

ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมต่อเซลล์สร้างกระดูก

พรพิมล ณะพรพันธุ์* ปุณณมา ศิริพันธุ์** จารุมา ศักดิ์ดี*

บทคัดย่อ

โมโนแคลเซียมซิลิเกต เป็นวัสดุชนิดหนึ่งที่มีส่วนประกอบของแคลเซียมซิลิเกตเป็นพื้นฐาน มีคุณสมบัติชีวกัมมันต์ สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดกิจกรรมทางชีวภาพของเซลล์ หลายการศึกษาพยายามปรับปรุงคุณสมบัติทางชีววิทยาของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ให้ดีขึ้น โดยผสมเข้ากับโมโนแคลเซียมซิลิเกต การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพ การสะสมแร่ธาตุของเซลล์ และลักษณะสัณฐานของเซลล์สร้างกระดูกที่ได้จากกระดูกเข้าพื้นมนุษย์บนพื้นผิวของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตหรือไอ-ซีเอส วิจัยด้านงานวิจัย เพาะเลี้ยงเซลล์สร้างกระดูกในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดดีเอ็มอีเอ็มที่มีส่วนผสมของซีรัมจากลูกวัวอ่อนร้อยละ 10 ทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์สร้างกระดูกต่อวัสดุไอ-ซีเอสในอัตราส่วนร้อยละ 50 โดยนำห้กับด้วยวิธีเอ็มทีที ศึกษาสัณฐานของเซลล์บนพื้นผิวของวัสดุด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และประเมินการสะสมแร่ธาตุของเซลล์ด้วยวิธีการย้อมติดสีอะลิซารินเรด ผลการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของเซลล์ในกลุ่มไอ-ซีเอสเพิ่มขึ้นตามช่วงเวลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในวันที่ 1, 3 และ 7 พบการเพิ่มจำนวนของเซลล์ในกลุ่มไอ-ซีเอสมากกว่าเอ็มทีเออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในวันที่ 3 และ 7 นอกจากนี้วัสดุทั้งสองมีความสามารถที่จะกระตุ้นเซลล์สร้างกระดูกให้เกิดการสะสมแร่ธาตุได้และเซลล์สร้างกระดูกสามารถยึดติดและมีการแผ่ของเซลล์บนพื้นผิวของไอ-ซีเอสและเอ็มทีเอได้ สรุปได้ว่าไอ-ซีเอสมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเซลล์สร้างกระดูก

คำชี้แจง: กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสม/ ความเข้ากันได้ทางชีวภาพ/ เซลล์สร้างกระดูก/ เอ็มทีเอ

บทนำ

เป้าหมายหลักของการรักษาคอลงรากฟันคือการป้องกันและรักษาการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบรากฟันซึ่งเป็นผลจากการติดเชื้อในคอลงรากฟัน ในหลายกรณีพบว่าเมื่อทำการรักษาคอลงรากฟันอย่างดีแล้วอาจพบความล้มเหลวภายหลังการรักษาได้ การผ่าตัดปลายรากฟันเป็นแนวทางหนึ่งในการรักษาฟันที่พบความล้มเหลวภายหลังการรักษาฟันและมักทำในกรณีที่ไม่สามารถเข้าทำการรักษาคอลงรากฟันซ้ำด้วยวิธีอื่นรักษาได้ เนื่องจากการมีเนื้อเยื่อฟันและครอบฟัน ซึ่งอาจเสี่ยงที่จะเกิดการแตกของรากฟันขณะรื้อ วัสดุอุดย่นปลายรากฟันเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อความสำเร็จในการผ่าตัดปลายรากฟัน คุณสมบัติของวัสดุอุดย่นปลายรากฟันที่ดีได้แก่ สามารถป้องกันการรั่วซึมจากแบคทีเรียและพิษในบริเวณเนื้อเยื่อปลายรากได้ ไม่เป็นพิษต่อเนื้อเยื่อรอบปลายราก ไม่เป็นสารก่อมะเร็ง เข้ากันได้กับเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน (Biocompatibility) มีเสถียรภาพเชิงมิติ (Dimensional stability) ความชื้นไม่ส่งผลต่อความ

สามารถในการป้องกันการรั่วซึมของวัสดุ ใช้งานง่าย และมีความที่บ่งชี้¹ การอุดย่นปลายรากฟันทำเพื่อเติมเต็มช่องว่างในคอลงรากฟันและปิดผนึกระหว่างคอลงรากฟันกับเนื้อเยื่อรอบรากฟัน วัสดุที่ถูกแนะนำให้ใช้เป็นวัสดุอุดย่นปลายรากฟัน ได้แก่ อะมัลกัม กลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ ซิงค์ออกไซด์ ยูจินอล ไออาร์เอ็ม ซูเปอร์อีบีเอ เรซินคอมโพสิต และเอ็มทีเอ (Mineral trioxide aggregate: MTA)² เนื่องจากวัสดุอุดย่นปลายรากฟันมีการสัมผัสกับเนื้อเยื่อแข็งและเนื้อเยื่ออ่อนของอวัยวะปริทันต์ ดังนั้นวัสดุที่จะนำมาใช้เป็นวัสดุอุดย่นปลายรากฟันจึงควรมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน³

วัสดุกลุ่มไบโอเซรามิก (Bioceramics) ได้รับการพัฒนาเพื่อใช้ในการแพทย์และทางทันตกรรม วัสดุกลุ่มนี้มีคุณสมบัติที่มีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อในร่างกาย โดยมีองค์ประกอบหลักได้แก่ แคลเซียมและฟอสเฟต วัสดุไบโอเซรามิกแต่ละชนิดอาจมีรูปร่างผลึกและองค์ประกอบย่อยที่แตกต่างกัน⁴

* ภาควิชาทันตกรรมอนุรักษ์และทันตกรรมประดิษฐ์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพมหานคร

** ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

เอ็มทีเอเป็นวัสดุไบโอเซรามิกชนิดหนึ่งที่ยอมรับใช้เป็นวัสดุอุดย่นปลายรากฟันเนื่องจากมีคุณสมบัติที่มีความใกล้เคียงกับวัสดุอุดย่นปลายรากฟันในอุดมคติ มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเนื้อเยื่อ และสามารถปิดผนึกกับผนังคลองรากฟันที่ผ่านการตัดปลายรากที่ดี⁵ Torabinejad และคณะ (1997)⁶ พบว่าในฟันที่อุดย่นปลายรากฟันด้วยเอ็มทีเอไม่มีการอักเสบของเนื้อเยื่อรอบรากฟัน และยังพบการสร้างชั้นของเคลือบรากฟันปกคลุมบนวัสดุอย่างสมบูรณ์ซึ่งแสดงถึงความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุกับเนื้อเยื่อ นอกจากนี้ Economides และคณะ (2003)⁷ สนับสนุนว่าเอ็มทีเอมีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อรอบรากฟัน โดยพบการสร้างเนื้อเยื่อแข็งปกคลุมบริเวณพื้นผิวของวัสดุ อย่างไรก็ตามเอ็มทีเอยังมีข้อด้อยในเรื่องของการใช้งานยาก ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีของฟัน ระยะเวลาในการก่อตัวนาน และราคาแพง⁸ รวมไปถึงมีแนวโน้มที่มีการละลายตัวเมื่ออยู่ในความชื้นสูง⁹ จึงนำไปสู่การพัฒนาปรับปรุงคุณสมบัติของวัสดุดังกล่าวให้มีคุณสมบัติที่ดียิ่งขึ้น

โมโนแคลเซียมซิลิเกต (Monocalcium silicate) เป็นวัสดุชนิดหนึ่งในกลุ่มวัสดุที่มีส่วนประกอบของแคลเซียมซิลิเกตเป็นพื้นฐาน (Calcium silicate based material) ซึ่งมีความสมบัติชีวกัมมันต์ (Bioactive property) กล่าวคือ วัสดุมีความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เกิดกิจกรรมทางชีวภาพของเซลล์ เช่น พื้นผิวของวัสดุเอื้อให้เกิดการยึดติดระหว่างวัสดุกับเนื้อเยื่อที่มีชีวิต^{10,11} Siriphannon และคณะ (2002)¹² รายงานว่าโมโนแคลเซียมซิลิเกต มีความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ได้ผ่านการแช่ในสารละลายจำลองคล้ายของเหลวในร่างกาย และพบว่าโมโนแคลเซียมซิลิเกตมีความเข้ากันได้กับเซลล์สร้างกระดูก^{13,14} อย่างไรก็ตามวัสดุโมโนแคลเซียมซิลิเกตมีความเปราะ และไม่สามารถก่อตัวได้ด้วยน้ำกลั่น จึงเป็นข้อจำกัดในการใช้งาน^{15,16} ต่อมามีความพยายามในการพัฒนาวัสดุด้วยการนำมาสวมกับวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ (Glass ionomer cement) ซึ่งเป็นวัสดุทางทันตกรรมชนิดหนึ่งที่สามารถปลดปล่อยฟลูออไรด์ สามารถเกิดการยึดติดกับเนื้อฟัน และมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเนื้อเยื่อของร่างกาย เพื่อปรับปรุงคุณสมบัติของวัสดุให้สามารถนำมาใช้ทางทันตกรรมได้

มีหลายการศึกษาที่พยายามปรับปรุงคุณสมบัติต่างๆของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ให้ดีขึ้นด้วยการเติมสารชีวกัมมันต์ จากการศึกษาของ Pothiraksanont และคณะ (2013)¹⁷ พบว่าการผสมโมโนแคลเซียมซิลิเกตเข้ากับวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ทำให้มีระยะเวลาการก่อตัวน้อยกว่าเอ็มทีเออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยไม่กระทบกับความทนแรงอัดของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ และพบว่าวัสดุดังกล่าวมีความเข้ากันได้กับเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์¹⁸ และเซลล์ข้างเส้นใย¹⁹ Sangsawatpong และคณะ (2013)¹⁹ พบการสร้างไฮดรอกซีอะพาไทต์ภายหลังแช่วัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสม หรือจีไอ-ซีเอสในอัตราส่วนร้อยละ 50 โดยน้ำหนักในสารละลายจำลองคล้ายของเหลวในร่างกายรวมถึงมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเซลล์ข้างเส้นใย Horvichitr และคณะ (2014)²⁰ พบว่าวัสดุจีไอ-ซีเอสมีความเหมาะสมกับผนังคลองรากฟัน และป้องกันการรั่วซึมของแบคทีเรีย Burapat และคณะ (2016)²¹ พบว่าเมื่อปรับอัตราส่วนผงต่อน้ำของวัสดุจีไอ-ซีเอสเท่ากับ 1.7:1 วัสดุมีความสามารถในการปิดผนึกและความเหมาะสมที่ได้ใกล้เคียงกับเอ็มทีเอ จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่ากลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมร้อยละ 50 โดยน้ำหนักยังคงให้คุณสมบัติที่ดีซึ่งอาจนำมาประยุกต์ใช้เป็นวัสดุอุดย่นปลายรากฟันได้ อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาในห้องปฏิบัติการที่ศึกษาถึงความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์สร้างกระดูกบนพื้นผิวของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมอัตราส่วนร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก ในอัตราส่วนผงต่อน้ำเท่ากับ 1.7:1 วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพ ความสามารถในการสะสมแร่ธาตุของเซลล์ และพื้นฐานของเซลล์สร้างกระดูกบนพื้นผิวของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสม

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

เซลล์สร้างกระดูกในการศึกษาได้รับจากหนูแระห์จากศพ.ทพญ.อินทรา วงศ์เยาว์ฟ้า ซึ่งได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมในงานวิจัย คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เลขที่ DENTSWU-EC09/2559 เลี้ยงเซลล์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดดีเอ็มอีเอ็ม (Dulbecco's Modified Eagle Medium :

DMEM, Gibco, Carlsbad, CA) ที่มีส่วนผสมของซีรัมจากลูกอ่อนวัวร้อยละ 10 (10% fetal calf serum: FCS, Gibco, Carlsbad, CA) กลูตามีน (L-glutamine, Gibco, Carlsbad, CA) ยาปฏิชีวนะและยาต้านเชื้อรา (100 IU/ml. penicillin G, 50 µg/ml. streptomycin และ amphotericin B 2.5 µg/ml, Gibco, USA) ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ในตู้บ่มที่มีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 โดยใช้เซลล์สร้างกระดูกจากกลุ่มย่อย (Passage) ที่ 3 ถึง 8 เตรียมสารประกอบของกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมหรือ จีไอ-ซีเอสในอัตราส่วนร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก โดยผสมผงของโมโนแคลเซียมซิลิเกตและผงของคีแทคโมลาร์ (Ketac™ molar easymix, 3M ESPE AG, Germany) ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยน้ำหนัก จากนั้นนำส่วนผสมที่ผสมเข้ากันแล้วมาผสมกับส่วนเหลวของคีแทคโมลาร์ซึ่งเป็นกรดโพลีอะคริลิกในอัตราส่วนผงต่อน้ำเท่ากับ 1.7 ต่อ 1 เตรียม เอ็มทีเอ (White ProRoot® MTA, Densply Tulsa dental, Tulsa OK, USA) ในอัตราส่วนผงต่อน้ำเท่ากับ 3.3 ต่อ 1 สารทดสอบทั้งสองชนิดถูกขึ้นรูปในภาตหลุม 6 หลุม และปล่อยให้วัสดุก่อตัวอย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 95 เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังครบเวลาวัสดุจะถูกทำเกิดสภาวะปลอดเชื้อภายใต้รังสียูวี 20 นาที

การเตรียมสารสกัดของวัสดุ ทำโดยแช่วัสดุในอาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มอีเอ็มที่ไม่มีซีรัมของลูกวัวในอัตราส่วน 0.2 กรัมต่อมิลลิลิตร (g/mL)²² บ่มในตู้บ่มที่มีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงเพื่อทำการสกัดแยกสารทดสอบ เมื่อครบเวลานำสารละลายไปหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ด้วยจำนวนรอบ 3000 รอบต่อนาที [Sigma Laborzentrifugen 3k15, Germany] เป็นเวลา 5 นาที เก็บสารละลายส่วนเหนือตะกอน (Supernatant) สำหรับการทดสอบต่อไป โดยสารละลายส่วนนี้คือ สารสกัดของวัสดุที่ไม่ได้รับการเจือจาง กลุ่มทดสอบในการศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์ต่อวัสดุประกอบด้วย สารสกัดของวัสดุที่ไม่ได้รับการเจือจาง, และสารสกัดของวัสดุที่ได้รับการเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มอีเอ็มที่ไม่มีซีรัมของลูกวัวในอัตราส่วน 1:1, 1:2, 1:4, และ 1:8 ตามลำดับ เก็บสารทดสอบที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดสอบตามวิธีการวัดความมีชีวิตของเซลล์

การศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์สร้างกระดูกต่อวัสดุด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay) ทำโดยเลี้ยงเซลล์สร้างกระดูกในภาต 96 หลุม ความหนาแน่น 2×10^3 เซลล์ต่อหลุมในอาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มอีเอ็มที่มีส่วนผสมของซีรัมจากลูกอ่อนวัว ร้อยละ 10 จำนวน 200 ไมโครลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการยึดเกาะของเซลล์ จากนั้นกำจัดอาหารเลี้ยงเซลล์และแทนที่ด้วยสารสกัดของวัสดุ บ่มเซลล์ในตู้บ่มที่มีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 95 เป็นระยะเวลา 1, 3 และ 7 วัน เมื่อครบเวลาทดสอบด้วยสารเอ็มทีที (MTT, [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenylterazolium bromide]) [Invitrogen™, USA] จำนวน 50 ไมโครลิตร/หลุม บ่มเซลล์เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorption spectrophotometer) [Epoch microplate spectrophotometer, Biotek] ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

การประเมินความสามารถในการสะสมแร่ธาตุ เลี้ยงเซลล์สร้างกระดูกในภาต 12 หลุม ความหนาแน่น 1×10^4 เซลล์ต่อหลุม กระตุ้นเซลล์ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีฤทธิ์เหนี่ยวนำการสร้างเนื้อเยื่อแข็ง (Osteogenic media) ที่มีส่วนผสมของกรดแอสคอร์บิก (L-Ascorbic acid) [Sigma-Aldrich, Singapore] 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บีต้ากลีเซอโรฟอสเฟต (β -Glycerophosphate) [Sigma-Aldrich, Singapore] 1.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเดกซาเมทาโซน (Dexamethasone) [Sigma-Aldrich, Singapore] 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีสารสกัดของวัสดุที่ได้รับการเจือจางในอัตราส่วน 1:8 ปริมาณ 2 มิลลิลิตรต่อหลุม โดยทำการเปลี่ยนสารทุกกลุ่มทุก 2 วัน จนครบเวลา 14 วัน เมื่อครบเวลาเติมสีอะลิซารินเรด [Sigma-Aldrich, Singapore] ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 4.2 ปริมาณ 2 มิลลิลิตรต่อหลุม เป็นระยะเวลา 3 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ตากให้แห้งในที่มืด และถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์วัดความเปลี่ยนแปลงต่างเฟส [Motic AE2000, Hongkong]

การศึกษาสัณฐานของเซลล์บนพื้นผิววัสดุทำโดยนำสารทดสอบในแต่ละกลุ่มวางในภาต 24 หลุม ใส่เซลล์สร้างกระดูกปริมาณ 2×10^5 เซลล์/หลุม บ่มเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้คาร์บอนไดออกไซด์ ร้อยละ 5 และความชื้นสัมพัทธ์ ร้อยละ 100 ที่เวลา 4, 8, และ 24 ชั่วโมง ยึดเซลล์ด้วย กลูตารัลดีไฮด์ [Sigma-Aldrich, Singapore]

ร้อยละ 2.5 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ดึงน้ำ (Dehydration) ด้วย เอธิลแอลกอฮอล์ [Sigma-Aldrich, Singapore] ร้อยละ 30 (15 นาที), ร้อยละ 50 (15 นาที), ร้อยละ 70 (15 นาที) และร้อยละ 95 (15 นาที) โดยทำซ้ำ 3 ครั้งเพื่อความเข้มข้น ร้อยละ 95 แช่ตัวอย่างในเฮกซะเมทิลได ซิลาเซน (Hexamethylsilazane, HMDS) [Sigma-Aldrich, Singapore] 30 นาที ผ่านกระบวนการทำให้แห้งและนำขึ้นตัวอย่างไปเคลือบทอง และส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด [Jeol JSM-6510 LV, Japan]

ผลที่ได้จากการวัดความมีชีวิตของเซลล์แสดงเป็น ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร และวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธีเวย์แอนโนวา (Three-Way ANOVA) โดยเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มด้วยบอแนเฟอร์รีนี (Bonferrini) การประเมินการสะสมแร่ธาตุด้วยวิธีย้อมสี อะลิซาริน เรดและการศึกษาสัญญาณของเซลล์บนพื้นผิววัสดุ แสดงผลด้วยรูปภาพ

ผล

ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุที่มีระยะก่อดำสมบูรณ์ในความเข้มข้นและเวลาต่างกัน พบว่าเซลล์สร้างกระดูกภายหลังได้รับการกระตุ้นด้วยสารสกัดของวัสดุจีไอ-ซีเอสในความเข้มข้นต่างกันที่เวลา 1 วันมีค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงในแต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตามเมื่อเซลล์สร้างกระดูกได้รับการกระตุ้นด้วยสารสกัดของวัสดุจีไอ-ซีเอสที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดเป็นเวลา 3 วัน พบค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงน้อยกว่ากลุ่มสารสกัดเจือจางในอัตราส่วน 1:1 1:2 1:4 และ 1:8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และที่เวลา 7 วัน เซลล์สร้างกระดูกได้รับการกระตุ้นด้วยสารสกัดของวัสดุจีไอ-ซีเอสในความเข้มข้นสูงสุดและกลุ่มสารสกัดเจือจางในอัตราส่วน 1:1 มีค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงน้อยกว่ากลุ่มสารสกัดเจือจางในอัตราส่วน 1:2 1:4 และ 1:8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อพิจารณาวัสดุเอ็มทีเอ พบว่า ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของเซลล์ในความเข้มข้นต่างกันที่เวลา 1 วันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่เมื่อเซลล์สัมผัสสารสกัดของวัสดุเอ็มทีเอเป็นเวลา 3 และ 7 วัน พบว่าค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงในกลุ่มสารสกัดเข้มข้นมีค่าน้อยกว่ากลุ่มสารสกัดเจือจางใน

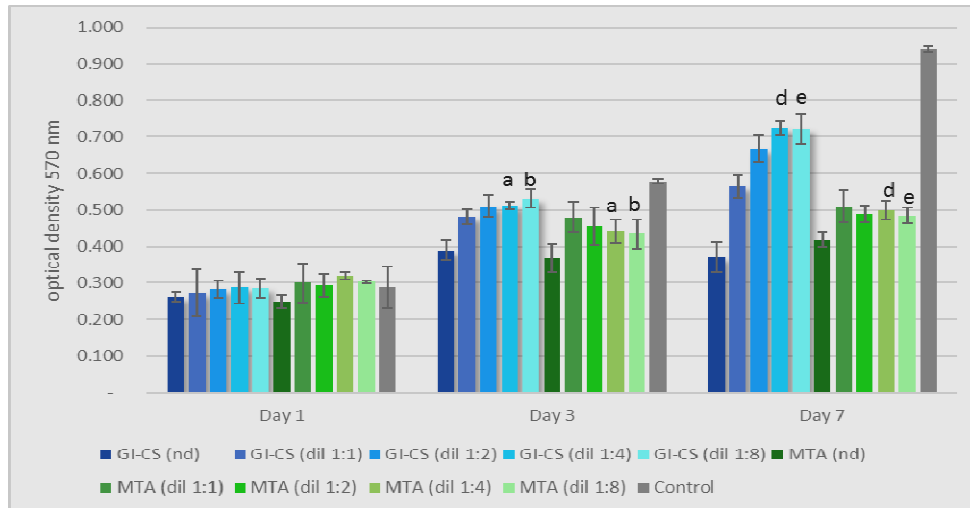
อัตราส่วน 1:1, 1:2, 1:4 และ 1:8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เซลล์สร้างกระดูกเมื่อได้รับการกระตุ้น สารสกัดวัสดุจีไอ-ซีเอสสามารถเพิ่มจำนวนได้มากขึ้นตามช่วงเวลา 1, 3 และ 7 วันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในขณะที่กลุ่มสารสกัดวัสดุเอ็มทีเอสามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์ได้มากขึ้นในวันที่ 1 และ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ปริมาณเซลล์ในวันที่ 3 และวันที่ 7 ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ความมีชีวิตของเซลล์ในกลุ่มวัสดุจีไอ-ซีเอสที่ความเข้มข้นต่างกันเปรียบเทียบกับวัสดุเอ็มทีเอในเวลา 1 วันไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตามพบว่าการเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วยสารสกัดของจีไอ-ซีเอสเจือจางในอัตราส่วน 1:2 มากกว่าเอ็มทีเออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในวันที่ 7 ($P < 0.05$) และสารสกัดจีไอ-ซีเอสเจือจางในอัตราส่วน 1:4 และ 1:8 พบการเพิ่มจำนวนเซลล์มากกว่าเอ็มทีเออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในวันที่ 3 และวันที่ 7 ($P < 0.05$) (รูปที่ 1)

การประเมินการสะสมแร่ธาตุของเซลล์สร้างกระดูกเมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยสารสกัดของวัสดุที่ได้รับการเจือจางในอัตราส่วน 1:8 เป็นเวลา 14 วัน ด้วยวิธีย้อมสีอะลิซาริน เรด พบว่ากลุ่มที่ได้รับการกระตุ้นด้วยสารสกัดของวัสดุจีไอ-ซีเอส วัสดุเอ็มทีเอ และกลุ่มควบคุมพบการย้อมติดสีอะลิซาริน เรดซึ่งจะเห็นลักษณะการติดสีแดงของตะกอนแคลเซียม ในขณะที่กลุ่มควบคุมไม่พบการย้อมติดสีอะลิซาริน เรด (รูปที่ 2)

การศึกษาสัญญาณของเซลล์สร้างกระดูกบนพื้นผิวของวัสดุภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่า กลุ่มควบคุมที่เวลา 4 ชั่วโมงพบส่วนของไซโทพลาสซึมของเซลล์ในลักษณะแบนราบไปกับพื้นผิวของแผ่นแก้ว โดยมีไซโทพลาสซึมไมโครโปรเซส (Cytoplasmic process) ขนาดเล็กยื่นออกโดยรอบ และส่วนของนิวเคลียสลักษณะกลมทึบ กลุ่มควบคุมที่เวลา 8 และ 24 ชั่วโมงพบเซลล์ในลักษณะแบนราบ และมีการยื่นยาวของไซโทพลาสซึมไมโครโปรเซส (รูปที่ 3) สำหรับวัสดุจีไอ-ซีเอสที่เวลา 4 ชั่วโมงพบเซลล์อยู่บนพื้นผิวของวัสดุในลักษณะแบนราบเพียงบางส่วน มีไซโทพลาสซึมไมโครโปรเซสยื่นยาวออกจากเซลล์ และบางส่วนของเซลล์มีลักษณะกลมทึบ พื้นผิวของวัสดุจีไอ-ซีเอสมีลักษณะเรียบ ในขณะที่กลุ่มทดลองที่ 8 และ 24 ชั่วโมง

พบเซลล์อยู่บนพื้นผิววัสดุในลักษณะแบนราบ ไม่พบการยื่นของไซโทพลาสซึมโปรเซส (รูปที่ 4) นอกจากนี้ยังเกิดพบโครงสร้างคล้ายผลึก (Crystal-like deposition) กระจายทั่วไปบนพื้นผิววัสดุที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง (รูปที่ 6) สำหรับวัสดุเอ็มทีเอที่เวลา 4 ชั่วโมง พบเซลล์มีนิวเคลียสลักษณะกลมทึบ ไซโทพลาสซึมของเซลล์มีลักษณะแบนราบไปกับพื้นผิวของวัสดุ และมีไซโทพลาสซึมโปรเซสขนาดเล็กยื่นออก

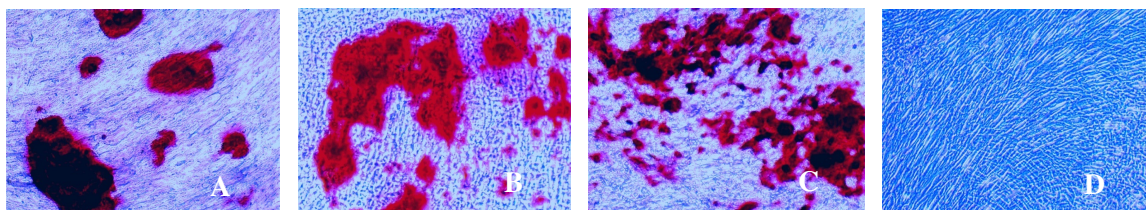
โดยรอบของตัวเซลล์ พื้นผิววัสดุเอ็มทีเอมีลักษณะขรุขระ กลุ่มเอ็มทีเอที่เวลา 8 และ 24 ชั่วโมง พบเซลล์บนพื้นผิววัสดุในลักษณะแบนราบ และมีการยื่นยาวของไซโทพลาสซึมโปรเซสออกไปโดยรอบ (รูปที่ 5) กลุ่มเอ็มทีเอที่เวลา 24 ชั่วโมง พบโครงสร้างคล้ายผลึกบนพื้นผิววัสดุและพบฟิลิโพเดีย (Filopodia) ของเซลล์ (รูปที่ 7)



รูปที่ 1 ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุจีไอ-ซีเอสและเอ็มทีเอในระดับความเข้มข้นและเวลาต่างกัน

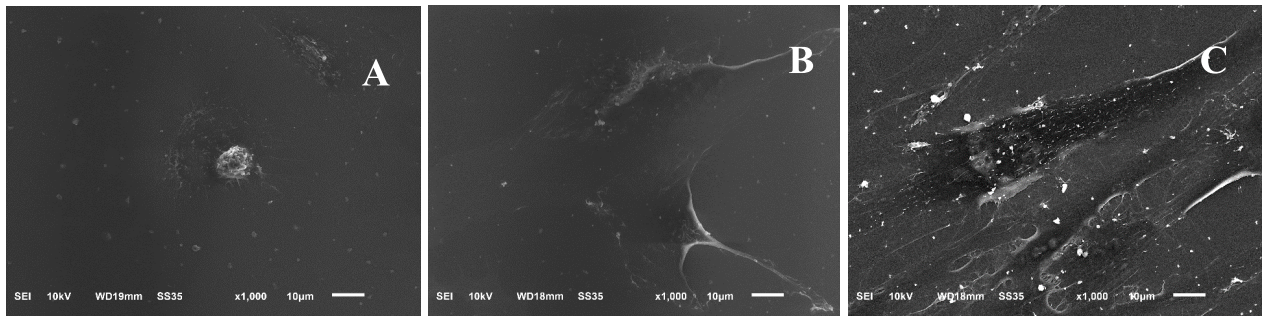
Figure 1 Biocompatibility of GI-CS and MTA at different concentration and time

- หมายเหตุ 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 ($P < 0.05$)



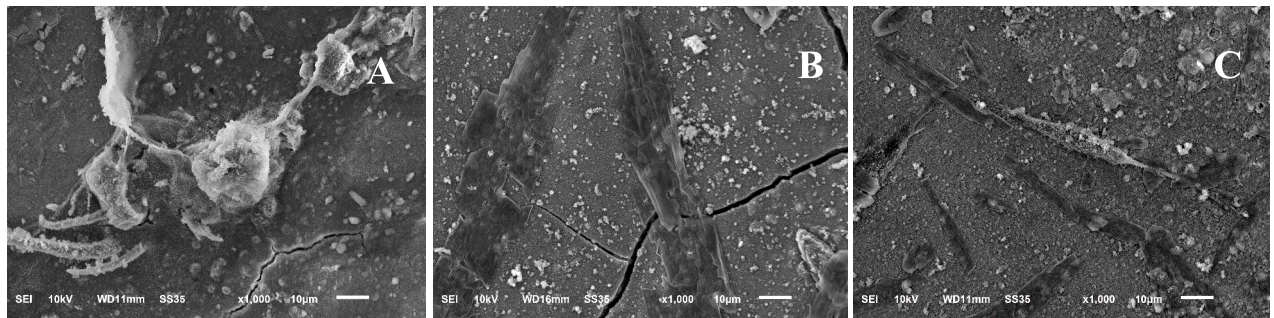
รูปที่ 2 ลักษณะการย้อมติดสีอะลิซาริน เรดหลังเซลล์สร้างกระดูกได้รับการกระตุ้นด้วยสารสกัดของวัสดุเป็นเวลา 14 วัน. (A) วัสดุจีไอ-ซีเอส (B) วัสดุเอ็มทีเอ (C) กลุ่มควบคุมบวก (อาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีฤทธิ์เหนี่ยวนำการสร้างเนื้อเยื่อแข็ง) (D) กลุ่มควบคุมลบ (อาหารเลี้ยงเซลล์เอ็มเอ็ม)

Figure 2 Biomaterialization by Alizarin red staining of osteoblast cells cultured for 14 days. (A) GI-CS (B) MTA (C) Positive control (Osteogenic media) (D) Negative control (DMEM)



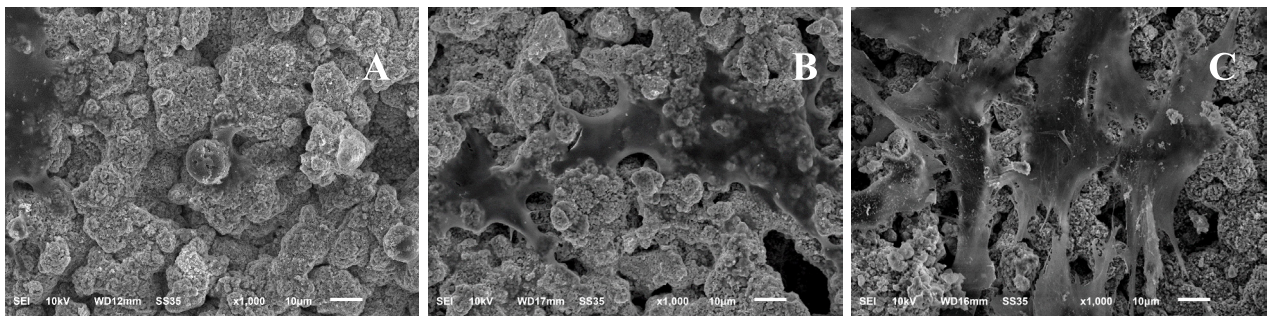
รูปที่ 3 สัณฐานของเซลล์สร้างกระดูกในกลุ่มควบคุมที่เวลา 4 ชั่วโมง (A), 8 ชั่วโมง (B), และ 24 ชั่วโมง (C) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (1000x)

Figure 3 SEM micrographs (1000x) of osteoblast morphology in control group at 4 hours (A), 8 ชั่วโมง (B), and 24 ชั่วโมง (C)



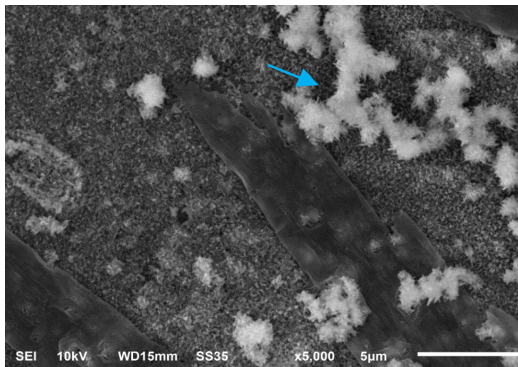
รูปที่ 4 สัณฐานของเซลล์สร้างกระดูกในกลุ่มจีไอ-ซีเอสที่เวลา 4 ชั่วโมง (A), 8 ชั่วโมง (B), และ 24 ชั่วโมง (C) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (1000x)

Figure 4 SEM micrographs (1000x) of osteoblast morphology in GI-CS group at 4 hours (A), 8 ชั่วโมง (B), and 24 ชั่วโมง (C)



รูปที่ 5 สัณฐานของเซลล์สร้างกระดูกในกลุ่มเอ็มทีเอที่เวลา 4 ชั่วโมง (A), 8 ชั่วโมง (B), และ 24 ชั่วโมง (C) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (1000x)

Figure 5 SEM micrographs (1000x) of osteoblast morphology in MTA group at 4 hours (A), 8 ชั่วโมง (B), and 24 ชั่วโมง (C)

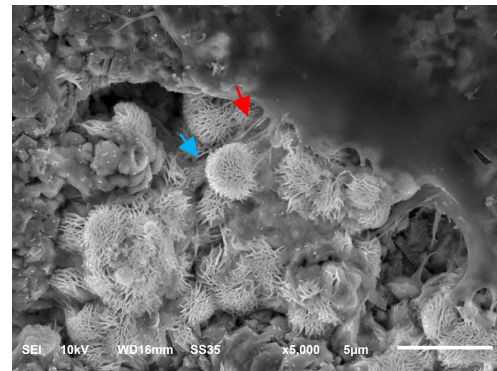


รูปที่ 6 สัณฐานของเซลล์สร้างกระดูกบนพื้นผิวของวัสดุจีไอ-ซีเอส ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (5000x) พบโครงสร้างคล้ายผลึกบนพื้นผิววัสดุ (ลูกศรฟ้า)

Figure 6 SEM micrograph of osteoblast morphology on GI-CS (5000x)

บทวิจารณ์

การศึกษานี้ทำเพื่อศึกษาคุณสมบัติความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมร้อยละ 50 ที่มีสัดส่วนผงต่อน้ำเท่ากับ 1.7 ต่อ 1 ซึ่งเป็นสัดส่วนที่ได้รับการปรับปรุงมาจากการศึกษาของ Chaisinghanuae และคณะ (2014)¹⁸ ที่ทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมในสัดส่วนผงต่อน้ำเท่ากับ 2.73 ต่อ 1 กับสเต็มเซลล์ของเนื้อเยื่อในต่อมา Burapat และคณะ (2016)²¹ พบว่าการปรับสัดส่วนผงต่อน้ำเท่ากับ 1.7 ต่อ 1 จะช่วยให้วัสดุมีความชื้นเหนียวที่เหมาะสมและมีความสามารถในการปิดผนึกและแนบสนิทได้ดี การศึกษานี้ใช้เซลล์ปฐมภูมิเพาะเลี้ยงเซลล์สร้างกระดูกที่ได้จากกระดูกเบ้าฟันมนุษย์ ซึ่งเป็นเซลล์ที่อยู่รอบปลายรากฟัน และมีส่วนเกี่ยวข้องกับการหายของแผลบริเวณรอบรากฟัน ความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซลล์ต่อวัสดุจะพิจารณาความมีชีวิตของเซลล์และการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ โดยศึกษาในรูปแบบการใช้สารสกัดจากวัสดุเพื่อหวังผลให้เกิดการปลดปล่อยองค์ประกอบของวัสดุสู่อาหารเลี้ยงเซลล์มากที่สุด ซึ่งคาดว่าจะมีผลกระทบต่อความมีชีวิตของเซลล์²² และยังเป็น การจำลองสิ่งแวดล้อมรอบรากฟันภายหลังการทำคัลยกรรมปลายรากฟัน ซึ่งอาจมีการปลดปล่อยองค์ประกอบของวัสดุอุดย้อนปลายรากฟันเมื่อสัมผัสของเหลวของร่างกายออกมาที่เนื้อเยื่อรอบ



รูปที่ 7 สัณฐานของเซลล์สร้างกระดูกบนพื้นผิวของวัสดุเอ็มทีเอ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (5000x) พบฟีลอปอดิอียของเซลล์ (ลูกศรแดง) และพบโครงสร้างคล้ายผลึกบนพื้นผิววัสดุ (ลูกศรฟ้า)

Figure 7 SEM micrograph of osteoblast morphology on MTA (5000x). Filopodia (red arrow). Crystal-like deposition (blue arrow)

รากฟัน²³ นอกจากนี้การประเมินการสะสมแร่ธาตุของเซลล์สร้างกระดูกด้วยวิธีย้อมติดสีอะลิซาริน เรด และการศึกษาสัณฐานของเซลล์สร้างกระดูกบนพื้นผิวของวัสดุทำเพื่อเป็นการสนับสนุนผลความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุ การวัดความมีชีวิตของเซลล์และการเพิ่มจำนวนเซลล์ใช้วิธีเอ็มทีที ซึ่งเป็นการศึกษาวิธีมาตรฐานในการประเมินความเป็นพิษของวัสดุ โดยประเมินกิจกรรมเมตาบอลิซึมของเซลล์ (Cell metabolic activity) จากการทำงานของเอนไซม์ไมโทคอนเดรียล ดีไฮโดรจีเนส (Mitochondrial dehydrogenase) ในเซลล์ที่มีชีวิต ข้อดีของวิธีนี้คือ ทำง่าย ให้ผลรวดเร็วและมีความแม่นยำ²⁴ ความเป็นพิษของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์อาจเกิดจากปลดปล่อยองค์ประกอบที่เป็นโลหะจากวัสดุ เช่น ฟลูออไรด์ไอออน อะลูมิเนียมไอออน สตรอนเทียมไอออน และซิงค์ไอออน ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อเซลล์ได้²⁵ อย่างไรก็ตามการผสมกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์เข้ากับโมโนแคลเซียมซิลิเกต อาจช่วยลดความเป็นกรดจากส่วนเหลวของ คีแทคโมลาร์ให้เป็นกลาง (Neutralized) ด้วยคุณสมบัติความเป็นด่างของโมโนแคลเซียมซิลิเกต¹⁸ จึงอาจสนับสนุนความเข้ากันได้ทางชีวภาพต่อเซลล์

สารสกัดของวัสดุจีไอ-ซีเอสที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดจะมีความเป็นพิษต่อเซลล์มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดเจือจางในอัตราส่วน 1:1 1:2 1:4 และ 1:8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในวันที่ 3 และ 7

สารสกัดของวัสดุจีไอ-ซีเอสสามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างกระดูกได้มากขึ้นตามช่วงเวลา 1, 3 และ 7 วันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กลุ่มเอ็มทีเอสสามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์ได้มากขึ้นตามเวลา แต่ไม่พบความแตกต่างของปริมาณเซลล์ในวันที่ 3 และวันที่ 7 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) นอกจากนี้พบว่าสารสกัดของวัสดุจีไอ-ซีเอสสามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ได้มากกว่าเอ็มทีเอสในวันที่ 3 และ 7 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sangsawatpong และคณะ (2013)¹⁹ และ Chaisinghanuae และคณะ (2014)¹⁸ ที่สนับสนุนว่าวัสดุจีไอ-ซีเอสไม่เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ข้างเส้นใยและเซลล์เนื้อเยื่อในฟันมนุษย์ Valerio และคณะ (2004)²⁶ และ Ni และ Chang (2008)¹⁴ พบว่าแคลเซียมและซิลิกอนไอออนมีบทบาทในการกระตุ้นการเจริญของเซลล์คล้ายเซลล์สร้างกระดูก วัสดุวัสดุจีไอ-ซีเอส ประกอบด้วยส่วนผงของซีเทคโมลาร์มีแคลเซียมฟลูออโรอะลูมิเนียมซิลิเกต ซึ่งประกอบไปด้วยแคลเซียมและซิลิเกตไอออน และพบการปลดปล่อยแคลเซียมและซิลิเกตไอออนออกจากพื้นผิวของวัสดุเมื่อแช่ในสารละลายจำลองคล้ายของเหลวในร่างกาย¹² ซึ่งความสามารถในการปลดปล่อยแคลเซียมไอออนและซิลิเกตไอออนของวัสดุน่าจะสนับสนุนความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเซลล์

การประเมินการสะสมแร่ธาตุของเซลล์สร้างกระดูกและการศึกษาพื้นฐานของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดเป็นการให้ข้อมูลเพิ่มเติมเพื่อสนับสนุนการศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุด้วยวิธีเอ็มทีเอส การประเมินการสะสมแร่ธาตุของเซลล์สร้างกระดูกด้วยวิธีการย้อมสีอะลิซาริน เรด เพื่อประเมินการสร้างผลึกแคลเซียมเมื่อเซลล์ได้รับกระตุ้นด้วยสารสกัดที่ต้องการทดสอบพบว่า วัสดุจีไอ-ซีเอสและเอ็มทีเอสมีความสามารถที่จะกระตุ้นเซลล์สร้างกระดูกให้เกิดการสะสมแร่ธาตุได้ Jung และคณะ³⁰ รายงานว่าแคลเซียมไอออนที่ถูกปลดปล่อยจากผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์มีผลกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงของเซลล์สร้างกระดูก An และคณะ³¹ พบว่าปริมาณแคลเซียมไอออนมีบทบาทโดยตรงต่อการสร้างปุ่มเมทริกซ์ที่มีการสะสมแร่ธาตุ (Mineralized matrix nodule formation) นอกจากนี้ Maeno และคณะ³² สนับสนุนว่าปริมาณของแคลเซียมไอออนมีผลกระตุ้นให้เกิดการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนและการ

เปลี่ยนแปลงของเซลล์สร้างกระดูกตลอดจนกระตุ้นให้เซลล์เกิดการสะสมแร่ธาตุ ลักษณะพื้นฐานของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบการแผ่ของเซลล์บนพื้นผิววัสดุจีไอ-ซีเอสและวัสดุเอ็มทีเอส อย่างไรก็ตามการย่นของไฮโดรพลาสซึมโปรเซสสามารถพบได้เพียงในวัสดุเอ็มทีเอส ความแตกต่างของลักษณะการยึดเกาะของเซลล์และการแผ่ของเซลล์อาจเกี่ยวข้องกับหลายปัจจัย เช่น ความขรุขระของพื้นผิววัสดุ ค่า pH ของวัสดุ และองค์ประกอบทางเคมีของวัสดุ²⁷⁻²⁹ ในวัสดุจีไอ-ซีเอสและเอ็มทีเอสที่เวลา 24 ชั่วโมง พบโครงสร้างคล้ายผลึกบนพื้นผิวของวัสดุ และพบลักษณะการย่นฟิลิโพเดียของเซลล์ไปเกาะกับโครงสร้างคล้ายผลึกนั้น ซึ่งแสดงถึงการมีความเข้ากันได้กับเซลล์ อย่างไรก็ตามเพื่อให้ทราบถึงองค์ประกอบของผลึก ควรทำการศึกษาวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุของผลึกเพิ่มเติมด้วยการวิเคราะห์เอเนอร์จีดีสเพอร์ซีฟเอ็กซ์เรย์ (Energy-dispersive X-ray analysis)

บทสรุป

ภายใต้ข้อจำกัดของการศึกษาในห้องปฏิบัติการ ที่ศึกษาถึงความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุกลาสไอโอโนเมอร์ซีเมนต์ที่มีโมโนแคลเซียมซิลิเกตผสมที่อัตราส่วนร้อยละ 50 ในอัตราส่วนผงต่อน้ำเท่ากับ 1.7:1 พบว่าเป็นวัสดุที่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเซลล์สร้างกระดูก ดังนั้นวัสดุจีไอ-ซีเอสจึงอาจถูกพัฒนาเป็นหนึ่งแนวทางเลือกของวัสดุอุดย้อนปลายรากฟันหรือวัสดุทางทันตกรรมที่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับร่างกายได้ในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้โรงพยาบาลทันตกรรม คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ผศ.ดร.ปณณมา ศิริพันธ์โนน ที่ให้ความอนุเคราะห์วัสดุโมโนแคลเซียมซิลิเกต ขอขอบคุณ ผศ.ทพญ.อินทรา วงศ์เยาว์ฟ้า ที่ให้ความอนุเคราะห์เซลล์สร้างกระดูกสำหรับใช้ในงานวิจัยนี้ ตลอดจนคำแนะนำในข้อมูลเกี่ยวกับวัสดุนี้ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาโสตศอนาสิก คณะทันตแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ที่ช่วยเหลือและให้คำแนะนำด้านเทคนิคในการเพาะเลี้ยงเซลล์ ตลอดจนเอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จ ลุล่วง

เอกสารอ้างอิง

- Gartner AH, Dorn SO. Advances in endodontic surgery. *Dent Clin North Am* 1992;36(2):357-78.
- Bodrumlu E. Biocompatibility of retrograde root filling materials: A review. *Aust Endod J* 2008;34(1):30-5.
- Torabinejad M, Ford TRP. Root end filling materials: a review. *Dent Traumatol* 1996;12(4):161-78.
- Hench LL. Bioceramics. *J Am Ceram Soc* 1998;81(7):1705-28.
- Torabinejad M, Rastegar AF, Kettering JD, Pitt Ford TR. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. *J Endod* 1995;21(3):109-12.
- 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. *J Endod* 1997;23(4):225-8.
- Economides N, Pantelidou O, Kokkas A, Tziafas D. Short-term periradicular tissue response to mineral trioxide aggregate (MTA) as root-end filling material. *Int Endod J* 2003;36(1):44-8.
- 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.
- Islam I, Kheng Chng H, Jin Yap AU. Comparison of the physical and mechanical properties of MTA and Portland cement. *J Endod* 2006;32(3):193-7.
- Cao W, Hench LL. Bioactive materials. *Ceram Int* 1996;22(6):493-507.
- Hennessy G, Ben-Nissan B. Innovative bioceramics [monograph on the internet] Australia: Institute of Materials Engineering; 2004 [cited 2018 Feb 1]. Available from: <http://hdl.handle.net/10453/5698>.
- Siriphannon P, Kameshima Y, Yasumori A, Okada K, Hayashi S. Comparative study of the formation of hydroxyapatite in simulated body fluid under static and flowing systems. *J Biomed Mater Res* 2002;60(1):175-85.
- Ni S, Chang J, Chou L, Zhai W. Comparison of osteoblast-like cell responses to calcium silicate and tricalcium phosphate ceramics in vitro. *J Biomed Mater Res* 2007;80(1):174-83.
- Ni S, Chang J. In vitro Degradation, Bioactivity, and cytocompatibility of calcium silicate, dimagnesium silicate, and tricalcium phosphate bioceramics. *J Biomater Appl* 2008;24(2):139-58.
- 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.
- Shirazi F, Moghaddam E, Mehrli 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. *J Biomed Mater Res* 2014;102(11):3973-85.
- Pothiraksanont S. A Comparative study of physical properties of GIC containing β -monocalcium silicate to mineral trioxide aggregate [dissertation]. Srinakarinwirot University; 2013.
- Chaisinghanuae P. Cytotoxicity and osteogenic properties of glass ionomer cement containing monocalcium silicate compound in human dental pulp cells [dissertation]. Srinakarinwirot University; 2014.
- Sangswatpong W. Bioactivity and biocompatibility of glass ionomer cement added with monocalcium silicate at various ratios [dissertation]. Srinakarinwirot University; 2013.
- Horvichitr P. Sealing ability and bacterial leakage of glass ionomer cement containing monocalcium silicate [dissertation]. Srinakarinwirot University; 2014.
- Burapat B. Sealing ability and marginal adaptation of glass ionomer cement containing β -monocalcium silicate. *SWU DENT J* 2016;9(2):26-38.
- International Organization for Standardization. Sample preparation and reference materials. Biological evaluation of medical devices. 4th ed. ISO: Switzerland; 2012. 4-10.
- Keiser K, Johnson CC, Tipton DA. Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblasts. *J Endod* 2000;26(5):288-91.
- Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983;65(1):55-63.
- Hatton PV, Hurrell-Gillingham K, Brook IM. Biocompatibility of glass-ionomer bone cements. *J dent* 2006;34(8):598-601.
- 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.

27. 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. J Endod 2012;38(12):1627-30.
28. Ahmed HM, Luddin N, Kannan TP, Mokhtar KI, Ahmad A. Cell attachment properties of portland cement-based endodontic materials: Biological and methodological Considerations. J Endod 2014;40(10):1517-23.
29. Anselme K. Osteoblast adhesion on biomaterials. Biomaterials 2000;21(7):667-81.
30. Jung G Y, Park Y J, Han J S. Effects of HA released calcium ion on osteoblast differentiation. J Mater Sci 2010;21(5):1649-54.
31. 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. J Mater Sci 2012;23(3):789-95.
32. 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.

ผู้รับผิดชอบบทความ

จารุมา ศักดิ์ดี

ภาควิชาทันตกรรมอนุรักษ์และทันตกรรมประดิษฐ์

คณะทันตแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

กรุงเทพมหานคร 10110

โทรศัพท์ : 0 2649 5212

จดหมายอิเล็กทรอนิกส์: bjsakdee@gmail.com

Biocompatibility of Glass Ionomer Cement Containing Monocalcium Silicate Compound on Human Osteoblast

Thanapornpun P*, Siriphannon P**, Sakdee J*

Abstract

Monocalcium silicate is one of calcium silicate based materials that have bioactive properties and influence cellular biologic response. Many studies attempted to improve biological property of glass ionomer cement by adding Monocalcium silicate. The purpose of this in vitro study was to evaluate biocompatibility, biomineralization capacity, and cell morphology of human alveolar osteoblast on glass ionomer cement containing monocalcium silicate cement or GI-CS. Method: Human osteoblast derived from human alveolar bone were used. The biocompatibility of glass ionomer cement containing 50% w/w monocalcium silicate was examine the cell viability and proliferation by MTT assay. The optical density was measured by a spectrophotometer at 570 nm. The cell morphology was investigated by Scanning electron microscope. Biomineralization assay was tested by Alizarin red staining. Result: GI-CS increased cell proliferation significantly at 1, 3 and 7 days ($P < 0.05$). In day 3 and day 7, Cell viability of GI-CS was significantly higher than that of MTA ($P < 0.05$). The scanning electron microscope revealed cell spreading on both GI-CS and MTA. And both materials had biomineralization capacity. Conclusions: GI-CS and MTA showed good biocompatibility on human osteoblast.

Keywords: Glass ionomer cement containing monocalcium silicate/ Biocompatibility/ Osteoblast/ MTA

Corresponding author

Jaruma Sakdee

Department of Conservative Dentistry and Prosthodontics,

Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University

Bangkok 10110

Tel. : +66 2649 5212

E-mail: bjsakdee@gmail.com

* Department of Conservative Dentistry and Prosthodontics, Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University, Bangkok.

** Department of Chemistry, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok.