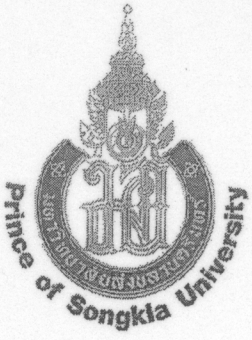
เป็นหนังสือภาษาอังกฤษ



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

ซิมวาสแททินชักนำการตายแบบอะพอปโทซิสและการทำลายโครงสร้างแอกทินในเซลล์เนื้อเยื่อในของฟันและเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ในคน

Simvastatin induces apoptosis and disruption of the actin cytoskeleton in human dental pulp cells and periodontal ligament fibroblasts

โดย

ผศ.ดร.ทพญ.นัทธมน วัฒนอรุณวงศ์ และคณะ

สิงหาคม 2555

สนับสนุนโดยทุนงบประมาณแผ่นดิน ปี2552-2553

ชิมวาสแททินชักนำการตายแบบอะพอปโทซิสและการทำลายโครงสร้างแอกทิน ในเซลล์เนื้อเยื่อในของฟันและเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ในคน

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: มีการแนะนำชิมวาสแททินซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเอ็นไซม์ทรีไฮดรอกซีทรีเมทิลกลูทาริลโคเอนไซม์เอรีดักเทสและถูกนำมาใช้เป็นยาลดระดับโคเลสเตอรอลอย่างแพร่หลาย ว่ามีผลดีต่อการสร้างกระดูกขากรรไกรและฟื้นฟูเนื้อเยื่อในของฟันและเอ็นยึดปริทันต์ ชิมวาสแททินในความเข้มข้นสูงสามารถชักนำให้เกิดการตายแบบอะพอปโทซิสได้ในเซลล์หลายชนิด แต่การศึกษาถึงผลของยานี้มีต่อการตายของเซลล์ที่มีต้นกำเนิดจากฟันยังมีจำนวนน้อย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาชิมวาสแททินว่ามีผลต่อการตายแบบอะพอพโทซิสและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างลักษณะของเซลล์เนื้อเยื่อในของฟันและเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ในคน

วิธีการทดลอง : นำเซลล์เนื้อเยื่อในของฟันและเซลล์เอ็นยึดปริทันต์จากผู้ป่วย 4 คนมาเพาะเลี้ยงในสารเลี้ยงเซลล์ซึ่งมีและไม่มีชิมวาสแททินในความเข้มข้นแตกต่างกันตั้งแต่ 0.1,1,10 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นวัดความมีชีวิตของเซลล์ด้วยวิธีเอ็มทีที และวัดปริมาณการตายแบบอะพอปโทซิสของเซลล์โดยย้อมติดสีของแอนเน็กซินไฟว์ฟิตซีและโพรพิเดียมไอโอไดด์แล้วตรวจนับจำนวนเซลล์ด้วยเครื่องโฟลไซโทเมทรี ส่วนการศึกษารูปร่างลักษณะโครงสร้างแอกทินของเซลล์และนิวเคลียสทำโดยการย้อมเซลล์ด้วยไฟล์ลอยดินฟิตซีและดาพีตามลำดับ

ผลการทดลอง: เมื่อเซลล์เนื้อเยื่อในของฟันและเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ได้รับชิมวาสแททินพบว่าความมีชีวิตของเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยแปรผันตามความเข้มข้นของชิมวาสแททินและเวลาที่ใช้เพาะเลี้ยงเซลล์ การตายแบบอะพอปโทซิสของเซลล์ซึ่งได้รับชิมวาสแททินความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ปริมาณการตายแบบอะพอปโทซิสของเซลล์ทั้งสองชนิดมีปริมาณเท่าๆ กัน การย้อมสีนิวเคลียสพบลักษณะจำเพาะบ่งชี้ว่าเซลล์ทั้งสองชนิดมีการตายแบบอะพอปโทซิส กล่าวคือพบการหดตัวและชิ้นส่วนย่อยของนิวเคลียส และโครงสร้างของแอกทินของเซลล์ถูกทำลายโดยแปรผันตามความเข้มข้นของชิมวาสแททินและเวลาที่ใช้เพาะเลี้ยงเซลล์

สรุปผลการทดลอง: ชิมวาสแททินลดความมีชีวิตของเซลล์เนื้อเยื่อในของฟันและเซลล์เอ็นยึดปริทันต์โดยอาจจะผ่านกลไกการชักนำการตายแบบอะพอปโทซิส

คำสำคัญ ชิมวาสแททิน อะพอปโทซิส ไฟโบรบลาสต์ แอกทิน เนื้อเยื่อใน

ABSTRACT

Objective: Simvastatin; a competitive inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase, and widely used as cholesterol-lowering agent, has been suggested for its beneficial effects on alveolar bone formation, regeneration of dental pulp tissue and periodontal ligament. High doses of simvastatin appear to induce apoptosis in several cell types, but little is known about its possible effect on tooth-derived cells. Therefore, the effects of simvastatin were studied on apoptosis and cell morphology of human dental pulp cells (HDPCs) and periodontal ligament fibroblasts (HPLFs).

Methods: HDPCs/HPLFs obtained from 4 patients were cultured with or without various concentrations of simvastatin (0.1, 1, and 10 μM) for 24, 48, and 72 h. The 3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay was performed to evaluate cell viability. The levels of apoptosis of HDPCs and HPLFs were measured by flow cytometry after Annexin V/Propidium iodide double staining. Phalloidin-FITC and 4',6-diamidino-2-phenylindole dihydrochloride (DAPI) staining was used to examine differences in the actin cytoskeleton and nuclear morphology, respectively.

Results: The viability of HDPCs and HPLFs was significantly reduced after simvastatin treatment in a dose- and time-dependent manner ($p < 0.05$). The apoptosis of HDPCs and HPLFs was significantly increased in 10 μM simvastatin-treated cells ($p < 0.05$). The effect on apoptosis was comparable for HDPCs and HPLFs. Nuclear staining showed typical apoptotic nuclear condensation and fragmentation in simvastatin-treated HDPCs/HPLFs. A dose- and time-dependent simvastatin-induced disruption of the actin cytoskeleton was observed in both cell types.

Conclusion: Our data demonstrated that simvastatin decreases the viability of HDPCs and HPLFs, probably by inducing apoptosis.