

การศึกษาลักษณะพื้นผิวของรอยโรคฟันผุหยุดยั้งที่เนื้อฟันน้ำนมภายหลัง
การทำซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ ในห้องปฏิบัติการ

An *in vitro* Study of Surface Characteristics of SDF-induced Arrested Dentine Caries

ปณวัฒน์ ชาวโยธา (Panawat Chawyota)* ดร.ปฏิมาพร พิงชาญชัยกุล (Dr.Patimaporn Pungchanchaikul)**
อนิมา รัตนะเจริญธรรม (Anoma Rattanjareantum)*** ดร.วารานุช ปิติพัฒน์ (Dr.Waranuch Pitiphat)****

บทคัดย่อ

การศึกษามีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะ และองค์ประกอบแร่ธาตุบริเวณพื้นผิวของรอยโรคฟันผุหยุดยั้งที่เนื้อฟันน้ำนมภายหลังการทำซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ (silver diamine fluoride, SDF) และซิลเวอร์ไนเตรด (AgNO₃) ทำการทดลองในฟันกรามน้ำนม 4 ซี่ ที่มีรอยผุถึงชั้นเนื้อฟันทางด้านบดเคี้ยว แต่ละซี่แบ่งได้เป็น 6 กลุ่ม คือเนื้อฟันปกติ 3 กลุ่ม (กลุ่มที่ 1 ไม่ทาสาร กลุ่มที่ 2 ทา SDF กลุ่มที่ 3 ทา AgNO₃) และเนื้อฟันผุ 3 กลุ่ม (กลุ่มที่ 4 ไม่ทาสาร กลุ่มที่ 5 ทา SDF กลุ่มที่ 6 ทา AgNO₃) เก็บฟันที่ความชื้นสัมพัทธ์ 100 อุณหภูมิ 37° เซลเซียส 7 วัน ศึกษาพื้นผิวเนื้อฟันด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และวิเคราะห์สัดส่วนแร่ธาตุแคลเซียมต่อฟอสฟอรัส (Ca/P) และ ฟลูออไรด์ (F) ที่พื้นผิวของเนื้อฟัน เนื้อฟันในกลุ่มที่ 2 และ 3 และรอยผุกลุ่มที่ 5 และ 6 กลายเป็นสีดําและแข็ง การทา SDF ให้ลักษณะรอยฟันผุหยุดยั้งที่ดีกว่า AgNO₃ ทั้งจากโครงสร้างพื้นผิวที่อัดแน่น และอัตราส่วน F และ Ca/P ที่สูงกว่า ผลการศึกษาทางห้องปฏิบัติการนี้ สนับสนุนผลการศึกษ่อื่นๆ ในการแนะนำการใช้ SDF ในการจัดการฟันผุที่ลุกลามในฟันน้ำนม

ABSTRACT

This study aimed to examine characteristics and minerals components of surface of arrested dentinal caries after silver diamine fluoride (SDF) or silver nitrate (AgNO₃) application. Four primary molars with dentinal caries on occlusal surface were studied. Each tooth was separated into 6 groups, including three sound dentine (group 1: un-treated, group 2: SDF, and group 3: AgNO₃) and three dentinal caries groups (group 4: un-treated, group 5: SDF, and group 6: AgNO₃). The specimen were kept at relative humidity 100% and 37°C for 7 days. Surface characteristics were evaluated by scanning electron microscope and minerals component analysis, including calcium/phosphorus (Ca/P) and fluoride (F). Sound dentine in groups 2 and 3 and carious dentine in groups 5 and 6 became discoloration and harden. However, SDF application on dentine caries showed better results over the AgNO₃ application, regarding both more compacted surface structure and higher F and Ca/P ratios. Findings from this *in vitro* study support results from previous studies on the use of SDF in management of dentinal caries progression in primary teeth.

คำสำคัญ: ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ ฟันน้ำนม ฟันผุหยุดยั้ง

Keywords: Arrested caries, Primary tooth, Silver diamine fluoride

* นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาทันตแพทยศาสตร์ วิชาเอกทันตกรรมสำหรับเด็ก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

** อาจารย์ ภาควิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

*** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

**** รองศาสตราจารย์ ภาควิชาทันตกรรมชุมชน คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

โรคฟันผุในเด็กปฐมวัย (early childhood caries) เป็นโรคติดเชื้อเรื้อรังที่พบในเด็กได้มากที่สุด และมีการลุกลามรวดเร็ว ส่งผลอย่างรุนแรงต่อสุขภาพช่องปากของทารกและเด็กเล็ก หากฟันที่ไม่ได้รับการรักษาจะนำไปสู่อาการปวดและการติดเชื้อ โรคฟันผุในเด็กปฐมวัยระดับรุนแรงทำให้เด็กมีความเสี่ยงในการเจริญเติบโตและพัฒนาการช้า และส่งผลต่อคุณภาพชีวิตของเด็ก (AAPD, 2017; Ng, Chase, 2013) ซึ่งสาเหตุที่เด็กเล็กมักไม่ได้รับการรักษาทางทันตกรรม ก็อาจมาจากความยุ่งยากในการจัดการพฤติกรรม (Ng, Chase, 2013) และประสิทธิภาพในการควบคุมการลุกลามของรอยโรค จึงนำมาสู่การรักษาแบบไม่รุกรานด้วยการใช้ฟลูออไรด์เฉพาะที่หรือสารที่ทาเพื่อยับยั้งการลุกลามของโรคฟันผุ เกิดเป็นรอยโรคฟันผุหยุดยั้ง (arrested caries)

ซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ (silver diamine fluoride, SDF) เป็นฟลูออไรด์เฉพาะที่ชนิดหนึ่งที่ทันตบุคลากรใช้ในการจัดการยับยั้งและป้องกันฟันผุ (Nishino et al., 1969) ที่ยังได้รับการสนับสนุนจากองค์การอนามัยโลกให้มีการศึกษาการใช้สาร SDF แก้ไขปัญหาโรคฟันผุในเด็กเล็กในประเทศกำลังพัฒนา เนื่องจากมีคุณสมบัติยับยั้งการลุกลามของฟันผุในชั้นเนื้อฟันได้อย่างมีประสิทธิภาพในระยะเวลาหนึ่ง โดยส่งเสริมการคืนกลับของแร่ธาตุบริเวณผิวเนื้อฟันในโพรงฟันผุ และสามารถควบคุมเชื้อก่อโรคฟันผุ ส่งผลให้กระบวนการเกิดฟันผุหยุดลุกลามโดยเกิดเป็นรอยโรคฟันผุหยุดยั้งที่มีลักษณะดำและแข็ง (Meesuk, 2016; Rosenblatt et al., 2009; Wongsupa et al., 2014) นอกจากนี้ SDF ก็มีราคาไม่แพง สามารถหาซื้อได้ มีความปลอดภัย เหมาะกับการใช้ในชุมชน เพราะสามารถนำออกไปให้บริการในชุมชนได้ง่าย และที่สำคัญเป็นการรักษาที่ไม่รุกราน (non-invasive) ไม่เป็นอันตราย และไม่ก่อให้เกิดความเจ็บปวดขณะทำการรักษา ทั้งนี้ การเปลี่ยนแปลงของฟันผุหรือฟันเป็นสีดำหรือน้ำตาลเข้มจากไอออนของเงิน ซึ่งเป็นข้อจำกัดของการทา SDF ด้านความสวยงาม แต่เป็นการแสดงถึงประสิทธิภาพในการหยุดยั้งฟันผุ (Chu, Lo, 2008; Fung et al., 2013; Rosenblatt et al., 2009)

นอกจากสารละลาย SDF แล้ว ซิลเวอร์ไนเตรต (Silver nitrate, AgNO₃) ก็เป็นสารอีกชนิดที่ถูกนำมาใช้ทางทันตกรรมเพื่อยับยั้งฟันผุ มีคำแนะนำให้นำมาทาที่รอยโรคฟันผุเพื่อให้เกิดเป็นรอยโรคฟันผุหยุดยั้งโดยมีการเปลี่ยนแปลงให้เกิดการแข็งและเปลี่ยนสีของผิวรอยผุในเนื้อฟันเช่นกันกับการทา SDF (Chu et al., 2015; Duffin, 2012)

จากการศึกษาที่ผ่านมาได้มีการศึกษาลักษณะฟันผุ โครงสร้าง และองค์ประกอบแร่ธาตุบริเวณพื้นผิวของฟันน้ำนมที่มีรอยโรคฟันผุหยุดยั้งจากการทา SDF ทั้งในเนื้อฟันน้ำนมปกติและเนื้อฟันน้ำนมที่มีรอยผุจำลองแล้วทา SDF ในห้องปฏิบัติการ แต่ก็ยังไม่มีการเปรียบเทียบกับการทา รอยโรคสีดำที่ทา AgNO₃ จึงนำมาสู่การศึกษาครั้งนี้เพื่อเปรียบเทียบลักษณะฟันผุเนื้อฟันผุและเนื้อฟันน้ำนมปกติหลังจากทา SDF และ AgNO₃ เพื่อเป็นประโยชน์และข้อมูลในการจัดการรอยโรคนี้ต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

ศึกษาลักษณะฟันผุ และองค์ประกอบแร่ธาตุบริเวณพื้นผิวของรอยโรคฟันผุหยุดยั้งที่เนื้อฟันน้ำนมภายหลังการทาซิลเวอร์ไดเอมีนฟลูออไรด์ และซิลเวอร์ไนเตรต ในฟันกรามน้ำนม

วิธีการวิจัย

ใช้ฟันกรามน้ำนม 4 ซี่ โดยเป็นฟันกรามน้ำนมที่ถูกถอนหรือหลุดเองตามธรรมชาติ เก็บในสารละลายไทมอล ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 มีรอยผุในชั้นเนื้อฟันไม่เกินครึ่งหนึ่งในแนวใกล้กลาง-ไกลกลางของตัวฟัน ไม่มีพยาธิสภาพหรือความผิดปกติที่เกิดจากการสร้างฟัน เกณฑ์การคัดออกคือ มีรอยผุขนาดใหญ่บริเวณพื้นโพรงฟันและง่ามรากฟัน

มีรอยฟันในเนื้อฟัน เป็นรอยคุดหูดขี้ผึ้ง มีลักษณะแข็งและเปลี่ยนเป็นสีดำ หรือเป็นพื้นที่ได้รับการบูรณะหรือได้รับการรักษาคลองรากฟัน การศึกษานี้ผ่านการขอยกเว้นการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์มหาวิทยาลัยขอนแก่น หมายเลขสำคัญประจำโครงการ คือ HE602255

เตรียมชิ้นงาน (รูปที่ 1)

นำฟันมาทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่า แล้วปัดฟันลงในอะคริลิกชนิดบ่มด้วยตัวเองในท่อโพลีไวนิลคลอไรด์ เพื่อยึดรากฟัน ให้ส่วนตัวฟันยื่นออกมา ระบายด้านบดเคี้ยวของฟันขนานกับพื้น ตัดด้านบดเคี้ยวของฟันออกประมาณ 1 มิลลิเมตร ให้ลึกลงไปถึงชั้นเนื้อฟัน แล้วทำการตัดแบ่งฟันในแนวใกล้กลาง-ใกล้แก้ม โดยตัดแบ่งเป็น 3 ชั้น แต่ละชั้นมีขนาดความกว้างประมาณเป็นอย่างน้อย 2 มม. โดยในแต่ละชั้นจะได้ชิ้นงาน 3 ชั้น แต่ละชั้นจะแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือเนื้อฟันน้ำนมและเนื้อฟันน้ำนมปกติ กันระหว่างชิ้นงานในฟันแต่ละซี่ที่ตัดแบ่งด้วยแผ่นเซลลูลอยด์ (celluloid strip) ทำการทดสอบตามการแบ่งกลุ่มต่อไปนี้

การทดสอบกลุ่มที่ 1 เนื้อฟันน้ำนมปกติไม่ทาสาร

การทดสอบกลุ่มที่ 2 เนื้อฟันน้ำนมปกติทาสารละลายซิลเวอร์ไดอามีนฟลูออไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 38 (38% SDF, Saforide, Toko Seiyaku Kasei Ltd., Japan) ตามขั้นตอนดังนี้ ใช้ฟู่กันทาสาร (microbrush) จุ่ม SDF ทาบริเวณรอยโรคฟันผุที่เป่าแห้ง รอ 30 วินาที แล้วเช็ด SDF ส่วนเกินออก

การทดสอบกลุ่มที่ 3 เนื้อฟันน้ำนมปกติทาสารซิลเวอร์ไนเตรดความเข้มข้นร้อยละ 25 (25%AgNO₃) ตามขั้นตอนเช่นเดียวกับกลุ่ม 38% SDF

การทดสอบกลุ่มที่ 4 เนื้อฟันน้ำนมไม่ทาสาร

การทดสอบกลุ่มที่ 5 เนื้อฟันน้ำนมทาสาร SDF ตามขั้นตอนในกลุ่มที่ 2

การทดสอบกลุ่มที่ 6 เนื้อฟันน้ำนมปกติทา AgNO₃ ตามขั้นตอนในกลุ่มที่ 3

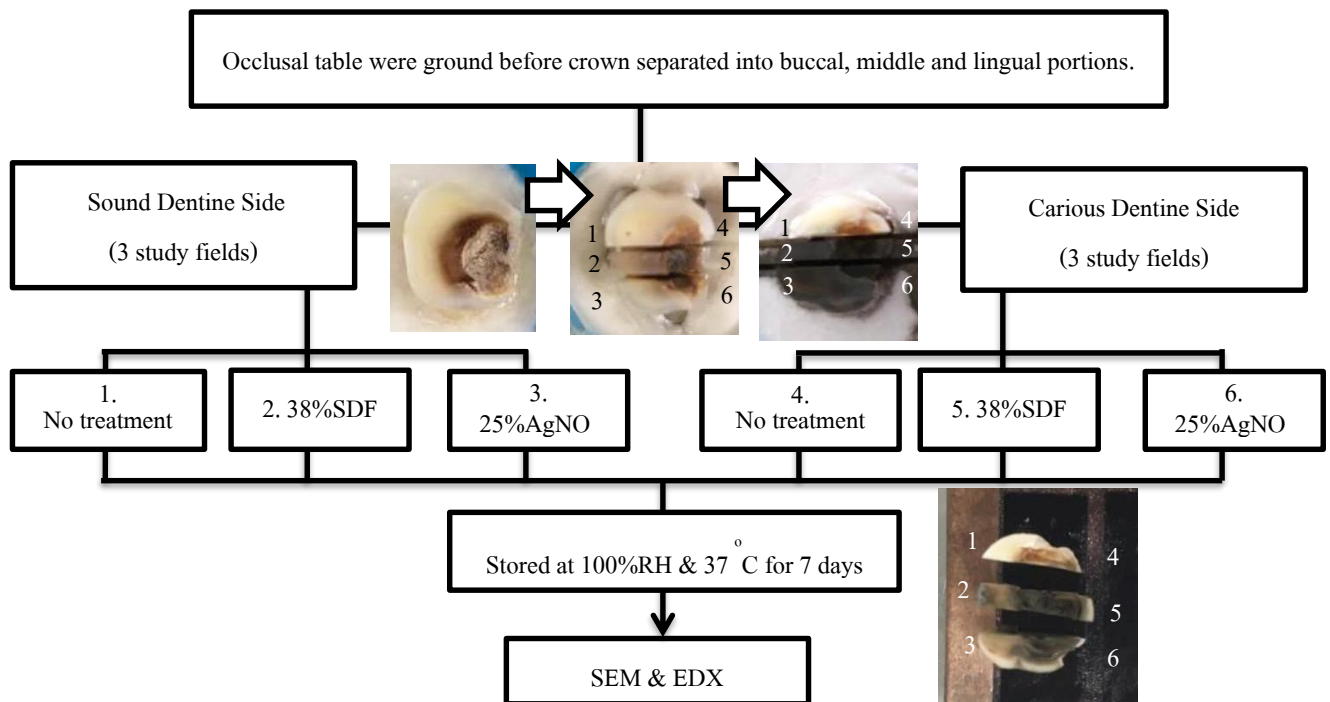
เก็บฟันที่ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 100 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นปล่อยให้ฟันตัวอย่างให้แห้งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปเข้าเครื่องวิเคราะห์แร่ธาตุ (Energy Dispersive X-ray Spectrometer, EDX) เพื่อดูอัตราส่วนแร่ธาตุโดยน้ำหนัก (% by weight, %w) ดังต่อไปนี้ แคลเซียมต่อฟอสฟอรัส (Ca/P) คาร์บอน (C) ฟลูออไรด์ (F) และเงิน (Ag) ที่พื้นผิวของเนื้อฟัน จากนั้นจึงนำชิ้นฟันไปศึกษาวิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างทางจุลภาคของพื้นผิวเนื้อฟันด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron microscope, SEM) ที่กำลังขยาย 4,000 และ 8,000 เท่าตามลำดับ ใช้สถิติเชิงพรรณนาอธิบายอัตราส่วนของแร่ธาตุ และการบรรยายลักษณะที่พบจาก SEM จากทั้ง 6 กลุ่ม

ผลการวิจัย

ลักษณะพื้นผิวชิ้นงานจากการศึกษาด้วย SEM กำลังขยาย 4,000 และ 8,000 เท่า พบลักษณะดังนี้ (รูปที่ 2)

กลุ่มที่ 1 เนื้อฟันน้ำนมปกติ พบท่อเนื้อฟัน (dentinal tubule) หน้าตัดค่อนข้างกลม ขนาดใกล้เคียงกัน พื้นที่ระหว่างท่อเนื้อฟัน (intertubular dentine) มีลักษณะเรียบ ภายในท่อเนื้อฟัน (intratubular dentine) เป็นช่องว่าง (รูปที่ 2A)

กลุ่มที่ 2 เนื้อฟันน้ำนมปกติทา 38% SDF พบ dentinal tubule เส้นผ่าศูนย์กลางมีขนาดเล็กกว่ากลุ่มอื่น intertubular dentine และรอบท่อเนื้อฟัน (peritubular dentine) มีผลึกปกคลุมหนาแน่น intratubular dentine มีทั้งเป็นช่องว่าง และถูกอุดตันด้วยผลึก (รูปที่ 2C)



รูปที่ 1 Study overview for characteristics and mineral composition of the dentine and caries surfaces after SDF and AgNO₃ application

กลุ่มที่ 3 เนื้อฟันน้ำนมปกติทา AgNO₃ พบ dentinal tubule มีเส้นผ่าศูนย์กลางหลายขนาด แต่มีขนาดเล็กกว่าที่พบในเนื้อฟันปกติในกลุ่มที่ 1 intertubular dentine และ peritubular dentine มีผลึกปกคลุมบางส่วน intratubular dentine มีทั้งเป็นช่องว่าง และถูกอุดตันด้วยผลึก (รูปที่ 2E)

กลุ่มที่ 4 เนื้อฟันน้ำนมผุ พบ dentinal tubule กว้างกว่าในเนื้อฟันปกติ มี peritubular dentine เป็นขอบนูนสูงบริเวณ intertubular dentine พื้นผิวขรุขระ มี debris กระจายอยู่ intratubular dentine เป็นช่องว่าง (รูปที่ 2B)

กลุ่มที่ 5 เนื้อฟันน้ำนมผุทา SDF พบ dentinal tubule เส้นผ่าศูนย์กลางหลายขนาด รูปร่างแตกต่างกัน intertubular dentine และ peritubular dentine มีผลึกปกคลุม ทำให้พื้นผิวดูเรียบกว่ากลุ่มที่ 4 เนื้อฟันผุ intratubular dentine เป็นช่องว่าง (รูปที่ 2D)

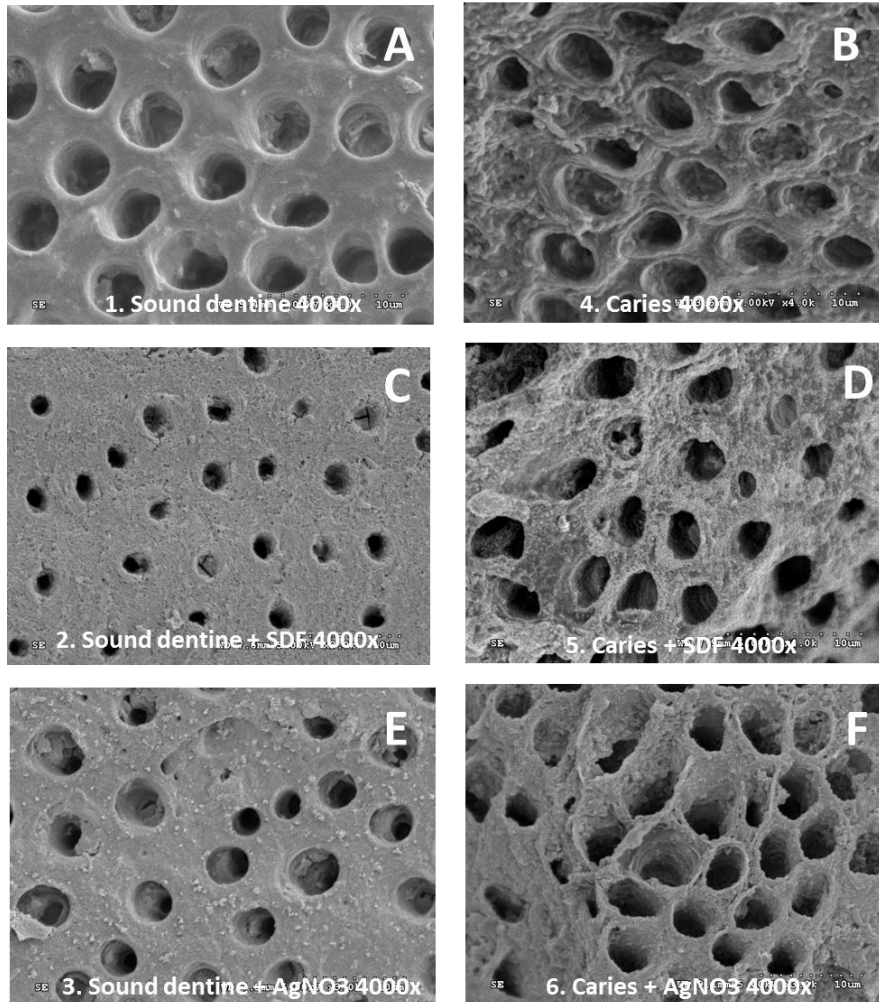
กลุ่มที่ 6 เนื้อฟันน้ำนมผุทา AgNO₃ พบ dentinal tubule เส้นผ่าศูนย์กลางหลายขนาด รูปร่างแตกต่างกัน intertubular dentine เป็นชั้นบางกว่าในกลุ่มที่ทาด้วย SDF peritubular dentine มีผลึกขนาดเล็กกระจายอยู่ intratubular dentine เป็นช่องว่าง (รูปที่ 2F)

การศึกษาองค์ประกอบและแร่ธาตุบริเวณพื้นผิวด้วย EDX และเปรียบเทียบอัตราส่วนของแร่ธาตุที่ทำการวิเคราะห์ได้แก่ แคลเซียมต่อฟอสฟอรัส คาร์บอน ฟลูออไรด์ และเงิน ของทั้ง 6 กลุ่ม ดังนี้

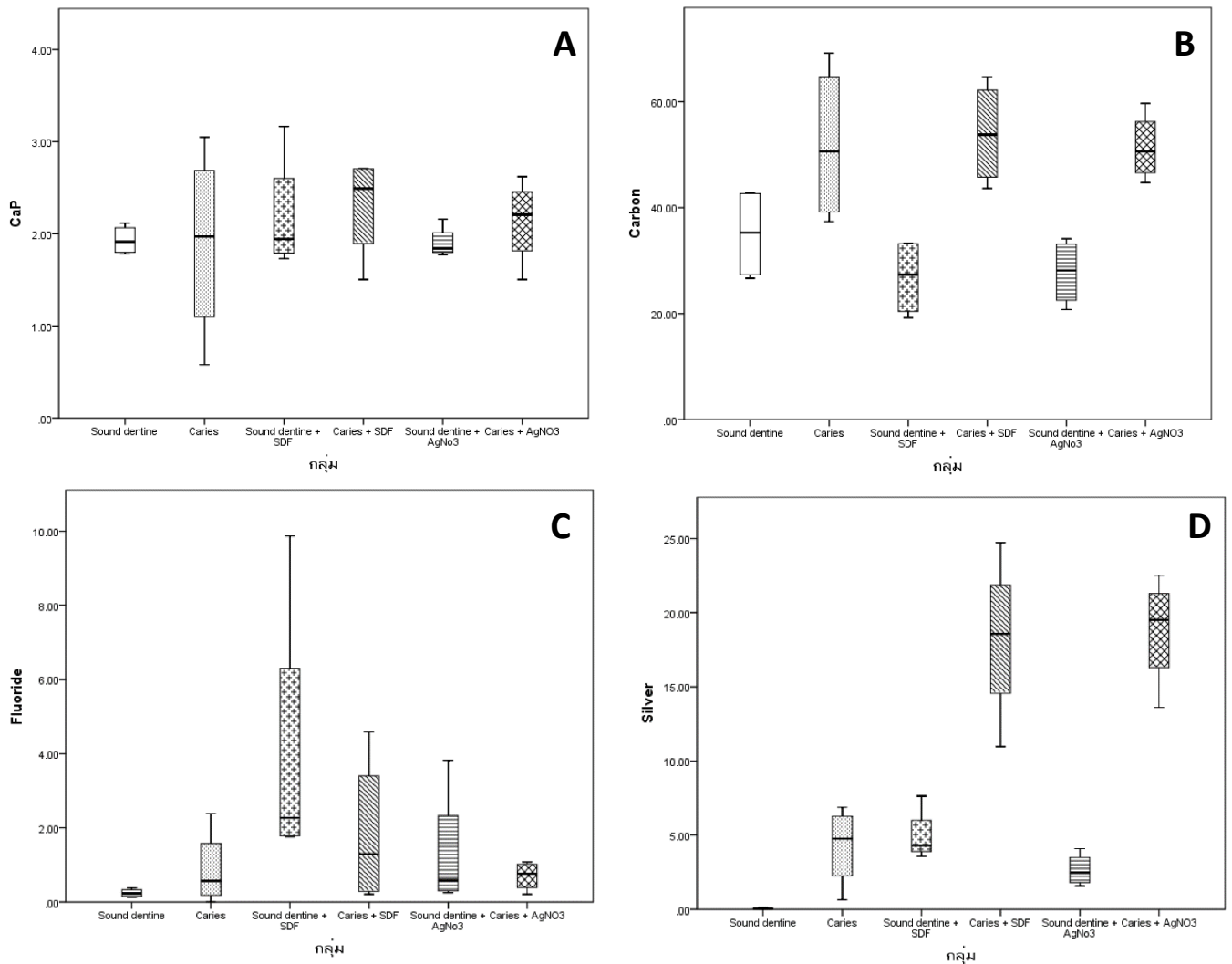
1. อัตราส่วนแคลเซียมต่อฟอสฟอรัส (Ca/P) อัตราส่วนของ Ca/P ในทุกกลุ่มมีค่าใกล้เคียงกัน โดยกลุ่มเนื้อฟันน้ำนมผุทา SDF และกลุ่มเนื้อฟันน้ำนมผุทา AgNO₃ สูงกว่ากลุ่มอื่นๆ เล็กน้อย (รูปที่ 3A)

2. อัตราส่วนคาร์บอน (C) อัตราส่วนของ C ในกลุ่มเนื้อฟันน้ำนมปกติทั้งหมดมีค่าต่ำกว่ากลุ่มเนื้อฟันน้ำนมผุทั้งหมด กลุ่มเนื้อฟันน้ำนมปกติทา SDF และกลุ่มเนื้อฟันน้ำนมปกติทา AgNO₃ มีอัตราส่วน C ที่ต่ำกว่ากลุ่มเนื้อฟันน้ำนมปกติที่ไม่ได้ทาเล็กน้อย (รูปที่ 3B)

3. ฟลูออไรด์ (F) ทุกกลุ่มที่ทา SDF มีอัตราส่วน F สูงกว่า ทั้งกลุ่มที่ไม่ได้ทาสารใดๆ และกลุ่มที่ทา AgNO_3 (รูปที่ 3C)
4. เงิน (Ag) ในกลุ่มเนื้อฟันน้ำนมสุกที่ทา SDF และกลุ่มที่ทา AgNO_3 มีอัตราส่วนของ Ag ที่สูงกว่ากลุ่มอื่นอย่างชัดเจน (รูปที่ 3D)



รูปที่ 2 Micrographs of SEM images at 4000x magnification (A) Sound dentine ; (B) Caries; (C) Sound dentine + 38%SDF; (D) Caries+ 38%SDF; (E) Sound dentine+25% AgNO_3 ; (F) Caries + 25% AgNO_3



รูปที่ 3 Box plots show surface mineral proportion of (A) Ca/P, (B) Carbon, (C) Fluoride and (D) Silver in %

อภิปราย

การศึกษานี้ได้ทำการศึกษาในฟันกรามน้ำนมที่ผุไม่เกินครึ่งตัวฟันในแนวใกล้กลาง-ไกลกลาง นำมาแบ่งกลุ่มเพื่อเปรียบเทียบการทาสาร SDF และ AgNO₃ ในเนื้อฟันปกติและรอยผุในเนื้อฟัน ในฟัน 1 ซี่ มีครบทั้ง 6 กลุ่ม เพื่อลดปัจจัยกวนต่างๆ ที่อาจมีผลต่อลักษณะพื้นผิวและองค์ประกอบแร่ธาตุที่แตกต่างกันในฟันแต่ละซี่ อีกทั้งผลการศึกษาลักษณะพื้นผิวและองค์ประกอบแร่ธาตุได้มาจากชิ้นงานเดียวกันและในระหว่างการทาสารก็มีการแบ่งชิ้นงานด้วย celluloid strip ซึ่งสามารถป้องกันการปนเปื้อนสารทดสอบไปยังชิ้นงานอีกด้านหนึ่ง

ภายหลังจากทา SDF และ AgNO₃ 7 วัน พบว่าทั้งเนื้อฟันน้ำนมปกติ และเนื้อฟันผุที่ทาสารทั้ง 2 ชนิด กลายเป็นสีดำคล้ายคลึงกันเมื่อสังเกตด้วยตา ซึ่งคำแนะนำของผลิตภัณฑ์ได้แนะนำวิธีการทาในคลินิกทันตกรรม โดยให้นัดติดตามอาการหลังการทา SDF ภายใน 2-7 วัน เพื่อตรวจสอบการเกิดเป็นฟันผุหยุดยั้งจากการเปลี่ยนสี แล้วให้ทาดัดต่อกันมากกว่า 3 ครั้ง แต่อย่างไรก็ตามทางทันตกรรมชุมชนได้มีการศึกษาพบว่า การทาเพียง 1 ครั้งสามารถทำให้เกิดฟันผุหยุดยั้งได้เช่นกัน ผู้วิจัยจึงได้เลือกทา SDF เพียง 1 ครั้ง แล้วทิ้งระยะไว้ 7 วัน จึงนำมาทำการศึกษาต่อ ส่วน AgNO₃

นั้นไม่ได้มีคำแนะนำที่ชัดเจน ผู้วิจัยจึงเลือกใช้วิธีการเช่นเดียวกับ SDF เนื่องจากมีกลไกการยับยั้งการลุกลามฟันผุที่คล้ายกัน (Vachirarojpisan, 2012; Wongsupa et al., 2014)

การทาสารประกอบเงินจาก SDF และ $AgNO_3$ บนเนื้อฟันซึ่งเป็นสารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตชนิดไฮดรอกซีอะพาไทต์ร้อยละ 70 และสารอินทรีย์ประมาณร้อยละ 20 โดยน้ำหนัก ทำให้เกิดปฏิกิริยาซึ่งได้เป็นผลึกสารประกอบเงินของสาร โปรตีน และ $AgPO_4$ ที่มีสีดำและการดัดแปลง (modify) สารอินทรีย์ร่วมกับการคืนกลับของแร่ธาตุ เช่น แคลเซียม ฟอสเฟต หรือฟลูออไรด์ (จาก SDF) ทำให้ฟันผุมีลักษณะเรียบแข็ง (J.J.-Y et al., 2012; Rosenblatt et al., 2009) ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่เห็นอย่างชัดเจนทางคลินิก ทำให้ถูกใช้เป็นการประเมินประสิทธิภาพของการยับยั้งฟันผุในการศึกษาต่างๆ และมีลักษณะคล้ายกับฟันผุหยุดยั้งที่เกิดตามธรรมชาติ มีการศึกษาคุณสมบัติของรอยผุหยุดยั้งจากการทาสารประกอบเงินอยู่น้อยกว่าผลการศึกษาทางคลินิก ทำให้เกิดข้อสงสัยว่าการยับยั้งฟันผุจะคงทนได้นานเพียงใด รวมทั้งความทนต่อการฟุ้ง และ การเปลี่ยนแปลงนี้จะมีผลอย่างไรในการเลือกวัสดุบูรณะที่ต้องมีการเปลี่ยนคุณสมบัติผิวหน้าเนื้อฟันเพื่อเพิ่มการยึดติด รวมทั้งความจำเป็นในการกำจัดชั้นสีดำก่อนการบูรณะ

จากการศึกษาคุณลักษณะของรอยผุหยุดยั้งภายหลังการทา SDF ที่ผ่านมา ทั้งในรอยผ่าลอง รอยโรคฟันผุทางคลินิก หรือเนื้อฟันปกติในห่องปฏิบัติการ จะพบว่าลักษณะของรอยโรคและเนื้อฟันปกติหลังการทามีการเปลี่ยนเป็นสีดำและแข็งคล้ายคลึงกัน เมื่อนำมาศึกษาความแข็งผิวที่ความลึกไม่เกิน 50-125 ไมโครเมตร มีความแข็งผิวมากกว่ารอยโรคฟันผุที่ไม่ได้ทา SDF และที่ฟันผุไม่เกิน 50 ไมโครเมตรมีอัตราส่วนแร่ธาตุแคลเซียม และฟอสฟอรัสสูงกว่ารอยโรคฟันผุ จึงมีการสันนิษฐานว่าเป็นการเปลี่ยนแปลงของคอลลาเจนในเนื้อฟันที่กลายเป็นสีดำ ส่วนความแข็งผิวที่เพิ่มขึ้นอาจจะมาจากการตกตะกอนคืนกลับของแร่ธาตุในช่องปาก หรือตามการออกแบบการศึกษาในห่องปฏิบัติการที่มีการจำลองให้เกิดการคืนกลับแร่ธาตุ (May et al., 2014; May et al., 2013; Mei et al., 2013)

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า เนื้อฟันผุมีอัตราส่วนคาร์บอนซึ่งแสดงถึงปริมาณสารอินทรีย์ของ โครงสร้างเนื้อฟันมากกว่าเนื้อฟันปกติ มีอัตราส่วน Ca/P และ F ใกล้เคียงกับเนื้อฟันปกติ โครงสร้างฟันผุมีการขยายของ dentinal tubule มีการเผยผิของร่างแหคอลลาเจน บริเวณ peritubular dentine เป็นขอบนูนสูง บริเวณ intertubular dentine พบลักษณะฟันผุขรุขระ และมี intratubular dentine เป็นช่องว่าง มีความแตกต่างอย่างชัดเจนจากเนื้อฟันปกติ

ภายหลังทา SDF หรือ $AgNO_3$ ในการศึกษานี้ไม่ได้จำลองให้เกิดการคืนกลับแร่ธาตุจากสิ่งแวดล้อมรอบตัวฟันเหมือนกับในช่องปากที่มีแร่ธาตุจากน้ำลาย ยาสีฟัน หรือสารที่ช่วยในการคืนกลับแร่ธาตุอื่นๆ ความแตกต่างของอัตราส่วนแร่ธาตุจึงเกิดจากปฏิกิริยาของสารทดสอบกับเนื้อฟันและรอยผุ ในกลุ่มที่ได้รับ SDF พบว่ามีอัตราส่วนฟลูออไรด์สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับ SDF ดังแสดงได้ด้วยปฏิกิริยาระหว่างไฮดรอกซีอะพาไทต์และ SDF ตามสมการ $Ag(NH_3)_2F + Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 \rightarrow AgPO_4 + CaF_2 + NH_3(H_2O)$ การศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า CaF_2 ที่เกิดขึ้นตามสมการบนพื้นผิวนั้นค่อยๆ ตกตะกอนกลับลงมายังผิวฟันแล้วดึงเอาฟอสเฟตไอออนตกตะกอนตามมาแล้วเกิดเป็นฟลูออโรอะพาไทต์ (Fluorapatite) (Featherstone, 2008; Gonzalez-Cabezas, 2010; Ingram, Silverstone, 1981; Lou et al., 2011)

อัตราส่วนแคลเซียมฟอสเฟตที่พบในการศึกษานี้พบว่าในกลุ่มฟันผุที่ทา SDF และ $AgNO_3$ มีอัตราส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสที่สูงขึ้นเล็กน้อยเมื่อเทียบกับฟันผุที่ไม่ได้ทาสารและกลุ่มเนื้อฟันปกติ เช่นเดียวกับที่รายงานในการศึกษาของ Mei et al. (2013) ที่พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของอัตราส่วน Ca/P บริเวณพื้นผิว 50 ไมโครเมตร ของรอยโรคฟันผุจำลองหลังการทา SDF แต่อย่างไรก็ตามได้มีการศึกษาที่ระบุว่าอัตราส่วนของ Ca/P ในฟันที่สูญเสียแร่ธาตุหรือฟันผุมีค่าหลากหลายไม่แน่นอน คาดว่าอาจสัมพันธ์กับการสูญเสียแร่ธาตุที่แตกต่างกันในแต่ละตำแหน่งของเนื้อฟัน และขั้นตอนการเกิดการสูญเสียแร่ธาตุ ทำให้เกิดความหลากหลายของอัตราส่วนแคลเซียมต่อฟอสเฟต ค่าอัตราส่วนของ

แคลเซียมและฟอสฟอรัสจึงแตกต่างกัน (Chu et al., 2012; Featherstone, 2008; Gonzalez-Cabezas, 2010; Ingram, Silverstone, 1981; Lou et al., 2011; Mei et al., 2013)

การศึกษานี้พบว่าทั้งเนื้อฟันปกติและเนื้อฟันผุที่ทา SDF และที่ทา AgNO₃ ในกลุ่มที่ 3 และ 6 ต่างเปลี่ยนเป็นสีดำนั่นกัน โดยความดำของฟันผุจะเข้มขึ้นเรื่อยๆ ตามการสังเกตในแต่ละวันของการทดลอง ลักษณะความดำที่เกิดขึ้นถูกอธิบายว่าเกิดผลึก AgPO₄ ที่ไม่ละลายน้ำ (J.J.-Y. et al., 2012) จากการทาสารที่มีไอออนของเงินเป็นองค์ประกอบ ซึ่งในการทดลองครั้งนี้พบอัตราส่วนความเข้มขึ้นของเงินที่ฟันผุหลังทา SDF และ AgNO₃ สูงกว่ากลุ่มเนื้อฟันปกติที่ทาสารทั้ง 2 ชนิดอย่างชัดเจน

การศึกษาลักษณะของคอลลาเจนภายใต้ SEM ในรอยโรคฟันผุหลังการทา SDF ไม่พบการเผยผิของคอลลาเจน มีผลึกตกเกาะแทรกอยู่ตามเส้นใยคอลลาเจน คอลลาเจนเรียงตัวเป็นระเบียบอยู่ชิดกัน ระยะห่างระหว่างเส้นใยคอลลาเจนน้อย ฟันผุบริเวณ intertubular dentine เรียบกว่าฟันผุ และการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนแร่ธาตุลักษณะสีดำนที่เกิดขึ้นจึงนำมาสู่ข้อสังเกตว่าลักษณะคอลลาเจนของฟันผุนั้นอาจสามารถทำปฏิกิริยาได้ดีกับไอออนเงิน และนำมาสู่การดัดแปลง (modified) โครงสร้างทางฟิสิกส์เคมีของคอลลาเจน ซึ่งน่าจะเป็นกลไกหลักอันเปลี่ยนรอยโรคฟันผุเป็นรอยโรคฟันผุหยุดยั้ง (J.J.-Y. et al., 2012; Rosenblatt et al., 2009) แต่ถ้าหากเปรียบเทียบด้วยด้วยภาพถ่าย SEM จะพบว่าทั้งในการศึกษานี้ที่พบว่ากลุ่ม SDF ให้ลักษณะของฟันผุ intertubular dentine ที่เรียกว่า มีความหนาแน่นกว่า และมีผลึกปกคลุมฟันผุหนาแน่นกว่ากลุ่ม AgNO₃ และการศึกษาของ May et al. (2013) ที่พบว่าลักษณะโครงสร้างของคอลลาเจนในกลุ่ม SDF เป็นระเบียบกว่า มีการเผยผิวน้อยกว่า และเรียงตัวหนาแน่นกว่ากลุ่ม AgNO₃ สนับสนุนประสิทธิภาพของ SDF ต่อคอลลาเจนที่ดีกว่า AgNO₃

จะเห็นว่าในกลุ่มเนื้อฟันน้ำนมผุที่ทา SDF มี intertubular dentine ที่หนาแน่นกว่าในกลุ่มเนื้อฟันน้ำนมผุที่ทา AgNO₃ อย่างชัดเจน ซึ่งได้มีการศึกษาที่เสนอไว้ว่าเมื่อ AgNO₃ ทำปฏิกิริยากับไฮดรอกซีอะพาไทต์จะเกิดแคลเซียมไดไนเตรต (Ca(NO₃)₂) ซึ่งมีคุณสมบัติละลายน้ำและละลายได้ในน้ำลาย ทำให้เกิดการสูญเสียแคลเซียมที่เนื้อฟันมากขึ้น เกิดการเผยผิของคอลลาเจนมากขึ้น (May et al., 2013) จึงได้มีการศึกษาภายหลังการทา AgNO₃ ให้ทาโซเดียมฟลูออไรด์ (NaF) ตาม เพื่อให้ฟลูออไรด์ไปจับกับแคลเซียมเกิดเป็น CaF₂ เป็นแหล่งเก็บสะสมแล้วปล่อยฟลูออไรด์ให้กับเนื้อฟัน เกิดการคืนกลับแร่ธาตุ เช่นเดียวกับกลไกของ SDF ที่มีฟลูออไรด์ แล้วทำปฏิกิริยากับไฮดรอกซีอะพาไทต์เกิดเป็น CaF₂ (Duffin, 2012; Zhao et al., 2017)

จากลักษณะของคอลลาเจนที่เกิดการเปลี่ยนแปลงจากโครงสร้างที่ถูกทำลายจากฟันผุย่อมมีผลต่ออัตราส่วนของคาร์บอนอันเป็นธาตุประกอบหลักในคอลลาเจน การศึกษานี้พบอัตราส่วนของคอลลาเจนในกลุ่มฟันผุที่ทา SDF และ AgNO₃ สูงขึ้นอย่างชัดเจน แต่ก็ยังไม่มีการศึกษาเปรียบเทียบอัตราส่วนคาร์บอนในฟันผุหยุดยั้งหลังการทา SDF และ AgNO₃ มาก่อน อาจเป็นผลมาจากกลไกการทำงานของสารทั้ง 2 ชนิด ที่ทำให้คอลลาเจนมีคุณสมบัติที่ดีขึ้น สัดส่วนของคาร์บอนจึงเพิ่มขึ้น ส่วนในเนื้อฟันน้ำนมปกติหลังทาสารทั้ง 2 ชนิด พบอัตราส่วนของคาร์บอนที่ต่ำลง อาจเนื่องมาจากคอลลาเจนที่สมบูรณ์ในเนื้อฟันปกติไม่ได้เกิดการเปลี่ยนแปลงหลังการทาสารมากนักเมื่อพิจารณา ร่วมกับการเพิ่มแร่ธาตุชนิดอื่นบนพื้นผิว ทำให้อัตราส่วนคาร์บอนต่ำลง (J.J.-Y. et al., 2012; May et al., 2014; May et al., 2013; May et al., 2012; Mei et al., 2014; Zhao et al., 2017) จึงเป็นที่น่าสังเกตว่าการทำงานของ SDF จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของคอลลาเจนเป็นสำคัญ การศึกษาในครั้งนี้ได้ออกแบบการศึกษาให้ไม่เกิดการคืนกลับแร่ธาตุจากสิ่งแวดล้อม แต่ก็พบลักษณะของรอยโรคฟันผุหลังการทา SDF ในกลุ่มที่ 5 มีลักษณะแตกต่างกับฟันผุ และมีความใกล้เคียงกับเนื้อฟันปกติที่ทา SDF ทั้งในแง่ของฟันผุที่เรียบมากขึ้น ลักษณะของ dentinal tubule ที่เล็กลง และมีการตกตะกอนของผลึกบริเวณพื้นผิวอย่างหนาแน่น จากการศึกษาของ Chu et al. (2011) พบว่าเนื้อฟันที่ทา SDF สามารถ

ต้านทานต่อกรดจากแบคทีเรียก่อโรคฟันผุได้ดี และรอยโรคฟันผุจำลองที่เกิดขึ้นบนเนื้อฟันหลังจากการทำ SDF แม้มีการละลายเพิ่มเติมน้อยกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ทำสารใด

ผลการศึกษาที่ร่วมกับผลการศึกษาที่ผ่านมาแนะนำได้ว่าเนื้อฟันผุที่เปลี่ยนสีจากการทำ SDF มีความทนต่อการบุกรุก รวมทั้งไม่มีความจำเป็นในการกำจัดชั้นสีดำก่อนการบูรณะ ความเรียบที่เกิดขึ้นจากการตัดแปลงของร่างแหคอลลาเจนและและอัตราส่วนแร่ธาตุที่เพิ่มขึ้น น่าจะมีผลที่ลดต่อการเลือกวัสดุบูรณะที่เชื่อมสมบัติในการเกิดพันธะเคมี (chemical bond) กับเนื้อฟัน เช่น วัสดุกลาสไอโอไอโนเมอร์ซีเมนต์ หรือเรซินคอมโพสิตร่วมกับสารยึดติด (dental adhesive agent) ที่มีส่วนประกอบของสารที่ทำให้เกิดพันธะเคมีร่วมกับการยึดอยู่เชิงกลระดับไมโคร (micromechanical retention) เพื่อให้เกิดทั้งความสวยงาม การทำหน้าที และรูปร่างที่ดีขึ้นของรอยโรคฟันผุหุคยั้งหลังการทำ SDF

สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้พบว่าเมื่อทำ SDF และ $AgNO_3$ ลงบนฟันกรามน้ำนมที่ผุในห้องปฏิบัติการ พบว่าในระยะเวลา 7 วัน รอยโรคฟันผุกลายเป็นสีดำ เมื่อพิจารณาจากภาพถ่าย SEM กำลังขยาย 4000 และ 8000 เท่า และการวิเคราะห์อัตราส่วนแร่ธาตุด้วย EDX พบว่ามีลักษณะเป็นรอยโรคฟันผุหุคยั้ง แต่ SDF ให้ผลที่ดีกว่าทั้งจากโครงสร้างพื้นผิวของรอยโรคฟันผุหุคยั้ง และอัตราส่วนฟลูออไรด์ที่สูงกว่า ผลการศึกษาทางห้องปฏิบัติการนี้ สนับสนุนผลการศึกษานี้ ในการแนะนำการใช้ SDF ในการจัดการฟันผุที่ลุกลามในฟันน้ำนม

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น และกลุ่มวิจัยไบโอฟิล์ม คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัย และห้องปฏิบัติการวิจัย คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- AAPD. Policy on Early Childhood Caries (ECC): Classifications, Consequences, and Preventive Strategies. *Pediatr Dent* 2017; 39(6): 59-61.
- Arnold WH, Konopka S, Kriwalsky MS, Gaengler P. Morphological analysis and chemical content of natural dentin carious lesion zones. *Ann Anat* 2003; 185(5): 419-24.
- Chu CH, Gao SS, Li SK, Wong MC, Lo EC. The effectiveness of the biannual application of silver nitrate solution followed by sodium fluoride varnish in arresting early childhood caries in preschool children: study protocol for a randomised controlled trial. *Trials* 2015; 16: 426.
- Chu CH, Lo EC. Promoting caries arrest in children with silver diamine fluoride: a review. *Oral Health Prev Dent* 2008; 6(4): 315-21.
- Chu CH, Mei L, Seneviratne CJ, Lo EC. Effects of silver diamine fluoride on dentine carious lesions induced by *Streptococcus mutans* and *Actinomyces naeslundii* biofilms. *Int J Paediatr Dent* 2012; 22(1): 2-10.
- Duffin S. Back to the future: the medical management of caries introduction. *J Calif Dent Assoc* 2012; 40(11): 852-8.
- Featherstone J. Dental caries: a dynamic disease process. *Australian Dental Journal* 2008; 53: 286-91.

- Fung MH, Wong MC, Lo EC, Chu C. Arresting Early Childhood Caries with Silver Diamine Fluoride- A Literature Review. *Oral Hyg Health* 2013; 1(3).
- Gonzalez-Cabezas C. The chemistry of caries: remineralization and demineralization events with direct clinical relevance. *Dent Clin North Am* 2010; 54(3): 469-78.
- Ingram GS, Silverstone LM. A chemical and histological study of artificial caries in human dental enamel in vitro. *Caries Res* 1981; 15(5): 393-8.
- J.J.-Y. Peng, M.G. Botelho, J.P. Matinlinna. Silver compounds used in dentistry for caries management: A review. *Journal of Dentistry* 2012; 40: 531-41.
- Lou YL, Botelho MG, Darvell BW. Reaction of silver diamine fluoride with hydroxyapatite and protein. *J Dent* 2011; 39(9): 612-8.
- May L, Mei L, Ito, Y, Cao, et al. Inhibitory effect of silver diamine fluoride on dentine demineralisation and collagen degradation. *Journal of Dentistry* 2013; 41: 809 - 817.
- May L, Mei L, Ito, Y, Cao, et al. An ex vivo study of arrested primary teeth caries with silver diamine fluoride therapy. *Journal of Dentistry* 2014; 42: 395-402.
- May L. Meia, Q.L. Li b, C.H. Chua, Cynthia K. Y. Yiu, Edward C.M. Lo. The inhibitory effects of silver diamine fluoride at different concentrations on matrix metalloproteinases. *Dental Materials* 2012; 28: 903-08.
- Meesuk K. Effectiveness of Silver Diamine Fluoride in Arresting Dentine Caries and Oral Bacterial Count in Children with Heart Disease [Master Thesis in Pediatric Dentistry]. Khon Kaen: The Graduate School, Khon Kaen University; 2016. [in Thai].
- Mei ML, Ito L, Cao Y, et al. The inhibitory effects of silver diamine fluorides on cysteine cathepsins. *J Dent* 2014; 42(3): 329-35.
- Ng MW, Chase I. Early childhood caries: risk-based disease prevention and management. *Dent Clin North Am* 2013; 57(1): 1-16.
- Nishino M, Yoshida S, Sobue S, Kato J, Nishida M. Effect of topically applied ammoniacal silver fluoride on dental caries in children. *J Osaka Univ Dent Sch* 1969; 9: 149-55.
- Rosenblatt A, Stamford TC, Niederman R. Silver diamine fluoride: a caries "silver-fluoride bullet". *J Dent Res* 2009; 88(2): 116-25.
- Vachirarojpisan T. SDF for Thai children ทางเลือกในการควบคุมฟันผุ. Bangkok: <http://www.vrpdent.com/images/SDF%2009-2012%20.Final.pdf>; 2012.
- Wongsupa P, Tianviwat S, Hintao J. Silver diamine fluoride for arresting dental caries in deciduous teeth. *CU Dent J* 2014; 37: 371-80.
- Wongsupa P, Tianviwat S, Hintao J, Thippanya P. Effectiveness of Silver Diamine Fluoride for Arresting Dental Caries in Primary Teeth - Optimal Frequency of Application: a Randomized Controlled Trial with 12-month Results. *J Dent Assoc Thai* 2014; 64(3): 159-71.
- Zhao IS, Gao SS, Hiraishi N, et al. Mechanisms of silver diamine fluoride on arresting caries: a literature review. *Int Dent J* 2017.