

Nghiên cứu *in vitro*: môi trường lưu trữ tối ưu của răng sau khi rời khỏi xương ổ răng

Phan Anh Chi^{1*}, Tô Thanh Tín¹

(1) Khoa Răng Hàm Mặt, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Răng rời khỏi xương ổ có thể cắm lại nếu được bảo quản thích hợp. Mục tiêu nghiên cứu: đánh giá tỷ lệ sống sót của tế bào dây chằng nha chu trong các môi trường lưu trữ ở các thời điểm khác nhau sau khi răng rời khỏi xương ổ. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** 46 răng răng cối nhỏ và răng cối lớn thứ ba được chia vào 4 môi trường lưu trữ (DMEM, sữa, nước muối sinh lý, nước uống bù điện giải) và ngẫu nhiên trong 4 khoảng thời gian (30 phút, 1 giờ, 2 giờ, 24 giờ). Bề mặt chân răng được cạo để thu thập tế bào dây chằng nha chu. Các tế bào được nhuộm bằng dung dịch Trypan blue 0,4% và quan sát trên kính hiển vi đảo ngược qua buồng đếm Neubauer. So sánh tỷ lệ phần trăm tế bào sống sót giữa các nhóm nghiên cứu sử dụng phép thử Kruskal - Wallis và bổ sung phép thử Scheffé ($\alpha = 5\%$). **Kết quả:** Ở thời điểm 30 phút, cả 4 môi trường đều cho tỷ lệ tế bào sống sót cao (trên 95%) ($p > 0,05$). Ở thời điểm 1 giờ, tỷ lệ sống sót của tế bào ở DMEM, sữa, nước uống bù điện giải cao hơn nước muối sinh lý ($p < 0,05$) trong khi ở thời điểm 2 giờ và 24 giờ, DMEM và sữa có tỷ lệ tế bào sống sót cao hơn ($p < 0,05$). **Kết luận:** Sữa là môi trường lưu trữ thuận lợi cho khả năng sống sót của tế bào dây chằng nha chu, nước uống bù điện giải cho thấy hoàn toàn có thể thay thế sữa khi thời gian lưu trữ không quá 1 giờ.

Từ khóa: dây chằng nha chu, môi trường lưu trữ, răng rời khỏi xương ổ.

Optimal storage media for avulsed teeth: an *in vitro* study

Phan Anh Chi^{1*}, Tô Thanh Tín¹

(1) Faculty of Odonto-Stomatology, Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Abstract

Background: Tooth avulsion can be replanted to the alveolar bone if appropriately preserved. This study aimed to evaluate the viability of periodontal ligament cells in several storage media at different time after the tooth leaves the alveolar bone. **Method:** 46 teeth premolars and third molars were divided into 4 storage media (DMEM, milk, physiologic saline, sports drink) and randomly for 4 period (30 minutes, 1 hour, 2 hours, 24 hours). The root surface was scraped to collect periodontal ligament cells. Cells were stained with 0.4% Trypan blue solution and observed by a Neubauer chamber under inverted microscope. Comparison of the percentage of cells viability between the study groups using the Kruskal-Wallis test, complemented by the Scheffé test ($\alpha = 5\%$). **Results:** At 30 min, all 4 media gave high cell survival rate (over 95%) ($p > 0.05$). At 1 hour, the cell survival rate in DMEM, milk, and sports drink was higher than physiologic saline ($p < 0.05$) while at 2 hours and 24 hours, DMEM and milk have a higher percentage of viable cells ($p < 0.05$). **Conclusion:** Milk is a favorable storage medium for the viability of periodontal ligament cells, sports drink shows that it can completely replace milk when the tooth storage time is not more than 1 hour.

Key words: periodontal ligament, storage media, tooth avulsion.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Răng rời khỏi xương ổ là một trong những chấn thương răng nghiêm trọng, thường xảy ra ở trẻ em và người trẻ tuổi [1]. Nhóm răng cửa hàm trên có tỷ lệ chấn thương cao nhất, gây tác động tiêu cực đến chức năng, thẩm mỹ và tâm lý của bệnh nhân. Tiên lượng điều trị phụ thuộc rất nhiều vào các xử trí ban đầu nơi xảy ra tai nạn nhằm giúp duy trì khả năng sống của tế bào dây chằng nha chu. Việc cắm lại răng

tức thì vào xương ổ được cho là lý tưởng nhất và chỉ được khuyến cáo cho răng vĩnh viễn, tuy nhiên trong hầu hết các trường hợp không thể thực hiện được ngay. Vì vậy răng nên được đặt trong môi trường lưu trữ thích hợp trước khi đưa đến bác sĩ. Điều này giúp răng tránh được sự khô, có thể giúp ngăn chặn ngoại tiêu bề mặt chân răng và gia tăng cơ hội sống sót của các tế bào dây chằng nha chu [2]. Bên cạnh đó việc cắm lại răng muộn sẽ dẫn đến quá trình tiêu viêm

Địa chỉ liên hệ: Phan Anh Chi, email: pachi@huemed-univ.edu.vn

Ngày nhận bài: 15/3/2023; Ngày đồng ý đăng: 15/5/2023; Ngày xuất bản: 10/6/2023

DOI: 10.34071/jmp.2023.3.24

thay thế dạng xương, dính khớp, thậm chí là thất bại phải nhổ răng đi. Nghiên cứu đã chỉ ra rằng rời khỏi xương ổ có thể được cầm lại mà không có biến chứng nếu chỉ để khô bên ngoài trong vòng 20 phút hoặc 1 đến 3 giờ nếu được đặt trong môi trường lưu trữ thích hợp [3]. Các nghiên cứu gần đây đã cho thấy sự đa dạng hóa về môi trường lưu trữ, trong đó kể đến là môi trường cải tiến DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium), môi trường thiết yếu - MEM (Minimum Essential Medium), sữa, nước dừa, nước muối sinh lý, trà xanh, nước bột, sữa đậu nành, men vi sinh, nước uống bù điện giải...[4], [5]. Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu về các môi trường lưu trữ răng khác nhau tuy nhiên các kết quả chưa đồng nhất. Tại Việt Nam, cũng đã có nghiên cứu đánh giá kết quả lâm sàng của việc cầm lại răng nhưng chưa chú trọng về môi trường bảo quản răng. Vì vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm mục tiêu: *đánh giá tỷ lệ sống sót của tế bào dây chằng nha chu trong các môi trường lưu trữ ở các thời điểm khác nhau sau khi răng rời khỏi xương ổ.*

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu: răng cối nhỏ và răng cối lớn thứ ba được chỉ định nhổ với mục đích chỉnh hình răng.

Tiêu chuẩn lựa chọn

- Răng vĩnh viễn, đã đóng chóp.
- Chân răng nguyên vẹn.

Tiêu chuẩn loại trừ

- Răng có tiền sử chấn thương, nứt gãy răng.
- Răng sâu, có bệnh lý nha chu, bệnh lý tủy, mô quanh chóp.
- Bệnh nhân có tiền sử bệnh toàn thân hoặc đang sử dụng thuốc.
- Bệnh nhân không hợp tác hoặc không đồng ý tham gia nghiên cứu.

Thời gian và địa điểm nghiên cứu: nghiên cứu từ tháng 12/2022 đến tháng 04/2023 tại Phòng Tiền lâm sàng - Khoa Răng Hàm Mặt và Bộ môn Vi sinh, Trường Đại học Y - Dược Huế.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Thiết kế nghiên cứu: nghiên cứu thử nghiệm in vitro, không có nhóm chứng.

2.2.2 Cách chọn mẫu: 48 răng răng cối nhỏ có đủ các tiêu chuẩn quy định được chọn vào mẫu nghiên cứu, chia vào 4 nhóm môi trường trường lưu trữ:

- Nhóm 1 (n = 12): môi trường DMEM
 - Nhóm 2 (n = 12): sữa tươi nguyên chất không đường
 - Nhóm 3 (n = 12): nước muối sinh lý
 - Nhóm 4 (n = 12): nước uống bù điện giải
- Trong mỗi nhóm, 12 răng được chia thành 4 phân

nhóm nhỏ, mỗi nhóm gồm 3 răng theo 4 khoảng thời gian lưu trữ (30 phút, 1 giờ, 2 giờ, 24 giờ).

2.2.3. Các bước tiến hành nghiên cứu

- Bước 1: chuẩn bị răng và cho vào môi trường lưu trữ.

Răng sau khi nhổ được kẹp bằng kèm nhỏ răng tại vị trí thân răng, dùng lưỡi dao số 12 cạo loại bỏ 3mm dây chằng nha chu trên bề mặt chân răng phía cổ răng để loại bỏ các tế bào bị tổn thương do thao tác trong quá trình nhổ và đặt ngay răng vào ống falcon (dung tích 15 ml) chứa 10 ml dung dịch một trong các môi trường lưu trữ (DMEM, sữa, nước muối sinh lý, nước uống bù điện giải). Răng được đặt trong môi trường lưu trữ trong khoảng thời gian định trước (30 phút, 1 giờ, 2 giờ và 24 giờ) sao cho dung dịch phủ ngập hết răng. Sau khi đủ thời gian, răng được gấp ra bằng forceps tại vị trí thân răng, làm sạch bề mặt chân răng và thân răng bằng cách tưới nước muối sinh lý 2 lần để loại bỏ môi trường lưu trữ trên bề mặt răng.

- Bước 2: đánh giá khả năng sống của tế bào dây chằng nha chu trên bề mặt chân răng trong các môi trường lưu trữ sau các khoảng thời gian khác nhau

Răng sau khi làm sạch được kẹp bằng kèm nhỏ răng tại vị trí thân răng, sử dụng lưỡi dao số 12 cạo 2/3 phía chóp bề mặt chân răng để thu thập các tế bào dây chằng nha chu. Các mẫu vụn tế bào đó được thêm vào ống ly tâm (dung tích 1,5 ml) chứa 1ml dung dịch PBS và trộn đều, sau đó quay trên máy ly tâm với tốc độ 800 vòng/phút trong 5 phút. Tiếp đến, dùng micropipette hút loại bỏ phần nổi phía trên ống ly tâm và giữ lại phần chìm ở dưới đáy. Dùng micropipette hút 10µl dung dịch phần chìm dưới đáy trong ống ly tâm và 10µl dung dịch Trypan blue 0,4% và trộn đều theo tỷ lệ 1:1 để nhuộm màu tế bào. Hút trở lại 10 µl dung dịch sau khi trộn nhỏ vào buồng đếm Neubauer và quan sát dưới kính hiển vi đảo ngược. Tiến hành đếm số tế bào sống và tế bào chết quan sát được trên buồng đếm Neubauer và ghi chép lại kết quả.

2.2.4. Phương tiện và vật liệu

2.2.4.1. Vật liệu

- Môi trường lưu trữ: DMEM (DMEM (1X) + GlutaMAX™, Gibco, Thermo Fisher, Mỹ), Sữa tươi nguyên chất không đường (Vinamilk, Việt Nam), nước muối sinh lý (Bidiphar, Việt Nam), nước uống bù điện giải (Revive, Việt Nam)
- Dung dịch nhuộm Trypan blue 0,4% (Sigma, Đức).
- Dung dịch đệm Phosphate (PBS) (Gibco, Thermo Fisher, Mỹ).
- Bộ thuốc nhuộm Gram (Merck, Đức)

2.2.2.2. Dụng cụ

- Forceps.

- Kềm nhỏ răng mở chim.
- Lưỡi dao số 12.
- Đĩa Petri.
- Pipet nhựa 5 ml.
- Ống falcon 15 ml.
- Ống ly tâm 1,5 ml.
- Giấy parafilm.
- Lam kính.
- Đèn cồn.
- Buồng đếm tế bào Neubauer cải tiến (Hirschmann, Đức).
- Micropipette (Nichiryo, Nhật Bản).
- Máy ly tâm (Hettich, Đức).
- Kính hiển vi đảo ngược (Olympus, Nhật Bản).
- Buồng an toàn sinh học (Esco, Singapore).

2.3. Biến số nghiên cứu và phương pháp đánh giá

- Tỷ lệ % tế bào dây chằng nha chu sống được đánh giá theo nghiên cứu của Dhimole P và cộng sự (2019) [4].

Soi dưới kính hiển vi đảo ngược, đếm tế bào sử dụng buồng đếm Neubauer, sau khi nhuộm dung dịch

Trypan blue 0,4%, các tế bào chết sẽ bắt màu xanh, tế bào sống không bắt màu. Từ đó tính theo công thức:

Tỷ lệ % tế bào sống sót = $\frac{(\text{Tổng số tế bào} - \text{Số tế bào nhuộm xanh})}{(\text{Tổng số tế bào})} \times 100$ (đơn vị: %)

- Tiến hành so sánh tỷ lệ % tế bào sống sót theo các môi trường lưu trữ DMEM, sữa, nước muối sinh lý, nước uống bù điện giải và theo các khoảng thời gian 30 phút, 1 giờ, 2 giờ và 24 giờ.

2.4 Phương pháp xử lý số liệu

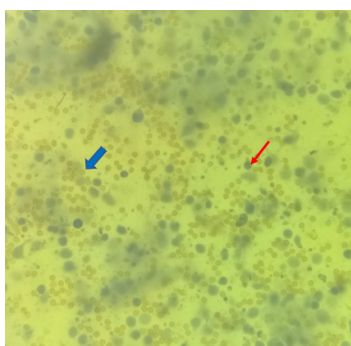
Sử dụng phần mềm Excel để nhập số liệu thu thập được và vẽ biểu đồ. Sử dụng phần mềm SPSS 20 để quản lý và xử lý số liệu. Các thuật toán sử dụng bao gồm:

- Tính giá trị trung bình (Mean) và sai số chuẩn (SE) của các nhóm giá trị đo.

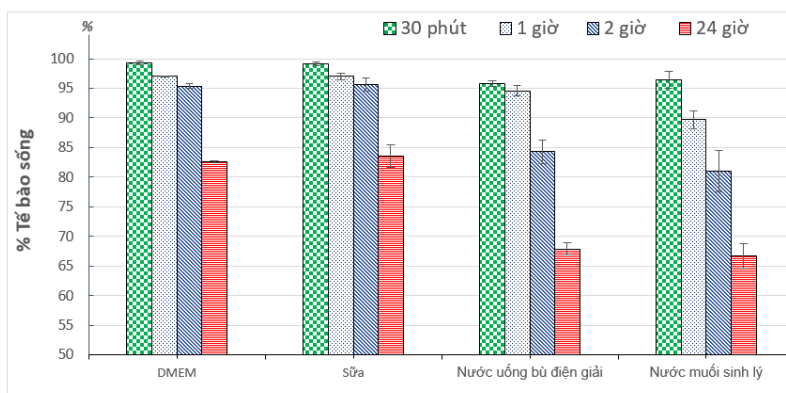
- Dùng phép kiểm định phi tham số Kruskal - Wallis để so sánh giá trị trung bình giữa các nhóm và được bổ sung bằng phép kiểm định Scheffé để so sánh giá trị trung bình giữa 2 nhóm độc lập.

- Khoảng tin cậy là 95%, giá trị $p < 0,05$ được xem là có ý nghĩa thống kê.

3. KẾT QUẢ



Hình 1. Hình ảnh tế bào dây chằng nha chu sau khi nhuộm Trypan blue 0,4% trên buồng đếm Neubauer ở độ phóng đại x400: tế bào sống (mũi tên dày) và tế bào chết (mũi tên mỏng)



Biểu đồ 1. Trung bình % tế bào sống của 4 môi trường lưu trữ ở 4 khoảng thời gian

Nhận xét: Ở cả 4 mốc thời gian, DMEM và sữa cho tỷ lệ % tế bào sống cao hơn so với nước muối sinh lý và nước uống bù điện giải.

Bảng 1. So sánh từng cặp giá trị trung bình % tế bào sống của 4 môi trường lưu trữ trong từng khoảng thời gian

Thời gian	Môi trường	Môi trường	Giá trị p
30 phút	DMEM	Sữa	0,927
		Nước muối sinh lý	0,006*
		Nước uống bù điện giải	0,003*
	Sữa	Nước muối sinh lý	0,009*
		Nước uống bù điện giải	0,004*
	Nước muối sinh lý	Nước uống bù điện giải	0,476
1 giờ	DMEM	Sữa	1,000
		Nước muối sinh lý	0,002*
		Nước uống bù điện giải	0,566
	Sữa	Nước muối sinh lý	0,009*
		Nước uống bù điện giải	0,678
	Nước muối sinh lý	Nước uống bù điện giải	0,145
2 giờ	DMEM	Sữa	1,000
		Nước muối sinh lý	0,000*
		Nước uống bù điện giải	0,002*
	Sữa	Nước muối sinh lý	0,001*
		Nước uống bù điện giải	0,004*
	Nước muối sinh lý	Nước uống bù điện giải	0,363
24 giờ	DMEM	Sữa	0,996
		Nước muối sinh lý	0,023*
		Nước uống bù điện giải	0,034*
	Sữa	Nước muối sinh lý	0,010*
		Nước uống bù điện giải	0,015*
	Nước muối sinh lý	Nước uống bù điện giải	0,986

*Có ý nghĩa thống kê, $p < 0,05$

Nhận xét: Ở cả 4 mốc thời gian, DMEM và sữa đều không có sự khác biệt có nghĩa thống kê về % tế bào sống ($p > 0,05$). Ở thời điểm 30 phút, có sự khác biệt có ý nghĩa giữa DMEM và sữa so với nước muối sinh lý và nước uống bù điện giải ($p < 0,05$). Ở thời điểm 1 giờ, nước uống bù điện giải không có sự khác biệt so với DMEM và sữa ($p > 0,05$), nhưng sự khác biệt có ý nghĩa khi so với nước muối sinh lý ($p < 0,05$). Ở thời điểm 2 giờ và 24 giờ cho kết quả tương tự như ở thời điểm 30 phút, khi đó DMEM và sữa có sự khác biệt có ý nghĩa so với nước muối sinh lý và nước uống điện giải ($p < 0,05$), không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa nước muối sinh lý và nước uống bù điện giải ($p > 0,05$).

4. BÀN LUẬN

Trong những năm gần đây, các nghiên cứu đã mở ra nhiều bước tiến mới trong việc lựa chọn môi trường lưu trữ phù hợp. Nhưng cho đến nay, chưa có một môi trường lưu trữ nào có đầy đủ các đặc tính cần thiết để bảo quản răng. Môi trường đó phải có khả năng duy trì sự sống của tế bào dây chằng nha chu và các tế bào tủy, độ thẩm thấu và độ pH sinh lý, đặc tính chống oxy hóa, không có hoặc xâm

nhễm vi khuẩn tối thiểu và sẵn có, dễ dàng tiếp cận tại các địa điểm xảy ra tai nạn (nhà ở, trường học, sân chơi...) và hơn hết với chi phí thấp. Trong đó, duy trì khả năng sống sót của tế bào dây chằng nha chu là điều quan trọng nhất. Nghiên cứu của Hammer H (1995) đã chứng minh rằng yếu tố chính ảnh hưởng đến khả năng tồn tại của tế bào dây chằng nha chu là thời gian ngoài ổ răng và môi trường lưu trữ [6]. Các tế bào còn sót lại trên bề mặt chân răng sau khi

roi khỏi xương ổ bị cắt đứt nguồn cung cấp máu và ngay lập tức ảnh hưởng đến sự chuyển hóa của tế bào làm cạn kiệt nguồn dinh dưỡng [7]. Bên cạnh đó, sự tiện lợi, tính sẵn có của môi trường đó cũng phải được bàn đến khi mà các nghiên cứu ở mỗi quốc gia khác nhau cũng sẽ có sự khác nhau do yếu tố địa lý, kinh tế, văn hóa, xã hội... Nghiên cứu này tập trung vào 4 môi trường lưu trữ đó là DMEM, sữa, nước muối sinh lý, nước uống bù điện giải. Trong một số trường hợp bệnh nhân có thể có những chấn thương nghiêm trọng hơn và việc điều trị nha khoa phải trì hoãn lại, do đó chúng tôi lựa chọn 4 mốc thời gian 30 phút, 1 giờ, 2 giờ, 24 giờ để phù hợp về mặt lâm sàng. Nghiên cứu của chúng tôi xác định khả năng sống của tế bào dựa trên phương pháp nhuộm tế bào bằng dung dịch Trypan blue 0,4%, đó là vì tế bào chết khi bị tổn thương màng tế bào tích điện âm và khi đó sẽ bắt màu xanh của thuốc nhuộm, tế bào sống thì sẽ không bị nhuộm màu [8].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy DMEM và sữa cho tỷ lệ % tế bào sống sót cao nhất ở cả 4 mốc thời gian khi so sánh với nước muối sinh lý và nước uống bù điện giải. Kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đây. Như nghiên cứu của Bag I và cộng sự (2017), khi so sánh 3 môi trường lưu trữ DMEM-F12, sữa, HBSS, kết quả cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa % số lượng tế bào sống giữa DMEM-F12 và sữa nguyên chất trong khoảng thời gian từ 30 - 60 phút ($p > 0,05$) [9]. Chen F và cộng sự (2015) nghiên cứu 6 môi trường lưu trữ DMEM, nước muối, HBSS, sữa, nước máy, nước bọt ở 3 khoảng nhiệt độ 4°C, 22°C, 37°C trong 4 khoảng thời gian 1 giờ, 2 giờ, 4 giờ, 8 giờ và 24 giờ cho thấy khả năng tồn tại của nguyên bào sợi dây chằng nha chu trong môi trường DMEM, sữa, HBSS tương đồng nhau và cao hơn vượt trội so với các môi trường còn lại [10]. Giải thích cho điều này là vì DMEM là môi trường giàu dưỡng chất, acid amin, vitamin, được sử dụng như là môi trường nuôi cấy tế bào, tuy nhiên tính khả thi, nhiệt độ bảo quản (2 - 8°C), chi phí, tính sẵn có khiến nó trở nên kém lý tưởng [10]. Sữa được biết đến là phương tiện bảo quản thích hợp cho răng rời khỏi xương ổ do các đặc tính sinh lý của nó, bao gồm độ pH và độ thẩm thấu tương thích với các tế bào, lợi thể không cần làm lạnh, ít vi khuẩn. Kết quả thuận lợi này của sữa có thể do chứa nhiều thành phần dinh dưỡng, các acid amin, carbohydrate, vitamin [11].

Khi so sánh kết quả nghiên cứu ở từng mốc thời gian, sự khác biệt tỷ lệ % tế bào sống giữa các loại môi trường có sự thay đổi. Ở thời điểm 30 phút, có sự khác biệt có ý nghĩa giữa DMEM và sữa so với nước muối sinh lý và nước uống điện giải ($p < 0,05$). Tuy nhiên, sự khác biệt này không ảnh hưởng khi cả 4

môi trường đều cho khả năng sống tế bào trên 95%. Điều này có thể được lý giải là do ở thời gian ngắn ngoại trừ việc để răng khô, nếu như răng được bảo quản trong một môi trường lưu trữ thì khả năng sống của tế bào dây chằng nha chu được đảm bảo đáng kể, bên cạnh đó điều kiện tiến hành nghiên cứu đã loại bỏ các chấn thương rời răng nên khi đưa vào tình huống thực tế thì kết quả sẽ giảm đi. Ở thời điểm 1 giờ, tỷ lệ % tế bào sống sót của DMEM là 97,13%, sữa 97,02%, kể đến là nước uống bù điện giải 94,56% và thấp nhất là nước muối sinh lý với 89,74%. Nghiên cứu Harkacz OM và cộng sự (1997) khi so sánh nước uống điện giải và sữa cho thấy ở thời điểm 30 phút, sữa cho tỷ lệ % tế bào sống 97% so với nước uống điện giải là 17,6%, ở thời điểm 1 giờ, sữa ở mức 82% so với 6% của nước uống điện giải [12]. Ở nghiên cứu chúng tôi, nước uống bù điện giải lúc này có tỷ lệ cao hơn nước muối sinh lý có thể giải thích do thành phần của nó. Nước uống bù điện giải hay còn được biết đến là nước uống thể thao, được bổ sung các loại ion điện giải, vitamin, glucose, muối khoáng, đây được xem là môi trường lưu trữ tiềm năng vì nó đang tìm thấy ở các sự kiện thể thao cũng như là các cửa hàng tiện lợi thông thường. Tuy nhiên, có điểm hạn chế là không phải loại nước uống bù điện giải nào cũng có thể sử dụng làm môi trường lưu trữ, có thể do độ pH của nó. Khi pH acid, có thể thấy ở các loại nước uống có vị chua, độ thẩm thấu ưu trương khiến tế bào mất nước, khi đó khó có thể duy trì sự sống tế bào [13]. Vì vậy chúng tôi sử dụng loại Revive[®] muối khoáng (có độ pH từ trung tính đến kiềm) để thực hiện nghiên cứu này nên cho kết quả tỷ lệ % tế bào sống khá cao. Nước muối sinh lý, là môi trường nghèo nàn chất dinh dưỡng, các ion thiết yếu và glucose, vì vậy chỉ một ít tế bào dây chằng nha chu còn tồn tại sau khoảng 3 giờ lưu trữ [14]. Ở thời điểm 2 giờ và 24 giờ cho xếp hạng tỷ lệ % tế bào sống tương tự như ở thời điểm 1 giờ nhưng DMEM và sữa cao hơn đáng kể so với nước uống bù điện giải và nước muối sinh lý. Trong đó nước uống bù điện giải có hình hơn so với nước muối sinh lý. Điều này phù hợp với sự hạn chế chất dinh dưỡng nuôi dưỡng tế bào.

Nghiên cứu của chúng tôi cũng có một số hạn chế. Thứ nhất, số lượng răng khá hạn chế. Việc tăng số lượng răng chắc chắn sẽ làm tăng hiệu quả thống kê của nghiên cứu này. Thứ hai, mức độ chấn thương trong quá trình nhổ răng của mỗi chiếc răng là khác nhau dẫn tới số lượng tế bào dây chằng nha chu còn sót lại trên bề mặt chân răng cũng có sự chênh lệch. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng đối tượng nghiên cứu là răng cối nhỏ và răng cối lớn thứ ba, diện tích bề mặt chân răng có sự khác biệt nên chúng tôi đánh giá khả năng sống sót của tế bào dây chằng

nha chu qua tỷ lệ % mà không xét tới nồng độ tế bào sống như một số tác giả đã nghiên cứu. Thứ ba, việc thu thập răng trong một thời gian dài ít nhiều sẽ bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ môi trường thay đổi, điều đó sẽ gây ảnh hưởng đến kết quả đánh giá. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng nhiệt độ thấp có ưu điểm là giảm chuyển hóa tế bào và hạn chế sự phát triển của vi khuẩn, tăng khả năng sống sót của tế bào [15].

5. KẾT LUẬN

DMEM và sữa cho kết quả tương tự nhau và cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nước uống điện

giải và nước muối sinh lý ở cả 4 thời điểm 30 phút, 1 giờ, 2 giờ, 24 giờ. Khi chỉ lưu trữ 30 phút, cả 4 môi trường đều có tỷ lệ sống của tế bào gần tương đương nhau. Nếu lưu trữ trong 1 giờ, DMEM và sữa có kết quả cao nhất, kể đến là nước uống bù điện giải. Nếu lưu trữ trong 2 giờ hoặc 24 giờ, DMEM và sữa cho tỷ lệ sống tế bào cao vượt trội so với 2 môi trường còn lại.

Sữa vẫn là lựa chọn thuận tiện nhất, rẻ nhất, sẵn có trong hầu hết các trường hợp, bên cạnh đó nước uống bù điện giải cho thấy hoàn toàn có thể thay thế sữa khi thời gian lưu trữ răng không quá 1 giờ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Levin L, Day PF, Hicks L, O'Connell A, Fouad AF, Bourguignon C, et al. International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries: General introduction. *Dent Traumatol.* 2020;36(4):309-13.
2. De Brier N, O D, Borra V, Singletary EM, Zideman DA, De Buck E, et al. Storage of an avulsed tooth prior to replantation: A systematic review and meta-analysis. *Dent Traumatol.* 2020;36(5):453-76.
3. Andreasen JO, Borum MK, Jacobsen HL, Andreasen FM. Replantation of 400 avulsed permanent incisors. 1. Diagnosis of healing complications. *Endod Dent Traumatol.* 1995;11(2):51-8.
4. Dhimole P, Bhayya DP, Gupta S, Kumar P, Tiwari S, Pandey S. Evaluation of the efficacy of neem (*Azadirachta indica*) and turmeric (*Curcuma longa*) as storage media in maintaining periodontal ligament cell viability: An in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2019;37(2):140-5.
5. Tuna EB, Yaman D, Yamamoto S. What is the Best Root Surface Treatment for Avulsed Teeth? *Open Dent J.* 2014;8:175-9.
6. Hammer H. [Reimplantation of teeth and implantation of foreign substances]. *Osterr Z Stomatol.* 1955;52(7):357-8.
7. Silva EJ, Rollemberg CB, de Souza Coutinho-Filho T, Zaia AA. A multiparametric assay to compare the cytotoxicity of soy milk with different storage media. *Dent Traumatol.* 2013;29(4):319-22.
8. Dos Santos CL, Sonoda CK, Poi WR, Panzarini SR, Sundefeld ML, Negri MR. Delayed replantation of rat teeth after use of reconstituted powdered milk as a storage medium. *Dent Traumatol.* 2009;25(1):51-7.
9. Bag I, Yildirim S. Effect of avulsion storage media on periodontal ligament fibroblast differentiation. *Dent Traumatol.* 2017;33(6):458-64.
10. Chen F, Qi S, Lu L, Xu Y. Effect of storage temperature on the viability of human periodontal ligament fibroblasts. *Dent Traumatol.* 2015;31(1):24-8.
11. Gopikrishna V, Baweja PS, Venkateshbabu N, Thomas T, Kandaswamy D. Comparison of coconut water, propolis, HBSS, and milk on PDL cell survival. *J Endod.* 2008;34(5):587-9.
12. Harkacz OM, Sr., Carnes DL, Jr., Walker WA, 3rd. Determination of periodontal ligament cell viability in the oral rehydration fluid Gatorade and milks of varying fat content. *J Endod.* 1997;23(11):687-90.
13. Chamorro MM, Regan JD, Opperman LA, Kramer PR. Effect of storage media on human periodontal ligament cell apoptosis. *Dent Traumatol.* 2008;24(1):11-6.
14. Alacam T, Gorgul G, Omurlu H, Can M. Lactate dehydrogenase activity in periodontal ligament cells stored in different transport media. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1996;82(3):321-3.
15. Ashkenazi M, Sarnat H, Keila S. In vitro viability, mitogenicity and clonogenic capacity of periodontal ligament cells after storage in six different media. *Endod Dent Traumatol.* 1999;15(4):149-56.