

THE CREATING ARTIFICIAL EARLY ENAMEL CARIES LESIONS IN PIT AND FISSURE

Supakan PANCHAKHAN¹, Anoma RATTANACHARIENTHUM² and Kemporn KITSAHAWONG²

1 Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Thailand

2 Division of Pediatrics Dentistry, Department of Preventive Dentistry, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Thailand

ARTICLE HISTORY

Received: 1 September 2025

Revised: 22 September 2025

Published: 7 October 2025

ABSTRACT

The aim of this *in-vitro* experimental study was to investigate the artificial enamel lesion in pit and fissure area. A total of 10 extracted healthy premolars due to orthodontic treatment were randomly allocated into 5 groups. The samples were immersed in a demineralized solution (pH 4.4) at 37°C for 24, 48, 72, 96 and 120 hours. After demineralization, each tooth was sectioned bucco-lingual through the center of the fissure with an average thickness of 170 micrometers. The lesion depth was measured under polarized light microscope (Nikon Eclipse80i, Kanagawa, Japan) using 5x objective magnification. The result shows an average lesion depth of 28.87, 72.40, 72.53, 94.15 and 147.20 micrometers, respectively.

In conclusion, artificial caries lesion depth increased in a time-dependent manner with longer exposure to the demineralizing solution. However, all lesions remained confined to the enamel layer. This finding supports the reliability of stimulating early enamel caries with a lesion depth not exceeding 100 micrometers and corresponding to clinical characteristics classified as ICDAS 2, using demineralizing immersion periods of up to 96 hours.

Keywords: Artificial Caries, Enamel, Pit and Fissure, Polarized Light Microscope

CITATION INFORMATION: Panchakhan, S., Rattanacharienthum, A., & Kitsahawong, K. (2025). The Creating Artificial Early Enamel Caries Lesions in Pit and Fissure. *Procedia of Multidisciplinary Research*, 3(10), 40

การสร้างรอยโรคฟันผุจำลองระยะเริ่มต้นในชั้นเคลือบฟันบริเวณหลุมและร่องฟัน

ศุภกานต์ ปัญจันท์¹, อโนมา รัตนะเจริญธรรม² และ เข้มพร กิจสหวงศ์²

1 วิชาเอกทันตกรรมสำหรับเด็ก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

2 แผนกวิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก สาขาวิชาทันตกรรมป้องกัน คณะทันตแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทคัดย่อ

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาทางห้องปฏิบัติการ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษารอยโรคฟันผุจำลองระยะเริ่มต้นในชั้นเคลือบฟันบริเวณหลุมและร่องฟัน โดยเลือกใช้ฟันกรามน้อยสภาพสมบูรณ์จำนวน 10 ซี่ ที่ถูกถอนเนื่องจากการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันและสุมแบ่งเป็น 5 กลุ่ม แช่ในสารละลายที่ทำให้สูญเสียแร่ธาตุฟลูออไรด์ 4.4 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 24 48 72 96 และ 120 ชั่วโมง แล้วนำฟันมาตัดในแนวใกล้แก้ม-ใกล้ลิ้นตรงบริเวณกึ่งกลางร่องฟัน ได้ชิ้นฟันตัวอย่างที่มีความหนาเฉลี่ย 170 ไมโครเมตร เพื่อนำไปประเมินความลึกของรอยโรคฟันผุภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสงโพลาไรซ์ (Nikon Eclipse80i, Kanagawa, Japan) กำลังขยาย 5 เท่าของเลนส์วัตถุ ผลการศึกษาพบว่า ความลึกของรอยโรคมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 28.87, 72.40, 72.53, 94.15 และ 147.20 ไมโครเมตร ตามลำดับ จากผลการศึกษาสามารถสรุปได้ว่า ความลึกของรอยโรคฟันผุมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่แช่ในสารละลาย โดยรอยโรคที่เกิดขึ้นทั้งหมดยังคงจำกัดอยู่ในชั้นเคลือบฟัน ซึ่งผลการประเมินความลึกของรอยโรคในครั้งนี้อาจช่วยเพิ่มความน่าเชื่อถือของการสร้างแบบจำลองรอยโรคฟันผุระยะเริ่มต้นที่มีความลึกไม่เกิน 100 ไมโครเมตร และสอดคล้องกับลักษณะทางคลินิกที่ไม่เกินระดับ ICDAS 2 ซึ่งสามารถจำลองได้โดยการแช่ในสารละลายที่ทำให้สูญเสียแร่ธาตุเป็นระยะเวลาไม่เกิน 96 ชั่วโมง

คำสำคัญ: รอยผุจำลอง, ชั้นเคลือบฟัน, หลุมและร่องฟัน, กล้องจุลทรรศน์โพลาไรซ์

ข้อมูลการอ้างอิง: ศุภกานต์ ปัญจันท์, อโนมา รัตนะเจริญธรรม และ เข้มพร กิจสหวงศ์. (2568). การสร้างรอยโรคฟันผุจำลองระยะเริ่มต้นในชั้นเคลือบฟันบริเวณหลุมและร่องฟัน. *Procedia of Multidisciplinary Research*, 3(10), 40

บทนำ

จากการสำรวจสภาวะสุขภาพช่องปากแห่งชาติ ครั้งที่ 9 ของประเทศไทย ปี พ.ศ.2565-2566 พบว่า เด็กอายุ 12 ปี มีอัตราการเกิดฟันผุร้อยละ 49.7 และมีค่าเฉลี่ยฟันผุ ถอน อุด (DMFT) 1.2 ซึ่งต่อคน ขณะที่กลุ่มเด็กอายุ 15 ปี อัตราการเกิดฟันผุมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เป็นร้อยละ 61.2 และมีค่าเฉลี่ยฟันผุ ถอน อุด (DMFT) 2.1 ซึ่งต่อคน โดยพบการกระจายตัวของโรคฟันผุมากสุดบริเวณฟันกรามแท้ซี่แรกเช่นเดียวกันทั้งฟันบน และฟันล่าง (สำนักทันตสาธารณสุข กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข, 2023)

จากข้อมูลข้างต้นทำให้เห็นว่าการทราบถึงระยะการดำเนินของรอยโรคฟันผุภายใต้ผิวเคลือบฟันที่มีลักษณะค่อนข้างสมบูรณ์ (intact surface layer) ในทางคลินิกนั้นเป็นสิ่งสำคัญ โดยการตรวจพบ และวินิจฉัยรอยโรคฟันผุได้ตั้งแต่ระยะเริ่มต้น (incipient enamel caries) ส่งผลต่อการวางแผนการรักษาทางทันตกรรมเชิงป้องกัน และบูรณะฟันได้อย่างเหมาะสม โดยเฉพาะการรักษาทางทันตกรรมตามแนวคิดทันตกรรมอนุรักษ์ (minimally invasive dentistry) เพื่อคงโครงสร้างของฟันที่เหลืออยู่ให้มากที่สุด โดยให้ความสำคัญกับการจัดการรอยโรคโดยเน้นการหยุดกระบวนการเกิดโรค และบูรณะฟันเฉพาะส่วนที่จำเป็น (FDI World Dental Federation, 2017; Desai et al., 2021)

จากเหตุผลดังกล่าวทำให้ผู้วิจัยเห็นถึงความสำคัญของการศึกษาเรื่องรอยผุจำลองระยะเริ่มต้นโดยเฉพาะบริเวณหลุมและร่องฟันที่เป็นพื้นฐานของการศึกษาพัฒนาแนวทางการรักษาในทันตกรรม โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษารอยผุจำลองระยะเริ่มต้นในฟันกรามน้อยที่แช่ในสารละลายที่ทำให้สูญเสียแร่ธาตุในระยะเวลาต่างกัน เพื่อนำมาวัดความลึกของรอยผุจำลองภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสงโพลาไรซ์ และนำมาเป็นแนวทางกำหนดช่วงเวลาที่เหมาะสมในการสร้างรอยผุจำลองที่มีความลึกคงที่สำหรับใช้เป็นตัวแบบในการศึกษาวิจัยในอนาคต

การทบทวนวรรณกรรม

จากการทบทวนวรรณกรรมเกี่ยวกับกระบวนการเกิดรอยโรคฟันผุในชั้นเคลือบฟัน พบว่า รอยโรคจะเริ่มดำเนินจากผิวด้านนอกของเคลือบฟันเข้าสู่รอยต่อระหว่างชั้นเคลือบฟันและชั้นเนื้อฟัน (Dentino-Enamel Junction, DEJ) โดยลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของรอยโรคฟันผุแบ่งได้เป็น 4 ระดับ ได้แก่ ชั้นผิวฟัน (surface zone) ซึ่งเป็นชั้นนอกสุด มีการสูญเสียแร่ธาตุน้อยที่สุดและเป็นบริเวณที่มีศักยภาพในการคืนกลับของแร่ธาตุสูง มีความหนาประมาณ 10-30 ไมโครเมตร ถัดมาเป็นชั้นรอยโรค (body of the lesion) ซึ่งเป็นชั้นที่หนาที่สุด ประมาณ 20-100 ไมโครเมตร และเกิดการสูญเสียแร่ธาตุมากที่สุด ทำให้มีรูพรุนเด่นชัดและสามารถสังเกตการเปลี่ยนสีของเคลือบฟันได้ทางคลินิก ต่อมาคือชั้นมืด (dark zone) ที่มีการสูญเสียแร่ธาตุน้อยกว่า มีรูพรุนขนาดเล็ก และมีความหนาประมาณ 10-30 ไมโครเมตร และสุดท้ายคือชั้นโปร่งแสง (translucent zone) ซึ่งอยู่ลึกที่สุดและเป็นบริเวณแรกๆ ที่เริ่มเกิดการสูญเสียแร่ธาตุ มีความหนาประมาณ 10-20 ไมโครเมตร โดยชั้นนี้สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ขอบเขตเริ่มต้นของกระบวนการการสูญเสียแร่ธาตุในโครงสร้างเคลือบฟันได้ (Silverstone, 1973; Fejerskov & Kidd, 2008)

การศึกษาลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาในทางทันตกรรมมีเทคนิคที่นิยมได้แก่ การใช้เครื่องถ่ายภาพรังสีตามขวางระดับไมโครเมตร (Transverse Microradiography, TMR) ซึ่งเป็นเครื่องมือมาตรฐาน (gold standard) และการใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสงโพลาไรซ์ (Polarized Light Microscope, PLM) โดยเครื่องมือทั้งสองแสดงภาพในลักษณะสองมิติ ขณะที่การใช้เครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ระดับจุลภาค (Micro-Computed Tomography, micro-CT) แสดงภาพในลักษณะสามมิติ (Grundmann et al., 2024) ซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งความลึกของรอยโรค และความหนาแน่นของแร่ธาตุที่ประเมินได้จากความเข้มของแสงที่ผ่านตัวฟัน โดยวัดได้จากค่าสัมประสิทธิ์การลดทอนเชิงเส้น (Linear Attenuation Coefficient, LAC) (Lo et al., 2010) ทั้งนี้ผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของชั้นเคลือบฟัน มีบทบาทสำคัญต่อการดูดกลืนรังสีเอกซ์ แม้ว่าความแปรผันตามธรรมชาติขององค์ประกอบทางเคมีในชั้นเคลือบฟันจะส่งผลต่อค่าความสามารถในการดูดกลืนรังสีเพียงเล็กน้อย แต่ก็สามารถใช้ค่า LAC เป็นตัวบ่งชี้ที่สัมพันธ์โดยตรงกับความหนาแน่นของแร่ธาตุในชั้นเคลือบฟันได้ (Lo et al., 2010; Park et al., 2011; Dowke et al.,

2004) อีกทั้งมีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าค่าความหนาแน่นของแร่ธาตุที่วัดได้จากค่า LAC มีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกับความลึกของรอยโรคฟันผุในชั้นเคลือบฟันอีกด้วย (Lo et al., 2010)

จากการศึกษาของ Lo และคณะ ได้เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเครื่องมือสามชนิด ได้แก่ TMR PLM และ micro-CT ในการประเมินการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแร่ธาตุในรอยโรคฟันผุจำลองทางห้องปฏิบัติการ พบว่า ทั้งสามวิธีให้ผลการวัดปริมาณแร่ธาตุที่สอดคล้องกัน โดย micro-CT มีความไวในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างภายในฟัน เทียบเท่ากับวิธีมาตรฐาน ขณะที่การเตรียมชิ้นงานมีความง่ายกว่า เมื่อเทียบกับวิธีอื่นที่ต้องมีการเตรียมชิ้นงานให้มีความหนาไม่เกิน 100-150 ไมโครเมตร (Lo et al., 2010) แต่อย่างไรก็ตาม การถ่ายภาพด้วยแสงโพลาไรซ์ (polarized light imaging) เป็นเทคนิคที่มีศักยภาพสูงในการประเมินเนื้อเยื่อทางชีวการแพทย์ (Alali & Vitkin, 2015) ที่ได้ถูกนำมาวิเคราะห์เนื้อเยื่อแข็งของฟัน และรอยโรคฟันผุจากคุณสมบัติการหักเหแสง (birefringence) ซึ่งเกิดจากรูพรุนภายในโครงสร้างของฟัน (De Medeiros et al., 2012) อีกทั้งการศึกษานิยมวิเคราะห์โดยใช้ตัวกลาง เช่น น้ำ หรือของเหลว (immersion mediums) (Soni & Brudevold, 1959) ขณะที่มีการศึกษาพบว่า การใช้สารตัวกลางโดยเฉพาะน้ำอาจทำให้การประเมินขอบเขตความลึกของรอยโรคมีค่าต่ำกว่าความเป็นจริง หรือต่ำกว่าเมื่อเทียบกับตัวกลางที่เป็นอากาศแห้ง (De Medeiros et al., 2012)

สมมติฐานการวิจัย

เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการแช่ตัวอย่างฟันในสารละลายที่ทำให้สูญเสียแร่ธาตุ จะพบว่า รอยโรคฟันผุในชั้นเคลือบฟันมีความลึกเพิ่มขึ้นตามลำดับ

วิธีดำเนินการวิจัย

ขั้นตอนการเตรียมฟัน ฟันกรามน้อยสภาพสมบูรณ์ที่ถูกถอนเนื่องจากการรักษาทางทันตกรรมจัดฟัน ซึ่งไม่เคยผุหรือหลุมร่องฟัน หรือบูรณะมาก่อน ไม่พบรอยร้าว แตกหรือบิ่นบริเวณด้านบดเคี้ยว และไม่พบการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างบนผิวเคลือบฟัน จำนวน 10 ซี่ จัดเก็บในสารละลายโรมอล ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (0.1% thymol solution) ระยะเวลาไม่เกิน 6 เดือน นำฟันมาทำความสะอาดโดยการกำจัดเนื้อเยื่อ และหีนน้ำลายด้วยเกรซซี่คิวเรตต์ ส่วนด้านบดเคี้ยวทำความสะอาดด้วยยางขัดรูปถ้วยร่วมกับหัวกรอความเร็วต่ำและผงขัดที่ไม่มีส่วนประกอบของฟลูออไรด์ เมื่อทำความสะอาดเสร็จเรียบร้อยแล้วนำฟันตัวอย่างทุกซี่มาทาน้ำยาทาเล็บที่มีคุณสมบัติทนกรด (Revlon®, USA) เว้นบริเวณด้านบดเคี้ยวและปิดรากฟันด้วยอะคริลิกเรซินชนิดบ่มเอง หลังจากนั้นยัดลงท่อพีวีซีโดยนำส่วนรากฟันฝังดินน้ำมันในท่อพีวีซีให้ส่วนของคอฟันอยู่เหนือระดับขอบท่อพีวีซี 2 มิลลิเมตร และเคลือบทับด้วยอะคริลิกเรซินชนิดบ่มเอง

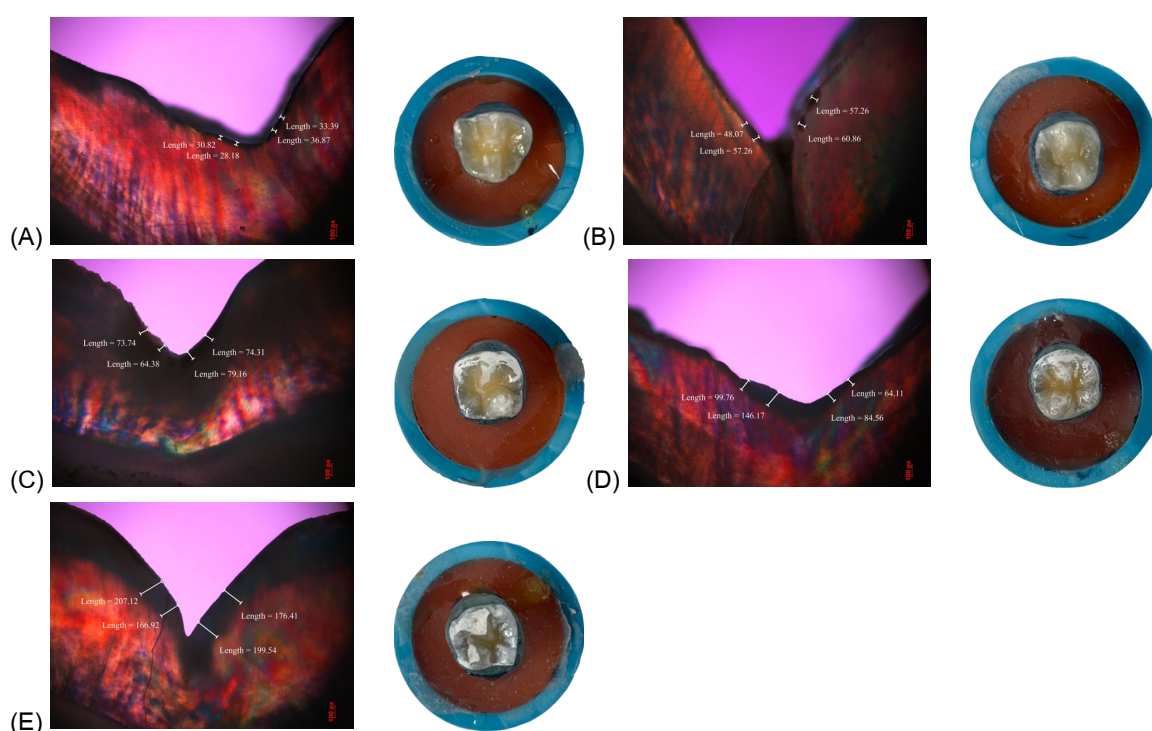
ขั้นตอนการสร้างรอยผุจำลอง ทำโดยแช่ฟันตัวอย่างในสารละลายที่ประกอบด้วยแคลเซียมคลอไรด์ 2.2 มิลลิโมลต่อลิตร โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 2.2 มิลลิโมลต่อลิตร กรดอะซิติก 0.05 โมลต่อลิตร และโซไฟแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 1 โมลาร์ ในการปรับความเป็นกรดต่างให้ได้เท่ากับ 4.4 โดยแช่ฟันตัวอย่างลงในสารละลายที่เตรียมไว้ปริมาตร 50 มิลลิลิตรต่อซี่ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส อ้างอิงตามการศึกษาของ Lo et al. (2010) แบ่งฟันตัวอย่างเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 2 ซี่ที่ระยะเวลา 24 48 72 96 และ 120 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาล้างฟันตัวอย่างด้วยน้ำปราศจากไอออนตัดฟันในแนวใกล้แก้ม-ใกล้ลิ้นโดยตัดจากบริเวณกึ่งกลางของฟันด้วยเครื่อง Mecatome T180 (Brié-et-Angonnes, France) และขัดต่อด้วยเครื่องขัดชิ้นตัวอย่าง (Ecomet, Buehler, USA) ให้มีความหนาเฉลี่ย 170 ไมโครเมตร

ขั้นตอนการประเมินความลึกของรอยโรคในชั้นเคลือบฟัน ทำภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสงโพลาไรซ์ (Nikon Eclipse80i, Kanagawa, Japan) กำลังขยาย 5 เท่าของเลนส์วัตถุ โดยใช้แผ่นหน่วงคลื่นแบบเต็มคลื่น (fullwave plate) ค่าความหน่วงคลื่น 530 นาโนเมตร ที่มุม 45 องศา ด้านหน้าแผ่นอนาไลเซอร์ (analyzer plate) และวิเคราะห์ผ่านโปรแกรม NIS-Elements AR 3.1 โดยวัดระยะความลึกของรอยโรคทั้งหมด 4 ตำแหน่งต่อ 1 ฟันผุ (ภาพที่ 1) แล้วนำมาเฉลี่ยเพื่อให้ได้ความลึกของรอยโรคต่อฟันตัวอย่าง 1 ซี่

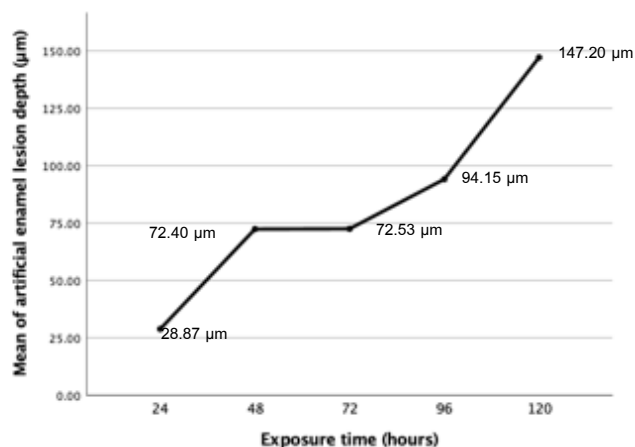
ผลการวิจัย

ในขั้นตอนการวัดระยะความลึกของรอยโรคในชั้นเคลือบฟันได้มีการตรวจสอบความเชื่อมั่นในตัวผู้ประเมิน (intra-examination reliability) เมื่อคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายในชั้น (intra-class correlation) ได้เท่ากับ 0.94 ซึ่งมีความเชื่อถือได้ในระดับดีมาก

ผลจากการสร้างรอยผุจำลองระยะเริ่มต้นด้วยสารละลายที่ทำให้สูญเสียแร่ธาตุพีเอช 4.4 อ้างอิงตามการศึกษาของ Lo et al. (2010) แบ่งเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 2 ซี่ที่ระยะเวลา 24 48 72 96 และ 120 ชั่วโมง เมื่อวัดความลึกของรอยโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสงโพลาไรซ์ (Nikon Eclipse80i, Kanagawa, Japan) กำลังขยาย 5 เท่าของเลนส์วัตถุ และวิเคราะห์ผ่านโปรแกรม NIS-Elements AR 3.1 จากนั้นใช้สถิติเชิงพรรณนาในการบรรยายข้อมูล พบว่า ความลึกของรอยโรคมีค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 28.87 ± 4.85 , 72.40 ± 23.39 , 72.53 ± 0.50 , 94.15 ± 6.35 และ 147.20 ± 56.97 ไมโครเมตร ตามลำดับ



ภาพที่ 1 ลักษณะรอยโรคฟันผุในชั้นเคลือบฟันภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสงโพลาไรซ์ และทางคลินิก (A) ระยะเวลา 24 ชั่วโมง (B) ระยะเวลา 48 ชั่วโมง (C) ระยะเวลา 72 ชั่วโมง (D) ระยะเวลา 96 ชั่วโมง และ (E) ระยะเวลา 120 ชั่วโมง



ภาพที่ 2 ความลึกเฉลี่ยของรอยโรคฟันผุจำลอง (ไมโครเมตร) ที่ระยะเวลาการแช่ในสารละลายที่ทำให้สูญเสียแร่ธาตุต่างกัน โดยแสดงความลึกของรอยโรคฟันผุจำลองที่เพิ่มขึ้นตามเวลาที่เพิ่มขึ้น และมีอัตราการเพิ่มแตกต่างกัน

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

เนื่องจากในปัจจุบันการรักษาทางทันตกรรมได้ให้ความสำคัญตามแนวคิดทันตกรรมอนุรักษ์ (minimally invasive dentistry) โดยมุ่งเน้นการรักษาโครงสร้างธรรมชาติของฟันให้คงอยู่มากที่สุด ดังนั้นการตรวจและวินิจฉัยรอยโรคฟันผุตั้งแต่ระยะเริ่มต้น (incipient enamel caries) จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการวางแผนการรักษาเชิงป้องกันและยับยั้งการลุกลามของรอยโรคฟันผุได้อย่างเหมาะสม ทั้งนี้รอยโรคฟันผุระยะเริ่มต้นหมายถึงรอยโรคฟันผุที่จำกัดอยู่ในชั้นเคลือบฟันแต่ชั้นผิวของเคลือบฟันยังคงสภาพสมบูรณ์อยู่ (Fejerskov & Kidd, 2008) เมื่ออ้างอิงตามเกณฑ์การวินิจฉัย International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) จัดอยู่ในระดับ ICDAS 0-2 โดยที่ ICDAS 0 คือ ฟันที่มีลักษณะปกติ ICDAS 1 คือ พบการเปลี่ยนแปลงที่ผิวเคลือบฟันเมื่อฟันแห้ง ICDAS 2 คือ พบการเปลี่ยนแปลงที่ผิวเคลือบฟันเมื่อฟันเปียก และแห้ง (Dikme, 2015)

เมื่อเปรียบเทียบความลึกของรอยโรคฟันผุทางจุลวิทยา (histology) กับลักษณะทางคลินิกอ้างอิงตามเกณฑ์วินิจฉัย ICDAS สำหรับรอยโรคฟันผุระยะเริ่มต้นบนด้านบดเคี้ยว พบว่า ความลึกของการสูญเสียแร่ธาตุที่ระดับ ICDAS 1 มีความลึกจำกัดอยู่ในครึ่งหนึ่งของความหนาชั้นเคลือบฟันด้านนอก ขณะที่ระดับ ICDAS 2 มีความลึกเพิ่มขึ้นอยู่ครึ่งหนึ่งของชั้นเคลือบฟันด้านในถึงหนึ่งในสามของชั้นเนื้อฟัน (Ekstrand et al., 2001) ขณะที่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสงโพลาไรซ์พบรอยโรคฟันผุมีความลึกในชั้นเคลือบฟันอยู่ในช่วงประมาณ 20-100 ไมโครเมตร (Fejerskov & Kidd, 2008)

การสร้างรอยโรคฟันผุจำลองในชั้นเคลือบฟันทางห้องปฏิบัติการมี 4 วิธีได้แก่ การใช้เจลที่มีกรด การใช้สารละลายที่มี การปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (buffered solutions) การปล่อยไฮดรอกไซด์สัมผัสกับตัวอย่างฟัน และการใช้คราบจุลินทรีย์จากธรรมชาติ (natural plaque) (Damato et al., 1988) การศึกษาครั้งนี้ได้จำลองรอยโรคฟันผุระยะเริ่มต้นในชั้นเคลือบฟัน โดยแช่ในสารละลายที่ทำให้สูญเสียแร่ธาตุพีเอช 4.4 อ้างอิงตามการศึกษาของ Lo และคณะ ซึ่งในการศึกษาดังกล่าวแช่ฟันเป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง พบรอยโรคฟันผุจำลองภายใต้กล้องถ่ายภาพรังสีตามขวางมีความลึกเฉลี่ย 96.9 ไมโครเมตร (Lo et al., 2010) จากการศึกษาของ Damato และคณะ พบว่า สารที่ทำให้สูญเสียแร่ธาตุชนิด สารละลายสามารถสร้างรอยโรคฟันผุภายใต้ชั้นเคลือบฟันที่ปกติ โดยมีลักษณะทางจุลวิทยาเทียบได้กับรอยโรคฟันผุระยะเริ่มต้นที่มีการลุกลาม (active caries) และใช้ระยะเวลาในการสร้างรอยโรคเร็วกว่า ขณะที่การจำลองรอยโรคฟันผุด้วยสารที่ทำให้สูญเสียแร่ธาตุชนิดเจล มีรายงานพบการปนเปื้อนของสารอื่นภายในเจลทำให้เพิ่มความทนทานต่อการรบกวนส่งผลให้รอยโรคที่เกิดขึ้นมีลักษณะคล้ายรอยโรคที่หยุดการลุกลามแล้ว (arrested caries) (Damato et al., 1988) นอกจากนี้การศึกษาของ Dahl และ Silverstone พบว่า การจำลองรอยโรคฟันผุด้วยสารที่ทำให้สูญเสียแร่ธาตุชนิดเจล

ก่อให้เกิดรอยโรคฟันผุในแนวตั้ง (vertical axis) เป็นหลัก ซึ่งไม่สอดคล้องกับการแพร่กระจายของรอยโรคฟันผุในทางคลินิก (Dahl & Silverstone, 1979) แต่อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาของ Beiraghi และคณะ พบว่า การจำลองรอยโรคฟันผุด้วยแบบที่เรียวร่วมกับสารละลายที่ทำให้สูญเสียแร่ธาตุชนิดเจล และแช่ในสารละลายน้ำลายเทียม ส่งผลให้เกิดรอยโรคฟันผุที่ชัดเจนมากขึ้นทั้งในทางคลินิกและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Beiraghi et al., 1987)

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของแร่ธาตุภายในโครงสร้างจุลพยาธิวิทยาของฟันมีเทคนิคที่หลากหลาย (Grundmann et al., 2024) โดยวิธีมาตรฐาน คือ การใช้เครื่องถ่ายภาพรังสีตามขวางระดับไมโครเมตร ซึ่งสามารถวัดปริมาณการสูญเสียแร่ธาตุในชั้นเคลือบฟันได้ แต่มีข้อจำกัดในด้านความไวต่อการตรวจจับบริเวณที่มีการสูญเสียแร่ธาตุในปริมาณเล็กน้อย (Lo et al., 2010) สอดคล้องกับการศึกษาของ Lee และคณะ ที่พบว่า เครื่องถ่ายภาพรังสีตามขวางระดับไมโครเมตรมีความไวต่ำในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลงของแร่ธาตุในระดับเล็กน้อย และค่าความลึกของรอยโรคที่วัดได้ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสงโพลาไรซ์ (Lee et al., 2009) ขณะที่การใช้เครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ระดับจุลภาค แม้จะมีข้อดีที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อฟันตัวอย่างในระหว่างกระบวนการเตรียม และสามารถใช้วัดค่าความหนาแน่นของแร่ธาตุได้ แต่ก็ยังมีข้อจำกัดในด้านความละเอียดของภาพ ซึ่งอาจไม่เพียงพอในการตรวจจับหรือจำแนกรอยโรคฟันผุในระยะเริ่มต้น อีกทั้งยังมีขั้นตอนการประมวลผลข้อมูลแบบสามมิติที่ซับซ้อนและใช้เวลานาน (Lo et al., 2010)

ในการศึกษาครั้งนี้เลือกการประเมินรอยโรคฟันผุภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสงโพลาไรซ์ ซึ่งจำเป็นต้องเตรียมฟันตัวอย่างให้มีความหนาที่เหมาะสมและสม่ำเสมอ เพื่อให้แสงสามารถส่องผ่านและวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของแร่ธาตุและโครงสร้างภายในชั้นเคลือบฟันได้อย่างแม่นยำ (Lo et al., 2010; 18) แม้ว่าการศึกษาของ Lo และคณะ แนะนำความหนาของฟันตัวอย่างประมาณ 100 ± 20 ไมโครเมตร (Lo et al., 2010) และการศึกษาของ Grundmann และคณะ แนะนำความหนาน้อยกว่า 150 ไมโครเมตร เพื่อให้แสงสามารถส่องผ่านได้อย่างเพียงพอในการประเมินการเปลี่ยนแปลงแร่ธาตุ และโครงสร้างภายในชั้นเคลือบฟัน (Grundmann et al., 2024) แต่ในการศึกษาครั้งนี้เลือกใช้ความหนาของฟันตัวอย่างประมาณ 170 ไมโครเมตร เนื่องจากความหนาที่บางจะทำให้เคลือบฟันเปราะ และแตกง่ายขณะเตรียมชิ้นงาน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Douglas และคณะ ที่พบว่า ชิ้นฟันตัวอย่างที่มีความหนาน้อยกว่า 200 ไมโครเมตร ยังสามารถใช้ในการประเมินผลการวิเคราะห์ผ่านกล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสงโพลาไรซ์ได้ (Douglas et al., 2010)

การวิเคราะห์ฟันตัวอย่างในการศึกษาครั้งนี้เลือกใช้อากาศเป็นสารตัวกลาง เนื่องจากการศึกษาของ De Medeiros และคณะ ได้ประเมินความลึกของรอยโรคฟันผุในชั้นเคลือบฟันโดยเปรียบเทียบการใช้สารตัวกลางที่แตกต่างกัน พบว่า สารตัวกลางชนิดน้ำแสดงขอบเขตความลึกของรอยโรคฟันผุน้อยกว่าความเป็นจริง และน้อยกว่าเมื่อเทียบกับการใช้ตัวกลางที่เป็นอากาศแห้ง หรือสารละลายอื่นเช่น Quinoline เนื่องจากโมเลกุลที่ขนาดใหญ่กว่า จึงทำให้เกิดการหักเหของแสงภายในรูพรุนของโครงสร้างฟันมาก (De Medeiros et al., 2012) อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาของ Lo และคณะ ซึ่งใช้น้ำเป็นสารตัวกลางในการวิเคราะห์ พบรอยโรคฟันผุมีความลึกเฉลี่ยประมาณ 96.9 ไมโครเมตร หลังจากแช่ฟันในสารละลายที่ทำให้สูญเสียแร่ธาตุที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง (Lo et al., 2010) ซึ่งผลการศึกษากลับเคียงกับการศึกษาในปัจจุบันที่ระยะเวลาแช่ฟันในสารละลายที่ทำให้สูญเสียแร่ธาตุเท่ากัน แต่เมื่อใช้อากาศแห้งเป็นสารตัวกลางในการวิเคราะห์ พบว่า ความลึกของรอยโรคฟันผุมีค่าเฉลี่ย 94.15 ไมโครเมตร

จากการประเมินลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสงโพลาไรซ์ พบว่า ความลึกของรอยโรคฟันผุจำลองในชั้นเคลือบฟันมีความสัมพันธ์โดยตรงกับระยะเวลาในการแช่สารละลายที่ทำให้สูญเสียแร่ธาตุ โดยความลึกของรอยโรคมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ในการศึกษาครั้งนี้ที่ระยะเวลา 96-120 ชั่วโมง พบการสูญเสียแร่ธาตุในอัตราที่สูงกว่าช่วงแรกอย่างชัดเจน (ภาพที่ 2) สอดคล้องกับจุลวิทยาการกำเนิดของโรคฟันผุในระยะเริ่มต้น ซึ่งอธิบายว่าโครงสร้างของเคลือบฟันแม้จะประกอบด้วยผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) ที่หนาแน่นถึงร้อยละ 86 โดยปริมาตร แต่ระหว่างผลึกเหล่านั้นยังคงมีรูพรุนขนาดเล็ก (micropores) ที่เป็นช่องทางสำหรับการแพร่ผ่านของ

ไอออนและโมเลกุลต่างๆ (Fejerskov & Kidd, 2008; Boyde, 1976) ในช่วงแรกของการสัมผัสกรด การสูญเสียแร่ธาตุที่เกิดขึ้นจะค่อย ๆ ขยายขนาดของรูพรุนเหล่านี้ให้กว้างขึ้น (Fejerskov & Kidd, 2008; Thylstrup & Fejerskov, 1981) ดังนั้นเมื่อระยะเวลาในการแช่สารละลายยาวนานขึ้น การขยายตัวของรูพรุนจึงอาจเป็นปัจจัยเร่งที่สำคัญส่งเสริมให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุใต้พื้นผิว (subsurface demineralization) (Thylstrup & Fejerskov, 1981) และเพิ่มความลึกของรอยโรคได้อย่างรวดเร็ว อย่างไรก็ตาม รอยโรคที่เกิดขึ้นทั้งหมดในการศึกษาครั้งนี้ยังคงอยู่ภายในชั้นเคลือบฟัน โดยมิชอบเขตการลุกลามของรอยโรคไม่ถึงรอยต่อระหว่างเคลือบฟันและเนื้อฟัน ในส่วนลักษณะทางคลินิกของรอยโรคฟันผุส่วนใหญ่จัดอยู่ในระดับ ICDAS 2 ยกเว้นกลุ่มที่ได้รับการแช่ในสารละลายที่ทำให้สูญเสียแร่ธาตุเป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง ที่พบการถูกทำลายของผิวเคลือบฟันซึ่งสะท้อนถึงการลุกลามของรอยโรคอยู่ในระดับ ICDAS 3 ดังนั้นสำหรับการออกแบบการศึกษาในอนาคตที่มุ่งจำลองรอยโรคฟันผุระยะเริ่มต้นในชั้นเคลือบฟันที่ความลึกของรอยโรคไม่เกิน 100 ไมโครเมตร หรือสอดคล้องกับการวินิจฉัยรอยโรคทางคลินิกที่ไม่เกินระดับ ICDAS 2 สามารถทำได้โดยการแช่ในสารละลายที่ทำให้สูญเสียแร่ธาตุซึ่งมีองค์ประกอบอ้างอิงตามการศึกษาของ Lo et al. (2010) ที่ระยะเวลาไม่เกิน 96 ชั่วโมง

ข้อเสนอแนะที่ได้รับการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาทางห้องปฏิบัติการ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความลึกของรอยโรคฟันผุจำลองระยะเริ่มต้นบริเวณหลุมและร่องฟัน จากผลการศึกษาพบว่า เทคนิคการแช่ฟันตัวอย่างในสารละลายที่ทำให้สูญเสียแร่ธาตุเพียงอย่างเดียว สามารถสร้างรอยโรคฟันผุในชั้นเคลือบฟันได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยความลึกของรอยโรคมีความสัมพันธ์กับระยะเวลาในการแช่สารละลายที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามข้อจำกัดของการศึกษาในครั้งนี้ซึ่งเป็นการศึกษาทางห้องปฏิบัติการจึงไม่สามารถสะท้อนสภาวะการเกิดโรคฟันผุตามธรรมชาติในทางคลินิกได้อย่างสมบูรณ์ เนื่องจากในสภาวะจริงการเกิดฟันผุมีความเกี่ยวข้องกับปัจจัยหลายด้าน โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียก่อโรคฟันผุ การสร้างแผ่นคราบจุลินทรีย์ และปัจจัยแวดล้อมในช่องปาก รวมถึงลักษณะทางกายวิภาคบริเวณด้านบดเคี้ยวของฟันที่มีความหลากหลาย

ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในชั้นเคลือบฟัน นอกจากการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสงโพลาไรซ์แล้ว การใช้เทคนิคการวิเคราะห์อื่นเช่น การถ่ายภาพรังสีระดับไมโครเมตร หรือการตรวจด้วยเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ระดับจุลภาค อาจช่วยเพิ่มความแม่นยำในการประเมินการสูญเสียแร่ธาตุในระดับจุลวิทยา ซึ่งจะช่วยให้มีความน่าเชื่อถือและประโยชน์ของแบบจำลองรอยโรคฟันผุที่ใช้ในการศึกษาด้านการป้องกันฟันผุระยะเริ่มต้น

ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งต่อไป

การวิจัยในอนาคตควรพิจารณาออกแบบการศึกษาที่จำลองสภาวะในช่องปากให้ใกล้เคียงกับลักษณะทางคลินิกมากยิ่งขึ้น ได้แก่การใช้แบคทีเรียก่อโรคฟันผุร่วมในการทดลอง การสร้างสภาวะจำลองในช่องปาก เพื่อให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาวิจัยเชิงคลินิกต่อไปได้อย่างเหมาะสม

เอกสารอ้างอิง

- สำนักทันตสาธารณสุข กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. (2023). รายงานผลการสำรวจสภาวะสุขภาพช่องปากแห่งชาติ ครั้งที่ 9 ประเทศไทย พ.ศ.2566. นนทบุรี.
- Alali, S., & Vitkin, A. (2015). Polarized light imaging in biomedicine: emerging Mueller matrix methodologies for bulk tissue assessment. *Journal of biomedical optics*, 20(6), 061104-061104.
- Beiraghi, S., Katz, S., & Beiswanger, B. B. (1987). In vitro model for pit and fissure caries. *Pediatric dentistry*, 9(2), 131.
- Boyde, A. (1976). Amelogenesis and the structure of enamel. In: *Scientific foundations of dentistry* (pp. 335-52). London: Heinemann Medical Books.

- Dahl, E., & Silverstone, L. M. (1979, January). Invitro Study of the Histo-Pathology of Fissure Caries Using Both Artificial Caries and Artificial Fissure Techniques. *Journal of Dental Research*, 58, 165-165.
- Damato, F. A., Strang, R., & Stephen, K. W. (1988). Comparison of solution-and gel-prepared enamel lesions- an in vitro pH-cycling study. *Journal of dental research*, 67(8), 1122-1125.
- De Medeiros, R. C. G., Soares, J. D., & De Sousa, F. B. (2012). Natural enamel caries in polarized light microscopy: differences in histopathological features derived from a qualitative versus a quantitative approach to interpret enamel birefringence. *Journal of microscopy*, 246(2), 177-189.
- Desai, H., Stewart, C. A., & Finer, Y. (2021). Minimally invasive therapies for the management of dental caries— A literature review. *Dentistry journal*, 9(12), 147.
- Dikmen, B. (2015). Icdas II criteria (international caries detection and assessment system). *Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry*, 49(3), 63-72.
- Douglas, S. M., Fried, D., & Darling, C. L. (2010, March). Imaging natural occlusal caries lesions with optical coherence tomography. In *Lasers in Dentistry XVI* (Vol. 7549, pp. 127-133). SPIE.
- Dowker, S. E. P., Elliott, J. C., Davis, G. R., Wilson, R. M., & Cloetens, P. (2004). Synchrotron x-ray microtomographic investigation of mineral concentrations at micrometre scale in sound and carious enamel. *Caries research*, 38(6), 514-522.
- Ekstrand, K. R., Ricketts, D. N. J., & Kidd, E. A. M. (2001). Occlusal caries: pathology, diagnosis and logical management. *Dental update*, 28(8), 380-387.
- FDI World Dental Federation. (2020). FDI policy statement on Minimal Intervention Dentistry (MID) for managing dental caries: Adopted by the General Assembly: September 2016, Poznan, Poland. *International Dental Journal*, 67(1), 6.
- Fejerskov, O., & Kidd, E. A. (2008). *Dental Caries: The Disease and its Clinical Management*. 2nd ed. Oxford: Blackwell Munksgaard.
- Grundmann, J., Golde, J., Steuer, S., Tetschke, F., Kirsten, L., Walther, J., ... & Hannig, C. (2024). Visualization of carious lesions with polarized and depolarized light microscopy. *Biomedical Optics Express*, 15(5), 3018-3036.
- Lee, C., Darling, C. L., & Fried, D. (2009). Polarization-sensitive optical coherence tomographic imaging of artificial demineralization on exposed surfaces of tooth roots. *Dental Materials*, 25(6), 721-728.
- Lo, E. C. M., Zhi, Q. H., & Itthagarun, A. (2010). Comparing two quantitative methods for studying remineralization of artificial caries. *Journal of dentistry*, 38(4), 352-359.
- Park, Y. S., Bae, K. H., Chang, J., & Shon, W. J. (2011). Theory of X-ray microcomputed tomography in dental research: application for the caries research. *Journal of Korean Academy of Conservative Dentistry*, 36(2), 98-107.
- Silverstone L. M. (1973). Structure of carious enamel, including the early lesion. *Oral Sci Rev*, 3, 100-160.
- Soni, N. N., & Brudevold, F. (1959). Microradiographic and polarized light studies of initial carious lesions. *Journal of Dental Research*, 38(6), 1187-1194.
- Thylstrup, A., & Fejerskov, O. (1981). Surface features of early carious enamel at various stages of activity. In: Rølla G, Sønju T, Embery G, editors. *Proceedings of a workshop on tooth surface interactions and preventive dentistry* (pp. 193-205). London: IRL Press.

Data Availability Statement: The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

Conflicts of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's Note: All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.



Copyright: © 2025 by the authors. This is a fully open-access article distributed under the terms of the Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0).