EXPRESSION OF COLLAGEN TYPE I IN INFLAMED DENTAL PULP CELLS TESTED WITH DIFFERENT CAPPING MATERIALS

Ravipa VUTTICHAMNONG[1], Nutthapong KANTRONG[2], Thalerngsak SAMAKSAMARN[1], Subin PUASIRI[1] and Pattama NATHAPAKTI[3]

1 Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Thailand; Ravipa.vu@kkumail.com (Corresponding Author)

2 Faculty of Dentistry, Mae Fah Luang University, Thailand

3 Walailak University International College of Dentistry, Thailand

ARTICLE HISTORY

Received: 6 February 2026 **Revised:** 27 February 2026 **Published:** 13 March 2026

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effects of various pulp capping materials—Dycal®, Biodentine™ , mineral trioxide aggregate (MTA) mixed with distilled water, MTA mixed with Thai propolis extract, and Thai propolis extract alone—on cell viability and messenger ribonucleic acid (mRNA) expression of collagen type I (COL-I) in interleukin-1β-stimulated human dental pulp cells at 24 and 72 hours. Human dental pulp cells were obtained from freshly extracted molars of three volunteers who underwent tooth extraction for orthodontic purposes or for impacted tooth removal. Cell viability was assessed using the PrestoBlue assay, and COL-I mRNA expression was quantified by real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR). Statistical analysis was performed using the Kruskal-Wallis test followed by Dunn's Bonferroni post hoc test with a significance level of 0.05. At 24 hours, the Thai propolis group exhibited significantly higher cell viability than the non-inflamed control group (adjusted $p < 0.05$). At 72 hours, all materials except Dycal® showed no significant effect on cell viability (adjusted $p > 0.05$). COL-I mRNA expression did not differ significantly among the groups at 24 hours ($p > 0.05$); however, a significant increase was observed in the MTA mixed with distilled water, MTA mixed with Thai propolis extract, and Thai propolis extract groups at 72 hours ($p < 0.05$). These findings suggest that Thai propolis extract, either alone or used as a mixing vehicle with MTA, tends to enhance COL-I expression, which is essential for wound healing and the reduction of inflammation.

Keywords: Propolis, Mineral Trioxide Aggregate, Pulp Capping Materials, Collagen Type I

CITATION INFORMATION: Vuttichamnong, R., Kantrong, N., Samaksamarn, T., Puasiri, S., & Nathapakti, P. (2026). Expression of Collagen Type I in Inflamed Dental Pulp Cells Tested with Different Capping Materials. *Procedia of Multidisciplinary Research, 4*(3), 23

การแสดงออกของคอลลาเจนชนิดที่ 1 ในเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์ที่อักเสบ เมื่อทดสอบกับสารปิดทับเนื้อเยื่อในชนิดต่าง ๆ

รวิภา วุฒิจำนงค์[1], ณัฐพงษ์ กันตรง[2], เถลิงศักดิ์ สมัครสมาน[1], สุบิน พัวศิริ[1] และ ปัทมา นาถะภักติ[3]

1 คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น; Ravipa.vu@kkumail.com (ผู้ประพันธ์บรรณกิจ)

2 คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

3 วิทยาลัยทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลของวัสดุปิดทับเนื้อเยื่อใน ได้แก่ ไดแคล ไบโอเดนทีน มิเนอรัลไตรออกไซด์แอกกรีเกต (เอ็มทีเอ) ผสมน้ำกลั่น เอ็มทีเอผสมสารสกัดพรอพอลิสไทย และสารสกัดพรอพอลิสไทย ต่อความมีชีวิตของเซลล์ การแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสคอลลาเจนชนิดที่ 1 ในเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นให้อักเสบด้วยอินเตอร์ลิวคิน-1 เบต้า ที่ 24 และ 72 ชั่วโมง โดยวิเคราะห์ความมีชีวิตของเซลล์ด้วยวิธีเพรสโตบลู และการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสคอลลาเจนชนิดที่ 1 ด้วยวิธีเรียลไทม์ รีเวิร์สทรานสคริปชัน พอลิเมอร์เรสเชนรีแอคชัน พบว่าที่ 24 ชั่วโมง กลุ่มพรอพอลิสมีความมีชีวิตของเซลล์สูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่อักเสบ (adjusted $p<0.05$) ที่ 72 ชั่วโมง วัสดุทุกชนิดยกเว้นไดแคลไม่ส่งผลต่อความมีชีวิตของเซลล์ (adjusted $p>0.05$) การแสดงออกของคอลลาเจนชนิดที่ 1 ที่ 24 ชั่วโมง ในแต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) แต่เพิ่มขึ้นในกลุ่มเอ็มทีเอผสมน้ำกลั่น เอ็มทีเอผสมพรอพอลิสไทย และพรอพอลิสไทยที่ 72 ชั่วโมง ($p<0.05$) ซึ่งผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า เอ็มทีเอ สารสกัดพรอพอลิสไทย และการใช้พรอพอลิสไทยเป็นกระสายยาร่วมกับเอ็มทีเอ มีแนวโน้มเอื้อต่อการเพิ่มการสร้างคอลลาเจนชนิดที่ 1 ซึ่งจำเป็นต่อการหายของแผลและลดการอักเสบ

คำสำคัญ: พรอพอลิส, มิเนอรัลไตรออกไซด์แอกกรีเกต, วัสดุปิดทับเนื้อเยื่อในฟัน, คอลลาเจนชนิดที่ 1

ข้อมูลการอ้างอิง: รวิภา วุฒิจำนงค์, ณัฐพงษ์ กันตรง, เถลิงศักดิ์ สมัครสมาน, สุบิน พัวศิริ และ ปัทมา นาถะภักติ. (2569). การแสดงออกของคอลลาเจนชนิดที่ 1 ในเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์ที่อักเสบ เมื่อทดสอบกับสารปิดทับเนื้อเยื่อในชนิดต่างๆ. *Procedia of Multidisciplinary Research, 4*(3), 23

บทนำ

การอักเสบของเนื้อเยื่อในฟันเป็นการตอบสนองต่อการติดเชื้อหรือการบาดเจ็บของพัลพ์-เดนทีนคอมเพล็กซ์ (pulp-dentin complex) ซึ่งเป็นกระบวนการซ่อมแซมเพื่อปกป้องการทำลายและส่งเสริมการหายของเนื้อเยื่อใน เริ่มจากระยะการอักเสบ เพื่อควบคุมการติดเชื้อและสร้างสภาพแวดล้อมให้เหมาะสม หากสามารถควบคุมการอักเสบได้ จะนำไปสู่ระยะการเจริญของเนื้อเยื่อ (proliferation phase) ซึ่งมีการเปลี่ยนสภาพ (differentiation) ของเซลล์ต้นกำเนิดในเนื้อเยื่อใน (dental pulp stem cells; DPSC) ไปเป็นเซลล์คล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟัน (odontoblast-like cell) และมีการหลั่งสารเมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix) (El karim et al., 2021; ชัยเลิศวณิชกุล ปัทมา, 2020) ในระยะเริ่มต้นของการอักเสบ เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด ได้แก่ นิวโทรฟิลและแมกโครแฟจ จะทำหน้าที่กำจัดเชื้อแบคทีเรียและเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย พร้อมทั้งหลั่งไซโทไคน์ส่งเสริมการอักเสบ เช่น อินเตอร์ลิวคิน-1 เบต้า (interleukin-1 beta; IL-1β) ซึ่งพบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในเนื้อเยื่อในที่มีการอักเสบ (Barkhordar et al., 2002) ไซโทไคน์เหล่านี้เกี่ยวข้องกับการเริ่มต้นกระบวนการซ่อมแซมของเนื้อเยื่อใน มีหน้าที่ดึงดูดเซลล์ต้นกำเนิดเนื้อเยื่อใน กระตุ้นการเคลื่อนที่ของเซลล์ และการสร้างเส้นเลือดใหม่ เมื่อการอักเสบถูกควบคุมได้ แมกโครแฟจจะเปลี่ยนสภาพจากระยะเอ็ม 1 (M1) ซึ่งส่งเสริมการอักเสบ ไปสู่ระยะเอ็ม 2 (M2) ซึ่งมีบทบาทในการส่งเสริมการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ โดยหลั่งไซโทไคน์ต้านการอักเสบและโกรทแฟคเตอร์ที่สำคัญ ได้แก่ อินเตอร์ลิวคิน-10 และทรานส์ฟอร์มมิ่งโกรทแฟคเตอร์-เบต้า 1หรือทีจีเอฟ-เบต้า1 (transforming growth factor-beta 1; TGF-β1) ซึ่งมีบทบาทต่อการสะสมของสารเมทริกซ์นอกเซลล์ และการปรับเปลี่ยนโครงสร้างของเนื้อเยื่อ สารเมทริกซ์นอกเซลล์ของเนื้อเยื่อในฟันมีคอลลาเจนชนิดที่ 1 เป็นองค์ประกอบหลัก มีบทบาทในการยึดเกาะ การเคลื่อนที่ การเปลี่ยนสภาพของเซลล์ และทำหน้าที่เป็นโครงร่าง (scaffold) สำหรับการตกตะกอนของสารอนินทรีย์และการสร้างผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) ของเนื้อฟันซ่อมเสริม (reparative dentin) ในระยะการปรับเปลี่ยนเนื้อเยื่อที่สร้างใหม่ (remodeling phase) (El karim et al., 2021; Goldberg & Smith, 2004; Pribadi et al., 2021) การศึกษาในแบบจำลองการอักเสบของเนื้อเยื่อในพบว่าการกระตุ้นเซลล์ด้วยอินเตอร์ลิวคิน-1 เบต้า สามารถเพิ่มการสร้างคอลลาเจนชนิดที่ 1 ในระยะต้นของการอักเสบ แม้ว่าจะมีผลยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างเส้นใยในบางสภาวะ ซึ่งสะท้อนให้เห็นว่าการอักเสบในระดับที่เหมาะสมอาจมีบทบาทเชิงส่งเสริมต่อการเริ่มต้นกระบวนการซ่อมแซมของเนื้อเยื่อใน (Barkhordar et al., 2002; Lertchirakarn et al., 1998)

การรักษาความมีชีวิตของฟัน (vital pulp therapy) เป็นการรักษาเพื่อคงความมีชีวิตและการทำงานของเนื้อเยื่อในหลังการบาดเจ็บ โดยคุณสมบัติของวัสดุปิดทับเนื้อเยื่อในเป็นปัจจัยสำคัญต่อความสำเร็จในการรักษา แม้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ (calcium hydroxide) เช่น ไดแคล (Dycal) จะถูกใช้เป็นวัสดุมาตรฐานทอง (gold standard) มาอย่างยาวนาน สามารถกระตุ้นการสร้างเนื้อฟันซ่อมเสริม มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ แต่มีข้อจำกัดเรื่องการละลาย การรั่วซึม และการสร้างเนื้อฟันได้ไม่สมบูรณ์ ส่งผลให้อัตราความสำเร็จลดลงในระยะยาว (American Association of Endodontists, 2021; Pribadi et al., 2021; Sangwan et al., 2013) ปัจจุบันวัสดุกลุ่มไฮดรอลิกแคลเซียมซิลิเกตซีเมนต์ (hydraulic calcium silicate cement) ได้แก่ มิเนอรัลไตรออกไซด์แอกกรีเกตหรือเอ็มทีเอ (mineral trioxide aggregate: MTA) และไบโอเดนทีน (Biodentine) ได้รับการแนะนำให้ใช้เป็นวัสดุปิดทับเนื้อเยื่อในโดยสมาคมทันตแพทย์เอ็นโดดอนต์แห่งสหรัฐอเมริกา ในปี ค.ศ.2021 (American Association of Endodontists: AAE) และสมาคมทันตแพทย์เอ็นโดดอนต์แห่งสหภาพยุโรป ในปี ค.ศ.2019 (European Society of Endodontology: ESE) เนื่องจากมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพสูง สามารถปล่อยแคลเซียมไอออน และกระตุ้นการแสดงออกของโกรทแฟคเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเนื้อฟัน โดยมีอัตราสำเร็จทางคลินิกสูง (American Association of Endodontists, 2021; Bjørndal et al., 2019) อย่างไรก็ตาม เอ็มทีเอมีความเป็นด่างสูงในระยะแรกของการแข็งตัว ช่วยลดการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (Torabinejad & Parirokh, 2010) และส่งผลกระตุ้นการเพิ่มขึ้นของสารบ่งชี้การอักเสบในการปิดทับเนื้อเยื่อใน การศึกษาในฟันสัตว์ทดลองพบการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส-2 (cyclooxygenase-2; COX-2) สูงที่สุดที่เวลา 24 ชั่วโมง และลดระดับลงเท่ากับกลุ่มควบคุมในวันที่ 7 (Reyes-Carmona et al., 2011)

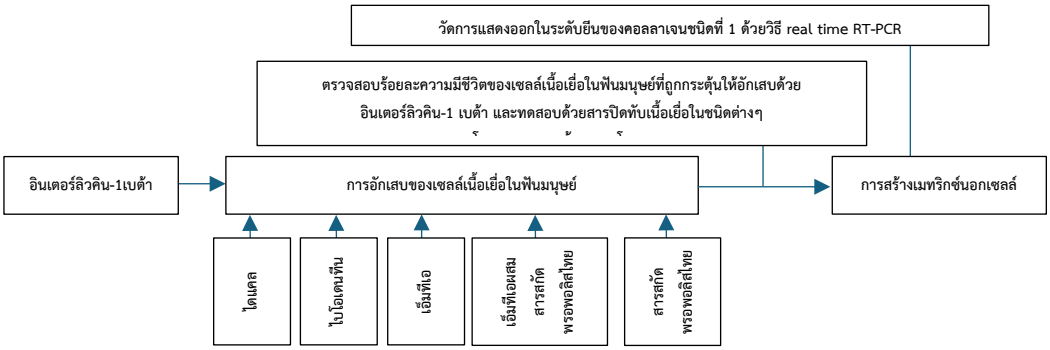
พรอพอลิส (propolis) หรือกาวผึ้ง เป็นสารสกัดที่ได้จากธรรมชาติปริมาณสารออกฤทธิ์ที่สกัดได้จะแตกต่างกันไปขึ้นกับสภาพภูมิศาสตร์และวิธีการสกัด โดยมีสารออกฤทธิ์สำคัญได้แก่ สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลิก และกรดคาเฟอิกฟีนิลเอสเทอร์ (caffeic acid phenethyl ester: CAPE) จากการศึกษาสารสกัดพรอพอลิสไทยจากจังหวัดหนองคาย ที่สกัดด้วยเอทานอล พบปริมาณฟลาโวนอยด์ ร้อยละ 10 และสารประกอบฟีนอลิกรวมร้อยละ 2.95 โดยน้ำหนัก นอกจากนี้ยังพบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพที่พบบ่อยในเนื้อเยื่อในฟันที่มีการติดเชื้อ และไม่เป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อในที่ระยะเวลาทดสอบสูงสุด 72 ชั่วโมง (Chailertvanitkul et al., 2017) มีฤทธิ์ต้านการอักเสบต่อเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นให้อักเสบโดยลดการแสดงออกของโปรตีนไซโคลออกซีจีเนส-2 (Kantrong et al., 2023) ซึ่งชี้ให้เห็นว่า พรอพอลิสมีคุณสมบัติที่สนับสนุนกระบวนการหายของเนื้อเยื่อใน จากการศึกษาในสัตว์ทดลองนำสารสกัดพรอพอลิสไทยมาใช้เป็นวัสดุปิดทับเนื้อเยื่อในฟันภายหลังการตัดประสาทฟันบางส่วน พบว่า กลุ่มที่ปิดทับด้วยพรอพอลิสไทยพบการอักเสบน้อยกว่า และพบการสร้างสะพานเนื้อฟันที่มีการเรียงตัวของท่อเนื้อฟันเป็นระเบียบมากกว่ากลุ่มที่ปิดทับด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (Likitpongpipat et al., 2019) นอกจากนี้ยังพบว่า กลุ่มที่ปิดเนื้อเยื่อในด้วยพรอพอลิสมีความหนาแน่นของคอลลาเจนชนิดที่ 1 เทียบเท่ากลุ่มที่ใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ (Sabir et al., 2016) เมื่อใช้พรอพอลิสเป็นกระสายยาผสมกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ในการปิดทับเนื้อเยื่อในของฟันสัตว์ทดลอง พบการสร้างคอลลาเจนชนิดที่ 1 มากกว่าการใช้น้ำกลั่นผสมกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (Pribadi et al., 2021) และเมื่อนำพรอพอลิสไปใช้เป็นกระสายยาร่วมกับเอ็มทีเอในการทดสอบกับเซลล์เนื้อเยื่อใน พบการแสดงออกของยีนบ่งชี้การเปลี่ยนแปลงสภาพเป็นเซลล์สร้างเนื้อฟันสูงกว่ากลุ่มที่ใช้เอ็มทีเอหรือพรอพอลิสเพียงอย่างเดียว (Kim et al., 2019) ในการศึกษาที่ทดสอบเนื้อเยื่อในที่ถูกกระตุ้นให้อักเสบด้วยเอ็มทีเอผสมน้ำกลั่นพบการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสเมทริกซ์เมทัลโลโปรตีนเอส-2 ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสลายเมทริกซ์ มีระดับสูงขึ้น แต่เมื่อนำพรอพอลิสไทยมาใช้เป็นกระสายยาแทนน้ำกลั่นในการผสมกับเอ็มทีเอ พบว่า มีแนวโน้มช่วยลดการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสเมทริกซ์เมทัลโลโปรตีนเอส-2 ในเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นให้อักเสบที่ 24 และ 72 ชั่วโมง (Tiyapitsanupaisan et al., 2024) ทั้งนี้ ปัจจุบันยังไม่มีความชัดเจนเกี่ยวกับผลของเอ็มทีเอผสมสารสกัดพรอพอลิสไทยต่อการแสดงออกของคอลลาเจนชนิดที่ 1 ในเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นให้อักเสบ การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้สารสกัดพรอพอลิสไทยเป็นกระสายยาผสมกับเอ็มทีเอ ต่อการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสของคอลลาเจนชนิดที่ 1 ในเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นให้อักเสบ

สมมติฐานการวิจัย

1) การแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสของคอลลาเจนชนิดที่ 1 ในเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นให้อักเสบด้วยอินเตอร์ลิวคิน-1 เบต้า ที่ทดสอบด้วยด้วยไดแคล ไบโอเดนทีน เอ็มทีเอผสมน้ำกลั่น เอ็มทีเอผสมสารสกัดพรอพอลิสไทย และสารสกัดพรอพอลิสไทย ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง แตกต่างกัน

2) การแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสของคอลลาเจนชนิดที่ 1 ในเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นให้อักเสบด้วยอินเตอร์ลิวคิน-1 เบต้า ที่ทดสอบด้วยด้วยไดแคล ไบโอเดนทีน เอ็มทีเอผสมน้ำกลั่น เอ็มทีเอผสมสารสกัดพรอพอลิสไทย และสารสกัดพรอพอลิสไทย ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง แตกต่างกัน

กรอบแนวคิดการวิจัย



ภาพที่ 1 กรอบแนวคิด

วิธีดำเนินการวิจัย

การสกัดสารพรอพอลิสไทย (Quiniquini & Nathapakti, 2022)

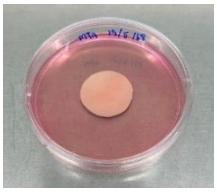
สารสกัดพรอพอลิสไทยเตรียมจากรังผึ้งจังหวัดหนองคาย โดยสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 70 ระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และละลายสารสกัดที่ได้ด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ จนได้สารสกัดพรอพอลิสไทยที่มีความเข้มข้น 18.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ความเข้มข้นร้อยละ 2.73 โดยน้ำหนัก) เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยใช้ความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดพรอพอลิสไทยที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อในฟันที่ถูกกระตุ้น คือ 0.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Tiyapitsanupaisan et al., 2024)

การเพาะเลี้ยงเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์ (Kantrong et al., 2023)

เนื้อเยื่อในฟันได้มาจากฟันกรามซี่ที่สามที่ถูกถอนโดยมีรากฟันที่สมบูรณ์ จำนวน 3 ซี่ จากอาสาสมัครสุขภาพดี อายุ 18-25 ปี โดยได้รับความยินยอมและผ่านการรับรองจริยธรรมการวิจัยจากมหาวิทยาลัยขอนแก่น (HE672316) เนื้อเยื่อในฟันถูกแยกออกและเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มอีเอ็ม (Dulbecco's Modified Eagle Medium: DMEM) เสริมด้วยฟีตอลโบไวน์ซีรัม (fetal bovine serum) ความเข้มข้นร้อยละ 10 บ่มเซลล์ในตู้อบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์เข้มข้นร้อยละ 5 เลี้ยงเซลล์ให้มีความหนาแน่นประมาณร้อยละ 80 ของพื้นที่จานเพาะเลี้ยง ถ่ายเซลล์ทุก 5-7 วัน จนได้เซลล์ในรุ่นที่ 3-8 (3^{rd}-8^{th} passage)

เตรียมสารสกัดที่ใช้ในการทดสอบ (Tiyapitsanupaisan et al., 2024)

วัสดุเอ็มทีเอ (White ProRoot MTA; Dentsply, USA) ไดแคล (Dycal®; Dentsply, USA) และไบโอเดนทีน (Septodont, France) ถูกเตรียมตามคำแนะนำของผู้ผลิต ในรูปทรงแผ่นดิสก์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มม. หนา 1 มม. ขึ้นรูปด้วยพิมพ์ซิลิโคน (ภาพที่ 2A) โดยผสมเอ็มทีเอกับน้ำกลั่น หรือสารสกัดพรอพอลิสในความเข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในอัตราส่วน 3:1 และปล่อยให้แข็งตัวที่ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้ความชื้น 100% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้ปราศจากเชื้อโดยฉายแสงอัลตราไวโอเลต จากนั้นนำวัสดุที่ขึ้นรูปแช่ในดีเอ็มอีเอ็ม ที่มีฟีตอลโบไวน์ซีรัม ความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ภาพที่ 2B) ตามมาตรฐาน ISO 10993-12:2021 กรองสารตัวอย่างผ่านเมมเบรนขนาด 0.22 ไมโครเมตร และเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

A B 

ภาพที่ 2 (A) พิมพ์ซิลิโคนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 มิลลิเมตร หนา 1 มิลลิเมตร (B) เอ็มทีเอผสมน้ำกลั่นที่ขึ้นรูปขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 มิลลิเมตร หนา 1 มิลลิเมตร และแช่ในสารละลายดีเอ็มอีเอ็ม 5 มิลลิลิตร 24 ชั่วโมง

การทดลอง ประกอบด้วย 2 การทดลอง โดยแต่ละการทดลองใช้จากเซลล์เนื้อเยื่อในของฟันอาสาสมัคร 3 ราย และทำซ้ำ 3 ครั้ง

1) การทดสอบความมีชีวิตของเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นให้อักเสบ และทดสอบด้วยสารสกัดวัสดุปิดทับเนื้อเยื่อในชนิดต่างๆ ที่เวลา 24 และ 72 ชั่วโมง (ภาพที่ 3A)

เลี้ยงเซลล์เนื้อเยื่อในฟันในจานเพาะเลี้ยงเซลล์แบบ 96 หลุม ความหนาแน่น $1x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในกลุ่มควบคุมมาตรฐาน เลี้ยงเซลล์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ ในกลุ่มอื่นๆ กระตุ้นให้เกิดการอักเสบด้วยอินเตอร์ลิวคิน-1 เบต้า ความเข้มข้น 10 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ในกลุ่มควบคุมมาตรฐานและกลุ่มควบคุมบวก ในขณะที่กลุ่มควบคุมลบเติมสารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร และกลุ่มทดลองอื่นๆเติมสารสกัดจากวัสดุปิดทับเนื้อเยื่อในชนิดต่างๆที่เตรียมไว้ ได้แก่ สารละลายแมกนีเซียมแอสคอร์บิลฟอสเฟตความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ ความเข้มข้นความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์สารสกัดไดแคล สารสกัดไบโอเดนทีน สารสกัดเอ็มทีเอผสมน้ำกลั่น สารสกัดเอ็มทีเอผสมพรอพอลิสไทยความเข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร สารสกัดพรอพอลิสไทยความเข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร บ่มเซลล์เป็นเวลา 24 และ 72 ชั่วโมง จากนั้นประเมินร้อยละความมีชีวิตของเซลล์ด้วยสารละลายเพรสโตบลู (PrestoBlueTM Cell Viability Reagent, USA) โดยการวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่นกระตุ้นพลังงาน 560 นาโนเมตร และความยาวคลื่นคายพลังงาน 590 นาโนเมตร

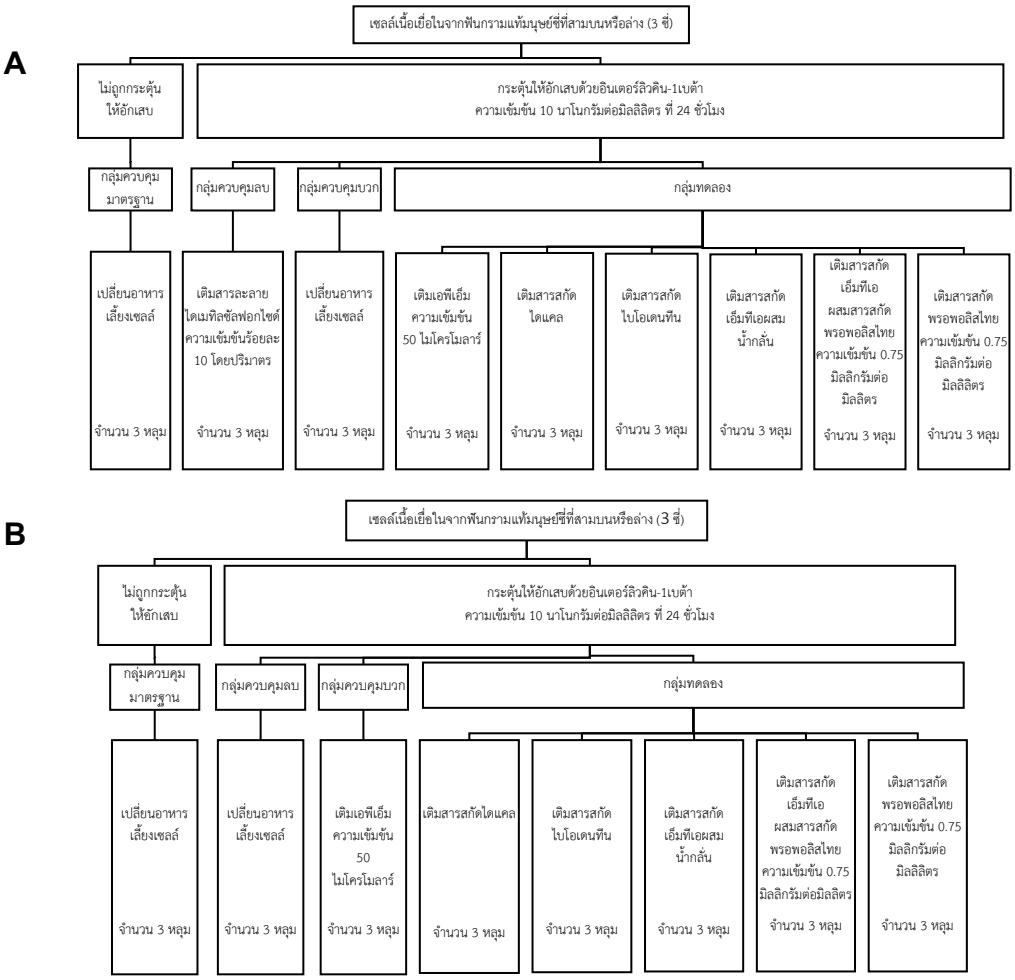
2) การทดสอบการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสของคอลลาเจนชนิดที่ 1 ของเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นให้อักเสบ เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดวัสดุปิดทับเนื้อเยื่อในชนิดต่างๆ ที่เวลา 24 และ 72 ชั่วโมง (ภาพที่ 3B)

เลี้ยงเซลล์เนื้อเยื่อในฟันในจานเพาะเลี้ยงเซลล์แบบ 6 หลุม ความหนาแน่น $2x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในกลุ่มควบคุมมาตรฐาน เลี้ยงเซลล์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ ในกลุ่มอื่นๆ กระตุ้นให้เกิดการอักเสบด้วยอินเตอร์ลิวคิน-1 เบต้า ความเข้มข้น 10 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ในกลุ่มควบคุมมาตรฐานและกลุ่มควบคุมลบ ในขณะที่กลุ่มควบคุมบวกเติมสารละลายแมกนีเซียมแอสคอร์บิลฟอสเฟตความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ และกลุ่มทดลองอื่นๆ เติมสารสกัดจากวัสดุปิดทับเนื้อเยื่อในชนิดต่างๆ ที่เตรียมไว้ ได้แก่ สารสกัดไดแคล สารสกัดไบโอเดนทีน สารสกัดเอ็มทีเอผสมน้ำกลั่น สารสกัดเอ็มทีเอผสมพรอพอลิสไทยความเข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร สารสกัดพรอพอลิสไทยความเข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร บ่มเซลล์เป็นเวลา 24 และ 72 ชั่วโมง

สกัดอาร์เอ็นเอ โดยชุดสำเร็จรูปในการสกัดอาร์เอ็นเอ (RNeasy Plus Mini Kit, Qiagen, Germany) ตามคำแนะนำบริษัท ตรวจสอบคุณภาพและปริมาณอาร์เอ็นเอด้วยเครื่องยูวีสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร สังเคราะห์คอมพลีเมนทารีดีเอ็นเอ (complementary DNA: cDNA) จากอาร์เอ็นเอรวมปริมาณ 500 นาโนกรัมด้วยชุดทำรีเวิร์สทรานสคริปชัน High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit จากนั้นวัดปริมาณการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสโดยวิธีปฏิกิริยาเรียลไทม์โพลีเมอเรสเชน ด้วยระบบ Power SYBR Green และเครื่อง 7500 Fast Real-Time PCR System โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะต่อยีนเป้าหมาย และใช้ GAPDH เป็น housekeeping gene ดังตารางที่ 1 เพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมด้วยเครื่อง LightCycler® 480 (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany) ระดับการแสดงออกของยีนคำนวณด้วยวิธี $\Delta\Delta$Ct โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมาตรฐาน ซึ่งกำหนดค่าเท่ากับ 1

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของร้อยละความมีชีวิตของเซลล์ และการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสคอลลาเจนชนิดที่ 1 ที่ระยะเวลา 24 และ 72 ชั่วโมง การวิเคราะห์เชิงอนุมาน ทดสอบการแจกแจงข้อมูลด้วยสถิติ Shapiro-Wilk ใช้สถิติ Kruskal-Wallis ร่วมกับ Dunn's Bonferroni post hoc test กำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 28.0



ภาพที่ 3 แผนภาพแสดงการการทดลอง โดย (A) การทดสอบความมีชีวิตของเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นให้อักเสบ และทดสอบด้วยสารสกัดวัสดุปิดทับเนื้อเยื่อในชนิดต่างๆ ที่เวลา 24 และ 72 ชั่วโมง และ (B) การทดสอบการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสของคอลลาเจนชนิดที่ 1 ของเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นให้อักเสบ เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดวัสดุปิดทับเนื้อเยื่อในชนิดต่างๆที่เวลา 24 และ 72 ชั่วโมง

ตารางที่ 1 โอลิโกนิวคลีโอไทด์ไพรเมอร์หรือดีเอ็นเอสายสั้นที่ใช้ในกระบวนการเรียลไทม์ อาร์ทีพีซีอาร์; คอลลาเจนชนิดที่ 1 และ GAPDH (Harumi Miyagi et al., 2010)

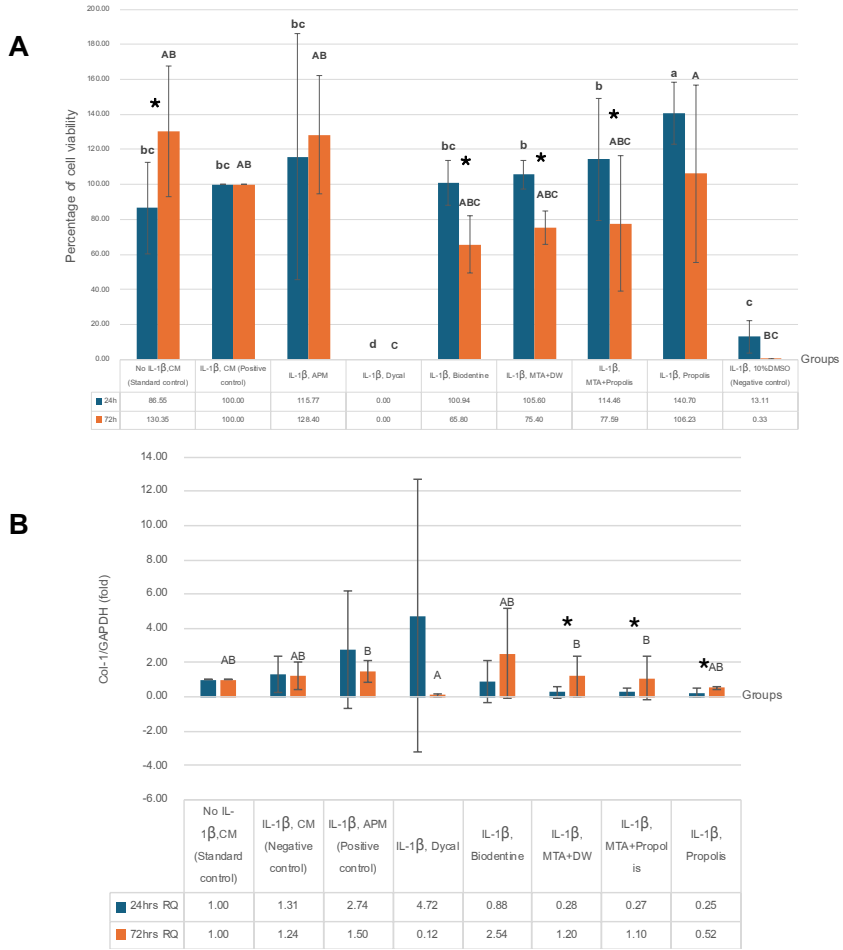
Primer	**Nucleotide (5’-3’)**	**Fragment length (bp)**	**Annealing temperature (°C)**
Col I	CCTCTGCTCTCCGACCTCTCT CTTTGTGCTTTGGGAAGTTGTCTCT	128	85
GAPDH	ACCACAGTCCATGCCATCACTGC TCCACCACCCTGTTGCTGTAGC	452	60

ผลการวิจัย

ค่าเฉลี่ยร้อยละความมีชีวิตของเซลล์เนื้อเยื่อในที่ถูกกระตุ้นให้อักเสบและทดสอบด้วยวัสดุปิดทับเนื้อเยื่อในชนิดต่างๆ ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า กลุ่มพรอพอลิสไทยมีค่าเฉลี่ยร้อยละความมีชีวิตของเซลล์เนื้อเยื่อในมากกว่า กลุ่มควบคุม

มาตรฐาน (adjusted $p<0.05$) ขณะที่กลุ่มไดแคลมีค่าเฉลี่ยร้อยละความมีชีวิตของเซลล์เนื้อเยื่อในน้อยกว่ากลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มทดลองอื่นๆ (adjusted $p<0.05$) กลุ่มควบคุมลบมีค่าเฉลี่ยร้อยละความมีชีวิตของเซลล์เนื้อเยื่อในน้อยกว่ากลุ่มเอ็มทีเอผสมน้ำกลั่น กลุ่มเอ็มทีเอผสมพรอพอลิสไทย และกลุ่มพรอพอลิสไทย (adjusted $p<0.05$) ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง ทั้งกลุ่มไดแคลและกลุ่มควบคุมลบมีร้อยละความมีชีวิตของเซลล์ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมมาตรฐาน กลุ่มแมกนีเซียมแอสคอร์บิลฟอสเฟต กลุ่มพรอพอลิสไทย และกลุ่มควบคุมบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (adjusted $p<0.05$) ทั้งนี้ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มไดแคลและกลุ่มควบคุมลบ (adjusted $p>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างระยะเวลา 24 และ 72 ชั่วโมง พบว่ากลุ่มควบคุมมาตรฐานมีค่าร้อยละความมีชีวิตของเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่กลุ่มที่ไบโอเดนทีน เอ็มทีเอผสมน้ำกลั่น เอ็มทีเอผสมพรอพอลิสไทย และกลุ่มควบคุมลบ มีค่าร้อยละความมีชีวิตของเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 4A)

ค่าเฉลี่ยการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสคอลลาเจนชนิดที่ 1 ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าการแสดงออกของยีนคอลลาเจนชนิดที่ 1 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างทุกกลุ่ม ($p>0.05$) ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง กลุ่มไดแคลมีค่าเฉลี่ยการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสคอลลาเจนชนิดที่ 1 ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมบวก กลุ่มเอ็มทีเอผสมน้ำกลั่น และกลุ่มเอ็มทีเอผสมพรอพอลิสไทย (adjusted $p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างระยะเวลา 24 และ 72 ชั่วโมง พบว่าการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสคอลลาเจนชนิดที่ 1 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่มเอ็มทีเอผสมน้ำกลั่น กลุ่มเอ็มทีเอผสมพรอพอลิสไทย และกลุ่มพรอพอลิสไทย ($p<0.05$) (ภาพที่ 4B)



ภาพที่ 4 แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3) ของ (A) ร้อยละความมีชีวิตของเซลล์ (B) การแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสคอลลาเจนชนิดที่ 1 ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมง

แกนนอนแสดงกลุ่มทดสอบ โดยแกนตั้งแสดงร้อยละความมีชีวิตของเซลล์ (A) และระดับการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสเมื่อเปรียบเทียบกับ GAPDH (B, C) เครื่องหมาย * แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบระหว่างสองช่วงเวลาในแต่ละกลุ่ม (p<0.05) ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มทดสอบที่ 24 ชั่วโมง (adjusted p<0.05) และตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มทดสอบที่ 72 ชั่วโมง (adjusted p<0.05)

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

ในการทดสอบร้อยละความมีชีวิตของเซลล์เนื้อเยื่อในที่ถูกกระตุ้นให้อักเสบด้วยอินเตอร์ลิวคิน-1 เบต้า ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า กลุ่มพรอพอลิสไทยมีร้อยละความมีชีวิตของเซลล์สูงกว่ากลุ่มควบคุมมาตรฐานซึ่งเป็นเซลล์ที่ไม่ถูกกระตุ้นให้อักเสบอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งอาจอธิบายได้จากคุณสมบัติต้านการอักเสบและต้านอนุมูลอิสระของสารสำคัญในพรอพอลิส เช่น ฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลิก ที่สามารถลดผลกระทบจากการอักเสบจากการเหนี่ยวนำโดยอินเตอร์ลิวคิน-1 เบต้า (Kantrong et al., 2023) ขณะที่กลุ่มไดแคลมีความมีชีวิตของเซลล์ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมบวกและกลุ่มทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง ทั้งกลุ่มไดแคลและกลุ่มควบคุมลบมีร้อยละความมีชีวิตของเซลล์ไม่แตกต่างกัน รวมทั้งต่ำกว่ากลุ่มควบคุมมาตรฐาน กลุ่มแมกนีเซียมแอสคอร์บิลฟอสเฟต และกลุ่มพรอพอลิสไทยอย่างมีนัยสำคัญ สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้าที่ระบุว่าความเป็นด่างสูงและการปลดปล่อยไฮดรอกซิลไอออนออกมาปริมาณมาก สามารถทำลายโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์และนำไปสู่การตายของเซลล์ได้ (Manaspon et al., 2021) ขณะที่วัสดุปิดทับเนื้อเยื่อในกลุ่มอื่นไม่ส่งผลต่อความมีชีวิตของเซลล์เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมาตรฐาน สอดคล้องกับการทดลองที่นำเซลล์เนื้อเยื่อในสัมผัสกับวัสดุเอ็มทีเอโดยตรงเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง (Paranjpe et al., 2010) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างระยะเวลา 24 และ 72 ชั่วโมง พบว่า กลุ่มควบคุมมาตรฐานมีร้อยละความมีชีวิตของเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสะท้อนถึงการฟื้นตัวของเซลล์ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ในทางตรงกันข้าม กลุ่มไบโอเดนทีนเอ็มทีเอผสมน้ำกลั่น เอ็มทีเอผสมพรอพอลิสไทย เช่นเดียวกับกลุ่มควบคุมลบมีความมีชีวิตของเซลล์ลดลง สอดคล้องกับการศึกษาทดสอบความมีชีวิตของเซลล์เนื้อเยื่อในกับวัสดุเอ็มทีเอ และไบโอเดนทีน ที่ระยะเวลา 3 วัน ส่งผลให้ความมีชีวิตของเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Youssef et al., 2019) ซึ่งอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมในหลุมเพาะเลี้ยงหรือการปลดปล่อยประจุแคลเซียมและซิลิกอนจากวัสดุ ทำให้มีความเป็นด่างมากขึ้น นอกจากนี้ มีรายงานว่าการตอบสนองของเซลล์ต่อวัสดุแคลเซียมซิลิเกตมีลักษณะขึ้นกับเวลา โดยความเป็นพิษต่อเซลล์อาจปรากฏชัดในระยะเริ่มต้นและลดลงในระยะต่อมา (Song et al., 2021)

การแสดงออกของยีนคอลลาเจนชนิดที่ 1 ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ไม่พบความแตกต่างระหว่างทุกกลุ่ม สอดคล้องกับการที่กระบวนการสร้างเมทริกซ์นอกเซลล์ยังไม่เด่นชัดในระยะเริ่มต้น ขณะที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง กลุ่มไดแคลมีการแสดงออกต่ำกว่ากลุ่มเอ็มทีเอผสมน้ำกลั่นและเอ็มทีเอผสมพรอพอลิสไทยอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมมาตรฐาน พบว่ากลุ่มเอ็มทีเอไม่แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาในเซลล์เนื้อเยื่อในที่ไม่ถูกกระตุ้นให้อักเสบโดยทดสอบกับสารสกัดจากเอ็มทีเอมีการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสคอลลาเจนชนิดที่ 1 สูงกว่ากลุ่มควบคุมทั้งในวันที่ 3 และ 7 (Mora et al., 2025) เมื่อทำการเปรียบเทียบตามเวลา พบว่า กลุ่มเอ็มทีเอผสมน้ำกลั่น เอ็มทีเอผสมพรอพอลิสไทย และพรอพอลิสไทยมีการเพิ่มขึ้นของการแสดงออกของคอลลาเจนชนิดที่ 1 ซึ่งบ่งชี้ถึงศักยภาพในการเปลี่ยนผ่านของเซลล์จากระยะการตอบสนองต่อการอักเสบไปสู่ระยะการซ่อมแซม ผลการศึกษานี้มีแนวโน้มสอดคล้องกับการศึกษาในฟันสัตว์ทดลองที่ใช้พรอพอลิสเป็นกระสายยาผสมกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ สำหรับการปิดทับเนื้อเยื่อโพรงประสาทฟัน พบการแสดงออกคอลลาเจนชนิดที่ 1 ในเนื้อเยื่อในสูงกว่าทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ พรอพอลิสสามารถส่งเสริมการสร้างคอลลาเจนชนิดที่ 1 ผ่านสารออกฤทธิ์สำคัญหลายชนิด โดยเฉพาะกรดคาเฟอิกฟีนิลเอสเทอร์ ซึ่งมีบทบาทในการต้านการอักเสบผ่านการยับยั้งวิถีสัญญาณนิวเคลียร์แฟคเตอร์แคปปาบี ส่งผลให้ระดับไซโทไคน์ก่อการอักเสบลดลง พร้อมทั้งลดการสลายของสาร

เมทริกซ์นอกเซลล์ผ่านการยับยั้งเอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรตีนเอส ซึ่งมีบทบาทในการย่อยสลายโปรตีนของเมทริกซ์ (Pribadi et al., 2021) นอกจากนี้ ฟลาโวนอยด์ในพรอพอลิสยังสามารถกระตุ้นการแสดงออกของทีจีเอฟ-เบต้า1 ซึ่งมีบทบาทในการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างเส้นใย การเปลี่ยนสภาพไปเป็นเซลล์คล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟัน และการสะสมสารเมทริกซ์นอกเซลล์ ส่งผลให้มีการหลั่งและการสะสมของคอลลาเจนชนิดที่ 1 เพิ่มขึ้น (Widjiastuti et al., 2020) รวมทั้งพรอพอลิสช่วยลดการอักเสบจากความเป็นด่างจากการแข็งตัวของเอ็มทีเอในช่วงแรก ทำให้สภาพแวดล้อมเอื้อต่อกระบวนการซ่อมแซมมากขึ้น (Pribadi et al., 2021) กลุ่มไบโอเดนทีนในการศึกษานี้จะไม่แสดงการเพิ่มขึ้นของการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัสคอลลาเจนชนิดที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญภายในระยะเวลา 72 ชั่วโมง เป็นไปในแนวทางเดียวกับการศึกษาในเซลล์สร้างเส้นใยกับไบโอเดนทีนและเอ็มทีเอเป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่ามีการแสดงออกของคอลลาเจนชนิดที่ 1 ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (Manríquez-Olmos et al., 2022) อย่างไรก็ตาม มีการศึกษาก่อนหน้าที่ทำการทดสอบเซลล์เนื้อเยื่อในกับไบโอเดนทีนเป็นระยะเวลา 7 วัน พบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเมทริกซ์นอกเซลล์ เช่น คอลลาเจนชนิดที่ 1 และเดนทีนไซอะโลฟอสโฟโปรตีนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Wang et al., 2022)

ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า สารสกัดพรอพอลิสไทย และการนำสารสกัดพรอพอลิสไทยมาเป็นกระสายยาร่วมกับเอ็มทีเอไม่ส่งผลต่อร้อยละความมีชีวิตของเซลล์เนื้อเยื่อในภายใต้สภาวะอักเสบที่ถูกกระตุ้นด้วยอินเตอร์ลิวคิน-1 เบต้าที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง และมีแนวโน้มส่งเสริมการแสดงออกของยีนคอลลาเจนชนิดที่ 1 ซึ่งจำเป็นต่อการหายของแผลและลดการอักเสบของเนื้อเยื่อในฟัน

ข้อเสนอแนะที่ได้รับจากการวิจัย

ผลการศึกษานี้สะท้อนถึงการตอบสนองของเซลล์ต่อพรอพอลิสไทย และการใช้พรอพอลิสไทยเป็นกระสายยาร่วมกับเอ็มทีเอในทิศทางที่เอื้อต่อการเปลี่ยนแปลงจากระยะการอักเสบไปสู่การสร้างเนื้อฟันซ่อมเสริม ดังนั้นการใช้พรอพอลิสไทยเป็นกระสายยาร่วมกับเอ็มทีเอมีแนวโน้มเป็นประโยชน์สำหรับการพัฒนาไปใช้เป็นวัสดุปิดทับเนื้อเยื่อใน

ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งต่อไป

การศึกษาครั้งนี้ประเมินผลในระดับการแสดงออกของอาร์เอ็นเอนำรหัส ในการวิจัยครั้งต่อไปควรมีการประเมินผลในระดับโปรตีน เช่น การตรวจด้วยวิธีเอนไซม์ลิงก์อิมมูโนซอร์เบนต์แอสเสย์ (Enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA) รวมถึงการทดสอบด้านการทำงานของเซลล์ เช่น การทดสอบกิจกรรมเอนไซม์แอลคาไลน์ฟอสฟาเตส (Alkaline phosphatase activity) และการทดสอบการสะสมแร่ธาตุด้วยวิธีย้อมสีอะลิซารินเรด (Alizarin red staining) และวอนคอสซา (Von Kossa staining) เพื่อยืนยันความเชื่อมโยงระหว่างการแสดงออกของยีนกับกระบวนการสร้างเนื้อฟันซ่อมเสริม ทั้งนี้การทดสอบดังกล่าวจำเป็นต้องเพิ่มระยะเวลาในการทดลองประมาณ 14-28 วัน ร่วมกับการใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ที่กระตุ้นการสร้างเนื้อฟัน ซึ่งเพิ่มความซับซ้อนและข้อจำกัดในการดำเนินการทดลองในระดับเซลล์ หากมีการศึกษาการในสัตว์ทดลอง จะช่วยให้สามารถติดตามผลการซ่อมแซมของเนื้อเยื่อในได้ในระยะยาวมากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

ชัยเลิศวณิชกุล ปัทมา. (2020). *การรักษาความมีชีวิตของฟัน*. พิมพ์ครั้งที่ 2. ขอนแก่น: หจก.โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา.

American Association of Endodontists. (2021). AAE position statement on vital pulp therapy. *Journal of Endodontics, 47*(9), 1340-1344.

Barkhordar, R., Ghani, Q., Russell, T., & Hussain, M. (2002). Interleukin-1β Activity and Collagen Synthesis in Human Dental Pulp Fibroblasts. *Journal of Endodontics, 28*(3), 157-159.

Bjørndal, L., Simon, S., Tomson, P. L., & Duncan, H. F. (2019). Management of deep caries and the exposed pulp. In *International Endodontic Journal* (Vol. 52, Number 7, pp. 949-973). Blackwell Publishing Ltd.

Chailertvanitkul, P., Namsirikul, T., Damrongrungruang, T., & Peerapattana, J. (2017). Phenolic and flavonoids contents and antibacterial activity of ethanolic extract of propolis. *Isan Journal of Pharmaceutical Sciences, 13*(3), 59-67.

El karim, I. A., Cooper, P. R., About, I., Tomson, P. L., Lundy, F. T., & Duncan, H. F. (2021). Deciphering Reparative Processes in the Inflamed Dental Pulp. In *Frontiers in Dental Medicine* (Vol. 2, pp. 1-10). Frontiers Media S.A.

Goldberg M, & Smith AJ. (2004). Cells and Extracellular Matrices of Dentin and Pulp: A Biological Basis for Repair and Tissue Engineering. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine, 15*(1), 13-27.

Harumi Miyagi, S. P., Kerkis, I., da Costa Maranduba, C. M., Gomes, C. M., Martins, M. D., & Marques, M. M. (2010). Expression of Extracellular Matrix Proteins in Human Dental Pulp Stem Cells Depends on the Donor Tooth Conditions. *Journal of Endodontics, 36*(5), 826-831.

Kantrong, N., Kumtawee, J., Damrongrungruang, T., Puasiri, S., Makeudom, A., Krisanaprakornkit, S., & Chailertvanitkul, P. (2023). An in vitro anti-inflammatory effect of Thai propolis in human dental pulp cells. *Journal of Applied Oral Science, 31*, 1-12.

Kim, J. H., Kim, S. Y., Woo, S. M., Jeong, H. N., Jung, J. Y., Kim, S. M., & Lim, H. S. (2019). Combination of mineral trioxide aggregate and propolis promotes odontoblastic differentiation of human dental pulp stem cells through ERK signaling pathway. *Food Science and Biotechnology, 28*(6), 1801-1809.

Lertchirakarn, V., Birner, R., & Messer, H. H. (1998). Effects of interleukin-1β on human pulpal fibroblast proliferation and collagen synthesis. *Journal of Endodontics, 24*(6), 409-413.

Likitpongpipat, N., Sangmaneedet, S., Klanrit, P., Noisombut, R., Krisanaprakornkit, S., & Chailertvanitkul, P. (2019). Promotion of Dental Pulp Wound Healing in New Zealand White Rabbits' Teeth by Thai Propolis Product. *Journal of Veterinary Dentistry, 36*(1), 17-24.

Manaspon, C., Jongwannasiri, C., Chumprasert, S., Sa-Ard-Iam, N., Mahanonda, R., Pavasant, P., Porntaveetus, T., & Osathanon, T. (2021). Human dental pulp stem cell responses to different dental pulp capping materials. *BMC Oral Health, 21*(1), 209.

Mora, A., García-Bernal, D., Rodríguez-Lozano, F. J., Ghilotti, J., Lozano, A., & López-García, S. (2025). Biocompatibility and osteogenic potential of novel tricalcium silicate-based materials in human dental pulp stem cells: Advancing vital pulp therapies. *Dental Materials, 41*(6), 644-657.

Paranjpe, A., Zhang, H., & Johnson, J. D. (2010). Effects of Mineral Trioxide Aggregate on Human Dental Pulp Cells after Pulp-capping Procedures. *Journal of Endodontics, 36*(6), 1042-1047.

Pribadi, N., Budiarti, D., Kurniawan, H. J., & Widjiastuti, I. (2021). The NF-kB and Collagen Type 1 Expression in Dental Pulp after Treated Calcium Hydroxide Combined with Propolis. *European Journal of Dentistry, 15*(1), 122-126.

Quiniquini, J. E. B. & Nathapakti, P. (2022). *Analysis of Active Ingredients of Thai Propolis Extracts Using High Performance Liquid Chromatography*. Master of Science Thesis of Restorative Dentistry, Khon Kaen University.

Reyes-Carmona, J. F., Santos, A. R. S., Figueiredo, C. P., Felippe, M. S., Felippe, W. T., & Cordeiro, M. M. (2011). In vivo host interactions with mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide: Inflammatory molecular signaling assessment. *Journal of Endodontics, 37*(9), 1225-1235.

Sabir, A., Mooduto, L., Kaelan, C., & Horax, S. (2016). Impact of the use of ethanolic extract of propolis, flavonoid and non-flavonoid propolis for direct pulp capping in collagen type i density. *Brazilian Journal of Oral Sciences, 15*(4), 264-268.

Sangwan, P., Sangwan, A., Duhan, J., & Rohilla, A. (2013). Tertiary dentinogenesis with calcium hydroxide: A review of proposed mechanisms. *International Endodontic Journal, 46*(1), 3-19.

Song, W., Li, S., Tang, Q., Chen, L., & Yuan, Z. (2021). Biocompatibility and bioactivity of calcium silicate based bioceramics in endodontics (Review). *International Journal of Molecular Medicine, 48*(1), 128.

Tiyapitsanupaisan, N., Kantrong, N., Puasiri, S., Makeudom, A., Krisanaprakornkit, S., & Chailertvanitkul, P. (2024). Effects of Thai propolis mixed in mineral trioxide aggregate on matrix metalloproteinase-2 expression and activity in inflamed human dental pulp cells. *Journal of Applied Oral Science, 32*, 1-12.

Torabinejad, M., & Parirokh, M. (2010). Mineral Trioxide Aggregate: A Comprehensive Literature Review-Part II: Leakage and Biocompatibility Investigations. *Journal of Endodontics, 36*(2), 190-202.

Youssef, A.-R., Emara, R., Taher, M. M., Al-Allaf, F. A., Almalki, M., Almasri, M. A., & Siddiqui, S. S. (2019). Effects of mineral trioxide aggregate, calcium hydroxide, biodentine and Emdogain on osteogenesis, Odontogenesis, angiogenesis and cell viability of dental pulp stem cells. *BMC Oral Health, 19*(1), 133.

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: © 2026 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).