ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การศึกษาพิษของสนิมแม่เหล็กพาณิชย์ต่อเซลล์เยื่อบุผิวเพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อเหงือกคน

ผู้เขียน ร้อยเอกหญิง ณุจิเรจ อรรคคำ

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ทันตกรรมจัดฟัน)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
รศ. ธีระวัฒน์ โชติกเสถียร ประธานกรรมการ
รศ.ดร. สุทธิชัย กฤษณะประกรกิจ กรรมการ
ผศ.ดร. รัตนา บรรเจิดพงศ์ชัย กรรมการ
ผศ. ปิยะนารถ จาติเกตุ กรรมการ

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันมีรายงานของการใช้แม่เหล็กชนิดแรเอิรท์เพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งของแหล่งที่ให้แรงทางทันตกรรมจัดฟันเพิ่มมากขึ้น ถึงแม้ว่าข้อสรุปในการศึกษาถึงผลทางชีวภาพของการนำแม่เหล็กมาใช้ในช่องปากรวมทั้งการศึกษาถึงอันตรายจากสนิมแม่เหล็กยังคงเป็นที่ถกเถียงกันก็ตาม วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้คือ เพื่อประเมินพิษของสนิมแม่เหล็กพาณิชย์ ต่อจำนวนการตายแบบอะพอปโตซีส และจำนวนการตายแบบเนคโคซีส ของเซลล์เยื่อบุผิวเพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อเหงือกคนเป็นเวลา 5 วัน การสกัดสนิมโดยแช่แม่เหล็กพาณิชย์ชนิดไม่เคลือบผิว ซึ่งมีส่วนประกอบที่คล้ายคลึงกับแม่เหล็กชนิดนีโอไดเมียมไอรอนโบรอน ในสารละลาย 0.9% โซเดียมคลอไรด์ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน การออกแบบงานวิจัยโดยแบ่งกลุ่มการศึกษาทั้งหมด 5 กลุ่มคือ 1. กลุ่มควบคุม (กลุ่ม 1), 2. กลุ่มเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วย สารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้น 0.5 มิลลิโมลลาร์ (กลุ่ม 2), 3. กลุ่มเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วย สนิมแม่เหล็กพาณิชย์ในสารละลาย 0.9% โซเดียมคลอไรด์จำนวน 50 ไมโครลิตร (กลุ่ม 3), 4. กลุ่มเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วย สนิมแม่เหล็กพาณิชย์ในสารละลาย 0.9% โซเดียมคลอไรด์จำนวน 500 ไมโครลิตร (กลุ่ม 4), 5. กลุ่มเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วยสารละลาย 0.9% โซเดียมคลอไรด์ที่ไม่มีสนิมแม่เหล็ก (กลุ่ม 5) การประเมินในเชิงคุณภาพใช้วิธีวิเคราะห์ลักษณะนิวเคลียสที่ย้อมด้วยสารโปรปิเดียมไอโอไดด์ และนำมาตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ฟลูออเรสเซนต์จากผลการศึกษาพบว่า ลักษณะนิวเคลียสที่ถูกกระตุ้นด้วยสารละลายสนิมแม่เหล็กพาณิชย์ แสดงลักษณะเฉพาะของการตายแบบอะพอปโตซีส เส้นผ่าศูนย์กลางของนิวเคลียสมีขนาดลดลง ร่วมกับมีการจับกลุ่มกันของเส้นใยโครมาติน พบว่าลักษณะของนิวเคลียสในกลุ่มที่ถูกกระตุ้นด้วย สารละลายสนิมแม่เหล็กพาณิชย์ปริมาณ 50 ไมโครลิตร ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มที่ถูกกระตุ้นด้วยสารละลายสนิมแม่เหล็กพาณิชย์ปริมาณ 500 ไมโครลิตร อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์ลักษณะนิวเคลียสไม่พบการตายแบบเนคโครซีสทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง การศึกษาจำนวนการตายแบบอะพอปโตซีสและจำนวนการตายแบบเนคโครซีสของเซลล์เยื่อบุผิวช่องปาก ใช้วิธีย้อมด้วย เอฟไอทีซีคอนจูเกตเททแอนนิซินไฟว์และสารโปรปิเดียมไอโอดายด์ แล้ววิเคราะห์ด้วยเครื่องโฟไซโตมิเตอร์ การวิเคราะห์ทางสถิติด้วยการทดสอบแบบครัสคาลวาลลิส และการทดสอบแบบแมนวิทนียูที่ระดับนัยสำคัญที่ 0.05 โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ เอสพีเอสเอส พบว่า จำนวนการตายแบบอะพอปโตซีสในกลุ่มที่ถูกกระตุ้นด้วยสารละลายสนิมแม่เหล็กพาณิชย์ มีมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ที่ระดับ 0.009 และ 0.027 ในกลุ่ม 3 และ 4 ตามลำดับ) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของจำนวนการตายแบบเนคโครซีสระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง (ที่ระดับ 0.158) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ถูกกระตุ้นด้วย สารละลายสนิมแม่เหล็กพาณิชย์ปริมาณ 50 ไมโครลิตรและปริมาณ 500 ไมโครลิตร พบว่าจำนวนการตายแบบอะพอปโตซีสและจำนวนการตายแบบเนคโครซีสในทั้งสองกลุ่มนี้ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ที่ระดับ 1.00) ส่วนกลุ่มที่ถูกกระตุ้นด้วย สารไฮโดรเจนเปอร์อ็อกไซด์เข้มข้น 0.5 มิลลิโมลลาร์ซึ่งโดยทั่วไปใช้เป็นสารเคมีที่กระตุ้นให้เกิดการตายแบบอะพอปโตซีสนั้น มีการตายของเซลล์แบบอะพอปโตซีสมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ที่ระดับ 0.009) กล่าวโดยสรุป สนิมแม่เหล็กพาณิชย์นั้นมีพิษต่อเซลล์เยื่อบุผิวเพาะเลี้ยงจากเนื้อเยื่อเหงือกคน ในการทดลองระยะสั้น โดยมีผลต่อการเพิ่มจำนวนการตายของเซลล์แบบอะพอปโตซีส แต่ไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนการตายของเซลล์แบบเนคโครซีส ดังนั้นจึงจำเป็นต้องเคลือบผิวแม่เหล็กพาณิชย์ ด้วยวัสดุที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อเนื้อเยื่อช่องปาก เช่นการเคลือบผิวด้วยโลหะมีตระกูล , อีพอกซี่ เรซิ่น, เหล็กสแตนเลส, พาราลีน เพื่อป้องกันการเกิดสนิมแม่เหล็กพาณิชย์ซึ่งจะทำอันตรายต่อเซลล์ในช่องปากดังเช่นผลของการศึกษานี้ และควรมีการทดสอบความปลอดภัยทางชีวภาพของสนิมแม่เหล็กพาณิชย์ชนิดเคลือบผิวอย่างดีแล้ว เพื่อศึกษาถึงอันตรายของสนิมแม่เหล็กที่อาจเกิดขึ้นจากแม่เหล็กพาณิชย์ชนิดเคลือบผิวแล้วต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title	The Study of Cytotoxic Effect of Corrosion Products Released from Commercial Magnets on Cultured Human Gingival Epithelial Cells
Author	Captain Nujirate Akkakham
Degree	Master of Science (Orthodontics)
Thesis Advisory Committee	Assoc. Prof. Dhirawat Jotikasthira — Chairperson Assoc. Prof. Dr. Suttichai Krisanaprakornkit — Member Assist. Prof. Ratana Banjerdpongchai — Member Assist. Prof. Piyanart Chatikatu — Member

ABSTRACT

The literature now contains an increasing number of reports on the use of rare earth magnets as an alternative source of force in orthodontic therapy, although the results from the biocompatible studies of these intraoral magnets and the susceptibility to their corrosion products have still been controversial. The aim of this study was to evaluate the cytotoxic effect of the corrosion products (CP) released from commercial magnets on cultured human gingival epithelial cells in terms of the number of apoptotic and necrotic cells for 5 days. Commercially available uncoated magnets, which were comparable to neodymium iron boron magnets in compositions, were immersed in 0.9% NaCl solution at 37°C for 14 days and the corrosion products were collected. There were five groups included in this study: 1. untreated control (group 1), 2. treatment with 0.5 mM H_2O_2 (group 2), 3. treatment with 50 µl of 0.9% NaCl solution containing CP (group 3), 4. treatment with 500 µl of 0.9% NaCl solution containing CP (group 4), and 5. treatment with 0.9% NaCl solution without CP (group 5). The

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

qualitative assessment of cytotoxic effect was conducted by morphological analysis using propidium iodide (PI) nuclear staining under the fluorescence microscope. The result showed that the appearance of nuclei from cells treated with CP had a characteristic of apoptosis. The majority of these treated nuclei were presented with slight reduction in their diameter and an evident condensation of chromatin. There was no obvious difference in terms of the appearance of PI stained nuclei between cells treated with 50 and 500 µl of the CP solution. However, the characteristic of necrosis had not been observed among all groups of this nuclear morphology study. A number of apoptotic and necrotic cells were determined by flow cytometric analysis using FITC-conjugated annexin V and PI assay. Statistical analysis (Kruskal Wallis and Mann-Withney U test 0.05, SPSS v 11.0) indicated that the number of apoptotic cells in the presence of CP was significantly higher than that of the control untreated cells (P=0.009 and P=0.027 in group 3 and 4, respectively). However, there was no significant difference in the number of necrotic between control and all experimental groups despite a significant increase of apoptosis in cells treated with CP (P=0.158). In addition, there was no significant difference in the number of apoptosis as well as necrosis of cultured gingival epithelial cells that were exposed to either 50 or 500 µl of CP solution (P=1.00). As a positive control, hydrogen peroxide at 0.5 mM, typically an apoptosis inducing chemical agent, significantly induced apoptosis in cultured gingival epithelial cells when compared to that in the untreated control cells (P=0.009). In conclusion, the corrosion products released from commercial magnets had short-term deleterious effect on cultured human gingival epithelial cells by increasing the number of apoptotic, but not necrotic, cells *in vitro*. Consequently, optimally coating the commercial magnets with any protective biocompatible substances, such as noble metals, epoxy resin, stainless steel, a thin layer of parylene, would be necessary to prevent the formation of corrosion products from the magnet, which will be harmful to oral cells according to our results. It is suggested by this study that an additional biological safety test be conducted to investigate the harmful effect of the corrosion products that might be released from properly coated commercial magnets.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved