

ความเข้ากันได้ทางชีวภาพและการยึดติดของเซลล์สร้างกระดูกบนพื้นผิวของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์
ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสม

๒๕๖ ก.ย. ๒๕๖๑



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาทันตกรรมคลินิก

กันยายน ๒๕๖๐

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

A 430197

ความเข้ากันได้ทางชีวภาพและการยึดติดของเซลล์สร้างกระดูกบนพื้นผิวของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์
ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสม



บทคัดย่อ
ของ
พรพิมล ธนะพรพันธุ์

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาทันตกรรมคลินิก

กันยายน 2560

พรพิมล ณะพรพันธุ์. (2560). *ความเข้ากันได้ทางชีวภาพและการยึดติดของเซลล์สร้างกระดูกบนพื้นผิวของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสม*. วิทยานิพนธ์ วท.ม. (ทันตกรรมคลินิก). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: อาจารย์ ทพญ. ดร.จารุมา ศักดิ์ดี.

โมโนแคลเซียมซิลิเกต เป็นวัสดุชนิดหนึ่งในกลุ่มของวัสดุที่มีส่วนประกอบของแคลเซียมซิลิเกตเป็นพื้นฐาน ซึ่งมีคุณสมบัติชีวกัมมันต์ คือ มีความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เกิดกิจกรรมทางชีวภาพของเซลล์ หลายการศึกษาพยายามปรับปรุงคุณสมบัติทางชีววิทยาของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ให้ดีขึ้นโดยผสมกับวัสดุไบโอเซรามิกซ์ วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ เพื่อศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพ ความสามารถในการสะสมแร่ธาตุของเซลล์ และการยึดติดของเซลล์สร้างกระดูกที่ได้จากกระดูกเข้าพื้นมนุษย์บนพื้นผิวของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก ในอัตราส่วนผงต่อน้ำเท่ากับ 1.7:1 วิธีดำเนินงานวิจัยทำโดยเพาะเลี้ยงเซลล์สร้างกระดูกทำการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์สร้างกระดูกต่อวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมโดยวัดความมีชีวิตของเซลล์และการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์หลังจากที่เซลล์สร้างกระดูกสัมผัสกับสารสกัดของวัสดุด้วยวิธีเอ็มทีที ศึกษาการยึดติดของเซลล์บนพื้นผิวของวัสดุด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และประเมินการสะสมแร่ธาตุของเซลล์ด้วยวิธีการย้อมติดสีอะลิซาริน เรด ผลการศึกษาพบว่า ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของสารสกัดของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมที่มีระยะก่อดำเนินการเริ่มต้นและระยะก่อดำเนินการสมบูรณ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) สารสกัดของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมที่มีระยะก่อดำเนินการที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดจะมีความเป็นพิษต่อเซลล์มากกว่าความเข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในวันที่ 3 และ 7 ($P < 0.05$) สารสกัดวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมสามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ตามช่วงเวลา 1, 3 และ 7 วันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) นอกจากนี้ในวันที่ 3 และ 7 วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมสามารถกระตุ้นเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างกระดูกได้มากกว่าเอ็มทีเออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เซลล์สร้างกระดูกสามารถยึดติดและมีการแผ่ของเซลล์บนพื้นผิววัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมและวัสดุเอ็มทีได้ และวัสดุทั้งสองมีความสามารถที่จะกระตุ้นเซลล์สร้างกระดูกให้เกิดการสะสมแร่ธาตุได้ สรุปผลการศึกษาได้ว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมที่อัตราส่วนผงต่อน้ำเท่ากับ 1.7:1 ถือได้ว่าเป็นวัสดุที่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเซลล์สร้างกระดูก จึงอาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการพัฒนามาใช้เป็นวัสดุอุดยึดบนปลายรากฟัน

BIOCOMPATIBILITY AND CELLULAR ATTACHMENT OF HUMAN
OSTEOBLAST TO GLASS IONOMER CEMENT CONTAINING
MONOCALCIUM SILICATE COMPOUND



Presented in Partial Fulfillment of the Requirement for the
Master of Education Degree in Clinical Dentistry
at Srinakharinwirot University
September 2017

Pornpimol Thanapornpun. (2017). *Biocompatibility and Cellular Attachment of Human Osteoblast to Glass Ionomer Cement Containing Monocalcium Silicate Compound*. Master's thesis, M.S. (Clinical Dentistry). Bangkok: Graduate School, Srinakharinwirot University.
Advisor Committee: Lect. Dr. Jaruma Sakdee.

Monocalcium silicate (CS) includes calcium and silicate-based materials with bioactive properties that influence cellular biological responses. Many studies attempted to improve the biological properties of glass ionomer cement (GIC) by adding bioceramic materials. The purpose of this in vitro study was to evaluate biocompatibility and biomineralization capacity and cell attachment of human alveolar osteoblast on glass ionomer cement, containing 50% w/w monocalcium silicate cement in 1.7:1 powder-to-liquid ratio. The methodology used human osteoblast, derived from human alveolar bone. The biocompatibility of glass ionomer cement containing monocalcium silicate (GIC-CS) was used to determine cell viability and proliferation after exposure to material extracts from an MTT assay (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide). The optical density (OD) was measured by a spectrophotometer at 570 nm. The cell attachment was investigated with a Scanning electron microscope (SEM). The measurement of calcium deposits in the biomineralization assay was tested by Alizarin red staining. The results revealed that there was no significant difference in terms of optical density between the initial setting and the complete settings of the two materials ($P > 0.05$). The nondilution group of GIC-CS and MTA appeared toxic when compared to other concentrations, for example on the third and seventh days ($P < 0.05$). GIC-CS could increase cell proliferation significantly on the first, third and seventh days ($P < 0.05$). MTA could enhance cell proliferation at all time points, but there was no significant difference between the first, third and seventh days ($P > 0.05$). On the third and seventh days, the cell viability of GIC-CS were significantly higher than that of the MTA ($P < 0.05$). The scanning electron microscope revealed cell adhesion and spreading on both GIC-CS and MTA. Both materials had the capacity for biomineralization. In conclusion, GIC-CS and MTA had good biocompatibility for human osteoblasts and demonstrated great potential for the development of an alternative root-end filling material.

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

ความเข้ากันได้ทางชีวภาพและการยึดติดของเซลล์สร้างกระดูกบนพื้นผิวของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์

ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสม

ของ

พรพิมล ชนะพรพันธุ์

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาทันตกรรมคลินิก (วิทยาเอ็นโดดอนต์)

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ



.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

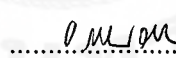
วันที่ 22 เดือน กันยายน พ.ศ. 2560

อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์

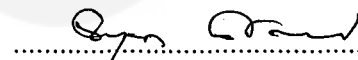
คณะกรรมการสอบปากเปล่า

 ที่ปรึกษา

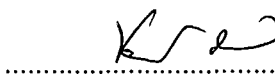
(อาจารย์ ทพญ.ดร.จารุมา ศักดิ์ดี)

 สัตตบพ.ดุษ.ประธาน

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทพ.ดร.วรรณธนะ สัตตบรรณสุข)

 กรรมการ

(อาจารย์ ทพญ.ดร.จารุมา ศักดิ์ดี)

 กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทพญ.ดร.ปรมาภรณ์ จิวพัฒน์กุล แก้วมณี)

ประกาศคุณูปการ

การศึกษาวิจัย และจัดทำปริญญานิพนธ์ฉบับนี้จะไม่สำเร็จและสมบูรณ์ได้หากปราศจากความช่วยเหลือจากคณาจารย์และบุคลากรหลายท่าน ผู้วิจัยมีความทราบถึงและขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทันตแพทย์หญิง ดร. จารุมา ศักดิ์ดี ประธานควบคุมปริญญานิพนธ์ สำหรับคำแนะนำในการทำวิจัยและการจัดทำปริญญานิพนธ์

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปุณณมา ศิริพันธ์โนน ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความอนุเคราะห์วัสดุโมโนแคลเซียมซิลิเกตสำหรับใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ ตลอดจนคำแนะนำในข้อมูลเกี่ยวกับวัสดุนี้

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทพญ.อินทรา วงษ์เยาว์ฟ้า ที่ให้ความอนุเคราะห์เซลล์สร้างกระดูกมนุษย์ และขอขอบคุณนายศิริพงษ์ ตั้งประเสริฐกิจ ภาควิชาโอบุสสุวิทยา ที่ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำด้านเทคนิคในการเพาะเลี้ยงเซลล์ ตลอดจนขอบคุณภาคโอบุสสุวิทยาที่ให้ความเอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย

ท้ายที่สุดขอกราบขอบพระคุณครอบครัวสำหรับกำลังใจและการสนับสนุนมาโดยตลอดจนสามารถสำเร็จการศึกษาในครั้งนี้

พรพิมล ธนะพรพันธุ์

สารบัญ

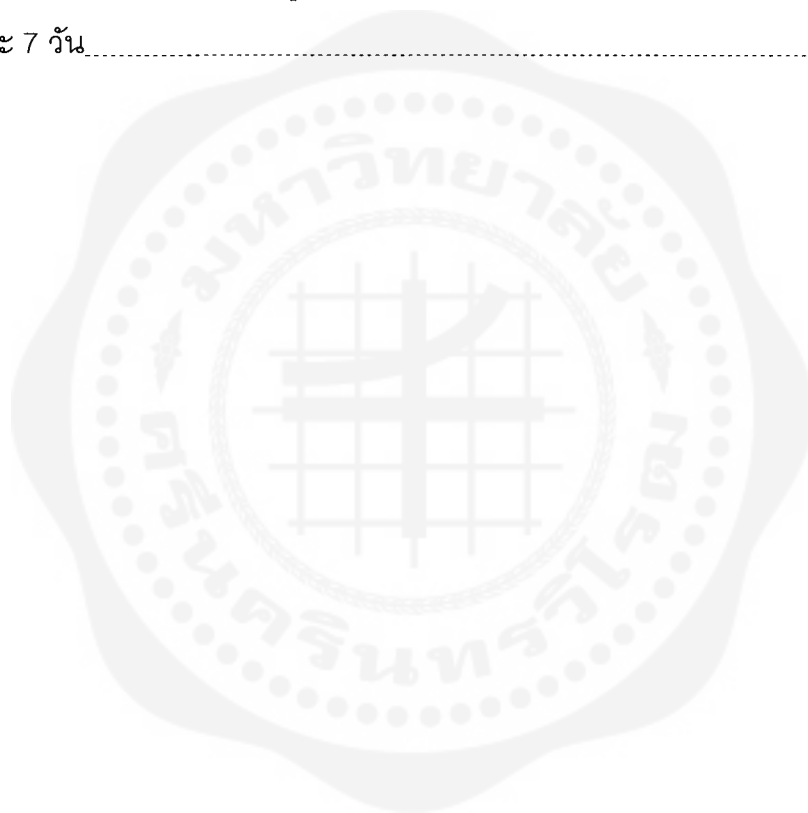
บทที่	หน้า
1 บทนำ	1
ภูมิหลัง	1
คำถามวิจัย	4
ความสำคัญของการวิจัย	4
ความมุ่งหมายของการวิจัย	5
ขอบเขตของการวิจัย	5
นิยามศัพท์เฉพาะ	6
กรอบแนวคิดการวิจัย	6
สมมติฐานทางสถิติของการวิจัย	7
2 ทบทวนวรรณกรรม	8
มินเอร์ล ไตรออกไซด์ แอ็กกรีเกต (Mineral Trioxide Aggregate: MTA)	9
โมโนแคลเซียมซิลิเกต (Monocalcium silicate : CaSiO_3)	11
กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ (Glass ionomer cement, GIC)	12
3 วิธีดำเนินการวิจัย	16
การเพาะเลี้ยงเซลล์	16
การเตรียมสารที่ใช้ในการทดสอบ	17
การทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุต่อเซลล์สร้างกระดูก	20
การประเมินการสะสมแร่ธาตุ (Mineralization assay)	22
การตรวจสอบการยึดติดของเซลล์บนพื้นผิววัสดุด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน	
แบบส่องกราด (Scanning electron microscope: SEM)	22
การวิเคราะห์ข้อมูล	24
4 ผลการวิจัยและการวิเคราะห์ข้อมูล	26
การวัดความมีชีวิตของเซลล์และการวัดการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์	26
ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุที่มีระยะก่อดำรงที่ระดับความเข้มข้น	
และเวลาต่างกัน	27

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
4 (ต่อ)	
การประเมินการสะสมแร่ธาตุ (Mineralization assay).....	31
การตรวจสอบการยึดติดของเซลล์บนพื้นผิววัสดุด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบส่องกราด (Scanning electron microscope: SEM).....	32
5 สรุปและอภิปรายผลการวิจัย.....	35
สรุปผลการศึกษา.....	39
บรรณานุกรม.....	40
ภาคผนวก.....	47
ภาคผนวก ก.....	48
ภาคผนวก ข.....	61
ประวัติย่อผู้วิจัย.....	78

บัญชีตาราง

ตาราง	หน้า
1 การเตรียมสารที่ใช้ในการทดสอบ.....	18
2 ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงจากการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุภายหลัง มีระยะก่อดำสมบรูณ์ที่ระดับความเข้มข้นต่างกันที่ระยะเวลา 1, 3 และ 7 วัน.....	29
3 ค่าร้อยละความมีชีวิตของเซลล์จากการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุ ภายหลังมีระยะก่อดำสมบรูณ์ที่ระดับความเข้มข้นต่างกันที่ระยะเวลา 1, 3 และ 7 วัน.....	30



ಗೂಢಪಞ್ಚರಮಲಮೃಗೀಗು

നൂറുപത്തുനൂറു

၆၆၆

- [illegible]

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ

หน้า

- 16 ลักษณะการย้อมติดสีอะลิขาริน เรด ภายหลังเซลล์สร้างกระดูกได้รับการกระตุ้นด้วยสารสกัดของวัสดุ เป็นเวลา 14 วัน. (A) วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสม(B)วัสดุเอ็มทีเอ (C) กลุ่มควบคุมบวก (D) กลุ่มควบคุมลบ... 32
- 17 ลักษณะการย้อมติดของเซลล์บนพื้นผิวของวัสดุภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (1000x)..... 33
- 18 ลักษณะการย้อมติดของเซลล์บนพื้นผิวของวัสดุภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และพบ crystal-like deposition บนพื้นผิววัสดุ (5000x)..... 34
- 19 ลักษณะการย้อมติดของเซลล์บนพื้นผิวของวัสดุภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบ filopodia ของเซลล์(ลูกศรแดง) และพบ crystal-like deposition บนพื้นผิววัสดุ (5000x)..... 34

บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

เป้าหมายหลักของการรักษาคอลงรากฟันคือ การป้องกันและรักษาการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบรากฟัน (apical periodontitis) ซึ่งเป็นผลจากการติดเชื้อในคอลงรากฟัน ในหลายกรณีพบว่าเมื่อทำการรักษาคอลงรากฟันอย่างดีแล้วก็สามารถพบความล้มเหลวภายหลังการรักษาได้ โดยกรณีดังกล่าวอาจพิจารณาทำการรักษาคอลงรากฟันซ้ำ (root canal retreatment) หรือทำการรักษาด้วยวิธีผ่าตัด ปลายรากฟัน การผ่าตัดปลายรากฟันมักทำในกรณีที่ไม่สามารถเข้าทำการรักษาคอลงรากฟันซ้ำด้วยวิธีอนุรักษ์ได้ เนื่องจากการมีเดือยฟันและครอบฟัน ซึ่งอาจมีความเสี่ยงที่จะเกิดการแตกของรากฟันขณะรื้อ ในการผ่าตัดปลายรากฟันปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่ออัตราความสำเร็จในการผ่าตัดปลายรากฟัน คือ วัสดุอุดย่นปลายรากฟัน คุณสมบัติของวัสดุอุดย่นปลายรากฟันที่ดี ได้แก่ สามารถป้องกันการรั่วซึมจากแบคทีเรียและพิษในบริเวณเนื้อเยื่อปลายรากได้ ไม่มีความเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อรอบปลายราก ไม่เป็นสารก่อมะเร็ง มีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน (biocompatibility) มีเสถียรภาพเชิงมิติ (dimensional stability) ความชื้นไม่ส่งผลต่อความสามารถในการป้องกันการรั่วซึมของวัสดุ ใช้งานง่าย และมีความทึบรังสี⁽¹⁾ การอุดย่นปลายรากฟันเพื่อเติมเต็มช่องว่างในคอลงรากฟันและเกิดการปิดผนึกระหว่างคอลงรากฟันกับเนื้อเยื่อรอบรากฟัน วัสดุที่ถูกแนะนำให้ใช้เป็นวัสดุอุดย่นปลายรากฟัน ได้แก่ อะมัลกัม กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ ซิงค์ออกไซด์ยูจินอล ไออาร์เอ็ม ซูเปอร์อีบีเอ เรซินคอมโพสิต และเอ็มทีเอ (Mineral trioxide aggregate: MTA)⁽²⁾ เนื่องจากวัสดุอุดย่นปลายรากฟันมีการสัมผัสกับเนื้อเยื่อแข็งและเนื้อเยื่ออ่อนของอวัยวะปริทันต์ ดังนั้นวัสดุที่จะนำมาใช้เป็นวัสดุอุดย่นปลายรากฟันจึงควรมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน⁽³⁾

ปัจจุบันมีการพัฒนาวัสดุในกลุ่มไบโอเซรามิก (Bioceramics) มาใช้ในทางการแพทย์และทางทันตกรรม โดยวัสดุกลุ่มนี้มีคุณสมบัติที่มีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อในร่างกาย องค์ประกอบหลักของวัสดุไบโอเซรามิก ประกอบด้วยแคลเซียมและฟอสเฟต โดยวัสดุไบโอเซรามิกแต่ละชนิดอาจมีรูปร่างผลึกและองค์ประกอบย่อยที่แตกต่างกัน⁽⁴⁾ เอ็มทีเอเป็นชีววัสดุ (biomaterial) ที่มีการนำมาใช้เป็นวัสดุอุดย่นปลายรากฟันเนื่องจากมีคุณสมบัติที่มีความใกล้เคียงกับวัสดุอุดย่นปลายรากฟันในอุดมคติ โดยมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเนื้อเยื่อ และมีความสามารถในการปิดผนึกของวัสดุกับผนังคอลงรากฟันที่ผ่านการตัดปลายรากที่ดี⁽⁵⁾ มีรายงานว่าพบการสะสมของเคลือบรากฟัน (cementum) ปกคลุมพื้นผิวของวัสดุ เอ็มทีเอเมื่อใช้เป็นวัสดุอุดย่นปลายในฟันสุนัข⁽⁶⁾ Torabinejad และคณะ ในปี 1997⁽⁷⁾ ทำการศึกษาการตอบสนองของเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันของลิงเมื่อใช้เอ็มทีเอ

เป็นวัสดุอุดย่นปลายรากฟัน พบว่าในฟันที่อุดย่นปลายรากฟันด้วยเอ็มทีเอไม่พบการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบรากฟัน นอกจากนี้ยังพบว่าการสร้างชั้นของเคลือบรากฟันปกคลุมบนวัสดุอย่างสมบูรณ์ ซึ่งแสดงถึงความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเนื้อเยื่อ นอกจากนี้ Economides และคณะ รายงานผลการตอบสนองของเนื้อเยื่อรอบรากฟันเมื่อใช้เอ็มทีเอเป็นวัสดุอุดย่นปลายรากฟัน พบว่าการสร้างเนื้อเยื่อแข็งปกคลุมบริเวณพื้นผิวของวัสดุ ซึ่งสนับสนุนว่า เอ็มทีเอมีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อ⁽⁸⁾ ในปัจจุบันเอ็มทีเอยังคงเป็นวัสดุที่ได้รับความนิยมในการใช้เป็นวัสดุอุดย่นปลายรากฟัน แต่เนื่องจากเอ็มทีเอยังมีข้อด้อยในเรื่องของการใช้งานยาก ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีของฟัน ระยะเวลาในการก่อตัวนาน และราคาแพง⁽⁹⁾ รวมไปถึงมีแนวโน้มที่มีการละลายตัวเมื่ออยู่ในความชื้นสูง⁽¹⁰⁾ จึงนำไปสู่การพัฒนาปรับปรุงคุณสมบัติของวัสดุดังกล่าวให้มีคุณสมบัติที่ดียิ่งขึ้น

โมโนแคลเซียมซิลิเกต เป็นวัสดุชนิดหนึ่งในกลุ่มของวัสดุที่มีส่วนประกอบของแคลเซียมซิลิเกตเป็นพื้นฐาน (calcium silicate based material) ซึ่งมีคุณสมบัติชีวกัมมันต์ (bioactive material) กล่าวคือ วัสดุมีความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เกิดกิจกรรมทางชีวภาพของเซลล์ เช่น พื้นผิวของวัสดุเอื้อให้เกิดการยึดติดระหว่างวัสดุกับเนื้อเยื่อที่มีชีวิต^(11, 12) Siriphannon และคณะ⁽¹³⁾ รายงานว่าโมโนแคลเซียมซิลิเกตมีความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ได้เมื่อผ่านการแช่ในสารละลายจำลองคล้ายของเหลวในร่างกาย (stimulated body fluid) อีกทั้ง De Aza และคณะ⁽¹⁴⁾ ได้รายงานถึงความสามารถของโมโนแคลเซียมซิลิเกตในการเหนี่ยวนำการสร้างผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์เมื่อผ่านการแช่ในน้ำลายมนุษย์ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาคุณสมบัติความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุ พบว่าโมโนแคลเซียมซิลิเกตมีความเข้ากันได้กับเซลล์สร้างกระดูก^(15, 16) อย่างไรก็ตามวัสดุโมโนแคลเซียมซิลิเกตนั้นมีความเปราะ และไม่สามารถก่อตัวได้ด้วยน้ำกลั่น ทำให้เป็นข้อจำกัดในการใช้งาน^(17, 18) จึงมีความพยายามในการพัฒนาวัสดุด้วยการนำมาผสมกับสารอื่นเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติของวัสดุให้สามารถนำมาใช้งานทางการแพทย์และทางทันตกรรมได้

กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ (glass ionomer cement: GIC) เป็นวัสดุทางทันตกรรมชนิดหนึ่งซึ่งมีความสามารถในการปลดปล่อยฟลูออไรด์ สามารถเกิดการยึดติดกับเนื้อฟัน และมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเนื้อเยื่อของร่างกาย ในงานทางเอ็นโดดอนต์ได้มีการนำวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์มาใช้ได้แก่ ใช้เป็นซีลเลอร์ (root canal sealer), เป็นวัสดุบูรณะชั่วคราว, ใช้ในการซ่อมรูทะลุบริเวณรากฟัน และใช้เป็นวัสดุอุดย่นปลายรากฟัน⁽¹⁹⁾ สำหรับกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดหนืดสูง (highly viscous conventional glass ionomer cement) เป็นกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่ได้รับการพัฒนาเพื่อให้งานง่ายขึ้น ระยะเวลาก่อตัวเร็ว ลดความไวต่อความชื้นของวัสดุ และมีการละลายตัวต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับกลาสไอโอโนเมอร์แบบดั้งเดิม (conventional GIC) ตัวอย่างกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดหนืดสูง เช่น KetacTM molar (3M ESPE) และ Fuji IX GC[®] เป็นต้น⁽²⁰⁾

ปัจจุบันมีหลายการศึกษาที่พยายามปรับปรุงคุณสมบัติต่างๆของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ให้ดีขึ้นด้วยการเติมสารชีวกำมันต์ จากการศึกษาของ Pothiraksanont และคณะ⁽²¹⁾ พบว่าเมื่อนำโมโนแคลเซียมซิลิเกตมาผสมร่วมกับวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ ทำให้มีระยะเวลาการก่อตัวน้อยกว่าเอ็มทีเออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยไม่กระทบกับความทนแรงอัดของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่ระยะเวลา 28 วัน ในแง่ของความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมพบว่า วัสดุดังกล่าวมีความเข้ากันได้กับเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์⁽²²⁾ และเซลล์ไฟโบรบลาสต์⁽²³⁾ ในการศึกษาถึงอัตราส่วนของการผสมกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์และโมโนแคลเซียมซิลิเกต Sangsawatpong และคณะ⁽²³⁾ พบว่าเมื่อผสมกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์เข้ากับโมโนแคลเซียมซิลิเกตในอัตราส่วนร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก จะพบการสร้างไฮดรอกซีอะพาไทต์ภายหลังแช่วัสดุในสารละลายจำลองคล้ายของเหลวในร่างกาย รวมถึงมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเซลล์ไฟโบรบลาสต์ได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์เพียงชนิดเดียว Horvichitr และคณะ⁽²⁴⁾ ทำการศึกษาความแนบสนิทของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมกับผนังคลองรากฟัน และศึกษาการรั่วซึมของแบคทีเรียเมื่อใช้เป็นวัสดุอุดอุดยอนปลายรากฟัน พบว่าที่อัตราส่วนของการผสมกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์และโมโนแคลเซียมซิลิเกตร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก ทำให้วัสดุมีความแนบสนิทกับผนังคลองรากฟันและป้องกันการรั่วซึมของแบคทีเรียได้น้อยกว่าที่อัตราส่วนร้อยละ 30 ซึ่งคาดว่าเกิดจากส่วนผสมที่มีความชื้นหนืดที่มากกว่า โดยอัตราส่วนของผงต่อน้ำที่ใช้ในการศึกษานี้เท่ากับ 3:1 ต่อมาจึงมีการศึกษาที่ปรับปรุงอัตราส่วนผงต่อน้ำ เป็น 2.73:1^(22, 23) และจากการศึกษาของ Burapat และคณะ⁽²⁵⁾ ทำการปรับปรุงอัตราส่วนผงต่อน้ำเป็น 1.7:1 พบว่าอัตราส่วนผงต่อน้ำของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ผสมโมโนแคลเซียมซิลิเกตเท่ากับ 1.7:1 มีความสามารถในการปิดผนึกและความแนบสนิทได้ใกล้เคียงกับเอ็มทีเอ จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่ากลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมร้อยละ 50 โดยน้ำหนักยังคงให้คุณสมบัติที่ดี ซึ่งอาจนำมาประยุกต์ใช้เป็นวัสดุอุดอุดยอนปลายรากฟันได้ อย่างไรก็ตามจากการปรับปรุงอัตราส่วนผงต่อน้ำของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมร้อยละ 50 เป็น 1.7:1 อาจส่งผลต่อคุณสมบัติความเข้ากันได้ทางชีวภาพได้

ภายหลังการผ่าตัดปลายรากฟัน การใช้วัสดุอุดอุดยอนปลายรากฟันที่มีคุณสมบัติที่มีความเข้ากันได้กับเซลล์รอบปลายรากจะช่วยสนับสนุนการหายของแผลบริเวณรอบรากฟัน ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการซ่อมแซมรวมถึงการสร้างกระดูกและเอ็นยึดปริทันต์⁽²⁶⁾ การยึดติดของเซลล์ (cell adhesion) เป็นขั้นแรกที่มีความสำคัญก่อนที่เซลล์จะเพิ่มจำนวน (proliferation), มีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ (differentiation) และสร้าง extracellular mineralized matrix บนพื้นผิวของวัสดุอุดอุดยอนปลายรากฟัน ดังนั้นการทดสอบการยึดติดของเซลล์บนพื้นผิวของชีววัสดุที่ใช้ในทางเอ็นโดดอนติกส์ จึงเป็นขั้นตอนหนึ่งในการประเมินคุณสมบัติทางชีวภาพของวัสดุ⁽²⁷⁾ จากการศึกษาที่ผ่านมายังไม่มีการศึกษาในห้องปฏิบัติการ

การศึกษาถึงความเข้ากันได้ทางชีวภาพและการยึดติดของเซลล์สร้างกระดูกที่ได้จากกระดูกเบ้าฟันมนุษย์บนพื้นผิวของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมอัตราส่วนร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก ในอัตราส่วนผงต่อน้ำเท่ากับ 1.7:1 เมื่อนำมาใช้เป็นวัสดุอุดย่นปลายรากฟัน ทางคณะผู้ทำการวิจัยจึงมีความสนใจทำการศึกษาในเซลล์ปฐมภูมิของเซลล์สร้างกระดูกที่ได้จากกระดูกเบ้าฟันมนุษย์ ซึ่งเป็นเซลล์ที่อยู่ใกล้เคียงกับบริเวณที่ทำการศัลยกรรมปลายราก และเป็นที่มาของการศึกษาในครั้งนี้

คำถามวิจัย

1. วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเซลล์สร้างกระดูกที่ได้จากกระดูกเบ้าฟันมนุษย์หรือไม่
2. เซลล์สร้างกระดูกมีความสามารถในการสร้างเนื้อเยื่อแข็งภายหลังได้รับการกระตุ้นด้วยวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์หรือไม่
3. เซลล์สร้างกระดูกสามารถยึดติดบนพื้นผิวของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมได้หรือไม่

ความสำคัญของการวิจัย

ปัจจุบันมีการศึกษาที่ทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพและการยึดติดของเซลล์บนพื้นผิวของชีววัสดุทางทันตกรรม ในเซลล์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเซลล์ต่อเนื่อง (cell line) ทั้งจากสัตว์และมนุษย์หรือในสัตว์ทดลอง สำหรับการศึกษานี้ทางคณะผู้ทำการวิจัยสนใจทำการศึกษาในเซลล์ปฐมภูมิของเซลล์สร้างกระดูกที่ได้จากกระดูกเบ้าฟันมนุษย์ ซึ่งเป็นตำแหน่งเซลล์ที่ใกล้เคียงกับบริเวณที่ทำการศัลยกรรมปลายราก โดยทำการเตรียมแผ่นขึ้นวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสม เพื่อทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพและการยึดติดของเซลล์สร้างกระดูก เปรียบเทียบกับโปรรูทเอ็มทีเอ (White ProRoot® MTA, Densply Tulsa dental, Tulsa OK, USA) ซึ่งเอ็มทีเอเป็นวัสดุที่ได้รับความนิยมในการอุดย่นปลายรากฟัน⁽²⁸⁾ และยังจัดเป็นวัสดุมาตรฐานในการอุดย่นปลายรากฟัน⁽²⁹⁾ โดยคาดว่าผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์เกี่ยวกับการตอบสนองของเซลล์สร้างกระดูกต่อวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสม และสามารถเป็นแนวทางในการพัฒนาวัสดุอุดย่นปลายรากฟันซึ่งในการศัลยกรรมปลายรากฟันให้มีคุณสมบัติที่ดี และมีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อบริเวณรอบรากฟันในทางคลินิกต่อไป

ความมุ่งหมายของการวิจัย

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อศึกษาคุณสมบัติของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมเปรียบเทียบกับ White ProRoot MTA ในด้านต่างๆ ดังนี้

1. ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์สร้างกระดูกจากการวัดความมีชีวิตของเซลล์และการวัดการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์
2. ความสามารถในการสร้างเนื้อเยื่อแข็งของเซลล์สร้างกระดูก จากการวัดการสะสมของแร่ธาตุจากการย้อมติดสีอะลิซาริน เรด (Alizarin red, AR)
3. การยึดติดของเซลล์สร้างกระดูกบนพื้นผิวของวัสดุ

ขอบเขตของการวิจัย

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาวิจัยพื้นฐาน (Basic research) โดยทำการเพาะเลี้ยงเซลล์สร้างกระดูกจากกระดูกเข้าพื้นมนุษย์ และทำการศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพและการยึดติดของเซลล์สร้างกระดูกบนพื้นผิวของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมในห้องปฏิบัติการ

1. ตัวแปรสำหรับการศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุที่มีระยะก่อดำเนินเริ่มต้นเปรียบเทียบกับวัสดุที่มีระยะก่อดำเนินสมบูรณ์

1. ตัวแปรต้น ได้แก่

1.1 ชนิดของวัสดุ (กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสม และ เอ็มทีเอ)

1.2 ระยะก่อดำเนินของวัสดุ (ระยะก่อดำเนินเริ่มต้น และระยะก่อดำเนินสมบูรณ์)

1.3 ความเข้มข้นของวัสดุ

2. ตัวแปรตาม ได้แก่ ความมีชีวิตและการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ (cell viability and proliferation)

2. ตัวแปรสำหรับการศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุภายหลังมีระยะก่อดำเนินที่ความเข้มข้นและเวลาต่างกัน

1. ตัวแปรต้น ได้แก่

1.1 ชนิดของวัสดุ (กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสม และ เอ็มทีเอ)

1.2 ความเข้มข้นของวัสดุ

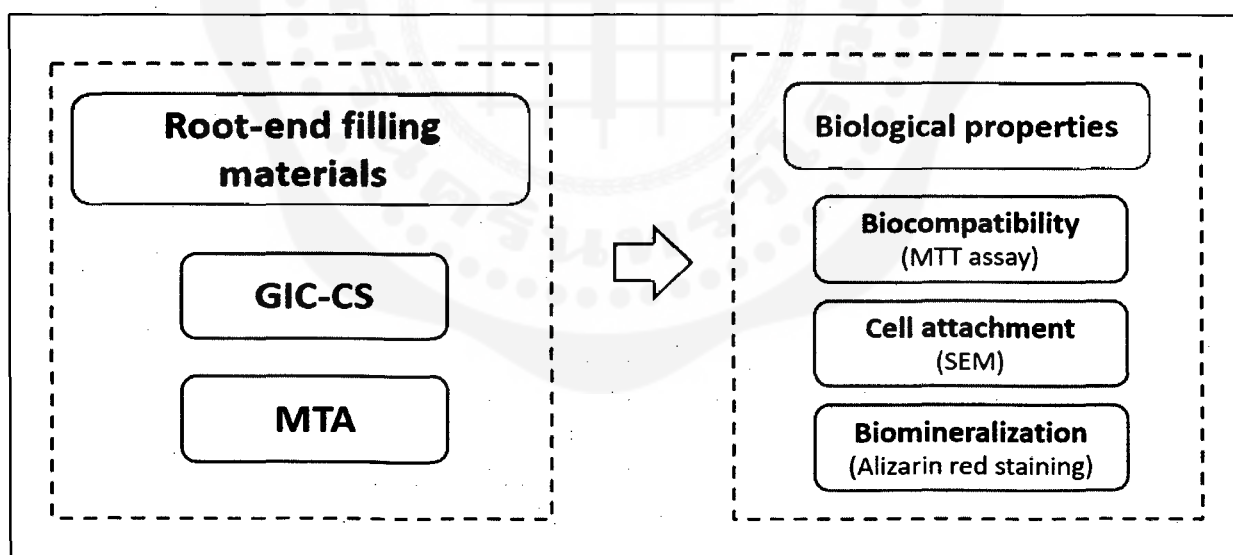
1.3 เวลาที่วัสดุสัมผัสกับสารทดสอบ

2. ตัวแปรตาม ได้แก่ ความมีชีวิตและการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ (cell viability and proliferation)

นิยามศัพท์เฉพาะ

1. Human alveolar bone หมายถึง กระดูกเบ้าฟันมนุษย์
2. Osteoblasts หมายถึง เซลล์สร้างกระดูก
3. Bioceramics หมายถึง วัสดุที่มีส่วนประกอบของเซรามิกส์ ซึ่งมีคุณสมบัติเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อภายในร่างกาย
4. Mineralized Trioxide Aggregate (MTA) หมายถึง วัสดุไบโอเซรามิกชนิดมีเนอรัล ไตรออกไซด์ แอกก리게ต (เอ็มทีเอ)
5. Monocalcium silicate หมายถึง วัสดุไบโอเซรามิกชนิดที่มี monocalcium silicate เป็นองค์ประกอบหลัก
6. Biocompatibility หมายถึง ความเข้ากันได้ทางชีวภาพ
7. Mineralization หมายถึง การสะสมแร่ธาตุ
8. Cellular attachment หมายถึง การยึดติดของเซลล์ต่อพื้นผิววัสดุ

กรอบแนวคิดการวิจัย



กระบวนการผ่าตัดปลายรากฟันมีหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อความสำเร็จในการรักษา วัสดุอุดย่นปลายรากฟันเป็นหนึ่งในปัจจัยที่ส่งผลต่ออัตราความสำเร็จของการรักษา โดยวัสดุอุดย่นปลายรากฟันในอุดมคติควรมีคุณสมบัติที่ช่วยส่งเสริมการหายของแผลภายหลังหัตถการ กล่าวคือ

1. ไม่มีความเป็นพิษ และมีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน โดยเมื่อเซลล์สัมผัสกับวัสดุแล้วเซลล์สามารถมีชีวิตอยู่รอดและเกิดการเพิ่มจำนวนได้

2. สามารถกระตุ้นเซลล์ให้ทำหน้าที่สร้างเนื้อเยื่อแข็งได้ เช่น เกิดการสะสมของแร่ธาตุ
3. เชื่อให้เซลล์สามารถเกิดการยึดติดบนพื้นผิวของวัสดุได้

สมมติฐานทางสถิติของการวิจัย

1. การศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุที่มีระยะก่อดำเริ่มต้นเปรียบเทียบกับวัสดุที่มีระยะก่อดำสมบูรณ์ต่อเซลล์สร้างกระดูก

สมมติฐานหลัก : ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุที่มีระยะก่อดำเริ่มต้นมีผลลัพธ์ไม่แตกต่างจากวัสดุที่มีระยะก่อดำสมบูรณ์

สมมติฐานรอง : ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุที่มีระยะก่อดำเริ่มต้นมีผลลัพธ์แตกต่างจากวัสดุที่มีระยะก่อดำสมบูรณ์

2. การศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุภายหลังมีระยะก่อดำสมบูรณ์ที่ความเข้มข้นและเวลาต่างกัน

1. ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุภายหลังมีระยะก่อดำสมบูรณ์ที่ความเข้มข้นต่างกัน

สมมติฐานหลัก : ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุภายหลังมีระยะก่อดำสมบูรณ์ที่ความเข้มข้นต่างกันมีผลลัพธ์ไม่แตกต่างกัน

สมมติฐานรอง : ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุภายหลังมีระยะก่อดำสมบูรณ์ที่ความเข้มข้นต่างกันมีผลลัพธ์แตกต่างกัน

2. ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุภายหลังมีระยะก่อดำสมบูรณ์ที่เวลาต่างกัน

สมมติฐานหลัก : ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุภายหลังมีระยะก่อดำสมบูรณ์ที่เวลาต่างกันมีผลลัพธ์ไม่แตกต่างกัน

สมมติฐานรอง : ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุภายหลังมีระยะก่อดำสมบูรณ์ที่เวลาต่างกันมีผลลัพธ์แตกต่างกัน

3. ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์เปรียบเทียบกับวัสดุเอ็มทีเอ

สมมติฐานหลัก : ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์มีผลลัพธ์ไม่แตกต่าง กับเอ็มทีเอ

สมมติฐานรอง : ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุภายหลังมีระยะก่อดำสมบูรณ์ที่เวลาต่างกันมีผลลัพธ์แตกต่างกัน

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

ในกรณีของฟันที่ผ่านการรักษาลงรากฟันมาแล้วรอยโรครอบปลายรากฟันยังไม่หาย โดยอาจแสดงอาการปวด และ/หรือ บวม หรือพบการทำลายของกระดูกที่เพิ่มขึ้นในภาพรังสี อาการและอาการแสดงเหล่านี้ล้วนเป็นผลจากการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบราก หรือมีการมีเชื้อคงค้างอยู่ในบริเวณที่การรักษาลงรากฟันปกติเข้าไปไม่ถึง เนื่องจากลักษณะทางกายวิภาคที่ซับซ้อนของระบบคลองรากฟัน ฟันในลักษณะดังกล่าวมักพิจารณารักษาลงรากฟันซ้ำเพื่อเข้าไปทำการกำจัดเชื้อในคลองรากฟันเพิ่มเติม อย่างไรก็ตาม ในบางกรณีที่มีข้อจำกัดของการรักษาลงรากฟันซ้ำ การผ่าตัดปลายรากฟันจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ช่วยรักษาฟันซี่นั้นได้ เนื่องด้วยเทคโนโลยีและเครื่องมือในการรักษาอัน ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ทางทันตกรรม (Dental operating microscope), เครื่องมืออัลตราโซนิค, วัสดุอุดย้อนปลายรากที่พัฒนามากขึ้น ปัจจัยต่างๆ เหล่านี้จึงช่วยส่งเสริมการหายของแผลภายหลังหัตถการ และได้ผลลัพธ์ภายหลังการผ่าตัดปลายรากฟันได้ผลที่น่าพึงพอใจ โดยพบว่าการผ่าตัดปลายรากฟันในปัจจุบัน (endodontic microsurgery) ให้ผลสำเร็จที่สูงถึงร้อยละ 94 เมื่อเปรียบเทียบกับ การผ่าตัดปลายรากฟันในอดีต (traditional root-end surgery)⁽³⁰⁾

การผ่าตัดปลายรากฟันประกอบด้วยขั้นตอนต่างๆ ได้แก่ การจัดการเนื้อเยื่ออ่อน (soft tissue management) การตัดกระดูก (osteotomy) การขูดรอบรากฟัน (periradicular curettage) การตัดปลายรากฟัน (root-end resection) และการอุดย้อนปลายรากฟัน (root-end filling)⁽³¹⁾ วัสดุอุดย้อนปลายรากฟัน เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่ออัตราความสำเร็จในการผ่าตัดปลายรากฟัน คุณสมบัติของวัสดุอุดย้อนปลายรากฟันในอุดมคติ ได้แก่ สามารถป้องกันการรั่วซึมจากแบคทีเรียและพิษในบริเวณเนื้อเยื่อปลายรากได้ ไม่มีความเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อรอบปลายราก ไม่เป็นสารก่อมะเร็ง มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน มีเสถียรภาพเชิงมิติ (dimensional stability) ความชื้นไม่ส่งผลต่อความสามารถในการป้องกันการรั่วซึมของวัสดุ ใช้งานง่าย และมีความทนรังสี⁽¹⁾

วัตถุประสงค์ของการอุดย้อนปลายรากฟันเพื่อให้เติมเต็มช่องว่างในคลองรากฟันและเพื่อเกิดการปิดผนึกระหว่างคลองรากฟันกับเนื้อเยื่อรอบรากฟัน วัสดุที่ถูกแนะนำให้ใช้เป็นวัสดุอุดย้อนปลายรากฟัน ได้แก่ อะมัลกัม กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ ซิงค์ออกไซด์ยูจินอล ไออาร์เอ็ม ซูเปอร์อีบีเอ เรซิน คอมโพสิต และเอ็มทีเอ⁽²⁾ เนื่องจากวัสดุอุดย้อนปลายรากฟันมีการสัมผัสกับเนื้อเยื่อแข็งและเนื้อเยื่ออ่อนของอวัยวะปริทันต์ ดังนั้นวัสดุที่จะนำมาใช้เป็นวัสดุอุดย้อนปลายรากฟันจึงควรมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันและไม่เป็นพิษ⁽³⁾

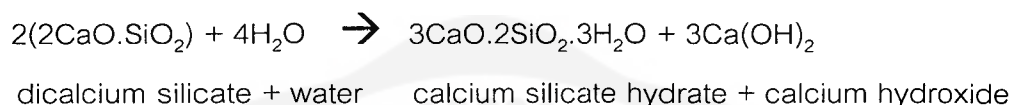
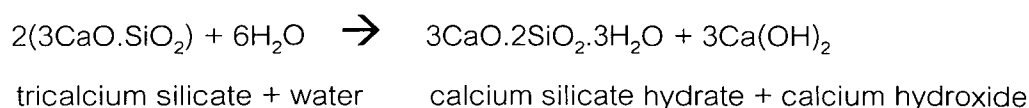
ปัจจุบันมีการพัฒนาวัสดุอุดย่นปลายรากมาอย่างต่อเนื่อง เพื่อปรับปรุงคุณสมบัติให้มีความใกล้เคียงกับคุณสมบัติในอุดมคติ วัสดุกลุ่มไบโอเซรามิกเป็นวัสดุที่ได้รับความสนใจในการนำมาใช้เป็นวัสดุอุดย่นปลายราก เนื่องจากคุณสมบัติของวัสดุที่มีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อร่างกายเป็นอย่างดี

มินเอร์ล ไตรออกไซด์ แอกริเกต (Mineral Trioxide Aggregate: MTA)

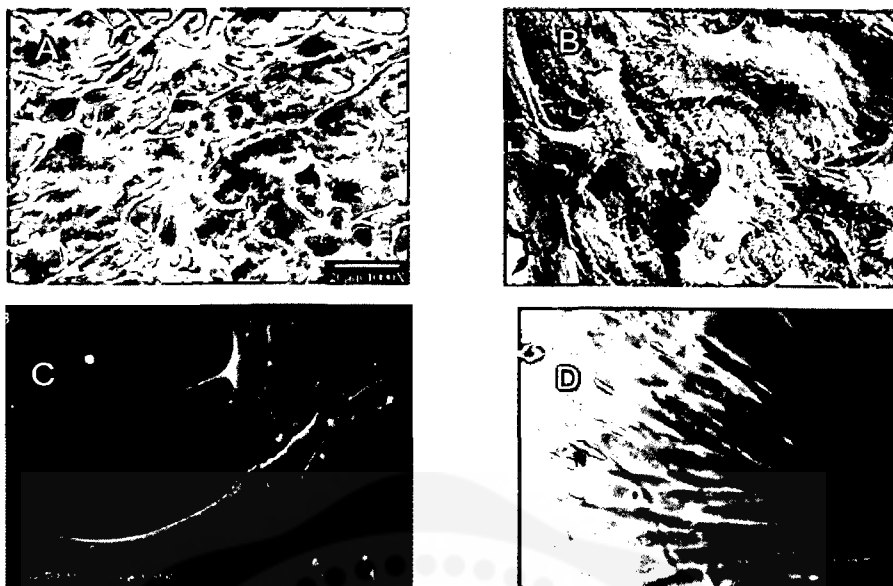
มินเอร์ล ไตรออกไซด์ แอกริเกต หรือ เอ็มทีเอ (Mineral Trioxide Aggregate: MTA) เป็นวัสดุ ไบโอเซรามิกชนิดหนึ่ง ถูกพัฒนาโดย Torabinejad ที่มหาวิทยาลัยโลมาลินดา (Loma Linda University) ในปี 1993 เพื่อใช้เป็นวัสดุอุดย่นปลายรากฟันในงานศัลยกรรมเอ็นโดดอนต์ (endodontic surgery) ซึ่งเสนอว่าเอ็มทีเอนั้นมีคุณสมบัติที่ดี เนื่องจากมีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อ ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ มีความแนบสนิทที่ดี และสามารถเหนียวนาให้เกิดการสะสมแร่ธาตุบริเวณเนื้อเยื่อที่สัมผัสกับวัสดุ⁽³²⁾ ส่วนประกอบของเอ็มทีเอมีความคล้ายคลึงกับพอร์ตแลนด์ซีเมนต์ โดยมีส่วนประกอบหลัก คือ ไดแคลเซียมซิลิเกต และไตรแคลเซียมซิลิเกต อย่างไรก็ตามเอ็มทีเอมีความแตกต่างกับพอร์ตแลนด์ซีเมนต์ ดังนี้ เอ็มทีเอจะมีส่วนประกอบของบิสฟัทออกไซด์ เพื่อให้เกิดความทึบรังสี (radiopacifier) ในขณะที่พอร์ตแลนด์ซีเมนต์ไม่มีบิสฟัทออกไซด์ นอกจากนี้เอ็มทีเอมีอนุภาคที่เล็กและสม่ำเสมอกว่าพอร์ตแลนด์ซีเมนต์⁽³³⁾ เอ็มทีเอดั้งเดิม (original MTA) ที่วางจำหน่ายในปี 1998 มีชื่อทางการค้าว่า โปรรูทเอ็มทีเอ (ProRoot® MTA; Dentsply, Tulsa Dental, Johnson City, TN, USA) โดยมีเนื้อวัสดุเป็นสีเทา ต่อมาในปี 2002 ได้มีการจดสิทธิบัตรและวางจำหน่ายโปรรูทเอ็มทีเอสีเหมือนฟัน (tooth-colored ProRoot MTA) ซึ่งเนื้อวัสดุเป็นสีขาว ในส่วนประกอบของเอ็มทีเอสีเทาและเอ็มทีเอสีขาวมีความคล้ายคลึงกัน แต่มีความแตกต่างกันที่เอ็มทีเอสีขาวทำจากพอร์ตแลนด์ซีเมนต์สีขาว ซึ่งมีส่วนประกอบของธาตุเหล็กน้อยกว่า⁽³³⁾ Camilleri และคณะ⁽³⁴⁾ ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของเอ็มทีเอด้วยเทคนิค Energy Dispersive Analysis by X-ray หรือ EDAX ในกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) และเทคนิค X-ray diffraction (XRD) พบว่าเอ็มทีเอสีขาวมีส่วนประกอบหลักซึ่งประกอบด้วยแคลเซียม ซิลิกอน บิสฟัท และออกซิเจน ในขณะที่เอ็มทีเอสีเทาประกอบด้วยแคลเซียม ซิลิกอน อะลูมิเนียม เหล็ก บิสฟัท และออกซิเจน เมื่อวิเคราะห์วัสดุด้วยเทคนิค X-ray diffraction พบว่าเอ็มทีเอสีขาวประกอบด้วย ไตรแคลเซียมซิลิเกตและบิสฟัทออกไซด์เป็นหลัก ขณะที่เอ็มทีเอสีเทาประกอบด้วย ไตรแคลเซียมซิลิเกต ไดแคลเซียมซิลิเกต และบิสฟัทออกไซด์ อย่างไรก็ตามโดยรวมแล้วทั้งเอ็มทีเอสีขาวและสีเทามีส่วนประกอบที่คล้ายคลึงกัน⁽³⁴⁾

ปฏิกิริยาการก่อตัวของเอมทิเอ เกิดขึ้นเมื่อเอมทิเอสัมผัสกับน้ำ โดยไตรแคลเซียมซิลิเกตและไดแคลเซียมซิลิเกตจะทำปฏิกิริยากับน้ำ เกิดเป็นเจลแคลเซียมซิลิเกต (calcium silicate hydrate; C-S-H) และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ดังสมการต่อไปนี้

ปฏิกิริยารวมตัวกับน้ำ (Hydration reaction)⁽³³⁾ :



ต่อมาในปี 1995 มีการศึกษาการรั่วซึมของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus epidermidis* ของวัสดุอุดย่นปลายราก 4 ชนิด พบว่าวัสดุอมัลกัม, ไออาร์เอ็ม, และซูเปอร์ อีบีเอ มีการรั่วซึมของแบคทีเรียได้ในช่วง 6-57 วัน แต่ในระยะเวลา 90 วันพบว่าไม่มีการรั่วซึมของแบคทีเรียเข้าไปในเอมทิเอ การศึกษานี้จึงแนะนำว่าเอมทิเอมีความแนบสนิทที่ดีกว่าวัสดุอุดย่นปลายรากชนิดอื่น⁽⁵⁾ ในแง่ของความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อของร่างกาย มีการศึกษาในเรื่องความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเอมทิเอต่อเซลล์ต่างๆ ได้แก่ ไฟโบรบลาสต์ จากเนื้อเยื่อเหงือกและเอ็นยึดปริทันต์, ซีเมนโตบลาสต์, สเต็มเซลล์จากเนื้อเยื่อในฟัน (dental pulp stem cells) สเต็มเซลล์จากเนื้อเยื่อปุ่มกำเนิดฟัน (stem cells of apical papilla) และเซลล์สร้างกระดูก โดยเซลล์ที่ใช้ในการศึกษามีทั้งในรูปแบบการเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิดปฐมภูมิ (primary cell culture) และเซลล์ต่อเนื่อง พบว่าเอมทิเอมีความเข้ากันได้กับเซลล์ต่างๆ อีกทั้งยังมีคุณสมบัติที่เอื้อต่อการเกาะติดของเซลล์บนพื้นผิววัสดุ^(26, 27) ดังภาพประกอบที่ 1 แม้ว่าวัสดุเอมทิเอจะมีข้อดีต่างๆดังที่กล่าวไว้ข้างต้น แต่เอมทิเอยังมีข้อจำกัดในเรื่องการใช้งานยาก มีการละลายของวัสดุได้ง่ายเมื่อสัมผัสกับน้ำ ระยะเวลาในการก่อตัวนาน ต่อมาจึงมีความพยายามในการพัฒนาวัสดุไบโอเซรามิกเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติให้ดียิ่งขึ้น



ภาพประกอบ 1 แสดงความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์ซีเมนโตบลาสต์ (A), เซลล์สร้างกระดูก (B), โฟโบบลาสต์ (C), และสเต็มเซลล์จากเนื้อเยื่อปมกำเนิดฟัน (D) (35-38)

โมโนแคลเซียมซิลิเกต (Monocalcium silicate : CaSiO_3)

โมโนแคลเซียมซิลิเกต (Monocalcium silicate / Wallastonite, CaSiO_3) เป็นวัสดุในกลุ่ม calcium silicate based material ซึ่งเป็นวัสดุชีวกัมมันต์ชนิดหนึ่ง สามารถพบได้ทางธรรมชาติหรือจากการสังเคราะห์ขึ้น⁽³⁹⁾ ปัจจุบันมีรายงานการประยุกต์ใช้โมโนแคลเซียมซิลิเกตในทางการแพทย์สำหรับเป็นกระดูกเทียม⁽⁴⁰⁾ ใช้เป็นวัสดุทดแทนกระดูกสันหลังและกระดูกเชิงกราน⁽⁴⁾ เป็นต้น สำหรับทางทันตกรรมได้มีการประยุกต์ใช้วัสดุนี้ในการปลูกกระดูก ใช้เคลือบผิวรากเทียมและใช้พัฒนาเป็นโครงค้ำยัน (scaffold) สำหรับการเจริญทดแทนของกระดูก องค์ประกอบหลักทางเคมีของโมโนแคลเซียมซิลิเกต ประกอบด้วยส่วนของแคลเซียมออกไซด์และซิลิกอนไดออกไซด์ เป็นที่น่าสนใจว่าโมโนแคลเซียมซิลิเกตมีความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างอะพาไทต์ได้ ซึ่งทำให้วัสดุมีคุณสมบัติความเข้ากันได้ทางชีวภาพ จากการศึกษาของ Siriphannon และคณะ⁽⁴⁰⁾ รายงานว่าโมโนแคลเซียมซิลิเกตมีความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ได้เมื่อผ่านการแช่ในสารละลายจำลองคล้ายของเหลวในร่างกาย (stimulated body fluid; SBF) โดยพบการสร้างผลึกอะพาไทต์ที่มีอนุภาคคล้ายลูกบอลได้อย่างรวดเร็วภายหลังแช่วัสดุใน SBF ซึ่งการเกิดผลึกอะพาไทต์บนพื้นผิวของวัสดุ จะทำให้วัสดุมีคุณสมบัติชีวกัมมันต์และมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพที่ดี สำหรับกลไกการเกิดผลึกอะพาไทต์บนพื้นผิวของโมโนแคลเซียมเกิดจากวัสดุชีวกัมมันต์มีการละลายของแคลเซียมไอออนออกมาในของเหลวในร่างกาย ทำให้ของเหลวในบริเวณนั้นเกิดสารละลายอิ่มตัวยิ่งยวด นอกจากนี้มีรายงานว่าเกิด silanol ซึ่งเกิดจากอนุภาคของ

ซิลิกาเจลที่ละลายออกจากพื้นผิวของวัสดุมีความสำคัญในการเกิดผลึกอะพาไทต์ เนื่องจากจะเป็นตำแหน่งสำหรับ hydroxyapatite nucleation จากนั้นแคลเซียมไอออนและฟอสเฟตไอออนจะทำปฏิกิริยาพอกให้ผลึกมีขนาดใหญ่ขึ้น

De Aza และคณะ⁽⁴¹⁾ ได้รายงานพบการสร้างชั้นคล้ายไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite-like layer) บนพื้นผิวของซูโดวอลลาสโตไนท์ (pseudowollastonite) เมื่อทำการแช่วัสดุในน้ำลายพาริติดของมนุษย์ ซึ่งพฤติกรรมของวัสดุในการสร้างผลึกอะพาไทต์ในน้ำลายและในสารละลายจำลองคล้ายของเหลวในร่างกาย การเกิดผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์⁽⁴¹⁾

ในการศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพว่าโมโนแคลเซียมซิลิเกต Saadaldin และคณะ⁽⁴²⁾ พบว่าวอลลาสโตไนท์กลาสเซรามิก (wollastonite glass-ceramic) มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเซลล์สร้างกระดูก รวมถึงส่งเสริมการเจริญของเซลล์และการยึดติดของเซลล์ได้ Ni และ Chang⁽¹⁶⁾ ทำการศึกษาเปรียบเทียบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของไบโอเซรามิก 3 ชนิด ได้แก่ โมโนแคลเซียมซิลิเกต (CaSiO_3) แมกนีเซียมซิลิเกต (Mg_2SiO_4) และแคลเซียมฟอสเฟต ($\beta\text{-Ca}_2(\text{PO}_4)_2$) ต่อเซลล์คล้ายเซลล์สร้างกระดูก พบว่าไอออนที่ถูกปลดปล่อยจากแคลเซียมซิลิเกตและแมกนีเซียมซิลิเกตสามารถกระตุ้นการเจริญของเซลล์คล้ายเซลล์สร้างกระดูกได้

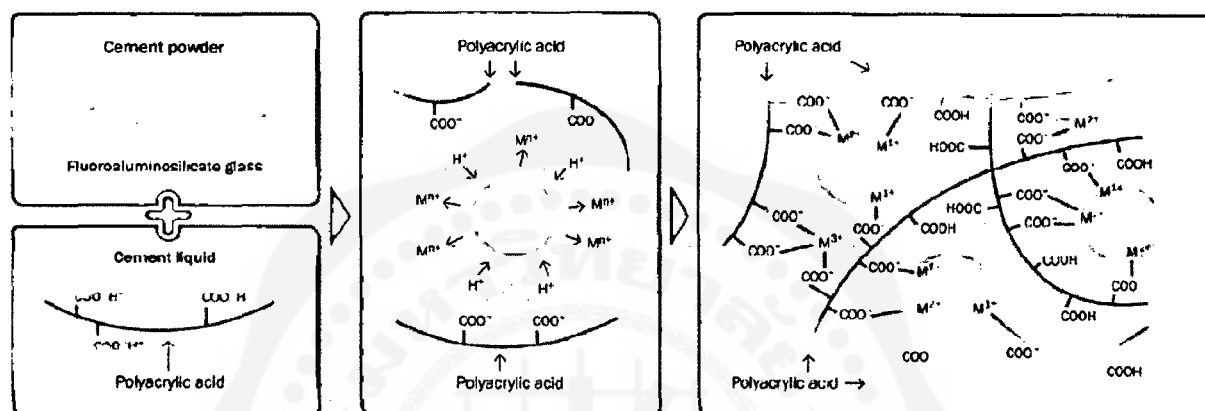
แม้ว่าวัสดุโมโนแคลเซียมซิลิเกตจะมีคุณสมบัติที่ดีในแง่ของความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเนื้อเยื่อและมีคุณสมบัติชีวกัมมันต์ แต่ด้วยความเปราะของวัสดุโมโนแคลเซียมซิลิเกต และการไม่สามารถก่อตัวได้ด้วยน้ำกลั่น ทำให้เป็นข้อจำกัดในการนำใช้งาน

กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ (Glass ionomer cement, GIC)

กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ (Glass ionomer cement, GIC) เป็นวัสดุบูรณะชนิดหนึ่งที่สามารถปล่อยฟลูออไรด์ได้และมีความสามารถในการยึดติดกับเนื้อฟัน ถูกพัฒนาขึ้นโดย Wilson และ Kent และวางจำหน่ายในปี 1972 ในส่วนผงของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ ประกอบด้วย ผลึกแก้วฟลูออโรอะลูมิโนซิลิเกต (fluoro-alumino-silicate glass) และส่วนเหลวประกอบด้วยสารละลายของกรดพอลิอะคริลิก (polyacrylic acid) ⁽⁴³⁾

ปฏิกิริยาการก่อตัวของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ เป็นปฏิกิริยากรดเบส (acid-base reaction) ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาเริ่มจากกรดพอลิอะคริลิกซึ่งเป็นกรดอ่อนที่อยู่ในส่วนเหลวจะทำปฏิกิริยากับชั้นพื้นผิวรอบนอกของผลึกแก้วไอโอโนเมอร์ (ionomer glass) เกิดการปลดปล่อยสารที่มีประจุบวก คือ อะลูมิเนียมไอออน (Al^{3+}) และแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) หรือสตรอนเทียมไอออน (Sr^{2+}) โดยไอออนดังกล่าวจะเกิดการรวมตัวกับสายของกรดเป็นสายของเกลือ (salt bridge) และเกิดการสร้างเป็นซิลิกาไฮโดรเจล (silica hydrogel) ในการสร้างแคลเซียมพอลิอะคริลิโนเลท (calcium

polyacrylate) จะเกิดได้เร็วกว่าอะลูมิเนียมอะคริโนเลท (aluminum polyacrylate) ดังภาพประกอบ 2 การเกิดปฏิกิริยาการก่อตัวของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์จะเกิดที่พื้นผิวของผลึกแก้ว โดยส่วนแกนกลางของผลึกแก้วจะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงซึ่งส่วนแกนกลางของผลึกแก้วนี้จะทำหน้าที่เป็นวัสดุอุดแทรก (filler) อยู่ในเมทริกซ์ของซีเมนต์ (cement matrix) และชั้นของซิลิกาเจล (silica gel) จะอยู่ระหว่างอนุภาคของแก้วกับเมทริกซ์ หลังจากวัสดุเกิดการก่อตัวแล้วปฏิกิริยาจะยังคงดำเนินต่อไป⁽⁴⁴⁾

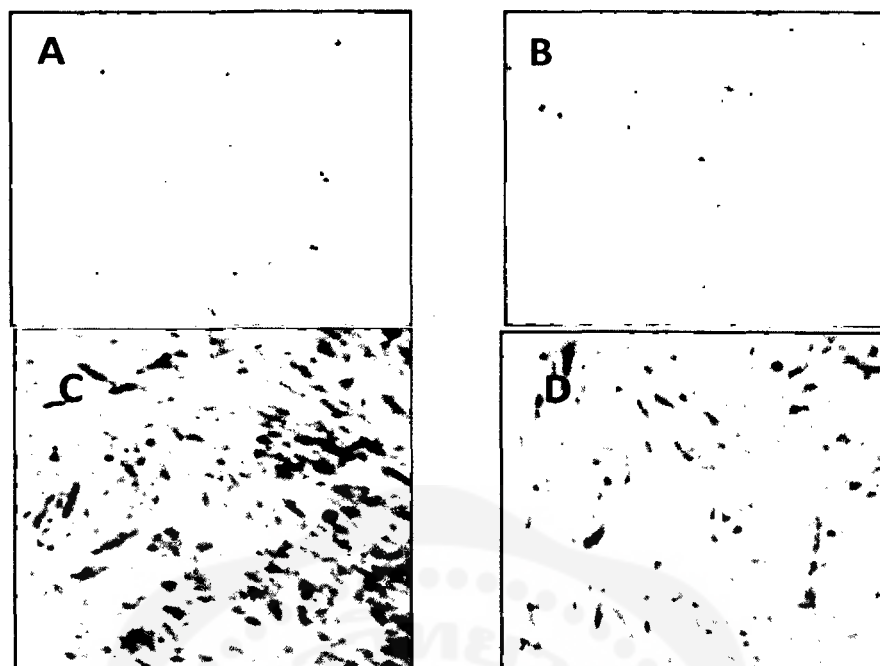


ภาพประกอบ 2 แสดงการเกิดปฏิกิริยารด-เบสของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์⁽⁴⁴⁾

กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ถูกนำมาใช้ในงานทางเอ็นโดดอนติกส์ ได้แก่ ใช้เป็นวัสดุบูรณะชั่วคราว (temporary coronal restoration) ใช้เป็นวัสดุปิดทางเข้าสู่คลองรากฟันเพื่อป้องกันการรั่วซึม ภายหลังการรักษาคลองรากฟันเสร็จสิ้น (intraorifice barrier, double seal) ใช้ในการซ่อมรูทะลุรากฟัน และใช้เป็นวัสดุอุดย่นปลายราก เป็นต้น⁽¹⁹⁾ ในการศึกษาคุณสมบัติความเข้ากันได้ทางชีวภาพของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ พบว่าวัสดุที่ได้รับการเตรียมใหม่ยังมีความเป็นพิษกับเซลล์ แต่ความเป็นพิษจะลดลงหลังจากวัสดุมีการก่อตัวอย่างสมบูรณ์^(45, 46) Kolokouris และคณะ⁽⁴⁷⁾ ทำการศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของ Ketac Endo และ Tubli-Seal ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของหนู โดยวัสดุจะถูกบรรจุอยู่ใน Teflon tube และถูกฝังใต้ผิวหนังชั้น subcutaneous ของหนู และทำการนำท่อ Teflon ออกเมื่อครบเวลา 5, 15, 60 และ 120 วัน ผลการศึกษาพบว่า Ketac Molar ทำให้เกิดปฏิกิริยาการอักเสบในระดับต่ำ ที่เวลา 5 วัน โดยพบพลาสมาเซลล์ ลิมโฟไซต์ และแมโครเฟจในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันระดับการอักเสบจะลดลงเมื่อเวลาผ่านไป 15 วัน และระดับการอักเสบจะลดลงอย่างมากที่ระยะเวลา 60 และ 120 วัน ในขณะที่ Tubli-Seal ทำให้เกิดการอักเสบรุนแรงในวันที่ 5 และ 15 และยังคงระคายเคืองเนื้อเยื่อเมื่อวัสดุสัมผัสกับเนื้อเยื่อเป็นระยะเวลา 60 และ 120 วัน Zmener และคณะ⁽⁴⁸⁾ ทำการศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์เปรียบเทียบกับซิงค์ฟอสเฟตซีเมนต์ โดยทำ

การฝังวัสดุในกระดูกหน้าแข้งของสุนัขพบว่ากลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ทำให้เกิดปฏิกิริยาการอักเสบที่น้อยกว่าซีเมนต์ฟอสเฟตซีเมนต์ที่ระยะเวลา 10 และ 30 วัน โดยที่ระยะเวลา 90 วัน การตอบสนองของเนื้อเยื่อต่อวัสดุทั้งสองชนิดมีความคล้ายคลึงกัน และพบการสร้างกระดูกใหม่ปกคลุมบนวัสดุ Kui และคณะ⁽⁴⁹⁾ ทำการศึกษาถึงคุณสมบัติความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุอุดยอนปลายรากฟัน 4 ชนิด ได้แก่ โพลีคาร์บอกซีเลทซีเมนต์ กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ คอมโพสิต และเอ็มทีเอ โดยประเมินการตอบสนองของเนื้อเยื่อภายหลังทำการฝังวัสดุลงในกระดูกฝากะโหลกของหนูที่เวลา 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 สัปดาห์ พบว่าในทุกช่วงเวลาที่ทำการศึกษา เนื้อเยื่อจะเกิดการอักเสบ โดยการอักเสบจะน้อยที่สุดที่ระยะเวลา 12 สัปดาห์ นอกจากนี้มีการศึกษาที่เปรียบเทียบความเป็นพิษต่อเซลล์โอดอนโทบลาสต์ของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ 5 ชนิด คือ Vitrebond, Vitremer, Fuji II LC, Fuji IX GP, และ Ketac-Molar ในห้องปฏิบัติการพบว่า Fuji IX และ Ketac-Molar มีความเป็นพิษต่อเซลล์โอดอนโทบลาสต์น้อยที่สุด

ต่อมามีความพยายามปรับปรุงคุณสมบัติของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ โดยนำโมโนแคลเซียมซิลิเกตที่มีคุณสมบัติชีวกัมมันต์มาผสม เพื่อช่วยปรับปรุงคุณสมบัติต่างๆ ของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ให้ดีขึ้น Pothiraksanont และคณะ⁽²¹⁾ พบว่าเมื่อนำโมโนแคลเซียมซิลิเกตมาผสมร่วมกับวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ทำให้มีระยะเวลาการก่อตัวน้อยกว่าเอ็มทีเออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยไม่กระทบกับความทนแรงอัดของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ที่ระยะเวลา 28 วัน ต่อมา Sangsawatpong และคณะ⁽²³⁾ ทำการศึกษาถึงความเข้ากันได้ทางชีวภาพของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่ผสมโมโนแคลเซียมซิลิเกตในอัตราส่วน 10%, 30% และ 50% โดยนำหน้ากดเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผลการทดลองพบว่ากลุ่มของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่ผสม 50% โมโนแคลเซียมซิลิเกตโดยนำหน้ากดจะมีผลลึกระบาดที่ต้นผิวหน้าของวัสดุและมีจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตมากกว่ากลุ่มอื่น ดังภาพประกอบ 3 นอกจากนี้ Chaisinghanuae และคณะ⁽²²⁾ ได้ทำการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์และคุณสมบัติการสร้างเนื้อเยื่อแข็งของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่ผสมโมโนแคลเซียมซิลิเกตเติมเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์เปรียบเทียบกับ White ProRoot® MTA ผลการศึกษาพบว่ากลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมไม่เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์ และสามารถกระตุ้นให้เกิดกระบวนการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ได้มากกว่า White ProRoot® MTA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.001$) ดังภาพประกอบ 3 นอกจากนี้พบว่าเซลล์มีการแสดงออกของยีนที่เป็นตัวบ่งชี้ของการแปรสภาพไปเป็นเซลล์สร้างเนื้อฟันโดยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับ White ProRoot® MTA ในทุกช่วงของการศึกษา อย่างไรก็ตามการเกิดการสะสมแร่ธาตุยังพบปริมาณน้อยกว่าที่พบใน White ProRoot® MTA



ภาพประกอบ 3 แสดงความเข้ากันได้ของสเต็มเซลล์เนื้อเยื่อในของมนุษย์และเซลล์ไฟโบรบลาสต์ต่อวัสดุ
 กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมเปรียบเทียบกับเอ็มทีเอ (A) สเต็มเซลล์เนื้อเยื่อ
 ในของมนุษย์ในกลุ่มเอ็มทีเอ, (B) สเต็มเซลล์เนื้อเยื่อในของมนุษย์ในกลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์
 ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมร้อยละ 50, (C) เซลล์ไฟโบรบลาสต์ในกลุ่มเอ็มทีเอ, (D) เซลล์ไฟโบรบลาสต์
 ในกลุ่มกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมร้อยละ 50 ^(22, 23)

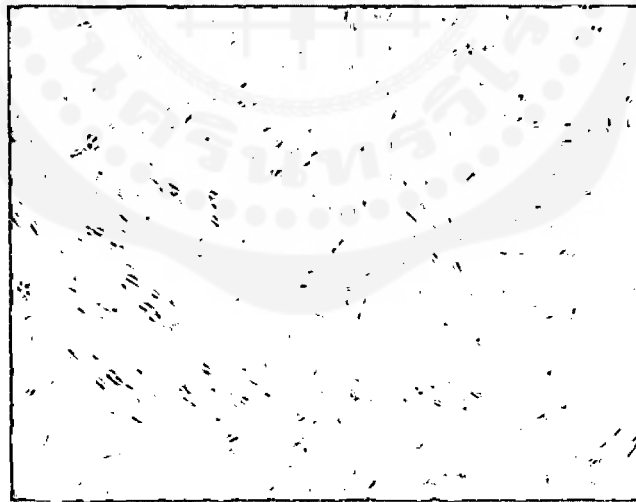
การศึกษาที่ผ่านมายังไม่มีการศึกษาในห้องปฏิบัติการที่ศึกษาถึงความเข้ากันได้ทางชีวภาพ
 และการยึดติดของเซลล์สร้างกระดูกที่ได้จากกระดูกบ่าพื้นมนุษย์บนพื้นผิวของกลาสไอโอโนเมอร์
 ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมเมื่อนำมาใช้เป็นวัสดุอุดอุดยึดบนปลายรากฟัน จึงเป็นที่มาของ
 การศึกษาในครั้งนี้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การเพาะเลี้ยงเซลล์

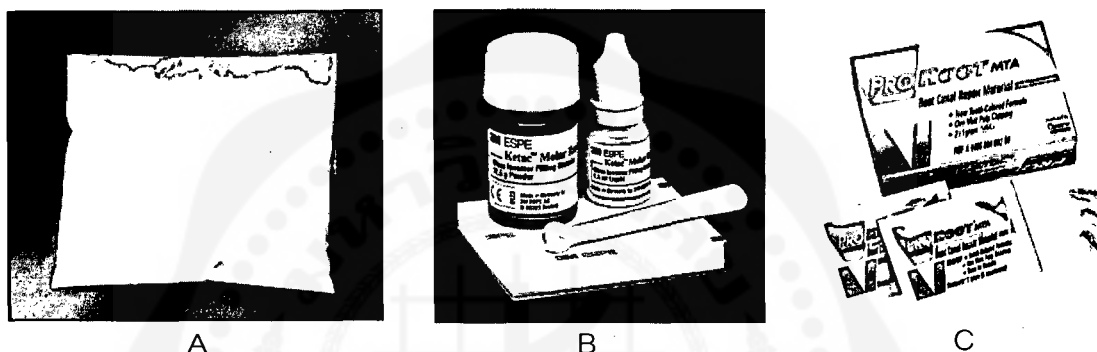
เซลล์สร้างกระดูกที่นำมาใช้ในการศึกษานี้ได้รับความอนุเคราะห์จากผศ. ทพญ. อินทรา วงศ์เยาว์ฟ้า ซึ่งได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมในงานวิจัย คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เลขที่ DENTSWU-EC09/2559 โดยเซลล์ที่ได้รับมาไม่มีการระบุชื่อหรือตั้งรหัสที่ทำให้สามารถเชื่อมโยงข้อมูลถึงผู้ยินยอมตนเป็นรายบุคคลได้ ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์สร้างกระดูกในห้องปฏิบัติการ เซลล์สร้างกระดูกถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด ดีเอ็มอีเอ็ม (Dulbecco's Modified Eagle Medium : DMEM , Gibco[®], Carlsbad, CA, USA) ที่มีส่วนผสมของซีรัมจากลูกอ้อนวัวร้อยละ 10 (10% fetal calf serum: FCS, Gibco[®]) กลูตามีน (L-glutamine, Invitrogen, NY) ยาปฏิชีวนะและยาต้านเชื้อรา (100 IU/ml. penicillin G, 50 µg/ml. streptomycin และ amphotericin B 2.5 µg/ml) ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ในตูบที่มีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 โดยเซลล์สร้างกระดูกจากกลุ่มย่อย (Passage) ที่ 3 ถึงกลุ่มย่อยที่ 8 จะถูกนำมาใช้ในการศึกษารั้งนี้ ดังภาพประกอบ 4



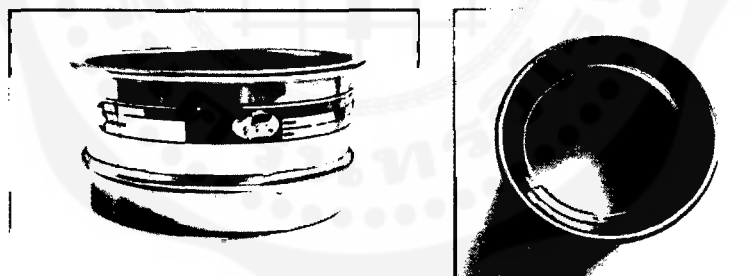
ภาพประกอบ 4 แสดงเซลล์สร้างกระดูก

การเตรียมสารที่ใช้ในการทดสอบ

สารที่ใช้ในการศึกษาประกอบด้วย ไวท์โปรรุตเอ็มทีเอ (White ProRoot® MTA, Dentsply Tulsa dental, Tulsa OK, USA), กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ (Ketac™ molar easymix, 3M ESPE AG, Germany) และโมโนแคลเซียมซิลิเกต (β -CaSiO₃) ดังภาพประกอบที่ 5 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร.ปณณมา ศิริพันธ์โนน ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งเตรียมจากแคลเซียมไนเตรตและเตตราเอทิลออร์โธซิลิเกตโดยใช้วิธีการตกตะกอนร่วมทางเคมี⁽¹³⁾ จากนั้นนำมาร่อนผ่านตะแกรงขนาด 45 ไมครอน (325 mesh) ดังภาพประกอบ 6



ภาพประกอบ 5 แสดงโมโนแคลเซียมซิลิเกต(A), กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์(B), และไวท์โปรรุตเอ็มทีเอ(C)



ภาพประกอบ 6 แสดงตะแกรงขนาด 45 ไมครอน

การเตรียมสารประกอบของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมในอัตราส่วนร้อยละ 50 โดยน้ำหนักซึ่งเป็นอัตราส่วนที่ได้ทดสอบแล้วพบว่าเกิดผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ดีที่สุด⁽²³⁾ ทำโดยนำส่วนผสมของโมโนแคลเซียมซิลิเกตและส่วนผสมของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์มาผสมกันในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยน้ำหนัก จากนั้นนำมาร่อนซ้ำจำนวน 3 รอบด้วยตะแกรงขนาด 45 ไมครอน เพื่อให้สารผสมเข้ากัน นำส่วนผสมที่ผสมเข้ากันแล้วมาผสมกับส่วนเหลวของ Ketac™ molar ซึ่งเป็นกรดโพลีอะคริลิก ในอัตราส่วนผง 1.7 ส่วน ต่อส่วนเหลว 1 ส่วน โดยน้ำหนัก รายละเอียดแสดงดังตาราง 1

ในขั้นตอนการเตรียมสารที่ใช้ในการทดสอบจะทำการซั่งสารในเครื่องชั่งมาตรฐาน สารที่ใช้ในการทดสอบจะผ่านขั้นตอนของการทำให้ปลอดเชื้อภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต (Ultraviolet light) เป็นระยะเวลา 30 นาที ก่อนที่จะทำการเตรียมสารในสภาวะปลอดเชื้อภายใต้ตู้ลามินาร์ (Laminar air flow cabinet)

ตาราง 1 การเตรียมสารที่ใช้ในการทดสอบ

กลุ่ม	ส่วนผสม	ผง:น้ำ (w/w)
กลุ่มที่ 1 50%CS-GI	50% CaSiO ₃ 50% GIC	1.7 : 1
กลุ่มที่ 2 MTA	White ProRoot® MTA	3.3 : 1

1. การเตรียมสารสกัดสำหรับการวัดความมีชีวิตของเซลล์สร้างกระดูกต่อวัสดุ

1.1 การเตรียมสารสกัดของวัสดุที่มีระยะก่อดำเริ่มต้น

สารทดสอบที่ได้รับการผสมในกลุ่มที่ 1 และ 2 จะถูกนำไปขึ้นรูปในภาดเลี้ยงเซลล์ 6 หลุม จากนั้นทำให้เกิดสภาวะปลอดเชื้อภายใต้รังสียูวีเป็นเวลา 20 นาที และทำการแช่สารทดสอบในอาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มอีเอ็มที่ไม่มีซีรัมของลูกวัวในอัตราส่วน 0.2 กรัมต่อมิลลิลิตร (g/mL) ตามมาตรฐาน International Standard Organization (ISO 10993-12:2007(E))(50) บ่มไว้ในตู้อบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 95 เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงเพื่อทำการสกัดแยกสารทดสอบ ภายหลังครบเวลานำสารละลายจากสารทดสอบไปหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ด้วยจำนวนรอบ 3000 รอบต่อนาที (Revolutions per minutes, rpm) เป็นระยะเวลา 5 นาที แล้วนำสารละลายส่วนเหนือตะกอน (supernatant) เก็บในหลอด eppendorf ห่อหุ้มด้วยกระดาษฟอยล์ (Foil) เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำสารสกัดที่ได้มาใช้ในการทดสอบกับเซลล์สร้างกระดูกตามวิธีการวัดความมีชีวิตของเซลล์

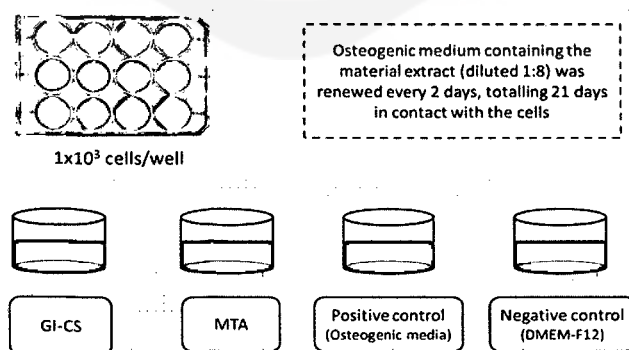
1.2 การเตรียมสารสกัดของวัสดุที่มีระยะก่อดำสมบูรณ์

สารทดสอบที่ได้รับการผสมในกลุ่มที่ 1 และ 2 จะถูกนำไปขึ้นรูปในภาดเลี้ยงเซลล์ 6 หลุม จากนั้นวัสดุจะถูกปล่อยให้ก่อดำอย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 95 เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ภายหลังครบเวลาวัสดุจะถูกทำให้เกิดสภาวะปลอดเชื้อภายใต้รังสียูวีเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นแช่สารทดสอบในอาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มอีเอ็มที่ไม่มีซีรัมของลูกวัวในอัตราส่วน 0.2 กรัมต่อมิลลิลิตร (g/mL) ตามมาตรฐาน International Standard Organization (ISO

10993-12:2007(E)) บ่มไว้ในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงเพื่อทำการสกัดแยกสารทดสอบ ภายหลังครบเวลานำสารละลายจากสารทดสอบไปหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ด้วยจำนวนรอบ 3000 รอบต่อนาที (Revolutions per minutes, rpm) เป็นระยะเวลา 5 นาที แล้วนำสารละลายส่วนเหนือตะกอน (supernatant) เก็บในหลอด eppendorf ห่อหุ้มด้วยกระดาษอะลูมิเนียม เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำสารสกัดที่ได้มาใช้ในการทดสอบกับเซลล์สร้างกระดูกตามวิธีการวัดความมีชีวิตของเซลล์

2. การเตรียมสารสกัดของวัสดุที่ทำการทดสอบสำหรับการประเมินการสะสมแร่ธาตุ

สารทดสอบที่ได้รับการผสมจะถูกนำไปใส่ในภาชนะเลี้ยงเซลล์ 6 หลุม วัสดุจะถูกปล่อยให้ก่อดั้วสมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 95 เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ภายหลังครบเวลาวัสดุจะถูกทำให้เกิดสภาวะปลอดเชื้อภายใต้รังสียูวี เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นทำการแช่สารทดสอบในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีฤทธิ์เหนี่ยวนำการสร้างเนื้อเยื่อแข็ง (Osteogenic media) ซึ่งประกอบด้วยส่วนผสมของ กรดแอสคอร์บิก (L-Ascorbic acid, Sigma-Aldrich) 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บีต้ากลีเซอโรฟอสเฟต (β -glycerophosphate, Sigma-Aldrich) 1.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเดกซาเมทาโซน (Dexamthasone, Sigma-Aldrich) 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และนำไปบ่มไว้ในตู้บ่มเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงเพื่อทำการสกัดแยกสารทดสอบ ภายหลังครบเวลานำสารละลายจากสารทดสอบไปหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ด้วยจำนวนรอบ 3000 รอบต่อนาที (Revolutions per minutes, rpm) เป็นระยะเวลา 5 นาที แล้วนำสารละลายส่วนเหนือตะกอน (supernatant) เก็บในหลอด eppendorf ห่อหุ้มด้วยกระดาษฟอยล์ (Foil) เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำสารสกัดที่ได้มาใช้ในการทดสอบกับเซลล์สร้างกระดูกตามวิธีการประเมินการสะสมของแร่ธาตุ ตามภาพประกอบ 7



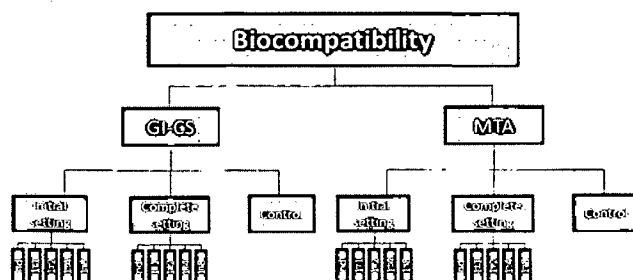
ภาพประกอบ 7 แสดงการเตรียมสารสกัดของวัสดุสำหรับการประเมินการสะสมแร่ธาตุ

การทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุต่อเซลล์สร้างกระดูก

การทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุต่อเซลล์สร้างกระดูกจะทำการศึกษาใน 2 ประเด็นดังต่อไปนี้

1. ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุที่มีระยะก่อดำเริ่มต้น (initial setting) เปรียบเทียบกับวัสดุที่มีระยะก่อดำสมบูรณ์

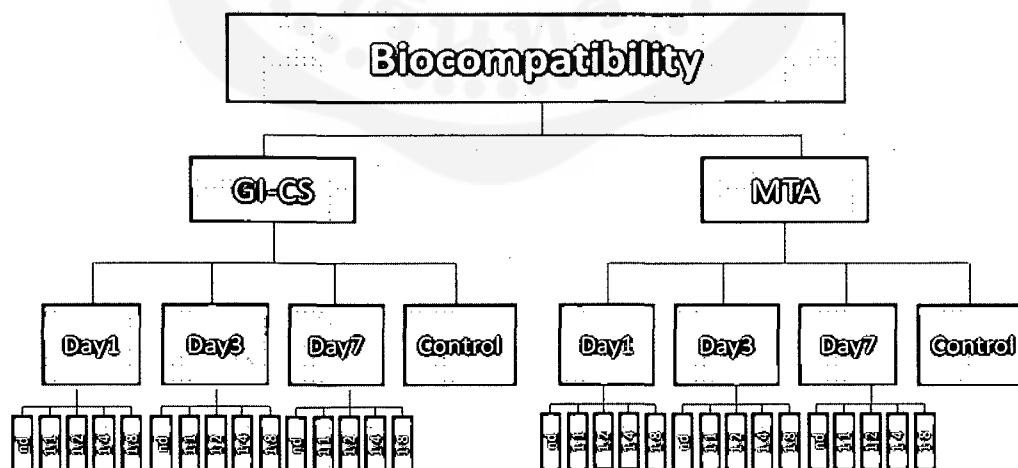
การทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์สร้างกระดูกต่อวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมจะวัดจากการวัดความมีชีวิตของเซลล์และการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์หลังจากที่เซลล์สร้างกระดูกสัมผัสกับสารสกัดของวัสดุและทำการทดสอบด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay) โดยเซลล์สร้างกระดูกถูกเลี้ยงในถาด 96 หลุม (96-well plate) ที่ความหนาแน่น 2×10^3 เซลล์ต่อหลุม ในอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ที่มี FCS ร้อยละ 10 จำนวน 200 ไมโครลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการยึดเกาะของเซลล์บนถาด 96 หลุม หลังจากนั้นอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลล์จะถูกกำจัดออกและแทนที่ด้วยสารสกัดของวัสดุที่ทำการทดสอบ ซึ่งประกอบด้วยกลุ่มของวัสดุที่มีระยะก่อดำเริ่มต้นและกลุ่มของวัสดุที่มีระยะก่อดำสมบูรณ์ ซึ่งมีความเข้มข้นต่างกัน 5 ความเข้มข้น ดังภาพประกอบที่ 8 ได้แก่ สารสกัดของวัสดุที่ไม่ได้รับการเจือจาง (no dilution), และสารสกัดของวัสดุที่ได้รับการเจือจางในอัตราส่วน 1:1, 1:2, 1:4, และ 1:8 ตามลำดับโดยมีกลุ่มควบคุมเป็นอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ที่มี FCS ร้อยละ 10 ทำการบ่มเซลล์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการศึกษารูปร่างของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (phase contrast microscopy) ทำการกำจัดสารสกัดของวัสดุที่ทำการทดสอบออกและล้างด้วย Phosphate buffer saline (PBS) ปริมาณ 100 ไมโครลิตร/หลุม และเติมสาร MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenylterazolium bromide] จำนวน 50 ไมโครลิตร/หลุม บ่มเซลล์เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นกำจัดสาร MTT และล้างด้วย Phosphate buffer saline จากนั้นเติมสาร DMSO 100 ไมโครลิตร/หลุม และวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorption spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร



ภาพประกอบ 8 แสดงแผนภาพการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุที่มีระยะก่อดำเริ่มต้นเปรียบเทียบกับวัสดุที่มีระยะก่อดำสมบูรณ์

2. ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุภายหลังมีระยะก่อตัวสมบูรณ์ที่ความเข้มข้นและเวลาต่างกัน

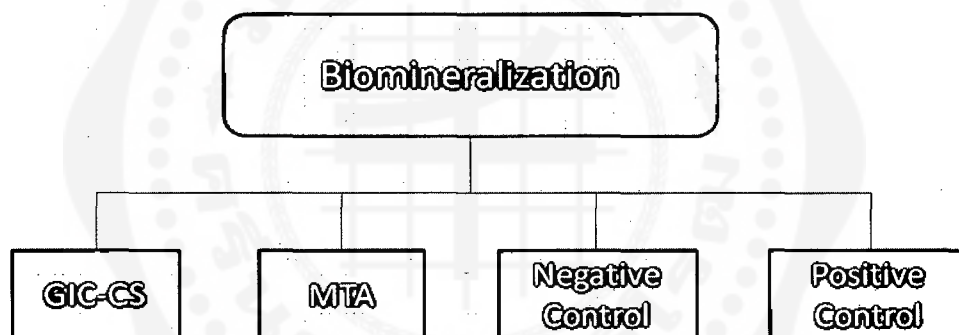
การทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์สร้างกระดูกต่อวัสดุกลาสไฮโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มี โมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมจะวัดจากการวัดความมีชีวิตของเซลล์และการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์หลังจากที่เซลล์สร้างกระดูกสัมผัสกับสารสกัดของวัสดุที่ทำการทดสอบด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay) โดยเซลล์สร้างกระดูกถูกเลี้ยงในถาด 96 หลุม (96-well plate) ที่ความหนาแน่น 2×10^3 เซลล์ต่อหลุม ในอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ที่มี FCS ร้อยละ 10 จำนวน 200 ไมโครลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการยึดเกาะของเซลล์บนถาด 96 หลุม หลังจากนั้นอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลล์จะถูกกำจัดออกและแทนที่ด้วยสารสกัดของวัสดุที่ทำการทดสอบ ซึ่งมีความเข้มข้นต่างกัน 5 ความเข้มข้น ดังภาพประกอบที่ 9 ได้แก่ สารสกัดของวัสดุที่ไม่ได้รับการเจือจาง (no dilution), และสารสกัดของวัสดุที่ได้รับการเจือจางในอัตราส่วน 1:1, 1:2, 1:4, และ 1:8 ตามลำดับ ในปริมาณหลุมละ 100 ไมโครลิตร โดยให้กลุ่มควบคุม เป็นหลุมที่ใส่อาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ที่มี FCS ร้อยละ 10 จากนั้นทำการบ่มเซลล์เป็นเวลา 1, 3, และ 7 วัน เมื่อครบเวลาทำการศึกษารูปร่างของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (phase contrast microscopy) ทำการกำจัดสารสกัดของวัสดุที่ทำการทดสอบออกและล้างด้วย Phosphate buffer saline (PBS) ปริมาณ 100 ไมโครลิตร/หลุม และเติมสาร MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenylterazolium bromide] จำนวน 50 ไมโครลิตร/หลุม บ่มเซลล์เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นกำจัดสาร MTT และล้างด้วย Phosphate buffer saline จากนั้นเติมสาร DMSO 100 ไมโครลิตร/หลุม และวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorption spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร



ภาพประกอบ 9 แสดงแผนภาพการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุภายหลังมีระยะก่อตัวสมบูรณ์ที่ความเข้มข้นและเวลาต่างกัน

การประเมินการสะสมแร่ธาตุ (Mineralization assay)

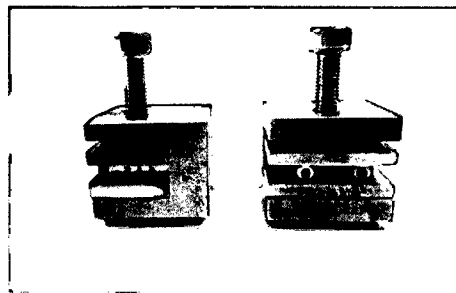
ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์สร้างกระดูกในถาด 12 หลุม (12-well plate) ที่ความหนาแน่น 1×10^4 เซลล์ต่อหลุม ในอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ที่มี FCS ร้อยละ 10 จำนวน 200 ไมโครลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการยึดเกาะของเซลล์บนถาด หลังจากนั้นทำการกำจัดอาหารเลี้ยงเซลล์ออกและแทนที่ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีฤทธิ์เหนี่ยวนำการสร้างเนื้อเยื่อแข็ง (Osteogenic media) ซึ่งมีสารสกัดของวัสดุที่ได้รับการเจือจางในอัตราส่วน 1:8 ปริมาณ 2 มิลลิลิตรต่อหลุม โดยทำการเปลี่ยนสารทุกกลุ่มทุก 2 วัน จนครบเวลา 21 วัน โดยมีกลุ่มควบคุมบวก เป็น osteogenic media และกลุ่มควบคุมลบ เป็นอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM F-12 ดังภาพประกอบที่ 10 เมื่อครบเวลา ทำการล้างด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาไลน์ 1 ครั้ง และยัดเซลล์ด้วยเมทานอลเย็นเป็นระยะเวลา 10 นาที และทำการล้างด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเติมสีอะลิซาริน เรด [Sigma-Aldrich] ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 4.2 ปริมาณ 2 มิลลิลิตรต่อหลุม เป็นระยะเวลา 3 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ตากให้แห้งในที่มืด และทำการถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์ดูความเปลี่ยนแปลง



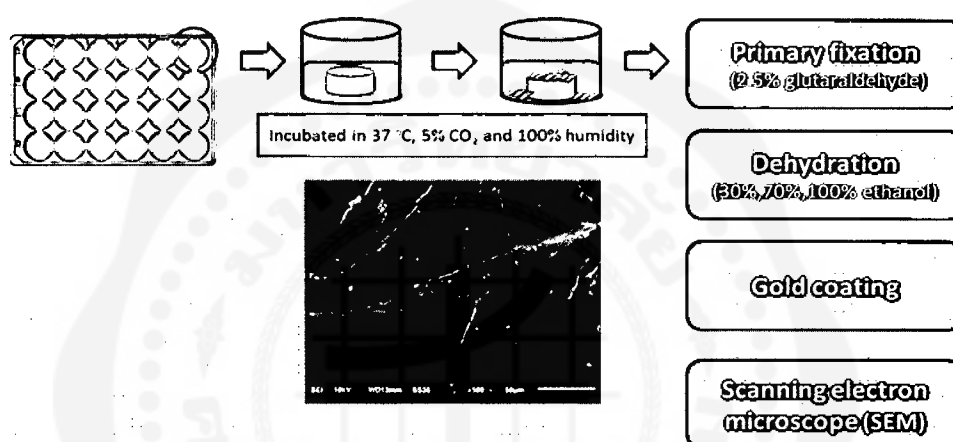
ภาพประกอบ 10 แสดงแผนภาพการประเมินการสะสมแร่ธาตุ

การตรวจสอบการยึดติดของเซลล์บนพื้นผิววัสดุด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope: SEM)

การเตรียมวัสดุสำหรับการตรวจสอบการยึดติดของเซลล์บนพื้นผิววัสดุ ทำโดยการนำส่วนผลที่ผสมเข้ากันมาขึ้นรูปด้วยแบบหล่ออะลูมิเนียม ดังภาพประกอบ 11 โดยสารทดสอบจะอยู่ในรูปแบบของซีเมนต์ที่ขึ้นรูปขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 4 มิลลิเมตร สูงประมาณ 6 มิลลิเมตร ภายหลังการเตรียมสารทดสอบในแต่ละกลุ่มจะถูกนำไปวางในถาด 24 หลุม (24-well plate) และนำไปบ่มไว้ในตู้อบเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง



ภาพประกอบ 11 แสดงแบบหล่ออะลูมิเนียม



ภาพประกอบ 12 แสดงขั้นตอนการตรวจสอบการยึดติดของเซลล์บนพื้นผิววัสดุ

ในขั้นตอนการตรวจสอบการยึดติดของเซลล์บนพื้นผิววัสดุอยู่ตอนปลายราก ดังภาพประกอบ 12 แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

- 1) กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสม โดยแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อย 4 กลุ่มตามเวลาที่ใช้ในการบ่มเซลล์ที่ 4, 8, และ 24 ชั่วโมง และใช้ glass slide เป็นกลุ่มควบคุม
- 2) โปรทูเอมทีเอ โดยแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อย 4 กลุ่มตามเวลาที่ใช้ในการบ่มเซลล์ที่ 4, 8, และ 24 ชั่วโมงและใช้ glass slide เป็นกลุ่มควบคุม

วัสดุที่ได้ผ่านการขึ้นรูป และได้รับการบ่มไว้ในตู้ที่มีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาวัสดุจะถูกวางไว้ในถาด 24 หลุม จากนั้นแต่ละหลุมจะถูกใส่เซลล์สักร่างกระดูกปริมาณ 2×10^5 เซลล์/หลุม นำถาดหลุมไปเข้าตู้บ่มที่มีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้คาร์บอนไดออกไซด์ ร้อยละ 5 และความชื้นสัมพัทธ์ ร้อยละ 100 ตามเวลาที่กำหนดในแต่ละกลุ่ม

เมื่อครบเวลาทำการล้างด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ชาไลน์ 3 ครั้ง ทำการยัดเซลล์ด้วยกลูตาไรลดีไฮด์ ร้อยละ 2.5 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทำการดึงน้ำ (dehydration) ด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ ร้อยละ 30 (15 นาที), ร้อยละ 50 (15 นาที), ร้อยละ 70 (15 นาที) และร้อยละ 95 (15 นาที) โดยทำซ้ำ 3 ครั้งที่ความเข้มข้น ร้อยละ 95 จากนั้นทำการแช่ตัวอย่างใน hexamethyldisilazane (HMDS) เป็นเวลา 30 นาที ผ่าน กระบวนการทำให้แห้ง (drying) และนำชิ้นตัวอย่างไปเคลือบทอง และนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ดังภาพประกอบ 12

การวิเคราะห์ข้อมูล

การทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์สร้างกระดูกต่อวัสดุ

การทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์สร้างกระดูกต่อวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมจะวัดจากการวัดความมีชีวิตของเซลล์และการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์หลังจากที่เซลล์สร้างกระดูกสัมผัสกับสารสกัดของวัสดุที่ทำการทดสอบ (material extract) ด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay) ผลที่ได้จะแสดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorption spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร สำหรับการศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุที่มีระยะก่อกำเนิดเริ่มต้น (initial setting) เปรียบเทียบกับวัสดุที่มีระยะก่อกำเนิดสมบูรณ์ จะทำการวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยสถิติทดสอบที (Independent Sample T-test) และการศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุภายหลังมีระยะก่อกำเนิดสมบูรณ์ที่ความเข้มข้นและเวลาต่างกัน จะทำการวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยทรีเวย์แอนโอวา (Three-Way ANOVA) และทำการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มด้วยบอนเฟอรรินี (Bonferroni) การรายงานค่าร้อยละความมีชีวิตของเซลล์จะคำนวณตามสูตรคำนวณ ดังแสดงในภาพประกอบ 13

$$\text{ค่าร้อยละความมีชีวิตของเซลล์} = \frac{\text{ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของกลุ่มทดสอบ} - \text{ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของกลุ่มเปล่า}}{\text{ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของกลุ่มควบคุม} - \text{ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของกลุ่มเปล่า}} \times 100$$

ภาพประกอบ 13 แสดงสูตรคำนวณค่าร้อยละความมีชีวิตของเซลล์

การประเมินการสะสมแร่ธาตุ (Mineralization assay)

การประเมินการสะสมแร่ธาตุด้วยวิธีย้อมสีอัลลิซาริน เรด ซึ่งเป็นการตรวจวัดการสร้างผลึกแคลเซียมของเซลล์สร้างกระดูก ทำการเก็บข้อมูลโดยการถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์ดูความเปลี่ยนแปลงเฟส และทำการวิเคราะห์ผลด้วยสถิติเชิงพรรณนา (Descriptive statistics)

การตรวจสอบการยึดติดของเซลล์สร้างกระดูกบนพื้นผิววัสดุ

การตรวจสอบการยึดติดของเซลล์สร้างกระดูกบนพื้นผิววัสดุอุดยึดบนปลายราก โดยนำชิ้นตัวอย่างไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และทำการวิเคราะห์ผลด้วยสถิติเชิงพรรณนา (Descriptive statistics)



บทที่ 4

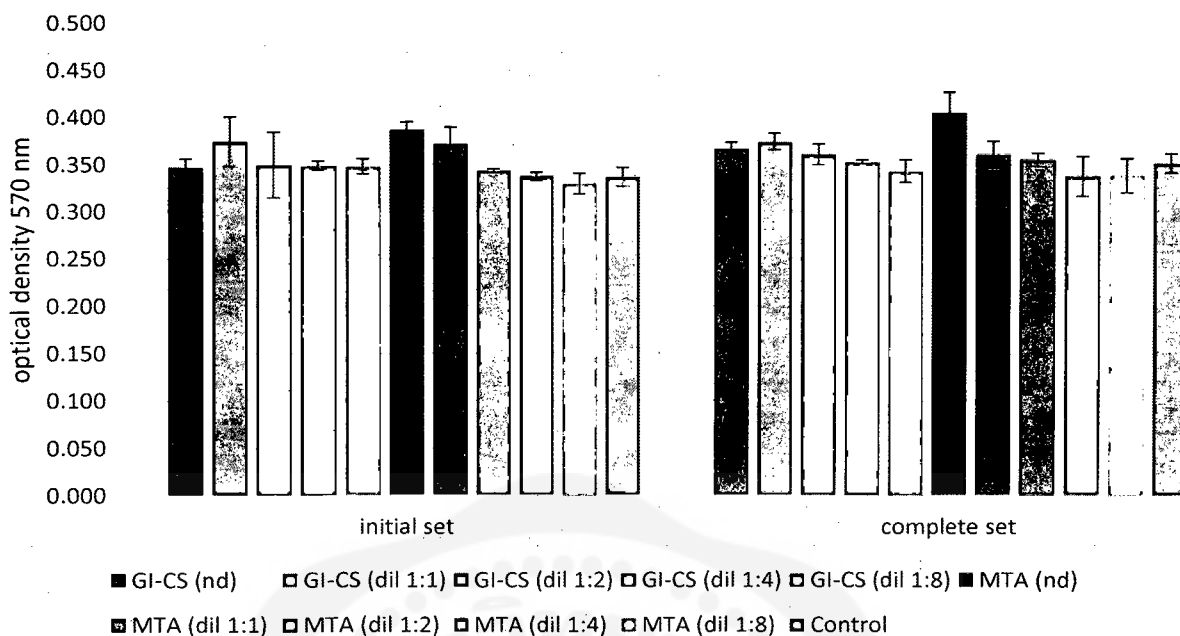
ผลการวิจัยและการวิเคราะห์ข้อมูล

การวัดความมีชีวิตของเซลล์และการวัดการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์

ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์สร้างกระดูกต่อวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมในอัตราส่วนผงต่อน้ำเท่ากับ 1.7 ต่อ 1 จะทำการศึกษาจากการวัดความมีชีวิตของเซลล์และการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์หลังจากที่เซลล์สร้างกระดูกสัมผัสกับสารสกัดของวัสดุ และทำการทดสอบด้วยวิธีเอ็มทีที โดยผลการทดสอบจะแสดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ในการศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์สร้างกระดูกต่อวัสดุจะพิจารณาใน 2 ประเด็น คือ ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์ต่อวัสดุที่ระยะก่อดำเนินการเปรียบเทียบกับวัสดุที่ระยะก่อดำเนินการ และความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุภายหลังมีระยะก่อดำเนินการที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน

ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์ต่อวัสดุที่มีระยะก่อดำเนินการเปรียบเทียบกับวัสดุที่มีระยะก่อดำเนินการ

จากการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุที่มีระยะก่อดำเนินการเปรียบเทียบกับวัสดุที่มีระยะก่อดำเนินการ พบว่า วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมในกลุ่มที่มีระยะก่อดำเนินการและกลุ่มที่มีระยะก่อดำเนินการจะมีค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ใกล้เคียงกัน สำหรับวัสดุเอ็มทีทีในกลุ่มที่มีระยะก่อดำเนินการและกลุ่มที่มีระยะก่อดำเนินการจะมีค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ใกล้เคียงกัน เมื่อนำผลมาทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงในแต่ละกลุ่มพบว่า ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แสดงดังภาพประกอบ 14



ภาพประกอบ 14 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงจากการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุที่มีระยะก่อดำเนินการเปรียบเทียบกับวัสดุที่มีระยะก่อดำเนินการสมบูรณ์

ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุที่มีระยะก่อดำเนินการที่ระดับความเข้มข้นและเวลาต่างกัน

ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุภายหลังมีระยะก่อดำเนินการที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน ที่ระยะเวลา 1, 3 และ 7 วัน จะเป็นการทดสอบปัจจัยด้านวัสดุ ระดับความเข้มข้นของวัสดุ และระยะเวลาที่เซลล์สัมผัสกับสารสกัดของวัสดุต่อความมีชีวิตและการเพิ่มจำนวนเซลล์สร้างกระดูก โดยผลการทดสอบจะแสดงเป็นค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ดังตาราง 2

เมื่อพิจารณาที่ปัจจัยด้านระดับความเข้มข้นที่ต่างกันของวัสดุ ผลการทดสอบการวัดความมีชีวิตของเซลล์สร้างกระดูกเมื่อสัมผัสสารสกัดของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมที่ระดับความเข้มข้นต่างกันเป็นระยะเวลา 1 วัน พบว่าค่าการดูดกลืนแสงในแต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตามเมื่อเซลล์สร้างกระดูกสัมผัสสารสกัดของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดเป็นระยะเวลา 3 วัน พบมีค่าการดูดกลืนแสงน้อยกว่ากลุ่มสารสกัดเจือจางในอัตราส่วน 1:1 1:2 1:4 และ 1:8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และเมื่อเซลล์สร้างกระดูกสัมผัสสารสกัดของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมเป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่ากลุ่มสารสกัดเข้มข้นและกลุ่มสารสกัดเจือจางในอัตราส่วน 1:1 มีค่าการดูดกลืนแสงน้อยกว่ากลุ่มสารสกัดเจือจางในอัตราส่วน 1:2 1:4 และ

1:8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อพิจารณาที่วัสดุเอ็มทีเอ พบว่า ผลการทดสอบการวัดความมีชีวิตของเซลล์สร้างกระดูกเมื่อสัมผัสสารสกัดของวัสดุเอ็มทีเอที่ระดับความเข้มข้นต่างกันเป็นระยะเวลา 1 วัน มีค่าการดูดกลืนแสงในแต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่เมื่อเซลล์สัมผัสสารสกัดของวัสดุเอ็มทีเอเป็นระยะเวลา 3 และ 7 วัน พบว่าค่าการดูดกลืนแสงในกลุ่มสารสกัดเข้มข้นจะมีค่าน้อยกว่ากลุ่มสารสกัดเจือจางในอัตราส่วน 1:1, 1:2, 1:4 และ 1:8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

เมื่อพิจารณาในปัจจัยด้านเวลาที่เซลล์สัมผัสกับสารสกัดของวัสดุ พบว่าเซลล์สร้างกระดูกเมื่อสัมผัสสารสกัดวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมสามารถเพิ่มจำนวนได้มากขึ้นตามช่วงเวลา 1, 3 และ 7 วันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในขณะที่กลุ่มเซลล์ที่สัมผัสสารสกัดวัสดุเอ็มทีเอสามารถเพิ่มจำนวนได้มากขึ้นในวันที่ 1 และ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ปริมาณเซลล์ในวันที่ 3 และวันที่ 7 ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

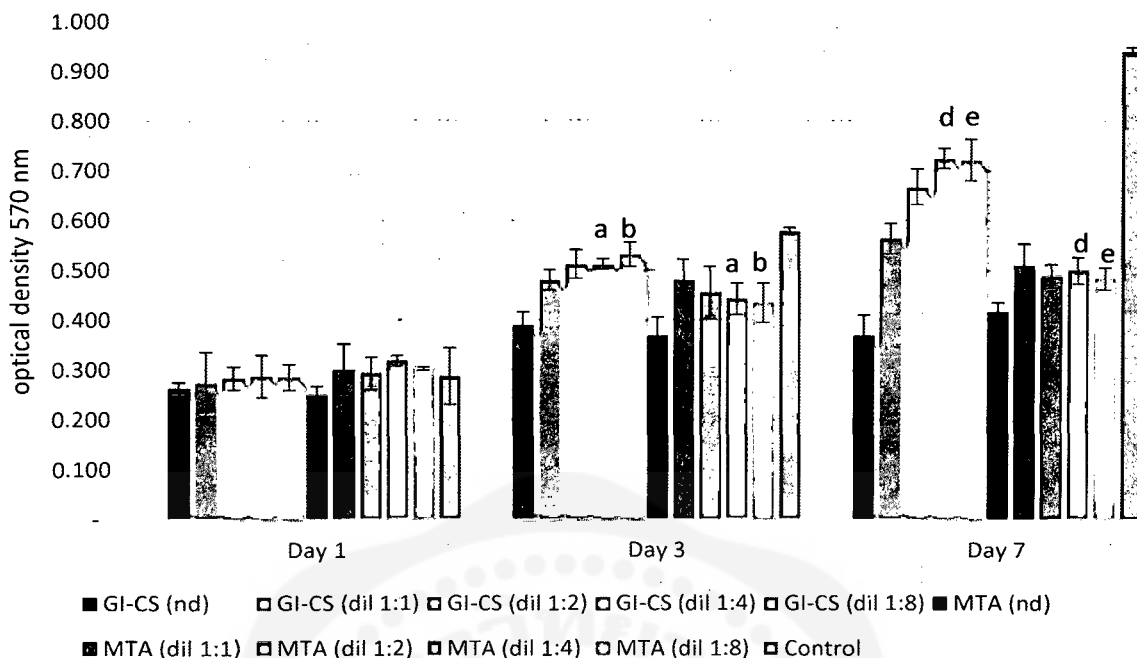
เมื่อพิจารณาในปัจจัยด้านวัสดุ พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์เมื่อสัมผัสกับสารสกัดของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมที่ระดับความเข้มข้นต่างกันเปรียบเทียบกับวัสดุเอ็มทีเอในวันที่ 1 ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตาม เซลล์ที่สัมผัสสารสกัดของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมเจือจางในอัตราส่วน 1:2 พบว่าค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าเอ็มทีเออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในวันที่ 7 ($P < 0.05$) และเมื่อเซลล์ที่สัมผัสสารสกัดของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมเจือจางในอัตราส่วน 1:4 และ 1:8 พบว่าค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าเอ็มทีเออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในวันที่ 3 และวันที่ 7 ($P < 0.05$) สำหรับค่าร้อยละความมีชีวิตของเซลล์จากการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุที่มีระยะก่อตัวสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้นต่างกันจะแสดงดังตาราง 3

ตาราง 2 ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงจากการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุภายหลังมีระยะก่อดั้วสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน
ที่ระยะเวลา 1, 3 และ 7 วัน

วัสดุ	ระดับความเข้มข้น	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง (570 นาโนเมตร)		
		วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 7
กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียม ซิลิเกตผสม	ความเข้มข้นสูงสุด	0.263 ± 0.013	0.389 ± 0.027	0.370 ± 0.041
	เจือจาง 1:1	0.273 ± 0.064	0.480 ± 0.020	0.563 ± 0.031
	เจือจาง 1:2	0.283 ± 0.023	0.511 ± 0.029	0.667 ± 0.036
	เจือจาง 1:4	0.287 ± 0.043	0.511 ± 0.011	0.724 ± 0.020
	เจือจาง 1:8	0.286 ± 0.026	0.531 ± 0.025	0.722 ± 0.042
เอ็มทีเอ	ความเข้มข้นสูงสุด	0.250 ± 0.019	0.367 ± 0.038	0.418 ± 0.019
	เจือจาง 1:1	0.300 ± 0.053	0.480 ± 0.041	0.511 ± 0.044
	เจือจาง 1:2	0.293 ± 0.032	0.455 ± 0.052	0.489 ± 0.024
	เจือจาง 1:4	0.318 ± 0.010	0.442 ± 0.031	0.500 ± 0.026
	เจือจาง 1:8	0.302 ± 0.003	0.434 ± 0.039	0.484 ± 0.022
กลุ่มควบคุม		0.287 ± 0.057	0.578 ± 0.007	0.940 ± 0.009

ตาราง 3 ค่าร้อยละความมีชีวิตของเซลล์จากการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุภายหลังจากมีระยะกักตัวสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน
ที่ระยะเวลา 1, 3 และ 7 วัน

วัสดุ	ระดับความเข้มข้น	ค่าร้อยละความมีชีวิตของเซลล์		
		วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 7
กลาสไฮโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียม ซิลิเกตผสม	ความเข้มข้นสูงสุด	90.24	141.13	133.47
	เจือจาง 1:1	94.31	177.82	211.29
	เจือจาง 1:2	98.37	190.23	253.23
	เจือจาง 1:4	100	190.32	276.21
	เจือจาง 1:8	99.59	198.39	275.40
เอ็มทีเอ	ความเข้มข้นสูงสุด	84.96	132.26	152.82
	เจือจาง 1:1	105.29	177.82	190.32
	เจือจาง 1:2	102.44	167.74	181.45
	เจือจาง 1:4	112.60	162.5	185.89
	เจือจาง 1:8	106.10	159.274	179.44
กลุ่มควบคุม		100	100	100



ภาพประกอบ 15 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงจากการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุภายหลังมีระยะก่อตัวสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้นต่างกันที่ระยะเวลา 1, 3 และ 7 วัน

a แสดงถึง ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของเซลล์ที่สัมผัสสารสกัดของวัสดุ GI-CS และ MTA ที่ระดับความเข้มข้นเจือจางในอัตราส่วน 1:4 เป็นเวลา 3 วันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

b แสดงถึง ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของเซลล์ที่สัมผัสสารสกัดของวัสดุ GI-CS และ MTA ที่ระดับความเข้มข้นเจือจางในอัตราส่วน 1:8 เป็นเวลา 3 วันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

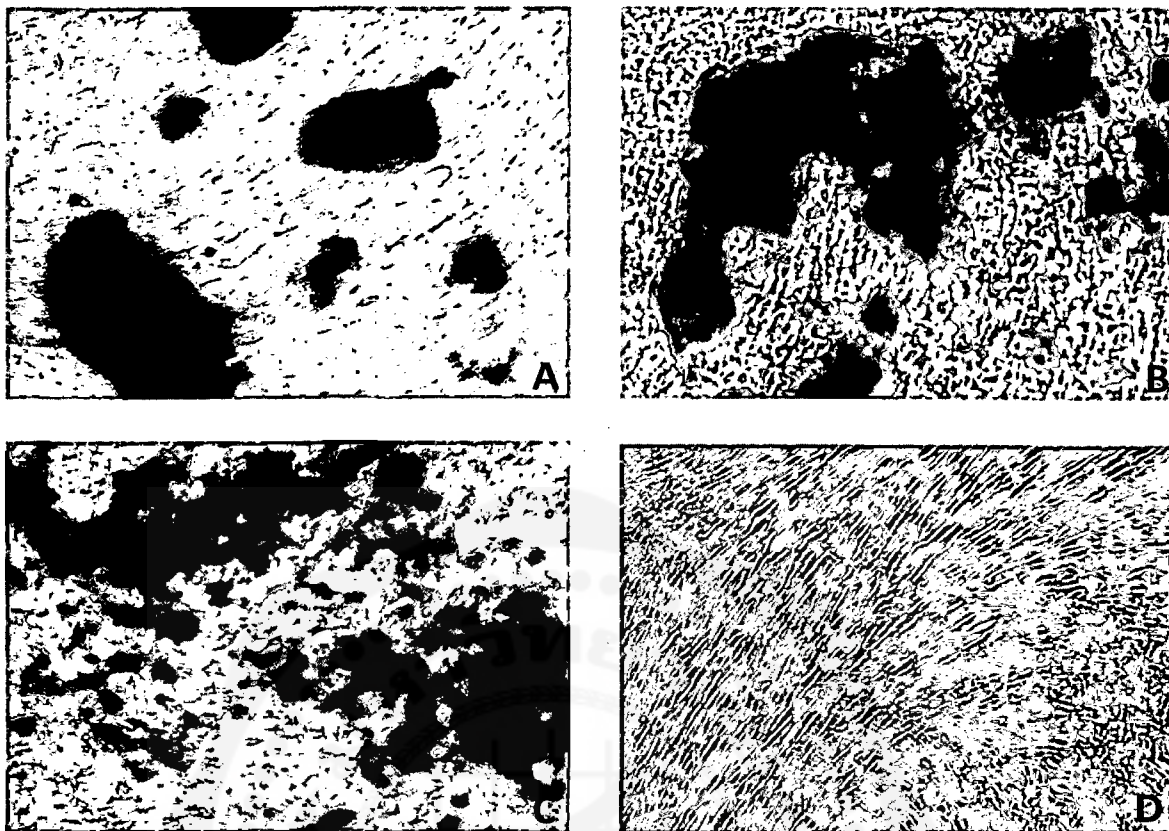
c แสดงถึง ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของเซลล์ที่สัมผัสสารสกัดของวัสดุ GI-CS และ MTA ที่ระดับความเข้มข้นเจือจางในอัตราส่วน 1:2 เป็นเวลา 7 วันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

d แสดงถึง ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของเซลล์ที่สัมผัสสารสกัดของวัสดุ GI-CS และ MTA ที่ระดับความเข้มข้นเจือจางในอัตราส่วน 1:4 เป็นเวลา 7 วันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

e แสดงถึง ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของเซลล์ที่สัมผัสสารสกัดของวัสดุ GI-CS และ MTA ที่ระดับความเข้มข้นเจือจางในอัตราส่วน 1:8 เป็นเวลา 7 วันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

การประเมินการสะสมแร่ธาตุ (Mineralization assay)

การประเมินการสะสมแร่ธาตุของเซลล์สร้างกระดูกเมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยสารสกัดของวัสดุที่ได้รับการเจือจางในอัตราส่วน 1:8 เป็นระยะเวลา 14 วัน และทำการตรวจสอบการสะสมแร่ธาตุด้วยการย้อมสีอะลิซาริน เรด ซึ่งจะเห็นลักษณะการติดสีแดงของตะกอนแคลเซียม จากผลการทดลองพบว่ากลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นด้วยสารสกัดของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสม วัสดุ เอ็มทีเอ และกลุ่มควบคุมพบการย้อมติดสีอะลิซาริน เรด ในขณะที่กลุ่มควบคุมลบ ไม่พบการย้อมติดสี อะลิซาริน เรด ดังภาพประกอบ 16

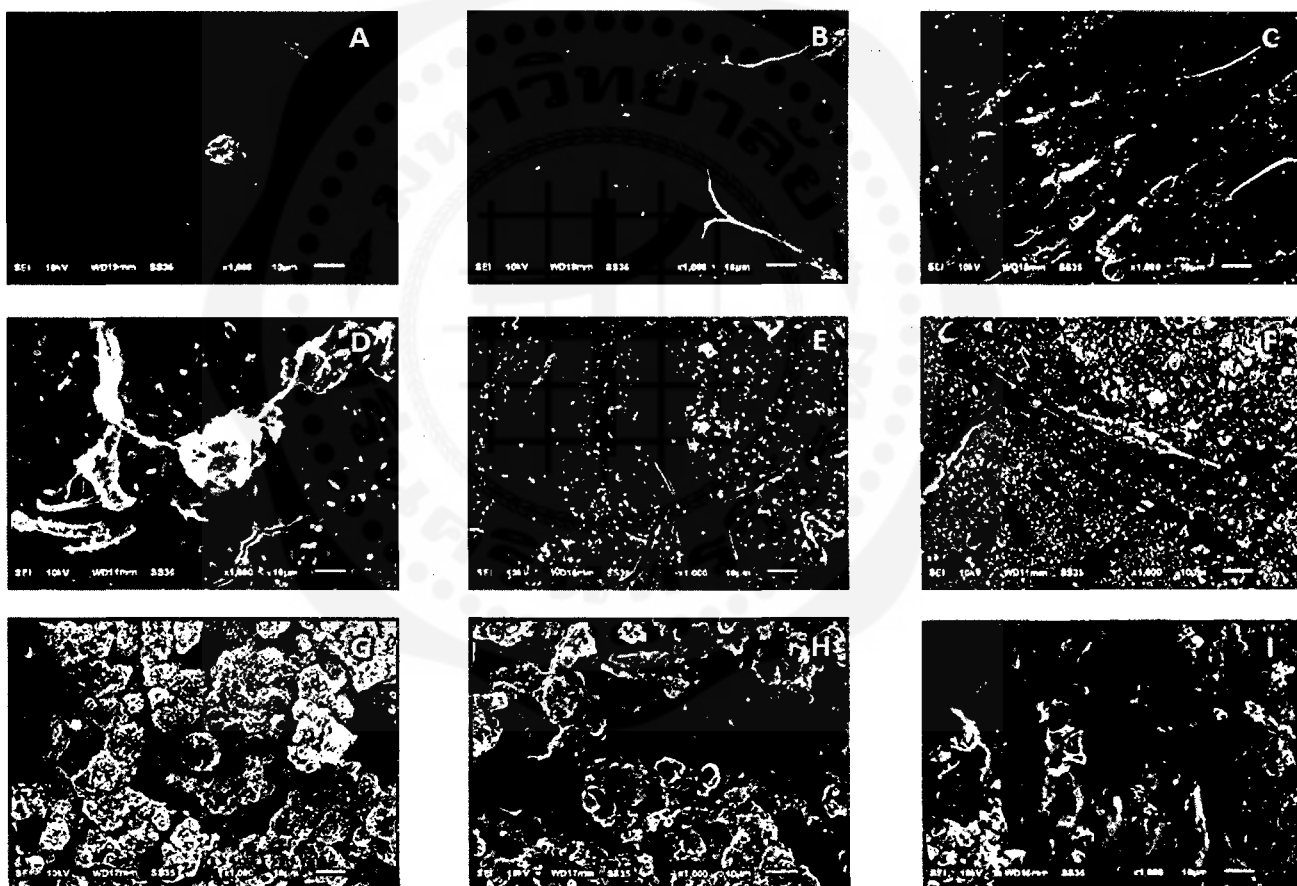


ภาพประกอบ 16 ลักษณะการยึดติดสื้อะลิซาริน เรด ภายหลังเซลล์สร้างกระดูกได้รับการกระตุ้นด้วยสารสกัดของวัสดุ เป็นเวลา 14 วัน. (A) วัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสม (B) วัสดุเอ็มทีเอ (C) กลุ่มควบคุมบวก (D) กลุ่มควบคุมลบ

การตรวจสอบการยึดติดของเซลล์บนพื้นผิววัสดุด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope: SEM)

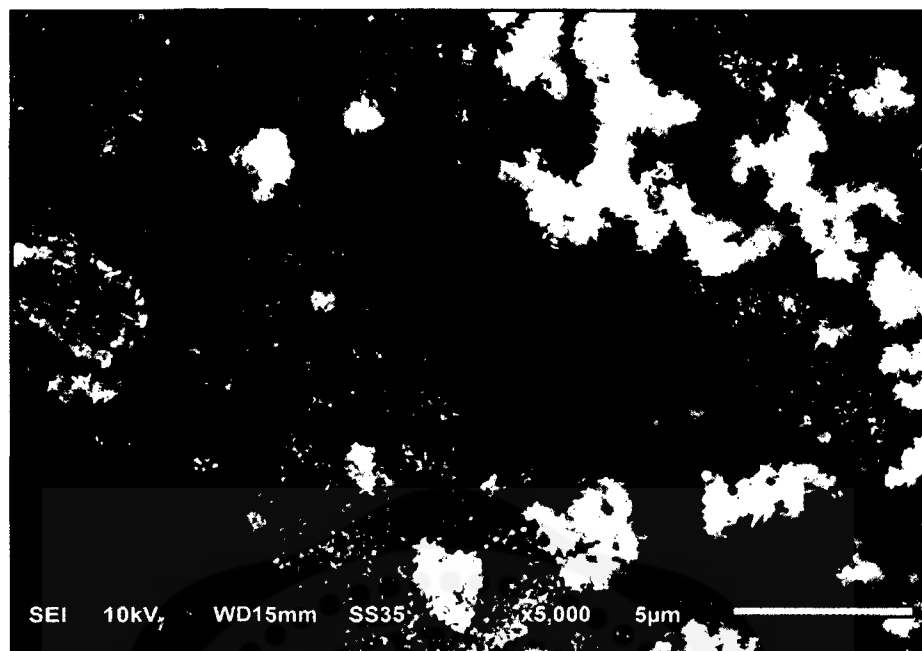
การศึกษาการยึดติดของเซลล์สร้างกระดูกบนพื้นผิวของวัสดุภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่ระยะเวลา 4, 8 และ 24 ชั่วโมง ซึ่งเป็นการศึกษาการยึดติดของเซลล์ระยะเริ่มต้น (initial cellular attachment) ในกลุ่มควบคุมที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง พบส่วนของไซโทพลาสซึมเซลล์ยึดติดในลักษณะแบนราบไปกับพื้นผิวของแผ่นแก้ว โดยมีส่วนของไซโทพลาสซึมไมโครโปรเซส (cytoplasmic process) ขนาดเล็กยื่นออกโดยรอบ และมีบางส่วนของเซลล์เป็นลักษณะกลมมน นอกจากนี้พบว่าเซลล์มีการยึดติดบนพื้นผิวของแผ่นแก้วในลักษณะแบนราบ และมีการยื่นยาวของไซโทพลาสซึมไมโครโปรเซสที่ระยะเวลา 8 และ 24 ชั่วโมง สำหรับวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง พบเซลล์มียึดติดบนพื้นผิวของวัสดุในลักษณะแบนราบเพียงบางส่วน ส่วนของไซโทพลาสซึมไมโครโปรเซสยื่นยาวออกจากเซลล์ และบางส่วนของเซลล์มีลักษณะกลมมน พื้นผิวของกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมมีลักษณะเรียบ ในขณะที่

ระยะเวลา 8 และ 24 ชั่วโมง พบว่า เซลล์ยึดติดบนพื้นผิวของวัสดุในลักษณะแบนราบ แต่ไม่พบการยื่นของไซโทพลาสซึมโปรเซส ดังภาพประกอบ 17 นอกจากนี้ยังสังเกตพบ crystal-like deposition กระจายทั่วไปบนพื้นผิววัสดุที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ดังภาพประกอบที่ 18 สำหรับวัสดุเอ็มทีเอที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง พบบางส่วนของเซลล์มีลักษณะกลมมน โดยมีส่วนไซโทพลาสซึมของเซลล์ยึดติดในลักษณะแบนราบไปกับพื้นผิวของวัสดุ และมีไซโทพลาสซึมโปรเซส ขนาดเล็กยื่นออกโดยรอบของตัวเซลล์ พื้นผิววัสดุเอ็มทีเอมีลักษณะขรุขระ เมื่อพิจารณาที่ระยะเวลา 8 และ 24 ชั่วโมง พบว่า เซลล์มีการยึดติดบนพื้นผิวของวัสดุในลักษณะแบนราบ และมีการยื่นยาวของไซโทพลาสซึมโปรเซสออกไปโดยรอบ ดังภาพประกอบ 17 นอกจากนี้ยังสังเกตพบ crystal-like deposition บนพื้นผิววัสดุที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และพบ filopodia ของเซลล์ ดังภาพประกอบ 19

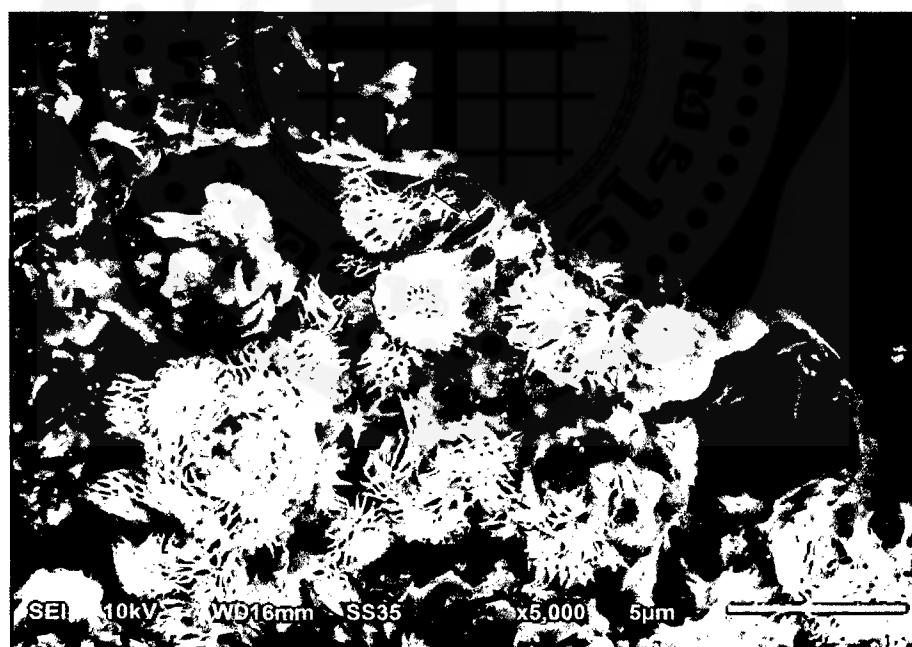


ภาพประกอบ 17 ลักษณะการยึดติดของเซลล์บนพื้นผิวของวัสดุภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (1000x)

- (A), (B) และ (C) แสดงเซลล์สร้างกระดูกในกลุ่มควบคุมที่เวลา 4, 8 และ 24 ชั่วโมงตามลำดับ
 (D), (E) และ (F) แสดงเซลล์สร้างกระดูกในกลุ่ม GIC-CS ที่เวลา 4, 8 และ 24 ชั่วโมงตามลำดับ
 (G), (H) และ (I) แสดงเซลล์สร้างกระดูกในกลุ่ม MTA ที่เวลา 4, 8 และ 24 ชั่วโมงตามลำดับ



ภาพประกอบ 18 ลักษณะการยืดยึดติดของเซลล์บนพื้นผิวของวัสดุภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และพบ crystal-like deposition บนพื้นผิววัสดุ (5000x)



ภาพประกอบ 19 ลักษณะการยืดยึดติดของเซลล์บนพื้นผิวของวัสดุภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบ filopodia ของเซลล์ (ลูกศรแดง) และพบ crystal-like deposition บนพื้นผิววัสดุ (5000x)

บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ ทำเพื่อศึกษาคุณสมบัติความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมร้อยละ 50 ที่มีสัดส่วนผงต่อน้ำเท่ากับ 1.7 ต่อ 1 ซึ่งเป็นสัดส่วนที่ได้รับการปรับปรุงมาจากการศึกษาของ Chaisinghanuae และคณะ ในปี 2014⁽²²⁾ ที่ทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมในสัดส่วนผงต่อน้ำเท่ากับ 2.73 ต่อ 1 กับสเต็มเซลล์ของเนื้อเยื่อใน โดย Burapan และคณะ⁽²⁵⁾ พบว่าการปรับปรุงสัดส่วนผงต่อน้ำเท่ากับ 1.7 ต่อ 1 จะช่วยปรับปรุงคุณสมบัติของวัสดุให้มีความขึ้นเหนียวที่เหมาะสม แต่ยังคงความสามารถในการปิดผนึกและแนบสนิทได้ดี การศึกษานี้ทำการทดสอบในเซลล์ปฐมภูมิโดยทำการเพาะเลี้ยงเซลล์สร้างกระดูกที่ได้จากกระดูกเบ้าฟันมนุษย์ ซึ่งเป็นเซลล์ที่อยู่ใกล้เคียงกับบริเวณที่ทำการศัลยกรรมปลายราก และเป็นเซลล์ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการหายของแผลบริเวณรอบรากฟัน ในขั้นตอนของการศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์ต่อวัสดุ จะพิจารณาจากการวัดความมีชีวิตของเซลล์และการวัดการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ โดยทำการศึกษาในรูปแบบการใช้สารสกัดจากวัสดุ โดยทำการแช่วัสดุในอาหารเลี้ยงเซลล์ serum free DMEM เพื่อหวังผลให้เกิดการปลดปล่อยองค์ประกอบของวัสดุสู่อาหารเลี้ยงเซลล์มากที่สุด ซึ่งองค์ประกอบที่ปลดปล่อยออกมาจากวัสดุคาดว่าจะมีผลกระทบต่อความมีชีวิตของเซลล์⁽⁵⁰⁾ การทดสอบด้วยสารสกัดจากวัสดุยังเป็นการจำลองสิ่งแวดล้อมบริเวณรอบรากฟันภายหลังการทำการศัลยกรรมปลายรากฟัน ซึ่งออกมีการปลดปล่อยองค์ประกอบของวัสดุอุดย่นปลายรากฟันออกมาที่เนื้อเยื่อรอบรากฟัน⁽⁵¹⁾ นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาถึงความสามารถในการสร้างเนื้อเยื่อแข็งของเซลล์สร้างกระดูกจากการวัดการสะสมของแร่ธาตุจากการย้อมติดสีอะลิซาริน เรด และความสามารถการยึดติดของเซลล์สร้างกระดูกบนพื้นผิวของวัสดุเพื่อเป็นการสนับสนุนผลความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุ จากข้อมูลที่ได้การศึกษานี้ที่น่าจะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์เกี่ยวกับการตอบสนองของเซลล์สร้างกระดูกต่อวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสม และสามารถเป็นแนวทางในการพัฒนาวัสดุอุดย่นปลายรากฟันซึ่งในการศัลยกรรมปลายรากฟันให้มีคุณสมบัติที่ดี และมีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อบริเวณรอบรากฟัน

การทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์สร้างกระดูกต่อวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมจะทำการศึกษาใน 2 ประเด็น คือ ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์ต่อวัสดุที่มีระยะก่อตัวเริ่มต้นเปรียบเทียบกับวัสดุที่มีระยะก่อตัวสมบูรณ์ และความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุภายหลังมีระยะก่อตัวสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน การวัดความมีชีวิตของ

เซลล์ในการศึกษานี้ใช้วิธีเอ็มทีที ซึ่งเป็นการศึกษาวิธีมาตรฐานในการประเมินความเป็นพิษของวัสดุ โดยประเมินกิจกรรมเมตาบอลิซึมของเซลล์ (cell metabolic activity) กล่าวคือ เซลล์ที่มีชีวิตจะมีการทำงานของเอนไซม์ mitochondrial dehydrogenase ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง tetrazolium dye (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) ซึ่งมีสีเหลือง ให้เป็นผลึกฟอร์มาซาน (Formazan crystal) ซึ่งเป็นสีม่วงเมื่อละลายในตัวทำละลาย DMSO ข้อดีของวิธีนี้คือ ทำง่าย ให้ผลรวดเร็วและมีความแม่นยำ⁽⁵²⁾ ในการศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์ต่อวัสดุที่มีระยะก่อดำเริ่มต้นเปรียบเทียบกับวัสดุที่มีระยะก่อดำสมบูรณ์ เป็นการศึกษาถึงอิทธิพลของ ชนิดของวัสดุ ระยะก่อดำของวัสดุ และความเข้มข้นของวัสดุต่อความมีชีวิตของเซลล์สร้างกระดูก จากผลการศึกษา เมื่อทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของสารสกัดของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมที่มีระยะก่อดำเริ่มต้นและระยะก่อดำสมบูรณ์ที่มีความเข้มข้นต่างๆ ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Torabinejad et al.⁽⁵³⁾ และ Kaiser et al.⁽⁵¹⁾ ที่ทำการทดสอบความเป็นพิษของวัสดุเอ็มทีเอต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ พบว่า ความมีชีวิตของเซลล์เมื่อสัมผัสกับสารสกัดของวัสดุเอ็มทีเอที่ผสมเสร็จใหม่เปรียบเทียบกับวัสดุที่มีการก่อดำสมบูรณ์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ Ketac Molar จัดเป็นวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ชนิดหนึ่ง พบว่าความเป็นพิษอาจมีมากในช่วงแรกภายหลังการผสมสาร ซึ่งพบว่ามีค่าความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายหลังสารเริ่มก่อดำ ภายหลังวัสดุมีการก่อดำสมบูรณ์พบว่าความเป็นพิษจะค่อยๆ ลดลง นอกจากนี้ความเป็นพิษของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์อาจเกิดจากปลดปล่อยองค์ประกอบที่เป็นโลหะจากวัสดุ เช่น ฟลูออไรด์ไอออน อะลูมิเนียมไอออน สตรอนเทียมไอออน และซิงค์ไอออน ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อเซลล์ได้⁽⁵⁴⁾ อย่างไรก็ตามการนำวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์มาผสมกับโมโนแคลเซียมซิลิเกต อาจช่วยให้ความกรดที่เกิดขึ้นจากการผสมของส่วนผสมของ Ketac Molar ได้รับการปรับสภาพให้เป็นกลาง (Neutralized) ด้วยความเป็นด่างของโมโนแคลเซียมซิลิเกต⁽²²⁾ จึงอาจสนับสนุนความเข้ากันได้ทางชีวภาพต่อเซลล์

ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุภายหลังมีระยะก่อดำสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน พบว่า สารสกัดของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดจะมีความเป็นพิษต่อเซลล์มากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดเจือจางในอัตราส่วน 1:1 1:2 1:4 และ 1:8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในวันที่ 3 และ 7 โดยผลของวัสดุเอ็มทีเอเป็นไปในลักษณะเดียวกันกับกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสม เมื่อพิจารณาในปัจจุบันด้านเวลาที่เซลล์สัมผัสกับสารสกัดของวัสดุ พบว่าเซลล์สร้างกระดูกเมื่อสัมผัสสารสกัดวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมสามารถเพิ่มจำนวนได้มากขึ้นตามช่วงเวลา 1, 3 และ 7 วันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในขณะที่กลุ่มวัสดุเอ็มทีเอเซลล์มีการเพิ่มจำนวนได้มากขึ้น

ตามเวลา แต่ปริมาณเซลล์ในวันที่ 3 และวันที่ 7 ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) นอกจากนี้เมื่อพิจารณาในปัจจัยด้านวัสดุ พบว่า เซลล์ที่สัมผัสกับสารสกัดของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมในวันที่ 3 และ 7 มีการเพิ่มจำนวนเซลล์มากกว่าเอ็มทีเอ ซึ่งจากผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Chaisinghanuae และคณะ⁽²²⁾ และ Sangsawatpong และคณะ⁽²³⁾ ที่สนับสนุนว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีแคลเซียมซิลิเกตผสมนั้นไม่เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์และเซลล์ไฟโบรบลาสต์ มีการศึกษามากมายที่สนับสนุนบทบาทของแคลเซียมไอออนและซิลิคอนไอออนต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ Valerio และคณะในปี 2004⁽⁵⁵⁾ พบว่าแคลเซียมไอออนและซิลิคอนไอออนมีบทบาทในการกระตุ้นกระบวนการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างกระดูก Ni และ Chang⁽¹⁶⁾ ได้สนับสนุนว่า โมโนแคลเซียมซิลิเกต (CaSiO_3) มีความเข้ากันได้ดีกับเซลล์คล้ายเซลล์สร้างกระดูก และพบว่าไอออนที่ถูกปลดปล่อยจากแคลเซียมซิลิเกตและแมกนีเซียมซิลิเกตมีบทบาทในการกระตุ้นการเจริญของเซลล์คล้ายเซลล์สร้างกระดูก Eklou-Kalonji และคณะ⁽⁵⁶⁾ ได้อธิบายถึงบทบาทของแคลเซียมไอออนต่อการกระตุ้นการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนจะเพิ่มการเคลื่อนที่ของเซลล์สร้างกระดูก และเพิ่มการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ เมื่อพิจารณาถึงองค์ประกอบของวัสดุ วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมนั้นประกอบด้วยส่วนผสมของ Ketac Molar มีแคลเซียมฟลูออโรอะลูมิโนซิลิเกต ซึ่งประกอบไปด้วยแคลเซียมไอออนและซิลิเกตไอออน และส่วนผสมของโมโนแคลเซียมซิลิเกต ซึ่งเป็นวัสดุที่มีคุณสมบัติชีวกัมมันต์และสามารถปลดปล่อยแคลเซียมไอออนและซิลิคอนไอออนออกจากพื้นผิวของวัสดุเมื่อแช่ในสารละลายจำลองคล้ายของเหลวในร่างกาย⁽¹³⁾ ซึ่งความสามารถในการปลดปล่อยแคลเซียมไอออนและซิลิเกตไอออนของวัสดุน่าจะสนับสนุนความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเซลล์ ดังนั้นวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมจึงอาจมีคุณสมบัติชีวกัมมันต์ที่กระตุ้นการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ได้ สำหรับผลการศึกษาที่พบว่าค่าการดูดกลืนแสงในกลุ่มวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมในวันที่ 3 และ 7 มีการเพิ่มจำนวนเซลล์มากกว่าเอ็มทีเอ อาจเนื่องมาจากส่วนผสมของ White ProRoot® MTA มีองค์ประกอบที่เป็นโลหะ เช่น อะลูมินา และเหล็กในปริมาณที่มากกว่าที่พบใน Ketac Molar จึงอาจมีผลต่อกิจกรรมเมตาบอลิกและกระบวนการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ได้⁽⁵⁷⁾

การศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด เป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ประเมินฐานของเซลล์บนพื้นผิวของวัสดุทางทันตกรรม⁽³⁵⁾ และเป็นการให้ข้อมูลเพิ่มเติมเพื่อสนับสนุนการศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุด้วยวิธีเอ็มทีเอที่ซึ่งให้ข้อมูลเป็นเชิงปริมาณ การเกาะติดและการแผ่ของเซลล์บนพื้นผิววัสดุเป็นขั้นแรกของการปฏิริยาระหว่างเซลล์กับวัสดุ ซึ่งอาจใช้เป็นเกณฑ์ในการประเมินคุณสมบัติความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุอุดย่นปลายรากฟัน เมื่อพบเซลล์ลักษณะกลม และมี

การแผ่ของเซลล์เพียงเล็กน้อยหรือไม่พบการแผ่ของเซลล์ สามารถสันนิษฐานได้ว่าพื้นผิวของวัสดุนั้นอาจมีความเป็นพิษ⁽³⁵⁾ หากพบเซลล์ลักษณะแบน และมีการยื่นของไซโทพลาสซึมโปรเซส แสดงถึงวัสดุมีความเข้ากันได้ดีกับเซลล์⁽²⁷⁾ ซึ่งเมื่อพิจารณาจากผลการศึกษากายการยึดติดของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าเซลล์สร้างกระดูกสามารถยึดติดและมีการแผ่ของเซลล์บนพื้นผิววัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมและวัสดุเอ็มทีเอ อย่างไรก็ตามการยื่นของไซโทพลาสซึมโปรเซสสามารถพบได้เพียงในวัสดุเอ็มทีเอ ความแตกต่างของลักษณะการยึดเกาะของเซลล์และการแผ่ของเซลล์อาจเกี่ยวข้องกับหลายปัจจัย เช่น ความขรุขระของพื้นผิววัสดุ ค่า pH ของวัสดุ และองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุ^(27, 58, 59) เซลล์สร้างกระดูก เป็น anchorage dependent cells ซึ่งจะต้องมีการยึดเกาะของเซลล์กับพื้นผิวเพื่อให้เกิดกิจกรรมของเซลล์ต่อไป การยึดเกาะของเซลล์บนพื้นผิววัสดุเป็นกระบวนการที่ซับซ้อนและเป็นพลวัต โดยจะเริ่มต้นจากเซลล์ยึดเกาะกับโปรตีนเมทริกซ์เพื่อให้เซลล์สามารถมีชีวิตรอดและมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนและเกิดกิจกรรมของเซลล์ต่อไป ซึ่งกระบวนการนี้จะมีบทบาทสำคัญในกระบวนการหายของแผล⁽⁶⁰⁾ ลักษณะของพื้นผิววัสดุ อันได้แก่ รายละเอียดเฉพาะส่วนของพื้นผิว (surface topography) องค์ประกอบทางเคมี ค่า pH และพลังงานพื้นผิว (surface energy) ลักษณะเหล่านี้จะเป็นตัวกำหนดชีวโมเลกุลที่จะถูกดูดซับบนพื้นผิว ซึ่งสามารถส่งผลต่อการยึดเกาะของเซลล์ได้⁽⁵⁹⁾ Deligianni และคณะ⁽⁶¹⁾ รายงานว่า ความขรุขระของพื้นผิววัสดุมีผลกับการยึดติดของเซลล์โดยผ่านการเพิ่มการสร้าง focal contact ซึ่งเป็นตำแหน่งของการยึดเกาะระหว่างเซลล์และพื้นผิวของวัสดุ และมีผลผ่านทางกลไกการเลือกดูดซับโปรตีนในซีรัม โดยพบว่าความขรุขระของพื้นผิวที่มากขึ้น จะส่งเสริมการยึดเกาะของเซลล์ได้ดีขึ้น Anselme และคณะ⁽⁵⁹⁾ อธิบายว่า ค่า pH และองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุ ตลอดจนค่าพลังงานพื้นผิว เป็นปัจจัยที่จะกำหนดการดูดซับโปรตีน และการจัดเรียงโครงสร้างของโปรตีนบนพื้นผิวของวัสดุ ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ส่งผลกับการเกาะของเซลล์ ในชิ้นวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมและเอ็มทีเอที่เวลา 24 ชั่วโมง พบลักษณะ crystal-like deposition อยู่บนพื้นผิวของวัสดุ และพบลักษณะการยื่น filopodia ของเซลล์ไปเกาะกับโครงสร้างคล้ายผลึกนั้น ซึ่งแสดงถึงการมีความเข้ากันได้กับเซลล์ อย่างไรก็ตามเพื่อให้ทราบถึงองค์ประกอบของผลึกและระบุได้ว่าเป็นผลึกชนิดใด ควรทำการศึกษาวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุของผลึกด้วย Energy-dispersive X-ray analysis (EDX analysis) ต่อไป

การศึกษาความสามารถในการสะสมแร่ธาตุของเซลล์สร้างกระดูก ด้วยวิธีการย้อมสีอะลิซาริน เรด เพื่อประเมินการสร้างผลึกแคลเซียมเมื่อเซลล์ได้รับกระตุ้นด้วยสารสกัดที่ต้องการทดสอบพบว่า วัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมและวัสดุเอ็มทีเอ มีความสามารถที่จะกระตุ้นเซลล์สร้างกระดูกให้เกิดการสะสมแร่ธาตุได้ การศึกษาของ Sangsawatpong และคณะพบว่า

เมื่อทำการแช่วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมในสารละลายจำลองคล้ายของเหลวในร่างกาย สามารถพบการสร้างผลึกอะพาไทต์บนพื้นผิวของวัสดุได้ ซึ่งแสดงถึงการมีคุณสมบัติชีวกัมมันต์ Jung และคณะ⁽⁶²⁾ รายงานว่าแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ถูกปลดปล่อยจากผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ได้ และมีผลกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงของเซลล์สร้างกระดูก An และคณะ⁽⁶³⁾ พบว่าปริมาณแคลเซียมไฮดรอกไซด์มีบทบาทโดยตรงต่อการสร้างปุ่มเมทริกซ์ที่มีการสะสมแร่ธาตุ (Mineralized matrix nodule formation) นอกจากนี้ Maeno และคณะ⁽⁶⁴⁾ ได้สนับสนุนว่าปริมาณของแคลเซียมไฮดรอกไซด์มีส่วนกระตุ้นให้เกิดการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนและการเปลี่ยนแปลงของเซลล์สร้างกระดูก ตลอดจนกระตุ้นให้เซลล์เกิดการสะสมแร่ธาตุ

โดยภาพรวมของการศึกษาครั้งนี้พบว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมที่อัตราส่วนผงต่อน้ำเท่ากับ 1.7:1 ถือได้ว่าเป็นวัสดุที่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเซลล์สร้างกระดูก คือ ไม่ก่อให้เกิดการตายของเซลล์ และเซลล์สามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้มากขึ้น รวมถึงมีระยะเวลาในการก่อตัวน้อย มีความสามารถในการปิดผนึกและมีความแนบสนิทที่ดี ซึ่งการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าวัสดุดังกล่าวมีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้งานในบริเวณปลายรากฟันได้ ดังนั้นวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมจึงสามารถพัฒนาเป็นหนึ่งในทางเลือกของวัสดุอุดย่นปลายรากฟันหรือวัสดุทางทันตกรรมที่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกายได้

สรุปผลการศึกษา

วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมที่มีระยะก่อตัวเริ่มต้นและระยะก่อตัวสมบูรณ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเซลล์สร้างกระดูกไม่แตกต่างกันจากวัสดุเอ็มทีเอ และเมื่อพิจารณาความสามารถในการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน พบว่าวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมสามารถกระตุ้นการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์มากกว่าได้เอ็มทีเอในวันที่ 3 และ 7 นอกจากนี้วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมยังมีคุณสมบัติในที่เอื้อให้เกิดการยึดเกาะของเซลล์บนพื้นผิววัสดุและสามารถกระตุ้นให้เกิดการสะสมแร่ธาตุได้ รวมถึงมีระยะเวลาในการก่อตัวน้อย และมีความสามารถในการปิดผนึกและมีความแนบสนิทที่ดี ดังนั้นวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมจึงอาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถพิจารณาใช้เป็นวัสดุอุดย่นปลายรากฟันได้



บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

1. Gartner AH, Dorn SO. Advances in endodontic surgery. Dent Clin North Am. 1992;36(2):357-78.
2. Bodrumlu E. Biocompatibility of retrograde root filling materials: A review. Australian Endodontic Journal. 2008;34(1):30-5.
3. Torabinejad M, Ford TRP. Root end filling materials: a review. Dental Traumatology. 1996;12(4):161-78.
4. Hench LL. Bioceramics. Journal of the American Ceramic Society. 1998;81(7):1705-28.
5. Torabinejad M, Rastegar AF, Kettering JD, Pitt Ford TR. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. Journal of Endodontics. 1995;21(3):109-12.
6. Torabinejad M, Hong C-U, Lee S-J, Monsef M, Pitt Ford TR. Investigation of mineral trioxide aggregate for root-end filling in dogs. Journal of Endodontics. 1995;21(12):603-8.
7. Torabinejad M, Pitt Ford TR, McKendry DJ, Abedi HR, Miller DA, Kariyawasam SP. Histologic assessment of mineral trioxide aggregate as a root-end filling in monkeys. Journal of Endodontics;23(4):225-8.
8. Economides N, Pantelidou O, Kokkas A, Tziafas D. Short-term periradicular tissue response to mineral trioxide aggregate (MTA) as root-end filling material. International Endodontic Journal. 2003;36(1):44-8.
9. Ber BS, Hatton JF, Stewart GP. Chemical modification of proroot mta to improve handling characteristics and decrease setting time. J Endod. 2007;33(10):1231-4.
10. Islam I, Kheng Chng H, Jin Yap AU. Comparison of the Physical and Mechanical Properties of MTA and Portland Cement. Journal of Endodontics. 2006;32(3):193-7.
11. Cao W, Hench LL. Bioactive materials. Ceramics International. 1996;22(6):493-507.
12. Heness G, Ben-Nissan B, editors. Innovative bioceramics. Materials forum; 2004.
13. Siriphannon P, Kameshima Y, Yasumori A, Okada K, Hayashi S. Comparitive study of the formation of hydroxyapatite in simulated body fluid under static and flowing systems. Journal of Biomedical Materials Research. 2002;60(1):175-85.

14. De Aza P, Luklinska Z, Anseau M, Guitian F, De Aza S. Bioactivity of pseudowollastonite in human saliva. *Journal of dentistry*. 1999;27(2):107-13.
15. Ni S, Chang J, Chou L, Zhai W. Comparison of osteoblast-like cell responses to calcium silicate and tricalcium phosphate ceramics in vitro. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2007;80B(1):174-83.
16. Ni S, Chang J. In vitro Degradation, Bioactivity, and Cytocompatibility of Calcium Silicate, Dimagnesium Silicate, and Tricalcium Phosphate Bioceramics. *Journal of Biomaterials Applications*. 2008;24(2):139-58.
17. Wei J, Chen F, Shin J-W, Hong H, Dai C, Su J, et al. Preparation and characterization of bioactive mesoporous wollastonite–polycaprolactone composite scaffold. *Biomaterials*. 2009;30(6):1080-8.
18. Shirazi F, Moghaddam E, Mehrali M, Oshkour A, Metselaar H, Kadri N, et al. In vitro characterization and mechanical properties of β -calcium silicate/POC composite as a bone fixation device. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2014;102(11):3973-85.
19. Mohammadi Z, Shalavi S. Clinical applications of glass ionomers in endodontics: a review. *International Dental Journal*. 2012;62(5):244-50.
20. Nagaraja Upadhya P, Kishore G. Glass ionomer cement: the different generations. *Trends Biomater Artif Organs*. 2005;18(2):158-65.
21. Pothiraksanont S. et al. A Comparative Study of Physical Properties of GIC Containing B-Monocalcium Silicate to Mineral Trioxide Aggregate (MTA): Srinakarinwirot University; 2013.
22. Chaisinghanuae P. Cytotoxicity and Osteogenic Properties of Glass Ionomer Cement Containing Monocalcium Silicate Compound in Human Dental Pulp Cells: Srinakarinwirot University; 2014.
23. Sangsawatpong W. Bioactivity and biocompatibility of glass ionomer cement added with monocalcium silicate at various ratios: Srinakarinwirot University; 2013.
24. Horvichitr P. Sealing ability and bacterial leakage of glass ionomer cement containing monocalcium silicate. Srinakarinwirot University. 2014.

25. Burapat B. Sealing ability and marginal adaptation of glass ionomer cement containing β -monocalcium silicate. Srinakarinwirot University Dental Journal. 2016;9(2):26-38.
26. Colaco A., Shetty MK. SS. Effect of mineral trioxide aggregate as a root end filling material on periodontal ligament cells ,cementogenesis and periradicular bone regeneration– A literature review. International Journal of Advanced Research. 2015;3(9).
27. Ahmed HM., Luddin N., Kannan TP., Mokhtar KI., Ahmad A. Cell Attachment Properties of Portland Cement-based Endodontic Materials: Biological and Methodological Considerations. Journal of Endodontics. 2014;40(10):1517-23.
28. Escobar-García, Diana María, et al. "Cytotoxicity and Initial Biocompatibility of Endodontic Biomaterials (MTA and Biodentine™) Used as Root-End Filling Materials. BioMed research international. 2016;1-7.
29. Caron G, Azerad J, Faure M-O, Machtou P, Boucher Y. Use of a new retrograde filling material (Biodentine) for endodontic surgery: two case reports. In J Oral Sci. 2014;6(4):250-3.
30. Setzer FC, Shah SB, Kohli MR, Karabucak B, Kim S. Outcome of endodontic surgery: a meta-analysis of the literature--part 1: Comparison of traditional root-end surgery and endodontic microsurgery. J Endod. 2010;36(11):1757-65.
31. Hargreaves KM, Berman L.H., Cohen's Pathways of the Pulp. 11 ed: ELSEVIER; 2016.
32. Torabinejad M, Watson TF, Pitt Ford TR. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. J Endod. 1993;19(12):591-5.
33. Camilleri J. Mineral trioxide aggregate: present and future developments. Endodontic Topics. 2015;32(1):31-46.
34. Camilleri J, Montesin FE, Brady K, Sweeney R, Curtis RV, Ford TRP. The constitution of mineral trioxide aggregate. Dental Materials. 2005;21(4):297-303.
35. Zhu Q, Haglund R, Safavi KE, Spangberg LS. Adhesion of human osteoblasts on root-end filling materials. Journal of Endodontics. 2000;26(7):404-6.
36. Balto HA. Attachment and morphological behavior of human periodontal ligament fibroblasts to mineral trioxide aggregate: a scanning electron microscope study. Journal of Endodontics. 2004;30(1):25-9.

37. Thomson TS, Berry JE, Somerman MJ, Kirkwood KL. Cementoblasts maintain expression of osteocalcin in the presence of mineral trioxide aggregate. *Journal of Endodontics*. 2003;29(6):407-12.
38. Peters O, Galicia J, Arias A, Tolar M, Ng E, Shin S. Effects of two calcium silicate cements on cell viability, angiogenic growth factor release and related gene expression in stem cells from the apical papilla. *International Endodontic Journal*. 2015.
39. Maxim LD, McConnell EE. A Review of the Toxicology and Epidemiology of Wollastonite. *Inhalation Toxicology*. 2005;17(9):451-66.
40. Siriphannon P, Hayashi S, Yasumori A, Okada K. Preparation and sintering of CaSiO_3 from coprecipitated powder using NaOH as precipitant and its apatite formation in simulated body fluid solution. *Journal of Materials Research*. 1999;14(2):529-36.
41. De Aza PN, Luklinska ZB, Anseau MR, Guitian F, De Aza S. Bioactivity of pseudowollastonite in human saliva. *Journal of dentistry*. 1999;27(2):107-13.
42. Saadaldin SA, Dixon SJ, Rizkalla AS. Bioactivity and Biocompatibility of a Novel Wollastonite Glass-Ceramic Biomaterial. *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering*. 2014;4(11):939-46.
43. De Bruyne MAA, De Moor RJG. The use of glass ionomer cements in both conventional and surgical endodontics. *International Endodontic Journal*. 2004;37(2):91-104.
44. Lohbauer U. Dental Glass Ionomer Cements as Permanent Filling Materials? – Properties, Limitations and Future Trends. *Materials*. 2010;3(1):76.
45. Brook IM, Hatton PV. Glass-ionomers: bioactive implant materials. *Biomaterials*. 1998;19(6):565-71.
46. Callis PD, Santini A. Tissue response to retrograde root fillings in the ferret canine: A comparison of a glass ionomer cement and gutta-percha with sealer. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1987;64(4):475-9.
47. Kolokuris I, Beltes P, Economides N, Vlemmas I. Experimental study of the biocompatibility of a new glass-ionomer root canal sealer (Ketac-Endo). *Journal of Endodontics*. 1996;22(8):395-8.
48. Zmener O, Dominguez FV. Tissue response to a glass ionomer used as an endodontic cement. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1983;56(2):198-205.

49. Kui AG, Berar A, Lascu L, Bolfa P, Bosca B, Miha C, et al. The influence of root-end filling materials on bone healing—an experimental study. *Clujul Medical*. 2014;87(4):263.
50. Thai Industrial Standard: TISI. Biological evaluation of medical device (Part12: Test for in vitro cytotoxicity ISO 10993-12). 3 ed. Rajathevee Bangkok 2007.
51. Keiser K, Johnson CC, Tipton DA. Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblasts. *Journal of Endodontics*. 2000;26(5):288-91.
52. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*. 1983;65(1):55-63.
53. Torabinejad M, Hong C, Ford TP, Kettering J. Cytotoxicity of four root end filling materials. *Journal of Endodontics*. 1995;21(10):489-92.
54. Hatton PV, Hurrell-Gillingham K, Brook IM. Biocompatibility of glass-ionomer bone cements. *Journal of dentistry*. 2006;34(8):598-601.
55. Valerio P, Pereira MM, Goes AM, Leite MF. The effect of ionic products from bioactive glass dissolution on osteoblast proliferation and collagen production. *Biomaterials*. 2004;25(15):2941-8.
56. Eklou-Kalonji E, Denis I, Lieberherr M, Pointillart A. Effects of extracellular calcium on the proliferation and differentiation of porcine osteoblasts in vitro. *Cell and tissue research*. 1998;292(1):163-71.
57. Camargo S, Camargo C, Hiller KA, Rode S, Schweikl H, Schmalz G. Cytotoxicity and genotoxicity of pulp capping materials in two cell lines. *International Endodontic Journal*. 2009;42(3):227-37.
58. Lee B-N, Son H-J, Noh H-J, Koh J-T, Chang H-S, Hwang I-N, et al. Cytotoxicity of newly developed ortho MTA root-end filling materials. *Journal of Endodontics*. 2012;38(12):1627-30.
59. Anselme K. Osteoblast adhesion on biomaterials. *Biomaterials*. 2000;21(7):667-81.
60. Pérez AL, Spears R, Gutmann JL, Opperman LA. Osteoblasts and MG-63 osteosarcoma cells behave differently when in contact with ProRoot™ MTA and White MTA. *International Endodontic Journal*. 2003;36(8):564-70.

61. Deligianni DD, Katsala ND, Koutsoukos PG, Missirlis YF. Effect of surface roughness of hydroxyapatite on human bone marrow cell adhesion, proliferation, differentiation and detachment strength. *Biomaterials*. 2000;22(1):87-96.
62. Jung G-Y, Park Y-J, Han J-S. Effects of HA released calcium ion on osteoblast differentiation. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2010;21(5):1649-54.
63. An S, Gao Y, Ling J, Wei X, Xiao Y. Calcium ions promote osteogenic differentiation and mineralization of human dental pulp cells: implications for pulp capping materials. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2012;23(3):789-95.
64. Maeno S, Niki Y, Matsumoto H, Morioka H, Yatabe T, Funayama A, et al. The effect of calcium ion concentration on osteoblast viability, proliferation and differentiation in monolayer and 3D culture. *Biomaterials*. 2005;26(23):4847-55.



ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ข้อมูลการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์ต่อวัสดุที่มีระยะก่อดำเริ่มต้น
เปรียบเทียบกับวัสดุที่มีระยะก่อดำสมบูรณ์

ตารางสถิติเชิงพรรณนา

Descriptive Statistics					
Dependent Variable: Optical density					
Materials	setting	concentration	Mean	Std. Deviation	N
GIC-CS	initial setting	non-dilution	.34733	.009018	3
		dil 1:1	.37500	.025534	3
		dil 1:2	.35000	.035341	3
		dil 1:4	.34900	.004583	3
		dil 1:8	.34800	.007937	3
		control	.33667	.010214	3
	complete setting	non-dilution	.36633	.007371	3
		dil 1:1	.37367	.008622	3
		dil 1:2	.36067	.010693	3
		dil 1:4	.35300	.002000	3
		dil 1:8	.34333	.011719	3
		control	.35200	.010440	3
	Total	non-dilution	.35683	.012750	6
		dil 1:1	.37433	.017061	6
		dil 1:2	.35533	.024072	6
		dil 1:4	.35100	.003847	6
		dil 1:8	.34567	.009309	6
		control	.34433	.012485	6
		Total	.35458	.016912	36

Materials	setting	concentration	Mean	Std. Deviation	N
MTA	initial setting	non-dilution	.32933	.010693	3
		dil 1:1	.33733	.003786	3
		dil 1:2	.34300	.002000	3
		dil 1:4	.37133	.018148	3
		dil 1:8	.38700	.008185	3
		control	.31667	.025716	3
	complete setting	non-dilution	.33900	.017776	3
		dil 1:1	.33833	.020551	3
		dil 1:2	.35567	.007095	3
		dil 1:4	.36067	.014468	3
		dil 1:8	.40500	.021932	3
		control	.31933	.027683	3
	Total	non-dilution	.33417	.014148	6
		dil 1:1	.33783	.013227	6
		dil 1:2	.34933	.008359	6
		dil 1:4	.36600	.015799	6
		dil 1:8	.39600	.017788	6
		Control	.31800	.023942	6
		Total	.35022	.029612	36

ตารางการวิเคราะห์สถิติทดสอบทีของวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ความเข้มข้น
1:1 ที่มีระยะก่อตัวเริ่มต้นเปรียบเทียบกับระยะก่อตัวสมบูรณ์

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variances				t-test for Equality of Means				
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
OD	Equal variances assumed	3.191	.149	.086	4	.936	.001333	.015560	-.041868	.044535
	Equal variances not assumed			.086	2.450	.938	.001333	.015560	-.055106	.057772

ตารางการวิเคราะห์สถิติทดสอบทีของวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์
ความเข้มข้น 1:4 ที่มีระยะก่อตัวเริ่มต้นเปรียบเทียบกับระยะก่อตัวสมบูรณ์

Independent Samples Test									
		Levene's Test for Equality of Variances				t-test for Equality of Means			
								95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower Upper
OD	Equal variances assumed	2.118	.219	-1.386	4	.238	-.004000	.002887	-.012015 .004015
	Equal variances not assumed			-1.386	2.735	.268	-.004000	.002887	-.013711 .005711

**ตารางการวิเคราะห์สถิติทดสอบทีของวัสดุกระจกไอโอโนเมอร์ซีเมนต์
ความเข้มข้น 1:8 ที่มีระยะก่อดัวเริ่มต้นเปรียบเทียบกับระยะก่อดัวสมบูรณ์**

Independent Samples Test									
Levene's Test for Equality of Variances					t-test for Equality of Means				
							95% Confidence Interval of the Difference		
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
OD Equal variances assumed	.900	.396	.571	4	.599	.004667	.008172	-.018022	.027355
Equal variances not assumed			.571	3.516	.602	.004667	.008172	-.019308	.028642

**ตารางการวิเคราะห์สถิติทดสอบทีของวัสดุเอ็มทีเอความเข้มข้นสูงสุด
ที่มีระยะก่อตัวเริ่มต้น เปรียบเทียบกับระยะก่อตัวสมบูรณ์**

Independent Samples Test									
Levene's Test for Equality of Variances					t-test for Equality of Means				
					95% Confidence Interval of the Difference				
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
OD Equal variances assumed	1.259	.325	-.807	4	.465	-.009667	.011977	-.042920	.023586
Equal variances not assumed			-.807	3.280	.474	-.009667	.011977	-.046008	.026674

**ตารางการวิเคราะห์สถิติทดสอบทีของวัสดุเอ็มทีเอความเข้มข้น 1:1
ที่มีระยะก่อดัวเริ่มต้น เปรียบเทียบกับระยะก่อดัวสมบูรณ์**

Independent Samples Test									
		Levene's Test for Equality of Variances				t-test for Equality of Means			
								95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower Upper
OD	Equal variances assumed	9.822	.035	-.083	4	.938	-.001000	.012065	-.034497 .032497
	Equal variances not assumed			-.083	2.136	.941	-.001000	.012065	-.049876 .047876

**ตารางการวิเคราะห์สถิติทดสอบทีของวัสดุเอ็มทีเอความเข้มข้น 1:2
ที่มีระยะก่อตัวเริ่มต้น เปรียบเทียบกับระยะก่อตัวสมบูรณ์**

Independent Samples Test									
		Levene's Test for Equality of Variances				t-test for Equality of Means			
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference Lower Upper
OD	Equal variances assumed	3.430	.138	-2.976	4	.441	-.012667	.004256	-.024482 .000851
	Equal variances not assumed			-2.976	2.316	.481	-.012667	.004256	-.028781 .003447

**ตารางการวิเคราะห์สถิติทดสอบทีของวัสดุเอ็มทีเอความเข้มข้น 1:4
ที่มีระยะก่อตัวเริ่มต้น เปรียบเทียบกับระยะก่อตัวสมบูรณ์**

Independent Samples Test									
Levene's Test for Equality of Variances					t-test for Equality of Means				
					95% Confidence Interval of the Difference				
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
OD Equal variances assumed	.091	.778	.796	4	.471	.010667	.013400	-.026537	.047871
Equal variances not assumed			.796	3.811	.473	.010667	.013400	-.027277	.048610

**ตารางการวิเคราะห์สถิติทดสอบทีของวัสดุเอ็มทีเอความเข้มข้น 1:8
ที่มีระยะก่อดัวเริ่มต้น เปรียบเทียบกับระยะก่อดัวสมบูรณ์**

Independent Samples Test									
Levene's Test for Equality of Variances					t-test for Equality of Means				
					95% Confidence Interval of the Difference				
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
OD Equal variances assumed	4.414	.104	-1.332	4	.254	-.018000	.013515	-.055525	.019525
Equal variances not assumed			-1.332	2.547	.290	-.018000	.013515	-.065687	.029687

ภาคผนวก ข

ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุภายหลังมีระยะก่อดำสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น
และเวลาต่างกัน

ตารางสถิติเชิงพรรณนา

Descriptive Statistics					
Dependent Variable: Optical density					
materials	concentration	time	Mean	Std. Deviation	N
GIC-CS	non-dilution	day1	.26267	.013204	3
		day3	.38933	.027006	3
		day7	.37033	.040550	3
		Total	.34078	.064317	9
	dil 1:1	day1	.27300	.063977	3
		day3	.48033	.020526	3
		day7	.56300	.030610	3
		Total	.43878	.134547	9
	dil 1:2	day1	.28333	.022898	3
		day3	.51100	.028827	3
		day7	.66733	.036116	3
		Total	.48722	.169207	9
	dil 1:4	day1	.28733	.042829	3
		day3	.51133	.010693	3
		day7	.72433	.020232	3
		Total	.50767	.190798	9
	dil 1:8	day1	.28567	.026274	3
		day3	.53100	.024880	3
		day7	.72167	.041681	3
		Total	.51278	.191289	9
	control	day1	.28733	.056898	3
		day3	.57800	.007211	3
		day7	.94033	.008505	3
		Total	.60189	.284804	9

Descriptive Statistics					
Dependent Variable: Optical density					
materials	concentration	time	Mean	Std. Deviation	N
MTA	non-dilution	day1	.24967	.018502	3
		day3	.36733	.038109	3
		day7	.41767	.018824	3
		Total	.34489	.078183	9
	dil 1:1	day1	.29967	.053407	3
		day3	.48000	.041761	3
		day7	.51067	.043844	3
		Total	.43011	.106665	9
	dil 1:2	day1	.29333	.031943	3
		day3	.45500	.052115	3
		day7	.48867	.023502	3
		Total	.41233	.096178	9
	dil 1:4	day1	.31833	.010263	3
		day3	.44200	.031796	3
		day7	.50000	.026230	3
		Total	.42011	.083118	9
	dil 1:8	day1	.30233	.003215	3
		day3	.43433	.039526	3
		day7	.48433	.022008	3
		Total	.40700	.084530	9
	control	day1	.33033	.007638	3
		day3	.62033	.038553	3
		day7	.97400	.031048	3
		Total	.64156	.280291	9

Descriptive Statistics					
Dependent Variable: Optical density					
materials	concentration	time	Mean	Std. Deviation	N
Total	non-dilution	day1	.25617	.016043	6
		day3	.37833	.031904	6
		day7	.39400	.038361	6
		Total	.34283	.069481	18
	dil 1:1	day1	.28633	.054694	6
		day3	.48017	.029431	6
		day7	.53683	.044332	6
		Total	.43444	.117868	18
	dil 1:2	day1	.28833	.025453	6
		day3	.48300	.048576	6
		day7	.57800	.101583	6
		Total	.44978	.138964	18
	dil 1:4	day1	.30283	.032622	6
		day3	.47667	.043500	6
		day7	.61217	.124646	6
		Total	.46389	.149705	18
	dil 1:8	day1	.29400	.019068	6
		day3	.48267	.060629	6
		day7	.60300	.133367	6
		Total	.45989	.153440	18
	control	day1	.30883	.043278	6
		day3	.59917	.033955	6
		day7	.95717	.027469	6
		Total	.62172	.274879	18

ตารางการทดสอบความแปรปรวน

Levene's Test of Equality of Error Variances ^a			
Dependent Variable: OD			
F	df1	df2	Sig.
1.726	35	72	.026
Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.			
a. Design: Intercept + materials + concentration + time + materials * concentration + materials * time + concentration * time + materials * concentration * time			

ตารางการเปรียบเทียบพหุคูณ Post Hoc Tests (bonferrini) :
concentration*time*materials

Pairwise Comparisons								
Dependent Variable: Optical density								
concentration	time	(I) materials	(J) materials	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig. ^b	95% Confidence Interval for Difference ^b	
							Lower Bound	Upper Bound
non-dilution	day1	GIC-CS	MTA	.013	.027	.629	-.040	.066
		MTA	GIC-CS	-.013	.027	.629	-.066	.040
	day3	GIC-CS	MTA	.022	.027	.414	-.031	.075
		MTA	GIC-CS	-.022	.027	.414	-.075	.031
	day7	GIC-CS	MTA	-.047	.027	.081	-.101	.006
		MTA	GIC-CS	.047	.027	.081	-.006	.101
dil 1:1	day1	GIC-CS	MTA	-.027	.027	.323	-.080	.027
		MTA	GIC-CS	.027	.027	.323	-.027	.080
	day3	GIC-CS	MTA	.000	.027	.990	-.053	.054
		MTA	GIC-CS	.000	.027	.990	-.054	.053
	day7	GIC-CS	MTA	.052	.027	.055	-.001	.106
		MTA	GIC-CS	-.052	.027	.055	-.106	.001
dil 1:2	day1	GIC-CS	MTA	-.010	.027	.710	-.063	.043
		MTA	GIC-CS	.010	.027	.710	-.043	.063
	day3	GIC-CS	MTA	.056 [*]	.027	.040	.003	.109
		MTA	GIC-CS	-.056 [*]	.027	.040	-.109	-.003
	day7	GIC-CS	MTA	.179 [*]	.027	.000	.125	.232
		MTA	GIC-CS	-.179 [*]	.027	.000	-.232	-.125

Pairwise Comparisons

Dependent Variable: Optical density

concentration	time	(I) materials	(J) materials	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig. ^b	95% Confidence Interval for Difference ^b	
							Lower Bound	Upper Bound
dil 1:4	day1	GIC-CS	MTA	-.031	.027	.251	-.084	.022
		MTA	GIC-CS	.031	.027	.251	-.022	.084
	day3	GIC-CS	MTA	.069 [*]	.027	.012	.016	.123
		MTA	GIC-CS	-.069 [*]	.027	.012	-.123	-.016
	day7	GIC-CS	MTA	.224 [*]	.027	.000	.171	.278
		MTA	GIC-CS	-.224 [*]	.027	.000	-.278	-.171
dil 1:8	day1	GIC-CS	MTA	-.017	.027	.536	-.070	.037
		MTA	GIC-CS	.017	.027	.536	-.037	.070
	day3	GIC-CS	MTA	.097 [*]	.027	.001	.043	.150
		MTA	GIC-CS	-.097 [*]	.027	.001	-.150	-.043
	day7	GIC-CS	MTA	.237 [*]	.027	.000	.184	.291
		MTA	GIC-CS	-.237 [*]	.027	.000	-.291	-.184
control	day1	GIC-CS	MTA	-.043	.027	.113	-.096	.010
		MTA	GIC-CS	.043	.027	.113	-.010	.096
	day3	GIC-CS	MTA	-.042	.027	.118	-.096	.011
		MTA	GIC-CS	.042	.027	.118	-.011	.096
	day7	GIC-CS	MTA	-.034	.027	.213	-.087	.020
		MTA	GIC-CS	.034	.027	.213	-.020	.087

การเปรียบเทียบพหุคูณ Post Hoc Tests (bonferroni) : material*concentration*time

Pairwise Comparisons								
Dependent Variable: Optical density								
		(I)	(J)	Mean		Sig. ^b	95% Confidence Interval for Difference ^b	
				Difference (I-J)	Std. Error		Lower Bound	Upper Bound
GIC-CS	day1	non-dilution	dil 1:1	-.010	.027	1.000	-.092	.071
			dil 1:2	-.021	.027	1.000	-.102	.061
			dil 1:4	-.025	.027	1.000	-.106	.057
			dil 1:8	-.023	.027	1.000	-.104	.058
			control	-.025	.027	1.000	-.106	.057
		dil 1:1	non-dilution	.010	.027	1.000	-.071	.092
			dil 1:2	-.010	.027	1.000	-.092	.071
			dil 1:4	-.014	.027	1.000	-.096	.067
			dil 1:8	-.013	.027	1.000	-.094	.069
			control	-.014	.027	1.000	-.096	.067
		dil 1:2	non-dilution	.021	.027	1.000	-.061	.102
			dil 1:1	.010	.027	1.000	-.071	.092
			dil 1:4	-.004	.027	1.000	-.085	.077
			dil 1:8	-.002	.027	1.000	-.084	.079
			control	-.004	.027	1.000	-.085	.077
		dil 1:4	non-dilution	.025	.027	1.000	-.057	.106
			dil 1:1	.014	.027	1.000	-.067	.096
			dil 1:2	.004	.027	1.000	-.077	.085
			dil 1:8	.002	.027	1.000	-.080	.083
			control	-6.661E-16	.027	1.000	-.081	.081
		dil 1:8	non-dilution	.023	.027	1.000	-.058	.104
			dil 1:1	.013	.027	1.000	-.069	.094
			dil 1:2	.002	.027	1.000	-.079	.084
			dil 1:4	-.002	.027	1.000	-.083	.080
			control	-.002	.027	1.000	-.083	.080

control	non-dilution	.025	.027	1.000	-.057	.106
	dil 1:1	.014	.027	1.000	-.067	.096
	dil 1:2	.004	.027	1.000	-.077	.085
	dil 1:4	6.661E-16	.027	1.000	-.081	.081
	dil 1:8	.002	.027	1.000	-.080	.083
day3 non-dilution	dil 1:1	-.091 [*]	.027	.017	-.172	-.010
	dil 1:2	-.122 [*]	.027	.000	-.203	-.040
	dil 1:4	-.122 [*]	.027	.000	-.203	-.041
	dil 1:8	-.142 [*]	.027	.000	-.223	-.060
	control	-.189 [*]	.027	.000	-.270	-.107
dil 1:1	non-dilution	.091 [*]	.027	.017	.010	.172
	dil 1:2	-.031	.027	1.000	-.112	.051
	dil 1:4	-.031	.027	1.000	-.112	.050
	dil 1:8	-.051	.027	.939	-.132	.031
	control	-.098 [*]	.027	.008	-.179	-.016
dil 1:2	non-dilution	.122 [*]	.027	.000	.040	.203
	dil 1:1	.031	.027	1.000	-.051	.112
	dil 1:4	.000	.027	1.000	-.082	.081
	dil 1:8	-.020	.027	1.000	-.101	.061
	control	-.067	.027	.220	-.148	.014
dil 1:4	non-dilution	.122 [*]	.027	.000	.041	.203
	dil 1:1	.031	.027	1.000	-.050	.112
	dil 1:2	.000	.027	1.000	-.081	.082
	dil 1:8	-.020	.027	1.000	-.101	.062
	control	-.067	.027	.227	-.148	.015
dil 1:8	non-dilution	.142 [*]	.027	.000	.060	.223
	dil 1:1	.051	.027	.939	-.031	.132
	dil 1:2	.020	.027	1.000	-.061	.101
	dil 1:4	.020	.027	1.000	-.062	.101
	control	-.047	.027	1.000	-.128	.034
control	non-dilution	.189 [*]	.027	.000	.107	.270
	dil 1:1	.098 [*]	.027	.008	.016	.179
	dil 1:2	.067	.027	.220	-.014	.148
	dil 1:4	.067	.027	.227	-.015	.148

		dil 1:8	.047	.027	1.000	-.034	.128
day7	non-dilution	dil 1:1	-.193*	.027	.000	-.274	-.111
		dil 1:2	-.297*	.027	.000	-.378	-.216
		dil 1:4	-.354*	.027	.000	-.435	-.273
		dil 1:8	-.351*	.027	.000	-.433	-.270
		control	-.570*	.027	.000	-.651	-.489
dil 1:1	non-dilution		.193*	.027	.000	.111	.274
	dil 1:2		-.104*	.027	.003	-.186	-.023
	dil 1:4		-.161*	.027	.000	-.243	-.080
	dil 1:8		-.159*	.027	.000	-.240	-.077
	control		-.377*	.027	.000	-.459	-.296
dil 1:2	non-dilution		.297*	.027	.000	.216	.378
	dil 1:1		.104*	.027	.003	.023	.186
	dil 1:4		-.057	.027	.552	-.138	.024
	dil 1:8		-.054	.027	.694	-.136	.027
	control		-.273*	.027	.000	-.354	-.192
dil 1:4	non-dilution		.354*	.027	.000	.273	.435
	dil 1:1		.161*	.027	.000	.080	.243
	dil 1:2		.057	.027	.552	-.024	.138
	dil 1:8		.003	.027	1.000	-.079	.084
	control		-.216*	.027	.000	-.297	-.135
dil 1:8	non-dilution		.351*	.027	.000	.270	.433
	dil 1:1		.159*	.027	.000	.077	.240
	dil 1:2		.054	.027	.694	-.027	.136
	dil 1:4		-.003	.027	1.000	-.084	.079
	control		-.219*	.027	.000	-.300	-.137
control	non-dilution		.570*	.027	.000	.489	.651
	dil 1:1		.377*	.027	.000	.296	.459
	dil 1:2		.273*	.027	.000	.192	.354
	dil 1:4		.216*	.027	.000	.135	.297
	dil 1:8		.219*	.027	.000	.137	.300
MTA	day1 non-dilution	dil 1:1	-.050	.027	.991	-.131	.031
		dil 1:2	-.044	.027	1.000	-.125	.038
		dil 1:4	-.069	.027	.187	-.150	.013

		dil 1:8	-.053	.027	.797	-.134	.029
		control	-.081	.027	.054	-.162	.001
dil 1:1	non-dilution	.050	.027	.991	-.031	.131	
	dil 1:2	.006	.027	1.000	-.075	.088	
	dil 1:4	-.019	.027	1.000	-.100	.063	
	dil 1:8	-.003	.027	1.000	-.084	.079	
	control	-.031	.027	1.000	-.112	.051	
	non-dilution	.044	.027	1.000	-.038	.125	
dil 1:2	dil 1:1	-.006	.027	1.000	-.088	.075	
	dil 1:4	-.025	.027	1.000	-.106	.056	
	dil 1:8	-.009	.027	1.000	-.090	.072	
	control	-.037	.027	1.000	-.118	.044	
	non-dilution	.069	.027	.187	-.013	.150	
dil 1:4	dil 1:1	.019	.027	1.000	-.063	.100	
	dil 1:2	.025	.027	1.000	-.056	.106	
	dil 1:8	.016	.027	1.000	-.065	.097	
	control	-.012	.027	1.000	-.093	.069	
	non-dilution	.053	.027	.797	-.029	.134	
dil 1:8	dil 1:1	.003	.027	1.000	-.079	.084	
	dil 1:2	.009	.027	1.000	-.072	.090	
	dil 1:4	-.016	.027	1.000	-.097	.065	
	control	-.028	.027	1.000	-.109	.053	
	non-dilution	.081	.027	.054	-.001	.162	
control	dil 1:1	.031	.027	1.000	-.051	.112	
	dil 1:2	.037	.027	1.000	-.044	.118	
	dil 1:4	.012	.027	1.000	-.069	.093	
	dil 1:8	.028	.027	1.000	-.053	.109	
	non-dilution	.113 [*]	.027	.001	-.194	-.031	
day3 non-dilution	dil 1:2	-.088 [*]	.027	.025	-.169	-.006	
	dil 1:4	-.075	.027	.102	-.156	.007	
	dil 1:8	-.067	.027	.220	-.148	.014	
	control	-.253 [*]	.027	.000	-.334	-.172	
	non-dilution	.113 [*]	.027	.001	.031	.194	
dil 1:1	dil 1:2	.025	.027	1.000	-.056	.106	

		dil 1:4	.038	.027	1.000	-.043	.119
		dil 1:8	.046	.027	1.000	-.036	.127
		control	-.140*	.027	.000	-.222	-.059
dil 1:2		non-dilution	.088*	.027	.025	.006	.169
		dil 1:1	-.025	.027	1.000	-.106	.056
		dil 1:4	.013	.027	1.000	-.068	.094
		dil 1:8	.021	.027	1.000	-.061	.102
		control	-.165*	.027	.000	-.247	-.084
dil 1:4		non-dilution	.075	.027	.102	-.007	.156
		dil 1:1	-.038	.027	1.000	-.119	.043
		dil 1:2	-.013	.027	1.000	-.094	.068
		dil 1:8	.008	.027	1.000	-.074	.089
		control	-.178*	.027	.000	-.260	-.097
dil 1:8		non-dilution	.067	.027	.220	-.014	.148
		dil 1:1	-.046	.027	1.000	-.127	.036
		dil 1:2	-.021	.027	1.000	-.102	.061
		dil 1:4	-.008	.027	1.000	-.089	.074
		control	-.186*	.027	.000	-.267	-.105
control		non-dilution	.253*	.027	.000	.172	.334
		dil 1:1	.140*	.027	.000	.059	.222
		dil 1:2	.165*	.027	.000	.084	.247
		dil 1:4	.178*	.027	.000	.097	.260
		dil 1:8	.186*	.027	.000	.105	.267
day7 non-dilution		dil 1:1	-.093*	.027	.013	-.174	-.012
		dil 1:2	-.071	.027	.148	-.152	.010
		dil 1:4	-.082*	.027	.045	-.164	-.001
		dil 1:8	-.067	.027	.227	-.148	.015
		control	-.556*	.027	.000	-.638	-.475
dil 1:1		non-dilution	.093*	.027	.013	.012	.174
		dil 1:2	.022	.027	1.000	-.059	.103
		dil 1:4	.011	.027	1.000	-.071	.092
		dil 1:8	.026	.027	1.000	-.055	.108
		control	-.463*	.027	.000	-.545	-.382
	dil 1:2	non-dilution	.071	.027	.148	-.010	.152

	dil 1:1	-.022	.027	1.000	-.103	.059
	dil 1:4	-.011	.027	1.000	-.093	.070
	dil 1:8	.004	.027	1.000	-.077	.086
	control	-.485 [*]	.027	.000	-.567	-.404
dil 1:4	non-dilution	.082 [*]	.027	.045	.001	.164
	dil 1:1	-.011	.027	1.000	-.092	.071
	dil 1:2	.011	.027	1.000	-.070	.093
	dil 1:8	.016	.027	1.000	-.066	.097
	control	-.474 [*]	.027	.000	-.555	-.393
dil 1:8	non-dilution	.067	.027	.227	-.015	.148
	dil 1:1	-.026	.027	1.000	-.108	.055
	dil 1:2	-.004	.027	1.000	-.086	.077
	dil 1:4	-.016	.027	1.000	-.097	.066
	control	-.490 [*]	.027	.000	-.571	-.408
control	non-dilution	.556 [*]	.027	.000	.475	.638
	dil 1:1	.463 [*]	.027	.000	.382	.545
	dil 1:2	.485 [*]	.027	.000	.404	.567
	dil 1:4	.474 [*]	.027	.000	.393	.555
	dil 1:8	.490 [*]	.027	.000	.408	.571

ตารางการเปรียบเทียบพหุคูณ Post Hoc Tests (bonferroni) : materials * concentration * time

Pairwise Comparisons								
Dependent Variable: OD								
materials	concentration	(I) time	(J) time	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^b	95% Confidence Interval for Difference ^b	
							Lower Bound	Upper Bound
GIC-CS	non-dilution	day1	day3	-.127 [*]	.027	.000	-.192	-.061
			day7	-.108 [*]	.027	.000	-.173	-.042
		day3	day1	.127 [*]	.027	.000	.061	.192
			day7	.019	.027	1.000	-.047	.085
		day7	day1	.108 [*]	.027	.000	.042	.173
			day3	-.019	.027	1.000	-.085	.047
	dil 1:1	day1	day3	-.207 [*]	.027	.000	-.273	-.142
			day7	-.290 [*]	.027	.000	-.356	-.224
		day3	day1	.207 [*]	.027	.000	.142	.273
			day7	-.083 [*]	.027	.009	-.148	-.017
		day7	day1	.290 [*]	.027	.000	.224	.356
			day3	.083 [*]	.027	.009	.017	.148
	dil 1:2	day1	day3	-.228 [*]	.027	.000	-.293	-.162
			day7	-.384 [*]	.027	.000	-.450	-.318
		day3	day1	.228 [*]	.027	.000	.162	.293
			day7	-.156 [*]	.027	.000	-.222	-.091
		day7	day1	.384 [*]	.027	.000	.318	.450
			day3	.156 [*]	.027	.000	.091	.222
	dil 1:4	day1	day3	-.224 [*]	.027	.000	-.290	-.158
			day7	-.437 [*]	.027	.000	-.503	-.371
		day3	day1	.224 [*]	.027	.000	.158	.290
			day7	-.213 [*]	.027	.000	-.279	-.147
		day7	day1	.437 [*]	.027	.000	.371	.503
			day3	.213 [*]	.027	.000	.147	.279

MTA	dil 1:8	day1	day3	-.245 [*]	.027	.000	-.311	-.180
			day7	-.436 [*]	.027	.000	-.502	-.370
		day3	day1	.245 [*]	.027	.000	.180	.311
			day7	-.191 [*]	.027	.000	-.256	-.125
		day7	day1	.436 [*]	.027	.000	.370	.502
			day3	.191 [*]	.027	.000	.125	.256
	control	day1	day3	-.291 [*]	.027	.000	-.356	-.225
			day7	-.653 [*]	.027	.000	-.719	-.587
		day3	day1	.291 [*]	.027	.000	.225	.356
			day7	-.362 [*]	.027	.000	-.428	-.297
		day7	day1	.653 [*]	.027	.000	.587	.719
			day3	.362 [*]	.027	.000	.297	.428
MTA	non-dilution	day1	day3	-.118 [*]	.027	.000	-.183	-.052
			day7	-.168 [*]	.027	.000	-.234	-.102
		day3	day1	.118 [*]	.027	.000	.052	.183
			day7	-.050	.027	.193	-.116	.015
		day7	day1	.168 [*]	.027	.000	.102	.234
			day3	.050	.027	.193	-.015	.116
	dil 1:1	day1	day3	-.180 [*]	.027	.000	-.246	-.115
			day7	-.211 [*]	.027	.000	-.277	-.145
		day3	day1	.180 [*]	.027	.000	.115	.246
			day7	-.031	.027	.768	-.096	.035
		day7	day1	.211 [*]	.027	.000	.145	.277
			day3	.031	.027	.768	-.035	.096
	dil 1:2	day1	day3	-.162 [*]	.027	.000	-.227	-.096
			day7	-.195 [*]	.027	.000	-.261	-.130
		day3	day1	.162 [*]	.027	.000	.096	.227
			day7	-.034	.027	.639	-.099	.032
		day7	day1	.195 [*]	.027	.000	.130	.261
			day3	.034	.027	.639	-.032	.099
	dil 1:4	day1	day3	-.124 [*]	.027	.000	-.189	-.058
			day7	-.182 [*]	.027	.000	-.247	-.116
		day3	day1	.124 [*]	.027	.000	.058	.189
			day7	-.058	.027	.101	-.124	.008

dil 1:8	day7	day1	.182 [*]	.027	.000	.116	.247	
		day3	.058	.027	.101	-.008	.124	
	day1	day3	-.132 [*]	.027	.000	-.198	-.066	
		day7	-.182 [*]	.027	.000	-.248	-.116	
	day3	day1	.132 [*]	.027	.000	.066	.198	
		day7	-.050	.027	.198	-.116	.016	
	day7	day1	.182 [*]	.027	.000	.116	.248	
		day3	.050	.027	.198	-.016	.116	
	control	day1	day3	-.290 [*]	.027	.000	-.356	-.224
			day7	-.644 [*]	.027	.000	-.709	-.578
		day3	day1	.290 [*]	.027	.000	.224	.356
			day7	-.354 [*]	.027	.000	-.419	-.288
day7		day1	.644 [*]	.027	.000	.578	.709	
		day3	.354 [*]	.027	.000	.288	.419	



ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ ชื่อสกุล	พรพิมล ณะพรพันธุ์
วัน เดือน ปีเกิด	1 พฤศจิกายน 2527
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	205/259 ซอยพัฒนาการ 65 ถนนพัฒนาการ เขตประเวศ กรุงเทพมหานคร 10250
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2549	ระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคนิคการแพทย์) จาก มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
พ.ศ. 2555	ระดับปริญญาตรี ทันตแพทยศาสตรบัณฑิต จาก มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
พ.ศ. 2560	ระดับปริญญาโท วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ทันตกรรมคลินิก) (วิทยาเอ็นโดดอนต์) คณะทันตแพทยศาสตร์ จาก มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ