

ผลของวิธีการล้างคลองรากฟันด้วยสารละลายอีดีทีเอ ต่อปริมาณทรานส์ฟอร์มมิงโกรทแฟคเตอร์-เบต้า1 ที่ปลดปล่อยจากเนื้อฟันที่ผนังคลองรากฟัน

จิตหทัย ว่องวิทย์เดชา* พิรพร ทวีวัฒนไพศาล** ชินาลย์ ปิยะชน**

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อเปรียบเทียบปริมาณทรานส์ฟอร์มมิงโกรทแฟคเตอร์-เบต้า1 (ทีจีเอฟ-เบต้า1) ที่ปลดปล่อยจากผนังคลองรากฟันเมื่อล้างคลองรากฟันด้วยวิธีการที่ต่างกัน โดยทำการจำลองลักษณะปลายรากฟันเปิดในฟันกรามน้อยล่าง จำนวน 37 ซี่ ซึ่งถอนจากผู้ป่วยในช่วงอายุ 16-25 ปี แบ่งกลุ่มทดลองเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 9 ตัวอย่าง และมี 1 ตัวอย่างเป็นกลุ่มควบคุมลบ โดยกลุ่มที่ 1 ล้างด้วยสารละลายอีดีทีเอ ร้อยละ 17 (20 มิลลิลิตร 5 นาที) และล้างตามด้วยน้ำเกลือ (5 มิลลิลิตร 1 นาที) กลุ่มที่ 2 ล้างด้วยสารละลายอีดีทีเอ ร้อยละ 17 ร่วมกับการใช้เออร์ซีเพ และล้างตามด้วยน้ำเกลือ กลุ่มที่ 3 ล้างสารละลายอีดีทีเอร้อยละ 17 ร่วมกับการใช้เอ็กซ์พีเอนโคพินิซเซอร์ และล้างตามด้วยน้ำเกลือ กลุ่มที่ 4 ล้างด้วยสารละลายอีดีทีเอ ร้อยละ 17 จากนั้นตรวจวัดปริมาณทีจีเอฟ-เบต้า1 ที่ปลดปล่อยจากผนังคลองรากฟันด้วยวิธีอิมมูโนโลยี วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียวและการทดสอบทีเคย์ ที่ระดับนัยสำคัญน้อยกว่า 0.05 ผลการศึกษาพบว่ากลุ่มที่ 4 มีปริมาณทีจีเอฟ-เบต้า1 มากที่สุด ($1,341.57 \pm 419.46$ pg/ml) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ 2 (1010.75 ± 728.34 pg/ml) ส่วนกลุ่มที่ 1 (656.61 ± 454.47 pg/ml) และกลุ่มที่ 3 (685.78 ± 318.47 pg/ml) พบปริมาณทีจีเอฟ-เบต้า1 น้อยกว่ากลุ่มที่ 4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ภายใต้อาณัติของการศึกษาการล้างคลองรากฟันด้วยสารละลายอีดีทีเอส่งเสริมให้มีการปลดปล่อยทีจีเอฟ-เบต้า1 จากผนังคลองรากฟันในกระบวนการรีजेเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์ได้ดีที่สุด การล้างด้วยน้ำเกลือหลังล้างด้วยสารละลายอีดีทีเอควรใช้ระบบอัลตราโซนิคส์แบบไร้แรงร่วมด้วยขณะล้างด้วยอีดีทีเอ ซึ่งจะส่งเสริมให้มีประสิทธิภาพเท่ากับการล้างด้วยสารละลายอีดีทีเอเพียงอย่างเดียว

คำใช้รหัส: รีजेเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์/ อีดีทีเอ/ ทรานส์ฟอร์มมิงโกรทแฟคเตอร์-เบต้า1/ วิธีล้างคลองรากฟัน/ อัลตราโซนิคส์แบบไร้แรง/ เอ็กซ์พีเอนโคพินิซเซอร์

Received: April 12, 2022

Revised: Jul 16, 2022

Accepted: Aug 01, 2022

บทนำ

รีजेเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์ เป็นกระบวนการรักษาการอักเสบของปลายรากฟันแท้ที่เจริญไม่สมบูรณ์ ผลการรักษาทำให้มีการเพิ่มความยาวและความหนาของรากฟันได้¹ ซึ่งความสำเร็จของการรักษาจะต้องอาศัยเซลล์ต้นกำเนิดที่เข้ามาจากบริเวณปลายรากฟัน โครจข่ายจากการกระตุ้นลิ้มเลือด² รวมถึงโกรทแฟคเตอร์ที่ทำหน้าที่ส่งสัญญาณให้เซลล์เกิดกระบวนการเพิ่มจำนวน (Proliferation) และการเปลี่ยนแปลงสภาพ (Differentiation) ของเซลล์ต้นกำเนิดไปเป็นเซลล์หรือเนื้อเยื่อต่างๆ³

โดยโกรทแฟคเตอร์สามารถพบได้จากโครจข่ายจากการกระตุ้นลิ้มเลือดและภายในเนื้อฟัน ซึ่งมีหลายชนิดและทำหน้าที่แตกต่างกันไป เมื่อล้างคลองรากฟันด้วยสารละลายอีดีทีเอ (Ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) จะพบ

การปลดปล่อยทีจีเอฟ-เบต้า1 (Transforming growth factor-beta1, TGF- β 1) ออกมาจากเนื้อฟันได้มากกว่าโกรทแฟคเตอร์ตัวอื่น⁴ ซึ่งทีจีเอฟ-เบต้า1 มีความสำคัญกับการเจริญของเซลล์⁵ การสร้างเส้นเลือด⁶ การเรียกเซลล์ต้นกำเนิดบริเวณปลายรากฟันให้เข้ามาในคลองรากฟัน⁷ การสะสมแร่ธาตุและการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์ต้นกำเนิดไปเป็นเซลล์สร้างเนื้อฟัน⁸

โกรทแฟคเตอร์จะถูกปลดปล่อยออกมาในรูปที่ใช้งานได้เมื่อเกิดการละลายของแร่ธาตุในเนื้อฟันเช่น เมื่อสัมผัสกับสารละลายอีดีทีเอ^{4,9,10} ซึ่งมีคุณสมบัติในการกำจัดสารอนินทรีย์และแร่ธาตุที่อยู่ในคลองรากฟัน^{11,12} ทำให้เนื้อฟันกว้างขึ้นไม่ขัดขวางต่อการปลดปล่อยโกรทแฟคเตอร์ สารละลายอีดีทีเอจึงถูกแนะนำให้ใช้ในงานรีजेเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์^{13,14} โดยในปัจจุบันสมาคมทันตแพทย์เอ็นโดดอนต์แห่งสหรัฐอเมริกา

* นิสิตปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาทันตกรรมคลินิก (วิทยาเอ็นโดดอนต์) คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพมหานคร

** ภาควิชาทันตกรรมอนุรักษ์และทันตกรรมประดิษฐ์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพมหานคร

(American Association of Endodontists, AAE)¹³ และสมาคมทันตแพทย์เอ็นโดดอนต์แห่งสหภาพยุโรป (European Society of Endodontology, ESE)¹⁴ ได้แนะนำให้มีการล้างคลองรากฟันครั้งสุดท้ายด้วยสารละลายอีดีทีเอ อย่างไรก็ตามสมาคมทันตแพทย์เอ็นโดดอนต์แห่งสหภาพยุโรปได้แนะนำให้ล้างเพิ่มตามด้วยน้ำเกลือก่อนทำการกระตุ่นลิ้มเลือดจากปลายรากฟัน¹⁴ ซึ่งการล้างตามด้วยน้ำเกลือนั้นจะส่งผลดีทั้งต่อเซลล์ต้นกำเนิด^{15,16} และลิ้มเลือดที่เป็นโครงข่าย¹⁷ แต่อาจทำให้ปริมาณที่จีเอฟ-เบต้า1 ลดลง¹⁸

ระบบอัลตราโซนิคส์แบบไร้แรง (Passive ultrasonic irrigation, PUI) เมื่อใช้ร่วมในการล้างคลองรากฟันจะช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพการทำความสะอาดคลองรากฟันด้วยปรากฏการณ์อะคูสติกสตรีมมิง (Acoustic streaming) และเควิเทชัน (Cavitation) ของของเหลวภายในคลองรากฟัน ส่วนไฟล์นิกเกิลไทเทเนียมแบบหมุนด้วยเครื่องระบบอิเล็กทรอนิกส์เอนโดฟินิชเซอร์ (XP endo® finisher, FKG Dentaire, La Chaux-de-Fonds, Switzerland) เสริมประสิทธิภาพการล้างจากรูปแบบการเคลื่อนที่ของไฟล์ กล่าวคือมีการเหวี่ยงสะบัดเป็นวงกว้างของไฟล์ทำให้ไฟล์สามารถสัมผัสผนังคลองรากฟันที่มีขนาดใหญ่เนื่องจากมีการเจริญของรากไม่สมบูรณ์ ไฟล์จะสัมผัสทำความสะอาดผนังคลองรากฟันโดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างคลองรากฟันเดิม หลายการศึกษาที่ผ่านมา¹⁹⁻²⁴ พบว่าเครื่องมือทั้งสองระบบสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดยาที่หลงเหลือในคลองรากฟัน เศษเนื้อฟัน และแผ่นชีวภาพได้ ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดการปลดปล่อยโกรทแฟกเตอร์ได้เพิ่มขึ้นเนื่องจากไม่มีสิ่งกีดขวางบริเวณผนังคลองรากฟัน ซึ่งการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการใช้ระบบอัลตราโซนิคส์แบบไร้แรงร่วมในการล้างจะช่วยส่งผลให้ปริมาณที่จีเอฟ-เบต้า1 จากผนังคลองรากฟันเพิ่มขึ้นได้^{16,18,25}

ในปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับการปลดปล่อยที่จีเอฟ-เบต้า1 จากผนังคลองรากฟัน เมื่อใช้ไฟล์นิกเกิลไทเทเนียมแบบหมุนด้วยเครื่องระบบอิเล็กทรอนิกส์เอนโดฟินิชเซอร์ร่วมในการล้างคลองรากฟัน การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบปริมาณที่จีเอฟ-เบต้า1 ที่ปลดปล่อยจากผนังคลองรากฟันเมื่อล้างคลองรากฟันด้วยวิธีการที่ต่างกัน

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างฟันที่ถูกถอนจากผู้ป่วยที่ใช้ในการศึกษานี้ได้ผ่านขั้นตอนการชี้แจงวิธีการวิจัยและได้รับความยินยอมจากผู้ป่วยทุกราย โดยผู้ป่วยที่อายุน้อยกว่า 18 ปี จะชี้แจงและขอความยินยอมจากผู้ปกครองด้วย โครงการวิจัยนี้ผ่านการ

ประเมินจริยธรรมจากคณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ หมายเลขรับรอง SWUEC/E-407/2563E

การเตรียมตัวอย่างฟัน นำฟันกรามน้อยล่างของมนุษย์รากเดี่ยวที่รากฟันเจริญสมบูรณ์ จำนวน 37 ซี่ ซึ่งถูกถอนเพื่อการจัดฟันโดยผู้ป่วยอยู่ในช่วงอายุ 16-25 ปี ฟันไม่มีรอยผุ วัสดุอุดหรือรอยแตกร้าว มีเพียง 1 คลองรากฟันโดยตลอดถึงปลายรากฟัน ทำการเก็บฟันในน้ำเกลือฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไม่เกิน 2 วัน²⁶ โดยขนาดของกลุ่มตัวอย่างถูกคำนวณด้วยโปรแกรมจีพาวเวอร์ (G* power) ซึ่งอ้างอิงผลการศึกษาของ Chae และคณะ²⁷ และใช้ $\alpha=0.05$, Power=0.8

ทำการตัดบริเวณตัวฟันออกด้วยหัวกรอกากเพชรโดยให้ตั้งฉากกับแนวแกนฟันที่ตำแหน่งรอยต่อของเคลือบฟันกับเคลือบรากฟัน จำลองลักษณะรากฟันเปิดโดยตัดบริเวณปลายรากฟันออกให้เหลือความยาวรากฟันทั้งหมด 10 มิลลิเมตร วัดโดยเวอร์เนียคาลิเปอร์ (Vernier caliper) จากนั้นขยายคลองรากฟันตลอดความยาวด้วยไฟล์ชนิดเค เบอร์ 15 20 และ 25 และหัวกรอกเทสท์กลิตเดนเบอร์ 1 จนถึงเบอร์ 4 ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.1 มิลลิเมตร ล้างคลองรากฟันด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้น ร้อยละ 1.5 ปริมาณ 20 มิลลิลิตร โดยใช้เข็มล้างคลองรากฟันที่มีรูเปิดด้านข้างเกจ 27 (Kerr, Orange, CA) ล้างขยับขึ้นลงในตำแหน่ง ที่ห่างจากปลายราก 1 มิลลิเมตร แล้วทำการซัดคลองรากฟันให้แห้ง

นำตัวอย่างฟันมาปิดบริเวณปลายรากฟันด้วยวัสดุอุดฟันเรซินคอมโพสิทชนิดฟิลเทคซี 350 เอ็กซ์ที (Filtek™ Z350XT, 3M ESPE, Sumaré, SP, Brazil) ร่วมกับสารยึดติดชนิดเคลียร์ฟิล (Clearfil™ SE bond, Kuraray Co, Ltd, Osaka, Japan) โดยให้วัสดุอุดฟันมีความหนาน้อยที่สุดที่สามารถปิดบริเวณรูเปิดปลายรากฟันเพื่อไม่ให้เกิดการรั่วซึมของของเหลวออกมาทางปลายรากฟันได้ และต้องไม่มีส่วนของวัสดุอุดเข้าไปภายในคลองรากฟัน (รูปที่ 1A) หลังจากนั้นจึงทำการทาเคลือบผิวด้านนอกบริเวณส่วนบน 5 มิลลิเมตร ด้วยน้ำยาทาเล็บ (รูปที่ 1B) โดยมีหนึ่งตัวอย่างที่ทำน้ำยาทาเล็บทั้งผิวด้านนอกและด้านในคลองรากฟันทั้งหมดเพื่อเป็นกลุ่มควบคุมลบ (Negative control)

ทำแบบจำลองการล้างคลองรากฟันโดยนำรากฟันใส่ในวัสดุพิมพ์ปาก (I-SiL premium putty, Spident, Korea) ที่อยู่ในหลอดไมโครทิวเพื่อใช้เป็นฐานใส่ฟัน (รูปที่ 1C)

การล้างคลองรากฟัน แบ่งกลุ่มทดลองแบบสุ่มเป็น 4 กลุ่มโดยแต่ละกลุ่มมี 9 ตัวอย่าง (รูปที่ 2) ซึ่งทุกกลุ่มจะถูกล้างคลองรากฟันภายใต้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) การล้างจะใช้เข็มที่มีรูเปิดด้านข้างเกจ 27 ล้างขยับขึ้นลงในตำแหน่งที่ห่างจากปลายราก 1 มิลลิเมตร กลุ่มที่มีการใช้อุปกรณ์เสริม เข็มล้างจะถูกใส่ไว้ในตำแหน่งรูเปิดคลองรากฟันด้านบนบนลิกลงไปในคลองรากฟัน 2 มิลลิเมตรโดยไม่มีการขยับของเข็ม

กลุ่มที่ 1 (EDTA/N): ล้างด้วยสารละลายเอ็ดทีเอ ความเข้มข้นร้อยละ 17 ปริมาณ 20 มิลลิตรเป็นเวลา 5 นาที โดยแบ่งล้างเป็น 5 รอบ รอบละ 4 มิลลิตรเป็นเวลา 1 นาที ตามด้วยการล้างน้ำเกลือปริมาณ 5 มิลลิตรเป็นเวลา 1 นาที โดยล้างติดต่อกันทันที

กลุ่มที่ 2 (EDTA+PUI/N): ล้างด้วยสารละลายเอ็ดทีเอ ความเข้มข้นร้อยละ 17 ปริมาณ 20 มิลลิตรเป็นเวลา 5 นาที โดยแบ่งล้างเป็น 5 รอบ ซึ่งในรอบที่ 2 3 และ 4 จะทำการล้างร่วมกับการใช้เออร์ริเซฟ (Irrisafe™, Satelec Acteon Group, Merignac, France) โดยใส่เออร์ริเซฟให้สั้นกว่าความยาวทำงาน 1 มิลลิเมตร ปรับระดับความแรงของเครื่องอัลตราโซนิค (P5 Newtron, Satelec Acteon Group, Merignac, France) ที่ระดับ 6 ทำการกระตุ้นภายในคลองรากฟันรอบละ 20 วินาที²⁸

หลังล้างครบ 5 รอบทำการล้างน้ำเกลือปริมาณ 5 มิลลิตรเป็นเวลา 1 นาที โดยล้างติดต่อกันทันที

กลุ่มที่ 3 (EDTA+XP/N): ล้างด้วยสารละลายเอ็ดทีเอ ความเข้มข้นร้อยละ 17 ปริมาณ 20 มิลลิตรเป็นเวลา 5 นาที โดยแบ่งล้างเป็น 5 รอบ ซึ่งในรอบที่ 3 จะทำการล้างร่วมกับการใช้เอ็กซ์พีเอนโดฟินิชเชอร์ (XP endo® finisher, FKG Dentaire, La Chaux- de-Fonds, Switzerland) โดยตั้งเครื่องหมุนให้มีความเร็วรอบ 800 รอบต่อนาที และทอร์กขนาด 1 นิวตันเซนติเมตร ขยับขึ้นลงช้าๆ 7-8 มิลลิเมตร ให้ถึงความยาวทำงานเป็นเวลา 1 นาที²¹ หลังล้างครบ 5 รอบทำการล้างน้ำเกลือปริมาณ 5 มิลลิตรเป็นเวลา 1 นาทีโดยล้างติดต่อกันทันที

กลุ่มที่ 4 (EDTA): ล้างด้วยสารละลายเอ็ดทีเอ ความเข้มข้นร้อยละ 17 ปริมาณ 20 มิลลิตรเป็นเวลา 5 นาที โดยแบ่งล้างเป็น 5 รอบ รอบละ 4 มิลลิตรเป็นเวลา 1 นาที โดยล้างติดต่อกันทันที

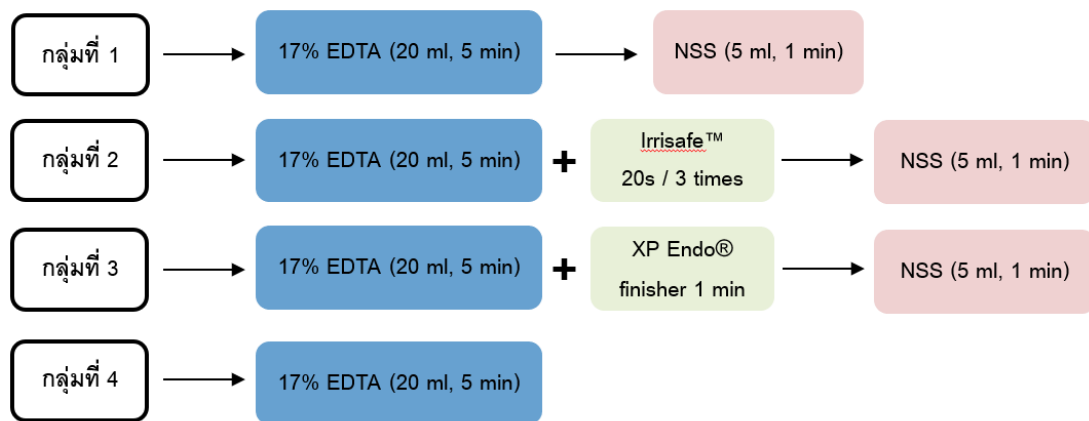
กลุ่มควบคุมลบ : ตัวอย่าง 1 ชิ้นจะถูกเคลือบด้วยน้ำยาทาเล็บทั้งผิวด้านนอกและด้านในคลองรากฟันโดยไม่ได้รับการล้างคลองรากฟัน

ทำการซึบคลองรากฟันด้วยกระดาษซึบรูปกรวยแหลมขนาดใหญ่ โดยกระดาษซึบรูปกรวยแหลม 3 ตัวสุดท้ายจะต้องแห้งสนิทและนำไปทำขั้นตอนต่อไปทันที



รูปที่ 1 (A) การอุดปิดบริเวณปลายรากฟันด้วยวัสดุอุดฟันเรซินคอมโพสิทชนิดฟิลเทคซี 350 เอ็กซ์ที (B) ทาเคลือบผิวด้านนอกบริเวณส่วนบนด้วยน้ำยาทาเล็บ (C) นำตัวอย่างรากฟันยึดในวัสดุพิมพ์ซิลิโคนที่อยู่ในหลอดไมโครทิว

Figure 1 (A) Root apex was covered with filling material, (B) Upper part of external surfaces were covered with nail varnish, (C) Sample was remounted into silicone mold in a microtube.



รูปที่ 2 วิธีการล้างคลองรากฟัน

Figure 2 Irrigation protocols

การเก็บตัวอย่างและตรวจวัดปริมาณ ทีจีเอฟ-เบต้า1

เติมอาหารเลี้ยงเซลล์อัลฟา เอ็มอีเอ็ม (α -MEM, alpha minimum essential medium) ที่เติมเพนนิซิลิน และ สเตริ์ปโตมายซิน ความเข้มข้น 100 U/mL ปริมาณ 20 ไมโครลิตร ลงในตัวอย่างคลองรากฟันที่ผ่านการล้างมาแล้วและในคลองรากฟัน กลุ่มควบคุม ซึ่งตัวอย่างฟันที่ใส่อาหารเลี้ยงเซลล์ได้ไม่พอที่จะถูกคัดออกเพื่อควบคุมปริมาตรของคลองรากฟัน และทำซ้ำเพื่อให้ได้ตัวอย่างจำนวน 9 ชิ้นต่อกลุ่ม เก็บตัวอย่างในกล่องที่มีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 100 แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง¹⁰ หลังจากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ใน คลองรากฟันขึ้นมา 11 ไมโครลิตร ซึ่งตัวอย่างฟันที่ดูดได้ไม่ถึง 11 ไมโครลิตร จะถูกคัดออก นำมาเจือจางกับอาหารเลี้ยงเซลล์ 110 ไมโครลิตรในไมโครทิว ได้เป็นสารละลายทั้งหมด 121 ไมโครลิตร ทำการแช่แข็งสารละลายทันทีและเก็บไว้ที่อุณหภูมิลบ 80 องศาเซลเซียส เมื่อได้ตัวอย่างครบ 4 กลุ่ม กลุ่มละ 9 ตัวอย่าง และ 1 ตัวอย่างที่เป็นกลุ่มควบคุมลบ จึงทำการละลายสารละลายที่เก็บไว้⁴ และนำมาตรวจวัดปริมาณทีจีเอฟ-เบต้า1 โดยใช้ชุดทดสอบฮิวมา (Human TGF- β 1 Quantikine ELISA kit, R&D Systems, Minneapolis, MN) และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Asys UVM 340, Biochrom®, Cambridge, United Kingdom) ที่ 450 นาโนเมตร โดยจะแบ่งทดสอบตัวอย่างเป็น 2 หลุมต่อ 1 ตัวอย่าง (Duplicate) เมื่อได้ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงแล้วจึงนำ มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานในชุดทดสอบนั้นเพื่อแปลผลเป็นค่าความเข้มข้นของทีจีเอฟ-เบต้า (pg/mL) และคูณด้วย 11 (Dilution factor) เป็นค่าทีจีเอฟ-เบต้า ที่ถูกปลดปล่อยออกมาและนำไปใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยกำหนดค่าต่ำสุดที่

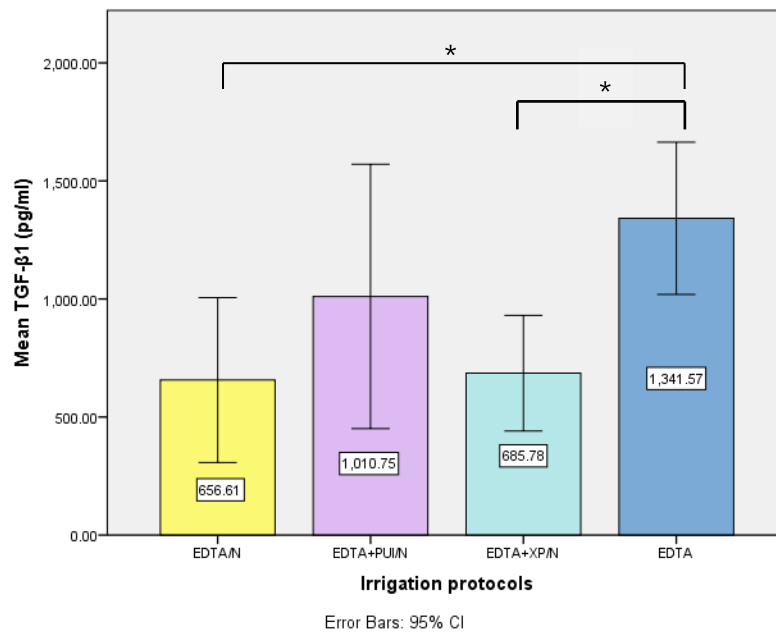
สามารถตรวจได้ (Detection limit) เท่ากับค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดของทีจีเอฟ-เบต้า1 ที่ชุดทดสอบฮิวมากำหนดมาในการทำกราฟมาตรฐานหารด้วย 2⁴

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรมเอสพีเอสเอส (IBM® SPSS® statistics version 20) วัดการกระจายตัวของข้อมูลโดยใช้ซาปิโร-วิลค์ (Shapiro-Wilk test) และวัดความแปรปรวนของข้อมูลด้วยการทดสอบเลวิน (Levene's Test) พบว่าข้อมูลมีการกระจายตัวปกติและมีความเป็นเอกพันธ์ของความแปรปรวน จึงทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) และหาความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยใช้การทดสอบทูกีย์ (Tukey's test) ที่ระดับนัยสำคัญน้อยกว่า 0.5

ผล

การล้างคลองรากฟันด้วยสารละลายอีดีทีเอเพียงอย่างเดียว (กลุ่มที่ 4) มีค่าเฉลี่ยปริมาณทีจีเอฟ-เบต้า1 มากที่สุดเท่ากับ $1,341.57 \pm 419.46$ pg/ml รองลงมาคือกลุ่มที่ 2 ล้างด้วยสารละลายอีดีทีเอร่วมกับระบบอัลตราโซนิคส์แบบไร้แรงและล้างตามด้วยน้ำเกลือ (1010.75 ± 728.34 pg/ml) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ 4 ส่วนการล้างด้วยสารละลายอีดีทีเอและล้างตามด้วยน้ำเกลือร่วมกับเอ็กซ์พีเอนโดฟินิชเซอร์ (กลุ่มที่ 3) และไม่ใช้อุปกรณ์เสริม (กลุ่มที่ 1) มีปริมาณทีจีเอฟ-เบต้า1 ที่ปลดปล่อยจากผนังคลองรากฟันน้อยที่สุดต่างจากกลุ่มที่ 4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีความแตกต่างกับกลุ่มที่ 2 อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 3) (ตารางที่ 1)



รูปที่ 3 แผนภูมิเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณ ทีจีเอฟ-เบต้า1 จำแนกตามวิธีการล้างคลองรากฟัน
*มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญน้อยกว่า 0.05

Figure 3 Bar chart comparing the mean amount of TGF-β1 in each irrigation protocols.
*Statistically significant difference at $P < 0.05$

ตารางที่ 1 ปริมาณทีจีเอฟ-เบต้า1 ที่ปลดปล่อยออกมาในแต่ละกลุ่ม

Table 1 TGF-β1 released within each group

Group	TGF-β1 (pg/ml)		Min	Max
	Mean±SD			
1 (EDTA/N)	656.61±454.47 ^t		202.07	1346.84
2 (EDTA+PUI/N)	1010.75±728.34		220.22	2508.11
3 (EDTA+XP/N)	685.78±318.47 [*]		293.15	1209.78
4 (EDTA)	1,341.57±419.46 ^{* t}		769.23	1944.80

^t, t มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญน้อยกว่า 0.05

^{*}, t Statistically significant difference at $P < 0.05$

บทวิจารณ์

โกรทแฟกเตอร์เป็นหนึ่งในปัจจัยที่สำคัญสำหรับการทำรีเจนเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์ การศึกษานี้จึงได้ศึกษาปริมาณทีจีเอฟ-เบต้า1 เนื่องจากเป็นโกรทแฟกเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับการทำงานภายในเซลล์ที่หลากหลายเช่น การเจริญของเซลล์ การสร้างเมทริกซ์ (Matrix synthesis)⁵ ช่วยให้เกิดการเจริญของเส้นเลือด (Vessel maturation)⁶ และมีความสำคัญอย่างยิ่งในการเกิดการสะสมแร่ธาตุและการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์ต้นกำเนิดไปเป็นเซลล์สร้างเนื้อฟัน⁸ นอกจากนี้ยังมีผลเรียกเซลล์ (Chemotactic effect) ที่ได้มาจากเนื้อเยื่อกำเนิดฟัน (Dental papilla-derived cell)⁷

ทีจีเอฟ-เบต้า1 ถูกปลดปล่อยออกมาจากเนื้อฟันรอบท่อ (Peritubular tubule)²⁹ ในปริมาณที่สามารถตรวจพบได้^{4,10} โดยการศึกษาการปลดปล่อยของโกรทแฟกเตอร์ที่ผ่านมามีหลายวิธีทั้งใช้เนื้อฟันที่เป็นผงบดละเอียด³⁰⁻³³ หรือแผ่นเนื้อฟัน (Dentin disk) ที่ถูกตัดออกมาจากส่วนรากฟันหรือตัวฟันให้ได้ขนาดที่กำหนด^{4,9,34} นำมาแช่ในสารที่ต้องการศึกษาแล้วจึงนำสารนั้นไปวัดปริมาณโกรทแฟกเตอร์ที่ถูกปลดปล่อยออกมา อย่างไรก็ตามทั้งสองวิธีนี้ไม่สอดคล้องกับลักษณะการล้างคลองรากฟันในการทำรีเจนเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์ทางคลินิก การศึกษานี้จึงเลือกใช้การจำลองคลองรากฟันที่เจริญไม่

สมบูรณ์ ซึ่งปรับมาจากการศึกษาของ Chae และคณะ²⁷ เป็นวิธีที่สามารถเลียนแบบสภาวะทางคลินิก อีกทั้งตัวอย่างฟันจะถูกทาน้ำยาทาเล็บด้านบนขึ้นงาน ครอบคลุมลงมา 5 มิลลิเมตรจากส่วนตัดขวาง เพื่อป้องกันไม่ให้น้ำยาล้างคลองรากฟันสัมผัสกับผิวเนื้อฟันด้านบนส่วนตัดขวาง ปริมาณที่จีเอฟ-เบต้า1 ที่วัดได้นั้นจึงมาจากการปลดปล่อยจากผนังคลองรากฟันด้านในเท่านั้น^{10,27}

การเตรียมตัวอย่างฟันในการศึกษานี้จะจำลองลักษณะรากฟันที่มีการเจริญอยู่ในช่วงที่ 4 ตามการแบ่งของ Cvek³⁵ โดยมีการควบคุมทั้งขนาดและปริมาตรของคลองรากฟันเพื่อควบคุมพื้นที่สัมผัสของคลองรากฟันกับน้ำยาล้างคลองรากฟัน และเลือกใช้ฟันที่ถูกถอนมาจากผู้ป่วยที่อยู่ในช่วงอายุ 16-25 ปี เนื่องจากปริมาณของทีจีเอฟ-เบต้า1 มีความสัมพันธ์กับเนื้อฟันรอบท่อ โดยบริเวณเนื้อฟันที่ไม่มีท่อเนื้อฟัน (Nontubular dentin) จะไม่พบทีจีเอฟ-เบต้า1²⁹ และอายุเป็นปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณท่อเนื้อฟัน โดยอายุที่เพิ่มขึ้นจะมีการสะสมแร่ธาตุเพิ่มขึ้นทำให้จำนวนท่อเนื้อฟันลดลง³⁶ ซึ่งจะส่งผลต่อปริมาณเมทริกซ์โปรตีน (Matrix protein) ในเนื้อฟันรอบท่อ³⁷ การศึกษานี้จึงควบคุมช่วงอายุผู้ป่วยที่เป็นผู้บริจาคฟันซึ่งเป็นปัจจัยต้นที่อาจมีผลต่อปริมาณทีจีเอฟ-เบต้า1

ในการศึกษานี้ฟันที่ถูกถอนจะถูกนำมาเก็บไว้ในน้ำเกลือฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสไม่เกิน 2 วัน²⁶ เพื่อคงสภาพเนื้อฟันหลังถอนฟันให้มีองค์ประกอบเหมือนขณะอยู่ในช่องปาก หลีกเลี่ยงไม่ให้โกรทแฟคเตอร์ซึ่งสะสมอยู่ในเนื้อฟันถูกย่อยสลาย ซึ่งในระหว่างการพัฒนาของฟันโกรทแฟคเตอร์จะถูกสร้างและเก็บไว้ในเมทริกซ์ของเนื้อฟัน (Dentine matrix) โดยสร้างพันธะกับแร่ธาตุในเนื้อฟันในรูปแบบที่ไม่สามารถใช้งานได้ (Inactive form)³⁸ เพื่อหลีกเลี่ยงไม่ให้ถูกย่อยสลายและมีอายุได้นานขึ้นแต่ยังคงความสามารถในการส่งสัญญาณต่างๆ ได้ และจะถูกปลดปล่อยออกมาในรูปแบบที่ใช้งานได้ใหม่โดยสารที่ทำให้เกิดการละลายของแร่ธาตุในเนื้อฟัน (Demineralization agent) เช่น สารละลายยอดีทีเอ^{4,9,10} กรดซิตริก^{27,34} กรดฟอสฟอริก²⁷ และกรดแลคติกจากโรคฟันผุ³⁹

สารละลายยอดีทีเอถูกแนะนำให้ใช้ในงานรีเจนเนอเรทีฟเอ็นโดดอนติกส์^{13,14} เนื่องจากมีคุณสมบัติในการกำจัดสารอินทรีย์และแร่ธาตุที่อยู่ในคลองรากฟันโดยไปจับกับไอออนของโลหะที่มีประจุ 2+ หรือ 3+ เช่น แคลเซียม เมื่อสารละลายยอดีทีเอจับกับแคลเซียมแล้วจะเกิดเป็นโมเลกุลที่มีความเสถียรและจะหยุดกระบวนการละลายแร่ธาตุ^{11,12} ในการศึกษานี้ได้ออกแบบการล้างคลองรากฟันโดยล้างสารละลายยอดีทีเอเป็น

5 รอบ รอบละ 4 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 นาที ล้างติดต่อกันทันที ส่วนการล้างน้ำเกลือจะล้างปริมาณ 5 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 นาที เพื่อให้ใกล้เคียงกับการทำงานจริง และสามารถใช้กระบอกล้างคลองรากฟันขนาด 5 มิลลิลิตร เพื่อลดแรงดันในการล้างเมื่อใช้กระบอกขนาดใหญ่ อีกทั้งสามารถควบคุมเวลา กับปริมาณการล้างให้พอดีกันได้มากขึ้น ส่วนการใช้อุปกรณ์เสริมจะกำหนดวิธีการใช้ตามคำแนะนำของบริษัท^{21,28} หลังจากล้างคลองรากฟันจะทำการขับเคลื่อนรากฟันจนกระดาศับรูปกรวยแหลม 3 ตัวสุดท้ายแห้งสนิทเพื่อให้คลองรากฟันแห้งตามขบวนการทำรีเจนเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์ อีกทั้งเพื่อไม่ให้ปริมาณทีจีเอฟ-เบต้า1 ที่อยู่ในน้ำยาล้างคลองรากฟัน^{4,18} ที่เหลืออยู่ส่งผลต่อผลการศึกษา

วิธีการเก็บตัวอย่างที่นำมาตรวจหาปริมาณทีจีเอฟ-เบต้า1 จะถูกปรับเปลี่ยนไปจากการศึกษาของ Chae และคณะ²⁷ โดยการศึกษาของ Chae และคณะ²⁷ จะนำตัวอย่างฟันที่เตรียมมาแล้วแช่ในสารตัวกลาง 1 มิลลิลิตร แล้วจึงนำมาหาปริมาณทีจีเอฟ-เบต้า1 ด้วยอีไลซา แต่ในการศึกษานี้จะนำสารตัวกลางใส่ในคลองรากฟันรอให้เกิดการปลดปล่อยทีจีเอฟ-เบต้า1 แล้วจึงดูดออกมาเจือจางให้มีปริมาณพอดีกับการใช้ทดสอบอีไลซา (100 ไมโครลิตร) ซึ่งวิธีการนี้จะช่วยลดอัตราส่วนการเจือจาง ทำให้สามารถหาอัตราส่วนการเจือจาง (Dilution factor) ได้ถูกต้องและพบปริมาณทีจีเอฟ-เบต้า1 ที่ถูกต้องมากกว่า

ผลการศึกษาพบว่าวิธีการล้างคลองรากฟันที่ต่างกันส่งผลต่อการปลดปล่อยทีจีเอฟ-เบต้า1 โดยกลุ่มที่ล้างคลองรากฟันด้วยสารละลายยอดีทีเอเพียงอย่างเดียวพบการปลดปล่อยของทีจีเอฟ-เบต้า1 มากที่สุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ล้างด้วยสารละลายยอดีทีเอตามด้วยน้ำเกลือ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Widbiller และคณะ¹⁸ ที่พบว่า การล้างน้ำเกลือหลังจากล้างด้วยสารละลายยอดีทีเอจะส่งผลให้ปริมาณทีจีเอฟ-เบต้า1 ลดลง อาจเนื่องมาจากน้ำเกลือที่เป็นตัวชะล้างทั้งสารละลายยอดีทีเอที่หลงเหลืออยู่และทีจีเอฟ-เบต้า1 ที่ถูกปลดปล่อยออกมา อีกทั้งน้ำเกลือไม่ได้เป็นสารที่ทำให้เกิดการละลายของแร่ธาตุในเนื้อฟัน จึงไม่สามารถละลายสารอินทรีย์และทำให้เกิดการปลดปล่อยโกรทแฟคเตอร์ได้²⁷ อย่างไรก็ตาม สารละลายยอดีทีเอมีความเป็นกรดและเป็นพิษต่อเซลล์มากกว่าน้ำเกลือ⁴⁰ อีกทั้งยังไปยับยั้งการสร้างเส้นใยในลิ้มเลือด⁴¹ และเพิ่มเวลาในการแข็งตัวของลิ้มเลือด (Clotting time)⁴² ดังนั้นการล้างน้ำเกลือเพื่อชะล้างสารละลายยอดีทีเอที่หลงเหลืออยู่แม้จะทำให้มีการปลดปล่อยทีจีเอฟ-เบต้า1 ลดลง แต่จะส่งผลดีทั้งต่อ

เซลล์ต้นกำเนิด^{15,16} และลิ้มเลือดที่เป็นโครงข่าย¹⁷ ทั้งสามารถส่งเสริมความมีชีวิต¹⁶ และการยึดเกาะของเซลล์¹⁵ ช่วยให้ลิ้มเลือดมีลักษณะของเส้นใยที่หนาแน่นกว่าและเซลล์เม็ดเลือดแดง (Erythrocyte) มีความปกติมากกว่า¹⁷

ระบบอัลตราโซนิคส์แบบไร้แรงเป็นอุปกรณ์ช่วยเสริมประสิทธิภาพการล้างคลองรากฟันโดยเปลี่ยนพลังงานไฟฟ้าเป็นคลื่นอัลตราโซนิคส์ ส่งผ่านพลังงานจากการสั่นไปยังไฟล์และน้ำยาล้างคลองรากฟันโดยที่ไม่มีการสัมผัสคลองรากฟันทำให้เกิดปรากฏการณ์อะคูสติกสตรีมมิงและเควิตേഷัน การเคลื่อนที่ของของเหลวจะช่วยให้ส่งเสริมคุณสมบัติของสารละลายอีดีทีเอในการปลดปล่อยทีจีเอฟ-เบต้า¹⁶ โดยก่อให้เกิดการไหลเวียนของน้ำยาล้างคลองรากฟันเข้าไปในท่อเนื้อฟันในส่วนที่ลึกได้⁴³⁻⁴⁵ โดยจากการศึกษาของ Li และคณะ⁴⁵ พบว่าการใช้อุปกรณ์ระบบอัลตราโซนิคส์แบบไร้แรงเป็นอุปกรณ์เสริมในการล้างคลองรากฟัน สามารถกำจัดแบคทีเรียที่อยู่ลึกลงไปใต้เนื้อฟันได้เฉลี่ย 152 ไมโครเมตร ซึ่งการไหลเวียนของน้ำยาล้างคลองรากฟันเข้าไปในท่อเนื้อฟันจะช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวที่สารละลายอีดีทีเอสัมผัสกับเนื้อฟันรอบท่อซึ่งเป็นแหล่งสะสมของทีจีเอฟ-เบต้า¹ จึงทำให้การศึกษานี้พบว่าการใช้อุปกรณ์เสริมด้วยระบบอัลตราโซนิคส์แบบไร้แรงร่วมกับขณะล้างด้วยสารละลายอีดีทีเอก่อนล้างตามด้วยน้ำเกลือจะช่วยส่งเสริมให้เกิดการปลดปล่อยของทีจีเอฟ-เบต้า¹ ได้เท่ากับการล้างด้วยสารละลายอีดีทีเอเพียงชนิดเดียว สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมา^{16,18,25} นอกจากนี้การศึกษาของ Aksel และคณะ¹⁶ ยังพบว่าการใช้ระบบอัลตราโซนิคส์แบบไร้แรงเป็นอุปกรณ์เสริมในขณะล้างคลองรากฟันจะช่วยเพิ่มความมีชีวิตของสเต็มเซลล์เนื้อเยื่อในโพรงฟัน (Dental pulp stem cells, DPSCs) โดยมีการเพิ่มจำนวนของเซลล์และเกิดการเคลื่อนย้ายของเซลล์เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากทีจีเอฟ-เบต้า¹ ที่ส่งสัญญาณให้กับเซลล์ อย่างไรก็ตามผลการศึกษาในกลุ่มนี้มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่มากกว่ากลุ่มอื่น อาจเป็นผลเนื่องมาจากรูปร่างคลองรากฟันของแต่ละตัวอย่างมีความแตกต่างกัน ซึ่งถึงแม้การศึกษานี้มีการควบคุมขนาดและปริมาตรของคลองรากฟันแล้ว แต่การควบคุมรูปร่างของคลองรากฟันตัวอย่างที่เป็นฟันธรรมชาติให้มีลักษณะเหมือนกันทุกตัวอย่างนั้นเป็นไปได้ยาก จึงทำให้การไหลเวียนของน้ำยาในคลองรากฟันที่รูปร่างแตกต่างกันให้ผลลัพธ์ที่ต่างกัน²⁴

เอ็กซ์พีเอนโดฟินิชเซอร์เป็นไฟล์นิกเกิลไทเทเนียมทำจากอัลลอยชนิดแมกซ์ไวร์ (Max wire alloy) เป็นอุปกรณ์เสริมอีกชนิดที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการล้างคลองรากฟัน^{19,20,23} ซึ่งเครื่องมือมีความยืดหยุ่นสูงและมีคุณสมบัติจำรูปร่าง (Shape-memory) โดยที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เครื่องมือจะอยู่ในวัฏภาคมาร์เทนไซต์ (Martensite phase) คือมีลักษณะเป็นเส้นตรง แต่เมื่อเครื่องมือเข้าไปในคลองรากฟันที่อุณหภูมิร่างกาย โลหะจะเปลี่ยนมาอยู่ในวัฏภาคออสเทนไนท์ (Austenite phase) ซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นเครื่องมือโค้งลักษณะคล้ายข้อ เมื่อเครื่องมือโค้งงอและเคลื่อนที่ขึ้นลงในคลองรากฟัน เครื่องมือจะสับเป็นวงกว้างเข้าไปสัมผัสกับผนังคลองรากฟันได้เป็นบริเวณกว้างทำให้ผนังคลองรากฟันสะอาดโดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างคลองรากฟันเดิม²²

จากการศึกษานี้การใช้เอ็กซ์พีเอนโดฟินิชเซอร์ร่วมด้วยขณะล้างด้วยสารละลายอีดีทีเอและตามด้วยน้ำเกลือ พบปริมาณทีจีเอฟ-เบต้า¹ ที่ปลดปล่อยออกมาน้อยกว่ากลุ่มที่ล้างด้วยสารละลายอีดีทีเอเพียงชนิดเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเนื่องมาจากกลไกการทำงานของเอ็กซ์พีเอนโดฟินิชเซอร์ที่อาศัยการสัมผัสของเครื่องมือกับผนังคลองรากฟันแต่ไม่ได้ส่งเสริมให้เกิดการไหลเวียนของน้ำยาล้างคลองรากฟันเข้าไปในท่อเนื้อฟันส่วนที่ลึกมากขึ้น โดยจากการศึกษาของ Azim และคณะ⁴⁶ พบว่าการล้างคลองรากฟันร่วมกับเอ็กซ์พีเอนโดฟินิชเซอร์จะสามารถกำจัดแบคทีเรียได้ดีในบริเวณคลองรากฟันหลักและส่วนต้นของท่อเนื้อฟันลึกไม่เกิน 50 ไมโครเมตร

การศึกษานี้เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการ ที่ทำการจำลองฟันแท้ที่รากฟันเจริญสมบูรณ์ให้มีลักษณะปลายรากฟันเปิด เนื่องจากข้อจำกัดในการหาตัวอย่างฟัน ลักษณะของท่อเนื้อฟันจึงมีความแตกต่างกับฟันปลายรากเปิดที่เจริญไม่สมบูรณ์³⁶ อีกทั้งทีจีเอฟ-เบต้า¹ ที่วัดได้จากการศึกษานี้มาจากการปลดปล่อยจากผนังคลองรากฟันเท่านั้น ไม่ได้ทำการวัดปริมาณทีจีเอฟ-เบต้า¹ ที่อาจติดอยู่บนผนังคลองรากฟัน นอกจากนี้ผลการปลดปล่อยทีจีเอฟ-เบต้า¹ จากการศึกษานี้เป็นเพียงปัจจัยเบื้องต้นที่อาจส่งผลต่อความสำเร็จของกระบวนการรีजेเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์ ดังนั้นควรมีการศึกษาต่อเนื่องถึงผลของวิธีการล้างคลองรากฟันต่อการเคลื่อนย้ายของเซลล์ การยึดเกาะของเซลล์ การเพิ่มจำนวนของเซลล์ และการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์ต้นกำเนิด ไปเป็นเซลล์ที่จำเพาะ ซึ่งเป็นสิ่งที่ต้องการให้เกิดอย่างแท้จริงในการทำรีजेเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์

บทสรุป

ภายใต้ข้อจำกัดการวิจัยในห้องปฏิบัติการนี้ ในการล้างคลองรากฟันครั้งสุดท้ายของการทำรีเจเนอเรทีฟ เอ็นโดดอนติกส์ การล้างน้ำเกลือหลังการล้างด้วยสารละลายอีดีทีเอ ควรใช้ระบบอัลตราโซนิคส์แบบไร้แรงเป็นอุปกรณ์เสริมในขั้นตอนการล้างด้วยสารละลายอีดีทีเอ ซึ่งจะช่วยให้ส่งเสริมให้เกิดการปลดปล่อยของทีจีเอฟ-เบต้า1 จนมีปริมาณที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการล้างด้วยสารละลายอีดีทีเอเพียงชนิดเดียว อย่างไรก็ตามการใช้เอ็กซ์พีเอนโดฟินิชเซอร์เป็นอุปกรณ์เสริมไม่ช่วยส่งเสริมให้เกิดการปลดปล่อยของทีจีเอฟ-เบต้า1

เอกสารอ้างอิง

1. Jeeruphan T, Jantararat J, Yanpiset K, Suwannapan L, Khewsawai P, Hargreaves KM. Mahidol Study 1: Comparison of radiographic and survival outcomes of immature teeth treated with either regenerative endodontic or apexification methods: A retrospective study. *J Endod* 2012;38(10):1330-6.
2. Diogenes A, Henry MA, Teixeira FB, Hargreaves KM. An update on clinical regenerative endodontics. *Endod Top* 2013;28(1):2-23.
3. Murray PE, Garcia-Godoy F, Hargreaves KM. Regenerative endodontics: A review of current status and a call for action. *J Endod* 2007;33(4):377-90.
4. Galler KM, Buchalla W, Hiller K-A, Federlin M, Eidt A, Schiefersteiner M, et al. Influence of root canal disinfectants on growth factor release from dentin. *J Endod* 2015;41(3):363-8.
5. Taipale J, Saharinen J, Keski-Oja J. Extracellular matrix-associated transforming growth factor-beta: role in cancer cell growth and invasion. *Adv Cancer Res* 1998;75:87-134.
6. Gomez-Sosa J, Caviedes-Bucheli J, Diaz-Barrera L, Munoz H. Gene expression of growth factors with angiogenic potential in human dental pulp tissue from teeth with complete and incomplete root development. *Int Endod J* 2019;52(12):1716-22.
7. Kwon SM, Kim SA, Yoon JH, Ahn SG. Transforming growth factor β 1-Induced heat shock protein 27 activation promotes migration of mouse dental papilla-derived MDPC-23 cells. *J Endod* 2010;36(8):1332-5.
8. Li Y, Lü X, Sun X, Bai S, Li S, Shi J. Odontoblast-like cell differentiation and dentin formation induced with TGF- β 1. *Arch Oral Biol* 2011;56(11):1221-9.
9. Gonçalves LF, Fernandes AP, Cosme-Silva L, Colombo FA, Martins NS, Oliveira TM, et al. Effect of EDTA on TGF- β 1 released from the dentin matrix and its influence on dental pulp stem cell migration. *Braz Oral Res* 2016;30(1):e131-7.
10. Zeng Q, Nguyen S, Zhang H, Chebrolu HP, Alzebedeh D, Badi MA, et al. Release of growth factors into root canal by irrigations in regenerative endodontics. *J Endod* 2016;42(12):1760-6.
11. Hülsmann M, Heckendorff M, Lennon Á. Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. *Int Endod J* 2003;36(12):810-30.
12. Yamada RS, Armas A, Goldman M, Lin PS. A scanning electron microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating solutions: Part 3. *J Endod* 1983;9(4):137-42.
13. American Association of Endodontists. Clinical considerations for a regenerative procedure. Revised 5/18/2021. Available from: <https://f3f142zs0k2w1kg84k5p9i1o-wpengine.netdna-ssl.com/specialty/wp-content/uploads/sites/2/2021/08/ClinicalConsiderationsApprovedByREC062921.pdf>.
14. Galler KM, Krastl G, Simon S, Van Gorp G, Meschi N, Vahedi B, et al. European society of endodontology position statement: revitalization procedures. *Int Endod J* 2016;49(8):717-23.
15. Prompreecha S, Sastraruji T, Louwakul P, Srisuwan T. Dynamic irrigation promotes apical papilla cell attachment in an *Ex Vivo* immature root canal model. *J Endod* 2018;44(5):744-50.

16. Aksel H, Albanyan H, Bosaid F, Azim AA. Dentin conditioning protocol for regenerative endodontic procedures. *J Endod* 2020;46(8):1099-104.
17. Taweewattanapaisan P, Jantararat J, Ounjai P, Janebodin K. The effects of EDTA on blood clot in regenerative endodontic procedures. *J Endod* 2019;45(3):281-6.
18. Widbiller M, Eidt A, Hiller KA, Buchalla W, Schmalz G, Galler KM. Ultrasonic activation of irrigants increases growth factor release from human dentine. *Clin Oral Investig* 2017;21(3):879-88.
19. Bao P, Shen Y, Lin J, Haapasalo M. *In vitro* efficacy of XP-endo finisher with 2 different protocols on biofilm removal from apical root canals. *J Endod* 2017;43(2):321-5.
20. Elnaghy AM, Mandorah A, Elsaka SE. Effectiveness of xp-endo finisher, endoActivator, and file agitation on debris and smear layer removal in curved root canals: a comparative study. *Odontology* 2017;105(2):178-83.
21. XP-endo Finisher and Finisher R- Instructions for use [Internet]. Available from: <https://www.fkg.ch/products/endodontics/canal-shaping-and-cleaning/xp-endo-finisher>.
22. Gavini G, Santos Md, Caldeira CL, Machado MEdL, Freire LG, Iglecias EF, et al. Nickel–titanium instruments in endodontics: a concise review of the state of the art. *Braz Oral Res* 2018; 32(suppl 1):44-65.
23. Keskin C, Sariyilmaz E, Sariyilmaz Ö. Efficacy of XP-endo Finisher file in removing calcium hydroxide from simulated internal resorption cavity. *J Endod* 2017;43(1):126-30.
24. Van der Sluis L, Versluis M, Wu M, Wesselink P. Passive ultrasonic irrigation of the root canal: a review of the literature. *Int Endod J* 2007; 40(6):415-26.
25. Hancerliogullari D, Erdemir A, Kisa U. The effect of different irrigation solutions and activation techniques on the expression of growth factors from dentine of extracted teeth. *Int Endod J* 2021;54(10):1915-24.
26. Sirisha K, Tanikonda R, Shankar Y R, Kumar P. Validity of bond strength tests: A critical review- Part I. *J Conserv Dent* 2014;17(4):305-11.
27. Chae Y, Yang M, Kim J. Release of TGF- β 1 into root canals with various final irrigants in regenerative endodontics: an in vitro analysis. *Int Endod J* 2018;51(12):1389-97.
28. Irrisafe ultrasonic irrigation [Internet]. Available from: https://www.endoexperience.com/documents/Irrisafe_D43801_R2_Eng.pdf.
29. Ivica A, Deari S, Patcas R, Weber FE, Zehnder M. Transforming growth factor beta 1 distribution and content in the root dentin of young mature and immature human premolars. *J Endod* 2020;46(5):641-7.
30. Cassidy N, Fahey M, Prime S, Smith A. Comparative analysis of transforming growth factor- β isoforms 1–3 in human and rabbit dentine matrices. *Arch Oral Biol* 1997;42(3):219-23.
31. Finkelman RD, Mohan S, Jennings JC, Taylor AK, Jepsen S, Baylink DJ. Quantitation of growth factors IGF-I, SGF/IGF-II, and TGF- β in human dentin. *J Bone Miner Res* 1990;5(7):717-23.
32. Roberts-Clark D, Smith A. Angiogenic growth factors in human dentine matrix. *Arch Oral Biol* 2000;45(11):1013-6.
33. Sadaghiani L, Gleeson HB, Youde S, Waddington RJ, Lynch CD, Sloan AJ. Growth factor liberation and DPSC response following dentine conditioning. *J Dent Res* 2016;95(11):1298-307.
34. Ivica A, Zehnder M, Mateos JM, Ghayor C, Weber FE. Biomimetic conditioning of human dentin using citric acid. *J Endod* 2019;45(1):45-50.

35. Cvek M. Prognosis of luxated non-vital maxillary incisors treated with calcium hydroxide and filled with gutta-percha. A retrospective clinical study. *Endod Dent Traumatol* 1992;8(2):45-55.
36. Carrigan PJ, Morse DR, Furst ML, Sinai IH. A scanning electron microscopic evaluation of human dentinal tubules according to age and location. *J Endod* 1984;10(8):359-63.
37. Carda C, Peydro A. Ultrastructural patterns of human dentinal tubules, odontoblasts processes and nerve fibres. *Tissue Cell* 2006;38(2):141-50.
38. Smith AJ, Scheven BA, Takahashi Y, Ferracane JL, Shelton RM, Cooper PR. Dentine as a bioactive extracellular matrix. *Arch Oral Biol* 2012;57(2):109-21.
39. Magloire H, Romeas A, Melin M, Couble M-L, Bleicher F, Farges J-C. Molecular regulation of odontoblast activity under dentin injury. *Adv Dent Res* 2001;15(1):46-50.
40. Malheiros C, Marques M, Gavini G. *In vitro* evaluation of the cytotoxic effects of acid solutions used as canal irrigants. *J Endod* 2005;31(10):746-8.
41. Hardy JJ, Carrell NA, McDonagh J. Calcium ion functions in fibrinogen conversion to fibrin. *Ann N Y Acad Sci* 1983;408(1):279-87.
42. Blombäck B, Blombäck M, Laurent TC, Pertoft H. Effect of EDTA on fibrinogen. *Biochim Biophys Acta* 1966;127(2):560-2.
43. Faria G, Viola K, Coaguila-Llerena H, Oliveira L, Leonardo R, Aranda-García A, et al. Penetration of sodium hypochlorite into root canal dentine: effect of surfactants, gel form and passive ultrasonic irrigation. *Int Endod J* 2019;52(3):385-92.
44. Galler K, Grubmüller V, Schlichting R, Widbiller M, Eidt A, Schuller C, et al. Penetration depth of irrigants into root dentine after sonic, ultrasonic and photoacoustic activation. *Int Endod J* 2019; 52(8):1210-7.
45. Li Q, Zhang Q, Zou X, Yue L. Evaluation of four final irrigation protocols for cleaning root canal walls. *Int J Oral Sci* 2020;12(1):1-6.
46. Azim AA, Aksel H, Zhuang T, Mashtare T, Babu JP, Huang GT-J. Efficacy of 4 irrigation protocols in killing bacteria colonized in dentinal tubules examined by a novel confocal laser scanning microscope analysis. *J Endod* 2016;42(6):928-34.

ผู้รับผิดชอบบทความ

พีรพร ทวีวัฒนไพศาล

ภาควิชาทันตกรรมอนุรักษ์และทันตกรรมประดิษฐ์

คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

เขตวัฒนา กรุงเทพฯ 10110

โทรศัพท์ : 02 649 5000

จดหมายอิเล็กทรอนิกส์ : peraporn@g.swu.ac.th

The Effect of EDTA with Different Irrigation Protocols to Transforming Growth Factor- β 1 Released from Root Canal Dentin

Wongwitdecha C* Taweewattanapaisan P** Piyachon C**

Abstract

The Objective of this study is to evaluate effects of irrigation protocols to transforming growth factor-beta1 (TGF- β 1) released from root canal dentin. Extracted human mandibular premolars (N=37) of aged 16- to 25-year-old were prepared to simulate open apex teeth. Specimens were divided into 4 experimental groups which were irrigated with one of the following protocols: group 1; 17% EDTA followed by NSS, group 2; 17% EDTA with PUI activation followed by NSS, group 3; 17% EDTA with XP-endo Finisher followed by NSS, group 4; 17% EDTA and a specimen was prepared for negative control. The amount of TGF- β 1 released from root canal wall were quantified by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The data were analyzed statistically using one-way analysis of variance and Tukey's test ($P < 0.05$). Results showed that the greatest amount of TGF- β 1 were observed in group 4 ($1,341.57 \pm 419.46$ pg/ml), followed by group 2 (1010.75 ± 728.34 pg/ml) with no significant difference. The least amount of TGF- β 1 were found in group 1 (656.61 ± 454.47 pg/ml) and group 3 (685.78 ± 318.47 pg/ml). Under the conditions of this study, it was concluded that the most effective irrigation protocol that enhanced TGF- β 1 released from root canal dentin in regenerative endodontic procedure was 17% EDTA irrigation. The latter irrigation with NSS showed a comparative efficiency to 17% EDTA irrigation when PUI activation of EDTA was used.

Keywords: Regenerative Endodontics/ EDTA/ Transforming growth factor-beta1/ Irrigation protocol/ Passive ultrasonic irrigation/ XP-endo Finisher

Corresponding Author

Peerapohn Taweewattanapaisan
Department of Conservative Dentistry and Prosthodontics,
Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University,
Wattana, Bangkok 10110.
Tel.: +66 2 649 5000
Email: peraporn@g.swu.ac.th

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

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