ผลกระทบของซีเมนต์อุดคลองรากฟัน 4 ชนิดต่อเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และเซลล์กระดูกของมนุษย์

ภาณุภัทร ภูมิภัทราคม[1] วรรณิดา ธรรมชัย[2] ธันย์ชนก โทรศักดิ์[3] รติพร สุภสิริ[4]

บทคัดย่อ

การอุดคลองรากฟันเป็นขั้นตอนสำคัญในการรักษาคลองรากฟัน คุณภาพของการอุดคลองรากฟัน ขึ้นกับวิธีการอุดและวัสดุที่ใช้ หนึ่งในวัสดุที่ใช้ในขั้นตอนนี้ คือ ซีเมนต์อุดคลองรากฟัน ซึ่งมีหลายชนิดตามองค์ประกอบหลัก การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบความเป็นพิษของซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบส กับ ซีเมนต์อุดคลองรากฟันดั้งเดิม ๓ ชนิด ได้แก่ ซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดซิงค์ออกไซด์ยูจินอล ซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเรซินเบส และซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดแคลเซียมไฮดรอกไซด์เบส ต่อเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และเซลล์กระดูกของมนุษย์ที่เพาะเลี้ยงแบบปฐมภูมิ การศึกษานี้ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์จนกระทั่งได้กลุ่มย่อยที่ ๓ จึงนำเซลล์ทั้งสองชนิดบ่มในสารสกัดของซีเมนต์อุดคลองรากฟันทั้ง ๔ กลุ่ม เป็นเวลา ๑ ๓ ๕ และ ๗ วัน จากนั้นจะวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธีเอ็มทีทีและวัดความทึบแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น ๕๕๐ นาโนเมตร ผลการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ของมนุษย์พบว่า ซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบสไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์ทุกช่วงเวลาของการทดสอบ ทั้งยังกระตุ้นให้เกิดการเพิ่มจำนวนในช่วงหลังของเวลาที่ทดสอบ สำหรับความเป็นพิษต่อเซลล์กระดูกของมนุษย์พบว่าซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบสมีความเป็นพิษปานกลางในวันแรกแต่จะไปกระตุ้นให้เกิดการเพิ่มจำนวนในวันที่ ๕ และ ๗ โดยสรุปซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบสมีการเหนี่ยวนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่มากกว่าซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดอื่น ซึ่งถือว่าเป็นซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดใหม่ที่น่าสนใจในการนำไปใช้ในงานรักษาคลองรากฟันในอนาคต

คำสำคัญ *: ซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบส, เซลล์เอ็นยึดปริทันต์ของมนุษย์, เซลล์กระดูกของมนุษย์, ความเป็นพิษ*

[1] *สาขาวิชาวิทยาเอ็นโดดอนต์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์*

[2] *โรงพยาบาลเซกา จ.บึงกาฬ*

[3] *โรงพยาบาลคงเจริญ จ.พิจิตร*

[4] *โรงพยาบาลสมเด็จพระยุพราชหล่มเก่า จ.เพชรบูรณ์*

บทนำ

การรักษาคลองรากฟันมีจุดประสงค์ เพื่อป้องกันไม่ให้ของเหลวจากเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน (periapical exudate) ซึมเข้าไปในคลองรากฟัน ป้องกันไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์ที่อาจหลงเหลืออยู่ในคลองรากฟันออกไปรบกวนเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน หรือเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจตกค้างอยู่ในท่อเนื้อฟันเข้ามาในคลองรากฟัน ป้องกันการติดเชื้อซ้ำ และสร้างสภาวะที่เหมาะสมต่อการหายของเนื้อเยื่อรอบปลาย

รากฟัน ขั้นตอนในการรักษาคลองรากฟันประกอบด้วย การตรวจ การเตรียมช่องเปิดเข้าสู่โพรงเนื้อเยื่อในฟัน การหาความยาวฟัน การเตรียมคลองรากฟัน การลองกัตตาเปอร์ชาแท่งเอก การอุดคลองรากฟันและประเมินผลการรักษา

วัสดุที่ใช้สำหรับอุดคลองรากฟันคือ กัตตาเปอร์ชา (gutta percha) และซีเมนต์อุดคลองรากฟัน โดยซีเมนต์อุดคลองรากฟัน มีหน้าที่เป็นวัสดุช่วยยึดระหว่างกัตตาเปอร์ชาและผนังคลองรากฟัน เติมเต็มช่องว่าง เป็นสารหล่อลื่นให้สามารถใส่กัตตาเปอร์ชาลงในคลองรากฟันได้ง่ายและทำให้เกิดการทึบรังสี[1]

ในขั้นตอนการอุดคลองรากฟัน ซีเมนต์อุดคลองรากฟันมีโอกาสเกินออกนอกปลายรากฟัน ทำให้เนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันมีโอกาสสัมผัสกับซีเมนต์อุดคลองรากฟัน เนื้อเยื่อนั้นได้แก่ เนื้อเยื่ออ่อนเกี่ยวพัน หลอดเลือด เส้นประสาท กระดูก และเอ็นยึดปริทันต์ หากซีเมนต์สัมผัสกับเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันโดยตรง จะส่งผลให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อบริเวณข้างเคียง กระตุ้นให้เกิดการตอบสนองต่อกระบวนการอักเสบและทำให้แผลหายช้า[2] นอกจากนี้กระบวนการสลายของซีเมนต์อุดคลองรากฟันที่เกินออกนอกปลายรากฟันจะกระตุ้นให้เกิดการทำลายเซลล์ และเนื้อเยื่อบริเวณข้างเคียง และมีผลต่ออัตราความสำเร็จของการรักษาคลองรากฟัน[3] ดังนั้นคุณสมบัติความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเนื้อเยื่อของซีเมนต์อุดคลองรากฟัน จึงเป็นปัจจัยสำคัญที่ควรพิจารณาในการเลือกใช้ซีเมนต์อุดคลองรากฟัน[2]

จากการศึกษาก่อนหน้า[3-8] พบว่ามีผู้ที่พยายามทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเนื้อเยื่อ และความเป็นพิษของซีเมนต์อุดคลองรากฟันต่อเซลล์ชนิดต่างๆ ซึ่งมีซีเมนต์อุดคลองรากฟันหลายชนิดที่พบว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์มาก จึงทำให้ไม่นิยมใช้ในปัจจุบัน ส่งผลให้มีการพัฒนาซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดใหม่ที่มีคุณสมบัติที่ดีและมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเนื้อเยื่อมากขึ้น

จากการศึกษาที่มีอยู่ในปัจจุบันยังมีการศึกษาเปรียบเทียบความเป็นพิษของซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบส (MTA based sealer) ที่มีผลต่อทั้งเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ และเซลล์กระดูกของมนุษย์ที่เพาะเลี้ยงแบบปฐมภูมิ (primary cell culture) อยู่จำนวนจำกัด[9, 10] การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาความเป็นพิษของซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบสเปรียบเทียบกับซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดดั้งเดิมที่มักใช้ในกระบวนการรักษาคลองรากฟัน โดยทั่วไปได้แก่ ซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดซิงค์ออกไซด์ยูจินอลเบส (Zinc oxide eugenol based sealer) ชนิดเรซินเบส (Resin based sealer) และชนิดแคลเซียมไฮดรอกไซด์เบส (Calcium hydroxide based sealer) ต่อเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ และเซลล์กระดูกของมนุษย์ในช่วงเวลาต่างๆ ที่อยู่ในกระบวนการอักเสบอันเป็นส่วนหนึ่งของกระบวนการหายของรอยโรค โดยมีสมมติฐานว่าซีเมนต์อุดคลองรากฟันทั้ง ๔ ชนิดที่ทำการศึกษา มีระดับความเป็นพิษต่อเซลล์ทั้งสองชนิดไม่แตกต่างกันในทุกช่วงระยะเวลาที่ทดสอบ

วิธีการศึกษา

การเพาะเลี้ยงเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และเซลล์กระดูกของมนุษย์แบบปฐมภูมิ

เซลล์เอ็นยึดปริทันต์จะได้มาจากการเก็บฟันกรามซี่ที่ 3 ซึ่งเป็นฟันคุดที่ต้องถอนออกจากผู้ป่วยที่มีสุขภาพดี อายุระหว่าง 18-25 ปี โดยฟันที่เก็บจะต้องปราศจากรอยโรคฟันผุและรอยโรครอบปลายรากฟัน สำหรับเซลล์กระดูกจะได้มาจากการเก็บชิ้นกระดูกที่จำเป็นต้องนำออกเพื่อการใส่ฟันปลอม จากผู้ป่วยที่มีสุขภาพดี อายุระหว่าง 25-35 ปี ที่เข้ามาทำการรักษา ณ ภาควิชาศัลยศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร โดยการศึกษานี้ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรม มหาวิทยาลัยนเรศวร เมื่อได้ฟันที่ถอนออกและชิ้นกระดูกมาแล้ว นำชิ้นเนื้อที่ได้มาล้างมากๆ ด้วยสารดีบีเอสเอส (DBSS; Dissection Balanced Salt Solution) นำเนื้อเยื่อเอ็นยึดปริทันต์ออกมาจากรากฟันโดยเว้นบริเวณส่วนคอฟันหนึ่งส่วนสาม (Cervical 1/3) แล้วใช้มีดผ่าตัดเบอร์ ๑๕ ตัดชิ้นเนื้อที่ต้องการให้มีขนาดประมาณ ๑ x ๑ มิลลิเมตร สำหรับชิ้นกระดูกจะทำการตัดลดขนาดกระดูกให้มีขนาดเล็กประมาณ ๑ x ๑ มิลลิเมตร เช่นกัน แล้วนำชิ้นเนื้อทั้งสองชนิดมาเพาะเลี้ยงในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ ให้ได้อัตราส่วน ๑ ชิ้นต่อ ๑ ตารางเซนติเมตร เติมอาหารเลี้ยงเซลล์ในอัตราส่วน ๑ มิลลิลิตรต่อ ๒๕ ตารางเซนติเมตร และตรวจสอบว่าอาหารเลี้ยงเซลล์พอท่วมชิ้นเนื้อแล้วนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อภายใต้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ ๕ ณ อุณหภูมิ ๓๗ องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นสภาวะมาตรฐานที่ใช้เลี้ยงเซลล์ตลอดการทดลองนี้

สำหรับเซลล์เอ็นยึดปริทันต์จะใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดดีเอ็มอีเอ็ม (DMEM; Dulbeco's Modified Eagle medium) ที่ผสมซีรั่มของตัวอ่อนลูกวัวร้อยละ ๑๐ (FBS; 10% Fetal bovie serum) สารแอลกลูตามีน (L-glutamine) ๒ มิลลิโมลต่อลิตร เพนิซิลลิน (Penicillin) ๑๐๐ ยูนิตต่อมิลลิลิตรและสเตรปโตมัยซิน (Streptomycin) ๑๐๐ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เซลล์กระดูกจะใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเอลฟาเอ็มอีเอ็ม (Alpha Modification Eagle medium; Alpha MEM) ที่ผสมซีรั่มของตัวอ่อนลูกวัวร้อยละ ๑๐ (FBS; 10% Fetal bovie serum) สารแอลกลูตามีน (L-glutamine) ๒ มิลลิโมลต่อลิตรเพนิซิลลิน (Penicillin) ๑๐๐ ยูนิตต่อมิลลิลิตรและสเตรปโตมัยซิน (Streptomycin) ๑๐๐ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์และขยายจำนวนเซลล์ด้วยวิธีทริปซิไนเซชั่น (Trypsinization) จนกระทั่งได้เซลล์กลุ่มย่อย (Passage) ที่ ๓ จึงนำเซลล์จากกลุ่มย่อยนี้มาใช้ในการทดสอบ

เซลล์ทั้ง ๒ ชนิด จะถูกแบ่งออกเป็นกลุ่มควบคุมคือ เซลล์เอ็นยึดปริทันต์ที่ถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดดีเอ็มอีเอ็ม และเซลล์กระดูกที่ถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเอลฟาเอ็มอีเอ็ม โดยอาหารเลี้ยงเซลล์จะถูกผสมสารต่างๆที่กล่าวมาข้างต้นเป็นอาหารเลี้ยงเซลล์สมบูรณ์ ส่วนกลุ่มทดลองอีก ๔ กลุ่ม

จะมีสารตั้งต้นที่ใช้ในการทดสอบแบ่งออกเป็น ๔ ชนิด คือ ซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดซิงค์ออกไซด์ยูจินอลเบส (Zinc oxide eugenol based sealer) ยี่ห้อซียูซีลเลอร์ (CU sealer®) ซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเรซินเบส (Resin based sealer) ยี่ห้อเอเอชพลัส (AH plus®) ซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดแคลเซียมไฮดรอกไซด์เบส (Calcium hydroxide based sealer) ยี่ห้อซีลลาเพก (Sealapex®) และซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบส (MTA based sealer) ยี่ห้อฟิวลาเพก (Fillapex®)

การเตรียมสารสกัดซีเมนต์อุดคลองรากฟัน

เตรียมสารทดสอบในแต่ละกลุ่มภายใต้สภาวะปลอดเชื้อในอัตราส่วนตามคำแนะนำของผู้ผลิต จากนั้นนำซีเมนต์อุดคลองรากฟันที่ผสมแล้วใส่ในแบบพิมพ์รูปทรงสี่เหลี่ยม ขนาด ๗ x๑๐ x๓ มิลลิเมตร และนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อภายใต้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ ๕ ณ อุณหภูมิ ๓๗ องศาเซลเซียส โดยแต่ละสารทดสอบมีอัตราส่วนในการผสมและระยะเวลาบ่มดังนี้

๑) ซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดซิงค์ออกไซด์ยูจินอลเบสยี่ห้อซียูซีลเลอร์ อัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนัก ทิ้งระยะบ่มที่ ๔๙ ชั่วโมง ๓๘ นาที

๒) ซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเรซินเบสยี่ห้อเอเอชพลัส อัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนัก ทิ้งระยะบ่มที่ ๒๔ ชั่วโมง

๓) ซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดแคลเซียมไฮดรอกไซด์เบสยี่ห้อซีลลาเพก อัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนัก ทิ้งระยะบ่มที่ ๔๕ นาที

๔) ซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบสยี่ห้อฟิวลาเพก อัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนัก ทิ้งระยะบ่มที่ ๘ ชั่วโมง

ทั้งนี้สารแต่ละชนิดข้างต้นจะใช้ระยะเวลาในการบ่มตัวแตกต่างกันโดยอ้างอิงตามระยะเวลาการก่อตัวของซีเมนต์แต่ละชนิดที่บริษัทผู้ผลิตกำหนด

หลังจากนั้นนำสารทดสอบไปแช่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ไม่มีซีรั่มของตัวอ่อนลูกวัวในอัตราส่วน ๐.๒ กรัมต่อมิลลิลิตร[11] และนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อภายใต้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ ๕ ณ อุณหภูมิ ๓๗ องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา ๒๔ ชั่วโมงเพื่อทำการสกัดแยกสารทดสอบ เมื่อครบกำหนดเวลานำสารสกัดซีเมนต์ที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องเหวี่ยงสารให้ตกตะกอนด้วยจำนวนรอบ ๓๐๐๐รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา ๕ นาที นำสารละลายส่วนเหนือตะกอนกรองผ่านชั้นกรองขนาด ๐.๒ ไมโครเมตรแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ ๔ องศาเซลเซียส เพื่อนำสารสกัดที่ได้มาใช้ในการทดสอบกับเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และเซลล์กระดูกของมนุษย์ ในขั้นตอนต่อไป

กระบวนการทดสอบสารสกัดซีเมนต์อุดคลองรากฟัน

ทำการเลี้ยงเซลล์ทดสอบในไมโครไทเทอร์เพลทแบบ ๙๖ หลุม ใส่เซลล์จำนวน ๕๐๐๐ เซลล์ต่อหลุม โดยกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษาจะทำจำนวน ๓ หลุม

และทำซ้ำ ๓ ครั้งต่อชนิดของสารทดสอบ นำไมโครไทเทอร์เพลท ไปบ่มในตู้บ่มภายใต้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ ๕ ณ อุณหภูมิ ๓๗ องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา ๒๔ ชั่วโมง เพื่อให้เซลล์ยึดติดกับก้นไมโครไทเทอร์เพลท จากนั้นใช้ปิเปตต์แบบหลายช่องดูด (Multichannel pipette) กำจัดอาหารเลี้ยงเซลล์ออก ล้างด้วยดีพีบีเอสเอ (D-PBSA; Dulbecco`s Phosphate Buffered Saline) ๒ ครั้ง ปริมาตร ๒๐๐ ไมโครลิตรต่อหลุม นำสารสกัดซีเมนต์อุดคลองรากฟันที่สกัดไว้ใส่ในปริมาตร ๒๐๐ ไมโครลิตร และนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อภายใต้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ ๕ ณ อุณหภูมิ ๓๗ องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา ๑ ๓ ๕ และ ๗ วัน

การทดสอบวัดความมีชีวิตของเซลล์ด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay)

ละลายผงเอ็มทีที (MTT; Methyl-thiazoltetrazolium) ในสารดีพีบีเอสเอ (D-PBSA; Dulbecco`s Phosphate Buffered Saline) ให้ได้ความเข้มข้น ๕ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วนำไปกรองผ่านชั้นกรอง ขนาด ๐.๒ ไมโครเมตร เมื่อถึงช่วงระยะเวลาที่กำหนด (๑ ๓ ๕ และ ๗ วัน) เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ใหม่ ปริมาตร ๒๐๐ ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลายเอ็มทีที (MTT; Methyl-thiazoltetrazolium) ปริมาตร ๘๐ ไมโครลิตร ห่อหุ้มด้วยแผ่นอะลูมิเนียม และนำไปบ่มในตู้บ่มภายใต้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ ๕ ณ อุณหภูมิ ๓๗ องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา ๔ ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลากำจัดสารละลายเอ็มทีทีและอาหารเลี้ยงเซลล์ออก แล้วเติมดีเอ็มเอสโอ (DMSO; Dimethyl sulfoxide) ปริมาตร ๐.๒ มิลลิลิตร เติมไกลซีนบัฟเฟอร์ (Glycine buffer) ปริมาตร ๐.๐๒๕ มิลลิลิตร นำสารละลายไปอ่านค่าระดับความทึบแสง (OD; Optical density) ที่ความยาวคลื่น ๕๕๐ นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Absorption spectrophotometer) การทดสอบจะทำซ้ำทั้งกระบวนการ ๓ ครั้ง (Triplicate experiment)

คำนวณร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ได้จากสูตร :

ร้อยละความมีชีวิตของเซลล์=ค่าความทึบแสงแสงของเซลล์ในกลุ่มทดลอง/ค่าความทึบแสงแสงของเซลล์ในกลุ่มควบคุม×๑๐๐

แปลผลความมีชีวิตของเซลล์ได้ดังนี้[6, 7]

ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ (Non cytotoxic)
หมายถึง มีเซลล์ที่มีชีวิตมากกว่าร้อยละ ๘๐

เป็นพิษเล็กน้อย (Slightly cytotoxic)
หมายถึง มีเซลล์ที่มีชีวิตร้อยละ ๖๐ – ๘๐

เป็นพิษปานกลาง (Moderately cytotoxic)
หมายถึงมีเซลล์ที่มีชีวิตร้อยละ ๓๐ – ๕๙

เป็นพิษรุนแรง (Severely cytotoxic)
หมายถึง มีเซลล์ที่มีชีวิตน้อยกว่าร้อยละ ๓๐

วิเคราะห์ผลทางสถิติและการแปรผล

ข้อมูลที่ได้เป็นข้อมูลในระดับอัตราส่วน (Ratio data) ซึ่งผู้วิจัยใช้สถิติเชิงพรรณนา (Descriptive statistic) เพื่ออธิบายระดับความเป็นพิษต่อเซลล์ใน

กลุ่มทดลอง และกลุ่มควบคุม โดยคำนวณจากสมการคำนวณร้อยละความมีชีวิตของเซลล์ที่ผ่านการทดสอบด้วยวิธีเอ็มทีทีดังกล่าวข้างต้น และนำมาเทียบในตาราง

ใช้สถิติเชิงอนุมาน (Inferential statistic) วิเคราะห์ข้อมูล โดยใช้สถิติทดสอบ โคลโมโกรอฟสเมียร์นอฟ (Kolmogorov-Smirnov) ในการทดสอบการแจกแจงปกติของข้อมูล ซึ่งพบว่าข้อมูลที่ได้มีการแจกแจงแบบไม่ปกติ โดยมีการเปรียบเทียบความแตกต่างของร้อยละความมีชีวิตของเซลล์ในแต่ละกลุ่มทดลองโดยใช้วิธี Wilcoxon-Mann-Whitney rank sum test ซึ่งการวิเคราะห์ข้อมูลดังที่กล่าวข้างต้นใช้โปรแกรม Statistical Package for the Social Sciences (SPSS v.17.0)

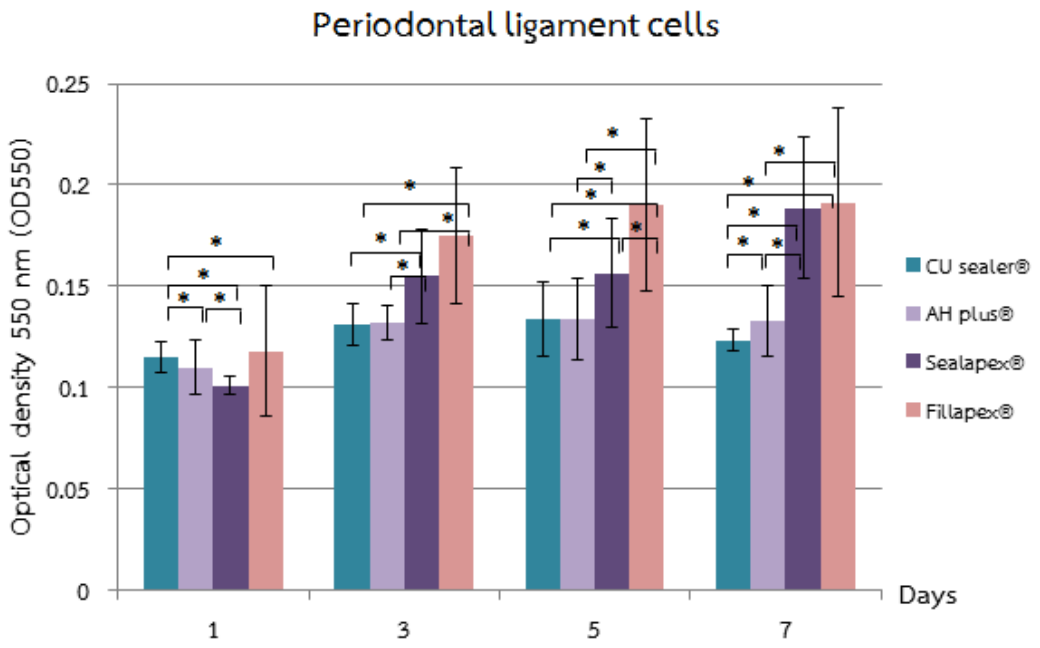
ผลการศึกษา

การแปลผลความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดด้วยร้อยละความมีชีวิตของเซลล์เปรียบเทียบกับค่าระดับความทึบแสงของกลุ่มควบคุมในอาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มอีเอ็ม (DMEM; Dulbeco's Modified Eagle medium) สำหรับเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ของมนุษย์ และค่าระดับความทึบแสงกลุ่มควบคุมในอาหารเลี้ยงเซลล์เอลฟาเอ็มอีเอ็ม (Alpha MEM; Alpha Modification Eagle medium) สำหรับเซลล์กระดูกของมนุษย์

จากการทดสอบวัดความเป็นพิษของซีเมนต์อุดคลองรากฟันทั้ง ๔ ชนิดต่อเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และเซลล์กระดูกของมนุษย์ด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay) โดยนำค่าระดับความทึบแสงของเซลล์ ได้ผลดังนี้

วัน	ร้อยละความมีชีวิตของเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ต่อซีเมนต์อุดคลองรากฟัน			
	CU sealer®	AH plus®	Sealapex®	Fillapex®
๑	๘๙.๙๓ (มีพิษเล็กน้อย)	๘๕.๘๕ (มีพิษเล็กน้อย)	๗๘.๙๙ (มีพิษเล็กน้อย)	๙๒.๒๗ (ไม่มีพิษ)
๓	๘๗.๘๕ (มีพิษเล็กน้อย)	๘๘.๗๒ (มีพิษเล็กน้อย)	๑๐๓.๙๕ (ไม่มีพิษ)	๑๑๗.๓๑ (ไม่มีพิษ)
๕	๙๓.๔๕ (ไม่มีพิษ)	๙๓.๖๓ (ไม่มีพิษ)	๑๐๙.๔๙ (ไม่มีพิษ)	๑๓๓.๑๓ (ไม่มีพิษ)
๗	๙๙.๔๖ (ไม่มีพิษ)	๑๐๗.๐๕ (ไม่มีพิษ)	๑๕๒.๒๑ (ไม่มีพิษ)	๑๕๔.๑๒ (ไม่มีพิษ)

ตารางที่ ๑ ร้อยละความมีชีวิตของเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ของมนุษย์ต่อซีเมนต์อุดคลองรากฟันแต่ละชนิด



ภาพที่๑ แสดงการเปรียบเทียบร้อยละความมีชีวิตของเซลล์จากการทดสอบวัดความเป็นพิษต่อเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ของมนุษย์

เมื่อนำค่าระดับความทึบแสงของเซลล์ในสารสกัดซีเมนต์อุดคลองรากฟันแต่ละชนิด เปรียบเทียบกับเซลล์เอ็นยึดปริทันต์กลุ่มควบคุม พบว่าสารสกัดซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบส (MTA based sealer) ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ทุกช่วงเวลาของการทดลอง คือ ๑ ๓ ๕ และ ๗ วัน (ตารางที่ ๑)

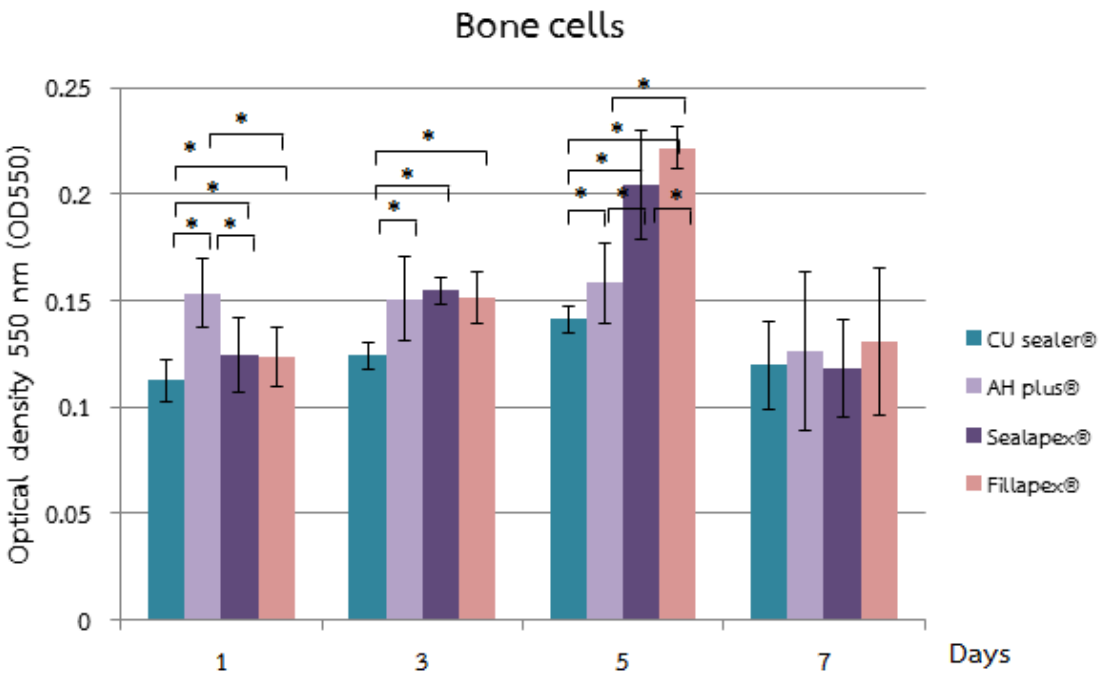
ค่าระดับความทึบแสงของเซลล์ในสารสกัดซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดแคลเซียมไฮดรอกไซด์เบส (Calcium hydroxide based sealer) พบว่ามีระดับความเป็นพิษเล็กน้อยในวันแรกที่ทำการทดลองและไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์ในระยะเวลาทดลองที่ ๓ ๕ และ ๗ (ตารางที่ ๑, ภาพที่ ๑)

ค่าระดับความทึบแสงของเซลล์ในสารสกัดซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดซิงค์ออกไซด์ยูจินอลเบส (Zinc oxide eugenol based sealer) พบว่ามีระดับความเป็นพิษเล็กน้อยในการทดลองวันที่ ๑ และ ๓ แต่ไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์ในวันที่ ๕ และ ๗ เช่นเดียวกับสารสกัดซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเรซินเบส (Resin based sealer) ที่มีระดับความเป็นพิษเล็กน้อยในการทดลองวันที่ ๑ และ ๓ ซึ่งไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์ในระยะเวลาทดลองที่ ๕ และ ๗ ตารางที่ ๑, ภาพที่ ๑)

สำหรับการทดสอบความเป็นพิษของซีเมนต์อุดคลองรากฟัน ๔ ชนิดต่อเซลล์กระดูกของมนุษย์ด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay) สามารถวิเคราะห์เปรียบเทียบทางสถิติ และแปลผลระดับความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดซีเมนต์อุดคลองรากฟันแต่ละชนิดจากร้อยละความมีชีวิตของเซลล์ ได้ผลดังนี้

วัน	ร้อยละความมีชีวิตของเซลล์กระดูกต่อซีเมนต์อุดคลองรากฟัน			
	CU sealer®	AH plus®	Sealapex®	Fillapex®
๑	๕๒.๙๗ (มีพิษปานกลาง)	๗๒.๓๗ (มีพิษเล็กน้อย)	๕๘.๕๔ (มีพิษปานกลาง)	๕๘.๑๙ (มีพิษปานกลาง)
๓	๗๓.๙๙ (มีพิษเล็กน้อย)	๘๙.๗๗ (มีพิษเล็กน้อย)	๙๒.๒๓ (ไม่มีพิษ)	๙๐.๔๔ (ไม่มีพิษ)
๕	๘๖.๑๕ (มีพิษเล็กน้อย)	๙๖.๗๔ (ไม่มีพิษ)	๑๒๔.๖๔ (ไม่มีพิษ)	๑๓๕.๕๐ (ไม่มีพิษ)
๗	๑๒๗.๑๕ (ไม่มีพิษ)	๑๓๔.๕๒ (ไม่มีพิษ)	๑๒๕.๗๕ (ไม่มีพิษ)	๑๓๘.๙๗ (ไม่มีพิษ)

ตารางที่ ๒ ร้อยละความมีชีวิตของเซลล์กระดูกของมนุษย์ต่อซีเมนต์อุดคลองรากฟันแต่ละชนิด



ภาพที่ ๒ แสดงการเปรียบเทียบร้อยละความมีชีวิตของเซลล์จากการทดสอบวัดความเป็นพิษต่อเซลล์กระดูกของมนุษย์

เมื่อนำค่าระดับความทึบแสงของเซลล์ในสารสกัดซีเมนต์อุดคลองรากฟันแต่ละชนิด เปรียบเทียบกับเซลล์กลุ่มควบคุม พบว่าสารสกัดซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบส (MTA based sealer) มีระดับความเป็นพิษปานกลางในวันแรกเท่านั้นและไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์ในช่วงระยะเวลาการทดลองที่

เหลือ คือ ๓ ๕ และ ๗ วัน เช่นเดียวกับสารสกัดซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดแคลเซียมไฮดรอกไซด์เบส (Calcium hydroxide based sealer) ยี่ห้อซีลาเพก (Sealapex®) (ตารางที่ ๒, ภาพที่ ๒)

ค่าระดับความทึบแสงของเซลล์ในสารสกัดซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดชนิดเรซินเบส (Resin based sealer) พบว่ามีระดับความเป็นพิษเล็กน้อยในวันที่ ๑ และ ๓ และไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์ในระยะเวลาทดลองที่ ๕ และ ๗ (ตารางที่ ๒, ภาพที่ ๒)

สำหรับค่าระดับความทึบแสงของเซลล์ในสารสกัดซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดซิงค์ออกไซด์ยูจินอลเบส (Zinc oxide eugenol based sealer) พบว่ามีระดับความเป็นพิษปานกลางในวันแรกและความเป็นพิษลดลงเป็นมีความเป็นพิษเล็กน้อยในวันที่ ๓ และ ๕ ส่วนในวันที่ ๗ ไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์ ตารางที่ ๒, ภาพที่ ๒)

อภิปรายผลการวิจัย

การรักษาคลองรากฟัน มีขั้นตอนในการรักษาคลองรากฟัน ประกอบด้วยการตรวจ การเตรียมช่องเปิดเข้าสู่โพรงเนื้อเยื่อในฟัน การหาความยาวฟัน การเตรียมคลองรากฟัน การลองกัตตาเปอร์ชาแท่งเอก การอุดคลองรากฟัน และประเมินผลการรักษา[1] ซึ่งในขั้นตอนการอุดคลองรากฟันมักพบว่าซีเมนต์อุดคลองรากฟันสามารถเกินออกนอกปลายรากและมีโอกาสสัมผัสกับเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันได้โดยตรง ได้แก่ เนื้อเยื่ออ่อนเกี่ยวพัน หลอดเลือด เส้นประสาท กระดูก และเอ็นยึดปริทันต์ และส่งผลกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองต่อกระบวนการอักเสบ และทำให้เกิดการหายของแผลได้ช้า[2] นอกจากนี้กระบวนการสลายของซีเมนต์อุดคลองรากฟันที่เกินออกนอกปลายรากฟัน กระตุ้นให้เกิดการทำลายเซลล์ เนื้อเยื่อบริเวณข้างเคียง และมีผลต่ออัตราความสำเร็จของการรักษาคลองรากฟัน[3]

การศึกษานี้เลือกศึกษาซีเมนต์อุดคลองรากฟัน 4 ชนิดที่มีองค์ประกอบพื้นฐานแตกต่างกัน โดยซีเมนต์ชนิดซิงค์ออกไซด์ยูจินอลเบสและชนิดเรซินเบสนั้นได้รับความนิยมและใช้ในงานรักษาคลองรากฟันมาเป็นระยะเวลานานจึงสามารถนำมาเป็นชนิดอ้างอิงในการเลือกใช้ได้ สำหรับซีเมนต์ชนิดแคลเซียมไฮดรอกไซด์เบสนั้นบริษัทผู้ผลิตกล่าวอ้างว่ามีข้อดีในการช่วยให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อแข็งซึ่งจะส่งผลให้การหายของรอยโรคได้ สุดท้ายซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบสได้รับการพัฒนาต่อยอดมาจากวัสดุซ่อมแซมรอยทะลุคลองรากแต่ยังมีการศึกษาจำนวนจำกัด หากซีเมนต์อุดคลองรากชนิดนี้ไม่มีความเป็นพิษก็สามารถนำมาศึกษาถึงคุณสมบัติด้านอื่นเพิ่มเติม หากมีข้อดีมากกว่าซีเมนต์ชนิดดั้งเดิมก็สามารถนำมาพิจารณาใช้ในงานรักษาคลองรากฟันให้มีประสิทธิภาพมากขึ้นได้ในอนาคต

สำหรับระยะเวลาการบ่มตัวในการทดสอบซีเมนต์อุดคลองรากฟันแต่ละชนิดที่มีความแตกต่างกันนั้น อันเนื่องมากจากระยะเวลาการก่อตัวของซีเมนต์อุดคลองรากฟันแต่ละชนิดไม่เท่ากัน ซึ่งการจะ

นำไปสกัดต่อในอาหารเลี้ยงเซลล์นั้นมีความจำเป็นต้องให้ซีเมนต์แต่ละชนิดก่อตัวโดยสมบูรณ์ก่อนเพื่อจะสามารถทำการชั่งน้ำหนักและคำนวณความเข้มข้นในการศึกษาแต่ละกลุ่มทดลองได้อย่างเท่ากันทุกกลุ่ม โดยระยะเวลาการบ่มตัวนั้นจะอ้างอิงจากคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิตที่กล่าวอ้างไว้

แม้ว่าการศึกษาความเป็นพิษโดยการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบปฐมภูมิจะต้องใช้ระยะเวลาในการแยกเซลล์จากแหล่งกำเนิดก่อนนำมาใช้งานและมีอายุการใช้งานจำกัดแต่การศึกษานี้เลือกใช้การเพาะเลี้ยงเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และเซลล์กระดูกของมนุษย์ที่เพาะเลี้ยงแบบปฐมภูมิเนื่องจากมีข้อได้เปรียบกว่าการใช้เซลล์สายพันธุ์ (cell line)ในเรื่องการเปลี่ยนสภาพทางชีวภาพ (biotransformation) และมีความจำเพาะเจาะจงของเนื้อเยื่อที่ทดสอบ (Tissue-specific functions) รวมถึงสามารถอ้างอิงผลการศึกษาจากห้องทดลอง (*in vitro*) ไปสู่สภาวะจริงในร่างกายได้ *(in vivo*)

คณะผู้วิจัยพบว่า ซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดซิงค์ออกไซด์ยูจินอลเบสยี่ห้อซียูซีลเลอร์ มีระดับความเป็นพิษเล็กน้อยต่อเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ของมนุษย์เมื่อสัมผัสกับสารทดสอบเป็นระยะเวลา ๑ และ ๓ วัน และไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์เลยที่ช่วงระยะเวลา ๕ และ ๗ วัน ส่วนความเป็นพิษของซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดซิงค์ออกไซด์ยูจินอลเบสต่อเซลล์กระดูกของมนุษย์พบว่ามีระดับความเป็นพิษปานกลางต่อเซลล์ในวันที่ ๑ ของการศึกษา ส่วนในวันที่ ๓ และวันที่ ๕ พบระดับความเป็นพิษเล็กน้อย และไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์เลยในวันที่ ๗

การประเมินความเป็นพิษต่อเซลล์จะพิจารณาถึงลักษณะรูปร่างที่เปลี่ยนไปของเซลล์ โดยเซลล์มีรูปร่างกลม หดตัว แสดงถึงการตายของเซลล์ สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้าซึ่งพบว่าซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดซิงค์ออกไซด์ยูจินอลเบสมีความเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันของหนู[12] และยังส่งผลต่อโครงสร้างของเซลล์ คือเกิดการเปลี่ยนรูปร่างและการตายของเซลล์[13] นอกจากนี้การศึกษาของ Mittal M และคณะในปีค.ศ. ๑๙๙๕[4] ยังรายงานว่าเมื่อฉีดซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดซิงค์ออกไซด์ยูจินอลเข้าไปในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันใต้ผิวหนังที่ด้านหลังของหนู จะทำให้เกิดการตอบสนองต่อการอักเสบในระดับรุนแรง ภายในระยะเวลา ๗ วันแรก หลังจากนั้นการอักเสบจะลดลง จนกระทั่งไม่พบการอักเสบที่ระยะเวลา ๓ เดือน จะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาผ่านไประดับความเป็นพิษของซีเมนต์อุดคลองรากฟันต่อเซลล์ลดลง[14] ซึ่งจากการศึกษาของคณะผู้วิจัยพบว่าระดับความเป็นพิษของซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดซิงค์ออกไซด์ยูจินอลเบสนั้นมีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกับระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นทั้งในเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และเซลล์กระดูกของมนุษย์

ซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดซิงค์ออกไซด์ยูจินอลมีพิษต่อเซลล์ในช่วงแรก เนื่องจากมีการปล่อยพาราฟอร์มัลดีไฮด์ (Paraformaldehyde) ซึ่งส่งผลให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อและกระดูก[15, 16] นอกจากนี้

ยังพบว่าซิงค์ยูจีโนเลท (Zinc eugenolate) สามารถถูกไฮโดรไลซ์ (Hydrolyzed) โดยความชื้น หรือน้ำ ทำให้แตกตัวได้เป็นยูจีนอล (Eugenol) และ ซิงค์ออกไซด์ (Zinc oxide)[17] และยังพบว่ามีการรั่วของยูจีนอล (Eugenol) ออกมาจากซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดนี้ ซึ่งยูจีนอล (Eugenol) และซิงค์ออกไซด์ (Zinc oxide) นั้นส่งผลให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์เป็นระยะเวลานาน (long-term cytotoxicity)[18, 19]

ระดับความเป็นพิษของสารสกัดซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเรซินเบสต่อเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ของมนุษย์ พบว่ามีระดับความเป็นพิษเล็กน้อยที่ช่วงระยะเวลา ๑ และ ๓ วัน และไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ช่วงระยะเวลา ๕ และ ๗ วัน ซึ่งได้ผลเช่นเดียวกับเซลล์กระดูกของมนุษย์ สอดคล้องกับการศึกษาของ K. M. Colak และคณะในปีค.ศ. ๒๐๐๕[5] ซึ่งทำการทดสอบความเป็นพิษของซีเมนต์อุดคลองรากฟันกับเซลล์สามทีสามไฟโบรบลาสต์ (3T3 fibroblast cells) พบว่าเอเอชพลัส (AH plus®) มีคุณสมบัติที่สามารถเข้ากันได้ดีกับเซลล์ และมีความเป็นพิษน้อย หรือแทบไม่มี และเป็นไปทางเดียวกับการศึกษาของ N.G. Azar และคณะในปีค.ศ ๒๐๐๐[20] ที่รายงานว่าเอเอชพลัส มีความเป็นพิษในระดับรุนแรงหลังผสมเสร็จทันที และคงอยู่ต่อไปเป็นเวลา ๔ ชั่วโมง และระดับความเป็นพิษจะค่อยๆลดลงอยู่ในระดับความเป็นพิษเล็กน้อยเมื่อเวลาผ่านไป ๒๔ ชั่วโมงและไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์ตั้งแต่วันที่ ๕ เป็นต้นไป จึงสามารถสรุปได้ว่าระดับความเป็นพิษของซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเรซินเบสมีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกับระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น ทั้งในเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และเซลล์กระดูกของมนุษย์ โดยไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ตั้งแต่วันที่ 5 ของการศึกษาเป็นต้นไป

ระยะเวลาการเกิดพิษของเอเอชพลัสต่อเซลล์จะเกิดเพียงในช่วงระยะเวลาสั้นๆ อาจเกิดจากการปลดปล่อยของสารฟอร์มาลดีไฮด์ (Formaldehyde)[20, 21] และการที่มีระยะเวลาการก่อตัวเริ่มต้นสั้น (๘ ชั่วโมง ณ อุณหภูมิ ๓๗ องศาเซลเซียส) ซึ่งสิ่งเหล่านี้มีผลเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบปลายรากได้ จึงทำให้เกิดอาการบวม และปวดได้หลังจากอุดคลองรากฟัน[20]

จากการศึกษาของคณะผู้วิจัย พบว่าซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดแคลเซียมไฮดรอกไซด์เบส เป็นพิษต่อเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และเซลล์กระดูกของมนุษย์ในช่วงระยะเวลาทดสอบวันที่ ๑ แต่หลังจากนั้นไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์ เนื่องจากซีเมนต์ชนิดนี้มีค่าพีเอชเป็นเบส (Alkaline pH) ซึ่งหลังผสมเสร็จใหม่จะมีค่าพีเอชขึ้นสูง ส่งผลให้เกิดการตายของกระดูก และเนื้อเยื่อได้เมื่อมีการสัมผัส[22, 23] แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไปซีเมนต์ชนิดนี้ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ ทั้งยังมีร้อยละความมีชีวิตของเซลล์ในวันที่ ๕ และ ๗ ของการทดลองมากกว่าเซลล์ในกลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นว่ามีการเพิ่มจำนวนเซลล์ เนื่องจากซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดนี้มีแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (Calcium hydroxide) เป็นส่วนประกอบ[24] ซึ่งแคลเซียมไฮดรอกไซด์

สามารถแตกตัวได้เป็นแคลเซียมไอออน (Calaium ion) และไฮดรอกซิลไอออน (Hydroxyl ion) ส่งผลให้บริเวณนั้นมีพีเอช (pH) สูงขึ้น และสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของเซลล์และเกิดการสร้างแร่ธาตุได้[25, 26] โดยสรุปแล้วระดับความเป็นพิษของซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดแคลเซียมไฮดรอกไซด์เบสมีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกับระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นในเซลล์ทั้งสองชนิด ทั้งยังสามารถกระตุ้นให้เกิดการเพิ่มจำนวนที่มากขึ้นกว่ากลุ่มควบคุมตั้งแต่วันที่ 5 ของการทดสอบเป็นต้นไป

ในส่วนของความเป็นพิษของสารสกัดซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบสต่อเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ของมนุษย์ พบว่าไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์เลยในทุกช่วงเวลาที่ทดสอบ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาทางคลินิกของ Holland R. และคณะ[24] ที่ทำการอุดคลองรากฟันด้วยซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดนี้ให้เกินออกนอกปลายรากฟันไปสู่บริเวณเนื้อเยื่อรอบปลายรากและรายงานว่าซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดนี้ไม่มีความเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน

สำหรับความเป็นพิษของสารสกัดซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบสต่อเซลล์กระดูกของมนุษย์ พบว่าในช่วงระยะเวลาการทดสอบวันที่ ๑ มีระดับความเป็นพิษปานกลาง และไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์เลยในช่วงระยะเวลาทดสอบที่เหลือ สอดคล้องกับอีกการศึกษาของ Gomes-Filho JE และคณะ[27] ซึ่งศึกษาโดยนำซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบส ฝังลงไปในเนื้อเยื่ออ่อนของหนู ในช่วงระยะเวลาต่างๆ พบว่าแนวโน้มของระดับการอักเสบจะมีมากในช่วงระยะแรก และหลังจากนั้นความเป็นพิษจะลดลง จนในที่สุดไม่มีความเป็นพิษเลย อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ยังพบว่าร้อยละความมีชีวิตของเซลล์กระดูกในวันที่ ๕ และ ๗ ของการทดลองมีค่ามากกว่าเซลล์ในกลุ่มควบคุมซึ่งได้ผลเช่นเดียวกันกับการศึกษาในเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ สามารถกล่าวได้ว่าระดับความเป็นพิษของซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบสมีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกับระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นในเซลล์ทั้งสองชนิดและกระตุ้นให้เกิดการเพิ่มจำนวนที่มากขึ้นกว่ากลุ่มควบคุมตั้งแต่วันที่ 3 ในเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และวันที่ 5 ในเซลล์กระดูกของมนุษย์อีกด้วย

สำหรับร้อยละความมีชีวิตของเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และเซลล์กระดูกที่สัมผัสสารสกัดซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบสที่มีค่าเพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มควบคุมนั้น อาจเป็นผลมาจากส่วนผสมของซีเมนต์ที่มีเอ็มทีเออันเป็นโมเลกุลออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive molecule) ทำให้เกิดสภาพแวดล้อมที่มีแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ปลดปล่อยแคลเซียมไอออนทำให้เกิดการยึดติดของเซลล์และเกิดการเพิ่มจำนวนของเซลล์ นอกจากนี้เอ็มทีเอยังมีคุณสมบัติช่วยกระตุ้นให้เกิดการแปลงสภาพของเซลล์และเกิดการสร้างเนื้อเยื่อแข็งได้อีกด้วย[28, 29]

แม้ว่าซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบสและซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดแคลเซียมไฮดรอกไซด์เบสไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์ และมีจำนวน

เซลล์ที่มีชีวิตไม่แตกต่างกันในวันที่ ๗ ของการทดลอง แต่ซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบส (MTA based sealer) มีความสามารถในการยึดติด (Sealability) ได้ดีกว่าซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดแคลเซียมไฮดรอกไซด์เบส[30] เนื่องจากเมื่อซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบสเกิดการก่อตัวแล้ว จะเกิดกระบวนการไฮเดรชั่น (Hydration) ของสารประกอบแอนไฮดรัสมิเนอรอลออกไซด์ (Anhydrous mineral oxide compound) ก่อให้เกิดแคลเซียมซิลิเกตไฮเดรต (Calcium silicate hydrate) และ แคลเซียมไฮดรอกไซด์เฟส (Calcium hydroxide phases) ซึ่งมีผลป้องกันการเกิดการขยายตัวของซีเมนต์อุดคลองรากฟันเกินขอบเขตหลังจากก่อตัว ทำให้ซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบสมีความแนบสนิท และเกิดการรั่วได้น้อย[31-33] แต่ซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดแคลเซียมไฮดรอกไซด์เบสนั้นในระหว่างที่ก่อตัว พบว่าเกิดการขยายตัวเชิงปริมาณ (Volumetric expansion) เนื่องจากมีการดูดซึมน้ำ ซึ่งทำให้เกิดการละลาย จึงมีผลต่อคุณสมบัติของการยึดติด (Sealing property) และเกิดการรั่วซึมได้สูง (High leakage)[34-36] จึงเห็นได้ว่าซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบสมีข้อดีเหนือกว่าทั้งในแง่ความเป็นพิษ การยึดติด และการรั่วซึมที่น้อย ทั้งยังสามารถกระตุ้นให้เกิดการเพิ่มจำนวนของเซลล์อันส่งผลต่อการกระตุ้นให้เกิดการหายของรอยโรครอบปลายรากได้ จึงสามารถเป็นตัวเลือกที่ดีอย่างหนึ่งในการเลือกใช้เป็นหนึ่งในซีเมนต์อุดคลองรากฟันได้อย่างมีมาตรฐาน

สรุปผลการทดลอง

ซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบส (MTA based sealer) ยี่ห้อฟิวลาเพก (Fillapex®) ไม่เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ของมนุษย์ในทุกช่วงระยะเวลาที่ทดสอบ โดยมีร้อยละความชีวิตของเซลล์มากกว่าซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญในทุกช่วงระยะเวลาของการศึกษา แต่มีความเป็นพิษปานกลางต่อเซลล์กระดูกของมนุษย์ในวันแรกเท่านั้น หลังจากนั้นไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์กระดูกในวันที่ ๓ ๕ และ ๗ ทั้งยังแสดงให้เห็นว่าซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดเอ็มทีเอเบส (MTA based sealer) มีการเหนี่ยวนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่มากกว่าซีเมนต์อุดคลองรากฟันชนิดอื่นอีกด้วย จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาพิจารณาใช้ในการอุดคลองรากฟันในกระบวนการรักษาคลองรากฟันต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวรที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำการศึกษาและทำให้โครงการนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Hargreaves KM, Cohen SR. Cohen's pathways of the pulp expert consult.10th ed: Mosby; 2010.
2. Ricucci D, Siqueira JF Jr. Fate of the tissue in lateral canals and apical ramifications in response to pathologic conditions and treatment procedures. J Endod. 2010; 36(1): 1-15.

3. Silva EJ, Santos CC, Zaia AA. Long-term cytotoxic effects of contemporary root canal sealers. J Appl Oral Sci. 2013; 21(1): 43-7.
4. Mittal M, Chandra S. Comparative tissue toxicity evaluation of four endodontic sealers.J Endod. 1995; 21(12): 622-4.
5. Colak KM, Keles A, Bayrak OF, Koseoglu M, Sahin F. Study of cytotoxicity of six root canal sealing dental materials. Mater Res Innov. 2009; 13(4): 415-20.
6. Hegde MN RJ, Kurami S, Hegde N. Toxicity evaluation of root canal sealer on human gingival fibroblasts. Endodontology. 2011; 23(1): 40-6.
7. Badole GP, Warhadpande MM, Meshram GK, Bahadure RN, Tawani SG, Tawani G, Badole SG, et al. A comparative evaluation of cytotoxicity of root canal sealers: an in vitro study.Restor Dent Endod. 2013; 38(4): 204-9.
8. Rahman H, Chandra A, Tikku A, Konwar R, Verma P, Yadav R. Comparative evaluation of cytotoxicity profile of different root canal sealers-in vitro. Thermal behavior of conventional and thermoplastic gutta-percha cones. Endodontology. 2012; 24(1): 42-6.
9. Yoshino P, Nishiyama CK, Modena KC, Santos CF, Sipert CR. In vitro cytotoxicity of white MTA, MTA Fillapex$^{(R)}$ and Portland cement on human periodontal ligament fibroblasts. Braz Dent J. 2013; 24(2): 111-6.
10. Jafari F, Aghazadeh M, Jafari S, Khaki F, Kabiri F. In vitro Cytotoxicity Comparison of MTA Fillapex, AH-26 and Apatite Root Canal Sealer at Different Setting Times. Iran Endod J. 2017; 12(2): 162-7.
11. Standardization of Sample preparation and reference materials. Biological evaluation of medical devices. 4th ed. Switzerland. 2012: 4-10.
12. Erausquin J, Muruzabal M. Root canal fillings with zinc oxide-eugenol cement in the rat molar. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1967; 24(4): 547-58.
13. Chung-Wen Chen, Chia-Tze Kao, Tsui-Hsien Huang. Comparison of the biocompatibility between 2 endodontic filling materials for primary teeth. Chinese Dental Journal. 2005; 24(1): 28-35.
14. Pertot WJ, Stephan G, Tardieu C, Proust JP. Comparison of the intraosseous biocompatibility of dyract and super EBA. J Endod. 1997; 23(5): 315-9.
15. Holland, GR. A histological comparison of periapical inflammatory and neural responses to two endodontic sealers in the ferret. Arch Oral Biol. 1994;39(7): 539–44.
16. Yesilsoy C, Koren LZ, Morse DR, Kobayashi C. A comparative tissue toxicity evaluation of established and newer root canal sealers. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1988; 65(4): 459-67.
17. Graber TM. Biocompatibility of dental materials. Am J Orthod. 1982; 82(6): 522-3.
18. Arenholt-Bindslev D, Hörsted-Bindslev P. A simple model for evaluating relative toxicity of root filling materials in cultures of human oral fibroblasts. Dent Traumatol. 1989; 5(5): 219-26.
19. Wilson AD, Clinton DJ, Miller RP. Zinc oxide-eugenol cements. IV. Microstructure and hydrolysis. J Dent Res. 1973; 52(2): 253-60.
20. Azar NG, Heidari M F, Bahrami, Shokri F. In vitro cytotoxicity of a new epoxy resin root canal sealer. J Endod. 2000; 26(8): 462-65.
21. Cohen BI, Pagnillo MK, Musikant BL, Deutsch AS. Formaldehyde evaluation from endodontic materials. Oral Health. 1998; 88(12): 37-9.
22. Andreasen JO, Kristerson L. The effect of extra-alveolar root filling with calcium hydroxide on periodontal healing after replantation of permanent incisors in monkeys. J Endod. 1981; 7(8): 349-54.
23. Bramante CM, Luna-Cruz SM, Sipert CR, Bernadineli N, Garcia RB, de Moraes IG, de Vasconcelos BC, et al. Alveolar mucosa necrosis induced by utilisation of calcium

hydroxide as root canal dressing. Int Dent J. 2008; 58(2): 81-5.
24. Holland R, Filho JA, de Souza V, Nery MJ, Bernabe PF, Junior ED. Mineral trioxide aggregate repair of lateral root perforations. J Endod. 2001; 27(4): 281-4.
25. Gomes-Filho JE, Watanabe S, Bernabe PFE, de Moraes Costa MT. A mineral trioxide aggregate sealer stimulated mineralization. J Endod. 2009; 35(2): 256-60.
26. Tanomaru-Filho M, Chaves Faleiros FB, Sacaki JN, Hungaro Duarte MA, Guerreiro-Tanomaru JM. Evaluation of pH and calcium ion release of root-end filling materials containing calcium hydroxide or mineral trioxide aggregate. J Endod. 2009; 35(10): 1418-21.
27. Gomes-Filho JE, Watanabe S, Lodi CS, Cintra LT, Nery MJ, Filho JA, Dezan E Jr., et al. Rat tissue reaction to MTA FILLAPEX(R). Dent traumatol. 2011; 28(6): 452-56.
28. Baek SH, Plenk H Jr, Kim S. Periapical tissue responses and cementum regeneration with amalgam, SuperEBA, and MTA as root-end filling materials. J Endod. 2005; 31(6): 444-9.
29. Parirokh M, Torabinejad M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--Part III: Clinical applications, drawbacks, and mechanism of action. J Endod. 2010; 36(3): 400-13.
30. Tanomaru-Filho M, Faleiros FB, Silva GF, Bosso R, Guerreiro-Tanomaru JM. Sealing ability of retrograde obturation materials containing calcium hydroxide or MTA. Octa Odontol. 2011; 24(1): 110-4.
31. Bentz DP, Jensen OM, Hansen KK, Olesen JF, Stang H, Haecker C-J. Influence of Cement Particle-Size Distribution on Early Age Autogenous Strains and Stresses in Cement-Based Materials. J Am Cer Soc. 2001; 84(1): 129-35.
32. Hawley M, Webb TD, Goodell GG. Effect of varying water-to-powder ratios on the setting expansion of white and gray mineral trioxide aggregate. J Endod. 2010: 36(8): 1377-79.
33. Storm B, Eichmiller FC, Tordik PA, Goodell GG. Setting expansion of gray and white mineral trioxide aggregate and Portland cement. J Endod. 2008; 34(1): 80-2.
34. Caicedo R, von Fraunhofer JA. The properties of endodontic sealer cements. J Endod. 1988; 14(11): 527-34.
35. Cobankara FK, Orucoglu H, Sengun A, Belli S. The quantitative evaluation of apical sealing of four endodontic sealers. J Endod. 2006; 32(1): 66-68.
36. Joseph R, Singh S. Evaluation of apical sealing ability of four different sealers using centrifuging dye penetration method: an in vitro study.J Contemp Dent Pract. 2012; 13(6): 830-3.

ผู้รับผิดชอบบทความ

อ.ทพ. ภาณุภัทร ภูมิภัทราคม

99 หมู่ 18 คณะทันตแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ถ. พหลโยธินอ.

คลองหลวง จ. ปทุมธานี 12121

โทรศัพท์ 02-9869051

โทรสาร 02-9869205,

อีเมล: panupat_o_phum@hotmail.com

The cytotoxic effect of 4 different types of sealers on human periodontal ligament cells and bone cells

Panupat Phumpatrakom[1] Wannida Tammachai[2] Thanchanok Torasak[3] Ratiporn Supasiri[4]

Abstract

Root canal obturation is the important step in root canal treatment. The quality of root canal filling is depended on obturation technique and materials. One of the materials used in those step is root canal sealer which has various types of its composition. The purpose of this in vitro study was to compare the cytotoxicity of MTA based sealer to original sealers for instance Zinc oxide eugenol based sealer (CU sealer®), Resin based sealer (AH plus®), Calcium hydroxide based sealer (Sealapex®) on human periodontal ligament and bone cells. Human periodontal ligaments and human bones were primary cultured and until they reached the 3rd passage. After that both human periodontal ligament cells and bone cells were incubated in those sealer extracts in separated group for 1, 3, 5, and 7 days. Then cell viability was measured with MTT assay by spectrophotometer at 550 nm. The results revealed that MTA based sealer was non cytotoxic to human periodontal ligament cells at all time intervals. Moreover, it enhanced the cell proliferation more than other sealers. Whereas, MTA based sealer was moderate cytotoxic to human bone cells initially and stimulate their proliferation afterward. In summary, MTA based sealer enhanced cell proliferation more than any other types of sealer in this study. Further research should be conducted in terms of other properties such as its bond or its leakage.

Keywords: *MTA based sealer, Human periodontal ligament cells, Human bone cells and Cytotoxicity*

[1] *Division of Endodontics, Faculty of Dentistry Thammasat University*
[2] *Seka Hospital Bueng Kan*
[3] *Dong Charoen Hospital Phichit*
[4] *Somdet Phra Yupharat Lomkao hospital Phetchabun*