ผลของยาเพี่ยนจือหวังต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล

หฤษฎ์ ฐิติภูมิเดชา* จารุมา ศักดิ์ดี**

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาผลของยาเพี่ยนจือหวังต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล

วิธีการศึกษา: นำเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลมาเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดดีเอ็มอีเอ็ม จากนั้นนำขวดแก้วเลี้ยงเซลล์ที่มีเซลล์เต็มพื้นที่มาทำการถ่ายเซลล์ลงถาดเลี้ยงเซลล์ขนาด 12 หลุม จำนวนชนิดเซลล์ละ 24 หลุม ใส่ยาเพี่ยนจือหวังที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเซลล์ที่ไม่ใส่ยาเพี่ยนจือหวัง จำนวนชนิดเซลล์ละ 12 หลุม เลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 7 วัน วัดความมีชีวิตของเซลล์ด้วยการใส่สารละลายเอ็มทีที วัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของจำนวนเซลล์ที่ได้รับและไม่ได้รับยาเพี่ยนจือหวัง ด้วยสถิติ t-test ที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$

ผลการศึกษา: เซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลที่ได้รับยาเพี่ยนจือหวังมีค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าเซลล์ที่ไม่ได้รับยาเพี่ยนจือหวัง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สรุป: ยาเพี่ยนจือหวังความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรมีผลช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล

คำสำคัญ: เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล เซลล์ไฟโบรบลาสต์ ยาเพี่ยนจือหวัง

**หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาทันตกรรมคลินิก (วิทยาเอ็นโดดอนต์) คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เลขที่ 114 สุขุมวิท 23 เขตวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10110*

***ภาควิชาทันตกรรมอนุรักษ์และทันตกรรมประดิษฐ์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เลขที่ 114 สุขุมวิท 23 เขตวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10110*

The Effect of Pien Tze Huang on Fibroblast and Mesenchymal Stem Cells

Harit Thitipumdacha* Jaruma Sakdee**

Abstract

Objective: To determine effect of Pien Tze Huang on fibroblast and mesenchymal stem cell differentiation.

Methods: Fibroblast and mesenchymal stem cells were cultivated in the DMEM. The cells were seeded into a 12-well plate, and each group were seeded into 24 wells. They included 100 µg/ml of Pien Tze Huang in a 12-well plate of experimental groups and without Pien Tze Huang in 12-well plate of control groups. After seven days of culture, cell proliferation was determined by MTT method with absorbance at 550 nm. The statistical comparisons were performed using a t-test and with a statistical significance of $p < 0.05$.

Results: The optical density of fibroblast cells and mesenchymal cells in Pien Tze Huang were significantly higher than those of cells without Pien Tze Huang.

Conclusion: Pien Tze Huang 100 microgram/ml can promote proliferation of fibroblast and mesenchymal stem cell.

Keyword: Mesenchymal stem cell, Fibroblast, Pien Tze Huang.

**Master of Science Program in Clinical Dentistry (Endodontics), Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University, 114 Sukhumvit 23, Wattana, Bangkok 10110, Thailand.*

***Department of Conservative Dentistry and Prosthodontics, Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University, 114 Sukhumvit 23,, Wattana, Bangkok 10110 Thailand.*

บทนำ (Introduction)

การผ่าตัดปลายรากฟันเป็นการรักษาฟันที่ได้รับการรักษารากฟันแล้วเกิดการติดเชื้อซ้ำ มักทำในกรณีที่ไม่สามารถทำการรักษารากฟันซ้ำได้เช่น ฟันที่มีการทำครอบฟัน เดือยฟันและเสี่ยงต่อการรื้อเดือยหรือครอบฟันออก การผ่าตัดปลายรากฟันมีโอกาสสำเร็จสูงสุดถึงร้อยละ 93 (1) จึงถือว่าเป็นทางเลือกที่ดีในการรักษาฟันที่เคยรักษารากฟันและมีการติดเชื้อซ้ำ

เซลล์ไฟโบรบลาสต์ (fibroblast) มีบทบาทในการหายของแผลโดยเป็นเซลล์ที่กระตุ้นให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อแกรนูเลชัน รวมไปถึงสร้างองค์ประกอบของเนื้อเยื่อใหม่ นอกจากนี้การผ่าตัดปลายรากจะมีการสูญเสียของกระดูกซึ่งเซลล์สร้างกระดูกจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างมาจากเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล (mesenchymal stem cell) มีหน้าที่สร้างเนื้อกระดูก (bone matrix) และทำให้เกิดการสะสมแร่ธาตุของเนื้อกระดูกทำให้กลายเป็นกระดูกที่สมบูรณ์ (2) เซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลจึงมีบทบาทสำคัญในการหายของแผลภายหลังจากผ่าตัดปลายราก

ยาเพี่ยนจือหวังเป็นยาจีนแผนโบราณ มีส่วนประกอบเช่นโสมซานชี โคโรค ชะมดเชียง และดีงู (3) มีการศึกษาคุณสมบัติของโสมซานชีพบว่ามีคุณสมบัติในหลายด้านเช่น ป้องกันโรคสมองขาดเลือด ช่วยในการรักษาโรคหลอดเลือดและหัวใจ ช่วยในการแข็งตัวของเลือด ช่วยในการปกป้องตับและไต ทำหน้าที่เหมือนฮอร์โมนเอสโตเจน เป็นต้น (4) นอกจากนี้โสมซานชียังมีคุณสมบัติช่วยส่งเสริมการหายของแผล โดยมีการศึกษาพบว่าโสมซานชีช่วยให้เกิดการสร้างหลอดเลือดได้มากขึ้น (5-6) ช่วยให้เกิดการหายของเส้นเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าโดยช่วยให้เซลล์ไฟโบรบลาสต์เพิ่มจำนวนได้เร็วขึ้น (7) ช่วยลดการอักเสบ (8) และช่วยให้เกิดการสร้างกระดูกเร็วขึ้นผ่านการกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ต้นกำเนิดไปเป็นเซลล์สร้างกระดูก (9-10)

ยาเพี่ยนจือหวังมีคุณสมบัติในการลดการอักเสบ ลดอาการบวม ช่วยในการหายของแผล มีการศึกษาผลการลดการอักเสบของยาเพี่ยนจือหวัง พบว่าส่วนประกอบของยาเพี่ยนจือหวังมีคุณสมบัติในการลดการอักเสบ (3) และมีการศึกษาผลของยาเพี่ยนจือหวังต่อการลดการอักเสบในหนูพบว่ามีผลช่วยลดการอักเสบผ่านการลดการหลั่งสารสื่อประสาทอักเสบ (11)

การศึกษานี้จึงต้องการหาผลของยาเพี่ยนจือหวังต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีความสำคัญในกระบวนการหายของแผลโดยศึกษาผลของยาต่อการเพิ่มจำนวน และการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล โดยใช้ความเข้มข้นของยาเพี่ยนจือหวัง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ (Materials and Methods)

การเพาะเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล

นำเซลล์ไลน์ของเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากเหงือกของหนูซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาโอษฐวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลจากไขกระดูกมนุษย์ (A15652 StemPro™, USA) มาเลี้ยงในขวดแก้วเลี้ยงเซลล์ขนาด 25 มิลลิลิตร (T-25) ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดดีเอ็มอีเอ็ม (Dulbecco's Modified Eagle Medium: DMEM) (GE Healthcare HyClone™Cell Culture Co,USA) ที่มีส่วนผสมของซีรัมจากลูกวัวอ่อนร้อยละ 10 (10% fetal calf serum) (Gibco™, USA) ยาปฏิชีวนะ (100 U/ml penicillin) และยาต้านเชื้อรา (100 mg/ml streptomycin) (Gibco™, USA) เลี้ยงเซลล์ในตู้อบ (Thermo Scientific™,USA) ที่มีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อทุก 3 วัน เลี้ยงเซลล์จนกระทั่งเซลล์เจริญเต็มพื้นที่ของขวดแก้วเลี้ยงเซลล์ (confluence) ประเมินว่าเซลล์เจริญเต็มพื้นที่ของขวดแก้วด้วยการส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Motic, USA) แล้วพบว่าไม่มีพื้นที่เหลือว่างให้เซลล์เจริญเติบโต ซึ่งเซลล์ไฟโบรบลาสต์ใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงเซลล์ประมาณ 7 วันจึงจะเจริญเต็มพื้นที่ของขวดแก้ว และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงเซลล์ประมาณ 14 วันจึงจะเจริญเต็มพื้นที่ของขวดแก้ว

การเตรียมยาเพี่ยนจือหวัง

นำยาเพี่ยนจือหวัง (เวชพงศ์โอสถ, ประเทศไทย) ที่บดเป็นผงมาละลายในสารละลายพีบีเอส (phosphate buffer saline, PBS) ผสมยาเพี่ยนจือหวังกับอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดดีเอ็มอีเอ็มจนได้ความเข้มข้นของยาเพี่ยนจือหวัง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

การวัดการเพิ่มจำนวนของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล

นำขวดแก้วเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลที่มีเซลล์เจริญเต็มพื้นที่ (confluence) มาทำการถ่ายเซลล์ลงถาดเลี้ยงเซลล์ขนาด 12 หลุม (12-well plate) โดยใช้ 0.25% ทริปซิน-อีดีทีเอ (trypsin-EDTA) ถ่ายเซลล์ลงสู่ถาดเลี้ยงเซลล์ขนาด 12 หลุมจำนวนชนิดเซลล์ละ 12 หลุม แต่ละหลุมมีความหนาแน่นของเซลล์ 10,000 เซลล์ เลี้ยงเซลล์ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดดีเอ็มอีที่ผสมยาเพี่ยนจือหวังที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวนชนิดเซลล์ละ 6 หลุม เซลล์ที่เหลือเป็นกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ไม่ใส่ยาเพี่ยนจือหวัง

เลี้ยงเซลล์ในตู้อบที่มีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 7 วัน โดยเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุก 3 วัน เมื่อครบ 7 วัน นำขวดแก้วเลี้ยงเซลล์ออกจากตู้อบ ใส่สารละลายเอ็มทีที (MTT) (Amresco, USA) และนำขวดแก้วเลี้ยงเซลล์ใส่ในตู้อบ 4 ชั่วโมง จากนั้นใส่สารละลายดีเอ็มเอสโอ (dimethyl sulfoxide, DMSO) จากนั้นดูดสารละลายจากถาดเลี้ยงเซลล์ขนาด 12 หลุมใส่ในถาดเลี้ยงเซลล์ขนาด 96 หลุม (96-well plate) โดยสารละลายจากถาดเลี้ยงเซลล์ 12 หลุม 1 หลุมจะถูกดูดไปใส่ในถาดเลี้ยงเซลล์ 96 หลุมจำนวน 5 หลุม จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density, OD) ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer, Shimadzu Japan)

การดูรูปร่างของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล

นำขวดแก้วเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลที่มีเซลล์เต็มพื้นที่มาทำการถ่ายเซลล์ลงขวดแก้วเลี้ยงเซลล์ใหม่ โดยใช้ทริปซิน-อีดีทีเอโดยแบ่งเซลล์เป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มที่มีการใส่ยาเพี่ยนจือหวังและกลุ่มที่ไม่ใส่ยาเพี่ยนจือหวัง เลี้ยงเซลล์ในตู้อบที่มีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อทุก 3 วัน เลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 7 วัน โดยนำเซลล์มาดูรูปร่างด้วยกล้องจุลทรรศน์ด้วยกำลังขยาย 100x ในวันที่ 7

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลที่ได้รับและไม่ได้รับยาเพี่ยนจือหวัง ด้วยสถิติ t-test ที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$ ด้วยโปรแกรม SPSS และวิเคราะห์รูปร่างของเซลล์ด้วยการวิเคราะห์เชิงพรรณนา

ผลการทดลอง (Results)

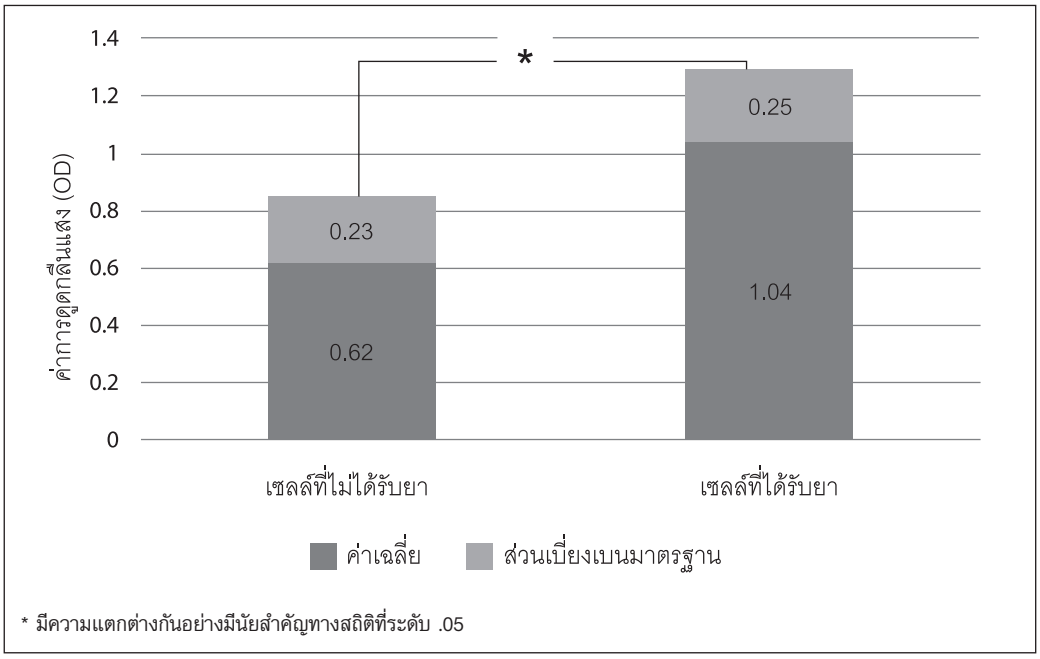
ผลของยาเพี่ยนจือหวังต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ไฟโบรบลาสต์

ภายหลังจากเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์โดยแบ่งเป็นกลุ่มที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์เพียงอย่างเดียวและกลุ่มที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มียาเพี่ยนจือหวังความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 7 วัน นำไปวัดจำนวนเซลล์ด้วยสารละลายเอ็มทีทีพบว่าเซลล์ที่เลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีการใส่ยาเพี่ยนจือหวังมีค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 1.04 ซึ่งมากกว่าเซลล์ในกลุ่มที่มีอาหารเลี้ยงเซลล์เพียงอย่างเดียวที่มีค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.62 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$ (ตาราง 1 และ รูปที่ 1) แสดงว่าเซลล์ที่ได้รับยาเพี่ยนจือหวังมีการเพิ่มจำนวนมากกว่าเซลล์ที่ไม่ได้รับยา

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบจำนวนเซลล์ไฟโบรบลาสต์

Table 1. Proliferative effects of Pien Tze Huang on fibroblast.

กลุ่มตัวอย่าง	ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (OD)	p-value
เซลล์ที่ไม่ได้รับยา	0.62 ± 0.23	0.05
เซลล์ที่ได้รับยาเพี่ยนจือหวัง	1.04 ± 0.25	0.05

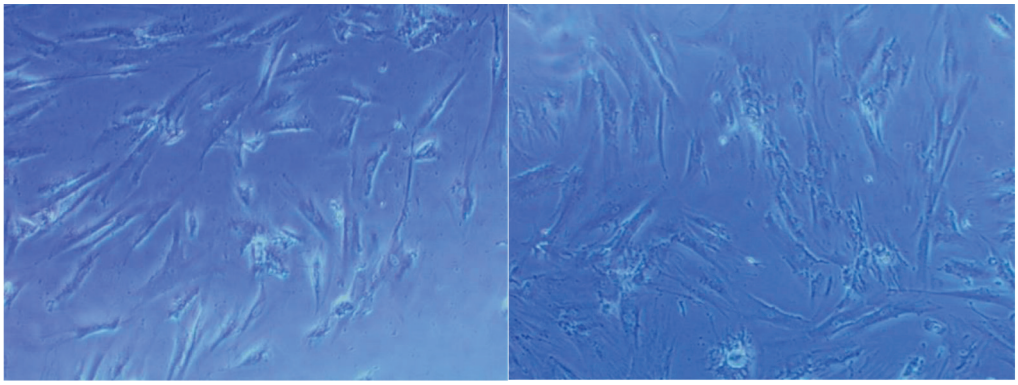


รูปที่ 1 ผลของยาเพี่ยนจือหวังต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์

Fig. 1 Proliferative effects of Pien Tze Huang on fibroblast.

ผลของยาเพี่ยนจือหวังต่อลักษณะของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล

ภายหลังจากเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลโดยแบ่งเป็นกลุ่มที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์เพียงอย่างเดียวและกลุ่มที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มียาเพี่ยนจือหวังความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 7 วัน นำไปส่องดูลักษณะของเซลล์ทั้ง 2 กลุ่มด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าเซลล์ที่มียาเพี่ยนจือหวังมีลักษณะของเซลล์เหมือนกับเซลล์ในกลุ่มที่ไม่ได้รับยาเพี่ยนจือหวังคือ มีลักษณะเป็นรูปกระสวยขนาดยาว (spindle-shaped) กระจายอยู่ในถาดเลี้ยงเซลล์ โดยเซลล์ที่ได้รับยาเพี่ยนจือหวังมีความหนาแน่นของเซลล์มากกว่า ขนาดของเซลล์ทั้งสองกลุ่มมีขนาดใกล้เคียงกัน (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 ภาพเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลจากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100x
ซ้าย เซลล์ที่ไม่ได้รับยาเพี่ยนจือหวัง
ขวา เซลล์ที่ได้รับยาเพี่ยนจือหวัง

Fig. 2 Mesenchymal stem cell from microscope 100 magnifying power.
Left: Cells without Pien Tze Huang
Right: Cells with Pien Tze Huang

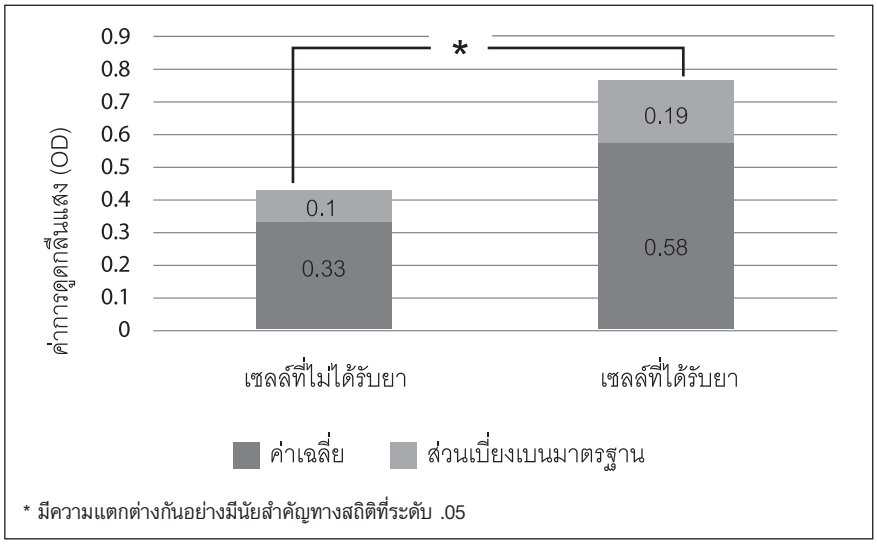
ผลของยาเพี่ยนจือหวังต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล

ภายหลังจากเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลโดยแบ่งเป็นกลุ่มที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์เพียงอย่างเดียวและกลุ่มที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มียาเพี่ยนจือหวังความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 7 วัน นำไปวัดจำนวนเซลล์ด้วยสารละลายเอ็มทีที พบว่าเซลล์ที่เลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีการใส่ยาเพี่ยนจือหวังมีค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.58 ซึ่งมากกว่าเซลล์ในกลุ่มที่มีอาหารเลี้ยงเซลล์เพียงอย่างเดียวที่มีค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.33 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$ (ตาราง 2 และ รูปที่ 3) แสดงว่าเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลที่ได้รับยาเพี่ยนจือหวังมีการเพิ่มจำนวนมากกว่าเซลล์ที่ไม่ได้รับยา

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบจำนวนเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล

Table 2. Proliferative effects of Pien Tze Huang on mesenchymal stem cell.

กลุ่มตัวอย่าง	ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย + ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (OD)	p-value
เซลล์ที่ไม่ได้รับยา	0.33 + 0.10	0.05
เซลล์ที่ได้รับยาเพี่ยนจือหวัง	0.58 + 0.19	0.05



รูปที่ 3 ผลของยาเพี่ยนจือหวังต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล
Fig. 3 Proliferative effects of Pien Tze Huang on mesenchymal stem cell.

บทวิจารณ์ (Discussion)

ยาเพี่ยนจือหวังเป็นยาจีนแผนโบราณที่มีส่วนประกอบที่สำคัญได้แก่ โสมซานชี โคโรค ชะมดเชียง และดีงู โดยมีสรรพคุณในการลดการอักเสบและช่วยในการหายของแผล (3) โดยการศึกษานี้วัดจำนวนของเซลล์ที่ได้รับยาเพี่ยนจือหวังด้วยการทดสอบเอ็มทีที โดยเซลล์ที่มีชีวิตจะเปลี่ยนสารเอ็มทีทีให้กลายเป็นสารฟอร์มาซาน ซึ่งเมื่อสกัดสารฟอร์มาซานออกมานอกเซลล์ด้วยสารละลายดีเอ็มเอสโอ สารฟอร์มาซานจะมีสีม่วงซึ่งเมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนของแสงจะทำให้สามารถเปรียบเทียบจำนวนของเซลล์ที่มีชีวิตได้ การทดสอบเอ็มทีทีถือว่าเป็นการทดสอบความมีชีวิตของเซลล์ที่มีข้อดีคือสามารถทำได้อย่างรวดเร็ว ได้ผลที่แม่นยำ ปลอดภัยจากการกัมมันตรังสี และสามารถใช้ทดสอบกับเซลล์ได้หลายชนิดเช่น ทีเซลล์ บีเซลล์ เซลล์มะเร็ง เป็นต้น (12) การศึกษาครั้งนี้พบว่าเมื่อทดสอบเอ็มทีทีกับเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลที่ได้รับยาเพี่ยนจือหวังพบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงที่มากกว่าเซลล์ที่ไม่ได้รับยาเพี่ยนจือหวัง แสดงว่ายาเพี่ยนจือหวังส่งผลให้เซลล์มีการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Yu และคณะ ปี 2015 (7) ซึ่งทำการศึกษาคุณสมบัติของโสมซานชีต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ พบว่าเซลล์ไฟโบรลาสต์ที่ได้รับโสมซานชีมีการเจริญเติบโตที่มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญ และยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Li และคณะ ปี 2011 (9) ซึ่งทำการศึกษาคุณสมบัติของโสมซานชีต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูก พบว่าโสมซานชีที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของเซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูกได้อย่างมีนัยสำคัญ

การศึกษานี้เลือกใช้ความเข้มข้นของยาเพี่ยนจือหวัง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร เนื่องจากการศึกษาของ Li และคณะ ปี 2011 (9) พบว่าโสมซานชีที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นความเข้มข้นที่สูงที่สุดที่ช่วยให้เซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูกมีการเจริญเติบโตมากขึ้น โดยเมื่อใช้โสมซานชีที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรพบว่าโสมซานชีจะยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูก เช่นเดียวกับการศึกษาของ Zheng และคณะ ปี 2013 (6) ที่ใช้โสมซานชีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรในการทดสอบผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูกของหนู และพบว่าเมื่อใช้โสมซานชีที่ความเข้มข้น 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

จะส่งผลลดการเจริญเติบโตของเซลล์ต้นกำเนิด อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้ใช้ยาเพี่ยนจือหวังความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลิลิตรซึ่งมีปริมาณของโสมซานชีไม่ถึง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในการศึกษาครั้งต่อไปจึงอาจทดลองเพิ่มความเข้มข้นของยาเพี่ยนจือหวังที่ใช้ในการทดสอบได้

การศึกษานี้เลือกทดสอบเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลเนื่องจากเซลล์ทั้ง 2 ชนิดมีบทบาทในการหายของแผลโดยเซลล์ไฟโบรบลาสต์เป็นเซลล์ที่มีบทบาทในกระบวนการหายของแผล 3 ขั้นตอน ได้แก่ ระยะการอักเสบ ระยะการเพิ่มจำนวนเซลล์ และ ระยะการจัดรูปแบบของเนื้อเยื่อใหม่ โดยไฟโบรบลาสต์จะเริ่มเข้ามาบริเวณแผลในช่วงท้ายของระยะการอักเสบ ไฟโบรบลาสต์จะเข้ามาสลายลิ่มเลือด (fibrin clot) โดยใช้เอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรตีนเนส (matrix metalloproteinases) จากนั้นจะเกิดการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเอกซ์ตราเซลลูลาร์เมทริกซ์ (extracellular matrix, ECM) ขึ้นมาใหม่ ซึ่งเมทริกซ์นี้จะมีหน้าที่สนับสนุนและส่งสัญญาณให้เกิดการสร้างหลอดเลือดขึ้นใหม่ เกิดการสร้างเนื้อเยื่อแกรนูเลชัน รวมถึงกระบวนการสร้างเนื้อเยื่อบุผิวใหม่ และในขั้นตอนการหดตัวของบาดแผล ไฟโบรบลาสต์จะทำให้เกิดแรงหดตัวดึงขอบของบาดแผลเข้าหากัน โดยไฟโบรบลาสต์จะยึดติดกับเส้นใยคอลลาเจนและเซลล์ในเอกซ์ตราเซลลูลาร์เมทริกซ์ ทำให้เกิดแรงดึงเข้าหากัน เซลล์ไฟโบรบลาสต์จะเริ่มเปลี่ยนเป็นเซลล์ไมโอไฟโบรบลาสต์ ซึ่งทำให้เกิดแรงดึงได้มากขึ้น จนทำให้บาดแผลสามารถปิดกันได้สนิท (13-15) ซึ่งจากการศึกษานี้พบว่ายาเพี่ยนจือหวังสามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของหนูซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Zhang และคณะ ปี 2016 (16) ที่ทำการทดสอบสารสกัดจากโสมซานชีกับหนูที่เป็นเบาหวานพบว่าสารสกัดจากโสมสามารถช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ได้

เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล เป็นเซลล์ที่มีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ชนิดอื่นเช่น เซลล์เม็ดเลือด เซลล์ไขมัน เซลล์สร้างกระดูก เซลล์สร้างกระดูกอ่อน เซลล์กล้ามเนื้อ เซลล์ประสาท เป็นต้น (17) ซึ่งเซลล์เหล่านี้ต่างมีบทบาทในการซ่อมแซมร่างกายขณะเกิดแผลเช่น การสร้างหลอดเลือดใหม่ การสร้างกระดูกทดแทนโดยเซลล์สร้างกระดูก เป็นต้น จากการศึกษาของ Wu และคณะ ปี 2007 (18) ได้ทำการกรีดแผลบนตัวหนู จากนั้นทำการฉีดเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลจากไขกระดูกให้กับหนู จากนั้นสังเกตการปิดของแผลพบว่าหนูที่ได้รับเซลล์ต้นกำเนิดมีการปิดของแผลที่รวดเร็วกว่า มีการจัดรูปแบบของเนื้อเยื่อใหม่ที่รวดเร็วกว่าและมีการสร้างหลอดเลือดใหม่ที่มากกว่าหนูที่ไม่ได้รับเซลล์ต้นกำเนิด นอกจากนี้ในขณะที่เกิดกระบวนการหายของแผล สภาวะที่เกิดขึ้นบริเวณแผลจะทำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลจากไขกระดูกมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้นและกระตุ้นให้เกิดการสร้างหลอดเลือดมากขึ้น (19) ดังนั้นเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลจึงถือว่ามีบทบาทสำคัญต่อการหายของแผล ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับจากการศึกษาของ Zheng และคณะ ปี 2013 (6) พบว่าโสมซานชีที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรจะมีผลให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลจากไขกระดูกหนูมีการเพิ่มจำนวนเพิ่มมากขึ้น และนอกจากนี้ยังช่วยกระตุ้นให้เกิดการการสร้างหลอดเลือดเพิ่มมากขึ้น

การผ่าตัดปลายรากฟันเป็นกระบวนการรักษาที่มีการสูญเสียกระดูกร่วมด้วย การหายของแผลต้องมีการสร้างกระดูกทดแทนบริเวณที่สูญเสียกระดูกไป โดยการหายของแผลบริเวณปลายรากฟันจะเริ่มจากการมีเนื้อเยื่อแกรนูเลชันซึ่งสร้างมาจากเอ็นยึดปริทันต์และเอ็นโดสเทียม (endosteum) การสร้างกระดูกจะเริ่มจากกระดูกบริเวณข้างในและค่อย ๆ ขยายไปสู่กระดูกทึบ (cortical plate) เซลล์สร้างกระดูกจึงมีบทบาทเป็นอย่างมากต่อการหายของแผล ซึ่งเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์สร้างกระดูกได้ นอกจากนี้เซลล์ต้นกำเนิดจากเอ็นยึดปริทันต์จะเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และเซลล์สร้างเคลือบรากฟัน (cementoblast) เพื่อสร้างเอ็นยึดปริทันต์และเคลือบรากฟันขึ้นมาใหม่ จากการศึกษาของ Wang และคณะ ปี 2016 (10) พบว่า

โสมชานชี มีคุณสมบัติกระตุ้นให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลของกระต่ายเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์สร้างกระดูกได้เพิ่มมากขึ้นผ่านการกระตุ้นการสร้างทรานฟอร์มมิงโกรทแฟคเตอร์เบต้า 1 (transforming growth factor beta, TGF-β_1) และจากการศึกษาของ Li และคณะ ปี 2011 (9) พบว่าโสมชานชีส่งเสริมให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลของหนูเปลี่ยนไปเป็นเซลล์สร้างกระดูกโดยวัดจากการสร้างเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส และการสร้างผลึกแข็งของเซลล์ ซึ่งแสดงว่าโสมชานชีมีโอกาสที่จะช่วยให้เกิดการสร้างกระดูกบริเวณแผลผ่าตัดปลายรากหายได้รวดเร็วยิ่งขึ้น

การศึกษาครั้งนี้พบว่ายาเพี่ยนจือหวังส่งผลเพิ่มการเจริญเติบโตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล ซึ่งเซลล์ทั้งสองชนิดต่างมีบทบาทในการหายของแผล ยาเพี่ยนจือหวังจึงอาจมีคุณสมบัติช่วยในการหายของแผลสำหรับผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาผ่าตัดปลายรากฟัน อย่างไรก็ตามเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลมีคุณสมบัติในการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ได้หลากหลายชนิด การศึกษานี้จึงยังไม่สามารถแสดงข้อสรุปได้ชัดเจนถึงประโยชน์ของการใช้ยาเพี่ยนจือหวังในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาผ่าตัดปลายรากฟัน การศึกษาต่อไปอาจจะทำการศึกษาผลของยาเพี่ยนจือหวังต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ต้นกำเนิดไปเป็นเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผลเช่น เซลล์สร้างกระดูกเป็นต้น เพื่อให้ได้ข้อสรุปที่ชัดเจนมากยิ่งขึ้นถึงผลของยาเพี่ยนจือหวังต่อการหายของแผลที่เกิดจากการผ่าตัดปลายราก

บทสรุป (Conclusion)

ยาเพี่ยนจือหวังความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรมีผลช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลได้มากกว่าเซลล์ที่ไม่ได้รับยาเพี่ยนจือหวังอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเปรียบเทียบจากการวัดค่าการดูดกลืนแสง

เอกสารอ้างอิง (References)

1. Chércoles-Ruiz A, Sanchez-Torres A, Gay-Escoda C. Endodontics, endodontic retreatment, and apical surgery versus tooth extraction and implant placement: a systematic review. J Endod. 2017;43(5):679-86.

2. Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. Ann N Y Acad Sci. 2006;1092:385-96.

3. Huang M, Xu W, Zhang Y, Liu J, Zhang X, Lin J, et al. Identification and quantification of the anti-inflammatory constituents in Pian-Tze-Huang by liquid chromatography combined with quadrupole time-of-flight and triple quadrupole mass spectrometry. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2016;1027:27-39.

4. Ng TB. Pharmacological activity of sanchi ginseng (Panax notoginseng). J Pharm Pharmacol. 2006;58(8):1007-19.

5. Shen K, Ji L, Gong C, Ma Y, Yang L, Fan Y, et al. Notoginsenoside Ft1 promotes angiogenesis via HIF-1α mediated VEGF secretion and the regulation of PI3K/AKT and Raf/MEK/ERK signaling pathways. Biochem Pharmacol. 2012;84(6):784-92.

6. Zheng H, Liu C, Ou Y, Zhang Y, Fu X. Total saponins of Panax notoginseng enhance VEGF and relative receptors signals and promote angiogenesis derived from rat bone marrow mesenchymal stem cells. J Ethnopharmacol. 2013;147(3):595-602.

7. Yu L, Xie J, Xin N, Wang Z. Panax notoginseng saponins promote wound repair of anterior cruciate ligament through phosphorylation of PI3K, AKT and ERK. Int J Clin Exp Pathol. 2015;8(1):441-9.

8. Wang S-Y, Tao P, Hu H-Y, Yuan J-Y, Zhao L, Sun B-Y, et al. Effects of initiating time and dosage of Panax notoginseng on mucosal microvascular injury in experimental colitis. World J Gastroenterol. 2017;23(47):8308-20.

9. Li X-d, Wang J-s, Chang B, Chen B, Guo C, Hou G-q, et al. Panax notoginseng saponins promotes proliferation and osteogenic differentiation of rat bone marrow stromal cells. J Ethnopharmacol. 2011;134(2):268-74.

10. Wang Y, Huang X, Tang Y, Lin H, Zhou N. Effects of panax notoginseng saponins on the osteogenic differentiation of rabbit bone mesenchymal stem cells through TGF-β1 signaling pathway. BMC Complement Altern Med. 2016; 16(1): 319. doi: 10.1186/s12906-016-1304-9.

11. Qiu X, Luo H, Liu X, Guo Q, Zheng K, Fan D, et al. Therapeutic Potential of Pien Tze Huang on Experimental Autoimmune Encephalomyelitis Rat. J Immunol Res. 2018; 2018:2952471. doi: 10.1155/2018/2952471.

12. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J. Immunol. Methods. 1983;65(1-2):55-63.

13. Bainbridge P. Wound healing and the role of fibroblasts. J. Wound Care. 2013;22(8):407-8.

14. desJardins-Park HE, Foster DS, Longaker MT. Fibroblasts and wound healing: an update. Regen Med. 2018;13(5):491-5.

15. Zielins ER, Atashroo DA, Maan ZN, Duscher D, Walmsley GG, Hu M, et al. Wound healing: an update. Regen Med. 2014;9(6):817-30.

16. Zhang E, Gao B, Yang L, Wu X, Wang Z. Notoginsenoside Ft1 promotes fibroblast proliferation via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway and benefits wound healing in genetically diabetic mice. J Pharmacol Exp Ther. 2016;356(2):324-32.

17. Lau K, Paus R, Tiede S, Day P, Bayat A. Exploring the role of stem cells in cutaneous wound healing. Exp Dermatol. 2009;18(11):921-33.

18. Wu Y, Chen L, Scott PG, Tredget EE. Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis. Stem cells. 2007;25(10):2648-59.

19. Ko SH, Nauta A, Wong V, Glotzbach J, Gurtner GC, Longaker MT. The role of stem cells in cutaneous wound healing: what do we really know?. Plast Reconstr Surg. 2011;127(Suppl 1): 10S-20S.

ติดต่อบทความ :
ทพ.หฤษฎ์ ฐิติภูมิเดชา
เลขที่ 1879 ถ.อ่อนนุช สวนหลวง กรุงเทพฯ 10250
โทรศัพท์: 085 109 4827
อีเมล์: harit.gun@gmail.com

Corresponding author:
Dr. Harit Thitipumdacha
1879 Onnut road Suanluang Bangkok 10250
Tel: (668) 5109 4827
E-mail: harit.gun@gmail.com

Received Date: Feb 05, 2021
Revised Date: Mar 16, 2021
Accepted Date: Aug 05, 2021