

การหายของแผลระหว่างผลิตภัณฑ์พรอพอลิสไทยและแคลเซียมไฮดรอกไซด์ในการปิดทับเนื้อเยื่อในโดยตรงในแบบจำลองฟันมนุษย์ทั้งซี่: การศึกษานำร่อง

นิดา รุ่งจรัสแสง* ปริมาภรณ์ กลั่นฤทธิ์** สุบิน พัวศิริ*** สุพรรณิการ์ เรืองศรี**** ปัทมา ชัยเลิศวนิชกุล*****

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เปรียบเทียบการหายของแผลระหว่างผลิตภัณฑ์พรอพอลิสไทยและแคลเซียมไฮดรอกไซด์ในการปิดทับเนื้อเยื่อในโดยตรงในแบบจำลองฟันมนุษย์ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ในห้องปฏิบัติการ โดยศึกษาในฟันกรามมนุษย์ซี่ที่สามจำนวน 13 ซี่ แบ่งเป็น กลุ่มควบคุมลบ (3 ซี่) ได้แก่ ฟันที่ถูกถอนและศึกษาทันที (1 ซี่) ฟันที่ถูกถอนและเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ 7 วัน (1 ซี่) และ 14 วัน (1 ซี่) กลุ่มควบคุมบวก (2 ซี่) ได้แก่ ฟันที่กรอทะลุเนื้อเยื่อในโดยไม่ปิดทับด้วยวัสดุใด ๆ และเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ 7 วัน (1 ซี่) และ 14 วัน (1 ซี่) กลุ่มทดลอง 2 กลุ่ม ได้แก่ ฟันที่กรอทะลุเนื้อเยื่อในและปิดทับด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์โดยเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ 7 วัน (2 ซี่) และ 14 วัน (2 ซี่) และ ฟันที่กรอทะลุเนื้อเยื่อในและปิดทับด้วยผลิตภัณฑ์พรอพอลิสไทย โดยเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ 7 วัน (2 ซี่) และ 14 วัน (2 ซี่) ผลทางคลินิกพบ การอักเสบเรื้อรังในทุกกลุ่ม ยกเว้นไม่พบการอักเสบของฟันในกลุ่มควบคุมลบที่ถูกถอนและศึกษาทันที ฟันในกลุ่มควบคุมบวกที่กรอทะลุเนื้อเยื่อในและไม่ปิดทับด้วยวัสดุใด ๆ ที่เลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน มีระดับการอักเสบมากกว่ากลุ่มอื่น ในกลุ่มทดลองฟันที่กรอทะลุเนื้อเยื่อในและปิดทับด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์และผลิตภัณฑ์พรอพอลิสไทยที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการนาน 7 และ 14 วัน มีระดับการอักเสบไม่แตกต่างกัน แต่ฟันที่ปิดทับด้วยผลิตภัณฑ์พรอพอลิสไทยที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการนาน 7 วัน ยังคงพบชั้นของเซลล์สร้างเนื้อฟันที่เรียงตัวอย่างเป็นระเบียบและแนบกับชั้นเนื้อฟัน ในขณะที่ฟันที่ปิดทับด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์มีการแยกกันของชั้นเซลล์สร้างเนื้อฟันออกจากเนื้อฟัน

คำสำคัญ: ผลิตภัณฑ์พรอพอลิสไทย/ แคลเซียมไฮดรอกไซด์/ การปิดทับเนื้อเยื่อในโดยตรง/ แบบจำลองฟันมนุษย์ทั้งซี่/ การหายของแผล

บทนำ

ปัจจุบันมีการรักษาความมีชีวิตของฟันที่ผ่นเนื้อเยื่อในด้วยวัสดุหลายชนิด แคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นวัสดุที่นิยมใช้ในการปิดทับเนื้อเยื่อในโดยตรง เนื่องจากมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย มีการตอบสนองที่ดีต่อเนื้อเยื่อใน ราคาไม่แพง และพบความสำเร็จทางคลินิกในการรักษาสูง¹ แต่ก็มีข้อด้อยจากการละลายตัวของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ และการสร้างสะพานเนื้อฟันที่มีลักษณะเป็นรูพรุน (Tunnel defect)² อาจส่งผลให้เกิดการรั่วซึมในระยะยาวซึ่งเป็นปัญหาต่อเนื้อเยื่อใน นอกจากนี้มีการใช้เอ็มทีเอ (Mineralized trioxide aggregate, MTA) ที่มีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อ สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย มีความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำ มีความแนบสนิทดี สามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อแข็ง และละลายตัวน้อยกว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์^{3,4} แต่ราคาค่อนข้างแพง ใช้เวลาแข็งตัวนาน และทำให้ฟันเปลี่ยนสี^{1,4}

พรอพอลิส (Propolis) หรือกาวผึ้ง (Bee glue) เป็นสารที่ผึ้งเก็บจากพรรณไม้ต่าง ๆ แล้วนำมาผสมกับเอนไซม์

ในน้ำลายผึ้ง ทางทางแพทย์และทางเภสัชวิทยาได้นำพรอพอลิสมาใช้เป็นสมุนไพรในการรักษาโรคต่าง ๆ ตั้งแต่สมัยโบราณ ผึ้งที่เป็นต้นกำเนิดของพรอพอลิสมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Apis mellifera* องค์ประกอบทางเคมีของพรอพอลิสที่มีสรรพคุณทางเภสัชวิทยา คือ โพลีฟีนอล (Polyphenol) และสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound) ซึ่งจะออกฤทธิ์เสริมกัน (Synergistic) โดยโพลีฟีนอลส่วนใหญ่ที่พบจะเป็นสารกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ได้แก่ ฟลาโวนส์ (Flavones) และฟลาวาโนนส์ (Flavanones) และนอกจากโพลีฟีนอลแล้วยังพบสารกลุ่มอื่น เช่น กรดฟีนอลิก (Phenolic acids) เอสเทอร์ (Ester) ฟีนอลิกแอลดีไฮด์ (Phenolic aldehyde) เทอร์ปีน (Terpenes) กรดคาเฟอิก (Caffeic acid) กรดซินนามิก (Cinnamic acid) และกรดเฟอร์ูลิก (Ferulic acid) เป็นต้น ซึ่งปริมาณสารเหล่านี้ในพรอพอลิสจะแตกต่างกันไปตามพืชของแต่ละพื้นที่ การศึกษาของ Siripatravan และคณะ⁵ พบว่าสารสกัดพรอพอลิสไทยจากจังหวัดน่านที่สกัดด้วย

* โรงพยาบาลศิริราชเกิด อำเภอเมือง จังหวัดภูเก็ต

** ภาควิชาทันตกรรมโรคช่องปาก กลุ่มวิจัยโรคช่องปากและโรคทางระบบที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น

*** ภาควิชาทันตกรรมชุมชน คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น

**** ภาควิชาชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น

***** ภาควิชาทันตกรรมบูรณะ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น

เอทานอลมีส่วนประกอบของสารประกอบฟีนอลิก คือ รูติน (Rutin) เคอซีติน (Quercetin) และนารินจีนิน (Naringenin) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านจุลชีพ

สารประกอบฟีนอลิก เป็นสารที่พบตามธรรมชาติ ในพืช มีมากมายหลายชนิด และมีสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นโพลิเมอร์ เช่น ลิกนิน (Lignin) กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือ สารประกอบฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลิกมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและเป็นสารต้านการกลายพันธุ์ (Anti mutant) สามารถป้องกันโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือด และมะเร็ง นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านจุลชีพ ทั้งการต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา และต้านไวรัส⁶⁻⁹

สารประกอบฟลาโวนอยด์ เป็นสารประกอบฟีนอลิก ประเภทโพลิฟีนอล ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ทำหน้าที่ในการหน่วงเหนี่ยวหรือเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน จึงช่วยลดปฏิกิริยาถูกใช้ของอนุมูลอิสระได้ นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติด้านการอักเสบ บำรุงหลอดเลือด ยับยั้งการเกิดเนื้องอก ทางวิทยาเอ็นโดครินได้นำผลิตภัณฑ์พอลิฟีนอลไปประยุกต์ใช้ในหลายด้าน เช่น เป็นน้ำยาล้างคลองรากฟัน¹⁰ ยาใส่รักษาคอนกรูชัน¹¹ สารตัวกลางที่ใช้แช่ฟัน (Storage media)¹² รวมถึงใช้ปิดทับเนื้อเยื่อในฟันโดยตรง^{13,14}

ในปี 2005 Sabir และคณะได้ใช้พอลิฟีนอลจากอินโดนีเซียปิดทับเนื้อเยื่อในโดยตรงในฟันหนู พบว่าสารฟลาโวนอยด์จากพอลิฟีนอลช่วยลดการอักเสบของเนื้อเยื่อใน และกระตุ้นการสร้างเนื้อฟันซ่อมสร้าง (Reparative dentin) ใน 4 สัปดาห์¹³ และในปี 2010 Paloria และคณะเปรียบเทียบการใช้พอลิฟีนอล เอ็มทีเอ และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ในการปิดทับเนื้อเยื่อในโดยตรงในฟันมนุษย์ ได้ผลว่าการตอบสนองของเนื้อเยื่อในของวัสดุทั้งสามกลุ่มไม่แตกต่างกัน¹⁴

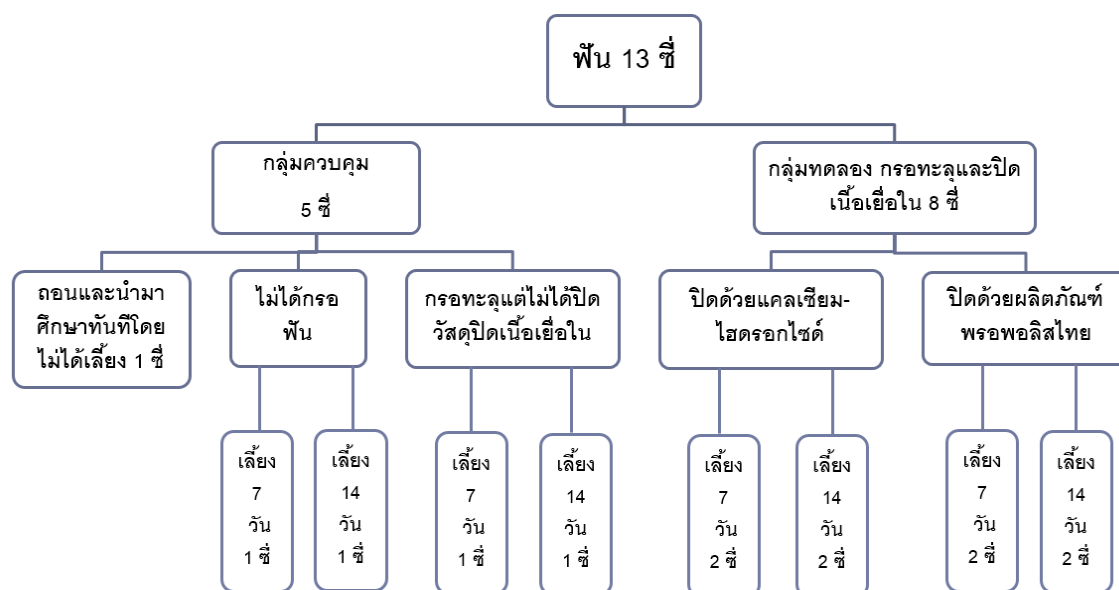
การศึกษากลไกการทำงานของระบบเนื้อฟันเนื้อเยื่อใน (Dentin-pulp complex) การสร้างเนื้อฟัน (Dentinogenesis) มีหลายวิธี ซึ่งการเลี้ยงเซลล์ในห้องปฏิบัติการ (*in-vitro* culture model) จากเซลล์สร้างเนื้อฟัน (Odontoblast) เป็นวิธีที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในการศึกษาการแสดงออกของตัวชี้วัด (Marker) และการเจริญเติบโตของเซลล์ แต่ไม่สามารถใช้ศึกษาผลของเนื้อเยื่อในจากการกรอฟันได้ จึงมีการพัฒนาแบบจำลองการเลี้ยงฟันจากฟันมนุษย์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ เพื่อจำลองการทำงานของระบบเนื้อฟันเนื้อเยื่อใน ซึ่งประกอบด้วยแบบจำลองการเลี้ยงแผ่นฟัน (Tooth slice

culture model) และแบบจำลองการเลี้ยงฟันทั้งซี่ (Whole tooth culture model)

ในปี 2005 Tecles และคณะ นำแบบจำลองการเลี้ยงฟันทั้งซี่มาศึกษาการตอบสนองของเซลล์ต้นกำเนิด (Progenitor stem cells) ต่อการเกิดภยันตรายต่อเนื้อเยื่อใน โดยใช้ฟันกรามซี่ที่สามของมนุษย์ที่ถูกถอนเพื่อการจัดฟัน กรอทะลุเนื้อเยื่อใน และเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีน้ำเกลือ เซนเซียม หรือเอ็มอีเอ็ม (Minimum essential medium, MEM) เมื่อตรวจด้วยวิธีภูมิคุ้มกันพบว่าเกิดการสร้างเนื้อฟันซ่อมสร้าง และเมื่อตรวจด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีพบว่าเซลล์ต้นกำเนิดรอบหลอดเลือด (Perivascular progenitor stem cells) ตอบสนองต่อการเกิดภยันตรายต่อเนื้อเยื่อใน โดยเคลื่อนที่ไปยังบริเวณที่มีการบาดเจ็บหลังจากการเลี้ยงฟัน 1 วัน 14 วัน และ 28 วัน¹⁵ ต่อมาในปี 2008 พวกเขาได้นำแบบจำลองการเลี้ยงฟันทั้งซี่มาศึกษาการสร้างเนื้อฟันซ่อมสร้างและความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุปิดทับเนื้อเยื่อในด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์และเอ็มทีเอ โดยใช้ฟันกรามซี่ที่สามที่รากยังสร้างไม่สมบูรณ์ กรอทะลุเนื้อเยื่อใน และปิดทับด้วยวัสดุข้างต้น เลี้ยงฟันในอาหารเลี้ยงเซลล์เอ็มอีเอ็ม เป็นเวลา 1 วัน 14 วัน และ 28 วัน ผลทางภูมิคุ้มกัน พบว่าเนื้อเยื่อในของฟันกลุ่มควบคุมมีลักษณะปกติ¹⁶ ดังนั้นแบบจำลองการเลี้ยงฟันนี้สามารถศึกษาการตอบสนองของระบบเนื้อฟันเนื้อเยื่อในได้ เนื่องจากยังไม่มีการศึกษาผลของผลิตภัณฑ์พอลิฟีนอลต่อการหายของแผลในการปิดทับเนื้อเยื่อในโดยตรง การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของผลิตภัณฑ์พอลิฟีนอลไทยในการส่งเสริมการหายของแผลเนื้อเยื่อในแบบจำลองฟันมนุษย์ทั้งซี่ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ในห้องปฏิบัติการ โดยประเมินจาก ชนิดและจำนวนของเซลล์อักเสบ การเพิ่มจำนวนหลอดเลือดที่ขยายตัว การตายของเซลล์ และชั้นของเซลล์สร้างเนื้อฟัน เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาผลิตภัณฑ์พอลิฟีนอลไทยเป็นวัสดุปิดทับเนื้อเยื่อในของฟันต่อไป

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

ฟันกรามมนุษย์ซี่ที่ 3 ที่ถอนเนื่องจากการจัดฟัน หรือเป็นฟันที่ไม่ได้ใช้งาน (Non-functional tooth) จำนวน 13 ซี่ จากอาสาสมัครไม่จำกัดเพศ อายุระหว่าง 15 ถึง 24 ปี ไม่มีโรคทางระบบ โดยตัวฟันและรากฟันไม่มีพยาธิสภาพใด ๆ ไม่มีรอยผุหรือวัสดุอุด มีการสร้างรากฟัน 1/3 ถึง 2/3 ของความยาวรากฟัน แบ่งฟันเป็น กลุ่มควบคุม 5 ซี่ และกลุ่มทดลอง 8 ซี่ ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 การแบ่งกลุ่มฟันที่ใช้ในการศึกษา

Figure 1 Flow chart of teeth used in this study

การเตรียมแบบจำลองและการเตรียมฟันกลุ่มควบคุมลบ (3 ซี่) ประกอบด้วย

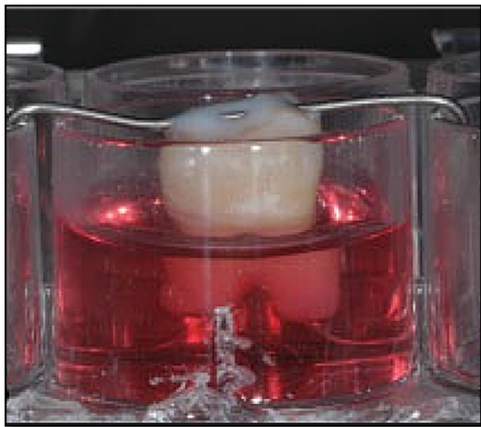
ฟันที่ไม่ถูกกรอและไม่ได้เลียงในห้องปฏิบัติการ (1 ซี่) เก็บฟันทันทีในหลอดทดลองปลอดเชื้อ ซึ่งภายในบรรจุสารละลายบัฟเฟอร์ฟอร์มาลินความเข้มข้นร้อยละ 10 เพื่อตรึงเนื้อเยื่อใน

ฟันที่ไม่ถูกกรอและเลียงในห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 7 วัน (1 ซี่) และ 14 วัน (1 ซี่) ตัดรากฟันที่ระดับต่ำกว่าง่ามรากฟัน 2-3 มิลลิเมตร ด้วยหัวกรอจากเพชรความเร็วสูงที่มีน้ำหล่อเลี้ยงตลอดเวลา นำฟันไปเลียงในงานเลียงเซลล์โดยยึดตัวฟันด้วยแผ่นโลหะ และเรซินคอมโพสิตชนิดไหลแห้ง (Filtek™ Z350 XT, 3M, ESPE, MN, USA) โดยไม่ให้ปลายรากฟันสัมผัสกับภาชนะ ดังรูปที่ 2 เติมน้ำอาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มอีเอ็ม ที่ประกอบด้วยซีรัมความเข้มข้นร้อยละ 20 เพนนิซิลินจี 100 ยูนิตต่อมิลลิลิตร สเตริบโตมายซิน 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และแอมโฟเทริซินบี 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ท่วมรากฟัน เลียงไว้ในตู้เลี้ยงเซลล์อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 โดยเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ ทุก 2 วัน เป็นเวลา 7 วัน และ 14 วัน ทุกครั้งที่เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ สังเกตการปนเปื้อน

หากอาหารเลี้ยงเซลล์ มีสีขาวขุ่น หรือ มีเส้นใยสีขาวบางๆ แสดงว่ามีการปนเปื้อน ให้นำฟันซึ่งตั้งกล่าวออกและทำการทดลองเพิ่มจนได้จำนวนฟันครบตามกำหนด เมื่อครบระยะเวลานำฟันดังกล่าวมาตรึงเนื้อเยื่อใน โดยแช่ในสารละลายบัฟเฟอร์ฟอร์มาลินความเข้มข้นร้อยละ 10

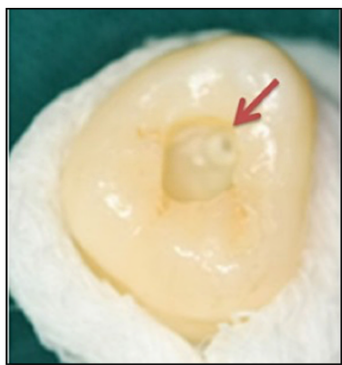
กลุ่มควบคุมบวก (2 ซี่) ประกอบด้วย

ฟันที่กรอทะลุเนื้อเยื่อในแต่ไม่ปิดด้วยวัสดุใด ๆ เลียงในห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 7 วัน (1 ซี่) และ 14 วัน (1 ซี่) ทำการทดลองเช่นเดียวกับกลุ่มควบคุมลบ แต่กรอทะลุเนื้อเยื่อใน โดยใช้ผ้าก๊อชชุบสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซลล์ขนาดๆ หุ้มรากฟัน ใช้หัวกรอจากเพชรทรงกระบอกความเร็วสูง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.12 หล่อด้วยน้ำตลอดเวลา กรอโพรงฟันด้านบดเคี้ยวให้กว้าง 3 มิลลิเมตร ยาว 4 มิลลิเมตร วัดด้วยเครื่องหยั่งร่องลึกปริทันต์ และค่อยๆ กรอต่อจนทะลุเนื้อเยื่อในขนาด 0.5 มิลลิเมตร ดังรูปที่ 3 หลังจากนั้นตัดรากฟันที่ระดับต่ำกว่าง่ามรากฟัน 2-3 มิลลิเมตร เลียงฟันเช่นเดียวกับกลุ่มควบคุม เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนด นำฟันมาตรึงเนื้อเยื่อใน โดยแช่ในสารละลายบัฟเฟอร์ฟอร์มาลินความเข้มข้นร้อยละ 10



รูปที่ 2 ฟันที่แขวนด้วยแผ่นโลหะและคอมโพสิตเรซินชนิดไหลแผ่
แช่ในอาหารเลี้ยงเซลล์

Figure 2 Tooth hung with metal sheet and flowable composite resin, immersed in cell culture media

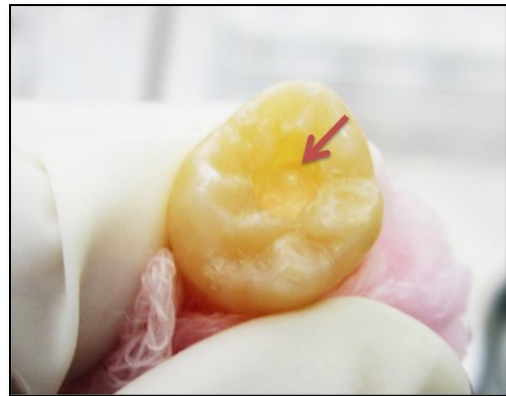


รูปที่ 3 รอยทะลุเนื้อเยื่อใน (ลูกศร)

Figure 3 Pulp exposure (arrow)

กลุ่มทดลอง (8 ซี่) ประกอบด้วย ฟันที่กรอทะลุเนื้อเยื่อในและปิดทับด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ เลี้ยงในห้องปฏิบัติการนาน 7 วัน (2 ซี่) และ 14 วัน (2 ซี่) ทำการทดลองเช่นเดียวกับกลุ่มควบคุมบวก แต่เพิ่มขั้นตอน ดังนี้ ปิดทับเนื้อเยื่อในด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ชนิดครีม (Life, Kerr Corporation, Romulus, Michigan, USA) โดยผสมส่วนเบสและแคสตาไลสต์ ในอัตราส่วนที่ผู้ผลิตแนะนำ ดังรูปที่ 4 ปิดทับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ด้วยกลาสส์ไอโอโนเมอร์

ซีเมนต์ (Fuji IX GP Extra, GC Corporation, Japan) ให้เหลือความลึกของโพรงฟัน 3 มิลลิเมตร บำรุงโพรงฟันด้วยวัสดุเรซินคอมโพสิต (Premise™, Kerr, CA, USA) เลี้ยงฟันเช่นเดียวกับกลุ่มอื่น ๆ เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนด นำฟันมาตรึงเนื้อเยื่อใน โดยแช่ในสารละลายยาบัพเฟอร์ฟอร์มาลิน ความเข้มข้นร้อยละ 10



รูปที่ 4 ฟันที่ปิดทับเนื้อเยื่อในด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (ลูกศร)

Figure 4 Pulp capping with calcium hydroxide (arrow)

กลุ่มฟันที่กรอทะลุเนื้อเยื่อในและปิดทับด้วยผลิตภัณฑ์พรอพลิสไทย เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ 7 วัน (2 ซี่) และ 14 วัน (2 ซี่) ทำการทดลองเช่นเดียวกับกลุ่มฟันที่ปิดทับด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ แต่เปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์พรอพลิสไทย โดยนำพรอพลิสจากจังหวัดหนองคายมาสกัดด้วยเอทานอล รายละเอียดการเตรียมสารสกัดและผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ระบุในบทความของ Chailertvanitkul และคณะ¹⁷ โดยได้จดอนุสิทธิบัตรผลิตภัณฑ์พรอพลิสไทยจากกรมทรัพย์สินทางปัญญาในชื่อ “เจลปิดเนื้อเยื่อในฟัน” (รูปที่ 5) ผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นเจลใส เนื้อเนียน สีน้ำตาล บรรจุในขวดแก้วสีชา ทำให้ปลอดภัยด้วยการฉวยรังสีแกมมา ดังรูปที่ 6 ปิดทับผลิตภัณฑ์พรอพลิสไทยด้วยกลาสส์ไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ บำรุงโพรงฟันส่วนที่เหลือด้วยวัสดุเรซินคอมโพสิต และเลี้ยงฟัน เช่นเดียวกับกลุ่มอื่น



รูปที่ 5 อนุสิทธิบัตรผลิตภัณฑ์พอรพอลิสไทยจากกรมทรัพย์สินทางปัญญา

Figure 5 Petty Patent of Thai propolis product

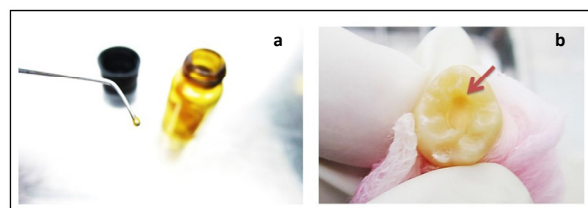
การย้อมสีเพื่อตรวจลักษณะทางมิญชีววิทยา

เมื่อครบกำหนดเวลาการตรึงเนื้อเยื่อใน น้ำฟีนมาละลายแร่ธาตุ (Decalcified) ด้วยกรดไนตริกความเข้มข้นร้อยละ 10 เพื่อให้เนื้อฟันนุ่มพอที่จะตัดได้ น้ำฟีนเข้าเครื่องโปรเซสเนื้อเยื่ออัตโนมัติเพื่อดึงน้ำออกด้วยแอลกอฮอล์และไซลีน ผึ่งฟันในบล็อกพาราฟฟิน ตัดฟันตามแนวแกนฟันในแนวแก้ม-ลิ้น ให้ได้แถบแผ่นบางของชิ้นเนื้อ (Serial section)

ตารางที่ 1 เกณฑ์ทางมิญชีววิทยาที่ใช้ประเมินตัวอย่าง (ดัดแปลงจากการศึกษาของ Aeinehchi และคณะ¹⁸ และ Asgary และคณะ¹⁹)

Table 1 Histologic criteria used to evaluate the samples (adjusted from studies by Aeinehchi et al.¹⁸ and Asgary et al.¹⁹)

Feature	Level		
	Mild (1)	Moderate (2)	Severe (3)
Intensity of pulp inflammation	< 30 inflammatory cells	≤ 30 inflammatory cells < 60	≤ 60 inflammatory cells
Hyperaemia	0-4 vessels	5-8 vessels	> 8 vessels
Necrosis	absent	partial	complete
Odontoblastic layer	palisade pattern of cells	presence of odontoblastic cells	absent



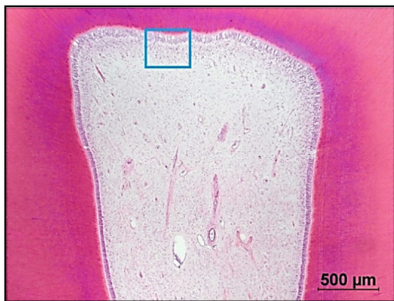
รูปที่ 6 (a) ผลิตภัณฑ์พอรพอลิสไทย (b) ฟันที่ปิดทับเนื้อเยื่อในด้วยผลิตภัณฑ์พอรพอลิสไทย

Figure 6 (a) Thai propolis product (b) Pulp capping with Thai propolis product

ที่ผ่านรอยทะลุเนื้อเยื่อใน ยึดแผ่นบางของชิ้นเนื้อบนแผ่นสไลด์ ย้อมสีอีมาทอกซิลินและอีโอซิน ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Eclipse 50i, Nikon, Japan) ที่ต่อกับกล้องดิจิทัล (DS-Fi1, Nikon, Japan) ที่กำลังขยาย 40 เท่า โดยฟัน 1 ซี่ คัดเลือกส่วนที่แสดงรอยทะลุเนื้อเยื่อในชัดเจนที่สุด 2 เซกชัน (Section) แต่ละเซกชัน เลือก 5 บริเวณที่รอยทะลุเนื้อเยื่อในสัมผัสกับวัสดุปิดทับมากที่สุด บันทึกภาพด้วยโปรแกรมถ่ายภาพ NIS Elements F3.2 (Nikon, Japan) เพื่อประเมินชนิดและจำนวนเซลล์อักเสบ การเพิ่มจำนวนหลอดเลือดที่ขยายตัว การตายของเซลล์ และการคงอยู่ของชั้นของเซลล์สร้างเนื้อฟัน ด้วยโปรแกรมอิมเมจทูล (UTHSCSA ImageTool 3.0, The University of Texas Health Science Center, San Antonio, Texas, USA) ที่กำลังขยาย 400 เท่า โดยทันตแพทย์ผู้เชี่ยวชาญทางมิญชีววิทยา ซึ่งไม่ใช่ผู้ทำการทดลอง โดยเกณฑ์ทางมิญชีววิทยาที่ใช้ประเมินตัวอย่างแสดงดังตารางที่ 1

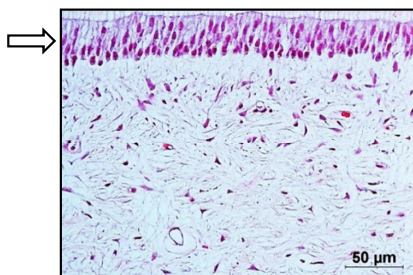
ผล

กลุ่มควบคุมลบ: ฟันที่ไม่ถูกกรอและศึกษาทันที โดยไม่ได้เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ (1 ซี่) ที่กำลังขยาย 40 เท่า พบเซลล์สร้างเนื้อฟันแนบกับเนื้อฟันโดยตลอด มีการเรียงตัวของเซลล์สร้างเนื้อฟันเป็นแถว (Palisade pattern of odontoblasts) เนื้อเยื่อในมีหลอดเลือดและเซลล์สร้างเส้นใยกระจายทั่วไป ดังรูปที่ 7 ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบการอักเสบเล็กน้อย ได้ค่าเฉลี่ยของเซลล์อักเสบ 10 เซลล์ หลอดเลือดแดงเล็ก (Arteriole) ปกติ ไม่พบการตายของเซลล์ เซลล์สร้างเนื้อฟันมีรูปร่างทรงกระบอกหรือลูกบาศก์ทรงสูง (Columnar) ไซโตพลาสซึมติดสีชมพูอ่อน นิวเคลียสติดสีม่วงเข้ม และเรียงตัวเป็นแถวแนบกับชั้นปริเดนทีน (Predentin) ดังรูปที่ 8



รูปที่ 7 มิถุนวิทยาของฟันที่ไม่ถูกกรอและศึกษาทันที ที่กำลังขยาย 40 เท่า พบเซลล์สร้างเนื้อฟันเรียงตัวเป็นแถว และแนบกับชั้นปริเดนทีน

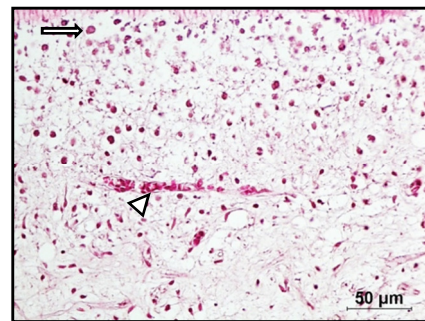
Figure 7 Histology of extracted tooth with no preparation and studied immediately at 40X magnification showed a palisading odontoblastic layer attached with a predentin.



รูปที่ 8 มิถุนวิทยาของฟันจากรูปที่ 7 บริเวณกรอบสี่เหลี่ยม ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบเซลล์สร้างเนื้อฟันมีรูปร่างทรงกระบอกเรียงตัวเป็นแถว แนบกับชั้นปริเดนทีน (ลูกศร) นิวเคลียสของเซลล์สร้างเนื้อฟันมีลักษณะกลมติดสีม่วงเข้ม ไซโตพลาสซึมมีสีชมพูอ่อน และหลอดเลือดแดงเล็กกระจายทั่วไป

Figure 8 Histology of tooth from Figure 7 from the square area at 400X magnification, showed palisading columnar odontoblasts, attached with a predentin (arrow). Odontoblasts demonstrated round-shaped nuclei with dark purple color, pale pink cytoplasm and some arterioles.

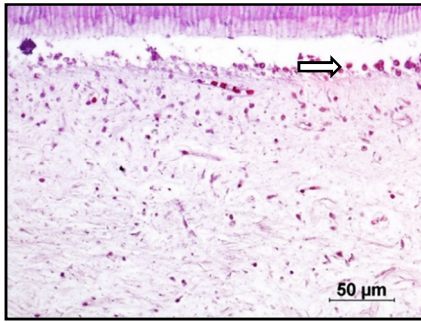
กลุ่มควบคุมลบ: ฟันที่ไม่ถูกกรอและเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ 7 วัน (1 ซี่) ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบการอักเสบแบบเรื้อรังเล็กน้อย ค่าเฉลี่ยเซลล์อักเสบจำนวน 24 เซลล์ พบหลอดเลือดแดงขยายตัวเฉลี่ย 1 หลอดเลือด ไม่พบการตายของเซลล์ เซลล์สร้างเนื้อฟันแยกจากชั้นปริเดนทีน ไม่ปรากฏชั้นของเซลล์สร้างเนื้อฟัน เซลล์สร้างเนื้อฟันมีขอบเขตของไซโตพลาสซึมไม่ชัดเจน รูปร่างเซลล์สร้างเนื้อฟันเปลี่ยนจากทรงกระบอกหรือลูกบาศก์ทรงสูง เป็นรูปร่างกลม นิวเคลียสกลมติดสีม่วงเข้ม ดังรูปที่ 9



รูปที่ 9 มิถุนวิทยาของฟันที่ไม่ถูกกรอและเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ 7 วัน ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบเซลล์สร้างเนื้อฟันมีรูปร่างกลม นิวเคลียสกลมติดสีม่วงเข้ม (ลูกศร) และหลอดเลือดแดงขยายตัว (หัวลูกศร)

Figure 9 Histology of extracted tooth with no preparation and cultured for 7 days at 400X magnification showed round-shaped odontoblasts exhibiting round-shaped nuclei with dark purple color (arrow) and dilated arterioles (arrow head).

กลุ่มควบคุมลบ: ฟันที่ไม่ถูกกรอและเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ 14 วัน (1 ซี่) ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบการอักเสบแบบเรื้อรังเล็กน้อย ค่าเฉลี่ยของเซลล์อักเสบจำนวน 12 เซลล์ ไม่พบหลอดเลือดแดงขยายตัว ไม่พบการตายของเซลล์ เซลล์สร้างเนื้อฟันแยกจากชั้นปริเดนทีน ไม่ปรากฏชั้นของเซลล์สร้างเนื้อฟัน เซลล์สร้างเนื้อฟันมีขอบเขตของไซโตพลาสซึมไม่ชัดเจน รูปร่างเซลล์สร้างเนื้อฟันเปลี่ยนจากทรงกระบอกหรือลูกบาศก์ทรงสูง เป็นรูปร่างกลม นิวเคลียสมีลักษณะกลมติดสีม่วงเข้ม ดังรูปที่ 10

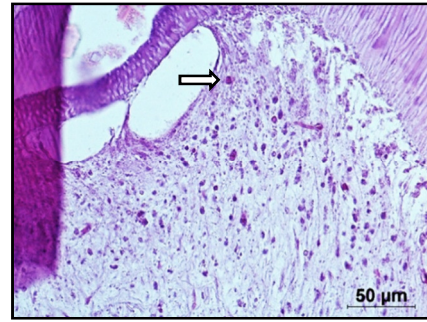


รูปที่ 10 มิถุขวิทยาของฟันที่ถูกกรอและเลี้ยงในห้องปฏิบัติการนาน 14 วัน ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบเซลล์สร้างเนื้อฟันมีลักษณะกลมติดสีม่วงเข้ม (ลูกศร) ไม่พบหลอดเลือดแดงขยายตัว

Figure 10 Histology of extracted tooth with no preparation and cultured for 14 days at 400X magnification showed round-shaped odontoblasts exhibiting round-shaped nuclei with dark purple color (arrow). No dilated arterioles were observed.

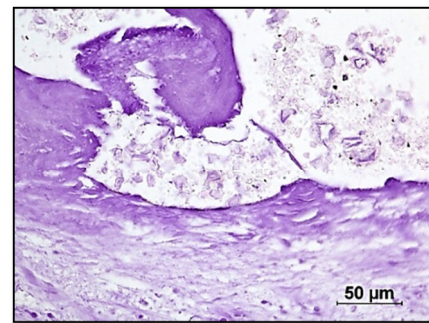
กลุ่มควบคุมบวก: ฟันที่กรอทะลุเนื้อเยื่อใน แต่ไม่ปิดทับด้วยวัสดุใดๆ และเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ 7 วัน (1 ซี่) ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบการอักเสบแบบเรื้อรังปานกลาง ค่าเฉลี่ยของเซลล์อักเสบ 43 เซลล์ ค่าเฉลี่ยหลอดเลือดแดงที่ขยายตัว 1 หลอดเลือด พบการตายของเซลล์บางส่วน เซลล์สร้างเนื้อฟันแยกจากชั้นปริเดนทีน ไม่ปรากฏชั้นของเซลล์สร้างเนื้อฟัน เซลล์สร้างเนื้อฟันมีขอบเขตของไฮโดพลาสซึมไม่ชัดเจน รูปร่างเซลล์สร้างเนื้อฟันเปลี่ยนจากทรงกระบอกหรือลูกบาศก์ทรงสูง เป็นรูปร่างกลม นิวเคลียสมีลักษณะกลมติดสีม่วงเข้ม ดังรูปที่ 11

กลุ่มควบคุมบวก: ฟันที่กรอทะลุเนื้อเยื่อใน แต่ไม่ปิดทับด้วยวัสดุใดๆ และเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ 14 วัน (1 ซี่) ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบการอักเสบแบบเรื้อรังเล็กน้อย ค่าเฉลี่ยของเซลล์อักเสบ 29 เซลล์ ค่าเฉลี่ยหลอดเลือดแดงที่ขยายตัว 0 หลอดเลือด พบการตายของเซลล์บางส่วน เซลล์สร้างเนื้อฟันแยกจากชั้นปริเดนทีน ไม่ปรากฏชั้นของเซลล์สร้างเนื้อฟัน เซลล์สร้างเนื้อฟันมีขอบเขตของไฮโดพลาสซึมไม่ชัดเจน รูปร่างเซลล์สร้างเนื้อฟันเปลี่ยนจากทรงกระบอกหรือลูกบาศก์ทรงสูง เป็นรูปร่างกลม นิวเคลียสมีลักษณะกลมติดสีม่วงเข้ม ได้รอยทะลุพบการตายของเซลล์เนื้อเยื่อใน จึงไม่ปรากฏนิวเคลียสของเซลล์ และมีการสร้างเส้นใยล้อมรอบเนื้อเยื่อใน (Fibrous encapsulation) ติดสีม่วงเข้ม ดังรูปที่ 12



รูปที่ 11 มิถุขวิทยาของฟันที่ถูกกรอทะลุแต่ไม่ปิดทับเนื้อเยื่อในด้วยวัสดุใดๆ และเลี้ยงในห้องปฏิบัติการนาน 7 วัน ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบเซลล์สร้างเนื้อฟันมีลักษณะกลมติดสีม่วงเข้ม (ลูกศร)

Figure 11 Histology of pulp exposed tooth but no capping material, cultured for 7 days at 400X magnification showed round-shaped odontoblasts exhibiting round-shaped nuclei with dark purple color (arrow).

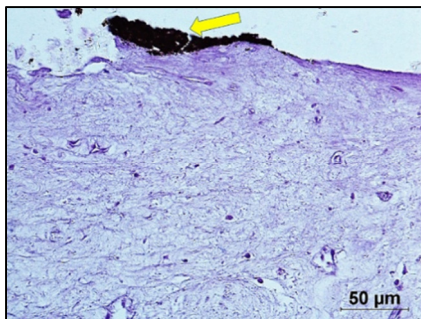


รูปที่ 12 มิถุขวิทยาของฟันที่ถูกกรอทะลุแต่ไม่ปิดทับเนื้อเยื่อในด้วยวัสดุใดๆ และเลี้ยงในห้องปฏิบัติการนาน 14 วัน ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบเนื้อเยื่อไม่มีหลอดเลือดและเซลล์สร้างเส้นใยกระจายทั่วไป เนื้อเยื่อในบางส่วนฉีกขาด พบการตายของเซลล์สร้างเนื้อฟันบางส่วนบริเวณใต้รอยทะลุ

Figure 12 Histology of pulp exposed tooth but no capping material, cultured for 14 days at 400X magnification showed arterioles and fibroblasts dispersed in pulp tissues. Pulp tissues were torn and the death of odontoblasts underneath the exposure site was observed.

กลุ่มทดลอง: ฟันที่กรอทะลุเนื้อเยื่อในและปิดทับด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ 7 วัน (2 ซี่) ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบการอักเสบแบบเรื้อรังเล็กน้อย ค่าเฉลี่ยของเซลล์อักเสบ 12 เซลล์ ค่าเฉลี่ยหลอดเลือดแดง

ที่ขยายตัว 0 หลอดเลือด พบการตายของเซลล์บางส่วน เซลล์สร้างเนื้อฟันส่วนใหญ่แยกจากชั้นปริเดนทีน แต่เซลล์สร้างเนื้อฟันบริเวณด้านบนของรอยทะลุยังแนบกับชั้นปริเดนทีน ไม่ปรากฏชั้นของเซลล์สร้างเนื้อฟันที่เรียงตัวเป็นระเบียบ เซลล์สร้างเนื้อฟันมีขอบเขตของไฮโดรพลาสซึมไม่ชัดเจน รูปร่างเซลล์สร้างเนื้อฟันเปลี่ยนจากทรงกระบอกหรือลูกบาศก์ทรงสูง เป็นรูปร่างกลม นิวเคลียสมีลักษณะกลมติดสีม่วงเข้ม ใต้รอยทะลุพบการตายของเซลล์เนื้อเยื่อใน จึงไม่ปรากฏนิวเคลียสของเซลล์ และมีการสร้างเส้นใยล้อมรอบเนื้อเยื่อในติดสีม่วงเข้ม ดังรูปที่ 13

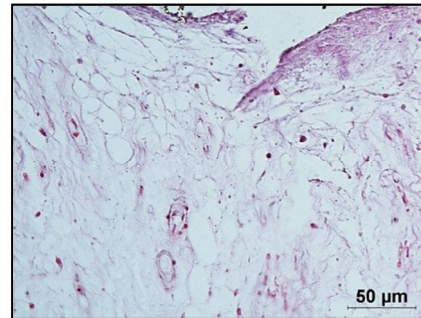


รูปที่ 13 มิถุนวิทยาของฟันที่ถูกครอบทะลุและปิดทับเนื้อเยื่อในด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ โดยเลี้ยงในห้องปฏิบัติการนาน 7 วัน ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบแคลเซียมไฮดรอกไซด์มีสีดำ (ลูกศร) พบเซลล์สร้างเนื้อฟันมีลักษณะกลม นิวเคลียสติดสีม่วงเข้ม พบการตายของเซลล์สร้างเนื้อฟันบางส่วนบริเวณรอยทะลุ

Figure 13 Histology of tooth capped with calcium hydroxide, cultured for 7 days at 400X magnification showed calcium hydroxide in black color (arrow), round-shaped odontoblasts with dark purple nuclei and the death of odontoblasts at the exposure site

กลุ่มทดลอง: ฟันที่กรอทะลุเนื้อเยื่อในและปิดทับด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ 14 วัน (2 ซี่) ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบการอักเสบแบบเรื้อรังเล็กน้อย ค่าเฉลี่ยของเซลล์อักเสบ 13 เซลล์ ค่าเฉลี่ยหลอดเลือดแดงขยายตัว 0 หลอดเลือด พบการตายของเซลล์บางส่วน เซลล์สร้างเนื้อฟันแยกจากชั้นปริเดนทีน ไม่ปรากฏชั้นของเซลล์สร้างเนื้อฟัน เซลล์สร้างเนื้อฟันมีขอบเขตของไฮโดรพลาสซึมไม่ชัดเจน รูปร่างเซลล์สร้างเนื้อฟันเปลี่ยนจากทรงกระบอกหรือลูกบาศก์ทรงสูง เป็นรูปร่างกลม นิวเคลียส

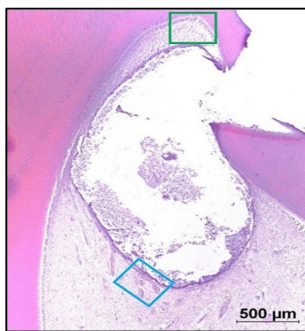
มีลักษณะกลมติดสีม่วงเข้ม ใต้รอยทะลุพบการตายของเซลล์เนื้อเยื่อใน จึงไม่ปรากฏนิวเคลียสของเซลล์ และมีการสร้างเส้นใยล้อมรอบเนื้อเยื่อในติดสีม่วงเข้ม ดังรูปที่ 14



รูปที่ 14 มิถุนวิทยาของฟันที่ถูกครอบทะลุและปิดทับเนื้อเยื่อในด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ โดยเลี้ยงในห้องปฏิบัติการนาน 14 วัน ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบเซลล์สร้างเนื้อฟันกลม นิวเคลียสติดสีม่วงเข้ม พบการตายของเซลล์บางส่วนบริเวณรอยทะลุ

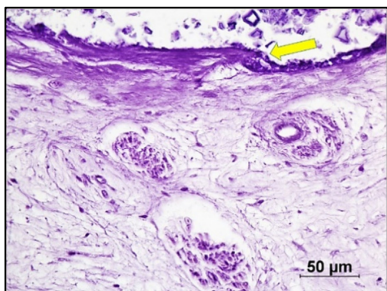
Figure 14 Histology of tooth capped with calcium hydroxide, cultured for 14 days at 400X magnification showed round-shaped odontoblasts with dark purple nuclei and the death of odontoblasts at the exposure site.

กลุ่มทดลอง: ฟันที่กรอทะลุเนื้อเยื่อในและปิดทับด้วยผลิตภัณฑ์พอร์พลัสไทย เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ 7 วัน (2 ซี่) ที่กำลังขยาย 40 เท่า พบการอักเสบแบบเรื้อรังเล็กน้อย ค่าเฉลี่ยของเซลล์อักเสบ 10 เซลล์ ค่าเฉลี่ยหลอดเลือดแดงขยายตัว 0 หลอดเลือด พบการตายของเซลล์บางส่วน โดยเซลล์สร้างเนื้อฟันส่วนใหญ่แยกจากชั้นปริเดนทีน ขอบเขตของไฮโดรพลาสซึมไม่ชัดเจน รูปร่างเซลล์สร้างเนื้อฟันเปลี่ยนจากทรงกระบอกหรือลูกบาศก์ทรงสูง เป็นรูปร่างกลม นิวเคลียสมีลักษณะกลมติดสีม่วงเข้ม พบการตายของเซลล์เนื้อเยื่อในใต้รอยทะลุ จึงไม่ปรากฏนิวเคลียสของเซลล์ และมีการสร้างเส้นใยล้อมรอบเนื้อเยื่อในติดสีม่วงเข้ม ดังรูปที่ 15 และรูปที่ 16 แต่บริเวณด้านบนของรอยทะลุมีชั้นของเซลล์สร้างเนื้อฟันที่เรียงตัวเป็นระเบียบและแนบกับชั้นปริเดนทีน รูปร่างของเซลล์สร้างเนื้อฟันยังคงเป็นทรงกระบอก และพบส่วนยื่นของเซลล์สร้างเนื้อฟัน (Odontoblastic process) ยื่นเข้าไปในท่อเนื้อฟัน ดังรูปที่ 17



รูปที่ 15 มิถุนวิทยาของฟันที่ถูกครอบหุ้มและปิดทับเนื้อเยื่อในด้วยผลิตภัณฑ์พรอพอลิสไทย ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ 7 วันที่กำลังขยาย 40 เท่า

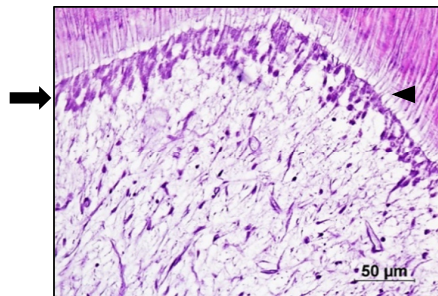
Figure 15 Histology of tooth capped with Thai propolis product, cultured for 7 days at 40X magnification



รูปที่ 16 มิถุนวิทยาของฟันจากรูปที่ 15 บริเวณกรอบสี่เหลี่ยมสีฟ้าที่กำลังขยาย 400 เท่า พบการตายของเซลล์สร้างเนื้อฟันบางส่วนบริเวณรอยทะลุได้ผลิตภัณฑ์พรอพอลิสไทย (ลูกศร)

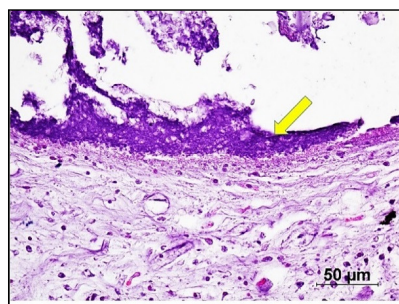
Figure 16 Histology of tooth from Figure 15 the blue square area at 400X magnification showed the death of odontoblasts underneath Thai propolis product (arrow)

กลุ่มทดลอง: ฟันที่ครอบหุ้มเนื้อเยื่อในและปิดทับด้วยผลิตภัณฑ์พรอพอลิสไทย เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ 14 วัน (2 ซี่)ที่กำลังขยาย 400 เท่า พบการอักเสบแบบเรื้อรังเล็กน้อย ค่าเฉลี่ยของเซลล์อักเสบ 13 เซลล์ ค่าเฉลี่ยหลอดเลือดแดงที่ขยายตัว 0 หลอดเลือด พบการตายของเซลล์บางส่วน เซลล์สร้างเนื้อฟันแยกจากชั้นปริเดนทิน ไม่ปรากฏชั้นของเซลล์สร้างเนื้อฟัน เซลล์สร้างเนื้อฟันมีขอบเขตของไซโตพลาสซึมไม่ชัดเจน รูปร่างเซลล์สร้างเนื้อฟันเปลี่ยนจากทรงกระบอกหรือลูกบาศก์ทรงสูง เป็นรูปร่างกลม นิวเคลียสมีลักษณะกลมติดสีม่วงเข้ม พบการตายของเซลล์สร้างเนื้อฟันบางส่วนได้รอยทะลุ จึงไม่ปรากฏนิวเคลียสของเซลล์ และมีการสร้างเส้นใยล้อมรอบเซลล์สร้างเนื้อฟันได้รอยทะลุติดสีม่วงเข้มดังรูปที่ 18



รูปที่ 17 มิถุนวิทยาของฟันจากรูปที่ 15 บริเวณกรอบสี่เหลี่ยมสีเขียวที่กำลังขยาย 400 เท่า เซลล์สร้างเนื้อฟันเรียงตัวเป็นระเบียบแนบกับชั้นปริเดนทิน (ลูกศร) และพบส่วนยื่นของเซลล์สร้างเนื้อฟันยื่นเข้าไปในท่อเนื้อฟัน (หัวลูกศร)

Figure 17 Histology of tooth from Figure 15 the green square area at 400X magnification showed palisading odontoblasts attached to a predentin (arrow) and odontoblastic processes in the dentinal tubules (arrow head)



รูปที่ 18 มิถุนวิทยาของฟันที่ถูกครอบหุ้มและปิดทับด้วยผลิตภัณฑ์พรอพอลิสไทย ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ 14 วัน กำลังขยาย 400 เท่า พบการตายของเซลล์สร้างเนื้อฟันบางส่วนบริเวณรอยทะลุได้ผลิตภัณฑ์พรอพอลิสไทย (ลูกศร)

Figure 18 Histology of tooth capped with Thai propolis product, cultured for 14 days at 400X magnification showed the death of odontoblasts underneath Thai propolis product (arrow)

ลักษณะทางมิถุนวิทยาในแต่ละด้าน

ตารางที่ 2 ผลทางมิถุนวิทยาของกลุ่มตัวอย่าง โดยมีเกณฑ์ประเมิน (ดัดแปลงจาก Aeinehchi และคณะ¹⁸ และ Asgary และคณะ¹⁹) ดังนี้

ระดับ 1 อักเสบน้อย มีเซลล์อักเสบน้อยกว่า 30 เซลล์ หรือหลอดเลือดแดงขยายตัว 0-4 หลอดเลือด หรือไม่พบการตายของเซลล์เนื้อเยื่อใน หรือเซลล์สร้างเนื้อฟันเรียงตัวเป็นแถว

ตารางที่ 2 ผลทางมิถุนวิทยาของกลุ่มตัวอย่าง

Table 2 Histology of samplings

Samples (13 teeth)	Culture days	Criteria					
		Inflammation		Hyperaemia		Level of necrosis	Level of odon toblastic layer
		Average (cells)	Level	Average (cells)	Level		
Tooth that was neither mechanically exposed nor cultured (1)	0	10	1	0	1	1	1
Teeth that were not mechanically exposed and cultured (2)	7	24	1	1	1	1	2
	14	12	1	0	1	1	2
Teeth that were mechanically exposed without capping material and cultured (2)	7	43	2	1	1	2	2
	14	29	1	0	1	2	2
Teeth that were mechanically exposed, capped with Ca(OH)_2 and cultured (4)	7	12	1	0	1	2	2
		11	1	1	1	2	2
	14	13	1	0	1	2	2
		13	1	0	1	2	2
Teeth that were mechanically exposed, capped with propolis and cultured (4)	7	16	1	0	1	2	1
		4	1	0	1	2	2
	14	21	1	1	1	2	2
		6	1	0	1	2	2

ระดับ 2 อักเสบปานกลาง มีเซลล์อักเสบระหว่าง 30-60 เซลล์ หรือหลอดเลือดแดงขยายตัว 5-8 หลอดเลือด หรือเซลล์เนื้อเยื่อในตายบางบริเวณ หรือเซลล์สร้างเนื้อฟันไม่เรียงตัวเป็นแถว

ระดับ 3 อักเสบมาก มีเซลล์อักเสบมากกว่า 60 เซลล์ หรือหลอดเลือดแดงขยายตัว มากกว่า 8 หลอดเลือด หรือเซลล์เนื้อเยื่อในตายทั้งหมด หรือไม่พบเซลล์สร้างเนื้อฟัน

ฟันกลุ่มควบคุมลบ และฟันกลุ่มควบคุมบวกที่เลี้ยง 7 วัน มีจำนวนเซลล์อักเสบมากกว่าฟันกลุ่มควบคุมที่เลี้ยง 14 วัน ตรงข้ามกับฟันกลุ่มทดลองที่กรอทะลุและปิดทับด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ หรือผลิตภัณฑ์พรอพอลิสไทย มีจำนวนเซลล์อักเสบในฟันที่เลี้ยง 7 วัน น้อยกว่าฟันที่เลี้ยง 14 วัน จัดเป็นระดับอักเสบน้อย

ฟันส่วนใหญ่ไม่พบการขยายตัวของหลอดเลือดแดงเล็ก แม้บางกลุ่มจะพบหลอดเลือดแดงเล็กขยายตัว จัดเป็นระดับอักเสบน้อย โดยพบค่าเฉลี่ยหลอดเลือดแดงขยายตัว 0 ถึง 1 หลอดเลือด

ฟันกลุ่มควบคุมลบทุกซี่ไม่พบการตายของเซลล์เนื้อเยื่อใน โดยฟันกลุ่มควบคุมลบที่ไม่ถูกกรอและศึกษาทันที เซลล์สร้างเนื้อฟันมีรูปร่างทรงกระบอกหรือลูกบาศก์ทรงสูง นิวเคลียสลักษณะกลมติดสีม่วงเข้ม ไซโตพลาสซึมมีสีม่วงอ่อน เรียงเป็นแถวยาวแนบกับเนื้อฟัน ในขณะที่ฟันกลุ่มควบคุมลบที่ไม่ถูกกรอและเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ และฟันในกลุ่มควบคุมบวก พบเซลล์สร้างเนื้อฟันแยกจากเนื้อฟัน และเริ่มมีรูปร่างกลม โดยพบว่าฟันในกลุ่มควบคุมบวกพบการตายของเซลล์เนื้อเยื่อในบางส่วน และมีจำนวนเซลล์อักเสบเพิ่มมากขึ้นกว่าฟันกลุ่มควบคุมลบ ฟันในกลุ่มทดลอง

ที่ปิดทับด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์หรือผลิตภัณฑ์พรอพอลิสไทย พบการตายของเซลล์บริเวณใต้รอยทะเลาะ พบเซลล์สร้างเนื้อฟันแยกจากเนื้อฟัน และเริ่มมีรูปร่างกลม และมีการสร้างเส้นใยยอมติดสีม่วงเข้มล้อมรอบเนื้อเยื่อในใต้รอยทะเลาะ จัดอยู่ในระดับอักเสบบานกลาง ยกเว้นฟันในกลุ่มที่ปิดทับด้วยผลิตภัณฑ์พรอพอลิสไทยที่เลี้ยง 7 วัน จำนวน 1 ซี่ที่พบเซลล์สร้างเนื้อฟันบริเวณรอยทะเลาะเนื้อเยื่อในบางส่วนแนบกับเนื้อฟัน จัดอยู่ในระดับอักเสบน้อย

บทวิจารณ์

การศึกษากลไกการทำงานของระบบเนื้อฟันเนื้อเยื่อใน และการสร้างเนื้อฟัน รวมถึงความเข้ากันได้ของวัสดุทางทันตกรรมในสัตว์มีข้อดี คือ เป็นการทดลองทางวิทยาศาสตร์ภายใต้สภาวะที่ควบคุม และมีการทดลองตามแบบแผนที่ได้มาตรฐาน จึงสามารถเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้จากห้องปฏิบัติการแต่ละที่ได้ แต่มีข้อจำกัด ด้านจริยธรรมและค่าใช้จ่ายสูง การศึกษาในแบบจำลองการเลี้ยงฟันมนุษย์จึงเป็นวิธีที่น่าสนใจ แบบจำลองการเลี้ยงฟันทั้งซี่มีข้อดีเหนือแบบจำลองการเลี้ยงแผ่นฟัน คือ สามารถดูการตอบสนองจากการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อใน และลดข้อผิดพลาดที่อาจเกิดจากการดึงเนื้อเยื่อในออกไปขณะตัดแผ่นฟัน อีกทั้งสามารถลอกเลียนแบบสภาวะที่มีการกรอเตรียมโพรงเนื้อเยื่อในได้ แต่แบบจำลองการเลี้ยงฟันทั้งซี่มีข้อจำกัด คือ การแลกเปลี่ยนก๊าซและสารอาหารไม่ดีเท่ากับการเลี้ยงเซลล์เนื้อเยื่อในแบบแผ่นฟัน

การศึกษานี้พบว่าฟันที่ไม่ถูกกรอและเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ 7 วัน ได้ค่าเฉลี่ยของเซลล์อักเสบบน 24 เซลล์ แต่เมื่อเลี้ยงในระยะเวลาสั้นขึ้น (14 วัน) ค่าเฉลี่ยของเซลล์อักเสบลดลงเป็น 12 เซลล์ แสดงให้เห็นการฟื้นตัวของเนื้อเยื่อใน สอดคล้องกับการศึกษาของ Magloire และคณะ ในปี 1996 ที่ใช้แบบจำลองการเลี้ยงแผ่นฟัน ในอาหารเลี้ยงเซลล์บีเอ็มอี เป็นเวลา 3 วัน 7 วัน และ 21 วัน พบว่าใน 7 วันแรกเซลล์เนื้อเยื่อในมีการเจริญเติบโตลดลง แต่หลังจากวันที่ 14 เนื้อเยื่อในมีการฟื้นตัว และพบจำนวนเซลล์เนื้อเยื่อในเพิ่มขึ้น²⁰ แสดงให้เห็นว่า แบบจำลองการเลี้ยงแผ่นฟันและแบบฟันทั้งซี่สามารถใช้ศึกษาการสร้างเนื้อฟันซ่อมสร้างได้

การศึกษานี้เลี้ยงฟันมนุษย์ทั้งซี่ในห้องปฏิบัติการ โดยตัดรากฟันให้ต่ำกว่าง่ามรากฟัน 2 มิลลิเมตร เพื่อให้สาร

อาหารเข้าไปเลี้ยงเซลล์ต่างๆ ได้ดีขึ้น พบว่าเมื่อเลี้ยง 7 วัน และ 14 วัน เซลล์สร้างเนื้อเยื่อในยังคงมีลักษณะปกติ แต่เซลล์เนื้อเยื่อในมีรูปร่างเปลี่ยนแปลงไปจากฟันที่ถูกถอนและศึกษาทันที ทั้งนี้อาจเป็นผลจากข้อจำกัดของการเลี้ยงฟันในห้องปฏิบัติการ ซึ่งไม่สามารถจำลองระบบไหลเวียนโลหิตของเนื้อเยื่อในที่อยู่ภายในเนื้อฟันที่เป็นเสมือนระบบปิดให้เหมือนกับสภาวะช่องปากได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งฟันในร่างกายมนุษย์นั้นมีแรงดันในการสูบฉีดโลหิต ทำให้สารอาหารต่างๆ สามารถเข้าไปสู่เนื้อเยื่อในได้ดี แต่การเลี้ยงฟันทั้งซี่ในห้องปฏิบัติการนี้ไม่มีระบบความดันเพื่อนำอาหารเข้าสู่โพรงเนื้อเยื่อใน ทำให้เซลล์สร้างเนื้อฟันและเซลล์เนื้อเยื่อในได้รับอาหารไม่เต็มที่

เมื่อเปรียบเทียบลักษณะทางมิวชีววิทยาของฟันที่เลี้ยงด้วยแบบจำลองนี้กับการศึกษาของ Tecles และคณะ ในปี 2008¹⁶ ที่นำแบบจำลองการเลี้ยงฟันทั้งซี่มาศึกษาการสร้างเนื้อฟันซ่อมสร้างและความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุปิดทับเนื้อเยื่อในด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์และเอ็มทีเอ โดยใช้ฟันกรามซี่ที่สามที่รากยังสร้างไม่สมบูรณ์ และถูกถอนเนื่องจากการจัดฟัน เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเอ็มอีเอ็มเป็นเวลา 1 วัน 14 วัน และ 28 วัน พบว่ามีลักษณะทางมิวชีววิทยาของฟันใกล้เคียงกัน ดังนั้นแบบจำลองการเลี้ยงฟันทั้งซี่จึงมีแนวโน้มใช้ศึกษาผลของวัสดุปิดทับเนื้อเยื่อในได้ อย่างไรก็ตามการศึกษานี้จำนวนตัวอย่างในแต่ละกลุ่มค่อนข้างน้อย เนื่องจากเกิดการปนเปื้อนของฟันระหว่างเลี้ยงถึงแม้ว่าจะทำความสะอาดฟันและใส่ยาปฏิชีวนะในอาหารเลี้ยงเซลล์แล้วก็ตาม จึงควรปรับปรุงวิธีป้องกันการปนเปื้อนเพื่อสามารถเห็นการตอบสนองของเนื้อเยื่อในต่อวัสดุปิดทับชัดเจนยิ่งขึ้น เมื่อเลี้ยงฟันในแบบจำลองนานขึ้น

วัสดุปิดทับเนื้อเยื่อในเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อความสำเร็จในการรักษาความมีชีวิตของฟัน โดยคุณสมบัติของวัสดุที่เหมาะสมคือ ไม่เป็นพิษ สามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรีย ด้านการอักเสบ และป้องกันการรั่วซึมของแบคทีเรีย ในปี 2005 Sabir และคณะ ได้ใช้พรอพอลิสปิดทับเนื้อเยื่อในโดยตรงในฟันหนูและติดตามผลเป็นระยะเวลา 7 วัน 14 วัน และ 28 วัน เพื่อเปรียบเทียบการอักเสบทางมิวชีววิทยาจากการใช้พรอพอลิสที่มีฟลาโวนอยด์ พรอพอลิสที่ไม่มีฟลาโวนอยด์ และใช้ซิงค์ออกไซด์เบสฟิเลเลอร์เป็นกลุ่มควบคุม พบว่าสารฟลาโวนอยด์ จากพรอพอลิสช่วยลดการอักเสบของ

เนื้อเยื่อในและกระตุ้นการสร้างเนื้อฟันซ่อมสร้างได้ใน 4 สัปดาห์¹³ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Paloria และคณะ ในปี 2010 ที่เปรียบเทียบการใช้ พรอพอลิส เอ็มทีเอ และ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ปิดทับเนื้อเยื่อในโดยตรงในฟันกราม น้อยมนุษย์ที่ถอนเพื่อการจัดฟัน โดยถอนฟันหลังจากการ ปิดทับเนื้อเยื่อในไปแล้ว 15 และ 45 วัน จากนั้นตรวจทาง มิถุนวิทยาเพื่อดูเซลล์อักเสบ และสะพานฟันซ่อมสร้าง ซึ่ง ได้ผลว่าการตอบสนองของเนื้อเยื่อในของทั้งสามกลุ่มไม่ แตกต่างกัน และทุกกลุ่มพบการสร้างสะพานฟันซ่อมสร้างใน วันที่ 15 และ 45¹⁴ การศึกษานี้ใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ เปรียบเทียบกับพรอพอลิส เนื่องจากแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ยังเป็นวัสดุมาตรฐานสำหรับปิดทับเนื้อเยื่อใน มีราคาถูก ใช้กันทั่วไปในคลินิกทันตกรรม และพบความสำเร็จทาง คลินิกในการรักษาสูง²¹

การศึกษานี้ใช้ผลิตภัณฑ์พรอพอลิสไทยที่ผลิตจาก การศึกษาของ Chailertvanitkul, 2017 พบว่ามี ฟลาโวนอยด์ เข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก และฟีนอลิกเข้มข้นร้อยละ 2.95 โดยน้ำหนัก ซึ่งสามารถต้านเชื้อสเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์ และเชื้อแล็คโตบาซิลลัส คาเซไอ และไม่เป็นพิษต่อ เซลล์เนื้อเยื่อใน¹⁷ แม้ว่าการศึกษานี้ระดับการอักเสบของฟัน ที่ปิดทับด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์และผลิตภัณฑ์พรอพอลิส ไทยไม่แตกต่างกัน แต่ฟันที่ปิดทับด้วยผลิตภัณฑ์พรอพอลิส ไทยที่เลี้ยง 7 วัน ยังคงพบชั้นของเซลล์สร้างเนื้อฟันที่เรียง ตัวอย่างเป็นระเบียบและแนบกับชั้นเนื้อฟัน ในขณะที่ฟันที่ ปิดทับด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์มีการแยกกันของชั้นเซลล์ สร้างเนื้อฟันออกจากเนื้อฟัน ซึ่งน่าจะเป็นผลของสาร ฟลาโวนอยด์และฟีนอลิกในผลิตภัณฑ์พรอพอลิสที่ลดการ อักเสบและกระตุ้นการแบ่งเซลล์ จึงเป็นแนวโน้มว่าผลิตภัณฑ์ พรอพอลิสไทยสามารถพัฒนาเป็นวัสดุปิดทับเนื้อเยื่อใน ของฟันมนุษย์ในอนาคต

การศึกษานี้ประเมินผลโดยผู้เชี่ยวชาญทาง มิถุนวิทยาวิทยาเพียงคนเดียว ซึ่งไม่ใช่ผู้ทำการทดลอง ผู้ประเมินไม่ทราบว่าเป็นวัสดุปิดทับชนิดใด แต่เนื่องจากฟัน บางซี่อาจพบเศษวัสดุติดค้างของแคลเซียมไฮดรอกไซด์แทรก ในเนื้อเยื่อในบริเวณใต้ต่อรอยทะลุอาจทำให้การปิดบังข้อมูล ของกลุ่มตัวอย่างไม่สมบูรณ์ทั้งหมด การนับจำนวนเซลล์ อักเสบและหลอดเลือดแดงเล็กที่ขยายตัว จะนับซ้ำเพื่อ ประเมินความเชื่อถือได้ในตัวผู้ตรวจหลังจากการนับครั้งแรก

2 สัปดาห์ พบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายในชั้น (Intraclass correlation coefficient, ICC) ของผู้นับจำนวน เซลล์อักเสบมีค่า 0.989 และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ภายในชั้นของผู้นับจำนวนหลอดเลือดที่ขยายตัวมีค่า 0.910 ซึ่งแสดงว่าความเชื่อถือได้ในตัวผู้ตรวจอยู่ในระดับสูง

เกณฑ์การประเมินผลทางมิถุนวิทยาของการศึกษา นี้ตัดแปลงจากการศึกษาของ Aeinehchi และคณะ ในปี 2003¹⁸ และ Asgary และคณะ ในปี 2008¹⁹ โดย Aeinehchi และคณะ¹⁸ เปรียบเทียบการใช้เอ็มทีเอและแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ในการปิดทับเนื้อเยื่อในของฟันมนุษย์เป็นเวลา 1 สัปดาห์ 2 เดือน 3 เดือน 4 เดือน และ 6 เดือน โดยประเมินจากจำนวน เซลล์อักเสบและการเพิ่มจำนวนหลอดเลือดแดงเล็กที่ ขยายตัว ซึ่งพบว่ากลุ่มที่ปิดทับด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ที่ระยะเวลาหนึ่งสัปดาห์ไม่พบสะพานฟันซ่อมสร้าง พบการ อักเสบชนิดเรื้อรังร่วมกับชนิดเฉียบพลันที่บริเวณรอยทะลุ พบเซลล์อักเสบชนิดโพสิเมอร์โฟนิวเคลียร์ลิโวไซด์และ ลิโมโฟไซด์ และพบการเพิ่มจำนวนหลอดเลือดที่ขยายตัวเพียง 1-3 หลอดเลือด ส่วนการศึกษาของ Asgary และคณะ¹⁹ เปรียบเทียบผลของการใช้เอ็มทีเอ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ กับ วัสดุที่มีส่วนประกอบของแคลเซียมในการปิดทับเนื้อเยื่อใน ของฟันสุนัข ติดตามผล 8 สัปดาห์ โดยประเมินการสร้าง สะพานเนื้อฟัน การอักเสบของเนื้อเยื่อใน การสะสมเนื้อเยื่อ แข็ง (Calcification) การตายของเซลล์เนื้อเยื่อใน และชั้นของ เซลล์สร้างเนื้อฟัน พบว่ากลุ่มแคลเซียมไฮดรอกไซด์พบการ สร้างสะพานเนื้อฟันแต่ไม่สมบูรณ์ พบเซลล์คล้ายเซลล์สร้าง เนื้อฟันรอบสะพานเนื้อฟัน ฟันบางซี่พบการตายบางส่วน ของเซลล์เนื้อเยื่อใน พบการอักเสบเรื้อรังระดับเล็กน้อยถึง รุนแรง และพบพัลป์สโตน (Pulp stone) การศึกษานี้ไม่ได้ ประเมินการสร้างสะพานเนื้อฟันหรือการสร้างสะพานเนื้อฟัน เนื่องจากระยะเวลาที่เลี้ยงฟัน 7 วัน และ 14 วัน ไม่นานพอที่ จะพบสะพานเนื้อฟัน จากการทบทวนวรรณกรรมอย่างเป็น ระบบของ Olsson และคณะ พบว่าฟันที่ปิดทับเนื้อเยื่อในด้วย แคลเซียมไฮดรอกไซด์จะพบสะพานเนื้อฟันภายหลังสัปดาห์ ที่สามขึ้นไป²²

การศึกษานี้พบการขยายตัวของหลอดเลือดแดงเล็ก ในฟันกลุ่มต่าง ๆ เพียง 1 หลอดเลือดหรือไม่พบการขยาย ตัวของหลอดเลือด ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของ Aeinehchi และคณะในปี 2003 ที่พบการขยายตัวของหลอดเลือดแดง

อยู่ในเกณฑ์น้อยถึงปานกลาง¹⁸ สาเหตุอาจเนื่องมาจากการปิดคลองในฟันที่ปราศจากเชื้อก่อโรคฟันผุ (Caries-free) การอักเสบและการขยายตัวของหลอดเลือดจึงไม่เพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัด หากทดลองในฟันที่ติดเชื้ออาจพบการอักเสบและการขยายตัวของหลอดเลือดมากขึ้น

การศึกษานี้จำลองการเผยแพร่เชื้อเยื่อในกับฟันที่ปราศจากเชื้อ และอยู่ในสภาวะการทดลองที่ควบคุมอย่างดี ซึ่งผลการศึกษาที่ได้ยังไม่สามารถอ้างอิงไปยังสถานการณ์จริงในคลินิกที่มีกระบวนการอักเสบที่ถูกระงับจากเชื้อก่อโรคฟันผุได้ ดังนั้นการตอบสนองของเซลล์เนื้อเยื่อใน และเซลล์อักเสบในสถานการณ์จริงในคลินิกอาจแตกต่างจากการศึกษาในครั้งนี้ อย่างไรก็ตามการศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกในประเทศไทยที่นำแบบจำลองการเลี้ยงฟันทั้งซี่มาทดสอบวัสดุปิดทับเนื้อเยื่อใน แต่ใช้ระยะเวลาในการทดสอบเพียง 7 วัน และ 14 วัน เนื่องจากเมื่อเลี้ยงฟันนานกว่า 14 วัน จะเริ่มพบการตายของเนื้อเยื่อใน ดังนั้นในอนาคตควรพัฒนารูปแบบการเลี้ยงฟันทั้งซี่ ในแง่การนำสารอาหารเข้าไปเลี้ยงเนื้อเยื่อในได้มากขึ้น เช่น ใช้อุปกรณ์เพิ่มแรงดันของอาหารเข้าภายในตัวฟัน หรือปรับปรุงเทคนิคการเลี้ยงฟันด้วยวิธีอื่นๆ มีการนำตัวบ่งชี้ของเซลล์สร้างเนื้อฟัน (Odontoblast marker) มาร่วมในการวิเคราะห์ผลทางมีนุษยวิทยา รวมถึงศึกษาผลของผลิตภัณฑ์พรอพอลิสไทยในการปิดทับเนื้อเยื่อในโดยตรงในฟันของสัตว์ทดลองต่อไป

บทสรุป

จากข้อจำกัดของการศึกษา สรุปได้ว่า การหายของแผลระหว่างผลิตภัณฑ์พรอพอลิสไทย และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ในการปิดทับเนื้อเยื่อในโดยตรงในแบบจำลองฟันมนุษย์ ทั้งซี่ ไม่แตกต่างกันที่ระยะเวลา 7 วัน และ 14 วัน แต่ฟันที่ปิดทับด้วยผลิตภัณฑ์พรอพอลิสไทยที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ 7 วัน ยังคงพบชั้นของเซลล์สร้างเนื้อฟันที่เรียงตัวอย่างเป็นระเบียบและแนบกับชั้นเนื้อฟัน ในขณะที่ฟันที่ปิดทับด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์มีการแยกกันของชั้นเซลล์สร้างเนื้อฟันออกจากเนื้อฟัน

เอกสารอ้างอิง

- Hilton TJ. Keys to clinical success with pulp capping: a review of the literature. *Oper Dent* 2009;34:615-25.
- Kidd EA. Microleakage: a review. *J Dent* 1976;4:199-206.
- Witherspoon DE. Vital pulp therapy with new materials: new directions and treatment perspectives--permanent teeth. *J Endod* 2008;34:S25-8.
- Parirokh M, Torabinejad M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--Part III: Clinical applications, drawbacks, and mechanism of action. *J Endod* 2010;36:400-13.
- Siripatarawan U, Vitchayakitti W, Sanguandeekul R. Antioxidant and antimicrobial properties of Thai propolis extracted using ethanol aqueous solution. *Int J Food Sci Tech* 2013;48:24-7.
- Banskota AH, Tezuka Y, Kadota S. Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytother Res* 2001;15:561-71.
- Sforzin JM, Bankova V. Propolis: is there a potential for the development of new drugs? *J Ethnopharmacol* 2010;133:253-60.
- Parolia A, Thomas M, Kundabala M, Mohan M. propolis and its potential uses in oral health. *Int J Med Med Sci* 2010;2:210-5.
- Wieckiewicz W, Miernik M, Wieckiewicz M, Morawiec T. Does propolis help to maintain oral health? *Evid Based Complement Alternat Med* 2013;2013:351062.
- Phankongsap A, Chailertvanitkul P, Juntavee A, Peerapattana J, Puasiri S. Effectiveness of root canal irrigant from mangosteen pericarp extracts with papain and propolis extracts with papain on mixture of *Streptococcus gordonii* and *Enterococcus faecalis*. *J dent Assoc Thai* 2014;64:234-42.
- Pengchum S, Chailertvanitkul P, Laopailoon M, Thaweessit P, Abbott PV, Krisanaprakornkit S. Thai propolis extract as root canal medication against *Enterococcus faecalis* infection. *Khon Kaen Dent J* 2018;21:30-8.
- Prueksakorn A, Puasiri S, Ruangsri S, Makeudom A, Sastraruji T, Krisanaprakornkit S, Chailertvanitkul P. The preservative effect of Thai propolis extract on the viability of human periodontal ligament cells. *Dent Traumatol* 2016;32:495-501.
- Sabir A, Tabbu CR, Agustiono P, Sosroseno W. Histological analysis of rat dental pulp tissue capped with propolis. *J Oral Sci* 2005;47:135-8.
- Parolia A, Kundabala M, Rao NN, Acharya SR, Agrawal P, Mohan M, et al. A comparative histological analysis of human pulp following direct pulp capping with Propolis, mineral trioxide aggregate and Dycal. *Aust Dent J* 2010;55:59-64.
- Tecles O, Laurent P, Zygoritsas S, Burger AS, Camps J, Dejou J, et al. Activation of human dental pulp progenitor/stem cells in response to odontoblast injury. *Arch Oral Biol* 2005;50:103-8.

16. Tecles O, Laurent P, Aubut V, About I. Human tooth culture: a study model for reparative dentinogenesis and direct pulp capping materials biocompatibility. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2008;85:180–7.
17. Chailertvanitkul P, Namsirikul T, Damrongrungruang T, Peerapattana J. Phenolic and flavonoids contents and antibacterial activity of ethanolic extract of propolis. *Int J Pharm Sci* 2017;13:59–67.
18. Aeinehchi M, Eslami B, Ghanbariha M, Saffar AS. Mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium hydroxide as pulp-capping agents in human teeth: a preliminary report. *Int Endod J* 2003;36:225–31.
19. Asgary S, Eghbal MJ, Parirokh M, Ghanavati F, Rahimi H. A comparative study of histologic response to different pulp capping materials and a novel endodontic cement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;106:609–14.
20. Magloire H, Joffre A, Bleicher F. An in vitro model of human dental pulp repair. *J Dent Res* 1996; 5:1971–8.
21. Aguilar P, Linsuwanont P. Vital pulp therapy in vital permanent teeth with cariously exposed pulp: a systematic review. *J Endod* 2011;37:581–7.
22. Olsson H, Petersson K, Rohlin M. Formation of a hard tissue barrier after pulp cappings in humans. A systematic review. *Int Endod J* 2006;39:429–42.

ผู้รับผิดชอบบทความ

ปัทมา ชัยเลิศวณิชกุล

ภาควิชาทันตกรรมบูรณะ

คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002

โทรศัพท์: 0 4320 2405 #45143

โทรสาร: 0 4320 2862

จดหมายอิเล็กทรอนิกส์: patchai@kku.ac.th

Wound Healing between Thai Propolis Product and Calcium Hydroxide in Direct Pulp Capping using a Whole Tooth Culture Model: Preliminary Study

Rungcharassaeng N*, Klanrit P**, Puasiri S***, Ruangsri S****, Chailertvanitkul P*****

Abstract

The aim of this study was to compare the wound healing between Thai propolis product and calcium hydroxide in direct pulp capping using a whole human tooth culture model in vitro. Thirteen extracted human third molars were divided into two control groups and two experimental groups. The negative control group (n=3) consisted of one tooth that was neither mechanically exposed nor cultured, teeth that were not mechanically exposed and cultured for 7 days (n=1) and 14 days (n=1). The positive control group (n=2) consisted of teeth that were mechanically exposed without capping material and cultured for 7 days (n=1) and 14 days (n=1). The experimental calcium hydroxide group consisted of teeth that were mechanically exposed, direct pulp capped with calcium hydroxide and cultured for 7 days (n=2) and 14 days (n=2). The experimental Thai propolis product group consisted of teeth that were mechanically exposed, direct pulp capped with Thai propolis product and cultured for 7 days (n=2) and 14 days (n=2). The histological study demonstrated a chronic inflammation in all groups except no inflammation in the negative control group in which the immediately extracted tooth was not cultured. Teeth in the positive control group that were mechanically exposed without capping material and cultured for 7 days showed the highest level of inflammation. The inflammation levels of calcium hydroxide group and Thai propolis product group were not different. Teeth capped with Thai propolis product and cultured for 7 days demonstrated an intact odontoblastic layer attached to the dentin whereas teeth capped with calcium hydroxide showed the detachment of odontoblastic layer from the dentin.

Keywords: Thai propolis product/ Calcium hydroxide/ Direct pulp capping/ Whole tooth culture model/ Wound healing

Corresponding author

Pattama Chailertvanitkul

Department of Restorative Dentistry,

Faculty of Dentistry, Khon Kaen University,

Amphur Muang, Khon Kaen, 40002

Tel. : +66 4320 2405 #45143

E-mail : patchai@kku.ac.th

* Vachira Phuket Hospital, Amphur Muang, Phuket

** Department of Oral Diagnosis, Research Group of Chronic Inflammatory Oral Diseases and Systemic Diseases associated with Oral Health, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Amphur Muang, Khon Kaen.

*** Department of Community Dentistry, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Amphur Muang, Khon Kaen.

**** Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Amphur Muang, Khon Kaen.

***** Department of Restorative Dentistry, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Amphur Muang, Khon Kaen.