บทวิทยาการ
Original Article

การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล ด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส โดยใช้ดีเอ็นเอจากฟันน้ำนมที่เป็นโรคฟันผุ

Forensic Identification by Polymerase Chain Reaction of DNA Extracted from Primary Teeth with Dental Caries

รุจี ต้นเหลือง[1], ธานินทร์ ภู่พัฒน์[2], ภาพิมล ชมภูอินไหว[3], อะนัฆ เอี่ยมอรุณ[4]
[1]นักศึกษาปริญญาโท สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
[2]ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
[3]ภาควิชาทันตกรรมจัดฟันและทันตกรรมสำหรับเด็ก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
[4]ภาควิชาชีววิทยาช่องปากและวิทยาการวินิจฉัยโรคช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Rujee Tonleuang[1], Tanin Bhoopat[2], Papimon Chompu-Inwai[3], Anak Iamaroon[4]
[1]Master's Student in Forensic Science,Graduate School, Chiang Mai University
[2]Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Chiang Mai University
[3]Department of Orthodontics and Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Chiang Mai University
[4]Department of Oral Biology and Diagnostic Sciences, Faculty of Dentistry, Chiang Mai University

ชม. ทันตสาร 2564; 42(1) : 141-151
CM Dent J 2021; 42(1) : 141-151

Received: 12 November, 2019
Revised: 31 March, 2020
Accepted: 21 April, 2020

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาในฟันน้ำนมที่เป็นโรคฟันผุ

วัสดุและวิธีการ: นำดีเอ็นเอจากตัวอย่างฟันกรามน้ำนมที่เป็นโรคฟันผุในเด็กเชื้อชาติไทยอายุไม่เกิน 12 ปี จำนวน 26 ตัวอย่าง และนำดีเอ็นเอจากฟันมาตรวจเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอจากเลือดของบุคคลคนเดียวกัน โดยการทดลองแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 13 ตัวอย่าง โดยใช้ฟันกรามน้ำนมที่เป็นโรคฟันผุตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน และ 1 เดือนตามลำดับ แล้วนำมาสกัดดีเอ็นเอด้วย

Abstract

Objective: The aim of this study was to determine the effect of time of on personal identification using human deciduous teeth with dental caries.

Methods: Human genomic DNA isolated from deciduous molar teeth in Thai children (n=26) aged under twelve years was compared with DNA from the blood of the same individuals. All samples were equally divided into two

Corresponding Author:

อะนัฆ เอี่ยมอรุณ
ศาสตราจารย์ (เชี่ยวชาญพิเศษ) ดร., ภาควิชาชีววิทยาช่องปากและวิทยาการวินิจฉัยโรคช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200

Anak Iamaroon
Professor, Dr., Department of Oral Biology and Diagnostic Sciences, Faculty of Dentistry, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand
E-mail: ***iamaroon@yahoo.com***

ชุดน้ำยาสำเร็จรูป QIAamp® DNA Investigator จากนั้นทำการตรวจวิเคราะห์บริเวณไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอในตำแหน่ง D3S1358 , D5S818 และ D16S539 ด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส

ผลการทดลอง: สามารถตรวจพบดีเอ็นเอจากฟันทั้ง 2 กลุ่ม โดยมีลักษณะไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอในตำแหน่ง D3S1358, D5S818 และ D16S539 ให้ผลตรงกันกับตัวอย่างเลือด

สรุปผลการทดลอง: ฟันน้ำนมที่เก็บไว้ให้อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน สามารถนำดีเอ็นเอจากฟันมาใช้ในการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลได้

คำสำคัญ: ฟันน้ำนม ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส ไมโคร-แซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ

groups. Each group comprised thirteen teeth, which were kept at room temperature for a period of one day and one month, respectively. Tooth DNAs were extracted using QIAamp® DNA Investigator and the microsatellite DNAs on D3S1358, D5S818 and D16S539 loci were amplified using polymerase chain reaction.

Results: DNA could be detected from two groups. The microsatellite DNA on D3S1358, D5S818 and D16S539 loci showed the same results as the blood samples.

Conclusion: DNA extracted from deciduous teeth stored at room temperature for one month could be used for personal indentification.

Keywords: deciduous teeth, polymerase chain reaction, microsatellite DNA

บทนำ

กรณีก่อเหตุฆาตกรรมหรือการเกิดเหตุภัยพิบัติทางธรรมชาติซึ่งอาจทำให้ไม่สามารถระบุตัวบุคคลของผู้ก่อเหตุหรือเหยื่อผู้เคราะห์ร้ายได้ จึงจำเป็นจะต้องใช้กระบวนการทางนิติวิทยาศาสตร์เข้ามาช่วยในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของบุคคล นิติวิทยาศาสตร์เป็นการประยุกต์วิทยาศาสตร์หลายสาขามาใช้เพื่อประโยชน์ทางนิติบัญญัติในเรื่องของการออกกฎหมาย การคลี่คลายปัญหาและพิสูจน์ข้อเท็จจริงในคดีความเพื่อผลในการบังคับใช้กฎหมายและการลงโทษผู้กระทำความผิด ประกอบด้วย สาขาวิชานิติเวชศาสตร์ (forensic medicine) นิติวิศวกรรมศาสตร์ (forensic engineering) นิติทันตวิทยา (forensic odontology) นิติเภสัชวิทยา (forensic pharmacy) นิติมานุษยวิทยา (forensic anthropology) และนิติกีฏวิทยา (forensic entomology)[1]

ในกรณีที่เกิดเหตุการณ์ภัยพิบัติคลื่นยักษ์สึนามิในปี พ.ศ. 2547 ในประเทศไทย ได้มีการนำนิติวิทยาศาสตร์มาใช้ในการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล และจากสถิติข้อมูลผู้เสียชีวิตในวันที่ 26 เดือนธันวาคม พ.ศ. 2547 ถึงวันที่ 16 พฤษภาคม พ.ศ. 2550 มีจำนวนผู้เสียชีวิตที่สามารถพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลได้จำนวนทั้งหมด 3,308 ราย โดยตรวจพบจากหลักฐานทางดีเอ็นเอร้อยละ 24 ลายพิมพ์นิ้วมือร้อยละ 35 ข้อมูลทางทันตกรรมร้อยละ 40 และรูปพรรณสัณฐานร้อยละ 1[2]

จากข้อมูลสถิติข้างต้นพบว่าการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล จากข้อมูลทางทันตกรรมสามารถยืนยันตัวบุคคลได้สูงที่สุด การเก็บลายพิมพ์นิ้วมือบางรายอาจจะไม่มีการบันทึกข้อมูลลายนิ้วมือในฐานข้อมูล และการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอนั้นใช้ระยะเวลาและยากต่อการตรวจวิเคราะห์เนื่องจากปัจจัยทางสภาพแวดล้อม ศพมีการเน่าเปื่อยและทำให้สภาพชีววัตถุมีการเปลี่ยนแปลง รวมทั้งค่าใช้จ่ายในการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอราคาสูงและใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์นาน ซึ่งในการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์จากฟัน แม้ศพอยู่ในสภาพเน่าเปื่อย จะยังสามารถตรวจเปรียบเทียบกับฟันในผู้เสียชีวิตกับฐานข้อมูลทางทันตกรรมของผู้เสียชีวิตได้ เนื่องจากฟันมีความคงทนต่อสภาวะแวดล้อมได้ดี ดังนั้นจึงใช้ข้อมูลทางทันตกรรมในการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลมากที่สุด

หลังจากเหตุการณ์สึนามิดังกล่าวทำให้นิติทันตวิทยา ได้

รับความสนใจมากขึ้นในประเทศไทย นิติทันตวิทยาเป็นการนำความรู้ทางศาสตร์และศิลป์ของวิชาทางทันตแพทยศาสตร์มาใช้ร่วมกับศาสตร์อื่น ๆ ในทางนิติวิทยาศาสตร์ในกระบวนการพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล

ปัจจุบันเด็กจำนวนมากยังไม่สามารถพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลได้เนื่องจากประวัติทางทันตกรรมในผู้ป่วยวัยเด็กได้รับการบันทึกประวัติน้อยหรือเด็กบางคนอาจจะยังไม่เคยได้รับการรักษาทางทันตกรรมมาก่อน เมื่อเปรียบเทียบกับวัยผู้ใหญ่ที่อาจมีการบันทึกประวัติการรักษาทางทันตกรรม อาทิ การถอนฟัน อุดฟัน รักษารากฟัน และพิมพ์ฟันหรือถ่ายภาพทางรังสี เป็นต้น การตรวจฟันสามารถบ่งบอกถึงเอกลักษณ์บุคคลได้ เนื่องจากฟันมีลักษณะพิเศษเฉพาะในแต่ละบุคคล อาทิ การอุดฟัน การถอนฟัน ความกว้างของฟัน และการเรียงตัวของฟันแต่ละซี่โดยสามารถเช็คได้จากประวัติการรักษาฟัน บอกอายุได้โดยดูจากฟันน้ำนม ฟันแท้ และฟันกราม การสึกของฟัน และการร่นของเหงือก[3]

ในการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลสามารถตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอจากฟันแทนการตรวจดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของร่างกายในกรณีที่เนื้อเยื่อส่วนอื่นของร่างกายเสื่อมสลายไป เนื่องจากฟันมีความคงทนต่อการย่อยสลายและความร้อนมากกว่าเนื้อเยื่ออื่น ๆ ของร่างกาย และฟันอยู่ในขากรรไกรซึ่งเป็นส่วนที่สามารถป้องกันฟันไม่ให้ฟันถูกทำลายได้เมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ นอกจากนั้นฟันสามารถทนความร้อนได้ถึง 1,600 องศาเซลเซียส จึงมีการเปลี่ยนแปลงภายหลังการตายน้อยมาก[4,5] และมีโอกาสเกิดการปนเปื้อนของดีเอ็นเอน้อยกว่าการสกัดดีเอ็นเอจากกระดูก[6]

ในปี ค.ศ. 2007 Prinz และคณะ ได้ศึกษาปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้จากฟันประเภทต่าง ๆ จากผลการศึกษา พบว่า ฟันที่มีโพรงเนื้อเยื่อใน (pulp chamber) ขนาดใหญ่จะเป็นแหล่งดีเอ็นเอได้ดีเนื่องจากพบปริมาณของเซลล์เนื้อเยื่อโพรงประสาทจำนวนมาก และฟันที่มีจำนวนรากฟันมากจะพบเซลล์ที่อยู่บริเวณเคลือบรากฟัน (cementum) มากกว่าทำให้มีปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้มากกว่าฟันที่มีเพียงรากเดียว ดังนั้นฟันที่เหมาะสมในการสกัดดีเอ็นเอเพื่อตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล ควรเป็นฟันกรามหรือในกรณีที่ไม่พบฟันกราม อาจจะใช้ฟันกรามน้อยแทน[7] ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Krisanaprakornkit และคณะ ในปี ค.ศ. 2006 โดยมีการศึกษาไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ (microsatellite DNA) จากรากฟันของฟันเพียง 1 ซี่ โดยศึกษาไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอบนออโตโซม (autosome) จำนวน 3 ตำแหน่ง ได้แก่ vWA, D 19S253 และ Penta E และโครโมโซมเพศชายจากยีนอะเมโลจีนิน (amelogenin gene) และเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอที่สกัดจากเลือด จากรากฟัน 1 ซี่ ใช้ตัวอย่างฟันกรามแท้ซี่ที่สามและเลือด พบว่าสามารถใช้รากฟันในการระบุเพศและไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอของอาสาสมัครได้อย่างแม่นยำและไม่พบการปนเปื้อนของดีเอ็นเอระหว่างตัวอย่าง โดยสรุปแล้ว ดีเอ็นเอที่สกัดจากรากฟันของฟัน 1 ซี่มีคุณภาพดีและสามารถตรวจหาลักษณะไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอได้เช่นเดียวกันกับ ดีเอ็นเอที่สกัดได้จากเลือดหรือเนื้อเยื่อส่วนอื่นของร่างกาย[8]

นอกจากนั้น Piedad และ Juan ได้ศึกษาการสกัดดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของฟันเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการสกัดดีเอ็นเอ โดยการเปรียบเทียบส่วนของเนื้อฟัน (dentin) เคลือบรากฟัน และเนื้อเยื่อใน (pulp) ผลการศึกษาพบว่าสามารถตรวจพบดีเอ็นเอตำแหน่ง D17Z1 ได้ดีที่สุดคือเนื้อเยื่อจากโพรงประสาทฟัน ส่วนของเนื้อฟันและรากฟันจะให้ผลที่ใกล้เคียงกัน ผลการศึกษาไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ (mitochondrial DNA) พบว่าเนื้อฟันและรากฟันให้ผลดีที่สุดเหมาะแก่การนำมาตรวจหาดีเอ็นเอ เนื่องจากเป็นส่วนที่คงทนต่อการเสื่อมสลายและเกิดการปนเปื้อนต่อสิ่งภายนอกได้น้อย[9]

นอกเหนือจากการตรวจดีเอ็นเอจากฟันแท้แล้วยังมีรายงานวิจัยการตรวจดีเอ็นเอระบุเพศจากฟันน้ำนมได้ ในงานวิจัยของ Kumar และ Hegde ได้นำตัวอย่างฟันน้ำนมมาตรวจดีเอ็นเอเพื่อใช้ในการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลทางนิติวิทยาศาสตร์ โดยสกัดดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อโพรงประสาทฟัน ด้วยวิธีฟีนอล-คลอโรฟอร์ม (phenol-chloroform extraction method) พบว่าในการตรวจดีเอ็นเอจากฟันเพศชายและเพศหญิง สามารถยืนยันด้วยตำแหน่งยีนอะเมโลจีนินได้ร้อยละ 100 เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน[10] นอกจากนั้น Prashant และ Shodan ได้ศึกษาปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่ส่งผลต่อการพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลโดยระบุเพศจากเนื้อเยื่อโพรงประสาทฟัน โดยใช้ตัวอย่างในการทดลอง 120 ตัวอย่าง แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 30 ตัวอย่าง กลุ่มที่หนึ่งเก็บไว้ในถังที่บรรจุน้ำ กลุ่มที่สอง สาม และสี่ นำไปฝังในทรายที่เก็บมาจากทะเล ดินและดินทราย

ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 2 เดือน จากนั้นนำเนื้อเยื่อจากโพรงประสาทฟันมาสกัดดีเอ็นเอและวิเคราะห์ตำแหน่งยีนอะเมโลจีนิน เพื่อระบุเพศของตัวอย่างดังกล่าว จากรายงานวิจัย พบว่าสามารถตรวจดีเอ็นเอจากฟันที่เก็บรักษาในสภาพแวดล้อมที่มีความแห้งได้ดีกว่าฟันที่อยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีความชื้น[11]

Williams และคณะ ได้ทำการวิจัยการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอเพื่อระบุเพศจากฟันน้ำนมที่ถูกเผาด้วยความร้อนในช่วงอุณหภูมิ 100-500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที พบว่าอุณหภูมิที่ยังสามารถตรวจพบยีนอะเมโลจีนินได้จะอยู่ในช่วงอุณหภูมิต่ำกว่า 200 องศาเซลเซียส[12]

ในการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลจากตัวอย่างฟันที่เป็นโรคฟันผุนั้น Esther และคณะได้มีการศึกษาวิจัยผลของการสะสมแบคทีเรียต่อการตรวจดีเอ็นเอในการพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล โดยการนำตัวอย่างฟันทั้งหมด 120 ตัวอย่างมาทำการทดสอบโดยแบ่งออกเป็นสองกลุ่ม กลุ่มที่หนึ่งเป็นฟันที่มีสุขภาพดีไม่มีรอยโรค 60 ตัวอย่าง และกลุ่มที่สองเป็นฟันที่มีรอยโรคการผุ 60 ตัวอย่าง ผลการทดลองพบว่าสามารถตรวจดีเอ็นเอได้จำนวน 81 ตัวอย่าง จาก 120 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 67.5 จากงานวิจัยจึงสรุปได้ว่าแบคทีเรียไม่มีผลต่อการตรวจหาดีเอ็นเอในการพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล[13]

จากรายงานวิจัยข้างต้นพบว่าดีเอ็นเอมีบทบาทอย่างมากในตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล เนื่องจากดีเอ็นเอเป็นแหล่งเก็บข้อมูลทางพันธุกรรม ซึ่งสารพันธุกรรมเหล่านี้ถ่ายทอดข้อมูลทางพันธุกรรมไปยังลูกหลานได้ ดังนั้นการตรวจหาดีเอ็นเอจากฟันที่มีโรคฟันผุจึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลในวัยเด็กที่ยังคงมีฟันน้ำนมเหลืออยู่ เพื่อให้ผลการศึกษาที่ได้เป็นแนวทางเลือกหนึ่งในการใช้ดีเอ็นเอจากฟันน้ำนมที่เป็นโรคฟันผุในการพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล และสามารถประยุกต์ใช้งานด้านนิติวิทยาศาสตร์ต่อไปในอนาคต

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษานี้ผ่านการรับรองโครงการวิจัยตามแนวทางหลักจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ จากคณะกรรมการพิทักษ์สวัสดิภาพและป้องกันภยันตรายของผู้ถูกวิจัย คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เอกสารเลขที่ 18/2560 เกณฑ์ในการคัดเลือกตัวอย่างในการทดลองใช้ฟันน้ำนมในตำแหน่งฟันกรามที่เป็นผุลึกและมีการละลายของรากฟัน นำไปสู่การถอนฟัน ใช้ฟันจากเด็กที่มีช่วงอายุไม่เกิน 12 ปี การทดลองจะแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 13 ซี่ กลุ่มที่ 1 ฟันน้ำนมที่เป็นโรคฟันผุตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน กลุ่มที่ 2 ฟันน้ำนมที่เป็นโรคฟันผุตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน โดยจะนำดีเอ็นเอจากฟันน้ำนมมาตรวจเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอจากเลือดที่ติดอยู่บนผ้าก๊อซและนำมาตรวจดีเอ็นเอในตำแหน่ง D3S1358 D5S818 และ D16S539 โดยใช้ดีเอ็นเอจากห้องปฏิบัติการตรวจดีเอ็นเอ ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยมีลำดับนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) แสดงในตารางที่ 1 สาเหตุในการเลือกดีเอ็นเอใน 3 ตำแหน่งนี้ เนื่องจากในแต่ละตำแหน่ง มีค่า polymorphism information content (PIC) คือค่าที่แสดงความหลากหลายของข้อมูลในตำแหน่งที่ศึกษา ถ้าหากมีค่ามากก็จะมีความหลากหลายมาก มีความเหมาะสมในการใช้ในการตรวจพิสูจน์บุคคล[14]

การแบ่งระดับฟันผุ

ฟันผุระดับมาก หมายถึง ฟันผุลึกระดับโพรงประสาทฟันและรากฟัน

ฟันผุระดับปานกลาง หมายถึง ฟันผุลึกถึงระดับเนื้อฟัน

ฟันผุระดับน้อย หมายถึง ไม่สามารถสังเกตเห็นรอยโรคฟันผุได้ด้วยตาเปล่า

วิธีการวิจัย

1. ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างฟันก่อนนำมาสกัดดีเอ็นเอ

ล้างทำความสะอาดฟันด้วยน้ำกลั่น และแช่ในเอทานอล (ethanol) เป็นเวลา 15 นาที เพื่อฆ่าเชื้อโรคที่ติดอยู่บนผิวฟัน จากนั้นนำฟันไปบดโดยใช้ครกบดจนเป็นผงละเอียดเก็บไว้ในหลอดปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเตรียมไว้สำหรับการสกัดดีเอ็นเอ

ตารางที่ 1 *แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอที่ใช้ในงานทดลอง*

Table 1 *The nucleotide sequences of primers used in this study*

Primer	The nucleotide sequences (5'→ 3' direction)
D3S1385	Forward: 5'-ACT GCA GTC CAA TCT GGG T-3'
	Reward: 5'-ATG AAA TCA ACA GAG GCT TG-3'
D5S818	Forward: 5'-GGGTGATTTTCCTCTTTGGT-3'
	Reward: 5'-TGATTCCAATCATAGCCACA-3'
D16S539	Forward: 5'-GATCCCAAGCTCTTCCTCTT-3'
	Reward: 5'-ACGTTTGTGTGTGCATCTGT-3'

2. ขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอจากฟัน

ในการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างฟันจะใช้ชุดสกัดน้ำยาสำเร็จรูป QIAamp® DNA Investigator (Qiagen, Germany) โดยมีขั้นตอนดังนี้ นำตัวอย่างฟัน 100 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดไมโครเซ็นติฟิวก์ (micro centrifuge tube) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายบัฟเฟอร์ ATL (buffer ATL) ปริมาตร 360 µl และเอ็นไซม์ย่อยสลายโปรตีน (proteinase K) ปริมาตร 20 µl นำไปบ่มข้ามคืนบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (thermomixer) ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เติมสารละลายบัฟเฟอร์ AL (buffer AL) ปริมาตร 300 µl วางหลอดในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 900 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 1 นาที แล้วนำสารละลายส่วนใสใส่ลงในหลอดไมโครเซ็นติฟิวก์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติมเอทานอลปริมาตร 150 µl นำส่วนใสปิเปตใส่ลงในแท่งกรอง (filter column) ที่วางซ้อนอยู่ในหลอดทดลอง (collection tube) 2 มิลลิลิตร ปิดฝานำไปปั่นเหวี่ยง 8,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาทีและวางแท่งกรองในหลอดทดลองหลอดใหม่ เติมสารละลายบัฟเฟอร์สำหรับล้างขั้นตอนที่ 1 (buffer AW1) ปริมาตร 600 µl ปิดฝานำไปปั่นเหวี่ยง 8,000 รอบต่อนาที เติมสารละลายบัฟเฟอร์สำหรับล้างขั้นตอนที่ 2 (buffer AW2) ปริมาตร 700 µl ปิดฝานำไปนำไปปั่นเหวี่ยง 8,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 1 นาที วางแท่งกรองในหลอดทดลองหลอดใหม่ เติมเอทานอลปริมาตร 700 µl ปิดฝานำไปนำไปปั่นเหวี่ยง 8,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 1 นาทีและวางแท่งกรองในหลอดทดลองหลอดใหม่ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที เพื่อให้แผ่นเยื่อ (membrane) แห้ง วางแท่งกรองในหลอดไมโครเซ็นติฟิวก์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เปิดฝาแท่งกรองและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 นาที เติมสารละลายบัฟเฟอร์ ATL ปริมาตร 20 µl ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที นำไปปั่นเหวี่ยง 14,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 1 นาที นำดีเอ็นเอจากฟันเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3. ขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอจากเลือด

ในการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือด ใช้ชุดสกัดน้ำยาสำเร็จรูป QIAamp® DNA Investigator Kit (Qiagen, Germany) ในการสกัดดีเอ็นเอจากเลือดมีขั้นตอนดังนี้ คือ ตัดเศษผ้าก๊อซเปื้อนเลือดขนาด 0.5 ตารางเซนติเมตร ให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปใส่ในหลอดไมโครเซ็นติฟิวก์ ขนาด 2.0 มิลลิลิตร เติมสารละลายบัฟเฟอร์ ATL ปริมาตร 300 µl และเอ็นไซม์ย่อยสลายโปรตีน ปริมาตร 20 µl นำไปบ่มข้ามคืนที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส ในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ แล้วเติมสารละลายบัฟเฟอร์ AL ปริมาตร 300 µl แล้วนำหลอดใส่ในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 900 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 1 นาที นำสารละลายส่วนใสปิเปตใส่ลงในหลอดไมโครเซ็นติฟิวก์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติมเอทานอลปริมาตร 150 µl นำส่วนใสใส่ลงในแท่งกรองที่วางซ้อนอยู่ในหลอดทดลองปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร ปิดฝานำไปปั่นเหวี่ยง 8,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที และวางแท่งกรองในหลอดทดลองปริมาตร 2.0 มิลลิลิตรหลอดใหม่ นำหลอดทดลองหลอดเดิมทิ้ง เติมสารละลายบัฟเฟอร์สำหรับล้างขั้นตอนที่ 1 ปริมาตร 500 µl ในแท่งกรอง ปิดฝานำไปปั่นเหวี่ยง 8,000 รอบต่อนาทีนาน 1 นาที เติมสารละลายบัฟเฟอร์สำหรับล้างขั้นตอนที่ 2 ปริมาตร 700 µl ปิดฝานำไปนำไปปั่นเหวี่ยง 8,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที และวางแท่งกรองในหลอดทดลองหลอดใหม่ เติมเอทานอลปริมาตร 700 µl ปิดฝานำไปนำไปปั่นเหวี่ยง 8,000 รอบต่อนาทีนาน 1 นาทีและวางแท่งกรองในหลอดทดลองหลอดใหม่ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 3 นาที เพื่อให้แผ่นเยื่อแห้ง วางแท่งกรองในหลอดไมโครเซ็นติฟิวก์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำหลอดเก่าทิ้งค่อย ๆ เปิดฝาแท่งกรองและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที เติมสารละลายบัฟเฟอร์ ATL ปริมาตร 20 µl ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที นำไปปั่นเหวี่ยง 14,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 1 นาที นำดีเอ็นเอจากเลือด เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

4. การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ D3S1358, D5S818 และ D16S539 โดยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิคริลาไมด์-อิเลคโทร ฟอริซีส

นำดีเอ็นเอที่สกัดจากตัวอย่างฟันและตัวอย่างเลือด ปริมาตร 4 µl ใช้เป็นดีเอ็นเอแม่แบบของการเพิ่มปริมาณไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอบนตำแหน่ง D3S1358, D5S818 และ D16S539 ในสารละลายปริมาตรสุดท้าย 10 µl โดยประกอบไปด้วย 2XJumpStart™ REDTaq® ReadyMix™ Reaction Mix (SIGMA®, Germany) ปริมาตร

5.0 µl, ดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA template) 4.0 µl, 4 µM Primer mix (ตำแหน่ง D3S1358, D5S818, D16S539) (SIGMA®, Germany) 1.0 µl นำหลอดทดลองเข้าเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (thermal cycler) โดยใช้โปรแกรมปรับเปลี่ยนอุณหภูมิ ดังนี้ แยกสายดีเอ็นเอเกลียวคู่ออกจากกัน (denaturation) ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที อบเหนียว (annealing) ที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที สังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ต่อจากไพรเมอร์ (extension) ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที จำนวนรอบในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอทั้งหมด 32 รอบ และพักทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 7 นาที

5. การแยกแถบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์บริเวณ D3S1358, D5S818 และ D16S539 ด้วยพอลิคริลาไมด์อิเลคโทรฟอริซีส

นำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์บริเวณ D3S1358, D5S818 และ D16S539 ที่เพิ่มปริมาณแล้ว ปริมาตร 10 µl มาวิเคราะห์ขนาดและรูปแบบพอลิคริลาไมด์อิเลคโทรฟอริซีส ในแนวตั้ง ความเข้มข้นร้อยละ 8.5 โดยใช้ชุดการเคลื่อนสู่ขั้วไฟฟ้าชนิด Bio-Rad Protean Ii Xi Cell ในสารละลายสารละลายบัฟเฟอร์ TBE (tris boric acid EDTA; TBE) เป็นตัวนำกระแสไฟฟ้า จ่ายกระแสไฟฟ้าที่ความต่างศักย์ 90 โวลต์ นาน 16.5 ชั่วโมง ย้อมสีเจลด้วยวิธีย้อมเงิน (sliver staining) เพื่อตรวจสอบขนาดและชนิดอัลลีล (allele) ของตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดได้ของตัวอย่างฟันและเลือด

ผลการศึกษา

ผลการตรวจดีเอ็นเอของฟันน้ำนมที่เป็นโรคฟันผุตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วันและ 1 เดือน พบว่าฟันที่มีการผุในระดับมาก ปานกลางและน้อย สามารถตรวจพบดีเอ็นเอได้ในฟันทุกซี่ดังที่แสดงในตารางที่ 2 และ ตารางที่ 3 ตามลำดับ ซึ่งผลการตรวจแถบดีเอ็นเอในฟันน้ำนมที่เป็นโรคฟันผุตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วันและ 1 เดือน พบว่าเมื่อเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอระหว่างตัวอย่างฟันกับเลือดแล้ว แถบดีเอ็นเอปรากฏในตำแหน่งเดียวกัน ในทั้ง ตำแหน่ง D3S1358, D5S818 และ D16S539 ดังที่แสดงในรูปที่ 1 และ 2

ตารางที่ 1 *แสดงผลการตรวจดีเอ็นเอ ของกลุ่มที่ 1*

Table 1 *DNA results of Group 1*

ลำดับฟัน	ระดับการผุของฟัน	ผลปรากฏของแถบดีเอ็นเอ		
		D3S1358	D5S818	D16S539
1	ปานกลาง	+	+	+
2	น้อย	+	+	+
3	ปานกลาง	+	+	+
4	ปานกลาง	+	+	+
5	มาก	+	+	+
6	มาก	+	+	+
7	ปานกลาง	+	+	+
8	มาก	+	+	+
9	มาก	+	+	+
10	มาก	+	+	+
11	ปานกลาง	+	+	+
12	ปานกลาง	+	+	+
13	มาก	+	+	+

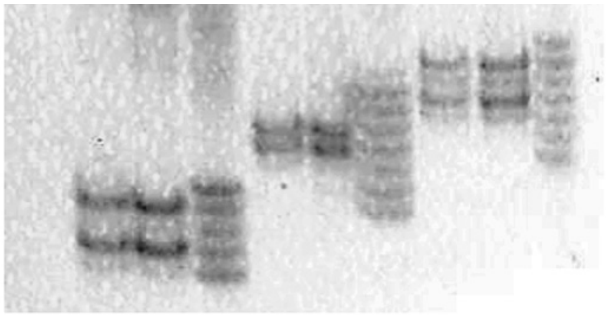
ตารางที่ 2 *แสดงผลการตรวจดีเอ็นเอ ของกลุ่มที่ 2*

Table 2 *DNA results of Group 2*

ลำดับฟัน	ระดับการผุของฟัน	ผลปรากฏของแถบดีเอ็นเอ		
		D3S1358	D5S818	D16S539
1	ปานกลาง	+	+	+
2	ปานกลาง	+	+	+
3	น้อย	+	+	+
4	น้อย	+	+	+
5	มาก	+	+	+
6	มาก	+	+	+
7	มาก	+	+	+
8	ปานกลาง	+	+	+
9	มาก	+	+	+
10	ปานกลาง	+	+	+
11	มาก	+	+	+
12	มาก	+	+	+
13	มาก	+	+	+

บทวิจารณ์

จากผลการทดลองพบว่า เมื่อนำฟันที่เป็นโรคฟันผุเก็บรักษาในระยะเวลา 1 เดือนสามารถตรวจพบดีเอ็นเอได้ ผลการทดลองดังกล่าวมีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Esther และคณะ[13] ศึกษาการตรวจดีเอ็นเอจากฟันแท้ที่เป็นโรคฟันผุ โดยนำส่วนของเนื้อเยื่อโพรงประสาทในฟันที่



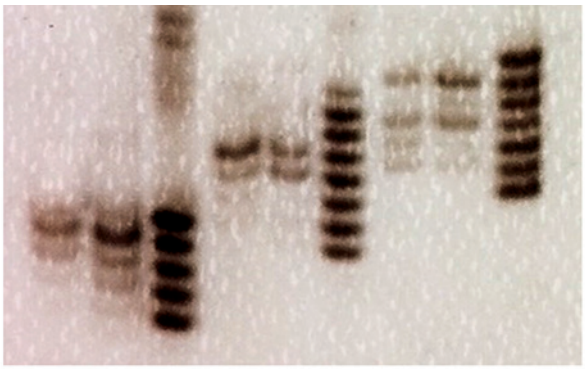
1 2 3 4 5 6 7 8 9

รูปที่ 1 *แสดงลักษณะดีเอ็นจากจากฟันที่เป็นโรคฟันผุที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน เปรียบเทียบกับดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือด*

Figure 1 *DNA from teeth was kept at room temperature for a period of one day as compared with DNA, from the blood samples.*

- เลนที่ 1-3 แสดงผลการตรวจดีเอ็นเอในตำแหน่ง D3S1358 โดยแสดงตามลำดับดังนี้
  - ดีเอ็นเอจากฟันที่เป็นโรคฟันผุที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน
  - ดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือด
  - ดีเอ็นเอมาตรฐานในตำแหน่ง D3S1358
- เลนที่ 4-6 แสดงผลการตรวจดีเอ็นเอในตำแหน่ง D5S818 โดยแสดงตามลำดับดังนี้
  - ดีเอ็นเอจากฟันที่เป็นโรคฟันผุที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน
  - ดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือด
  - ดีเอ็นเอมาตรฐานในตำแหน่ง D5S818
- เลนที่ 7-9 แสดงผลการตรวจดีเอ็นเอในตำแหน่ง D16S539 โดยแสดงตามลำดับดังนี้
  - ดีเอ็นเอจากฟันที่เป็นโรคฟันผุที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน
  - ดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือด
  - ดีเอ็นเอมาตรฐานในตำแหน่ง D16S539

จะเห็นได้ว่าสามารถตรวจพบตำแหน่งดีเอ็นเอที่สกัดจากฟันกรามน้ำนมที่เป็นโรคฟันผุที่เก็บรักษาไว้ 1 วัน ได้ทั้งหมดทุกซี่ และมีการปรากฏแถบดีเอ็นเอทั้ง 3 ตำแหน่ง ตรงกับตัวอย่างเลือดของผู้ทดสอบ



1 2 3 4 5 6 7 8 9

รูปที่ 2 *แสดงลักษณะดีเอ็นจากจากฟันที่เป็นโรคฟันผุที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน เปรียบเทียบกับดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือด*

Figure 2 *DNA from teeth was kept at room temperature for a period of one month as compared with DNAs from the blood samples.*

- เลนที่ 1-3 แสดงผลการตรวจดีเอ็นเอในตำแหน่ง D3S1358 โดยแสดงตามลำดับดังนี้
  - ดีเอ็นเอจากฟันที่เป็นโรคฟันผุที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน
  - ดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือด
  - ดีเอ็นเอมาตรฐานในตำแหน่ง D3S1358
- เลนที่ 4-6 แสดงผลการตรวจดีเอ็นเอในตำแหน่ง D5S818 โดยแสดงตามลำดับดังนี้
  - ดีเอ็นเอจากฟันที่เป็นโรคฟันผุที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน
  - ดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือด
  - ดีเอ็นเอมาตรฐานในตำแหน่ง D5S818
- เลนที่ 7-9 แสดงผลการตรวจดีเอ็นเอในตำแหน่ง D16S539 โดยแสดงตามลำดับดังนี้
  - ดีเอ็นเอจากฟันที่เป็นโรคฟันผุที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน
  - ดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือด
  - ดีเอ็นเอมาตรฐานในตำแหน่ง D16S539

จะเห็นได้ว่าสามารถตรวจพบตำแหน่งดีเอ็นเอที่สกัดจากฟันกรามน้ำนมที่เป็นโรคฟันผุที่เก็บรักษาไว้ 1 เดือนได้ทั้งหมดทุกซี่ และมีการปรากฏแถบดีเอ็นเอทั้ง 3 ตำแหน่ง ตรงกับตัวอย่างเลือดของผู้ทดสอบ

เป็นโรคฟันผุมาตรวจเปรียบเทียบกับฟันที่มีสุขภาพดีพบว่าสามารถตรวจพบดีเอ็นเอได้ทั้ง 2 กลุ่มให้ผลการทดลองที่ไม่แตกต่างกัน เป็นข้อมูลยืนยันได้ว่าฟันที่เป็นโรคฟันผุสามารถตรวจพบดีเอ็นเอ ได้เช่นเดียวกันกับฟันที่มีสุขภาพดี ในการศึกษาข้างต้นได้มีการนำส่วนของเนื้อเยื่อโพรงประสาทฟันมาตรวจเท่านั้น แต่การศึกษานี้ใช้ฟันน้ำนมทั้งซี่ในการตรวจหาดีเอ็นเอ ซึ่งสามารถตรวจพบดีเอ็นเอได้ทุกซี่

เนื่องจากดีเอ็นเอสามารถตรวจพบได้ในบริเวณต่าง ๆ ของฟัน Gaytmenn และ Sweet ทำการศึกษาดีเอ็นเอจากฟันในบริเวณต่าง ๆ ในส่วนของรากฟัน ที่ประกอบด้วยเคลือบรากฟัน เนื้อฟัน และโพรงประสาทฟัน พบปริมาณดีเอ็นเอมากกว่า บริเวณตัวฟัน ถึง 10 เท่า เนื่องจากบริเวณตัวฟันประกอบด้วย เคลือบฟันและเนื้อฟันเป็นส่วนใหญ่ เคลือบฟันจะเป็นตัวป้องกันไม่ให้เนื้อฟันถูกทำลายจากสภาวะแวดล้อมภายนอกและเป็นส่วนที่ไม่พบเซลล์ที่มีชีวิต จึงทำให้ไม่สามารถตรวจ ดีเอ็นเอได้จากเคลือบฟัน[15] เซลล์สร้างเนื้อฟัน (odontoblast) เป็นส่วนของเซลล์ที่มีชีวิต เซลล์อยู่ระหว่างเนื้อฟันและโพรงประสาทฟัน สามารถพัฒนาเป็นเนื้อฟันได้สามารถตรวจพบดีเอ็นเอได้[16] เช่นเดียวกับโพรงประสาทฟัน ภายในประกอบด้วย เนื้อเยื่อโพรงประสาทฟัน เซลล์ชนิดต่าง ๆ เส้นประสาทจำนวนมาก เป็นส่วนที่ตรวจพบปริมาณดีเอ็นเอมากที่สุด[17] บริเวณปลายรากฟันจะประกอบด้วย เซลล์ของเคลือบรากฟัน (cementocyte) เป็นเซลล์ที่มีชีวิตสามารถตรวจพบดีเอ็นเอได้[18] มีการศึกษาของ Krisanaprakornkit และคณะ ศึกษาดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์จากรากฟันของฟันเพียง 1 ซี่ เปรียบเทียบกับดีเอ็นเอที่สกัดจากเลือด โดยเก็บไว้ในสภาพแวดล้อมต่างกัน ทิ้งฟันไว้ที่อุณหภูมิห้อง ฝังไว้ในดินและ แช่ฟันในน้ำทะเลเป็นเวลา 40 วัน ซึ่งผลการทดลองพบว่าสามารถใช้รากฟันจากทั้งสามกลุ่มบ่งบอกเพศและไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอของอาสาสมัครได้อย่างแม่นยำและไม่พบการปนเปื้อนของดีเอ็นเอระหว่างตัวอย่าง[8]

นอกจากนั้นได้มีการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลจากศพของผู้เสียชีวิตจากเหตุการณ์รถจมอยู่ใต้น้ำเป็นเวลาประมาณ 2 ปี โดย Hussam และคณะ ได้นำส่วนของรากฟันและตัวฟันมาทำการสกัดดีเอ็นเอเปรียบเทียบ พบว่าส่วนบริเวณรากฟันตรวจพบปริมาณดีเอ็นเอได้มากกว่าบริเวณตัวฟัน และทำการผ่าฟันตามแนวขวางแล้วนำมาส่องกล้องพบว่าบริเวณรากฟันมีเซลล์เคลือบรากฟันจำนวนมาก เมื่อนำมาตรวจดีเอ็นเอพบว่าสามารถนำส่วนของปลายรากฟันตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลจากไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ ได้ทั้ง 16 ตำแหน่ง สามารถยืนยันศพของผู้เสียชีวิตได้จากปลายรากฟันเพียง 1 ซี่[19]

ในการทดลองนี้ ฟันที่นำมาใช้ทดลอง เป็นฟันกรามที่เป็นโรคฟันผุ โดยใช้ฟันทั้งซี่ในการตรวจหาดีเอ็นเอ ในส่วนของเคลือบฟันรวมถึงเนื้อฟันอาจถูกทำลายไปบางส่วน ในกรณีที่มีฟันผุอย่างรุนแรงบริเวณโพรงประสาทฟันจะถูกทำลายไปทำให้เนื้อเยื่อเซลล์ประสาทฟันถูกทำลายไปบางส่วน แต่ยังคงสามารถตรวจดีเอ็นเอได้จากบริเวณรากฟัน ซึ่งมักจะพบบริเวณปลายรากฟันของฟันกรามมากกว่าฟันหน้า[20] จึงทำให้ตรวจพบดีเอ็นเอจากฟันที่เป็นโรคฟันผุได้

Prashant และ Shodan ศึกษาในด้านปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่ส่งผลต่อการตรวจดีเอ็นเอระบุเพศจากเนื้อเยื่อโพรงประสาทฟันในฟันน้ำนม แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม โดยเก็บไว้ในถังที่บรรจุน้ำ นำไปฝังในทรายที่เก็บมาจากทะเล ดิน และดินทรายตามลำดับ เป็นระยะเวลา 2 เดือน จากนั้นนำเนื้อเยื่อจากโพรงประสาทฟันมาตรวจดีเอ็นเอตำแหน่งยีนอะเมโลจีนิน พบว่าสามารถตรวจดีเอ็นเอจากฟันที่เก็บรักษาในสภาพแวดล้อมที่มีความแห้งได้ดีกว่าฟันที่อยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีความชื้น[11] จะเห็นได้ว่าการที่เก็บรักษาฟันในอุณหภูมิห้องเป็นการรักษาสภาพของดีเอ็นเอในฟันทำให้ในการเก็บรักษาฟันเป็นระยะเวลา 1 เดือน สามารถตรวจพบดีเอ็นเอได้ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Kumar และ Hegde ได้นำตัวอย่างฟันน้ำนมมาตรวจดีเอ็นเอเพื่อใช้ในการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ทางนิติวิทยาศาสตร์ โดยสกัดดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อโพรงประสาทฟัน เพื่อนำมาตรวจตำแหน่งยีนอะเมโลจีนิน พบว่าในการตรวจดีเอ็นเอจากฟันเพศชายและเพศหญิง สามารถตรวจพบดีเอ็นเอตำแหน่งยีนอะเมโลจีนิน ได้ร้อยละ 100 เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน[10] นอกจากนั้นมีการศึกษาของ Maria และคณะ ทำการศึกษาดีเอ็นเอจากฟันน้ำนมของผู้เสียชีวิตจากเหตุภัยพิบัติ โดยสกัดดีเอ็นเอจากฟันน้ำนมที่เก็บรักษาไว้ในช่วงระยะเวลาต่าง ๆ นำส่วนของเนื้อเยื่อโพรงประสาทฟันมาสกัดดีเอ็นเอเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลของผู้ประสบภัยจากจากเหตุภัยพิบัติ ผลการทดลองพบว่าดีเอ็นเอให้ผลตรงกันทุกตำแหน่ง โดยฟันที่ยังคงสามารถตรวจพบดีเอ็นเอได้มีการเก็บรักษาไว้นานถึง 18 ปี ในขณะ

เดียวกันได้มีการนำดีเอ็นเอจากแปรงฟันหรือหวีของผู้เสียชีวิตมาตรวจสอบดีเอ็นเอ ผลการทดลองกลับไม่สามารถตรวจสอบดีเอ็นเอได้[21] แสดงให้เห็นว่าฟันเป็นอวัยวะที่สามารถเก็บรักษาดีเอ็นเอของผู้เสียชีวิตได้ดีกว่าเนื้อเยื่ออื่น ๆ ในร่างกาย แม้ว่าระยะเวลาจะผ่านไปนาน ก็สามารถตรวจดีเอ็นเอได้จากฟัน

การตรวจดีเอ็นเอจากฟันน้ำนมที่เป็นโรคฟันผุยังไม่เคยมีผู้วิจัยศึกษามาก่อน การทดลองอาจจะต้องมีการศึกษาด้านอื่น ๆ เพิ่มเติม จากการศึกษาพบว่าระยะเวลาที่เก็บรักษาฟันสั้นเกินไปทำให้ผลที่ได้ไม่มีความแตกต่างกัน ดังนั้นควรพัฒนาการศึกษาโดยการเพิ่มระยะเวลาในการเก็บรักษาฟันให้มากขึ้นและเพิ่มการเก็บรักษาฟันในสภาวะแวดล้อมหลากหลายเพื่อให้ผลการศึกษามีความแตกต่างกันไปตามเงื่อนไขในการทดสอบมากยิ่งขึ้น ในการวิจัยได้มีการศึกษาในเชิงคุณภาพควรเพิ่มเติมการตรวจหาปริมาณดีเอ็นเอเพื่อแสดงข้อมูลเชิงปริมาณ เพื่อให้ผลการทดลองมีความชัดเจนมากขึ้นและสามารถนำข้อมูลระดับความแตกต่างของดีเอ็นเอไปวิเคราะห์เพื่อทำการทดลองต่อยอดในงานวิจัยด้านนี้มากยิ่งขึ้น

บทสรุป

จากการศึกษาวิจัยพบว่าการสกัดดีเอ็นเอจากฟันที่เป็นโรคฟันผุ เปรียบเทียบกับไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ 3 ตำแหน่ง ได้แก่ D3S1358 , D5S818 และ D16S539 กับดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือด พบว่าฟันที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน สามารถตรวจพบตำแหน่งดีเอ็นเอที่สกัดจากฟันได้ทั้งหมดทุกซี่ และแถบดีเอ็นเอทั้ง 3 ตำแหน่ง ปรากฏตรงกับตัวอย่างเลือดของผู้ทดสอบ เช่นเดียวกันกับดีเอ็นเอของฟันที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน ซึ่งการทดลองครั้งนี้สามารถตรวจพบไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ ทั้ง 3 ตำแหน่ง ให้ผลร้อยละ 100 ดังนั้นจากผลการทดลองจึงแสดงให้เห็นว่าระยะเวลาให้การเก็บรักษาฟันที่เป็นโรคฟันผุระหว่าง 1 วันและ 1 เดือนไม่มีความแตกต่างกัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมืออุปกรณ์ สถานที่ห้องปฏิบัติการวิจัย ขอขอบคุณ คุณสุทัศน์ ศรีดวงแก้ว และคุณพัชรินทร์ มหาวงค์ เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการนิติพันธุศาสตร์ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำในการทำวิจัย ขอขอบคุณ ผศ. ดร. พัชณี แสงทอง ที่ให้คำแนะนำและปรับแก้ไขงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Chamsuwanwong A. Forensic science 1 for crime investigation. 2th ed. Bangkok: TGC Printing; 2546: 2-4.
2. Kirsty W. An Evaluation of the Thai Tsunami victim identification DNA operation. *Forensic Sci Pol Manag* 2015; 6(3-4): 69-78.
3. Ritz S, Cattaneo C, Collins MJ, et al. Age estimation: The state of the art in relation to the specific demands of forensic practice. *Int J Legal Med* 2000; 113(3): 129–136.
4. Alvarez A, Munoz I, Pestoni C, et al. Rodriguez M.S, Carracedo A. Effect of environmental factors on PCR-DNA analysis from dental pulp. *Int J Legal Med* 1996; 109(3): 125-129.
5. Khammongkol P, Bhoopat T, Bhoopat B, Chatupos V. Sex Determination of burnt teeth at amelogenin Y locus by Loop mediated isothermal amplification (LAMP). *Forensic Sci Med* 2013; 5(1): 5-15.
6. Gilbert M.T, Rudbeck L, Willerslev E, et al. Biochemical and physical correlates of DNA contamination in archeological human bones and teeth excavated at Matera, Italy. *J Archaeol Sci* 2005; 32: 785-793.
7. Prinz M, Carracedo A, Mayr WR, et al. DNA Commission of the international society for forensic genetics (ISFG): Recommendations regarding the role of forensic genetics for disaster victim identification (DVI), *Forensic Sci Int Genet 1* 2007; 1(1): 3–12.

8. Krisanaprakornkit S, Kumchai T, Steger H, Bhoopat T, Iamaroon A. Microsatellite DNA typing for personal identification from the roots of a single tooth. *CM Dent J* 2006; 27(1): 101-110.
9. Piedad CM, Juan JY .different Dental tissues as source of DNA for human identification in forensic cases. *Croat Med* 2003; 44(3): 306-309.
10. Kumar MG, Hegde AM. Sex identification from exfoliated primary teeth a PCR study. *J Clin Pediatr Dent* 2005; 30(1): 19–21.
11. Prashant M, Shodan M. Gender determination using primary teeth: A polymerase chain reaction (PCR) study. *J Dent Oral Hyg* 2013; 5(8): 77-82.
12. Williams D, Lewis M, Franzen T, et al. Sex determination by PCR analysis of DNA extracted from incinerated, deciduous teeth. *Sci Justice* 2004; 44(2): 89–94.
13. Esther A., David P, Ana S, et al. Forensic identification in teeth with caries. *Forensic Sci Int* 2015; 257: 236-241.
14. Egeland T, Mostad P. Statistical genetics and genetical statistics: a forensic perspective. *Scand J Stat* 2002; 29(2): 297-307.
15. Gaytmenn R, Sweet D. Quantification of forensic DNA from various regions of human teeth. *J Forensic Science* 2003; 48(3): 622-625.
16. Marko V, Tomaz T, Draga S, Joze B. Characteristics of the number of odontoblasts in human dental pulp post-mortem. *Forensic Sci Int* 2009; 193(1-3): 122–126.
17. Lucia P, Urs M. Application of DNA techniques for identification using human dental pulp as a source of DNA. *Int J Legal Med* 1992; 105(3): 139-143.
18. Bosshardt D. Are Cementoblasts a subpopulation of osteoblasts or a unique phenotype?. *J Dent Res* 2005; 84(5): 390-406.
19. Hussam M, Oliver K, Jan P, et al. Cementum as a source of DNA in challenging forensic cases. *Int J Legal Med* 2018; 54: 76-81.
20. Stamfelj I, Vidmar G, Cvetko E, Gaspersic D. Cementum thickness in multirooted human molars: a histometric study by light microscopy. *Ann Anat* 2008; 190(2): 129-139.
21. Maria X, Ana B, Ana C, et al. Primary teeth as DNA reference sample in disaster victim identification (DVI). *Forensic Sci Int: Genetics Supplement Series* 2011; 3(1): 381-382.

คลินิกทันตกรรมพิเศษ
Special Dental Clinic

เวลาเปิดทำการ
จันทร์ - เสาร์ 8.00 -20.30 น.
อาทิตย์ 8.00 - 16.30 น.
หยุดวันนักขัตฤกษ์ (เปิดให้บริการ 16.30 -20.30 น.)

ศูนย์บริการทางทันตกรรม

ครบวงจร

โดยอาจารย์ทันตแพทย์และทันตแพทย์ในสาขาต่างๆ

ขูดหินปูน อุดฟัน ถอนฟัน ผ่าฟันคุด
Cleaning, Filling
Extraction, Oral surgery
ฟอกสีฟัน ครอบฟัน วีเนียร์แก้ไขสี รูปร่างฟัน
Tooth whitening
All ceramics crown
Porcelain veneer
ทันตกรรมรากเทียม
Dental Implant
ฟันปลอม
Denture
ทันตกรรมจัดฟัน
Orthodontic treatment
ทันตกรรมสำหรับเด็ก
Pediatric Dentistry
ทันตกรรมบูรณะเพื่อแก้ไขระบบบดเคี้ยว
Oral rehabilitation

ช่องทางการติดต่อ
Special Dental Clinic คลินิกทันตกรรมพิเศษ คณะทันตแพทยศาสตร์
Tel 081-8550101 หรือ 081-8550110
ชั้น 1 และ 2 อาคาร 45 ปีคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่