

การศึกษาเปรียบเทียบผลของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและ  
กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินต่อเซลล์เอ็นอีคปริทันต์ของมนุษย์



นายนิรันดร โถทองคำ

สถาบันวิทยบริการ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาเอ็นโคคอนต์ ภาควิชาทันตกรรมหัตถการ

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2547

ISBN 974-xx-xxxx-x

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A COMPARATIVE STUDY OF THE EFFECTS OF CONVENTIONAL  
GLASS IONOMER CEMENT AND RESIN MODIFIED GLASS IONOMER CEMENT  
ON HUMAN PERIODONTAL LIGAMENT CELLS



Mr. Nirundorn Thotongkome

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 2004

ISBN 974-53-1549-4

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาเปรียบเทียบผลของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและ กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินต่อเซลล์เอ็นอีคปริทันต์ ของมนุษย์
โดย	นายนิรันดร โททองคำ
สาขาวิชา	วิทยาเอ็นโดคอนต์
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร. สมลีนี พิมพ์ขาวขำ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร. ศิริวิมล ศรีสวัสดิ์

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน  
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต

..... คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง จุติมา ภูศิริ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ขวัญตา จารุอำพรพรรณ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(อาจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร. สมลีนี พิมพ์ขาวขำ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์หญิง ดร. ศิริวิมล ศรีสวัสดิ์)

..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร. ประสิทธิ์ ภาวสันต์)

..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร. วีระ เลิศจิราการ)

นายนิรันดร โถทองคำ: การศึกษาเปรียบเทียบผลของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและ  
 กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินต่อเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์  
 (A COMPARATIVE STUDY OF THE EFFECTS OF CONVENTIONAL GLASS IONOMER  
 CEMENT AND RESIN MODIFIED GLASS IONOMER CEMENT ON HUMAN  
 PERIODONTAL LIGAMENT CELLS) อ. ที่ปรึกษา : อาจารย์ ทพญ. ดร. สมลีนี พิมพ์ขาวจำ  
 อ. ที่ปรึกษาร่วม : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทพญ. ดร. ศิริวิมล ศรีสวัสดิ์ จำนวนหน้า 76หน้า. ISBN  
 974-53-1549-4

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาเปรียบเทียบผลของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและ  
 วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินต่อเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์ใน  
 ห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์เมื่อมีการสัมผัสโดยตรงระหว่างเซลล์กับวัสดุ ผลของ  
 วัสดุทั้งสองชนิดต่ออัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ ลักษณะของเซลล์ที่ยึดเกาะบนผิววัสดุ ปริมาณ  
 ไฟโบรเนกตินและค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ที่ระยะเวลา 1, 3 และ 5 วัน  
 ผลการวิจัยพบว่าวัสดุทั้งสองชนิดภายหลังผสมเสร็จใหม่ ๆ มีความเป็นพิษต่อเซลล์สูง แต่เมื่อระยะเวลา  
 ผ่านไประดับความเป็นพิษของวัสดุทั้งสองชนิดมีการลดลง การศึกษาอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์พบว่า  
 เซลล์เอ็นยิดปริทันต์สามารถเจริญบนผิววัสดุทั้งสองชนิดได้ โดยในวันที่ 3 วัสดุทั้งสองชนิดมีอัตราการ  
 เพิ่มจำนวนเซลล์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมขณะที่ในวันที่ 5 วัสดุ  
 กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินมีอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์มากกว่ากลุ่มควบคุม  
 ( $p < 0.05$ ) แต่ไม่แตกต่างกับกลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม เมื่อพิจารณาลักษณะของเซลล์  
 พบว่าเซลล์ที่ยึดเกาะบนพื้นผิววัสดุทั้งสองชนิดมีลักษณะปกติ ไม่แตกต่างจากลักษณะเซลล์ที่พบใน  
 กลุ่มควบคุม การศึกษาปริมาณไฟโบรเนกตินพบว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลง  
 ด้วยเรซินมีแนวโน้มกระตุ้นการสร้างไฟโบรเนกตินได้มากกว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิด  
 ดั้งเดิม การศึกษาการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ  
 ระหว่างวัสดุทั้งสองชนิดในทุกช่วงเวลาศึกษา โดยสรุปพบว่าเซลล์เอ็นยิดปริทันต์สามารถเจริญและเพิ่ม  
 จำนวนบนผิววัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ทั้งสองชนิดได้ตามปกติหรือมากกว่าปกติ โดยมีลักษณะ  
 ของเซลล์ที่ปกติ วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินทำให้เกิดการตอบสนองของ  
 เซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของในทางบวกมากกว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม

ภาควิชาทันตกรรมหัตถการ	ลายมือชื่อนิสิต.....
สาขาวิชาเอ็นโดคอนด์	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา 2547	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4676107832 : MAJOR ENDODONTOLOGY

KEY WORD: GLASS IONOMER CEMENT / CYTOTOXICITY / FIBRONECTIN / ALKALINE PHOSPHATASE

NIRUNDORN THOTONGKOME : A COMPARATIVE STUDY OF THE EFFECTS OF CONVENTIONAL GLASS IONOMER CEMENT AND RESIN MODIFIED GLASS IONOMER CEMENT ON HUMAN PERIODONTAL LIGAMENT CELLS. THESIS ADVISOR : DR SOMSINEE PIMKHAOKHAM, THESIS COADVISOR : ASSISTANT PROFESSOR DR SIRIVIMOL SRISAWASDI, 76 pp. ISBN 974-53-1549-4

The objective of this study was to investigate effects of conventional glass ionomer cement (CGIC) compared with resin modified glass ionomer cement (RMGIC) on human periodontal ligament cells. The effects of the direct contact of human periodontal ligament cells on these material surfaces after 1, 3 and 5 days incubation were studied. The study focused on the growth rate, morphological appearances using scanning electron microscope (SEM), fibronectin expression and alkaline phosphatase activity (ALP activity). The results showed that freshly mixed of both materials had highly cytotoxicity to human periodontal ligament cells but cytotoxicity level decreased constantly after 7 days of immersion materials in culture medium. Human PDL cells could grow on both material surfaces. On day 3, there was no statistical significant difference on growth rate amongst the control group and all experimental groups. However, on day 5, The growth rate of the RMGIC group was statistically greater than the control group ( $p < 0.05$ ) but it was not statistically different from the CGIC group. Meanwhile, CGIC group had a higher growth rate than the control group but there was no statistical difference. The result from SEM study demonstrated that PDL cells could attach to surfaces of both materials with normal appearance. Western blot analysis showed that fibronectin level from cells in the RMGIC group was greater than both control and CGIC groups. Finally, the ALP activity of both RMGIC and CGIC groups were not statistically different but were statistically lower than that of the control group ( $p < 0.05$ ). It was concluded that PDL cells could normally grow and proliferate on both material surfaces. Growth rate of PDL cells was not inhibited by both materials. The RMGIC had more positive effects on PDL cells than the CGIC.

Department Operative Dentistry

Endodontology

Academic year 2004

Student's signature.....

Advisor's signature.....

Co-advisor's signature.....

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทันตแพทย์หญิง ดร. สมลีนี พิมพ์ขาวขำ อาจารย์ที่ปรึกษา  
วิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ทันตแพทย์หญิง ดร. ศิริวิมล ศรีสวัสดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษา  
วิทยานิพนธ์ร่วม และรองศาสตราจารย์ทันตแพทย์ ดร. ประสิทธิ์ ภาสันต์ ที่ให้คำแนะนำและ  
ข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัยนี้ด้วยดีเสมอมา และขอกราบขอบพระคุณ คณะกรรมการสอบ  
วิทยานิพนธ์ทุกท่านที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ในการแก้ไขวิทยานิพนธ์  
ฉบับนี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านของภาควิชาทันตกรรมหัตถการ และเจ้าหน้าที่หน่วย  
ปฏิบัติการวิจัยเนื้อเยื่ออินทรีย์ : การทำลายและการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ คณะทันตแพทยศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทุกท่าน ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์ ความช่วยเหลือและคำแนะนำในการทำการ  
วิจัยอย่างดียิ่ง

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และเพื่อนนิสิตผู้ซึ่งให้การสนับสนุนและ  
กำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมา และขอขอบพระคุณผู้มีพระคุณทุกท่านที่ไม่สามารถกล่าวนาม ได้ทั้งหมดที่  
ช่วยเหลือในการทำงาน งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี คุณงามความดีที่ได้รับจากการ  
ศึกษาวิจัยนี้ผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

นรินทร์ โถทองคำ

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญภาพ.....	ฅ
บทที่ 1 บทนำ	
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
คำถามของการวิจัย.....	3
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
สมมติฐานของการวิจัย.....	4
คำสำคัญ.....	4
รูปแบบการวิจัย.....	5
ข้อจำกัดของการวิจัย.....	5
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	5
ปัญหาจริยธรรม.....	5
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	
รอยทะเลนอกผิวรากฟัน.....	6
การจัดการกับรอยทะเลนอกผิวรากฟัน.....	6
การพยากรณ์โรค.....	7
ลักษณะในอุดมคติของวัสดุที่นำมาใช้ปิดรอยทะเล.....	7
วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม.....	8
วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน.....	10
การใช้กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ปิดรอยทะเลนอกผิวรากฟันและอุดปลายรากฟัน.....	11
ความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์.....	12
เซลล์เอ็นฮีดปริทันต์ ไฟโบรเนกติน และเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส.....	13
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง.....	16

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย.....	16
วิธีดำเนินการวิจัย.....	18
การเก็บรวบรวมข้อมูล.....	30
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	31
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัย</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>● การวัดความเป็นพิษต่อเซลล์เอ็นอีคปริทันต์ของมนุษย์ของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินเมื่อมีการสัมผัสกันโดยตรง ด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay).....</li> <li>● การวัดผลของวัสดุทั้งสองชนิดต่ออัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่ระยะเวลา 1, 3 และ 5 วัน ด้วยวิธีการใช้สารเอ็มทีที.....</li> <li>● การศึกษาการยึดเกาะของเซลล์เอ็นอีคปริทันต์ของมนุษย์บนผิววัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด.....</li> <li>● การศึกษาผลของวัสดุทั้งสองชนิดต่อการสร้างไฟโบรเนกตินของเซลล์เอ็นอีคปริทันต์ของมนุษย์ที่ระยะเวลา 1, 3 และ 5 วัน ด้วยวิธีเวสเทอ์นบล็อตท.....</li> <li>● การศึกษาผลของวัสดุทั้ง 2 ชนิดต่อค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ระยะเวลา 1, 3 และ 5 วัน.....</li> </ul>	32 35 38 45 46
<b>บทที่ 5 อภิปรายผลการวิจัย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ</b>	
อภิปรายผลการวิจัย.....	48
สรุปผลการวิจัย.....	55
ข้อเสนอแนะ.....	55
รายการอ้างอิง.....	57
ภาคผนวก.....	64
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	76



สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 แสดงวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม  
(Ketac - Fil Plus Aplicap, 3M ESPE, USA).....20

ภาพที่ 2 แสดงวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน  
(Fuji II LC capsule, GC corporation, Japan) .....20

ภาพที่ 3 แสดงเครื่องมือสำหรับกดวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์.....21

ภาพที่ 4 แสดงการใช้เครื่องมือกดวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ในหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์.....21

ภาพที่ 5 แสดงการใช้เครื่องตรวจสอบความเข้มแสงของเครื่องฉายแสง  
(Optilux radiometer model 100, Kerr, USA).....22

ภาพที่ 6 เปรียบเทียบขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหลุมเลี้ยงเซลล์กับปลายเครื่องฉายแสง.....22

ภาพที่ 7 แสดงวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่เตรียมในหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์.....23

ภาพที่ 8 แสดงวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่ถูกแช่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 10.....23

ภาพที่ 9 แสดงตำแหน่งบนผิววัสดุที่ทำการศึกษาลักษณะการยึดเกาะของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด.....27

ภาพที่ 10 แสดงผลการวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธีเอ็มทีทีที่ภายหลังเพาะเลี้ยงเซลล์เอ็นดอปรีทันต์ของมนุษย์บนวัสดุทั้ง 2 ชนิดภายหลังผสมเสร็จ.....32

ภาพที่ 11 แสดงผลการวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ภายหลังจากแช่วัสดุทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 1, 3, 5 และ 7 วัน ก่อนทำการหว่านเซลล์เอ็นดอปรีทันต์และเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง.....33

ภาพที่ 12 แสดงผลการวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ภายหลังจากแช่วัสดุทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 7, 10 และ 12 วัน ก่อนทำการหว่านเซลล์เอ็นดอปรีทันต์และเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง.....34

ภาพที่ 13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์เอ็นดอปรีทันต์ที่พบในแต่ละกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมกับระยะเวลาการเลี้ยงเซลล์จากการศึกษาด้วยวิธีเอ็มทีที.....37

ภาพที่ 14 แสดงลักษณะของเซลล์เอ็นดอปรีทันต์ที่ยึดเกาะบนผิวกระจกภายหลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 วัน ที่กำลังขยาย x100 .....39



ภาพที่ 28 แสดงลักษณะของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ที่ยึดเกาะบนผิววัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ ชนิดคัดแปลงด้วยเรซินภายหลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 5 วัน ที่กำลังขยาย x100 .....	43
ภาพที่ 29 แสดงลักษณะของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ที่ยึดเกาะบนผิวกระจก ภายหลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 5 วัน ที่กำลังขยาย x350.....	44
ภาพที่ 30 แสดงลักษณะของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ที่ยึดเกาะบนผิววัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ ชนิดดั้งเดิมภายหลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 5 วัน ที่กำลังขยาย x350.....	44
ภาพที่ 31 แสดงลักษณะของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ที่ยึดเกาะบนผิววัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ ชนิดคัดแปลงด้วยเรซินภายหลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 5 วัน ที่กำลังขยาย x350 .....	44
ภาพที่ 32 ภาพแสดงปริมาณไฟโบรเนกตินที่ได้จากการศึกษาด้วยวิธีเวสเทิร์นบล็อต (Western blot) ที่พบในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมที่ระยะเวลาต่าง ๆ.....	45
ภาพที่ 33 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ ฟอสฟาเตสกับระยะเวลาการเลี้ยงเซลล์.....	47

# บทที่ 1

## บทนำ

### ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การเกิดทางติดต่อระหว่างระบบคลองรากฟันกับอวัยวะปริทันต์ สามารถก่อให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จากระบบคลองรากฟันสู่นเนื้อเยื่ออวัยวะปริทันต์ หรือจากเนื้อเยื่ออวัยวะปริทันต์เข้าสู่คลองรากฟัน เป็นเหตุให้เกิดการระคายเคือง และการอักเสบของเนื้อเยื่อในและเนื้อเยื่ออวัยวะปริทันต์ ส่งเสริมให้เกิดการทำลายอวัยวะปริทันต์ที่อยู่โดยรอบได้ สาเหตุของการเกิดทางติดต่อระหว่างระบบคลองรากฟันกับเนื้อเยื่อเอ็นยึดปริทันต์อาจเกิดจากการมีรอยทะลุออกผิวดรากฟัน (root perforation) (Ingle, 1961) หรือการละลายตัวของรากฟัน (Heithersay และคณะ, 1994) ซึ่งอาจส่งผลให้การรักษาคคลองรากฟันล้มเหลว ดังนั้นการซ่อมแซมโดยการปิดรอยทะลุออกผิวดรากฟันด้วยวัสดุที่เหมาะสมจึงมีความสำคัญต่อความสำเร็จในการรักษาคคลองรากฟัน (Fuss และ Trope, 1996)

วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ (glass ionomer cement) ถูกแนะนำครั้งแรกโดย Wilson และ Kent ในปี ค.ศ. 1972 หลังจากนั้นได้มีการพัฒนาคุณสมบัติต่าง ๆ ของวัสดุ เพื่อให้สามารถนำมาใช้งานทางทันตกรรมสาขาต่าง ๆ ได้อย่างเหมาะสม รวมทั้งการนำมาใช้เป็นวัสดุบูรณะซ่อมแซมรอยทะลุออกผิวดรากฟัน (root perforation) หรือใช้บูรณะเนื้อฟันที่สูญเสียไปจากการละลายตัวของรากฟัน (root resorption) คุณสมบัติที่สำคัญของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์คือความสามารถยึดติดกับเนื้อฟันได้ด้วยการยึดติดทางพันธะเคมี (chemical bond) จึงคาดว่ากลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์จะสามารถให้ความแนบสนิทที่ดี ป้องกันการซึมผ่านของเชื้อจุลินทรีย์อย่างมีประสิทธิภาพและเสริมความแข็งแรงของรากฟัน นอกจากนี้กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ยังมีความสามารถในการปล่อยฟลูออไรด์ รวมทั้งมีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อ (biocompatibility) ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญในกรณีที่น่ากลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์มาใช้เป็นวัสดุบูรณะซ่อมแซมรอยทะลุออกผิวดรากฟันหรือซ่อมแซมเนื้อฟันที่สูญเสียไปจากการละลายตัวของรากฟัน (root resorption) (De Bruyne และ De Moor, 2004; Duprez และคณะ, 2004)

วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (resin modified glass-ionomer cement; RMGIC) เป็นวัสดุที่ถูกพัฒนาและได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย มีการใช้งานในคลินิกทันตกรรมทั่วไป คุณสมบัติที่แตกต่างของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินจากกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม คือ สามารถกระตุ้นให้เกิดการแข็งตัวด้วยการฉายแสง (McCabe, 1998; Smith, 1998) เนื่องจากมีเรซินซึ่งสามารถกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาโพลีเมอร์ไรเซชัน (polymerization) ลดระยะเวลาก่อตัวของวัสดุ (McCabe, 1998; Smith, 1998) ที่ผ่านมามีรายงานการ

ใช้กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ทั้งชนิดดั้งเดิมและกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน เป็นวัสดุปิดรอยทะลุออกผิวดรากฟันและบูรณะทดแทนรากฟันที่ละลาย ซึ่งให้ผลสำเร็จในการรักษา สามารถชักนำให้เกิดการหายของเนื้อเยื่อปริทันต์อย่างสมบูรณ์ (periodontal regeneration) (Breault และคณะ, 2000; Duprez และคณะ, 2004; Fuss และ Trope, 1996; Heithersay, 1999b) แต่การศึกษา ถึงความสำเร็จที่ผ่านมาเป็นการประเมินจากลักษณะทางคลินิก จุลกายวิภาคศาสตร์ (histology) และ ภาพรังสี (radiography) เท่านั้น ในแง่ผลของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ทั้งชนิดดั้งเดิมและ กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินต่อการทำงานระดับเซลล์ยังไม่สามารถอธิบายได้

ความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อ (biocompatibility) ของวัสดุบูรณะเป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่งที่มี ผลต่อความสำเร็จในการรักษารอยทะลุออกผิวดรากฟัน หรือการบูรณะทดแทนรากฟันที่ละลายไป เนื่องจากผิววัสดุที่นำมาใช้บูรณะจะต้องสัมผัสโดยตรงกับเซลล์และเนื้อเยื่ออวัยวะปริทันต์ เซลล์ที่ ต้องสัมผัสกับวัสดุและมีบทบาทสำคัญในการซ่อมแซมเนื้อเยื่อเอ็นยึดปริทันต์คือ เซลล์เอ็นยึด ปริทันต์ (periodontal ligament cells) พบว่าเซลล์เอ็นยึดปริทันต์เป็นเซลล์ที่มีศักยภาพในการ ซ่อมแซมและดิฟเฟอเรนทิเอท (differentiate) เพื่อสร้างเนื้อเยื่อใหม่ทดแทนเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายไป การหายของเนื้อเยื่ออวัยวะปริทันต์เป็นกระบวนการที่มีความซับซ้อน กระบวนการซ่อมแซมที่ เกิดขึ้นจะเริ่มจากการเจริญของเซลล์ดั้งเดิมในบริเวณที่เกิดพยาธิสภาพ (regeneration of parenchymal cells) การเคลื่อนที่และการเพิ่มจำนวนเซลล์ทั้งเซลล์ดั้งเดิมและเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (migration and proliferation of both parenchymal and connective tissue cells) ตามด้วยการสร้าง เมทริกนอกเซลล์ (extracellular matrix) เพื่อซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่เสียหาย และมีการ ดิฟเฟอเรนทิเอทของเซลล์ไปเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่เฉพาะ เพื่อให้เนื้อเยื่อมีสภาพและการทำงาน ดั้งเดิม เกิดการหายของเนื้อเยื่ออย่างสมบูรณ์ในที่สุด

ดังนั้นการศึกษาเปรียบเทียบผลของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและ กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินต่อเซลล์เอ็นยึดปริทันต์เมื่อมีการสัมผัสกัน โดยตรงภายหลังความเป็นพิษของวัสดุลดลง โดยวัดผลของวัสดุทั้งสองชนิดต่ออัตราการเพิ่ม จำนวนเซลล์ ลักษณะของเซลล์ที่ยึดเกาะบนผิววัสดุ และผลของวัสดุทั้งสองชนิดต่อการทำงานของ เซลล์โดยพิจารณาจากปริมาณไฟโบรเนกตินและเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ผลการศึกษาที่ได้ อาจนำไปสู่ข้อมูลที่เป็นประโยชน์เกี่ยวกับคุณสมบัติความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อของวัสดุทั้งสองชนิด และเป็นข้อมูลประกอบการตัดสินใจในการเลือกใช้วัสดุในการบูรณะกรณีที่มีการสัมผัสระหว่าง วัสดุกับเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ รวมทั้งเป็นข้อมูลในการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมต่อไปในอนาคตเพื่อให้การ รักษาผู้ป่วยประสบความสำเร็จมากยิ่งขึ้น

### คำถามของการวิจัย

1. วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินมีความเป็นพิษต่อเซลล์เอ็นดอทีลของมนุษย์แตกต่างกันหรือไม่ เมื่อมีการสัมผัสกันโดยตรง
2. วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินมีผลต่ออัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์เอ็นดอทีลของมนุษย์แตกต่างกันหรือไม่
3. เซลล์เอ็นดอทีลของมนุษย์มีลักษณะการยึดเกาะบนผิววัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมแตกต่างจากการยึดเกาะบนผิววัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินหรือไม่
4. วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินมีผลต่อการสร้างไฟโบรเนกตินของเซลล์เอ็นดอทีลของมนุษย์แตกต่างกันหรือไม่
5. วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินมีผลต่อค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสของเซลล์เอ็นดอทีลของมนุษย์แตกต่างกันหรือไม่

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบความเป็นพิษต่อเซลล์เอ็นดอทีลของมนุษย์ของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน เมื่อมีการสัมผัสกัน โดยตรงด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay)
2. เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบผลของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินต่ออัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์เอ็นดอทีลของมนุษย์ ด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay)
3. เพื่อศึกษาลักษณะการยึดเกาะของเซลล์เอ็นดอทีลของมนุษย์บนผิววัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope)
4. เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบปริมาณไฟโบรเนกตินที่เซลล์เอ็นดอทีลของมนุษย์สร้างขึ้นเพื่อใช้ในการยึดเกาะจากการเพาะเลี้ยงเซลล์เอ็นดอทีลของมนุษย์บนผิววัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน ด้วยวิธีเวสเทิร์นบล็อต (Western blot)

5. เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่เซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์สร้างขึ้น จากการเพาะเลี้ยงเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์บนผิววัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

#### สมมุติฐานของการวิจัย

1. ความเป็นพิษต่อเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์ของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน เมื่อมีการสัมผัสกันโดยตรงไม่แตกต่างกัน
2. ผลของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินต่ออัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์ไม่แตกต่างกัน
3. ลักษณะการยึดเกาะของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์บนผิววัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินไม่แตกต่างกัน
4. ปริมาณไฟโบรเนกตินที่เซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์สร้างขึ้นเพื่อใช้ในการยึดเกาะจากการเพาะเลี้ยงเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์บนผิววัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงไม่แตกต่างกัน
5. ค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่เซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์สร้างขึ้น จากการเพาะเลี้ยงเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์บนผิววัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินไม่แตกต่างกัน

#### คำสำคัญ

- เซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์ (human periodontal ligament cells)
- วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (conventional glass ionomer cement ; CGIC)
- วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (resin modified glass ionomer cement ; RMGIC)
- ไฟโบรเนกติน (fibronectin)
- เอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase enzyme)

## รูปแบบการวิจัย

การวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ (laboratory experimental research)

## ข้อจำกัดของการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการที่ทำในเซลล์เอ็นอีคปริทันต์ของมนุษย์เพียงชนิดเดียว ผลการวิจัยไม่สามารถนำไปสรุปผลต่อร่างกายโดยตรง เนื่องจากในร่างกายมีกลไกการทำงานที่เกิดจากการทำงานร่วมกันของเซลล์หลายชนิด

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เปรียบเทียบความเป็นพิษต่อเซลล์และผลของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินต่ออัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์เอ็นอีคปริทันต์ของมนุษย์
2. ทราบลักษณะการยึดเกาะของเซลล์เอ็นอีคปริทันต์ของมนุษย์บนผิววัสดุทั้งสองชนิด
3. ทราบผลของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินต่อการทำงานของเซลล์เอ็นอีคปริทันต์ของมนุษย์ จากปริมาณไฟโบรเนกติน และเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส
4. เป็นข้อมูลพื้นฐานที่ช่วยเป็นแนวทางในการตัดสินใจของทันตแพทย์ในการเลือกใช้วัสดุบูรณะที่ต้องมีการสัมผัสกับเซลล์เอ็นอีคปริทันต์

## ปัญหาจริยธรรม

ไม่มี

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## บทที่ 2

### ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

การรักษาคลองรากฟันเป็นการพยายามรักษาสภาพของฟันธรรมชาติให้คงอยู่ในช่องปาก เพื่อให้สามารถใช้งานได้ตามปกติและมีความสวยงาม สาเหตุของความล้มเหลวภายหลังการรักษาคลองรากฟันมักเกิดจากการไม่สามารถควบคุมและกำจัดการติดเชื้อที่อยู่ภายในระบบคลองรากฟัน (Nair และคณะ, 1999) การเกิดทางติดต่อระหว่างระบบคลองรากฟันกับเนื้อเยื่อเอ็นยึดปริทันต์ และอวัยวะปริทันต์อื่น ๆ สามารถก่อให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จากระบบคลองรากฟันสู่อเนื้อเยื่อปริทันต์ หรือจากเนื้อเยื่อปริทันต์เข้าสู่คลองรากฟัน เป็นเหตุให้เกิดการระคายเคือง และการอักเสบของเนื้อเยื่อในและอวัยวะปริทันต์ ส่งเสริมให้เกิดการทำลายอวัยวะปริทันต์ที่อยู่โดยรอบได้ สาเหตุของการเกิดทางติดต่อระหว่างระบบคลองรากฟันกับเนื้อเยื่อเอ็นยึดปริทันต์ อาจเกิดจากการเกิดรอยทะลุออกผิวดรากฟัน (root perforation) (Ingle, 1961) หรือการละลายตัวของรากฟัน (Heithersay และคณะ, 1994) ซึ่งอาจส่งผลให้การรักษาคองรากฟันล้มเหลว ดังนั้น การซ่อมแซมโดยการปิดรอยทะลุออกผิวดรากฟันและการบูรณะทดแทนเนื้อฟันที่ถูกทำลายจากการละลายตัวด้วยวัสดุที่เหมาะสมจึงมีความสำคัญต่อความสำเร็จในการรักษาคองรากฟัน

#### รอยทะลุออกผิวดรากฟัน (root perforation)

การเกิดรอยทะลุออกผิวดรากฟัน (perforation) เป็นเหตุการณ์ที่สามารถเกิดขึ้นได้ในขณะรักษาคองรากฟัน (Alhadainy, 1994; Fuss และ Trope, 1996; Ingle, 1961) และเป็นสาเหตุหนึ่งของความล้มเหลวในการรักษาคองรากฟัน (Ingle, 1961) เมื่อมีรอยทะลุออกผิวดรากฟันจะส่งผลให้เกิดทางติดต่อระหว่างระบบคลองรากฟันกับเนื้อเยื่อเอ็นยึดปริทันต์ และอวัยวะปริทันต์อื่น ๆ ซึ่งสามารถก่อให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จากคลองรากฟันสู่อเนื้อเยื่อปริทันต์ เป็นเหตุให้เกิดการระคายเคือง อักเสบและส่งเสริมให้เกิดการทำลายอวัยวะปริทันต์ที่อยู่โดยรอบ ดังนั้นการซ่อมแซมโดยการปิดรอยทะลุออกผิวดรากฟันจึงมีความสำคัญต่อความสำเร็จในการรักษาคองรากฟัน (Fuss และ Trope, 1996)

#### การจัดการกับรอยทะลุออกผิวดรากฟัน (Management of Root Perforation)

หลักการของการรักษา คือ การกำจัดและป้องกันการติดเชื้อที่เกิดขึ้นในบริเวณรอยทะลุ เพื่อป้องกันการอักเสบที่เกิดขึ้นของเนื้อเยื่อปริทันต์ และสิ่งจำเป็นที่จะต้องใช้ในการรักษา เพื่อให้ได้มาซึ่งผลที่ต้องการคือ วัสดุที่ใช้ปิดรอยทะลุ ซึ่งควรมีคุณสมบัติในการป้องกันการ

แทรกซึมของเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งมีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อของร่างกายไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อปริทันต์ (Alhadainy, 1994; Fuss และ Trope, 1996)

#### **การพยากรณ์โรค (Prognosis) (Alhadainy, 1994; Fuss และ Trope, 1996)**

ปัจจัยที่มีความสำคัญต่อพยากรณ์โรคของฟันที่เกิดรอยทะลุนอกผิวรากฟันคือ ช่วงระยะเวลาที่เกิดรอยทะลุจนได้รับการปิดรอยทะลุด้วยวัสดุที่เหมาะสม ขนาดและตำแหน่งของ รอยทะลุ ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณเนื้อเยื่อที่ได้รับอันตรายและโอกาสเกิดการปนเปื้อนของ เชื้อจุลินทรีย์จากช่องปาก นอกจากนี้วัสดุที่เลือกใช้ในการปิดรอยทะลุยังมีส่วนสำคัญต่อพยากรณ์ โรค ในการทำหน้าที่ป้องกันการติดเชื้อและมีผลต่อการอักเสบของเนื้อเยื่อในบริเวณนั้น (Fuss และ Trope, 1996)

ความสามารถในการปิดทางเชื่อมต่อระหว่างคลองรากฟันกับกระดูกรอบปลายรากฟัน และ ความสามารถของเนื้อเยื่ออวัยวะปริทันต์ในการซ่อมแซมตัวเอง มีความสัมพันธ์กับความเข้ากันได้ กับเนื้อเยื่อของวัสดุที่นำมาใช้ในการปิดรอยทะลุ ซึ่งเป็นสิ่งที่มีความสำคัญ คุณสมบัติของวัสดุที่ใช้ ปิดรอยทะลุควรสามารถให้ความแนบสนิทกับผนังเนื้อฟัน เพื่อปิดทางเชื่อมต่อระหว่างอวัยวะ ปริทันต์กับคลองรากฟันได้อย่างสมบูรณ์ ป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์จากระบบคลองราก ฟันสู่เนื้อเยื่ออวัยวะปริทันต์ หรือจากเนื้อเยื่ออวัยวะปริทันต์เข้าสู่คลองรากฟัน ดังนั้นวัสดุที่นำมาใช้ จะต้องให้ความแนบสนิทที่ดี ไม่ไวต่อความชื้น และเนื่องจากผิวด้านนอกของวัสดุจะต้องสัมผัส โดยตรงกับเซลล์และเนื้อเยื่ออวัยวะปริทันต์ที่อยู่รอบ ๆ ดังนั้นวัสดุควรมีความเป็นพิษต่ำ มีความเข้า กันได้ดีกับเนื้อเยื่อร่างกาย และสามารถชักนำให้เกิดการซ่อมแซมของเนื้อเยื่ออวัยวะปริทันต์ เกิดการหายของแผลอย่างสมบูรณ์มีการสร้างกระดูก เคลือบรากฟันและเนื้อเยื่อเอ็นยึดปริทันต์ แทนที่เนื้อเยื่อที่ถูกทำลายไป (Alhadainy, 1994; Fuss และ Trope, 1996; Heithersay, 1999a)

#### **ลักษณะในอุดมคติของวัสดุที่นำมาใช้ปิดรอยทะลุ (Gartner and Dorn, 1992)**

- 1) สามารถให้ความแนบสนิทกับเนื้อฟันที่ดี
- 2) มีความเข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อร่างกาย ไม่ก่อให้เกิดการอักเสบ
- 3) ไม่มีความเป็นพิษ
- 4) สามารถต้านทานต่อเชื้อจุลินทรีย์หรือไม่ส่งเสริมให้มีการเจริญเติบโตของ เชื้อจุลินทรีย์
- 5) สนับสนุนการหายของเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันอย่างสมบูรณ์ (promote regeneration)
- 6) ไม่ถูกรบกวนโดยความชื้น
- 7) ไม่ละลายในส่วนประกอบของเนื้อเยื่อที่เป็นของเหลว

- 8) มีเสถียรภาพทางมิติ (dimensional stability)
- 9) ไม่เกิดการกัดกร่อน (corrosion)
- 10) ไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนสีของเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน
- 11) ใช้งานง่าย
- 12) มีความแข็งแรงสูง
- 13) ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีฟันหรือเนื้อเยื่อโดยรอบ
- 14) ยึดติดกับเนื้อฟันได้ โดยไม่ต้องทำรอยคอด (undercut)

วัสดุที่มีการนำมาใช้อุดปิดรอยทะลุออกผิวยางฟันมีมากมายหลายชนิด เช่น อมัลกัม (amalgam) เควิต (Cavit, 3M EPSE, Germany) ซิงค์ออกไซด์ยูจีนอลซีเมนต์ (zinc oxide eugenol cement) ไออาร์เอ็ม (IRM, Dentsply, USA) เรซินคอมโพสิต (resin composite) ซุปเปอร์อีบีเอ (Super EBA, Bosworth, USA) กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ (glass ionomer cement) เอ็มทีเอ (MTA, Dentsply, USA) เป็นต้น (Friedman, 1991) ในปัจจุบันยังไม่มียาชนิดใดที่มีคุณสมบัติครบถ้วนตามอุดมคติ

#### วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (conventional glass ionomer cement)

วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมถูกค้นพบและแนะนำครั้งแรกโดย Wilson และ Kent ในปีค.ศ. 1972 โดยการปรับปรุงคุณสมบัติของซิลิเกตซีเมนต์ (silicate cement) และซิงค์โพลีคาร์บอกซีเลตซีเมนต์ (zinc polycarboxylate cement) กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์เป็นวัสดุที่เกิดจากปฏิกิริยากรด-ด่าง (acid-base reaction) ระหว่างส่วนผงที่เป็นผลึกแก้วฟลูออโรอะลูมิเนียมซิลิเกต (fluoroaluminosilicate glass) และส่วนเหลวที่เป็นกรดโพลีอะคริลิก (polyacrylic acid) ในสภาวะที่มีน้ำเป็นตัวกลางในการเกิดปฏิกิริยา

#### ส่วนประกอบของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม

ในระยะแรกวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมส่วนเหลวมีส่วนประกอบเพียงกรดโพลีอะคริลิก (polyacrylic acid) ละลายอยู่ในน้ำ และส่วนผงที่เป็นผลึกแก้วแคลเซียมอะลูมิเนียมซิลิเกต (calciumaluminosilicate glass power) แต่ปัจจุบันได้มีการปรับปรุงส่วนผสมเพื่อให้มีคุณสมบัติที่ดียิ่งขึ้น ซึ่งส่วนประกอบจะแตกต่างกันในแต่ละบริษัท แต่อย่างไรก็ตามองค์ประกอบหลักจะมีความใกล้เคียงกัน โดยเตรียมอยู่ในรูปของส่วนผงและส่วนเหลว ซึ่งเวลาใช้จะนำส่วนผสมทั้งสองส่วนนี้มาผสมเข้าด้วยกัน

**ส่วนผง :** ประกอบด้วยผลึกแก้วอะลูมิเนียมซิลิเกตที่มีแคลเซียมและฟลูออไรด์ไอออน (aluminosilicate glass containing additionally calcium and fluoride ions) ซึ่งถูกห่อหุ้มที่อุณหภูมิประมาณ 1,200-1,550 องศาเซลเซียส จากนั้นจะถูกทำให้เย็นลงทันที และนำมาบดให้มีอนุภาคประมาณ

45 - 15 ไมโครเมตร (Nicholson, 1998) นอกจากนี้ยังมีส่วนประกอบอื่น ๆ อีก เช่น สตรอนเทียม (Strontium) แบเรียม (Barium) สังกะสี (Zinc) (Smith, 1998)

**ส่วนเหลว :** ประกอบด้วยกรดโพลีอะคริลิก (polyacrylic acid) ละลายอยู่ในน้ำ ความเข้มข้นประมาณร้อยละ 40-50 แต่เนื่องจากประสบปัญหาในเรื่องความหนืดของสารและมีการเกิดเจลของกรดเมื่อเวลาผ่านไป ปัจจุบันกรดที่ใช้จึงอยู่ในรูปของโคโพลิเมอร์ (copolymer) ของกรดอิทาโคนิก (itaconic acid) กรดมาเลอิก (maleic acid) หรือกรดไตรคาร์บอกซิลิก (tricarboxylic acid) เพื่อลดความหนืดและการเกิดเจล นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาเคมีเนื่องจากมีกลุ่มคาร์บอกซิลมากขึ้น นอกจากนี้ยังมีการเติมกรดทาร์ทริก (tartaric acid) เพื่อให้ผสมได้ง่ายและเพิ่มระยะเวลาใช้งาน แต่ลดระยะเวลาการก่อตัว (Smith, 1998)

### ปฏิกิริยาการก่อตัวของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Smith, 1998)

ปฏิกิริยาการก่อตัวของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์เริ่มเมื่อมีการผสมส่วนผงและส่วนเหลวเข้าด้วยกัน จะเกิดปฏิกิริยากรด-ด่าง (acid – base reaction) โดยมีน้ำเป็นตัวกลางในการเกิดปฏิกิริยา กรดโพลีอะคริลิก (polyacrylic) จะเข้าทำปฏิกิริยากับผิวของอนุภาค ทำให้มีการปลดปล่อยแคลเซียมไอออน ( $Ca^{2+}$ ) และอลูมิเนียมไอออน ( $Al^{3+}$ ) จากผิวอนุภาค โดยในระยะแรกแคลเซียมไอออนจะถูกปลดปล่อยออกมาเร็วกว่าอลูมิเนียมไอออน แคลเซียมไอออนจะทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl group) ของกรดเกิดเป็นแคลเซียมคาร์บอกซิเลต (calcium carboxylate) เป็นส่วนของเมทริกซ์ยึดอนุภาคของผลึกแก้วเข้าด้วยกันเกิดเป็นการก่อตัวเริ่มแรก แคลเซียมคาร์บอกซิเลตที่เกิดขึ้นนั้นสามารถละลายในน้ำได้ง่าย ในระยะแรกจึงต้องระมัดระวังไม่ให้วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์สัมผัสกับน้ำ ภายหลังจากการก่อตัวเริ่มแรกแล้วอลูมิเนียมไอออนจะทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอกซิลของกรด เกิดเป็นอลูมิเนียมคาร์บอกซิเลต (aluminium carboxylate) ซึ่งจะมีความเสถียรกว่าแคลเซียมคาร์บอกซิเลต (calcium carboxylate) ทำให้ความแข็งแรงของวัสดุเพิ่มมากขึ้น เกิดการเชื่อมต่อ (cross-linking) ของสายกรดโพลีอะคริลิก ซึ่งใช้เวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมงภายหลังจากผสม

ลักษณะของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ภายหลังจากการแข็งตัวประกอบด้วยอนุภาคของผลึกแก้วที่เหลือจากการทำปฏิกิริยาเป็นส่วนแกน (core) ล้อมรอบด้วยเจลซิลิกา (silica hydrogel) ซึ่งเป็นส่วนผิวของผลึกแก้วที่ถูกดึงแคลเซียมไอออนและอลูมิเนียมไอออนออกไป และเหลือส่วนซิลิกาทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนไอออน (hydrogen ion) เกิดเป็นเจลซิลิกา ล้อมรอบด้วยเมทริกซ์ที่เป็นเกลือของอลูมิเนียมคาร์บอกซิเลตและแคลเซียมคาร์บอกซิเลต ยึดส่วนผลึกแก้วเข้าไว้ด้วยกัน

### วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (resin-modified glass ionomer cement)

เนื่องจากวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (conventional glass ionomer cement) มีข้อจำกัดในการใช้งานทางคลินิก เช่น มีระยะเวลาการทำงาน (working time) สั้น เวลาในการก่อตัวนาน (setting time) วัสดุที่ได้รับการปรับปรุงขึ้นในระยะเวลาแรกของปฏิกิริยาการก่อตัว ทำให้มีการพัฒนาวัสดุไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดบ่มตัวด้วยแสง (light-cured glass ionomer cement) เพื่อแก้ไขข้อจำกัดต่าง ๆ กล่าวคือ มีเวลาการทำงานนานขึ้น สามารถควบคุมเวลาการก่อตัวได้ด้วยการฉายแสง ลดโอกาสที่วัสดุจะสัมผัสกับน้ำขณะแข็งตัว (Mitra, 1991; Smith, 1990)

### ส่วนประกอบและปฏิกิริยาการแข็งตัวของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (McCabe, 1998; Smith, 1998)

ได้มีการปรับปรุงคุณสมบัติของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ดั้งเดิมโดยมีการเติมโมโนเมอร์ที่สามารถละลายในน้ำได้ (water-soluble monomer) เช่น ไฮดรอกซีเอทิลเมทาคริลเลต (hydroxyethyl methacrylate ; HEMA) โพลีเอทิลีนไกลคอลไดเมทาคริลเลต (polyethyleneglycol dimethacrylate) โดยใช้ร่วมกับสารเริ่มปฏิกิริยารีดอกซ์ (redox initiator) เช่น แคมเฟอร์ควิโนน (camphorquinone) ซึ่งสามารถกระตุ้นปฏิกิริยาโพลีเมอร์ไรเซชันได้ด้วยแสง ดังนั้นวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินจึงสามารถแข็งตัวได้ทั้งปฏิกิริยาโพลีเมอร์ไรเซชัน (polymerization) และปฏิกิริยากรด - ด่าง (acid - base reaction) ตัวอย่างของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินได้แก่ วิทรีบอนด์ (Vitrebond, 3M ESPE), เอ็กอาร์ไอโอโนเมอร์ (XR Ionomer, Kerr) และฟูจิทูแอลซี (Fuji II LC, GC)

เมื่อมีการกระตุ้นด้วยแสงวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินจะเกิดปฏิกิริยาโพลีเมอร์ไรเซชันของเรซินโมโนเมอร์ที่กลุ่มเมทาคริลเลต สายโพลีอะคริลเลตจะยึดกันด้วยปฏิกิริยาโพลีเมอร์ไรเซชัน ขณะที่ปฏิกิริยากรด - ด่าง จะเกิดขึ้นเมื่อผสมส่วนผงและส่วนเหลวเข้าด้วยกันเช่นเดียวกับการก่อตัวของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม เกิดการเชื่อมต่อนของสายเรซินโพลีเมอร์และสายโพลีอะคริลิก ซึ่งปฏิกิริยาสามารถดำเนินต่อไปเป็นระยะเวลานาน (Mount, 1994) ซึ่งการเติมเรซินลงในกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ สามารถปรับปรุงคุณสมบัติของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ได้ สามารถเพิ่มความแข็งแรงของวัสดุแต่ไม่มีผลต่อการยึดติดกับเนื้อฟัน (Mathis และ Ferracane, 1989)

## การใช้กาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ปิดรอยทะลุออกผิวยากฟันและอุดปลายรากฟัน

### (Perforation repair and retrograde filling)

จากการศึกษาการรั่วซึม (leakage study) ภายหลังจากใช้วัสดุปิดรอยทะลุออกผิวยากฟัน พบว่ากาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์เป็นวัสดุที่ทำให้ความแนบสนิทที่ดี (Alhadainy และ Himel, 1993; Himel และ Alhadainy, 1995) วัสดุกาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Fuji II, GC) และวัสดุเอ็มทีเอ มีการรั่วซึมน้อยกว่าอมัลกัมและซูปเปอร์อีพีเอ อมัลกัมเป็นวัสดุที่มีการรั่วซึมมากที่สุด (Alhadainy และ Himel, 1993; Wu และคณะ, 1998) นอกจากนี้มีการศึกษาพบว่าการใช้กาสไอโอโนเมอร์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Vitrebond®, 3M ESPE) สามารถลดการรั่วซึมได้ดีกว่ากาสไอโอโนเมอร์ชนิดดั้งเดิม ทั้งนี้อาจเป็นผลจากความสามารถในการแข็งตัวเมื่อกระตุ้นด้วยแสงลดโอกาสที่วัสดุจะสัมผัสกับความชื้นขณะแข็งตัว

Heithersay (1999) รายงานผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาการละลายตัวของรากฟันและได้รับการบูรณะทดแทนด้วยกาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac Fil®; 3M ESPE) จากการติดตามผลการรักษานาน 3-6 ปี เมื่อประเมินจากลักษณะทางคลินิกและภาพรังสีพบว่าให้ผลสำเร็จเป็นที่น่าพอใจ เช่นเดียวกับการศึกษาที่ผ่านมา ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสำเร็จของการใช้กาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ในการปิดรอยทะลุออกผิวยากฟัน (Fuss และ Trope, 1996; Goon และ Lundergan, 1995) ขณะที่ Breault และคณะ (2000) รายงานการใช้กาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในการปิดรอยทะลุออกผิวยากฟัน ซึ่งให้ผลสำเร็จในการรักษาเมื่อประเมินจากลักษณะทางคลินิกและภาพรังสีภายหลังการรักษา 7 เดือน

การนำกาสไอโอโนเมอร์มาใช้เป็นวัสดุอุดปิดปลายรากฟัน พบว่า กาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์สามารถให้ความแนบสนิทกับผนังคลองรากฟันได้ดีกว่าวัสดุชนิดอื่น ๆ ได้แก่ อมัลกัม เลวิทไออาร์เอ็ม (Friedman, 1991) การประเมินผลทางคลินิกภายหลังใช้กาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์เป็นวัสดุอุดปลายรากฟันเปรียบเทียบกับการใช้อมัลกัม โดยใช้เกณฑ์จากลักษณะทางคลินิกและภาพรังสีพบว่ากาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์สามารถนำมาใช้เป็นวัสดุอุดปลายรากฟันได้ เมื่อเปรียบเทียบผลการรักษานาน 1 ปี พบว่ากาสไอโอโนเมอร์ให้ผลสำเร็จในการรักษาสูงกว่าการใช้อมัลกัม (Jesslen และคณะ, 1995; Zetterqvist และคณะ, 1991)

Duprez และ Bouvier (2004) รายงานผลการอุดปลายรากฟันด้วยกาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Fuji IX®) ในฟันปลายรากเปิดที่ล้มเหลวจากการรักษาด้วยการเหนี่ยวนำให้เกิดเนื้อเยื่อแข็ง พบว่าภายหลังการรักษานาน 1 ปี สามารถพบการหายของรอยโรคอย่างสมบูรณ์ในภาพรังสี

### ความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์

ความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อของร่างกายเป็นคุณสมบัติที่สำคัญ โดยเฉพาะวัสดุที่ต้องมีการสัมผัสโดยตรงกับเนื้อเยื่อของร่างกาย จึงควรมีการศึกษาถึงผลของวัสดุต่อเนื้อเยื่อต่าง ๆ และความปลอดภัยในการใช้งาน Kawahara และคณะ (1979) ศึกษาผลของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (ASPA<sup>®</sup> และ Fuji Ionomer<sup>®</sup>) โพลีคาร์บอกซิเลตซีเมนต์ (polycarboxylate cement) และซิงค์ออกไซด์ยูจีนอลซีเมนต์ (Zinc oxide eugenol cement) ต่อเซลล์เนื้อเยื่อในของมนุษย์ (human pulp cells) พบว่าวัสดุทุกชนิดมีความเป็นพิษต่อเซลล์ภายหลังผสมเสร็จใหม่ ๆ แต่กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์มีความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำกว่าวัสดุชนิดอื่น ๆ และมีผลยับยั้งการเจริญของเซลล์เพียงเล็กน้อยในระยะเวลา 4 วัน ขณะที่กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่ก่อตัวสมบูรณ์ไม่มีผลต่อการเจริญของเซลล์ จากการศึกษาี้แสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติในการเข้ากันได้ของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์กับเซลล์เนื้อเยื่อใน

ความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อเมื่อมีการใช้วัสดุบูรณะที่ต้องมีการสัมผัสกับเซลล์เอ็นอีคปริทันต์ มีผลต่อความสำเร็จในการรักษา ความสำเร็จในการรักษาที่คาดว่าจะเกิดขึ้นภายหลังคือการมีการสร้างเนื้อเยื่อแข็ง (mineralized tissue) การศึกษาถึงผลของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ต่อกระดูกและเนื้อเยื่ออ่อน พบว่ากลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ก่อให้เกิดการอักเสบของกระดูกในระดับเล็กน้อย จากนั้นการอักเสบจะลดลงและสามารถพบการสร้างกระดูกใหม่ได้ภายหลังการฝังกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ โดยการสร้างกระดูกจะเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาผ่านไป (Blackman และคณะ, 1989; Kolokuris และคณะ, 1996; Zetterqvist และคณะ, 1987; Zmener และ Dominguez, 1983)

การศึกษาคูณสมบัติความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน Tassery และคณะ (1997) ศึกษาความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Vitremar<sup>®</sup>; 3M EPSE) และซูเปอร์อีบีเอ (Super EBA<sup>®</sup>; Bosworth) โดยการฝังชิ้นวัสดุลงในกระดูกขากรรไกรล่างของกระต่าย พบว่าในสัปดาห์ที่ 4 กลุ่มซูเปอร์อีบีเอ แสดงการตอบสนองของกระดูกโดยพบการอักเสบเล็กน้อยถึงปานกลาง พบชิ้นบาง ๆ ของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่มีเซลล์อักเสบเช่น ลิมโฟไซต์ (lymphocytes) พลาสมาเซลล์ (plasma cells) ขณะที่กลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน พบการอักเสบในระดับน้อยมาก พบชิ้นของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ไม่มีเซลล์อักเสบ การตอบสนองที่พบมีความแตกต่างระหว่างกลุ่มศึกษาทั้งสองกลุ่ม โดยกลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินมีความเข้ากันกับกระดูกมากกว่ากลุ่มซูเปอร์อีบีเอ โดยพบเนื้อเยื่อกระดูกที่ถูกสร้างขึ้นใหม่ในบริเวณที่สัมผัสกับวัสดุโดยตรง ส่วนซูเปอร์อีบีเอพบเพียงชิ้นของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันล้อมรอบโดยไม่พบการสร้างกระดูก สอดคล้องกับการศึกษาของ Chong และคณะ (1997a; 1997b) ซึ่งทำการศึกษารอบของเนื้อเยื่อภายหลังการใช้กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Vitremar<sup>®</sup>; 3M EPSE) เป็น

วัสดุอุดปลายรากฟันในฟันที่ติดเชื่อของสุนัข พบว่าการตอบสนองของเนื้อเยื่อต่อการใช้ กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Vitremar<sup>®</sup> ; 3M EPSE) ในระยะแรก (1-2 สัปดาห์) จะพบการอักเสบระดับเล็กน้อยถึงปานกลาง และสามารถพบการสร้างกระดูกรอบวัสดุ ขณะที่มีการศึกษาพบว่ากลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Vitremar<sup>®</sup> ; 3M EPSE) มีความเป็นพิษต่อเซลล์มากกว่ากลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac – Fil<sup>®</sup> ; 3M EPSE) และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์เหงือกได้อย่างมีนัยสำคัญ (Leyhausen และคณะ, 1998)

Makkawy และคณะ (1998) ศึกษาความเป็นพิษของสารที่สกัดจากกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Fuji Duet<sup>®</sup> ; GC) กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC<sup>®</sup> ; GC) และอมัลกัม ต่อความมีชีวิตของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์ในห้องปฏิบัติการ พบว่าสารที่ได้จากการสกัดวัสดุทั้งสามชนิดมีผลต่อความมีชีวิตของเซลล์อย่างมีนัยสำคัญที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง เท่านั้น เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่าสารสกัดจากอมัลกัมมีผลต่อเซลล์มากกว่ากลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ แต่ผลต่อความมีชีวิตของเซลล์ของสารสกัดจากวัสดุทั้งสามชนิดไม่มีความแตกต่างกันที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง เช่นเดียวกับการศึกษาของ Huang และคณะ (2002) ซึ่งเปรียบเทียบสารสกัดที่ได้จากกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC<sup>®</sup>) คอมโพเมอร์ (Compoglass<sup>®</sup>) และเรซินคอมโพสิต (Spectrum<sup>®</sup>) ต่อเซลล์เหงือก (gingival cells) พบว่าสารสกัดที่ได้จากวัสดุทั้งสามชนิดมีความเป็นพิษต่อเซลล์ โดยสารสกัดจากเรซินคอมโพสิตมีความเป็นพิษต่อเซลล์มากที่สุด รองลงมาคือกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน และคอมโพเมอร์ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Tai และ Chang (2000)

### **เซลล์เอ็นยิดปริทันต์ ไฟโบรเนกติน และเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส**

#### **(Periodontal ligament cells, Fibronectin and Alkaline phosphatase enzyme)**

เซลล์เอ็นยิดปริทันต์ทำหน้าที่เป็นเซลล์หลักของเอ็นยิดปริทันต์ เนื่องจากเซลล์นี้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในเอ็นยิดปริทันต์อย่างมาก คือมีทั้งการสร้าง (formation) การทำลาย (degradation) และการแทนที่ (remodeling) เซลล์เอ็นยิดปริทันต์เป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ มีไซโตพลาสซึม (cytoplasm) จำนวนมากและมีองค์ประกอบที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์และการปลดปล่อยโปรตีน เช่น rough endoplasmic reticulum และ golgi complexes ลักษณะการเรียงตัวของเซลล์ขนานกับเส้นใยที่สร้างขึ้น และถูกล้อมรอบด้วยเส้นใยและสารที่เป็นพื้นฐานระหว่างเซลล์ (ground substance) (McCulloch และ Bordin, 1991) เซลล์เอ็นยิดปริทันต์เป็นเซลล์ที่มีศักยภาพในการซ่อมแซม และดิฟเฟอเรนทิเอท (differentiate) เพื่อสร้างเนื้อเยื่อใหม่ขึ้นทดแทนเนื้อเยื่อเดิมที่ถูกทำลายไป (McCulloch และ Bordin, 1991; Melcher, 1976)

ขั้นตอนของกระบวนการซ่อมแซมที่เกิดขึ้นจะเริ่มจากการเจริญของเซลล์ดั้งเดิมในบริเวณที่เกิดพยาธิสภาพ (regeneration of parenchymal cells) การเคลื่อนที่และการเพิ่มจำนวนเซลล์ทั้ง



เซลล์ดั้งเดิมและเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (migration and proliferation of both parenchymal and connective tissue cells) ตามด้วยการสร้างเมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix) เพื่อซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่เสียหาย และตามด้วยการดิฟเฟอเรนทีเอทของเซลล์ไปเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่เฉพาะ เพื่อปรับเปลี่ยนเนื้อเยื่อบริเวณนั้นให้มีสภาพและการทำงานดั้งเดิม เกิดการหายของแผลอย่างสมบูรณ์ ในที่สุด จะเห็นได้ว่าการเคลื่อนที่ของเซลล์และความสัมพันธ์ของเซลล์กับเมทริกซ์นอกเซลล์ มีบทบาทที่สำคัญต่อการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ เมทริกซ์นอกเซลล์ที่สำคัญชนิดหนึ่งสำหรับการยึดเกาะของเซลล์สร้างเส้นใยคือ ไฟโบรเนกติน (fibronectin)

ไฟโบรเนกติน (fibronectin) เป็นสารโมเลกุลใหญ่ (macromolecule) ประเภทไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ไฟโบรเนกตินมีความสำคัญต่อการยึดเกาะของเซลล์กับเมทริกซ์นอกเซลล์ เนื่องจากมีส่วนที่สามารถจับกับเมทริกซ์และเซลล์อื่น ๆ ได้ ลักษณะโครงสร้างของไฟโบรเนกตินประกอบด้วยโครงสร้างเป็นสาย 2 สาย (2 subunits) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bonds) ซึ่งแต่ละสายของไฟโบรเนกตินจะมีหน้าที่เฉพาะอย่าง เช่น ส่วนที่ใช้จับกับคอลลาเจน (collagen binding protein) ส่วนที่ใช้จับกับเซลล์ (cell binding protein) ไฟโบรเนกตินมีบทบาทในการทำหน้าที่เป็นสื่อกลางในการติดต่อระหว่างเซลล์และเมทริกซ์นอกเซลล์อื่น ๆ ที่อยู่ล้อมรอบเซลล์ ไฟโบรเนกตินมีความสำคัญต่อการยึดเกาะของเซลล์ (cell adhesion) และการเคลื่อนที่ของเซลล์ (cell migration) (Caffesse และ Quinones, 1993; Ruoslahti, 1981) มีการศึกษาพบว่าไฟโบรเนกตินสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเจริญ (proliferation) ของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเพาะเลี้ยงร่วมกัน และสามารถกระตุ้นให้มีการเคลื่อนที่ของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์เข้าหาไฟโบรเนกติน (chemotaxis) โดยมีลักษณะขึ้นกับความเข้มข้นของไฟโบรเนกติน (dose-dependent) (Kapila และคณะ, 1998)

มีการศึกษาที่รายงานว่าเมื่อหว่านเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ลงในหลุมที่มีไฟโบรเนกติน เซลล์จะสามารถยึดเกาะได้ดีกว่าการหว่านเซลล์ลงในหลุมที่ไม่มีไฟโบรเนกตินอย่างมีนัยสำคัญ (Giannopoulou และ Cimasoni, 1996; Somerman และคณะ, 1989) แสดงให้เห็นถึงบทบาทของไฟโบรเนกตินในการส่งเสริมการยึดเกาะของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ ซึ่งการตอบสนองของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ที่ได้จากเนื้อปริทันต์ปกติและเนื้อเยื่อปริทันต์ที่อักเสบต่อไฟโบรเนกตินนั้นไม่มีความแตกต่างกัน (Kapila และคณะ, 1998)

การตอบสนองของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ต่อไฟโบรเนกตินเป็นการตอบสนองที่เกี่ยวข้องกับการเกิดการเจริญของเซลล์และการหายของเนื้อเยื่อเอ็นยิดปริทันต์ (regeneration and wound healing) พบว่าภายหลังการรักษาโรคปริทันต์ในช่วงแรกจะมีการเพิ่มขึ้นของระดับไฟโบรเนกตินที่ตรวจพบได้อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งมีความสัมพันธ์กับปริมาณเซลล์ที่เพิ่มมากขึ้น (Talonpoika และคณะ, 1993) การศึกษาลักษณะการหายของเนื้อเยื่อปริทันต์ภายหลังการทำให้เกิดรอยโรคบริเวณง่ามรากฟันในสุนัข โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเมทริกซ์นอกเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีอิมมูโน

(immunohistochemical technique) พบว่าเมทริกซ์นอกเซลล์ที่สามารถพบมากในระยะแรกของการหายคือไฟโบรเนกติน และสามารถพบไฟโบรเนกตินในปริมาณมากในบริเวณที่มีการยึดเกาะของเส้นใยคอลลาเจนกับซีเมนตัม (Matsuura และคณะ, 1995) จากผลการศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นถึงบทบาทของไฟโบรเนกตินต่อการหายของเนื้อเยื่อปริทันต์

เกณฑ์ที่ใช้ในการประเมินคุณสมบัติในการสร้างเนื้อเยื่อแข็งของเซลล์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ (Arceo และคณะ, 1991)

1. สามารถผลิตสารที่เกี่ยวข้องกับการสร้างกระดูก (bone associated products) เช่น
  - สารที่อยู่ในเมทริกซ์ของกระดูก (bone matrix constituents)
  - เอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase)
2. แสดงคุณลักษณะที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างกระดูก เช่น
  - การตอบสนองต่อฮอร์โมนพาราไธรอยด์ โดยมีการสร้างสารเอเอ็มพี (AMP) เพิ่มขึ้น
  - การตอบสนองต่อวิตามินดี (1, 2 dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>) โดยเพิ่มการสังเคราะห์ฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างกระดูก
3. สามารถสร้างกระดูกได้ เช่น เกิดการตกตะกอนของสารอนินทรีย์ได้ (mineralized nodule)

เอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเป็นเอ็นไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการเกิดการตกตะกอนของสารอนินทรีย์ในเนื้อเยื่อแข็งของร่างกาย (mineralization) ทำหน้าที่ตัดหมู่ฟอสเฟตออกจากหมู่ฟอสเฟตเอสเทอร์ (phosphate ester) ทำให้เกิดการตกตะกอนของฟอสเฟตไอออนจนเกิดการอิ่มตัว (supersaturated) ในส่วนที่เป็นของเหลวในเนื้อเยื่อ (tissue fluid) นำไปสู่การตกตะกอนของเกลือแคลเซียมในกระบวนการเกิดการสะสมสารอนินทรีย์ในเนื้อเยื่อแข็ง พบว่าเซลล์เอ็นไซม์ปริทันต์ของมนุษย์สามารถหลั่งเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสได้ (Arceo และคณะ, 1991; McCulloch, 1995) และสามารถทำให้เกิดการตกตะกอนของสารอนินทรีย์ได้ (Kapila และคณะ, 1998) ในขณะที่เซลล์เหงือก (gingival cells) สามารถหลั่งเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสได้เช่นเดียวกัน แต่พบในระดับที่ต่ำกว่าเซลล์เอ็นไซม์ปริทันต์และไม่สามารถเกิดการตกตะกอนของสารอนินทรีย์ได้ (Arceo และคณะ, 1991) เนื่องจากความสามารถในการหลั่งอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเป็นคุณสมบัติอย่างหนึ่งของเซลล์ที่สามารถสร้างเนื้อเยื่อแข็ง ซึ่งแสดงถึงบทบาทของเซลล์ยึดปริทันต์ต่อการหายของกระดูก (Arceo และคณะ, 1991; McCulloch และ Bordin, 1991; McCulloch, 1995)

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

##### 1. ประชากรเป้าหมาย

เซลล์เอ็นซีคปริทันต์ของมนุษย์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง

##### 2. กลุ่มตัวอย่าง

เซลล์เอ็นซีคปริทันต์ของมนุษย์ที่เพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อปริทันต์ของฟันที่ได้รับการผ่าฟันคุด จากภาควิชาศัลยศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยต้องเป็นฟันที่ไม่มีโรคฟันผุ และไม่มีโรคปริทันต์

##### 3. ตัวแปรที่ใช้ในการวิจัย

- ตัวแปรอิสระ (independent variable) คือ วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม และ วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน
- ตัวแปรตาม (dependent variable) คืออัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ ลักษณะการยึดเกาะของ เซลล์บนผิววัสดุ ปริมาณไฟโบรเนกตินและค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ ฟอสฟาเตส

#### วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil Plus Aplicap, 3M ESPE, USA)
2. วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC capsule, GC corporation, Japan)
3. เครื่องปั่นอมัลกัม (amalgamator)
4. เครื่องฉายแสง (curing light XL 3000, 3M, USA)
5. เครื่องตรวจสอบความเข้มแสงเครื่องฉายแสง (Optilux radiometer model 100, Kerr, USA)
6. มีดผ่าตัด (scalpel blade)
7. ไบมีดผ่าตัดเบอร์ 15
8. จานเลี้ยงเซลล์ขนาด 35 มิลลิเมตร (35 mm. tissue culture dish, NUNC, Denmark)
9. จานเลี้ยงเซลล์ขนาด 60 มิลลิเมตร (35 mm. tissue culture dish, NUNC, Denmark)
10. หลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์แบบ 48 หลุม (48-wells flat-bottomed plated , NUNC , Denmark)

11. ตู้บเลี้ยงเซลล์
12. ตู้ปลอดเชื้อสำหรับการเตรียมเซลล์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (laminar flow hood)
13. หลอดพลาสติกเจอร์รี่เปิด (Pasteur pipette)
14. ปิเปตขนาด 10, 100, 200, 1000 และ 5000 มิลลิลิตร
15. เครื่องมือนับจำนวนเซลล์ (hemocytometer)
16. กล้องจุลทรรศน์ชนิดเฟสคอนทราสต์ (phase contrast light microscope)
17. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)
18. คิวเวต (cuvette)
19. อาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มอีเอ็ม (Dulbecco's Modified Eagle Medium ; DMEM, Gibco BRL, USA)
20. สารละลายดีเอ็มอีเอ็มชนิดที่ไม่มีฟีนอลเรด (DMEM without phenol red)
21. เอ็นไซม์ทริปซินอีดีทีเอ (0.25% trypsin-EDTA)
22. สารละลายเอ็มทีที (MTT, Sigma, USA)
23. สารละลายไดเมทิลซัลไฟด์ (dimethyl sulfoxide ; DMSO)
24. สารละลายไกลซีนบัฟเฟอร์ (glycine buffer)
25. ซีรัม (fetal bovine serum ; FBS, Gibco BRL, USA)
26. เพนนิซิลิน จี (penicillin G, Gibco BRL, USA)
27. สเตรปโตมัยซิน (streptomycin, Gibco BRL, USA)
28. แอมโฟเทอริซิน บี (amphotericin B, Gibco BRL, USA)
29. แอล-กลูตามีน (L-glutamine, Gibco BRL, USA)
30. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซลาเยน (phosphate buffer saline, PBS)
31. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (0.2M phosphate buffer (pH 7.3))
32. แผ่นกระจก (coverslip)
33. สารละลายกลูตาโรลดีไฮด์ความเข้มข้นร้อยละ 3 ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (3% glutaraldehyde in 0.2M phosphate buffer)
34. สารละลายไรบ์ไอบัฟเฟอร์ (radio-immunoprecipitation assay buffer ;RIPA)
35. สารยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์สลายโปรตีน (Proteinase inhibitor Cocktail , Sigma, USA)
36. ชุดวัดระดับการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase activity kit, Biorad, USA)
37. ชุดวัดโปรตีนบีซีเอ (BCA protein assay reagent , Pierce<sup>®</sup>, Perbio, USA)
38. สารละลายอัลคาไลน์ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (alkaline phosphate buffer)

39. สารละลายพาราไนโตรฟีนิลฟอสเฟต (p-nitrophenylphosphate)
40. 2 - อะมิโน- เมทิล - 1 - โพรพานอล ความเข้มข้น 1 โมลาร์ (2 - amino - 2 - methyl - propanol 1M)
41. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์

## วิธีดำเนินการวิจัย

### การคำนวณขนาดตัวอย่าง

เซลล์ที่นำมาใช้ในการทดลองได้จากเนื้อเยื่อเอ็นดอปรีทันต์ของฟันมนุษย์ 3 คน ในแต่ละการทดลองจะมีการทำซ้ำกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม กลุ่มละ 3 หลุม (triplicate) โดยแต่ละหลุมใช้เซลล์ที่ความหนาแน่น 40,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตรต่อหลุม และหลังจากเสร็จสิ้นการทดลองในแต่ละครั้ง จะทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง รวมทั้งหมด 3 ครั้ง ยกเว้นการศึกษาไฟโบรเนกตินซึ่งกระทำในเซลล์เอ็นดอปรีทันต์ของมนุษย์ 1 คน

### การดำเนินการทดลอง

#### กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

มีกลุ่มทดลองทั้งหมด 3 กลุ่ม ประกอบด้วย

กลุ่มที่ 1 คือ กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil Plus Aplicap, 3M ESPE, USA)

กลุ่มที่ 2 คือ กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC capsule, GC corporation, Japan)

กลุ่มควบคุม คือ การเลี้ยงเซลล์บนหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์หรือแผ่นกระจก

#### 1. การเตรียมเซลล์เอ็นดอปรีทันต์ (human periodontal ligament cells)

เตรียมเซลล์เอ็นดอปรีทันต์จากฟันกรามแท้ล่างซี่ที่สามที่ได้รับการผ่าฟันคุด จากภาควิชา ศัลยศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เก็บฟันในภาชนะปลอดเชื้อที่มีฝาเกลียวปิดสนิทหลังจากถอนฟันทันที ภายในบรรจุอาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มอีเอ็ม ที่ประกอบด้วย ซีรัมร็อยละ 10 (fetal bovine serum 10%) , เพนนิซิลินจี (penicillin G) 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สเตรปโตมัยซิน (streptomycin) 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แอมโฟเทอริซิน บี (amphotericin B) 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แอล-กลูตามีน (L-glutamine) 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำฟันตัวอย่างที่เก็บไว้ล้างด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซลาเยน (phosphate buffer saline, PBS) ที่ปราศจากเชื้อ 3-4 ครั้ง ใช้มีดผ่าตัดขูดเนื้อเยื่อเอ็นดอปรีทันต์บริเวณส่วนกลางของรากฟัน (middle third) นำเนื้อเยื่อที่ได้มา

หั่นเป็นชิ้นขนาดประมาณ 1x1 ตารางมิลลิเมตร นำไปวางบนจานเลี้ยงเซลล์ขนาด 35 มิลลิเมตร แต่ละชิ้นวางห่างกันประมาณ 4- 5 มิลลิเมตร เติมหอาหารเลี้ยงเซลล์ให้พอท่วมชิ้นเนื้อ นำจานเลี้ยงเซลล์ไปเพาะเลี้ยงในตู้บัพที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 ทำการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์วันเว้นวันจนเซลล์เจริญออกมาจากชิ้นเนื้อและเมื่อเซลล์เจริญจนเต็มจานเลี้ยงเซลล์ ทำการถ่าย (subculture) ไปยังจานเลี้ยงเซลล์ใหม่ที่มีขนาด 60 มิลลิเมตร การนำเซลล์ออกจากจานเพาะเลี้ยงทำโดยการใช้เอ็นไซม์ทริปซิน-อีดีทีเอ (0.25% trypsin-EDTA) นับเซลล์ที่หว่านใหม่นี้เป็นเซลล์รุ่นที่ 1 เมื่อเซลล์มีจำนวนมากขึ้นและมีการเจริญหนาแน่นในจานเพาะเลี้ยง จะทำการหว่านเซลล์ใหม่ทุก 5-7 วันในอัตราส่วน 1:3 จนกระทั่งได้เซลล์มากพอ เซลล์ที่นำมาศึกษา จะเป็นเซลล์รุ่นที่ 3-5

## 2. การเตรียมวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินสำหรับศึกษา

### 2.1 การเตรียมวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil Plus Aplicap, 3M ESPE, USA)

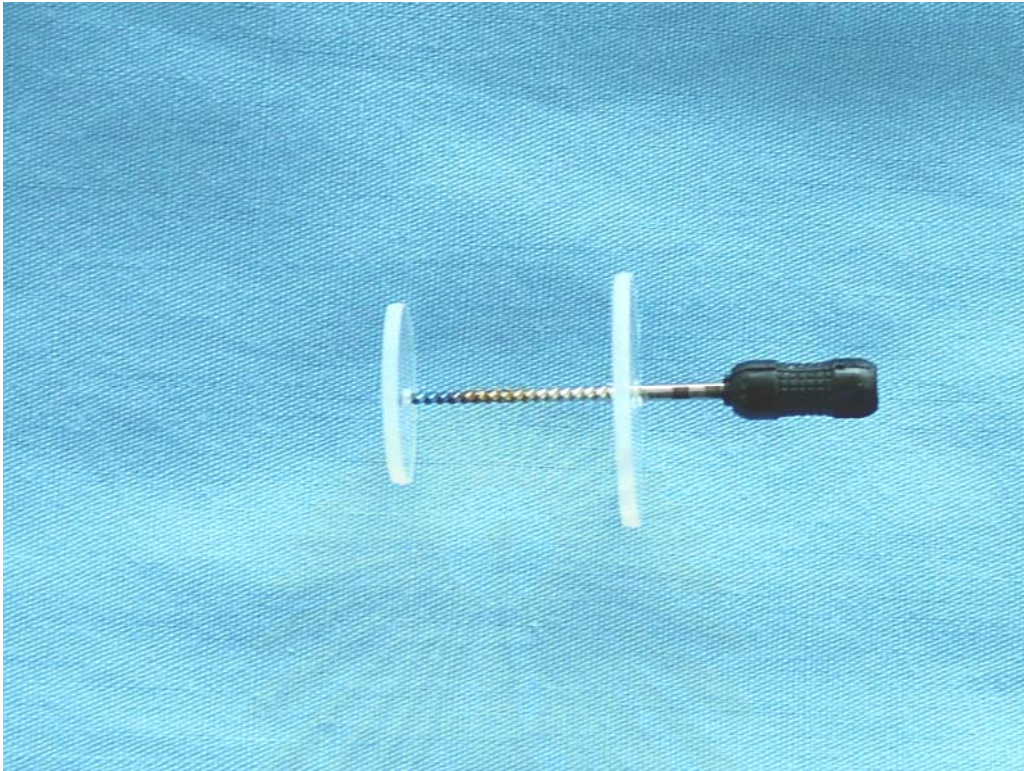
ผสมวัสดุตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต โดยนำวัสดุที่บรรจุในแคปซูลสำเร็จรูปไปปั่นด้วยเครื่องปั่นอัมกัมเป็นระยะเวลา 10 วินาที นำวัสดุที่ผสมได้ฉีดใส่ในหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์ขนาด 48 หลุมใช้เครื่องมือที่มีผิวเรียบซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 11 มิลลิเมตร สูง 15 มิลลิเมตร กดวัสดุเพื่อให้มีการกระจายของวัสดุบนก้นหลุมอย่างทั่วถึง และมีความหนาสม่ำเสมอประมาณ 1 มิลลิเมตร ปล่อยให้วัสดุมีการแข็งตัวนาน 10 นาที ใส่อาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มอีเอ็มที่มีซีรัมร้อยละ 10 ลงไปในวัสดุแต่ละหลุม ๆ ละ 1 มิลลิตร นำไปเก็บในตู้บัพที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5



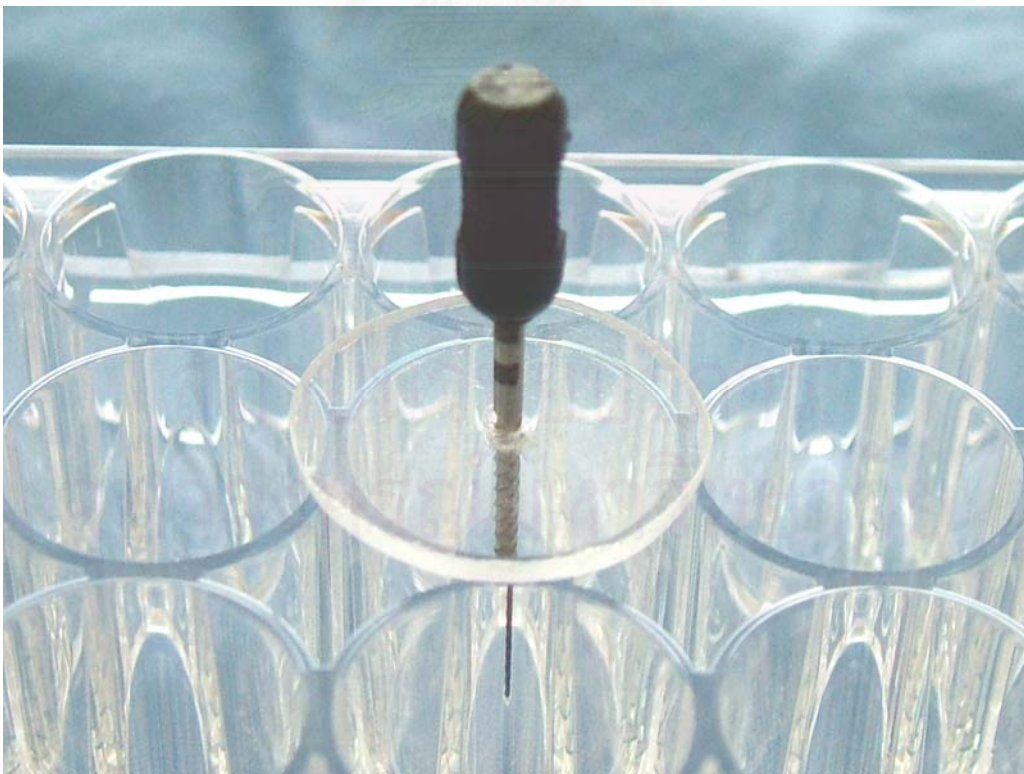
ภาพที่ 1 แสดงวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดตั้งเดิม (Ketac - Fil Plus Aplicap, 3M ESPE, USA)



ภาพที่ 2 แสดงวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC capsule, GC corporation, Japan)

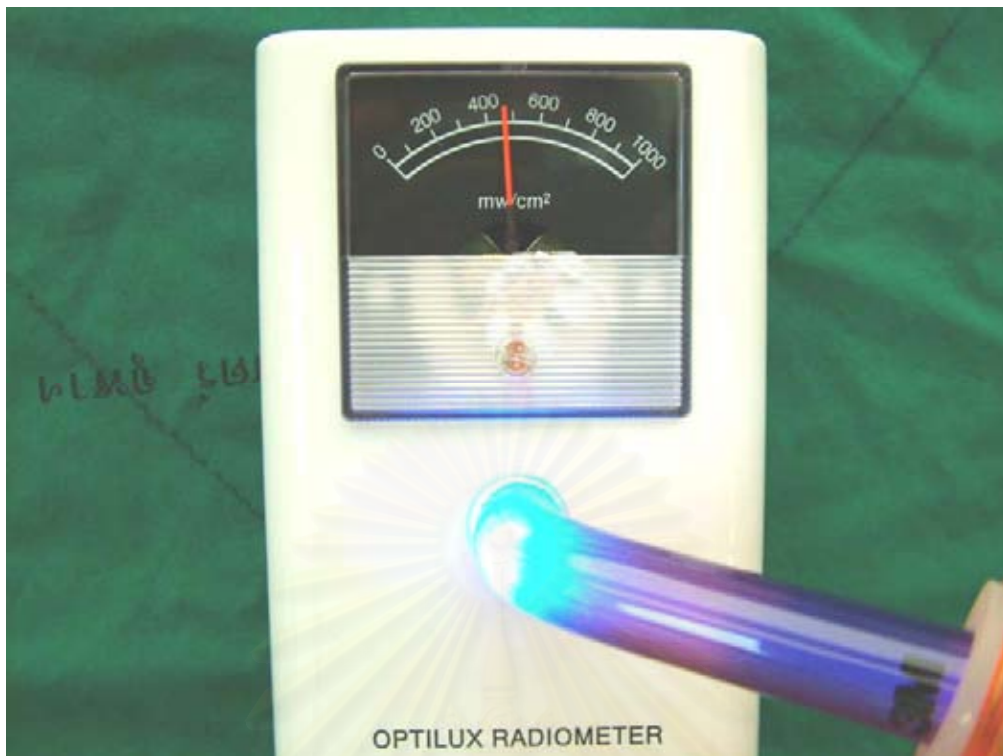


ภาพที่ 3 แสดงเครื่องมือสำหรับกดวัสดุพลาสติกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ทั้งสองชนิด

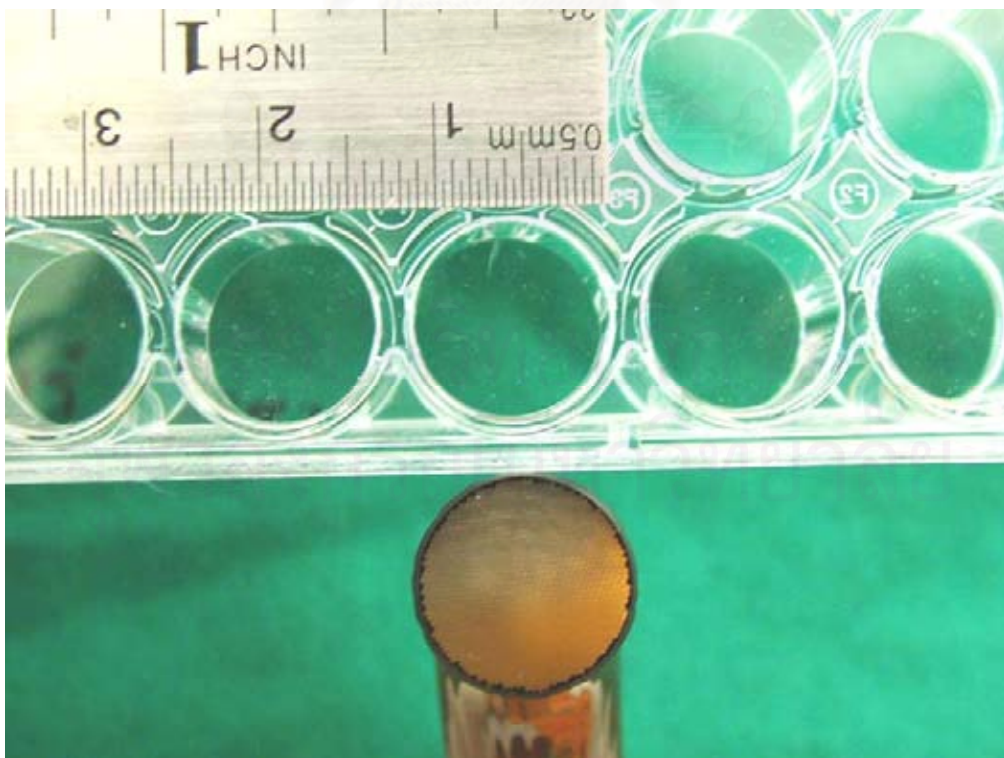


ภาพที่ 4 แสดงการใช้เครื่องมือกดวัสดุพลาสติกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ในหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์

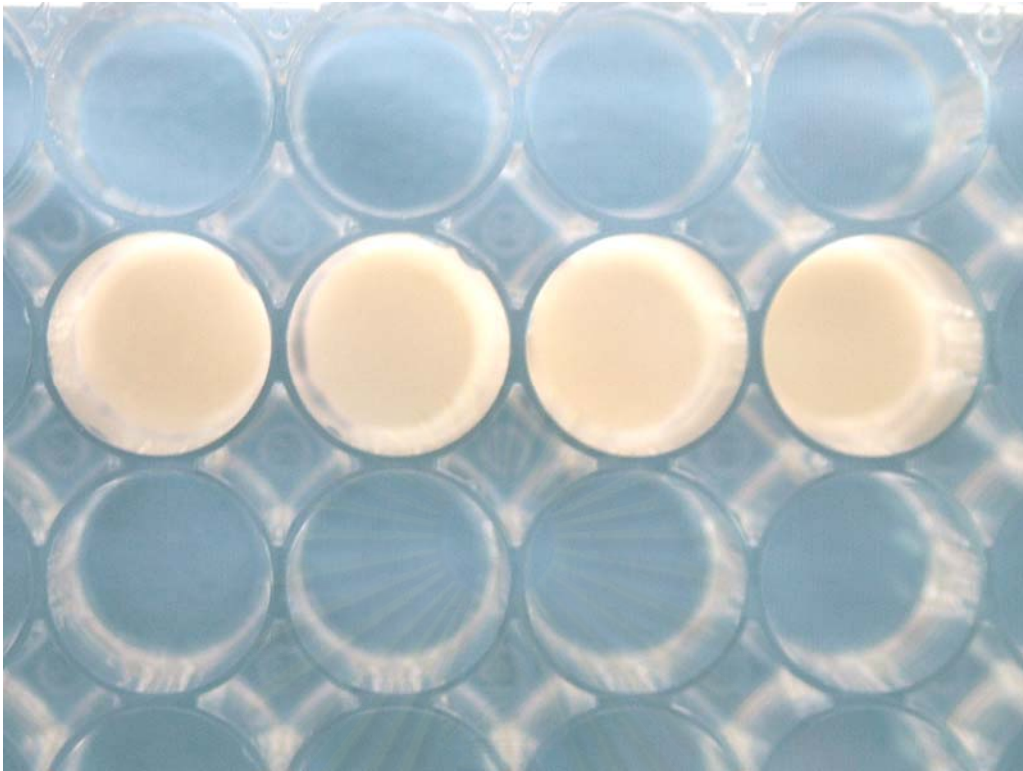




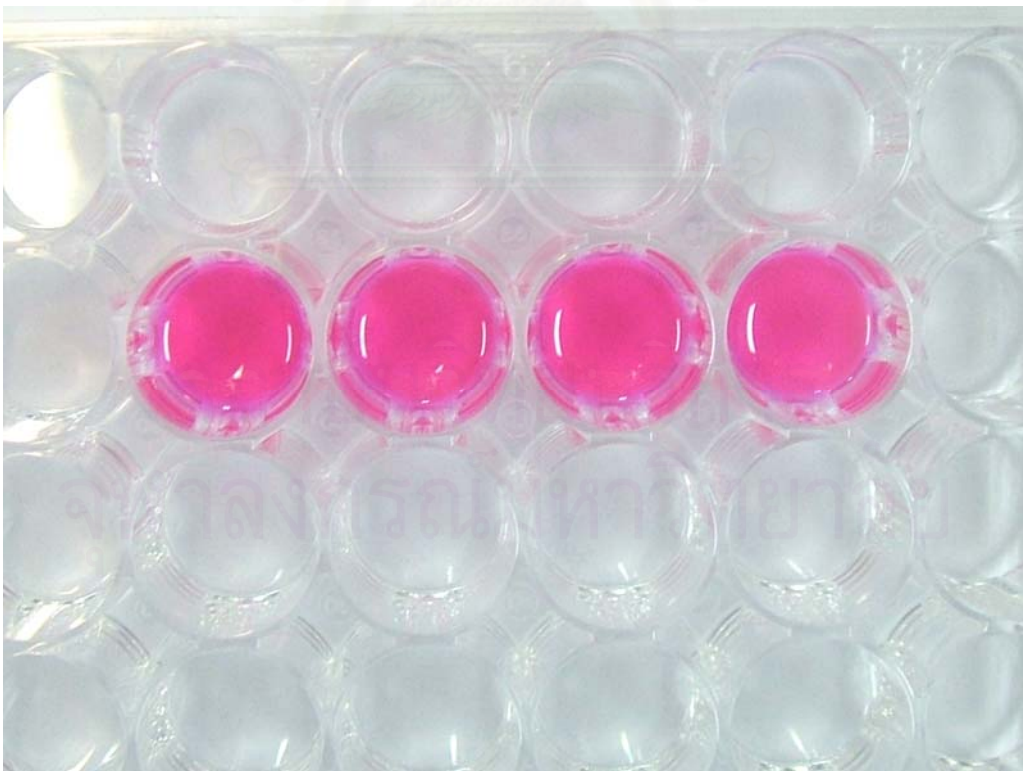
ภาพที่ 5 แสดงการใช้เครื่องตรวจสอบความเข้มแสงของเครื่องฉายแสง (Optilux radiometer model 100, Kerr, USA)



ภาพที่ 6 เปรียบเทียบขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหลุมเลี้ยงเซลล์กับปลายเครื่องฉายแสง



ภาพที่ 7 แสดงวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่เตรียมในหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์



ภาพที่ 8 แสดงวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่ถูกแช่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 10

2.2 การเตรียมวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดคัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC capsule, GC corporation, Japan)

ทำการเตรียมเครื่องฉายแสง (curing light XL 3000, 3M, USA) โดยการวัดระดับความเข้มของเครื่องฉายแสงด้วยเครื่องตรวจสอบความเข้มแสงเครื่องฉายแสง (Optilux radiometer model 100, Kerr, USA) โดยเครื่องฉายแสงที่ใช้ในการศึกษานี้จะต้องมีระดับความเข้มของแสงมากกว่า 400 ตลอดการศึกษา ผสมวัสดุตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต โดยนำวัสดุที่บรรจุในแคปซูลสำเร็จรูปไปปั่นด้วยเครื่องปั่นอมัลกัม (amalgamator) เป็นระยะเวลา 10 วินาที นำวัสดุที่ผสมได้ลึกลงไปในหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์ ขนาด 48 หลุม ใช้เครื่องมือที่มีผิวเรียบซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 11 มิลลิเมตร สูง 15 มิลลิเมตร กดวัสดุเพื่อให้มีการกระจายของวัสดุบนก้นหลุมอย่างทั่วถึงและมีความหนาสม่ำเสมอประมาณ 1 มิลลิเมตร ฉายแสงด้วยเครื่องฉายแสง 20 วินาที ที่บริเวณก้นหลุม และทำการฉายแสงซ้ำอีกครั้งที่ด้านตรงข้ามด้วยเวลาที่เท่ากัน เพื่อให้วัสดุแข็งตัวอย่างสมบูรณ์ ใส่อาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 10 ลงไปในวัสดุแต่ละหลุม ๆ ละ 1 มิลลิตร นำไปเก็บในตู้บัพที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5

3. การวัดความเป็นพิษต่อเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์ของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดคัดแปลงด้วยเรซินเมื่อมีการสัมผัสกันโดยตรง ด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay)

3.1 การวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay) ภายหลังเพาะเลี้ยงเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์บนวัสดุทั้ง 2 ชนิดภายหลังผสมเสร็จ

การศึกษานี้ใช้จำนวนตัวอย่างในแต่ละกลุ่มเท่ากับ 3 หลุม กลุ่มควบคุม คือ การเลี้ยงเซลล์บนหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์ ภายหลังจากเตรียมวัสดุทั้ง 2 ชนิดในหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์ ดังวิธีที่กล่าวมาแล้ว ทำการหว่านเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 10 ด้วยความหนาแน่น 40,000 เซลล์/หลุม/มิลลิตร นำไปเก็บในตู้บัพที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

เมื่อครบกำหนดเวลาทำการวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay) โดยดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออก ล้างด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซลล์ย่น 1 มิลลิตร 1 ครั้ง และดูดทิ้ง เดิมสารละลายผสมที่ได้จากสารเอ็มทีที (MTT, Sigma, USA) ละลายในดีเอ็มอีเอ็มชนิดไม่มีฟีนอลเรด (DMEM without phenol red) ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิตรปริมาณ 400 ไมโครลิตร ทิ้งไว้นาน 30 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาดูดสารละลายเอ็มทีทีทิ้ง ละลายผลึกฟอร์มazan ด้วยสารละลายผสมระหว่างไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide; DMSO) และสารละลายไกลซีนบัฟเฟอร์ (glycine buffer) อัตราส่วน 900 :125 ไมโครลิตร ปริมาณ 1 มิลลิตร เขย่าให้สี

ของสารละลายเข้ากัน จุดสารละลายที่ได้ลงในควเวตนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นแสง 570 นาโนเมตร

### 3.2 การวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay) ภายหลังจากเลี้ยงเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์บนวัสดุทั้ง 2 ชนิด ที่ได้รับการแช่เป็นระยะเวลา 1, 3, 5 และ 7 วัน

การศึกษานี้ใช้จำนวนตัวอย่างในแต่ละกลุ่มเท่ากับ 3 หลุม กลุ่มควบคุม คือ การเลี้ยงเซลล์บนหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์ ภายหลังจากเตรียมวัสดุทั้ง 2 ชนิดตามวิธีการในข้อ 2 ทำการแช่วัสดุในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 10 เป็นระยะเวลา 1, 3, 5 และ 7 วันตามลำดับ โดยทำการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ใช้แช่วัสดุทุกวันเว้นวัน เมื่อครบกำหนดเวลาทำการหว่านเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 10 ด้วยความหนาแน่น 40,000 เซลล์/หลุม/มิลลิลิตร นำไปเก็บในตู้อบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาทำการวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธีเอ็มทีทีตามวิธีการที่กล่าวมาแล้วในข้อ 3.1

### 3.3 การวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay) ภายหลังจากเลี้ยงเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์บนวัสดุทั้ง 2 ชนิด ที่ได้รับการแช่เป็นระยะเวลา 7, 10 และ 12 วัน

การศึกษานี้ใช้จำนวนตัวอย่างในแต่ละกลุ่มเท่ากับ 3 หลุม กลุ่มควบคุม คือ การเลี้ยงเซลล์บนหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์ ภายหลังจากเตรียมวัสดุทั้ง 2 ชนิดตามวิธีการในข้อ 2 ทำการแช่วัสดุในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 10 เป็นระยะเวลา 7, 10 และ 12 วัน โดยทำการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ใช้แช่วัสดุทุกวันเว้นวัน เมื่อครบกำหนดเวลาทำการหว่านเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 10 ด้วยความหนาแน่น 40,000 เซลล์/หลุม/มิลลิลิตร นำไปเก็บในตู้อบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาทำการวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธีเอ็มทีทีตามวิธีการที่กล่าวมาแล้วในข้อ 3.1

จากผลการศึกษาในข้อ 3.1 – 3.3 ทำการเลือกช่วงระยะเวลาที่ความเป็นพิษต่อเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน มีค่าลดลงและเริ่มมีค่าคงที่มาทำการศึกษาการตอบสนองของเซลล์ที่ 1, 3 และ 5 วัน

#### 4. การศึกษาผลของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินต่ออัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์ ด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay)

ในการศึกษานี้ใช้จำนวนตัวอย่างในแต่ละกลุ่มเท่ากับ 3 หลุมต่อเซลล์ที่ได้จากผู้ป่วย 1 ราย มีกลุ่มควบคุม คือการเลี้ยงเซลล์บนหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์ ขั้นตอนการศึกษาคือ ภายหลังจากเตรียมวัสดุทั้ง 2 ชนิดและแช่ในอาหารเลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 7 วัน (จากการศึกษาในข้อ 3) วัสดุอาหารเลี้ยงเซลล์ออก ล้างด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซลล์ยอน์ 1 มิลลิลิตร 1 ครั้ง และดูดออก ทำการหว่านเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 10 ด้วยความหนาแน่น 40,000 เซลล์/หลุม/มิลลิลิตร นำไปเก็บในตู้บัพที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 1, 3 และ 5 วัน (หมายเหตุ ในกลุ่มที่ทำการเลี้ยงเซลล์ร่วมกับวัสดุเป็นระยะเวลา 5 วัน จะทำการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ในวันที่ 3) เมื่อครบกำหนดแต่ละช่วงเวลาทำการวัดจำนวนเซลล์ด้วยการใช้สารวิธีเอ็มทีที (MTT assay) ตามวิธีในข้อ 3.1

นำผลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้นจากการวัดความสามารถในการเปลี่ยนเอ็มทีทีเป็นผลิตภัณฑ์ฟอร์มาเซนที่ทราบจำนวนเซลล์ เพื่อคำนวณหาจำนวนเซลล์จากการทดลองและอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ จากนั้นนำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบโดยใช้สถิติ

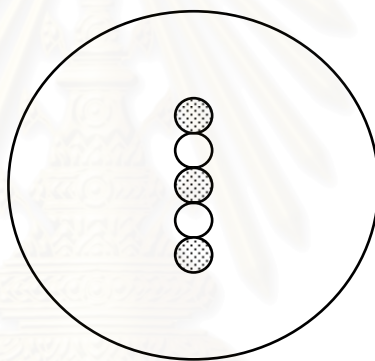
#### 5. การศึกษาลักษณะการยึดเกาะของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์บนผิววัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope)


ในการศึกษานี้ใช้จำนวนตัวอย่างในแต่ละกลุ่มเท่ากับ 1 หลุมต่อเซลล์ที่ได้จากผู้ป่วย 1 ราย มีกลุ่มควบคุม คือการเลี้ยงเซลล์บนแผ่นกระจก ขั้นตอนการศึกษาทำโดย ภายหลังจากเตรียมวัสดุทั้ง 2 ชนิด และแช่วัสดุในอาหารเลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 7 วัน (จากการศึกษาในข้อ 3) เมื่อครบกำหนด วัสดุอาหารเลี้ยงเซลล์ออก ล้างด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซลล์ยอน์ 1 มิลลิลิตร 1 ครั้ง และดูดออก ทำการหว่านเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 10 ด้วยความหนาแน่น 40,000 เซลล์/หลุม/มิลลิลิตร นำไปเก็บในตู้บัพที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 1, 3 และ 5 วัน (หมายเหตุ ในกลุ่มที่ทำการเลี้ยงเซลล์ร่วมกับวัสดุเป็นระยะเวลา 5 วัน จะทำการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ในวันที่ 3)

เมื่อครบกำหนดเวลาทำการเตรียมตัวอย่างสำหรับการศึกษาดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope) โดยล้างผิววัสดุด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ (0.2M phosphate buffer) 2 ครั้ง ๆ ละ 1 มิลลิลิตรและดูดทิ้ง หยอดสารละลายกลูตาโรลดีไฮด์ความเข้มข้นร้อยละ 3 ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (3% glutaraldehyde in 0.2M phosphate buffer) ปริมาณ 500 ไมโครลิตร ทิ้งไว้เวลานาน 30 นาที จากนั้นดูดทิ้งและล้างด้วยสารละลาย

ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ 1 ครั้ง ๆ ละ 1 มิลลิลิตร นำแผ่นวัสดุ  
 กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ออกจากหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์โดยใช้หัวกรอททรงกลมขนาด  
 เส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร กรอที่บริเวณก้นหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์ จากนั้นใช้เครื่องมือปลายท่อ  
 ดันวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่ก้นหลุมเบา ๆ ให้วัสดุหลุดออกมาล้างแผ่นวัสดุด้วยฟอสเฟต  
 บัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ 1 ครั้ง ๆ ละ 1 มิลลิลิตร นำแผ่นวัสดุไปเตรียมสำหรับศึกษาด้วย  
 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โดยเคลือบด้วยทองคำปาเลเดียม(gold palladium) หนา 15  
 นาโนเมตร

การศึกษาลักษณะของเซลล์ที่ยึดเกาะบนผิววัสดุ 3 ตำแหน่ง ได้แก่ บริเวณกึ่งกลางวัสดุ และที่  
 ตำแหน่งเหนือและใต้ต่อจุดกึ่งกลางวัสดุ 2 ภาพที่กำลังขยาย x100 โดยการศึกษาลักษณะของเซลล์  
 ทำการศึกษาที่กำลังขยาย x100 และ x350 ศึกษาลักษณะของเซลล์ที่ยึดเกาะบนวัสดุ  
 กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ทั้ง 2 ชนิด เปรียบเทียบกับลักษณะของเซลล์ที่ยึดเกาะบนแผ่นกระจก



ภาพที่ 9 แสดงตำแหน่งบนผิววัสดุที่ทำการศึกษาลักษณะการยึดเกาะของเซลล์ด้วยกล้อง  
 จุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (ตำแหน่งที่ทำการศึกษาแทนด้วยสัญลักษณ์  )

**6. การศึกษาและเปรียบเทียบปริมาณไฟโบรเนกตินที่เซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์สร้างขึ้น  
 เพื่อใช้ในการยึดเกาะจากการเพาะเลี้ยงเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์บนผิววัสดุ  
 กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลง  
 ด้วยเรซิน ด้วยวิธีเวสเทอ์นบลอต (Western blot)**

ในการศึกษานี้ใช้จำนวนตัวอย่างในแต่ละกลุ่มเท่ากับ 1 หลุมต่อเซลล์ที่ได้จากผู้ป่วย 1 ราย มี  
 กลุ่มควบคุม คือการเลี้ยงเซลล์บนหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์ การศึกษาปริมาณไฟโบรเนกตินที่เซลล์  
 สร้างขึ้นทำการศึกษาโดยภายหลังจากเตรียมวัสดุทั้ง 2 ชนิด และเข้าวัสดุในอาหารเลี้ยงเซลล์เป็น  
 ระยะเวลา 7 วัน (จากการศึกษาในข้อ 3) เมื่อครบกำหนดดูอาหารเลี้ยงเซลล์ออก ล้างด้วยฟอสเฟต  
 บัฟเฟอร์เซลล์ายน์ 1 มิลลิลิตร 1 ครั้ง และดูออก ทำการหว่านเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ในอาหารเลี้ยง  
 เซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 10 ด้วยความหนาแน่น 40,000 เซลล์/หลุม/มิลลิลิตร นำไปเก็บในตู้เย็นที่

อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 1, 3 และ 5 วัน (หมายเหตุ ในกลุ่มที่ทำการเลี้ยงเซลล์ร่วมกับวัสดุเป็นระยะเวลา 5 วัน จะทำการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ในวันที่ 3)

เมื่อครบกำหนดแต่ละช่วงเวลาทำการดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก็บไว้ในหลอดศึกษาขนาด 1.5 มิลลิลิตร และนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอใช้ในการศึกษาต่อไป ล้างผิววัสดุด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 1 มิลลิลิตร 1 ครั้ง และดูดทิ้ง ทำการสกัดโปรตีนจากเซลล์ที่ยึดเกาะบนผิววัสดุ โดยหยดสารละลายไรบ์บัฟเฟอร์ (radio-immunoprecipitation assay buffer ; RIPA buffer) 100 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม ขูดผิววัสดุให้ทั่ว ดูดสารละลายที่ได้ใส่ในหลอดศึกษาขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติมสารยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์สลายโปรตีน (Proteinase inhibitor Cocktail , Sigma, USA) 1 ไมโครลิตร นำสารละลายที่ได้ไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส รอการศึกษาต่อไป

เมื่อทำการศึกษา นำตัวอย่างที่ได้มาทำให้ละลายที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แบ่งสารละลายที่สกัดจากเซลล์ 5 ไมโครลิตร นำไปวัดปริมาณโปรตีนด้วยชุดวัดโปรตีนบีซีเอ (BCA protein assay) นำส่วนผสมที่ได้เข้าตู้อบที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที สังเกตการเปลี่ยนสีของสารเทียบกับตัวควบคุม (BCA reagent) จากสีเขียวเป็นสีฟ้า นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณตัวอย่างที่ต้องใช้ โดยอาศัยสูตร

$$OD_1 V_1 = OD_2 V_2$$

แทนค่า  $OD_1$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่น้อยที่สุด

$V_1$  คือ ปริมาณตัวอย่างที่ใช้ของสารที่มีค่าดูดกลืนแสงที่น้อยที่สุด (20 ไมโครลิตร)

$OD_2$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ 2

$V_2$  คือ ปริมาณตัวอย่างที่ใช้ของตัวอย่าง 2

เมื่อทราบปริมาณตัวอย่างที่จะใช้ในการศึกษา (ใช้ปริมาณของอาหารเลี้ยงเซลล์เท่ากับปริมาณสารสกัดที่ได้จากเซลล์) คำนวณหาปริมาณบัฟเฟอร์ที่ต้องใช้ (sample buffer (3x)) ในแต่ละตัวอย่าง โดยนำจำนวนตัวอย่างที่ต้องการศึกษาคคูณด้วย 10 จะได้ปริมาณบัฟเฟอร์ที่ต้องใช้ทั้งหมด (ไมโครลิตร) และคำนวณหาปริมาณของสารดีทีที (DTT (24x)) ที่ต้องใช้โดยนำปริมาณของตัวอย่างทั้งหมดบวกกับปริมาณบัฟเฟอร์ทั้งหมด หาคด้วย 24 จะได้ปริมาณของสารดีทีทีที่ต้องใช้ทั้งหมด (ไมโครลิตร) ผสมบัฟเฟอร์กับสารดีทีทีที่ตามปริมาณที่คำนวณได้ แบ่งใส่หลอดศึกษาหลอดละ 10 ไมโครลิตร ทำการเติมตัวอย่างที่ได้จากสารสกัดตามปริมาณที่คำนวณได้ลงในแต่ละหลอดศึกษา นำหลอดศึกษาไปต้มในน้ำเดือด นาน 10 นาที จากนั้นนำไปแยกโปรตีนด้วยกระแสไฟฟ้าโดยใส่ในแต่ละช่องของเจลโดยใช้แผ่นเจลความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ทำการแยกโปรตีนจากตัวอย่างเปรียบเทียบกับโปรตีนที่แยกจากโปรตีนที่ทราบน้ำหนักโมเลกุล (Protein marker ; Biolabs incorporation) โดยช่วงแรกใช้กระแสไฟฟ้าคงที่ที่ 020 จนผ่าน stacking gel จากนั้นใช้กระแสไฟฟ้าคงที่ที่ 040 เมื่อแยกโปรตีนด้วยกระแสไฟฟ้าเสร็จ นำเจลที่ได้มาทำการย้ายโปรตีนลง

บนแผ่นไนโตรเซลลูโลส (nitrocellulose membrane) โดยใช้กระแสไฟฟ้าที่ความต่างศักย์คงที่ที่ 015 นาน 1 ½ ชั่วโมง นำแผ่นไนโตรเซลลูโลสที่ได้แช่ในสารละลายสกินมิลค์ความเข้มข้นร้อยละ 5 ที่มีทวินร้อยละ 1 (5% skim milk with 0.1 Tween) ข้ามคืน ทำการข้อมแอนติบอดีลำดับแรก (primary antibody) ด้วย fibronectin mouse antibody (Novocastra NCL-FIB) ใน blocking solution 1:1000 นาน 60 นาที จากนั้นล้างด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซลล์ 3 ครั้ง ๆ ละ 10 นาที ข้อมแอนติบอดีลำดับที่สอง (secondary antibody) ด้วย Biotin Goat antimouse IgG (Zymed, USA) ใน blocking solution 1:500 นาน 30 นาที ล้างด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซลล์ 3 ครั้ง ๆ ละ 10 นาที ข้อมด้วย HRP-Streptavidin ใน blocking solution 1:500 นาน 30 นาที ล้างด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซลล์ 3 ครั้ง ๆ ละ 10 นาที ข้อมด้วย Chemiluminescence A 250 ไมโครลิตร B 250 ไมโครลิตร นาน 5 นาที จากนั้นนำแผ่นไนโตรเซลลูโลสไปถ่ายลงฟิล์มเอกซเรย์นาน 45 นาที วิเคราะห์ความเข้มของแถบโปรตีนที่เกิดขึ้นบนฟิล์มเอกซเรย์ โดยถ่ายภาพแถบโปรตีนที่ปรากฏบนแผ่นฟิล์มด้วยกล้องดิจิตอล วิเคราะห์ความเข้มของแถบโปรตีนด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Scion image beta 4.0.2 กำหนดค่าความเข้มของแถบโปรตีนต่อจำนวนเซลล์ เปรียบเทียบกับค่าที่ได้ โดยกำหนดให้ค่าความเข้มของแถบโปรตีนที่ปรากฏบนภาพรังสีในกลุ่มควบคุมเป็น 1

#### 7. การศึกษาและเปรียบเทียบค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่เซลล์เอ็นยัดปริทันต์ของมนุษย์สร้างขึ้น จากการเพาะเลี้ยงเซลล์เอ็นยัดปริทันต์ของมนุษย์บนผิววัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

ในการศึกษานี้ใช้จำนวนตัวอย่างในแต่ละกลุ่มเท่ากับ 3 หลุมต่อเซลล์ที่ได้จากผู้ป่วย 1 ราย มีกลุ่มควบคุม คือการเลี้ยงเซลล์บนหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์ การศึกษาผลของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ทั้งสองชนิดต่อการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสภายหลังจากเตรียมวัสดุทั้ง 2 ชนิด และแช่วัสดุในอาหารเลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 7 วัน (จากการศึกษาในข้อ 3) เมื่อครบกำหนดดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออก ล้างด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซลล์ (phosphate buffer saline; PBS) 1 มิลลิลิตร 1 ครั้ง และดูดออก ทำการหว่านเซลล์เอ็นยัดปริทันต์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 10 ด้วยความหนาแน่น 40,000 เซลล์/หลุม/มิลลิลิตร นำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 1, 3 และ 5 วัน (หมายเหตุ ในกลุ่มที่ทำการเลี้ยงเซลล์ร่วมกับวัสดุเป็นระยะเวลา 5 วัน จะทำการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ในวันที่ 3)

เมื่อครบกำหนดเวลาแต่ละช่วงทำการวัดค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส โดยหดยสารละลายอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสบัฟเฟอร์ (extract buffer for alkaline phosphatase pH10) ปริมาณ 80 ไมโครลิตรต่อหลุม ขูดผิววัสดุให้ทั่วและนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เมื่อครบกำหนดเติมสารละลายพาราไนโตรฟินอลฟอสเฟต (p



nitrophenolphosphate: PNPP, Zymed, USA) ปริมาณ 110 ไมโครลิตร นำเข้าตู้บที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 15 นาที เพื่อให้เอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเปลี่ยนพาราไนโตรฟีนิลฟอสเฟตให้เป็นพาราไนโตรฟีนอล (p - nitrophenol) ซึ่งเป็นสารที่มีสีเหลือง เมื่อสารละลายเปลี่ยนสีหยุดสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาณ 900 ไมโครลิตร นำสารละลายที่ได้ดูดใส่ควอตและนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นแสง 410 นาโนเมตร ค่าที่ได้จะถูกนำไปคำนวณเป็นค่าการทำงานของเอ็นไซม์มาตรฐาน

สารละลายเซลล์ที่เหลือหลังจากวัดค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส จะนำไปวัดปริมาณโปรตีน โดยใช้ชุดวัดโปรตีนบีซีเอ (BCA protein assay reagent) ค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสจะคำนวณออกมาเป็น นาโนโมลาร์/ไมโครกรัมโปรตีน/นาที นำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบโดยใช้สถิติ

#### การเก็บรวบรวมข้อมูล

1. บันทึกผลการวัดความเป็นพิษต่อเซลล์เมื่อมีการสัมผัสกันโดยตรงด้วยสารเคมีที่เป็นค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่นแสง 570 นาโนเมตร
2. บันทึกผลการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยสารเคมีที่เป็นค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่นแสง 570 นาโนเมตร
3. บันทึกภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ที่กำลังขยาย x100 และ x350
4. บันทึกผลการวัดความเข้มของแถบโปรตีนที่ปรากฏบนภาพรังสี ที่วัดได้จากโปรแกรมสำเร็จรูป Scion image beta 4.0.2
5. บันทึกการวัดค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในแต่ละกลุ่มทดลอง เป็นค่าการดูดกลืนแสงของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสและโปรตีนที่วัดได้จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่นแสง 410 และ 562 นาโนเมตร ตามลำดับ

## การวิเคราะห์ข้อมูล

นำผลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูล โดย

1. การวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ของวัสดุเมื่อมีการสัมผัสโดยตรงด้วยสารเอ็มทีที นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้นจากความสามารถในการเปลี่ยนสารเอ็มทีทีเป็นผลิตภัณฑ์มาแซนของเซลล์ที่ทราบจำนวน เพื่อคำนวณหาจำนวนเซลล์ของการทดลอง กำหนดให้จำนวนเซลล์ในกลุ่มควบคุมมีค่าเป็นร้อยละ 100 นำจำนวนเซลล์ที่ได้ในกลุ่มทดลองมาเปรียบเทียบเป็นร้อยละของกลุ่มควบคุม
2. การวัดผลของวัสดุต่ออัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยสารเอ็มทีที นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้นจากความสามารถในการเปลี่ยนสารเอ็มทีทีเป็นผลิตภัณฑ์มาแซนที่ทราบจำนวนเซลล์ เพื่อคำนวณหาจำนวนเซลล์ของการทดลองในแต่ละกลุ่มทดลอง นำค่าจำนวนเซลล์ที่ได้ไปคำนวณหาอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์เพื่อเปรียบเทียบโดยใช้สถิติ
3. ในการศึกษาลักษณะของเซลล์ที่ยึดเกาะบนผิววัสดุด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน นำภาพถ่ายที่กำลังขยาย  $\times 100$  และ  $\times 350$  มาวิเคราะห์ลักษณะของเซลล์ที่ปรากฏโดยเทียบกับลักษณะของเซลล์ที่ยึดเกาะบนแผ่นกระจก
4. ในการวัดปริมาณไฟโบรเนกติน นำผลการวัดความเข้มของแถบโปรตีนที่ปรากฏบนภาพรังสีในแต่ละกลุ่มทดลอง วิเคราะห์ความเข้มของแถบโปรตีนด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Scion image beta 4.0.2 คำนวณค่าความเข้มของแถบโปรตีนต่อจำนวนเซลล์เฉลี่ยที่วัดได้ในแต่ละช่วงเวลาจากศึกษาอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ เปรียบเทียบกับค่าที่ได้ โดยกำหนดให้ค่าความเข้มของแถบโปรตีนที่ปรากฏบนภาพรังสีในกลุ่มควบคุมเป็น 1
5. การวัดการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ไปคำนวณเป็นค่าการทำงานของเอ็นไซม์โดยเปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายพาราไนโตรฟินอลที่ใช้เป็นมาตรฐาน ค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสจะคำนวณออกมาเป็น นาโนโมลาร์/ไมโครกรัมโปรตีน/นาที นำค่าการทำงานของเอ็นไซม์ที่ได้ไปเปรียบเทียบโดยใช้สถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลอาศัยเครื่องคอมพิวเตอร์โดยใช้โปรแกรมสถิติ SPSS 11.5 โดยใช้สถิติ One-way ANOVA และทดสอบความแตกต่างด้วย Scheffe test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

## บทที่ 4

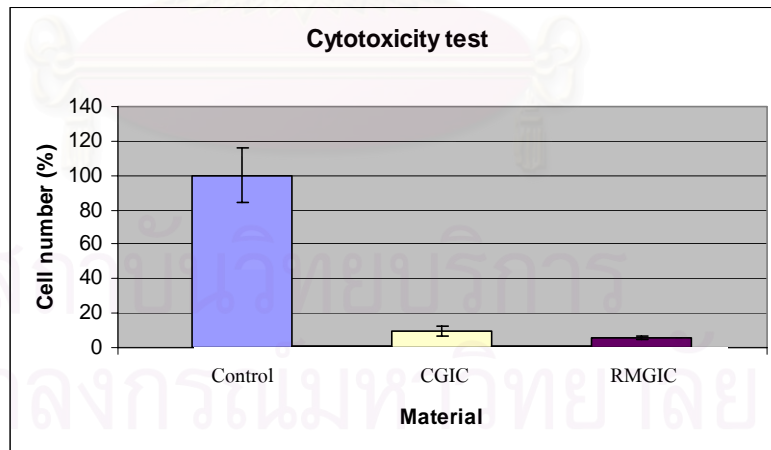
### ผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการตอบสนองของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์ต่อวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil<sup>®</sup>; 3M ESPE, USA) และวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC<sup>®</sup>; GC, Japan) โดยทำการเพาะเลี้ยงเซลล์บนผิววัสดุโดยตรง (direct contact) เพื่อศึกษาผลของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ทั้งสองชนิดต่อความเป็นพิษเซลล์ อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ ลักษณะการยึดเกาะของเซลล์ และการทำงานของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์ โดยผลการวิจัยมีดังนี้

1. การวัดความเป็นพิษต่อเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์ของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินเมื่อมีการสัมผัสกันโดยตรง ด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay)

1.1 การวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay) ภายหลังเพาะเลี้ยงเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์บนวัสดุทั้ง 2 ชนิดภายหลังผสมเสร็จ

พบว่าวัสดุทั้งสองชนิดมีความเป็นพิษต่อเซลล์สูง โดยวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมสามารถพบเซลล์คิดเป็นร้อยละ 9.28 ของกลุ่มควบคุม ขณะที่วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินสามารถพบเซลล์คิดเป็นร้อยละ 5.69 ของกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 แสดงผลการวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay) ภายหลังเพาะเลี้ยงเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์บนวัสดุทั้ง 2 ชนิดภายหลังผสมเสร็จ

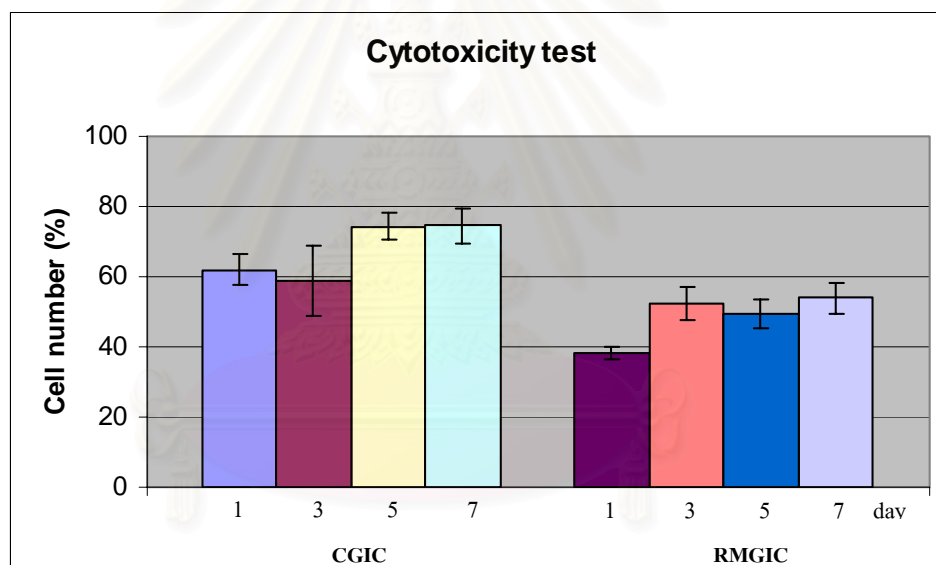
Control = กลุ่มควบคุม คือ การเลี้ยงเซลล์ในหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์

CGIC = กลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil<sup>®</sup>; 3M ESPE, USA)

RMGIC = กลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC<sup>®</sup>; GC, Japan)

## 1.2 การวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay) ภายหลังจากเพาะเลี้ยงเซลล์เอ็นอีดีปริทันต์ของมนุษย์บนวัสดุทั้ง 2 ชนิด ที่ได้รับการแช่เป็นระยะเวลา 1, 3, 5 และ 7 วัน

ผลการวัดความเป็นพิษต่อเซลล์เอ็นอีดีปริทันต์เมื่อมีการสัมผัสกันโดยตรงของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินภายหลังการแช่วัสดุพบว่า วัสดุมีความเป็นพิษต่อเซลล์ลดลง สามารถพบจำนวนเซลล์ในกลุ่มวัสดุทั้งสองชนิดมากขึ้น วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์โดยมีค่าจำนวนเซลล์มากกว่าร้อยละ 60 ของกลุ่มควบคุมในทุกช่วงเวลา ขณะที่วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินภายหลังแช่วัสดุเป็นระยะเวลา 1 วัน วัสดุแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์โดยมีจำนวนเซลล์คิดเป็นร้อยละ 38 ของกลุ่มควบคุม แต่วัสดุแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ลดลงภายหลังแช่วัสดุเป็นระยะเวลานานขึ้น โดยการแช่วัสดุเป็นระยะเวลา 7 วัน มีการแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์น้อยที่สุดมีจำนวนเซลล์คิดเป็นร้อยละ 54 ของกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 11)

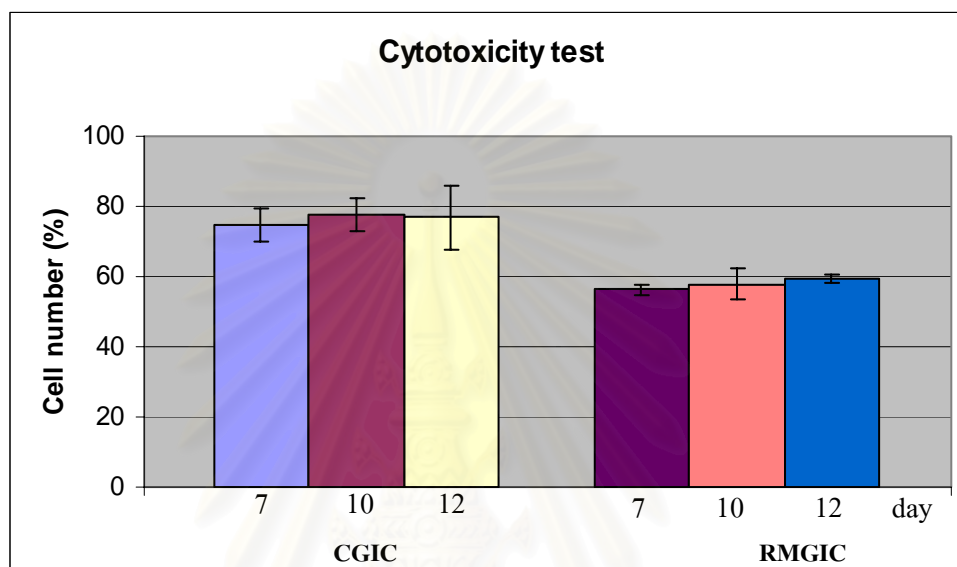


ภาพที่ 11 แสดงผลการวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ภายหลังจากแช่วัสดุทั้งไว้เป็นระยะเวลา 1, 3, 5 และ 7 วัน ก่อนทำการหว่านเซลล์เอ็นอีดีปริทันต์และเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยกำหนดให้จำนวนเซลล์ในกลุ่มควบคุมมีค่าเป็นร้อยละ 100

- CGIC           กลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil®; 3M ESPE, USA) ที่ได้รับการแช่ในอาหารเลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 1, 3, 5 และ 7 วัน
- RMGIC        กลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC®; GC, Japan) ที่ได้รับการแช่ในอาหารเลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 1, 3, 5 และ 7 วัน

### 1.3 การวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay) ภายหลังจากเพาะเลี้ยงเซลล์เอ็นอีคปริทันต์ของมนุษย์บนวัสดุทั้ง 2 ชนิด ที่ได้รับการแช่เป็นระยะเวลา 7, 10 และ 12 วัน

ผลการวัดความเป็นพิษต่อเซลล์เอ็นอีคปริทันต์เมื่อมีการสัมผัสกันโดยตรงของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินภายหลังการแช่วัสดุเป็นระยะเวลา 7, 10 และ 12 วัน พบว่า วัสดุทั้งสองชนิดเริ่มมีความเป็นพิษต่อเซลล์ตั้งที่ดังกล่าว (ภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 แสดงผลการวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ภายหลังจากแช่วัสดุทั้งไว้เป็นระยะเวลา 7, 10 และ 12 วัน ก่อนทำการหว่านเซลล์เอ็นอีคปริทันต์และเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยกำหนดให้จำนวนเซลล์ในกลุ่มควบคุมมีค่าเป็นร้อยละ 100

CGIC = กลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil<sup>®</sup>; 3M ESPE, USA) ที่ได้รับการแช่ในอาหารเลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 7, 10 และ 12 วัน

RMGIC = กลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC<sup>®</sup>; GC, Japan) ที่ได้รับการแช่ในอาหารเลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 7, 10 และ 12 วัน

ดังนั้นจากผลการวิจัยในข้อ 1.1 – 1.3 พบว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินมีความเป็นพิษต่อเซลล์เอ็นอีคปริทันต์ของมนุษย์สูงภายหลังผสมเสร็จใหม่ ๆ สามารถพบจำนวนเซลล์น้อยกว่าร้อยละ 10 ของกลุ่มควบคุม เมื่อทำการแช่วัสดุพบว่าความเป็นพิษของวัสดุทั้งสองชนิดมีการลดลง สามารถพบจำนวนเซลล์ในกลุ่มวัสดุทั้งสองชนิดมากขึ้น โดยค่าความเป็นพิษต่อเซลล์เริ่มมีค่าคงที่เมื่อแช่วัสดุเป็นระยะเวลา 7 วัน ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงเลือกระยะเวลาการแช่วัสดุเป็นระยะเวลา 7 วัน มาทำการศึกษาผลการตอบสนองของเซลล์ที่ 1, 3 และ 5 วัน ต่อไป

## 2. การศึกษาผลของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินต่ออัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์ ด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay)

ผลการทดลองเมื่อทำการหว่านเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์ลงบนหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์ที่มีวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil<sup>®</sup>; 3M ESPE, USA) และวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC<sup>®</sup>; GC, Japan) และเลี้ยงเซลล์นาน 1, 3 และ 5 วัน ให้ผลการทดลองดังนี้

เมื่อกำหนดค่าการดูดกลืนแสงเป็นค่าจำนวนเซลล์ (ตารางที่ 1 ) พบว่าในทุกกลุ่มพบความแตกต่างของจำนวนเซลล์ที่พบในแต่ละช่วงเวลาศึกษา โดยจำนวนเซลล์มีการเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ทำการเลี้ยงเซลล์ร่วมกับวัสดุอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ผลการวัดจำนวนเซลล์ในแต่ละช่วงเวลาให้ผลดังนี้

- วันที่ 1 วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินมีจำนวนเซลล์น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ขณะที่วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (ตารางที่ 1)
- วันที่ 3 กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ทั้งสองชนิดมีจำนวนเซลล์น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมกับกลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (ตารางที่ 1)
- วันที่ 5 กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ทั้งสองชนิดมีจำนวนเซลล์น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมกับกลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน ( $p < 0.05$ ) (ตารางที่ 1)

การวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ (ภาพที่ 13 ตารางที่ 2 )

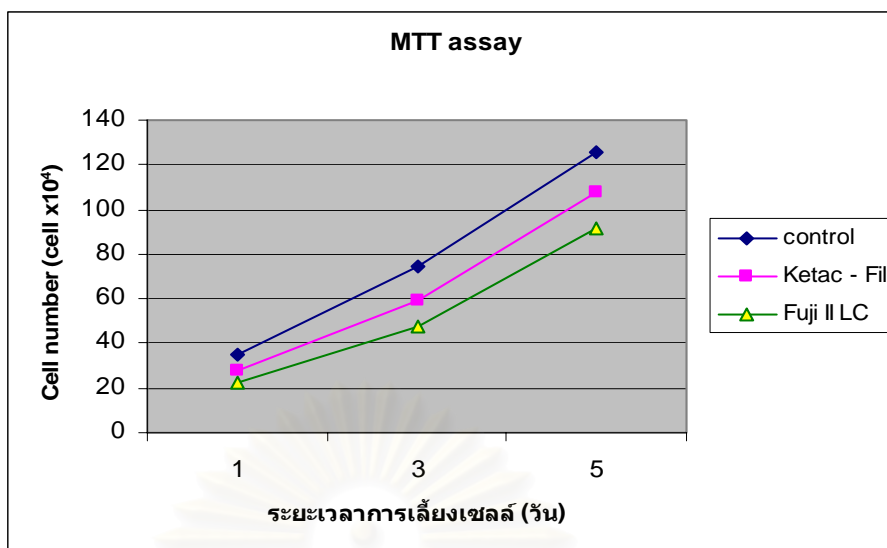
- อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ในวันที่ 3 พบว่า ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ทั้งสองชนิด และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมกับกลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน เซลล์ที่เลี้ยงร่วมกับวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ทั้งสองชนิดสามารถเพิ่มจำนวนได้เช่นเดียวกับกลุ่มควบคุม
- อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ในวันที่ 5 พบว่ากลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินมีอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทาง

สถิติ ( $p < 0.05$ ) ขณะที่วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน

ชนิดของวัสดุ	ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (cells $\times 10^4$ )		
	1 วัน	3 วัน	5 วัน
กลุ่มควบคุม	$3.5 \pm 0.09$	$7.4 \pm 0.37$	$12.5 \pm 0.84$
วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil)	$2.8 \pm 0.05$	$5.9 \pm 0.14$	$10.7 \pm 0.14$
วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC)	$2.2 \pm 0.13$	$4.8 \pm 0.05$	$9.1 \pm 0.15$

ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์เอ็นซิดปริทันต์และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ระหว่างกลุ่มทดลองคือการเลี้ยงเซลล์ร่วมกับวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil) และวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC) โดยมีกลุ่มควบคุมคือการเลี้ยงเซลล์บนหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์ (เครื่องหมาย \* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่ม ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05)

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์เอ็นซีคปริทันต์ที่พบในแต่ละกลุ่มทดลอง และกลุ่มควบคุมกับระยะเวลาการเลี้ยงเซลล์ จากการศึกษาด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay) (Ketac – Fil ; วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม, Fuji II LC ; วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน กลุ่มควบคุมคือการเลี้ยงเซลล์บนหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์)

ชนิดของวัสดุ	อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ (ร้อยละ $\pm$ SD)	
	3 วัน	5 วัน
กลุ่มควบคุม	110.55 $\pm$ 5.51	68.42 $\pm$ 3.71
วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil)	115.27 $\pm$ 6.76	81.62 $\pm$ 2.87
วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC)	114.59 $\pm$ 11.82	92.2 $\pm$ 2.66

ตารางที่ 2 แสดงอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ระหว่างกลุ่มทดลองคือการเลี้ยงเซลล์ร่วมกับวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac – Fil) และวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC) โดยมีกลุ่มควบคุมคือการเลี้ยงเซลล์บนหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์ (เครื่องหมาย \* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่ม ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05)



### 3. การศึกษาลักษณะการยึดเกาะของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์บนผิววัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope)

ผลการทดลองเมื่อทำการการศึกษาลักษณะของเซลล์ที่ยึดเกาะบนผิววัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ที่กำลังขยาย x100 และ x350 ผลการศึกษาพบว่าในแต่ละตำแหน่งที่ทำการศึกษาให้ผลเป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดยให้ผลการทดลองดังนี้

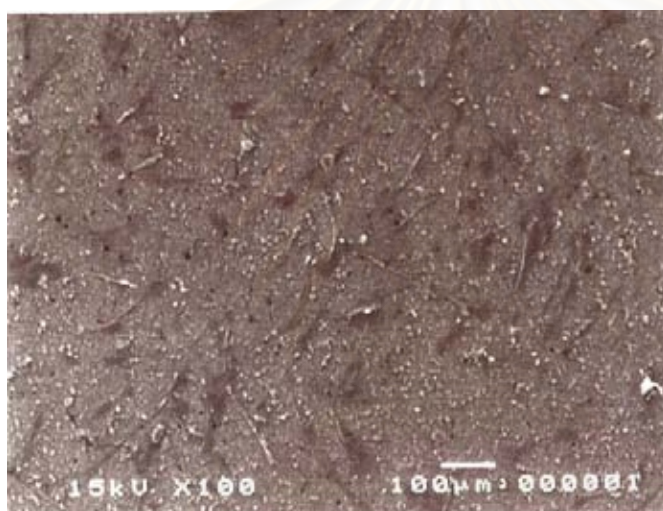
ลักษณะของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ที่พบในวันที่ 1 (ภาพที่ 14 – 19) ในกลุ่มควบคุมพบลักษณะการกระจายของเซลล์กระจายกระจายบนผิวกระจก เซลล์ที่พบมีลักษณะทั้งเซลล์รูปร่างกลม กระสวย และมีเซลล์บางส่วนที่มีการแผ่ระยางค์ของเซลล์ออกไปเพื่อยึดเกาะกับพื้นผิว ขณะที่ลักษณะเซลล์ที่พบในกลุ่มกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินพบลักษณะการกระจายของเซลล์บนผิววัสดุเช่นเดียวกับที่พบในกลุ่มควบคุม ลักษณะของเซลล์ที่พบมีลักษณะเช่นเดียวกับที่พบในกลุ่มควบคุม

ลักษณะของเซลล์ที่พบในวันที่ 3 (ภาพที่ 20 – 25) และวันที่ 5 (ภาพที่ 26 – 31) ในกลุ่มควบคุมพบลักษณะการกระจายของเซลล์ปกคลุมบนผิวกระจกมากยิ่งขึ้น ลักษณะเซลล์เอ็นยิดปริทันต์มีลักษณะเซลล์ที่มีการแผ่ระยางค์ของเซลล์ออกไปเพื่อยึดเกาะกับพื้นผิวมากขึ้น ลักษณะของเซลล์มีการเรียงตัวขนานกันมีการสัมผัสกับเซลล์ข้างเคียงเกิดเป็นชั้นเซลล์ปกคลุมผิวกระจก (monolayer) ความหนาแน่นของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ที่ปกคลุมแผ่นกระจกในวันที่ 5 มีความหนาแน่นมากกว่าวันที่ 3 พบเซลล์มีการเรียงตัวชิดกันมากยิ่งขึ้น

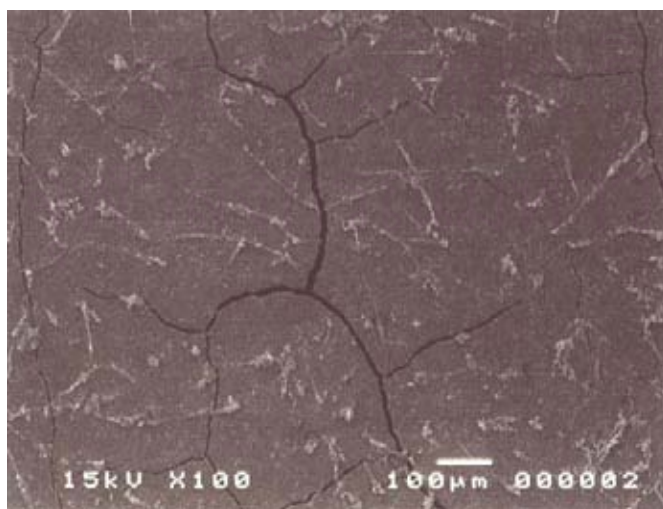
ลักษณะของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ที่พบในกลุ่มกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและกลุ่มกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินสามารถพบลักษณะเซลล์เช่นเดียวกับกลุ่มควบคุมแต่พบระยะห่างของเซลล์มากกว่ากลุ่มควบคุม ในแต่ละบริเวณของวัสดุทั้ง 2 ชนิดพบว่ามี ความหนาแน่นของเซลล์ที่แตกต่างกันในแต่ละบริเวณ และความหนาแน่นของเซลล์ที่ปกคลุมผิววัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในวันที่ 5 มีความหนาแน่นมากกว่าวันที่ 3 เซลล์มีการเรียงตัวชิดกันมากยิ่งขึ้นเช่นเดียวกับลักษณะที่พบในกลุ่มควบคุม



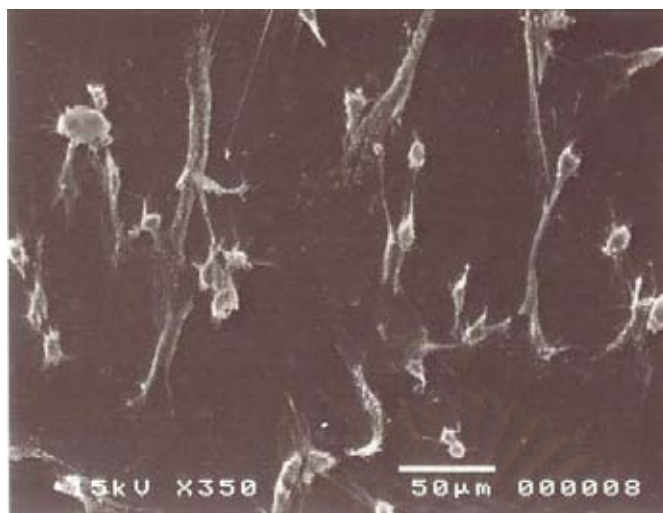
ภาพที่ 14 แสดงลักษณะของเซลล์เอ็นซิดปริทันต์ที่ซิดเกาะบนผิวกระจก ภายหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 วัน ที่กำลังขยาย x100



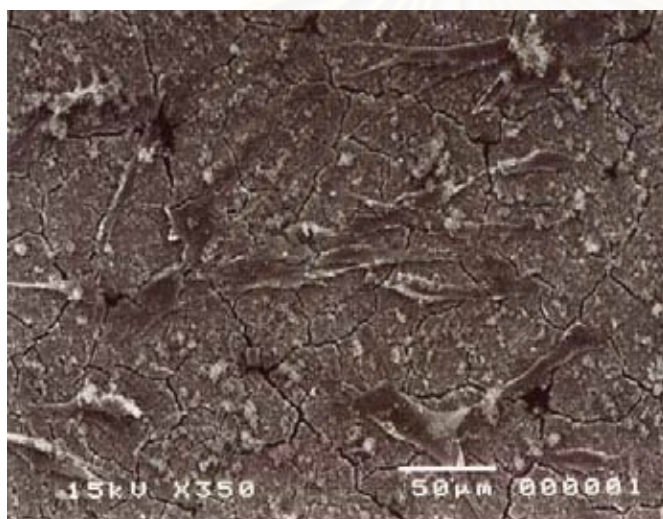
ภาพที่ 15 แสดงลักษณะของเซลล์เอ็นซิดปริทันต์ที่ซิดเกาะบนผิววัสดุกลาส ไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมภายหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 วัน ที่กำลังขยาย x100



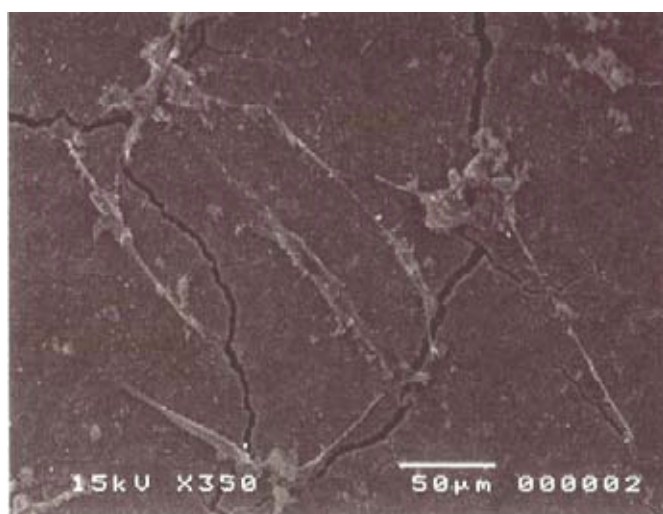
ภาพที่ 16 แสดงลักษณะของเซลล์เอ็นซิดปริทันต์ที่ซิดเกาะบนผิววัสดุกลาส ไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินภายหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 วัน ที่กำลังขยาย x100



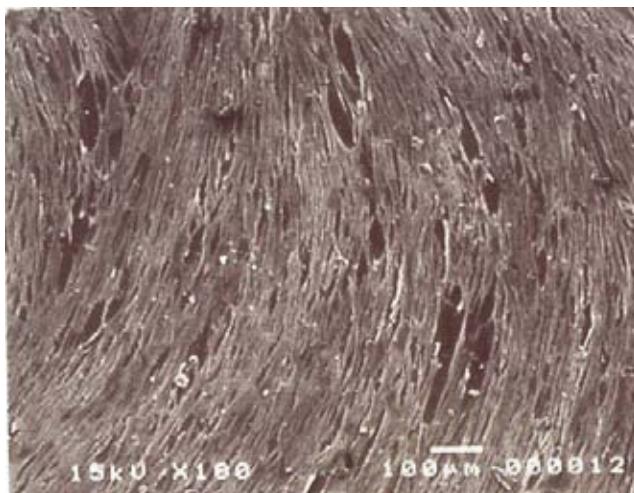
ภาพที่ 17 แสดงลักษณะของเซลล์เอ็นซิด  
ปริพันธ์ที่ซึดเกาะบนผิวกระจกภายหลัง  
เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 วัน ที่  
กำลังขยาย x350



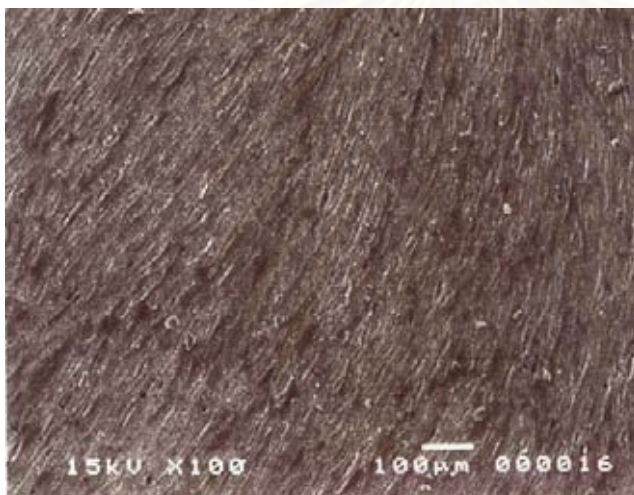
ภาพที่ 18 แสดงลักษณะของเซลล์เอ็นซิด  
ปริพันธ์ที่ซึดเกาะบนผิววัสดุกลาส  
ไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมภายหลัง  
เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 1 วัน ที่  
กำลังขยาย x350



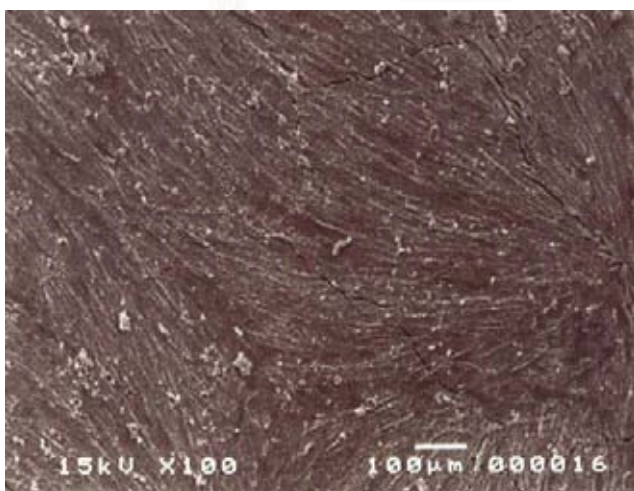
ภาพที่ 19 แสดงลักษณะของเซลล์เอ็นซิด  
ปริพันธ์ที่ซึดเกาะบนผิววัสดุกลาส  
ไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วย  
เรซินภายหลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา  
1 วัน ที่กำลังขยาย x350



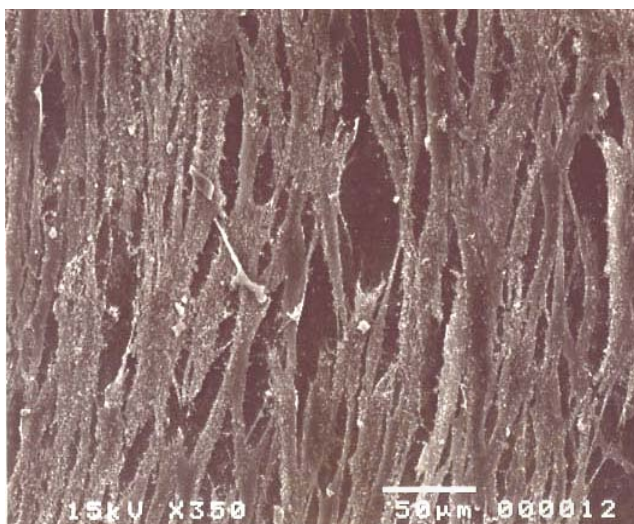
ภาพที่ 20 แสดงลักษณะของเซลลูโลสเอ็นซิม  
 ปริพันธ์ที่ซึบเกาะบนผิวกระจกภายหลัง  
 เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 วัน ที่กำลังขยาย  
 x100



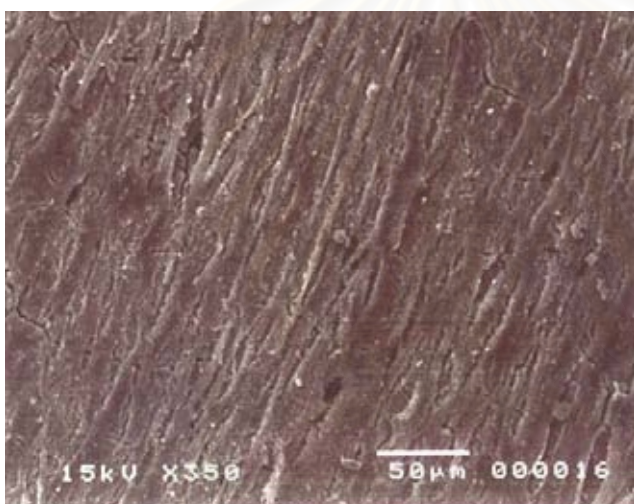
ภาพที่ 21 แสดงลักษณะของเซลลูโลสเอ็นซิม  
 ปริพันธ์ที่ซึบเกาะบนผิววัสดุกลาส  
 ไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมภายหลัง  
 เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 วัน ที่กำลังขยาย  
 x100



ภาพที่ 22 แสดงลักษณะของเซลลูโลสเอ็นซิม  
 ปริพันธ์ที่ซึบเกาะบนผิววัสดุกลาส  
 ไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วย  
 เรซินภายหลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 วัน  
 ที่กำลังขยาย x100



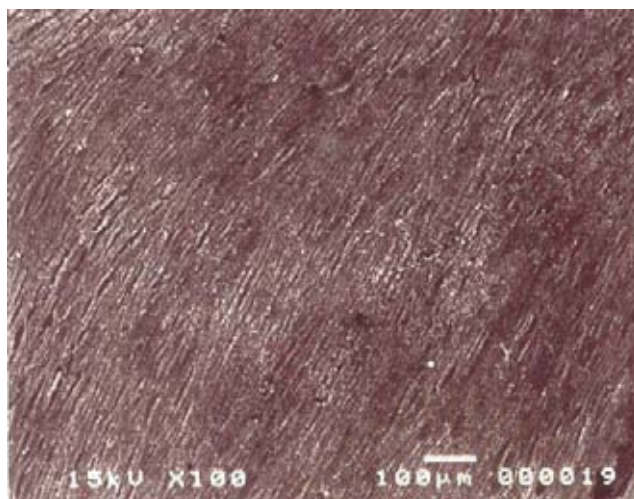
ภาพที่ 23 แสดงลักษณะของเซลล์  
เอ็นซิดปริทันต์ที่ซึดเกาะบนผิวกระจก  
ภายหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 วัน ที่  
กำลังขยาย x350



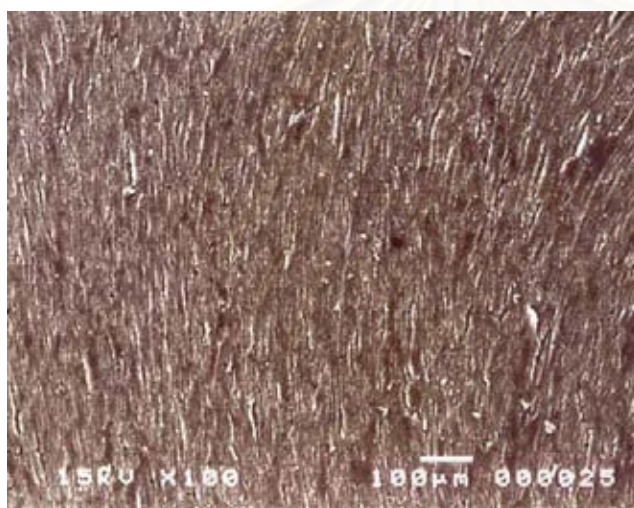
ภาพที่ 24 แสดงลักษณะของเซลล์เอ็นซิด  
ปริทันต์ที่ซึดเกาะบนผิววัสดุกลาส  
ไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมภายหลัง  
เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 วัน ที่กำลังขยาย  
x350



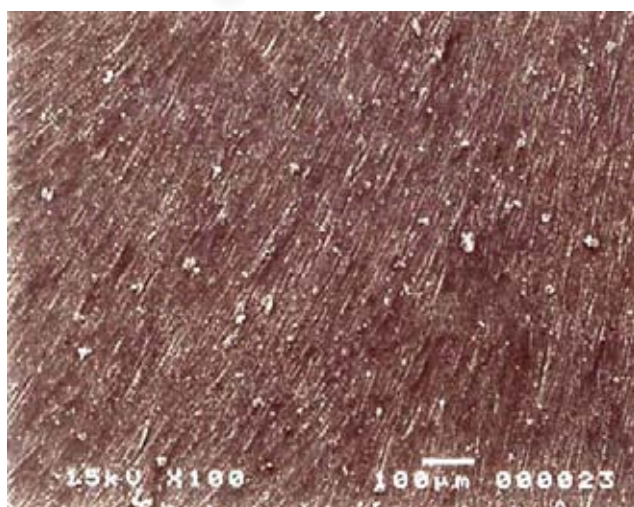
ภาพที่ 25 แสดงลักษณะของเซลล์เอ็นซิด  
ปริทันต์ที่ซึดเกาะบนผิววัสดุกลาส  
ไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วย  
เรซินภายหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 วัน  
ที่กำลังขยาย x350



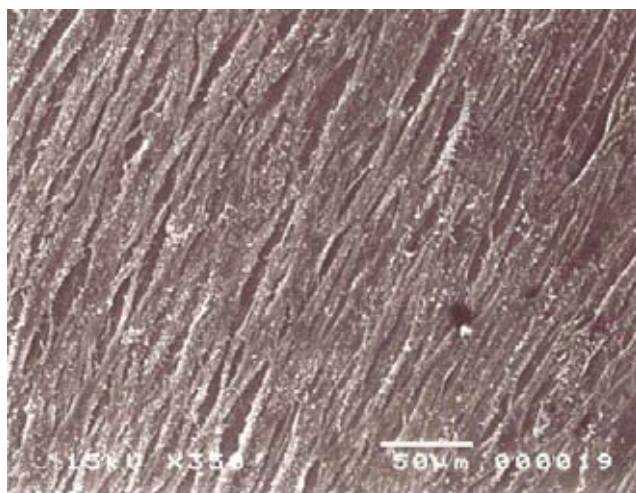
ภาพที่ 26 แสดงลักษณะของเซลล์เอ็นซิด  
พรีพรีนที่ซิดเกาะบนผิวกระจกภายหลัง  
เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 5 วัน  
ที่กำลังขยาย x100



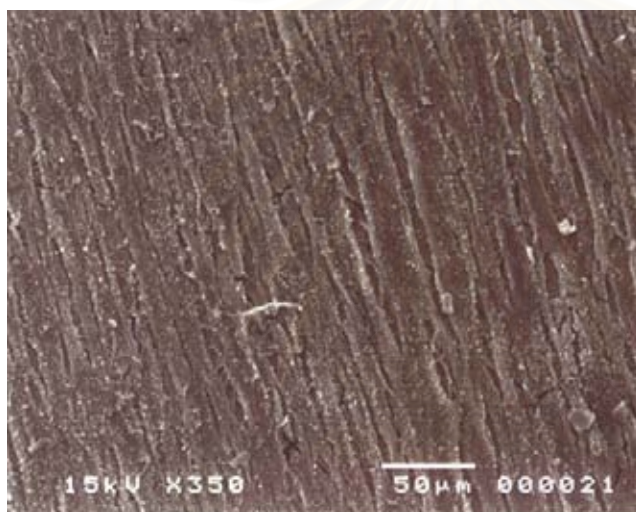
ภาพที่ 27 แสดงลักษณะของเซลล์เอ็นซิด  
พรีพรีนที่ซิดเกาะบนผิววัสดุกลาส  
ไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมภายหลัง  
เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 5 วัน  
ที่กำลังขยาย x100



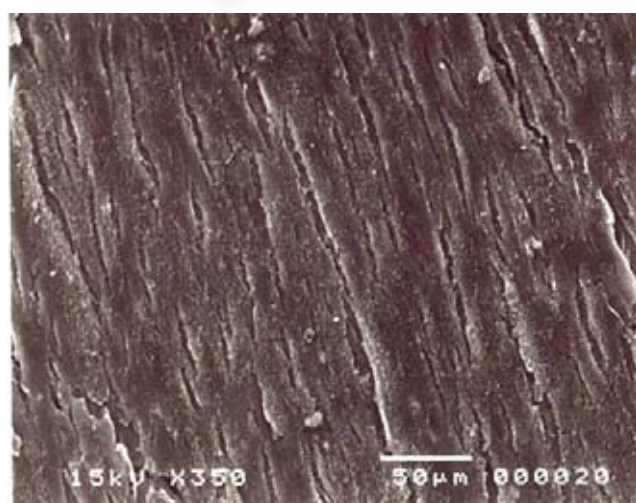
ภาพที่ 28 แสดงลักษณะของเซลล์เอ็นซิด  
พรีพรีนที่ซิดเกาะบนผิววัสดุกลาส  
ไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วย  
เรซินภายหลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา  
5 วัน ที่กำลังขยาย x100



ภาพที่ 29 แสดงลักษณะของเซลล์เอ็นซิด  
ปริพันธ์ที่ซึดเกาะบนผิวกระจกภายหลัง  
เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 5 วัน ที่  
กำลังขยาย x350



ภาพที่ 30 แสดงลักษณะของเซลล์  
เอ็นซิดปริพันธ์ที่ซึดเกาะบนผิววัสดุกลาส  
ไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมภายหลัง  
เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 5 วัน ที่  
กำลังขยาย x350



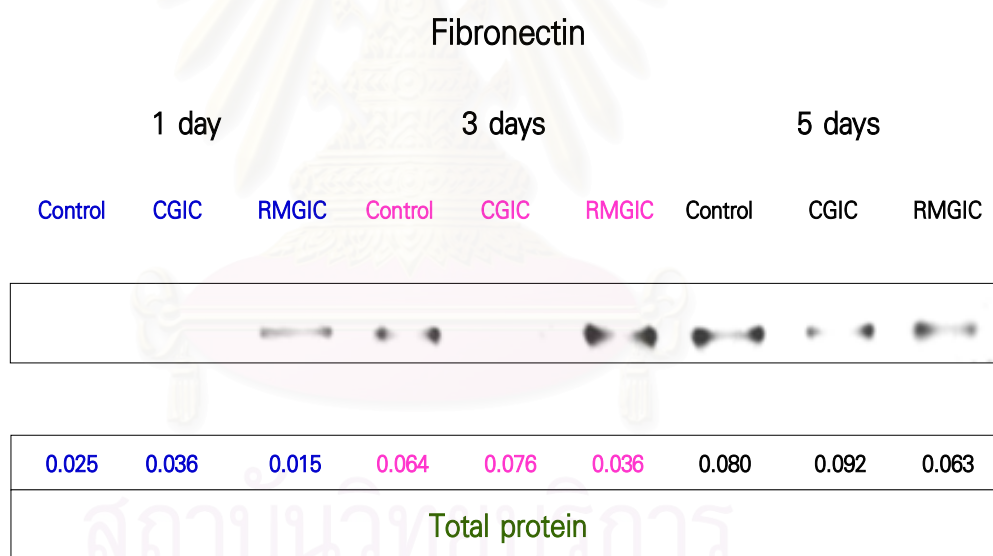
ภาพที่ 31 แสดงลักษณะของเซลล์เอ็นซิด  
ปริพันธ์ที่ซึดเกาะบนผิววัสดุกลาส  
ไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วย  
เรซินภายหลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา  
5 วัน ที่กำลังขยาย x350

4. การศึกษาและเปรียบเทียบปริมาณไฟโบรเนกตินที่เซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์สร้างขึ้น เพื่อใช้ในการยึดเกาะจากการเกาะเลี้ยงเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์บนผิววัสดุ กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลง ด้วยวิธีเวสเทอ์นบล็อต (Western blot)

ผลการทดลองเมื่อนำตัวอย่างที่ได้จากแต่ละกลุ่มทดลองมาแยกโปรตีนด้วยกระแสไฟฟ้า เพื่อหาปริมาณไฟโบรเนกติน พบว่าผลการศึกษาเป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดยให้ผลดังต่อไปนี้

เซลล์ที่เลี้ยงร่วมกับวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินมีปริมาณไฟโบรเนกตินมากกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม ในวันที่ 1 และ 3 แต่ระดับไฟโบรเนกตินในวันที่ 5 มีการลดระดับลงน้อยกว่ากลุ่มควบคุม ขณะที่กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมเริ่มปรากฏปริมาณไฟโบรเนกตินในวันที่ 5 (ภาพที่ 32)

เมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีนโดยรวมพบว่าเซลล์ที่เลี้ยงร่วมกับวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมมีปริมาณโปรตีนสูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินตลอดระยะเวลาการศึกษา (ภาพที่ 32)



ภาพที่ 32 ภาพแสดงปริมาณไฟโบรเนกตินที่ได้จากการศึกษาด้วยวิธีเวสเทอ์นบล็อต (Western blot) ที่พบในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมที่ระยะเวลาต่าง ๆ

Control = กลุ่มควบคุม คือ การเลี้ยงเซลล์ในหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์

CGIC = กลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil<sup>®</sup>; 3M ESPE, USA)

RMGIC = กลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC<sup>®</sup>; GC, Japan)



**5. การศึกษาและเปรียบเทียบค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่เซลล์เอ็นยิด ปริพันธ์ของมนุษย์สร้างขึ้น จากการเพาะเลี้ยงเซลล์เอ็นยิดปริพันธ์ของมนุษย์บนผิววัสดุกลาสไอโอ โนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน**

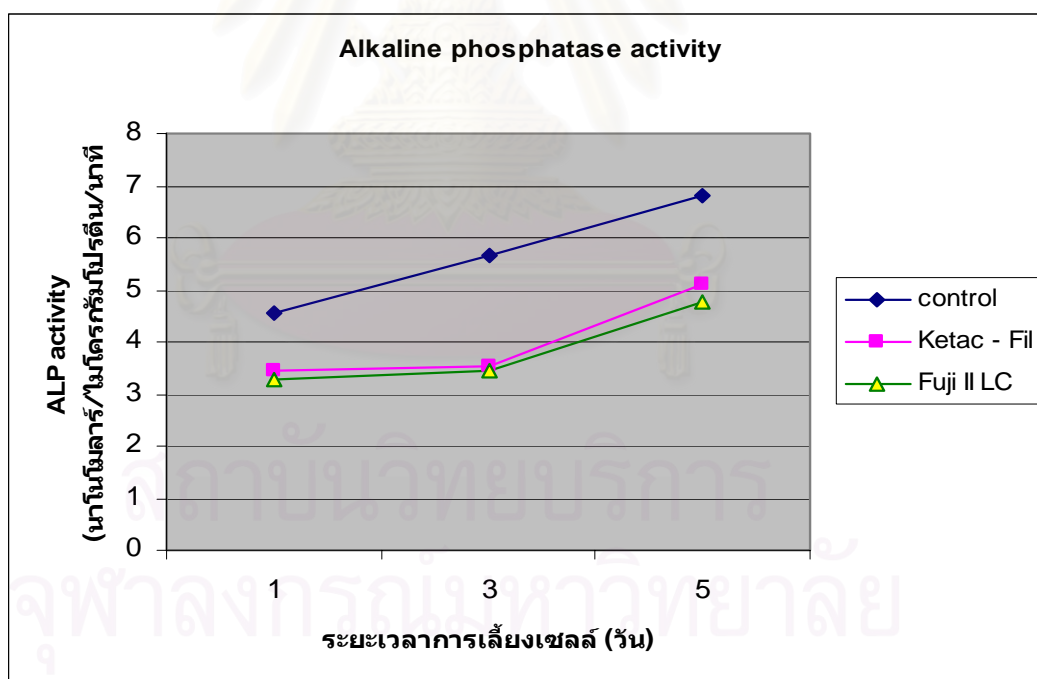
ผลการทดลองเมื่อทำการเลี้ยงเซลล์เอ็นยิดปริพันธ์ของมนุษย์ร่วมกับวัสดุ กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน และนาน 1, 3 และ 5 วัน การวัดค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในแต่ละช่วงเวลา ให้ผลดังนี้ (ภาพที่ 33 ตารางที่ 3 )

พบว่าระดับค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในกลุ่มควบคุมมีค่าสูงกว่ากลุ่ม วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและกลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลง ด้วยเรซินตลอดช่วงเวลาศึกษา ( $p < 0.05$ ) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่าง กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมกับกลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิด ดัดแปลงด้วยเรซินตลอดช่วงเวลาศึกษา

ลักษณะการเพิ่มขึ้นของค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในกลุ่มควบคุม มีลักษณะเป็นกราฟเส้นตรง ที่ค่อย ๆ เพิ่มขึ้นจากวันที่ 1 ถึง วันที่ 5 ขณะที่ลักษณะการเพิ่มขึ้นของ ค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในวันที่ 1 และวันที่ 3 ในกลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและกลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินมีการระดับไม่ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ระดับค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสมี การเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเข้าสู่วันที่ 5 ( $p < 0.05$ )

ชนิดของวัสดุ	ALP activity $\pm$ SD.		
	(นาโนโมลาร์/ไมโครกรัมโปรตีน/นาที)		
	1 วัน	3 วัน	5 วัน
กลุ่มควบคุม	$4.55 \pm 0.15$	$5.67 \pm 0.07$	$6.79 \pm 0.11$
วัสดุเคลือบไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil)	$3.45 \pm 0.08$	$3.54 \pm 0.09$	$5.11 \pm 0.24$
วัสดุเคลือบไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC)	$3.29 \pm 0.07$	$3.44 \pm 0.28$	$4.77 \pm 0.20$

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ระหว่างกลุ่มทดลองคือการเลี้ยงเซลล์ร่วมกับวัสดุเคลือบไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil) และวัสดุเคลือบไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC) โดยมีกลุ่มควบคุมคือการเลี้ยงเซลล์บนหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์ (เครื่องหมาย \* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่ม ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05)



ภาพที่ 33 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส กับระยะเวลาการเลี้ยงเซลล์ (Ketac - Fil ; วัสดุเคลือบไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม, Fuji II LC ; วัสดุเคลือบไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน กลุ่มควบคุมคือการเลี้ยงเซลล์บนหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์)

## อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

### อภิปรายผลการวิจัย

ลักษณะการหายของเนื้อเยื่อปริทันต์ใต้วัสดุบูรณะในบริเวณที่เกิดรอยทะเลาะนอกผิวรากฟันที่ต้องการ คือการเกิดการหายเนื้อเยื่อในบริเวณนั้นอย่างสมบูรณ์ (regeneration) เกิดการเจริญของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์และการสร้างกระดูกเพื่อซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายให้มีลักษณะดั้งเดิม ซึ่งการสัมผัสและความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อของวัสดุบูรณะมีผลต่อการเกิดการหายของเนื้อเยื่ออย่างสมบูรณ์

เพื่อเป็นการเลียนแบบการตอบสนองของเนื้อเยื่อปริทันต์ในบริเวณที่ได้รับการบูรณะในการวิจัยนี้จึงเลือกใช้เซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเอ็นยิดปริทันต์โดยตรงมาทำการศึกษา และเพื่อเป็นการยืนยันถึงผลการตอบสนองของเซลล์ที่เป็นไปในทิศทางเดียวกันโดยไม่มี ความแตกต่างระหว่างบุคคลจึงมีการทดลองในเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ที่ได้จากมนุษย์ 3 คน เพื่อแสดงให้เห็นว่าผลการทดลองที่ได้สามารถทำซ้ำและให้ผลการทดลองเป็นไปในทิศทางเดียวกัน จากผลการทดลองพบว่า เซลล์เอ็นยิดปริทันต์ที่ใช้ในการวิจัยนี้ให้ค่าการตอบสนองที่ใกล้เคียงและเป็นไปในทิศทางเดียวกัน

อุทัยวรรณ (2545) พบว่าสารสกัดจากวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ได้อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งจากการศึกษาดังกล่าวนำไปสู่ความสนใจในการศึกษาถึงผลของวัสดุต่อเซลล์เอ็นยิดปริทันต์เมื่อมีการสัมผัสกันโดยตรงเนื่องจากในการหายของเนื้อเยื่อปริทันต์ที่สมบูรณ์จำเป็นต้องมีการสัมผัสกันโดยตรงระหว่างเซลล์เอ็นยิดปริทันต์กับผิววัสดุที่ใช้ในการบูรณะ (direct contact) ดังนั้นความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อของวัสดุบูรณะกับเซลล์เอ็นยิดปริทันต์จึงเป็นสิ่งที่มีความสำคัญ วิธีการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงกระทำโดยการเลี้ยงเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์บนผิววัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil<sup>®</sup>; 3M ESPE, USA) และวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC<sup>®</sup>; GC, Japan) โดยตรง จากผลการศึกษาพบว่าภายหลังผสมวัสดุเสร็จใหม่ ๆ วัสดุทั้งสองชนิดมีความเป็นพิษต่อเซลล์สูง สามารถพบเซลล์บนวัสดุทั้งสองชนิดน้อยกว่าร้อยละ 10 ของกลุ่มควบคุมแต่เมื่อทำการแช่วัสดุไว้เป็นระยะเวลาหนึ่งก่อนทำการหว่านเซลล์พบว่า ความเป็นพิษต่อเซลล์ของวัสดุทั้งสองชนิดมีการลดลงตามระยะเวลาการแช่วัสดุจนถึงระยะเวลา 7 วัน ที่ความเป็นพิษของวัสดุทั้งสองชนิดเริ่มมีค่าคงที่ ผลการวิจัยนี้มีความสอดคล้องกับการศึกษาการเจริญของเซลล์ชนิดต่าง ๆ ที่ผ่านมา ซึ่งพบว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ทั้งสองชนิดมีความเป็นพิษต่อเซลล์สูงภายหลังผสมเสร็จใหม่ ๆ แต่ความเป็นพิษต่อเซลล์มีการลดลงเมื่อระยะเวลาผ่าน

ไป (Chong และคณะ, 1997a; Chong และคณะ, 1997b; Kawahara และคณะ, 1979; Tassery และคณะ, 1997; Zmener และ Dominguez, 1983)

ความเป็นพิษต่อเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินอาจเป็นผลจากความเป็นครคของวัสดุ (Consiglio และคณะ, 1998) อีออนต่าง ๆ ที่วัสดุปลดปล่อยออก โดยเฉพาะฟลูออไรด์อีออน (Creanor และคณะ, 1994; Consiglio และคณะ, 1998; Meyer และคณะ, 1998; Lonroth และ Dahl, 2001) รวมทั้งเรซินโมโนเมอร์ที่ปล่อยมาจากกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Geurtsen และคณะ, 1998; Palmer และคณะ, 1999) การศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสารต่าง ๆ ที่ปล่อยออกมาจากวัสดุทั้งสองชนิดมีลักษณะที่ถูกปล่อยออกมาสูงในช่วงแรกและมีการลดลงภายหลัง (Palmer และคณะ, 1999; Creanor และคณะ, 1994) ทำให้ความเป็นพิษของวัสดุทั้งสองชนิดลดลงอย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าได้ทำการแช่วัสดุเป็นระยะเวลา 12 วัน แต่พบว่าวัสดุทั้งสองชนิดยังคงมีความเป็นพิษต่อเซลล์อยู่ สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมา (Muller และคณะ, 1990) ทั้งนี้อาจเป็นผลจากการมีสารต่าง ๆ ที่ยังคงปล่อยออกมาอย่างต่อเนื่องจากวัสดุทั้งสองชนิด (Forss, 1993) การศึกษาครั้งนี้มีการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ใช้แช่วัสดุซึ่งอาจเปรียบเทียบได้กับในสภาวะจริงที่ร่างกายมีการหมุนเวียนของระบบเลือดและน้ำเหลืองเพื่อทำการลดความเป็นพิษของสารที่ปล่อยออกมาจากวัสดุ ทำให้ความเป็นพิษของวัสดุต่อเซลล์ลดลงได้

ทั้งนี้เพื่อเป็นการศึกษาผลของวัสดุต่อการส่งเสริมการหายของเนื้อเยื่อปริทันต์จึงได้ทำการเลือกระยะเวลาการแช่วัสดุ 7 วัน ซึ่งเป็นระยะเวลาที่ความเป็นพิษของวัสดุมีค่าลดลงและเริ่มคงที่ เพื่อคุณลักษณะการตอบสนองของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ว่าวัสดุมีผลต่อเซลล์ในแง่ของการส่งเสริมยับยั้ง หรือไม่มีผลใด ๆ ต่อการเจริญและการเพิ่มจำนวนเซลล์ รวมทั้งการทำงานของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ที่มีการสัมผัสกับผิววัสดุโดยตรง

การทดลองครั้งนี้ใช้วิธีการวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธีเอ็มทีที ซึ่งเป็นวิธีทดสอบโดยอาศัยการวัดจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ โดยอาศัยหลักการที่เซลล์ที่มีชีวิตสามารถใช้เอ็นไซม์ไมโทคอนเดรียดีไฮโดรจีเนส (mitochondrial dehydrogenase) ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่ใช้ในการหายใจระดับเซลล์ในการเปลี่ยนเตตระโซเลียมซอลท์ (tetrazolium salt) ในสารเอ็มทีทีให้เป็นฟลิคฟอรัมาแซนสีม่วง เมื่อนำไปละลายด้วยสารละลายที่เหมาะสมจะสามารถนำไปวัดความเข้มของสีซึ่งสื่อถึงปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตได้ ผลการวัดจำนวนเซลล์ที่ระยะเวลา 1, 3 และ 5 วัน พบว่าเซลล์ที่พบในวัสดุทั้งสองชนิดมีปริมาณน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ยกเว้นจำนวนเซลล์ที่พบในกลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมในวันที่ 1 ซึ่งมีจำนวนเซลล์ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่เมื่อพิจารณาอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์พบว่าเซลล์ที่เลี้ยงร่วมกับวัสดุทั้งสองชนิดมีอัตราการเพิ่มจำนวนไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมและไม่มีความแตกต่างระหว่างวัสดุทั้งสองชนิด ขณะที่อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ในวันที่ 5 พบว่าเซลล์ในกลุ่มวัสดุกลาส

ไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดคัดแปลงด้วยเรซินมีอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม สอดคล้องกับการศึกษาของอุทัยวรรณ (2545) จากการศึกษาครั้งนี้จะเห็นได้ว่าถึงแม้ว่าวัสดุทั้งสองชนิดจะมีความเป็นพิษต่อเซลล์ แต่เซลล์เอ็นยิดปริทันต์ที่เลี้ยงร่วมกับวัสดุทั้งสองชนิดสามารถเพิ่มจำนวนได้เช่นเดียวกับกลุ่มควบคุม วัสดุทั้งสองชนิดไม่มีผลยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์ เซลล์ที่เลี้ยงร่วมกับวัสดุทั้งสองชนิดมีแนวโน้มที่สามารถเพิ่มจำนวนได้ตามปกติหรือมากกว่าปกติ โดยเฉพาะในวันที่ 5 ที่พบว่าเซลล์ในกลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดคัดแปลงด้วยเรซินมีอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ถึงแม้ว่าปริมาณเซลล์ที่สามารถยึดเกาะบนผิววัสดุเริ่มแรกจะมีปริมาณที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมก็ตาม ( $p < 0.05$ ) ความแตกต่างของปริมาณเซลล์ที่สามารถยึดเกาะบนผิววัสดุในวันที่ 1 อาจเป็นผลมาจากการที่วัสดุทั้งสองชนิดมีความเป็นพิษต่อเซลล์โดยตรงจากสารต่าง ๆ ที่ปล่อยออกมาทำให้เกิดการตายของเซลล์โดยตรง หรือเป็นผลจากการที่พื้นผิวของวัสดุไม่เอื้อต่อการยึดเกาะของเซลล์ในระยะแรก

จากผลการศึกษาที่ผ่านมาในอดีตพบว่าลักษณะของพื้นผิวของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมมีลักษณะที่เป็นพื้นผิวที่สามารถดูดซับน้ำเข้าสู่ผิววัสดุได้ (hydrophilic) (Knobloch และคณะ, 2000; Um และ Oilo, 1992) เช่นเดียวกับวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดคัดแปลงด้วยเรซิน (Yap และ Lee, 1997) ซึ่งการที่วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์สามารถดูดซับน้ำเข้าสู่พื้นผิวอาจทำให้มีการดูดซับเอาอาหารเลี้ยงเซลล์เข้าสู่ผิววัสดุ ซึ่งอาจส่งผลให้ความเป็นพิษต่อเซลล์ในบริเวณพื้นผิวมีการลดน้อยลงและพื้นผิวมีการเอื้อต่อการยึดเกาะของเซลล์มากยิ่งขึ้น ส่งผลให้เซลล์สามารถยึดเกาะและเจริญบนผิววัสดุได้ ส่วนความเป็นพิษต่อเซลล์อาจเป็นผลจากการที่วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมสามารถปล่อยกรดที่เหลือจากปฏิกิริยา ขณะที่วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดคัดแปลงด้วยเรซินนอกเหนือจากกรดแล้ว ยังสามารถปลดปล่อยเรซินโมโนเมอร์ที่เป็นส่วนประกอบได้แก่ ไฮดรอกซีเอทิลเมทาคริลเลต (hydroxyethyl methacrylate ; HEMA) (Geurtsen และคณะ, 1998; Oliva และคณะ, 1996) ทำให้ระดับความเป็นพิษต่อเซลล์ของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดคัดแปลงด้วยเรซินสูงกว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาที่ทำการศึกษาทั้งผลของสารสกัดจากวัสดุและผลเมื่อมีการสัมผัสกับเซลล์โดยตรง ซึ่งให้ผลพบว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดคัดแปลงด้วยเรซินมีความเป็นพิษสูงกว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Geurtsen *et al.*, 1998; Huang and Chang, 2002; Lan *et al.*, 2003; Oliva *et al.*, 1996) ทั้งสองปัจจัยอาจส่งผลให้พื้นผิววัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ทั้งสองชนิดในระยะแรกไม่เอื้อต่อการยึดเกาะของเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ แต่เมื่อเซลล์สามารถยึดเกาะได้แล้วเซลล์ก็สามารถที่จะเจริญได้ตามปกติหรือมากกว่าปกติ ซึ่งอาจส่งผลให้กระบวนการซ่อมแซมเนื้อเยื่อในบริเวณรอยทะลุเกิดได้ดียิ่งขึ้น

อย่างไรก็ตามความแตกต่างระหว่างอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ระหว่างกลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินกับกลุ่มควบคุมอาจเป็นผลจากการที่เซลล์ในกลุ่มควบคุมสามารถยึดเกาะบนผิวหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์ได้สูงกว่าการยึดเกาะบนผิววัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินรวมทั้งเซลล์ในกลุ่มควบคุมมีอัตราการเพิ่มจำนวนที่ต่อเนื่อง ส่งผลให้เซลล์สามารถเจริญจนครอบคลุมเนื้อที่ในหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์ได้เร็วกว่ากลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน อย่างไรก็ตามจากการวิจัยครั้งนี้สรุปได้ว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินไม่มีผลยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์เอ็นอีคปริทันต์ เซลล์ที่ยึดเกาะบนผิววัสดุทั้งสองชนิดมีแนวโน้มสามารถเพิ่มจำนวนได้ปกติหรือมากกว่าปกติ

เนื่องจากการอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็นการวัดในเชิงปริมาณที่พิจารณาเฉพาะจำนวนเซลล์ ซึ่งผลของวัสดุอาจมีผลต่อการทำงานของเซลล์ รวมทั้งอาจทำให้รูปร่างของเซลล์เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งการวัดด้วยวิธีเอ็มทีทีไม่สามารถบอกได้ ในการศึกษาครั้งนี้จึงมีการศึกษาลักษณะของเซลล์จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด เพื่อเปรียบเทียบลักษณะของเซลล์ที่เจริญบนพื้นผิววัสดุ จากผลการศึกษาพบว่าลักษณะของเซลล์ที่เจริญบนผิววัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินที่ระยะเวลาต่าง ๆ ไม่มีความแตกต่างกัน และไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุม เซลล์เอ็นอีคปริทันต์สามารถเจริญและเพิ่มจำนวนปกคลุมพื้นผิวของวัสดุเกิดเป็นชั้นเซลล์ได้ (monolayer) ผลการศึกษาที่ได้มีความสอดคล้องกับผลการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ สอดคล้องกับการศึกษาอื่นที่ผ่านมา (Caughman และคณะ 1990, Müller และคณะ 1990) แต่การศึกษาของ Lan และคณะ (2003) ซึ่งคุณลักษณะของเซลล์เนื้อเยื่อใน (pulp cells) เมื่อเลี้ยงร่วมกับวัสดุ จากกล้องจุลทรรศน์พบว่าเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปจากปกติเมื่อมีการเลี้ยงร่วมกับวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน ขณะที่การเลี้ยงเซลล์ร่วมกับกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมสามารถพบลักษณะของเซลล์ที่ปกติ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากวิธีการศึกษาที่แตกต่างกันซึ่งในรายงานนี้ทำการศึกษาโดยการดูผลของวัสดุภายหลังทิ้งไว้เพียง 1 ชั่วโมง หรืออาจเป็นผลจากชนิดของเซลล์ที่มีความแตกต่างกันระหว่างการศึกษ อย่างไรก็ตามในการศึกษาวิจัยครั้งนี้กล่าวได้ว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินเป็นวัสดุที่เซลล์เอ็นอีคปริทันต์สามารถยึดเกาะและเจริญเติบโตได้และมีลักษณะของเซลล์ที่ยึดเกาะบนผิววัสดุที่ปกติ โดยไม่พบความแตกต่างของลักษณะเซลล์ที่ยึดเกาะบนผิววัสดุระหว่างวัสดุทั้งสองชนิด

ไฟโบรเนกตินจัดเป็นเมทริกซ์นอกเซลล์ชนิดหนึ่งที่มีบทบาทในการยึดเกาะและการเคลื่อนที่ของเซลล์ เนื่องจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าไฟโบรเนกตินสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเจริญ (proliferation) ของเซลล์เอ็นอีคปริทันต์ และสามารถกระตุ้นให้มีการเคลื่อนที่ของเซลล์เอ็นอีคปริทันต์เข้าหาไฟโบรเนกติน (chemotaxis) โดยมีลักษณะขึ้นกับความเข้มข้นของ

ไฟโบรเนกติน (dose-dependent) (Kapila และคณะ, 1998) ในการวิจัยครั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบผลการวัดปริมาณไฟโบรเนกตินที่เซลล์เอ็นยิดปริทันต์ของมนุษย์สร้างขึ้นเพื่อใช้ในการยึดเกาะบนผิววัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินพบว่า ในวันที่ 1 และ 3 วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินสามารถกระตุ้นการหลั่งไฟโบรเนกตินได้มากกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม แต่ระดับไฟโบรเนกตินมีการลดลงในวันที่ 5 และเมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีนโดยรวมที่เซลล์ผลิตพบว่า วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมสามารถกระตุ้นการหลั่งโปรตีนจากเซลล์เอ็นยิดปริทันต์ได้มากกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน ผลการศึกษาที่ผ่านมาได้มีการศึกษาพบว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินสามารถยับยั้งหรือกระตุ้นการสร้างโปรตีนของเซลล์ได้ ซึ่งอาจเป็นผลจากสารต่าง ๆ ที่ถูกหลั่งออกมาจากวัสดุ (Caughman และคณะ, 1990; Snyder และคณะ, 1997; Consiglio และคณะ, 1998) ความสามารถในการกระตุ้นหรือยับยั้งการทำงานของเซลล์อาจเกี่ยวข้องกับชนิดของสารที่หลั่งออกมา ความเข้มข้นของสาร รวมทั้งผลของสารแต่ละชนิดที่มีผลแตกต่างกันไปในเซลล์แต่ละชนิด ทำให้ผลการศึกษาที่ผ่านมามีความแตกต่างกัน มีการศึกษาพบว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Vitremar<sup>®</sup>; 3M ESPE, USA) สามารถยับยั้งการสร้างโปรตีนได้มากกว่ากลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil; 3M ESPE, USA) (Consiglio และคณะ, 1998) ซึ่งขัดแย้งกับผลการวิจัยครั้งนี้ ทั้งนี้อาจเป็นผลจากวิธีการศึกษาที่แตกต่างกัน ตัวแปรที่ศึกษาแตกต่างกัน รวมทั้งชนิดของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินที่มีความแตกต่างกันทำให้องค์ประกอบแตกต่างกันตามบริษัทผู้ผลิต ทำให้ปริมาณสารที่ถูกหลั่งออกมาแตกต่างกันผลการศึกษาที่ได้จึงแตกต่างกัน ถึงแม้ว่าจะเป็นวัสดุในกลุ่มเดียวกันก็ตาม ที่ผ่านมามีการศึกษาพบว่าวัสดุฟูจิทูแอลซี (Fuji II LC<sup>®</sup>; GC, Japan) มีความเป็นพิษต่อเซลล์น้อยกว่าวัสดุวิทรีเมอร์ (Vitremar<sup>®</sup>; 3M ESPE, USA) (de Souza Costa และคณะ, 2003; Kan และคณะ, 1997) ถึงแม้ว่าวัสดุทั้งสองชนิดจัดเป็นกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินเหมือนกัน แต่กลับพบว่าวัสดุฟูจิทูแอลซีมีความเป็นพิษต่อเซลล์ใกล้เคียงกับวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Molar<sup>®</sup>; 3M ESPE, USA) (de Souza Costa และคณะ, 2003) สารที่ถูกปล่อยออกมาจากวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินมีปริมาณลดลงหรือได้รับการเจือจางภายหลังได้รับการแช่ ทำให้สามารถกระตุ้นการทำงานของเซลล์ (Snyder และคณะ, 1997) วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินอาจมีผลต่อเซลล์ในระดับที่สามารถกระตุ้นการหลั่งไฟโบรเนกตินทำให้เซลล์มีการตอบสนองเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ในระยะแรก และเมื่อเข้าสู่วันที่ 5 เซลล์มีการเปลี่ยนการตอบสนองโดยมีการสร้างโปรตีนอื่นที่จำเป็น ซึ่งอาจต้องมีการศึกษาต่อไป ขณะที่กลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมพบว่าสามารถกระตุ้นการสร้างโปรตีนโดยรวมได้มากกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์

ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินแต่พบไฟโบรเนกตินในระดับที่ต่ำกว่า อาจเป็นเพราะว่าเซลล์มีการตอบสนองโดยการสร้างโปรตีนอื่นมากกว่าไฟโบรเนกติน ซึ่งอาจต้องมีการศึกษาต่อไปเพื่อหาคำตอบ อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาวิจัยครั้งนี้พบว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินมีแนวโน้มกระตุ้นการเพิ่มการหลั่งไฟโบรเนกตินมากกว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม ซึ่งมีผลดีต่อการส่งเสริมการยึดเกาะของเซลล์เพื่อซ่อมแซมส่วนของเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายไป แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นเพียงการศึกษาผลของวัสดุทั้งสองชนิดต่อเซลล์เอ็นดอทีลียัลของมนุษย์ในระยะสั้นเท่านั้น จึงควรมีการศึกษาต่อไปในระยะยาวต่อไปเพื่อพิจารณาถึงผลของวัสดุทั้งสองชนิดต่อเซลล์ในระยะยาวว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่ รวมทั้งอาจต้องมีการศึกษาโปรตีนชนิดอื่น ๆ เพื่อศึกษาการตอบสนองของเซลล์

ความสามารถในการหลั่งเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสจัดเป็นเกณฑ์ที่ใช้ในการประเมินคุณสมบัติในการสร้างเนื้อเยื่อแข็งของเซลล์ในห้องปฏิบัติการ (Arceo และคณะ, 1991) ซึ่งแสดงถึงบทบาทของเซลล์ยึดปริทันต์ต่อการหายของกระดูก (Arceo และคณะ, 1991; McCulloch และ Bordin, 1991; McCulloch, 1995) การมีระดับการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเพิ่มขึ้นแสดงว่าเซลล์เพาะเลี้ยงจากเซลล์เอ็นดอทีลียัลปริทันต์ของมนุษย์สามารถดิฟเฟอเรนทิเอทไปเป็นเซลล์ที่สร้างเนื้อเยื่อแข็งได้ จากผลการวิจัยครั้งนี้พบว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินมีการตอบสนองโดยมีค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ ในช่วง 1 – 3 วันแรก แต่มีการเพิ่มค่าการทำงานของเอ็นไซม์อย่างรวดเร็วในวันที่ 5 อย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้อาจเนื่องจากในช่วงแรกเซลล์ที่เพาะเลี้ยงร่วมกับวัสดุทั้งสองชนิดยังไม่เกิดการดิฟเฟอเรนทิเอทของเซลล์เอ็นดอทีลียัลปริทันต์ไปเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่สร้างเนื้อเยื่อแข็ง แต่เซลล์มีการตอบสนองโดยมีการเพิ่มจำนวนเซลล์ มีการสร้างไฟโบรเนกตินเพื่อช่วยในการยึดเกาะ เพิ่มจำนวนเซลล์บนพื้นผิววัสดุทั้งสองชนิด หลังจากนั้นจึงเกิดการดิฟเฟอเรนทิเอทของเซลล์เพื่อสร้างเนื้อเยื่อแข็งภายหลัง จึงพบระดับค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสสูงขึ้นในวันที่ 5 ของการศึกษา และไม่มี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสระหว่างกลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและกลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน ตลอดช่วงเวลาศึกษา แต่ถ้าเทียบกับจำนวนเซลล์ระหว่างวัสดุทั้งสองชนิดในวันที่ 5 จากการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีเอ็มทีที ดูเหมือนว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินซึ่งมีจำนวนเซลล์น้อยกว่าแต่สามารถให้ระดับการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่ไม่แตกต่างกับกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม อาจกล่าวได้ว่ากลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินมีแนวโน้มสามารถกระตุ้นการทำงานของเซลล์เอ็นดอทีลียัลปริทันต์ของมนุษย์ให้มีค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสได้สูงกว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม สอดคล้องกับการศึกษาของ (Chen และคณะ, 2002) ซึ่งพบว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิด



ดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC<sup>®</sup> ; GC, Japan) มีความเป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อใน (pulp cells) มากกว่ากลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Fuji II<sup>®</sup> ; GC, Japan) แต่กลับพบว่าเซลล์ที่เพาะเลี้ยงร่วมกับกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินมีค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสสูงกว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม ทั้งนี้อาจจะต้องมีการศึกษาต่อไปในอนาคตถึงผลของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ทั้งสองชนิดต่อการหลั่งสารต่าง ๆ ที่มีผลต่อการสร้างเนื้อเยื่อแข็งชนิดอื่น ๆ ต่อไป เพื่อยืนยันหรือทำความเข้าใจในกระบวนการสร้างเนื้อเยื่อแข็งมากยิ่งขึ้น

โดยสรุปแล้วจากการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาค้นคว้าการตอบสนองของเซลล์เอ็นดอทีลียัลปริทันต์เมื่อมีการสัมผัสกันโดยตรงกับผิววัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินพบว่า ภายหลังจากผสมวัสดุทั้งสองชนิดมีความเป็นพิษต่อเซลล์ที่สูง แต่ระดับความเป็นพิษต่อเซลล์มีการลดลงภายหลังการแช่วัสดุ และเมื่อเซลล์สามารถยึดเกาะบนผิววัสดุทั้งสองชนิดได้แล้ว เซลล์สามารถเจริญและเพิ่มจำนวนได้ โดยวัสดุทั้งสองชนิดไม่มีผลยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ แต่พบว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินสามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ได้มากกว่าปกติ และเมื่อทำการการศึกษาลักษณะของเซลล์ที่ยึดเกาะบนผิววัสดุทั้งสองชนิดพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน และไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมเมื่อพิจารณาระดับไฟโบรเนกตินพบว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินสามารถกระตุ้นการหลั่งไฟโบรเนกตินได้มากกว่ากลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม และจากผลการวัดค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่าวัสดุทั้งสองชนิดมีผลลดการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสระหว่างกลุ่มวัสดุทั้งสองชนิด วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงมีแนวโน้มในการเพิ่มค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสมากกว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม

### สรุปผลการวิจัย

1. จากการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่าความเป็นพิษต่อเซลล์เอ็นซีดีปริทันต์ของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินภายหลังผสมเสร็จใหม่ ๆ วัสดุทั้งสองชนิดมีความเป็นพิษต่อเซลล์ที่สูง แต่ระดับความเป็นพิษต่อเซลล์มีการลดลงภายหลังการแช่วัสดุ
2. วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินไม่มีผลยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์เอ็นซีดีปริทันต์ของมนุษย์ เซลล์ที่ยึดเกาะบนผิววัสดุทั้งสองชนิดมีแนวโน้มสามารถเพิ่มจำนวนได้ไม่แตกต่างกัน
3. วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินเป็นวัสดุที่เซลล์เอ็นซีดีปริทันต์สามารถยึดเกาะและเจริญเติบโตได้ และมีลักษณะของเซลล์ที่ยึดเกาะบนผิววัสดุที่ปกติ โดยไม่พบความแตกต่างของลักษณะเซลล์ที่ยึดเกาะบนผิววัสดุระหว่างวัสดุทั้งสองชนิด
4. วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินมีแนวโน้มกระตุ้นการเพิ่มการหลั่งไฟโบรเนกตินจากเซลล์เอ็นซีดีปริทันต์ของมนุษย์ได้มากกว่ากลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม
5. ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่างค่าการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในกลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน แต่วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินมีแนวโน้มกระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสมากกว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมเมื่อเทียบต่อจำนวนเซลล์

### ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการ ซึ่งมีสถานะที่แตกต่างจากสภาวะจริงในร่างกายที่มีเซลล์มากมายหลายชนิดมาทำงานร่วมกัน ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาในห้องปฏิบัติการอื่น ๆ และการตอบสนองในสิ่งมีชีวิตเพิ่มเติมต่อไป
2. ผลการวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาที่ได้จากตัวแทนของวัสดุ 2 ชนิดจากผู้ผลิตแต่ละราย ไม่มีการเปรียบเทียบผลระหว่างวัสดุในกลุ่มเดียวกันจากบริษัทผู้ผลิตที่ต่างกัน ซึ่งการตอบสนองของเซลล์ต่อวัสดุชนิดเดียวกันในแต่ละบริษัทอาจมีความแตกต่างกัน จึงควรมีการศึกษาเปรียบเทียบถึงผลของวัสดุในกลุ่มเดียวกันจากแต่ละบริษัทเพิ่มเติมต่อไป

3. ผลการวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาผลของวัสดุสองชนิดต่อเซลล์ภายในระยะเวลาสั้นเท่านั้น จึงควรมีการศึกษาถึงผลของวัสดุทั้งสองชนิดต่อเซลล์ในระยะยาวเพื่อดูการตอบสนองของเซลล์ที่เกิดขึ้นในระยะยาว
4. การศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นเพียงข้อมูลเบื้องต้น ที่จะใช้เป็นแนวทางในการศึกษาวิจัยต่อไปในอนาคตเพื่อหาข้อสรุปที่ชัดเจนต่อไป เช่น ศึกษาตัวชี้วัดอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการหายของเนื้อเยื่อปริทันต์เพิ่มเติม



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## รายการอ้างอิง

- อุทัยวรรณ อารยะตระกูลลิขิต. 2545. การศึกษาเปรียบเทียบผลของวัสดุเอนิเมที่เอบกับวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ชนิดคัดแปลงด้วยเรซินต่อเซลล์เพาะเลี้ยงจากเอ็นอีคปริทันต์ของมนุษย์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ. ภาควิชาทันตกรรมหัตถการ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- Alhadainy, H. A. , and Himel, V. T. 1993. Evaluation of the sealing ability of amalgam, Cavit, and glass ionomer cement in the repair of furcation perforations. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 75(3): 362-6.
- Alhadainy, H. A. 1994. Root perforations. A review of literature. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 78(3): 368-74.
- Arceo, N. , Sauk, J. J. , Moehring, J. , Foster, R. A. , and Somerman, M. J. 1991. Human periodontal cells initiate mineral-like nodules in vitro. J Periodontol 62(8): 499-503.
- Blackman, R. , Gross, M. , and Seltzer, S. 1989. An evaluation of the biocompatibility of a glass ionomer-silver cement in rat connective tissue. J Endod 15(2): 76-9.
- Breault, L. G. , Fowler, E. B. , and Primack, P. D. 2000. Endodontic perforation repair with resin-ionomer: a case report. J Contemp Dent Pract 1(4): 48-59.
- Caffesse, R. G. , and Quinones, C. R. 1993. Polypeptide growth factors and attachment proteins in periodontal wound healing and regeneration. Periodontol 2000 1(1): 69-79.
- Caughman, W. F. , Caughman, G. B. , Dominy, W. T. , and Schuster, G. S. 1990. Glass ionomer and composite resin cements: effect on oral cells. J Prosthet Dent 63(5): 513-21.
- Chen, C. C. , Chen, R. C. , and Huang, S. T. 2002. Enzymatic responses of human deciduous pulpal fibroblasts to dental restorative materials. J Biomed Mater Res 60(3): 452-7.

- Chong, B. S. , Ford, T. R. , and Kariyawasam, S. P. 1997a. Tissue response to potential root-end filling materials in infected root canals. Int Endod J 30(2): 102-14.
- Chong, B. S. , Pitt Ford, T. R. , and Kariyawasam, S. P. 1997b. Short-term tissue response to potential root-end filling materials in infected root canals. Int Endod J 30(4): 240-9.
- Consiglio, R. , et al. 1998. Inhibition by glass-ionomer cements of protein synthesis by human gingival fibroblasts in continuous culture. Arch Oral Biol 43(1): 65-71.
- Creanor, S. L. , et al. 1994. Fluoride uptake and release characteristics of glass ionomer cements. Caries Res 28(5): 322-8.
- De Bruyne, M. A. , and De Moor, R. J. 2004. The use of glass ionomer cements in both conventional and surgical endodontics. Int Endod J 37(2): 91-104.
- De Souza Costa, C. A. , Hebling, J. , Garcia-Godoy, F. , and Hanks, C. T. 2003. In vitro cytotoxicity of five glass-ionomer cements. Biomaterials 24(21): 3853-8.
- Duprez, J. P. , Bouvier, D. , and Bittar, E. 2004. Infected immature teeth treated with surgical endodontic treatment and root-reinforcing technique with glass ionomer cement. Dent Traumatol 20(4): 233-40.
- Friedman, S. 1991. Retrograde approaches in endodontic therapy. Dent Traumatol 7(3): 97-107.
- Fuss, Z. , and Trope, M. 1996. Root perforations: classification and treatment choices based on prognostic factors. Endod Dent Traumatol 12(6): 255-64.
- Forss, H. 1993. Release of fluoride and other elements from light-cured glass ionomers in neutral and acidic conditions. J Dent Res 72(8): 1257-62.
- Gartner, H. , and Dorn, O. 1992. Advances in endodontic surgery. Dent Clin North Am 36: 357-78.

- Geurtsen, W. , Spahl, W. , and Leyhausen, G. 1998. Residual monomer/additive release and variability in cytotoxicity of light-curing glass-ionomer cements and compomers. J Dent Res 77(12): 2012-9.
- Giannopoulou, C. , and Cimasoni, G. 1996. Functional characteristics of gingival and periodontal ligament fibroblasts. J Dent Res 75(3): 895-902.
- Goon, W. W. , and Lundergan, W. P. 1995. Redemption of a perforated furcation with a multidisciplinary treatment approach. J Endod 21(11): 576-9.
- Heithersay, G. S. , Dahlstrom, S. W. , and Marin, P. D. 1994. Incidence of invasive cervical resorption in bleached root-filled teeth. Aust Dent J 39(2): 82-7.
- Heithersay, G. S. 1999a. Invasive cervical resorption: an analysis of potential predisposing factors. Quintessence Int 30(2): 83-95.
- Heithersay, G. S. 1999b. Treatment of invasive cervical resorption: an analysis of results using topical application of trichloroacetic acid, curettage, and restoration. Quintessence Int 30(2): 96-110.
- Himel, V. T. , and Alhadainy, H. A. 1995. Effect of dentin preparation and acid etching on the sealing ability of glass ionomer and composite resin when used to repair furcation perforations over plaster of Paris barriers. J Endod 21(3): 142-5.
- Huang, F. M. , and Chang, Y. C. 2002. Cytotoxicity of resin-based restorative materials on human pulp cell cultures. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 94(3): 361-5.
- Huang, F. M. , et al. 2002. Resinous perforation-repair materials inhibit the growth, attachment, and proliferation of human gingival fibroblasts. J Endod 28(4): 291-4.
- Ingle, J. I. 1961. A standardized endodontic technique utilizing newly designed instruments and filling materials. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 14: 83-91.

- Jesslen, P. , Zetterqvist, L. , and Heimdahl, A. 1995. Long-term results of amalgam versus glass ionomer cement as apical sealant after apicectomy. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 79(1): 101-3.
- Kan, K. C. , Messer, L. B. , and Messer, H. H. 1997. Variability in cytotoxicity and fluoride release of resin-modified glass-ionomer cements. J Dent Res 76(8): 1502-7.
- Kapila, Y. L. , Lancero, H. , and Johnson, P. W. 1998. The response of periodontal ligament cells to fibronectin. J Periodontol 69(9): 1008-19.
- Kawahara, H. , Imanishi, Y. , and Oshima, H. 1979. Biological evaluation on glass ionomer cement. J Dent Res 58(3): 1080-6.
- Knobloch, L. A. , Kerby, R. E. , McMillen, K. , and Clelland, N. 2000. Solubility and sorption of resin-based luting cements. Oper Dent 25(5): 434-40.
- Kolokuris, I. , Beltes, P. , Economides, N. , and Vlemmas, I. 1996. Experimental study of the biocompatibility of a new glass-ionomer root canal sealer (Ketac-Endo). J Endod 22(8): 395-8.
- Lan, W. H. , et al. 2003. Cytotoxicity of conventional and modified glass ionomer cements. Oper Dent 28(3): 251-9.
- Leyhausen, G. , et al. 1998. Biocompatibility of various light-curing and one conventional glass-ionomer cement. Biomaterials 19(6): 559-64.
- Lonnroth, E. C. , and Dahl, J. E. 2001. Cytotoxicity of dental glass ionomers evaluated using dimethylthiazol diphenyltetrazolium and neutral red tests. Acta Odontol Scand 59(1): 34-9.
- Makkawy, H. A. , Koka, S. , Lavin, M. T. , and Ewoldsen, N. O. 1998. Cytotoxicity of root perforation repair materials. J Endod 24(7): 477-9.

- Mathis, R. S. , and Ferracane, J. L. 1989. Properties of a glass-ionomer/resin-composite hybrid material. Dent Mater 5(5): 355-8.
- Matsuura, M. , et al. 1995. Immunohistochemical expression of extracellular matrix components of normal and healing periodontal tissues in the beagle dog. J Periodontol 66(7): 579-93.
- McCabe, J. F. 1998. Resin-modified glass-ionomers. Biomaterials 19(6): 521-7.
- McCulloch, C. A. , and Bordin, S. 1991. Role of fibroblast subpopulations in periodontal physiology and pathology. J Periodontal Res 26(3 Pt 1): 144-54.
- McCulloch, C. A. 1995. Origins and functions of cells essential for periodontal repair: the role of fibroblasts in tissue homeostasis. Oral Dis 1(4): 271-8.
- Melcher, A. H. 1976. On the repair potential of periodontal tissues. J Periodontol 47(5): 256-60.
- Meyer, J. M. , Cattani-Lorente, M. A. , and Dupuis, V. 1998. Compomers: between glass-ionomer cements and composites. Biomaterials 19(6): 529-39.
- Mitra, S. B. 1991. Adhesion to dentin and physical properties of a light-cured glass-ionomer liner/base. J Dent Res 70(1): 72-4.
- Mount, G. J. 1994. Buonocore Memorial Lecture. Glass-ionomer cements: past, present and future. Oper Dent 19(3): 82-90.
- Müller, J. , Bruckner, G. , Kraft, E. , and Hürz, W. 1990. Reaction of cultured pulp cells to eight different cements based on glass ionomers. Dent Mater 6(7): 172-7.
- Nair, P. N. , Sjogren, U. , Figdor, D. , and Sundqvist, G. 1999. Persistent periapical radiolucencies of root-filled human teeth, failed endodontic treatments, and periapical scars. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 87(5): 617-27.



- Nicholson, J. W. 1998. Chemistry of glass-ionomer cements: a review. Biomaterials 19(6): 485-94.
- Oliva, A. , et al. 1996. Biocompatibility studies on glass ionomer cements by primary cultures of human osteoblasts. Biomaterials 17(13): 1351-6.
- Palmer, G. , Anstice, H. M. , and Pearson, G. J. 1999. The effect of curing regime on the release of hydroxyethyl methacrylate (HEMA) from resin-modified glass-ionomer cements. J Dent 27(4): 303-11.
- Ruoslahti, E. 1981. Fibronectin. J Oral Pathol 10(1): 3-13.
- Smith, D. C. 1990. Composition and characteristics of glass ionomer cements. J Am Dent Assoc 120(1): 20-2.
- Smith, D. C. 1998. Development of glass-ionomer cement systems. Biomaterials 19(6): 467-78.
- Snyder, W. R. , Hoover, J. , Khoury, R. , and Farach-Carson, M. C. 1997. Effect of agents used in perforation repair on osteoblastic cells. J Endod 23(3): 158-61.
- Somerman, M. J. , Foster, R. A. , Imm, G. M. , Sauk, J. J. , and Archer, S. Y. 1989. Periodontal ligament cells and gingival fibroblasts respond differently to attachment factors in vitro. J Periodontol 60(2): 73-7.
- Tai, K. W. , and Chang, Y. C. 2000. Cytotoxicity evaluation of perforation repair materials on human periodontal ligament cells in vitro. J Endod 26(7): 395-7.
- Talonpoika, J. , Paunio, K. , and Soderling, E. 1993. Molecular forms and concentration of fibronectin and fibrin in human gingival crevicular fluid before and after periodontal treatment. Scand J Dent Res 101(6): 375-81.

- Tassery, H. , Remusat, M. , Koubi, G. , and Pertot, W. J. 1997. Comparison of the intraosseous biocompatibility of Vitremer and super EBA by implantation into the mandible of rabbits. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 83(5): 602-8.
- Um, C. M. , and Oilo, G. 1992. The effect of early water contact on glass-ionomer cements. Quintessence Int 23(3): 209-14.
- Wilson, A. D. , and Kent, B. E. 1972. A new translucent cement for dentistry. The glass ionomer cement. Br Dent J 132(4): 133-5.
- 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): 557-60.
- Yap, A. , and Lee, C. M. 1997. Water sorption and solubility of resin-modified polyalkenoate cements. J Oral Rehabil 24(4): 310-4.
- Zetterqvist, L. , Anneroth, G. , and Nordenram, A. 1987. Glass-ionomer cement as retrograde filling material. An experimental investigation in monkeys. Int J Oral Maxillofac Surg 16(4): 459-64.
- Zetterqvist, L. , Hall, G. , and Holmlund, A. 1991. Apicectomy: a comparative clinical study of amalgam and glass ionomer cement as apical sealants. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 71(4): 489-91.
- Zmener, O. , and Dominguez, F. V. 1983. Tissue response to a glass ionomer used as an endodontic cement. A preliminary study in dogs. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 56(2): 198-205.



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางแสดงข้อมูลผลการวัดความเป็นพิษต่อเซลล์เอ็นดีปรีทันต์ของมนุษย์ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงด้วยวิธีเอ็มทีที ภายหลังการหว่านเซลล์บนวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินที่ผสมเสร็จใหม่ ๆ

	<b>0D 1</b>	<b>0D 2</b>	<b>0D 3</b>	<b>mean C</b>	<b>%</b>	<b>SD</b>
<b>control</b>	0.390	0.325	0.287	0.334	100.00	0.052
<b>CGIC</b>	0.028	0.041	0.023	0.031	9.28	0.009
<b>RMGIC</b>	0.019	0.017	0.021	0.019	5.69	0.002

- Control = กลุ่มควบคุม คือ การเลี้ยงเซลล์ในหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์
- CGIC = กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil<sup>®</sup>; 3M ESPE, USA)
- RMGIC = กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC<sup>®</sup>; GC, Japan)

ตารางแสดงข้อมูลผลการวัดความเป็นพิษต่อเซลล์เอ็นยิตปริทันต์ของมนุษย์ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงด้วยวิธีเอ็มทีที ภายหลังจากหว่านเซลล์บนวัสดุกลาส ไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินที่ได้รับการแช่ในอาหารเลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 1, 3, 5 และ 7 วัน

ผลการวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ภายหลังจากแช่วัสดุทั้งสองชนิดเป็นระยะเวลา 1, 3, 5 และ 7 วัน ด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay)

กลุ่มศึกษา	OD.									OD. เฉลี่ย	SD	cell number (%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9			
control	0.650	0.632	0.655	0.667	0.683	0.637	0.640	0.646	0.647	0.651	0.016	100.00
CGIC 7 day	0.449	0.498	0.511							0.486	0.033	74.68
CGIC 5 day	0.505	0.456	0.491							0.484	0.025	74.37
CGIC 3 day	0.312	0.444	0.393							0.383	0.067	58.85
CGIC 1 day	0.372	0.428	0.408							0.403	0.028	61.87
RMGIC 7 day	0.380	0.350	0.321							0.350	0.030	53.83
RMGIC 5 day	0.341	0.333	0.292							0.322	0.026	49.48
RMGIC 3 day	0.317	0.377	0.330							0.341	0.032	52.45
RMGIC 1 day	0.259	0.236	0.253							0.249	0.012	38.31

Control = กลุ่มควบคุม คือ การเลี้ยงเซลล์ในหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์

CGIC 7 days = กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil<sup>®</sup>; 3M ESPE, USA) ที่ได้รับการแช่เป็นระยะเวลา 7 วัน

CGIC 5 days = กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil<sup>®</sup>; 3M ESPE, USA) ที่ได้รับการแช่เป็นระยะเวลา 5 วัน

CGIC 3 days = กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil<sup>®</sup>; 3M ESPE, USA) ที่ได้รับการแช่เป็นระยะเวลา 3 วัน

CGIC 1 day = กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil<sup>®</sup>; 3M ESPE, USA) ที่ได้รับการแช่เป็นระยะเวลา 1 วัน

RMGIC 7 days = กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC<sup>®</sup>; GC, Japan) ที่ได้รับการแช่เป็นระยะเวลา 7 วัน

RMGIC 5 days = กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC<sup>®</sup>; GC, Japan) ที่ได้รับการแช่เป็นระยะเวลา 5 วัน

RMGIC 3 days = กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC<sup>®</sup>; GC, Japan) ที่ได้รับการแช่เป็นระยะเวลา 3 วัน

RMGIC 1 day = กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC<sup>®</sup>; GC, Japan) ที่ได้รับการแช่เป็นระยะเวลา 1 วัน

ตารางแสดงข้อมูลผลการวัดความเป็นพิษต่อเซลล์เอ็นดีทีปริทันต์ของมนุษย์ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงด้วยวิธีเอ็มทีที ภายหลังจากการหว่านเซลล์บนวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินที่ได้รับการแช่ในอาหารเลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 7, 10 และ 12 วัน

	OD 1	OD 2	OD 3	OD 4	OD 5	OD 6	OD เฉลี่ย	SD	% OD
<b>control = control</b>	0.676	0.659	0.674	0.638	0.624	0.640	0.652	0.021	100.00
<b>CGIC 7 days</b>	0.520	0.477	0.460				0.486	0.031	74.52
<b>CGIC 10 days</b>	0.503	0.539	0.476				0.506	0.032	77.64
<b>CGIC 12 days</b>	0.539	0.530	0.431				0.500	0.060	76.78
<b>RMGIC 7 days</b>	0.376	0.370	0.356				0.367	0.010	56.37
<b>RMGIC 10 days</b>	0.366	0.408	0.355				0.376	0.028	57.76
<b>RMGIC 12 days</b>	0.394	0.387	0.378				0.386	0.008	59.29

Control = กลุ่มควบคุม คือ การเลี้ยงเซลล์ในหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์

CGIC 7 days = กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil<sup>®</sup>; 3M ESPE, USA) ที่ได้รับการแช่เป็นระยะเวลา 7 วัน

CGIC 10 days = กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil<sup>®</sup>; 3M ESPE, USA) ที่ได้รับการแช่เป็นระยะเวลา 10 วัน

CGIC 12 days = กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil<sup>®</sup>; 3M ESPE, USA) ที่ได้รับการแช่เป็นระยะเวลา 12 วัน

RMGIC 7 days = กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC<sup>®</sup>; GC, Japan) ที่ได้รับการแช่เป็นระยะเวลา 7 วัน

RMGIC 10 days = กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC<sup>®</sup>; GC, Japan) ที่ได้รับการแช่เป็นระยะเวลา 10 วัน

RMGIC 12 days = กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC<sup>®</sup>; GC, Japan) ที่ได้รับการแช่เป็นระยะเวลา 12 วัน

ตารางแสดงผลการวัดอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay) ภายหลังจากเข้วัสดุทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 7 วัน  
และเลี้ยงเซลล์ร่วมกับวัสดุเป็นระยะเวลา 1, 3 และ 5 วัน

Group	OD.				OD.				OD.			
	1	2	3	mean 1 d	1	2	3	mean 3 d	1	2	3	mean 5 d
<b>line 1</b>												
control	0.530	0.533	0.518	0.527	1.095	1.086	1.083	1.088	1.860	1.811	1.885	1.852
CGIC	0.421	0.416	0.413	0.417	0.856	0.809	0.849	0.838	1.510	1.501	1.503	1.505
RMGIC	0.369	0.341	0.358	0.356	0.664	0.694	0.685	0.681	1.297	1.286	1.301	1.295

Group	OD.				OD.				OD.			
	1	2	3	mean 1 d	1	2	3	mean 3 d	1	2	3	mean 5 d
<b>line 2</b>												
control	0.510	0.514	0.509	0.511	1.046	1.053	1.047	1.049	1.719	1.728	1.691	1.713
CGIC	0.405	0.398	0.407	0.403	0.823	0.859	0.884	0.855	1.492	1.496	1.503	1.497
RMGIC	0.313	0.329	0.315	0.319	0.652	0.702	0.661	0.672	1.287	1.269	1.205	1.254

Group	OD.				OD.				OD.			
	1	2	3	mean 1 d	1	2	3	mean 3 d	1	2	3	mean 5 d
<b>line 3</b>												
control	0.498	0.510	0.496	0.501	0.984	0.986	0.989	0.986	1.645	1.544	1.683	1.624
CGIC	0.411	0.404	0.397	0.404	0.809	0.795	0.846	0.817	1.497	1.458	1.449	1.468
RMGIC	0.331	0.343	0.329	0.334	0.694	0.679	0.683	0.685	1.254	1.289	1.265	1.269

Group	จำนวนเซลล์วันที่ 1				จำนวนเซลล์วันที่ 3				จำนวนเซลล์วันที่ 5			
	line 1	line 2	line 3	mean 1 d	line 1	line 2	line 3	mean 3 d	line 1	line 2	line 3	mean 5 d
<b>total</b>												
control	36309.149	35126.052	34411.264	35282.155	77791.500	74883.053	70273.903	74316.152	134284.399	123981.593	117425.262	125230.418
CGIC	28150.707	27164.793	27214.088	27509.863	59305.604	60587.293	57728.141	59207.013	108601.328	108034.427	105890.063	107508.606
RMGIC	23664.796	20928.884	22062.685	22218.788	47696.461	47006.321	48016.884	47573.222	93073.175	90041.488	91199.937	91438.200

คำนวณหาจำนวนเซลล์จากสมการ  $cells = (73943.585 \times OD) - 2659.120$  (สมการได้จากค่า OD ที่ทราบจำนวนเซลล์)

ผลการวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ในวันที่ 3 และวันที่ 5

Group	อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ในวันที่ 3 (ร้อยละ)					อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ในวันที่ 5 (ร้อยละ)				
	line 1	line 2	line 3	mean 3 d	STD	line 1	line 2	line 3	mean 5 d	STD
control	114.248	113.184	104.218	110.550	5.51	72.621	65.567	67.097	68.428	3.71
CGIC	110.672	123.036	112.126	115.278	6.76	83.122	78.312	83.429	81.621	2.87
RMGIC	101.550	124.600	117.638	114.596	11.82	95.136	91.552	89.933	92.207	2.66

การวัดอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์คำนวณจากสูตร

$$\text{อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ในวันที่ 3} = \frac{(\text{จำนวนเซลล์ในวันที่ 3} - \text{จำนวนเซลล์ในวันที่ 1})}{\text{จำนวนเซลล์ในวันที่ 1}} \times 100 \quad \text{ร้อยละ}$$

$$\text{อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ในวันที่ 5} = \frac{(\text{จำนวนเซลล์ในวันที่ 5} - \text{จำนวนเซลล์ในวันที่ 3})}{\text{จำนวนเซลล์ในวันที่ 3}} \times 100 \quad \text{ร้อยละ}$$

Control = กลุ่มควบคุม คือการเลี้ยงเซลล์ในหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์

CGIC = กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil<sup>®</sup>; 3M ESPE, USA) ที่ได้รับการแช่เป็นระยะเวลา 7 วัน

RMGIC = กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC<sup>®</sup>; GC, Japan) ที่ได้รับการแช่เป็นระยะเวลา 7 วัน



ผลการวัดค่าการทำงานของเอ็มไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส  
(นาโนโมลาร์/ไมโครกรัมโปรตีน/นาที)

Group	ALP activity วันที่ 1				ALP activity วันที่ 3				ALP activity วันที่ 5			
	line 1	line 2	line 3	mean 1 d	line 1	line 2	line 3	mean 3 d	line 1	line 2	line 3	mean 5 d
control	4.418	4.728	4.509	4.552	5.758	5.649	5.611	5.673	6.777	6.906	6.687	6.790
CGIC	3.515	3.353	3.484	3.450	3.531	3.461	3.651	3.548	5.260	4.833	5.260	5.117
RMGIC	3.219	3.283	3.371	3.291	3.118	3.632	3.583	3.445	4.635	4.679	5.005	4.773

Control = กลุ่มควบคุม คือการเลี้ยงเซลล์ในหลุมสำหรับเลี้ยงเซลล์

CGIC = กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิม (Ketac - Fil<sup>®</sup>; 3M ESPE, USA)

RMGIC = กลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน (Fuji II LC<sup>®</sup>; GC, Japan)

### การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ SPSS

#### 1. การศึกษาผลของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินต่ออัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์

##### Descriptive Statistics

Dependent Variable: growth rate %

test group	Mean	Std. Deviation	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
control 3 days	110.550	5.509418	102.514	118.586
control 5 days	68.428	3.710669	60.392	76.465
CGIC 3 days	115.278	6.757844	107.242	123.314
CGIC 5 days	81.621	2.869786	73.585	89.657
RMGIC 3 days	114.596	11.822265	106.560	122.632
RMGIC 5 days	92.207	2.662625	84.171	100.243

##### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: growth rate %

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	5709.169(a)	5	1141.834	27.977	.000
Intercept	169758.185	1	169758.185	4159.340	.000
GROUPS	5709.169	5	1141.834	27.977	.000
Error	489.765	12	40.814		
Total	175957.120	18			
Corrected Total	6198.934	17			

a. R Squared = .921 (Adjusted R Squared = .888)

control 3 days = อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์กลุ่มควบคุมในวันที่ 3

control 5 days = อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์กลุ่มควบคุมในวันที่ 5

CGIC 3 days = อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์กลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมในวันที่ 3

CGIC 5 days = อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์กลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมในวันที่ 5

RMGIC 3 days = อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์กลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน  
ในวันที่ 3

RMGIC 5 days = อัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์กลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซิน  
ในวันที่ 5

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: growth rate %  
Scheffe

(I) test group	(J) test group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
control 3 days	control 5 days	42.12167(*)	5.216240	.000	21.56586	62.67747
	CGIC 3 days	-4.72800	5.216240	.971	-25.28381	15.82781
	CGIC 5 days	28.92900(*)	5.216240	.005	8.37319	49.48481
	RMGIC 3 days	-4.04600	5.216240	.985	-24.60181	16.50981
	RMGIC 5 days	18.34300	5.216240	.092	-2.21281	38.89881
control 5 days	control 3 days	-42.12167(*)	5.216240	.000	-62.67747	-21.56586
	CGIC 3 days	-46.84967(*)	5.216240	.000	-67.40547	-26.29386
	CGIC 5 days	-13.19267	5.216240	.335	-33.74847	7.36314
	RMGIC 3 days	-46.16767(*)	5.216240	.000	-66.72347	-25.61186
	RMGIC 5 days	-23.77867(*)	5.216240	.020	-44.33447	-3.22286
CGIC 3 days	control 3 days	4.72800	5.216240	.971	-15.82781	25.28381
	control 5 days	46.84967(*)	5.216240	.000	26.29386	67.40547
	CGIC 5 days	33.65700(*)	5.216240	.001	13.10119	54.21281
	RMGIC 3 days	.68200	5.216240	1.000	-19.87381	21.23781
	RMGIC 5 days	23.07100(*)	5.216240	.025	2.51519	43.62681
CGIC 5 days	control 3 days	-28.92900(*)	5.216240	.005	-49.48481	-8.37319
	control 5 days	13.19267	5.216240	.335	-7.36314	33.74847
	CGIC 3 days	-33.65700(*)	5.216240	.001	-54.21281	-13.10119
	RMGIC 3 days	-32.97500(*)	5.216240	.002	-53.53081	-12.41919
	RMGIC 5 days	-10.58600	5.216240	.556	-31.14181	9.96981
RMGIC 3 days	control 3 days	4.04600	5.216240	.985	-16.50981	24.60181
	control 5 days	46.16767(*)	5.216240	.000	25.61186	66.72347
	CGIC 3 days	-.68200	5.216240	1.000	-21.23781	19.87381
	CGIC 5 days	32.97500(*)	5.216240	.002	12.41919	53.53081
	RMGIC 5 days	22.38900(*)	5.216240	.030	1.83319	42.94481
RMGIC 5 days	control 3 days	-18.34300	5.216240	.092	-38.89881	2.21281
	control 5 days	23.77867(*)	5.216240	.020	3.22286	44.33447
	CGIC 3 days	-23.07100(*)	5.216240	.025	-43.62681	-2.51519
	CGIC 5 days	10.58600	5.216240	.556	-9.96981	31.14181
	RMGIC 3 days	-22.38900(*)	5.216240	.030	-42.94481	-1.83319

Based on observed means.

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

2. การศึกษาผลของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมและวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินต่อค่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (ALP activity)

**Descriptive Statistics**

Dependent Variable: alp

test group	Mean	Std. Deviation	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
control 1 day	4.5516667	.15934344	4.350	4.753
control 3 days	5.6726667	.07630422	5.471	5.874
control 5 days	6.7900000	.11007725	6.589	6.991
CGIC 1 day	3.4506667	.08599031	3.249	3.652
CGIC 3 days	3.5476667	.09609024	3.346	3.749
CGIC 5 days	5.1176667	.24652856	4.916	5.319
RMGIC 1 day	3.2910000	.07631514	3.090	3.492
RMGIC 3 days	3.4443333	.28367293	3.243	3.646
RMGIC 5 days	4.7730000	.20211878	4.572	4.974

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: alp

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	34.980(a)	8	4.372	158.756	.000
Intercept	550.500	1	550.500	19987.509	.000
GROUPS	34.980	8	4.372	158.756	.000
Error	.496	18	.028		
Total	585.976	27			
Corrected Total	35.476	26			

a. R Squared = .986 (Adjusted R Squared = .980)

- Control 1 day = ALP activity ในกลุ่มควบคุมในวันที่ 1  
 Control 3 days = ALP activity ในกลุ่มควบคุมในวันที่ 3  
 Control 5 days = ALP activity ในกลุ่มควบคุมในวันที่ 5  
 CGIC 1 day = ALP activity ในกลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมในวันที่ 1  
 CGIC 3 days = ALP activity ในกลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมในวันที่ 3  
 CGIC 5 days = ALP activity ในกลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมในวันที่ 5  
 RMGIC 1 day = ALP activity ในกลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในวันที่ 1  
 RMGIC 3 days = ALP activity ในกลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในวันที่ 3  
 RMGIC 5 days = ALP activity ในกลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดดัดแปลงด้วยเรซินในวันที่ 5

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: alp						
Scheffe						
(I) test group	(J) test group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
control 1 day	control 3 days	-1.1210000(*)	.13550454	.000	-1.7282246	-.5137754
	control 5 days	-2.2383333(*)	.13550454	.000	-2.8455580	-1.6311087
	CGIC 1 day	1.1010000(*)	.13550454	.000	.4937754	1.7082246
	CGIC 3 days	1.0040000(*)	.13550454	.000	.3967754	1.6112246
	CGIC 5 days	-.5660000	.13550454	.081	-1.1732246	.0412246
	RMGIC 1 day	1.2606667(*)	.13550454	.000	.6534420	1.8678913
	RMGIC 3 days	1.1073333(*)	.13550454	.000	.5001087	1.7145580
	RMGIC 5 days	-.2213333	.13550454	.942	-.8285580	.3858913
control 3 days	control 1 day	1.1210000(*)	.13550454	.000	.5137754	1.7282246
	control 5 days	-1.1173333(*)	.13550454	.000	-1.7245580	-.5101087
	CGIC 1 day	2.2220000(*)	.13550454	.000	1.6147754	2.8292246
	CGIC 3 days	2.1250000(*)	.13550454	.000	1.5177754	2.7322246
	CGIC 5 days	.5550000	.13550454	.092	-.0522246	1.1622246
	RMGIC 1 day	2.3816667(*)	.13550454	.000	1.7744420	2.9888913
	RMGIC 3 days	2.2283333(*)	.13550454	.000	1.6211087	2.8355580
	RMGIC 5 days	.8996667(*)	.13550454	.001	.2924420	1.5068913
control 5 days	control 1 day	2.2383333(*)	.13550454	.000	1.6311087	2.8455580
	control 3 days	1.1173333(*)	.13550454	.000	.5101087	1.7245580
	CGIC 1 day	3.3393333(*)	.13550454	.000	2.7321087	3.9465580
	CGIC 3 days	3.2423333(*)	.13550454	.000	2.6351087	3.8495580
	CGIC 5 days	1.6723333(*)	.13550454	.000	1.0651087	2.2795580
	RMGIC 1 day	3.4990000(*)	.13550454	.000	2.8917754	4.1062246
	RMGIC 3 days	3.3456667(*)	.13550454	.000	2.7384420	3.9528913
	RMGIC 5 days	2.0170000(*)	.13550454	.000	1.4097754	2.6242246
CGIC 1 day	control 1 day	-1.1010000(*)	.13550454	.000	-1.7082246	-.4937754
	control 3 days	-2.2220000(*)	.13550454	.000	-2.8292246	-1.6147754
	control 5 days	-3.3393333(*)	.13550454	.000	-3.9465580	-2.7321087
	CGIC 3 days	-.0970000	.13550454	1.000	-.7042246	.5102246
	CGIC 5 days	-1.6670000(*)	.13550454	.000	-2.2742246	-1.0597754
	RMGIC 1 day	.1596667	.13550454	.992	-.4475580	.7668913
	RMGIC 3 days	.0063333	.13550454	1.000	-.6008913	.6135580
	RMGIC 5 days	-1.3223333(*)	.13550454	.000	-1.9295580	-.7151087
CGIC 3 days	control 1 day	-1.0040000(*)	.13550454	.000	-1.6112246	-.3967754
	control 3 days	-2.1250000(*)	.13550454	.000	-2.7322246	-1.5177754
	control 5 days	-3.2423333(*)	.13550454	.000	-3.8495580	-2.6351087

	CGIC 1 day	.0970000	.13550454	1.000	-.5102246	.7042246
	CGIC 5 days	-1.5700000(*)	.13550454	.000	-2.1772246	-.9627754
	RMGIC 1 day	.2566667	.13550454	.876	-.3505580	.8638913
	RMGIC 3 days	.1033333	.13550454	1.000	-.5038913	.7105580
	RMGIC 5 days	-1.2253333(*)	.13550454	.000	-1.8325580	-.6181087
CGIC 5 days	control 1 day	.5660000	.13550454	.081	-.0412246	1.1732246
	control 3 days	-.5550000	.13550454	.092	-1.1622246	.0522246
	control 5 days	-1.6723333(*)	.13550454	.000	-2.2795580	-1.0651087
	CGIC 1 day	1.6670000(*)	.13550454	.000	1.0597754	2.2742246
	CGIC 3 days	1.5700000(*)	.13550454	.000	.9627754	2.1772246
	RMGIC 1 day	1.8266667(*)	.13550454	.000	1.2194420	2.4338913
	RMGIC 3 days	1.6733333(*)	.13550454	.000	1.0661087	2.2805580
RMGIC 1 day	control 1 day	-1.2606667(*)	.13550454	.000	-1.8678913	-.6534420
	control 3 days	-2.3816667(*)	.13550454	.000	-2.9888913	-1.7744420
	control 5 days	-3.4990000(*)	.13550454	.000	-4.1062246	-2.8917754
	CGIC 1 day	-.1596667	.13550454	.992	-.7668913	.4475580
	CGIC 3 days	-.2566667	.13550454	.876	-.8638913	.3505580
	CGIC 5 days	-1.8266667(*)	.13550454	.000	-2.4338913	-1.2194420
	RMGIC 3 days	-.1533333	.13550454	.994	-.7605580	.4538913
	RMGIC 5 days	-1.4820000(*)	.13550454	.000	-2.0892246	-.8747754
RMGIC 3 days	control 1 day	-1.1073333(*)	.13550454	.000	-1.7145580	-.5001087
	control 3 days	-2.2283333(*)	.13550454	.000	-2.8355580	-1.6211087
	control 5 days	-3.3456667(*)	.13550454	.000	-3.9528913	-2.7384420
	CGIC 1 day	-.0063333	.13550454	1.000	-.6135580	.6008913
	CGIC 3 days	-.1033333	.13550454	1.000	-.7105580	.5038913
	CGIC 5 days	-1.6733333(*)	.13550454	.000	-2.2805580	-1.0661087
	RMGIC 1 day	.1533333	.13550454	.994	-.4538913	.7605580
	RMGIC 5 days	-1.3286667(*)	.13550454	.000	-1.9358913	-.7214420
RMGIC 5 days	control 1 day	.2213333	.13550454	.942	-.3858913	.8285580
	control 3 days	-.8996667(*)	.13550454	.001	-1.5068913	-.2924420
	control 5 days	-2.0170000(*)	.13550454	.000	-2.6242246	-1.4097754
	CGIC 1 day	1.3223333(*)	.13550454	.000	.7151087	1.9295580
	CGIC 3 days	1.2253333(*)	.13550454	.000	.6181087	1.8325580
	CGIC 5 days	-.3446667	.13550454	.604	-.9518913	.2625580
	RMGIC 1 day	1.4820000(*)	.13550454	.000	.8747754	2.0892246
	RMGIC 3 days	1.3286667(*)	.13550454	.000	.7214420	1.9358913
Based on observed means.						
* The mean difference is significant at the .05 level.						

### ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายนิรันดร โถทองคำ เกิดเมื่อวันที่ 2 พฤษภาคม พ.ศ. 2520 ที่จังหวัดนครราชสีมา สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีทันตแพทยศาสตรบัณฑิตเกียรตินิยมอันดับ 2 จากคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ปีการศึกษา 2543 เข้ารับราชการในตำแหน่งพนักงานสายวิชาการ ภาควิชาทันตกรรมบูรณะ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เป็นระยะเวลา 2 ปี หลังจากนั้นได้ลาศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาเอ็นโดดอนต์ ภาควิชาทันตกรรมหัตถการ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2546 ปัจจุบันรับราชการในตำแหน่งพนักงานสายวิชาการ ภาควิชาทันตกรรมบูรณะ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย