

การยืดเกาะของเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากเหงือกของคนบนพื้นผิวรากฟัน  
ที่ถูกปรับสภาพด้วยเตตราไซคลินไฮโดรคลอไรด์และกรดซิตริก

ศรัทธา ตันตระกูลเจริญ



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาปริทันตศาสตร์ ภาควิชาปริทันตวิทยา


บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2541

ISBN 974-331-777-5

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ATTACHMENT OF HUMAN GINGIVAL FIBROBLASTS ON ROOT SURFACES  
CONDITIONED WITH TETRACYCLINE HYDROCHLORIDE AND CITRIC ACID



Mr. Sirichai Tantrakoolcharoen

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Periodontology

Department of Periodontology

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 1998

ISBN 974-331-777-5

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การยืดเกาะของเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากเหงือกของคนบนพื้นผิวรากฟันที่ถูกปรับสภาพด้วยเตตราไฮคลีนไฮโดรคลอไรด์และกรดซิตริก

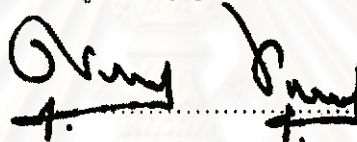
โดย นาย ศิริชัย ต้นตระกูลเจริญ

ภาควิชา บริทันตวิทยา

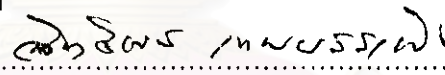
อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ นพดล ศุภพิพัฒน์

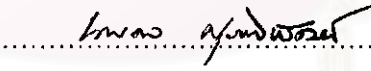
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร. สมพร สวัสดิ์สิรพร


บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

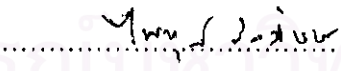
  
.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ศุภวัฒน์ ชุตินวงศ์)

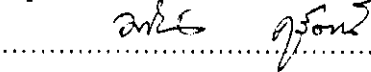
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
.....ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ สิทธิพร เทพบรรเทิง)

  
.....อาจารย์ที่ปรึกษา  
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ นพดล ศุภพิพัฒน์)

  
.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร. สมพร สวัสดิ์สิรพร)

  
.....กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร. ไพฑูรย์ สังวรินทะ)

  
.....กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร. มโน คูรัตน์)

ศิริชัย ตันตระกูลเจริญ : การยึดเกาะของเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากเหงือกของคนบนพื้นผิวรากฟันที่ถูก  
ปรับสภาพด้วยเตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์และกรดซิตริก (Attachment of human gingival  
fibroblasts on root surfaces conditioned with tetracycline hydrochloride and citric acid)  
อ.ที่ปรึกษา : รศ. ทพ. นพดล ศุภพิพัฒน์ อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ. ทพญ. ดร. สมพร สวัสดิ์สรรพ,  
94 หน้า. ISBN 974-331-777-5

การยึดเกาะของเซลล์ต้นกำเนิดจากเนื้อเยื่อปริทันต์มีความสำคัญอย่างมากต่อการซ่อมแซมและงอก  
ใหม่ของอวัยวะปริทันต์ จุดมุ่งหมายของการศึกษานี้เพื่อเปรียบเทียบลักษณะพื้นผิวรากฟันและการยึดเกาะของเซลล์  
ไฟโบรบลาสต์จากเหงือกของคนบนพื้นผิวของชั้นรากฟันที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบที่ได้รับการปรับสภาพด้วยการทาสาร  
ละลายเตตราไซ-คลีนไฮโดรคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 75 มก./มล. สารละลายกรดซิตริกอิมิตัว และนอร์มัลเซลยาน์ โดย  
ใช้วิธีการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดร่วมไปกับการเพาะเลี้ยงเซลล์ในห้องปฏิบัติการ จากการศึกษา  
ศึกษาขั้นต้นซึ่งเป็นการประเมินลักษณะของพื้นผิวชั้นรากฟันที่ผ่านการปรับสภาพแล้วด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน  
ชนิดส่องกราด พบว่าพื้นผิวภายหลังการปรับสภาพด้วยเตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์มีลักษณะเป็นเส้นใยเมทริกซ์โปรตีน  
ภายนอกเซลล์สานต่อกันเป็นร่างแหอย่างชัดเจน พื้นผิวมีลักษณะคล้ายพรหม ไม่พบชั้นสเมียร์ เผยให้เห็นรูเปิดท่อเนื้อ  
ฟันในบางบริเวณเพียงเล็กน้อย ส่วนลักษณะพื้นผิวรากฟันที่ปรับสภาพด้วยกรดซิตริกอิมิตัวมีลักษณะ เรียบแบน  
สามารถกำจัดชั้น สเมียร์ได้หมดและเผยให้เห็นรูเปิดท่อเนื้อฟันในบางบริเวณ พบเส้นใยเมทริกซ์โปรตีนภายนอกเซลล์  
เพียงเล็กน้อย ในขณะที่พื้นผิวรากฟันที่ถูกปรับสภาพด้วยนอร์มัลเซลยาน์พบว่าพื้นผิวขรุขระไม่เรียบ มีลักษณะเป็น  
ลูกคลื่นถูกปกคลุมด้วยชั้น สเมียร์ และพบแบคทีเรียรูปแท่งเป็นจำนวนมาก จากการศึกษาด้วยการเพาะเลี้ยงเซลล์  
เพื่อดูการยึดเกาะของเซลล์บนชั้นรากฟันภายหลังการปรับสภาพด้วยสารละลายแต่ละชนิด พบว่าเซลล์ส่วนใหญ่ที่พบ  
ในชั้นรากฟันที่ได้รับการปรับสภาพด้วยเตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์มีการยึดเกาะที่ดีและมีจำนวนมากกว่าเซลล์ที่ยึด  
เกาะบนผิวรากฟันที่ได้รับการปรับสภาพด้วยกรดซิตริกและนอร์มัลเซลยาน์ ส่วนพื้นผิวรากฟันที่ถูกปรับสภาพด้วย  
นอร์มัลเซลยาน์พบเซลล์ยึดเกาะไม่ดีในจำนวนที่มากกว่าที่พบบน ชั้นรากฟันที่ได้รับการปรับสภาพด้วยเตตราไซคลีน  
ไฮโดรคลอไรด์และกรดซิตริก จากการวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนเซลล์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวรากฟันที่ได้รับการปรับ  
สภาพด้วยสารละลายแต่ละชนิด พบว่าจำนวนเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ยึดเกาะดีและยึดเกาะทั้งหมดในกลุ่มเตตรา-  
ไซคลีนไฮโดรคลอไรด์มีมากกว่ากลุ่มกรดซิตริกและกลุ่มนอร์มัลเซลยาน์ และมีเซลล์ยึดเกาะไม่ดีในกลุ่มนอร์มัล  
เซลยาน์มากกว่ากลุ่มเตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์และกลุ่มกรดซิตริก อย่างมีนัยสำคัญในบางการทดลอง ผลการศึกษา  
แสดงให้เห็นว่าสารละลายเตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 75 มก./ มล. สามารถนำมาปรับสภาพพื้นผิว  
รากฟันที่เป็นโรคปริทันต์ ได้ลักษณะพื้นผิวที่เหมาะสมต่อการยึดเกาะของเซลล์ไฟโบรบลาสต์

ภาควิชา ..... ปรีทันท์วิทยา  
สาขาวิชา ..... ปรีทันท์ศาสตร์  
ปีการศึกษา ..... 2541

ลายมือชื่อนิสิต ..... *Eni Oisy*  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ..... *นพ. นพดล*  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ..... *ดร. สมพร*

## 4076115232 : MAJOR PERIODONTICS.

KEY WORD: DISEASED ROOT SURFACE/ FIBROBLAST/ TETRACYCLINE HYDROCHLORIDE/ CITRIC ACID

SIRICHAJ TANTRAKOOLCHAROEN: ATTACHMENT OF HUMAN GINGIVAL FIBROBLASTS ON ROOT SURFACES CONDITIONED WITH TETRACYCLINE HYDROCHLORIDE AND CITRIC ACID.

THESIS ADVISER: ASSOC. PROF. NOPHADOL SUPPIPAT, CO-ADVISOR: ASSOC. PROF.

SOMPORN SWASDISON. 94 pp. ISBN 974-331-777-5

The attachment of progenitor cells from periodontal tissue plays an important role in regeneration of the periodontium. The aims of this study were to compare the surface structures as well as the cell attachment of diseased root surfaces conditioned with 75 mg/ml tetracycline hydrochloride solution (TTC), saturated citric acid solution (CA) and normal saline (NS) by using scanning electron microscopy and cell culture techniques. Initial investigation with scanning electron microscopy, we found that the TTC-conditioned root surfaces showed clearly network of interconnecting extracellular matrix protein fibers, mat-like texture, free-of smear layer with some dentinal tubule exposure. The morphological characteristic of root surfaces treated with saturated citric acid was smooth, flat, free-of smear layer with less extracellular matrix protein fibers. The dentinal tubules were also exposed in some areas. In control group, the NS-conditioned root surfaces exhibited irregular, undulating surfaces covered with smear layer and a lot of rod-shaped bacteria. In comparative study and statistical analysis of the cell attached on differently treated root surfaces, the result showed a significantly greater number of well-attached and total-attached fibroblasts on the TTC-conditioned root surfaces than on the CA- and NS-conditioned root surfaces, and greater number of poorly attached fibroblasts on NS-conditioned root surfaces than on TTC- and CA- conditioned root surfaces in some experiments of this study. The results from this study suggested that application of 75 mg/ml tetracycline hydrochloride solution to the diseased root surface offered a hospitable surface for the fibroblast attachment.

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา..... ปรังทันตวิทยา

สาขาวิชา..... ปรังทันตศาสตร์

ปีการศึกษา..... 2541

ลายมือชื่อนักศึกษา..... *Emi Sirichai*

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... *Noad Sornphol*

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... *Somprorn Swasdison*



### กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของ รongศาสตราจารย์ ทนต์แพทย์ นพดล ศุภพิพัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ รongศาสตราจารย์ ทนต์แพทย์หญิง ดร. สมพร สวัสดิ์สรรพ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ซึ่งได้ให้ คำแนะนำ ข้อคิดเห็นต่างๆ และช่วยเหลือในการวิจัยมาด้วยดีตลอด ผู้วิจัยขอกราบ ขอบพระคุณมา ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ รongศาสตราจารย์ ทนต์แพทย์หญิง ดร. วันดี อภินทสมิต ที่สอนการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดและให้คำแนะนำในการทำวิจัยมาโดย ตลอด และขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทนต์แพทย์ ดร. ไพฑูรย์ ลังวรินทร์ ที่ช่วยจัดหาเตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์บริสุทธิ์สำหรับทำวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ทนต์แพทย์ ชาญชัย ให้สงวน และ อาจารย์ ไพพรรณ พิชยานนท์ ที่ช่วยแนะนำด้านการวิเคราะห์ข้อมูล

ขอขอบคุณ คุณ รุจิภรณ์ ประทีปเสน ที่ช่วยเหลือในการเตรียมตัวอย่างที่ใช้ใน การศึกษา และอำนวยความสะดวกในการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด และ ขอขอบคุณ คุณ มาลี ตั้งพิสิษฐโยธิน ที่ช่วยเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์ในบางเวลา

ขอกราบขอบพระคุณ ภาควิชาทันตพยาธิวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เอื้อเฟื้อห้องปฏิบัติการสำหรับการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่สนับสนุนทุนวิจัย บางส่วน

คุณความดีและประโยชน์ที่ได้จากการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณ ทุกท่าน

ศิริชัย ตันตระกูลเจริญ



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ .....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ .....	1
ความรู้พื้นฐานและแนวเหตุผลที่ทำวิจัย .....	1
วัตถุประสงค์.....	5
ขอบเขตการวิจัย .....	5
วิธีดำเนินการวิจัย .....	6
ประโยชน์ของการวิจัย .....	6
บทที่ 2 ปรีทัศน์วรรณกรรม .....	7
เคลือบรากฟันที่เป็นโรค.....	12
การปรับสภาพพื้นผิวรากฟันร่วมกับการรักษาโรคปริทันต์ .....	17
บทที่ 3 ระเบียบวิธีการวิจัย .....	31
วัตถุประสงค์และสารเคมี .....	31
วิธีดำเนินการวิจัย ตอนที่ 1.....	32
ตอนที่ 2 .....	37
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	44
การศึกษาตอนที่ 1.....	44
การศึกษาตอนที่ 2.....	47
บทที่ 5 อภิปรายและสรุปผลการศึกษา.....	62
รายการอ้างอิง.....	70
ภาคผนวก .....	78

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนเซลล์ไฟโบร بلاสต์ที่ยึดเกาะดี เซลล์ที่ยึดเกาะไม่ดี และเซลล์ที่ยึดเกาะทั้งหมดบนพื้นผิวรากฟันที่ถูกปรับสภาพด้วยสารละลายแต่ละชนิด ในการศึกษาตอนที่ 2 ครั้งที่ 1	57
2	แสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนเซลล์ไฟโบร بلاสต์ที่ยึดเกาะดี เซลล์ที่ยึดเกาะไม่ดี และเซลล์ที่ยึดเกาะทั้งหมดบนพื้นผิวรากฟันที่ถูกปรับสภาพด้วยสารละลายแต่ละชนิด ในการศึกษาตอนที่ 2 ครั้งที่ 2	58
3	แสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนเซลล์ไฟโบร بلاสต์ที่ยึดเกาะดี เซลล์ที่ยึดเกาะไม่ดี และเซลล์ที่ยึดเกาะทั้งหมดบนพื้นผิวรากฟันที่ถูกปรับสภาพด้วยสารละลายแต่ละชนิด ในการศึกษาตอนที่ 2 ครั้งที่ 3	60
4	แสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนเซลล์ไฟโบร بلاสต์ที่ยึดเกาะดี เซลล์ที่ยึดเกาะไม่ดี และเซลล์ที่ยึดเกาะทั้งหมดบนพื้นผิวรากฟันที่ถูกปรับสภาพด้วยสารละลายแต่ละชนิด ในการศึกษาตอนที่ 2 ครั้งที่ 4	61
5	แสดงค่าจำนวนเซลล์ไฟโบร بلاสต์ที่ยึดเกาะดี เซลล์ยึดเกาะไม่ดี และเซลล์ทั้งหมดที่ยึดเกาะบนพื้นผิวรากฟันที่ถูกปรับสภาพด้วยสารละลายชนิดต่างๆ ในการศึกษาตอนที่ 2 ครั้งที่ 1	79
6	แสดงค่าจำนวนเซลล์ไฟโบร بلاสต์ที่ยึดเกาะดี เซลล์ยึดเกาะไม่ดี และเซลล์ทั้งหมดที่ยึดเกาะบนพื้นผิวรากฟันที่ถูกปรับสภาพด้วยสารละลายชนิดต่างๆ ในการศึกษาตอนที่ 2 ครั้งที่ 2	83



## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
7	แสดงค่าจำนวนเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ยึดเกาะดี เซลล์ยึดเกาะ ไม่ดี และเซลล์ทั้งหมดที่ยึดเกาะบนพื้นผิวรากฟันที่ถูกปรับ สภาพด้วยสารละลายชนิดต่างๆ ในการศึกษาตอนที่ 2 ครั้งที่ 3	87
8	แสดงค่าจำนวนเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ยึดเกาะดี เซลล์ยึดเกาะ ไม่ดี และเซลล์ทั้งหมดที่ยึดเกาะบนพื้นผิวรากฟันที่ถูกปรับ สภาพด้วยสารละลายชนิดต่างๆ ในการศึกษาตอนที่ 2 ครั้งที่ 1	91

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงการตัดรากฟันตามแนวที่กำหนดไว้ในแนวขวาง .....	33
2	แสดงขอบเขตการตัดรากฟันตามแนวตั้งทั้งสองข้าง .....	34
3	แสดงถึงชั้นรากฟันที่ยึดติดบนแท่งทองเหลือง และเคลือบผิวตัวอย่าง ด้วยทอง ก่อนนำไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่อง กราด .....	36
4	แสดงถึงเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่อยู่กันอย่างหนาแน่นหลังจากทำ subculture รุ่นที่ 4 .....	40
5	แสดงชั้นรากฟัน (เงาสีดำในภาพ) ในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ชนิดส่องกราด .....	41
6	แสดงถึงตำแหน่งที่นับจำนวนเซลล์ในแต่ละส่วน .....	42
7	แสดงถึงหลักเกณฑ์ในการนับจำนวนเซลล์ .....	42
8	แสดงลักษณะพื้นผิวรากฟันภายหลังการปรับสภาพด้วยสารละลาย เตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์ ที่มีความเข้มข้น 75 มก./มล. ....	45
9	แสดงลักษณะพื้นผิวรากฟันภายหลังการปรับสภาพด้วยสารละลาย กรดซिटริกอิ่มตัว .....	46
10	แสดงลักษณะพื้นผิวรากฟันภายหลังการปรับสภาพด้วยนอร์มัลเซลาเยน ...	48
11	แสดงให้เห็นแบคทีเรียรูปแท่งจำนวนมากบนพื้นผิวรากฟันที่ถูกปรับ สภาพด้วยนอร์มัลเซลาเยน .....	49
12	แสดงลักษณะเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ยึดเกาะดี .....	50
13	แสดงลักษณะเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ยึดเกาะไม่ดี .....	51
14	แสดงลักษณะเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวรากฟันที่ถูกปรับ สภาพด้วยสารละลายเตตราไซคลีนไฮโดรคลอไรด์ .....	52

ภาพที่		หน้า
15	แสดงลักษณะเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวรากฟันที่ถูกปรับสภาพด้วยสารละลายกรดซिटริกอิมตัว .....	54
16	แสดงลักษณะเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิวรากฟันที่ถูกปรับสภาพด้วยนอร์มัลเซลาเยน .....	55



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย