

รายการอ้างอิง

- Aoba T. The effect of fluoride on apatite structure and growth. Crit Rev Oral Biol Med 1997;8:136-53.
- Bornfeldt KE, Raines EW, Graves LM, Skinner MP, Krebs EG, Ross R. Platelet-derived growth factor. Distinct signal transduction pathways associated with migration versus proliferation. Ann N Y Acad Sci 1995 Sep 7;766:416-30.
- Bowen-Pope DF, and Seifert RA. Platelet-derived growth factor in development In : Nilsen-Hamilton M. (ed) Growth factor and signal transduction in development New York : Wiley-Liss, 1994:51-73.
- Briancon D, and Meunier PJ. Treatment of osteoporosis with fluoride, calcium and vitamin D. Orthop Clin North Am 1981;12:629-48.
- Burgener D, Bonjour JP, Caverzasio J. Fluoride increases tyrosine kinase activity in osteoblast-like cells: regulatory role for the stimulation of cell proliferation and Pi transport across the plasma membrane. J Bone Miner Res 1995 Jan;10(1):164-71.
- Cam Y, Neumann MR, Oliver L, Raulais D, Janet T, Ruch JV. Immunolocalization of acidic and basic fibroblast growth factors during mouse odontogenesis. Int J Dev Biol 1992;36:381-89.
- Caverzasio J, Imai T, Ammann P, Burgener D, Bonjour JP. Aluminum potentiates the effect of fluoride on tyrosine phosphorylation and osteoblast replication *in vitro* and bone mass *in vivo*. J Bone Miner Res 1996;11:46-55.
- Caverzasio J, Palmer G, Suzuki A, Bonjour JP. Mechanism of the mitogenic effect of fluoride on osteoblast-like cells: evidences for a G protein-dependent tyrosine phosphorylation process. J Bone Miner Res 1997;71:1249-54.
- Chang YC, and Chou MY. Cytotoxicity of fluoride on human pulp cell cultures *in vitro*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2001 Feb;91(2):230-4.
- Chaproniere DM, and McKeelan WL. Serial culture of single adult human prostate epithelial cells in serum-free medium containing low calcium and a new growth factor from bovine brain. Cancer Res 1986;46:819-24.

- Chen JK, Hoshi H, McKeelan WL. Heparin-binding growth factor on bone remodeling *in vitro*. Clin Invest 1987;79:52-58.
- Ehrnebo M, and Ekstrand J. Occupational fluoride exposure and plasma fluoride levels in man. Int Arch Occup Environ Health 1986;58(3):179-90.
- Farley JR, Wergedal JE, Baylink DJ. Fluoride directly stimulates proliferation and ALP activity of bone forming cells. Science 1983;222:330-2.
- Ferjerskov O, Ekstrand J, Burt BA. Fluoride in dentistry 2nd ed. Copenhagen: Munksgaard, 1996:59.
- Florkiewicz RZ, and Sommer A. Human basic fibroblast growth factor encodes four polypeptides, three initiate from non-AUG codons. Proc Natl Acad USA 1989;86:3979-81.
- Folkman J, and Klagsbrun M. Angiogenic factors. Science 1987;235:442-7.
- Forsten L. Short and long-term fluoride release from glass ionomers and other fluoride containing filling materials *in vitro*. Scand J Dent Res 1990;98:179-85.
- Gospodarowicz D. Purification of a fibroblast growth factor from bovine pituitary. J Biol Chem 1975;250:2515-19.
- Greiling D, and Clark RA. Fibronectin provides a conduit for fibroblast transmigration from collagenous stroma into fibrin clot provisional matrix. J Cell Sci 1997;110:861-70.
- Hansch GM, Wagner C, Burger A, Dong W, Staehler G, Stoeck M. Matrix protein synthesis by glomerular mesangial cells in culture: effects of transforming growth factor beta (TGF beta) and platelet-derived growth factor (PDGF) on fibronectin and collagen type IV mRNA. J Cell Physiol 1995 Jun;163(3):451-7.
- Harnett ME, Garcia CM, D'Amore PA. Release of bFGF, an endothelial cell survival factor, by osmotic shock. Invest Ophthalmol Vis Sci 1999;40:2945-51.
- Hurley MM, Marcello K, Abreu C, Kessler M. Signal transduction by basic fibroblast growth factor in rat osteoblastic Py1a cells. J Bone Miner Res 1996 Sep;11(9):1256-63.
- Imai T, Burgener D, Zhen X, Benjour JP, Caverzasio J. Aluminum potentiates P(i) transport stimulation induced by fluoride in osteoblast-like cells. Am J Physiol 1996 Oct;271(4 Pt 1):E694-701.

- Jeschke M, Standke GJ, Scaronuscarona M. Fluoroaluminate induces activation and association of Src and Pyk2 tyrosine kinases in osteoblastic MC3T3-E1 cells. : J Biol Chem 1998 May 1;273(18):11354-61.
- Kassem M, Mosekilde L, Eriksen EF. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ potentiates fluoride stimulated collagen type I production in cultures of human bone marrow stromal osteoblast-like cells. J Bone Miner Res 1993;8:1453-8.
- Katsuyama S, Ishikawa T, Fujii B. Glass ionomer dental cement. St. Louis : Ishiyaku EuroAmerica Publisher, 1993:53-96.
- Khokher MA, and Dandona P. Fluoride stimulates [3H]thymidine incorporation and alkaline phosphatase production by human osteoblasts. Metabolism 1990 Nov;39(11):1118-21.
- Kleerekoper M. The role of fluoride in the prevention of osteoporosis. Endocrinol Metab Clin North Am 1998 Jun;27(2):441-52.
- Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 1970;227:680-5.
- Lau K-HW, and Baylink DJ. Molecular mechanism of action of fluoride on bone cells. J Bone Miner Res 1998;13:1660-7.
- Lau K-HW, Yoo A, Wang SP. Aluminum stimulates the proliferation and differentiation of osteoblasts *in vitro* by a mechanism that is different from fluoride. Mol Cell Biolchem 1991;105:93-105.
- Lepisto J, Peltonen J, Vaha-Kreula M, Soderstrom K, Niinikoski J, and Laato M. Selective modulation of collagen gene expression by different isoforms of platelet-derived growth factor in experimental wound healing. Cell Tissue Res 1996;286:449-55.
- Leverett DH. Fluorides and the changing prevalence of dental caries. Science 1982;217:26-30.
- Lynch SE, and Giannobile WV. Polypeptide growth factors: Molecular mediators of tissue repair. In Genco R, Hamada S, Lehner T, McGhee J, Mergenhagen S. eds, Molecular pathogenesis of periodontal disease. Washington D.C. : ASM Press, 1994:415-25.

- Lynch SE, Nixon JC, Colvin RB, and Antoniades HN. Role of platelet-derived growth factor in wound healing: synergistic effects with other growth factors. Proc Natl Acad Sci USA 1987;84:7969-8000.
- Lynch SE, Williams RC, Polson AM, Howell TH, Reddy MS, Zappa UE, and Antoniades HN. A combination of platelet-derived and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration. J Clin Periodontol 1989;16:545-8.
- Maciag T, Hoover GA, Stemerman MB, et al. Serial propagation of human endothelial cells *in vitro*. J Cell Biol 1981;91:420-6.
- Mahler M, Ben-Ari Y, Represa A. Differential expression of fibronectin, tenascin-C and NCAMs in cultured hippocampal astrocytes activated by kainate, bacterial lipopolysaccharide or basic fibroblast growth factor. Brain Res 1997 Nov 14;775 (1-2):63-73.
- Martin A, Unda F-J, Begue-Kirn C, Ruch J-V, Arechaga J. Effects of aFGF, bFGF, TGF β 1, and IGF-1 on odontoblast differentiation *in vitro*. Eur J Oral Sci 1998;106(suppl 1):117-21.
- Mergia A, Eddy R, Abraham JA, et al. The genes for basic and acidic fibroblast growth factor: nucleotide sequence and genomic organization. EMBO J 1986;5:2523-28.
- Mitra SB. In vitro fluoride release from a light-cured glass ionomer liner/base. J Dent Res 1991 Jan;70(1):75-78.
- Momoi Y, and McCabe SF. Fluoride release from light-activated glass ionomer restorative cements. Dent Mater 1993 May;9:151-154.
- Montesano R, Vassalli J-D, Baird A, Guillemin R, Orci L. Basic fibroblast growth factor induces angiogenesis *in vitro*. Proc Natl Acad Sci USA 1986;235:442-7.
- Moule AJ and Bartold PM. Donor variability in proliferation of human dental pulp fibroblasts. Australian Dent J 1995;40(2):110-4.
- Murray JJ. Appropriate use of fluorides for human health. World Health Organization. Geneva 1986.
- Nakade O, Koyama H, Arai J, Takada J, Kaku T. Stimulation by low concentration of fluoride of the proliferation and alkaline phosphatase activity of human dental pulp cells *in vitro*. Archs Oral Biol 1999;44:89-92.

- Nakashima M. Establishment of primary cultures of pulp cells from bovine permanent incisors. Archs Oral Biol 1991;36(9):655-63.
- Nakashima M. The effects of growth factors on DNA synthesis, proteoglycan synthesis and alkaline phosphatase activity in bovine dental pulp cells. Archs Oral Biol 1992;37:231-6.
- Newbrun E. Fluorides and dental caries 3rd ed. Springfield Illinois USA: Charles C Thomas, 1986:185.
- Nugent MA, and Iozzo RV. Fibroblast growth factor-2. Int J Biochem Cell Biol 2000 Feb;32(2):115-20.
- Ohta T, Wergedal JE, Matsuyama T, Baylink DJ, Lau K-HW. Phenytoin and fluoride act in concert to stimulate bone formation and to increase bone volume in adult male rats. Calcif Tissue Int 1995;56:390-7.
- Oliveby A, Lagerlof F, Ekstrand J, Dawes C. Influence of flow rate, pH and plasma fluoride concentration on fluoride concentration in human parotid saliva. Archs Oral Biol 1989;34:191-4.
- Oliver MH, Harrison NK, Bishop JE, Cole PJ and Laurent GJ. A rapid and convenient assay for counting cells cultured in microwell plates: application for assessment of growth factors. J Cell Sci 1989;92:513-8.
- Pawluczyk IZ, and Harris KP. Transforming growth factor-beta suppresses macrophage-induced mesangial cell fibronectin expression. Kidney Int 2001 Aug;60(2):533-42.
- Peters KG, Werner S, Chen G, Williams LT. Two FGF receptor genes are differentially expressed in epithelial and mesenchymal tissues during limb formation and organogenesis in the mouse. Development 1992;114:233-43.
- Pierce GF, Mustoe TA, Lingelbach J, Masakowski VR, Griffin GL, Senior RM, and Deuel TF. Platelet-derived growth factor and transforming growth factor-beta enhance tissue repair activities by unique mechanism. J Cell Biol 1989;109:429-40.
- Prats H, Kaghad M, Prats AC, et al. High molecular mass forms of basic fibroblast growth factor are initiated by alternative CUG codons. Proc Natl Acad Sci USA 1989;86:1836-40.

- Raines EW, and Ross R. Platelet-derived growth factor: I. High yield purification and evidence for multiple forms. J Biol Chem 1982;257:5154-60.
- Robinson C, and Kirkham J. The effect of fluoride on the developing mineralized tissue. J Dent Res 1990;69(Spec Iss):685-91.
- Sarkissian M, and Lafyatis R. Transforming growth factor-beta and platelet derived growth factor regulation of fibrillar fibronectin matrix formation by synovial fibroblasts. J Rheumatol 1998 Apr;25(4):613-22.
- Shiba H, Fujita Y, Doi N, Nakamura S, Nakanishi K, Takemoto T, Hino T, Noshiro M, Kawamoto T, Kurihara H, and Kato Y. Differential effects of various growth factors and cytokines on the synthesis of DNA, type I collagen, laminin, fibronectin, osteonectin/secreted protein, acidic and rich in cysteine (SPARC), and alkaline phosphatase by human pulp cells in culture. J Cell Physiol 1998;174:194-205.
- Singer L, and Ophaug RH. Concentrations of ionic, total, and bound fluoride in plasma. Clin Chem 1979 Apr;25(4):523-5.
- Susa M. Heterotrimeric G proteins as fluoride targets in bone (review). Int J Mol Med 1999 Feb;3(2):115-26.
- Tam LE, Chan GP-L, Yim D. *In vitro* caries inhibition effects by conventional and resin-modified glass-ionomer restorations. Operative Dentistry 1997;22:4-14.
- Tanaka H, and Liang CT. Effect of platelet-derived growth factor on DNA synthesis and gene expression in bone marrow stromal cells derived from adult and old rats. J Cell Physiol 1995;164:367-75.
- Thylstrup A, and Fejerskov O. Textbook of cariology. Copenhagen: Munksgaard, 1986:193-194.
- Veron MH, Couble ML, Magloire H. Selective inhibition of collagen synthesis by fluoride in human pulp fibroblasts *in vitro*. Calcif Tissue Int 1993;53:38-44.
- Wang HL, Pappert TD, Castelli WA, Chiego DJ Jr., Shyr Y, and Smith BA. The effect of platelet-derived growth factor on the cellular response of the periodontium : An autoradiographic study on dogs. J Periodontol 1994;65:429-36.

Wergedal JE, Lau K-HW, Baylink DJ. Fluoride and bovine bone extract influence cell proliferation and phosphatase activity in human bone cell cultures. Clin Orthop Rel Res 1988;233:274-82.

Whitford GM. Acute and chronic fluoride toxicity. J Dent Res 1992;71:1249-54.

Yamamura T. Differentiation of pulpal cells and influences of various matrices with reference to pulp wound healing. J Dent Res 1985;64:530-40.

Young WG, Ruch JV, Stevens MR, Begus-Kirn C, Zang ZT, Lesot H, et al. Comparison of the effects of growth hormone, insulin-like growth factor-I and fetal calf serum on mouse molar odontogenesis in vitro. Archs Oral Biol 1995;40(9):789-99.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

การเตรียมสารละลายต่างๆที่ใช้ในการทดลอง

1. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาไลน์ (Phosphate Buffer Saline:PBS pH 7.2) ที่ความเข้มข้น 10X เตรียมโดยนำโซเดียมคลอไรด์ 80 กรัม, โบรเตตเซียมฟอสเฟต 2 กรัม, โบรเตตเซียมคลอไรด์ 2 กรัม และไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 11.5 กรัม มาละลายในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร
2. สารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ (0.01 M Borate Buffer pH 8.4) ที่ความเข้มข้น 10X เตรียมโดยนำกรดบอริก 6.184 กรัม, บอแรก 9.536 กรัม และโซเดียมคลอไรด์ 4.384 กรัม มาละลายในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร
3. สารละลายเลมลีบัฟเฟอร์ (Laemmli Buffer) ที่ความเข้มข้น 1X เตรียมโดยนำน้ำกลั่น 4.6 มิลลิลิตร ผสมกับ 0.5 M Tris-HCl pH 6.8 1 มิลลิลิตร, กลีเซอรอล 0.8 มิลลิลิตร และ 10% โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต 1.6 มิลลิลิตร
4. สารละลายรันนิ่งบัฟเฟอร์ (Running Buffer pH 8.3) ที่ความเข้มข้น 5X เตรียมโดยนำทริสเบส 27 กรัม, ไกลซีน 129.6 กรัม และโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต 9 กรัม มาละลายในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1.8 ลิตร
5. สารละลายทรานสเฟอร์บัฟเฟอร์ (Transfer Buffer) ที่ความเข้มข้น 1X เตรียมโดยนำทริส 3.03 กรัม และไกลซีน 14.4 กรัม มาละลายในเมทานอล 200 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 1 ลิตร
6. สารละลาย 1.5 M Tris-HCl pH 8.8 เตรียมโดยนำทริสเบส 18.15 กรัม มาละลายในน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร แล้วปรับค่า pH ให้เป็น 8.8 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก หลังจากนั้นจึงเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
7. สารละลาย 0.5 M Tris-HCl pH 6.8 เตรียมโดยนำทริสเบส 6 กรัม มาละลายในน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร แล้วปรับค่า pH ให้เป็น 6.8 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก หลังจากนั้นจึงเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

8. สารละลายอะคริลาไมด์/บิส (Acrylamide/Bis) เตรียมโดยนำอะคริลาไมด์ 29.2 กรัม และ N,N'-Methylenebisacrylamide 0.8 กรัม มาละลายในน้ำกลั่นจนมีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร แล้วเก็บในที่มืด (เก็บไว้ในขวดสีชา)

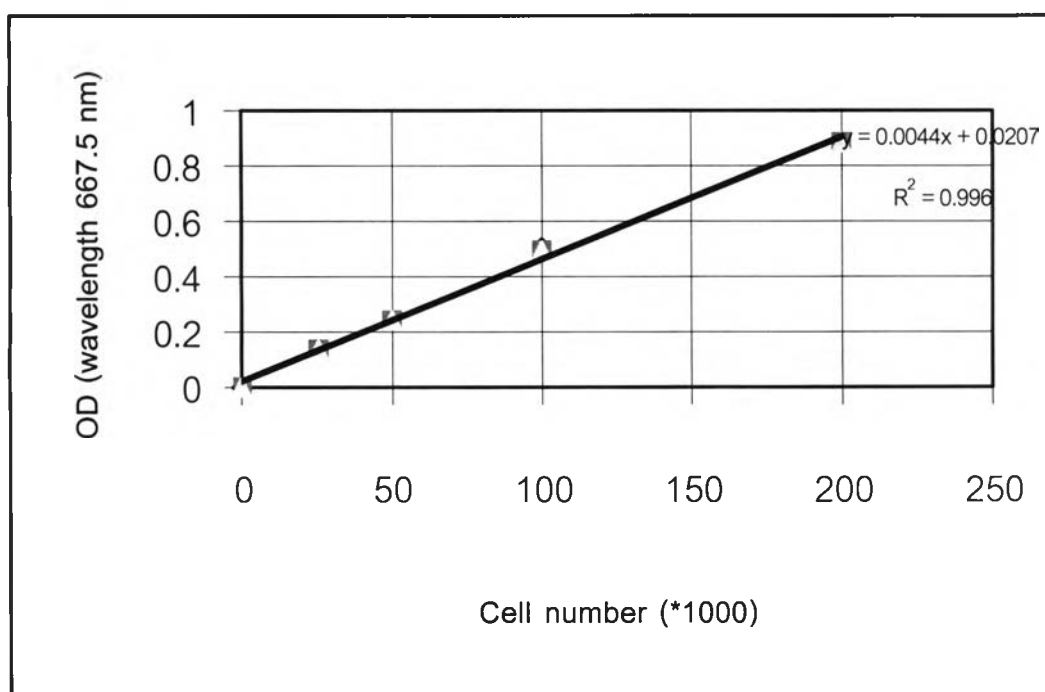
หมายเหตุ : สารละลายที่เตรียมในข้อ 1-5 สามารถจัดเก็บได้ที่อุณหภูมิห้อง
สารละลายที่เตรียมในข้อ 6-8 จัดเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ภาคผนวก ข.

กราฟมาตรฐานของจำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีเมทิลีนบลูและวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์

Cell (*1000)	OD (1)	OD (2)	OD (3)
0.00	0.000	0.000	0.000
25.0	0.136	0.134	0.133
50.0	0.245	0.242	0.240
100	0.504	0.495	0.494
200	0.887	0.883	0.882

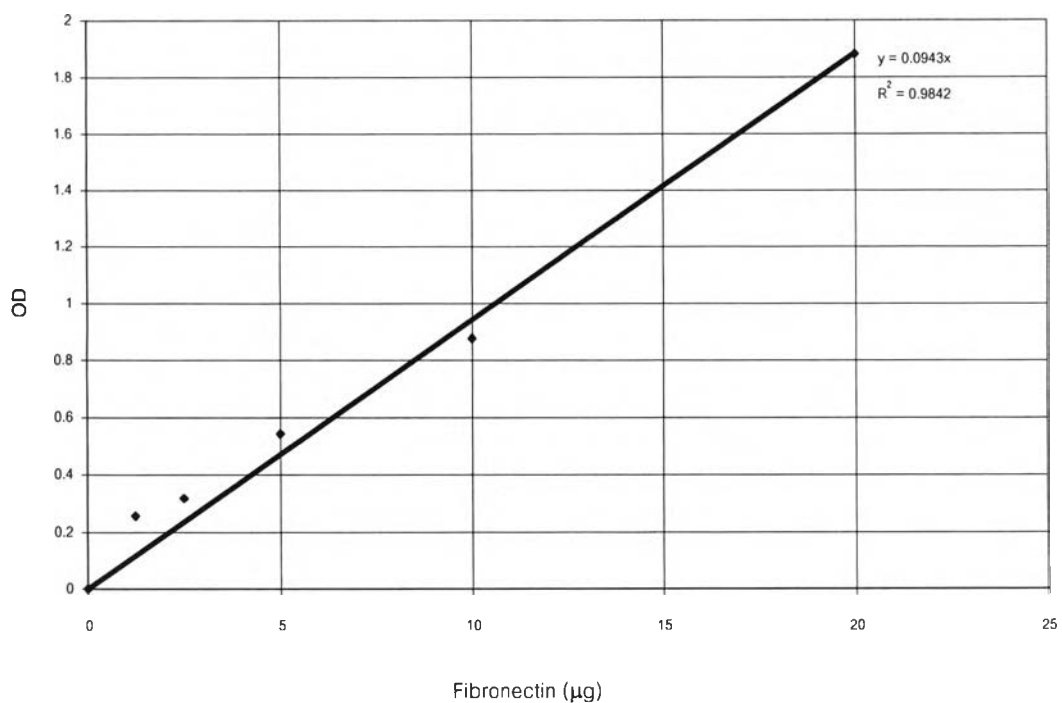
ความสัมพันธ์แบบกราฟเส้นตรง จำนวนเซลล์และค่าการดูดกลืนแสงแปรผันตามกัน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) = 0.996



กราฟมาตรฐานของปริมาณไฟโบรเนกตินและวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

Standard fibronectin (μg)	OD
1.25	0.257
2.50	0.318
5.00	0.544
10.00	0.877
20.00	1.881

ความสัมพันธ์แบบกราฟเส้นตรง ปริมาณไฟโบรเนกตินและค่าความเข้มของแถบโปรตีนที่ปรากฏแปรผันตามกัน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) = 0.9842



การทดสอบความเที่ยงของการอ่านค่าปริมาณไฟโบรเนกตินที่อ่านได้จากเครื่องอ่านความเข้มเดนซิโตมิเตอร์

ค่าที่แสดงเป็นตัวเลขที่ได้จากการฟิล์ม 5 แผ่น โดยแต่ละแผ่นมาจากรูปแบบของการทดลองที่แตกต่างกัน ทำการอ่านซ้ำในตำแหน่งที่มีแถบของไฟโบรเนกตินอยู่ทั้งหมด 3 ครั้ง เพื่อทดสอบความเที่ยงในการอ่านค่าแต่ละครั้ง

แผ่นที่ 1 ทดสอบด้วยฟลูออไรด์ที่ความเข้มข้น 0.1, 1 และ 10 พีพีเอ็ม

	control	Fluoride 0.1 ppm	Fluoride 1 ppm	Fluoride 10 ppm
ครั้งที่ 1	2.786	4.575	6.682	9.072
ครั้งที่ 2	2.796	3.942	6.599	9.693
ครั้งที่ 3	2.727	4.387	7.106	9.304
mean	2.770	4.301	6.796	9.356
SD	0.037	0.325	0.272	0.314

แผ่นที่ 2 ทดสอบด้วยเบสิก-เอฟจีเอฟที่ความเข้มข้น 0.1, 1 และ 10 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร

	control	bFGF 0.1 ng/ml	bFGF 1 ng/ml	bFGF 10 ng/ml
ครั้งที่ 1	9.302	7.854	6.555	3.763
ครั้งที่ 2	9.035	7.428	6.681	3.939
ครั้งที่ 3	9.226	7.291	6.672	3.489
mean	9.188	7.524	6.636	3.730
SD	0.138	0.294	0.070	0.227

แผ่นที่ 3 ทดสอบด้วยฟลูออไรด์ที่ความเข้มข้น 1 พีพีเอ็มร่วมกับเบสิก-เอฟจีเอฟที่ความเข้มข้น 0.1, 1 และ 10 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร

	control	Fluoride 1 ppm	F ⁻ + bFGF 0.1 ng/ml	F ⁻ + bFGF 1 ng/ml	F ⁻ + bFGF 10 ng/ml
ครั้งที่ 1	2.216	4.908	10.271	6.464	4.157
ครั้งที่ 2	2.457	4.630	9.937	6.130	4.224
ครั้งที่ 3	2.193	4.771	10.495	6.307	4.093
mean	2.289	4.770	10.234	6.300	4.158
SD	0.146	0.139	0.281	0.167	0.066

แผ่นที่ 4 ทดสอบด้วยพีดีจีเอฟที่ความเข้มข้น 0.1, 1 และ 10 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร

	control	PDGF 0.1 ng/ml	PDGF 1 ng/ml	PDGF 10 ng/ml
ครั้งที่ 1	2.162	3.290	4.097	5.226
ครั้งที่ 2	2.478	3.041	3.872	5.347
ครั้งที่ 3	2.395	3.065	3.884	5.188
mean	2.345	3.132	3.951	5.254
SD	0.164	0.137	0.127	0.083

แผ่นที่ 5 ทดสอบด้วยฟลูออไรด์ที่ความเข้มข้น 1 พีพีเอ็มร่วมกับพีดีจีเอฟที่ความเข้มข้น 0.1, 1 และ 10 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร

	control	Fluoride 1 ppm	F ⁻ + PDGF 0.1 ng/ml	F ⁻ + PDGF 1 ng/ml	F ⁻ + PDGF 10 ng/ml
ครั้งที่ 1	2.990	4.883	5.328	5.983	8.326
ครั้งที่ 2	2.727	4.522	5.014	6.017	8.535
ครั้งที่ 3	2.952	4.681	4.946	6.240	8.471
mean	2.890	4.695	5.096	6.080	8.444
SD	0.142	0.181	0.204	0.140	0.107

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายฤกษ์ชัย เบศรภิญโญวงศ์ เกิดวันที่ 29 เมษายน พ.ศ.2517 ที่กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาทันตแพทยศาสตรบัณฑิตจากคณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้รับการบรรจุเข้ารับราชการในตำแหน่งอาจารย์ประจำภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี พ.ศ.2541 และได้รับการอนุมัติให้ลาราชการเพื่อศึกษาต่อในหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี พ.ศ.2542

