

การศึกษาเปรียบเทียบผลของวัสดุเอนิเมที่เอกับวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน
ต่อเซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นไต้ปริทันต์ของมนุษย์



นางสาวอุทัยวรรณ อารยะตระกูลลิขิต

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาเอ็นโดดอนต์ ภาควิชาทันตกรรมหัตถการ


คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-17-2427-6

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

THE COMPARATIVE EFFECT OF MTA AND RMGIC ON HUMAN PERIODONTAL LIGAMENT CELLS,
IN VITRO



MISS UTHAIWAN ARAYATRAKOOLLIKIT

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Endodontology

Department of Operative Dentistry

Faculty of Dentistry

Chulalongkorn University

Academic Year 2002

ISBN 974-17-2427-6

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาเปรียบเทียบผลของวัสดุเอนิเมที่เอบกับวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินต่อเซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นดีบริทันต์ของมนุษย์
โดย	นางสาวอุทัยวรรณ อารยะตระกูลลิขิต
สาขาวิชา	วิทยาเอ็นโดดอนต์
อาจารย์ที่ปรึกษา	อ.ทพญ.ดร.สมลีนี พิมพ์ขาวขำ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รศ.ทพญ.ทัศนีย์ ยงชัยตระกูล

คณะกรรมการแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณะบดีคณะแพทยศาสตร์
(รศ.ทพ.สุรสิทธิ์ เกียรติพงษ์สาร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รศ.ทพญ.ขวัญตา จารุอำพรพรรณ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(อ.ทพญ.ดร.สมลีนี พิมพ์ขาวขำ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รศ.ทพญ.ทัศนีย์ ยงชัยตระกูล)

..... กรรมการ
(รศ.ทพ.ดร.ประสิทธิ์ ภาสันต์)

..... กรรมการ
(ผศ.ทพญ.ดร.รังสินี มหานนท์)

นางสาวอุทัยวรรณ อารยะตระกูลลิขิต : การศึกษาเปรียบเทียบผลของวัสดุเอนิเมทกับวัสดุ
 กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินต่อเซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นไดยด์ปริทันต์ของ
 มนุษย์. (THE COMPARATIVE EFFECT OF MTA AND RMGIC ON HUMAN
 PERIODONTAL LIGAMENT CELLS, IN VITRO) อ.ที่ปรึกษา :
 อ.ทพญ.ดร.สมสินี พิมพ์ขาว, อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ทพญ.ทัศนีย์ ยงชัยตระกูล
 130 หน้า. ISBN 974-17-2427-6

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลของ
 วัสดุเอนิเมทกับวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน ต่อเซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นไดยด์
 ปริทันต์ของมนุษย์ โดยนำสารละลายสกัดของวัสดุทั้งสองชนิดที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสาร
 ละลายสกัดของวัสดุต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัมเท่ากับ 1:0, 1:1, 1:2, 1:4 และ 1:8 ไปวัด
 อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมเซลล์ด้วยสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง
 และวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 24, 72 และ 120 ชั่วโมงผลการ
 ทดลองวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ พบว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วย
 เรซินในกลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นเท่ากับ 1:1, 1:2, 1:4 และ 1:8 มีผลทำให้เซลล์มีอัตราการ
 เพิ่มจำนวนเซลล์สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม
 ขณะที่ในวัสดุเอนิเมทพบว่าเฉพาะในกลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นเท่ากับ 1:8 ที่มีผลทำให้เซลล์
 มีอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม
 ควบคุม ส่วนผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส พบว่าในวัสดุกลาส
 ไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในทุกกลุ่มความเข้มข้น ทำให้ค่าการทำงานของเอนไซม์
 อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสลดต่ำลงที่ระยะเวลา 72 และ 120 ชั่วโมง ส่วนในวัสดุเอนิเมทพบว่าในกลุ่มที่
 มีความเข้มข้น 1:8 ทำให้ค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสลดต่ำลงที่ระยะเวลา 24,
 72 และ 120 ชั่วโมง โดยสรุปพบว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน ทำให้เกิด
 การตอบสนองของเซลล์เอ็นไดยด์ปริทันต์ของมนุษย์ในทางบวกมากกว่าวัสดุเอนิเมท

ภาควิชาทันตกรรมหัตถการ	ลายมือชื่อนิสิต.....
สาขาวิชาวิทยาเอ็นโดดอนต์	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา 2545	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

447 61294 32 : MAJOR ENDODONTOLOGY

KEY WORD: HUMAN PERIODONTAL LIGAMENT CELLS / MTA / RMGIC / CELL
PROLIFERATION / ALKALINE PHOSPHATASE ACTIVITY

UTHAIWAN ARAYATRAKOOLLIKIT : THE COMPARATIVE EFFECT OF MTA AND
RMGIC ON HUMAN PERIODONTAL LIGAMENT CELLS, IN VITRO. THESIS
ADVISOR : SOMSINEE PIMKHAOKHAM, Ph.D. THESIS COADVISOR :
ASSOC.PROF. TASSANEE YONGCHAITRAKUL, 128 pp. ISBN 974-17-2427-6

The purpose of this in vitro study was to compare the effect of MTA with RMGIC on human periodontal ligament cells. Proliferation assay was performed by using colorimetric assay at 48 and 72 hours and alkaline phosphatase activity was determined by using biochemical assay at 24, 72 and 120 hours. Both materials were fabricated and eluated with serum free medium for 24 hours. Cells were treated with different concentrations of eluated materials per fresh medium with the ratio of 1:0, 1:1, 1:2, 1:4, and 1:8. One way ANOVA and Tukey's test ($p < 0.05$) were used to detect differences between the treatment and the control groups. The proliferation assay showed that all concentrations of RMGIC and 1:8 concentration of MTA significantly stimulated PDL cell proliferation at 48 and 72 hours. All concentrations of RMGIC significantly decreased alkaline phosphatase activity at 72 and 120 hours. However, only 1:8 concentration of MTA significantly decreased alkaline phosphatase activity at 24, 72 and 120 hours. Therefore, the result of this study showed that RMGIC has more favorable cellular response than MTA in term of cellular proliferation. In contrast , MTA has more favorable cellular response than RMGIC in term of alkaline phosphatase activity.

Department : Operative Dentistry

Student's signature.....

Field of study : Endodontology

Advisor's signature.....

Academic year : 2002

Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ทนตแพทย์หญิง.ดร.สมสินี พิมพ์ชาวขำ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ทนตแพทย์หญิง ทศนีย์ ยงชัยตระกูล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม และรองศาสตราจารย์ ทนตแพทย์ ดร. ประสิทธิ์ ภาสันต์ สำหรับคำแนะนำ และข้อคิดเห็นต่างๆ มากมายอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่องานวิจัยในครั้งนี้ อีกทั้งยังได้สละเวลาอันมีค่าของท่านในการตรวจ และแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ จนกระทั่งวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่านที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นอันเป็นประโยชน์ในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ไพพรรณ พิทยานนท์ และนายปราโมทย์ มหคุณากร ที่ให้คำปรึกษา และคำแนะนำด้านสถิติที่ใช้สำหรับการศึกษาวิจัยครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ทนตแพทย์หญิง ปิยาณี พาณิชยวิสัย และคณาจารย์ทุกท่านของภาควิชาทันตกรรมหัตถการ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่เอื้อเฟื้อ ให้ความสนับสนุน และกำลังใจที่ดีตลอดมา

ขอขอบพระคุณ ทนตแพทย์หญิง สิริลักษณ์ ตีรณธนากุล และทนตแพทย์หญิง เกษรา ปัทมพันธุ์ ที่ให้ความช่วยเหลือ และคำแนะนำในการเพาะเลี้ยงเซลล์

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยทันตแพทย์ของภาควิชาทันตกรรมหัตถการ และเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยทันตวัสดุศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่าน ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ และอุปกรณ์ในการทำวิจัยอย่างดียิ่ง

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยใคร่ขอกราบขอบพระคุณ บิดามารดา และ ผศ.ทศนีย์ อารยะตระกูลลิขิต ผู้ซึ่งให้การสนับสนุนและกำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมา และขอขอบพระคุณผู้มีพระคุณทุกท่านที่ไม่สามารถกล่าวนามได้ทั้งหมด ที่ช่วยเหลือในการทำงานและให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมา จนการวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ประโยชน์ ความรู้ และคุณงามความดีที่ได้รับจากการศึกษาวิจัยนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

อุทัยวรรณ อารยะตระกูลลิขิต

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญภาพ	ฐ
บทที่ 1 บทนำ	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
คำถามของการวิจัย	5
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	5
สมมติฐานของการวิจัย	5
คำสำคัญ.....	5
รูปแบบการวิจัย.....	6
ข้อจำกัดของการวิจัย	6
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	6
ปัญหาจริยธรรม	6
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	7
การเกิดรอยทะเลงอกผิวหนัง	7
สาเหตุของการเกิดรอยทะเลงอกผิวหนัง.....	7
การจัดการกับรอยทะเลงอกผิวหนัง	8
การพยากรณ์โรค	10
วัสดุเอ็มทีเอ.....	12
ส่วนประกอบทางเคมีของเอ็มทีเอ.....	12
คุณสมบัติทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของเอ็มทีเอ	13
คุณสมบัติทางชีวภาพของเอ็มทีเอ	19
การนำไปใช้ทางคลินิก	23
วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์.....	27
ส่วนประกอบของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์.....	28

หน้า

ปฏิบัติการแข็งตัวของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์.....	29
กลไกการยึดเกาะของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์.....	30
วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน.....	31
ส่วนประกอบของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน.....	32
ปฏิบัติการแข็งตัวของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน.....	33
ความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อของร่างกาย และการสร้างเนื้อเยื่อแข็ง.....	34
เอ็นยึดปริทันต์	35
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	40
ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง.....	40
วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย.....	40
วิธีดำเนินการวิจัย.....	42
การเก็บรวบรวมข้อมูล.....	59
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	59
บทที่ 4 ผลการวิจัย	61
การวัดความเป็นพิษด้วยวิธีการใช้สารเอ็มทีทีที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง	61
การวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์โดยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง	65
การวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 24, 72 และ 120 ชั่วโมง	68
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย และอภิปรายผลการวิจัย	71
บทที่ 6 บทสรุป และข้อเสนอแนะ	78
รายการอ้างอิง	79
ภาคผนวก	87
ภาคผนวก ก แสดงข้อมูลของเซลล์เอ็นยึดปริทันต์กลุ่มที่ 1.....	88
ภาคผนวก ข แสดงข้อมูลของเซลล์เอ็นยึดปริทันต์กลุ่มที่ 2.....	100
ภาคผนวก ค แสดงข้อมูลของเซลล์เอ็นยึดปริทันต์กลุ่มที่ 3.....	112
ภาคผนวก ง แสดงการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ SPSS ในกลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน	118

ภาคผนวก จ แสดงการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ SPSS ในกลุ่มวัสดุเคมีทีเอ.....	124
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	130



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงผลการวัดความเป็นพิษด้วยวิธีการใช้สารเคมีที่ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นยึดปริทันต์กลุ่มที่ 1.....	88
ตารางที่ 2 แสดงผลการวัดความเป็นพิษด้วยวิธีการใช้สารเคมีที่ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในวัสดุเอ็มทีเอในเซลล์เอ็นยึดปริทันต์กลุ่มที่ 1	89
ตารางที่ 3 แสดงผลการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน ในเซลล์เอ็นยึดปริทันต์กลุ่มที่ 1	90
ตารางที่ 4 แสดงผลการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงในวัสดุเอ็มทีเอในเซลล์เอ็นยึดปริทันต์กลุ่มที่ 1.....	91
ตารางที่ 5 แสดงผลการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมงในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน ในเซลล์เอ็นยึดปริทันต์กลุ่มที่ 1	92
ตารางที่ 6 แสดงผลการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมงในวัสดุเอ็มทีเอในเซลล์เอ็นยึดปริทันต์กลุ่มที่ 1.....	93
ตารางที่ 7 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นยึดปริทันต์กลุ่มที่ 1	94
ตารางที่ 8 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในวัสดุเอ็มทีเอในเซลล์เอ็นยึดปริทันต์กลุ่มที่ 1.....	95
ตารางที่ 9 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง ในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นยึดปริทันต์กลุ่มที่ 1	96
ตารางที่ 10 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง ในวัสดุเอ็มทีเอในเซลล์เอ็นยึดปริทันต์กลุ่มที่ 1.....	97
ตารางที่ 11 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมง ในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นยึดปริทันต์กลุ่มที่ 1	98

บทที่	หน้า
ตารางที่ 12 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมง ในวัสดุเอ็มทีเอในเซลล์เอ็นอีดีปริทันต์กลุ่มที่ 1.....	99
ตารางที่ 13 แสดงผลการวัดความเป็นพิษด้วยวิธีการใช้สารเอ็มทีทีที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นอีดีปริทันต์กลุ่มที่ 2.....	100
ตารางที่ 14 แสดงผลการวัดความเป็นพิษด้วยวิธีการใช้สารเอ็มทีทีที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในวัสดุเอ็มทีเอในเซลล์เอ็นอีดีปริทันต์กลุ่มที่ 2.....	101
ตารางที่ 15 แสดงผลการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงในวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นอีดีปริทันต์กลุ่มที่ 2	102
ตารางที่ 16 แสดงผลการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงในวัสดุเอ็มทีเอในเซลล์เอ็นอีดีปริทันต์กลุ่มที่ 2.....	103
ตารางที่ 17 แสดงผลการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมงในวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นอีดีปริทันต์กลุ่มที่ 2	104
ตารางที่ 18 แสดงผลการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมงในวัสดุเอ็มทีเอในเซลล์เอ็นอีดีปริทันต์กลุ่มที่ 2.....	105
ตารางที่ 19 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นอีดีปริทันต์กลุ่มที่ 2.....	106
ตารางที่ 20 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในวัสดุเอ็มทีเอในเซลล์เอ็นอีดีปริทันต์กลุ่มที่ 2.....	107
ตารางที่ 21 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง ในวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นอีดีปริทันต์กลุ่มที่ 2.....	108
ตารางที่ 22 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง ในวัสดุเอ็มทีเอในเซลล์เอ็นอีดีปริทันต์กลุ่มที่ 2.....	109

บทที่	หน้า
ตารางที่ 23 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมง ในวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นยัดปริทันต์กลุ่มที่ 2.....	110
ตารางที่ 24 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมง ในวัสดุเอ็มทีเอในเซลล์เอ็นยัดปริทันต์กลุ่มที่ 2.....	111
ตารางที่ 25 แสดงผลการวัดความเป็นพิษด้วยวิธีการใช้สารเอ็มทีทีที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นยัดปริทันต์กลุ่มที่ 3.....	112
ตารางที่ 26 แสดงผลการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงในวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นยัดปริทันต์กลุ่มที่ 3	113
ตารางที่ 27 แสดงผลการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมงในวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นยัดปริทันต์กลุ่มที่ 3	114
ตารางที่ 28 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นยัดปริทันต์กลุ่มที่ 3.....	115
ตารางที่ 29 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง ในวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นยัดปริทันต์กลุ่มที่ 3.....	116
ตารางที่ 30 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมง ในวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นยัดปริทันต์กลุ่มที่ 3.....	117

สารบัญภาพ

ภาพประกอบ	หน้า
ภาพที่ 1 กราฟแสดงค่าความเป็นกรด – ต่างของวัสดุเอ็มทีเอหลังการผสม ณ เวลาต่าง ๆ.....	13
ภาพที่ 2 แสดงเซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นดอทีคปริทันต์มนุษย์ที่เริ่มคลานออกมาจากชิ้นเนื้อเยื่อ	43
ภาพที่ 3 แสดงเซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นดอทีคปริทันต์ของมนุษย์ที่เจริญเต็มจานเพาะเลี้ยง.....	44
ภาพที่ 4 แสดงแบบหล่อจำลองที่เตรียมไว้เพื่อการทดสอบ	44
ภาพที่ 5 แสดงวัสดุเอ็มทีเอ	45
ภาพที่ 6 แสดงวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน	46
ภาพที่ 7 แสดงส่วนผง และส่วนน้ำของวัสดุเอ็มทีเอก่อนการผสม.....	47
ภาพที่ 8 แสดงวัสดุเอ็มทีเอภายหลังการผสมส่วนผงและส่วนน้ำเข้าด้วยกัน.....	48
ภาพที่ 9 แสดงการใช้สไลซ์ขนาดเล็กชุบน้ำกลั่นวางบนพื้นผิวของวัสดุ ขณะรอให้วัสดุแข็งตัวเต็มที่.....	48
ภาพที่ 10 แสดงวัสดุเอ็มทีเอที่แกะจากแบบหล่อ ก่อนนำไปสกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ปราศจากซีรัม	49
ภาพที่ 11 แสดงการสกัดวัสดุโดยการแช่วัสดุเอ็มทีเอในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม.....	49
ภาพที่ 12 แสดงสารละลายสกัดวัสดุเอ็มทีเอ ภายหลังการกรองด้วยแผ่นกรอง ขนาด 0.02 ไมครอน	50
ภาพที่ 13 แสดงแผ่นกรองขนาด 0.02 ไมครอน.....	50
ภาพที่ 14 แสดงวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินที่บรรจุในเครื่องมือ ก่อนนำไปฉีดในแบบหล่อจำลองที่เตรียมไว้	52
ภาพที่ 15 แสดงการนำแผ่นแก้วเรียบ 2 แผ่นประกบบนด้านบนและล่างของแบบจำลอง ก่อนทำการฉายแสงวัสดุตามเวลาที่กำหนด	52
ภาพที่ 16 แสดงวัสดุที่แกะจากแบบหล่อ ก่อนนำไปสกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม	53
ภาพที่ 17 แสดงการสกัดวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน โดยการ แช่วัสดุในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม	53
ภาพที่ 18 แสดงสารละลายสกัดวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน ภายหลังการกรองด้วยแผ่นกรองขนาด 0.02 ไมครอน.....	54
ภาพที่ 19 กราฟแสดงร้อยละของค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการวัดความเป็นพิษ ด้วยสารเอ็มทีเอของวัสดุวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (A) และวัสดุเอ็มทีเอ (B) ที่มีต่อเซลล์เอ็นดอทีคปริทันต์ของมนุษย์ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ..	63

ภาพประกอบ

หน้า

ภาพที่ 20 กราฟแสดงร้อยละของค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (A) และวัสดุเอ็มทีเอ (B) ที่มีต่อเซลล์เอ็นไยด์ปริทันต์ของมนุษย์ ในระยะเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง.....66

ภาพที่ 21 กราฟแสดงร้อยละของค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการวัดค่าการ ทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (A) และวัสดุเอ็มทีเอ (B) ที่มีต่อเซลล์เอ็นไยด์ปริทันต์ของมนุษย์ ในระยะเวลา 24, 72 และ 120 ชั่วโมง.....69



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การเกิดรอยทะลุออกผิวรากฟัน (perforation) เป็นสาเหตุที่พบบ่อยเป็นอันดับสองของความล้มเหลวในการรักษาคลองรากฟัน (Ingle, 1961) การเกิดรอยทะลุออกผิวรากฟันมีผลชักนำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ระหว่างภายในคลองรากฟันและภายนอกคลองรากฟัน มีผลทำให้เกิดการอักเสบระยะเฉียบพลัน และส่งเสริมให้เกิดการทำลายของอวัยวะปริทันต์ที่อยู่โดยรอบเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นการซ่อมแซมโดยการปิดรอยทะลุจึงมีความสำคัญต่อความสำเร็จในการรักษาคลองรากฟัน

ปัจจัยที่มีผลต่อความสำเร็จหรือความล้มเหลวในการปิดรอยทะลุออกผิวรากฟัน ได้แก่ ระยะเวลาก่อนปิดรอยทะลุ ขนาดของรอยทะลุ และ ตำแหน่งรอยทะลุ โดยพบว่าถ้าระยะเวลาก่อนปิดรอยทะลุมีระยะเวลานาน โอกาสเกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จะเพิ่มมากขึ้น รอยทะลุขนาดเล็กจะทำให้วัสดุที่นำมาใช้ในการปิดรอยทะลุเกิดความแนบสนิทที่ดี และมีการรั่วซึมน้อยกว่ารอยทะลุขนาดใหญ่ และตำแหน่งรอยทะลุที่เกิดบริเวณใกล้ร่องเหงือก จะมีโอกาสเกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์มากกว่ารอยทะลุที่อยู่ต่ำลงไปในกระดูกรองรับฟัน (Sinai, 1977; Alhadainy, 1994; Fuss และ Trope, 1996)

นอกจากนี้การเลือกใช้วัสดุในการปิดรอยทะลุ ยังเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อความสำเร็จในการรักษา เนื่องจากวัสดุที่นำมาใช้จะต้องสัมผัสโดยตรงกับเซลล์และเนื้อเยื่ออวัยวะปริทันต์บริเวณนั้น วัสดุที่ใช้อาจมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของเซลล์ที่อยู่บริเวณดังกล่าวได้ (Sinai, 1977; Alhadainy, 1994; Fuss และ Trope, 1996) คุณสมบัติที่ดีของวัสดุที่นำมาใช้ปิดรอยทะลุออกผิวรากฟัน ควรจะมีความแนบสนิทที่ดี (good sealing ability) มีความเข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อของร่างกาย (biocompatibility) และที่สำคัญ คือมีความสามารถในการชักนำให้เกิดการหายของแผลอย่างสมบูรณ์ (promote regeneration) และเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อแข็ง ได้แก่กระดูกและเคลือบรากฟัน (osteogenesis and cementogenesis) ซึ่งเมื่อพิจารณาจากคุณสมบัติดังกล่าวข้างต้นในปัจจุบันยังไม่มีข้อสรุปที่แน่ชัดว่าวัสดุใดเป็นวัสดุที่ดีและเหมาะสมที่จะนำมาใช้ปิดรอยทะลุมากที่สุด (Gutmann และ Harrison, 1994)

มีรายงานการศึกษาเมื่อเร็ว ๆ นี้พบว่าวัสดุเอ็มทีเอ (MTA) และ กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Resin Modified Glass Ionomer Cement; RMGIC) ซึ่งเป็นวัสดุที่เพิ่งได้รับการพัฒนาไม่นานนัก เป็นวัสดุที่นำมาใช้ในการปิดรอยทะลุออกผิวดรากฟัน เนื่องจากมีคุณสมบัติที่ดีหลายประการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสามารถชักนำให้เกิดการหายของเนื้อเยื่อปริทันต์อย่างสมบูรณ์ (periodontal regeneration) (Fuss และ Trope, 1996)

เอ็มทีเอเป็นวัสดุที่พบว่ามีความสมบัติเด่นหลายประการ เช่น มีความแนบสนิทที่ดี มีคุณสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) ทำให้นำมาใช้ได้ดีในบริเวณที่มีการปนเปื้อนของเลือดและของเหลว มีความเข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อของร่างกาย และที่สำคัญสามารถชักนำให้เกิดการสร้างเคลือบรากฟันและกระดูกได้ (Pitt Ford และคณะ, 1995; Abedi และ Ingle, 1995; Torabinejad และคณะ, 1995, 1997, 1998; Arens และ Torabinejad, 1996 ; Schwartz และคณะ, 1999) แต่อย่างไรก็ตามผลการศึกษาถึงความสำเร็จของการนำเอ็มทีเอมาใช้ปิดรอยทะลุ เป็นการรายงานผลจากลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ (histology) และลักษณะทางภาพรังสี (radiography) เท่านั้น ยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาถึงกลไกในการทำให้เกิดกระบวนการหายของแผลอย่างสมบูรณ์หรือกลไกในการชักนำให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อแข็ง

กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน เป็นวัสดุอีกชนิดที่มีความสมบัติเด่นหลายประการ เช่น สามารถยึดติดกับฟันได้ ทำให้เกิดความแนบสนิทที่ดี (McClean และ Wilson, 1988) สามารถปลดปล่อยฟลูออไรด์ได้ ทำให้มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (Forsten, 1977) สามารถกระตุ้นให้เกิดการแข็งตัวอย่างรวดเร็วได้ด้วยการฉายแสง ทำให้มีความไวต่อความชื้นลดลง (Alhadainy และ Himel, 1993) มีความเข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อของร่างกาย (Makkawy และคณะ, 1998) และสามารถชักนำให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อแข็งได้ (Zmerner และ Dominquez, 1983; Zettlerqvist และคณะ, 1987; Tassery และคณะ, 1997; Resillez-Urioste, 1998; Brook และคณะ, 1998) เช่นเดียวกับเอ็มทีเอ ผลการศึกษาถึงความสำเร็จของการนำกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินมาใช้ปิดรอยทะลุ เป็นการรายงานผลจากลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ (histology) และลักษณะทางภาพรังสี (radiography) เท่านั้น ยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาถึงกลไกในการทำให้เกิดกระบวนการหายของแผลอย่างสมบูรณ์ หรือกลไกในการชักนำให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อแข็ง

ดังนั้นถึงแม้จะมีรายงานการศึกษาจากลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ และลักษณะภาพถ่ายรังสีหลายการศึกษาบ้างชี้ว่า ทั้งวัสดุเอ็มทีเอและกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน มีความสมบัติที่ดีในการชักนำให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อแข็ง (hard tissue formation) แต่

ยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาว่ากลไกการเกิดการสร้างเนื้อเยื่อแข็งเกิดขึ้นได้อย่างไร การตอบสนองต่อวัสดุทั้งสองชนิดในระดับเซลล์ (cellular response) มีลักษณะการตอบสนองของเซลล์อย่างไร วัสดุทั้งสองชนิดจะให้ผลการตอบสนองในระดับเซลล์ที่เหมือนหรือแตกต่างกันอย่างไร ถึงแม้ว่าเอ็มทีเอเป็นวัสดุที่ถูกแนะนำให้นำมาใช้ในการปิดรอยทะลุผิวคลองรากฟัน หรือการอุดปลายรากฟันก็ตาม แต่เนื่องจากเอ็มทีเอเป็นวัสดุชนิดใหม่ที่เพิ่งได้รับการพัฒนา และอนุญาตจากองค์การอาหารและยา (FDA) ของประเทศสหรัฐอเมริกาให้วางขายในตลาดเมื่อปี 1998 ทำให้ยังมีการศึกษาติดตามผลระยะยาวไม่มาก อีกทั้งการนำมาใช้ในงานรักษาคคลองรากฟันในคลินิกทันตกรรมในประเทศไทยยังไม่แพร่หลายเท่าที่ควร เนื่องจากเป็นวัสดุที่ยังไม่เป็นที่รู้จักมากนักและมีราคาแพง ขณะที่วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน เป็นวัสดุที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายในคลินิกทันตกรรมทั่วไป เนื่องจากเป็นวัสดุที่นิยมใช้ในงานทันตกรรมบูรณะ เป็นวัสดุอุดฟัน วัสดุอุดคอฟัน หรือวัสดุฉาบพื้นโพรงฟัน เป็นต้น นอกจากนี้ยังเป็นวัสดุที่มีราคาไม่แพงดั่งนั้นถ้ามีการศึกษาวิจัยเปรียบเทียบผลของวัสดุทั้งสองชนิดต่อการตอบสนองในระดับเซลล์ จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ศึกษาวิจัยเพิ่มเติม เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกใช้วัสดุในการปิดรอยทะลุผิวคลองรากฟัน หรืองานรักษาคคลองรากฟันอื่น ๆ เช่น เป็นวัสดุอุดปลายรากฟัน (root end filling) ให้เกิดประโยชน์สูงสุดในการรักษาคคลองรากฟันให้ประสบผลสำเร็จ

เนื่องจากยังไม่เคยมีการศึกษาวิจัยเปรียบเทียบผลของวัสดุเอ็มทีเอ และกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินต่อการตอบสนองในระดับเซลล์ ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะศึกษาเปรียบเทียบผลของวัสดุ 2 ชนิดนี้ ต่อการตอบสนองของเซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นยึดปริทันต์ของมนุษย์ เนื่องจากในทางคลินิกแล้ว เมื่อเกิดรอยทะลุผิวคลองรากฟัน เซลล์ของเนื้อเยื่อเอ็นยึดปริทันต์เป็นเซลล์แรกที่ได้รับอันตราย และเป็นเซลล์แรกที่จะต้องสัมผัสกับวัสดุที่จะนำมาใช้ในการปิดรอยทะลุผิวคลองรากฟัน

ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันว่าเซลล์ของเนื้อเยื่อเอ็นยึดปริทันต์ เป็นเซลล์ที่มีศักยภาพในการซ่อมแซม และดิฟเฟอเรนทิเอท (differentiate) เพื่อสร้างเนื้อเยื่อใหม่ขึ้นทดแทนเนื้อเยื่อเดิมที่ถูกทำลายไป ขั้นตอนของกระบวนการซ่อมแซมที่เกิดขึ้น จะเริ่มจากการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (proliferation) ที่บริเวณที่เกิดพยาธิสภาพ ตามด้วยการสร้างเมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix) เพื่อซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่เสียหาย และตามด้วยการเกิดดิฟเฟอเรนทิเอทของเซลล์ไปเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่เฉพาะเพื่อปรับเปลี่ยนเนื้อเยื่อบริเวณนั้นให้มีสภาพและการทำงานดังเดิม เกิดการหายของแผลอย่างสมบูรณ์ในที่สุด (Melcher, 1976; McCulloch และ Robin, 1991; McCulloch, 1995)

ดังนั้นในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ จึงพยายามเลียนแบบการตอบสนองทางคลินิกให้ได้มากที่สุด โดยการเลือกใช้เซลล์ของเนื้อเยื่อเอ็นยึดปริทันต์ของมนุษย์ (human periodontal ligament cell) มาทำการศึกษาดลองในห้องปฏิบัติการ (in vitro) เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลการตอบสนองของเซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นยึดปริทันต์มนุษย์ต่อวัสดุทั้งสองชนิด ว่าเหมือนหรือแตกต่างกันอย่างไร โดยวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ และวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสของเซลล์ดังกล่าว



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นยึดปริทันต์ของมนุษย์มีการตอบสนองต่อวัสดุเอ็มทีเอ และกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินเหมือนหรือแตกต่างกันอย่างไร ทั้งนี้โดยดูจาก

- อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์
- ค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาและเปรียบเทียบผลของวัสดุเอ็มทีเอ กับวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินต่อเซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นยึดปริทันต์ของมนุษย์ โดยการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่ระยะเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง
2. ศึกษาและเปรียบเทียบผลของวัสดุเอ็มทีเอ กับวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินต่อเซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นยึดปริทันต์ของมนุษย์ โดยการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 24, 72 และ 120 ชั่วโมง เนื่องจากเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ทำหน้าที่เป็นตัวชี้วัดตัวหนึ่งของเซลล์ที่แสดงคุณลักษณะของการเป็นเซลล์สร้างเนื้อเยื่อแข็ง (osteoinductive marker) ดังนั้นถ้าพบว่าเซลล์มีค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเพิ่มขึ้น ก็น่าจะเป็นตัวบ่งชี้ตัวหนึ่งว่าเซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นยึดปริทันต์ของมนุษย์น่าจะสามารถที่จะดิฟเฟอเรนทิเอทไปเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่สร้างเนื้อเยื่อแข็งได้

สมมติฐานของการวิจัย

1. เซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นยึดปริทันต์มนุษย์มีการตอบสนองต่อวัสดุเอ็มทีเอ และวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินไม่แตกต่างกัน
2. วัสดุเอ็มทีเอไม่มีผลต่ออัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ แต่มีผลต่อค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสของเซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นยึดปริทันต์ของมนุษย์
3. วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินไม่มีผลต่ออัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ แต่มีผลต่อค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสของเซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นยึดปริทันต์ของมนุษย์

คำสำคัญ

เซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นยึดปริทันต์ของมนุษย์ (human periodontal ligament cells)

วัสดุเอ็มทีเอ (MTA: Mineral Trioxide Aggregate)

วัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (RMGIC: Resin Modified Glass Ionomer Cement)

เอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase)

การเพิ่มจำนวนเซลล์ (cell proliferation)

รูปแบบการวิจัย

การวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ (laboratory experimental research)

ข้อจำกัดของการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการที่ทำในเซลล์ที่เพาะเลี้ยงจากมนุษย์เพียงชนิดเดียว ผลการวิจัยไม่สามารถนำไปสรุปผลต่อร่างกายได้โดยตรง เนื่องจากในร่างกายมีกลไกการทำงานที่เกิดจากการทำงานร่วมกันของเซลล์หลายชนิด

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบผลโดยตรงของวัสดุที่มีต่อเซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นดีปริทันต์ของมนุษย์ว่ามีผลต่อกระบวนการหายของแผลในระดับเซลล์อย่างไร
2. เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาวิจัยในเรื่องกระบวนการหายของแผลอย่างสมบูรณ์ทั้งในห้องปฏิบัติการ และในสิ่งมีชีวิตต่อไปในอนาคต
3. เป็นข้อมูลพื้นฐานที่ช่วยเป็นแนวทางในการตัดสินใจของทันตแพทย์ในการเลือกใช้วัสดุปิดรอยทะลุออกผิวดรากฟันในคลินิกทันตกรรม

ปัญหาจริยธรรม

ไม่มี

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การเกิดรอยทะลุนอกผิวรากฟัน (Root perforation)

การเกิดรอยทะลุนอกผิวรากฟัน เป็นการทำให้เกิดทางติดต่อระหว่างภายในคลองรากฟัน (root canal) กับเนื้อเยื่อเอ็นยึดปริทันต์ (periodontal ligament tissue) เมื่อเกิดรอยทะลุนอกผิวรากฟัน จะมีผลทำให้การพยากรณ์โรคของฟันลดลง มีการศึกษาพบว่า การเกิดรอยทะลุนอกผิวรากฟันเป็นสาเหตุหลักที่พบได้เป็นอันดับสองของความล้มเหลวในการรักษาคลองรากฟัน (Ingle, 1961)

สาเหตุของการเกิดรอยทะลุนอกผิวรากฟัน (Cause of perforation) (Alhadainy, 1994; Fuss และ Trope, 1996; Bryan, 1999) แบ่งได้ดังนี้

1. เกิดจากทันตแพทย์ผู้ทำการรักษา (iatrogenic cause)

เนื่องจากทันตแพทย์ขาดความระมัดระวัง หรือขาดความรู้ในเรื่องลักษณะทางกายวิภาคของฟัน หรืออาจเกิดจากความแปรปรวนของลักษณะทางกายวิภาคของฟัน เช่น มีการอุดตันในส่วนโพรงเนื้อเยื่อในฟัน (calcified pulp chamber) หรือมีการอุดตันในคลองรากฟัน (pulp canal obliteration) ทำให้เกิดความยากในการรักษาคลองรากฟันมากขึ้น

การเกิดรอยทะลุบริเวณโพรงเนื้อเยื่อในฟัน (pulp chamber) อาจเกิดจากการใช้หัวกรอกรอเปิดทางเข้าสู่โพรงเนื้อเยื่อในฟัน (access opening) ด้วยความไม่ระมัดระวัง หรืออาจเกิดจากการกรอผิดทิศทาง โดยส่วนใหญ่มักเกิดในฟันที่มีทิศทางการเรียงตัวที่ผิดไปจากแนวปกติ หรือเกิดจากการที่ฟันมีโพรงเนื้อเยื่อในฟันขนาดเล็ก เนื่องจากเกิดการสร้างเนื้อฟันเพื่อการซ่อมแซม (reperative dentin) จำนวนมากภายหลังจากที่ฟันได้รับภัยอันตรายเป็นระยะเวลานาน หรือในฟันคนที่มีอายุมาก ทำให้ส่วนของฟันโพรงเนื้อเยื่อในฟัน (floor of pulp chamber) กับหลังคาของโพรงเนื้อเยื่อในฟัน (roof of pulp chamber) อยู่ชิดกันมาก

การเกิดรอยทะลุบริเวณส่วนต้น (coronal third) ของคลองรากฟัน มีสาเหตุจากการขยายคลองรากฟันมากเกินไปในคลองรากที่แคบและโค้ง ทำให้เกิดรอยทะลุออกนอกผนังคลองรากฟันด้านใน (Strip perforation) หรืออาจเกิดจากการกรอเปิดช่องทางเข้าสู่คลองรากฟันที่ไม่ดี

การเกิดรอยทะลุบริเวณส่วนกลาง (middle third) ของคลองรากฟัน มีสาเหตุจากการใส่เครื่องมือผิดทิศทาง ในคลองรากฟันที่มีรากโค้ง หรือเกิดจากการใช้เครื่องมือไม่ถูกต้อง หรือการ

กรอผิดทิศทางการเตรียมช่องว่างฟันเดือย (post space preparation) สำหรับการบูรณะฟัน ภายหลังจากการรักษาคลองรากฟัน

การเกิดรอยทะลุบริเวณส่วนปลาย (apical third) ของคลองรากฟัน มีสาเหตุจากการใช้เครื่องมือทำความสะอาดคลองรากฟันผ่านรูเปิดปลายรากฟัน (apical foramen) ออกไปนอก ราก หรือเกิดจากการขยายคลองรากฟันที่มีความโค้ง โดยที่เครื่องมือไม่ได้โค้งไปตามความโค้งของ รากฟัน

2. เกิดจากการละลายของรากฟัน (root resorption) ทั้งจากการละลายภายในคลอง รากฟัน (internal root resorption) และการละลายภายนอกคลองรากฟัน (external root resorption) ที่เกิดการละลายและทำลายอย่างรุนแรง จนทำให้เกิดการทะลุที่ผิวนอกคลองราก ฟันได้

3. เกิดจากฟันผุ (dental caries) ที่ลุกลามรุนแรงทำให้เกิดการสูญเสียเนื้อฟันมาก จน กระทั่งเกิดการทะลุที่ผิวนอกคลองรากฟัน

การจัดการกับรอยทะลุออกผิวยากฟัน (Management of perforation) (Martin และ Gilbert, 1982; Alhadiany, 1994; Fuss และ Trope, 1996; Bryan, 1999)

1. การรักษารอยทะลุออกผิวยากฟันด้วยวิธีการไม่ทำศัลยกรรม (non-surgical management) เป็นการรักษาแบบอนุรักษ์ สามารถแบ่งตามตำแหน่งที่เกิดรอยทะลุได้ดังนี้

1.1 กรณีที่เกิดรอยทะลุที่ด้านข้างผิวยากฟัน (lateral perforation) แบ่งได้ 3 ส่วน คือ

— รอยทะลุที่บริเวณส่วนต้น (coronal perforation) ถ้ารอยทะลุอยู่ในตำแหน่ง สูงกว่าระดับของกระดูกระหว่างด้านข้างฟัน (supracrestal bone) สามารถที่จะใช้วัสดุอุดปิดรอย ทะลุได้โดยตรง ในฟันหน้านิยมใช้วัสดุคอมโพสิตเรซิน หรือ กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ เนื่องจากมี สีเหมือนฟัน และให้ความสวยงามมากกว่า ส่วนในฟันหลังนิยมใช้ซัลกัม หรืออาจใช้วิธีการ บูรณะด้วยครอบฟันโดยให้ขอบครอบฟันครอบคลุมรอยทะลุไว้ แต่ถ้ารอยทะลุอยู่ต่ำกว่าระดับ ของกระดูกระหว่างด้านข้างฟัน (subcrestal bone) อาจใช้วิธีการจัดฟันเพื่อดึงฟันขึ้นให้ขอบฟัน เหงือก (orthodontic extrusion) หรือการทำศัลยปริทันต์ด้วยการร่นกระดูกเพื่อทำให้ตัวฟันมี ความยาวมากขึ้น (crown lengthening)

— รอยทะลุที่บริเวณส่วนกลาง (middle perforation) อาจพิจารณารักษา เหมือนเป็นอีกคลองรากหนึ่ง หรืออาจพิจารณาอุดปิดรอยทะลุโดยตรงด้วยวัสดุต่าง ๆ เช่น เอ็มทีเอ กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ ในกรณีที่สามารรถเข้าทำงานในตำแหน่งนั้นได้ หรืออาจทำการรักษา

โดยการใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์กระตุ้นให้มีการสร้างเนื้อเยื่อแข็งปิดรอยทะลุ (calcific barrier) หลังจากนั้นถ้าเกิดความล้มเหลวในการรักษา อาจพิจารณาทำการรักษาด้วยการทำศัลยกรรมต่อไป

— รอยทะลุที่บริเวณส่วนปลาย (apical perforation) ถ้ารอยทะลุอยู่คนละทิศทางกับคลองรากฟันหลัก (main canal) ให้ทำการรักษาคลองรากฟันทั้งในคลองรากฟันหลักและในส่วนที่เกิดรอยทะลุ โดยพิจารณาทำการอุดคลองรากฟันทั้งสองส่วนด้วยวิธีการใช้ความร้อน (Thermoplastized gutta percha technique) ร่วมด้วย แต่ถ้ารอยทะลุอยู่ในทิศทางเดียวกับคลองรากฟันหลัก อาจใช้วัสดุ เช่น เอ็มทีเอ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ หรืออาจใช้เดนตินชิป (dentin chip) เป็นตัวกั้นที่ส่วนปลายรากฟัน (apical barrier) ก่อนทำการอุดคลองรากฟัน หลังจากนั้นถ้าเกิดความล้มเหลวในการรักษา อาจพิจารณาทำการรักษาด้วยการทำศัลยกรรมต่อไป

1.2 กรณีที่เกิดรอยทะลุที่พื้นโพรงเนื้อเยื่อในฟัน (furcation perforation)

การเกิดรอยทะลุบริเวณนี้สามารถรักษาได้ทั้งวิธีการทำศัลยกรรม (surgical management) และวิธีการไม่ทำศัลยกรรม (non-surgical management) วิธีการรักษาแบบไม่ทำศัลยกรรม โดยอาศัยการใช้วัสดุที่มีคุณสมบัติที่ดีอุดปิดรอยทะลุโดยตรงจะทำให้การรักษาประสบความสำเร็จมากกว่าการรักษาโดยการไม่ทำศัลยกรรม เนื่องจากเป็นวิธีที่ทำให้เกิดร่องลึกปริทันต์และการอักเสบชนิดเรื้อรัง ทำให้การรักษาไม่ประสบความสำเร็จ

2. การรักษารอยทะลุออกผิวยากฟันด้วยวิธีการทำศัลยกรรม (surgical management) ทำได้ โดยการผ่าตัดร่นเหงือกให้เห็นตำแหน่งรอยทะลุโดยตรง ก่อนอุดปิดรอยทะลุด้วยวัสดุที่มีความเหมาะสมที่ดี มีความเป็นพิษต่ำ มีความเข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อของร่างกาย วิธีการนี้เป็นวิธีที่ใช้ในกรณีที่มียากฟันขนาดใหญ่ ไม่สามารถมองเห็นรอยทะลุ หรือเข้าทำงานได้โดยตรง หรือเกิดความล้มเหลวภายหลังรักษาด้วยวิธีการไม่ทำศัลยกรรม แต่อย่างไรก็ตามการรักษาโดยการทำศัลยกรรม ไม่สามารถรักษารอยทะลุได้ทุกตำแหน่ง เช่น รอยทะลุบริเวณรากด้านลิ้นของฟันกรามล่าง หรือรอยทะลุบริเวณช่องแยกรากฟันของฟันกรามบนที่มักเกิดความล้มเหลวของการรักษา นอกจากนี้การรักษาด้วยวิธีการทำศัลยกรรมยังทำให้เกิดความสูญเสียเนื้อเยื่อบุผิวเชื่อมต่อ (junctional epithelium) เนื้อเยื่อเอ็นยึดปริทันต์ และกระดูกเบ้าฟัน จากการรื้อถอนกระดูกเป็นทางเข้าให้เห็นรอยทะลุ จึงทำให้เกิดรอยโรคปริทันต์อักเสบชนิดเรื้อรัง ทำให้ไม่สามารถคาดการณ์ความสำเร็จในการรักษาได้

การพยากรณ์โรค (Prognosis) (Sinai, 1977; Alhadiany, 1994; Fuss และ Trope, 1996)

การพยากรณ์โรคของฟันที่เกิดการทะลุออกผิวยากฟันขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

1. เวลา (time)

การปิดรอยทะลุในทันทีที่เกิดขึ้น จะช่วยลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จากภายในช่องปากที่จะเข้าสู่ภายในคลองรากฟัน ซึ่งจะช่วยให้ประสบผลสำเร็จในการรักษามากขึ้น ถ้าปล่อยรอยทะลุทิ้งไว้นาน โอกาสเกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จะเพิ่มมากขึ้น โอกาสเกิดการระคายเคืองและการอักเสบอย่างเรื้อรังก็จะมากเช่นเดียวกัน และโอกาสที่จะเกิดความล้มเหลวในการรักษา ก็จะเพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย

2. ขนาดของรอยทะลุ (size)

รอยทะลุที่มีขนาดเล็กจะมีพยากรณ์โรคดีกว่ารอยทะลุขนาดใหญ่ เนื่องจากมีอัตราการเกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์น้อยกว่า การอักเสบและการถูกทำลายของเนื้อเยื่อเอ็นยึดปริทันต์น้อยกว่า และยังทำให้สามารถใช้วัสดุปิดรอยทะลุให้มีความแนบสนิทมากกว่า ไม่เกิดการอุดตันของวัสดุออกไปยังเนื้อเยื่ออวัยวะปริทันต์ที่อยู่รอบ ๆ

3. ตำแหน่งของรอยทะลุ (location)

รอยทะลุที่อยู่ใกล้บริเวณร่องเหงือก (gingival sulcus) จะทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จากในช่องปากได้ง่าย ทำให้เกิดการระคายเคืองและการอักเสบของอวัยวะปริทันต์อย่างเรื้อรัง เนื่องจากเกิดการเจริญเคลื่อนตัวของเนื้อเยื่อบุผิว (epithelium) และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ลงมาบริเวณที่เกิดรอยทะลุ ทำให้เกิดร่องลึกปริทันต์เรื้อรัง ชัดขวางการเกิดการหายของแผลอย่างสมบูรณ์ ทำให้พยากรณ์โรคของฟันลดลง ส่วนรอยทะลุที่อยู่ไกลออกไปจากร่องเหงือกจะมีพยากรณ์โรคที่ดีกว่า

4. วัสดุที่นำมาใช้ในการปิดรอยทะลุ (repair material)

วัสดุที่นำมาใช้ปิดรอยทะลุ เป็นปัจจัยที่สำคัญประการหนึ่งที่มีผลต่อพยากรณ์โรค เนื่องจากวัสดุที่นำมาใช้จะเป็นตัวป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ จากภายในช่องปากเข้าสู่คลองรากฟัน ดังนั้นวัสดุที่นำมาใช้จะต้องมีความแนบสนิทที่ดี ไม่ไวต่อความชื้น และเนื่องจากผิวด้านนอกของวัสดุจะต้องสัมผัสโดยตรงกับเซลล์และเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ ๆ ดังนั้นวัสดุจึงต้องมีความเป็นพิษต่ำ มีความเข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อร่างกาย และสามารถชักนำให้เกิดการซ่อมแซมของเนื้อเยื่ออวัยวะปริทันต์ เกิดการหายของแผลอย่างสมบูรณ์ มีการสร้างกระดูก เคลือบรากฟัน และเนื้อเยื่อเอ็นยึดปริทันต์แทนที่เนื้อเยื่อที่ถูกทำลายไป (Alhadiany, 1994; Fuss และ Trope, 1996) ดังนั้นลักษณะในอุดมคติของวัสดุที่นำมาใช้ปิดรอยทะลุ (ideal repair material) จะเหมือนกับลักษณะในอุดมคติของวัสดุที่นำมาใช้อุดปลายรากฟัน (root end filling material) ในการทำศัลยกรรมเอ็นโดดอนต์ (endodontic surgery) (Tai Kuo - Wei และ Chang Yu - Chao, 2000)

ลักษณะในอุดมคติของวัสดุที่นำมาใช้ปิดรอยทะเล่มีดังนี้ (Grossman, 1988; Gartner, 1992)

1. มีความแนบสนิทที่ดี
2. มีความเข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อของร่างกาย
3. สนับสนุนการหายของแผลอย่างสมบูรณ์ (promote regeneration) โดยการชักนำให้เกิดการสร้างกระดูกและเคลือบรากฟัน (osteogenesis and cementogenesis)
4. ไม่ถูกรบกวนโดยความชื้น
5. ไม่ละลายในส่วนประกอบของเนื้อเยื่อที่เป็นของเหลว เช่น เลือด หรือหนอง
6. ไม่ก่อให้เกิดสนิม
7. ไม่ละลายตัว
8. มีความสามารถในการต้านทานเชื้อจุลินทรีย์
9. มีความที่บร้งสีเอกซเรย์
10. ไม่เป็นสารก่อมะเร็ง
11. ใช้งานง่าย
12. ทำให้ปลดข้อ่ง่าย
13. มีความคงตัวเมื่อเกิดการแข็งตัว (dimensional stability) ไม่หดตัว
14. ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีฟันหรือเนื้อเยื่อโดยรอบ
15. ราคาไม่แพง

วัสดุที่มีการนำมาใช้อุดปิดรอยทะเล่อกผิวรากฟันมีมากมายหลายชนิด เช่น อมัลกัม (amalgam) เควิต (cavit) ซิงค์ออกไซด์ยูจีนอลซีเมนต์ (zinc oxide eugenol cement) ไออาร์เอ็ม (IRM) คอมโพสิตเรซิน (composite resin) ซุปเปอร์ อีบีเอ (super EBA) กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ (glass ionomer cement) เอ็มทีเอ (MTA) เป็นต้น (Lemon, 1992) ปัจจุบันยังไม่มีวัสดุชนิดใดที่มีคุณสมบัติครบถ้วนตามอุดมคติ อย่างไรก็ตามคุณสมบัติที่สำคัญในการพิจารณาเลือกใช้วัสดุ ได้แก่ มีความแนบสนิทที่ดี มีความเข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งความสามารถในการชักนำให้เกิดการหายของแผลอย่างสมบูรณ์ นั่นคือ สามารถชักนำให้เกิดการสร้างกระดูกและเคลือบรากฟัน

วัสดุเอ็มทีเอ (Mineral Trioxide Aggregate : MTA)

วัสดุเอ็มทีเอเป็นวัสดุชนิดใหม่ที่เพิ่งได้รับการคิดค้น พัฒนา และผ่านการยอมรับให้ใช้ได้ โดย US Food and Drug Administration (FDA) ในปี 1998 โดยสามารถนำมาใช้ในงานวิทยาเอ็นโดดอนต์ เนื่องจากเป็นวัสดุที่มีคุณสมบัติที่ดีหลายประการ ได้แก่ มีความเป็นพิษต่ำ สามารถ

เข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อของร่างกาย สามารถป้องกันการรั่วซึม และที่สำคัญ คือสามารถชักนำให้เกิดการสร้างกระดูกและเคลือบรากฟัน เป็นต้น จากคุณสมบัติดังกล่าวทำให้เอ็มทีเอเป็นวัสดุที่ได้รับความนิยมในการนำมาใช้งานทางวิทยาเอ็นโดดอนต์มากขึ้น เอ็มทีเอถูกพัฒนาขึ้นครั้งแรกโดย Lee และคณะในปี 1993 เริ่มแรกนำมาใช้ทดลองปิดรอยทะลุด้านข้างรากฟัน โดยทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ ต่อมา Torabinejad และคณะ ในปี 1995 เริ่มทำการศึกษาคูณสมบัติต่าง ๆ ของวัสดุมากขึ้น (Schmitt และคณะ, 2001)

ส่วนประกอบทางเคมีของเอ็มทีเอ

วัสดุเอ็มทีเอมีลักษณะเป็นอนุภาคขนาดเล็กชอบน้ำ (fine hydrophilic particle) นำไปใช้โดยการนำไปผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 3:1 โดยส่วนผสมเอ็มทีเอเป็นสารประกอบที่ประกอบด้วย ไตรแคลเซียมซิลิเกต (tricalcium silicate) ไตรแคลเซียมอะลูมิเนต (tricalcium aluminate) ไตรแคลเซียมออกไซด์ (tricalcium oxide) ซิลิเกตออกไซด์ (silicate oxide) และออกไซด์ของแร่ธาตุต่าง ๆ (other mineral oxides) ซึ่งจะช่วยปรับปรุงคุณสมบัติทางเคมีหรือทางกายภาพของเอ็มทีเอให้ดีขึ้น เช่น บิสมัทออกไซด์ (bismuth oxide) มีคุณสมบัติช่วยเพิ่มความทึบแสงต่อรังสีเอกซเรย์ (radiopacity)

จากการศึกษาคุณสมบัติของส่วนผสมเอ็มทีเอ โดยวิธี electron probe microanalysis พบว่าส่วนผสมเอ็มทีเอมีแคลเซียมและฟอสฟอรัสไอออน เป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งเหมือนในเนื้อเยื่อแข็งของฟัน ทำให้เอ็มทีเอมีความเข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อของร่างกาย และเมื่อนำส่วนผสมเอ็มทีเอผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 3:1 มาศึกษา พบว่าประกอบด้วย 2 ส่วนใหญ่ คือ แคลเซียมออกไซด์และแคลเซียมฟอสเฟต และเมื่อพิจารณาถึงโครงสร้างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning Electron Microscope ; SEM) พบว่าประกอบด้วยโครงสร้าง 2 แบบ ได้แก่ (Torabinejad, Hong, McDonald และคณะ, 1995; Koh และคณะ, 1997)

1. โครงสร้างที่เป็นผลึก (discrete crystal)

ประกอบด้วย	แคลเซียม	87% ± 3.7%
	ซิลิกา	2.47% ± 0.67%
	ออกซิเจน	

2. โครงสร้างที่ไม่เป็นผลึก มีลักษณะ amorphous และ granular appearance

ประกอบด้วย	แคลเซียม	33% ± 1.9%
	ฟอสเฟต	49% ± 2.7%
	คาร์บอน	2% ± 0.32%

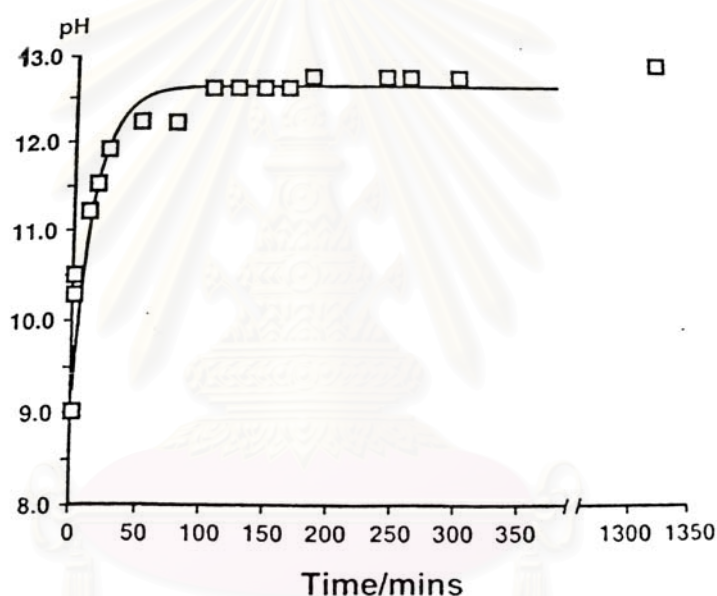
คลอไรด์ $3\% \pm 0.61\%$

ซิลิกา $6\% \pm 0.91\%$

คุณสมบัติทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของเอ็มทีเอ (Physical and Chemical Properties of MTA) (Torabinejad, Hong, McDonald และคณะ, 1995)

1. ค่าความเป็นกรดต่าง (pH value)

พบว่าวัสดุเอ็มทีเอมีค่าความเป็นกรดต่างภายหลังจากผสมเสร็จเท่ากับ 10.2 และจะมีค่าเพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ และคงที่ภายหลังจากแข็งตัวแล้ว 3 ชั่วโมง โดยมีค่ามากที่สุดเท่ากับ 12.5 ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 กราฟแสดงค่าความเป็นกรด - ต่างของวัสดุเอ็มทีเอหลังการผสม ณ เวลาต่าง ๆ กัน

2. ความทึบแสงต่อรังสีเอ็กซ์เรย์ (radiopacity)

พบว่าเอ็มทีเอมีค่าความทึบรังสีต่อรังสีเอ็กซ์เรย์เท่ากับ 7.17 millimeter equivalent aluminum thickness นอกจากนี้จากการศึกษาของ Laghios และคณะ ในปี 2000 ทำการศึกษาโดยใช้วิธีเดียวกัน แต่เพิ่มความหนาของวัสดุจาก 1 มิลลิเมตรเป็น 2 มิลลิเมตร เพื่อให้เท่ากับ ความหนาเมื่อใช้เป็นวัสดุอุดปลายรากฟัน พบว่าเอ็มทีเอมีค่าความทึบแสงต่อรังสีเอ็กซ์เรย์เท่ากับ 6.43 ซึ่งน้อยกว่าซูปเปอร์บีเอ (9.26) ไออาร์เอ็ม (9.50) กัตตาเปอร์ชา (11.01) และอมัลกัม (15.58) ตามลำดับ (Laghios และคณะ, 2000) ทาง American National Standard หรือ American Dental Association ในปี 1988 กำหนดว่าวัสดุอุดปลายรากฟัน (root – end filling

materials) ควรมีค่าความทึบแสงต่อรังสีเอ็กซ์เรย์อย่างน้อย 2 millimeter equivalent aluminum thickness โดยจะทำให้เมื่อเอ็กซ์เรย์จะเห็นความแตกต่างกับผนังคลองรากฟัน ซึ่งมีค่าความทึบต่อรังสีเอ็กซ์เรย์เท่ากับ 0.71

3. ระยะเวลาในการแข็งตัว (setting time)

พบว่าเอ็มทีเอ ใช้เวลานาน 2 ชั่วโมง 45 นาที \pm 5 นาที จึงจะแข็งตัวเต็มที่ ซึ่งใช้เวลานานกว่าซูปเปอร์อีพีเอ ไออาร์เอ็ม และอมัลกัม ตามลำดับ โดยเมื่อผสมเอ็มทีเอ กับน้ำกลั่นจะเกิดเป็นลักษณะคอลลอยดอลเจล (colloidal gel) จะแข็งตัวเต็มที่ต่อใช้เวลาอย่างน้อย 3 ชั่วโมง โดยมีปัจจัยที่มีผลต่อระยะเวลาแข็งตัว คือ ขนาดอนุภาคของผง อัตราส่วนในการผสม อุณหภูมิที่ใช้ในการผสม และการที่ผสมสัมผัสกับความชื้น นอกจากนี้ในการแข็งตัวของเอ็มทีเอต้องอาศัยความชื้นโดยการวางสำลีชุบน้ำหมาด ๆ วางบนผิวเอ็มทีเอ

นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้เมทริกซ์ (matrix) ที่มีความชื้นเพียงพอรองก่อนทำการปิดรอยทะลุบริเวณรอยแยกรากฟัน จะช่วยทำให้เอ็มทีเอมีแรงยึดอยู่ (retention) มากขึ้น เพราะทำให้เอ็มทีเอไหล (flow) ไปตามผนังคลองรากฟันและเกิดความแนบสนิทกับผนังคลองรากฟันได้ดียิ่งขึ้น ส่วนการวางสำลีเปียกหรือแห้งบนผิวเอ็มทีเอ จะไม่มีผลต่อค่าแรงยึดอยู่ (Sluyk และคณะ, 1998)

4. ความแข็งแรงอัด (compressive strength)

พบว่าภายหลังการผสมเอ็มทีเอ 24 ชั่วโมงมีค่า compressive strength 40.0 ± 4.4 MPa และจะมีค่าเพิ่มมากขึ้นเป็น 67.3 ± 6.6 MPa ภายหลังจากการผสม 72 ชั่วโมง แต่น้อยกว่าซูปเปอร์อีพีเอ และอมัลกัมตามลำดับ

5. ความสามารถในการละลายตัว (solubility)

พบว่าไม่มีความแตกต่างของน้ำหนักเอ็มทีเอ ณ เวลาต่าง ๆ กัน (1, 7 และ 21 วัน) โดยการแช่ในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 37°C ความชื้นสัมพัทธ์ 100 % แสดงว่าเอ็มทีเอมีความสามารถในการละลายตัวที่ต่ำ

6. ความสามารถในการป้องกันการรั่วซึม (prevention of microleakage)

การทดสอบความสามารถในการป้องกันการรั่วซึมทำได้หลายวิธี ได้แก่

— วิธีการซึมผ่านของสาร (penetration of tracers) โดยสารที่ใช้ทดสอบมีหลายชนิด เช่น สารกัมมันตรังสี (radioisotopes) สารสี (dye) หรือ เชื้อแบคทีเรีย (bacteria)

- วิธีอิเล็กโตรเคมีคัล (electrochemical)
- วิธี air pressure device
- วิธี fluid transport model

ในปัจจุบันยังไม่มีวิธีทดสอบใดที่เป็นมาตรฐานยอมรับได้ แต่วิธีที่นิยมใช้ในการทดสอบมากที่สุด คือการย้อมสีโดยใช้สีเมธิลีนบลู (methylene blue) ที่มีความเข้มข้น 0.2 % - 2.0 % ในการศึกษาคุณสมบัติในการป้องกันการรั่วซึมของเอ็มทีเอมีการใช้วิธีทดสอบ 3 วิธี ได้แก่ วิธีใช้การซึมผ่านของสี วิธีใช้การซึมผ่านของเชื้อแบคทีเรีย และใช้วิธี fluid filtration model ซึ่งจะกล่าวถึงตามกลุ่มวิธีที่ทดสอบ ดังนี้

6.1. วิธีทดสอบโดยใช้การซึมผ่านของสี (dye leakage model)

จากการศึกษาการรั่วซึมของเอ็มทีเอ เมื่อใช้ปิดรอยทะลุข้างรากฟัน โดยทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการ (in vitro) และใช้วิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูทดสอบดูการรั่วซึม พบว่าวัสดุเอ็มทีเอจะเกิดการรั่วซึมของสีน้อยที่สุด น้อยกว่าไฮอาร์เอ็ม และอมัลกัม ตามลำดับ และยังพบว่ามีการอุดเกินของวัสดุน้อยที่สุด (Lee และคณะ, 1993)

จากการศึกษาการรั่วซึมของเอ็มทีเอเมื่อใช้เป็นวัสดุอุดปลายรากฟัน โดยทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการ (in vitro) ใช้วิธีการย้อมสี rhodamine B fluorescent และใช้ confocal microscope ส่องดูพบว่าวัสดุเอ็มทีเอจะเกิดการรั่วซึมของสีน้อยที่สุด น้อยกว่าซูปเปอร์ซีพีเอและอมัลกัม ตามลำดับ (Torabinejad และคณะ, 1993) และจากการทดสอบโดยวิธีการและวัสดุที่ใช้ทดสอบชนิดเดียวกัน แต่ใช้สีเมธิลีนบลู 1% ทดสอบแทน ผลพบว่าวัสดุเอ็มทีเอไม่มีการรั่วซึมเลย ส่วนอมัลกัมจะมีการรั่วซึมมากที่สุด (Aqrabawi, 2000)

จากการศึกษาผลการปนเปื้อนเลือด ขณะทำการอุดปลายรากฟันต่อการเกิดการรั่วซึมของวัสดุเอ็มทีเอ โดยทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ และใช้สีเมธิลีนบลู 1% ทดสอบ พบว่าภาวะการมีการปนเปื้อนของเลือดขณะอุดปลายรากฟันด้วยเอ็มทีเอ จะไม่มีผลต่อการรั่วซึม แต่ถ้าใช้วัสดุซูปเปอร์ซีพีเอในภาวะที่มีการปนเปื้อนของเลือดจะทำให้เกิดการรั่วซึมมากขึ้น (Torabinejad และคณะ, 1994)

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลของภาวะความเป็นกรด ต่อการเกิดการรั่วซึมของวัสดุอุดปลายรากฟัน ซึ่งทำการศึกษาในห้องทดลอง โดยใช้หมึก pelikan ink ทดสอบ พบว่าภาวะความเป็นกรดไม่มีผลต่อวัสดุอุดปลายฟัน ทั้งอมัลกัม ซูปเปอร์ซีพีเอ และ เอ็มทีเอ แต่กลับลด

แปลงสีของสีฟีนอลเรด นั้นแสดงว่าวัสดุเอ็มทีเอจะเกิดการรั่วซึมน้อยที่สุด น้อยกว่าซูปเปอร์อีพีเอ ไโออาร์เอ็ม และอมัลกัม ตามลำดับ (Fischer และคณะ, 1998)

จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการ เพื่อประเมินความสามารถในการป้องกันการรั่วซึมของวัสดุเอ็มทีเอเมื่อใช้ในการปิดรอยทะลุบริเวณรอยแยกรากฟัน โดยใช้วิธี anaerobic model ซึ่งจะจำลองสถานการณ์เหมือนในช่องปากมากขึ้น และใช้เชื้อ *Fusobacterium nucleatum* ในการทดสอบเนื่องจากเป็นเชื้อที่พบมากในพื้นที่ต้องรักษาคลองรากฟัน และใช้ bromcresol purple เป็นตัวบ่งชี้ (indicator) ผลพบว่าวัสดุเอ็มทีเอจะไม่เกิดการรั่วซึม เมื่อทิ้งไว้นาน 45 วัน ส่วนอมัลกัมนั้นจะเกิดการรั่วซึม (Nakata และคณะ, 1998)

จากการศึกษาคัดค้านกับการศึกษาของ Nakata แต่ดูความสามารถของเอ็มทีเอในการป้องกันการรั่วซึมเมื่อใช้เป็นวัสดุอุดปลายรากฟัน โดยใช้เชื้อ *Streptococcus salivarius* ในการทดสอบและใช้ฟีนอลเรด 0.1 % เป็นตัวบ่งชี้ (indicator) พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในการรั่วซึมของวัสดุเอ็มทีเอ ซูปเปอร์อีพีเอ และอมัลกัม โดยใช้ระยะเวลาในการศึกษานาน 12 สัปดาห์ (Adamo และคณะ, 1999) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาดูการรั่วซึมของสาร endotoxin พบว่าเอ็มทีเอสามารถป้องกันการรั่วซึมได้ดีกว่าอมัลกัม ไโออาร์เอ็ม และซูปเปอร์อีพีเอ (Torabinejad และคณะ, 1997)

การทดสอบโดยวิธีนี้มีปัจจัยหลายอย่างที่มีผลต่อผลการทดลอง เช่น ชนิดของเชื้อที่นำมาใช้ทดสอบ ความมีชีวิตของเชื้อ และระยะเวลาที่ใช้ทดลอง วิธีนี้นับว่าดีแต่ถ้ามีการรั่วซึมของเชื้อไม่ได้บอกปริมาณการรั่วซึมของเชื้อ อีกทั้งการศึกษาส่วนใหญ่ใช้เชื้อเพียงชนิดเดียวทดสอบ แตกต่างกับในช่องปากซึ่งมีเชื้อหลายชนิดและมีความสัมพันธ์ต่อกัน (interaction) นอกจากนี้ภายในช่องปากยังมีของเหลวในร่างกายเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย เช่น เลือด หนอง หรือน้ำลาย

6.3 วิธีทดสอบโดย Fluid filtration model

วิธีนี้นอกจากสามารถบ่งบอกปริมาณการรั่วซึมแล้ว ยังสามารถทำการทดลองซ้ำในตัวอย่างฟันเดิมได้ และมีแรงดันในการกำจัดฟองอากาศที่อาจฝังอยู่ระหว่างวัสดุอุดกับผนังคลองรากฟัน ซึ่งมีผลต่อการเคลื่อนที่ของสี (Derksen และคณะ, 1986)

จากการศึกษาโดยใช้วิธีนี้ทดสอบดูการรั่วซึมเมื่อใช้เอ็มทีเอ ซูปเปอร์อีพีเอ และอมัลกัมเป็นวัสดุอุดปลายรากฟัน ใช้แรงดัน 20 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ใช้เวลาในการทดลองนาน 3

เดือน พบว่าเอ็มทีเอมีการรั่วซึมน้อย ใกล้เคียงกับซูปเปอร์อีพีเอ แต่น้อยกว่าอมัลกัม (Bates และคณะ, 1996)

จากการทดลองในลักษณะเดียวกันแต่ใช้แรงดัน 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ใช้เวลาในการทดลองนาน 6 เดือน พบว่าเอ็มทีเอเกิดการรั่วซึมน้อยกว่าอมัลกัม และอมัลกัมจะเกิดการรั่วซึมมากขึ้นเมื่อเวลาผ่านไปนานขึ้น นอกจากนี้ยังสังเกตพบชั้นบาง ๆ สีขาว บนผิวของเอ็มทีเอ ซึ่งคาดว่ามึบทบาทในการป้องกันการรั่วซึม (Yatsushiro และคณะ, 1998 ; Fogel และคณะ, 2001)

การทดลองที่กล่าวมานั้นทำการศึกษาในฟันมนุษย์ มีการศึกษาดูการรั่วซึมของวัสดุอุดปลายรากฟันโดยใช้ฟันวัว และใช้วิธีการเดียวกันในการประเมินผล ใช้แรงดันในการทดสอบ 0.1 atm (76 mmHg) ค่าแรงดันที่ใช้จะใกล้เคียงกับในคลินิก เนื่องจากวัสดุอุดปลายรากจะอยู่ในเนื้อเยื่อปลายรากฟันที่มีภาวะเลือดออกหรือบวม โดยจะมีแรงดันมากกว่าเส้นเลือดบริเวณปลายรากฟัน ซึ่งปกติมีค่าแรงดันมากกว่า 43.5 mmHg ใช้เวลาในการทดลอง 3 เดือน ผลการศึกษาพบว่าเอ็มทีเอจะเกิดการรั่วซึมมากกว่า อมัลกัม กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ และซูปเปอร์อีพีเอ ตามลำดับ ภายหลังผสม 24 ชั่วโมง และเมื่อเวลาผ่านไป เอ็มทีเอจะเกิดการรั่วซึมน้อย ใกล้เคียงกับกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ แต่น้อยกว่าซูปเปอร์อีพีเอ และอมัลกัมตามลำดับ (Wu และคณะ, 1998)

นอกจากนี้ยังมีอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ในการศึกษาดูรอยรั่วซึม โดยดูจากความแนบสนิทของวัสดุอุดปลายรากฟัน โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning Electron Microscope) ผลพบว่าเอ็มทีเอจะเกิดช่องว่างระหว่างวัสดุกับผนังคลองรากฟันน้อยที่สุด น้อยกว่าอมัลกัม ซูปเปอร์อีพีเอ และไออาร์เอ็ม ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้เป็นการอ่านค่าเพียงระนาบพื้นที่ถูกตัดผ่าน และไม่สามารถบอกถึงความลึกและความต่อเนื่องของช่องว่างที่เกิดขึ้น จึงอาจไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างความแนบสนิทของวัสดุกับความสามารถในการป้องกันการรั่วซึม (Torabinejad, Smith และคณะ, 1995)

คุณสมบัติทางชีวภาพของเอ็มทีเอ (Biological properties of MTA)

1. ความสามารถในการฆ่าหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อ (antibacterial effect)

เอ็มทีเอมีคุณสมบัติในการฆ่าหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Facultative anaerobes* ได้บางชนิดยกเว้น *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus subtilis* นอกจากนี้ยังพบว่าเอ็มทีเอที่เพิ่งผสมเสร็จใหม่ จะมีความสามารถในการฆ่าเชื้อหรือยับยั้งเชื้อได้มากกว่าเมื่อแห้งตัวแล้ว แต่เอ็มทีเอไม่สามารถฆ่าหรือยับยั้งเชื้อ *Strictly anaerobes* ได้ การที่เอ็มทีเอมีความสามารถในการฆ่าหรือยับยั้งเชื้อ *Facultative anaerobes* ได้บางชนิด อาจเป็นผลมา

จากค่าความเป็นต่างที่สูงหรือการปล่อยสารบางอย่างออกมาฆ่าเชื้อก็เป็นได้ (Torabinejad, Hong, Pitt Ford และ Kettering, 1995a)

2. ความสามารถในการเป็นสารก่อมะเร็ง (mutagenicity)

พบว่าเอ็มทีเอไม่เป็นสารก่อมะเร็ง ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของยีน เช่นเดียวกับ ซุปเปอร์อ็อกซีไดไฮดรอกซีไอออน (Kettering และ Torabinejad, 1995)

3. ความเป็นพิษและความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อ (cytotoxicity and biocompatibility)

ในการทดสอบดูความเป็นพิษหรือความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อของเอ็มทีเอ มีการศึกษาทั้งในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) และในสิ่งมีชีวิต (*in vivo*) สำหรับการทดสอบในห้องปฏิบัติการ เป็นวิธีที่นิยมเนื่องจากง่าย รวดเร็ว ค่าใช้จ่ายไม่แพง

การศึกษาในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*)

จากการทดสอบด้วยวิธี agar overlay และวิธี radiochromium released ทดสอบดูความเป็นพิษต่อเซลล์ L929 mouse fibroblast พบว่าเอ็มทีเอที่ผสมเสร็จใหม่ และทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง มีความเป็นพิษมากกว่าอัลมัมกัม แต่น้อยกว่าซุปเปอร์อ็อกซีไดไฮดรอกซีไอออน และไอออนาร์เอ็ม ตามลำดับเมื่อใช้วิธี agar overlay แต่เมื่อใช้วิธี radiochromium released พบว่าเอ็มทีเอมีความเป็นพิษน้อยกว่าอัลมัมกัม ซุปเปอร์อ็อกซีไดไฮดรอกซีไอออน และ ไอออนาร์เอ็มตามลำดับ ซึ่งการทดสอบโดยวิธี agar overlay นั้นมีหลายปัจจัยที่มีผลต่อการทดลอง ได้แก่ อัตราการแพร่ของสารทดสอบผ่านอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ น้ำหนักโมเลกุลของสาร ความสามารถในการละลายน้ำของสาร การสัมผัสโดยตรงระหว่างวัสดุที่ทดสอบกับเซลล์ที่ใช้ทดสอบ ดังนั้นบางครั้งวัสดุที่ทดสอบมีความเป็นพิษมาก แต่มีอัตราการแพร่ผ่านอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อต่ำก็ทำให้เซลล์ในอาหารเลี้ยงเชื้อตายเพียงเล็กน้อย ส่วนการทดสอบโดยวิธี radiochromium released สารใดที่มีความเป็นพิษมากจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ และทำให้เซลล์ปล่อยสาร radioactive chromium ออกมา ทำให้สามารถตรวจพบสาร radioactive chromium ได้ใน สารละลายที่ใช้ในการเลี้ยงเซลล์ (Torabinejad, Hong, Pitt Ford และ Kettering, 1995b)

จากการศึกษาโดยวิธีการวัดความเป็นพิษด้วยสารเอ็มทีที (MTT assay) และวิธี CV assay (Crystal Violet assay) โดยใช้เซลล์ human gingival fibroblast และเซลล์ L929 mouse fibroblast พบว่าเอ็มทีเอเป็นวัสดุอุดปลายรากฟันที่มีพิษน้อยที่สุด เมื่อเทียบกับ อัลมัมกัม ซุปเปอร์

อีปีเอ และคีแทคซิลเวอร์ (Ketac silver) โดยวิธีการวัดด้วยสารเอ็มทีที่เป็นวิธีการที่ใช้วัดความสามารถของเซลล์ที่มีชีวิตในการหายใจระดับเซลล์ โดยดูความสามารถของเซลล์ในการสร้างเอนไซม์ mitochondrial dehydrogenase หากวัสดุมีความเป็นพิษมาก ทำอันตรายต่อเซลล์มาก ทำให้จำนวนเซลล์ลดลง ทำให้เซลล์ที่มีชีวิตที่สามารถสร้างเอนไซม์ชนิดนี้ลดลง ส่วนวิธี CV assay เป็นวิธีการวัดจำนวนเซลล์ใน monolayer culture โดยการใช้สี crystal violet ไปจับกับนิวเคลียสของเซลล์ หากวัสดุมีความเป็นพิษมาก จำนวนเซลล์จะลดลง การติดสีในนิวเคลียสของเซลล์จะลดลงเช่นเดียวกัน (Osario และคณะ, 1998)

จากการศึกษาในลักษณะคล้ายกัน แต่ใช้เซลล์ human periodontal ligament fibroblast แทนเพื่อจำลองให้เหมือนในสภาวะของปลายรากฟัน และใช้สารสกัดจากวัสดุปลายรากฟันในความเข้มข้นต่างๆ กัน เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความเข้มข้นของสารกับการตอบสนองของเซลล์ (dose-response relationship) พบว่าเอ็มทีเอจะมีความเป็นพิษน้อยที่สุด ในขณะที่อมัลกัมจะมีความเป็นพิษมากที่สุด (Keiser และคณะ, 2000)

การศึกษาในสิ่งมีชีวิต (*in vivo*)

เนื่องจากการศึกษาในห้องปฏิบัติการไม่สามารถเลียนแบบสิ่งที่เกิดขึ้นจริงในร่างกาย และไม่สามารถศึกษาปฏิกริยาระหว่างวัสดุกับเนื้อเยื่อร่างกายได้ จึงมีผู้สนใจทำการศึกษาในสัตว์ทดลองแทน โดยการทดลองฝังเอ็มทีเอ และซูปเปอร์อีปีเอ ในกระดูกขากรรไกรล่างหมูนาน 2 เดือน พบว่าเอ็มทีเอ จะทำให้เกิดการอักเสบน้อยกว่าซูปเปอร์อีปีเอ (Torabinejad, Hong, Pitt Ford และคณะ, 1995) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการตอบสนองของเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน เมื่อใช้เอ็มทีเอเป็นวัสดุอุดปลายรากฟันในฟันสุนัข โดยใช้เวลาทดลองนาน 18 เดือน ทำการศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ พบว่าเอ็มทีเอทำให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันน้อยกว่าการใช้อมัลกัม อีกทั้งมีขนาดการอักเสบเล็กกว่า โดยมี fibrous capsule มาหุ้มรอบและมีการสร้างเคลือบรากฟันใหม่บนผิวเอ็มทีเอ และบนหน้าตัดปลายรากฟัน ส่วนการสร้างกระดูกจะเกิดทั้งในกลุ่มที่ใช้ เอ็มทีเอ และอมัลกัม (Torabinejad, Hong, Lee และคณะ, 1995)

จากการทดลองในฟันลิง โดยติดตามผล 5 เดือน (Torabinejad และคณะ, 1997) และการทดลองในสุนัข โดยติดตามผลเป็นระยะเวลา 3 เดือน (Holland และคณะ, 1999b) ให้ผลการทดลองในลักษณะเดียวกัน พบว่าเอ็มทีเอเป็นวัสดุอุดปลายรากฟันที่มีความเป็นพิษต่ำ มีความเข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อร่างกาย และจากการทดลองใช้ เอ็มทีเอเป็นวัสดุในการปิดรอยทะลุด้านข้างรากฟันในฟันสุนัขที่ติดตามผลการรักษาเป็นเวลา 1 และ 6 เดือน พบว่าเอ็มทีเอทำให้เกิดการ

อักเสบของเนื้อเยื่อรอบ ๆ น้อยกว่า และไม่ทำให้เกิดการตายของเนื้อเยื่อที่สัมผัส และทำให้เกิดการสร้างเคลือบรากฟัน (เมื่อดูจากลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์) ในปริมาณมากกว่า (Holland และคณะ, 2001)

4. การตอบสนองของเซลล์และการสร้างเนื้อเยื่อแข็ง (cellular response and hard tissue formation)

การศึกษาในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*)

พบว่าเซลล์สร้างกระดูกสามารถเกาะยึดบนผิวเอ็มทีเอได้ดีกว่าอมัลกัม และไฮอาร์เอ็ม และสังเกตพบว่าเซลล์มีลักษณะแบน และกระจายอยู่ทั่วไปบนพื้นผิวเอ็มทีเอ ซึ่งลักษณะเช่นนี้มีบทบาทต่อการหายของแผล ทำให้แผลหายเร็วกว่าอมัลกัมและไฮอาร์เอ็ม ซึ่งพบการยึดเกาะของเซลล์น้อยและไม่กระจาย (Zhu และคณะ, 2000)

การศึกษาในสิ่งมีชีวิต (*in vivo*)

จากการศึกษาในสุนัข เพื่อศึกษาการตอบสนองของเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันต่อวัสดุเอ็มทีเอ และอมัลกัมที่นำมาใช้เป็นวัสดุอุดปลายรากฟัน (root end filling material) ที่ระยะเวลา 2 - 5 สัปดาห์ และ 10 - 18 สัปดาห์ โดยทำการศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ (histology) พบว่า ในกลุ่มที่ทำการอุดปลายรากฟันด้วยเอ็มทีเอมีการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันน้อยกว่าในกลุ่มที่ใช้อมัลกัมอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังพบว่ามี การสร้างเคลือบรากฟันขึ้นใหม่ในกลุ่มที่ใช้เอ็มทีเอ แต่ไม่พบในกลุ่มที่ใช้อมัลกัม (Torabinejad, Hong, Lee และคณะ, 1995)

จากการศึกษาในสุนัข โดยศึกษาลักษณะจุลกายวิภาคศาสตร์ของฟันที่ได้รับการอุดรอยทะลุบนอกผิวรากฟัน (perforation) ด้วยวัสดุเอ็มทีเอ และอมัลกัม พบว่าเกิดการซ่อมแซมโดยมีการสร้างเคลือบรากฟันขึ้นใหม่ ปิดรอยทะลุที่เกิดขึ้นในกลุ่มที่ใช้วัสดุเอ็มทีเอ ส่วนในกลุ่มที่ใช้อมัลกัม พบว่าเกิดการอักเสบขึ้นโดยที่ไม่พบการสร้างเคลือบรากฟันและการซ่อมแซมใด ๆ (Pitt Ford และคณะ, 1995)

จากการศึกษาในลิงเพื่อทดสอบการตอบสนองของเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันต่อวัสดุเอ็มทีเอ และอมัลกัมที่นำมาใช้เป็นวัสดุอุดปลายรากฟัน ในระยะเวลา 5 เดือน โดยทำการศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ พบว่าในกลุ่มที่ใช้เอ็มทีเอ ไม่พบการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบ

ปลายรากฟัน และพบมีการสร้างเคลือบรากฟันชั้นใหม่ ขณะที่ในกลุ่มที่ใช้อมัลกัมพบเกิดการอักเสบขึ้นรอบ ๆ รอยโรค และไม่พบการสร้างเคลือบรากฟัน (Torabinejad และคณะ, 1997)

จากการศึกษาโดยการฝังวัสดุเอ็มทีเอในกระดูกสะโพก (tibia) และขากรรไกรล่าง (mandible) ในหมู guinea pig และทำการติดตามผลการรักษาเป็นระยะเวลา 80 วัน จากลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ พบว่ามีการสะสมของกระดูก (bone apposition) เกิดขึ้นรอบ ๆ วัสดุเอ็มทีเอที่ฝังไว้ (Torabinejad และคณะ, 1998)

จากการศึกษาในสุนัข โดยทดสอบการตอบสนองของเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันที่ระยะเวลา 6 เดือน โดยใช้วัสดุเอ็มทีเอเป็นซีเมนต์ในการอุดคลองรากฟัน ผลการทดลองไม่พบการอักเสบของเนื้อเยื่อ และพบว่าเกิดการปิดของปลายรากฟัน (Holland และคณะ, 1997) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาในฟันสุนัขที่มีปลายรากเปิด (immature tooth) ทำการติดตามผลเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าเอ็มทีเอสามารถกระตุ้นให้เกิดการปิดของปลายรากฟันและมีการสร้างเนื้อเยื่อแข็งได้ 93 % (Shabahang และคณะ, 1999)

จากการศึกษากระบวนการหายของรอยโรค เมื่อใช้เอ็มทีเอเป็นวัสดุอุดรอยทะลุนอกผิวรากฟันในสุนัข โดยทำการติดตามผลการรักษาเป็นเวลา 30 และ 180 วัน พบว่า เอ็มทีเอทำให้เกิดการสร้างเคลือบรากฟันชั้นใหม่ (Holland และคณะ, 1999b) นอกจากนี้ การทดลองในหนูโดยการฝัง dentin tube ที่อุดด้วยเอ็มทีเอ ในชั้น subcutaneous connective tissue และติดตามดูผลที่ระยะเวลา 7 วัน และ 30 วัน โดยนำมาตัด section ทั้งส่วน calcified และ decalcified ดูพบว่าเอ็มทีเอจะทำให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อแข็งขึ้นโดยมีองค์ประกอบเป็น calcite crystal เช่นเดียวกับการใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ calcite crystal อาจเกิดจากแคลเซียมออกไซด์ที่เป็นองค์ประกอบของเอ็มทีเอไปทำปฏิกิริยากับของเหลวในร่างกายเกิดเป็นแคลเซียมไฮดรอกไซด์ และแคลเซียมไอออนที่เป็นส่วนประกอบอยู่ภายใน ทำให้เกิดการรวมตัวกับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เกิดเป็น calcite crystal ขึ้นมา ซึ่งอาจถือเป็นจุดเริ่มต้นของการเกิดการสร้างเนื้อเยื่อแข็ง (Holland และคณะ, 1999a, 2001)

การผสม

ผงเอ็มทีเอควรเก็บในภาชนะที่กันความชื้น เมื่อใช้งานจึงนำออกมา ผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วนผง : น้ำ เท่ากับ 3 : 1 ใช้พายพลาสติกหรือโลหะก็ได้ และใช้เครื่องมือ เช่น อมัลกัมแครีเออร์ (amalgam carrier) หรือ messing gun นำไปยังตำแหน่งที่ต้องการ หากบริเวณที่ทำงานมีความชื้นหรือเลือดมาก ให้ใช้แท่งกระดาษ (paper point) ชั้บความชื้นหรือเลือดออกก่อน จึงนำ

เอ็มทีเอไปอุด และระวังอย่าฉีดน้ำล้างจะทำให้เอ็มทีเอละลายหลุดออกมาได้ (Torabinejad และ Chivan, 1999 ; Schmitt และคณะ, 2001)

การนำมาใช้ในทางคลินิก(Clinical Applications)

1. การรักษาความมีชีวิตของเนื้อเยื่อในฟัน (Vital pulp therapy) ได้แก่

1.1 การทำ direct pulp capping

การหายของฟันนั้นไม่ขึ้นกับชนิดของวัสดุที่ใช้ แต่ขึ้นกับความสามารถของวัสดุในการป้องกันการรั่วซึม เนื่องจากวัสดุเอ็มทีเอเป็นวัสดุที่มีความสามารถในการป้องกันการรั่วซึมที่ดี จึงนำมาใช้แทนแคลเซียมไฮดรอกไซด์ เพราะนอกจากแคลเซียมไฮดรอกไซด์จะมีการละลายตัวที่สูง ยังมีความแข็งแรงเมื่อแข็งตัวต่ำกว่าเอ็มทีเอ (Cox และคณะ, 1985) การศึกษาการตอบสนองของเนื้อเยื่อในโพรงฟัน เมื่อใช้เอ็มทีเอ และไดแคล (Dycal) เป็นวัสดุปิดรอยทะลุโพรงเนื้อเยื่อในฟัน โดยทำการทดลองในฟันสุนัข และฟันลิง โดยทำให้เกิดรอยทะลุขนาด 0.5 – 1 มิลลิเมตร ติดตามดูผลการรักษานาน 2 – 5 เดือน พบว่าเอ็มทีเอจะกระตุ้นให้มีการสร้างเนื้อเยื่อแข็งขึ้นในปริมาณมากกว่าไดแคล และเนื้อเยื่อแข็งที่สร้างจะมีลักษณะเป็นท่อ (tubular) ต่อเนื่องกับเนื้อฟันเดิมไม่มี tunnel defect และทำให้เนื้อเยื่อในโพรงฟันเกิดการอักเสบน้อยกว่า (Myers และคณะ, 1993 ; Abedi และคณะ, 1996 ; Faraco และ Holland, 2001) นอกจากนี้ยังพบว่า วัสดุเอ็มทีเอจะกระตุ้นให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อแข็งในสัปดาห์ที่ 2 และทำให้เกิดการอักเสบน้อยกว่าการใช้ไดแคล (Dycal) ซึ่งจะเกิดการสร้างเนื้อเยื่อแข็งในสัปดาห์ที่ 4 (Junn และคณะ, 1998)

การนำมาใช้ทางคลินิก แนะนำให้ใช้ในฟันปลายรากเปิดไม่มีอาการเนื้อเยื่อในโพรงฟันอักเสบภายหลังกำจัดฟันผุออกหมดให้ล้างและทำการห้ามเลือดด้วยน้ำยา 5.25% โซเดียมไฮโปคลอไรต์เมื่อเลือดหยุดนำเอ็มทีเอที่ผสมตามอัตราส่วน ปิดบริเวณรอยทะลุหนา 1 – 1.5 มิลลิเมตร และใช้ล้าสีชุบน้ำหมาดๆ วางบนผิวด้านบน ปิดทับด้วยวัสดุอุดชั่วคราว ; Schmitt และคณะ, 2001)

1.2 การรักษาเนื้อเยื่อในฟันส่วนต้น (pulpotomy)

แนะนำให้ทำให้ฟันปลายรากเปิด ไม่มีอาการเนื้อเยื่อในโพรงฟันอักเสบ (Torabinejad และ Chivan, 1999) การศึกษาเปรียบเทียบผลการใช้เอ็มทีเอและสารฟอร์โมครีซอล (formocresol) ในการทำ pulpotomy ในฟันน้ำนมที่ทะลุโพรงเนื้อเยื่อในฟัน ติดตามผลการรักษานาน 6 –30 เดือน ประเมินผลจากอาการทางคลินิกและภาพรังสี พบว่าเมื่อใช้เอ็มทีเอ ไม่ทำให้เกิดการละลายตัวของผนังด้านในคลองรากฟัน (internal resorption) ซึ่งเป็นผลตามมาจากการ

ใช้ฟอร์โมครีซอล เพราะการมียูจีนอล (eugenol) เป็นส่วนประกอบ แต่จะทำให้เกิดการตีบตันของคลองรากฟัน (pulp obliteration) ถึง 41 % มากกว่าการใช้ฟอร์โมครีซอล ซึ่งมีโอกาสเกิด 13% ทั้งนี้เป็นผลมาจากการกระตุ้นการทำงานของเซลล์โอดอนโตบลาส (odontoblast) นอกจากนี้ ยังลดเวลาในการทำงานโดยไม่เสียเวลาในการ fixed pulp (Eidelman และคณะ, 2001)

ในการทำ prophylactic partial pulpotomy ในคนไข้ฟัน dens evaginatus และจำเป็น ต้องถอนเพื่อการจัดฟัน ติดตามผลภายหลังการรักษา 6 เดือน พบว่า จะเกิดการสร้าง dentin bridge ขึ้นอย่างต่อเนื่องได้วัสดุเอ็มทีเอและไม่ทำให้เนื้อเยื่อในโพรงฟันข้างใต้เกิดการอักเสบ แต่แนะนำให้กรอให้มีความลึกอย่างน้อย 5 มิลลิเมตร เพื่อเป็นที่อยู่ของเอ็มทีเอ และวัสดุ (Koh และ คณะ, 2001)

การนำมาใช้ภายหลังกำจัดเนื้อเยื่อในโพรงฟันในส่วนตัวฟันออกหมดแล้ว ให้ทำการห้าม เลือดด้วยสำลีชุบน้ำยาไฮโปคลอไรต์ และนำเอ็มทีเอที่ผสมตามอัตราส่วนปิดบริเวณโพรง



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เนื้อเยื่อในฟัน และนำสำลีชุบน้ำหมาด ๆ วางก่อนจะปิดด้วยวัสดุอุดชั่วคราว ๆ หลังจากนั้น 1 สัปดาห์ นัดคนกลับมา เปลี่ยนวัสดุอุดถาวร (Koh และคณะ, 2001)

2. การกระตุ้นให้เกิดการปิดของปลายรากฟัน (apexification)

ในการรักษาฟันที่ตายและปลายรากเปิดนั้น นิยมทำโดยการใส่แคลเซียมไฮดรอกไซด์ เพื่อกระตุ้นให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อแข็ง (hard tissue barrier) และให้เกิดจุดหยุดที่ปลายรากฟัน (apical stop) ก่อนการอุดรากฟัน การรักษาโดยวิธีนี้มีข้อเสียคือ ใช้ระยะเวลาในการรักษานาน และผลการรักษาไม่แน่นอน จึงมีการพัฒนาสารอื่นมาใช้สร้างให้เกิดจุดหยุดที่ปลายรากฟันแทน เช่น สาร Bone Morphogenic proteins (BMPs) หรือ วัสดุเอ็มทีเอ

มีการศึกษาเปรียบเทียบการใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ เอ็มทีเอ สาร Transforming Growth Factor β (TGF- β) และสาร Insulin – like growth factor – 1 (IGF-1) ในการกระตุ้นให้ปลายรากฟันปิด โดยทำการทดลองในฟันสุนัข และติดตามผลนาน 9 เดือน พบว่า จะเกิดการสร้างเนื้อเยื่อแข็งขึ้นทั้งสองกลุ่ม โดยกลุ่มที่ใช้เอ็มทีเอจะเกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันน้อยกว่า (Title และคณะ, 1996)

มีการศึกษาในลักษณะเดียวกัน ในฟันสุนัข แต่ใช้ osteogenic protein – 1 (OP – 1) แทนการใช้ BMPs ติดตามผลนาน 12 สัปดาห์พบว่าเอ็มทีเอจะมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการสร้างเนื้อเยื่อแข็งถึง 93% ในขณะที่แคลเซียมไฮดรอกไซด์ และ OP – 1 ประสิทธิภาพในการสร้างเนื้อเยื่อแข็งเพียง 38.5% ส่วนปริมาณเนื้อเยื่อแข็งที่สร้างขึ้นพบว่าในกลุ่มที่ใช้เอ็มทีเอและ OP – 1 จะกระตุ้นให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อแข็งได้มากเป็น 2 เท่า เมื่อเทียบกับการใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ (Shabahang และคณะ, 1999)

รายงานการใช้เอ็มทีเอเป็นแผ่นกั้นสังเคราะห์ (artificial barrier) ใน ฟันหน้าบนที่มีรูเปิดของตุ่มหนอง หลังจากใส่ยาแคลเซียมไฮดรอกไซด์จนตุ่มหนองปิดแล้ว หลังจากติดตามผลการรักษานาน 9 และ 20 เดือน พบว่า ฟันไม่มีอาการของการอักเสบ ไม่มีรอยโรครอบปลายฟัน (Schwartz และคณะ, 1999)

ในการนำมาใช้ ภายหลังจากกำจัดเนื้อเยื่อในโพรงฟันออกหมด ให้ล้างและใส่ยาแคลเซียมไฮดรอกไซด์นาน 1 สัปดาห์ ทำการผสมเอ็มทีเอตามอัตราส่วนที่บริษัทกำหนด และนำใส่ในคลองรากฟันเพื่อเป็นจุดหยุดปลายรากฟัน (apical stop) ใช้ด้านท้ายของกระดาดซี่หรือปลั๊กเกอร์ (plugger) ช่วยอุดสร้างให้เกิดแผ่นกั้น (barrier)หนา 3 – 4 มิลลิเมตร และใช้สำลีชุบน้ำ

หมาด ๆ วางบนผิวด้านบน อุดปิดชั่วคราว และทิ้งไว้นานอย่างน้อย 3 – 4 ชั่วโมง จึงนัดมาอุดคลองรากฟันต่อ อย่างไรก็ตามบางครั้งอาจใช้เอนิเมทีโอเปิดส่วนช่องทางเปิดเข้าสู่คลองรากฟันทั้งหมดแต่ไม่แนะนำสำหรับการรักษาฟันหน้า เนื่องจากสารบางตัวในเอนิเมทีโอจะซึมผ่านตัวฟันเข้าไปทำให้ฟันเปลี่ยนสีมีสีคล้ำ (Torabinejad และ Chivan, 1999; Schmitt, 2001)

3. การรักษารอยทะลุผิวบนกรากฟัน (root perforation)

การเกิดรอยทะลุผิวบนกรากฟันนั้น เป็นสาเหตุอันดับสองของความล้มเหลวในการรักษา รากฟันและ 9.6% ของฟันที่รักษารากฟันแล้วล้มเหลวเกิดจากการมีรอยทะลุกรากฟัน (Ingle, 1969) หากเราสามารถทำการปิดรอยทะลุกรากฟันโดยเร็วที่สุด จะทำให้การพยากรณ์โรคดีขึ้น นอกจากนี้วัสดุที่ใช้ในการปิดรอยทะลุมีผลต่อการเกิดการยึดเกาะขึ้นมาใหม่ของอวัยวะปริทันต์ (Bryan, 1999) สำหรับคุณสมบัติของวัสดุปิดรอยทะลุที่ดีมีดังนี้ สามารถป้องกันการรั่วซึมได้ดี มีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อร่างกาย ไม่ละลายตัว กระตุ้นให้มีการสร้างกระดูกและเคลือบรากฟัน ไม่เป็นสารก่อมะเร็ง ใช้งานง่าย และราคาไม่แพง (Johnson, 1999) เนื่องจากเอนิเมทีโอมีคุณสมบัติในการป้องกันการรั่วซึมที่ดี และเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อร่างกาย จึงมีการนำเอนิเมทีโอมาใช้ในงานปิดรอยทะลุผิวบนกรากฟัน

การศึกษาการตอบสนองของเนื้อเยื่อบริเวณรอยแยกของรากฟันในฟันสุนัข เมื่อใช้เอนิเมทีโอ และอมัลกัมเป็นวัสดุปิดรอยทะลุ ติดตามผลการรักษานาน 4 เดือน พบว่า เมื่อใช้เอนิเมทีโอปิดรอยทะลุทันที จะทำให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบรากฟันน้อยกว่าเมื่อทิ้งไว้แล้วจึงมาปิดรอยทะลุ แต่อย่างไรก็ตามจะเกิดการอักเสบน้อยกว่าการใช้อมัลกัมปิด นอกจากนี้จากลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ยังพบการสร้างเคลือบรากฟันบนผิวเอนิเมทีโอ แต่ไม่พบบนผิวอมัลกัม (Pitt Ford และคณะ, 1995)

รายงานผู้ป่วย 2 ราย ที่นำเอนิเมทีโอมาใช้ในการปิดรอยทะลุบริเวณพื้นโพรงเนื้อเยื่อในฟัน หลังจากการติดตามผลการรักษาในระยะเวลา 1 ปี พบว่ามีการหายของเงาดำบริเวณรอยแยก ราก ของฟันโพรงเนื้อเยื่อในฟัน (Aren และ Torabinejad, 1996) นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้เอนิเมทีโอ ปิดรอยทะลุบริเวณพื้นโพรงเนื้อเยื่อในฟัน และด้านข้างรากฟัน หลังจากติดตามผลการรักษานาน 6 เดือน พบว่า มีการหายของรอยโรค และไม่มีอาการของการอักเสบ (Schwartz และคณะ, 1999)

4. การนำมาใช้เป็นวัสดุอุดปลายราก (root – end filling material)

ตามปกติเมื่อเกิดความล้มเหลวของการรักษาคลองรากฟัน นิยมแก้ไขโดยวิธีการรักษารากฟันซ้ำแบบไม่ผ่าตัด (non – surgical retreatment) แต่ในบางกรณี เช่น ฟันที่เคยรักษารากฟันซ้ำแล้ว หรือในฟันที่ปากเดียวฟันขนาดใหญ่และมีครอบฟันในสภาพดี หากข้อเดียวจะเสี่ยงต่อรากแตก ต้องพิจารณาทำการรักษารากฟันซ้ำโดยการผ่าตัดแทน (Surgical endodontics) ซึ่งบางกรณีจะมีการใช้วัสดุอุดปิดปลายรากฟัน เพื่อให้เกิดความแนบสนิท และป้องกันการรั่วซึม เนื่องจากการละลายตัวของซีเมนต์อุดคลองรากฟัน มีรายงานผู้ป่วยที่นำเอมทิโอมาใช้เป็นวัสดุอุดปลายรากฟันในฟันที่มีเงาดำขนาดใหญ่ และมีเดือยชนิดเกลียวขนาดใหญ่ หลังจากติดตามผลการรักษานาน 15 เดือน พบว่ามีการหายของรอยโรคครอบรากฟัน (Torabinejad และ Chivan, 1999)

5. อื่น ๆ

จากผลการศึกษาเปรียบเทียบการใช้ เอ็มทีเอ ไออาร์เอ็ม และซิงค์ฟอสเฟตซีเมนต์ ในการทำเป็นแผ่นกั้น (barrier) ในการฟอกสีฟัน ซึ่งใช้น้ำยาซูเปอร์ออกซอล (superoxol) และโซเดียมเปอร์โบเรต (sodium perborate) พบว่า เมื่อใช้เอ็มทีเอจะทำให้เกิดการรั่วซึมของน้ำยาน้อยที่สุด แต่ต้องรออย่างน้อย 3 – 4 ชั่วโมง ให้เอ็มทีเอแข็งตัวเต็มที่จึงจะทำการฟอกสีฟันได้ และ เอ็มทีเอจะต้องมีความหนาอย่างน้อย 3 – 4 มิลลิเมตร (Cummings และ Torabinejad, 1995)

มีรายงานการใช้เอ็มทีเอในการบูรณะฟันที่มีรากหักในแนวนอน (horizontal root fracture) โดยใช้เอ็มทีเอเป็นตัวยึดและเป็นแผ่นกั้น (barrier) ในชั้นส่วนเหนือต่อรอยแตกหัก แล้วจึงทำการอุดรากฟันตามปกติ ติดตามผลการรักษานาน 6 เดือน พบว่า ฟันไม่มีการอักเสบใด ๆ (Schwatz และคณะ, 1999)

วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ (Glass Ionomer Cement)

กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ถูกค้นพบและแนะนำครั้งแรกโดย Wilson และ Kent ในปี ค.ศ. 1972 (Wilson และ Kent, 1972) ด้วยการปรับปรุงคุณสมบัติจากซิลิเกตซีเมนต์ (silicate cement) และซิงค์โพลีคาร์บอกซีเลตซีเมนต์ (zinc polycarboxylate cement) ที่มีข้อดีคือความสวยงามและการยึดติดกับเนื้อฟัน กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ถูกผลิตขึ้นจำหน่ายครั้งแรกในชื่อ “ASPA” ซึ่งย่อมาจากอักษรตัวแรกของส่วนผสม คือ ส่วนผงที่เป็นผลึกแก้วอะลูมิเนียมซิลิเกต (aluminosilicate glass) และส่วนของเหลวที่เป็นกรดโพลีอะคริลิก (polyacrylic acid) ASPA ถูกผลิตขึ้นโดยบริษัท Detrey ในประเทศสวิตเซอร์แลนด์ ต่อมาบริษัท Detrey ได้ปรับปรุง ASPA ด้วยการเพิ่มกรดโพลีอะคริลิก เพื่อเพิ่มความแข็งแรงยึดตัว (flexural strength) และความต้านทานการสึกกร่อน (wear resistance) แต่ทำให้ส่วนเหลวมีความหนืดเพิ่มขึ้น เนื่องจากกรด

โพลีอะคริลิกมีน้ำหนักโมเลกุลมาก ผสมยาก และมีอายุการใช้งานสั้น จึงได้ผลิตเคมีฟิล (Chemfil) ด้วยการทำให้กรดโพลีอะคริลิกแห้งเป็นผงผสมรวมกับแก้ว (glass) ในส่วนผง เมื่อจะใช้งานให้ผสมกับส่วนเหลวที่เป็นน้ำหรือกรดทาร์ทาริก (tartaric acid) เรียกว่าวัสดุตั้งกล่าวว่า “วอเตอร์ฮาร์ดเดนนิ่งซีเมนต์” (water hardening cement) (McLean และคณะ, 1984) ต่อมาบริษัท ESPE ในเยอรมันผลิต เคแทคฟิล (Ketac fil) และซีลอนฟิล (Chelon fil) ซึ่งเป็นวอเตอร์ฮาร์ดเดนนิ่งซีเมนต์เช่นเดียวกัน ส่วนบริษัท GC Corporation ผลิตฟูจิทู (Fuji II) และบริษัท Shofu ในญี่ปุ่น ผลิตไฮบอนด์ (Hy – bond) ซึ่งผสมแทนนินฟลูออไรด์ (tannin fluoride) กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่ผลิตในช่วงแรกนำมาใช้เป็นวัสดุอุดฟันหน้าและอุดคอฟัน เพื่อป้องกันฟันผุและการเสียวฟัน

ส่วนประกอบของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ (McLean และ Wilson, 1988)

วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีจำหน่ายในปัจจุบัน มีส่วนประกอบที่ซับซ้อนและแตกต่างกันมาก วัสดุที่มีส่วนประกอบต่างกันจะมีคุณสมบัติที่แตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตาม องค์ประกอบหลักจะเหมือนกัน คือ อยู่ในรูปของส่วนผงและส่วนเหลว ซึ่งเวลาใช้จะนำสองส่วนนี้มาผสมเข้าด้วยกัน

ส่วนผง : เป็นผลึกแก้วแคลเซียมอะลูมิโนซิลิเกตที่มีฟลูออไรด์ผสมด้วย (calcium alumino – silicate glass containing fluoride) ส่วนประกอบที่สำคัญของแก้วคือ ซิลิกา (silica; SiO_2) อะลูมินา (alumina; Al_2O_3) และแคลเซียมฟลูออไรด์ (calcium fluoride; CaF_2) ทั้ง 3 ส่วนนี้เป็นส่วนประกอบหลักที่มีมากกว่าร้อยละ 70 ของผลึกแก้ว นอกจากนี้ยังมีส่วนประกอบอื่น ๆ อีก เช่น ไครโอไลท์ (cryolite; Na_3AlF_6) อะลูมิเนียมฟอสเฟต (aluminium phosphate; AlPO_4) และโซเดียมฟลูออไรด์ (sodium fluoride; NaF) ดังนั้นผลึกแก้วนี้อาจเรียกว่า แคลเซียมฟลูออโรอะลูมิโนซิลิเกต (calcium fluoroalumino silicate glass) (Barry และคณะ, 1979)

ส่วนประกอบทั้งหมดจะถูกเผาที่ $1100\text{ }^{\circ}\text{C}$ ถึง $1500\text{ }^{\circ}\text{C}$ จนหลอมเหลว จากนั้นจะถูกทำให้เย็นลงทันทีโดยการเทลงบนแผ่นโลหะหรือเทลงในน้ำ แล้วนำมาบดให้เป็นผงที่มีขนาดตามวัตถุประสงค์การใช้ โดยขนาดสำหรับใช้เป็นวัสดุบูรณะฟันมีขนาดประมาณ 50 ไมครอน แต่ถ้าใช้เป็นวัสดุยึดครอบฟัน (luting cement) จะมีขนาดประมาณ 20 ไมครอน (Barry และคณะ, 1979)

ส่วนเหลว : ประกอบด้วยกรดโพลีอัลคีนอิก (polyalkenoic acid) ที่เป็นโพลีอิลคไตรไลท์ โดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนประกอบที่เป็นกรด และส่วนประกอบที่เป็นน้ำ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับส่วนผสมของแต่ละบริษัท ปัจจุบันมีการเตรียมกรดให้แห้งผสมในส่วนผง กรดที่เป็นตัวหลัก คือ กรดโพลีอะคริลิก (polyacrylic acid) หรือโคโพลีเมอร์ของกรดโพลีอะคริลิกกับกรดอิทาโคนิก (itaconic acid) หรือกรดมาเลอิก (maleic acid) (Barry และคณะ, 1979)

ปฏิกิริยาการแข็งตัวของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์

ปฏิกิริยาการแข็งตัวของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์จัดเป็นปฏิกิริยากรด - ด่าง (acid - base reaction) ระหว่างแก้วซึ่งสามารถปลดปล่อยไอออนได้ (ion - leachable glass) กับกรดโพลีอะคริลิก โดยเริ่มจากเมื่อผสมส่วนผงและส่วนเหลวเข้าด้วยกัน ส่วนของแก้วแคลเซียมฟลูออไรอะลูมิเนียมซิลิเกต จะทำปฏิกิริยากับกรดโพลีอะคริลิก ทำให้เกิดการแตกตัวเป็นอิสระของไอออนโลหะ (metal ions) และกรดซิลิซิก (silicic acid) ซึ่งจะกลายเป็นซิลิกาเจล (silica gel) ในเวลาต่อมาส่วนของไฮโดรเจนไอออน (H^+) จากกรดโพลีอะคริลิกจะเข้าไปแทนที่แคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) อะลูมิเนียม (Al^{3+}) และฟลูออไรด์ไอออน (F^-) ในส่วนผง และทำปฏิกิริยากับซิลิกาได้เป็นซิลิคัสไฮโดรเจล (silicous hydrogel) ล้อมรอบแกนที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยา (glass core) ส่วนแคลเซียมไอออน และอะลูมิเนียมไอออนที่ถูกปล่อยออกมาจากผงแก้วจะทำปฏิกิริยาไอออนิก (ionic reaction) กับสายโพลีอะคริลิกเกิดเป็นแคลเซียมและอะลูมิเนียมโพลีซอลท์หรือเมทริกซ์ (calcium and aluminium polysalt or matrix) ซึ่งมีความเป็นกลางและไม่ละลายน้ำ ซิลิคัสไฮโดรเจลจะทำหน้าที่เป็นตัวยึดเมทริกซ์ให้ติดกับแกนแก้วซึ่งเป็นส่วนผงที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยา โดยในระยะแรกจะเป็นเมทริกซ์ของแคลเซียมโพลีอะคริเลต (calcium polyacrylate) แต่ในระยะหลังจะกลายเป็นอะลูมิเนียมโพลีอะคริเลต (aluminium polyacrylate) ซึ่งมีความเสถียรมากกว่า สุดท้ายแล้วโครงสร้างของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่แข็งตัวเต็มที่จะประกอบด้วยแกนแก้วที่มีซิลิคัสไฮโดรเจลล้อมรอบกระจายอยู่ในส่วนของโพลีซอลท์เมทริกซ์ ซึ่งเป็นส่วนของแคลเซียมและอะลูมิเนียมโพลีอะคริเลต (Wilson, 1989)

กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีการแข็งตัวไม่เต็มที่ จะมีความไวต่อการสูญเสียและดูดซับน้ำ ถ้ากลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์เกิดการสูญเสียน้ำระหว่างกำลังเกิดปฏิกิริยา จะทำให้ปฏิกิริยาการแข็งตัวหยุดหรือช้าลง ทำให้เกิดการหดตัวและรอยร้าวขึ้นในเนื้อวัสดุ ทำให้กลาสไอโอโนเมอร์

ซีเมนต์มีความแข็งแรงลดลง หรือถ้ากลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ได้รับความชื้นหรือน้ำจะเกิดการบวม น้ำ และมีความแข็งแรงลดลง เนื่องจากการแข็งตัวในระยะแรกของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์มีน้ำเป็นองค์ประกอบ 2 รูป คือ น้ำที่เป็นพันธะหลวม (loosely bound water) ระเหยได้ในอากาศที่แห้ง และน้ำที่เป็นพันธะแน่น (tightly bound water) อยู่ในโครงสร้างของซีเมนต์ ซึ่งไม่เกิดการระเหยในอากาศ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องรักษาสมดุลของน้ำในกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ โดยใช้เจลินเป็นสารเคลือบผิว การเกิดปฏิกิริยาการแข็งตัวเต็มที่อย่างสมบูรณ์ของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ใช้เวลานาน ความอ่อนนุ่ม (plasticity) จะลดลง ความแข็งผิวและความแข็งตัวจะเพิ่มขึ้น เมื่ออัตราส่วนของน้ำที่เป็นพันธะแน่นต่อน้ำที่เป็นพันธะหลวมเพิ่มมากขึ้น (Crisp และ Wilson, 1974; Barry และคณะ, 1979)

กลไกการยึดเกาะของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์

คุณสมบัติที่สำคัญอย่างหนึ่งของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ คือ ความสามารถในการยึดเกาะกับฟัน วัสดุบูรณะฟัน รวมทั้งโลหะบางชนิด กลไกที่แท้จริงของการยึดเกาะกับฟันนั้นยังไม่เป็นที่แน่ชัด แต่เชื่อว่าเป็นการยึดด้วยพันธะเคมี (chemical bond) จากการยึดติดกับไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) เป็นหลัก ดังนั้นจึงพบว่าการยึดกับเคลือบฟัน (enamel) มีความแข็งแรงกว่าการยึดกับเนื้อฟัน (dentin) เนื่องจากเคลือบฟันมีไฮดรอกซีอะพาไทต์เป็นส่วนประกอบร้อยละ 98 มากกว่าเนื้อฟันที่มีไฮดรอกซีอะพาไทต์เป็นส่วนประกอบร้อยละ 70 (McLean, 1980)

การยึดเกาะกับเคลือบฟัน

เคลือบฟันมีองค์ประกอบเป็นอนินทรีย์สาร (inorganic) มากกว่าอินทรีย์สาร (organic) มีผู้เสนอแนวความคิดเกี่ยวกับการยึดเกาะของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์กับเคลือบฟันมากมาย เช่น Wilson และคณะในปี 1983 เสนอว่าสายโพลีแอซิด (polyacid chain) ที่เข้ามาทำปฏิกิริยาจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงแบบแทนที่ฟอสเฟตออร์แกนิกบนเคลือบฟัน (enamel) โดยมีกลุ่มคาร์บอกซิลเข้ามาแทนที่ฟอสเฟตออร์แกนิก รวมทั้งมีการเคลื่อนตัวของแคลเซียมออร์แกนิกเพื่อทำให้เกิดความเป็นกลางทางประจุไฟฟ้า ส่วนฟอสเฟตออร์แกนิกและแคลเซียมออร์แกนิกที่เคลื่อนที่ออกมานั้น จะออกมาอยู่ในชั้นระหว่างซีเมนต์และเคลือบฟัน โดยมีอัตราส่วนอะตอมระหว่างแคลเซียมและฟอสฟอรัส (atomic ratio) = 1 : 0.99 (Wilson และคณะ, 1983)

การยึดเกาะกับเนื้อฟัน

ในส่วนของเนื้อฟันจะมีองค์ประกอบของอินทรีย์สาร ซึ่งประกอบด้วยคอลลาเจน (collagen) เป็นส่วนใหญ่ การเกิดปฏิกิริยายังไม่เป็นที่แน่ชัดว่า การยึดเกาะกับเนื้อฟันเป็นการยึดอยู่กับคอลลาเจน หรือไฮดรอกซีอะปาไทต์ บางคนเชื่อว่าการยึดจะเกิดกับส่วนของไฮดรอกซีอะปาไทต์เท่านั้น (Beech, 1973) แต่บางคนเชื่อว่ามี การยึดในส่วนของคอลลาเจนด้วยพันธะไฮโดรเจนและพันธะอิออนิก เพราะคอลลาเจนมีส่วนประกอบที่เป็นทั้งกลุ่มอะมิโน (amino group) และกลุ่มคาร์บอกซิลด้วย (Wilson และคณะ, 1983)

วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน หรือกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดบ่มตัวด้วยแสง (Resin Modified Glass Ionomer Cement or Light – Cured Glass Ionomer Cement)

กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (conventional glass ionomer cement) หรือกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดบ่มตัวด้วยเคมี (chemical – cured glass ionomer cement) มีข้อจำกัดในการใช้งานทางคลินิกหลายประการ เช่น มีระยะเวลาการทำงาน (working time) สั้น เวลาในการก่อตัว (setting time) นาน ไรต่อการได้รับความชื้นและน้ำในระยะแรกของปฏิกิริยาการก่อตัว มีความเปราะ ไม่แข็งแรง สีไม่สวย ค่าการยึดติดแบบเฉือน (shear bond strength) และค่าพลังงานแตกหัก (fracture toughness) น้อย ความต้านทานการสึกกร่อน (wear resistance) ต่ำ (Smith, 1990; Mount, 1994) การพัฒนาของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดบ่มตัวด้วยเคมีเป็นกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดบ่มตัวด้วยแสงสามารถแก้ไขข้อจำกัดต่าง ๆ ได้ กล่าวคือ มีเวลาการทำงานนานขึ้น สามารถควบคุมเวลาการก่อตัวได้ด้วยการฉายแสง มีความไวต่อการได้รับและสูญเสียน้ำลดลง ตลอดจนมีคุณสมบัติทางกายภาพดีขึ้น (Mitra, 1991; Croll, 1992)

เนื่องจากข้อด้อยของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดแบบดั้งเดิม ทำให้มีการเริ่มปรับปรุงคุณสมบัติของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ให้มีความแข็งแรงขึ้นด้วยการเพิ่มส่วนอะลูมินา หรือเพิ่มสัดส่วนระหว่าง Al_2O_3 และ SiO_2 หรือการเพิ่มกลุ่มของกลาสที่มีความแตกต่างกัน เช่น ฟลูออไรด์ (fluoride; CaF_2) คอร์รันดัม (corundum; Al_2O_3) รูไทท์ (rutile; TiO_2) ไทอีไลท์ (teillite; Al_2TiO_3) (Prosser และคณะ, 1986) นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาคุณสมบัติทางกายภาพด้วยการเติมโลหะบางชนิด เช่น โลหะเงิน (silver) เพื่อเพิ่มความแข็งแรงให้กับกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์เกิดเป็นกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดเพิ่มความแข็งแรงด้วยโลหะ (metal – reinforced glass ionomer cement)

ส่วนประกอบของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

จากแนวคิดที่ต้องการให้เกิดการแข็งตัวทันที เพื่อลดความไวต่อการสัมผัสความชื้น เพื่อทำให้เกิดความสะดวกในการใช้งานมากขึ้น ทำให้เกิดการพัฒนาเป็นกลาสไอโอโนเมอร์ชนิดบ่มตัวด้วยแสง (light – cured glass ionomer cement) ซึ่งมีส่วนประกอบ คือ ส่วนผง และส่วนเหลว เช่นเดียวกับกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดบ่มตัวด้วยเคมี

ส่วนผงประกอบด้วย ฟลูออโรอะลูมิเนียมซิลิเกตกลาส (fluoroaluminosilicate glass) เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งจะคล้ายกับกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดบ่มตัวด้วยเคมี นอกจากนี้ยังอาจมีส่วนผสมของเม็ดสี (pigment) และสารกระตุ้นปฏิกิริยา (activator) ซึ่งจะกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาโพลีเมอร์ไรเซชัน (polymerization)

ส่วนเหลวประกอบด้วยกรดโพลีอะคริลิก (polyacrylic acid) ที่ถูกดัดแปลงโดยเปลี่ยนกลุ่มคาร์บอกซิล (carboxyl group) ในบางตำแหน่งเป็นกลุ่มเมธาคริเลต (metacrylate group) สารเริ่มปฏิกิริยา (initiator) และสารกระตุ้นปฏิกิริยา เช่น แคมโฟโรควิโนน (camphoroquinone) โซเดียมพี – โทลูอีนซัลเฟต (sodium p – toluenesulphenate) และเอทิล – 4 – เอ็น – ไดเมทิลอะมิโน – เบนโซล (ethyl – 4 – n – dimethyl aminobenzole) นอกจากนี้บางผลิตภัณฑ์อาจเติม 2 - ไฮดรอกซีเอทิลเมธาคริเลต (2 – hydroxyethyl methacrylate) ซึ่งจะมีส่วนช่วยในการเกิดปฏิกิริยาโพลีเมอร์ไรเซชัน (Croll,1992; Mitra, 1991) ขณะที่กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดบ่มตัวด้วยเคมี มีตัวเริ่มต้นได้แก่กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) ตัวกระตุ้นได้แก่ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) และคอปเปอร์ซัลเฟต (copper sulfate) การแทนที่ส่วนน้ำด้วยโมโนเมอร์ที่ละลายน้ำ (water – soluble monomer) จะช่วยเพิ่มเวลาในการทำงาน ทำให้สามารถควบคุมเวลาการแข็งตัวได้ โดยที่ไฮดรอกซีเอทิลเมธาคริเลตทำหน้าที่เป็นโพลีเมอร์ (polymer) และโคโพลีเมอร์ (copolymer) กับโพลีอะคริลิกแอซิดที่ถูกดัดแปลง เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยแสงอนุมูลอิสระจากกลุ่มเมธาคริเลตจะเกิดปฏิกิริยาโพลีเมอร์ไรเซชัน

มีผู้แนะนำกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินที่เกิดจากการเติมเรซินในกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดแบบดั้งเดิม ช่วยให้ผสมซีเมนต์เป็นเพสต์ (paste) ได้ง่าย ช่วยยืดเวลาในการใช้งาน ช่วยทำให้เกิดการแข็งตัวอย่างรวดเร็วโดยเร่งให้เกิดการตกตะกอนเป็นผลึกเร็วขึ้น ช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้กับกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ด้วยโครงสร้างที่ซับซ้อนแข็งแรงของอะลูมิเนียม (Mathis และ Ferrancane, 1989)

ปฏิกิริยาการแข็งตัวของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

ปฏิกิริยาการแข็งตัวของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน หรือชนิดบ่มตัวด้วยแสงแบ่งได้เป็น 2 ปฏิกิริยา หรือเป็นปฏิกิริยาชนิดคู่ควบ (dual cured) คือ ปฏิกิริยากกรด - ต่าง (acid - base reaction) และปฏิกิริยาโพลีเมอร์ไรเซชัน (polymerization)

ปฏิกิริยากกรด - ต่าง เกิดขึ้นเมื่อผสมส่วนผงและส่วนเหลวเข้าด้วยกัน ปฏิกิริยาจะคล้ายกับปฏิกิริยาการก่อตัวของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดบ่มตัวด้วยเคมี คือ กรดโพลีอะคริลิก จะแตกตัวในน้ำได้ไฮโดรเจนอิออนและสายโพลีอะคริเลต (polyacrylate chain) ไฮโดรเจนอิออนจะไปทำปฏิกิริยากับอนุภาคของฟลูออไรด์อะลูมิเนียมซิลิเกตกลาสไดอะลูมิเนียมอิออน (aluminium ion) และอะลูมิเนียมฟลูออไรด์อิออน (aluminium fluoride ion) ส่วนบริเวณผิวอนุภาคของฟลูออไรด์อะลูมิเนียมซิลิเกตกลาสจะเปลี่ยนสภาพเป็นซิลิกาเจล (silica gel) ต่อมาอะลูมิเนียมอิออน และอะลูมิเนียมฟลูออไรด์อิออนจะไปทำปฏิกิริยากับกลุ่มคาร์บอกซิลบนสายโพลีอะคริเลตได้เป็นเกลืออะลูมิเนียมโพลีอะคริเลต (aluminium polyacrylate salt) และฟลูออไรด์อิออน (fluoride ion) ซึ่งเกลืออะลูมิเนียมโพลีอะคริเลตนี้จะทำหน้าที่เป็นเมทริกซ์ (matrix) ยึดอนุภาคของอะลูมิเนียมซิลิเกตไว้ โดยปฏิกิริยานี้จะดำเนินต่อไปอีกเป็นระยะเวลาหลายเดือนทำให้มีการปล่อยฟลูออไรด์อิออน ออกมาอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาที่มีการเกิดปฏิกิริยา (Tay, 1995)

ปฏิกิริยาโพลีเมอร์ไรเซชันจะเกิดขึ้นที่กลุ่มเมธาคริเลต ในกรดโพลีอะคริลิกที่ถูกดัดแปลงเมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสง สายโพลีอะคริเลตจะยึดไว้ซึ่งกันและกันด้วยปฏิกิริยาโพลีเมอร์ไรเซชัน ปฏิกิริยาโพลีเมอร์ไรเซชันที่เกิดจะคล้ายกับการแข็งตัวของคอมโพสิตเรซิน ให้เรซินร้อยละ 5 เป็นเกราะป้องกันการสูญเสียน้ำ แต่ไม่แข็งแรงเพียงพอต่ออาศัยการเกิดปฏิกิริยากกรด - ต่าง โดยมีน้ำทำหน้าที่เป็นตัวเริ่มต้นในการเกิดปฏิกิริยากกรด - ต่าง ซึ่งพบว่าถ้ามีน้ำเป็นส่วนประกอบน้อย ปฏิกิริยากกรด - ต่าง จะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ ช้ากว่ามีน้ำเป็นองค์ประกอบอย่างเดียวนั้นเหมือนในกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม การแข็งตัวในระยะแรกของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน เป็นผลมาจากปฏิกิริยาโพลีเมอร์ไรเซชันของไฮดรอกซีเอทิลเมธาคริเลต (hydroxyethyl methacrylate : HEMA) ไม่เกิดจากปฏิกิริยากกรด - ต่าง แต่ปฏิกิริยากกรด - ต่าง จะเป็นตัวกำหนดความแข็งแรงและความแข็งแรงของวัสดุ ซึ่งต้องใช้เวลาานานมากจึงจะเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ (Tay, 1995)

กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินเริ่มแรกรู้จักกันในรูปวัสดุชนิดบ่ม หรือฉาบพื้นผนัง (liners, bases) ผลิตภัณฑ์ตัวแรกที่ออกสู่ตลาดคือ วิทรีบอนด์ (Vitrebond, 3M dental products, USA) ตามด้วยเอ็กซ์อาร์ไอโอโนเมอร์ (XR - ionomer, Kerr Mfg. Co, USA) ไฮโอโนเมอร์ (Zionomer, Dent - Mate Corp, USA) ฟุจิไลนิงแอลซี (Fuji lining LC, GC dental industrial Corp., Japan) โฟแทกบอนด์ (Phatac - bond, ESPE, Germany) (Attin และคณะ,

1995; Tay, 1995) ต่อมามีการพัฒนาใช้อย่างแพร่หลายในรูปวัสดุยึดครอบฟันและฟันเดือย วัสดุอุดบูรณะคอฟัน หรือบริเวณที่ไม่ได้รับแรง และเป็นวัสดุบูรณะส่วนคอร์ (Core) เช่น ฟุจิยูแอล ซี (Fuji II LC, GC dental industrial Corp., Japan) วิทรีเมอร์ (Vitremmer, 3M dental products, USA) โฟแทคฟิล (Photac – fil, ESPE, Germany) (Tay, 1995)

ผลิตภัณฑ์ที่จัดเป็นกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินได้ จะต้องแข็งตัวได้เองในที่มืดและเกิดปฏิกิริยากรด – ด่างตั้งแต่เริ่มผสม เมื่อแข็งตัวแล้วจะทำให้ฟลูออไรด์เป็นระยะเวลายาวนาน และยึดติดกับผิวเนื้อฟันได้ดี (Tay, 1995)

ความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อของร่างกายและการสร้างเนื้อเยื่อแข็ง (Biocompatibility and Hard tissue formation)

เป็นคุณสมบัติที่จำเป็นมากสำหรับวัสดุทางทันตกรรม เนื่องจากวัสดุที่นำมาใช้จะสัมผัสโดยตรงกับเนื้อเยื่อของร่างกายจึงได้มีการศึกษาถึงความปลอดภัย และผลต่อเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของวัสดุ

จากการศึกษาผลของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ต่อเซลล์เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อในโพรงฟันของมนุษย์ (human pulp fibroblast) ที่นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยเปรียบเทียบกับวัสดุโพลีคาร์บอกซีเลตซีเมนต์ และซิงก์ออกไซด์ยูจินอล พบว่าวัสดุทุกชนิดที่ผสมเสร็จใหม่จะยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ แต่เมื่อเวลาผ่านไป 4 วัน ผลดังกล่าวของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์จะลดลง โดยเซลล์กลับเพิ่มจำนวนขึ้นได้ ในขณะที่วัสดุอีก 2 ชนิด จะทำให้เซลล์ลดจำนวนลงเรื่อย ๆ (Kawahara และ คณะ, 1979)

จากการศึกษาผลของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ต่อเซลล์สร้างเส้นใย (fibroblasts) และ เซลล์มาโครฟาจ (macrophages) พบว่า วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่ผสมใหม่ ๆ ยับยั้งการเจริญของเซลล์ที่เลี้ยงไว้ แต่ผลนี้จะน้อยลงหลังจากที่วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์แข็งเต็มที่แล้ว (Meryon และคณะ, 1983)

จากการศึกษาความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อของร่างกายและความสามารถในการกระตุ้นให้เกิดการสร้างกระดูกของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่ผสมเสร็จใหม่ โดยนำไปฝังในกระดูกหน้าขาของสุนัข พบว่ามีการอักเสบเพียงเล็กน้อยใน 10 - 30 วันแรก หลังจากนั้นการอักเสบจะลดลง และ เกิดการสร้างกระดูกขึ้นหลังฝังวัสดุไป 90 วัน (Zmerner และ Dominguez, 1983)

มีการทดลองฝังซูปเปอร์อีพีเอ และ วิทรีเมอร์ (vitremmer) ซึ่งเป็นกลาสไอโอโนเมอร์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน ลงในกระดูกขากรรไกรล่างของกระต่าย ผลการศึกษาพบว่าในสัปดาห์ที่ 12

กลาส ไอโอโนเมอร์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินมีความเข้ากันกับกระดูกได้ดีกว่า ไม่พบมีการอักเสบ พบว่ามีการสร้างกระดูกรอบ ๆ บริเวณที่สัมผัสกับวัสดุโดยตรง ส่วนซูปเปอร์อีบีเอจะมีการสร้าง เส้นใย (fibrous tissue) เกิดขึ้นโดยไม่พบการสร้างกระดูก (Tassery และคณะ, 1997)

มีการศึกษาพบว่าเซลล์จากเอ็นยึดปริทันต์มีการตอบสนองต่อกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji duet, Fuji II LC) ดีกว่าอมัลกัม เมื่อใช้เป็นวัสดุอุดรอยทะลุผิวรากฟัน (Makkawy และคณะ, 1998) นอกจากนี้ในปีเดียวกัน มีรายงานการใช้จิริสโตร (geristore) ซึ่งเป็นกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน ในการอุดรอยทะลุผิวรากฟันในส่วนคอฟัน ด้านแก้มของรากด้านเพดาน และด้านใกล้กลางของรากใกล้ซิดแก้ม จากการติดตามผลการรักษา 8 สัปดาห์ พบกระดูกอ่อนรอบ ๆ รอยทะลุและ ไม่พบอาการผิดปกติใด ๆ (Resillez – Urioste, 1998)

เอ็นยึดปริทันต์ (Periodontal ligament)

เอ็นยึดปริทันต์เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันชนิดอ่อน อยู่ภายในช่องเอ็นยึดปริทันต์ระหว่างเคลือบ รากฟันกับกระดูกรองรับรากฟัน ทำหน้าที่ ยึดฟันกับกระดูกเบ้าฟัน (alveolar bone) มีกำเนิดมาจากชั้นมีโซเดิร์ม (mesoderm) ในเดนตัลฟอลลิเคิล (dental follicle) ภายในเอ็นยึดปริทันต์ ประกอบด้วยเซลล์ชนิดต่าง ๆ และสารระหว่างเซลล์ (extracellular matrix) เส้นใยของเอ็นยึด ปริทันต์ส่วนใหญ่เป็นเส้นใยคอลลาเจน (collagen fiber) โดยส่วนปลายของเส้นใยพริ้นซิเปิล (principle fiber) ของเอ็นยึดปริทันต์จะฝังตัวในเคลือบรากฟันและกระดูกเบ้าฟัน เรียกว่า เส้นใย ชาร์เปย์ (sharpey's fiber) ช่องเอ็นยึดปริทันต์ของฟันปกติมีความกว้างประมาณ 0.15 – 0.38 มิลลิเมตร โดยที่บริเวณ 1/3 ส่วนกลางรากจะเป็นส่วนที่บางที่สุด ความกว้างของช่องเอ็นยึด ปริทันต์มีขนาดแตกต่างกันตามอายุ ตามชนิดของฟันแต่ละซี่แต่ละด้าน โดยเฉลี่ยเมื่อเด็กอายุ 11-16 ปี กว้างประมาณ 0.21 มิลลิเมตร เมื่ออายุ 32-52 ปี กว้างประมาณ 0.18 มิลลิเมตร และ เมื่ออายุ 51-67 ปี กว้างประมาณ 0.15 มิลลิเมตร ดังนั้นจะเห็นได้ว่าความกว้างลดลงเมื่ออายุเพิ่ม มากขึ้น นอกจากนี้ยังขึ้นกับการทำหน้าที่ของฟัน ในกรณีฟันไม่ถูกใช้งาน ช่องนี้จะแคบ หรือใน ฟันคุด ช่องนี้จะแคบด้วย (Freeman, 1998)

เซลล์เอ็นยึดปริทันต์ (Periodontal ligament cells)

เป็นเซลล์สร้างเส้นใยที่ทำหน้าที่เป็นเซลล์หลักของเอ็นยึดปริทันต์ เนื่องจากเซลล์นี้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในเอ็นยึดปริทันต์อย่างมาก คือมีทั้งการสร้าง (formation) การทำลาย (degradation) และการแทนที่ (remodeling) ดังนั้นเซลล์สร้างเส้นใยจึงเป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ มี

ไซโตพลาสซึม (cytoplasm) จำนวนมากที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์และการปลดปล่อยโปรตีน เช่น rough endoplasmic reticulum, golgi complexes และ secretory vesicles ตัวเซลล์จะเรียงตัวขนานกับเส้นใย ถูกล้อมรอบด้วยเส้นใยและสารที่เป็นพื้นฐานระหว่างเซลล์ (ground substance) ลักษณะของเส้นใยคอลลาเจนจะมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้เกิดจากเซลล์สร้างเส้นใยนั่นเอง (Freeman, 1998)

ในการเปลี่ยนแปลงของกระดูกนั้น เกิดจากการทำงานของเซลล์ 2 ชนิด คือ เซลล์สร้างกระดูก (osteoblast) และเซลล์ทำลายกระดูก (osteoclast) แต่ในเอ็นดอปริทันต์นี้ การเปลี่ยนแปลงของเส้นใยคอลลาเจนเกิดจากเซลล์เดียว คือ เซลล์สร้างเส้นใย ซึ่งสามารถทำหน้าที่ได้ทั้งการสร้างและทำลายในเวลาเดียวกัน การเปลี่ยนแปลงของเส้นใยคอลลาเจนไม่มีขอบเขตที่แน่นอน ไม่มีส่วนกั้นกลาง (intermediate zone) ให้เห็น แต่เกิดขึ้นโดยการเข้าไปในเอ็นดอปริทันต์เลย นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงของเส้นใยคอลลาเจนในเอ็นดอปริทันต์ยังเกิดขึ้นได้เร็วเมื่อมีสิ่งรบกวนต่อการทำงานของเซลล์สร้างเส้นใย (Freeman, 1998)

เซลล์เยื่อบุผิว (Epithelial cell)

เซลล์นี้เป็นส่วนที่เหลืออยู่ของเยื่อบุผิวของ Hertwig's epithelial root sheath มีลักษณะเป็นแถบลูกไม้ (lacy strands) อยู่ติดกับผิวเคลือบรากฟัน และย้อมติดสี hematoxylin และ eosin นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ทำให้ย้อมติดสีชัดเจน ส่วนใหญ่มักเรียกเซลล์นี้ว่า epithelial cell rests of Malassez ยังไม่ทราบหน้าที่แน่ชัด แต่ทราบว่าเมื่อมีพยาธิสภาพเกิดขึ้นกับเอ็นดอปริทันต์ เซลล์จะสามารถแบ่งตัวได้อย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดเป็นถุงน้ำ (cyst) หรือเนื้องอก (tumor) ขึ้นในขากรรไกรได้ (Freeman, 1998)

เซลล์ต้นกำเนิด หรือ อันดิฟเฟอเรนทิเอท มีเซนไคมอลเซลล์ (Progenitor cell or Undifferentiated mesenchymal cell)

เป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่สำคัญในเอ็นดอปริทันต์ ทำหน้าที่เป็นแหล่งกำเนิดของเซลล์ชนิดต่างๆ ในเอ็นดอปริทันต์ได้ เนื่องจากสามารถเจริญไปเป็นเซลล์อื่นได้ในช่วงเวลาที่มีการสร้างและการทำลายเอ็นดอปริทันต์ เช่นเจริญไปเป็น เซลล์สร้างกระดูก (osteoblast) เซลล์สร้างเคลือบรากฟัน (cementoblast) เป็นต้น พบได้ทั่วไปรอบเส้นเลือด (Freeman, 1998)

เซลล์สร้างกระดูก (Osteoblast) และเซลล์ทำลายกระดูก (Osteoclast)

พบกลุ่มอยู่บริเวณผิวของกระดูกด้านที่อยู่ชิดกับเอ็นยึดปริทันต์ ทำหน้าที่สร้างกระดูก และทำลายกระดูก (Freeman, 1998)

เซลล์สร้างเคลือบรากฟัน (Cementoblast) และเซลล์ทำลายเคลือบรากฟัน (Cementoclast)

พบกระจายบนผิวฟัน มีหลายขนาดทำหน้าที่สร้างและทำลายเคลือบรากฟัน (Freeman, 1998)

จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการ พบว่าเซลล์เอ็นยึดปริทันต์มีรูปร่างเหมือนเซลล์สร้างเส้นใย แต่มีความสามารถในการดิฟเฟอเรนทิเอท (differentiate) ไปเป็นเซลล์สร้างเนื้อเยื่ออินทรีย์ ซึ่งอาจเป็นเซลล์สร้างเคลือบรากฟัน (cementoblast) หรือเซลล์สร้างกระดูก (osteoblast) (McCulloch และ Melcher, 1983 ; Aukhil และคณะ, 1990) นั่นคือสามารถสร้างเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase) คอลลาเจนชนิดที่ 1 (collagen type I) และโปรตีนที่นอกเหนือจากคอลลาเจน (non collagenous protein) หลายชนิดเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ออสติโอพอนติน (osteopontin) และโบนไซอาโลโปรตีน (bone sialoprotein) ซึ่งเป็นกลุ่มโปรตีนที่มีปริมาณสูงก่อนที่จะมีการตกตะกอนของสารอนินทรีย์ (mineralization) (Lekic และคณะ, 1996; Mckee และคณะ, 1996)

จากการศึกษาพบว่าเซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นยึดปริทันต์ของมนุษย์ มีลักษณะฟีโนไทป์ (phenotype) ของการเป็นเซลล์สร้างกระดูก (osteoblast - like cell) นั่นคือ สามารถที่จะดิฟเฟอเรนทิเอทไปเป็นเซลล์สร้างกระดูกได้ (Basdra และ Komposch, 1997)

ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันว่าเซลล์ของเนื้อเยื่อเอ็นยึดปริทันต์ เป็นเซลล์ที่มีศักยภาพในการซ่อมแซม และดิฟเฟอเรนทิเอท (differentiate) เพื่อสร้างเนื้อเยื่อใหม่ขึ้นทดแทนเนื้อเยื่อเดิมที่ถูกทำลายไป ขั้นตอนของกระบวนการซ่อมแซมที่เกิดขึ้น จะเริ่มจากการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (proliferation) ที่บริเวณที่เกิดพยาธิสภาพ ตามด้วยการสร้างเมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix) เพื่อซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่เสียหาย และตามด้วยการเกิดดิฟเฟอเรนทิเอทของเซลล์ไปเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่เฉพาะเพื่อปรับเปลี่ยนเนื้อเยื่อบริเวณนั้นให้มีสภาพและการทำงานดังเดิม เกิดการหายของแผลอย่างสมบูรณ์ในที่สุด (Melcher, 1976; McCulloch และ Robin, 1991; McCulloch, 1995)

เกณฑ์ที่ใช้ในการประเมินว่าเซลล์นั้นมีคุณสมบัติในการเป็นเซลล์สร้างเนื้อเยื่อแข็งในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ (Areco และคณะ, 1991)

1. สามารถผลิตสารที่เกี่ยวข้องกับการสร้างกระดูก (bone associated products) เช่น
 - สารที่อยู่ในเมทริกซ์ของกระดูก (bone matrix constituents)
 - เอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase)
2. แสดงคุณลักษณะที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างกระดูก เช่น
 - การตอบสนองต่อฮอร์โมนพาราไธรอยด์ โดยมีการสร้างสารเอเอ็มพี (AMP) เพิ่มขึ้น
 - การตอบสนองต่อวิตามินดี (1, 25 dihydroxyvitamin D₃) โดยเพิ่มการสังเคราะห์ฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างกระดูก
3. สามารถสร้างกระดูกได้ เช่น เกิดการตกตะกอนเป็นก้อนในจุดที่มีการสะสมของสารอนินทรีย์ (mineralized nodule)

เอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase : ALP) ถูกค้นพบตั้งแต่ปี 1923 โดย Robert Robinson (Robinson, 1923 อ้างถึงโดย Groeneveld และคณะ, 1995) พบว่าเอนไซม์นี้มีบทบาทสำคัญ ในการเกิดการตกตะกอนของสารอนินทรีย์ในเนื้อเยื่อแข็งของร่างกาย (mineralization) โดยจะพบเอนไซม์นี้เป็นส่วนหนึ่งใน matrix vesicle ของเนื้อเยื่อที่กำลังตกตะกอน เอนไซม์ชนิดนี้ในร่างกายมนุษย์พบมี 4 ชนิด ได้แก่ tissue – nonspecific, intestinal, placenta และ placenta – like โดยชนิด tissue nonspecific จะพบได้ใน กระดูก ตับ ไต และเนื้อเยื่ออื่นๆ กลไกการทำงานของเอนไซม์ คือ ทำหน้าที่ตัดหมู่ฟอสเฟตออกจาก organic phosphase ester ทำให้เกิดการตกตะกอนของฟอสเฟตอิสระ จนเกิดความอิ่มตัว (supersaturated) ในส่วนที่เป็นของเหลวในเนื้อเยื่อ (tissue fluid) นำไปสู่การตกตะกอนของเกลือแคลเซียมฟอสเฟต ในกระบวนการเกิดการสะสมสารอนินทรีย์ในเนื้อเยื่อแข็ง (mineralization)

พบว่าเซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นดอทีลียัลของหนู มีค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเพิ่มมากขึ้นในบริเวณที่มีการตกตะกอนของสารอนินทรีย์ (Groeneveld และคณะ, 1995) นอกจากนี้ยังพบว่า เซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นดอทีลียัลของมนุษย์มีค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสคล้ายคลึงกับเซลล์สร้างกระดูก (osteoblast) นั่นคือพบว่า เซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นดอทีลียัลของมนุษย์ มีการทำหน้าที่คล้ายคลึงกับเซลล์สร้างกระดูกนั่นเอง (Kawase และคณะ, 1988) ดังนั้นเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสจึงทำหน้าที่เป็นตัวชี้วัดของเซลล์ที่แสดงคุณลักษณะของการเป็นเซลล์สร้างเนื้อเยื่อแข็งได้ (osteoinductive marker) (Krzysztof และคณะ, 1986)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

1. ประชากรเป้าหมาย

เซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นไดยด์ปริทันต์ของมนุษย์

2. กลุ่มตัวอย่าง

เซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นไดยด์ปริทันต์ของมนุษย์ที่เตรียมจากเนื้อเยื่อเอ็นไดยด์ปริทันต์ของฟันที่ถอนเพื่อการจัดฟัน หรือฟันคุดที่ไม่มีการติดเชื้อ จากผู้ป่วยอายุ 18 – 25 ปี ที่มาถอนฟัน ณ ภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยต้องเป็นฟันที่มีสภาพแข็งแรง ไม่มีโรคฟันผุ ไม่มีการอักเสบของเนื้อเยื่อในโพรงฟัน ไม่มีโรคเหงือกและอวัยวะปริทันต์

3. ตัวแปรที่ใช้ในการวิจัย

ตัวแปรอิสระ (Independent variable) คือ วัสดุเอ็มทีเอ (Mineral Trioxide Aggregate) กับ วัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Resin Modified Glass Ionomer Cement)

ตัวแปรตาม (Dependent variable) คือ อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ (cell proliferation) และค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase activity)

วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. วัสดุเอ็มทีเอ (Proroot[®], Dentsply, USA)
2. วัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC capsule, GC Corp, Japan)
3. เครื่องตัดฟัน (Isomet 100, Buehler, USA)
4. เครื่องฉายแสงที่ให้แสงสีน้ำเงิน ซึ่งมีความยาวคลื่น 400 – 500 นาโนเมตร (Curing light XL 3000, 3M Co, USA)
5. เครื่องปั่นอมัลกัม (amalgamator)
6. เครื่องมืออมัลกัมแคริเออร์ (amalgam carrier)
7. หลอดฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร
8. แผ่นแก้ว (glass slab)
9. พายโลหะ (metal spatula)

10. ชุดตรวจ
11. กระจกทรายน้ำชนิดละเอียดเบอร์ 600 , 1000
12. เครื่องมือวีเนียร์คาลิปเปอร์
13. มีดผ่าตัด (scalpel blade)
14. ไบมีดเบอร์ 15
15. จานเลี้ยงเซลล์ขนาด 35 มิลลิเมตร (35 mm tissue culture dish, Nunc, USA)
16. จานเลี้ยงเซลล์ขนาด 60 มิลลิเมตร (60 mm tissue culture dish, Nunc, USA)
17. จานเลี้ยงเซลล์แบบ 48 หลุม (48-well tissue culture plate, Nunc, USA)
18. ตู้บเลี้ยงเชื้อ (Co₂ Incubator)
19. ตู้ปลอดเชื้อสำหรับการเตรียมเซลล์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (laminar flow hood)
20. หลอดพลาสติกเจอร์ปีเปต (pasteur pipette)
21. ปีเปตขนาด 10, 100, 200, 1000, 5000 มิลลิลิตร
22. แผ่นกรอง (Millipore filter) ขนาด 0.02 ไมครอน
23. เครื่องมือวัดจำนวนเซลล์ (Hemocytometer)
24. กล้องจุลทรรศน์ชนิดเฟสคอนทราสต์ (phase contrast light microscope)
25. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)
26. คิวเวต (cuvette)
27. อาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มอีเอ็ม (Dulbecco's Modified Eagle Medium ; DMEM Gibco BRL, USA)
28. อาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มอีเอ็มชนิดที่ไม่มีฟีนอลเรด
29. เอนไซม์ทริปซิน-อีดีทีเอ (0.25 % trypsin – EDTA)
30. สารละลายเอ็มทีที (MTT solution)
31. สารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide ; DMSO)
32. สารละลายไกลซีนบัฟเฟอร์ (glycine buffer)
33. ซีรัม (Fetal bovine serum ; FBS, Gibco BRL, USA)
34. เพนนิซิลิน จี (penicillin G, Gibco BRL, USA)
35. สเตรมัยซิน (streptomycin, Gibco BRL, USA)
36. แอมโฟเทอริซิน บี (amphotericin B, Gibco BRL, USA)
37. แอล-กลูตามีน (L-glutamine, Gibco BRL, USA)
38. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซลล์ (phosphate buffer saline ; PBS)

39. สารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ (borate buffer)
40. ชุดวัดระดับการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase activity kit, Biorad, USA)
41. ชุดวัดโปรตีนบีซีเอ (BCA protein assay, Biorad, USA)
42. สารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ (formaldehyde) ความเข้มข้นร้อยละ 4
43. สีเมทิลีนบลู (methylene blue) ความเข้มข้นร้อยละ 1
44. อีทิลแอลกอฮอล์ (alcohol)
45. กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid)
46. อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสบัฟเฟอร์ (alkaline phosphatase buffer)
47. สารละลายของพาราไนโตรฟีนิลฟอสเฟต (p – nitrophenylphosphate)
48. 2 – อะมิโน – เมทิล – 1 – โพรพานอล (2 – amino – 2 – methyl – propanol) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์
49. แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์
50. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์

วิธีดำเนินการวิจัย

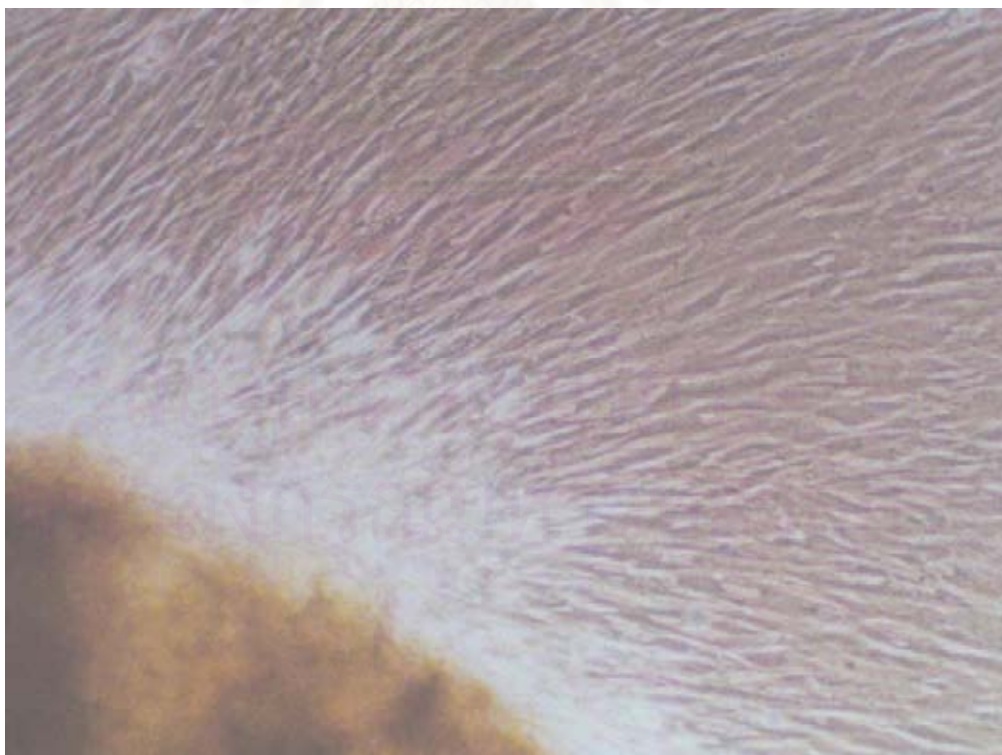
1. กำหนดประชากรเป้าหมายและกลุ่มตัวอย่าง
2. การศึกษานำร่อง
 - 2.1 การเพาะเลี้ยงเซลล์เอ็นยิดปริทันต์จากเนื้อเยื่อเอ็นยิดปริทันต์

วิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ดัดแปลงจากวิธีการที่ได้เคยรายงานไว้ โดย Darongsuwan และ Pavasant (Darongsuwan และ Pavasant, 1997) ดังมีวิธีการโดยย่อดังนี้

ทันทีที่ภายหลังถอนฟันเก็บฟันตัวอย่างในภาชนะปลอดเชื้อที่มีฝาเกลียวปิดสนิท ภายในบรรจุอาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มอีเอ็ม (Dulbecco's Modified Eagle Medium ; DMEM) ที่ประกอบด้วยสารประกอบต่าง ๆ คือ ซีรัม (Fetal bovine serum; FBS) ความเข้มข้นร้อยละ 10, เพนิซิลิน จี (penicillin G) ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, สเตรปโตมัยซิน (streptomycin) ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, แอมโฟเทอริซิน บี (amphotericin B) ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, แอล-กลูตามีน (L-glutamine) ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ จากบริษัท Gibco BRL ประเทศสหรัฐอเมริกา

นำฟันตัวอย่างที่เก็บไว้ล้างด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซลาเยน (phosphate buffer saline ; PBS) ที่ปราศจากเชื้อ 3 – 4 ครั้ง จากนั้นใช้มีดผ่าตัดขูดเนื้อเยื่อเอ็นยึดปริทันต์จากส่วนกลาง (middle third) ของรากฟัน นำเนื้อเยื่อที่ได้มาหั่นเป็นชิ้นขนาดประมาณ 1x1x1 มิลลิเมตร³ นำไปวางเรียงบนจานเลี้ยงเซลล์ขนาด 35 มิลลิเมตร (35 mm tissue culture dish ; Nunc) แต่ละชิ้นเนื้อเยื่อวางห่างกันประมาณ 4-5 มิลลิเมตร เติมอาหารเลี้ยงเซลล์ให้พอท่วมชิ้นเนื้อ จากนั้นจึงนำจานเพาะเลี้ยงไปอบในตู้เลี้ยงเซลล์ที่มีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5

อาหารเลี้ยงเซลล์จะถูกเปลี่ยนวันเว้นวัน จนเซลล์คลานออกมาจากชิ้นเนื้อ และเจริญเต็มจานเลี้ยงเซลล์ เมื่อเซลล์เต็มจานเพาะเลี้ยงแล้ว จะทำการถ่าย (subculture) ไปยังจานเลี้ยงเซลล์จานใหม่ที่มีขนาด 60 มิลลิเมตร การนำเซลล์ออกจากจานเพาะเลี้ยงทำโดยการใช้นอนไซม์ทริปซิน-อีดีทีเอ (0.25 % trypsin – EDTA) นับเซลล์ที่หว่านใหม่เป็นเซลล์รุ่นที่ 1 เมื่อเซลล์มีจำนวนมากขึ้นและมีการเรียงตัวหนาแน่นในจานเพาะเลี้ยง จึงทำการหว่านเซลล์ใหม่ทุก 5 – 7 วัน ในอัตราส่วน 1 : 3 จนกระทั่งได้เซลล์มากพอ เซลล์ที่นำมาใช้ในการวิจัยจะเป็นเซลล์รุ่นที่ 3 – 6



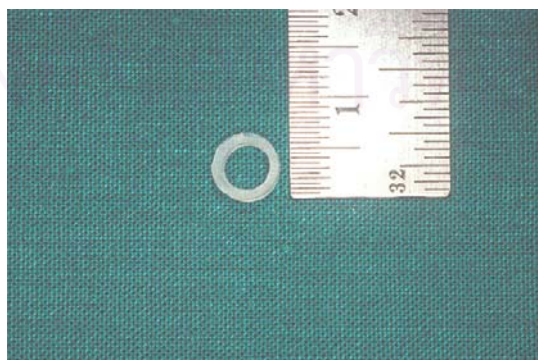
ภาพที่ 2 แสดงเซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นยึดปริทันต์มนุษย์ที่เริ่มคลานออกมาจากชิ้นเนื้อเยื่อ



ภาพที่ 3 แสดงเซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นยึดปริทันต์มนุษย์ที่เจริญเต็มจานเพาะเลี้ยง

2.2. การเตรียมแบบหล่อจำลองเพื่อการทดสอบ (Sample fabrication)

แบบหล่อจำลอง (mold) ที่นำมาใช้ตัดแปลงจากหลอดพลาสติกสำหรับฉีดยา ขนาด 1 มิลลิลิตร รูปทรงกระบอก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 มิลลิเมตร โดยนำมาตัด ด้วยเครื่องตัดฟัน (Isomet 100, Buehler, USA) ตัดให้เป็นรูปแท่งทรงกระบอกที่มีความสูง 2 มิลลิเมตร สำหรับใช้กับวัสดุเอ็มทีเอ และ วัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดตัดแปลงด้วยเรซิน จากนั้นนำไปขัดให้เรียบและมีความสูงเท่า ๆ กันโดยรอบด้วยกระดาษทรายน้ำชนิดละเอียดขนาดเบอร์ 600 และ 1000 ตามลำดับ ตรวจสอบขนาดของแบบจำลองโดยใช้เครื่องมือวีเนียร์คาลิเปอร์ แบบหล่อจำลองที่ได้จะถูกนำไปทำให้ปราศจากเชื้อก่อนนำไปใช้ทุกครั้ง



ภาพที่ 4 แสดงแบบหล่อจำลองที่เตรียมไว้เพื่อการทดสอบ

2.3 การเตรียมวัสดุเพื่อการทดสอบ (Preparation of test materials)

วัสดุที่นำมาใช้ในการทดสอบมี 2 ชนิด คือ

1. เอ็มทีเอ (Proroot ®, Dentsply, USA)
2. กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC capsule, GC Corporation, Japan)



ภาพที่ 5 แสดงวัสดุเอ็มทีเอ (Proroot ®, Dentsply, USA)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 6 แสดงวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน
(Fuji II LC capsule, GC Corporation, Japan)

การเตรียมสารละลายสกัดเอ็มทีเอ (Extracted media of MTA)

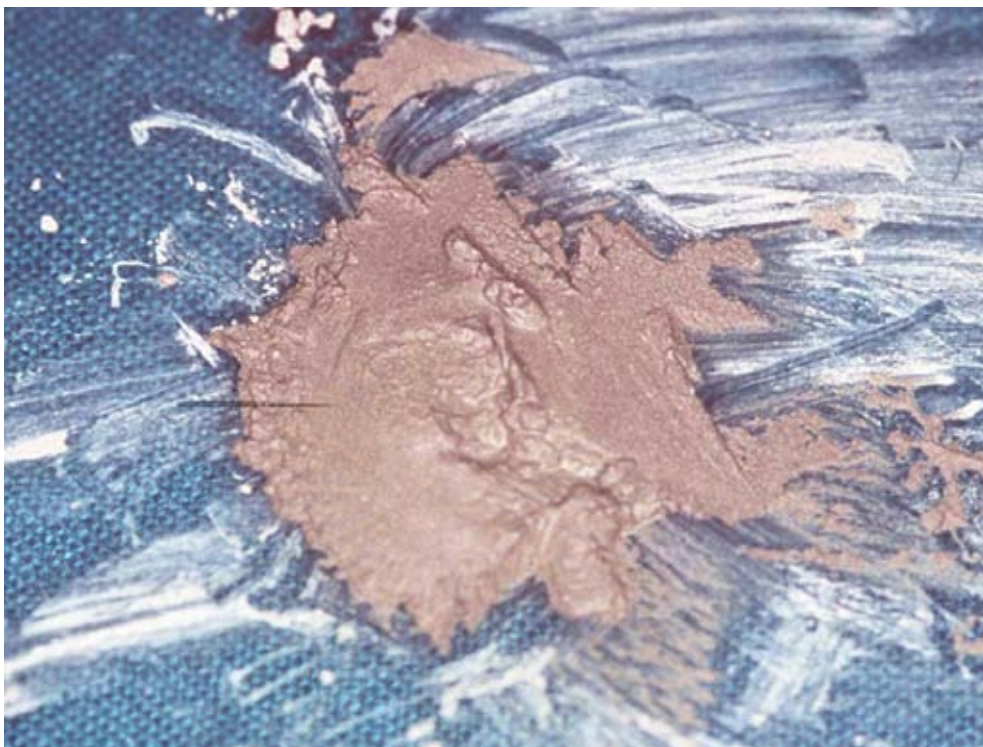
วัสดุจะถูกผสมตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต ทำการผสมและสกัดสารละลายในตู้ปลอดเชื้อสำหรับการเตรียมเซลล์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (laminar flow hood) ด้วยเครื่องมือและเทคนิคที่ปราศจากเชื้อ โดยมีวิธีการโดยย่อ ดังนี้ หลังจากผสมส่วนผงและน้ำเข้ากันดีแล้ว (ดังแสดงในภาพที่ 8) จะใช้เครื่องมืออัมัลกัมแคริเออร์ (amalgam carrier) นำวัสดุที่ผสมเสร็จแล้วใส่ในแบบหล่อจำลองที่เตรียมไว้ที่วางบนแผ่นแก้วเรียบ ใช้พายโลหะ (metal spatula) ทำการปาดและตกแต่งวัสดุที่ยังไม่แข็งตัวให้มีขนาดและความหนาที่กำหนดไว้ จากนั้นใช้สำลีก้อนเล็ก ๆ ชุบน้ำกัลันที่ปราศจากเชื้อ วางบนพื้นผิวของวัสดุเป็นเวลา 4 ชั่วโมงเพื่อรอให้วัสดุแข็งตัวเต็มที่ (ดังแสดงในภาพที่ 9) เมื่อวัสดุแข็งตัวเต็มที่แล้ว จึงทำการแกะเอาแบบหล่อจำลองออกโดยใช้มีดผ่าตัดขนาดเบอร์ 15 กรีดที่ผิวด้านข้างของแบบหล่อจำลอง 2 ข้าง จะได้วัสดุที่มีขนาดตามต้องการที่พร้อมที่จะนำไปสกัด (ดังแสดงในภาพที่ 10)

วัสดุที่ได้จะถูกนำไปสกัด (extract) โดยนำไปแช่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม (serum free medium) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ดังแสดงในภาพที่ 11) ก่อนนำไปใช้ทดสอบวัด

ความเป็นพิษต่อเซลล์ อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ และ วัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส โดยปริมาณวัสดุที่ใช้ จะคำนวณจากพื้นที่ผิวสัมผัส (surface area) ของวัสดุต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่นำมาใช้เป็นตัวทำละลาย โดยกำหนดให้พื้นที่ผิวสัมผัสของเอ็มทีเอเท่ากับ 600 ตารางมิลลิเมตร/มิลลิลิตร เมื่อแช่วัสดุในตัวทำละลายครบตามเวลาที่กำหนดไว้ ทำการกรองเอาสารละลายสกัดเอ็มทีเอใส่ในหลอดแก้วโดยการใช้แผ่นกรองขนาด 0.02 ไมครอน (ดังแสดงในภาพที่ 12 และ 13) จากนั้นนำสารละลายสกัดที่ได้ไปเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัมเป็นสัดส่วนต่าง ๆ ดังนี้ คือ 1:0, 1:1, 1:2, 1:4 และ 1:8 เพื่อทดสอบหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณวัสดุที่ใช้กับการตอบสนองของเซลล์เพาะเลี้ยง (dose - response relationship) ทั้งนี้ทุกขั้นตอนของการทำงานต้องทำด้วยเทคนิคที่ปราศจากเชื้อ



ภาพที่ 7 แสดงส่วนผง และส่วนน้ำของวัสดุเอ็มทีเอ ก่อนการผสม



ภาพที่ 8 แสดงวัสดุเอ็มทีเอภายใต้การผสมส่วนผงและส่วนน้ำเข้าด้วยกัน



ภาพที่ 9 แสดงการใช้สำลีขนาดเล็กชุบน้ำกลั่นวางบนพื้นผิวของวัสดุ ขณะรอให้วัสดุแข็งตัวเต็มที่



ภาพที่ 10 แสดงวัสดุเอ็มทีเอที่แกะจากแบบหล่อ ก่อนนำไปสกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม



ภาพที่ 11 แสดงการสกัดวัสดุ โดยการแช่วัสดุเอ็มทีเอในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม



ภาพที่ 12 แสดงสารละลายสกัดไวรัสเด็งกีเอ หลังจากการกรองด้วยแผ่นกรองขนาด 0.02 ไมครอน



ภาพที่ 13 แสดงแผ่นกรองขนาด 0.02 ไมครอน

สูตรคำนวณพื้นที่ผิวสัมผัส

$$\text{พื้นที่ผิวสัมผัสวัสดุรูปทรงกระบอก} = \text{พื้นที่ผิวทรงกระบอก} + \text{พื้นที่ผิวทรงกลม 2 ด้าน}$$

$$\text{พื้นที่ผิวทรงกระบอก} = 2\pi rh$$

$$\text{พื้นที่ผิวทรงกลม 2 ด้าน} = 2 \times (\pi r^2)$$

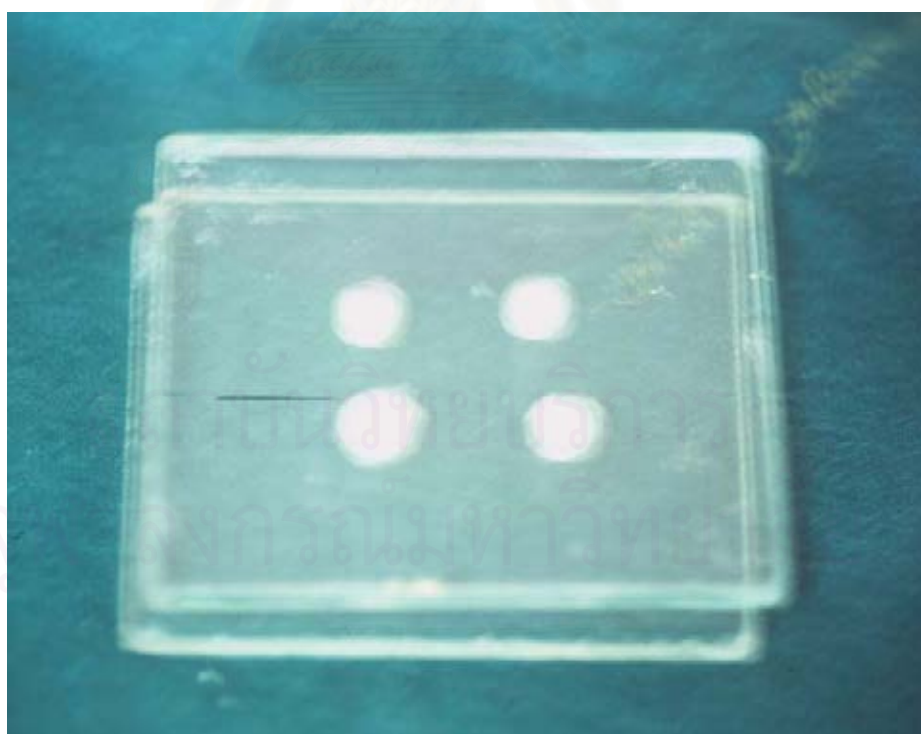
การเตรียมสารละลายสกัดกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Extracted media of RMGIC)

วัสดุจะถูกผสมตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต โดยนำวัสดุที่บรรจุในแคปซูลสำเร็จรูปไปปั่นด้วยเครื่องปั่นอัมัลกัม (amalgamator) เป็นเวลา 10 วินาที จากนั้นนำไปฉีดใส่ในแบบหล่อจำลองที่วางบนแผ่นแก้วเรียบ ก่อนจะทำการฉายแสงเพื่อให้วัสดุแข็งตัวเต็มที่ ให้นำแผ่นแก้วเรียบอีกแผ่นวางประกบกดลงไปทางด้านบน ทำการกดให้แน่นไม่ขยับเพื่อกำจัดวัสดุส่วนเกิน (ดังแสดงในภาพที่ 15) แล้วทำการฉายแสงด้วยเครื่องฉายแสง (XL-3000, 3M, USA) เป็นเวลา 20 วินาที และเพื่อให้วัสดุเกิดการแข็งตัวอย่างสมบูรณ์ จะทำการฉายแสงซ้ำอีกครั้งที่ด้านตรงข้ามด้วยเวลาที่เท่ากัน เมื่อวัสดุแข็งตัวเต็มที่แล้ว จึงทำการแกะเอาแผ่นแก้วที่ประกบอยู่ออก และทำการแกะวัสดุที่อยู่ในแบบหล่อจำลองโดยใช้มีดผ่าตัดขนาดเบอร์ 15 กรีดที่ผิวด้านข้างของแบบหล่อจำลอง 2 ข้าง จะได้วัสดุที่มีขนาดตามต้องการที่พร้อมที่จะนำไปสกัด (ดังแสดงในภาพที่ 16)

วัสดุที่ได้จะถูกนำไปสกัด (extract) โดยนำไปแช่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม (serum free medium) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ดังแสดงในภาพที่ 17) ก่อนนำไปใช้ทดสอบวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ และ วัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส โดยปริมาณวัสดุที่ใช้ จะคำนวณจากพื้นที่ผิวสัมผัส (surface area) ของวัสดุต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่นำมาใช้เป็นตัวทำละลาย โดยกำหนดให้พื้นที่ผิวสัมผัสของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินเท่ากับ 600 ตารางมิลลิเมตร/มิลลิลิตร เมื่อแช่วัสดุในตัวทำละลายครบตามเวลาที่กำหนดไว้ ทำการกรองเอาสารละลายสกัดใส่ในหลอดแก้ว โดยการใช้แผ่นกรองขนาด 0.02 ไมครอน (ดังแสดงในภาพที่ 18) จากนั้นนำสารละลายสกัดที่ได้ไปเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัมเป็นสัดส่วนต่าง ๆ ดังนี้ คือ 1:0, 1:1, 1:2, 1:4 และ 1:8 เพื่อทดสอบหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณวัสดุที่ใช้กับการตอบสนองของเซลล์เพาะเลี้ยง (dose - response relationship) ทั้งนี้ทุกขั้นตอนของการทำงานต้องทำด้วยเทคนิคที่ปราศจากเชื้อ



ภาพที่ 14 แสดงวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดตัดแปลงด้วยเรซินที่บรรจุในเครื่องมือ
ก่อนนำไปฉีดในแบบหล่อจำลองที่เตรียมไว้



ภาพที่ 15 แสดงการนำแผ่นแก้วเรียบ 2 แผ่นประกบบนด้านบนและล่างของแบบหล่อจำลอง
ก่อนทำการฉายแสงวัสดุตามเวลาที่กำหนด



ภาพที่ 16 แสดงวัสดุที่แกะจากแบบหล่อ ก่อนนำไปสกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม



ภาพที่ 17 แสดงการสกัดวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน โดยการแช่วัสดุในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม



ภาพที่ 18 แสดงสารละลายสกัดวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน
 ภายหลังการกรองด้วยแผ่นกรองขนาด 0.02 ไมครอน

2.4 การวัดความเป็นพิษของวัสดุทั้ง 2 ชนิดและผลของวัสดุทั้ง 2 ชนิดที่มี ต่ออัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์

2.4.1. การวัดความเป็นพิษด้วยวิธีการใช้สารเอ็มทีที (MTT assay) ที่ ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

เซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นอีดีปริทันต์จะถูกหว่านในจานเลี้ยงเซลล์แบบ 48 หลุม (48-well tissue culture plate, Nunc) ด้วยความหนาแน่น 20,000 เซลล์/หลุม/มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 คืน จากนั้นอาหารเลี้ยงเซลล์จะถูกเปลี่ยนเป็นชนิดที่ปราศจากซีรัม 2 ครั้ง ครั้งละ 3 ชั่วโมง เพื่อล้างซีรัมออก แล้วทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ต่อไปในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดที่ปราศจากซีรัม เป็นเวลา 1 คืน จากนั้นนำสารละลายวัสดุที่ถูกสกัด (extracted medium) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่เตรียมไว้มาทำการเลี้ยงเซลล์ต่อตามเวลาที่กำหนดไว้คือ 24 ชั่วโมง โดย มีกลุ่มทดลองทั้งหมด 5 กลุ่ม ตามความเข้มข้นของสารละลายสกัด ดังนี้

กลุ่มที่ 1 คือ กลุ่มที่มีสัดส่วนของสารละลายสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่
ปราศจากซีรัม ในอัตราส่วน 1 : 0

กลุ่มที่ 2 คือ กลุ่มที่มีสัดส่วนของสารละลายสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่
ปราศจากซีรัม ในอัตราส่วน 1 : 1

กลุ่มที่ 3 คือ กลุ่มที่มีสัดส่วนของสารละลายสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่
ปราศจากซีรัม ในอัตราส่วน 1 : 2

กลุ่มที่ 4 คือ กลุ่มที่มีสัดส่วนของสารละลายสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่
ปราศจากซีรัม ในอัตราส่วน 1 : 4

กลุ่มที่ 5 คือ กลุ่มที่มีสัดส่วนของสารละลายสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่
ปราศจากซีรัม ในอัตราส่วน 1 : 8

กลุ่มควบคุมลบ คือ กลุ่มที่มีเฉพาะอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม

กลุ่มควบคุมบวก คือ กลุ่มที่มีเฉพาะอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีซีรัมร้อยละ 10

วิธีการวิเคราะห์ ดัดแปลงมาจากวิธีของ Freshney (Freshney, 2000) โดยมีวิธีการโดยย่อดังนี้ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ในสภาวะที่มีวัสดุที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กันครบตามกำหนดเวลา อาหารเลี้ยงเซลล์จะถูกเปลี่ยนเป็นดีเอ็มอีเอ็มชนิดที่ไม่มีฟีนอลเรด (phenol red) และเติมสารละลายเอ็มทีที (MTT solution) ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ลงไปใน 4 ชั่วโมงสุดท้ายของการทดสอบ นำเข้าตู้อบเพาะเลี้ยง เมื่อครบกำหนดเวลา อาหารเลี้ยงเซลล์จะถูกดูดออกด้วยปิเปตสะอาดจากนั้นทำการละลายผลึกฟอร์มazan (formazan) ด้วยสารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide; DMSO) และสารละลายไกลซีนบัฟเฟอร์ (glycine buffer) ปริมาณ 900 และ 125 ไมโครลิตร ตามลำดับ เขย่าให้สีของสารละลายเข้ากัน ปิเปตสารละลายที่ได้ลงในควิเวต แล้วนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นแสง 570 นาโนเมตร ผลที่ได้จะนำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้นจากการวัดความสามารถในการเปลี่ยนเอ็มทีทีที่เป็นผลึกฟอร์มazan ของเซลล์ที่ทราบจำนวน เพื่อคำนวณหาจำนวนเซลล์ของการทดลอง ทั้งนี้ในแต่ละกลุ่มทดลอง จะทำซ้ำกลุ่มละ 3 หลุม เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองจะทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง

หลังจากทำการวัดความเป็นพิษที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงแล้ว จะทำการตัดกลุ่มทดลองที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ออก นำเฉพาะกลุ่มที่ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มาทำการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่ระยะเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง

2.4.2. การวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลู (Methylene blue staining assay; MB assay) ที่ระยะเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง

เซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นอีดีปริทันต์จะถูกหว่านในจานเลี้ยงเซลล์แบบ 48 หลุม (48-well tissue culture plate, Nunc) ด้วยความหนาแน่น 20,000 เซลล์/หลุม/มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 คืน จากนั้นอาหารเลี้ยงเซลล์จะถูกเปลี่ยนเป็นชนิดที่ปราศจากซีรัม 2 ครั้ง ครั้งละ 3 ชั่วโมง เพื่อล้างซีรัมออก แล้วทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ต่อไปในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ปราศจากซีรัมอีกเป็นเวลา 1 คืน จากนั้นนำสารละลายวัสดุที่ถูกสกัด (extracted medium) เฉพาะกลุ่มที่ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มาทำการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่ระยะเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง โดยมีกลุ่มควบคุมลบ คือ กลุ่มที่มีเฉพาะอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม และกลุ่มควบคุมบวก คือ กลุ่มที่มีเฉพาะอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีซีรัมร้อยละ 10

วิธีการวิเคราะห์ที่ดัดแปลงจาก วิธีของ Oliver (Oliver และคณะ, 1989) โดยมีวิธีการโดยย่อดังนี้ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ในสภาวะที่มีสารละลายสกัดของวัสดุที่ความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ครบตามกำหนดเวลา อาหารเลี้ยงเซลล์จะถูกดูดออกแล้วล้างด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เฮลยาร์น 1 ครั้ง จากนั้นเซลล์จะถูกคงสภาพ (fixed) ด้วยสารละลายฟอร์มัลดีไฮด์ (formaldehyde) ความเข้มข้นร้อยละ 4 เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นล้างด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เฮลยาร์น 1 ครั้ง ล้างด้วยสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ (borate buffer) ที่มีค่าความเป็นกรด-เบส (pH) 8.5 ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ อีก 1 ครั้ง ทำการย้อมสีเมธิลีนบลูความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบกำหนดเวลา ล้างสีส่วนเกินออกด้วยสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ 4 ครั้ง ทิ้งไว้ให้แห้งแล้วทำการละลายสีที่ย้อมติดเซลล์ด้วยสารละลายอัลกอฮอล์ กับกรดไฮโดรคลอริก สัดส่วน 1 : 1 หลุมละ 1 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ดูใส่ควิเวต นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสีด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นแสง 667 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับค่าจากกราฟมาตรฐาน ทั้งนี้ในแต่ละกลุ่มทดลอง จะทำซ้ำกลุ่มละ 3 หลุม เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองจะทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง

2.5 การวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase activity assay)

เซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นอีดีปริทันต์จะถูกหว่านในจานเลี้ยงเซลล์แบบ 48 หลุม (48-well tissue culture plate, Nunc) ด้วยความหนาแน่น 20,000 เซลล์/หลุม เป็นเวลา 1 คืน จากนั้นนำสารละลายวัสดุที่ถูกสกัด (extracted medium) ที่ความเข้มข้นที่ไม่มีความเป็นพิษ

ต่อเซลล์ มาทำการเลี้ยงเซลล์ต่อตามเวลาที่กำหนดไว้คือ 24, 72 และ 120 ชั่วโมง โดยมีกลุ่มควบคุม คือ กลุ่มที่มีเฉพาะอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีซีรัมร้อยละ 2

เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ ในสภาวะที่มีสารละลายสกัดของวัสดุที่ความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ครบตามกำหนดเวลา อาหารเลี้ยงเซลล์จะถูกดูดออก แล้วล้างด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซลล์ย่น 1 ครั้ง จากนั้นเซลล์จะถูกทำลายด้วยสารละลายอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสบัฟเฟอร์ จากนั้นจึงนำเซลล์ไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส อย่างน้อย 30 นาที เมื่อครบกำหนดเวลา ทำการเติมสารละลายของพาราไนโตรฟีนิลฟอสเฟต (p - nitrophenylphosphate) โดยที่พาราไนโตรฟีนิลฟอสเฟตจะทำหน้าที่เป็นซับสเตรทของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส หลังจากผสมกันดีแล้วก็จะนำส่วนผสมนี้ไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 - 30 นาทีเพื่อให้เอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส เปลี่ยนพาราไนโตรฟีนิลฟอสเฟตให้เป็นพาราไนโตรฟีนอล (p - nitrophenol) ซึ่งเป็นสารที่มีสี เมื่อสังเกตว่าสารละลายที่บ่มไว้มีความเข้มของสีที่เหมาะสม (โดยเปรียบเทียบกับสารละลายพาราไนโตรฟีนอลที่ใช้เป็นมาตรฐาน) ปฏิกิริยาจะถูกหยุดโดยการเติมสารละลายไฮเดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ 900 ไมโครลิตร แล้วนำสารละลายที่ได้ดูดใส่คิวเวต นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นแสง 410 นาโนเมตร ค่าที่ได้จะถูกนำไปคำนวณเป็นค่าการทำงานของเอนไซม์ โดยเปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายพาราไนโตรฟีนอลที่ใช้เป็นมาตรฐาน

สารละลายเซลล์ที่เหลือหลังจากวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส จะนำไปวัดปริมาณโปรตีน โดยใช้ชุดวัดโปรตีนบีซีเอ (BCA protein assay) ค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสจะคำนวณออกมาเป็น นาโนโมลาร์/ไมโครกรัมโปรตีน/นาที แล้วนำมาเปรียบเทียบให้เป็นร้อยละ โดยกำหนดให้ค่าเฉลี่ยของการทำงานของกลุ่มควบคุมเป็นร้อยละ 100 ของการทำงานทั้งหมด ทั้งนี้ในแต่ละกลุ่มทดลอง จะทำซ้ำกลุ่มละ 3 หลุม เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองจะทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง

3. การคำนวณขนาดตัวอย่าง

เซลล์ที่นำมาใช้ในการทดลองได้จากเนื้อเยื่อเอ็นดอทีลียัลของฟันมนุษย์อย่างน้อย 3 คน คนละ 1 ซี โดยในแต่ละรายนำเซลล์มาใช้ทดสอบกับวัสดุทั้ง 2 ชนิดเหมือน ๆ กัน ในแต่ละการทดลองจะมีการทำซ้ำกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม กลุ่มละ 3 หลุม (triplicate) โดยแต่ละกลุ่ม (ในแต่ละหลุม) ใช้เซลล์ที่มีความหนาแน่น 20,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตรต่อหลุม และหลังจากเสร็จสิ้นการทดลองในแต่ละครั้ง จะทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง

4. การดำเนินการทดลอง

4.1 กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

มีกลุ่มทดลองทั้งหมด 5 กลุ่มตามสัดส่วนความเข้มข้นของสารละลายสกัด เพื่อต้องการศึกษาหาความสัมพันธ์ของการตอบสนองของเซลล์ กับปริมาณความเข้มข้นที่ใช้ โดยนำทั้ง 5 กลุ่มไปวัดความเป็นพิษที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

กลุ่มที่ 1 คือ กลุ่มที่มีสัดส่วนของสารละลายสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม ในอัตราส่วน 1 : 0

กลุ่มที่ 2 คือ กลุ่มที่มีสัดส่วนของสารละลายสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม ในอัตราส่วน 1 : 1

กลุ่มที่ 3 คือ กลุ่มที่มีสัดส่วนของสารละลายสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม ในอัตราส่วน 1 : 2

กลุ่มที่ 4 คือ กลุ่มที่มีสัดส่วนของสารละลายสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม ในอัตราส่วน 1 : 4

กลุ่มที่ 5 คือ กลุ่มที่มีสัดส่วนของสารละลายสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม ในอัตราส่วน 1 : 8

หลังจากทดสอบหากกลุ่มที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยการวิธีใช้สารเอ็มทีที ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง จะตัดสารกลุ่มที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ออก และนำสารกลุ่มที่ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ไปวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง และค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในระยะเวลา 24, 72 และ 120 ชั่วโมงต่อไป ทั้งนี้ในแต่ละกลุ่มทดลอง จะทำซ้ำกลุ่มละ 3 หลุม เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองจะทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง

4.2 การเพาะเลี้ยงเซลล์สร้างเส้นใยจากเนื้อเยื่อเอ็นดอทีเลียล

วิธีการเหมือนการศึกษานำร่อง

4.3 การเตรียมแบบหล่อจำลองเพื่อการทดสอบ

วิธีการเหมือนการศึกษานำร่อง

4.4 การเตรียมวัสดุเพื่อการทดสอบ

วิธีการเหมือนการศึกษานำร่อง

4.5 การวัดความเป็นพิษด้วยสารเอ็มทีที

วิธีการเหมือนการศึกษานำร่อง

4.6 การวัดจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลู

วิธีการเหมือนการศึกษานำร่อง

4.7 การวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส

วิธีการเหมือนการศึกษานำร่อง

การเก็บรวบรวมข้อมูล

1. บันทึกผลการวัดความเป็นพิษด้วยสารเอ็มทีทีในแต่ละกลุ่มทดลอง เป็นค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่นแสง 570 นาโนเมตร
2. บันทึกผลการวัดจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูในแต่ละกลุ่มทดลอง เป็นค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่นแสง 667 นาโนเมตร
3. บันทึกผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในแต่ละกลุ่มทดลอง เป็นค่าการดูดกลืนแสงของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส และโปรตีนที่วัดได้จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่นแสง 410 และ 562 นาโนเมตร ตามลำดับ

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำผลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูล โดย

1. ในการวัดความเป็นพิษด้วยสารเอ็มทีที นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้นจากความสามารถในการเปลี่ยนสารเอ็มทีทีเป็นผลึกฟอร์มาแซนของเซลล์ที่ทราบจำนวน เพื่อคำนวณหาจำนวนเซลล์ของการทดลอง กำหนดให้จำนวนเซลล์ที่ได้ในกลุ่มควบคุมลบเป็น 100 % นำจำนวนเซลล์ที่ได้ในกลุ่มทดลองมาเปรียบเทียบเป็นร้อยละของกลุ่มควบคุมลบ
2. ในการวัดจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลู นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้นเพื่อคำนวณหาจำนวนเซลล์ของการทดลอง กำหนดให้จำนวนเซลล์ที่ได้ในกลุ่มควบคุมลบเป็น 100 % นำจำนวนเซลล์ที่ได้ในกลุ่มทดลองมาเปรียบเทียบเป็นร้อยละของกลุ่มควบคุมลบ
3. ในการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ไปคำนวณเป็นค่าการทำงานของเอนไซม์โดยเปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายพาราไนโตรฟินอลที่ใช้เป็นมาตรฐาน ค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสจะคำนวณออกมาเป็น นาโนโมลาร์/ไมโครกรัมโปรตีน/นาที กำหนดให้ค่าการทำงานของเอนไซม์ที่ได้ในกลุ่มควบคุมเป็น 100 % นำค่าการทำงานของเอนไซม์ที่ได้ในกลุ่มทดลองมาเปรียบเทียบเป็นร้อยละของกลุ่มควบคุม

การวิเคราะห์ข้อมูลอาศัยเครื่องคอมพิวเตอร์โดยใช้โปรแกรมสถิติ SPSS 11.0 โดยใช้สถิติ One-way ANOVA และทดสอบความแตกต่างด้วย Tukey's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4 ผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการตอบสนองของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์ต่อวัสดุเอ็มทีเอ และวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน โดยผลการวิจัยได้จากการนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ มาคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของควมมีชีวิตของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ (%Cell Viability) ที่ได้จากมนุษย์ 3 คน โดยผลการวิจัยที่ได้มีดังนี้

1. การวัดความเป็นพิษด้วยวิธีการใช้สารเอ็มทีที (MTT assay) ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

ผลการทดลองพบว่า เมื่อนำสารละลายสกัดของวัสดุ (extracted medium) ที่มีความเข้มข้นของสารละลายสกัดของวัสดุต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัมที่อัตราส่วนต่าง ๆ ดังนี้ ได้แก่ 1:0, 1:1, 1:2, 1:4 และ 1:8 ไปทดสอบหาระดับความเป็นพิษต่อเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์ ด้วยวิธีการใช้สารเอ็มทีที ให้ผลดังนี้

วัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (ดังแสดงในภาพที่ 19A)

ในกลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายสกัดของวัสดุ ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัมเท่ากับ 1:0 แสดงระดับความเป็นพิษอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ ($p < 0.05$) และในกลุ่มควบคุมบวก คือ 10%FCS พบว่าไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์

วัสดุเอ็มทีเอ (ดังแสดงในภาพที่ 19B)

ในกลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายสกัดของวัสดุ ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัมเท่ากับ 1:0, 1:1 และ 1:2 แสดงระดับความเป็นพิษอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ ($p < 0.05$) และในกลุ่มควบคุมบวก คือ 10%FCS พบว่าไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์

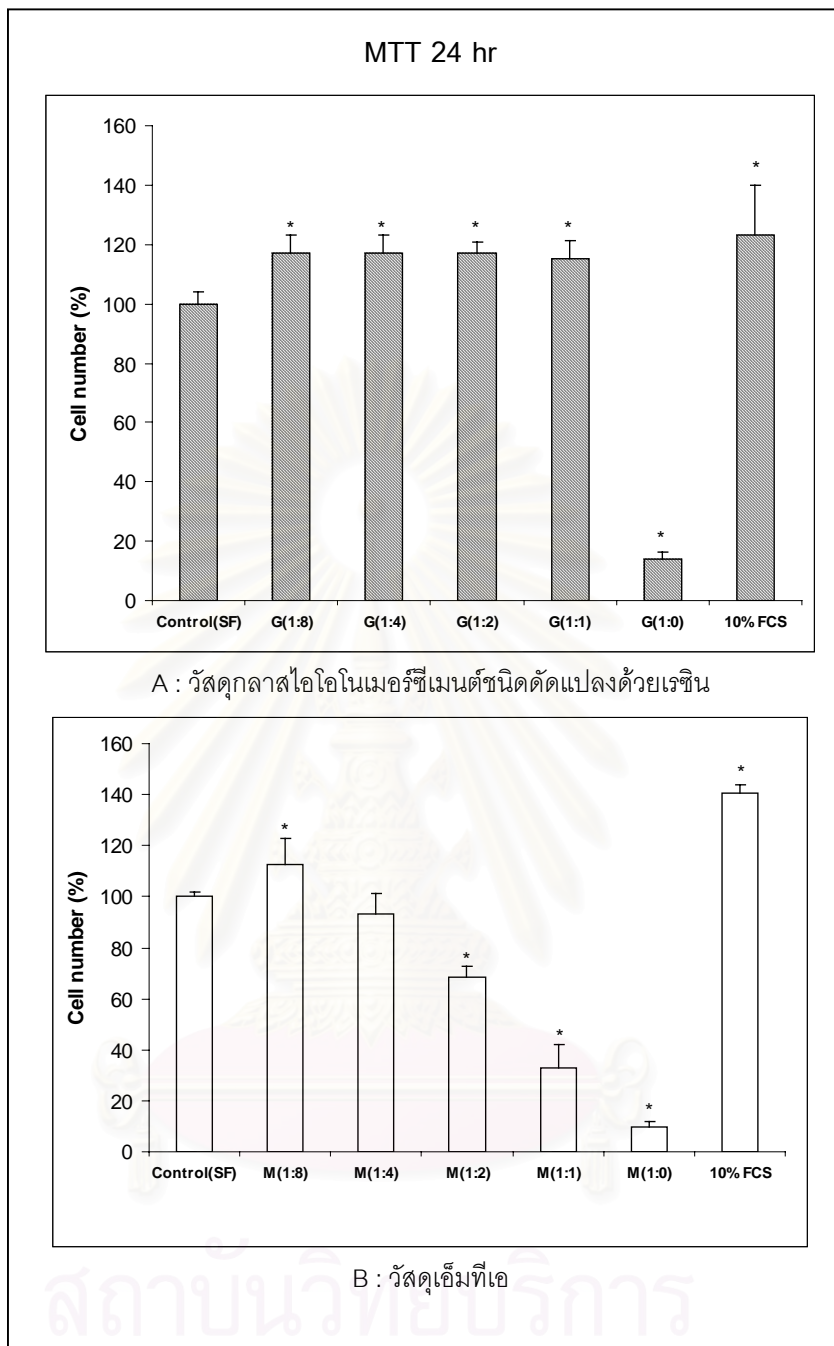
โดยสรุปจากผลการทดลองวัดความเป็นพิษด้วยวิธีการใช้สารเอ็มทีที ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าในวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน แสดงระดับความเป็นพิษที่อัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายสกัดของวัสดุต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:0 ส่วนในวัสดุเอ็มทีเอ แสดงระดับความเป็นพิษที่อัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายสกัดของวัสดุต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศ จากซีรัม เท่ากับ 1:0, 1:1 และ 1:2 ดังนั้นความเข้มข้นที่จะนำมาใช้ทดสอบวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ และค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน ได้แก่ กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นเท่ากับ 1:1,

1:2, 1:4 และ 1:8 ส่วนในกลุ่มวัสดุเอ็มทีเอ ได้แก่กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลาย สกัดของวัสดุต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัมเท่ากับ 1:4 และ 1:8

นอกจากผลการวัดความเป็นพิษในระยะเวลา 24 ชั่วโมงแล้ว ผลการทดลองยังพบว่า มี อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น โดยในวัสดุคูลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน มี การเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ ($p < 0.05$) ใน กลุ่มที่มีอัตราส่วนเท่ากับ 1:1, 1:2, 1:4 และ 1:8 ส่วนในวัสดุเอ็มทีเอ พบว่ามีอัตราการเพิ่มจำนวน เซลล์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ ($p < 0.05$) ในกลุ่มที่มี อัตราส่วนความเข้มข้นเท่ากับ 1:8 ส่วนในกลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นเท่ากับ 1:4 พบว่ามี การเพิ่มของจำนวนเซลล์เล็กน้อยโดยที่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 19 กราฟแสดงร้อยละของค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการวัดความเป็นพิษด้วยสารเอ็มทีเอของวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (A) และวัสดุเอ็มทีเอ (B) ที่มีต่อเซลล์เอ็นดีบริแทนต์ของมนุษย์ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง

แกน Y แสดงปริมาณของเซลล์เป็นร้อยละเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ

แกน X แสดงกลุ่มควบคุมลบ (=Control (SF)) (SF = Serum Free)

กลุ่มทดลอง 5 กลุ่มได้แก่ (G = วัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน), (M = วัสดุเอ็มทีเอ)

- G(1:8)/ M(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- G(1:4)/M(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4
- G(1:2)/M(1:2) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:2
- G(1:1)/M(1:1) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:1
- G(1:0)/M(1:0) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:0

กลุ่มควบคุมบวก (10%FCS = 10% Fetal Calf Serum)

* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ ($p < 0.05$) จากการวิเคราะห์ความแตกต่างของจำนวนเซลล์ด้วยสถิติ One Way ANOVA โดยใช้ Tukey's test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

2. การวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์โดยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง

จากผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ ทำให้ทราบว่าความเข้มข้นของสารละลายสกัดของวัสดุ ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัมที่อัตราส่วนความเข้มข้น 1:1, 1:2, 1:4 และ 1:8 ของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน และอัตราส่วนความเข้มข้น 1:4 และ 1:8 ของวัสดุเอ็มทีเอไม่เป็นพิษต่อเซลล์ ดังนั้นเมื่อนำสารละลายสกัดที่มีความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ไปทดสอบหาอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์เอนด์บริแทนต์ของมนุษย์ พบว่า

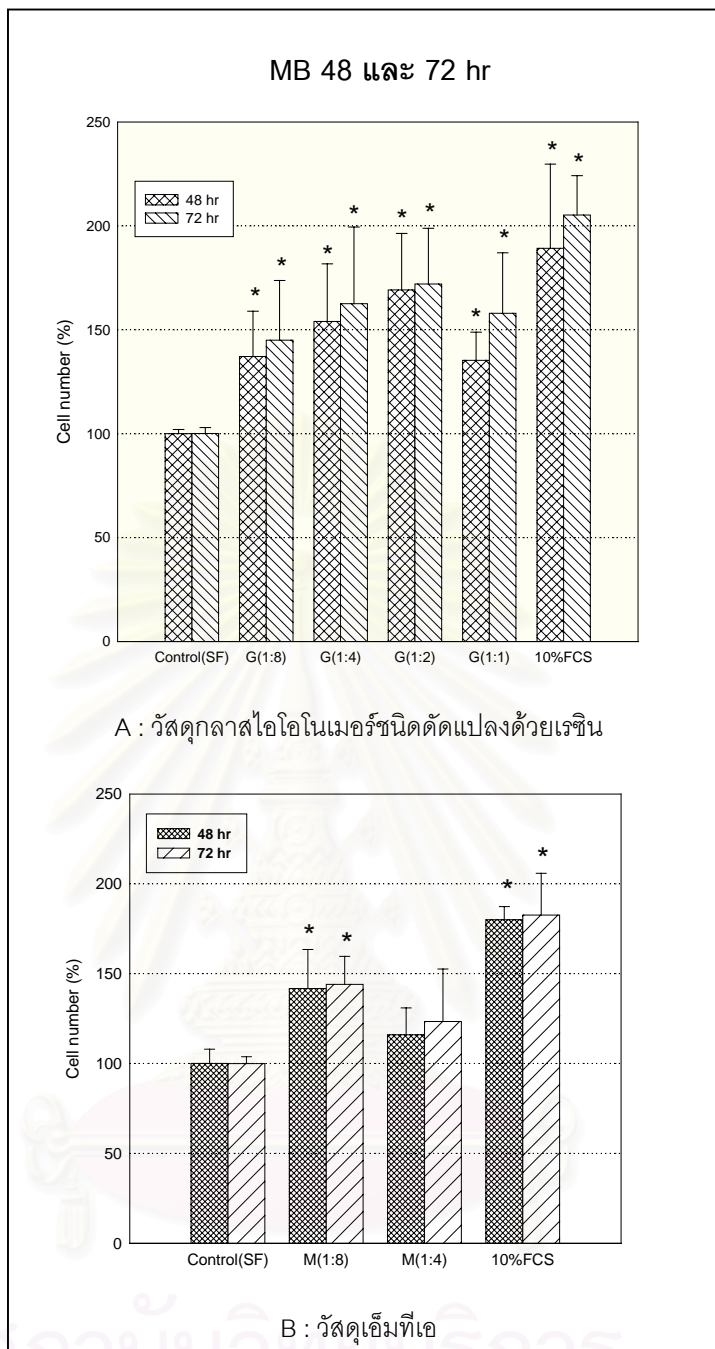
วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (ดังแสดงในภาพที่ 20A)

พบว่าที่ระยะเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง ในกลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นเท่ากับ 1:1, 1:2, 1:4 และ 1:8 มีอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ (SF) ($p < 0.05$) และพบว่าที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง จะมีอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ในทุกกลุ่มมากกว่าที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง

วัสดุเอ็มทีเอ (ดังแสดงในภาพที่ 20B)

พบว่าที่ระยะเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง ในกลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นเท่ากับ 1:8 มีอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ (SF) ($p < 0.05$) และในกลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นเท่ากับ 1:4 พบว่ามีอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์เล็กน้อย โดยที่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ และพบว่าที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง จะมีอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ในทุกกลุ่มมากกว่าที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 20 กราฟแสดงร้อยละของค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูของวัสดุกลาสไฮโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (A) และวัสดุเอ็มทีเอ (B) ที่มีต่อเซลล์เอ็นไนด์ปริทันต์ของมนุษย์ในระยะเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง

แกน Y แสดงปริมาณของเซลล์เป็นร้อยละเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ

แกน X แสดงกลุ่มควบคุมลบ (Control (SF)) (SF = Serum Free)

กลุ่มทดลอง ได้แก่ (G = วัสดุกลาสไฮโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน), (M = วัสดุเอ็มทีเอ)

- G(1:8)/ M(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- G(1:4)/M(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4
- G(1:2) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:2
- G(1:1) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:1

กลุ่มควบคุมบวก (10%FCS = 10% Fetal Calf Serum)

* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ ($p < 0.05$) จากการวิเคราะห์ความแตกต่างของจำนวนเซลล์ด้วยสถิติ One Way ANOVA โดยใช้ Tukey's test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. การวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 24, 72 และ 120 ชั่วโมง

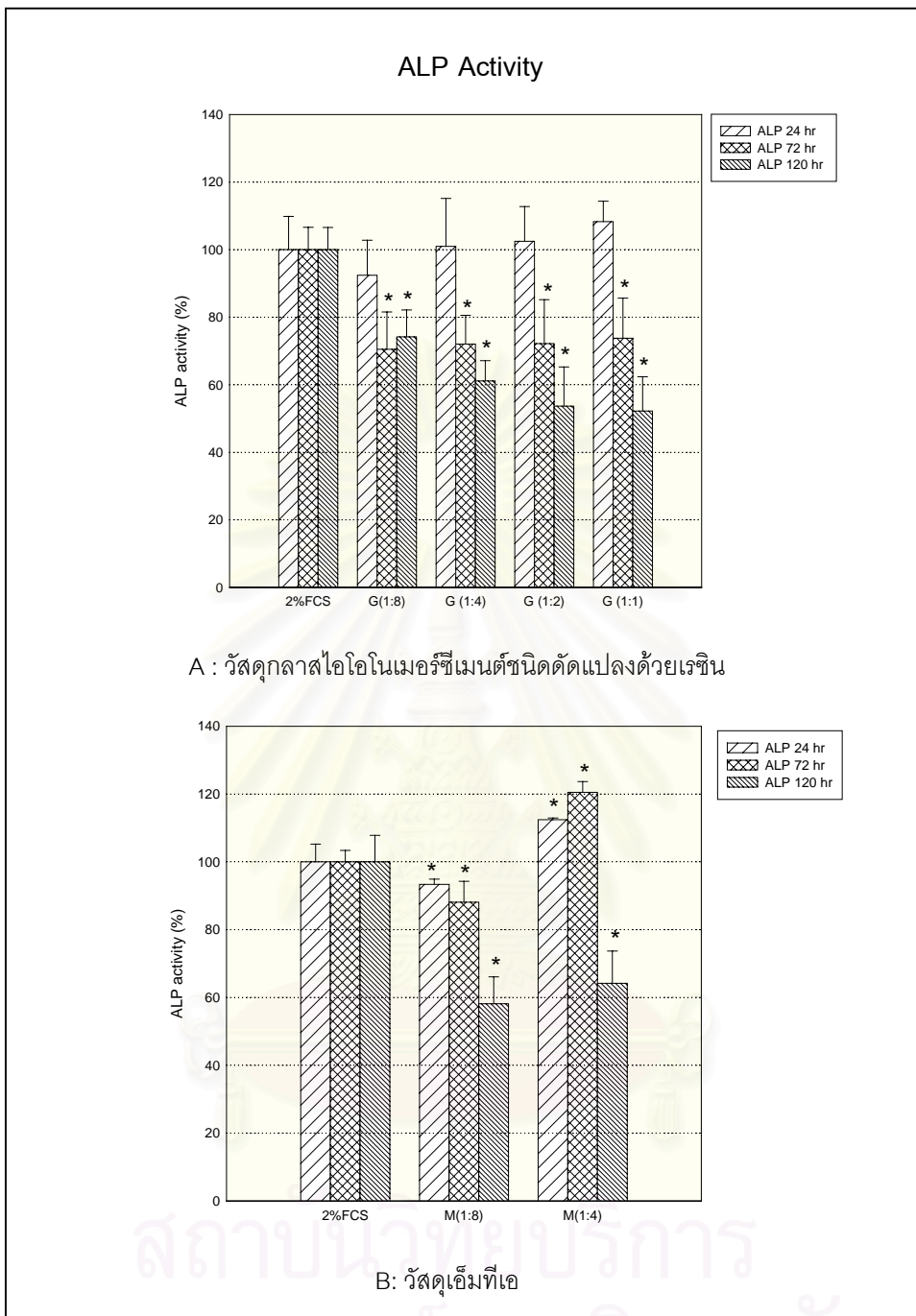
วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (ดังแสดงในภาพที่ 21A)

พบว่าที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในกลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นเท่ากับ 1:8 มีค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสลดลงเล็กน้อย โดยที่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนในกลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นเท่ากับ 1:4, 1:2 และ 1:1 มีค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเพิ่มขึ้นเล็กน้อย โดยที่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และที่ระยะเวลา 72 และ 120 ชั่วโมง พบว่าในกลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นเท่ากับ 1:8, 1:4, 1:2 และ 1:1 มีค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมง จะมีค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสลดลงมากกว่าที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง

วัสดุเอ็มทีเอ (ดังแสดงในภาพที่ 21B)

พบว่าที่ระยะเวลา 24 และ 72 ชั่วโมง ในกลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นเท่ากับ 1:8 มีค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) ส่วนในกลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นเท่ากับ 1:4 มีค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) และที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมงพบว่าทั้งสองกลุ่ม คือกลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นเท่ากับ 1:8 และ 1:4 มีค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 21 กราฟแสดงร้อยละของค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสของวัสดุกระจกไฮโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (A) และวัสดุเอ็มทีเอ (B) ที่มีต่อเซลล์เอ็นยี่ดปริทันต์ของมนุษย์ในระยะเวลา 24, 72 และ 120 ชั่วโมง

แกน Y แสดงร้อยละของค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (ALP activity)

แกน X แสดงกลุ่มควบคุม (2% FCS = 2 % Fetal Calf Serum)

กลุ่มทดลอง ได้แก่ (G = วัสดุกระจกไฮโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน), (M = วัสดุเอ็มทีเอ)

- G(1:8)/ M(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- G(1:4)/M(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4
- G(1:2) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:2
- G(1:1) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:1

* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ ($p < 0.05$) จากการวิเคราะห์ความแตกต่างของจำนวนเซลล์ด้วยสถิติ One Way ANOVA โดยใช้ Tukey's test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย และ อภิปรายผลการวิจัย

สรุปผลการวิจัย

1. จากการทดลองในห้องปฏิบัติการ พบว่าเซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นดอทีลียัลของมนุษย์ มีแนวโน้มการตอบสนองต่อวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน ดีกว่าวัสดุเอ็มทีเอ เนื่องจากพบว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์น้อยกว่า และมีผลต่ออัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์สูงกว่า
2. วัสดุเอ็มทีเอในกลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม 1:8 มีผลทำให้อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่ระยะเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง และมีผลทำให้ค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสลดลงที่ระยะเวลา 24, 72 และ 120 ชั่วโมง
3. วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน ในกลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม 1:1, 1:2, 1:4 และ 1:8 มีผลทำให้อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่ระยะเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง และมีผลทำให้ค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสลดลงที่ระยะเวลา 72 และ 120 ชั่วโมง

อภิปรายผลการวิจัย

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้เลือกวิธีการศึกษาโดยใช้สารละลายสกัดของวัสดุ (extracted medium) มาทำการทดสอบดูผลการตอบสนองของเซลล์เอ็นดอทีลียัลของมนุษย์ในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากเป็นวิธีการที่สามารถทำให้วัสดุที่จะนำมาใช้ทดสอบกับเซลล์ปราศจากเชื้อได้ง่าย โดยการนำไปกรองด้วยแผ่นกรอง (millipore filter) ขนาด 0.22 ไมครอน เป็นวิธีการที่ทำซ้ำใหม่ได้ (reproducible) ทำให้สามารถนำผลการทดลองที่ได้ในแต่ละครั้งมาเปรียบเทียบกันได้ นอกจากนี้ จากผลการศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ และลักษณะทางภาพรังสีที่เคยมีรายงานการศึกษามาก่อน พบว่าระยะเวลาที่ใช้ในการสร้างเนื้อเยื่อแข็ง (mineralized tissue) ใช้เวลาตั้งแต่ 2 – 12 เดือน ซึ่งผลดังกล่าวน่าจะเป็นผลมาจากผลโดยอ้อมของวัสดุ (indirect effect) ที่ค่อย ๆ หลั่งสารบางอย่างออกมามากกว่าที่จะเป็นผลโดยตรงจากการสัมผัสกับวัสดุ จึงเป็นสาเหตุให้ผู้วิจัยเลือกใช้วิธีการศึกษาแบบที่ไม่ได้สัมผัสกับตัววัสดุโดยตรง (indirect contact) นั่นคือการใช้สารละลายสกัดของวัสดุนั่นเอง

เพื่อเลียนแบบลักษณะการตอบสนองของเซลล์ในมนุษย์ให้มากที่สุด จึงเลือกใช้เซลล์เอ็นโดพริทนต์ของมนุษย์ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเอ็นโดพริทนต์โดยตรงมาทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการ โดยเทคนิคที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์เอ็นโดพริทนต์ในการทดลองนี้ เป็นเทคนิคที่ได้รับการยอมรับและมีการตีพิมพ์ในวารสารต่างประเทศที่มีชื่อเสียง (Darongsuwan และ Pavasant, 1997) โดยเรียกเซลล์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเอ็นโดพริทนต์ว่า เซลล์เอ็นโดพริทนต์ เนื่องจากเพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อเอ็นโดพริทนต์ที่นำมาจากบริเวณส่วนกลางของรากฟัน เซลล์ที่ได้จึงเป็นเซลล์เอ็นโดพริทนต์จริง ไม่ใช่เซลล์เนื้อเยื่อเหงือก หรือเซลล์เนื้อเยื่อในฟัน โดยพบว่าเซลล์เอ็นโดพริทนต์ ประกอบไปด้วยเซลล์ต่าง ๆ หลายชนิด เช่นเซลล์สร้างเส้นใย เซลล์สร้างกระดูก เซลล์สร้างเคลือบรากฟัน เป็นต้น การที่เซลล์เอ็นโดพริทนต์ประกอบไปด้วยเซลล์หลายชนิด ทำให้ผลการตอบสนองที่ได้เกิดจากเซลล์หลายชนิด อาจมีผลต่อความแปรปรวนของผลการวิจัยได้ แต่อย่างไรก็ตามผลการทดลองที่ได้ในแต่ละการทดลองมีการนำมาเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมในแต่ละการทดลองก่อน ทำให้ความแปรปรวนที่เกิดขึ้นมีผลต่อผลการวิจัยไม่มากนัก และเพื่อที่จะได้ทราบถึงการตอบสนองของเซลล์นี้โดยตรงต่อวัสดุ และเพื่อยืนยันผลการวิจัยว่าให้ผลการตอบสนองของเซลล์ที่เป็นไปในทางเดียวกัน โดยที่ไม่มีความแตกต่างในแต่ละบุคคล จึงทำการทดลองในเซลล์ที่ได้จากมนุษย์ที่แตกต่างกัน 3 ราย เพื่อแสดงให้เห็นว่าผลการทดลองที่ได้สามารถทำซ้ำได้และให้ผลไปในทิศทางเดียวกัน ในการศึกษาครั้งนี้ถึงแม้ว่าเซลล์แต่ละรายที่นำมาทดสอบจะให้ผลการตอบสนองที่วัดได้เป็นค่าการดูดกลืนแสงที่แตกต่างกันไป แต่เนื่องจากค่าที่ได้จะถูกนำไปเทียบกับกลุ่มควบคุมในแต่ละการทดลอง ก่อนที่จะนำมาเปรียบเทียบระหว่างบุคคล ดังนั้นค่าที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล จึงเป็นค่าที่ได้จากการนำไปคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในแต่ละการทดลอง ทำให้สามารถนำค่าที่ได้ภายหลังการคำนวณแล้วมาเปรียบเทียบกันได้ ซึ่งจากผลการทดลองในครั้งนี้ก็พบว่าผลการทดลองในเซลล์ที่ได้จากมนุษย์ที่แตกต่างกัน ให้ผลที่มีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน

จากผลการทดลอง เมื่อวัดความเป็นพิษของวัสดุทั้งสองชนิดด้วยวิธีการใช้สารเอ็มทีทีแสดงให้เห็นว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน มีความเป็นพิษต่อเซลล์เอ็นโดพริทนต์ของมนุษย์น้อยกว่าวัสดุเอ็มทีเอ โดยพบว่าที่อัตราส่วนความเข้มข้นเท่ากับ 1:0 วัสดุทั้งสองชนิดมีความเป็นพิษต่อเซลล์ไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อทำให้ความเข้มข้นของสารละลายสกัดของวัสดุลดลง พบว่าวัสดุเอ็มทีเอยังคงมีความเป็นพิษต่อเซลล์อยู่ ขณะที่วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ ในทางตรงกันข้ามกลับพบว่าความเข้มข้นดังกล่าวทำให้เซลล์มีอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์มากยิ่งขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) การที่วัสดุเอ็มทีเอมีความเป็นพิษต่อเซลล์มากกว่า อาจเนื่องมาจากคุณสมบัติทางกายภาพของวัสดุในแง่ที่ว่ามีความเป็นต่าง

ภายหลังการแข็งตัวที่ค่อนข้างสูง (pH = 12.5) หรือเกิดจากการปล่อยสารบางชนิดออกมาทำให้เกิดการอันตรายต่อเซลล์ก็เป็นได้ (Torabinejad, Hong, McDonald และคณะ, 1995)

ผลการทดสอบความเป็นพิษที่ได้ในการศึกษานี้แตกต่างจากผลการศึกษาที่เคยมีรายงานมาก่อน จากการทดสอบด้วยวิธี agar overlay และวิธี radiochromium released ทดสอบดูความเป็นพิษต่อเซลล์ L929 mouse fibroblast พบว่าเอมที่เอทีผสมเสร็จใหม่ และทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง มีความเป็นพิษมากกว่าอมัลกัม แต่น้อยกว่าซูปเปอร์อียิปีเอ และไออาร์เอม ตามลำดับเมื่อใช้วิธี agar overlay แต่เมื่อใช้วิธี radiochromium released พบว่าเอมที่เอมีความเป็นพิษน้อยกว่าอมัลกัม ซูปเปอร์อียิปีเอ และ ไออาร์เอมตามลำดับ ซึ่งผลการศึกษาที่แตกต่างกันอาจเนื่องมาจากวิธีการที่ใช้ทดสอบแตกต่างกัน การทดสอบโดยวิธี agar overlay นั้นมีหลายปัจจัยที่มีผลต่อการทดลอง ได้แก่ อัตราการแพร่ของสารทดสอบผ่านอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ น้ำหนักโมเลกุลของสาร ความสามารถในการละลายน้ำของสาร การสัมผัสโดยตรงระหว่างวัสดุที่ทดสอบกับเซลล์ที่ใช้ทดสอบ ดังนั้นบางครั้งวัสดุที่ทดสอบมีความเป็นพิษมาก แต่มีอัตราการแพร่ผ่านอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อต่ำก็ทำให้เซลล์ในอาหารเลี้ยงเชื้อตายเพียงเล็กน้อย (Torabinejad, Hong, McDonald และคณะ, 1995) จากการศึกษาโดยวิธีการวัดความเป็นพิษด้วยสารเอมที่ที (MTT assay) และวิธี CV assay (Crystal Violet assay) โดยใช้เซลล์ human gingival fibroblast และเซลล์ L929 mouse fibroblast พบว่าเอมที่เอเป็นวัสดุอุดปลายรากฟันที่มีพิษน้อยที่สุด เมื่อเทียบกับ อมัลกัม ซูปเปอร์อียิปีเอ และคีแทคซิลเวอร์ (Ketac silver) (Osario และคณะ, 1998) จากการศึกษาในลักษณะคล้ายกัน แต่ใช้เซลล์ human periodontal ligament fibroblast แทนเพื่อจำลองให้เหมือนในสภาวะของปลายรากฟัน และใช้สารสกัดจากวัสดุอุดปลายรากฟันในความเข้มข้นต่างๆ กัน เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความเข้มข้นของสารกับการตอบสนองของเซลล์ (dose-response relationship) พบว่าเอมที่เอจะมีความเป็นพิษน้อยที่สุด ในขณะที่อมัลกัมจะมีความเป็นพิษมากที่สุด (Keiser และคณะ, 2000) จะเห็นได้ว่าผลการทดสอบที่ได้แตกต่างกันนั้น อาจเนื่องมาจากวิธีการวิจัยที่ต่างกัน วิธีการวัดความเป็นพิษที่ต่างกัน การเตรียมวัสดุสำหรับใช้ทดสอบไม่เหมือนกัน เช่น นำไปสกัดในสารละลายคนละชนิด ทำให้มีการปลดปล่อยสารบางตัวออกมามีผลต่อเซลล์ไม่เหมือนกัน นอกจากนี้การทดลองในครั้งนี้นำวัสดุไปสกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม ขณะที่การศึกษาของ Keiser และคณะ นำไปสกัดในสารละลายที่เป็นน้ำ โดยใช้เวลาที่แตกต่างกัน ทั้งนี้การนำไปสกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัมมีข้อดี คือเป็นสารที่จะใช้เป็นสารในกลุ่มควบคุม และเป็นสารที่ใช้ในการผสมกับสารละลายสกัดของวัสดุโดยตรง เพื่อให้มีอัตราส่วนความเข้มข้นต่างๆ ตามต้องการก่อนนำไปทดสอบ นอกจากนี้ยังมีข้อประกอบที่เป็นน้ำเหมือนกัน ดังนั้นการนำไปสกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัมจึงมีข้อดีกว่า นอกจากนี้

ผลการศึกษาที่ได้แตกต่างกันอาจเป็นผลมาจากเซลล์ที่ใช้ทดสอบเป็นเซลล์คนละชนิดกัน ทำให้ได้ผลการตอบสนองที่แตกต่างกัน

จากผลการทดลองวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลู พบว่าเซลล์เอ็นยีคปริทันต์ของมนุษย์ มีแนวโน้มการตอบสนองต่อไวรัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินที่ดีกว่าไวรัสเอ็มทีเอ นั่นคือ ที่ระยะเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าไวรัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในกลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นเท่ากับ 1:1, 1:2, 1:4 และ 1:8 มีผลทำให้เซลล์มีอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ ($p < 0.05$) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นเท่ากับ 1:2 และ 1:4 จะมีการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่มากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ขณะที่ในไวรัสเอ็มทีเอพบว่าเฉพาะในกลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นเท่ากับ 1:8 เท่านั้นที่ทำให้เซลล์มีอัตราการเพิ่มจำนวนสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้เมื่อนำค่าร้อยละของค่าเฉลี่ยของเซลล์ที่มีชีวิตที่คำนวณได้มาเปรียบเทียบกับ จะพบว่าในไวรัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน จะมีค่ามากกว่าไวรัสเอ็มทีเอในทุกกลุ่มอัตราส่วนความเข้มข้น และผลการทดลองยังพบว่าที่ระยะเวลาที่นานมากขึ้น เซลล์จะมีอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์สูงขึ้นตามไปด้วย การที่เซลล์มีอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่มากขึ้น มีข้อดีในแง่ของการเกิดส่งเสริมการหายของแผลอย่างสมบูรณ์ในช่วงแรก โดยปริมาณเซลล์ที่เพิ่มขึ้นทำให้มีการสร้างเมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix) มากขึ้น ส่งเสริมให้เกิดการยึดเกาะของเซลล์และการเพิ่มจำนวนเซลล์มากยิ่งขึ้น เพื่อซ่อมแซมส่วนของเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายไป (McCulloch, 1995)

ในการทดลองครั้งนี้เลือกใช้วิธีการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ ด้วยวิธีการย้อมเซลล์ด้วยสีเมธิลีนบลูซึ่งเป็นวิธีการที่มีข้อดีหลายประการ เนื่องจากเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว มีความถูกต้องแม่นยำ และสามารถนำมาใช้เปรียบเทียบผลของสารแต่ละชนิดที่มีต่อการเจริญของเซลล์ (Oliver และคณะ, 1989) วิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูเป็นการย้อมโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตบนผิวเซลล์ เนื่องจากคุณสมบัติของสีเมธิลีนบลูที่มีประจุบวก ทำให้สามารถย้อมติดสีต่าง และสามารถจับกับองค์ประกอบที่มีประจุลบ ซึ่งก็คือโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตบนผิวเซลล์ได้ (Oliver และคณะ, 1989) นอกจากวิธีที่กล่าวมาแล้ว วิธีการอื่นในการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่ค่อนข้างเป็นที่ยอมรับกันว่ามีความแม่นยำ และเที่ยงตรงสูง คือ การวัดอัตราการสร้างสารพันธุกรรม (DNA) ด้วยการใส่สารกัมมันตรังสีต่อเข้ากับกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) และวัดอัตราการใส่กรดนิวคลีอิกของเซลล์ในการสร้างสารพันธุกรรม แต่เนื่องจากเป็นวิธีที่ค่อนข้างยุ่งยาก และมีค่าใช้จ่ายสูง การทดลองครั้งนี้จึงเลือกวิธีดังกล่าวข้างต้นแทน ส่วนการวิเคราะห์ความเป็นพิษในการ

ทดลองครั้งนี้ใช้วิธีการวิเคราะห์ด้วยการใช้สารเอ็มทีที ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการทดสอบหาระดับความเป็นพิษ (Alley และคณะ, 1988) เนื่องจากเป็นวิธีการวัดจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ โดยอาศัยหลักการที่ว่า เซลล์ที่ยังมีชีวิตจะสามารถใช้เอนไซม์ไมโทคอนเดรียดีไฮโดรจีเนส (mitochondrial dehydrogenase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการหายใจระดับเซลล์ ในการเปลี่ยนเตตระโซลเลียมซอลท์ (tetrazolium salt) ในสารเอ็มทีทีให้เป็นผลิตภัณฑ์ฟอร์มาแซนสีม่วง ซึ่งเมื่อนำไปละลายด้วยสารละลายที่เหมาะสมจะสามารถนำไปวัดหาปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตได้

ในส่วนผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส พบว่าที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในทุกกลุ่มความเข้มข้น มีค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเปลี่ยนแปลงน้อยมาก และที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมงซึ่งพบว่ามีการเพิ่มจำนวนเซลล์สูงมาก กลับพบว่ามีค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และยังคงพบว่ามีระยะเวลานาน (120 ชั่วโมง) ค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสยังต่ำลง

เนื่องจากเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสทำหน้าที่เป็นตัวชี้วัดตัวหนึ่งของเซลล์ ที่แสดงคุณลักษณะของการเป็นเซลล์สร้างเนื้อเยื่อแข็งได้ (osteoinductive marker) ดังนั้นถ้าพบว่ามีค่าการทำงานของเอนไซม์เพิ่มขึ้น น่าจะแสดงว่าเซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นดอปรีทันต์ของมนุษย์สามารถดิฟเฟอเรนทิเอทไปเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่สร้างเนื้อเยื่อแข็งได้ (Krzysztof และคณะ, 1986) ดังนั้นการที่วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน ทำให้เซลล์เอ็นดอปรีทันต์ของมนุษย์ มีการตอบสนองโดยมีอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์สูงขึ้น สอดคล้องกับค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ลดต่ำลง แสดงว่าในระยะเวลา 120 ชั่วโมงแรก วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน ไม่ได้ทำให้เกิดการดิฟเฟอเรนทิเอทของเซลล์เอ็นดอปรีทันต์ของมนุษย์ไปเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่สร้างเนื้อเยื่อแข็ง แต่ทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนเซลล์มากขึ้น ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าผลของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน ต่อกระบวนการเกิดการหายของแผลอย่างสมบูรณ์ (regeneration) ที่เกิดขึ้นช่วงแรก อาจมาจากการเพิ่มจำนวนเซลล์มากขึ้น ร่วมกับการสร้างเมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix) เพื่อช่วยในการยึดเกาะและเพิ่มจำนวนเซลล์ เพื่อซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่เสียหาย หลังจากนั้นจึงเกิดการดิฟเฟอเรนทิเอทของเซลล์เพื่อสร้างเนื้อเยื่อแข็งในภายหลัง ซึ่งในแง่การซ่อมแซมนั้น มีรายงานว่าไฟโบรเนกติน (fibronectin) เป็นเมทริกซ์ตัวแรกที่เซลล์สร้างขึ้นเมื่อได้รับอันตราย และพบว่าเป็นโปรตีนที่มีบทบาทสำคัญในการช่วยยึดเกาะของเซลล์เข้ากับเมทริกซ์นอกเซลล์ และช่วยสนับสนุนให้เซลล์มีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้น รวมทั้งช่วยในการดึงดูดเซลล์จากบริเวณข้างเคียงให้

เคลื่อนตัวเข้ามาบริเวณที่มีการสร้างโปรตีนตัวนี้ (Vitale และคณะ, 1997) ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้จะมีส่วนช่วยเหลืออย่างสำคัญในการเกิดการหายของแผลอย่างสมบูรณ์ตามมา และจากผลการทดลองที่พบว่ามีการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ลดต่ำลงนั้น พบว่ามีการสร้างโปรตีนเพิ่มมากขึ้น (ผลการทดลองไม่ได้แสดงไว้) ซึ่งการศึกษาถึงการสร้างโปรตีนดังกล่าวในรายละเอียดต่อไป เป็นหัวข้อหนึ่งที่นักศึกษาเพิ่มเติมต่อไป เพื่อให้เกิดความเข้าใจในกลไกการเกิดการหายของแผลอย่างสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ส่วนผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในวัสดุเอ็มทีเอ พบว่าที่ระยะเวลา 24, 72 และ 120 ชั่วโมง ในกลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้น 1:8 มีค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ลดต่ำลง สอดคล้องกับการมีอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่สูงขึ้น ส่วนในกลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้น 1:4 ซึ่งพบว่ามีการเพิ่มจำนวนเซลล์ไม่มากนัก และพบว่าค่าการทำงานของเอนไซม์เอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่วัดได้ก็สอดคล้องกัน คือมีค่าการทำงานของเอนไซม์เพิ่มขึ้นในช่วงแรก (24 และ 72 ชั่วโมง) และลดต่ำลงในช่วงหลัง (120 ชั่วโมง) แสดงว่าวัสดุเอ็มทีเอในกลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้น 1:4 ให้ผลกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์เอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสอย่างอ่อน ๆ ในช่วง 72 ชั่วโมงแรก และหลังจากนั้นจึงมีค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ลดต่ำลง เหมือนวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน นั่นคือวัสดุเอ็มทีเอในความเข้มข้นที่เหมาะสมอาจจะทำให้เกิดการดิฟเฟอเรนทิเอทของเซลล์เอ็นดัยคปริทันต์ไปเป็นเซลล์สร้างเนื้อเยื่อแข็งก็เป็นที่น่าเป็นไปได้ ทั้งนี้ทั้งนั้นอาจจะต้องทำการศึกษาถึงตัวบ่งชี้ในการสร้างเนื้อเยื่อแข็ง (osteoinductive marker) ตัวอื่นๆ ต่อไปเพื่อยืนยันหรือทำให้เกิดความเข้าใจในกระบวนการสร้างเนื้อเยื่อแข็งมากยิ่งขึ้น

จากผลการศึกษาคำตอบสนองของเซลล์เอ็นดัยคปริทันต์ของมนุษย์ต่อวัสดุทั้งสองชนิดในห้องปฏิบัติการ พบว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินทำให้เกิดการตอบสนองของเซลล์ในทางบวกมากกว่าวัสดุเอ็มทีเอ ซึ่งผลที่ได้แตกต่างจากผลการศึกษาที่มีรายงานการนำวัสดุทั้งสองชนิดไปศึกษาในสัตว์ทดลอง (Torabinejad, Hong, Pitt Ford และคณะ, 1995, Torabinejad และคณะ 1997, 1998 ; Pitt Ford และคณะ, 1995 ; Holland และคณะ, 1999a, 1999b, 2001; Shabahang และคณะ, 1999) หรือในการรายงานผู้ป่วย (Aren และ Torabinejad, 1995) ที่พบว่าวัสดุเอ็มทีเอเป็นวัสดุที่มีความเป็นพิษต่ำ ให้ผลการรักษาที่ดี สามารถทำให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อแข็งได้ ทั้งนี้ผลการศึกษาที่แตกต่างกันอาจเป็นเพราะความแตกต่างของรูปแบบ วิธีการที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งในการทดลองนี้เป็นการศึกษาการตอบสนองของเซลล์เพียงชนิดเดียว อาจแตกต่างจากความเป็นจริงที่มีเซลล์หลาย ๆ ชนิดมาเกี่ยวข้องสัมพันธ์กัน มีสภาวะแวดล้อมที่

ไม่เหมือนกัน ทำให้ผลการศึกษาที่ได้แตกต่างกัน หรืออาจเกิดจากคุณสมบัติทางกายภาพของวัสดุที่แตกต่างกันก็เป็นได้ ไม่ว่าจะเป็นคุณสมบัติในเรื่องการไวต่อความชื้น หรือคุณสมบัติในเรื่องความแนบสนิทเป็นต้น ถึงแม้จะมีรายงานว่าวัสดุเอ็มทีเอเป็นวัสดุที่ชอบน้ำ (hydrophillic) สามารถนำไปใช้ได้ดีในบริเวณที่มีความชื้นจากเลือด หรือน้ำ และจากการที่มีการขยายตัวขณะกำลังแข็งตัว (setting expansion) ทำให้เกิดความแนบสนิทที่ดี ไม่เกิดการรั่วซึมของเชื้อจุลินทรีย์ผ่านเข้าออกได้ ทำให้เกิดสภาวะที่เอื้ออำนวยต่อการหายของแผลอย่างสมบูรณ์ ต่างจากวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน ซึ่งถึงแม้จะมีการปรับปรุงคุณสมบัติให้มีความไวต่อความชื้นลดลง แต่ถ้าเกิดการปนเปื้อนจากความชื้นหรือเลือดที่มากเกินไป ก็จะมีสูญเสียคุณสมบัติบางอย่างไปได้ทำให้ขีดขวางต่อการเกิดการหายอย่างสมบูรณ์ตามมาก็เป็นได้ อย่างไรก็ตามเนื่องจากยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติทางกายภาพของวัสดุทั้ง 2 ชนิดโดยตรง ดังนั้นจึงไม่สามารถบอกได้ว่าวัสดุใดมีคุณสมบัติทางกายภาพที่ดีกว่า ดังนั้นจำเป็นจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปในอนาคต เพื่อหาข้อสรุปที่ชัดเจนอันจะนำไปสู่การเลือกใช้วัสดุให้เกิดประโยชน์สูงสุด



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 6

บทสรุป และข้อเสนอแนะ

บทสรุป

จากผลการวิจัยในครั้งนี้ เซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นดอทีทนต์ของมนุษย์มีการตอบสนองต่อวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินดีกว่าวัสดุเอ็มทีเอเมื่อศึกษาถึงผลของวัสดุต่ออัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ แต่เมื่อศึกษาผลของวัสดุต่อค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส พบว่าเซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นดอทีทนต์ของมนุษย์มีการตอบสนองต่อวัสดุทั้งสองชนิดไม่แตกต่างกัน ซึ่งผลที่ได้แตกต่างจากผลการศึกษาที่เคยมีรายงานมาก่อนทั้งจากการศึกษาในห้องปฏิบัติการ และการศึกษาในสิ่งมีชีวิต ทั้งนี้ผลการศึกษาที่แตกต่างกันอาจเป็นเพราะความแตกต่างของรูปแบบ และวิธีการที่ใช้ในการทดลองที่แตกต่างกัน และเนื่องจากยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติของวัสดุทั้ง 2 ชนิดโดยตรงไม่ว่าจะเป็นคุณสมบัติทางกายภาพ คุณสมบัติทางชีวภาพ รวมไปถึงการศึกษาในระดับเซลล์ ดังนั้นจึงไม่สามารถบอกได้แน่ชัดว่าวัสดุใดมีคุณสมบัติที่ดีกว่า จำเป็นจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป เพื่อหาข้อสรุปที่ชัดเจนอันจะนำไปสู่การเลือกใช้วัสดุให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อไปในอนาคต

ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากเป็นการศึกษาถึงอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ และค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ซึ่งเป็นการตอบสนองของเซลล์ระยะแรกเท่านั้นผลการทดลองที่ได้เป็นเพียงข้อมูลเบื้องต้น ที่จะใช้เป็นแนวทางในการศึกษาทดลองต่อไปในอนาคต เพื่อยืนยันหรือหาข้อสรุปที่ชัดเจนต่อไป จำเป็นจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม เช่นศึกษาตัวชี้วัดอื่น ๆ ไม่ว่าจะเป็น ออสติโอพอนติน ออสติโอแคลซิน โบนไชอะโรโปรตีน เป็นต้น หรือศึกษาชนิดโปรตีนที่มีการสร้างขึ้น รวมถึงจะต้องทำการศึกษาในระยะยาวต่อไป
2. การศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาการตอบสนองของเซลล์เพียงชนิดเดียว ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งมีสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างจากในร่างกายสิ่งมีชีวิตจริงซึ่งมีเซลล์มากมายหลายชนิดมาทำงานร่วมกัน ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาในห้องปฏิบัติการอื่น ๆ และการตอบสนองในสิ่งมีชีวิตเพิ่มเติมต่อไป

รายการอ้างอิง

- Abedi, H. R. and Ingle, J. I. 1995. Mineral trioxide aggregate: A review of a new cement. **J Calif Dent Assoc** 23(12): 36-39.
- Alhadainy, H. A. 1994. Root perforation. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 78: 368 - 374.
- Alhadainy, H. A. and Himel, V. T. 1993. Comparative study of the sealing ability of light-cured versus chemically cured materials placed into furcation perforations. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 76(3): 338-342.
- Adamo, H. L., Buruiana, R., Schertzer, L. and Boylan, R. J. 1999. A comparison of MTA, super-EBA, composite and amalgam as root-end filling materials using a bacterial microleakage model. **Int Endod J** 32(3): 197-203
- Alley, M. C., Scudiero, D. A., Monks, A., Hursey, M. L., Czerwinski, M. J., Fine, D. L., et al. 1988. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. **Cancer Res** 48: 589-601.
- Aqrabawi, J. 2000. Sealing ability of amalgam, super EBA cement, and MTA when used as retrograde filling materials. **Br Dent J** 188(5): 266-268.
- Arceo, N., Sauk, J., Moehring, J., Foster, R. and Somerman, M. 1991. Human periodontal cells initiate mineral like nodules in vitro. **J Periodontol** 62: 499 - 503.
- Arens, D. E. and Torabinejad, M. 1996. Repair of furcal perforations with mineral trioxide aggregate: Two case reports. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** 82(1): 84-88.
- Attin, T., Buchalla, W., Kielbassa, A. and Kellwig, E. 1995. Curing shrinkage and volumetric changes of resin - modified glass ionomer restorative materials. **Dent Mater** 11: 359 - 362.
- Aukhil, I., Nishimura, K. and Fernyhough, W. 1990. Experimental regeneration of the periodontium. **Crit Rev Oral Biol Med** 1: 101 - 105.
- Barry, T. I., Clinton, D. J. and Wilson, A. D. 1979. The structure of a glass-ionomer cement and its relationship to the setting process. **J Dent Res** 58(3): 1072-1079.
- Bates, C. F., Carnes, D. L. and del Rio, C. E. 1996. Longitudinal sealing ability of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. **J Endod** 22(11): 575-578.

- Basdra, E. and Komposch, G. 1997. Osteoblast - like properties of human periodontal ligament cells : An in vitro analysis. **Eur J Oral Sci** 19: 615 - 621.
- Beech, D. 1973. Improvement in the adhesion of polyacrylate cements to human dentine. **Br Dent J** 135: 442 - 445.
- Brook, I. and Hatton, P. 1998. Glass-ionomer bioactive implant materials. **Biomaterial** 19: 565 - 571.
- Bryan, E. B., Woollard, G. and Mitchell, W. C. 1999. Nonsurgical repair of furcal perforations: A literature review. **Gen Dent** 47(3): 274-278; quiz 279-280.
- Cox, C. F., Bergenholtz, G., Hey, D. R., Syed, S.A., Fitzgerald, M. and Wey, R. J. 1985. Pulp capping of dental pulp mechanically exposed to oral microflora : a 1-2 years observation of wound healing in the monkey. **J Oral Pathol** 14: 156-168.
- Crisp, S. and Wilson, A. D. 1974. Reactions in glass ionomer cements: I. Decomposition of the powder. **J Dent Res** 53(6): 1408-1413.
- Croll, T. P. 1992. Glass ionomer and esthetic dentistry. **J Am Dent Assoc** 3: 425 - 429.
- Cummings, G. R. and Torabinejad, M. 1995. Mineral trioxide aggregate (MTA) as an isolating barrier for internal bleaching. **J Endod** 21: 228.
- Darongsuwan, T., and Pavasant, P. 1997. In vitro effect of hydroxyapatite crystal on gingival and periodontal ligament fibroblasts. **CU Dent J.** 20: 183-193.
- Derkson, G. D., Pashley, D. H. and Derkson, M. E. 1986. Microleakage measurement of selected restorative materials : A new in vitro model. **J Prosth Dent** 59: 435-440.
- Eidelman, E., Holan, G. and Fuks, A. B. 2001. Mineral trioxide aggregate versus formocresol in pulpotomized primary molars : a preliminary report. **Pediatr Dent** 23: 15-18.
- Faraco, I. M. and Holland, R. 2001. Response of the pulp of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide cement. **Endod Dent Traumatol** 17: 163-166.
- Fischer, E. J., Arens, D. E. and Miller, C. H. 1998. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as compared with zinc-free amalgam, intermediate restorative material, and super EBA as a root-end filling material. **J Endod** 24(3): 176-179.
- Fogel, H. M. and Peikoff, M. D. 2001. Microleakage of root-end filling materials. **J Endod** 27(7): 456-458.

- Forsten, L. 1977. Fluoride release from a glass ionomer cement. **Scand J Dent Res** 85: 503 - 504.
- Freeman, E. 1998. Periodontium. In Ten Cate, A. (ed), **Oral histology : Development, structure and function**, 253 - 288. St. Louis: Mosby.
- Frehney, R. L. 2000. **Culture of animal cells : A manual of basic technique**. 4th ed. New York: Wiley-Liss, Inc.
- Fuss, Z. and Trope, M. 1996. Root perforations: Classification and treatment choices based on prognostic factors. **Endod Dent Traumatol** 12(6): 255-264.
- Gartner, A. and Dorn, S. 1992. Advances in endodontic surgery. **Dent Clin North Am** 36: 357 - 379.
- Groeneveld, M., Everts, V. and Beertsen, W. 1995. Alkaline phosphatase activity in the periodontal ligament and gingival of the rat molar : Its relation to cementum formation. **J Dent Res** 74: 1374 - 1381
- Grossman, L., Oliet, S. and del Rio, C. E. 1988. **Endodontics**. 11 st ed. Philadelphia: Lea & Febiger.
- Gutmann, J. L. and Harrison, J. W. 1994. **Surgical endodontics**. Boston: Blackwell.
- Holland, R., de Souza, V., Nery, M. J., Otoboni Filho, J. A., Bernabe, P. F., et al. 1999a. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. **J Endod** 25(3): 161-166.
- Holland, R., de Souza, V., Nery, M. J., Otoboni Filho, J. A., Bernabe, P. F., et al. 1999b. Reaction of dogs' teeth to root canal filling with mineral trioxide aggregate or a glass ionomer sealer. **J Endod** 25(11): 728-730.
- Holland, R., de Souza, V., Nery, M. J., Faraco, I. M., Bernabe, P. F., et al. 2001. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tube filled with mineral trioxide aggregate, portland cement or calcium hydroxide. **Braz Dent J** 12(1): 3-8.
- Holland, R., Filho, J. A., de Souza, V., Nery, M. J., Bernabe, P. F., et al. 2001. Mineral trioxide aggregate repair of lateral root perforations. **J Endod** 27(4): 281-284.
- Ingle, J. I. 1961. Standardized endodontic technique utilizing newly designed instruments and filling materials. **Oral Surg** 14: 83.
- Johnson, B. R. 1999. Considerations in the selection of a root end filling material. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** 87: 398-404.

- Junn, D. J., McMillan, P., Bakland, L. K. and Torabinejad, M. 1998. Quantitative assessment of dentin bridge formation following pulp capping with mineral trioxide aggregate (MTA). **J Endod** 24: 278.
- Kawahara, H., Imanichi, Y. and Oshima, H. 1979. Biological evaluation of glass ionomer cement. **J Dent Res** 58: 1080 - 1086.
- Kawase, T., Sato, S., Miake, K. and Saito, S. 1988. Alkaline phosphatase of human periodontal ligament fibroblast - like cells. **Adv Dent Res** 2: 234 - 239.
- Keiser, K., Johnson, C. C. and Tipton, D. A. 2000. Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblasts. **J Endod** 26(5):288-291.
- Kettering, J. D. and Torabinejad, M. 1995. Investigation of mutagenicity of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. **J Endod** 21(11): 537-542.
- Koh, E. T., Torabinejad, M., Pitt Ford, T. R., Brady, K. and McDonald, F. 1997. Mineral trioxide aggregate stimulates a biological response in human osteoblasts. **J Biomed Mater Res** 37(3): 432-439.
- Koh, E. T., Pitt Ford, T. R., Kariyawasam, S. M., Chen, N. N. and Torabinejad, M. 2001. Prophylactic treatment of Dens evaginatus using mineral trioxide aggregate. **J Endod** 27: 540-542.
- Krzysztof, H. and Reddi, A. 1986. Alkaline phosphatase as a marker of osteoinductive cells. **Calcif Tissue Int** 39: 382 - 385
- Lee, S. J., Monsef, M. and Torabinejad, M. 1993. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. **J Endod** 19(11): 541-544.
- Lekic, P., Sodek, J. and McCulloch, C. 1996. Osteopontin and bone sialoprotein expression in regeneration rat periodontal ligament and alveolar bone. **Anat Rec** 244: 50 - 58.
- Lemon, R. R. 1992. Nonsurgical repair of perforation defects. **Dent Clin North Am** 36: 439-457.
- Makkawy, H., Koka, S., Lavin, M. and Ewoldsen, N. 1998. Cytotoxicity of root perforation repair materials. **J Endod** 24: 477 - 479.
- Martin, L. R., Gilbert, B. and Dickerson, A. W. 1982. Management of endodontic perforations. **Oral Surg** 54(6): 668-677

- Mathis, R. and Ferracane, J. 1989. Properties of a glass ionomer/ resin composite hybrid material. **Dent Mater** 5(355 - 358):
- McCulloch, C. and Bodin, S. 1991. Role of fibroblast subpopulations in periodontal physiology and pathology. **J Periodont Res** 26: 144 - 154.
- McCulloch, C. 1995. Origins and functions of cells essential for periodontal repair : The role of fibroblasts in tissue homeostasis. **Oral Dis** 1: 271 - 278.
- Mckee, M., Zalzal, S. and Nanci, A. 1996. Extracellular matrix in tooth cementum and mantle dentin : Localization of osteopontin and other noncollagenous proteins, plasma proteins and glycoconjugates by electromicroscopy. **Anat Rec** 245: 293
- McLean, J. W. 1980. Aesthetics in restorative dentistry : The challenge for the future. **Br Dent J** 149: 368 - 373.
- McLean, J. W. and Wilson, A. D. 1988. **Glass ionomer cements**. Chicago: Quintessence Publishing Co. Inc.
- McLean, J. W., Wilson, A. D. and Prosser, H. J. 1984. Development and use of water-hardening glass-ionomer luting cements. **J Prosthet Dent** 52(2): 175-181.
- Melcher, A. 1976. On the repair potential of periodontal tissues. **J Periodontol** 47: 256-260.
- Meryon, S., Stephens, P. and Browne, R. 1983. A comparison of the in vitro cytotoxicity of two glass ionomer cements. **J Dent Res** 62: 769 - 773.
- Mitra, S. 1991. Adhesive to dentin and physical properties of a light - cured glass ionomer liner/base. **J Dent Res** 70(1): 72 - 74.
- Mount, G. 1994. Glass ionomer cements : Past, present and future. **Oper Dent** 19: 82-90.
- Myers, K., Kaminski, E., Lautenschlager, E. And Miller, D. 1993. The effect of mineral trioxide aggregate on the dog pulp. **J Endod** 22: 198.
- Nakata, T. T., Bae, K. S. and Baumgartner, J. C. 1998. Perforation repair comparing mineral trioxide aggregate and amalgam using an anaerobic bacterial leakage model. **J Endod** 24(3): 184-186
- Oliver, M. H., Harrison, N.K., Bishop, J. E., Laurent, G. L. 1989. A rapid and convenient assay for counting cells cultured in microwell plates: Application for assessment of growth factors. **J Cell Sci** 92: 513-518.

- Osario, R. M., Hefti, A., Vertucci, F. J. and Shawley, A. L. 1998. Cytotoxicity of endodontic materials. **J Endod** 24(2): 91-96.
- Pitt Ford, T. R., Torabinejad, M., McKendry, D. J., Hong, C. U. and Kariyawasam, S. P. 1995. Use of mineral trioxide aggregate for repair of furcal perforations. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** 79(6): 756-763.
- Prosser, H. J., Powis, D. R. and Wilson, A. D. 1986. Glass-ionomer cements of improved flexural strength. **J Dent Res** 65(2): 146-148.
- Resillez-Urioste, F., Sanandajt, K. and Davidson, R. M. 1998. Use of a resin-ionomer in the treatment of mechanical root perforation: Report of a case. **Quintessence Int** 29(2): 115-118.
- Roy, C. O., Jeansonne, B. G. And Gerrets, T. F. 2001. Effect of an acid environment on leakage of four root end filling materials. **J Endod** 27: 7-8.
- Schmitt, D., Lee, J. and Bogen, G. 2001. Multifaceted use of proroot MTA root canal repair material. **Pediatr Dent** 23(4): 326-330.
- Schwartz, R. S., Mauger, M., Clement, D. J. and Walker, W. A., 3rd. 1999. Mineral trioxide aggregate: A new material for endodontics. **J Am Dent Assoc** 130(7): 967-975.
- Shabahang, S., Torabinejad, M., Boyne, P. P., Abedi, H. and McMillan, P. 1999. A comparative study of root-end induction using osteogenic protein-1, calcium hydroxide, and mineral trioxide aggregate in dogs. **J Endod** 25(1): 1-5.
- Sinai, I. 1977. Endodontic perforations : Their prognosis and treatment. **J Am Dent Assoc** 95: 90-95.
- Smith, D. 1990. Composition and characteristics of glass ionomer cements. **J Am Dent Assoc** 120: 20 - 22.
- Tai, K.-W. and Chang, Y.-C. 2000. Cytotoxicity evaluation of perforation repair materials on human periodontal ligament cells in vitro. **J Endodon** 26(7): 395-397.
- Tassary, H., Remusat, M., Koubi, G. and Pertot, W. 1997. Comparison of the intraosseous biocompatibility of vitremer and super - EBA by implantation into the mandible of rabbits. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 83: 602 - 608.
- Tay, W. 1995. An update on glass ionomer cements. **Dent Update**: 283 - 286.
- Title, K., Farley, J., Linkhardt, T. and Torabinejad, M. 1996. Apical closure induction using bone growth factors and mineral trioxide aggregate. **J Endod** 22: 198.

- Torabinejad, M., Watson, T. F. and Pitt Ford, T. R. 1993. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *J Endod* 19(12): 591-595.
- Torabinejad, M., Higa, R. K., McKendry, D. J. and Pitt Ford, T. R. 1994. Dye leakage of four root end filling materials: Effects of blood contamination. *J Endod* 20(4): 159-163.
- Torabinejad, M., Hong, C. U., Lee, S. J., Monsef, M. And Pitt Ford, T. R. 1995. Investigation of mineral trioxide aggregate for root end filling in dogs. *J Endod* 21 (12): 603-608.
- Torabinejad, M., Hong, C. U., McDonald, F. and Pitt Ford, T. R. 1995. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod* 21(7): 349-353.
- Torabinejad, M., Hong, C. U., Pitt Ford, T. R. and Kaiyawasam, S. P. 1995. Tissue reaction to implanted super-EBA and mineral trioxide aggregate in the mandible of guinea pigs: A preliminary report. *J Endod* 21(11): 569-571.
- Torabinejad, M., Hong, C. U., Pitt Ford, T. R. and Kettering, J. D. 1995a. Antibacterial effects of some root end filling materials. *J Endod* 21(8): 403-406.
- Torabinejad, M., Hong, C. U., Pitt Ford, T. R. and Kettering, J. D. 1995b. Cytotoxicity of four root end filling materials. *J Endod* 21(10): 489-492.
- Torabinejad, M., Rastegar, A. F., Kettering, J. D. and Pitt Ford, T. R. 1995. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. *J Endod* 21 (3): 109-112.
- Torabinejad, M., Smith, P. W., Kettering, J. D. and Pitt Ford, T. R. 1995. Comparative investigation of marginal adaptation of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. *J Endod* 21(6): 295-299.
- Torabinejad, M., Pitt Ford, T. R., McKendry, D. J., Abedi, H. R., Miller, D. A., et al. 1997. Histologic assessment of mineral trioxide aggregate as a root-end filling in monkeys. *J Endod* 23(4): 225-228.
- Torabinejad, M., Pitt Ford, T. R., Abedi, H. R., Kariyawasam, S. P. and Tang, H. M. 1998. Tissue reaction to implanted root-end filling materials in the tibia and mandible of guinea pigs. *J Endod* 24(7): 468-471.

- Torabinejad, M. And Chivian, N. 1999. Clinical application of mineral trioxide aggregate. **J Endod** 25(3): 197-205.
- Wilson, A. D. 1989. Developments in glass-ionomer cements. **Int J Prosthodont** 2(5): 438-446.
- Wilson, A. D. and Kent, B. E. 1972. A new translucent cement for dentistry. The glass ionomer cement. **Br Dent J** 132(4): 133-135.
- Wilson, A. D., Prosser, H. J. and Powis, D. M. 1983. Mechanism of adhesion of polyelectrolyte cements to hydroxyapatite. **J Dent Res** 62(5): 590-592.
- Wu, M. K., Kontakiotis, E. G. and Wesselink, P. R. 1998. Long-term seal provided by some root-end filling materials. **J Endod** 24(8): 557-560.
- Yatsushiro, J. D., Baumgartner, J. C. and Tinkle, J. S. 1998. Longitudinal study of the microleakage of two root-end filling materials using a fluid conductive system. **J Endod** 24(11): 716-719.
- Zetterqvist, L., Anneroth, G. and Nordenram, A. 1987. Glass ionomer cement retrograde filling material an experimental investigation in monkeys. **Int J Oral Maxillofac Surg** 16: 459 - 464.
- Zhu, Q., Haglund, R., Safavi, K. E. and Spangberg, L. S. 2000. Adhesion of human osteoblasts on root-end filling materials. **J Endod** 26(7): 404-406.
- Zmerner, O. and Dominguez, F. 1983. Tissue responses to a glass ionomer used as an endodontic cement (A preliminary study in dogs). **Oral Surg Oral Med Oral Pathol** 56: 198 - 205.



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

แสดงข้อมูลของเซลล์เอ็นยัดปริทัศน์กลุ่มที่ 1

1. ข้อมูลแสดงการวัดความเป็นพิษด้วยวิธีการใช้สารเอ็มทีทีที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

– วัสดุกลาสไฮโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

ครั้งที่	Group						
	Control(SF)	G(1:8)	G(1:4)	G(1:2)	G(1:1)	G(1:0)	10 % FCS
1	104.468	111.915	113.191	121.489	124.468	12.340	116.596
2	99.149	111.064	111.915	119.574	120.638	14.255	114.681
3	96.383	109.149	114.681	112.340	120.426	13.617	117.660
Mean	100.000	110.709	113.262	117.801	121.844	13.404	116.312
SD	4.109	1.417	1.384	4.825	2.275	0.975	1.509
% of Control	100	110.71	113.26	117.80	121.84	13.40	116.31

ตารางที่ 1 แสดงผลการวัดความเป็นพิษด้วยวิธีการใช้สารเอ็มทีทีที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงในวัสดุกลาสไฮโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นยัดปริทัศน์กลุ่มที่ 1 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุมลบ (Control(SF) = Serum Free)

กลุ่มทดลอง

- G(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- G(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4
- G(1:2) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:2
- G(1:1) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:1
- G(1:0) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:0

กลุ่มควบคุมบวก (10%FCS = 10% Fetal Calf Serum)

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ (% of Control) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

— ไวรัสเอ็มทีเอ

ครั้งที่	Group						
	Control(SF)	M(1:8)	M(1:4)	M(1:2)	M(1:1)	M(1:0)	10 % FCS
1	98.384	126.750	98.923	66.786	30.162	12.747	140.395
2	100.000	115.619	101.257	74.865	30.880	10.054	138.600
3	101.616	121.185	99.820	69.479	51.167	9.515	145.961
Mean	100.000	121.185	100.090	70.826	30.521	11.400	141.652
SD	1.616	5.566	1.650	5.713	0.508	1.904	3.838
% of Control	100	121.18	100.09	70.83	30.52	11.40	141.65

ตารางที่ 2 แสดงผลการวัดความเป็นพิษด้วยวิธีการใช้สารเอ็มทีเอที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงในไวรัสเอ็มทีเอในเซลล์เอ็นอีคปริพันธ์กลุ่มที่ 1 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุมลบ (Control(SF) = Serum Free)

กลุ่มทดลอง

- M(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- M(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4
- M(1:2) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:2
- M(1:1) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:1
- M(1:0) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:0

กลุ่มควบคุมบวก (10%FCS = 10% Fetal Calf Serum)

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ (% of Control) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

2. ข้อมูลแสดงการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง

— วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

ครั้งที่	Group					
	Control(SF)	G(1:8)	G(1:4)	G(1:2)	G(1:1)	10 % FCS
1	102.870	167.778	179.807	205.072	132.899	193.478
2	98.063	162.319	191.449	193.237	137.585	229.469
3	97.826	166.570	198.792	213.527	133.140	230.193
Mean	99.586	165.556	190.016	203.945	134.541	217.713
SD	2.846	2.867	9.574	10.192	2.638	20.991
% of Control	100	166.24	190.81	204.79	135.10	218.62

ตารางที่ 3 แสดงผลการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นอีดีปริทันต์กลุ่มที่ 1 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุมลบ (Control(SF) = Serum Free)

กลุ่มทดลอง

- G(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- G(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4
- G(1:2) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:2
- G(1:1) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:1

กลุ่มควบคุมบวก (10%FCS = 10% Fetal Calf Serum)

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ (% of Control) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

— วัสดุเอ็มทีเอ

ครั้งที่	Group			
	Control(SF)	M(1:8)	M(1:4)	10 % FCS
1	105.556	121.605	97.840	187.037
2	95.988	131.790	106.790	170.062
3	98.765	131.481	108.025	172.222
Mean	100.103	128.292	104.218	176.440
SD	4.922	5.793	5.558	9.240
% of Control	100	128.16	104.11	176.26

ตารางที่ 4 แสดงผลการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงในวัสดุเอ็มทีเอในเซลล์เอ็นอีดีปริทันต์กลุ่มที่ 1 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุมลบ (Control(SF) = Serum Free)

กลุ่มทดลอง

- M(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- M(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4

กลุ่มควบคุมบวก (10%FCS = 10% Fetal Calf Serum)

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ (% of Control) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. ข้อมูลแสดงการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง

— วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

ครั้งที่	Group					
	Control(SF)	G(1:8)	G(1:4)	G(1:2)	G(1:1)	10 % FCS
1	100.781	171.875	206.250	190.625	171.875	210.156
2	98.438	178.125	192.969	201.563	178.125	216.406
3	101.563	185.156	228.906	208.594	175.000	191.406
Mean	100.260	178.385	209.375	200.260	175.000	205.990
SD	1.626	6.644	18.171	9.055	3.125	13.010
% of Control	100	177.92	208.83	199.74	174.55	205.45

ตารางที่ 5 แสดงผลการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมงในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นอีปรีทีนส์กลุ่มที่ 1 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุมลบ (Control(SF) = Serum Free)

กลุ่มทดลอง

- G(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- G(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4
- G(1:2) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:2
- G(1:1) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:1

กลุ่มควบคุมบวก (10%FCS = 10% Fetal Calf Serum)

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ (% of Control) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

— ไวรัสเอดส์ที่เอ

ครั้งที่	Group			
	Control(SF)	M(1:8)	M(1:4)	10 % FCS
1	93.271	113.225	93.503	163.805
2	109.977	128.770	103.944	162.413
3	96.520	132.019	100.928	158.701
Mean	99.923	124.671	99.459	161.640
SD	8.857	10.045	5.373	2.639
% of Control	100	124.77	99.54	161.76

ตารางที่ 6 แสดงผลการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมงในไวรัสเอดส์ที่เอในเซลล์เอ็นอีบีทีทีกลุ่มที่ 1 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุมลบ (Control(SF) = Serum Free)

กลุ่มทดลอง

- M(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- M(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4

กลุ่มควบคุมบวก (10%FCS = 10% Fetal Calf Serum)

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ (% of Control) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. ข้อมูลแสดงการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

– วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

ครั้งที่	Group				
	2 % FCS	G(1:8)	G(1:4)	G(1:2)	G(1:1)
1	81.668	83.360	86.881	104.500	103.870
2	106.500	110.910	115.410	103.930	114.650
3	111.83	103.180	117.840	109.660	102.870
Mean	99.998	99.149	106.71	106.030	107.130
SD	16.097	14.210	17.217	3.156	6.534
ALP activity (%)	100	99.151	106.71	106.03	107.13

ตารางที่ 7 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นบีคปริทันต์กลุ่มที่ 1 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุม (2%FCS = 2% of Fetal Calf Serum)

กลุ่มทดลอง

- G(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- G(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4
- G(1:2) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:2
- G(1:1) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:1

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ALP activity (%)) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

— วัสดุเอ็มทีเอ

ครั้งที่	Group		
	2% FCS	M(1:8)	M(1:4)
1	106.230	95.303	112.770
2	99.112	91.942	111.830
3	94.664	92.782	112.770
Mean	100	93.342	112.460
SD	5.834	1.749	0.540
ALP activity (%)	100	93.342	112.460

ตารางที่ 8 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในวัสดุเอ็มทีเอในเซลล์เอ็นดีปรีทันต์กลุ่มที่ 1 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุม (2%FCS = 2% of Fetal Calf Serum)

กลุ่มทดลอง

- M(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- M(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ALP activity (%)) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. ข้อมูลแสดงการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง

– วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

ครั้งที่	Group				
	2 % FCS	G(1:8)	G(1:4)	G(1:2)	G(1:1)
1	92.561	56.538	67.074	50.089	88.458
2	100.483	76.211	77.426	70.245	82.245
3	106.957	70.822	88.121	85.061	94.593
Mean	100	67.857	77.541	68.465	88.432
SD	7.2102	10.166	10.524	17.554	6.1742
ALP activity (%)	100	67.857	77.541	68.465	88.432

ตารางที่ 9 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง ในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นบีดีปริทันต์กลุ่มที่ 1 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุม (2%FCS = 2% of Fetal Calf Serum)

กลุ่มทดลอง

- G(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- G(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4
- G(1:2) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:2
- G(1:1) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:1

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ALP activity (%)) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

— วัสดุเอ็มทีเอ

ครั้งที่	Group		
	2% FCS	M(1:8)	M(1:4)
1	105.968	97.820	116.983
2	96.784	83.475	119.342
3	97.255	83.475	118.163
Mean	100.002	88.257	118.163
SD	5.172	8.282	1.179
ALP activity (%)	100.002	88.257	118.163

ตารางที่ 10 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมงในวัสดุเอ็มทีเอในเซลล์เอ็นดีบรันทันต์กลุ่มที่ 1 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุม (2%FCS = 2% of Fetal Calf Serum)

กลุ่มทดลอง

- M(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- M(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ALP activity (%)) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6. ข้อมูลแสดงการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมง

– วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

ครั้งที่	Group				
	2 % FCS	G(1:8)	G(1:4)	G(1:2)	G(1:1)
1	98.795	75.428	61.220	44.719	40.519
2	100.603	72.652	65.261	48.916	44.364
3	100.603	75.629	63.311	45.027	49.093
Mean	100	74.57	63.264	46.22	44.659
SD	1.0434	1.6637	2.021	2.3392	4.2945
ALP activity (%)	100	74.57	63.264	46.22	44.659

ตารางที่ 11 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมงในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นอีดีปริทันต์กลุ่มที่ 1 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุม (2%FCS = 2% of Fetal Calf Serum)

กลุ่มทดลอง

- G(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- G(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4
- G(1:2) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:2
- G(1:1) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:1

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ALP activity (%)) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

— วัสดุเอ็มทีเอ

ครั้งที่	Group		
	2% FCS	M(1:8)	M(1:4)
1	102.919	52.475	63.951
2	101.407	57.370	62.140
3	95.683	44.519	52.719
Mean	100	51.455	59.603
SD	3.8166	6.4859	6.0304
ALP activity (%)	100	51.455	59.603

ตารางที่ 12 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมงในวัสดุเอ็มทีเอในเซลล์เอนดอทีลียัลกลุ่มที่ 1 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุม (2%FCS = 2% of Fetal Calf Serum)

กลุ่มทดลอง

- M(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- M(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ALP activity (%)) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

แสดงข้อมูลของเซลล์เอ็นยัดปริทัศน์กลุ่มที่ 2

1. ข้อมูลแสดงการวัดความเป็นพิษด้วยวิธีการใช้สารเอ็มทีทีที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

– วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

ครั้งที่	Group						
	Control(SF)	G(1:8)	G(1:4)	G(1:2)	G(1:1)	G(1:0)	10 % FCS
1	106.434	115.818	124.933	116.354	108.579	15.550	118.231
2	96.783	118.499	122.252	117.426	113.137	17.962	118.499
3	97.051	119.571	118.767	119.571	108.043	17.158	121.716
Mean	100.089	117.962	121.984	117.784	109.920	16.890	119.482
SD	5.497	1.933	3.092	1.638	2.799	1.229	1.939
% of Control	100	117.86	121.88	117.68	109.82	16.88	119.38

ตารางที่ 13 แสดงผลการวัดความเป็นพิษด้วยวิธีการใช้สารเอ็มทีทีที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นยัดปริทัศน์กลุ่มที่ 2 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุมลบ (Control(SF) = Serum Free)

กลุ่มทดลอง

- G(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- G(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4
- G(1:2) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:2
- G(1:1) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:1
- G(1:0) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:0

กลุ่มควบคุมบวก (10%FCS = 10% Fetal Calf Serum)

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ (% of Control) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

— ไวรัสเอ็มทีเอ

ครั้งที่	Group						
	Control(SF)	M(1:8)	M(1:4)	M(1:2)	M(1:1)	M(1:0)	10 % FCS
1	102.443	104.275	88.550	63.206	30.687	10.840	137.863
2	104.122	102.595	88.855	70.382	27.328	8.550	137.710
3	93.588	105.954	82.290	66.107	27.786	8.092	143.206
Mean	100.051	104.275	88.702	66.794	29.008	9.695	139.593
SD	5.660	1.679	0.216	5.074	2.375	1.619	3.130
% of Control	100	104.22	88.66	66.76	28.99	9.69	139.52

ตารางที่ 14 แสดงผลการวัดความเป็นพิษด้วยวิธีการใช้สารเอ็มทีเอที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงในไวรัสเอ็มทีเอในเซลล์เอ็นบีคปริพันธ์กลุ่มที่ 2 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุมลบ (Control(SF) = Serum Free)

กลุ่มทดลอง

- M(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- M(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4
- M(1:2) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:2
- M(1:1) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:1
- M(1:0) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:0

กลุ่มควบคุมบวก (10%FCS = 10% Fetal Calf Serum)

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ (% of Control) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

2. ข้อมูลแสดงการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง

— วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

ครั้งที่	Group					
	Control(SF)	G(1:8)	G(1:4)	G(1:2)	G(1:1)	10 % FCS
1	100.000	117.160	141.420	142.012	125.385	139.053
2	102.101	115.976	139.053	147.929	127.160	137.870
3	98.491	127.751	136.095	152.071	128.817	139.053
Mean	100.197	120.296	138.856	147.337	127.121	138.659
SD	1.813	6.484	2.668	5.056	1.716	0.683
% of Control	100	120.06	138.58	147.05	126.87	138.39

ตารางที่ 15 แสดงผลการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงในเซลล์เอ็นอีทีปริทันต์กลุ่มที่ 2 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุมลบ (Control(SF) = Serum Free)

กลุ่มทดลอง

- G(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- G(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4
- G(1:2) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:2
- G(1:1) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:1

กลุ่มควบคุมบวก (10%FCS = 10% Fetal Calf Serum)

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ (% of Control) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

— ไวรัสเอ็มทีเอ

ครั้งที่	Group			
	Control(SF)	M(1:8)	M(1:4)	10 % FCS
1	91.755	152.394	115.691	186.702
2	95.213	131.915	129.787	184.043
3	113.298	181.117	122.872	180.053
Mean	100.089	155.142	122.784	183.599
SD	11.569	24.716	7.048	3.347
% of Control	100	155.00	122.67	183.44

ตารางที่ 16 แสดงผลการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงในไวรัสเอ็มทีเอในเซลล์เอ็นอีบริพันธ์กลุ่มที่ 2 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุมลบ (Control(SF) = Serum Free)

กลุ่มทดลอง

- M(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- M(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4

กลุ่มควบคุมบวก (10%FCS = 10% Fetal Calf Serum)

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ (% of Control) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. ข้อมูลแสดงการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง

— วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

ครั้งที่	Group					
	Control(SF)	G(1:8)	G(1:4)	G(1:2)	G(1:1)	10 % FCS
1	98.722	110.224	126.837	138.658	121.725	184.665
2	101.597	128.435	133.866	141.534	133.546	184.026
3	99.681	114.696	146.006	148.882	144.409	184.665
Mean	100.000	117.785	135.570	143.024	133.227	184.452
SD	1.464	9.490	9.698	5.272	11.345	0.369
% of Control	100	117.78	135.57	143.02	133.23	184.45

ตารางที่ 17 แสดงผลการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมงในเซลล์เอ็นอีทีปริทันต์กลุ่มที่ 2 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุมลบ (Control(SF) = Serum Free)

กลุ่มทดลอง

- G(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- G(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4
- G(1:2) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:2
- G(1:1) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:1

กลุ่มควบคุมบวก (10%FCS = 10% Fetal Calf Serum)

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ (% of Control) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

— ไวรัสเอ็มทีเอ

ครั้งที่	Group			
	Control(SF)	M(1:8)	M(1:4)	10 % FCS
1	99.791	144.770	125.941	207.113
2	93.933	162.971	131.172	206.276
3	106.276	162.762	134.728	197.280
Mean	100.000	156.834	130.614	203.556
SD	6.174	10.448	4.420	5.451
% of Control	100	156.83	130.61	203.56

ตารางที่ 18 แสดงผลการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมงในไวรัสเอ็มทีเอในเซลล์เอ็นอีบีปริทันต์กลุ่มที่ 2 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุมลบ (Control(SF) = Serum Free)

กลุ่มทดลอง

- M(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสติดต่อกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- M(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายไวรัสติดต่อกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4

กลุ่มควบคุมบวก (10%FCS = 10% Fetal Calf Serum)

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ (% of Control) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. ข้อมูลแสดงการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

— วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

ครั้งที่	Group				
	2 % FCS	G(1:8)	G(1:4)	G(1:2)	G(1:1)
1	101.841	99.430	90.045	118.582	115.543
2	101.841	78.439	82.497	103.365	100.793
3	96.315	92.249	90.045	105.087	112.470
Mean	99.999	90.039	87.529	109.010	109.600
SD	3.190	10.668	4.358	8.333	7.782
ALP activity (%)	100	90.04	87.53	109.01	109.6

ตารางที่ 19 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นอีดีปริทันต์กลุ่มที่ 2 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุม (2%FCS = 2% of Fetal Calf Serum)

กลุ่มทดลอง

- G(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- G(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4
- G(1:2) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:2
- G(1:1) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:1

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ALP activity (%)) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

— วัสดุเอ็มทีเอ

ครั้งที่	Group		
	2% FCS	M(1:8)	M(1:4)
1	98.883	86.143	123.359
2	104.137	76.925	113.954
3	96.977	76.443	118.683
Mean	99.999	79.837	118.665
SD	3.708	5.466	4.703
ALP activity (%)	100.00	79.84	118.67

ตารางที่ 20 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงในวัสดุเอ็มทีเอในเซลล์เอนดอทีลียัต์กลุ่มที่ 2 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุม (2%FCS = 2% of Fetal Calf Serum)

กลุ่มทดลอง

- M(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- M(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ALP activity (%)) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. ข้อมูลแสดงการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง

– วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

ครั้งที่	Group				
	2 % FCS	G(1:8)	G(1:4)	G(1:2)	G(1:1)
1	94.636	87.141	76.407	70.182	70.028
2	94.636	76.072	77.966	63.774	71.064
3	110.726	80.846	70.274	61.271	62.880
Mean	99.999	81.353	74.882	65.076	67.991
SD	9.290	5.552	4.067	4.596	4.456
ALP activity (%)	100	81.354	74.883	65.076	67.992

ตารางที่ 21 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมงในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นอีดีปริทันต์กลุ่มที่ 2 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุม (2%FCS = 2% of Fetal Calf Serum)

กลุ่มทดลอง

- G(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- G(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4
- G(1:2) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:2
- G(1:1) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:1

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ALP activity (%)) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

— วัสดุเอ็มทีเอ

ครั้งที่	Group		
	2% FCS	M(1:8)	M(1:4)
1	100.021	87.949	122.880
2	101.381	93.164	125.525
3	98.596	82.733	120.236
Mean	99.999	87.949	122.880
SD	1.393	5.215	2.645
ALP activity (%)	100.00	87.95	122.88

ตารางที่ 22 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมงในวัสดุเอ็มทีเอในเซลล์เอ็นเอ็มทีทีกลุ่มที่ 2 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุม (2%FCS = 2% of Fetal Calf Serum)

กลุ่มทดลอง

- M(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- M(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ALP activity (%)) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6. ข้อมูลแสดงการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมง

– วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

ครั้งที่	Group				
	2 % FCS	G(1:8)	G(1:4)	G(1:2)	G(1:1)
1	107.157	76.849	65.828	63.010	65.192
2	101.005	55.277	61.021	50.010	54.795
3	91.840	74.476	45.752	43.841	54.549
Mean	100.001	68.867	57.534	52.287	58.179
SD	7.708	11.829	10.482	9.785	6.075
ALP activity (%)	100.00	68.87	57.53	52.29	58.18

ตารางที่ 23 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมงในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นไอดีปริทันต์กลุ่มที่ 2 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุม (2%FCS = 2% of Fetal Calf Serum)

กลุ่มทดลอง

- G(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- G(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4
- G(1:2) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:2
- G(1:1) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:1

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ALP activity (%)) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

— อัลบูมินที่เอ

ครั้งที่	Group		
	2% FCS	M(1:8)	M(1:4)
1	113.289	51.379	60.096
2	97.661	52.164	50.773
3	89.049	51.641	57.047
Mean	100.000	51.728	55.972
SD	12.288	0.400	4.753
ALP activity (%)	100.00	51.73	55.97

ตารางที่ 24 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมงในอัลบูมินที่เอในเซลล์เอ็นดีบริแทนต์กลุ่มที่ 2 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุม (2%FCS = 2% of Fetal Calf Serum)

กลุ่มทดลอง

- M(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายอัลบูมินที่ติดต่อกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- M(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายอัลบูมินที่ติดต่อกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ALP activity (%)) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

แสดงข้อมูลของเซลล์เอ็นยัดปริทัศน์กลุ่มที่ 3

1. ข้อมูลแสดงการวัดความเป็นพิษด้วยวิธีการใช้สารเอ็มทีทีที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

– วัสดุกลาสไฮโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

ครั้งที่	Group						
	Control(SF)	G(1:8)	G(1:4)	G(1:2)	G(1:1)	G(1:0)	10 % FCS
1	96.686	124.561	107.018	114.620	114.035	11.306	152.632
2	104.288	122.417	123.977	112.086	118.324	13.060	143.470
3	98.830	122.807	117.739	121.832	110.526	12.476	138.012
Mean	99.935	123.262	116.244	116.179	114.295	12.281	144.704
SD	3.920	1.142	8.578	5.057	3.905	0.893	7.388
% of Control	100	123.34	116.32	116.25	114.37	12.29	144.80

ตารางที่ 25 แสดงผลการวัดความเป็นพิษด้วยวิธีการใช้สารเอ็มทีทีที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงในวัสดุกลาสไฮโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นยัดปริทัศน์กลุ่มที่ 3 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุมลบ (Control(SF) = Serum Free)

กลุ่มทดลอง

- G(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- G(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4
- G(1:2) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:2
- G(1:1) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:1
- G(1:0) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:0

กลุ่มควบคุมบวก (10%FCS = 10% Fetal Calf Serum)

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ (% of Control) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

2. ข้อมูลแสดงการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง

— วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

ครั้งที่	Group					
	Control(SF)	G(1:8)	G(1:4)	G(1:2)	G(1:1)	10 % FCS
1	99.727	128.977	131.534	157.670	146.193	219.602
2	102.545	121.875	140.625	148.864	151.187	190.057
3	98.443	125.909	127.273	162.216	155.000	224.148
Mean	100.238	125.587	133.144	156.250	150.793	211.269
SD	2.098	3.562	6.820	6.789	4.417	18.510
% of Control	100	125.29	132.83	155.88	150.43	210.77

ตารางที่ 26 แสดงผลการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมงในเซลล์เอ็นอีทีปริทันต์กลุ่มที่ 3 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุมลบ (Control(SF) = Serum Free)

กลุ่มทดลอง

- G(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- G(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4
- G(1:2) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:2
- G(1:1) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:1

กลุ่มควบคุมบวก (10%FCS = 10% Fetal Calf Serum)

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ (% of Control) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

3. ข้อมูลแสดงการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง

— วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

ครั้งที่	Group					
	Control(SF)	G(1:8)	G(1:4)	G(1:2)	G(1:1)	10 % FCS
1	104.420	126.519	139.779	154.144	139.779	225.967
2	94.475	130.387	151.381	175.691	151.381	229.282
3	101.657	159.669	137.017	188.950	161.878	220.442
Mean	100.184	138.858	142.726	172.928	151.013	225.230
SD	5.133	18.126	7.622	17.567	11.054	4.466
% of Control	100	138.60	142.46	172.61	150.74	224.82

ตารางที่ 27 แสดงผลการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมงในเซลล์เอ็นอีทีปริทันต์กลุ่มที่ 3 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุมลบ (Control(SF) = Serum Free)

กลุ่มทดลอง

- G(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- G(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4
- G(1:2) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:2
- G(1:1) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:1

กลุ่มควบคุมบวก (10%FCS = 10% Fetal Calf Serum)

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ (% of Control) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

4. ข้อมูลแสดงการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

— วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

ครั้งที่	Group				
	2 % FCS	G(1:8)	G(1:4)	G(1:2)	G(1:1)
1	112.528	90.654	117.080	104.195	108.347
2	92.657	88.149	109.763	84.536	102.024
3	94.817	85.643	98.904	88.468	114.382
Mean	100.001	88.149	108.582	92.400	108.251
SD	10.902	2.506	9.145	10.403	6.179
ALP activity (%)	100.00	88.15	108.58	92.40	108.25

ตารางที่ 28 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นอีดีปริทันต์กลุ่มที่ 3 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุม (2%FCS = 2% of Fetal Calf Serum)

กลุ่มทดลอง

- G(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- G(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4
- G(1:2) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:2
- G(1:1) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:1

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ALP activity (%)) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

5. ข้อมูลแสดงการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง

– วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

ครั้งที่	Group				
	2 % FCS	G(1:8)	G(1:4)	G(1:2)	G(1:1)
1	104.919	71.632	64.659	92.857	68.110
2	102.020	57.013	63.761	76.448	66.322
3	93.057	58.110	62.863	79.730	60.307
Mean	99.999	62.252	63.761	83.011	64.913
SD	6.184	8.142	0.898	8.683	4.088
ALP activity (%)	100.00	62.25	63.76	83.01	64.91

ตารางที่ 29 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมงในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นอีดีปริทันต์กลุ่มที่ 3 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุม (2%FCS = 2% of Fetal Calf Serum)

กลุ่มทดลอง

- G(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- G(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4
- G(1:2) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:2
- G(1:1) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:1

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ALP activity (%)) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

6. ข้อมูลแสดงการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมง

– วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

ครั้งที่	Group				
	2 % FCS	G(1:8)	G(1:4)	G(1:2)	G(1:1)
1	87.722	79.831	62.617	52.533	64.684
2	106.136	73.250	62.617	80.040	59.554
3	106.136	84.409	62.617	55.239	37.472
Mean	99.998	79.163	62.617	62.604	53.904
SD	10.632	5.609	0.000	15.160	14.459
ALP activity (%)	100.00	79.16	62.62	62.61	53.90

ตารางที่ 30 แสดงผลการวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมงในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในเซลล์เอ็นไอดีปริทันต์กลุ่มที่ 3 โดยมีกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองดังนี้

กลุ่มควบคุม (2%FCS = 2% of Fetal Calf Serum)

กลุ่มทดลอง

- G(1:8) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:8
- G(1:4) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:4
- G(1:2) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:2
- G(1:1) = กลุ่มที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายวัสดุสกัดต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากซีรัม เท่ากับ 1:1

ภายหลังการคำนวณเป็นร้อยละของค่าเฉลี่ยของค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ALP activity (%)) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD = Standard Deviation))

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ SPSS

ในวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

1. การวัดความเป็นพิษด้วยวิธีการใช้สารเอ็มทีทีที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

Descriptives

MTT24

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
Control(SF)	9	100.00800	3.952054	1.317351	96.97018	103.04582
G(1:8)	9	117.31122	5.616358	1.872119	112.99411	121.62834
G(1:4)	9	117.16367	6.000059	2.000020	112.55161	121.77572
G(1:2)	9	117.25467	3.678949	1.226316	114.42678	120.08256
G(1:1)	9	115.35289	5.861394	1.953798	110.84742	119.85836
G(1:0)	9	14.19156	2.268639	.756213	12.44773	15.93539
10%FCS	9	122.96044	17.134597	5.711532	109.78963	136.13126

ANOVA

MTT24

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	81138.641	6	13523.107	220.249	.000
Within Groups	3438.357	56	61.399		
Total	84576.999	62			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MTT24

Tukey HSD

(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Control(SF)	G(1:8)	-17.30322*	3.693816	.000	-28.59894	-6.00750
	G(1:4)	-17.15567*	3.693816	.000	-28.45138	-5.85995
	G(1:2)	-17.24667*	3.693816	.000	-28.54238	-5.95095
	G(1:1)	-15.34489*	3.693816	.002	-26.64061	-4.04917
	G(1:0)	85.81644*	3.693816	.000	74.52073	97.11216
	10%FCS	-22.95244*	3.693816	.000	-34.24816	-11.65673

*. The mean difference is significant at the .05 level.

2. การวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง

Descriptives

MB48

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
Control(SF)	9	100.00733	2.011894	.670631	98.46085	101.55381
G(1:8)	9	137.14611	21.794072	7.264691	120.39370	153.89852
G(1:4)	9	154.00533	27.782536	9.260845	132.64979	175.36088
G(1:2)	9	169.17756	27.179431	9.059810	148.28560	190.06952
G(1:1)	9	137.48578	10.831574	3.610525	129.15989	145.81166
10%FCS	9	189.21367	40.513746	13.504582	158.07204	220.35529

ANOVA

MB48

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	42431.545	5	8486.309	13.584	.000
Within Groups	29986.453	48	624.718		
Total	72417.998	53			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MB48

Tukey HSD

(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Control(SF)	G(1:8)	-37.13878*	11.782452	.031	-72.10786	-2.16970
	G(1:4)	-53.99800*	11.782452	.000	-88.96708	-19.02892
	G(1:2)	-69.17022*	11.782452	.000	-104.13930	-34.20114
	G(1:1)	-37.47844*	11.782452	.029	-72.44752	-2.50937
	10%FCS	-89.20633*	11.782452	.000	-124.17541	-54.23726

*. The mean difference is significant at the .05 level.

3. การวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง

Descriptives

MB72

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
Control(SF)	9	100.14822	2.792583	.930861	98.00165	102.29479
G(1:8)	9	145.00956	28.732393	9.577464	122.92388	167.09523
G(1:4)	9	162.55678	36.920890	12.306963	134.17687	190.93669
G(1:2)	9	172.07122	26.818854	8.939618	151.45643	192.68602
G(1:1)	9	157.94089	29.106499	9.702166	135.56765	180.31412
10%FCS	9	205.22389	18.959318	6.319773	190.65047	219.79731

ANOVA

MB72

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	53641.737	5	10728.347	15.615	.000
Within Groups	32979.168	48	687.066		
Total	86620.906	53			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MB72

Tukey HSD

(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Control(SF)	G(1:8)	-44.86133*	12.356429	.008	-81.53391	-8.18875
	G(1:4)	-62.40856*	12.356429	.000	-99.08114	-25.73597
	G(1:2)	-71.92300*	12.356429	.000	-108.59558	-35.25042
	G(1:1)	-57.79267*	12.356429	.000	-94.46525	-21.12009
	10%FCS	-105.07567*	12.356429	.000	-141.74825	-68.40309

*. The mean difference is significant at the .05 level.

4. การวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

Descriptives

ALP24

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
2%FCS	9	99.99933	9.850917	3.283639	92.42725	107.57142
G(1:8)	9	92.44567	10.317533	3.439178	84.51491	100.37642
G(1:4)	9	100.94078	14.198395	4.732798	90.02693	111.85463
G(1:2)	9	102.47911	10.282108	3.427369	94.57558	110.38264
G(1:1)	9	108.32733	6.042448	2.014149	103.68270	112.97197

ANOVA

ALP24

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1169.357	4	292.339	2.671	.046
Within Groups	4378.555	40	109.464		
Total	5547.912	44			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ALP24

Tukey HSD

(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
2%FCS	G(1:8)	7.55367	4.932069	.549	-6.53277	21.64011
	G(1:4)	-.94144	4.932069	1.000	-15.02788	13.14500
	G(1:2)	-2.47978	4.932069	.987	-16.56622	11.60666
	G(1:1)	-8.32800	4.932069	.452	-22.41444	5.75844

5. การวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง

Descriptives

ALP72

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
2%FCS	9	99.99944	6.643099	2.214366	94.89311	105.10578
G(1:8)	9	70.48722	11.064344	3.688115	61.98241	78.99203
G(1:4)	9	72.06122	8.491245	2.830415	65.53427	78.58817
G(1:2)	9	72.18411	13.010055	4.336685	62.18370	82.18452
G(1:1)	9	73.77856	11.884009	3.961336	64.64370	82.91341

ANOVA

ALP72

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5641.991	4	1410.498	12.843	.000
Within Groups	4393.143	40	109.829		
Total	10035.135	44			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ALP72

Tukey HSD

(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
2%FCS	G(1:8)	29.51222*	4.940279	.000	15.40234	43.62211
	G(1:4)	27.93822*	4.940279	.000	13.82834	42.04811
	G(1:2)	27.81533*	4.940279	.000	13.70545	41.92522
	G(1:1)	26.22089*	4.940279	.000	12.11100	40.33078

*. The mean difference is significant at the .05 level.

6. การวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมง

Descriptives

ALP120

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
2%FCS	9	99.99967	6.586423	2.195474	94.93689	105.06244
G(1:8)	9	74.20011	7.968328	2.656109	68.07511	80.32511
G(1:4)	9	61.13822	5.989876	1.996625	56.53400	65.74245
G(1:2)	9	53.70389	11.585464	3.861821	44.79851	62.60927
G(1:1)	9	52.24689	10.095616	3.365205	44.48671	60.00707

ANOVA

ALP120

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14055.400	4	3513.850	46.369	.000
Within Groups	3031.186	40	75.780		
Total	17086.587	44			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ALP120

Tukey HSD

(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
2%FCS	G(1:8)	25.79956*	4.103648	.000	14.07916	37.51995
	G(1:4)	38.86144*	4.103648	.000	27.14105	50.58184
	G(1:2)	46.29578*	4.103648	.000	34.57539	58.01617
	G(1:1)	47.75278*	4.103648	.000	36.03239	59.47317

*. The mean difference is significant at the .05 level.

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ SPSS

ในวัสดุเอ็มทีเอ

1. การวัดความเป็นพิษด้วยวิธีการใช้สารเอ็มทีทีที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

Descriptives

MTT24

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
Control(SF)	6	100.02550	3.722684	1.519779	96.11878	103.93222
M(1:8)	6	106.85800	12.441487	5.079216	93.80146	119.91454
M(1:4)	6	93.28250	7.758623	3.167445	85.14032	101.42468
M(1:2)	6	68.47083	4.042256	1.650244	64.22875	72.71292
M(1:1)	6	33.00167	9.025474	3.684634	23.53001	42.47332
M(1:0)	6	9.96633	1.686767	.688620	8.19618	11.73649
10% FCS	6	140.62250	3.329078	1.359091	137.12885	144.11615

ANOVA

MTT24

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	73270.404	6	12211.734	250.996	.000
Within Groups	1702.861	35	48.653		
Total	74973.265	41			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MTT24

Tukey HSD

(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Control(SF)	M(1:8)	-6.83250	4.027123	.623	-19.42103	5.75603
	M(1:4)	6.74300	4.027123	.637	-5.84553	19.33153
	M(1:2)	31.55467*	4.027123	.000	18.96614	44.14319
	M(1:1)	67.02383*	4.027123	.000	54.43531	79.61236
	M(1:0)	90.05917*	4.027123	.000	77.47064	102.64769
	10% FCS	-40.59700*	4.027123	.000	-53.18553	-28.00847

*. The mean difference is significant at the .05 level.

2. การวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง

Descriptives

MB48

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
Control(SF)	6	100.09550	7.951287	3.246099	91.75114	108.43986
M(1:8)	6	141.71700	21.772694	8.888665	118.86796	164.56604
M(1:4)	6	113.50083	11.645914	4.754424	101.27920	125.72247
10% FCS	6	180.01433	7.349045	3.000235	172.30198	187.72668

ANOVA

MB48

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22478.933	3	7492.978	41.232	.000
Within Groups	3634.545	20	181.727		
Total	26113.478	23			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MB48

Tukey HSD

(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Control(SF)	M(1:8)	-41.62150*	7.783042	.000	-63.40574	-19.83726
	M(1:4)	-13.40533	7.783042	.339	-35.18957	8.37891
	10% FCS	-79.91883*	7.783042	.000	-101.70307	-58.13459

*. The mean difference is significant at the .05 level.

3. การวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเมธิลีนบลูที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง

Descriptives

MB72

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
Control(SF)	6	99.96133	3.865999	1.578288	95.90422	104.01845
M(1:8)	6	144.08617	15.518104	6.335239	127.80092	160.37142
M(1:4)	6	123.40417	29.178024	11.911878	92.78371	154.02463
10% FCS	6	182.59800	23.276047	9.502406	158.17129	207.02471

ANOVA

MB72

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22110.304	3	7370.101	17.879	.000
Within Groups	8244.445	20	412.222		
Total	30354.748	23			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: MB72

Tukey HSD

(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Control(SF)	M(1:8)	-44.12483*	11.722091	.006	-76.93422	-11.31545
	M(1:4)	-23.44283	11.722091	.221	-56.25222	9.36655
	10% FCS	-82.63667*	11.722091	.000	-115.44605	-49.82728

*. The mean difference is significant at the .05 level.

4. การวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

Descriptives

ALP24

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
2%FCS	6	100.00050	4.372078	1.784893	95.41229	104.58871
M(1:8)	6	86.58967	8.239840	3.363900	77.94249	95.23685
M(1:4)	6	115.55717	4.528835	1.848889	110.80445	120.30989

ANOVA

ALP24

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2521.953	2	1260.976	35.183	.000
Within Groups	537.602	15	35.840		
Total	3059.555	17			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ALP24

Tukey HSD

(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
2%FCS	M(1:8)	13.41083*	3.456401	.004	4.43293	22.38873
	M(1:4)	-15.55667*	3.456401	.001	-24.53457	-6.57877

* . The mean difference is significant at the .05 level.

5. การวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง

Descriptives

ALP72

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
2%FCS	6	100.00083	3.387433	1.382914	96.44594	103.55573
M(1:8)	6	88.10267	6.192434	2.528051	81.60411	94.60123
M(1:4)	6	120.52150	3.167137	1.292978	117.19779	123.84521

ANOVA

ALP72

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3227.290	2	1613.645	80.882	.000
Within Groups	299.258	15	19.951		
Total	3526.548	17			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ALP72

Tukey HSD

(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
2%FCS	M(1:8)	11.89817*	2.578796	.001	5.19982	18.59651
	M(1:4)	-20.52067*	2.578796	.000	-27.21901	-13.82232

* . The mean difference is significant at the .05 level.

6. การวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 120 ชั่วโมง

Descriptives

ALP120

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
2%FCS	6	99.99783	7.821366	3.193059	91.78981	108.20585
M(1:8)	6	58.14383	7.947103	3.244391	49.80386	66.48381
M(1:4)	6	64.19750	9.516032	3.884904	54.21104	74.18396

ANOVA

ALP120

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6140.136	2	3070.068	42.861	.000
Within Groups	1074.425	15	71.628		
Total	7214.562	17			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: ALP120

Tukey HSD

(I) GROUP	(J) GROUP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
2%FCS	M(1:8)	41.85400*	4.886320	.000	29.16193	54.54607
	M(1:4)	35.80033*	4.886320	.000	23.10826	48.49240

*. The mean difference is significant at the .05 level.

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวอุทัยวรรณ อารยะตระกูลลิขิต เกิดเมื่อวันที่ 25 ธันวาคม พ.ศ. 2516 ณ จังหวัดนครสวรรค์ สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีทันตแพทยศาสตรบัณฑิตเกียรตินิยมอันดับ 1 จากคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ปีการศึกษา 2541 เข้ารับราชการในตำแหน่ง อาจารย์ระดับ 4 ภาควิชาทันตกรรมบูรณะ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เป็นเวลา 3 ปี หลังจากนั้นได้ลาศึกษาต่อ ในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา วิทยาเอ็นโดดอนต์ ภาควิชาทันตกรรมหัตถการ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2544 ปัจจุบันรับราชการในตำแหน่งอาจารย์ระดับ 5 ภาควิชาทันตกรรมบูรณะ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย