbA1C) จำนวนซี่ฟัน ดัชนีคราบจุลินทรีย์ ความลึกของร่องลึกปริทันต์ และอัตราการไหลของน้ำลาย ... 43

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพประกอบ 1 ตัวแปรต้น ตัวแปรควบคุม และตัวแปรตามที่ต้องการศึกษา 4

ภาพประกอบ 2 กลไกการเชื่อมโยงของโรคเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบ 12

ภาพประกอบ 3 สมมติฐานแสดงความสัมพันธ์ของ ROS กับ AGE 13

ภาพประกอบ 4 ปฏิกิริยาแอนติเจนและแอนติบอดีในการวิเคราะห์ผลด้วย ELISA 17

ภาพประกอบ 5 การวิเคราะห์ผลด้วยเทคนิค Direct ELISA 18

ภาพประกอบ 6 การวิเคราะห์ผลด้วยเทคนิค Indirect ELISA 18

ภาพประกอบ 7 การวิเคราะห์ผลด้วยเทคนิค Sandwich ELISA 19

ภาพประกอบ 8 การวิเคราะห์ผลด้วยเทคนิค Competitive ELISA 19

ภาพประกอบ 9 ค่าตัวแปรของอายุ (Age) ดัชนีมวลกาย (BMI) รอบเอว (waist) ค่าระดับกลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหารเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 8 ชั่วโมง (FPG) ค่าระดับกลูโคสเฉลี่ยสะสมในเลือดช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา (HbA1C) ในกลุ่มควบคุม (control) และผู้ป่วยเบาหวานที่ควบคุมระดับกลูโคสได้ดี (CDM) และได้ไม่ดี (UCDM) 33

ภาพประกอบ 10 จำนวนซี่ฟัน (No. of teeth) ค่าดัชนีคราบจุลินทรีย์ (Plaque index) %ตำแหน่งการมีเลือดออกหลังโพรบ (Percentage of sites with bleeding on probing) ความลึกของร่องลึกปริทันต์ (PD) ในกลุ่มควบคุม (control) และผู้ป่วยเบาหวานที่ควบคุมระดับกลูโคสได้ดี (CDM) และได้ไม่ดี (UCDM) 35

ภาพประกอบ 11 ค่าระดับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ (CAL) และอัตราการไหลของน้ำลาย (FR) ในกลุ่มควบคุม (control) และผู้ป่วยเบาหวานที่ควบคุมระดับกลูโคสได้ดี (CDM) และได้ไม่ดี (UCDM) 36

ภาพประกอบ 12 ระดับ IL-18 และกลูโคสในน้ำลายในกลุ่มควบคุม (control) และผู้ป่วยเบาหวานที่ควบคุมระดับกลูโคสได้ดี (CDM) และได้ไม่ดี (UCDM) 37

ภาพประกอบ 13 ระดับ IL-18 และกลูโคสในน้ำลายของเพศหญิงและชายในกลุ่มควบคุม (control) และผู้ป่วยเบาหวานที่ควบคุมระดับกลูโคสได้ดี (CDM) และได้ไม่ดี (UCDM) 38

บทที่ 1
บทนำ

ภูมิหลัง

โรคเบาหวานเป็นภาวะที่ร่างกายมีระดับกลูโคสในเลือดสูงกว่าปกติ หากมีการสะสมของกลูโคสในเลือดสูงเป็นระยะเวลานานจะทำให้อวัยวะต่างๆเสื่อมจนเกิดเป็นโรคหรือ เกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆขึ้น อาจรวมถึงการเกิดปัญหาสุขภาพในช่องปากได้

โรคเบาหวานถือเป็นกลุ่มโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (Non-communicable disease, NCD) ที่คนไทยเป็นมากที่สุด ปัจจุบันมีคนไทย 3.2 ล้านคนเป็นโรคเบาหวานคิดเป็นร้อยละ 6.4 ของประชากรไทย คาดการณ์ว่าในปีพ.ศ. 2578 จะมีคนเป็นโรคเบาหวานเพิ่มขึ้นอีก 1.1 ล้านคน สถิติการเสียชีวิตจากโรคเบาหวานพบว่า ในแต่ละวันจะมีคนไทยมากกว่า 180 คนเสียชีวิตจากโรคนี้[1] องค์การอนามัยโลกกล่าวว่าจะมีผู้คนตายจากโรคเบาหวานเพิ่มขึ้น 2 เท่าในระหว่างปีค.ศ. 2005-2030 โดยประชากรเกือบครึ่งที่ตายจากโรคเบาหวานจะมีอายุน้อยกว่า 70 ปี[2] การให้ความสำคัญกับการคัดกรองผู้ป่วยเบาหวานจึงเป็นสิ่งที่สำคัญ เพราะจะช่วยป้องกันการดำเนินโรคและช่วยให้ผู้ป่วยตระหนักรู้ระดับกลูโคสในร่างกายของตนเอง ปัจจุบันการตรวจคัดกรองและการดูการดำเนินโรคของโรคเบาหวานยังคงต้องใช้วิธีการเจาะเลือดซึ่งเป็นวิธีที่ทำให้ผู้ป่วยเจ็บตัว ดังนั้นหากมีเครื่องมือที่ช่วยให้การวินิจฉัยเป็นไปได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ รวดเร็ว และผู้ป่วยไม่เจ็บตัวมากก็จะเป็นผลดีต่อวงการแพทย์

โรคปริทันต์อักเสบถูกเสนอให้เป็นภาวะแทรกซ้อนที่ 6 ของโรคเบาหวาน[3] โดยกลไกที่เชื่อมโยงระหว่างโรคเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบ คือ เป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบเรื้อรัง ซึ่งร่างกายจะมีการหลั่งสารไซโตไคน์ต่างๆ หนึ่งในนั้น คือ IL-18[4] จากการศึกษาในปัจจุบันพบว่า IL-18 มีความเกี่ยวข้องกับโรคปริทันต์อักเสบ[5, 6]และภาวะเมตาบอลิกซินโดรมซึ่งเชื่อมโยงกับโรคเบาหวานชนิดที่ 2[7-9] สำหรับการศึกษากลูโคสในน้ำลาย (salivary glucose) พบว่ามีความสัมพันธ์กับพลาสมากลูโคส (plasma glucose) และมีแนวโน้มที่จะนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) สำหรับโรคเบาหวานชนิดที่ 2[10-12] แต่การศึกษาที่กล่าวถึงความสัมพันธ์ของ IL-18 ในน้ำลาย (salivary IL-18) กลูโคสในน้ำลายและสภาวะปริทันต์ของผู้ป่วยยังคงมีอยู่จำกัด

ความมุ่งหมายของงานวิจัย

1) เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของระดับกลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหาร (fasting plasma glucose, FPG) กับระดับกลูโคสในน้ำลายในผู้มีสุขภาพดี ผู้ป่วยเบาหวานที่ควบคุมระดับกลูโคสในเลือดได้ดี และผู้ป่วยเบาหวานที่ควบคุมระดับกลูโคสในเลือดได้ไม่ดี

2) เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของระดับ IL-18 กับระดับกลูโคสในน้ำลายในผู้มีสุขภาพดี ผู้ป่วยเบาหวานที่ควบคุมระดับกลูโคสในเลือดได้ดี และผู้ป่วยเบาหวานที่ควบคุมระดับกลูโคสในเลือดได้ไม่ดี

3) ศึกษาความสัมพันธ์ของอัตราการไหลของน้ำลาย (salivary flow rate) ค่าดัชนีคราบจุลินทรีย์ (plaque index) เปอร์เซ็นต์ตำแหน่งการมีเลือดออกหลังโพรบ (percentage of sites with bleeding on probing) ความลึกของร่องลึกปริทันต์ (probing depth) และค่าระดับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ (periodontal clinical attachment loss) กับระดับกลูโคสและIL-18 ในน้ำลาย

ความสำคัญของงานวิจัย

ในปัจจุบันมีงานวิจัยที่ศึกษาความสัมพันธ์ของระดับกลูโคสในเลือดกับระดับกลูโคสในน้ำลายเป็นจำนวนมาก[10-13] เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการวัดระดับกลูโคสในน้ำลายแทนการเจาะเลือด อย่างไรก็ตามผลการศึกษายังมีความขัดแย้งกันเนื่องด้วย ความแตกต่างของกลุ่มประชากรที่ศึกษาและวิธีการวัดระดับกลูโคสในน้ำลาย

อนึ่ง จากงานวิจัยของ Esposito และคณะ[14] พบว่า เมื่อฉีดกลูโคสเข้าสู่กระแสเลือด จะมีผลทำให้ร่างกายมีการผลิตไซโตไคน์ (cytokine) ต่างๆ ในกระแสเลือดสูงขึ้น รวมถึง IL-18 ด้วย และงานวิจัยของ Techatanawat และคณะ[15] พบว่าระดับของ IL-18 ในน้ำลายมีความสัมพันธ์กับระดับกลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหาร (fasting plasma glucose) อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีการพิสูจน์กลไกความสัมพันธ์ที่แน่ชัดว่าเหตุใดระดับ IL-18 ในน้ำลายจึงสัมพันธ์กับระดับกลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหาร ทำให้คณะผู้วิจัยสนใจศึกษาและพิสูจน์กลไกความสัมพันธ์ของระดับกลูโคสในพลาสมา ระดับกลูโคสในน้ำลายและระดับ IL-18 ในน้ำลาย หากผลการศึกษานี้สำเร็จก็จะสามารถกล่าวได้ว่าระดับ IL-18 ในน้ำลายสามารถเป็น biomarker ของโรคเบาหวานได้อีกตัวหนึ่ง

ขอบเขตการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการวิจัยทางคลินิก (clinical research) เพื่อศึกษาความสัมพันธ์และเปรียบเทียบระดับกลูโคสในเลือด ระดับกลูโคสในน้ำลาย และระดับ IL-18 ในน้ำลาย ในอาสาสมัครกลุ่มผู้มีสุขภาพดีและผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ควบคุมระดับกลูโคสได้ดี และผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ควบคุมระดับกลูโคสได้ไม่ดี

ประชากรที่ใช้ในการวิจัย

ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มารับการรักษาที่คลินิกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จำนวน 44 คน และผู้มีสุขภาพดีที่มารับการตรวจร่างกายที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จำนวน 22 คน ที่มีอายุระหว่าง 30-70 ปี

ตัวแปรที่ศึกษา

ตัวแปรอิสระ

ระดับกลูโคสในเลือด

ดัชนีบ่งชี้สภาวะปริทันต์ อัตราการไหลของน้ำลาย

ตัวแปรตาม

ระดับกลูโคสในน้ำลาย

ระดับ IL-18 ในน้ำลาย

ตัวแปรควบคุม

ยาที่มีผลต่อระดับ IL-18

โรคประจำตัวอื่นๆ นอกจากโรคเบาหวานชนิดที่ 2

นิยามคำศัพท์เฉพาะ

Biomarker หมายถึง สารชีวเคมีที่มีความจำเพาะต่อโรคใดโรคหนึ่งนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้สะท้อนสภาวะร่างกายของมนุษย์ อาจเป็นสารชีวเคมี เช่น ดีเอ็นเอ (deoxyribonucleic acid) อาร์เอ็นเอ (ribonucleic acid) โปรตีน กลูโคส ไซโตไคน์ (cytokine) หรือกรดนิวคลิอิก (nucleic acid) และโปรตีนที่มีความผิดปกติ

Plasma glucose หมายถึง ระดับกลูโคสในพลาสมา

Salivary glucose หมายถึง ระดับกลูโคสในน้ำลาย

Fasting plasma glucose หมายถึง ระดับกลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหารเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 8 ชั่วโมง

HbA1C หมายถึง ระดับกลูโคสเฉลี่ยสะสมในเลือดช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา

Cytokine หมายถึง สารโปรตีนขนาดเล็กที่ถูกหลั่งออกมาจากเซลล์ชนิดต่างๆของร่างกาย ทำหน้าที่จำเพาะในการติดต่อสื่อสารระหว่างเซลล์ มักมีความเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันและกระบวนการอักเสบของร่างกาย

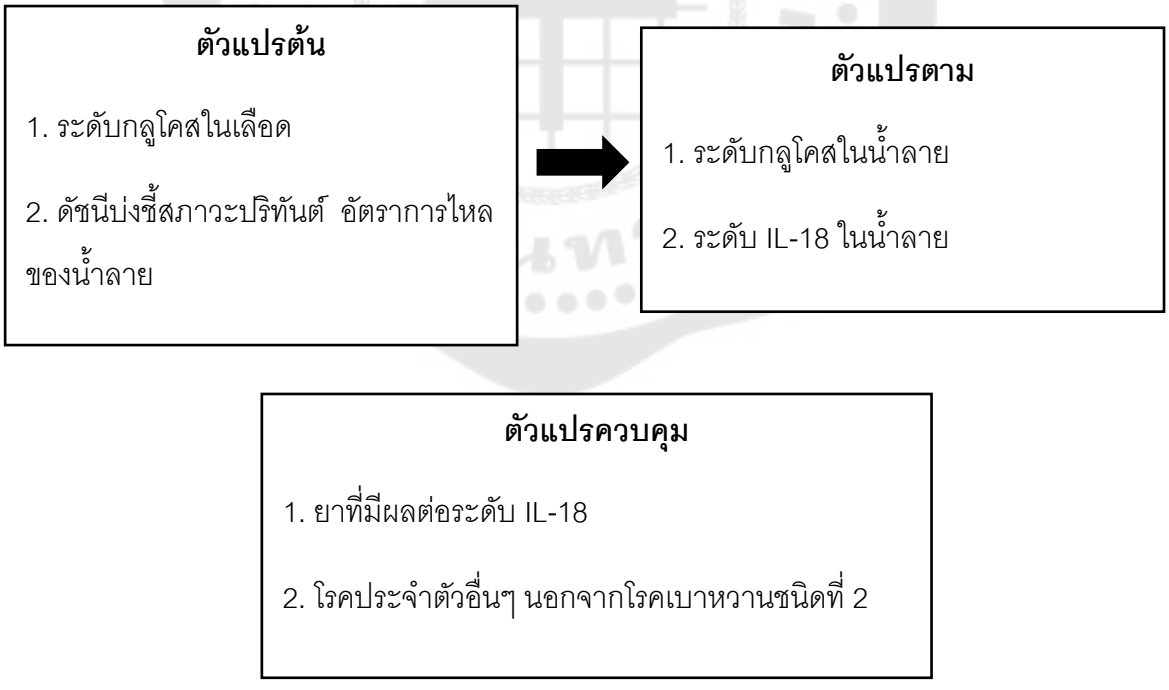
Interleukin หมายถึง สารไซโตไคน์กลุ่มย่อย ถูกหลั่งออกมาจากเซลล์เม็ดเลือดขาว

Type 2 diabetes mellitus หมายถึง โรคเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับการวินิจฉัยตามเกณฑ์ของ American Diabetes Association Professional Practice Committee[16] และไม่เคยรับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 1

Controlled diabetes mellitus หมายถึง ผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ควบคุมระดับกลูโคสได้ดี โดยมีค่า HbA1C < 7%

Uncontrolled diabetes mellitus หมายถึง ผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ควบคุมระดับกลูโคสได้ไม่ดี โดยมีค่า HbA1C ≥ 7%

กรอบแนวคิดงานวิจัย



ภาพประกอบ 1 ตัวแปรต้น ตัวแปรควบคุม และตัวแปรตามที่ต้องการศึกษา

สมมติฐานงานวิจัย

สมมติฐาน 3 ข้อ

1. H_0: ระดับกลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหาร ไม่มีความสัมพันธ์กับระดับกลูโคสในน้ำลาย

   H_1: ระดับกลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหาร มีความสัมพันธ์กับระดับกลูโคสในน้ำลาย

2. H_0: ระดับกลูโคสในน้ำลาย ไม่มีความสัมพันธ์กับระดับ IL-18 ในน้ำลาย

   H_1: ระดับกลูโคสในน้ำลาย มีความสัมพันธ์กับระดับ IL-18 ในน้ำลาย

3. H_0: อัตราการไหลของน้ำลาย และดัชนีบ่งชี้สภาวะปริทันต์ ไม่มีความสัมพันธ์กับระดับกลูโคสและ IL-18 ในน้ำลาย

   H_1: อัตราการไหลของน้ำลาย และดัชนีบ่งชี้สภาวะปริทันต์ มีความสัมพันธ์กับระดับกลูโคสและ IL-18 ในน้ำลาย

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ส่วนที่ 1 โรคเบาหวาน

โรคเบาหวานเป็นความผิดปกติทางเมตะบอลิสมเกิดจากการมีระดับกลูโคสในเลือดสูงซึ่งเป็นผลมาจากอินซูลินที่ไม่สามารถหลั่งหรือทำงานได้ตามปกติ[17] โดยโรคเบาหวานจะเกิดเป็นโรคเรื้อรังก็ต่อเมื่อตับอ่อนไม่สามารถสร้างอินซูลินได้อย่างเพียงพอหรือในอีกทางหนึ่งคือร่างกายไม่สามารถใช้อินซูลินที่สร้างขึ้นมาได้[2]

ชนิดของโรคเบาหวาน

โรคเบาหวานแบ่งเป็น 4 ชนิดตามสาเหตุของการเกิดโรค[2, 17, 18]

1. โรคเบาหวานชนิดที่ 1 (type 1 diabetes mellitus, T1DM) ร่างกายไม่สามารถสร้างอินซูลินได้ซึ่งเป็นผลมาจากระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายที่เบต้าเซลล์ของตับอ่อนถูกทำลาย

2. โรคเบาหวานชนิดที่ 2 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) ร่างกายไม่สามารถใช้อินซูลินได้ ทำให้เกิดภาวะดื้อต่ออินซูลินส่งผลให้อินซูลินหลั่งผิดปกติหรือทำงานบกพร่อง ร้อยละ 90 ของผู้ป่วยที่เป็นเบาหวานชนิดนี้เป็นผลมาจากภาวะน้ำหนักเกินและไม่ออกกำลังกาย

3. โรคเบาหวานขณะตั้งครรภ์ (gestational diabetes mellitus, GDM)

4. โรคเบาหวานที่มีสาเหตุจำเพาะ (specific types of diabetes due to other causes)

การวินิจฉัยโรคเบาหวานและเป้าหมายการรักษา

ทำได้โดยใช้วิธีใดวิธีหนึ่งใน 4 วิธี ดังต่อไปนี้[18] (ตาราง 1)

1. ผู้ที่มีประวัติอาการของโรคเบาหวานชัดเจนคือ หิวน้ำบ่อย ปัสสาวะบ่อยและมาก น้ำหนักตัวลดลงโดยที่ไม่มีสาเหตุ สามารถตรวจระดับกลูโคสโดยวิธีการสุ่มวัดระดับพลาสมากลูโคสที่เวลาใดๆ (random plasma glucose) แล้วมีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 200 มก./ดล.

2. ตรวจระดับพลาสมากลูโคสตอนเช้าหลังงดอาหารข้ามคืนมากกว่า 8 ชั่วโมง (fasting plasma glucose) ได้ค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 126 มก./ดล. วิธีนี้เหมาะสำหรับคนทั่วไปที่มาตรวจสุขภาพและผู้ที่ไม่มีอาการ

3. การทดสอบความทนต่อกลูโคส (75 กรัม Oral Glucose Tolerance Test, OGTT) ถ้าระดับพลาสมากลูโคสที่ 2 ชั่วโมง หลังดื่มกลูโคส 75 กรัม มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 200 มก./ดล. ให้วินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวาน วิธีนี้มักใช้ในงานวิจัยเนื่องจากผลการตรวจมีความไว (sensitivity) แต่ความจำเพาะ (specificity) ไม่ดีนัก

4. ตรวจวัดระดับฮีโมโกลบินเอวันซี (HbA1C) ถ้าค่าเท่ากับหรือมากกว่า 6.5% ให้การวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวาน วิธีนี้นิยมใช้มากขึ้นในปัจจุบัน เพราะไม่จำเป็นต้องอดอาหาร

สำหรับผู้ที่ไม่มีอาการของโรคเบาหวานชัดเจนแนะนำให้ตรวจเลือดซ้ำโดยวิธีเดิม แต่ต่างวันกันอีกครั้งหนึ่งเพื่อยืนยันและป้องกันความผิดพลาดจากผลการตรวจห้องปฏิบัติการ

ตาราง 1 สรุปการแปลผลระดับพลาสมากลูโคสและ HbA1C เพื่อการวินิจฉัย

วิธีการตรวจกลูโคส	**ค่าปกติ**	**ค่าระดับกลูโคสในเลือดที่เพิ่มความเสี่ยงการเป็นโรคเบาหวาน**		**ค่าระดับกลูโคสโรคเบาหวาน**
		Impaired fasting glucose (IFG)	Impaired glucose tolerance (IGT)	
พลาสมากลูโคสขณะอดอาหาร (Fasting plasma glucose)	<100 มก./ดล.	100-125 มก./ดล.	-	≥126 มก./ดล.
พลาสมากลูโคสที่ 2 ชั่วโมง หลังดื่มน้ำตาลกลูโคส 75 กรัม 2 h-PG (OGTT)	<140 มก./ดล.	-	140-199 มก./ดล.	≥200 มก./ดล.
พลาสมากลูโคสที่เวลาใดๆในผู้ที่มีอาการชัดเจน	-	-	-	≥200 มก./ดล.
ฮีโมโกลบินเอวันซี (HbA1C)	<5.7%	5.7-6.4%		≥6.5%

เป้าหมายการรักษาโรคเบาหวาน แบ่งเป็น 3 กลุ่มตามระดับความเข้มงวดในการควบคุม ได้แก่ กลุ่มควบคุมเข้มงวดมาก กลุ่มควบคุมเข้มงวดและกลุ่มควบคุมไม่เข้มงวด (ตาราง 2)

ตาราง 2 สรุปเป้าหมายการควบคุมเบาหวานสำหรับผู้ใหญ่

ค่าระดับกลูโคสของผู้ป่วยเบาหวาน	เป้าหมายการควบคุมระดับกลูโคสในเลือด		
	ควบคุมเข้มงวดมาก	ควบคุมเข้มงวด	ควบคุมไม่เข้มงวด
ระดับพลาสมากลูโคสขณะอดอาหาร	>70-110 มก./ดล.	80-130 มก./ดล.	140-170 มก./ดล.
ระดับพลาสมากลูโคสหลังอาหาร 2 ชั่วโมง	<140 มก./ดล.	-	-
ระดับพลาสมากลูโคสสูงสุดหลังอาหาร	-	<180 มก./ดล.	-
HbA1C (% of total hemoglobin)	<6.5%	<7.0%	7.0-8.0%

สถานการณ์โรคเบาหวานในปัจจุบัน

ในปีค.ศ. 2030 คาดการณ์ว่าจะมีผู้ป่วยเบาหวานเพิ่มขึ้นเป็น 552 ล้านคน โดยผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 จะมีจำนวนเพิ่มขึ้นในทุกประเทศ และร้อยละ 80 ของผู้ป่วยเบาหวานจะอาศัยอยู่ในประเทศที่มีรายได้อยู่ระดับต่ำถึงปานกลาง ในปีค.ศ. 2011 ที่ผ่านมาโรคเบาหวานทำให้มีคนตายจำนวน 4.6 ล้านคน[19] องค์การอนามัยโลกกล่าวว่าจะมีคนตายจากโรคเบาหวานเป็น 2 เท่า ระหว่างปีค.ศ. 2005-2030 ผู้คนเกือบครึ่งที่ตายจากโรคเบาหวานจะมีอายุน้อยกว่า 70 ปี[2]

ปัจจุบันมีคนไทย 3.2 ล้านคนเป็นโรคเบาหวานซึ่งมีค่าเป็นร้อยละ 6.4 ของประชากรไทย คาดการณ์ว่าในปีพ.ศ. 2578 จะมีคนเป็นโรคเบาหวานเพิ่มขึ้นอีก 1.1 ล้านคน สถิติการเสียชีวิตจากโรคเบาหวานพบว่า ในแต่ละวันจะมีคนไทยมากกว่า 180 คนเสียชีวิตจากโรคนี้[1]

สิ่งที่ท้าทายคือในปัจจุบันมีประชากรไทย 4.1 ล้านคนมีความเสี่ยงสูงที่จะเป็นโรคเบาหวาน (ระยะก่อนเป็นเบาหวาน) การคัดกรองหาผู้ป่วยเบาหวานในระยะเริ่มแรกที่ยังไม่มีอาการจึงมีความสำคัญ เพราะเป็นการช่วยชะลอการเกิดโรครวมถึงภาวะแทรกซ้อนอื่นๆของโรคเบาหวาน แต่ทั้งนี้ต้องได้รับการวินิจฉัยหรือรักษาอย่างเหมาะสม[1]

ภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน

มีงานวิจัยทางระบาดวิทยาแสดงให้เห็นว่าภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวานจะพบเป็นสัดส่วนสัมพันธ์กับระดับความรุนแรงและระยะเวลาของการเกิดภาวะกลูโคสในเลือดสูง[20]

ภาวะโรคแทรกซ้อนของโรคเบาหวานเป็นผลมาจากระดับกลูโคสในเลือดที่สูงมาเป็นระยะเวลานานจากการที่ไม่สามารถคุมโรคเบาหวานได้ ได้แก่ ความผิดปกติของตา (retinopathy) ความผิดปกติของเส้นประสาทส่วนปลาย (neuropathy) การตัดอวัยวะที่เป็นส่วนแขน ขาหรือส่วนอื่นๆ (limb amputation) ไตวาย (kidney failure) และโรคหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular disease)[2] นอกจากภาวะแทรกซ้อนทางกายแล้วยังสามารถเกิดภาวะแทรกซ้อนในช่องปากได้ด้วย เช่น โรคปริทันต์อักเสบ โรคฟันผุ ภาวะปากแห้ง น้ำลายน้อย การติดเชื้อราในช่องปาก การรับรสและประสาทสัมผัสที่ผิดปกติ เป็นต้น[3, 21]

ความสัมพันธ์ของโรคเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบ

ในปี 1993 Loe เสนอว่าโรคปริทันต์อักเสบเป็นภาวะแทรกซ้อนข้อที่ 6 ของโรคเบาหวานมีหลักฐานแสดงว่าการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะปริทันต์เป็นลักษณะอาการอย่างหนึ่งของโรคเบาหวาน[3] ปี 2008 Taylor และ Borynakke ระบุว่าโรคปริทันต์อักเสบเป็นปัจจัยเสี่ยงสำหรับผู้ป่วยเบาหวานที่ไม่สามารถควบคุมระดับกลูโคสได้ ความสัมพันธ์ของโรคเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบเป็นความสัมพันธ์แบบ 2 ทิศทาง[22, 23] กล่าวคือ โรคเบาหวานทำให้โรคปริทันต์อักเสบรุนแรงขึ้น ในทางกลับกันการเป็นโรคปริทันต์อักเสบมีผลทำให้การควบคุมระดับกลูโคสแย่ลง[3]

โรคปริทันต์อักเสบเป็นโรคที่มีความชุกและรุนแรงมากในผู้ป่วยเบาหวานมากกว่าผู้ที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน มีงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าโรคเบาหวานกระตุ้นให้เกิดโรคปริทันต์อักเสบผ่านระบบการตอบสนองต่อกระบวนการอักเสบที่มากเกินไปของร่างกายต่อเชื้อโรคปริทันต์[3] โดยผลของโรคเบาหวานส่งผลต่ออวัยวะปริทันต์คือ[23] ทำให้เซลล์ภูมิคุ้มกันทำงานเปลี่ยนแปลงไป เช่น มีผลทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวนิวโทรฟิล (neutrophil) ไม่สามารถยึดเกาะ (adherence) รบกวนกระบวนการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดขาว (chemotaxis) และกระบวนการทำลายเชื้อโรคหรือสิ่งแปลกปลอม (phagocytosis) ส่งผลให้มีการทำลายของอวัยวะปริทันต์มากขึ้น นอกจากนี้ยังทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเมตาบอลิสมของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ได้แก่ การยับยั้งการพัฒนาของเซลล์กระดูกตัวอ่อน (osteoblastic cell proliferation) ทำให้การสร้างกระดูกลดลง การยับยั้งการสร้างคอลลาเจน (collagen) ทำให้การหายของแผลช้าลง และทำให้มีการสร้างผลผลิตสุดท้ายแอดวานซ์ไกลเคชั่น (advanced glycation end products/AGEs) มากขึ้น ทำให้เพิ่มการสร้างสารไซโตไคน์ตั้งต้นของกระบวนการอักเสบ (proinflammatory cytokines) มากขึ้น มีผลทำให้ความรุนแรงของโรคมากขึ้น

มีงานวิจัยหลายงานที่ศึกษาผลของโรคปริทันต์อักเสบต่อการควบคุมระดับกลูโคสในเลือดของผู้ป่วยโรคเบาหวาน การศึกษาดังกล่าวมีความซับซ้อนในการทดลอง เนื่องมาจากผลของยาเบาหวานที่ผู้ป่วยได้รับทำให้ไม่สามารถสรุปผลการศึกษาหรืออธิบายกลไกของโรคปริทันต์อักเสบต่อโรคเบาหวานได้อย่างชัดเจน แต่เชื่อว่ากระบวนการอักเสบของร่างกายเป็นกลไกสำคัญที่มีผลต่อภาวะการตอบสนองของเซลล์ต่ออินซูลิน (insulin sensitivity) และต่อภาวะการเปลี่ยนแปลงของระดับกลูโคส (glucose dynamic)[24] จากหลักฐานพบว่าโรคปริทันต์อักเสบสามารถเหนี่ยวนำหรือทำให้การอักเสบของร่างกายเป็นแบบเรื้อรัง โดยทำให้ระดับ C-reactive protein (CRP) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อตอบสนองต่อการอักเสบ อินเตอร์ลิวคิน 6 (IL-6) ไฟบริโนเจน (fibrinogen) ในเลือดเพิ่มสูงขึ้น เมื่อเกิดภาวะการอักเสบทั่วร่างกายจะเพิ่มความต้านทานของเนื้อเยื่อ (tissue resistance) ต่ออินซูลิน โดยผ่านกลไกหลายทางเพื่อป้องกันไม่ให้กลูโคสเข้าเซลล์เป้าหมาย (target cells) ร่างกายจึงต้องเพิ่มการสร้างอินซูลินจากตับอ่อนเพื่อคงให้ร่างกายเกิดภาวะระดับกลูโคสในเลือดใกล้เคียงกับสภาวะปกติมากที่สุด (normoglycemia)

สำหรับการติดเชื้อปริทันต์อักเสบเป็นการติดเชื้อแบคทีเรียแกรมลบแบบเรื้อรัง ทั้งเชื้อและผลิตภัณฑ์ของเชื้อมีผลต่อการควบคุมการอักเสบ การเพิ่มขึ้นของสารตั้งต้นของกระบวนการอักเสบ (proinflammatory mediator) เช่น อินเตอร์ลิวคิน1 เบต้า (IL-1β), ทูเมอร์เนคโครซิส แฟคเตอร์ อัลฟา (TNF-α) และอินเตอร์ลิวคิน6 (IL-6) ในเลือดคล้ายกับการติดเชื้อในร่างกาย (systemic infection) มีผลทำให้เพิ่มภาวะดื้อต่ออินซูลิน (insulin resistance) และทำให้การควบคุมระดับกลูโคสในเลือดแย่ลง[24]

การรักษาโรคปริทันต์อักเสบจะช่วยลดเชื้อแบคทีเรียและลดการติดเชื้อในร่างกาย เพิ่มภาวะการตอบสนองของเซลล์ต่ออินซูลิน จนสุดท้ายส่งผลให้การควบคุมค่าระดับกลูโคสในเลือดดีขึ้น[24]

มีงานวิจัยที่พบว่าโรคปริทันต์อักเสบส่งผลต่อการควบคุมระดับกลูโคสของคนไข้โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ป่วยที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบแบบรุนแรงมีความเสี่ยงที่จะควบคุมระดับกลูโคสได้ไม่ดี[4]

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่สนใจศึกษาว่าโรคปริทันต์อักเสบมีส่วนทำให้เกิดโรคเบาหวานหรือไม่ โดยศึกษาดูผลของโรคปริทันต์อักเสบต่อการเปลี่ยนแปลงค่าระดับกลูโคสเฉลี่ยสะสมในเลือดช่วง 3 เดือน (HbA1C) การศึกษาดังกล่าวทำการติดตามดูอาสาสมัครที่ยังไม่มีอาการของโรคเบาหวานเป็นระยะเวลา 5 ปี ผลพบว่าอาสาสมัครที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบแบบ

รุนแรงมีความเสี่ยงเพิ่มเป็น 5 เท่าที่จะมีค่า HbA1C สูงภายในระยะเวลา 5 ปีต่อมาเมื่อเทียบกับอาสาสมัครที่ไม่มีโรคปริทันต์อักเสบในเริ่มแรก และมีงานวิจัยที่รายงานว่าโรคปริทันต์อักเสบสามารถทำนายการดำเนิน (progression) ของค่า HbA1C ได้ด้วย[4]

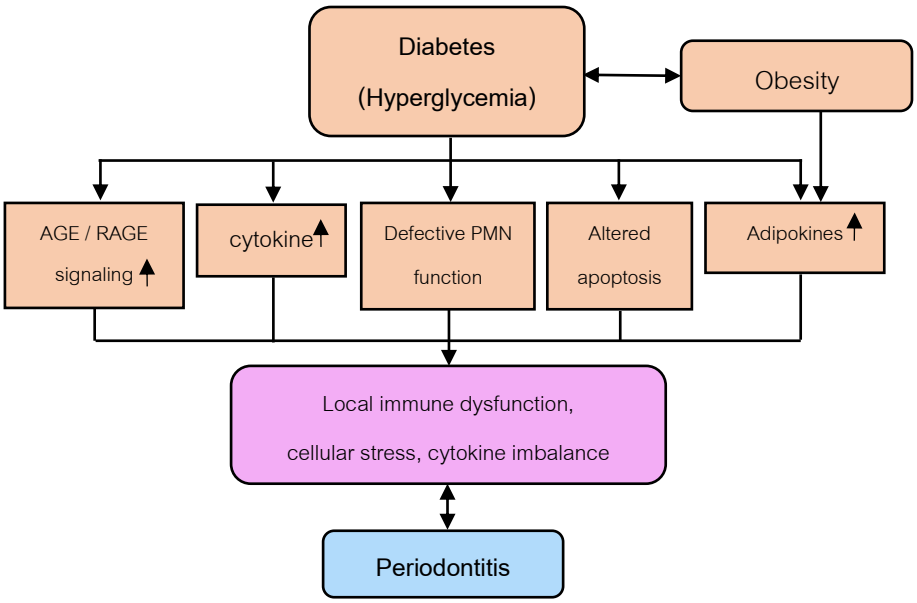
กลไกที่เชื่อมโยงโรคเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบ คือการตอบสนองต่อการอักเสบซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะที่เกิดจากการหลั่งสารสื่อกลาง (mediator) ของโฮสที่ผิดปกติ สารเหล่านั้นได้แก่ IL-1β IL-6 พรอสตาแกลนดินอีทู(prostaglandin E2) TNF-α แอคทีเวเตอร์ออฟ นิวเคลียร์ แฟคเตอร์ แคปปา บีไลแกนด์ (activator of nuclear factor KB ligand/ RANKL) เมทริกเมทัลโลโปรติเอส1,8,9 (matrix metalloproteinase/ MMP-1, MMP-8, MMP-9) รวมถึงไซโตไคน์กลุ่มเรกูลาทรีเซลล์อินเตอร์ลิวคิน12,18 (cell regulatory cytokine IL-12, IL-18) และสารคีโมไคน์ (chemokines) โดยสารอักเสบเหล่านี้เป็นลักษณะพยาธิสภาพที่เกิดร่วมกันระหว่างโรคทั้ง 2 โรคคือโรคเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบ[4]

โรคเบาหวานชนิดที่ 2 เกี่ยวข้องกับระดับสารสื่อกลางทางระบบ (systemic mediator) ที่สูงทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนทางร่างกายทั้งระดับ micro และ macrovascular และเป็นที่แน่ชัดว่าระดับกลูโคสในเลือดที่สูงส่งผลให้เกิดการกระตุ้น pathway ที่เพิ่มการอักเสบ เพิ่ม oxidative stress และเพิ่มการเกิดการตายของเซลล์แบบ apoptosis[4]

การเพิ่มขึ้นของระดับ IL-6 และ TNF-α ในเลือดสามารถพบได้ในผู้ป่วยโรคเบาหวานและโรคอ้วน การเพิ่มขึ้นของระดับ IL-6 และ CRP ในเลือดใช้ในการทำนายการเกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ในอนาคตได้ โดยพบว่า CRP มีความเกี่ยวข้องกับภาวะดื้อต่ออินซูลิน (insulin resistance) โรคเบาหวานชนิดที่ 2 และโรคหัวใจและหลอดเลือด นอกจากนี้ยังพบว่า TNF-α และ IL-6 เป็นตัวเหนี่ยวนำหลักของ acute-phase protein ซึ่งเกี่ยวข้องกับ impair intracellular insulin signaling ที่มีแนวโน้มที่จะทำให้เกิดภาวะดื้อต่ออินซูลิน[4]

นอกจากนี้ค่า IL-6 และ CRP ในเลือดที่สูงยังถูกพบได้ในผู้ป่วยปริทันต์อักเสบด้วย โดยพบว่าระดับ IL-6 สัมพันธ์กับการดำเนินของโรค (extent of disease) ดังนั้นการอักเสบของโรคปริทันต์จึงเพิ่มสภาวะการอักเสบของร่างกาย ส่งผลให้ความรุนแรงของโรคเบาหวานเพิ่มขึ้น นอกจากนี้สารอดิโพไคน์ (adipokine) อาจทำให้ความเสี่ยงทั้งโรคปริทันต์อักเสบและโรคเบาหวานสูงขึ้น[4]

มีการตั้งสมมติฐานกลไกความสัมพันธ์ระหว่างโรคเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบว่ามีกระบวนการอักเสบเป็นตัวเชื่อมโยงความสัมพันธ์ (ภาพประกอบ 2)



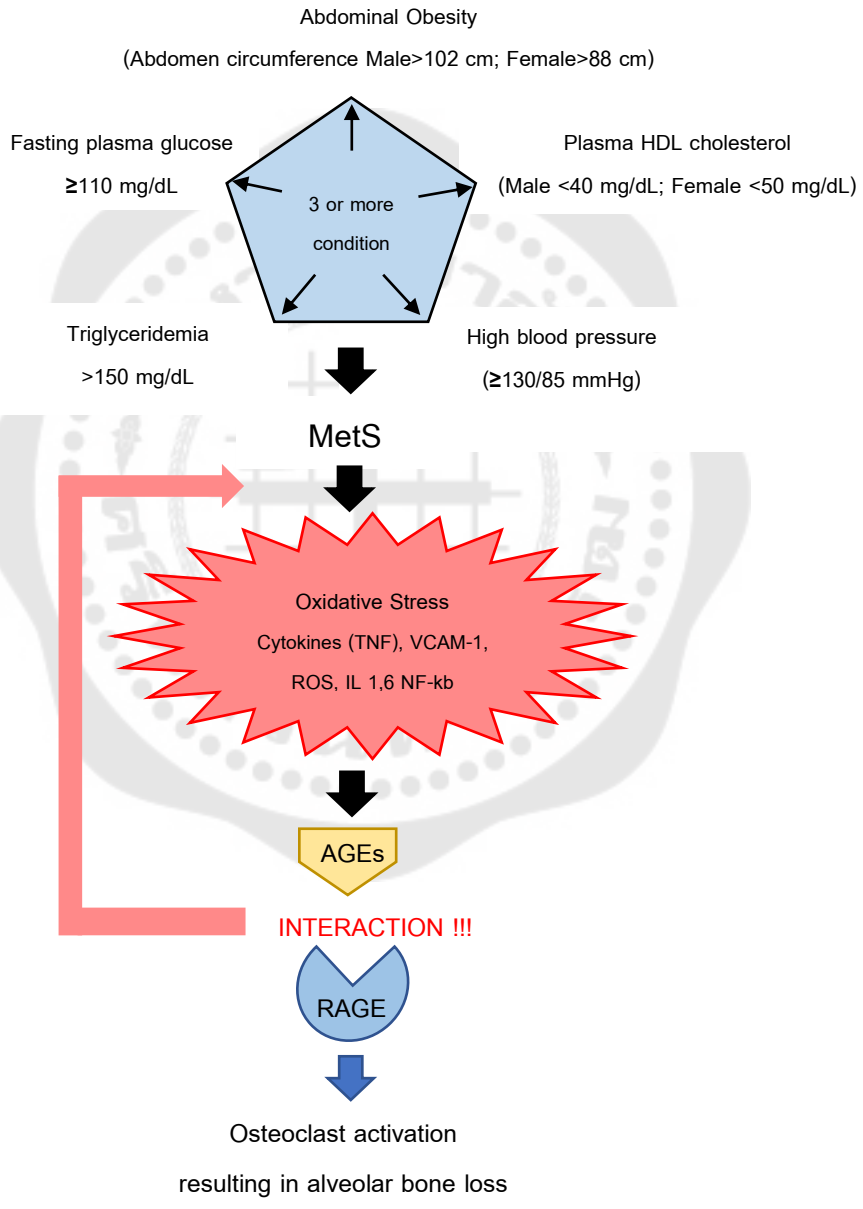
ภาพประกอบ 2 กลไกการเชื่อมโยงของโรคเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบ

การสะสมผลผลิตสุดท้ายแอดวานซ์ไกลเคชั่น (advanced glycation end products/ AGE) ในเนื้อเยื่อปริทันต์เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการควบคุมการอักเสบของโรคปริทันต์ในผู้ป่วยเบาหวาน การจับของ AGE กับ ตัวรับจำเพาะของ AGE ที่ชื่อ Receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) ส่งผลต่อการควบคุมการสร้างสารตัวกลางอักเสบ เช่น IL-1 β, TNF- α และ IL-6 นอกจากนี้การสะสมของ AGE ยังส่งผลต่อการสร้างสารอนุมูลอิสระ (Reactive oxygen species/ ROS) และเพิ่ม oxidative stress ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อเซลล์บุผนังหลอดเลือด (endothelial cell changes) ซึ่งส่งผลต่อการบาดเจ็บของหลอดเลือด (vascular injury) ในภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน (ภาพประกอบ 3)

AGE เป็นสารประกอบที่เกิดจากความบกพร่องของระบบ cellular clearance ภาวะกลูโคสในเลือดสูง และ oxidative stress โดย AGE จะถูกสร้างผ่านเอนไซม์ pathway จากน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide substance) เช่น กลูโคส ฟรักโทสและไดคาร์บอนิล (dicarbonyls) จาก Millard's reaction, sugar oxidative และ molecular pathway อื่นๆ เช่น glycolysis ที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง glyoxal และ methylglyoxal[20]

AGE เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเบาหวาน โดยตลอดช่วงชีวิตของมนุษย์ AGE จะถูกสร้างและสะสมในเนื้อเยื่อและพลาสมา โดยสารนี้จะทำให้เกิดพยาธิสภาพโดยตรงโดยการทำลายเนื้อเยื่อ ส่วนทางอ้อมจะจับกับตัวรับจำเพาะ (specific receptor) ที่เรียกว่า Receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) ซึ่งเป็น receptor ที่เกี่ยวข้องกับอิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulins)[20]

เมื่อ AGE และ RAGE จับกันจะกระตุ้นสัญญาณของกระบวนการอักเสบเริ่มต้น (proinflammatory signaling) ที่จะกระตุ้น redox-sensitive transcription factor เช่น Nuclear factor-KB (NF-KB) ปฏิกิริยานี้จะสัมพันธ์กับ hyper permeability ของเยื่อบุผนังหลอดเลือดและกระตุ้น vascular cell adhesion molecule (VCAM-1) เพิ่มการหลั่งไซโตไคน์ เช่น TNF IL-1 IL-6 ส่งผลให้ลดกระบวนการสร้างคอลลาเจน รวมทั้งทำให้โรคปริทันต์อักเสบรุนแรงขึ้น[20]



ภาพประกอบ 3 สมมติฐานแสดงความสัมพันธ์ของ ROS กับ AGE

ส่วนที่ 2 น้ำลาย

บทบาทของน้ำลายในการวินิจฉัยโรคในช่องปากและโรคทางระบบ

การวินิจฉัยโรคเบาหวานโดยการตรวจวัดระดับกลูโคสในเลือดถือเป็นการตรวจแบบมาตรฐาน แต่การตรวจวิธีดังกล่าวมีข้อเสียคือต้องเจาะเลือดมาตรวจซึ่งทำให้เกิดความล่าช้าและทำให้ผู้ป่วยรู้สึกเจ็บปวด ในปัจจุบันมีการศึกษาองค์ประกอบในน้ำลายอย่างแพร่หลาย เช่น กลูโคส ไขมัน โปรตีน สารอักเสบ สารอิเล็กโทรไลต์ เป็นต้น องค์ประกอบที่หลากหลายของน้ำลาย มีบทบาทต่อการมีสภาวะสุขภาพช่องปากที่ดี มีการศึกษาที่พบว่าสารชีวเคมีที่เป็นองค์ประกอบในน้ำลายสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) ของโรคหลายชนิดได้ ทั้งโรคทางระบบและโรคทางช่องปาก[25] เช่นโรคเบาหวานและโรคปริทันต์อักเสบ มีการศึกษาที่พบว่าโปรตีนหรือไซโตไคน์บางชนิดสามารถพบได้ทั้งในเลือดและในน้ำลาย[15,26] องค์ประกอบที่พบในเลือดสามารถพบได้ในน้ำลายด้วย[27] ทำให้มีความเป็นไปได้ว่า การวัดระดับสารชีวเคมีและสารที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันในน้ำลายอาจสะท้อนระดับสารนั้นๆในเลือดได้[28] น้ำลายจึงเปรียบเสมือนกระจกสะท้อนสุขภาวะของร่างกาย

การศึกษาตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของโรคเบาหวาน

สำหรับโรคเบาหวาน มีการศึกษาที่ใช้การตรวจกลูโคสในน้ำลายผู้ป่วยแทนการเจาะเลือด โดยอธิบายกลไกที่ระดับกลูโคสในเลือดสัมพันธ์กับระดับกลูโคสในน้ำลายว่า ผู้ป่วยเบาหวานจะมีภาวะกลูโคสในเลือดสูงซึ่งจะทำให้หลอดเลือดและเยื่อฐานเซลล์ (basement membrane) ของต่อมน้ำลายเกิดการเปลี่ยนแปลง กลูโคสที่มีโมเลกุลขนาดเล็กจึงสามารถซึมผ่านเยื่อบุผิว (membrane) ทำให้เกิดการเคลื่อนย้ายของกลูโคสจากเลือดไปยังน้ำลายและน้ำเหลืองเหงือก (gingival crevicular fluid) ได้[10,25] มีงานวิจัยหลายงานที่แสดงให้เห็นความสัมพันธ์ระหว่างระดับกลูโคสในเลือดและน้ำลาย โดยพบว่า ระดับกลูโคสในน้ำลายของผู้ป่วยเบาหวานมีค่าสูงกว่าผู้ที่มีสุขภาพดี[11,12] จากการศึกษาของ Lasisi และ Fasanmade พบว่าระดับความเข้มข้นกลูโคสในน้ำลายของผู้ป่วยเบาหวานมีค่าสูงกว่าเมื่อเทียบกับผู้ที่ไม่เป็นโรคเบาหวานอย่างเป็นอิสระต่อภาวะการมีหรือไม่มีโรคปริทันต์อักเสบ การศึกษาเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของระดับกลูโคสในน้ำลายนั้นขึ้นกับความเข้มข้นของกลูโคสในซีรัม[29] อย่างไรก็ตามมีการศึกษาที่แสดงผลขัดแย้งว่า ระดับกลูโคสในเลือดและน้ำลายของผู้ป่วยเบาหวานไม่มีความสัมพันธ์กัน[10,13] นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่พบว่าชนิดของโรคเบาหวานส่งผลต่อความสัมพันธ์ของระดับกลูโคสในเลือดและน้ำลาย โดยผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 สามารถพบความเข้มข้นของระดับกลูโคสในน้ำลายได้ทั้ง 2 แบบคือค่าสูงหรือค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุม (ผู้ที่มีสุขภาพดี) ส่วน

ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 พบว่าความเข้มข้นของระดับกลูโคสในน้ำลายมีค่าสูงกว่าผู้ที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน[10]

Esposito และคณะ ได้ทดลองกระตุ้นให้ร่างกายเกิดภาวะระดับกลูโคสในเลือดสูงอย่างฉับพลันจากการให้กลูโคสทางเส้นเลือด ผลพบว่าระดับกลูโคสที่เพิ่มสูงขึ้นส่งผลต่อร่างกายโดยทำให้ระดับ cytokine ในเลือด ซึ่งได้แก่ tumor necrosis factor (TNF), IL-6 และ IL-18 มีระดับที่สูงขึ้น[14]

IL-18 เป็นไซโตไคน์ที่มีการรายงานว่ามีความเกี่ยวข้องกับโรคปริทันต์อักเสบ[5, 6] โดยพบว่ามีระดับ IL-18 ที่สูงขึ้นทั้งในเลือดและในน้ำลายของผู้ป่วยที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบเมื่อเทียบกับผู้ที่มีสุขภาพดี[5] และมีการศึกษาหนึ่งพบว่า ระดับ IL-18 สูงขึ้นทั้งในน้ำเหลืองเหงือกและน้ำลายของผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบ และเสนอว่า IL-18 เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพสำหรับโรคปริทันต์อักเสบ[6]

นอกจาก IL-18 จะมีความเกี่ยวข้องกับโรคปริทันต์อักเสบแล้วยังมีหลักฐานแสดงความเกี่ยวข้องกับภาวะเมตาบอลิกซินโดรม ซึ่งเชื่อมโยงกับโรคเบาหวานชนิดที่ 2[30, 31]

เมตาบอลิกซินโดรม (Metabolic syndrome) เป็นภาวะปัจจัยเสี่ยงที่สามารถพบได้ในกลุ่มประชากรที่เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 และโรคหลอดเลือดหัวใจ โดยกลุ่มอาการของภาวะเมตาบอลิกซินโดรมประกอบด้วย central obesity, elevated blood pressure, raise fasting glucose, raise levels of triglycerides และ low level of high-density lipoprotein cholesterol โดยผู้ที่มีองค์ประกอบ อย่างน้อย 3 ใน 5 ข้อนี้จะถูกวินิจฉัยเป็นเมตาบอลิกซินโดรม[31]

นอกจากนี้ มีผลการศึกษาหลายงานพบว่า IL-18 มีความเกี่ยวข้องกับภาวะอ้วน (obesity)[30, 32-34] ภาวะดื้อต่ออินซูลิน (insulin resistance)[35-37] ความดันโลหิตสูง (hypertension)[38] และไขมันในเลือดสูง (dyslipidemia)[30, 33] โดยงานวิจัยของ Presta และคณะ แสดงให้เห็นว่าระดับ IL-18 ในซีรัมมีความเกี่ยวข้องกับภาวะการตอบสนองของเซลล์ต่ออินซูลินที่แย่ลง (impaired insulin sensitivity) และการเกิดเมตาบอลิกซินโดรม[39] งานวิจัยแบบตัดขวาง (cross-sectional studies) 3 งาน พบว่าผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 จะมีระดับ IL-18 ในเลือดเพิ่มสูงขึ้น และยังพบว่าผู้ป่วยมีแนวโน้มที่จะมีพยาธิสภาพที่หลอดเลือดฝอย (microangiopathy) เช่น พยาธิสภาพของหลอดเลือดขนาดเล็กที่ไต (nephropathy) ร่วมด้วย[7, 36, 40] นอกจากนี้ในงานวิจัยที่ศึกษาไปข้างหน้า (prospective cohort) 2 งาน แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของระดับ IL-18 สามารถทำนายการเกิดเบาหวานชนิดที่ 2 ได้[8, 9]

อย่างไรก็ตาม งานวิจัยของ Techatanawat และคณะ พบว่า ระดับ IL-18 ในน้ำลายมีความสัมพันธ์กับระดับกลูโคสในเลือดของผู้ป่วยอย่างเป็นอิสระต่อสภาวะปริทันต์ กล่าวคือ ระดับ IL-18 ในน้ำลายสัมพันธ์ทางบวกกับระดับกลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหาร (FPG) นอกจากนี้ยังพบว่าระดับ IL-18 ในเลือดมีความสัมพันธ์ทางบวกกับค่าระดับกลูโคสเฉลี่ยสะสมในเลือดช่วง 3 เดือน (HbA1C) เมื่อทำการควบคุมปัจจัยอื่น ได้แก่ อายุ เพศ การทำงานของไตสภาวะปริทันต์[15]

แต่ในงานวิจัยนี้มีข้อจำกัดบางส่วน คือ

1. ผู้เข้าร่วมการทดลองที่มีโรคประจำตัวเป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ที่สามารถควบคุมระดับกลูโคสได้ค่อนข้างดีกำลังได้รับยาควบคุม ดังนั้นผลของระดับกลูโคสในเลือดต่อระดับไซโตไคน์อาจจะแสดงผลออกมาได้ไม่ชัดเจน

2. ในงานวิจัยนี้ใช้ค่า periodontal screening index (PSR) เพื่อคัดกรองสภาวะปริทันต์ของผู้ป่วย ซึ่งดัชนี PSR นี้อาจไม่ใช่ตัวชี้วัดทางปริทันต์ที่มีความแม่นยำเมื่อเทียบกับตัวชี้วัดทางปริทันต์ตัวอื่น

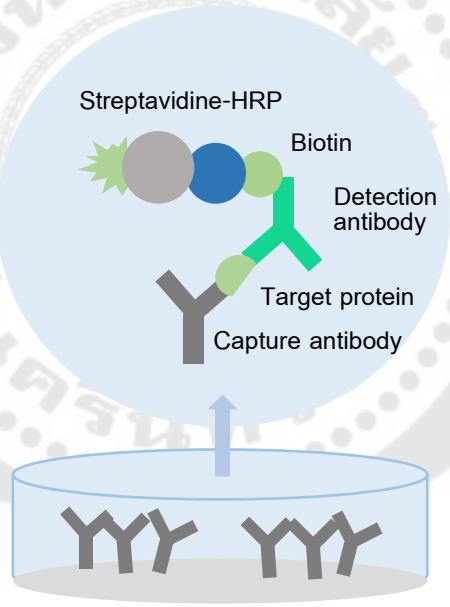
ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาระดับ IL-18 ในน้ำลาย ทั้งของผู้มีสุขภาพดี ผู้ป่วยเบาหวานที่ควบคุมระดับกลูโคสในเลือดได้ดี และผู้ป่วยเบาหวานที่ควบคุมระดับกลูโคสในเลือดได้ไม่ดีร่วมด้วย เพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างระดับกลูโคสในเลือด ระดับกลูโคสในน้ำลายและระดับ IL-18 ในน้ำลาย และทำการวัดความลึกของร่องเหงือกทั้ง 6 ตำแหน่งแทนการใช้ดัชนี PSR เพื่อเป็นตัวแทนสภาวะปริทันต์ของผู้ป่วยที่ใกล้เคียงมากที่สุด

ส่วนที่ 3 หลักการ ELISA และ glucose assay

หลักการของ ELISA

ELISA ย่อมาจาก enzyme-linked immunosorbent assay หรือเรียกว่า enzyme immunoassay (EIA) เป็นการใช้แอนติบอดี (antibodies) ในการตรวจหาแอนติเจนที่ต้องการ (target antigen) โดยใช้ปฏิกิริยาแอนติเจนและแอนติบอดีที่มีความจำเพาะสูง

ในการวิเคราะห์ผลด้วย ELISA ตัวแอนติเจนจะถูกทำให้อยู่นิ่ง (immobilized) บนพื้นผิว (solid surface) ซึ่งทำได้โดยวิธีทางตรง (direct) หรือผ่านการใช้แคปเจอร์แอนติบอดี (capture antibody) ที่ถูกทำให้อยู่นิ่งบนพื้นผิว จากนั้นแอนติเจนจะถูกจับและเกิดเป็นลักษณะโครงสร้างเชิงซ้อนกับดีเทคชั่นแอนติบอดี (detection antibody) ซึ่งถูกเชื่อมต่อด้วยสารโมเลกุลที่ยอมให้จับ เช่น เอนไซม์ (enzyme) หรือฟลูออโรฟอร์ (fluorophore) (ภาพประกอบ 4)



ภาพประกอบ 4 ปฏิกิริยาแอนติเจนและแอนติบอดีในการวิเคราะห์ผลด้วย ELISA

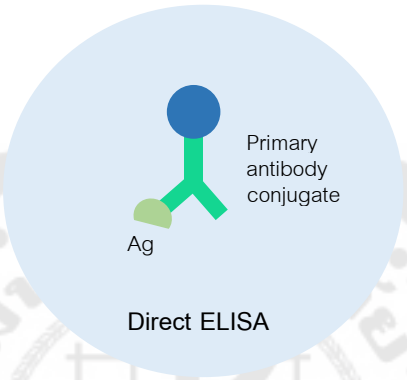
การวิเคราะห์ด้วย ELISA เทคนิคมักทำในเวลเพลท (well plate) ขนาด 96 หรือ 384 หลุม โดยเวลเพลทนี้จะมีพื้นผิวให้แอนติเจนอยู่นิ่ง การทำให้อยู่นิ่ง (immobilization) นี้จะช่วยให้สามารถแยกแอนติเจนออกจากองค์ประกอบส่วนอื่นในตัวอย่าง (sample) ได้ ลักษณะนี้ทำให้เทคนิค ELISA สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้หลายๆตัวอย่างในครั้งเดียว

ประเภทของ ELISA

ELISA มี 4 ชนิด

1. Direct ELISA

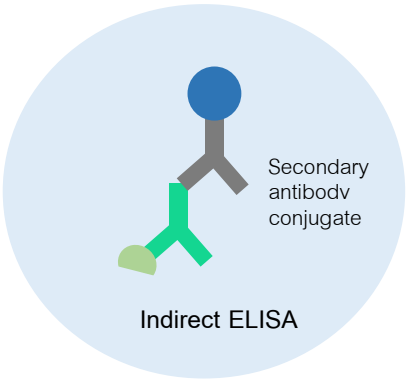
แอนติเจนถูกทำให้อยู่นิ่งบนพื้นผิวของเวลเพลทจะถูกตรวจจับด้วยแอนติบอดีที่จำเพาะสำหรับแอนติเจนนั้นๆและจะเกิดการเชื่อมต่อกันโดยตรงกับ horseradish peroxidase (HRP) หรือสารตรวจจับโมเลกุลอื่น (ภาพประกอบ 5)



ภาพประกอบ 5 การวิเคราะห์ผลด้วยเทคนิค Direct ELISA

2. Indirect ELISA

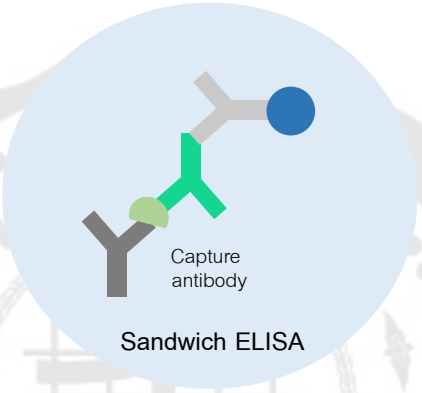
หลักการเหมือนกับ direct ELISA คือแอนติเจนถูกทำให้อยู่นิ่งบนพื้นผิวของเวลเพลทแต่จะประกอบด้วยกระบวนการตรวจจับของแอนติบอดี 2 ชนิด คือแอนติบอดีตัวแรก (primary antibody) จะจับกับแอนติเจนเป้าหมาย (antigen target) จากนั้นแอนติบอดีตัวที่ 2 (secondary antibody) ที่มีสารตรวจจับติดอยู่จะจับกับแอนติบอดีตัวแรก (primary antibody) (ภาพประกอบ 6)



ภาพประกอบ 6 การวิเคราะห์ผลด้วยเทคนิค Indirect ELISA

3. Sandwich ELISA

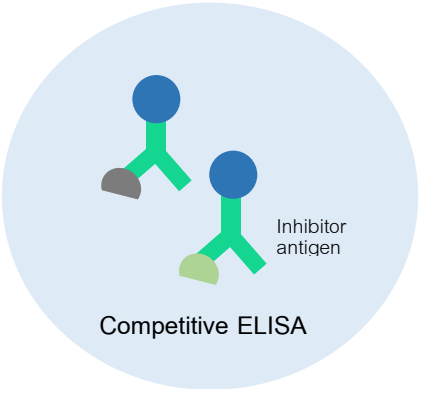
Sandwich ELISA หรือ sandwich immunoassay เป็นวิธีการที่ใช้แอนติบอดีสองตัวที่มีจำเพาะกับเอปิโทปแอนติเจน (epitopes antigen) ที่แตกต่างกัน ซึ่งแอนติบอดีสองตัวนี้จะมีชื่อเรียกว่า matched antibody pairs โดยหนึ่งในแอนติบอดีจะถูกเคลือบ (coat) ลงบนพื้นผิวของเวลเพลทและจะถูกใช้เป็นแคปเจอร์แอนติบอดี (capture antibody) เพื่อให้แอนติเจนอยู่นิ่ง (immobilization) ส่วนแอนติบอดีตัวที่สองจะเป็นตัวเชื่อมต่อกับแอนติเจนที่คนละเอปิโทป (epitope) กับแคปเจอร์แอนติบอดีและทำให้เกิดการตรวจจับแอนติเจน (ภาพประกอบ 7)



ภาพประกอบ 7 การวิเคราะห์ผลด้วยเทคนิค Sandwich ELISA

4. Competitive ELISA

Competitive ELISA หรือ inhibition ELISA หรือ competitive immunoassay วิธีนี้ใช้ในการวัดความเข้มข้นของแอนติเจนด้วยการตรวจจับสัญญาณ (signal interference) โดยรูปแบบ ELISA ก่อนหน้านี้สามารถปรับเปลี่ยนมาเป็นรูปแบบ competitive ได้ (ภาพประกอบ 8)



ภาพประกอบ 8 การวิเคราะห์ผลด้วยเทคนิค Competitive ELISA

แอนติเจนในตัวอย่าง (sample antigen) จะแข่งกับแอนติเจนอ้างอิง (reference antigen) ในการจับกับแอนติบอดีที่ติดฉลาก (labeled antibody) ซึ่งมีปริมาณจำกัด ขั้นตอนเริ่มจากแอนติเจนอ้างอิงถูกเคลือบบนเวลเพลท จากนั้นตัวอย่าง (sample) จะถูกบ่ม (preincubate) ด้วยแอนติบอดีที่ติดฉลากและถูกใส่ลงในเวลเพลท ปริมาณของแอนติเจนในตัวอย่างจะเป็นตัวกำหนดปริมาณแอนติบอดีว่าจะเหลือปริมาณมากหรือน้อยที่จะจับกับแอนติเจนอ้างอิง หากมีปริมาณแอนติเจนในตัวอย่างมาก จะตรวจพบปริมาณแอนติเจนอ้างอิงต่ำ

ตัวอย่างของ ELISA (ELISA sample) สามารถเป็นได้ทั้งพลาสมา น้ำลายหรือซีรัม โดย ตัวอย่างแต่ละชนิดจะมีวิธีการเตรียมต่างกัน กรณีน้ำลายจะเก็บตัวอย่างและปั่น (centrifuge) ที่ relative centrifugal force (rcf) 10,000 g เป็นเวลา 10 นาทีที่ 4 องศาเซลเซียส แบ่งเก็บน้ำลาย (aliquot) ส่วนของเหลวเหนือตะกอน (supernatant) ที่ -80 องศาเซลเซียส[15]

นอกจากนี้ ELISA ยังสามารถแบ่งได้ตามประเภทของข้อมูลที่ได้รับ

1. Qualitative ELISA ใช้ในการดูว่ามีแอนติเจนในตัวอย่างหรือไม่ ELISA ชนิดนี้ต้องการเวลเพลทที่ไม่มีแอนติเจนหรือ unrelated control antigen

2. Semi-quantitative ELISA ใช้ในการเปรียบเทียบระดับแอนติเจนระหว่างตัวอย่าง

3. Quantitative ELISA ใช้คำนวณปริมาณของแอนติเจนที่ปรากฏในตัวอย่าง การวิเคราะห์ ELISA ชนิดนี้ ต้องมีการเปรียบเทียบค่า values measured สำหรับตัวอย่างกับกราฟมาตรฐาน (standard curve) ที่เตรียมจากการเจือจางสารละลายตามลำดับขั้น (serial dilution) ของ purified antigen ที่ทราบความเข้มข้น

ในงานวิจัยนี้ใช้ Sandwich ELISA หรือ sandwich immunoassay

การสร้าง Control sample สำหรับ ELISA

การสร้างตัวควบคุม (control) ที่เหมาะสมจะช่วยให้ผู้วิจัยสามารถแยกผล positive results ออกจาก potentially false results ได้

Positive control

การใช้ตัวอย่างที่เป็นสารละลาย (soluble sample) ที่ทราบโปรตีนที่ต้องการตรวจหา หรือ purified protein หรือเปปไทด์ (peptide) ที่ทราบ immunogen sequence สำหรับแอนติบอดีที่ใช้ หากผลที่ได้ได้ผลเป็น positive result จาก positive control หรือแม้แต่ตัวอย่างที่ให้ผล negative การมี positive control จะช่วยบ่งชี้กระบวนการที่ถูกต้องเหมาะสมและตรวจสอบผล negative result ได้

Negative control

Negative control จะเป็นตัวอย่างที่ผู้วิจัยทราบว่าจะไม่แสดงโปรตีนที่ต้องการศึกษา เนื่องจากจะช่วยให้ผู้วิจัยสามารถตรวจสอบ non-specific binding และผล false positive result แต่ละเพลทที่ผู้วิจัยใช้ควรมีตัวอย่างที่เป็น negative control เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของผลลัพธ์

Standard

สารมาตรฐาน (Standard) ประกอบด้วยตัวอย่างที่ทราบความเข้มข้นของโปรตีนที่ต้องการ (target protein) ซึ่งได้มาจากการทำกราฟมาตรฐาน (standard curve)

ELISA standard curve

กราฟมาตรฐาน (standard หรือ calibration curve) เป็นส่วนหนึ่งของการทำ quantitative ELISA ที่จะช่วยให้สามารถคำนวณความเข้มข้นของแอนติเจนในตัวอย่าง

กราฟมาตรฐานได้มาจากการพล็อตกราฟที่ทราบค่าความเข้มข้นของแอนติเจนอ้างอิงต่อค่าการดูดกลืนแสง จากความเข้มข้นแต่ละความเข้มข้น

เครื่องอ่านค่าการดูดกลืนแสง (ELISA plate reader) ส่วนใหญ่จะรวมอยู่ในโปรแกรมซอฟต์แวร์สำหรับ curve fitting และ data analysis ความเข้มข้นของแอนติเจนในตัวอย่างถูกคำนวณจาก extrapolation ของ linear portion ของกราฟมาตรฐาน

หลักการของ Glucose assay

ในการวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของกลูโคส (glucose concentration) จะใช้เอนไซม์เป็นตัวช่วยทำให้เกิดปฏิกิริยาทางเคมีเพื่อให้เกิดผลลัพธ์ของผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบที่มีปริมาตรเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของกลูโคส โดยเอนไซม์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยากับกลูโคส ได้แก่ glucose oxidase, hexokinase, glucose dehydrogenase ซึ่งเอนไซม์แต่ละตัวจะทำให้เกิดปฏิกิริยาและสารประกอบผลิตภัณฑ์ดังต่อไปนี้

1. Glucose oxidase: β-D-glucose + O_2 $\longrightarrow$ gluconate + H_2O_2

2. Hexokinase: D-glucose (and other hexoses) + ATP $\longrightarrow$ glucose (hexose)-6-phosphate; usually coupled with glucose-6-phosphate dehydrogenase: Glucose-6-phosphate + $NAD(P)^+$ $\longrightarrow$ 6-phosphogluconolactone + NAD(P)H

3. Glucose dehydrogenase: glucose + $NAD(P)^+$ $\longrightarrow$ gluconolactone + NAD(P)H

วิธีที่ใช้เอนไซม์ hexokinase และ glucose dehydrogenase ผลลัพธ์ของปฏิกิริยาจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ $NAD(P)^+$ ต่อ NAD(P)H ทำให้สามารถวัด

ค่าความเข้มข้นที่เกิดขึ้นด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ที่ 340 นาโนเมตร หรืออีกทางเลือกหนึ่ง คือ สามารถใช้ NAP(D)H เป็นตัว reduce สาร tetrazolium chromogen เพื่อให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่มีสีหรือเพื่อ reduce ตัว electron donor เช่น flavin adenine dinucleotide (FAD) หรือ pyrrol-quinoline quinone (PQQ)

สำหรับวิธี glucose oxidase จะใช้หนึ่งในวิธีการดังต่อไปนี้เพื่อสร้างสัญญาณ (signal) ที่วัดค่าได้

1. วัด oxygen consumption ด้วย O_2-specific electrode วิธีการนี้ใช้ใน Beckman DxC/LX20 modular assay

2. วัดการเกิด H_2O_2 โดยใช้ peroxidase เพื่อเปลี่ยน chromogen ไปเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสีโดยใช้ Chromogens หลายตัว เช่น o-dianisidine และ 4-aminoantipyrine.

3. วัดการเกิด H_2O_2 จากการเกิด oxidation ของ platinum electrode โดย H_2O_2 ที่เกิดขึ้นจะเกิดเป็นสัดส่วนโดยตรงกับระดับความเข้มข้นของกลูโคส วิธีการนี้สามารถใช้ใน whole blood analyzers ได้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้

1. การกำหนดประชากรและการสุ่มกลุ่มตัวอย่าง
2. วิธีการวิจัย/วิธีดำเนินการวิจัย
3. การเก็บรวบรวมข้อมูล
4. การจัดกระทำและการวิเคราะห์ข้อมูล

งานวิจัยนี้ได้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (IRB NO.100/57) และคณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (SWUEC-005/2565F)

การกำหนดประชากรและการสุ่มกลุ่มตัวอย่าง

ประชากร

ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มารับการรักษาที่คลินิกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จำนวน 44 คน และผู้มีสุขภาพดีที่มารับการตรวจร่างกายที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จำนวน 22 คน

การเลือกกลุ่มตัวอย่าง

แบบสุ่ม (Random sampling)

ขนาดตัวอย่าง และการคำนวณ

คำนวณกลุ่มตัวอย่างโดยใช้โปรแกรม G power version 3.1 โดยกำหนด effect size f = 0.4, power of test (1-ß) = 0.8, α = 0.05 ได้ขนาดตัวอย่างทั้งหมด 66 คน แบ่งอาสาสมัครออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 22 คนดังนี้

กลุ่มผู้มีสุขภาพดี จำนวน 22 คน

กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีระดับ HbA1C < 7% จำนวน 22 คน

กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีระดับ HbA1C ≥ 7% จำนวน 22 คน

1. กลุ่มผู้มีสุขภาพดี จำนวน 22 คน

เกณฑ์คัดเข้า คือ ผู้ที่ไม่มีโรคประจำตัวเรื้อรังซึ่งเข้าตามเกณฑ์ทั้ง 5 ข้อต่อไปนี้ และมีความสมัครใจยินยอมเข้าร่วมโครงการ

1. สุขภาพแข็งแรง ไม่มีโรคประจำตัว

2. มีระดับ fasting plasma glucose < 126 มก./ดล.

3. ไม่มีประวัติรับประทานยาต่อเนื่องเป็นประจำเนื่องมาจากโรคประจำตัว

4. ไม่มีประวัติรับประทานยาปฏิชีวนะหรือยากลุ่มสเตียรอยด์ (steroid) ในช่วง 3 เดือนก่อนเข้าร่วมโครงการ

5. มีอายุระหว่าง 30-70 ปี

6. มีฟันในช่องปากตั้งแต่ 10 ซี่ขึ้นไป

เกณฑ์คัดออก คือ

1. ผู้ที่มีประวัติเป็นโรค/เคยเป็นโรคดังต่อไปนี้

1.1 โรคที่มีความผิดปกติของต่อมน้ำลาย เช่น โรค Sjogren syndrome

1.2 โรคมะเร็งที่เคยได้รับการฉายรังสีบริเวณใบหน้าและขากรรไกร

2. มีรอยโรคในช่องปากที่อาจส่งผลต่อระดับ IL-18 เช่น โรค lichen planus

3. สูบบุหรี่

4. ตั้งครรภ์และให้นมบุตร

5. ติดสุราเรื้อรัง

6. มีประวัติได้รับการขูดหินน้ำลายในช่วง 3 เดือนที่ผ่านมาก่อนร่วมโครงการ

2. กลุ่มผู้ป่วยเบาหวาน จำนวน 44 คน

เกณฑ์คัดเข้า คือ ผู้ที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ตาม American Diabetes Association Professional Practice Committee[16] โดยแบ่งเป็นกลุ่มที่มีระดับ HbA1C น้อยกว่า 7% จำนวน 22 คน และกลุ่มที่มีระดับ HbA1C มากกว่าหรือเท่ากับ 7% จำนวน 22 คน

2.1) กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่มีระดับ HbA1C น้อยกว่า 7%

เกณฑ์คัดเข้า คือ ผู้ที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวานซึ่งเข้าตามเกณฑ์ทั้ง 6 ข้อต่อไปนี้ และมีความสมัครใจยินยอมเข้าร่วมโครงการ

1. ผู้ที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีระดับ HbA1C < 7%

2. ไม่มีประวัติฉายรังสีที่บริเวณใบหน้าและขากรรไกร

3. ไม่มีประวัติรับประทานยาปฏิชีวนะหรือยากลุ่มสเตียรอยด์ (steroid) ในช่วง 3 เดือนก่อนเข้าร่วมโครงการ

4. มีอายุระหว่าง 30-70 ปี

5. มีฟันในช่องปากมากกว่าหรือเท่ากับ 10 ซี่

2.2) กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่มีระดับ HbA1C มากกว่าหรือเท่ากับ 7%

เกณฑ์คัดเข้า คือ ผู้ที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวานซึ่งเข้าตามเกณฑ์ทั้ง 6 ข้อต่อไปนี้ และมีความสมัครใจยินยอมเข้าร่วมโครงการ

1. ผู้ที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีระดับ HbA1C ≥ 7%

2. ไม่มีประวัติฉายรังสีที่บริเวณใบหน้าและขากรรไกร

3. ไม่มีประวัติรับประทานยาปฏิชีวนะหรือยากลุ่มสเตียรอยด์ (steroid) ในช่วง 3 เดือนก่อนเข้าร่วมโครงการ

4. มีอายุระหว่าง 30-70 ปี

5. มีฟันในช่องปากมากกว่าหรือเท่ากับ 10 ซี่

เกณฑ์คัดออกกลุ่มผู้ป่วยเบาหวาน คือ

1. ผู้ที่มีประวัติเป็นโรค/เคยเป็นโรคดังต่อไปนี้

1.1 โรคที่มีความผิดปกติของต่อมน้ำลาย เช่น โรค Sjogren syndrome

1.2 โรคมะเร็งที่เคยได้รับการฉายรังสีบริเวณใบหน้าและขากรรไกร

2. มีรอยโรคในช่องปากที่อาจส่งผลต่อระดับ IL-18 เช่น โรค lichen planus

3. สูบบุหรี่

4. หญิงตั้งครรภ์และให้นมบุตร

5. ติดสุราเรื้อรัง

6. มีประวัติได้รับการขูดหินน้ำลายในช่วง 3 เดือนที่ผ่านมาก่อนร่วมโครงการ

วิธีการวิจัย/วิธีดำเนินการวิจัย

ขั้นตอนการดำเนินงานทางคลินิก

1. กลุ่มตัวอย่างประกอบด้วย

-กลุ่มควบคุมเป็นผู้มีสุขภาพดีที่มารับการตรวจสุขภาพที่คลินิกผู้ป่วยนอกโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จำนวน 22 คน (Control)

-กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีระดับ HbA1C < 7% ที่มารับการรักษาที่คลินิกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จำนวน 22 คน (CDM)

-กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีระดับ HbA1C ≥ 7% ที่มารับการรักษาที่คลินิกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จำนวน 22 คน (UCDM)

2. แจ้งอาสาสมัครให้ทราบถึงขั้นตอนการเก็บข้อมูลและให้อาสาสมัครลงนามในหนังสือยินยอมก่อนทำการสัมภาษณ์

3. สัมภาษณ์ผู้ป่วย ตรวจร่างกาย ชั่งน้ำหนัก วัดส่วนสูง ความดันโลหิต เจาะเลือดเพื่อดูค่าระดับกลูโคสในเลือด คือ ค่าระดับกลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหาร (fasting plasma glucose) และค่าระดับกลูโคสในเลือดสะสม (HbA1C)

4. เก็บข้อมูลทางการแพทย์ที่เกี่ยวข้องกับโรคเบาหวาน โรคแทรกซ้อนของเบาหวาน โรคไขมันในเลือดสูง โรคความดันโลหิตสูง โรคหลอดเลือดและหัวใจ และปัจจัยเสี่ยงต่างๆ รวมทั้งยาที่ผู้ป่วยได้รับ

5. ตรวจช่องปากผู้ป่วย

5.1 สภาวะการมีฟันผุ อุด ถอน (DMFT)

5.2 สภาวะปริทันต์ ค่าดัชนีคราบจุลินทรีย์ (plaque index) ตามวิธีของ Silness and Loe[41] วิธีการตรวจจะใช้ explorer เขี่ยที่ผิวฟัน 4 ด้าน คือ Mesial, Distal, Buccal และ Lingual ของซี่ฟันตัวแทนคือซี่ 16, 12, 24, 36, 32 และ 44 ค่าที่วัดได้หน่วยจะเป็นคะแนน โดยมีเกณฑ์คะแนนคือ 0-3 คะแนน ค่า 0 คือไม่พบคราบจุลินทรีย์เกาะ ค่า 1 คือ มองไม่เห็นคราบจุลินทรีย์เกาะแต่เขี่ยติดด้วย explorer ค่า 2 คือ มองเห็นคราบจุลินทรีย์ ค่า 3 คือ มองเห็นคราบจุลินทรีย์เกาะหนา 1-2 มม. นำค่าที่ได้มารวมกันแล้วหารด้วย 24 (4ด้านของซี่ฟันxจำนวนซี่ฟันตัวแทน คือ 6) เปอร์เซ็นต์ตำแหน่งการมีเลือดออกหลังการโพรบ (percentage of sites with bleeding on probing) ความลึกของร่องลึกปริทันต์ (probing depth) ทำการวัดโดยใช้ UNC-probe วัดความลึกของร่องลึกปริทันต์ที่ 6 ตำแหน่งของซี่ฟัน คือ Mesiobuccal, Midbuccal, Distobuccal, Mesiolingual, Midlingual, Distolingual ตามวิธีของ Silness and Loe[41] ค่าที่วัดได้หน่วยจะเป็นมม. จากนั้นคำนวณค่าระดับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ (clinical attachment loss) โดยความลึกของร่องลึกปริทันต์และระดับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ จะใช้ค่าที่สูงที่สุดใน 6 ตำแหน่งของฟันซี่นั้นๆเป็นตัวแทนฟันแต่ละซี่

5.3 สภาวะเนื้อเยื่อในช่องปาก

5.4 ตรวจสภาวะปากแห้ง วัดอัตราการไหลของน้ำลายขณะพัก (มล./นาที)

6. เก็บตัวอย่างน้ำลาย

เป็นการเก็บตัวอย่างน้ำลายขณะพัก (unstimulated whole saliva) ในวันเดียวกับการเจาะเลือด เพื่อตรวจระดับกลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหาร 8 ชม. โดยการเก็บตัวอย่างน้ำลายจะทำในช่วงเวลา 8.00-10.00 น.

ก่อนการเก็บน้ำลาย ให้ผู้ป่วยกลั้วปากด้วยน้ำกลั่นเป็นเวลา 1 นาที แล้วบ้วนทิ้ง หลังจากนั้น 5 นาที ให้ผู้ป่วยบ้วนน้ำลายลงในหลอดทดลองขนาด 50 มล. จนได้ปริมาตรน้ำลาย 5 มล. โดยตลอดระยะเวลาที่เก็บน้ำลายหลอดเก็บจะถูกวางอยู่ในภาชนะที่บรรจุน้ำแข็ง

นำตัวอย่างน้ำลายที่เก็บได้มาเติมสารยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนส (protease inhibitor) จากนั้นนำไปปั่นแยกส่วนให้ตกตะกอนที่ความเร็ว 10,000 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แยกส่วนตะกอนออกจากส่วนน้ำ จากนั้นเก็บส่วนน้ำของตัวอย่างน้ำลายที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ผลระดับกลูโคสและการวัดระดับ IL-18 ด้วยเทคนิค ELISA ต่อไป

ขั้นตอนการดำเนินงานในห้องปฏิบัติการ

นำตัวอย่างน้ำลายที่ได้แบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนที่1 วิเคราะห์ระดับกลูโคสในน้ำลาย (salivary glucose) ส่วนที่ 2 วิเคราะห์ระดับ IL- 18 ในน้ำลาย (salivary IL-18)

น้ำลายส่วนที่ 1 นำมาวิเคราะห์ดูระดับกลูโคสในน้ำลาย (salivary glucose) ด้วยวิธี glucose oxidase peroxidase method ด้วยชุดวิเคราะห์กลูโคส (Glucose assay kit, EnzyChrom™ EBGL-100) โดยเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase enzyme) จะออกซิไดซ์ (oxidize) กลูโคสในตัวอย่างและสารมาตรฐาน (standard) และสร้างผลิตภัณฑ์ที่เกิดสีขึ้น จากนั้นวัดค่าการคายแสงหรือที่เรียกว่าฟลูออเรสเซนต์ของสาร (Fluorometric Measurement) โดยใช้ความยาวคลื่นที่ 530 นาโนเมตร สำหรับเร้าอิเล็กตรอน (λex) และความยาวคลื่น 585 นาโนเมตร ในการอ่านค่าการปลดปล่อยแสงฟลูออเรสเซนต์ (λem) ด้วยเครื่อง Fluorescence spectrometry ซึ่งเป็นเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงของโมเลกุล โดยจะวัดการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ของสาร ข้อดีคือสามารถวัดค่าขีดต่ำสุด (detection limit) และมีความจำเพาะเจาะจง (selectivity) ต่อโมเลกุลที่ต้องการวิเคราะห์ได้ดีกว่าเทคนิค UV-Vis Spectrophotometry จากการที่เทคนิคนี้มีการเลือกใช้ความยาวคลื่น 2 ชนิดคือ excitation wavelength (λex) เป็นความยาวคลื่นที่ใช้ในการเร้าอิเล็กตรอนแล้วโมเลกุลมีการดูดกลืนพลังงานแสงเข้าไป และ emission wavelength (λem) เป็นความยาวคลื่นที่โมเลกุลมีการปลดปล่อยแสงฟลูออเรสเซนต์

ซึ่งจะมีค่าความยาวคลื่นที่ยาวกว่าค่าความยาวคลื่นที่โมเลกุลดูดกลืนเข้าไป ทำให้ลดการรบกวนโมเลกุลเนื่องจากสภาวะที่โมเลกุลถูกเร้าและเกิดการปลดปล่อยแสงฟลูออเรสเซนต์เกิดที่คนละความยาวคลื่น

การวิเคราะห์เริ่มจากการทำกราฟมาตรฐาน (standard curve) จาก standard glucose เตรียมความเข้มข้นของ standard ที่ 30-0 ไมโครโมลาร์ จากการผสมสารมาตรฐาน 300 ไมโครก./เดซิล. ปริมาตร 15 ไมโครลิตร กับ deionize water ปริมาตร 818 ไมโครลิตร จะได้สารละลายผสมที่มีความเข้มข้นกลูโคส 300 ไมโครโมลาร์ จากนั้นทำการเจือจางอย่างเป็นลำดับ (serial dilution) (ตาราง 3)

ตาราง 3 การเตรียมสารมาตรฐานกลูโคส

ที่	สารมาตรฐาน 300 μM + deionize water	ปริมาตร (μL)	ความเข้มข้นกลูโคส (μM)
1	200 μL + 0 μL	200	300
2	120 μL + 80 μL	200	180
3	60 μL + 140 μL	200	90
4	0 μL + 200 μL	200	0

จากนั้นนำสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นกลูโคส 300, 180, 90 และ 0 ไมโครโมลาร์ ปริมาตรอย่างละ 20 ไมโครลิตร มาผสมกับ deionize water ปริมาตร 180 ไมโครลิตร จนได้ความเข้มข้นกลูโคสของสารมาตรฐานที่ 30, 18, 9 และ 0 ไมโครโมลาร์ เตรียมตัวอย่างน้ำลายโดยทำให้น้ำลายคืนตัวบนน้ำแข็งจากนั้นนำไปปั่นเป็นเวลา 5 นาทีที่ 14,000 rpm ปิเปตแยกเฉพาะส่วนใส (supernatant) มาใช้ในการวิเคราะห์ผล ขั้นตอนต่อมาปิเปตสารมาตรฐานและตัวอย่างน้ำลายปริมาตรอย่าง 20 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมของ 96 เวลเพลท เตรียมสารทำปฏิกิริยา (Working reagent) ซึ่งเกิดจากการผสม Assay buffer ปริมาตร 85 ไมโครลิตร Enzyme Mix ปริมาตร 1 ไมโครลิตร และ Dye ปริมาตร 1 ไมโครลิตร เข้าด้วยกัน จากนั้นปิเปตสารละลายผสมดังกล่าวปริมาตร 80 ไมโครลิตร หยอดลงในหลุม 96 เวลเพลท ที่ใส่สารมาตรฐานและตัวอย่างน้ำลายไว้แล้ว นำไปแกว่ง (shaking) บน plate shaker ก่อนนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนของ standard และ sample ด้วยเครื่อง Synergy H1 Hybrid Reader ซึ่งเป็นเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลทแบบหลายโหมด โดยกำหนดให้ใช้ความยาวคลื่นที่ 530 นาโนเมตร สำหรับเร้าอิเล็กตรอน (λex) และความยาวคลื่น 585 นาโนเมตร ในการอ่านค่าการปลดปล่อยแสงฟลูออเรสเซนต์ (λem) นำค่าที่วัดได้ของ

สารมาตรฐานและตัวอย่างน้ำลายลบด้วยค่า OD blank จากนั้นพล๊อตกราฟมาตรฐาน กำหนดค่าความชันและคำนวณค่าความเข้มข้นของกลูโคส ผลลัพธ์ความเข้มข้นของกลูโคสที่ได้จะถูกคำนวณออกมาเป็นไมโครโมลาร์

น้ำลายส่วนที่ 2 นำมาวิเคราะห์ปริมาณ IL-18 ในน้ำลาย ด้วยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) แบบ sandwich technique โดยใช้ Human IL-18 ELISA kit (Ab 215539, Abcam) ขั้นตอนเริ่มจากปล่อยให้ตัวอย่างน้ำลายคืนตัวที่อุณหภูมิห้อง แล้วทำการวิเคราะห์ตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิตชุดอุปกรณ์ โดยเตรียมตัวอย่างให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสม โดย standard IL-18 มีความเข้มข้น 0-4,000 พิโคกรัม/มล. เมื่อเตรียมตัวอย่างและสารมาตรฐานเรียบร้อยแล้ว จะหยด 50 **ไมโครลิตร** ของตัวอย่างน้ำลาย สารมาตรฐานและแบลงค์ (blank) ลงในแต่ละหลุม จากนั้นเติม Antibody cocktail 50 **ไมโครลิตร** ลงในแต่ละหลุม บ่มตัว 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง โดยระหว่างการบ่มตัวจะมีการแกว่ง (shaking) ที่ 400 rpm เมื่อครบ 1 ชั่วโมง จะกำจัดแอนติบอดีส่วนเกินออกด้วยการล้าง 1x wash buffer 3 รอบ (3x350 μL) แล้วใส่ 100 **ไมโครลิตร** TMB substrate solution ลงไปบ่มต่อ 10 นาที ในที่มืด โดยระหว่างการบ่มตัวจะมีการแกว่ง (shaking) ที่ 400 rpm สุดท้ายใส่สารหยุดปฏิกิริยา (stop solution) ปริมาตร 100 **ไมโครลิตร** ลงไปในแต่ละหลุมและแกว่งเป็นเวลา 1 นาที แล้ววิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างและสารมาตรฐานที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ทันที ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงไมโครเพลท (microplate spectrophotometer Epoch™) และสร้างกราฟมาตรฐาน ความเข้มข้นของ IL-18 ในแต่ละตัวอย่างจะถูกวิเคราะห์จากกราฟมาตรฐานและแสดงค่าออกมาเป็นพิโคกรัม/มล.โดยความเข้มข้นต่ำสุดของ IL-18 ที่เครื่องมือสามารถวัดได้ คือ 8.3 พิโคกรัม/มล.

การเก็บรวบรวมข้อมูล

เก็บข้อมูลทางคลินิกที่ได้จากการตรวจร่างกายและช่องปากของกลุ่มตัวอย่าง ซึ่งได้แก่ ค่าตัวแปรของโรคปริทันต์ ค่าดัชนีคราบจุลินทรีย์ (plaque index) เปอร์เซ็นต์ตำแหน่งการมีเลือดออกหลังการโพรบ (percentage of sites with bleeding on probing) ความลึกของร่องลึกปริทันต์ (pocket depth) ค่าระดับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ (clinical attachment loss) และข้อมูลทางห้องปฏิบัติการ ซึ่งได้แก่ ระดับกลูโคสในเลือด ระดับกลูโคสในน้ำลาย และระดับโปรตีน IL-18 ในน้ำลาย เพื่อรอการวิเคราะห์ผลทางสถิติต่อไป

การจัดกระทำข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้สถิติแบบพรรณนา ในการอธิบายลักษณะพื้นฐานของกลุ่มตัวอย่าง

ใช้สถิติ one-way ANOVA หรือ Kruskal-Wallis test ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับกลูโคสในน้ำลาย ระดับ IL-18 ในน้ำลาย ระหว่างกลุ่มตัวอย่าง 3 กลุ่ม โดยดูความแตกต่างที่ระดับนัยสำคัญที่ p-value < 0.05

ใช้สถิติ Pearson's correlation หรือ Spearman rank test ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับกลูโคสในเลือด ระดับกลูโคสในน้ำลาย ระดับ IL-18 ในน้ำลาย ดัชนีบ่งชี้สภาวะโรคปริทันต์ และอัตราการไหลของน้ำลาย โดยดูที่ระดับนัยสำคัญที่ p-value < 0.05

ใช้สถิติ Multiple linear regression analysis ในการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อระดับ IL-18 ในน้ำลาย และระดับกลูโคสในน้ำลาย

บทที่ 4

ผลการดำเนินงานวิจัย

ลักษณะของผู้เข้าร่วมโครงการ

ในโครงการนี้มีผู้เข้าร่วมโครงการจำนวน 64 คน โดยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มหลักและมีข้อมูลพื้นฐานตามตาราง (ตาราง 4) โดยผู้ป่วยเบาหวานในกลุ่มที่คุมระดับกลูโคสได้ดี (CDM) และกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ไม่ดี (UCDM) ทุกคนได้รับการรักษาโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ด้วยวิธีการรับประทานยาลดระดับน้ำตาลในเลือดหรือการฉีด insulin พบผู้ป่วยที่มีโรคประจำตัวเป็นเบาหวานชนิดที่ 2 และมีโรคความดันโลหิตสูง (hypertension) ร่วมด้วย มีจำนวน 12 คน คิดเป็น 75% ในกลุ่ม CDM และจำนวน 17 คน คิดเป็น 73.91% ในกลุ่ม UCDM พบผู้ป่วยที่มีโรคไขมันในเส้นเลือดสูง (dyslipidemia) ร่วมด้วย มีจำนวน 12 คน คิดเป็น 75% ในกลุ่ม CDM และจำนวน 14 คน คิดเป็น 53.85% ในกลุ่ม UCDM

ตาราง 4 ลักษณะและข้อมูลพื้นฐานของผู้เข้าร่วมโครงการ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม (control) กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ดี (CDM) และกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ไม่ดี (UCDM)

ตัวแปร	กลุ่มควบคุม (control) (n=25)	กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ดี (CDM) (n=16)	กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ไม่ดี (UCDM) (n=23)	ระดับความสำคัญทางสถิติ (p-value)
อายุ (Age) (ปี)	36 (29, 41)	61[ก] (53.25, 69.75)	57[ข] (48, 65)	**<0.001**
เพศ (Sex) (หญิง)	16 (64%)	11 (68.75%)	16 (69.75%)	0.909
ดัชนีมวลกาย (BMI) (กก./ม^2.)	22.49 (19.52, 23.83)	29.125[ก] (25.11, 31.70)	26.55[ข] (22.96, 32.14)	**<0.001**
รอบเอว (Waist) (ซม.)	76 (70, 89)	96 (86.75, 108)	94 (83, 107.5)	0.128

ตาราง 4 (ต่อ)

ตัวแปร	กลุ่มควบคุม (control) (n=25)	กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ดี (CDM) (n=16)	กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ไม่ดี (UCDM) (n=23)	ระดับความสำคัญทางสถิติ (p-value)
ค่าระดับกลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหารเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 8 ชั่วโมง (FPG) (มก./ ดล.)	91 (86.5, 95)	122[ก] (110.5, 126.75)	137[ข] (114, 163)	<0.001
ค่าระดับกลูโคสเฉลี่ยสะสมในเลือดช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา (HbA1C) (%)	5.2 (4.85, 5.4)	6.2[ก] (5.83, 6.68)	8.0[ข,ค] (7.3, 9.6)	<0.001

ค่าที่ใช้แสดงในตารางเป็นค่ามัธยฐาน (ควอไทล์ที่ 1,3)

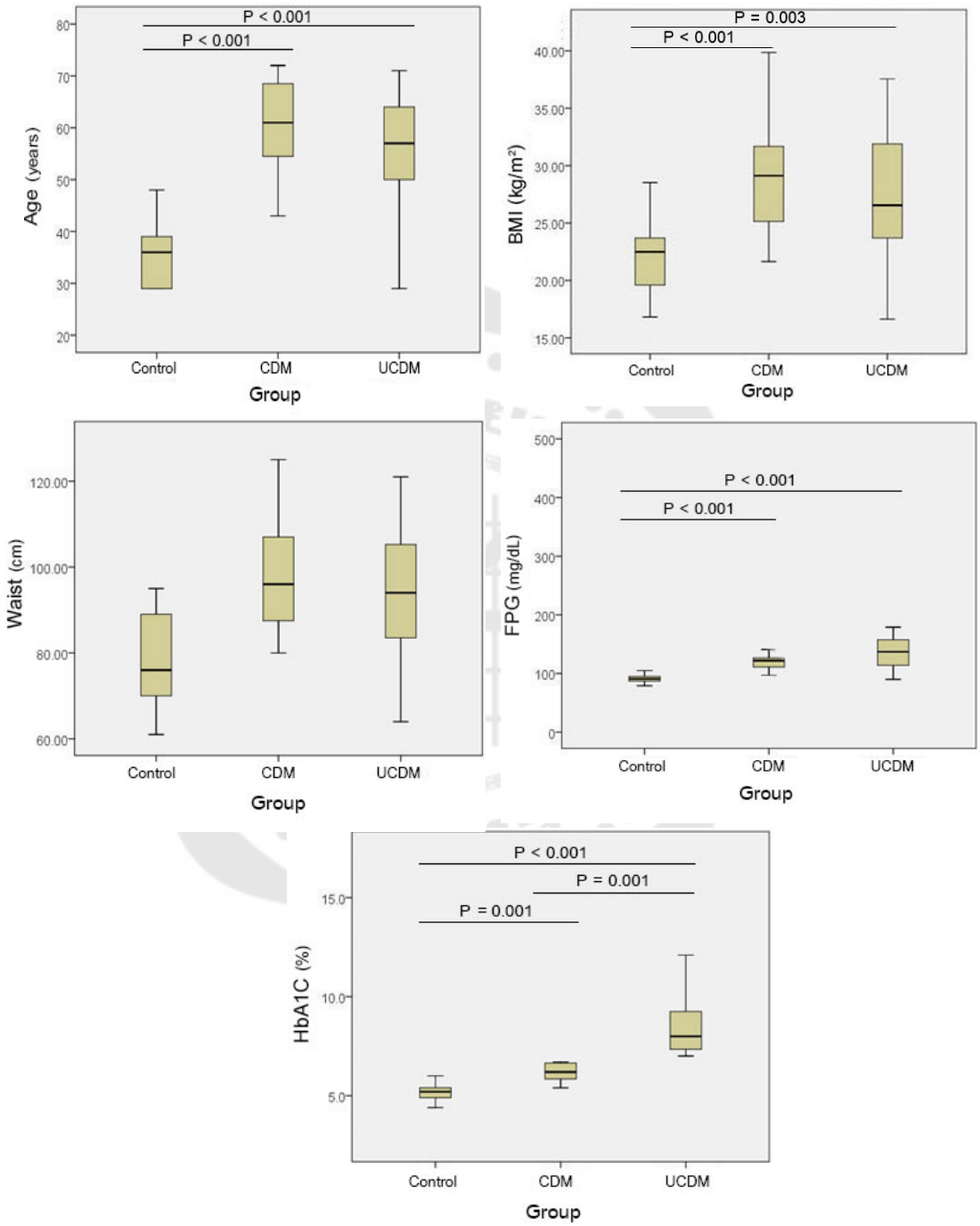
ก การเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ดีโดยมีค่า p-value < 0.001 สำหรับตัวแปรอายุ ดัชนีมวลกาย ระดับกลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหารเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 8 ชั่วโมง และมีค่าเท่ากับ 0.001 สำหรับตัวแปรระดับกลูโคสเฉลี่ยสะสมในเลือดช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา

ข การเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ไม่ดีโดยมี p-value < 0.001 สำหรับตัวแปรอายุ 0.003 สำหรับดัชนีมวลกาย < 0.001 สำหรับค่าระดับกลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหารเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 8 ชั่วโมงและค่าระดับกลูโคสเฉลี่ยสะสมในเลือดช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา

ค การเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ดีและกลุ่มเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ไม่ดีโดยมี p-value ค่าเท่ากับ 0.001 สำหรับค่าระดับกลูโคสเฉลี่ยสะสมในเลือดช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา

จากตารางที่ 4 พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของอายุของผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย โดยกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานทั้ง 2 กลุ่ม มีอายุเฉลี่ยที่สูงกว่ากลุ่มควบคุม (p-value <0.001) เพศของผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทั้ง 3 กลุ่ม พบว่าไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตัวแปรดัชนีมวลกาย พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (p-value <0.001) ตัวแปรรอบเอว พบว่าไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของทั้ง 3 กลุ่ม ตัวแปรค่าระดับกลูโคสพบว่าทั้งค่ากลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหารเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 8

ชั่วโมงและค่ากลูโคสเฉลี่ยสะสมในเลือดช่วง 3 เดือนที่ผ่านมาของกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานทั้งที่คุมระดับกลูโคสได้ดีและได้ไม่ดีมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพประกอบ 9)



ภาพประกอบ 9 ค่าตัวแปรของอายุ (Age) ดัชนีมวลกาย (BMI) รอบเอว (waist) ค่าระดับกลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหารเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 8 ชั่วโมง (FPG) ค่าระดับกลูโคสเฉลี่ยสะสมในเลือดช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา (HbA1C) ในกลุ่มควบคุม (control) และผู้ป่วยเบาหวานที่ควบคุมระดับกลูโคสได้ดี (CDM) และได้ไม่ดี (UCDM)

สภาวะในช่องปาก

รายละเอียดสภาวะในช่องปากของผู้เข้าร่วมโครงการจำนวน 64 คน แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มหลัก (ตาราง 5)

ตาราง 5 ข้อมูลสภาวะในช่องปากของผู้เข้าร่วมโครงการ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม (control) กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ดี (CDM) และกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ไม่ดี (UCDM)

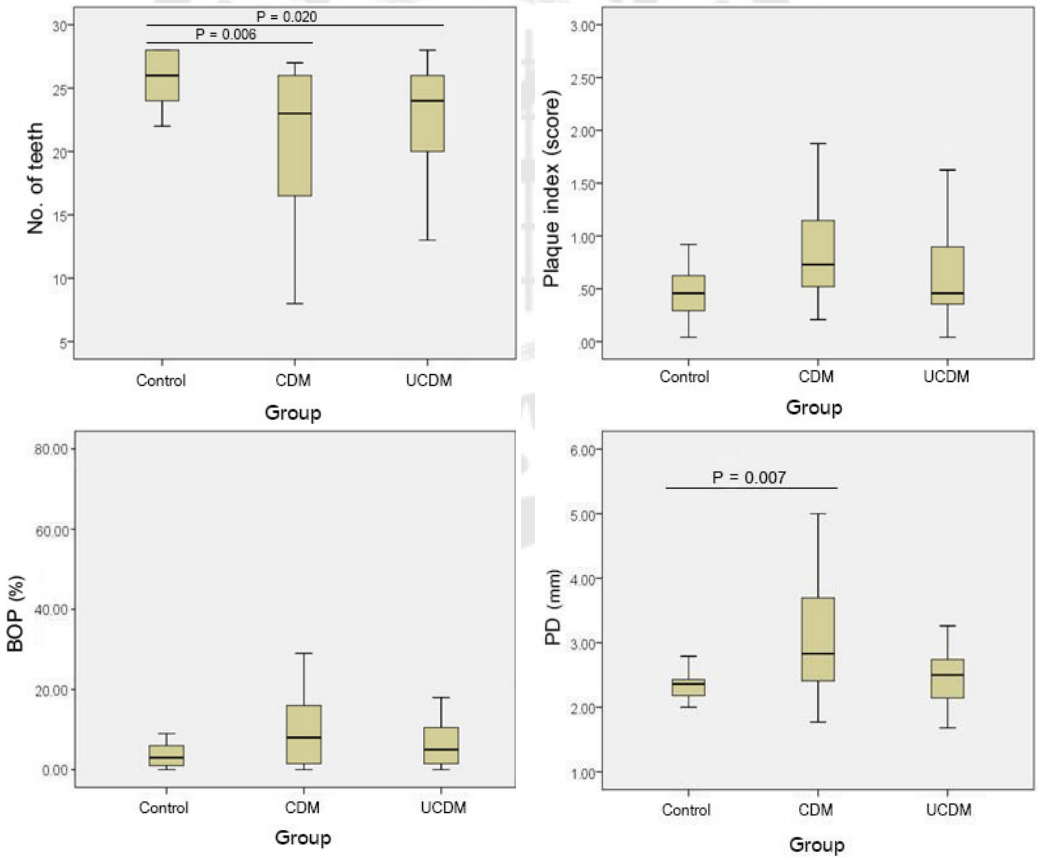
ตัวแปร	กลุ่มควบคุม (control) (n=25)	กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ดี (CDM) (n=16)	กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ไม่ดี (UCDM) (n=23)	ระดับความสำคัญทางสถิติ (p-value)
จำนวนซี่ฟัน	26 (24, 28)	23[ก] (16.25, 26)	24[ข] (20, 26)	**0.011**
ค่าดัชนีคราบจุลินทรีย์ (คะแนน)	0.46 (0.27, 0.65)	0.73 (0.51, 1.24)	0.46 (0.33, 0.92)	0.050
% ตำแหน่งการมีเลือดออกหลังโพรบ	3 (1, 6)	8 (1.25, 17)	5 (1, 12)	0.223
ความลึกของร่องลึกปริทันต์ (มม.)	2.36 (2.18, 2.47)	2.83[ก] (2.41, 3.88)	2.5 (2.14, 2.76)	**0.027**
ค่าระดับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ (มม.)	2.38 (2.2, 2.56)	3.225[ก] (2.79, 4.37)	2.87[ข] (2.59, 3.48)	**<0.001**
อัตราการไหลของน้ำลาย (มล./ นาที)	0.52 (0.35, 0.87)	0.24[ก] (0.14, 0.32)	0.21[ข] (0.13, 0.45)	**<0.001**

ค่าที่ใช้แสดงในตารางเป็นค่ามัธยฐาน (ควอไทล์ที่ 1,3)

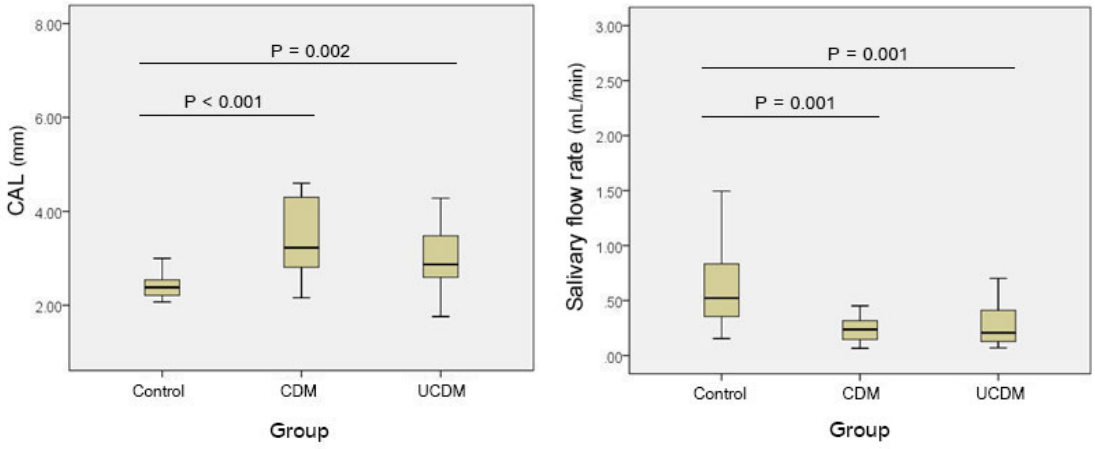
ก การเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ดีโดยมี p-value เท่ากับ 0.006 สำหรับจำนวนซี่ฟัน 0.007 สำหรับความลึกของร่องลึกปริทันต์ <0.001 สำหรับค่าระดับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์และ 0.001 สำหรับอัตราการไหลของน้ำลาย

ข การเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ไม่ดีโดยมี p-value เท่ากับ 0.020 สำหรับจำนวนซี่ฟัน 0.002 สำหรับค่าระดับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์และ 0.001 สำหรับอัตราการไหลของน้ำลาย

ตัวแปรจำนวนซี่ฟัน พบว่า ในกลุ่มควบคุมมีค่าสูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยเบาหวานทั้ง 2 กลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามตารางที่ 5 ส่วนตัวแปรค่าดัชนีคราบจุลินทรีย์ และเปอร์เซ็นต์ตำแหน่งการมีเลือดออกหลังโพรบ พบว่าไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของทั้ง 3 กลุ่ม ตัวแปรความลึกของร่องลึกปริทันต์ พบว่ากลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ดีมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตัวแปรค่าระดับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานทั้ง 2 กลุ่ม มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนอัตราการไหลของน้ำลาย พบว่ากลุ่มควบคุมมีค่าสูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยเบาหวานทั้ง 2 กลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพประกอบ 10 และ 11)



ภาพประกอบ 10 จำนวนซี่ฟัน (No. of teeth) ค่าดัชนีคราบจุลินทรีย์ (Plaque index) % ตำแหน่งการมีเลือดออกหลังโพรบ (Percentage of sites with bleeding on probing) ความลึกของร่องลึกปริทันต์ (PD) ในกลุ่มควบคุม (control) และผู้ป่วยเบาหวานที่ควบคุมระดับกลูโคสได้ดี (CDM) และได้ไม่ดี (UCDM)



ภาพประกอบ 11 ค่าระดับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ (CAL) และอัตราการไหลของน้ำลาย (FR) ในกลุ่มควบคุม (control) และผู้ป่วยเบาหวานที่ควบคุมระดับกลูโคสได้ดี (CDM) และได้ไม่ดี (UCDM)

ระดับ IL-18 และระดับกลูโคสในน้ำลาย

รายละเอียดระดับ IL-18 และระดับกลูโคสในน้ำลายของผู้เข้าร่วมโครงการจำนวน 64 คน แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มหลัก (ตาราง 6)

ตาราง 6 ระดับ IL-18 และกลูโคสในน้ำลายของผู้เข้าร่วมโครงการ 3 กลุ่ม คือกลุ่มควบคุม (control) กลุ่มผู้ป่วยที่คุมระดับกลูโคสได้ดี (CDM) และกลุ่มเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ไม่ดี (UCDM)

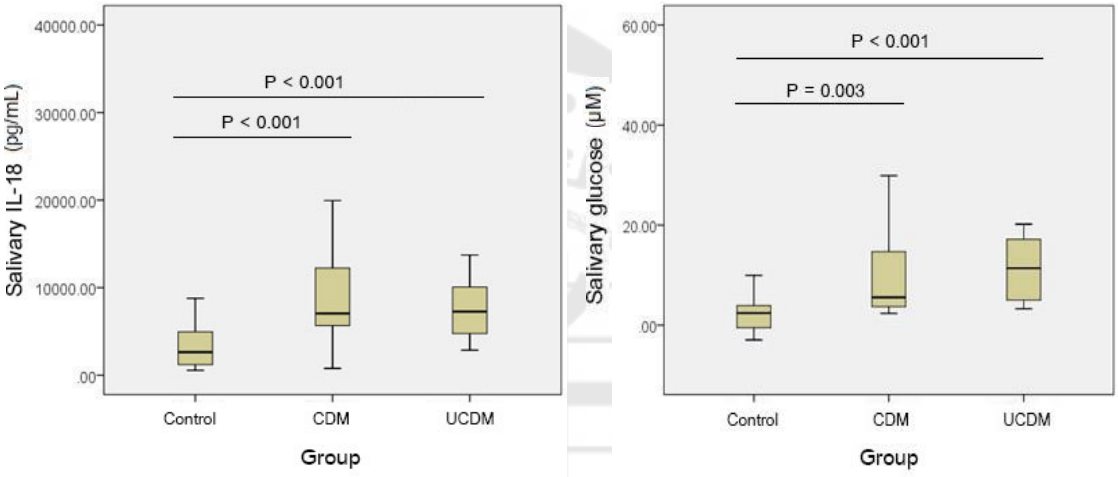
ตัวแปร	กลุ่มควบคุม (control) (n=25)	กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ดี (CDM) (n=16)	กลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ไม่ดี (UCDM) (n=23)	ระดับความสำคัญทางสถิติ (p-value)
IL-18 ในน้ำลาย (พิโคกรัม/มล.)	2,642.54 (1,160.63, 5,019.63)	7,064.55[ก] (5,659.85, 13,382.14)	7,270.73[ข] (4,631.45, 10,292.49)	**<0.001**
กลูโคสในน้ำลาย (ไมโครโมลาร์)	2.43 (0, 4.44)	5.56[ก] (3.52, 16.28)	11.40[ข] (4.60, 18.20)	**<0.001**

ค่าที่ใช้แสดงในตารางเป็นค่ามัธยฐาน (ควอไทล์ที่ 1,3)

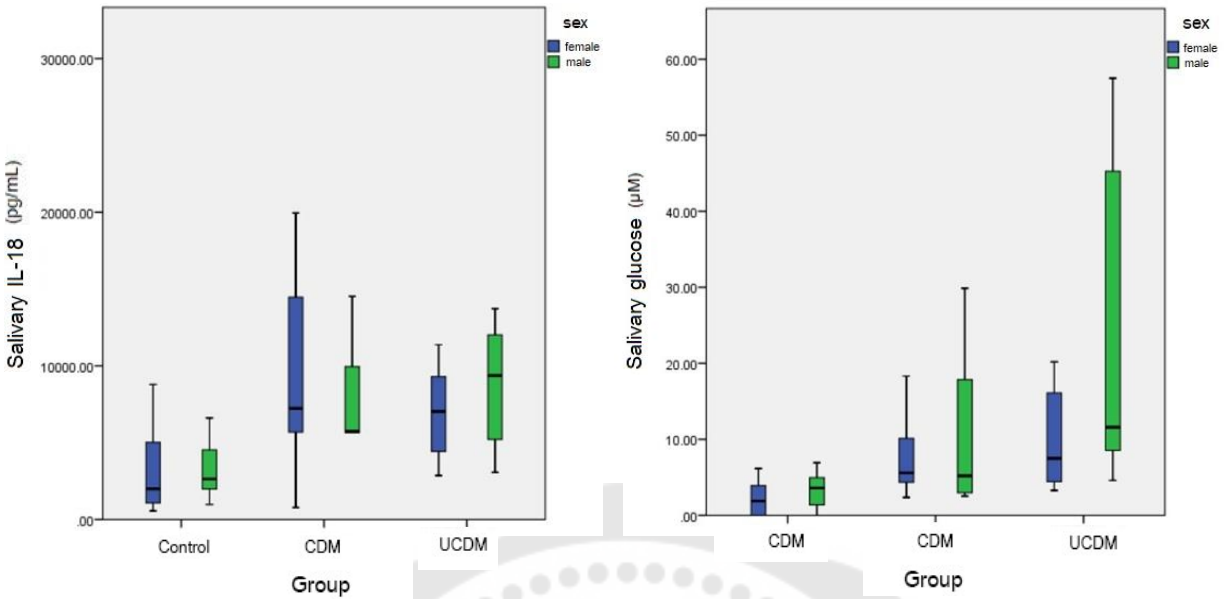
ก การเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ดีโดยมีค่า p-value < 0.001 สำหรับ IL-18 ในน้ำลาย และมีค่าเท่ากับ 0.003 สำหรับกลูโคสในน้ำลาย

ข การเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มเบาหวานที่คุมระดับกลูโคสได้ไม่ดีโดยมี p- value < 0.001 สำหรับ IL-18 ในน้ำลายและกลูโคสในน้ำลาย

จากตารางที่ 6 แสดงระดับ IL-18 และกลูโคสในน้ำลายพบว่ากลุ่มผู้ป่วยเบาหวานทั้ง 2 กลุ่มทั้งที่คุมระดับกลูโคสได้ดีและได้ไม่ดีมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพประกอบ 12)



ภาพประกอบ 12 ระดับ IL-18 และกลูโคสในน้ำลายในกลุ่มควบคุม (control) และผู้ป่วยเบาหวานที่ควบคุมระดับกลูโคสได้ดี (CDM) และได้ไม่ดี (UCDM)



ภาพประกอบ 13 ระดับ IL-18 และกลูโคสในน้ำลายของเพศหญิงและชายในกลุ่มควบคุม (control) และผู้ป่วยเบาหวานที่ควบคุมระดับกลูโคสได้ดี (CDM) และได้ไม่ดี (UCDM)

จากแผนภูมิรูปแท่ง (ภาพประกอบ 13) แสดงให้เห็นว่าระดับ IL-18 ในน้ำลายไม่ได้มีความแตกต่างระหว่างเพศชายและหญิงในกลุ่มเดียวกัน ทั้งในกลุ่มควบคุม (control) และผู้ป่วยเบาหวานที่ควบคุมระดับกลูโคสได้ดี (CDM) และได้ไม่ดี (UCDM) ส่วนระดับกลูโคสในน้ำลายพบว่าเพศชายมีแนวโน้มที่กลูโคสในน้ำลายจะมีค่าสูงกว่าเพศหญิงแต่ไม่ได้มีนัยสำคัญทางสถิติ

ความสัมพันธ์ของระดับ IL-18 และ ระดับกลูโคสในน้ำลายกับตัวแปรทางคลินิก

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรทางคลินิกอื่นๆกับระดับ IL-18 และกลูโคสในน้ำลายด้วยการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ (ตาราง 7)

ตาราง 7 ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรทางคลินิกอื่นๆกับระดับ IL-18 และกลูโคสในน้ำลาย

ตัวแปร	ระดับ IL-18 ในน้ำลาย	ระดับกลูโคสในน้ำลาย
อายุ	ρ = 0.494	ρ = 0.536
P-value	p < 0.001**	p < 0.001**
ดัชนีมวลกาย	ρ = 0.252	ρ = 0.246
P-value	p = 0.045*	p = 0.050
รอบเอว	ρ = 0.291	ρ = 0.279
P-value	p = 0.020*	p = 0.025*
ค่าระดับกลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหารเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 8 ชั่วโมง (FPG)	ρ = 0.357	ρ = 0.414
P-value	p = 0.004**	p = 0.001**
ค่าระดับกลูโคสเฉลี่ยสะสมในเลือดช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา (HbA1C)	ρ =0.518	ρ =0.590
P-value	p < 0.001**	p < 0.001**
จำนวนซี่ฟัน	ρ = -0.158	ρ = -0.204
P-value	p = 0.212	p = 0.106
ค่าดัชนีคราบจุลินทรีย์	ρ =0.208	ρ =0.152
P-value	p = 0.100	p = 0.230
% ตำแหน่งการมีเลือดออกหลังโพรบ	ρ = 0.188	ρ =0.009
P-value	p = 0.137	p = 0.942
ความลึกของร่องลึกปริทันต์	ρ = 0.296	ρ =0.054
P-value	p = 0.018*	p = 0.673
ค่าระดับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์	ρ = 0.486	ρ =0.287
P-value	p = 0.000**	p = 0.021*
อัตราการไหลของน้ำลาย	ρ = -0.289	ρ = -0.450
P-value	p = 0.021*	p < 0.001**
ระดับ IL-18 ในน้ำลาย		ρ = 0.502
P-value		p < 0.001**

ρ = Spearman correlation coefficient

* แสดงความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่มีค่า p-value < 0.05

** แสดงความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่มีค่า p-value < 0.01

จากการวิเคราะห์สหสัมพันธ์พบว่า IL-18 มีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับตัวแปรอายุ ค่าระดับกลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหารเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 8 ชั่วโมง ค่าระดับกลูโคสเฉลี่ยสะสมในเลือดช่วง 3 เดือนที่ผ่านมาและค่าระดับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ที่ p-value < 0.01 และสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับตัวแปรดัชนีมวลกาย รอบเอวและความลึกของร่องลึกปริทันต์ที่ p-value < 0.05 แต่สัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอัตราการไหลของน้ำลายที่ p-value < 0.05

ส่วนระดับกลูโคสในน้ำลายมีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับตัวแปรอายุ ค่าระดับค่าระดับกลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหารเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 8 ชั่วโมง ค่าระดับกลูโคสเฉลี่ยสะสมในเลือดช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา และค่าระดับ IL-18 ในน้ำลายที่ p-value < 0.01 แต่สัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอัตราการไหลของน้ำลายที่ p-value < 0.01 และสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับตัวแปรรอบเอวและค่าระดับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ที่ p-value < 0.05

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรทางคลินิกอื่นๆกับระดับ IL-18 และระดับกลูโคสในน้ำลายโดยใช้การวิเคราะห์สหสัมพันธ์แบบ partial correlation โดยควบคุมตัวแปรคืออายุและเพศ (ตาราง 8)

ตาราง 8 ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรทางคลินิกอื่นๆกับระดับ IL-18 และระดับกลูโคสในน้ำลายเมื่อควบคุมตัวแปรคืออายุและเพศ

ตัวแปร	ระดับ IL-18 ในน้ำลาย	ระดับกลูโคสในน้ำลาย
ดัชนีมวลกาย	r = 0.097	r = 0.093
P-value	p = 0.452	p = 0.470
รอบเอว	r = 0.078	r = 0.064
P-value	p = 0.546	p = 0.623
ค่าระดับกลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหารเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 8 ชั่วโมง (FPG)	r = 0.053	r = 0.407
P-value	p = 0.685	**p = 0.001**
ค่าระดับกลูโคสเฉลี่ยสะสมในเลือดช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา (HbA1C)	r = 0.068	r = 0.495
P-value	p = 0.600	**p < 0.001**

ตาราง 8 (ต่อ)

ตัวแปร	ระดับ IL-18 ในน้ำลาย	ระดับกลูโคสในน้ำลาย
จำนวนซี่ฟัน	r = 0.117	r = 0.047
P-value	p = 0.365	p = 0.715
ค่าดัชนีคราบจุลินทรีย์	r = 0.025	r = -0.068
P-value	p = 0.847	p = 0.600
% ตำแหน่งการมีเลือดออกหลังโพรบ	r = -0.007	r = -0.127
P-value	p = 0.957	p = 0.325
ความลึกของร่องลึกปริทันต์	r = 0.038	r = -0.028
P-value	p = 0.771	p = 0.830
ค่าระดับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์	r = 0.063	r = -0.014
P-value	p = 0.624	p = 0.912
อัตราการไหลของน้ำลาย	r = 0.104	r = -0.147
P-value	p = 0.422	p = 0.225
ระดับ IL-18 ในน้ำลาย	-	r = 0.149
P-value		p = 0.248

ตัวหนาแสดงค่านัยสำคัญทางสถิติที่ P-value < 0.05

จากการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ เมื่อควบคุมตัวแปรอายุและเพศ พบว่าระดับ IL-18 ในน้ำลายไม่มีความสัมพันธ์กับตัวแปรใดๆทางคลินิก ในทางกลับกันพบว่าระดับกลูโคสในน้ำลายมีความสัมพันธ์กับค่าระดับกลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหารเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 8 ชั่วโมง (FPG) และค่าระดับกลูโคสเฉลี่ยสะสมในเลือดช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา(HbA1C) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตัวแปรทางคลินิกที่มีผลต่อระดับ IL-18 และระดับกลูโคสในน้ำลาย

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรทางคลินิกอื่นๆ ได้แก่จำนวนซี่ฟัน ดัชนีคราบจุลินทรีย์ %ตำแหน่งการมีเลือดออกหลังโพรบ ความลึกของร่องลึกปริทันต์ ค่าระดับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์และอัตราการไหลของน้ำลาย กับระดับ IL-18 และกลูโคสในน้ำลายโดยใช้การวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณ (Multiple regression analysis) ผลพบว่า ระดับ

IL-18 ในน้ำลาย สัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอายุในทางบวก เมื่อควบคุมตัวแปรจำนวนซี่ฟัน ดัชนีคราบจุลินทรีย์ ความลึกของร่องลึกปริทันต์และอัตราการไหลของน้ำลาย กล่าวคือ ผู้เข้าร่วมโครงการที่อายุมากมีแนวโน้มที่จะมีระดับ IL-18 ที่สูง (ตาราง 9) ส่วนระดับกลูโคสในน้ำลายสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับเพศ และค่าระดับกลูโคสเฉลี่ยสะสมในเลือดช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา (HbA1C) ในทางบวก เมื่อควบคุมตัวแปรอายุ จำนวนซี่ฟัน ดัชนีคราบจุลินทรีย์ ความลึกของร่องลึกปริทันต์ และอัตราการไหลของน้ำลาย กล่าวคือ ผู้เข้าร่วมโครงการที่เป็นเพศชายมีแนวโน้มที่จะมีระดับกลูโคสในน้ำลายที่สูงกว่าเพศหญิง (ตาราง 10)

ตาราง 9 การวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณระหว่างตัวแปรทางคลินิกกับระดับ IL-18 ในน้ำลาย โดยใช้ตัวแปรอิสระได้แก่ อายุ เพศ ค่าระดับกลูโคสเฉลี่ยในเลือดช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา (HbA1C) จำนวนซี่ฟัน ดัชนีคราบจุลินทรีย์ ความลึกของร่องลึกปริทันต์ และอัตราการไหลของน้ำลาย

ตัวแปร	**ระดับ IL-18 ในน้ำลาย**					
	Model I		Model II		Model III	
	β	p	**β**	p	**β**	p
อายุ (Age) (**ปี**)	0.410	**0.001**	0.386	**0.004**	0.459	**0.002**
เพศ (Sex) (**ชาย**)	0.118	0.318	0.110	0.358	0.106	0.397
ค่าระดับกลูโคสเฉลี่ยสะสมในเลือดช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา (HbA1C) (%)			0.067	0.600	0.076	0.566
จำนวนซี่ฟัน					0.173	0.273
ค่าดัชนีคราบจุลินทรีย์ (คะแนน)					0.062	0.690
ความลึกของร่องลึกปริทันต์ (มม.)					0.076	0.626
อัตราการไหลของน้ำลาย (มล./ นาที)					0.098	0.443

ตัวหนาแสดงค่านัยสำคัญทางสถิติที่ P-value < 0.05

ตาราง 10 การวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณระหว่างตัวแปรทางคลินิกกับระดับกลูโคสในน้ำลาย โดยใช้ตัวแปรอิสระได้แก่ อายุ เพศ ค่าระดับกลูโคสเฉลี่ยในเลือดช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา (HbA1C) จำนวนซี่ฟัน ดัชนีคราบจุลินทรีย์ ความลึกของร่องลึกปริทันต์ และอัตราการไหลของน้ำลาย

ตัวแปร	ระดับกลูโคสในน้ำลาย					
	Model I		Model II		Model III	
	β	p	β	p	β	p
อายุ (Age) (ปี)	0.353	**0.004**	0.173	0.123	0.171	0.179
เพศ (Sex) (ชาย)	0.282	0.019	0.225	**0.034**	0.235	**0.036**
ค่าระดับกลูโคสเฉลี่ยสะสมในเลือด ช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา (HbA1C) (%)			0.484	**< 0.001**	0.471	**< 0.001**
จำนวนซี่ฟัน					0.008	0.952
ค่าดัชนีคราบจุลินทรีย์ (คะแนน)					-0.076	0.578
ความลึกของร่องลึกปริทันต์ (มม.)					0.011	0.935
อัตราการไหลของน้ำลาย (มล./ นาที)					-0.072	0.520

ตัวหนาแสดงค่านัยสำคัญทางสถิติที่ P-value < 0.05

บทที่ 5

ผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผลการวิจัย

การตรวจวินิจฉัยโรคเบาหวานในปัจจุบันใช้วิธีการเจาะเลือด ซึ่งเป็นวิธีการที่ invasive คือผู้ป่วยต้องเจ็บตัวจากการถูกเจาะเลือดและมีความจำเป็นต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญ คือ พยาบาลหรือนักเทคนิคการแพทย์ หากสามารถใช้น้ำลายช่วยในการวินิจฉัยโรคเบาหวานได้ก็จะเป็นผลดีต่อวงการแพทย์ งานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาความเป็นไปได้ของตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) 2 ตัว คือ กลูโคสในน้ำลายและIL-18 ในน้ำลายว่าสามารถบ่งชี้ถึงระดับน้ำตาลในเลือดได้เพียงใด

ผลการศึกษาความสัมพันธ์ของระดับ IL-18 ในน้ำลาย ระดับกลูโคสในน้ำลายและตัวแปรทางคลินิกเมื่อทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยการถดถอยพหุคูณ ผู้วิจัยพบว่าระดับ IL-18 ไม่ได้มีความสัมพันธ์กับระดับกลูโคสในน้ำลายหรือตัวบ่งชี้ทางสภาวะปริทันต์ใดๆ แต่กลับมีความสัมพันธ์กับอายุของผู้เข้าร่วมโครงการ กล่าวคือ ผู้เข้าร่วมโครงการที่อายุมากขึ้นจะมีระดับ IL-18 ที่สูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Ferrucci และคณะ พบว่า มนุษย์เมื่ออายุมากขึ้นจะเข้าสู่ภาวะ Aging คือ เซลล์เกิดความเสื่อมตามธรรมชาติ โดยร่างกายจะถูกกระตุ้นภูมิคุ้มกันและเกิดการอักเสบแบบเรื้อรังตามกลไกของธรรมชาติ เรียกว่าเกิดกระบวนการ inflamaging จากการถูกกระตุ้นภูมิคุ้มกันในระดับเซลล์และโมเลกุล ส่งผลให้เกิดการเพิ่มขึ้นของ proinflammatory cytokine ที่เกี่ยวข้องกับ age-related chronic inflammatory ซึ่งได้แก่ IL-1, IL-6, TNF-alpha, chemokine, CRP รวมถึง IL-18 ด้วย กล่าวคือ แม้ผู้สูงอายุนั้นจะไม่มีปัจจัยเสี่ยงหรือโรคประจำตัวใดๆก็ตาม ในร่างกายก็จะยังคงมีการอักเสบแบบเรื้อรังคือจะมีการผลิตสาร proinflammatory cytokine เช่น IL-1 และ IL18 ที่สูง[42]

ผลของระดับ IL-18 ที่พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กับสภาวะปริทันต์ของผู้เข้าร่วมโครงการในงานวิจัยนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Techatanawat และคณะ ที่พบว่า IL-18 ในน้ำลายไม่ได้มีความสัมพันธ์กับค่า PSR index[15] แต่ไม่สอดคล้องกับการศึกษาของ Ozcaka และคณะ Johnson และคณะ และ Nair และคณะ ที่ทั้ง 3 การศึกษานี้ทำการศึกษาในผู้ที่ไม่ได้มีโรคประจำตัวทางระบบ คือ ไม่ใช่ผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ผลจึงพบว่าระดับ IL-18 สัมพันธ์กับสภาวะปริทันต์ของผู้ป่วย โดย Ozcaka และคณะ ศึกษาดูความสัมพันธ์ระหว่างโรคปริทันต์อักเสบต่อระดับ IL-17 และ IL-18 ในน้ำลายและในเลือดของผู้ที่มีสุขภาพดีที่ไม่ได้เป็นโรคปริทันต์อักเสบเปรียบเทียบกับผู้ที่มีสุขภาพดีที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบ ผลพบว่า IL-18 ในผู้ที่มีสุขภาพดีที่เป็นโรคปริทันต์

อักเสบมีระดับ IL-18 ในน้ำลายสูงกว่าผู้ที่มีสุขภาพดีที่ไม่เป็นโรคปริทันต์อักเสบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[5] งานวิจัยของ Johnson และ Serio พบว่า IL-18 ที่พบในเนื้อเยื่อปริทันต์จะมีค่าสูงขึ้นเมื่อค่าความลึกของร่องลึกปริทันต์มากกว่า 6 มม. จึงสรุปว่า IL-18 มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับค่าความลึกของร่องลึกปริทันต์ และเสนอให้ IL-18 มีแนวโน้มที่จะใช้เป็น biomarker สำหรับการดูการทำลายของเนื้อเยื่อปริทันต์และการอักเสบของเหงือก[43] Nair และคณะศึกษาระดับ IL-18 ในน้ำเหลืองเหงือก และในเลือดของผู้ป่วย 4 กลุ่ม คือ ผู้มีสุขภาพดี ผู้เป็นโรคเหงือกอักเสบ (Gingivitis) ผู้เป็นโรคปริทันต์อักเสบเรื้อรัง (Chronic periodontitis) และผู้เป็นโรคปริทันต์อักเสบแบบรุกราน (Aggressive periodontitis) โดยทำการเก็บน้ำเหลืองเหงือกและเลือดก่อนและหลังรับการรักษาด้วยวิธีเกลารากฟันร่วมกับการทำศัลยกรรมทางปริทันต์ 6-8 สัปดาห์ ผลพบว่าค่า IL-18 ในน้ำเหลืองเหงือกและเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่มผู้เป็นโรคปริทันต์อักเสบเรื้อรัง (Chronic periodontitis) และผู้เป็นโรคปริทันต์อักเสบแบบรุกราน (Aggressive periodontitis) และสรุปว่าระดับ IL-18 ในน้ำเหลืองเหงือกและในเลือดเป็นสัดส่วนโดยตรงกับการเพิ่มขึ้นของการอักเสบเนื้อเยื่อปริทันต์[44]

ความสัมพันธ์ของระดับกลูโคสในน้ำลาย ระดับกลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหารเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 8 ชั่วโมง (fasting plasma glucose, FPG) และระดับกลูโคสเฉลี่ยสะสมในเลือดช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา (HbA1C) เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยสถิติด้วยการถดถอยพหุคูณ ผลพบว่าระดับกลูโคสในน้ำลายสัมพันธ์ทางบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระดับกลูโคสในเลือดทั้ง 2 ค่า คือ FPG และ HbA1C ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาของ Nadaf และคณะ และ Tiongo และคณะ ที่ศึกษาความสัมพันธ์ของ FPG กับ fasting salivary glucose ในผู้ป่วยเบาหวานและผู้มีสุขภาพดี ผลพบว่าระดับกลูโคสในน้ำลายสัมพันธ์กับค่า FPG[45, 46] การศึกษาของ Gupta และคณะ และ Abikshyeet และคณะ ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างกลูโคสในเลือดและกลูโคสในน้ำลายของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 และผู้มีสุขภาพดี โดยทำการวัดระดับ HbA1C ในเลือด เทียบกับระดับกลูโคสในน้ำลาย ที่เก็บแบบ unstimulated fasting saliva และวัดปริมาณกลูโคสในน้ำลายด้วยวิธี glucose oxidase peroxidase ผลพบว่าระดับกลูโคสในน้ำลายสัมพันธ์ทางบวกกับค่า HbA1C[47, 48] อย่างไรก็ตามการศึกษาของ Azizi และคณะ ที่ทำการทดลองในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 และผู้มีสุขภาพดี โดยวัดระดับกลูโคสในน้ำลาย และ FPG ผลพบว่าระดับกลูโคสในน้ำลายกับในเลือดมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานเท่านั้น แต่ในผู้ที่มีสุขภาพดีพบว่าระดับกลูโคสในน้ำลายและในเลือดไม่ได้มีความสัมพันธ์กัน และเสนอแนะว่าไม่ควรใช้การตรวจกลูโคสในน้ำลายแทนการตรวจเลือด[49] ผลที่

ไม่สอดคล้องกันนี้ผู้วิจัยคาดว่าอาจเกิดจากชุดอุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจวัดระดับกลูโคสในน้ำลาย ในงานวิจัยนั้นมีความไวหรือจำเพาะต่ำ ทำให้ไม่สามารถวัดค่ากลูโคสในน้ำลายที่มีค่าน้อยมากในแต่ละบุคคลของผู้มีสุขภาพดีได้ อย่างไรก็ตามมีการศึกษา Systematic review และ meta-analysis ที่ศึกษาดูผลของโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ต่อระดับกลูโคสในน้ำลายพบว่า ระดับกลูโคสในน้ำลายมีค่าเพิ่มสูงขึ้นในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ซึ่งสัมพันธ์กับค่ากลูโคสในเลือดคือ HbA1C และผลของความสัมพันธ์จะยิ่งชัดเจนขึ้นเมื่อค่า HbA1C เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากลูโคสในน้ำลายมีแนวโน้มที่จะนำมาใช้เป็น biomarker สำหรับโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ได้[50]

ผลการศึกษาความสัมพันธ์ของอัตราการไหลของน้ำลาย (salivary flow rate) ค่าดัชนีคราบจุลินทรีย์ (plaque index) %ตำแหน่งการมีเลือดออกหลังการโพรบ (percentage of sites with bleeding on probing) ความลึกของร่องลึกปริทันต์ (probing depth, PD) และค่าระดับการสูญเสียการยึดเกาะของอวัยวะปริทันต์ (periodontal clinical attachment loss, CAL) กับระดับกลูโคสในน้ำลาย เมื่อวิเคราะห์ด้วยสถิติด้วยการถดถอยพหุคูณ โดยควบคุมตัวแปรอายุ จำนวนซี่ฟัน ดัชนีคราบจุลินทรีย์ ความลึกของร่องลึกปริทันต์ และอัตราการไหลของน้ำลาย ผลพบว่าระดับกลูโคสในน้ำลายไม่ได้มีความสัมพันธ์กับสภาวะปริทันต์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Lasisi และคณะ ที่ทำการทดลองใน 4 กลุ่มตัวอย่าง คือ กลุ่มที่ 1 ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบร่วมด้วย กลุ่มที่ 2 ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ไม่ได้เป็นโรคปริทันต์อักเสบ กลุ่มที่ 3 ผู้มีสุขภาพดีที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบ กลุ่มที่ 4 ผู้มีสุขภาพดีที่ไม่ได้เป็นโรคปริทันต์อักเสบ โดยทำการเก็บ unstimulated fasting saliva เพื่อนำมาวิเคราะห์กลูโคสด้วยวิธี glucose oxidase และตรวจสภาวะปริทันต์โดยผู้วิจัยใช้ attachment loss scoring system (community periodontal index, CPI index) ในการจำแนกสภาวะปริทันต์ของผู้ป่วย คือ หากผู้ป่วยมีค่าความลึกของร่องลึกปริทันต์มากกว่าหรือเท่ากับ 3 คะแนน จะจัดว่าเป็นโรคปริทันต์อักเสบ แต่หากมีค่าความลึกของร่องลึกปริทันต์น้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 คะแนน จะไม่จัดว่าเป็นโรคปริทันต์อักเสบ ผลการศึกษาพบว่าระดับกลูโคสในน้ำลายสัมพันธ์เฉพาะกับโรคเบาหวานชนิดที่ 2 เท่านั้น โดยไม่มีความเกี่ยวข้องกับการมีหรือไม่มีสภาวะปริทันต์อักเสบ[29] แต่ขัดแย้งกับผลการศึกษาของ Fatmasari และคณะ ที่หาความสัมพันธ์ของกลูโคสในน้ำลายกับสภาวะปริทันต์ของผู้ป่วย โดยทำการเก็บ unstimulated saliva และวิเคราะห์ระดับกลูโคสในน้ำลาย และตรวจสภาวะปริทันต์โดยทำการวัดความลึกของร่องลึกปริทันต์ด้วย WHO probe ที่ตัวแทนซี่ฟัน 17, 16, 11, 26, 27, 47, 46, 31, 36 และ 37 ในผู้ป่วยเบาหวานและผู้มีสุขภาพดี ผลพบว่าระดับกลูโคสในน้ำลายมีความสัมพันธ์กับค่าความลึกของร่องลึกปริทันต์ของผู้ป่วย[51]

ประเด็นเรื่องความสัมพันธ์ของระดับกลูโคสในน้ำลายที่ผู้วิจัยพบว่าสัมพันธ์กับเพศชาย เมื่อทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยการถดถอยพหุคูณนั้น พบว่าผลไม่สอดคล้องกับการศึกษาของ Gupta และคณะ และ Soares และคณะ ที่พบว่าเพศไม่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระดับกลูโคสในน้ำลาย[47, 52] ผู้วิจัยคาดว่าผลที่แตกต่างกันนี้น่าจะเกิดจากจำนวนเพศชายในงานวิจัยนี้มีจำนวนน้อยกว่าเพศหญิงมาก และผลค่าน้ำตาลในเลือดของเพศชายในงานวิจัยนี้ค่อนข้างสูง จึงเป็นตัวแทนประชากรของเพศชายที่ไม่เหมาะสม หากจะศึกษาผลของเพศต่อระดับกลูโคสในน้ำลายเพิ่มเติม จำเป็นต้องคัดเลือกกลุ่มประชากรที่มีทั้งเพศชายและหญิงในสัดส่วนที่เท่ากันจึงจะลดความคลาดเคลื่อนของผลการวิจัยได้

จากผลการศึกษาทั้งหมดแสดงให้เห็นว่ามีแนวโน้มที่จะนำระดับกลูโคสในน้ำลายไปใช้เป็น biomarker ที่บ่งชี้ระดับน้ำตาลในเลือดได้ แต่ยังไม่แนะนำที่จะนำน้ำลายมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยแทนเลือด ส่วน IL-18 ในน้ำลายจากการศึกษานี้พบว่า ปัจจัยเรื่องอายุส่งผลต่อระดับ IL-18 ในน้ำลาย

อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้มีข้อจำกัด กล่าวคือเป็นการศึกษาแบบ cross sectional study ในระยะเวลาที่จุดใดจุดหนึ่งเท่านั้น การวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยการถดถอยพหุคูณที่พบว่าอายุสัมพันธ์กับ IL-18 อาจไม่แน่นอน ควรมีการศึกษา cohort study คือ มีการศึกษาติดตามผลเพื่อบอกว่าอายุส่งผลต่อระดับ IL-18 จริง นอกจากนี้จำนวนผู้เข้าร่วมโครงการที่เป็นกลุ่มควบคุมมีอายุน้อยกว่ากลุ่มผู้ป่วยเบาหวาน และจำนวนผู้เข้าร่วมโครงการที่เป็นเพศชายมีจำนวนน้อยกว่าเพศหญิงซึ่งอาจมีผลต่อการวิเคราะห์ทางสถิติที่เกี่ยวข้องกับตัวแปรเรื่องอายุ และเพศ หากทำการศึกษาต่อไปในอนาคตจึงควรควบคุมให้อายุ และเพศของผู้เข้าร่วมโครงการในแต่ละกลุ่มมีจำนวนเท่ากัน

สรุปผลการวิจัย

ระดับกลูโคสในน้ำลายมีความสัมพันธ์กับระดับกลูโคสในเลือดทั้ง 2 ค่า คือ ระดับกลูโคสในพลาสมาหลังงดอาหารเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 8 ชั่วโมง (fasting plasma glucose, FPG) และระดับกลูโคสเฉลี่ยสะสมในเลือดช่วง 3 เดือนที่ผ่านมา (HbA1C) และมีแนวโน้มที่จะใช้เป็น biomarker สำหรับการตรวจระดับน้ำตาลในเลือดได้โดยสภาวะปริทันต์ไม่มีผลต่อความสัมพันธ์นี้

ระดับ IL-18 ในน้ำลายมีระดับสูงในผู้ป่วยเบาหวานเมื่อเทียบกับผู้มีสุขภาพดี อย่างไรก็ตามปัจจัยเรื่องอายุเป็นตัวแปรกวนที่จำเป็นต้องคำนึงถึงและควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

บรรณานุกรม

ภาคผนวก

ประวัติผู้เขียน