Cytotoxicity of glass ionomer cement containing monocalcium silicate compound comparing with white ProRoot® MTA and Ketac™ molar on human pulp cells

Parinya chaisinghanuae[1], Punnama Siriphannon[2], Nathaphon Tungjit[3], Suwit Wimonchit[4], Jaruma Sakdee[5]

[1] D.D.S. Master's-degree student Faculty of Dentistry Srinakharinwirot University.
[2] D. Eng.(Inorganic materials) Faculty of Science King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang.
[3] Ph.D. (Dental science) Faculty of Dentistry Mahidol University.
[4] M.Sc. (Endodontic) Faculty of Dentistry Srinakharinwirot University.
[5] D.M.Sc. (Oral biology) Faculty of Dentistry Srinakharinwirot University.

Abstract

Objectives: The purpose of this study was to investigate cytotoxicity of glass ionomer cement containing monocalcium silicate compound (GIC-CS) comparing with White ProRoot® MTA and Ketac™ Molar on human pulp cells (HPC)

Materials and methods: HPC were exposed to extracted solutions of 4 materials; White ProRoot® MTA (Tooth-colored MTA, Densply Tulsa dental, Tulsa OK, USA), Ketac™ Molar (Ketac™ Molar Easymix, 3M ESPE AG, Germany), monocalcium silicate ($CaSiO_3$) and GIC-CS in five concentrations (full concentration (0.2g/mL), dilution1:1, dilution1:2, dilution1:4, dilution1:8) for 24 hours. The samples were objected to MTT assay. Cell density was measured for optical density (OD) by spectrophotometer at 570 nm. Cell morphology was later investigated by phase contrast microscope.

Result: GIC-CS extracts of all concentrations showed no significant difference in cytotoxicity when compared their optical density (OD) to White ProRoot® MTA and Ketac™ Molar ($P>0.05$). Cell morphology appeared to have spindle shaped, extended-synapsed cytoplasmic process and confluent.

Conclusion: GIC-CS should the same level of cytotoxicity to HPC as White ProRoot® MTA and Ketac™ Molar. It could be developed as pulp capping agent in the future.

Key words: glass ionomer cement containing monocalcium silicate compound, cytotoxicity, GIC-CS, human pulp cells, white ProRoot® MTA, MTT

How to cite: Chaisinghanuae P, Siriphannon P, Tungjit N, Wimonchit S, Sakdee J. Cytotoxicity of glass ionomer cement containing monocalcium silicate compound comparing with white ProRoot® MTA and Ketac™ molar human pulp cells. M Dent J 2014; 34: 144-56

Correspondence author:
Parinya chaisinghanuae
Faculty of Dentistry Srinakharinwirot University
114 Sukhumvit 23 Wattana 10110.
Email: aapach0728@hotmail.com
Received: 18 February 2014
Accepted: 31 March 2014

ความเป็นพิษต่อเซลล์ของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมต่อเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์เมื่อเปรียบเทียบกับไวท์โปรรูทเอ็มทีเอและคีแทคโมลาร์

ปริญญา ชัยสิงห์เหนือ[1] ปุณณมา ศิริพันธ์โนน[2] ณัฐพล ตั้งจิตร[3] สุวิทย์ วิมลจิตต์[4] จารุมา ศักดิ์ดี[5]

[1] ทบ. นิสิตปริญญาโท คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

[2] D. Eng. (Inorganic materials) คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

[3] Ph. D. (Dental science) คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

[4] วท.ม. (วิทยาเอ็นโดดอนต์) คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

[5] D.M.Sc. (Oral biology) คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้จะทำการทดสอบวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีสารประกอบโมโนแคลเซียมซิลิเกต (จีไอซีซีเอส) ต่อเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์ โดยทำการเปรียบเทียบกับไวท์โปรรูทเอ็มทีเอ และคีแทคโมลาร์

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการศึกษา: นำเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์มาทำการกระตุ้นด้วยสารสกัดทดสอบของไวท์โปรรูทเอ็มทีเอ, คีแทคโมลาร์อีซี่มิกซ์, โมโนแคลเซียมซิลิเกต, จีไอซีซีเอส ชนิดละ 5 ความเข้มข้น (ความเข้มข้นสูงสุด (0.2 กรัมต่อมิลลิลิตร), เจือจาง 1 ต่อ 1, เจือจาง 1 ต่อ 2, เจือจาง 1 ต่อ 4, เจือจาง 1 ต่อ 8) เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการทดสอบวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธีเอ็มทีที โดยวัดค่าระดับความทึบแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร และทำการศึกษาถึงลักษณะรูปร่างของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ดูความเปลี่ยนต่างเฟส

ผลการศึกษา: พบว่าทุกระดับความเข้มข้นของสารสกัดจีไอซีซีเอส ไม่เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์ ซึ่งค่าระดับความทึบแสงมีค่าไม่แตกต่างจากไวท์โปรรูทเอ็มทีเอและคีแทคโมลาร์อีซี่มิกซ์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และจากการศึกษารูปร่างของเซลล์พบว่าเซลล์มีลักษณะเรียวแหลม ยืดตัว มีการยื่นสัมผัสกันของซัยโตพลาสมิคโปรเซส และอยู่รวมกันอย่างหนาแน่น

บทสรุป: จีไอซีซีเอสไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์ ซึ่งอาจจะเป็นอีกทางเลือกที่จะนำมาพัฒนาเป็นสารใช้ปิดแผลเนื้อเยื่อในต่อไป

รหัสคำ: กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีสารประกอบโมโนแคลเซียมซิลิเกต, ความเป็นพิษต่อเซลล์, จีไอซีซีเอส, เซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์, ไวท์โปรรูทเอ็มทีเอ, เอ็มทีที

วิธีอ้างอิงบทความนี้: ปริญญา ชัยสิงห์เหนือ, ปุณณมา ศิริพันธ์โนน, ณัฐพล ตั้งจิตร, สุวิทย์ วิมลจิตต์, จารุมา ศักดิ์ดี. ความเป็นพิษต่อเซลล์ของกลาสไอโอเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมต่อเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์เมื่อเปรียบเทียบกับไวท์โปรรูทเอ็มทีเอและคีแทคโมลาร์. ว ทันต มหิดล 2557; 34: 144-56.

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ:
ปริญญา ชัยสิงห์เหนือ
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
เลขที่ 114 สุขุมวิท 23 คลองเตยเหนือ เขตวัฒนา
กรุงเทพมหานคร 10110
วันรับเรื่อง: 18 กุมภาพันธ์ 2557
วันยอมรับการตีพิมพ์: 31 มีนาคม 2557

บทนำ

ในปัจจุบันแนวทางการรักษาทางด้านวิทยาเอ็นโดดอนต์มีแนวโน้มการรักษาเพื่อคงความมีชีวิตของเนื้อเยื่อในฟัน (pulp vitality) ด้วยกระบวนการรักษาเนื้อเยื่อในฟันที่มีชีวิต (vital pulp therapy) เพื่อกระตุ้นเนื้อเยื่อในฟันส่วนที่เหลือให้เกิดการสร้างโครงสร้างเชิงซ้อนเนื้อฟัน-เนื้อเยื่อในฟัน (dentin-pulp complex) ซึ่งประกอบด้วย การปิดแผลเนื้อเยื่อในโดยไม่สัมผัสกับเนื้อเยื่อ (indirect pulp capping), การปิดแผลเนื้อเยื่อในโดยสัมผัสกับเนื้อเยื่อ (direct pulp capping), การตัดเนื้อเยื่อในส่วนตัวฟัน (pulpotomy), การสร้างปลายราก (apexogenesis)

สำหรับการปิดแผลเนื้อเยื่อใน (pulp capping) ประกอบด้วย ขั้นตอนการกำจัดสิ่งระคายเคือง, ควบคุมสภาวะการติดเชื้อ, และใช้สารที่เหมาะสมต่อการปิดแผลเนื้อเยื่อใน โดยสารที่ใช้ในอุดมคติจะต้องไม่เป็นพิษและมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเซลล์เนื้อเยื่อในฟัน สามารถเหนี่ยวนำการสร้างเนื้อเยื่อแข็งเพื่อทดแทนเนื้อฟันส่วนที่ถูกทำลาย เป็นฉนวนป้องกันต่อเนื้อเยื่อในฟัน สามารถป้องกันการรั่วซึม มีความแข็งแรงภายใต้แรงบดเคี้ยวได้อย่างเหมาะสม ทนต่อสภาวะชื้น มีระยะเวลาก่อตัวเร็ว ไม่ทำให้ฟันเปลี่ยนสี ใช้งานง่าย ราคาถูก ในปัจจุบันได้มีการศึกษาวิจัยที่จะพัฒนานำมิเนอรัลไตรออกไซด์แอกกรีเกตหรือเอ็มทีเอ (Mineral Trioxide Aggregate, MTA) มาใช้ในการปิดแผลเนื้อเยื่อใน โดยเอ็มทีเอเป็นสารในกลุ่มที่มีองค์ประกอบของแคลเซียมซิลิเกต (calcium silicate-based) ซึ่งสามารถก่อตัวได้ในสภาวะที่มีเลือดหรือของเหลวทางชีวภาพ (biological fluids) มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเซลล์ รวมถึงมีคุณสมบัติชีวกัมมันต์ (bioactive) เกิดการสร้างชั้นผลึกอะพาไทต์ (apatite layer) ที่ส่งเสริมการสร้างเนื้อเยื่อใหม่และเพิ่มความสมบูรณ์ของเนื้อเยื่อกระดูก[1]

องค์ประกอบของเอ็มทีเอ ได้แก่ ไตรแคลเซียมซิลิเกต (Tricalcium silicate / Alite, $3CaO{\cdot}SiO_2$), ไดแคลเซียมซิลิเกต (Dicalcium silicate / Belite, $2CaO{\cdot}SiO_2$), ไตรแคลเซียมอะลูมิเนต (Tricalcium aluminate, $3CaO{\cdot}Al_2O_3$), เตตราแคลเซียมอะลูมิโนเฟอไรท์ (Tetracalcium aluminoferrite, $4CaO{\cdot}Al_2O_3Fe_2O_3$)[2] สามารถสร้างผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ (Hydroxyapatite crystal, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) และเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างสะพานเนื้อฟัน (dentin bridge) โดยไม่เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อในฟัน[3-6] แต่อย่างไรก็ตามพบว่าเอ็มทีเอมีข้อด้อยหลายประการ เช่น ระยะเวลาก่อตัวนาน ลักษณะการใช้งานยาก ทำให้ฟันเปลี่ยนสี มีราคาแพง[7,8] ซึ่งจากหลายการศึกษาที่ผ่านมาได้มีความพยายามจะปรับเปลี่ยนส่วนประกอบของเอ็มทีเอทั้งในส่วนที่เป็นผงและส่วนที่เป็นของเหลวเพื่อใช้ทดแทนน้ำกลั่น รวมถึงการพัฒนาหาสารชนิดอื่นที่มีคุณสมบัติในการสร้างผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ได้เช่นเดียวกันกับเอ็มทีเอ[9-12]

โมโนแคลเซียมซิลิเกต (Monocalcium silicate / Wallastonite, $CaSiO_3$) เป็นอีกชนิดของสารในกลุ่มที่มีองค์ประกอบของแคลเซียมซิลิเกต จัดอยู่ในประเภทไบนารีออกไซด์ (binaryoxides) ปรากฏลักษณะในรูปแบบของผง ซึ่งเป็นวัสดุทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติชีวกัมมันต์ พบว่ามีความสามารถในการสร้างผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ได้อย่างรวดเร็วภายหลังจากแช่ในสารละลายที่จำลองสภาวะของเหลวในร่างกาย (simulated body fluid, SBF) ในระยะเวลา 2 ชั่วโมง[13] มีการศึกษาผลของสารต่อเซลล์กระดูก (osteoblast cells) พบว่าไม่เกิดความเป็นพิษ โดยองค์ประกอบที่ปลดปล่อยออกมาจากสารสามารถที่จะส่งเสริมให้เกิดกระบวนการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน (proliferation) ของเซลล์[14] แต่ยังไม่มีรายงานการศึกษาถึงความเป็นพิษของสารต่อเซลล์เนื้อเยื่อในฟัน

อย่างไรก็ตามพบว่าโมโนแคลเซียมซิลิเกตเป็นสารที่มีความเปราะ[15] ซึ่งเป็นข้อด้อยที่สำคัญ โดยอาจทำให้เกิดการแตกหักขนาดเล็ก (microcrack) ภายใต้แรงบดเคี้ยวหากนำมาใช้เป็นสารในการปิดแผลเนื้อเยื่อใน ซึ่งจะส่งผลให้เกิดการรั่วซึมขนาดเล็กที่นำไปสู่ความล้มเหลวของการรักษา โดยได้มีการศึกษาที่จะพัฒนานำสารประกอบบางชนิดมาผสมเพื่อลดข้อด้อยดังกล่าวดังเช่นการเติมสารเมธิลเมทาคริเลต (methyl metacrylate) ลงใน

โมโนแคลเซียมซิลิเกต ผลพบว่ามีค่าความทนแรงอัด (compressive strength) เพิ่มขึ้นอยู่ในระดับเดียวกับกระดูกทึบ (cortical bone)[16] รวมถึงโมโนแคลเซียมซิลิเกตไม่สามารถที่จะขึ้นรูปในลักษณะของซีเมนต์เมื่อนำมาผสมกับน้ำกลั่น, น้ำเกลือ หรือยาชา แต่สามารถขึ้นรูปได้เมื่อผสมกับกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์หรือจีไอซี (Glass ionomer cement, GIC)[17]

โดยกลาสโพลีอัลคีโนเอต (Glass polyalkenoate) หรือกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ มีคุณสมบัติยึดติดกับเคลือบฟันและเนื้อฟันด้วยพันธะเคมี ก่อตัวเร็ว สามารถปลดปล่อยฟลูออไรด์ (fluoride)[18,19] สร้างผลึกฟลูออโรอะพาไทต์ (Fluoroapatite crystal, $Ca_{10}(PO_4)_6OHF$) ได้ [20] โดยคีแทคโมลาร์อีซี่มิกซ์ (Ketac™ Molar Easymix) เป็นจีไอซีดั้งเดิม (Conventional GIC) ที่มีความหนืดสูง (hightly viscous) พบว่าจะมีค่าความทนแรงอัดที่สูง และค่าการละลายตัว (solubility) ที่ต่ำเมื่อเทียบกับกลุ่มจีไอซีดั้งเดิมชนิดอื่น [21, 22] รวมถึงไม่เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อในฟัน [23, 24, 25,26]

จากผลการศึกษาที่นำสารประกอบโมโนแคลเซียมซิลิเกตมาผสมรวมกับจีไอซีชนิดคีแทคโมลาร์อีซี่มิกซ์ เพื่อขึ้นรูปในลักษณะของซีเมนต์ พบว่าสามารถสร้างผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์เมื่อแช่ในสารละลายที่จำลองสภาวะของเหลวในร่างกายเป็นระยะเวลา 7 วัน[17] มีระยะเวลาก่อตัวเร็ว ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เป็นกรดอ่อน ค่าความทนแรงอัดที่มากกว่าไวท์โปรรูทเอ็มทีเอในช่วงระยะเวลา 7 วัน[27] รวมถึงไม่เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ (periodontal ligament cells)[17] แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการศึกษาถึงความเป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อในฟัน

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ จะทำการศึกษาถึงคุณสมบัติของสารประกอบที่เตรียมขึ้นจากโมโนแคลเซียมซิลิเกตและจีไอซีชนิดคีแทคโมลาร์อีซี่มิกซ์ เพื่อที่จะพัฒนานำมาใช้เป็นสารในการปิดแผลเนื้อเยื่อใน โดยทำการวิเคราะห์ความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเนื้อเยื่อในฟันจากการทดสอบความเป็นพิษของสารต่อเซลล์เปรียบเทียบกับไวท์โปรรูทเอ็มทีเอ (White ProRoot® MTA) และคีแทคโมลาร์อีซี่มิกซ์ ซึ่งในการศึกษานี้จะทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ที่แยกย่อยจากอวัยวะสิ่งมีชีวิต (primary cells) คือเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์ (human pulp cell, HPC) เพื่อหวังผลให้รูปแบบของการศึกษามีความใกล้เคียงกับสภาวะทางคลินิกมากที่สุด

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมเซลล์ที่ใช้ในการทดสอบ

เซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์ เตรียมได้จากฟันกรามน้อยในสภาวะสมบูรณ์ที่ถูกถอนเพื่อการจัดฟันในผู้ป่วยช่วงอายุ 18-22 ปี ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์โดย อ.ทพ. ดร. ณัฐพล ตั้งจิตร ภาควิชาทันตกรรมจัดฟัน คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ตามหนังสืออนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมในคน ประจำคณะทันตแพทยศาสตร์และเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล (COE. No. MU-DT/PY-IRB 2013/017.0508) โดยทำการเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มอีเอ็ม (Dulbeco's Modified Eagle medium, DMEM)[Gibco, Grand Island, NY] ร่วมกับสารกลูตามีน (Glutamine) 2 มิลลิโมลต่อลิตร (2mmol/L), เพนิซิลลิน (Penicillin) 100 ยูนิตต่อมิลลิลิตร (100 Units/mL), สเตรปโตมัยซิน (Streptomycin) 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (100μg/mL), แอมโฟเทอริซิน บี (Amphotericin B) 0.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร [Gibco, Grand Island, NY] และซีรั่มของตัวอ่อนลูกวัว (Fetal bovine serum, FBS) ร้อยละ 10 [Gibco, Grand Island, NY] ในขวดพลาสติกเลี้ยงเซลล์ขนาด 75 ตารางเซนติเมตร (cm^2)(T 75 plastic culture flask)[Corning ® CellBLIND® 75 cm^2 Rectangular Canted Neck Cell Culture Flask with Vent Cap] ทำการบ่มไว้ในตู้อบ (incubator) [Thermo forma311 USA] ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในความชื้นสัมพัทธ์บรรยากาศของคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 และอากาศร้อยละ 100 โดยเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์จากกลุ่มย่อย (passage) ที่ 3 ถึงกลุ่มย่อยที่ 8 จะถูกนำมาใช้ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้

การเตรียมสารที่ใช้ในการทดสอบ

สารตั้งต้นที่ใช้ในการทดสอบประกอบด้วยไวท์โปรรูทเอ็มทีเอ [Tooth-colored MTA, Densply Tulsa dental, Tulsa OK, USA] เบต้าเฟส (β-phase) โมโนแคลเซียมซิลิเกต ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์โดย ผศ. ดร. ปุณณมา ศิริพันธ์โนน ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งเตรียมจากสารละลายเอธานอล (Ethanol) ของแคลเซียมไนเตรต (Calcium nitrate, $Ca(NO_3)_2 4H_2O$) และเตตราเอธิลออร์โธซิลิเกต (Tetraethyl orthosilicate, $Si(OC_2H_5)_4$ / TEOS) โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH) เป็นสารทำให้ตกตะกอนร่วมทางเคมี (co-chemical precipitation)[13] และจีไอซีซึ่งจะใช้คีแทคโมลาร์อีซี่มิกซ์ (Ketac™ Molar Easymix, 3M ESPE AG, Germany)

ทำการชั่งสารในเครื่องชั่งมาตรฐาน [Mettler AE 163] ซึ่งจะผ่านขั้นตอนของการทำให้สารปลอดเชื้อภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต (ultraviolet light) เป็นระยะเวลาหนึ่งคืน (over night) ก่อนที่จะทำการเตรียมสารในสภาวะปลอดเชื้อภายในตู้ลามินาร์ (laminar air flow cabinet)[Astec Microflow Advance Bio Safty Cabinet Model ABSI 200] โดยสารที่ใช้ในการทดสอบจะแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม

กลุ่มที่ 1 ใช้ไวท์โปรรูทเอ็มทีเอผสมกับน้ำกลั่น ในอัตราส่วนไวท์โปรรูทเอ็มทีเอ 3 ส่วน ต่อน้ำกลั่น 1 ส่วน โดยน้ำหนัก

กลุ่มที่ 2 ใช้จีไอซีที่มีสารประกอบโมโนแคลเซียมซิลิเกตหรือจีไอซีซีเอส (Glass ionomer cement containing monocalcium silicate compound, GIC-CS) ซึ่งเตรียมส่วนผงจากโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมกับคีแทคโมลาร์อีซี่มิกซ์ อัตราส่วน 1ต่อ 1 โดยน้ำหนัก หลังจากนั้นนำส่วนผงมาผสมกับส่วนของเหลวคีแทคโมลาร์อีซี่มิกซ์ที่เป็นกรดโพลีอะคริลิก (Polyacrylic acid) ในอัตราส่วนผง 2.73 ส่วน ต่อของเหลว 1 ส่วน โดยน้ำหนัก ซึ่งเป็นอัตราส่วนที่ได้ทดสอบแล้วพบว่าดีที่สุดในการเกิดผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ [17]

กลุ่มที่ 3 ใช้โมโนแคลเซียมซิลิเกตในรูปแบบผงที่ไม่ได้ผสมของเหลว

กลุ่มที่ 4 ใช้คีแทคโมลาร์อีซี่มิกซ์ ผสมในอัตราส่วนผง 3 ส่วน ต่อของเหลว 1 ส่วน โดยน้ำหนัก

โดยในกลุ่มที่ 1, 2, 4 เมื่อเตรียมเสร็จสารทดสอบจะอยู่ในรูปแบบของซีเมนต์ที่ขึ้นรูป มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 10 มิลลิเมตร สูงประมาณ 3 มิลลิเมตร ส่วนในกลุ่มที่ 3 จะอยู่ในรูปแบบของผง ซึ่งภายหลังการเตรียมสารทดสอบในแต่ละกลุ่ม จะถูกนำไปวางในขวดแก้ว (vial tube) และนำไปบ่มไว้ในตู้อบเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นสารทดสอบจะถูกแช่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มอีเอ็มที่ไม่มีซีรั่มของตัวอ่อนลูกวัว (DMEM free serum) ในอัตราส่วน 0.2 กรัมต่อมิลลิลิตร (g/mL) ตามมาตรฐาน International Standard Organization [ISO 10993-12:2007(E)][28] และนำไปบ่มไว้ในตู้อบเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงเพื่อทำการสกัดแยกสารทดสอบ ภายหลังจากครบระยะเวลา 24 ชั่วโมงนำสารละลายจากสารทดสอบที่แช่ไปหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ด้วยจำนวนรอบ 3000 รอบต่อนาที (revolutions per minutes, rpm)[Sigma Laborzentrifugen 3k 15] เป็นระยะเวลา 5 นาที และนำสารละลายส่วนเหนือตะกอน (supernatant) กรองผ่านชั้นกรอง (filter) ขนาด 0.22 ไมโครเมตร (micrometer, μm) [GVS Technology, USA] แล้วเก็บไว้ในขวดแก้วปิดผนึกด้วยพาราฟิน (paraffin) [Pechiney Plastic Packaging, Chicago IL 60631, Menasha WI 54952] และห่อหุ้มด้วยกระดาษฟอยล์ (foil)[เอ็มฟอยล์ อะลูมิเนียมฟอยล์, เอ็ม เอ็ม พี คอร์ปอเรชั่น] เพื่อนำสารสกัด (extracts) ที่ได้มาใช้ในการทดสอบ โดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การทดสอบวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cell cytotoxicity assay)

จะถูกประเมินโดยใช้เมธิลเทียโซลเตตราโซเลียม, เอ็มทีที (Methyl-thiazoltetrazolium, MTT) [Sigma, St. Louis, MO, USA] โดยทำการเลี้ยงเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์ในถาด 96 หลุม (96 well plates)[Corning

® 96 Well Multiwell Plates – Sigma - Aldrich] ความหนาแน่น $2x10^4$ เซลล์ต่อหลุม (well) เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลล์จะถูกกำจัดออกและแทนที่ด้วยสารสกัดในแต่ละกลุ่มที่ใช้ทดสอบซึ่งมีความเข้มข้นแตกต่างกัน 5 ความเข้มข้น ได้แก่ ความเข้มข้นสูงสุด (Full concentration) ที่ 0.2 กรัมต่อมิลลิลิตร และทำการเจือจางในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 (1:1), 1 ต่อ 2 (1:2), 1 ต่อ 4 (1:4), 1 ต่อ 8 (1:8) ตามลำดับ ในปริมาณหลุมละ 100 ไมโครลิตร จำนวน 10 หลุมต่อความเข้มข้น เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการศึกษารูปร่างของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ดูความเปลี่ยนต่างเฟส (phase contrast microscopy) [Nikon Ecclipse TS 100] และกำจัดสารที่อยู่ในแต่ละหลุมออกแล้วล้างด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาไลน์ (Phosphate buffer saline, PBS) เติม 50 ไมโครลิตรของเอ็มทีทีลงไปในแต่ละหลุม ในระดับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง จึงทำการกำจัดเอ็มทีทีออกแล้วล้างด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาไลน์และเติม 100 ไมโครลิตรของไดเมธิลซัลโฟไซด์หรือดีเอ็มเอสโอ (Dimethyl sulfoxide, DMSO)[Sigma, St. Louis, MO, USA] นำไปเข้าเครื่องสั่น (shaker)[IKI®HS 260 basic] เป็นระยะเวลา 30 นาที แล้วทำการอ่านค่าระดับความทึบแสง (optical density, OD) ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร (OD570) ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (absorption spectrophotometer) [Epoch Microplate Spectrophotometer, Biotek] เพื่อทำการประเมินความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดด้วยร้อยละความมีชีวิตของเซลล์เมื่อเทียบกับค่าระดับความทึบแสงกลุ่มควบคุมในอาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มอีเอ็มที่มีซีรั่มของตัวอ่อนลูกวัว ร้อยละ 10 ซึ่งสารที่มีพิษต่อเซลล์จะมีค่าร้อยละความมีชีวิตน้อยกว่า 70[29] โดยจะทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง (triplicate experiment)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

โดยความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มทดสอบ จะถูกนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยทูเวย์อะโนวา (Two-Way ANOVA) และทูคี่เอชเอสดีเทสต์ (Tukey's HSD test) ด้วยโปรแกรมเอสพีเอสเอส เวอร์ชั่น 17 (SPSS version 17)

ผลการศึกษา

การทดสอบวัดความเป็นพิษต่อเซลล์

จากการทดสอบวัดความเป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์ ผลพบว่าทุกระดับความเข้มข้นของสารสกัดแต่ละชนิดไม่เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ ยกเว้นในกลุ่มโมโนแคลเซียมซิลิเกตที่ระดับความเข้มข้นสูงสุด โดยพิจารณาจากร้อยละความมีชีวิตของเซลล์ที่พบว่าจะมีค่าน้อยกว่าร้อยละ 70[29] (Table 1)

เมื่อนำค่าระดับความทึบแสงมาทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบ ผลพบว่าในทุกกลุ่มสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดจะมีค่าระดับความทึบแสงน้อยกว่าสารสกัดที่ทำการเจือจางทุกระดับความเข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.001$) แต่จะไม่พบความแตกต่างในแต่ละระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำการเจือจาง ($P>0.05$) (Table 2, Fig. 1)

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดแต่ละชนิดที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน ผลพบว่าสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดในกลุ่มโมโนแคลเซียมซิลิเกตจะมีค่าระดับความทึบแสงที่น้อยกว่าในกลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.001$) แปลผลได้ว่าโมโนแคลเซียมซิลิเกตที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดจะมีความเป็นพิษต่อเซลล์มากเมื่อเทียบกับสารสกัดกลุ่มอื่น (Table 2, Fig. 1)

โดยเมื่อพิจารณาถึงลักษณะรูปร่างและการกระจายตัวของเซลล์ในสารสกัดความเข้มข้นสูงสุดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ดูความเปลี่ยนต่างเฟสที่กำลังขยาย 40 เท่า พบว่าในกลุ่มของโมโนแคลเซียมซิลิเกตเกิดการตายของเซลล์จำนวนมาก โดยเซลล์มีรูปร่างกลม หดตัว และอยู่รวมกันอย่างหลวมๆ ขณะที่ในสารสกัดกลุ่มอื่นเซลล์จะมีชีวิตอยู่รอดมากกว่า โดยเซลล์มีลักษณะยืดตัว เรียวแหลม มีซัยโตพลาสมิคโปรเซส (cytoplasmic process) ยื่นสัมผัสกัน และอยู่รวมกันอย่างหนาแน่น (Fig. 2)

Table 1 Cell viability from cytotoxicity assay (%)

Material extracts	Concentration	Cell viability
White ProRoot® MTA	Full (0.2g/ml)	79.51
	Dilution 1:1	104.18
	Dilution 1:2	105.31
	Dilution 1:4	104.35
	Dilution 1:8	103.05
GIC-CS	Full (0.2g/ml)	81.19
	Dilution 1:1	100.26
	Dilution 1:2	103.93
	Dilution 1:4	105.07
	Dilution 1:8	103.51
$CaSiO_3$	Full (0.2g/ml)	30.58
	Dilution 1:1	96.84
	Dilution 1:2	102.17
	Dilution 1:4	103.97
	Dilution 1:8	102.10
Ketac™ Molar	Full (0.2g/ml)	85.47
	Dilution 1:1	101.56
	Dilution 1:2	105.12
	Dilution 1:4	104.17
	Dilution 1:8	105.70

If viability is reduced to < 70% of the control, it has a cytotoxic potential[29]

Table 2 Mean and standard deviation of optical density (OD) from cytotoxicity assay

Material extracts	Level of concentration	OD
White ProRoot® MTA	Full (0.2g/ml)	0.171 ± 0.041*
	Dilution 1:1	0.225 ± 0.046
	Dilution 1:2	0.226 ± 0.047
	Dilution 1:4	0.228 ± 0.047
	Dilution 1:8	0.223 ± 0.045
GIC-CS	Full (0.2g/ml)	0.167 ± 0.038*
	Dilution 1:1	0.217 ± 0.042
	Dilution 1:2	0.222 ± 0.048
	Dilution 1:4	0.222 ± 0.046
	Dilution 1:8	0.222 ± 0.047
$CaSiO_3$	Full (0.2g/ml)	0.068 ± 0.008*,**
	Dilution 1:1	0.214 ± 0.051
	Dilution 1:2	0.222 ± 0.051
	Dilution 1:4	0.226 ± 0.057
	Dilution 1:8	0.223 ± 0.055
Ketac™ Molar	Full (0.2g/ml)	0.180 ± 0.046*
	Dilution 1:1	0.215 ± 0.044
	Dilution 1:2	0.225 ± 0.045
	Dilution 1:4	0.221 ± 0.042
	Dilution 1:8	0.226 ± 0.047
Control		0.203 ± 0.043

*:Different significantly from other concentrations in the same material extracts ($P \leq 0.001$)

**:Different significantly from other material extracts in the same concentrations ($P \leq 0.001$)

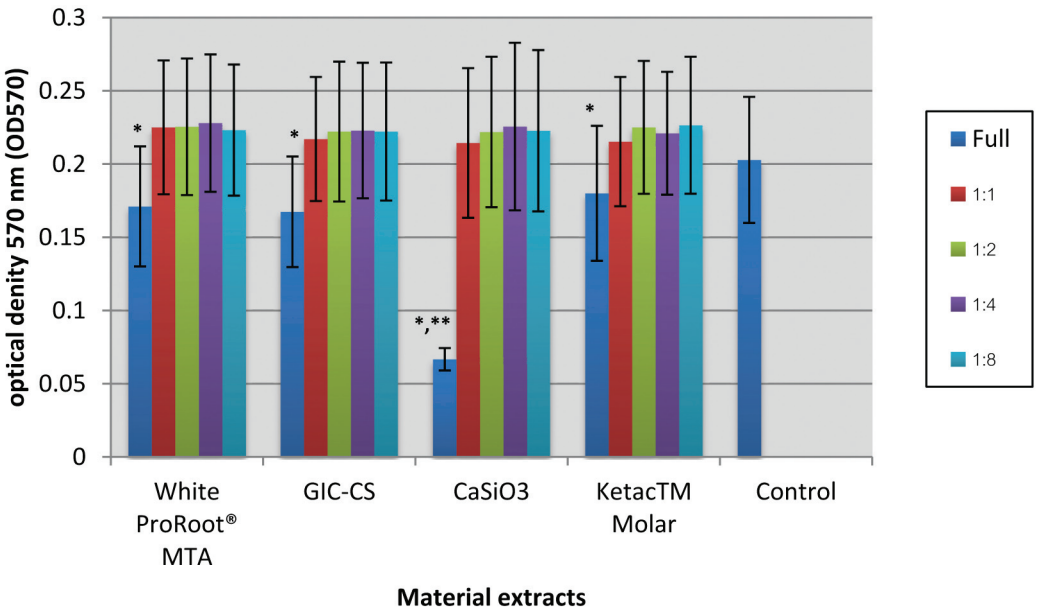

Fig. 1 Mean and standard deviation of optical density (OD) from cytotoxicity assay
*: Different significantly from other concentrations in the same material extracts (P≤0.001)
**: Different significantly from other material extracts in the same concentrations (P≤0.001)

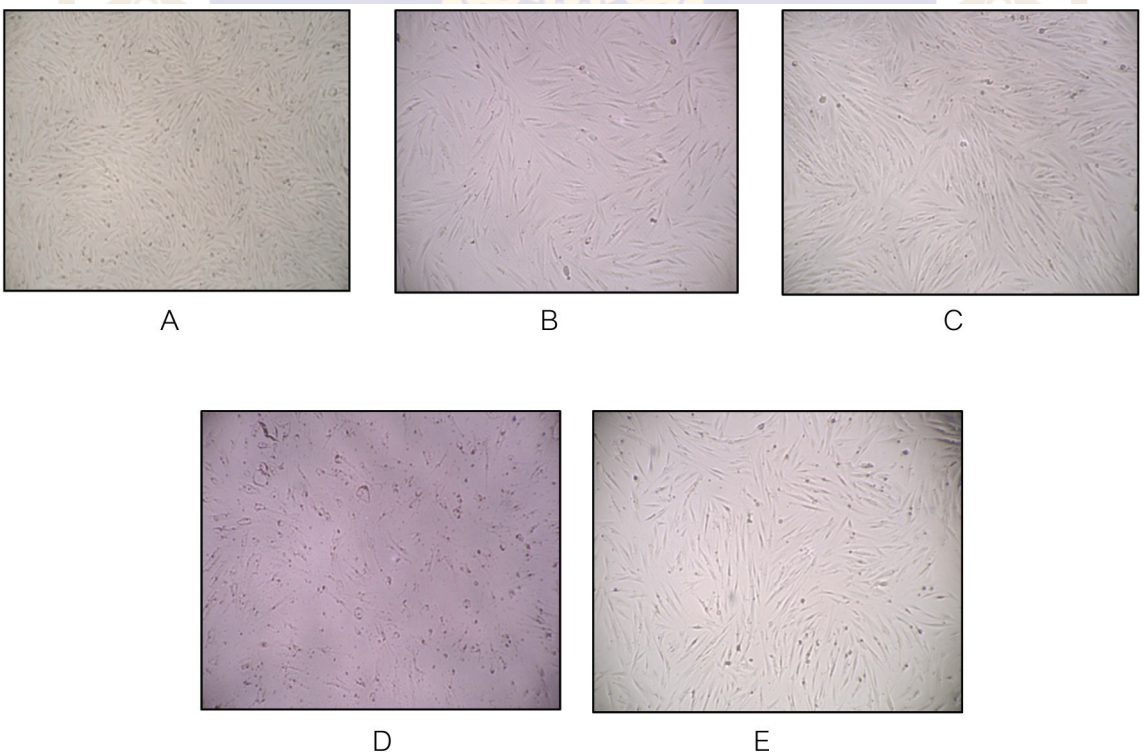

Fig. 2 Cell morphology under phase contrast microscope (40x) after stimulation by material extracts at full concentration (0.2g/mL). (A) Control, (B) White ProRoot® MTA, (C) GIC-CS, (D) $CaSiO_3$, (E) Ketac™ Molar.

แต่เมื่อทำการเจือจางสารสกัดความเข้มข้นสูงสุดลง พบว่าสารสกัดในกลุ่มโมโนแคลเซียมซิลิเกตจะไม่เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ (Table 1) โดยค่าระดับความทึบแสงไม่แตกต่างกับสารสกัดในกลุ่มอื่นที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (Table 2, Fig. 1) เมื่อดูลักษณะรูปร่างของเซลล์จะพบเซลล์ที่มีลักษณะยืดตัว เรียวแหลม และรวมตัวกันหนาแน่นเช่นเดียวกับเซลล์ในกลุ่มอื่น (Fig. 3)

เมื่อพิจารณาวิเคราะห์ในกลุ่มสารสกัดจีไอซีซีเอส ผลพบว่าสารสกัดที่ทำการเจือจางในความเข้มข้นตั้งแต่อัตราส่วน 1 ต่อ1 เป็นต้นไป มีค่าระดับความทึบแสงที่ไม่แตกต่างกันในแต่ระดับความเข้มข้นรวมถึงไม่แตกต่างกับกลุ่มไวท์โปรรูทเอ็มทีเอและคีแทคโมลาร์อีซี่มิกซ์ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) (Table 2, Fig. 1) โดยเซลล์มีลักษณะรูปร่างและการกระจายตัวที่คล้ายกัน (Fig. 4)

บทวิจารณ์

จากการศึกษาครั้งนี้ ในการสกัดสารทดสอบจะใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มอีเอ็มที่ไม่มีซีรั่มของตัวอ่อนลูกวัวเป็นตัวทำละลาย ตามมาตรฐาน International Standard Organization [ISO 10993-12:2007(E)][28] โดยคาดหวังจะให้มีการปลดปล่อยอิออนออกมามากที่สุด เพื่อหวังผลศึกษาบทบาทของอิออนเหล่านี้ต่อการกระตุ้นให้เซลล์ทำหน้าที่ในการสร้างเนื้อฟัน โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่าง pH 7.2-7.4 ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ และเป็นตัวทำละลายที่นิยมใช้ในงานวิจัยในการทดสอบสารที่จะพัฒนานำมาใช้ในการปิดแผลเนื้อเยื่อใน

ซึ่งจากผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ พบว่าสารสกัดในกลุ่มจีไอซีซีเอสที่ความเข้มข้นเหมาะสมของการทดสอบ คือ 0.2 กรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อกระตุ้นเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์พบว่าไม่เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์เช่นเดียวกับสารสกัดในกลุ่มไวท์โปรรูทเอ็มทีเอและคีแทคโมลาร์อีซี่มิกซ์ แต่มีผลตรงกันข้ามกับสารสกัดในกลุ่มโมโนแคลเซียมซิลิเกตที่ไม่ได้รับการเจือจาง ซึ่งพบว่าเกิดความเป็นพิษต่อเซลล์มาก โดยร้อยละความมีชีวิตของเซลล์มีค่าน้อยกว่าร้อยละ 70[29]

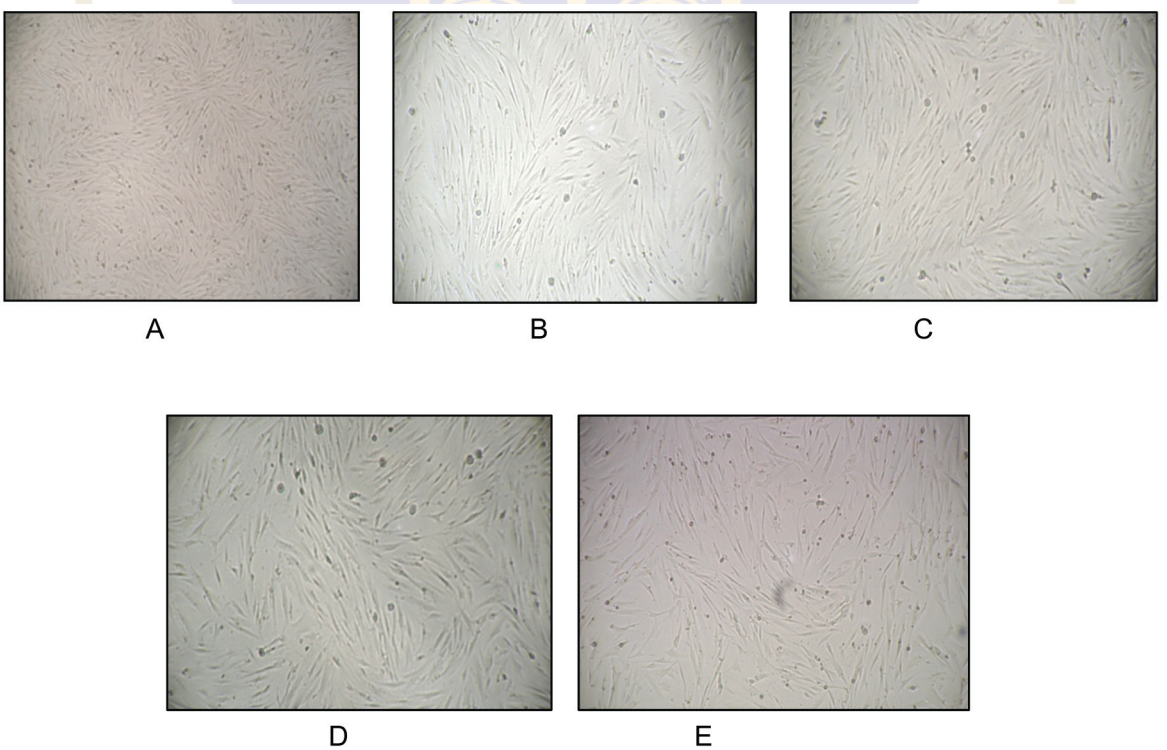

Fig. 3 Cell morphology under phase contrast microscope (40x) after stimulation by material extracts at dilution 1:1. (A) Control, (B) White ProRoot® MTA, (C) GIC-CS, (D) $CaSiO_3$, (E) Ketac™ Molar.

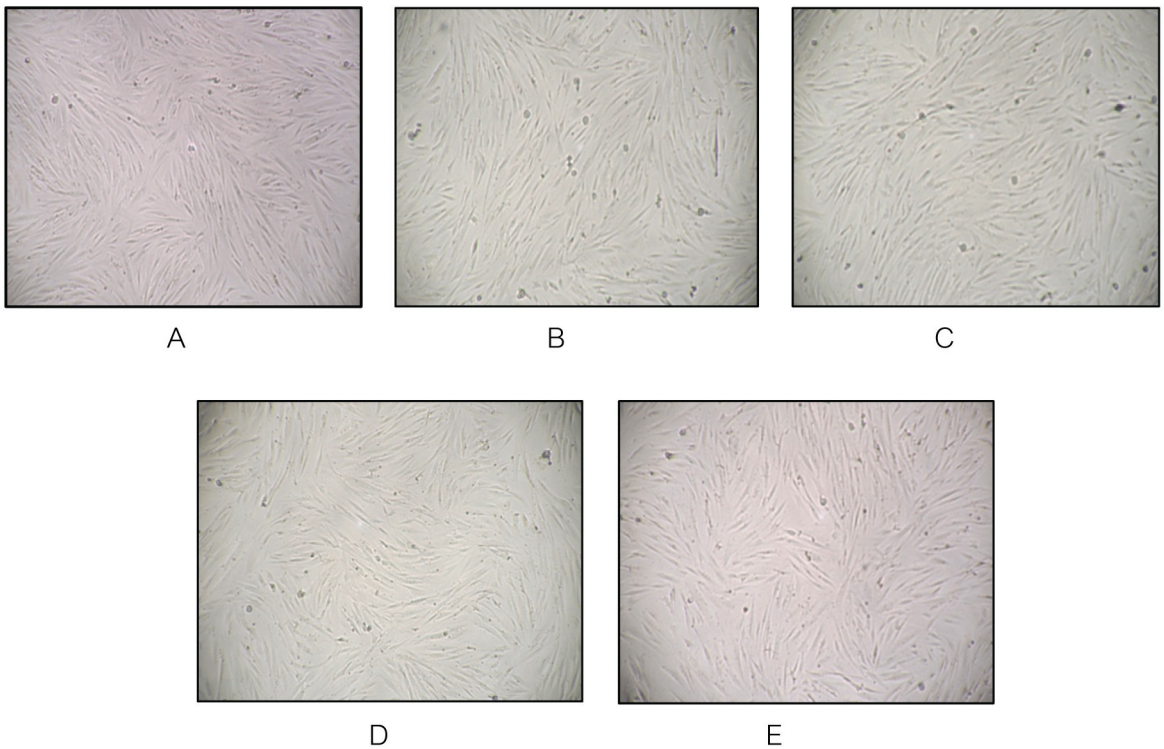

Fig. 4 Cell morphology under phase contrast microscope (40x) after stimulation by material extracts of GIC-CS in different concentrations. (A) Full concentration, (B) Dilution 1: 1, (C) Dilution 1: 2, (D) Dilution 1: 4, (E) Dilution 1: 8.

โดยอาจเป็นผลเนื่องมาจากออสโมลาริตี (osmolarity) ของโมโนแคลเซียมซิลิเกตที่อาจมีค่าสูง ซึ่งส่งผลให้เกิดการตายของเซลล์ ดังการศึกษาของ Finan และ Guilak [30] ที่พบว่าการเพิ่มออสโมลาริตีที่สูงขึ้น อาจส่งผลให้เซลล์เดี่ยวแตกตาย (cell apoptosis) และยับยั้งการแสดงออกของยีนรวมถึงกิจกรรมเมตาบอลิก (metabolic activity)

รวมถึงสารสกัดโมโนแคลเซียมซิลิเกตที่ระดับความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อมิลลิลิตร อาจมีค่าความเป็นด่างสูง[31, 32] โดยสังเกตได้จากสารสกัดที่เตรียมได้จะมีสีชมพูเข้ม อาจเกิดจากการปลดปล่อยแคลเซียมอิออน (Ca^{2+}) และไฮดรอกซิลอิออน (OH^-) จากแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (Calcium hydroxide, $Ca(OH)_2$) โดยมีการศึกษาพบว่าสารประกอบในกลุ่มแคลเซียมซิลิเกต ซึ่งได้แก่ ไตรแคลเซียมซิลิเกต, ไดแคลเซียมซิลิเกต เมื่อมีปฏิกิริยากับโมเลกุลของน้ำ (hydration reaction) จะเกิดเป็นแคลเซียมซิลิเกตไฮเดรตเจล (Calcium silicate hydrate gel, $CaO{\cdot}2SiO_2{\cdot}H_2O$) และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ [33]

อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการศึกษาถึงระดับค่าความเป็นกรด-ด่างของสารประกอบโมโนแคลเซียมซิลิเกตภายหลังจากการแช่ในของเหลว โดยสารที่เป็นองค์ประกอบหลักทางเคมีของโมโนแคลเซียมซิลิเกต คือ แคลเซียมออกไซด์ (Calcium oxide, CaO) และซิลิคอนไดออกไซด์ (Silicon dioxide, SiO_2) อาจมีปฏิกิริยากับโมเลกุลของน้ำเกิดเป็นแคลเซียมซิลิเกตไฮเดรตเจลและแคลเซียมไฮดรอกไซด์ได้เช่นกัน ซึ่งค่าความเป็นด่างสูงอาจเป็นสาเหตุให้เกิดการตายของเซลล์ ดังการศึกษาของ Beltes และคณะ[34] พบว่าความเป็นด่างสูงจะสลายเซลล์ข้างเคียงและทำลายโปรตีนของอาหารเลี้ยงเซลล์แล้วชักนำให้เซลล์เดี่ยวแตกตายหรือเกิดการตายของเซลล์ขึ้น โดยผลที่ได้จะมีความแตกต่างจากการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบว่าสารสกัดโมโนแคลเซียมซิลิเกตระดับความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อมิลลิลิตร จะกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่ได้จากกระดูกมนุษย์ (human bone-derived cells, HBDC)[14] อาจเป็นผลเนื่องมาจากความแตกต่างในเฟส (phase) เริ่มต้นของโมโนแคลเซียมซิลิเกตที่ใช้ในการ

ศึกษา โดยในการศึกษาครั้งนี้จะใช้เบต้าเฟสซึ่งมีรูพรุนและพื้นผิวขรุขระ[13] แตกต่างจากการศึกษาก่อนหน้านี้ที่อยู่ในสถานะอัลฟาเฟส (α-phase)[14] ซึ่งมีเนื้อแน่นและพื้นผิวเรียบ[13] โดยอนุภาคของเซรามิก (ceramic) ที่มีเนื้อแน่นและไม่มีจุดบกพร่องจะช่วยลดอัตราการละลายตัว (dissolution) ของสารลดลง[35-38] ส่งผลให้ค่าความเป็นด่างลดลงจึงไม่เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์

สำหรับในกลุ่มไวท์โปรรูทเอ็มทีเอ การแช่สารทดสอบในอาหารเลี้ยงเซลล์จะทำภายหลังจากการผสมสารครบระยะเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งคาดว่าสารทดสอบจะเกิดการก่อตัวบางส่วนทำให้ความเป็นพิษต่อเซลล์ลดลง สอดคล้องกับการศึกษาของ Saidon และคณะ[39] ซึ่งพบว่าภายหลังการก่อตัวของซีเมนต์จะเกิดอันตรายต่อเซลล์ลดลง รวมทั้งการศึกษาของ De Deus และคณะ[40]

ส่วนในกลุ่มคีแทคโมลาร์อีซี่มิกซ์ ความเป็นพิษจะมีมากเฉพาะในช่วงแรกภายหลังการผสมสาร ซึ่งปฏิกิริยาการก่อตัวจะเป็นปฏิกิริยากรด-ด่าง ระหว่างอิออนที่ปลดปล่อยออกมาจากองค์ประกอบที่เป็นแก้วและส่วนของกรด โดยในช่วงแรกหลังจากผสมเสร็จใหม่ๆจะมีค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่เป็นกรด ซึ่งจะมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายหลังสารเริ่มจะก่อตัวสมบูรณ์ ภายหลังจากนั้นความเป็นพิษจะค่อยๆลดลง โดยความเป็นพิษมักจะเกิดจากการปลดปล่อยองค์ประกอบที่เป็นโลหะออกสู่อาหารเลี้ยงเซลล์ ซึ่งมีการศึกษาพบว่าองค์ประกอบที่เป็นโลหะจากวัสดุที่ใช้ในงานด้านบูรณะอาจมีความเป็นพิษต่อเซลล์โดยความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (oxidative stress)[41] แต่มีการศึกษาพบว่าปริมาณอิออนที่พบในจีไอซีดั้งเดิม เช่น ฟลูออไรด์อิออน (F^-), อะลูมิเนียมอิออน (Al^{3+}), สตรอนเทียมอิออน (Sr^{2+}), ซิงค์อิออน (Zn^{2+}) จะมีปริมาณเพียงเล็กน้อยที่จะส่งผลให้เกิดความเป็นพิษ เมื่อเทียบกับเรซินโมโนเมอร์ที่ไม่เกิดปฏิกิริยาในส่วนของกลุ่มเรซินโมดิฟายด์กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์หรือจีไอซีดัดแปลงที่มีเรซิน (Resin modified glass ionomer cement, RMGIC) ที่จะก่อให้เกิดความเป็นพิษสูงกว่า[23]

โดยการศึกษาของ de Souza Costa และคณะ[23] ที่พบว่าในกลุ่มจีไอซีดั้งเดิม เช่น คีแทคโมลาร์อีซี่มิกซ์ จะเกิดความเป็นพิษน้อยกว่าในกลุ่มจีไอซีดัดแปลงที่มีเรซิน เช่น ฟูจิทูแอลซี (Fuji II LC), วิเทอร์เมอร์ (Vitremer), วิเทอร์บอนด์ (Vitrebond) เมื่อทำการทดสอบในเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายเซลล์สร้างเนื้อฟันของหนู (mouse dental papilla cell-23, MDPC-23) รวมถึงสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบว่าจีไอซีดั้งเดิมจะส่งผลทำให้เกิดการทำลายต่อเซลล์เนื้อเยื่อในฟันเพียงเล็กน้อย [24,25,26]

ในกลุ่มของจีไอซีซีเอส ค่าความเป็นกรดในส่วนของเหลวคีแทคโมลาร์อีซี่มิกซ์ อาจถูกทำให้เป็นกลาง (neutralized) ด้วยความเป็นด่างของโมโนแคลเซียมซิลิเกตที่เกิดขึ้นจากขั้นตอนของการผสมสาร สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ ที่พบว่าสารสกัดจีไอซีซีเอสไม่เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และไม่มีความแตกต่างจากไวท์โปรรูทเอ็มทีเออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[17]

จากผลการศึกษาในงานวิจัยนี้ ซึ่งพบว่าสารสกัดในกลุ่มจีไอซีซีเอสไม่เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์โดยไม่แตกต่างจากกลุ่มไวท์โปรรูทเอ็มทีเออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งในปัจจุบันไวท์โปรรูทเอ็มทีเอเป็นสารมาตรฐานที่นิยมนำมาใช้ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับสารที่สนใจศึกษา โดยข้อดีของจีไอซีซีเอสที่มีส่วนประกอบของโมโนแคลเซียมซิลิเกต สามารถสร้างผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ได้อย่างรวดเร็ว และส่วนประกอบของจีไอซีที่ก่อตัวเร็ว สามารถยึดติดกับเนื้อฟันด้วยพันธะทางเคมี ซึ่งความสามารถในการปิดแนบสนิทจะเป็นปัจจัยสำคัญเมื่อพิจารณาผลสำเร็จการหายจากกระบวนการปิดแผลเนื้อเยื่อใน ดังนั้นจีไอซีซีเอสอาจจะพิจารณาเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่เหมาะสมในการพัฒนานำมาใช้ปิดแผลเนื้อเยื่อใน

อย่างไรก็ตามมีความจำเป็นต้องมีการทดสอบคุณสมบัติทางชีวภาพอื่นๆ เพิ่มเติม เช่น การมีชีวิตอยู่รอด กระบวนการเพิ่มจำนวนของเซลล์ คุณสมบัติการสร้างเนื้อเยื่อแข็ง ก่อนที่จะนำมาใช้ศึกษาในสัตว์ทดลองในลำดับถัดไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นางสาวราชพร สีจันทร์ และนางสาวสุภาพร มาลา ศูนย์วิเคราะห์และวิจัยเนื้อเยื่อเซลล์และอณูชีววิทยาช่องปาก สำนักงานการวิจัย คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

Funding: None

Competing interests: None

Ethical approval: คณะกรรมการจริยธรรมในคนประจำคณะทันตแพทย์

เอกสารอ้างอิง

1. Taddei P, Modena E, Tinti A, Siboni F, Prati C, Gandofil MG. Vibrational investigation of calcium-silicate cements for endodontics in simulated body fluids. ***J Mol Struct*** 2011; 993: 367-75.
2. Islam I, Chng HK, Yap AU. X-ray diffraction analysis of mineral trioxide aggregate and Portland cement. ***Int Endod J*** 2006; 39: 220-5.
3. Moghaddame-Jafari S, Mantellini MG, Botero TM, McDonald NJ, Nör JE. Effect of Proroot MTA on pulp cell apoptosis and proliferation in vitro. ***J Endod*** 2005; 31: 387-91.
4. Masuda-Murakami Y, Kobayashi M, Wang X, Yamada Y, Kamura Y, Hossain M, et al. Effect of mineral trioxide aggregate on the differentiation of rat dental pulp cells. ***Acta Histochem*** 2010; 112: 452-8.
5. Ko H, Yang W, Park K, Kim M. Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate (MTA) and bone morphogenetic protein 2 (BMP-2) and response of rat pulp to MTA and BMP-2. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*** 2010; 109: e103-8.
6. Takita T, Hayashi M, Takeichi O, Ogiso B, Suzuki N, Otsuka K, et al. Effect of mineral trioxide aggregate on proliferation of cultured human dental pulp cells. ***Int Endod J*** 2006; 39: 415-22.
7. Ber BS, Hatton JF, Stewart GP. Chemical modification of Proroot MTA to improve handling characteristics and decrease setting time. ***J Endod*** 2007; 33: 1231-4.
8. Zarrabi MH, Javidi M, Jafarian AH, Joushan B. Histological assessment of human pulp response to capping with mineral trioxide aggregate and a novel endodontic cement. ***J Endod*** 2010; 36: 1778-81.
9. Nandini S, Ballal S, Kandaswamy D. Influence of glass-ionomer cement on the interface and setting reaction of mineral trioxide aggregate when used as a furcal repair material using roman spectroscopic analysis. ***J Endod*** 2007; 33: 167-72.
10. Bortoluzzi EA, Broon NJ, Bramante CM, Garcia RB, de Moraes IG, Bernadineli N. Sealing ability of MTA and radiopaque Portland cement with or without calcium chloride for root-end filling. ***J Endod*** 2006; 32: 897-900.
11. Holt DM, Watts JD, Beeson TJ, Kirkpatrick TC, Rutledge RE. The anti-microbial effect against enterocoocus faecalis and the compressive strength of two types of mineral trioxide aggregate mixed with sterile water or 2% chrohexidine liquid. ***J Endod*** 2007; 33: 884-7.
12. Kogan P, He J, Glickman GN, Wantable I. The effect of various additives on setting properties of MTA. ***J Endod*** 2006; 32: 569-72.
13. Siriphannon P , Kameshima Y, Yasumori A, Okada K , Hayashi S. Formation of hydroxyapatite on $CaSiO_3$ powders in simulated body fluid. ***J Eur Ceram Soc*** 2002; 22: 511–20.
14. Wu C, Ramaswamy Y, Kwik D, Zreiqat H. The effect of strontium incorporation into $CaSiO_3$ ceramic on their physical and biological properties. ***Biomaterials*** 2007; 28: 1371-8.
15. Wei J, Chen F, Shin JW, Hon H, Dai C, Su J, et al. Preparation and characterization of bioactive mesoporous wollastonite-prolycaprolactone composite scaffold. ***Biomaterial*** 2009; 30: 1080-8.
16. Monvisade P, Sririphannon P, Jermsungnern R, Ruttanabodee S. Preparation of hydroxyapatite / poly(methyl metacrylate) and calcium silicate / poly(methyl metacrylate) interpenetrating hybrid composites. ***J Mater Sci*** 2007; 18: 1955-9.
17. Sangsawatpong W. Bioactivity and biocompatibility of glass ionomer cement added with monocalcium silicate at various ratios (Master of science). ***Department of Conservative Dentistry and Prosthodontics, Faculty of Dentistry. Bangkok: Srinakarinwirot University;*** 2010-2013.
18. Nicholson JW. Chemistry of glass-ionomer cement: a review. ***Biomaterials*** 1998; 19: 485-94.
19. Mount GJ. Clinical performance of glass-ionomer. ***Biomaterials*** 1998; 19: 573-9.

20. Lin Q, Li Y. Lan X, Lu C, Chen Y, Xu Z. The apatite formation ability of CaF_2 doping tricalcium silicates in simulated body fluid. ***Biomed Mater*** 2009; 4: 1-6.
21. Peez R, Frank S. The physical-mechanical performance of the new Ketac™ Molar Easymix compared to commercially available glass ionomer restoratives. ***J Dent*** 2006; 34: 582-7.
22. Xie D, Brantly WA, Culbertson BM, Wang G. Mechanical properties and microstructures of glass-ionomer cements. ***Dent Mater*** 2000; 16: 129-38.
23. de Souza Costa CA, Hebling J, Garcia-Godoy F, Hanks CT. In vitro cytotoxicity of five glass-ionomer cements. ***Biomaterials*** 2003; 24: 3853–8.
24. Mjor IA, Nordahl I, Tronstad L. Glass ionomer cements and dental pulp. ***Endod Dental Traumatol*** 1991; 7: 59-64.
25. Schmalz G, Thonemann B, Riedel M, Elderton RJ. Biological and clinical investigations of a glass ionomer base material. ***Dent Mater*** 1994; 10: 304-13.
26. Kuhn AT LW, Painter HA. Release of organic species from glass ionmer cements. ***J Mater Sci Lett*** 1983; 2: 224.
27. Pothiraksanont S. A comparative study of physical properties of GIC containing β-monocalcium silicate to mineral trioxide aggregate (MTA) (Master of science). ***Department of Conservative Dentistry and Prosthodontics, Faculty of Dentistry. Bangkok:Srinakarinwirot University;*** 2010-2013.
28. Thai Industrial Standard: TISI. Biological evaluation of medical device (Part 12: Test for in vitro cytotoxicity ISO 10993-12) 3rd edition. ***Rajathevee Bankok;*** 2007: 7.
29. Thai Industrial Standard: TISI. Biological evaluation of medical device (Part 5: Test for in vitro cytotoxicity ISO 10993-5) 3rd edition. ***Rajathevee Bankok;*** 2009: 28.
30. Finan JD, Guilak F. The effects of osmotic stress on the structure and function of the cell nucleus. ***J Cell Biochem*** 2010; 1093: 460-7.
31. Leonardo RT, Consolaro A, Carlos IZ, Leonardo MR. Evaluation of cell culture cytotoxicity of five root canal sealers. ***J Endod*** 2000; 26: 328-30.
32. Camargo SE, Camargo CH, Hiller KA, Rode SM, Schweikl H, Schmalz G. Cytotoxicity and genotoxicity of pulp capping materials in two cell lines. ***Int Endod J*** 2009; 42: 227-37.
33. Richardson IG. The calcium silicate hydrates. ***Cem Concr Res.*** 2008; 38: 137-58.
34. Beltes P, Koulaouzidore E, Kotoula V, Kortsaris AH. In vitro evaluation of the cytotoxicity of calcium hydroxide-based root canal sealers. ***Endod Dent Traumatol*** 1995 ; 11: 245-9.
35. Li J, Liao H, Hermansson L. Sintering of partially stabilized zirconia and partially stabilized zirconia–hydroxyapatite composites by hot isostatic pressing and pressureless sintering. ***Biomaterials*** 1996; 17: 1787–90.
36. Kishi Y, Shimojima H, Ohsio S, Saitoh H, Uematsu K. Microstructure design of HIPed TiO2 ceramics for improved corrosion resistance. ***J Mater Sci Lett*** 1997; 16: 1342–4.
37. Daculsi G, LeGeros RZ, Mitre D. Crystal dissolution of biological and ceramic apatites. ***Calcif Tissue Int*** 1989; 45: 95–103.
38. Porter AE, Botelho CM, Lopes MA, Santos JD, Best SM, Bonfield W. Ultrastructural comparison of dissolution and apatite precipitation on hydroxyapatite and silicon-substituted hydroxyapatite in vitro and in vivo. ***J Biomed Mater Res*** 2004; 69: 670–9.
39. Saidon J, He J, Zhu Q, Safavi K, Spångberg LS. Cell and tissue reactions to mineral trioxide aggregate and Portland cement. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*** 2003; 95: e483-9.
40. De Deus G, Ximenes R, Gurgel-Filho ED, Plotkowski MC, Coutinho-Filho T. Cytotoxicity of MTA and Portland cement on human ECV 304 endothelial cells. ***Int Endod J*** 2005; 38: 604-9.
41. Soheili Majd E, Goldberg M, Stanislawski L. In vitro effects of ascorbate and Trolox on the biocompatibility of dental restorative materials. ***Biomaterials*** 2003; 24: 3-9.