

JDAT

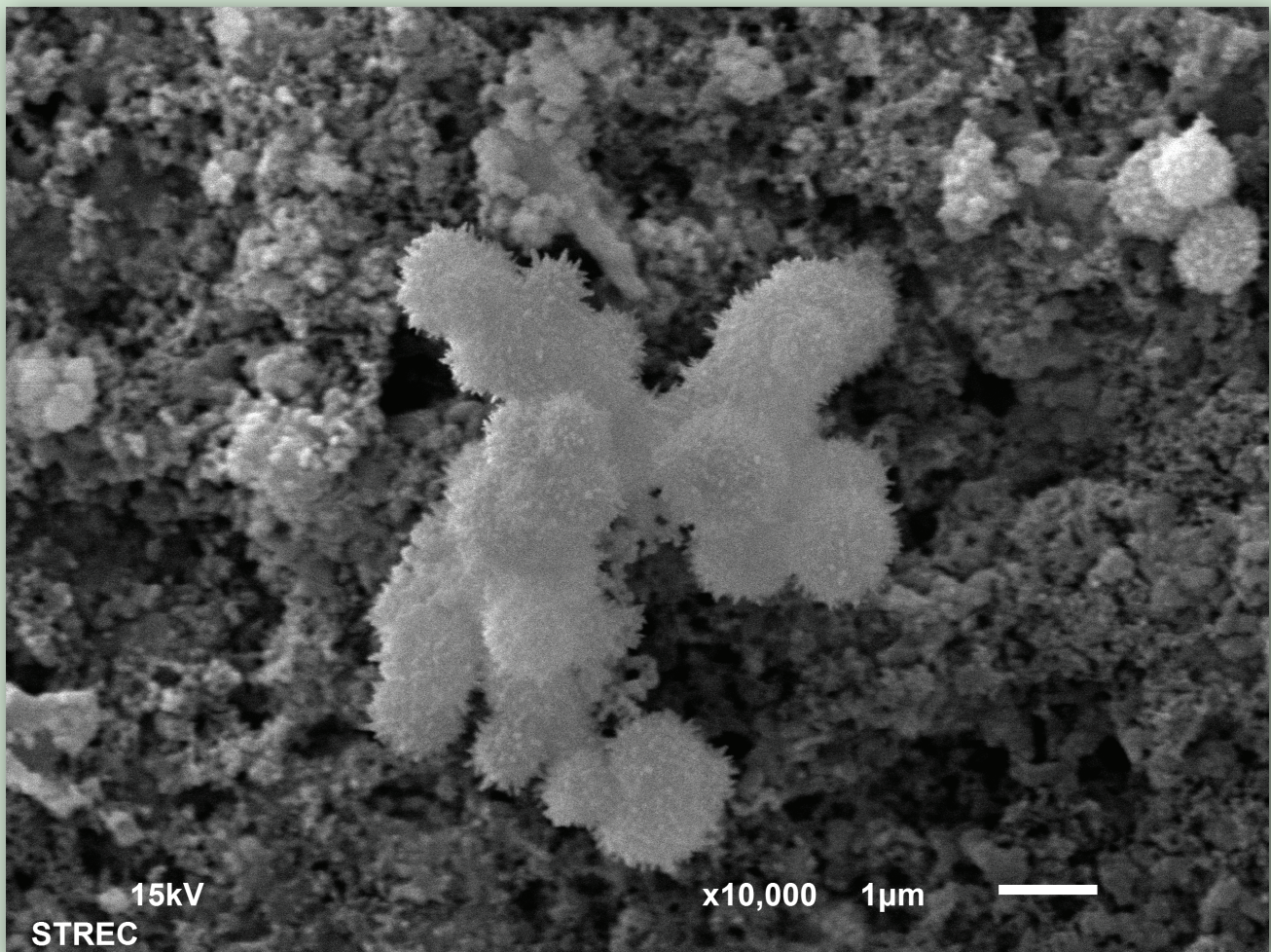
วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์



Journal of the Dental Association of Thailand

| www.jdat.org

ปีที่ 69 ฉบับที่ 3 กรกฎาคม - กันยายน 2562 / Volume 69 Number 3 July - September 2019



CE Credits
QUIZ

น้ำยาล้างคลองรากฟัน : การพิจารณาเลือกใช้เพื่อความสำเร็จในการรักษาเนื้อเยื่อในของฟันน้ำนม

ISSN 2408 - 1434



วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์
JOURNAL OF THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND



ทันตแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์ THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND

Advisor President

Lt. Gen. Phisal Thepsithar

Advisory Board

Asst. Prof. Anonknart	Bhakdinaronk
Dr. Charmary	Reanamporn
Assoc. Prof. Surasith	Kiatpongsan
Clinical Prof. Pusadee	Yotnuengnit
Assoc. Prof. Wacharaporn	Tasachan
Dr. Somchai	Suthirathikul
Dr. Prinya	Pathomkulma

Board of Directors 2019 - 2021

President	Dr. Chavalit	Karnjanaopaswong
President Elect	Dr. Adirek	Sriwatanawongsa
1 st Vice-President	Prof. Dr. Prasit	Pavasant
2 nd Vice-President	Assoc. Prof. Dr. Sirivimol	Srisawasdi
Secretary - General	Prof. Dr. Prasit	Pavasant
Treasurer	Assoc. Prof. Poranee	Berananda
Editor	Dr. Ekamon	Mahapoka
Scientific Committee Chairperson	Assoc. Prof. Dr. Sirivimol	Srisawasdi
Executive Committee	Assoc. Prof. Porjai	Ruangsri
	Lt. Gen. Nawarut	Soonthornwit
	Dr. Werawat	Satayanurug
	Assoc. Prof. Dr. Siriruk	Nakornchai
	Asst. Prof. Ekachai	Chunhacheevachaloke
	Asst. Prof. Bundhit	Jirajariyavej
	Dr. Kanit	Dhanesuan
	Assoc. Prof. Dr. Patita	Bhuridej
	Asst. Prof. Piriya	Cherdsatiraku
	Dr. Thornkanok	Pruksamas
	Capt. Thanasak	Thumbuntu

THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND

71 Ladprao 95 Wangthonglang Bangkok 10310, Thailand. Tel: 662-539-4748 Fax: 662-514-1100 E-mail: thaidentalnet@gmail.com



วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์

JOURNAL OF THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND

Advisory Board

Lt. Gen. Phisal Thepsithar
Prof. Dr. Mongkol Dejnakintra
Prof. Chainut Chongruk
Special Prof. Sitthi S Srisopark
Assoc. Prof. Porjai Ruangsri
Asst. Prof. Phanomporn Vanichanon
Assoc. Prof. Dr. Patita Bhuridej

Editor

Dr. Ekamon Mahapoka

Associate Editors

Prof. Dr. Prasit Pavasant
Prof. Dr. Waranun Buajeeb
Assoc. Prof. Dr. Siriruk Nakornchai
Assoc. Prof. Dr. Nirada Dhanesuan

Editorial Board

Assoc. Prof. Dr. Chaiwat Maneenut, Chulalongkorn University, Thailand
Assoc. Prof. Dr. Waranuch Pitiphat, Khon Kaen University, Thailand
Assoc. Prof. Dr. Nita Viwattanatipa, Mahidol University, Thailand
Asst. Prof. Dr. Lertrit Sarinnaphakorn, Thammasat University, Thailand
Prof. Dr. Suttichai Krisanaprakornkit, Chiang Mai University, Thailand
Assoc. Prof. Dr. Paiboon Techalertpaisarn, Chulalongkorn University, Thailand
Assoc. Prof. Dr. Somsak Mitirattanakul, Mahidol University, Thailand
Assoc. Prof. Dr. Kittirongruang, Chulalongkorn University, Thailand
Prof. Boonlert Kukiattrakoon, Prince of Songkla University, Thailand
Asst. Prof. Dr. Chootima Ratisoontom, Chulalongkorn University, Thailand
Asst. Prof. Dr. Napapa Aimjirakul, Srinakharinwirot University, Thailand
Assoc. Prof. Dr. Oranat Matungkasombut, Chulalongkorn University, Thailand
Prof. Dr. Vanthana Sattabanasuk, Thailand
Dr. Sutee Suksudaj, Thammasat University, Thailand
Asst. Prof. Dr. Aroonwan Lam-ubol, Srinakharinwirot University, Thailand
Asst. Prof. Dr. Thantrira Porntaveetus, Chulalongkorn University, Thailand
Dr. Pisha Pittayapat, Chulalongkorn University, Thailand
Prof. Dr. Antheunis Versluis, The University of Tennessee Health Science Center, USA.
Assoc. Prof. Dr. Hiroshi Ogawa, Niigata University, JAPAN
Assoc. Prof. Dr. Anwar Merchant, University of South Carolina, USA.
Dr. Brian Foster, NIAMS/NIH, USA.
Dr. Ahmed Abbas Mohamed, University of Warwick, UK.

Editorial Staff

Tassapol Intarasomboon
Pimpanid Laomana
Anyamanee Kongcheepa

Manage

Assoc. Prof. Poranee Berananda

Journal published trimonthly. Foreign subscription rate US\$ 200 including postage.

Publisher and artwork: Rungsilp Printing Co., Ltd

Please send manuscripts to Dr. Ekamon Mahapoka

Mailing address: 71 Ladprao 95 Wangtonglang Bangkok 10310, Thailand E-mail: jdat.editor@gmail.com



วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์

JOURNAL OF THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND

จดหมายจากสารานุกรม

สวัสดีทันตแพทย์พี่น้องร่วมวิชาชีพทุกท่านนะครับ

ช่วงเดือนที่ผ่านมาประเทศไทยได้ผ่านพระราชพิธีบรมราชาภิเษกพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว รัชกาลที่ 10 ซึ่งน้อยคนนักที่จะเคยเห็นพระราชพิธีมาก่อนในชีวิต จึงเป็นโอกาสอันดีที่พวกเราจะได้หน้าประวัติศาสตร์ผ่านสายตา ได้ชื่นชมพระบารมีและความยิ่งใหญ่ของสถาบันพระมหากษัตริย์ของชาติไทยที่พวกเราอยู่ใต้พระบรมโพธิสมภารอย่างร่มเย็นมาหลายร้อยปี

สำหรับบทความในวิทยาสารทันตแพทยศาสตร์ฯ ฉบับนี้ก็อัดแน่นเต็มด้วยบทความ 12 บทความเช่นเดิม เริ่มด้วยบทความปริทัศน์ที่เป็นบทความการศึกษาต่อเนื่องคือ การใช้ยายาล้างคลองรากฟันในฟันน้ำนม ซึ่งเป็นเรื่องที่เราอาจจะมองข้าม บทความนี้อาจจะทำให้ทุกคนเริ่มให้ความสนใจอีกครั้งเพื่อการรักษาฟันน้ำนมได้อย่างถูกต้องเหมาะสม สำหรับบทความอื่นก็หลากหลายเหมือนเช่นเดิมครับ ทั้งเรื่องของ alveolar bone งานด้านศัลยศาสตร์ งานทางด้านปริทันตวิทยาหรือด้านวัสดุบูรณะ เรียกได้ว่าครบเหมือนเดิมครับ

ท้ายสุดนี้ เข้าสู่หน้าฝนอย่างเป็นทางการแล้ว ออกจากบ้านอย่าลืมพกร่มและรักษาสุขภาพกันด้วยนะครับ แล้วพบกันใหม่ครับ

ทพ.ดร. เอกมน มหาโกคา
สารานุกรม

สำหรับหน้าที่เป็นสี โปรดเข้าชมได้ที่ <http://www.jdat.org>

For high quality coloured figures, please refer to <http://www.jdat.org/>

Instruction for Authors

The Journal of the Dental Association of Thailand welcome submissions from the field of Dentistry and related science. We published 4 issues per year in March, June, September and December.

Categories of the Articles

1. **Review Articles:** an article with technical knowledge collected from journals or textbooks and is profoundly analyzed and criticized.
2. **Case Reports:** a short report of an update case or case series related to dental field which has been carefully analyzed and criticized with scientific observation.
3. **Original Articles:** a research report which has never been published elsewhere and represent new and significant contributions to the field of Dentistry.
4. **Letter to the Editor:** a brief question or comment that is useful for readers

Manuscript Submission

The Journal of the Dental Association of Thailand only accepts online submission. The manuscript must be submitted via <http://www.jdat.org>. Registration by corresponding author is required for submission. We accept articles written in both English and Thai. However for Thai article, English abstract is required whereas for English article, there is no need for Thai abstract submission. The main manuscript should be submitted as .doc or .docx. All figures and tables should be submitted as separated files (1 file for each figure or table). For figures and diagrams, the acceptable file formats are .tif, .bmp and .jpeg with resolution at least 300 dpi. with 2 MB.

Contact Address

Editorial Staff of the Journal of the Dental Association of Thailand
The Dental Association of Thailand
71 Ladprao 95
Wangtonglang Bangkok 10310
Email: jdat.editor@gmail.com
Telephone: 669-7007-0341

Manuscript Preparation

1. For English article, use font of Cordia New Style size 16 in a standard A4 paper (21.2 x 29.7 cm) with 2.5 cm margin on all four sides. The manuscript

should be typewritten.

2. For Thai article, use font of Cordia New Style size 16 in a standard A4 paper (21.2 x 29.7 cm) with 2.5 cm margin on all four sides. The manuscript should be typewritten with 1.5 line spacing. Thai article must also provide English abstract. All references must be in English. For the article written in Thai, please visit the Royal Institute of Thailand (<http://www.royin.go.th>) for the assigned Thai medical and technical terms. The original English words must be put in the parenthesis mentioned at the first time.
3. Numbers of page must be placed on the top right corner. The length of article should be 10-12 pages including the maximum of 5 figures, 5 tables and 40 references for original articles. (The numbers of references are not limited for review article)
4. Measurement units such as length, height, weight, capacity etc. should be in metric units. Temperature should be in degree Celsius. Pressure units should be in mmHg. The hematologic measurement and clinical chemistry should follow International System Units or SI.
5. Standard abbreviation must be used for abbreviation and symbols. The abbreviation should not be used in the title and abstract. Full words of the abbreviation should be referred at the end of the first abbreviation in the content except the standard measurement units.
6. Position of the teeth may use full proper name such as maxillary right canine or symbols according to FDI two-digit notation and write full name in the parenthesis after the first mention such as tooth 31 (mandibular left central incisor).
7. Every illustration including tables must be referred in all illustrations. The contents and alphabets in the illustrations and tables must be in English. All figures and table must be clearly illustrated with the legend. Numbers are used in Arabic form and limited as necessary. During the submission process, all photos and tables must be submitted in the separate files. Once the manuscript is accepted, an author may be requested to resubmit the high quality photos.

Preparation of the Research Articles

1. Title Page

The first page of the article should contain the following information

- Category of the manuscript
- Article title
- Authors' names and affiliated institutions
- Author's details (name, mailing address, E-mail, telephone and FAX number)

2. Abstract

The abstract must be typed in only one paragraph. Only English abstract is required for English article. Both English and Thai abstracts are required for Thai article and put in separate pages. The abstract should contain title, objectives, methods, results and conclusion continuously without heading on each section. Do not refer any documents, illustrations or tables in the abstract. The teeth must be written by its proper name not by symbol. Do not use English words in Thai abstract but translate or transliterate it into Thai words and do not put the original words in the parenthesis. English abstract must not exceed 300 words. Key words (3-5 words) are written at the end of the abstract in alphabetical order with comma (,) in-between.

3. Text

The text of the original articles should be organized in sections as follows

- **Introduction:** indicates reasons or importances of the research, objectives, scope of the study. Introduction should review new documents in order to show the correlation of the contents in the article and original knowledge. It must also clearly indicate the hypothesis.
- **Materials and Methods:** indicate details of materials and methods used in the study for readers to be able to repeat such as chemical product names, types of experimental animals, details of patients including sources, sex, age etc. It must also indicate name, type, specification, and other information of materials for each method. For a research report performed in human subjects, authors should indicate that the study was performed according to the ethical Principles for Medical Research and Experiment involving human subjects such as Declaration of Helsinki 2000 or has been approved by the ethic committees of each institute.
- **Results:** Results are presentation of the discovery of experiments or researches. It should be categorized and related to the objectives of the articles. The results can be presented in various forms such as words, tables, graphs or illustrations etc. Avoid repeating the results both in tables and in paragraph. Emphasize only important issues.
- **Discussion:** The topics to be discussed include the objectives of the study, advantages and disadvantages of materials and methods. However, the important points to be especially considered are the experimental results compared directly with the concerned experimental study.

It should indicate the new discovery and/or important issues including the conclusion from the study. New suggestion, problems and threats from the experiments should also be informed in the discussion and indicate the ways to make good use of the results.

- **Conclusion:** indicates the brief results and the conclusions of the analysis.
- **Acknowledgement:** indicates the institutes or persons helping the authors, especially on capital sources of researches and numbers of research funds (if any).
- **References** include every concerned document that the authors referred in the articles. Names of the journals must be abbreviated according to the journal name lists in "Index Medicus" published annually or from the website <http://www.nlm.nih.gov>

Writing the References

The references of both Thai and English articles must be written only in English. Reference system must be Vancouver system, using Arabic numbers, making order according to the texts chronologically. Titles of the Journals must be in Bold and Italics. The publication year, issue and pages are listed respectively without volume.

Sample of references from articles in Journals

Phantumvanit P, Feagin FF, Koulourides T. Strong and weak acids sampling for fluoride of enamel remineralized sodium fluoride solutions. *Caries Res* 1977;11:56-61.

- Institutional authors

Council on Dental materials and Devices. New American Dental Association Specification No.27 for direct filling resins. *J Am Dent Assoc* 1977;94:1191-4.

- No author

Cancer in south Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994;84:15.

Sample of references from books and other monographs

- Authors being writers

Neville BW, Damn DD, Allen CM, Bouquot JE. Oral and maxillofacial pathology. Philadelphia: WB Saunder; 1995. p. 17-20

- Authors being both writer and editor

Norman IJ, Redfern SJ, editors. Mental health care for the elderly people. New York: Churchill Livingstone; 1996.

- Books with authors for each separate chapter

-Books with authors for each separate chapter and also have editor

Sanders BJ, Henderson HZ, Avery DR. Pit and fissure sealants; In: McDonald RE, Avery DR, editors. Dentistry for the child and adolescent. 7th ed. St Louis: Mosby; 2000. p. 373-83.

- Institutional authors

International Organization for Standardization. ISO/TR 11405 Dental materials-Guidance on testing of adhesion to tooth structure. Geneva: ISO; 1994.

Samples of references from academic conferences

- Conference proceedings

Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neuro physiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

- Conference paper

Hotz PR. Dental plaque control and caries. In: Lang PN, Attstrom R, Loe H, editors. Proceedings of the European Work shop on Mechanical Plaque Control; 1998 May 9-12; Berne, Switzerland. Chicago: Quintessence Publishing; 1998. p. 35-49.

- Documents from scientific or technical reports

Fluoride and human health. WHO Monograph; 1970. Series no.59.

Samples of reference from thesis

Muandmingsuk A. The adhesion of a composite resin to etched enamel of young and old teeth [dissertation]. Texas: The University of Texas, Dental Branch at Houston; 1974.

Samples of reference from articles in press

Swasdison S, Apinhasmit W, Siri-upatham C, Tungpitsyotn M, Pateepasen R, Suppipat N, *et al.* Chemical sterilization for barrier membranes is toxic to human gingival fibroblasts. *J Dent Assoc Thai*. In press 2000. *In this case, accepted letter must be attached.

Samples of reference from these articles are only accepted in electronic format

- Online-only Article (With doi (digital identification object number)

Rasperini G, Acunzo R, Limiroli E. Decision making in gingival recession treatment: Scientific evidence and clinical experience. *Clin Adv Periodontics* 2011;1: 41-52. doi:10.1902 cap.2011.100002.

- Online only article (without doi)

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* 2002;102(6) [cited 2002 Aug 12]

Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htmArticle>.

-Ahead of printing

McGuire MK, Scheyer ET, Nevins M, Neiva R, Cochran DL, Mellonig JT, *et al.* Living cellular construct for increasing the width of keratinized gingival. Results from a randomized, withinpatient, controlled trial [published online ahead of print March 29, 2011]. *J Periodontol* doi:10.1902/jop.2011.100671.

Samples of references from patents/petty patents

Patent

Pagedas AC, inventor; Ancel Surgical R&D Inc., assignee. Flexible endoscopic grasping and cutting device and positioning tool assembly. United States patent US 20020103498. 2002 Aug 1.

Petty patent

Pripem A, inventor, Khon Kaen University. Sunscreen gel and its manufacturing process. Thailand petty patent TH1003001008. 2010 Sep 20.

Preparation of the Review articles and Case reports

Review articles and case reports should follow the same format with separate pages for Abstract, Introduction, Discussion, Conclusion, Acknowledgement and References.

The Editorial and Peer Review Process

The submitted manuscript will be reviewed by at least 2 qualified experts in the respective fields. In general, this process takes around 4 - 8 weeks before the author be notified whether the submitted article is accepted for publication, rejected, or subject to revision before acceptance.

The author should realize the importance of correct format manuscript, which would affect the duration of the review process and the acceptance of the articles. The Editorial office will not accept a submission if the author has not supplied all parts of the manuscript as outlined in this document.

Copyright

Upon acceptance, copyright of the manuscript must be transferred to the Dental Association of Thailand.

PDF files of the articles are available at <http://www.jdat.org>.

Color Printing (baht / 2,000 copy) : Extra charge for addition color printing for 1-16 pages is 15,000 baht vat included. The price is subjected to change with prior notice.



วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์

JOURNAL OF THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND

สารบัญ

ปีที่ 69 ฉบับที่ 3 กรกฎาคม - กันยายน พ.ศ. 2562

บทความปริทัศน์

นัยาล้างคลองรากฟัน: การพิจารณาเลือกใช้เพื่อ
ความสำเร็จในการรักษาเนื้อเยื่อในของฟันน้ำนม
ศิริพร ส่งศิริประดับบุญ
ณัฐนันท์ โกวิทวัฒนา

อวัยวะปริทันต์ภายหลังการปรับระดับและเรียงฟัน
หน้าล่างในการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันโดยไม่ถอนฟัน
พรพัฒน์ ชีร์โสภณ
ไชยรัตน์ เฉลิมรัตนโรจน์

บทวิทยากร

The Study of Difference in Clinical Tooth
Color Measurement among Visual Method
Using White Light Box, Intraoral Scanner and
Spectrophotometer
Paweena Sangasaeng
Chaivut Prunkngarpun
Wilawan Weraarchakul

Alveolar Bone Macroscopic Changes as a Response
to Light Controlled-tipping Maxillary Dental Arch
Expansion in Young Adults: A Cone-beam Computed
Tomography Study
Chanchai Pattanaviriyapisan
Chairat Chareomratrote
Udom Thongudomporn

ผลของสารสกัดลูกเต๋อยต่อเซลล์สร้างกระดูกปฐมนิ
ของมนุษย์: ความเป็นพิษต่อเซลล์และการพอกพูน
ของแคลเซียมในหลอดทดลอง
จิตรรัตน์ อังวรารัง
นรีกานต์ จันทนการกร
นิรชา เจริญกิจจาธร
วรินทร์ ตรีวัฒนา
อรอุมา อังวรารัง

Contents

Volume 69 Number 3 July - September 2019

Review Article

247 Root Canal Irrigants: Considerations for
Success in Pulp Treatment for Primary Teeth
Siriporn Songsiripradubboon
Nattanan Govitvattana

260 Periodontal Tissues After Level and Align Lower
Anterior Teeth in Non-extraction Orthodontic Treatment
Pornpat Theerasopon
Chairat Charoemratrote

Original Article

271 The Study of Difference in Clinical Tooth
Color Measurement among Visual Method
Using White Light Box, Intraoral Scanner and
Spectrophotometer
Paweena Sangasaeng
Chaivut Prunkngarpun
Wilawan Weraarchakul

281 Alveolar Bone Macroscopic Changes as a Response
to Light Controlled-tipping Maxillary Dental Arch
Expansion in Young Adults: A Cone-beam Computed
Tomography Study
Chanchai Pattanaviriyapisan
Chairat Chareomratrote
Udom Thongudomporn

291 The Effects of Adlay Extract on Primary Human
Osteoblast Cells: Cytotoxicity and *In vitro* Calcification
Thidarang Angwarawong
Nareekarn Chantakanakakorn
Niracha Chareonkitjatorn
Warinthon Triwatana
Onauma Angwaravong



วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์

JOURNAL OF THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND

สารบัญ

ปีที่ 69 ฉบับที่ 3 กรกฎาคม - กันยายน พ.ศ. 2562

บทวิทยาการ

Characteristics of Gingival Biotype of Maxillary Incisors in Thai Young Adults

Pimchanok Sutthiboonyapa

Kraisorn Arsathong

Jutarat Phuensuriya

Jatupon Fuengfu

Hom-Lay Wang

Kajorn Kungsadalpipob

Association of Skeletal Bone Mineral Density and Periodontitis in Postmenopausal Women of the Electricity Generating Authority of Thailand (EGAT)

Rapatchata Suthasinekul

Sanutm Mongkornkarn

Chanika Sritara

Attawood Lertpimonchai

Suphot Tamsailom

Artit Udomsak

Effects of Blood Contamination on Apatite Formation, pH and Ion Release of Three Calcium Silicate-based Materials

Nareerat Thanavibul

Anchana Panichuttra

Chootima Ratisoontorn

Vertical Skeletal Pattern influences Alveolar bone Thickness in the Anterior Mandible of Thais

Phuntin Uengkajornkul

Korapin Mahatumarat

Soontra Panmekiate

Contents

Volume 69 Number 3 July - September 2019

Original Article

303 Characteristics of Gingival Biotype of Maxillary Incisors in Thai Young Adults

Pimchanok Sutthiboonyapa

Kraisorn Arsathong

Jutarat Phuensuriya

Jatupon Fuengfu

Hom-Lay Wang

Kajorn Kungsadalpipob

312 Association of Skeletal Bone Mineral Density and Periodontitis in Postmenopausal Women of the Electricity Generating Authority of Thailand (EGAT)

Rapatchata Suthasinekul

Sanutm Mongkornkarn

Chanika Sritara

Attawood Lertpimonchai

Suphot Tamsailom

Artit Udomsak

324 Effects of Blood Contamination on Apatite Formation, pH and Ion Release of Three Calcium Silicate-based Materials

Nareerat Thanavibul

Anchana Panichuttra

Chootima Ratisoontorn

334 Vertical Skeletal Pattern influences Alveolar bone Thickness in the Anterior Mandible of Thais

Phuntin Uengkajornkul

Korapin Mahatumarat

Soontra Panmekiate



วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์

JOURNAL OF THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND

สารบัญ

ปีที่ 69 ฉบับที่ 3 กรกฎาคม - กันยายน พ.ศ. 2562

บทวิทยาการ

How Thick Peri-implant Tissue Affected Esthetic Satisfaction on Single Implant Restoration in Treated Periodontal Patients

Tharntip Suwanwichit

Navawan Sophon

Teerawut Tangsathian

Kakanang Supanimitkul

Kajorn Kungsadalpipob

Sirikarn P. Arunyanak

กำลังแรงยึดเหนี่ยวของเซอรโคเนียกับเรซินซีเมนต์
เมื่อใช้สารยึดติดชนิดต่าง ๆ

อวิรุทธ์ คล้ายศิริ

นันทวรรณ กระจ่างตา

ตุลย์ ศรีอัมพร

นิยม อารงค์อนันต์สกุล

Efficacy of Articaine Infiltration for Pulp Treatment in Mandibular Primary Molars: A Randomized Split-mouth Clinical Trial

Anchana Areethamsirkul

Siriruk Nakornchai

Benjamas Apipan

Contents

Volume 69 Number 3 July - September 2019

Original Article

How Thick Peri-implant Tissue Affected Esthetic Satisfaction on Single Implant Restoration in Treated Periodontal Patients

Tharntip Suwanwichit

Navawan Sophon

Teerawut Tangsathian

Kakanang Supanimitkul

Kajorn Kungsadalpipob

Sirikarn P. Arunyanak

Shear Bond Strengths of Zirconia/Resin Cement Using Different Adhesives

Awiruth Klaisiri

Nantawan Krajangta

Tool Sriamporn

Niyom Thamrongananskul

Efficacy of Articaine Infiltration for Pulp Treatment in Mandibular Primary Molars: A Randomized Split-mouth Clinical Trial

Anchana Areethamsirkul

Siriruk Nakornchai

Benjamas Apipan

Front cover image:

Adapt from Representative XRD, SEM and EDX data of TRRM/non-blood after immersion in PBS for 1, 7, 14 and 28 days (see Thanavibul *et al.*, page 327 for detail)



บทความปริทัศน์

น้ำยาล้างคลองรากฟัน: การพิจารณาเลือกใช้เพื่อความสำเร็จในการรักษาเนื้อเยื่อในของฟันน้ำนม

Root Canal Irrigants: Considerations for Success in Pulp Treatment for Primary Teeth

ศิริพร ส่งศิริประดับบุญ¹, ณัฐนันท์ โกวิทวัฒนา¹

Siriporn Songsiripradubboon¹, Nattanan Govitvattana¹

¹ภาควิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ

¹Department of Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok

บทคัดย่อ

การรักษาเนื้อเยื่อในของฟันน้ำนมมีจุดมุ่งหมายเพื่อเก็บรักษาฟันน้ำนมขึ้นนั้นไว้ให้ใช้งานได้และคงอยู่ในช่องปากจนถึงระยะเวลาที่เหมาะสม เชื้อจุลินทรีย์เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อในและเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟัน การลดหรือกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ออกจากระบบคลองรากฟันจึงเป็นเป้าหมายหลักของการรักษาเนื้อเยื่อใน การทำความสะอาดคลองรากฟันด้วยน้ำยาล้างคลองรากฟันมีบทบาทสำคัญในการช่วยกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ เชื้อล้างเศษเนื้อเยื่อต่าง ๆ รวมทั้งกำจัดชั้นสเมียร์ ในปัจจุบันมีน้ำยาล้างคลองรากฟันหลายชนิดที่ถูกแนะนำให้ใช้ในระหว่างกระบวนการรักษาเนื้อเยื่อในของฟันน้ำนม โดยน้ำยาล้างคลองรากฟันแต่ละชนิดมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกันไป รวมทั้งมีข้อพึงระวังต่าง ๆ ในการนำไปใช้งานทางคลินิก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการรักษาในผู้ป่วยเด็ก ดังนั้น บทความปริทัศน์นี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับน้ำยาล้างคลองรากฟันที่ถูกนำมาใช้ในการรักษาเนื้อเยื่อในฟันน้ำนมในแง่มุมต่าง ๆ ทั้งกลไกการออกฤทธิ์ ประสิทธิภาพการทำงาน และผลข้างเคียงของน้ำยาแต่ละชนิด รวมทั้งให้ข้อมูลงานวิจัยต่าง ๆ ที่ศึกษาในฟันน้ำนมเพื่อเป็นแนวทางให้ทันตแพทย์ใช้ในการตัดสินใจเลือกน้ำยาล้างคลองรากฟันในระหว่างกระบวนการรักษาเนื้อเยื่อในของฟันน้ำนมได้อย่างเหมาะสม

คำสำคัญ: การรักษาเนื้อเยื่อใน, น้ำยาล้างคลองรากฟัน, ฟันน้ำนม

Abstract

The aim of the pulp treatment in primary teeth is to preserve and maintain fully functional primary teeth in the dental arch until the time of natural exfoliation. It is well studied that microorganisms are considered to be a major cause of pulpal and periapical pathosis. Therefore, the primary goal of pulp treatment is to eliminate or reduce microorganisms inside an infected root canal system. Root canal cleaning with irrigating solutions becomes one of the standard protocol as it can remove microorganisms, tissue debris, and smear layer efficiently. Various irrigating solutions have been suggested for pulp treatment in primary teeth. Different irrigants have distinct properties and, thus, present with different advantages, disadvantages and limitations. In clinical practice, these properties need to be considered, in particular, when using in pediatric patients. The objective of this article is, therefore, to review the various irrigating solutions commonly used in pulp treatment in primary teeth in many aspects. The

mechanisms of actions, effectiveness, and their side effects are discussed. This information would be useful for clinicians to choose an irrigant during pulp treatment procedure.

Keyword: Pulp treatment, Irrigant, Primary teeth

Received Date: Dec 13, 2018

Revised Date: Jan 8, 2018

Accepted Date: Mar 13, 2019

Doi: 10.14456/jdat.2019.33

Correspondence to:

Siriporn Songsiripraduboon, Department of Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University. 34 Henry-Dunant Rd., Wangmai, Pathumwan, Bangkok, 10330 Thailand. Tel. 02-2188906 Fax: 02-2188906 Email : siriporn.son@chula.ac.th

บทนำ

การรักษาเนื้อเยื่อในของฟันน้ำนมมีวัตถุประสงค์เพื่อเก็บรักษาฟันน้ำนมขึ้นไว้นานพอจนกว่าจะถึงระยะเวลาที่ฟันน้ำนมขึ้นนั้นจะหลุดไปตามธรรมชาติ¹ เพื่อป้องกันปัญหาต่าง ๆ ที่อาจเกิดขึ้นจากการสูญเสียฟันน้ำนมไปก่อนกำหนด อันได้แก่ ปัญหาด้านการสบฟัน² ปัญหาด้านพัฒนาการและการเจริญเติบโต^{3,4} ปัญหาด้านการออกเสียง⁵ รวมถึงผลกระทบต่อด้านจิตใจและความพึงพอใจในตนเอง (self-esteem) ของเด็ก⁶ วิธีการรักษาเนื้อเยื่อในของฟันน้ำนมแบ่งได้เป็น 2 ประเภท ขึ้นกับระดับการอักเสบที่เกิดขึ้นภายในโพรงเนื้อเยื่อใน กล่าวคือ กรณีที่โพรงเนื้อเยื่อในมีการอักเสบชนิดผันกลับได้ การรักษาที่เหมาะสม คือ การรักษาความมีชีวิตของฟันไว้ (vital pulp therapy) ซึ่งอาจทำได้โดยการปิดทับเนื้อเยื่อในโดยอ้อม (indirect pulp capping) การปิดทับเนื้อเยื่อในโดยตรง (direct pulp capping) หรือการทำพัลโพโตมี (pulpotomy) ซึ่งเป็นวิธีการรักษาความมีชีวิตของฟันน้ำนมที่ได้รับการยอมรับมาเป็นระยะเวลานาน ส่วนอีกกรณีหนึ่งคือ กรณีที่โพรงเนื้อเยื่อในมีการอักเสบชนิดผันกลับไม่ได้ ซึ่งจำเป็นต้องได้รับการรักษาด้วยวิธีพัลเพคโตมี (pulpectomy)¹

ความสำเร็จของการรักษาเนื้อเยื่อในของฟันน้ำนมขึ้นกับปัจจัยหลายประการ^{7,8} ได้แก่ การวินิจฉัยชนิดของการอักเสบที่เกิดขึ้นได้อย่างถูกต้อง พยาธิสภาพของฟันก่อนการรักษา ชนิดของยาและวัสดุที่ใช้ในการรักษา รวมถึงชนิดของวัสดุบูรณะฟันภายหลังการรักษา การลดหรือการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์เป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่สำคัญต่อความสำเร็จของการรักษา⁹ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการรักษาเนื้อเยื่อในชนิดพัลเพคโตมี ซึ่งเนื้อเยื่อในเกิดการติดเชื้อและมีการอักเสบชนิดผันกลับไม่ได้หรืออาจมีการตายของ

เนื้อเยื่อในเกิดขึ้น ฟันขึ้นนั้นจึงจำเป็นต้องได้รับการทำความสะอาดและกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ออกจากคลองรากฟันตลอดทั้งคลองรากฟัน อย่างไรก็ตามเชื้อจุลินทรีย์ไม่ได้จำกัดตัวอยู่เฉพาะในคลองรากฟันหลักเท่านั้น การทำความสะอาดคลองรากฟันด้วยแรงกลเพียงอย่างเดียวจึงอาจจะไม่เพียงพอที่จะกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ออกจากระบบคลองรากฟัน การล้างคลองรากฟันด้วยน้ำยาล้างคลองรากฟันจึงเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญที่จะช่วยเพิ่มความสำเร็จของการรักษาได้¹⁰ โดยน้ำยาล้างคลองรากฟันจะช่วยหล่อลื่นคลองรากฟันในระหว่างการทำความสะอาดคลองรากฟันด้วยแรงกล ช่วยชะล้างเศษเนื้อเยื่อต่าง ๆ รวมทั้งช่วยลดและกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ออกจากระบบคลองรากฟัน

ภายในคลองรากฟันน้ำนมที่เนื้อเยื่อในตาย (pulp necrosis) และเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันอักเสบ (apical periodontitis) จะพบการติดเชื้อจากเชื้อหลายชนิด (polymicrobial infection) โดยมีเชื้อจุลินทรีย์ชนิดไม่พึ่งออกซิเจน (anaerobe) ในสัดส่วนมากกว่าเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น¹¹ จากการศึกษาด้วยวิธีการเพาะเชื้อจุลินทรีย์แบบดั้งเดิม และการศึกษาในระดับโมเลกุล (molecular technique) แสดงให้เห็นว่าเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ในคลองรากฟันน้ำนมที่ติดเชื้อมีความใกล้เคียงกับเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในคลองรากฟันแท้^{12,13} โดยพบเชื้อชนิดพึ่งออกซิเจน (aerobe) ไม่พึ่งออกซิเจน แบคทีเรียที่สร้างเม็ดสีดำ (black-pigmented bacteria) และมิวแทนส์ สเตรปโตคอคโคไค (mutans streptococci) นอกจากนี้ จากการศึกษาด้วยเทคนิค checkerboard DNA-DNA hybridization พบว่าในคลองรากฟันน้ำนมที่ติดเชื้อนั้นมีเชื้อแบคทีเรียที่ยากต่อการเพาะเชื้อ ได้แก่ แทนเนอเรลลา ฟอริซิเทีย (*Tannerella forsythia*)

และ ทรีโพนีมา เด็นติโคลา (*Treponema denticola*) ปรากฏอยู่ด้วย¹⁴

แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ตามธรรมชาติ เช่น ในช่องปาก ในคลองรากฟันที่ติดเชื้อ อาจอยู่ในรูปเซลล์ที่ลอยลอยเป็นอิสระ (planktonic state) หรืออยู่รวมตัวกับเซลล์อื่น ๆ ในลักษณะของแผ่นชีวภาพ (biofilm) โดยในแผ่นชีวภาพนี้จะประกอบไปด้วยแบคทีเรียหลากหลายสายพันธุ์ที่รวมกันเป็นกลุ่มก้อนฝังตัวอยู่ในเมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix) ที่กลุ่มแบคทีเรียเหล่านี้สร้างขึ้นเอง ภายในมีร่องน้ำที่เป็นเส้นทางในการลำเลียงสารอาหารและกำจัดของเสีย¹⁵ แผ่นชีวภาพนี้มีบทบาทสำคัญในการปกป้องเชื้อแบคทีเรียจากสิ่งแวดล้อมภายนอกที่เป็นอันตรายต่อเชื้อแบคทีเรีย ไม่ว่าจะเป็นจากเซลล์หรือกลไกต่าง ๆ ของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายมนุษย์ (immune response) รวมทั้งน้ำยา สารต้านจุลชีพ และยาปฏิชีวนะต่าง ๆ ด้วย¹⁶ แบคทีเรียที่อยู่ในแผ่นชีวภาพจะมีความสามารถในการทนต่อสารต้านจุลชีพมากกว่าแบคทีเรียที่ลอยลอยอยู่เดี่ยว ๆ ได้ถึง 1,000 เท่า^{17,18} โดยแผ่นชีวภาพจะทำหน้าที่เป็นสิ่งกีดขวางทางกายภาพทำให้น้ำยาหรือสารต่าง ๆ ซึมผ่านชั้นของแผ่นชีวภาพไปสัมผัสและออกฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ด้านในได้ยากขึ้น นอกจากนี้แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ภายในแผ่นชีวภาพจะมีการปรับตัวให้มีอัตราเมตาบอลิซึม (metabolic activity) และอัตราการเจริญเติบโต (growth rate) ลดลง พัฒนาเป็นสายพันธุ์ที่ทนต่อสภาวะแวดล้อมมากขึ้น รวมทั้งสามารถแลกเปลี่ยนดีเอ็นเอ (DNA) ที่ต้านต่อยาปฏิชีวนะระหว่างกันได้อย่างรวดเร็ว¹⁶ สิ่งแวดล้อมภายในแผ่นชีวภาพเองยังส่งเสริมให้แบคทีเรียภายในแผ่นชีวภาพทนต่อยาและสารต่าง ๆ ที่ใช้ในการรักษาคคลองรากฟันได้มากขึ้น เช่น สภาวะขาดออกซิเจนหรือความเป็นกรดภายในแผ่นชีวภาพ จะส่งผลขัดขวางการออกฤทธิ์ของยาและสารต้านจุลชีพต่าง ๆ ที่ใช้ในกระบวนการรักษา¹⁹

จะเห็นได้ว่าการติดเชื้อภายในคลองรากฟันเป็นการติดเชื้อร่วมกันจากเชื้อหลายชนิด และภายในคลองรากฟันที่ติดเชื้ออาจพบทั้งแบคทีเรียที่ลอยลอยอยู่เดี่ยว ๆ หรืออยู่รวมตัวกันในลักษณะของแผ่นชีวภาพ ดังนั้นคุณสมบัติของน้ำยาล้างคลองรากฟันที่ดีจึงควรมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อได้กว้าง (broad spectrum) และในขณะเดียวกันควรมีความสามารถในการแทรกซึมหรือทำลายการรวมกลุ่มของเชื้อในแผ่นชีวภาพได้ดีด้วย

ชนิดของน้ำยาล้างคลองรากฟัน

1. โซเดียมไฮโปคลอไรต์ (Sodium hypochlorite; NaOCl)

โซเดียมไฮโปคลอไรต์ เป็นสารต้านจุลชีพ (antimicrobial agent) ที่มีฤทธิ์ในการกำจัดเชื้อสูง สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่ได้เมื่อสารสัมผัสกับเชื้อโดยตรง ในสภาวะที่โซเดียมไฮโป

คลอไรต์อยู่ในน้ำจะแตกตัวให้โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Na⁺) และไฮโปคลอไรต์ไฮดรอกไซด์ (OCI⁻) โดยไฮดรอกไซด์ทั้งสองนี้จะอยู่ในระบบสมดุลร่วมกับกรดไฮโปคลอรัส (HOCl)⁹ ดังสมการ $\text{NaOCl} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{NaOH} + \text{HOCl} \leftrightarrow \text{Na}^+ + \text{OH}^- + \text{H}^+ + \text{OCI}^-$ ในสภาวะที่ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) สูงกว่า 9.0 คลอรีนส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปไฮโปคลอไรต์ไฮดรอกไซด์ แต่ในทางกลับกันในสภาวะกรดหรือสภาวะเป็นกลาง คลอรีนส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของกรดไฮโปคลอรัส ซึ่งจะมีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียสูงกว่าไฮโปคลอไรต์ไฮดรอกไซด์ กรดไฮโปคลอรัสมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อจุลชีพผ่านการทำลายกระบวนการสำคัญต่าง ๆ ของเซลล์จุลชีพ โดยจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของหมู่ซัลไฟไฮไดรล (sulfhydryl) ของเอนไซม์ที่จำเป็นในการดำรงชีพของเชื้อจุลชีพ รวมทั้งทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของกรดอะมิโนต่าง ๆ ส่งผลให้โปรตีนถูกทำลายอย่างถาวร²⁰ แร็กเรียมโซเดียมไฮโปคลอไรต์ถูกนำมาใช้ในกระบวนการฟอกสี (bleaching) ก่อนจะถูกแนะนำโดย Labarraque (ค.ศ.1777-1850) ให้ใช้เพื่อป้องกันการมีไข้หลังคลอด (Childbed fever) และโรคติดเชื้อต่าง ๆ จนกระทั่ง Koch และ Pasteur ได้ทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่าไฮโปคลอไรต์มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ โซเดียมไฮโปคลอไรต์จึงถูกนำมาใช้เป็นน้ำยาฆ่าเชื้อโรค (disinfectant) อย่างแพร่หลาย โซเดียมไฮโปคลอไรต์มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบบไม่เฉพาะเจาะจงต่อเชื้อทุกชนิด (non specific killing) สามารถฆ่าได้ทั้งแบคทีเรีย ไวรัส และสปอร์²¹ และยังมีข้อดีในการนำไปใช้งานทางคลินิกอีกประการคือ ราคาถูก และมีอายุการเก็บรักษาที่ดี (good shelf life) เมื่อเก็บในสภาวะที่เหมาะสม²²

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพทางคลินิกของโซเดียมไฮโปคลอไรต์ ได้แก่ ความเข้มข้น และระยะเวลาที่น้ำยาสัมผัสกับคลองรากฟัน โดยในงานรักษาคคลองรากฟัน นิยมใช้โซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่มีความเข้มข้นระหว่างร้อยละ 0.5 – 6²³ ความเข้มข้นของโซเดียมไฮโปคลอไรต์จะมีผลต่อประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ทางคลินิกทั้งในแง่ของการฆ่าเชื้อจุลชีพและการละลายเศษเนื้อเยื่อ โดยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่มีความเข้มข้นสูงจะใช้เวลาในการฆ่าเชื้อจุลชีพน้อยกว่าที่ความเข้มข้นต่ำ^{24,25} โซเดียมไฮโปคลอไรต์ยังมีฤทธิ์ละลายเศษเนื้อเยื่อใน²⁶ และคอลลาเจนซึ่งเป็นส่วนประกอบอินทรีย์หลักของเนื้อฟัน²⁷ โดยไฮโปคลอไรต์จะละลายเนื้อเยื่อตาย (necrotic tissue) ได้ดีกว่าเนื้อเยื่อที่มีชีวิต (vital tissue)²⁸ และยิ่งความเข้มข้นสูงจะยิ่งละลายเนื้อเยื่อได้เร็ว²⁹

ระยะเวลาที่โซเดียมไฮโปคลอไรต์ใช้ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียมีรายงานแตกต่างกันออกไป ปัจจัยที่ส่งผลให้โซเดียมไฮโปคลอไรต์ใช้ระยะเวลาในการฆ่าเชื่อนานขึ้น คือ สารอินทรีย์ภายในคลองรากฟัน โดยน้ำเซลล์อักเสบ (inflammatory exudate)

ส่วนเหลือของเนื้อเยื่อ (tissue remnants) และกลุ่มก้อนเชื้อจุลชีพ (microbial biomass) ล้วนมีผลลดฤทธิ์การฆ่าเชื้อของโซเดียมไฮโปคลอไรต์ลงได้ ดังนั้นการล้างอย่างต่อเนื่องและนานเพียงพอจึงเป็นปัจจัยสำคัญต่อประสิทธิภาพการทำงานของโซเดียมไฮโปคลอไรต์⁹

ข้อจำกัดในการใช้งานทางคลินิกของโซเดียมไฮโปคลอไรต์ประการหนึ่ง คือ ไม่สามารถช่วยกำจัดชั้นสเมียร์ (smear layer) ที่เกิดขึ้นในระหว่างการเตรียมคลองรากฟันได้อย่างไรก็ตามโซเดียมไฮโปคลอไรต์นั้นออกฤทธิ์ต่อส่วนประกอบทางอินทรีย์ของชั้นสเมียร์ จึงมีผลช่วยให้สารเคลือบซึ่งใช้ในขั้นตอนต่อไปภายหลังจากการล้างคลองรากฟันด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์สามารถออกฤทธิ์กำจัดชั้นสเมียร์ได้โดยสมบูรณ์⁹ ข้อด้อยสำคัญของโซเดียมไฮโปคลอไรต์ได้แก่ ความเป็นพิษของสาร โซเดียมไฮโปคลอไรต์มีฤทธิ์ระคายเคืองต่อเนื้อเยื่ออ่อน หากสัมผัสกับผิวหนังหรือดวงตาอาจก่อให้เกิดความพิการถาวรได้ นอกจากนี้ยังมีรสและกลิ่นที่รุนแรง กัดสีเสื้อผ้าได้ มีประสิทธิภาพลดลงเมื่อสัมผัสกับสารอินทรีย์ต่าง ๆ ที่ปรากฏในคลองรากฟัน³⁰ รวมถึงมีฤทธิ์สลายองค์ประกอบอินทรีย์ของเนื้อฟันได้จึงอาจมีผลลดคุณภาพของเนื้อฟันในด้านความยืดหยุ่น (elasticity) และ ความแข็งแรงดัดขวาง (flexural strength) ได้³¹

แม้ว่าจะมีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่สูงขึ้นจะมีผลเพิ่มประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในแผ่นชีวภาพได้อย่างมีนัยสำคัญ³² แต่การนำโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นสูงมาใช้ในงานทันตกรรมสำหรับเด็กนั้นจำเป็นต้องคำนึงถึงเรื่องความปลอดภัยเป็นสำคัญ

การรั่วซึมของน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรต์ออกนอกปลายราก (Sodium hypochlorite accident)

อาการและอาการแสดงทางคลินิก คือ ปวด บวมเฉพาะที่หรือขยายเป็นวงกว้าง โดยเกิดขึ้นฉับพลันในขณะที่ทำการรักษาหรือภายหลังการรักษาไปแล้วหลายชั่วโมง³³ สาเหตุของการเกิดการรั่วซึมของน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรต์ออกนอกปลายรากอาจเกิดจากวิธีการล้างคลองรากที่ไม่เหมาะสม หรืออาจเป็นผลมาจากลักษณะทางกายวิภาคของปลายรากฟันและกระดูกโดยรอบ^{34,35} จุดสังเกตทางคลินิกที่บ่งบอกว่าอาจเกิดการรั่วซึมของน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรต์ขึ้น ได้แก่ การมีเลือดออกจากคลองรากฟันที่ไม่สามารถควบคุมได้หรือผู้ป่วยรู้สึกแสบร้อนมาอย่างกะทันหัน^{34,36}

ข้อมูลเกี่ยวกับอาการ อาการแสดงและการหายของอุบัติการณ์การรั่วซึมของน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรต์ออกนอกปลายราก โดยส่วนใหญ่จะรวบรวมจากกรณีศึกษาของผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาคลองรากฟันในฟันแท้ ซึ่งจะมีความแตกต่างกันออกไปใน

แต่ละกรณีศึกษา อย่างไรก็ตาม โดยทั่วไปแล้วผู้ป่วยส่วนใหญ่จะมีอาการปวดอย่างรุนแรงขึ้นมาทันทีภายในเวลาไม่กี่วินาที ตามมาด้วยการบวมและมีจ้ำเลือดที่ผิวหนังบริเวณใบหน้า แก้ม และริมฝีปาก ในช่วงเวลาไม่กี่นาทีจนถึง 2-3 ชั่วโมง^{34,37} และประมาณ 1 ใน 3 ของกรณีศึกษารายงานว่ามีเลือดออกจากคลองรากฟันที่กำลังรักษาปริมาณมาก³⁸ และหากเป็นกรณีของฟันหลังบน ผู้ป่วยอาจมีอาการปวดรอบกระบอกตา และอาจรู้สึกถึงรสชาติของคลอรีนหรือมีอาการระคายเคืองคอได้ ทั้งนี้เนื่องมาจากการรั่วซึมของน้ำยาออกนอกปลายรากเข้าสู่โพรงอากาศขากรรไกรบน (maxillary sinus) ไปยังโพรงจมูก (nasal cavity) และลงสู่คอหอย (pharynx)³⁹ ภายหลังเกิดอุบัติการณ์ อาการปวดและบวมอาจคงอยู่นานถึง 1 เดือนหรือมากกว่านั้น ผู้ป่วยอาจมีภาวะความรู้สึกสัมผัสเพี้ยน (paresthesia) ซึ่งอาจเกิดขึ้นเพียงชั่วคราวในช่วงระยะเวลาไม่กี่วันจนถึงหลายปี⁴⁰ หรือบางกรณีอาจเป็นอย่างถาวร³⁹ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่ไม่ได้รับการรักษาอย่างเหมาะสม นอกจากความเสียหายต่อเส้นประสาทรับความรู้สึก (sensory nerve) แล้ว บางครั้งอาจมีผลต่อการทำงานของเส้นประสาทสั่งการ (motor nerve) ส่งผลให้การทำงานของกล้ามเนื้อใบหน้าผิดปกติไป⁴¹ ในกรณีของฟันหน้าล่าง หากน้ำยารั่วซึมออกไปยังบริเวณโพรงใต้ลิ้น (sublingual space) และโพรงใต้คาง (submental space) อาจเป็นสาเหตุของการอุดตันทางเดินหายใจอันเป็นอันตรายแก่ชีวิตได้ ในกรณีดังกล่าวผู้ป่วยจะมีการบวมบริเวณคาง ริมฝีปากล่าง ใต้ลิ้น พื้นช่องปากยกสูงขึ้น กลืนลำบากและตามมาด้วยหายใจลำบากในที่สุด ซึ่งอาการดังกล่าวจะเริ่มแสดงฉับพลันทันทีหลังเกิดการรั่ว และจะดำเนินไปอย่างรวดเร็วในช่วง 4-8 ชั่วโมง กรณีเช่นนี้จำเป็นต้องให้การดูแลผู้ป่วยอย่างใกล้ชิดและเร่งด่วนภายในโรงพยาบาล⁴²

ส่วนการรั่วซึมของน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรต์ในฟันน้ำนมนั้นมีรายงานกรณีศึกษาเพียง 2 กรณี กรณีที่หนึ่งในผู้ป่วยเด็กอายุ 1 ปี 10 เดือน เกิดอุบัติการณ์การรั่วซึมของน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรต์ออกนอกปลายรากจากการรักษาพลัคโตมีที่ฟันซี่ 51 และ 61 (ฟันตัดซี่กลางบนซ้ายและขวา) ซึ่งทำการรักษาภายใต้การดมยาสลบ ในระหว่างการรักษาทันตแพทย์ได้ใช้น้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรต์ ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร ฉีดล้างด้วยเข็มเบอร์ 16 ภายหลังการขยายคลองรากฟันเสร็จสิ้น พบว่ามีเลือดไหลออกมาจากคลองรากฟันปริมาณมาก ไม่สามารถห้ามเลือดได้ จึงเปลี่ยนแผนการรักษาเป็นถอนฟันทั้ง 2 ซี่ออกทันทีในการรักษาคั้งนั้น ภายหลังการรักษาทางทันตกรรมในขณะที่ผู้ป่วยอยู่ในห้องพักฟัน ผู้ป่วยมีอาการบวมบริเวณใบหน้า มีจ้ำเลือด (ecchymosis) และเลือดออกใต้ผิวหนัง (subcutaneous hemorrhage) ผู้ป่วย

ได้รับการรักษาตามอาการและได้รับยาปฏิชีวนะเพื่อป้องกันการติดเชื้อซ้ำ ภายหลังเกิดอุบัติเหตุการฉีกขาด 1-2 วัน การอักเสบที่ผิวหนังมีความรุนแรงมากขึ้น แต่ไม่มีอาการอื่น ๆ ร่วม เมื่อติดตามอาการที่ 6 สัปดาห์ พบว่าอาการแสดงต่าง ๆ หายเป็นปกติโดยสมบูรณ์³⁵ และอีกกรณีหนึ่งในผู้ป่วยเด็กอายุ 4 ปี ซึ่งได้รับการรักษาฟัลเพกโตมิลในฟันที่ 64 และ 65 (ฟันกรามซ้ายบนซี่ที่ 1 และ 2) และเกิดการรื้อของน้ำยาไฮโปคลอไรต์ออกไปนอกปลายราก โดยผู้ป่วยมีอาการปวดและบวมที่ใบหน้าด้านซ้ายขึ้นมาอย่างฉับพลันในระหว่างขั้นตอนการล้างคลองรากฟัน ภายหลังเกิดอุบัติเหตุการฉีกขาดได้รับการล้างคลองรากด้วยน้ำเกลือและเปิดโพรงฟันไว้ ผู้ป่วยได้รับยาอะม็อกซิซิลลิน ยาต้านฮิสตามีน และยาสเตียรอยด์ พบว่า อาการบวมที่ใบหน้าดีขึ้นหลังการรักษา 3 วัน และอาการหายเป็นปกติเมื่อติดตามอาการที่ 7 วัน และฟันซี่ดังกล่าวได้รับการรักษาฟัลเพกโตมิลโดยสมบูรณ์ในเวลาต่อมา⁴³

คำแนะนำต่าง ๆ เพื่อป้องกันการรื้อซึมของน้ำยาไฮโปคลอไรต์ออกนอกปลายราก มีดังนี้^{35,36}

1. หาความยาวทำงานในคลองรากฟันด้วยวิธีที่แม่นยำ เช่น การใช้เครื่องระบุตำแหน่งปลายรากฟัน (apex locator)
2. ใช้เข็มชนิดรูเปิดอยู่ด้านข้าง (a side-vent/side-port needle)
3. ระบุตำแหน่งความยาวทำงานในคลองรากฟันบนเข็มของกระบอกน้ำยาล้างคลองรากฟัน โดยให้ปลายเข็มอยู่เหนือความยาวทำงาน 1-2 มิลลิเมตร เพื่อป้องกันการใส่เข็มลึกลงในคลองรากฟันเกินความยาวทำงาน
4. ขณะล้างคลองรากฟัน เข็มจะต้องอยู่ในคลองรากฟันในลักษณะที่หลวมอยู่เสมอ และควรขับเข็มน้ำขึ้นและลงอยู่เสมอ ขณะล้างคลองรากฟัน (slow pumping action) เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดแรงดันที่บริเวณปลายรากฟันขณะล้าง
5. ไม่ฉีดน้ำยาล้างคลองรากฟันด้วยแรงที่มากเกินไป เพราะจะทำให้เกิดแรงดันผลักดันน้ำยาไหลทะลุผ่านปลายรากฟันออกไปเนื้อเยื่อรอบปลายรากฟันได้ และปลายเข็มต้องไม่จิกผนังคลองรากฟัน
6. ในฟันหน้าด้านใน ที่มีคลองรากฟันขนาดใหญ่ และปลายรากยังไม่สมบูรณ์ อาจพิจารณาเลือกการรักษาด้วยวิธีอื่น หรือ เลือกใช้น้ำยาล้างคลองรากฟันชนิดอื่น

แนวทางการจัดการในกรณีที่มีอุบัติการณ์ดังกล่าวเกิดขึ้น^{34,35,38}

1. ใช้เครื่องดูดกำลังแรงสูง (high-volume aspirator) ช่วยดูดเลือดและของเหลวออกจากคลองรากฟัน เพื่อช่วยกำจัดน้ำยาไฮโปคลอไรต์ส่วนเกิน ส่วนการล้างคลองรากฟันด้วยน้ำเกลือเพื่อเจือจางน้ำยาไฮโปคลอไรต์นั้น แม้จะเป็นคำ

แนะนำที่ถูกกล่าวถึงอย่างกว้างขวาง แต่การล้างนั้นอาจไม่เกิดประโยชน์มากนักเพราะน้ำเกลืออาจจุ่มอยู่เฉพาะภายในคลองราก และยังอาจเป็นการขัดขวางการระบายออกของน้ำยาไฮโปคลอไรต์ผ่านทางรูเปิดของฟันอีกด้วย³⁸

2. กรณีที่มีอาการบวมในระดับเล็กน้อย พิจารณาให้การรักษาตามอาการ (supportive treatment) แนะนำให้ผู้ป่วยประคบเย็นในวันนั้น และเปลี่ยนเป็นประคบอุ่นในวันถัดไป รวมทั้งให้บ้วนปากด้วยน้ำอุ่น เพื่อกระตุ้นการไหลเวียนของเลือดบริเวณใบหน้าและช่องปาก โดยอาการและอาการแสดงต่าง ๆ จะใช้เวลาฟื้นตัวและหายได้ในช่วง 2 ถึง 6 สัปดาห์

3. กรณีที่มีอาการบวมในระดับรุนแรง ควรส่งต่อผู้ป่วยให้แพทย์ประเมินอาการ

4. จ่ายยาอะม็อกซิซิลลิน ยาอะม็อกซิซิลลินที่นิยมใช้มากที่สุด คือ พาราเซตามอล (Paracetamol) โดยอาจพิจารณาจ่ายร่วมกับ โคเดอีน (Codeine) ในกรณีที่มีอาการปวดรุนแรง หรือพิจารณาจ่ายร่วมกับยาในกลุ่ม nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) ในกรณีที่อาจเสี่ยงต่อการติดเชื้อ เช่น จ่ายพาราเซตามอลร่วมกับไอบูโพรเฟน (Ibuprofen) ซึ่งจะมีประสิทธิภาพดีในการควบคุมความเจ็บปวดด้วย นอกจากนี้อาจพิจารณาฉีดยาชาเพิ่มร่วมด้วยเพื่อควบคุมความเจ็บปวดในขณะนั้น โดยทั่วไปจะฉีดแบบเฉพาะที่ (local infiltration) แต่หากมีการบวมแบบไม่มีขอบเขตชัดเจน (diffuse swelling) ควรฉีดยาชาด้วยเทคนิคสกัดประสาท (nerve block)

5. จ่ายยาปฏิชีวนะ ในกรณีที่เสี่ยงต่อการมีเนื้อเยื่อตายและเกิดการติดเชื้อในภายหลัง รวมถึงกรณีที่ผู้ป่วยมีปัญหาด้านภูมิคุ้มกันของร่างกาย ควรพิจารณาจ่ายยาปฏิชีวนะ โดยอาจจ่ายในรูปแบบของยาฉีดหรือให้ทางเส้นเลือด (intravenous antibiotics) ขึ้นกับความรุนแรงของอาการ ยาปฏิชีวนะที่นิยมจ่ายมากที่สุด คือ เพนนิซิลลิน (Penicillin) โดยอาจพิจารณาจ่ายร่วมกับกรดคลาวูลานิก (Clavulanic acid) เช่น Amoxicillin/Clavulanic Acid หรือจ่ายร่วมกับยาในกลุ่มแมโครไลด์ (Macrolide)

6. ยาอื่น ๆ ได้แก่ ยาในกลุ่มสเตียรอยด์ เช่น ไฮโดรคอร์ติโซน (hydrocortisone) ถูกนำมาใช้เพื่อลดอาการบวม อย่างไรก็ตาม อาจเพิ่มความเสี่ยงในการติดเชื้อได้ และยังไม่มีการศึกษาที่ชัดเจน ยาต้านฮิสตามีน (antihistamine) ถูกนำมาใช้เพื่อหวังผลลดอาการบวมเช่นกัน และยาหดหลอดเลือดที่เยื่อจมูก (nasal decongestant) ซึ่งจะพิจารณาจ่ายในกรณีที่น้ำยารั่วเข้าสู่โพรงอากาศขากรรไกรบน

7. ติดตามอาการอย่างใกล้ชิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วง 24 ถึง 48 ชั่วโมงแรก รวมทั้งให้กำลังใจและความมั่นใจแก่ผู้ป่วย เพื่อให้ผู้ป่วยสงบและรู้สึกดีขึ้น

2. คลอเฮกซิดีน Chlorhexidine (CHX)

คลอเฮกซิดีนเป็นสารระงับเชื้อ (antiseptic agent) ที่ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในทางการแพทย์ และยังเป็นองค์ประกอบที่พบได้บ่อยในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการดูแลสุขภาพอนามัย เช่น น้ำยาบ้วนปาก และยาสีฟัน คลอเฮกซิดีนมีชื่อทางเคมี คือ 1:6-di[4-chlorophenyldiguanido] hexane เป็นสารจำพวก bisbiguanide ซึ่งมีฤทธิ์เป็นเบสสูง และแสดงประจุบวกในสภาวะ physiological pH คลอเฮกซิดีนจะเสถียรเมื่ออยู่ในรูปแบบเกลือ โดยเกลือคลอเฮกซิดีนสูตรดั้งเดิม คือ คลอเฮกซิดีนอะซีเตต (chlorhexidine acetate) และคลอเฮกซิดีนไฮโดรคลอไรด์ (chlorhexidine hydrochloride) อย่างไรก็ตามเกลือทั้ง 2 ชนิดนี้มีการละลายตัวในน้ำต่ำ⁴⁴ ผลิตภัณฑ์คลอเฮกซิดีนปัจจุบันจึงมักจะผลิตในรูปแบบของเกลือคลอเฮกซิดีนไดกลูโคเนต (chlorhexidine digluconate) ซึ่งมีการละลายตัวดีกว่า

สารละลายคลอเฮกซิดีนดั้งเดิมเป็นสารที่ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น มีรสขม⁴⁵ ออกฤทธิ์โดยจับกับหมู่ฟอสเฟตของโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรีย เกิดการทำลายส่วนประกอบภายในเซลล์แบคทีเรีย (bacterial cytoplasmic) และที่ความเข้มข้นสูงจะมีคุณสมบัติฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (bacteriocidal) โดยจะทำให้เกิดการจับเป็นก้อน (coagulation) ขององค์ประกอบภายในเซลล์แบคทีเรีย⁴⁶ คลอเฮกซิดีนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัสฟีคัลลิส (Enterococcus Faecalis)^{47,48} ซึ่งเป็นเชื้อที่ต้านทานต่อน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรด์ คุณสมบัติที่โดดเด่นของคลอเฮกซิดีน คือ การมีซบสแตนต์ (substantivity) ที่ดี เมื่อถูกนำมาใช้เฉพาะที่ คลอเฮกซิดีนจะจับกับโปรตีนที่ผิวหนังและเยื่อเมือก (mucosa) ทำให้ฤทธิ์ของคลอเฮกซิดีนคงอยู่ได้นาน คลอเฮกซิดีนยังสามารถจับกับเนื้อเยื่อแข็งและยังคงออกฤทธิ์ต้านจุลชีพได้อย่างต่อเนื่อง²³ คลอเฮกซิดีนจะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดได้ในระดับที่น้อยมาก แม้ว่าเข้าสู่ร่างกายผ่านทางรับประทานก็ตาม⁴⁹⁻⁵¹

ปัจจุบันคลอเฮกซิดีนที่ใช้ในงานทันตกรรมมีหลายความเข้มข้นขึ้นกับวัตถุประสงค์ในการนำไปใช้งาน ในกระบวนการรักษาล้างรากฟันจะนิยมใช้คลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 2⁵² ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่สูงกว่าคลอเฮกซิดีนในรูปแบบน้ำยาบ้วนปากซึ่งใช้เพื่อการควบคุมคราบจุลินทรีย์ ประมาณ 10-20 เท่า

ข้อจำกัดของน้ำยาล้างคลองรากฟันคลอเฮกซิดีน คือ ไม่มีคุณสมบัติละลายเนื้อเยื่อต่าง ๆ (tissue-dissolving capability)⁵³ ไม่มีฤทธิ์ในการกำจัดแผ่นชีวภาพและซากอินทรีย์ต่าง ๆ ได้ คลอเฮกซิดีนมีจำหน่ายในท้องตลาด 2 รูปแบบ ได้แก่ รูปแบบของเหลวและรูปแบบเจล โดยทั่วไปจะใช้คลอเฮกซิดีนรูปแบบของเหลวในการล้างคลองรากฟัน ส่วนรูปแบบเจลจะใช้เป็นยาใส่ในคลอง

รากฟันระหว่างการรักษาแต่ละครั้ง อย่างไรก็ตามมีการศึกษาของ Ferraz และคณะ ในปี 2001 ซึ่งทดลองใช้เจลคลอเฮกซิดีนที่ทำจากโพลีเมอร์เจลที่มีชื่อว่า natrosol พบว่า เจลคลอเฮกซิดีนชนิดนี้มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียและสามารถทำความสะอาดคลองรากฟันได้ดีกว่าคลอเฮกซิดีนในรูปแบบของเหลว⁵⁴

ผลข้างเคียง (adverse effects) ของคลอเฮกซิดีนโดยทั่วไปพบได้น้อย โดยอาจพบการระคายเคืองต่อผิวหนัง⁴⁴ เยื่อบุตา รวมถึงการแพ้ชนิดแอนาฟิแล็กซิส (anaphylaxis) ภายหลังการใช้ทางผิวหนัง⁵⁵⁻⁵⁸ ดังนั้นการนำมาใช้งานทางคลินิกจึงควรใช้ด้วยความระมัดระวังไม่ให้เกิดการรื้อและสัมผัสโดนเนื้อเยื่ออ่อนต่าง ๆ ของผู้ป่วย รวมถึงควรซักประวัติการแพ้ของผู้ป่วยก่อนทุกครั้ง

ข้อควรระวังในการใช้งานในคลินิกอีกประการหนึ่ง คือ คลอเฮกซิดีนสามารถทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮโปคลอไรด์เกิดเป็นตะกอนสีน้ำตาลแดงที่มีองค์ประกอบเป็นพาราคลอโรนิน (parachloroaniline, PCA) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งได้⁵⁹ ดังนั้นหากมีความจำเป็นต้องใช้น้ำยาทั้งสองชนิดร่วมกัน ควรชะล้างคลองรากฟันให้แห้งปราศจากน้ำยาชนิดแรกก่อนใช้น้ำยาอีกชนิดหนึ่งเสมอ⁶⁰ หรือล้างคลองรากฟันด้วยสารละลายชนิดอื่นคั่นระหว่างน้ำยาสองชนิดนี้⁶¹ นอกจากนี้คลอเฮกซิดีนยังสามารถเกิดปฏิกิริยากับอีดีทีเอ (ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) เกิดเป็นตะกอนสีขาวขึ้นได้ จึงควรระมัดระวังในการใช้งานเช่นกัน

3. สารคีเลต (Chelators)

สารคีเลตถูกนำมาใช้ในการรักษาล้างคลองรากฟันเพื่อหวังผลในการช่วยกำจัดชั้นสเมียร์ก่อนการอุดคลองรากฟัน สารคีเลตที่มีการนำมาใช้ในการรักษาฟัลเพคโตมิในฟันน้ำนม ได้แก่ อีดีทีเอ (ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) และ กรดซิตริก (citric acid)

3.1 อีดีทีเอ เป็น polyaminocarboxylic acid ที่ละลายน้ำได้ ไม่มีสี มีฤทธิ์ในการจับกับ di- and tricationic metal ion เช่น ไอออนแคลเซียม (Ca^{2+}) และไอออนเหล็ก (Fe^{3+}) อีดีทีเอจึงสามารถจับกับไอออนแคลเซียมในไฮดรอกซีอะพาไทต์และแคลเซียมที่จับอยู่กับโปรตีนที่ไม่ใช่คอลลาเจน ทำให้เกิดการสูญเสียแร่ธาตุ (demineralization) ออกมาจากเนื้อฟันได้ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นนี้เป็นแบบจำกัดตนเอง (self-limiting) โดยเมื่อไอออนทั้งหมดถูกจับ ปฏิกิริยาเคมีจะเข้าสู่สภาวะสมดุล กระบวนการสูญเสียแร่ธาตุจะหยุดลง⁶² อีดีทีเอช่วยกำจัดอินทรีย์สารในชั้นสเมียร์ ส่งผลให้เกิดการเปิดท่อเนื้อฟันเพิ่มขึ้น⁶³ ทำให้เนื้อฟันมีสภาพซึมผ่าน (dentin permeability)⁶⁴ เพิ่มขึ้นขึ้นด้วย แต่การใช้อีดีทีเอเพียงอย่างเดียวล้างคลองรากฟันไม่สามารถกำจัดชั้นสเมียร์ได้อย่างสมบูรณ์ จำเป็นต้องมีการใช้สารที่มีฤทธิ์ย่อยโปรตีน (proteolytic)

ร่วมด้วย เพื่อกำจัดส่วนประกอบอินทรีย์ของชั้นสเมียร์ ดังนั้นในทางปฏิบัติทางคลินิกจึงไม่ใช่อิทธิฤทธิ์เป็นน้ำยาล้างคลองรากเพียงตัวเดียว แต่มักจะใช้ในขั้นตอนสุดท้าย^{23,65} ภายหลังจากการเตรียมคลองรากฟันและล้างด้วยน้ำยาไฮโดรเจนไฮโปคลอไรต์เสร็จเรียบร้อยแล้ว โดยทั่วไปนิยมใช้อิทธิฤทธิ์ที่ให้ความเข้มข้นร้อยละ 17 ซึ่งมีฤทธิ์กำจัดชั้นสเมียร์ได้เมื่อน้ำยาสัมผัสกับคลองรากฟันโดยตรงเป็นเวลา 1 นาที⁶⁶ อย่างไรก็ตาม อิทธิฤทธิ์ที่เอมิผลให้ไฮโดรเจนไฮโปคลอไรต์สูญเสียความสามารถในการสลายเนื้อเยื่อ โดยพบว่าหากผสมสารละลายทั้งสองชนิดเข้าด้วยกัน จะไม่พบไอออนอิสระของคลอรีน ในทางตรงข้ามประสิทธิภาพการทำงานของอิทธิฤทธิ์จะยังคงเดิม⁶⁷ ดังนั้นการใช้งานทางคลินิกจึงควรระมัดระวังให้มีการเจือปนระหว่างสารละลายทั้งสองชนิดน้อยที่สุด โดยการล้างและซับคลองรากให้แห้งก่อนใช้สารละลายอีกชนิดหนึ่งเสมอ

3.2 กรดซิตริก (citric acid) เป็นสารคีเลตที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดชั้นสเมียร์สูงอีกตัวหนึ่ง เมื่อเปรียบเทียบกับอิทธิฤทธิ์ที่ให้ความเข้มข้นใกล้เคียงกันพบว่า กรดซิตริกมีฤทธิ์แรงกว่าอิทธิฤทธิ์ที่อ่อนเล็กน้อย (more potent)⁶⁸ การนำกรดซิตริกมาใช้ล้างคลองรากฟัน อาจนำมาใช้ในรูปของสารละลายกรดซิตริกเข้มข้นร้อยละ 6 เพียงอย่างเดียว หรือเป็นหนึ่งในส่วนผสมของน้ำยาล้างคลองรากฟันชนิดต่าง ๆ ได้แก่ 1) เอ็มทีเอดี (MTAD) ซึ่งประกอบด้วยกรดซิตริก ดอกซีไซคลิน (doxycycline) และ ทวิน 80 (Tween 80) และ 2) เตตราคลีน (Tetraclean) ซึ่งประกอบด้วยกรดซิตริก ดอกซีไซคลิน และพอลิโพรพิลีนไกลคอล (polypropylene glycol)

4. น้ำยาล้างคลองรากฟันที่มียาปฏิชีวนะเป็นส่วนประกอบ (antibiotic-containing irrigant)

การใชยาปฏิชีวนะทางระบบนั้นไม่มีผลต่อการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ภายในคลองรากฟัน เพราะการไหลเวียนของเลือดไม่สามารถเข้าสู่ภายในคลองรากฟันที่ติดเชื้อได้ (lack of blood circulation) ดังนั้นจึงเกิดแนวคิดในการนำยาปฏิชีวนะมาใช้ในการรักษาคอนกรีตฟันในรูปแบบของการใช้เฉพาะที่ขึ้น⁶⁹ เตตราไซคลิน (tetracyclines) เป็นยาปฏิชีวนะที่มีขอบเขตการออกฤทธิ์กว้าง (broad spectrum) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (bacteriostatic) มีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ย่อยสลายคอลลาเจน (collagenase)⁷⁰ และยับยั้งการทำงานของเซลล์สลายเนื้อเยื่อแข็ง (clastic cells)⁷¹ น้ำยาล้างคลองรากฟันที่มีส่วนผสมของยาปฏิชีวนะ ได้แก่ เอ็มทีเอดี และ เตตราคลีน ซึ่งทั้ง 2 ชนิดมียาปฏิชีวนะชนิดดอกซีไซคลินเป็นส่วนประกอบ ข้อดีของน้ำยาล้างคลองรากฟันประเภทนี้ คือ มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อหลายชนิด โดยมีผลต่อเชื้อเอ็นเทอโรคอคคัส ฟีคัลลัสด้วย มีคุณสมบัติขับสแตนต์ได้ดีโดยสามารถยึดเกาะกับเนื้อฟันและคอร่า ๆ ออกฤทธิ์ได้⁷² และมีผลช่วยกำจัดชั้น

สเมียร์ได้^{73,74} อย่างไรก็ตาม ผลต่อเชื้อจุลินทรีย์นั้นเป็นเพียงการยับยั้งการเจริญของเชื้อเท่านั้น ไม่ใช่การฆ่าเชื้อโดยตรง (bactericidal) และการนำไปใช้ในฟันน้ำนมโดยเฉพาะอย่างยิ่งในเด็กที่อายุน้อยกว่า 8 ปี ควรใช้ด้วยความระมัดระวัง เพราะเตตราไซคลินส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนสีของฟันที่กำลังสร้างได้^{75,76} และยังไม่มีการศึกษาใดที่บ่งชี้ว่าหากเกิดการรั่วซึมของน้ำยาออกจากปลายรากจะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนสีของเนื้อฟันแท้ข้างใต้ได้หรือไม่ อย่างไรก็ตาม น้ำยาล้างคลองรากฟันชนิดนี้มีการศึกษาทางคลินิกในฟันน้ำนมจำนวนน้อย และยังไม่มียาข้อมูลผลการรักษาในระยะยาว

5. น้ำยาล้างคลองรากฟันชนิดอื่น ๆ

นอกจากน้ำยาล้างคลองรากฟันที่กล่าวมาแล้วนั้น ยังมีสารอื่น ๆ ที่มีการศึกษาเพื่อนำมาใช้ในการรักษาเนื้อเยื่อในช่องฟันน้ำนม ตัวอย่างเช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide), ออกเทนดินไดไฮโดรคลอไรด์ (Octenidine dihydrochloride), ออกซิเดทีฟโพเทนเชียลวอเตอร์ หรือ โอพีดับเบิลยู (Oxidative potential water, OPW) , พรอพอลิส (Propolis) เป็นต้น อย่างไรก็ตามน้ำยาเหล่านี้ยังไม่ถูกนำมาใช้ทางคลินิกอย่างแพร่หลายนัก

ชั้นสเมียร์กับการรักษาฟัลเพคโตมิ

ชั้นสเมียร์เป็นชั้น amorphous layer ที่มีทั้งองค์ประกอบที่เป็นอินทรีย์สารและอนินทรีย์สาร ชั้นสเมียร์นี้เกิดขึ้นจากกระบวนการเตรียมโพรงฟันเพื่อบูรณะฟันหรือจากกระบวนการเตรียมคลองรากฟัน⁷⁷ ชั้นสเมียร์จะมีความหนาประมาณ 2-5 ไมโครเมตร ภายในชั้นนี้จะประกอบไปด้วยเศษซากของส่วนยื่นของเซลล์สร้างเนื้อฟัน (odontoblastic process) เนื้อเยื่อใน เชื้อจุลินทรีย์ และผลผลิตของเชื้อจุลินทรีย์ แนวคิดปัจจุบันนิยมใช้สารคีเลตระหว่างกระบวนการเตรียมคลองรากฟันเพื่อกำจัดชั้นสเมียร์ และกำจัดแบคทีเรีย รวมถึงที่อยู่และแหล่งอาหาร (substrate) ของแบคทีเรียออกจากคลองรากฟัน ช่วยให้ยาฆ่าเชื้อในช่องคลองรากฟันและเยื่อต่าง ๆ ซึมเข้าสู่ท่อเนื้อฟัน (dental tubule) ได้ดียิ่งขึ้น เพื่อให้เกิดการฆ่าเชื้อได้อย่างทั่วถึงและเพียงพอ อย่างไรก็ตามข้อมูลส่วนใหญ่เป็นข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในฟันแท้ ซึ่งมีข้อแตกต่างจากฟันน้ำนมทั้งในแง่ของโครงสร้างระดับจุลภาคของเนื้อฟันและชั้นสเมียร์ และในแง่ของเทคนิคและวัสดุที่ใช้ในการอุดคลองรากฟัน

การศึกษาทางคลินิกเกี่ยวกับผลของการกำจัดชั้นสเมียร์ต่อความสำเร็จของการรักษาฟัลเพคโตมิในฟันน้ำมนั้นมีจำนวนไม่มาก โดย Tannure และคณะ ในปี ค.ศ.2011 ดำเนินการศึกษาทางคลินิกในรูปแบบสุ่ม (Randomized split-mouth clinical trial) เพื่อเปรียบเทียบผลการรักษาฟัลเพคโตมิในฟันหน้าน้ำนมระหว่างฟันที่ได้รับการกำจัดชั้นสเมียร์โดยการล้างคลองรากฟัน

ครั้งสุดท้ายด้วยกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 6 กับฟันที่ได้รับการล้างคลองรากฟันครั้งสุดท้ายด้วยน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 (0.9 % saline solution) โดยติดตามผลการรักษาที่ระยะเวลา 36 เดือน พบว่า ฟันที่ได้รับการกำจัดชิ้นเนื้อด้วยกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 6 มีความสำเร็จของการรักษาไม่แตกต่างจากฟันที่ไม่ได้รับการกำจัดชิ้นเนื้อก่อนการอุดคลองรากฟัน โดยการศึกษาครั้งนี้ใช้โซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นน้ำยาล้างคลองรากฟันหลักในระหว่างการเตรียมคลองรากฟันและอุดคลองรากฟันด้วยวัสดุซิงค์ออกไซด์ยูจีนอล⁷⁸

ในขณะที่การศึกษาทางคลินิกของ Barcelos และคณะ ในปี ค.ศ.2012 ซึ่งศึกษาทั้งฟันหน้าและฟันหลังร่วมกันและติดตามผลการรักษาเป็นระยะเวลา 24 เดือน พบว่า การกำจัดชิ้นเนื้อด้วยกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 6 ในระหว่างกระบวนการรักษาฟัลเพคโตมิช่วยเพิ่มอัตราความสำเร็จของการรักษาได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษาครั้งนี้ได้สรุปว่า ฟันที่เนื้อเยื่อในตาย ฟันที่มีอาการหรืออาการแสดงทางคลินิกก่อนการรักษา และฟันที่มีพยาธิสภาพที่บริเวณง่ามรากฟันหรือบริเวณปลายราก จะมีผลการรักษาที่ดีขึ้นหากได้รับการกำจัดชิ้นเนื้อก่อนการอุดคลองรากฟัน โดยการศึกษาครั้งนี้ใช้โซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 เป็นน้ำยาล้างคลองรากฟันหลักในระหว่างการเตรียมคลองรากฟัน และอุดคลองรากฟันด้วยวัสดุซิงค์ออกไซด์ยูจีนอล และใช้เวลาในการรักษาในแต่ละซี่อย่างน้อย 2 ครั้ง โดยใส่ยาแคมฟอเรตเตดโมโนคลอโรฟีนอล (camphorated monochlorophenol; CMCP) ในระหว่างการรักษาแต่ละครั้ง⁷⁹

อย่างไรก็ตาม ยังไม่เป็นที่แน่ชัดว่าประโยชน์ที่จะได้รับการจากการกำจัดชิ้นเนื้อก่อนการอุดคลองรากฟันนั้น เป็นผลที่เกิดขึ้นอย่างไม่จำเพาะเจาะจง หรือเป็นผลที่ขึ้นกับปัจจัยทางด้านวัสดุและเทคนิคที่ใช้ในการรักษา^{80,81} จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่า ชนิดของวัสดุอุดคลองรากฟันเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อบทบาทของชิ้นเนื้อ โดยพบว่า เมื่อกำจัดชิ้นเนื้อในคลองรากฟันด้วยน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นร้อยละ 3, ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร้อยละ 3 ร่วมกับอีทีอีเอร้อยละ 17 จะมีผลต้านทานการรั่วซึมของเชื้อแบคทีเรียผ่านวัสดุอุดคลองรากฟันได้ดีกว่าคลองรากฟันที่ล้างด้วยน้ำเกลือเพียงอย่างเดียวหากอุดคลองรากฟันด้วยวัสดุ Apexit® plus (Ivoclar-Vivadent) แต่จะไม่พบความแตกต่างดังกล่าวในฟันที่อุดคลองรากฟันด้วยวัสดุซิงค์ออกไซด์ยูจีนอล⁸² วัสดุ Apexit® plus เป็นวัสดุที่มีแคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นองค์ประกอบหลัก สามารถละลายตัวได้เองหากวัสดุถูกดันออกไปนอกปลายรากฟัน ซึ่งแตกต่างจากซิงค์ออกไซด์ยูจีนอลที่มีอัตราการละลายตัวต่ำ เมื่อแข็งตัวจะมีลักษณะเป็นก้อนแข็งและไม่แทรกซึม

ไปตามท่อเนื้อฟัน ดังนั้น วัสดุอุดคลองรากฟันอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่จะต้องนำมาพิจารณาในการเลือกใช้น้ำยาล้างคลองรากฟัน

แนวทางการรักษาโพรงประสาทฟันฉบับล่าสุดของสมาคมทันตแพทย์สำหรับเด็กประเทศสหรัฐอเมริกา กล่าวว่า การล้างคลองรากฟันด้วยสารละลายที่ไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อจุลชีพ (inert solution) ในระหว่างการทำฟัลเพคโตมินั้น ไม่เพียงพอที่จะลดปริมาณเชื้อจุลชีพในคลองรากฟันได้ จึงแนะนำให้ใช้โซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นร้อยละ 1 และ/หรือ คลอเฮกซีดิน ในระหว่างการรักษา¹ ในขณะที่แนวทางการรักษาโพรงประสาทฟันของประเทศอังกฤษแนะนำให้ใช้น้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 คลอเฮกซีดินความเข้มข้นร้อยละ 0.4 หรือ โซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นร้อยละ 0.1⁸³ อย่างไรก็ตาม จากการทบทวนวรรณกรรมของ Ahmed ในปี ค.ศ.2013⁸⁴ ได้ให้ความเห็นว่าควรปรับปรุงแนวทางการรักษาดังกล่าว เนื่องจากไม่มีหลักฐานที่สนับสนุนประสิทธิภาพของน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ต่อการละลายเนื้อเยื่อในและกำจัดเชื้อจุลชีพ และไม่เห็นด้วยกับการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรต์ร่วมกับคลอเฮกซีดินเนื่องจากอาจทำให้เกิดตะกอนสีน้ำตาลแดงที่มีองค์ประกอบของสารก่อมะเร็ง⁵⁹ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่รากฟันนั้นมีการละลายตัว ทำให้น้ำยาล้างคลองรากฟันมีโอกาสรั่วซึมออกทางปลายรากฟันได้สูง

จากการทบทวนวรรณกรรมอย่างเป็นระบบและการวิเคราะห์ทอทิมาน (meta-analysis) เพื่อประเมินประสิทธิภาพทางคลินิกของน้ำยาล้างคลองรากฟันแต่ละชนิดที่ใช้ในระหว่างกระบวนการรักษาฟัลเพคโตมิในฟันน้ำนม⁸⁵ พบว่ามีการศึกษาจำนวน 7 การศึกษาที่ผ่านเกณฑ์การคัดเลือกเข้าสู่วิจัย การศึกษาจำนวน 5 ใน 7 การศึกษาประเมินผลของน้ำยาล้างคลองรากฟันจากปริมาณเชื้อจุลชีพที่หลงเหลืออยู่ในคลองรากฟันในหน่วยของ colony forming unit โดยวัดผลภายหลังการใช้งานทันที⁸⁶⁻⁹⁰ มีการศึกษาจำนวน 1 ใน 7 การศึกษา วัดผลจากการเพิ่มขึ้นของการแสดงออกของยีน (gene expression)⁹¹ และมีเพียงการศึกษาเดียวที่ประเมินประสิทธิภาพของน้ำยาล้างคลองรากฟันจากอัตราความสำเร็จทางคลินิกและทางภาพรังสี⁹²

จากการศึกษาที่เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อจุลชีพระหว่างคลอเฮกซีดินและน้ำเกลือ พบว่าคลอเฮกซีดินมีผลลดปริมาณเชื้อจุลชีพซึ่งวัดจากค่า CFU/ml ได้ดีกว่าน้ำเกลืออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ^{87,88} สอดคล้องกับผลการศึกษาทางคลินิกที่ประเมินอัตราความสำเร็จของการรักษาฟัลเพคโตมิทางคลินิกในฟันกรามล่างด้วยวัสดุ Vitapex® ระหว่างกลุ่มที่ได้รับการล้างคลองรากฟันด้วยคลอเฮกซีดินและน้ำเกลือ ที่พบว่ากลุ่มที่ล้างคลอง

รากฟันด้วยคลอเฮกซิดีนมีร้อยละความสำเร็จของการรักษาที่ระยะเวลา 6 เดือน สูงกว่ากลุ่มน้ำเกลืออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม เมื่อติดตามผลการรักษาต่อที่ระยะเวลา 18 เดือนพบว่า ร้อยละความสำเร็จของทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน⁹²

ส่วนการศึกษาที่ถูกลำเลียงเข้ามาวิเคราะห์ห่อหุ้มนั้นก็มีเพียง 2 การศึกษา โดยเป็นการศึกษาที่เปรียบเทียบประสิทธิภาพของโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นร้อยละ 1 กับน้ำยาอีก 2 ชนิด คือ โอเพ็ดบับเบิลยู⁸⁹ และเอ็มทีเอตี⁸⁶ ผลการวิเคราะห์พบว่าโอเพ็ดบับเบิลยูและเอ็มทีเอตีมีผลลดค่า CFU/ml ของเชื้อจุลชีพในคลองรากฟันน้ำนมได้ไม่แตกต่างจากโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นร้อยละ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การศึกษาค้นคว้าสรุปว่า หลักฐานการศึกษาที่มีในปัจจุบันยังไม่เพียงพอที่จะสรุปได้ว่าน้ำยาล้างคลองรากฟันชนิดใดมีประสิทธิภาพสูงสุดในการรักษาพลีเพคโตมีในฟันน้ำนม จำเป็นต้องมีการวิจัยทางคลินิกที่มีคุณภาพสูงเพิ่มเติมต่อไป

สำหรับการรักษาโพรงประสาทฟันด้วยวิธีการรักษาความมีชีวิตของฟันไว้ ไม่ว่าจะเป็นการรักษาด้วยวิธีการปิดทับเนื้อเยื่อในโดยตรง โดยอ้อม หรือการทำพลีโพโตมีก็ตาม ปัจจุบันยังไม่มีแนวทางการล้างทำความสะอาดที่ชัดเจน โดยแนวทางการรักษาโพรงประสาทฟันฉบับล่าสุดทั้งของสมาคมทันตแพทย์สำหรับเด็กประเทศสหรัฐอเมริกาและของประเทศอังกฤษ ไม่ได้กล่าวถึงขั้นตอนการล้างโพรงประสาทฟันในระหว่างกระบวนการรักษาดังกล่าวไว้^{1,83} และในปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาที่เปรียบเทียบผลของน้ำยาล้างคลองรากต่าง ๆ ต่อความสำเร็จในการรักษาความมีชีวิตของฟันน้ำนม งานวิจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการประเมินความสำเร็จของการรักษาโพรงประสาทฟันด้วยวิธีการรักษาความมีชีวิตของฟันไว้รายงานการใช้ยาละลายโพรงประสาทฟันที่แตกต่างกันออกไป โดยงานวิจัยส่วนใหญ่จะไม่ระบุถึงขั้นตอนการล้างโพรงเนื้อเยื่อใน (pulp chamber) หรือโพรงฟัน (cavity) รองลงมาคือ การใช้ยาละลาย⁹³

การปิดทับเนื้อเยื่อในโดยอ้อมซึ่งเป็นการรักษาในกรณีที่ไม่มีการเผยผิง (expose) ของเนื้อเยื่อในเกิดขึ้น ขั้นตอนการล้างโพรงฟันจึงอาจไม่ได้ส่งผลต่อความสำเร็จของการรักษามากนัก งานวิจัยต่าง ๆ ที่ศึกษาความสำเร็จของการปิดทับเนื้อเยื่อในโดยอ้อมจึงมักไม่ได้กล่าวถึงรายละเอียดในขั้นตอนนี้⁹⁴ อย่างไรก็ตาม มีบางการศึกษาที่ระบุว่าใช้น้ำเกลือฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate-buffered saline; PBS) ในการล้างโพรงฟันหลังจากกำจัดรอยผุเรียบร้อยแล้ว⁹⁵⁻⁹⁸ ส่วนการปิดทับเนื้อเยื่อในโดยตรงซึ่งจะดำเนินการที่มีจุดทะลุโพรงเนื้อเยื่อในขนาดเล็กเกิดขึ้นนั้น การล้างโพรงฟันเพื่อชะล้างเศษเนื้อฟันออกจากบริเวณรอยทะลุถือเป็นขั้น

ตอนสำคัญในการรักษา เพราะเศษเนื้อฟันที่ตกค้างเข้าสู่ส่วนลึกของโพรงเนื้อเยื่อในจะมีผลขัดขวางกระบวนการหายของเนื้อเยื่อใน (pulpal healing) ได้^{99,100} งานวิจัยส่วนใหญ่จะใช้น้ำเกลือในการล้างโพรงฟันก่อนการปิดทับเนื้อเยื่อใน⁹³ มีเพียงบางการศึกษาที่เลือกใช้น้ำยาล้างคลองรากฟันที่มีฤทธิ์กำจัดเชื้อจุลชีพในการรักษา ได้แก่ คลอเฮกซิดีน¹⁰¹ และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ซึ่งนอกจากจะมีผลฆ่าเชื้อจุลชีพแล้วยังช่วยในการกำจัดลิ่มเลือด (Clot Formation) ที่เกิดขึ้นด้วย¹⁰²

การรักษาความมีชีวิตของฟันด้วยวิธีพลีโพโตมีนั้น แม้ว่า จะไม่มีเนื้อเยื่อในที่ตายแล้วอยู่ในบริเวณโพรงเนื้อเยื่อในที่กรอเปิดเข้าไปเพื่อกำจัดเนื้อเยื่อในส่วนตัว แต่การละลายขั้นตอนการล้างโพรงเนื้อเยื่อในด้วยสารละลายที่สะอาดปราศจากเชื้ออาจก่อให้เกิดผลเสียขึ้นได้หากน้ำจากหัวกรอที่ใช้ในระหว่างการกรอเปิดโพรงประสาทฟันมีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย มีรายงานการติดเชื้อ *Mycobacterium abscessus* (*M. abscessus*) ในผู้ป่วยเด็กที่รับการรักษารากฟันด้วยวิธีพลีโพโตมีจำนวน 20 ราย (อายุเฉลี่ย 7 ปี) จากจำนวนที่มารับการรักษาทั้งสิ้น 1,386 ซี่ คิดเป็นอัตราความชุกประมาณร้อยละ 1 โดยผู้ป่วยทั้ง 20 ราย ต้องได้รับการรักษาตัวในโรงพยาบาลอย่างน้อย 1 วัน และ 17 รายต้องได้รับการถอนฟัน สาเหตุของอุบัติการณ์การติดเชื้อนี้ได้รับการสรุปว่าเป็นผลจากการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวในน้ำที่ใช้ในระหว่างการล้างและการกรอฟัน ซึ่งการป้องกันที่ดีที่สุด คือ การรักษาคุณภาพของน้ำในเก้าอี้ทำฟันให้ได้ตามมาตรฐาน¹⁰³

การใช้น้ำยาล้างโพรงประสาทฟันที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้ออาจมีผลเพิ่มความสำเร็จของการรักษาโพรงเนื้อเยื่อในด้วยวิธีพลีโพโตมีได้ โดยการศึกษาของ Akcay และ Sari ในปี ค.ศ.2004 แสดงให้เห็นว่า การล้างโพรงเนื้อเยื่อในด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นร้อยละ 5 เป็นเวลานาน 30 วินาที ช่วยเพิ่มอัตราความสำเร็จของการรักษาพลีโพโตมีด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ได้เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ล้างโพรงเนื้อเยื่อในด้วย อย่างไรก็ตาม ในฟันที่ได้รับการรักษารากฟันเนื้อเยื่อในด้วยวิธีพลีโพโตมีด้วยเอ็มทีเอ (mineral trioxide aggregate, MTA) มีอัตราความสำเร็จของการรักษาไม่แตกต่างกันไม่ว่าจะล้างโพรงเนื้อเยื่อในด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์หรือน้ำเกลือก็ตาม¹⁰⁴

บทสรุป

ในการรักษาโพรงเนื้อเยื่อในด้วยวิธีการรักษาความมีชีวิตของฟัน ไม่ว่าจะเป็นการรักษาด้วยวิธีพลีโพโตมีหรือการปิดทับเนื้อเยื่อในโดยตรงและโดยอ้อม ทันตแพทย์สามารถเลือกใช้สารที่ไม่มียาพิษในการฆ่าเชื้อเพื่อทำความสะอาดโพรงฟันหรือโพรง

เนื้อเยื่อใน เช่น น้ำเกลือ หรือ น้ำกลั่นปราศจากเชื้อได้ หรืออาจเลือกใช้สารเคมีที่ช่วยห้ามเลือดหรือกำจัดลิ่มเลือด เช่น โซเดียมไฮโปคลอไรต์ ส่วนการรักษาโพรงเนื้อเยื่อในชนิดพลเพคโตมินั้น ควรเลือกใช้น้ำยาที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ เพื่อลดหรือกำจัดเชื้อจุลชีพภายในคลองรากฟัน โดยควรเลือกใช้น้ำยาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่ยังมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อได้เพียงพอ ใช้เวลาในการล้างคลองรากฟันให้นานเพียงพอ และอาจใช้ร่วมกับน้ำยาที่มีฤทธิ์กำจัดชั้นสเมียร์ได้ โดยต้องระมัดระวังไม่ให้เกิดการเจือปนระหว่างน้ำยาแต่ละชนิด สิ่งสำคัญที่สุด คือ การระมัดระวังไม่ให้เกิดการรั่วซึมของน้ำยาที่ใช้ในระหว่างกระบวนการทำงาน ทั้งการรั่วซึมออกทางปลายราก และการรั่วซึมในบริเวณทำงานซึ่งอาจสัมผัสโดนเนื้อเยื่ออ่อนของผู้ป่วยและก่อให้เกิดการระคายเคืองได้ โดยในการปฏิบัติงานทางคลินิกควรใส่แผ่นยางกันน้ำลายในระหว่างการรักษาสื่อ ใส่แว่นตาป้องกันสารเคมีกระตุ้นเข้าตา รวมทั้งผ้าคลุมกันเปื้อน หมั่นตรวจสอบรอยต่อระหว่างกระบอกใส่น้ำยาและเข็มให้แน่นอยู่เสมอ เพื่อป้องกันการรั่วของน้ำยาระหว่างส่งต่อเครื่องมือหรือระหว่างใช้งาน ไม่ส่งกระบอกน้ำยาล้างคลองรากฟันผ่านบริเวณดวงตาของผู้ป่วย หากใช้น้ำยาล้างคลองรากฟันมากกว่า 1 ชนิด ต้องติดฉลากที่หลอดน้ำยาล้างคลองรากฟันเสมอ และในกรณีที่สารเคมีสัมผัสเนื้อเยื่ออ่อนของผู้ป่วย ให้ปฐมพยาบาลเบื้องต้นด้วยการล้างด้วยน้ำสะอาดปริมาณมากและติดตามอาการอย่างใกล้ชิด

References

1. Guideline on Pulp Therapy for Primary and Immature Permanent Teeth. *Pediatr Dent* 2016;38(6):280-8.
2. Bhujel N, Duggal MS, Saini P, Day PF. The effect of premature extraction of primary teeth on the subsequent need for orthodontic treatment. *Eur Arch Paediatr Dent* 2016;17(6):423-34.
3. Acs G, Shulman R, Ng MW, Chussid S. The effect of dental rehabilitation on the body weight of children with early childhood caries. *Pediatr Dent* 1999;21(2):109-13.
4. Sachdev J, Bansal K, Chopra R. Effect of Comprehensive Dental Rehabilitation on Growth Parameters in Pediatric Patients with Severe Early Childhood Caries. *Int J Clin Pediatr Dent* 2016;9(1):15-20.
5. Colak H, Dulgergil CT, Dalli M, Hamidi MM. Early childhood caries update: A review of causes, diagnoses, and treatments. *J Nat Sci Biol Med* 2013;4(1):29-38.
6. Collado V, Pichot H, Delfosse C, Eschevins C, Nicolas E, Hennequin M. Impact of early childhood caries and its treatment under general anesthesia on orofacial function and quality of life : A prospective comparative study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2017;22(3):e333-e41.

7. Brustolin JP, Mariath AA, Ardenghi TM, Casagrande L. Survival and Factors Associated with Failure of Pulpectomies Performed in Primary Teeth by Dental Students. *Braz Dent J* 2017;28(1):121-8.
8. Coll JA, Josell S, Nassof S, Shelton P, Richards MA. An evaluation of pulpal therapy in primary incisors. *Pediatr Dent* 1988;10(3):178-84.
9. Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Dent Clin North Am* 2010;54(2):291-312.
10. Bystrom A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res* 1981;89(4):321-8.
11. Faria G, Nelson-Filho P, Freitas AC, Assed S, Ito IY. Antibacterial effect of root canal preparation and calcium hydroxide paste (Calen) intracanal dressing in primary teeth with apical periodontitis. *J Appl Oral Sci* 2005;13(4):351-5.
12. da Silva LA, Nelson-Filho P, Faria G, de Souza-Gugelmin MC, Ito IY. Bacterial profile in primary teeth with necrotic pulp and periapical lesions. *Braz Dent J* 2006;17(2):144-8.
13. Yun KH, Lee HS, Nam OH, Moon CY, Lee JH, Choi SC. Analysis of bacterial community profiles of endodontically infected primary teeth using pyrosequencing. *Int J Paediatr Dent* 2017;27(1):56-65.
14. Ito IY, Junior FM, Paula-Silva FW, Da Silva LA, Leonardo MR, Nelson-Filho P. Microbial culture and checkerboard DNA-DNA hybridization assessment of bacteria in root canals of primary teeth pre- and post-endodontic therapy with a calcium hydroxide/chlorhexidine paste. *Int J Paediatr Dent* 2011;21(5):353-60.
15. Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol* 2004;2(2):95-108.
16. Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet* 2001;358(9276):135-8.
17. Nichols WW, Evans MJ, Slack MP, Walmsley HL. The penetration of antibiotics into aggregates of mucoid and non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa*. *J Gen Microbiol* 1989;135(5):1291-303.
18. Wilson M. Susceptibility of oral bacterial biofilms to antimicrobial agents. *J Med Microbiol* 1996;44(2):79-87.
19. Athanassiadis B, Abbott PV, Walsh LJ. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. *Aust Dent J* 2007;52(1Suppl):S64-82.
20. Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spano JC, Marchesan MA, Pecora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz Dent J* 2002;13(2):113-7.
21. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev* 1999;12(1):147-79.
22. Fraiss S, Ng YL, Gulabivala K. Some factors affecting the concentration of available chlorine in commercial sources of sodium hypochlorite. *Int Endod J* 2001;34(3):206-15.
23. Haapasalo M, Shen Y, Wang Z, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Br Dent J* 2014;216(6):299-303.

24. Raddcliffe CE, Potouridou L, Qureshi R, Hababbeh N, Qualtrough A, Worthington H, *et al.* Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 2004;37(7):438-46.
25. Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. *In vitro* antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J* 2001;34(6):424-8.
26. Naenni N, Thoma K, Zehnder M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. *J Endod* 2004;30(11):785-7.
27. Mohammadi Z. Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *Int Dent J* 2008;58(6):329-41.
28. Austin JH, Taylor HD. Behavior of Hypochlorite and of Chloramine-T Solutions in Contact with Necrotic and Normal Tissues in Vivo. *J Exp Med* 1918;27(5):627-33.
29. Clarkson RM, Moule AJ, Podlich H, Kellaway R, Macfarlane R, Lewis D, *et al.* Dissolution of porcine incisor pulps in sodium hypochlorite solutions of varying compositions and concentrations. *Aust Dent J* 2006;51(3):245-51.
30. Haapasalo HK, Siren EK, Waltimo TM, Orstavik D, Haapasalo MP. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an *in vitro* study. *Int Endod J* 2000;33(2):126-31.
31. Sim TP, Knowles JC, Ng YL, Shelton J, Gulabivala K. Effect of sodium hypochlorite on mechanical properties of dentine and tooth surface strain. *Int Endod J* 2001;34(2):120-32.
32. Clegg MS, Vertucci FJ, Walker C, Belanger M, Britto LR. The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentin biofilms *in vitro*. *J Endod* 2006;32(5):434-7.
33. Hauman CH, Love RM. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 1. Intracanal drugs and substances. *Int Endod J* 2003;36(2):75-85.
34. Hulsman M, Hahn W. Complications during root canal irrigation—literature review and case reports. *Int Endod J* 2000;33(3):186-93.
35. Klein U, Kleier DJ. Sodium hypochlorite accident in a pediatric patient. *Pediatr Dent* 2013;35(7):534-8.
36. Becker GL, Cohen S, Borer R. The sequelae of accidentally injecting sodium hypochlorite beyond the root apex. Report of a case. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1974;38(4):633-8.
37. Zhu WC, Gyamfi J, Niu LN, Schoeffel GJ, Liu SY, Santarcangelo F, *et al.* Anatomy of sodium hypochlorite accidents involving facial ecchymosis - a review. *J Dent* 2013;41(11):935-48.
38. Guivarc'h M, Ordioni U, Ahmed HM, Cohen S, Catherine JH, Bukiet F. Sodium Hypochlorite Accident: A Systematic Review. *J Endod* 2017;43(1):16-24.
39. Bosch Aranda ML, Canalda Sahli C, Figueiredo R, Gay Escoda C. Complications following an accidental sodium hypochlorite extrusion: A report of two cases. *J Clin Exp Dent* 2012;4(3):e194-8.
40. Reeh ES, Messer HH. Long-term paresthesia following inadvertent forcing of sodium hypochlorite through perforation in maxillary incisor. *Endod Dent Traumatol* 1989;5(4):200-3.
41. Pelka M, Petschelt A. Permanent mimic musculature and nerve damage caused by sodium hypochlorite: a case report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;106(3):e80-3.
42. Al Sebaei MO, Halabi OA, El Hakim IE. Sodium hypochlorite accident resulting in life-threatening airway obstruction during root canal treatment: a case report. *Clin Cosmet Investig Dent* 2015;7:41-4.
43. Chaugule VB, Panse AM, Gawali PN. Adverse Reaction of Sodium Hypochlorite during Endodontic Treatment of Primary Teeth. *Int J Clin Pediatr Dent* 2015;8(2):153-6.
44. Foulkes DM. Some toxicological observations on chlorhexidine. *J Periodontal Res Suppl* 1973;12:55-60.
45. Lim KS, Kam PC. Chlorhexidine—pharmacology and clinical applications. *Anaesth Intensive Care* 2008;36(4):502-12.
46. Fardal O, Turnbull RS. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *J Am Dent Assoc* 1986;112(6):863-9.
47. Ercan E, Ozekinci T, Atakul F, Gul K. Antibacterial activity of 2 % chlorhexidine gluconate and 5.25 % sodium hypochlorite in infected root canal: in vivo study. *J Endod* 2004;30(2):84-7.
48. Menezes MM, Valera MC, Jorge AO, Koga-Ito CY, Camargo CH, Mancini MN. *In vitro* evaluation of the effectiveness of irrigants and intracanal medicaments on microorganisms within root canals. *Int Endod J* 2004;37(5):311-9.
49. Boyce JM, Pittet D, Healthcare Infection Control Practices Advisory C, Force HSAIHT. Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings. Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HIPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. *Am J Infect Control* 2002;30(8):S1-46.
50. Cowen J, Ellis SH, McAinsh J. Absorption of chlorhexidine from the intact skin of newborn infants. *Arch Dis Child* 1979;54(5):379-83.
51. Rushton A. Safety of Hibitane. II. Human experience. *J Clin Periodontol* 1977;4(5):73-9.
52. Zamany A, Safavi K, Spangberg LS. The effect of chlorhexidine as an endodontic disinfectant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003;96(5):578-81.
53. Mohammadi Z, Abbott PV. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *Int Endod J* 2009;42(4):288-302.
54. Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. *In vitro* assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endod* 2001;27(7):452-5.
55. Evans RJ. Acute anaphylaxis due to topical chlorhexidine acetate. *BMJ* 1992;304(6828):686.

56. Krauthen AB, Jermann TH, Bircher AJ. Chlorhexidine anaphylaxis: case report and review of the literature. *Contact Dermatitis* 2004;50(3):113-6.
57. Snellman E, Rantanen T. Severe anaphylaxis after a chlorhexidine bath. *J Am Acad Dermatol* 1999;40(5Pt1):771-2.
58. Torricelli R, Wuthrich B. Life-threatening anaphylactic shock due to skin application of chlorhexidine. *Clin Exp Allergy* 1996;26(1):112.
59. Basrani BR, Manek S, Sodhi RN, Fillery E, Manzur A. Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. *J Endod* 2007;33(8):966-9.
60. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod* 2006;32(5):389-98.
61. Bui TB, Baumgartner JC, Mitchell JC. Evaluation of the interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate and its effect on root dentin. *J Endod* 2008;34(2):181-5.
62. Fraser JG. Chelating agents: their softening effect on root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1974;37(5):803-11.
63. Goldberg F, Abramovich A. Analysis of the effect of EDTAC on the dentinal walls of the root canal. *J Endod* 1977;3(3):101-5.
64. Guignes P, Faure J, Maurette A. Relationship between endodontic preparations and human dentin permeability measured in situ. *J Endod* 1996;22(2):60-7.
65. Goldman M, Goldman LB, Cavaleri R, Bogis J, Lin PS. The efficacy of several endodontic irrigating solutions: a scanning electron microscopic study: Part 2. *J Endod* 1982;8(11):487-92.
66. 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.
67. Grawehr M, Sener B, Walimo T, Zehnder M. Interactions of ethylenediamine tetraacetic acid with sodium hypochlorite in aqueous solutions. *Int Endod J* 2003;36(6):411-7.
68. Zehnder M, Schmidlin P, Sener B, Walimo T. Chelation in root canal therapy reconsidered. *J Endod* 2005;31(11):817-20.
69. Mohammadi Z. An update on the antibiotic-based root canal irrigation solutions. *Iran Endod J* 2008;3(2):1-7.
70. Vernillo AT, Ramamurthy NS, Golub LM, Rifkin BR. The nonantimicrobial properties of tetracycline for the treatment of periodontal disease. *Curr Opin Periodontol* 1994;111-8.
71. Bryson EC, Levin L, Banchs F, Abbott PV, Trope M. Effect of immediate intracanal placement of Ledermix Paste(R) on healing of replanted dog teeth after extended dry times. *Dent Traumatol* 2002;18(6):316-21.
72. Torabinejad M, Khademi AA, Babagoli J, Cho Y, Johnson WB, Bozhilov K, et al. A new solution for the removal of the smear layer. *J Endod* 2003;29(3):170-5.
73. Barkhordar RA, Watanabe LG, Marshall GW, Hussain MZ. Removal of intracanal smear by doxycycline *in vitro*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997;84(4):420-3.
74. Haznedaroglu F, Ersev H. Tetracycline HCl solution as a root canal irrigant. *J Endod* 2001;27(12):738-40.
75. Sanchez AR, Rogers RS, 3rd, Sheridan PJ. Tetracycline and other tetracycline-derivative staining of the teeth and oral cavity. *Int J Dermatol* 2004;43(10):709-15.
76. Vennila V, Madhu V, Rajesh R, Ealla KK, Velidandla SR, Santoshi S. Tetracycline-induced discoloration of deciduous teeth: case series. *J Int Oral Health* 2014;6(3):115-9.
77. McComb D, Smith DC. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod* 1975;1(7):238-42.
78. Tannure PN, Azevedo CP, Barcelos R, Gleiser R, Primo LG. Long-term outcomes of primary tooth pulpectomy with and without smear layer removal: a randomized split-mouth clinical trial. *Pediatr Dent* 2011;33(4):316-20.
79. Barcelos R, Tannure PN, Gleiser R, Luiz RR, Primo LG. The influence of smear layer removal on primary tooth pulpectomy outcome: a 24-month, double-blind, randomized, and controlled clinical trial evaluation. *Int J Paediatr Dent* 2012;22(5):369-81.
80. Lalh MS, Titley K, Torneck CD, Friedman S. The shear bond strength of glass ionomer cement sealers to bovine dentine conditioned with common endodontic irrigants. *Int Endod J* 1999;32(6):430-5.
81. Saleh IM, Ruyter IE, Haapasalo M, Orstavik D. The effects of dentine pretreatment on the adhesion of root-canal sealers. *Int Endod J* 2002;35(10):859-66.
82. Sisodia R, Ravi KS, Shashikiran ND, Singla S, Kulkarni V. Bacterial penetration along different root canal fillings in the presence or absence of smear layer in primary teeth. *J Clin Pediatr Dent* 2014;38(3):229-34.
83. Rodd HD, Waterhouse PJ, Fuks AB, Fayle SA, Moffat MA, British Society of Paediatric D. Pulp therapy for primary molars. *Int J Paediatr Dent* 2006;16 Suppl 1:15-23.
84. Ahmed HM. Anatomical challenges, electronic working length determination and current developments in root canal preparation of primary molar teeth. *Int Endod J* 2013;46(11):1011-22.
85. Pozos Guillen A, Garcia Flores A, Esparza Villalpando V, Garrocho Rangel A. Intracanal irrigants for pulpectomy in primary teeth: a systematic review and meta-analysis. *Int J Paediatr Dent* 2016;26(6):412-25.
86. Farhin K, Viral PM, Thejokrishna P, Sajjad M. Reduction in Bacterial Loading Using MTAD as an Irrigant in Pulpectomized Primary Teeth. *J Clin Pediatr Dent* 2015;39(2):100-4.
87. Jolly M, Singh N, Rathore M, Tandon S, Banerjee M. Propolis and commonly used intracanal irrigants: comparative evaluation

- of antimicrobial potential. *J Clin Pediatr Dent* 2013;37(3):243-9.
88. Ruiz Esparza CL, Garrocho Rangel A, Gonzalez Amaro AM, Flores Reyes H, Pozos Guillen AJ. Reduction in bacterial loading using 2 % chlorhexidine gluconate as an irrigant in pulpectomized primary teeth: a preliminary report. *J Clin Pediatr Dent* 2011;35(3):265-70.
 89. Valdez-Gonzalez C, Mendez-Gonzalez V, Torre-Delgadillo G, Flores-Reyes H, Gaitan-Fonseca C, Pozos-Guillen AJ. Effectiveness of oxidative potential water as an irrigant in pulpectomized primary teeth. *J Clin Pediatr Dent* 2012;37(1):31-5.
 90. Verma MK, Pandey RK, Khanna R, Agarwal J. The antimicrobial effectiveness of 25 % propolis extract in root canal irrigation of primary teeth. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2014;32(2):120-4.
 91. Tulsani SG, Chikkanarasaiah N, Bethur S. An in vivo comparison of antimicrobial efficacy of sodium hypochlorite and Biopure MTAD against enterococcus faecalis in primary teeth: A qPCR study. *J Clin Pediatr Dent* 2014;39(1):30-4.
 92. Louwakul P, Prucksathamrongkul W. The effect of 2 % chlorhexidine as root canal irrigant in pulpectomies of primary molars. *Pediatr Dent* 2012;34(7):e192-6.
 93. Smail-Faugeron V, Glenney AM, Courson F, Durieux P, Muller-Bolla M, Fron Chabouis H. Pulp treatment for extensive decay in primary teeth. *Cochrane Database Syst Rev* 2018;5:CD003220.
 94. Coll JA, Seale NS, Vargas K, Marghalani AA, Al Shamali S, Graham L. Primary Tooth Vital Pulp Therapy: A Systematic Review and Meta-analysis. *Pediatr Dent* 2017;39(1):16-123.
 95. Casagrande L, Bento LW, Dalpian DM, Garcia-Godoy F, de Araujo FB. Indirect pulp treatment in primary teeth: 4-year results. *Am J Dent* 2010;23(1):34-8.
 96. Casagrande L, Bento LW, Rerin SO, Lucas Ede R, Dalpian DM, de Araujo FB. *In vivo* outcomes of indirect pulp treatment using a self-etching primer versus calcium hydroxide over the demineralized dentin in primary molars. *J Clin Pediatr Dent* 2008;33(2):131-5.
 97. Falster CA, Araujo FB, Straffon LH, Nor JE. Indirect pulp treatment: *in vivo* outcomes of an adhesive resin system vs calcium hydroxide for protection of the dentin-pulp complex. *Pediatr Dent* 2002;24(3):241-8.
 98. Marchi JJ, de Araujo FB, Froner AM, Straffon LH, Nor JE. Indirect pulp capping in the primary dentition: a 4 year follow-up study. *J Clin Pediatr Dent* 2006;31(2):68-71.
 99. Dominguez MS, Witherspoon DE, Gutmann JL, Opperman LA. Histological and scanning electron microscopy assessment of various vital pulp-therapy materials. *J Endod* 2003;29(5):324-33.
 100. Stanley HR. Pulp capping: conserving the dental pulp—can it be done? Is it worth it? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1989;68(5):628-39.
 101. Garrocho-Rangel A, Flores H, Silva-Herzog D, Hernandez-Sierra F, Mandeville P, Pozos-Guillen AJ. Efficacy of EMD versus calcium hydroxide in direct pulp capping of primary molars: a randomized controlled clinical trial. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;107(5):733-8.
 102. Asl Aminabadi N, Satrab S, Najafpour E, Samiei M, Jamali Z, Shirazi S. A randomized trial of direct pulp capping in primary molars using MTA compared to 3Mixtatin: a novel pulp capping biomaterial. *Int J Paediatr Dent* 2016;26(4):281-90.
 103. Peralta G, Tobin-D'Angelo M, Parham A, Edison L, Lorentzson L, Smith C, *et al*. Notes from the Field: Mycobacterium abscessus Infections Among Patients of a Pediatric Dentistry Practice—Georgia, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016;65(13):355-6.
 104. Akcay M, Sari S. The effect of sodium hypochlorite application on the success of calcium hydroxide and mineral trioxide aggregate pulpotomies in primary teeth. *Pediatr Dent* 2014;36(4):316-21.

บทความปริทัศน์

อวัยวะปริทันต์ภายหลังการปรับระดับและเรียงฟันหน้าล่างในการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันโดยไม่ถอนฟัน

Periodontal Tissues After Level and Align Lower Anterior Teeth in Non-extraction Orthodontic Treatment

พรพจน์ อีร์โสณ¹, ไชรัตน์ เฉลิมรัตนโรจน์²

Pornpat Theerasopon¹, Chairat Charoemratrote²

¹สาขาวิชาทันตกรรมจัดฟัน คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา

¹Department of Orthodontics, School of Dentistry, University of Phayao, Phayao

²สาขาวิชาทันตกรรมจัดฟัน ภาควิชาทันตกรรมป้องกัน คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จังหวัดสงขลา

²Orthodontic section, Department of Preventive Dentistry, Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University, Songkhla

บทคัดย่อ

การรักษาทางทันตกรรมจัดฟันโดยไม่ถอนฟันเพื่อแก้ไขปัญหาฟันซ้อนเกพบการเคลื่อนที่ออกไปทางด้านริมฝีปากของฟันตัดล่างซึ่งกระดูกเบ้าฟันบริเวณด้านริมฝีปากของฟันตัดล่างนั้นเป็นตำแหน่งที่พบการละลายของสันกระดูกเบ้าฟันได้ง่ายกว่าในตำแหน่งอื่น ๆ แม้ไม่ได้รับการรักษาทางทันตกรรมจัดฟัน บทความปริทัศน์นี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยที่ทำให้ฟันตัดล่างเคลื่อนที่มาทางด้านริมฝีปากและรวบรวมผลการศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะปริทันต์ภายหลังการเคลื่อนฟัน เพื่อเป็นข้อพิจารณาในการวางแผนการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันให้เกิดการเคลื่อนฟันที่ปลอดภัยต่ออวัยวะปริทันต์

คำสำคัญ: การละลายของสันกระดูกเบ้าฟัน, โค้งของสปี, ฟันซ้อนเก, ฟันตัดล่าง, เหงือกกรน

Abstract

Non-extraction orthodontic treatment for crowding correction usually found labial movement of lower incisors. Alveolar bone which covers at labial surface of lower incisors found high incidence of bony dehiscence despite of patients who did not undergo an orthodontic treatment. This review article is aimed to propose the factors affecting labial movement of lower incisors, the results of gingival recession and alveolar bone loss after labial movement of lower incisors for the purpose in orthodontic treatment plan consideration which is not harmful to periodontal tissues.

Keyword: bony dehiscence, Curve of Spee, crowding, mandibular incisor, gingival recession

Received Date: Apr 3, 2019

Revised Date: Apr 29, 2019

Accepted Date: May 14, 2019

Doi: 10.14456/jdat.2019.34

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ:

พรพจน์ อีร์โสณ สาขาวิชาทันตกรรมจัดฟัน คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา 56000 ประเทศไทย โทรศัพท์: 0-5446-6666

ต่อ 3432 E-mail: pornpat.th@up.ac.th

Correspondence to:

Pornpat Theerasopon Department of Orthodontics, School of Dentistry, University of Phayao, Muang, Phayao 56000 Thailand.

Tel: 0-5446-6666 ext. 3432 E-mail: pornpat.th@up.ac.th

บทนำ

ปัญหาที่เกี่ยวข้องกับการเรียงตัวของฟันพบเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ผู้ป่วยมาเข้ารับการรักษาทางทันตกรรมจัดฟัน^{1,2} จากการสำรวจลักษณะการเรียงตัวของฟันที่ผิดปกติในกลุ่มประชากรแต่ละเชื้อชาติ พบฟันซ้อนเกเป็นปัญหาที่มีความชุกสูงสุดในการสำรวจภาวะสุขภาพระดับชาติของสหรัฐอเมริกา โดยพบปัญหาฟันซ้อนเกได้สูงถึงร้อยละ 83³ ส่วนการศึกษาในประชากรชาวคอเคเซียนของประเทศอังกฤษพบปัญหาดังกล่าวอยู่ที่ร้อยละ 60⁴ การศึกษาในประเทศจีนพบปัญหาฟันซ้อนเกได้ประมาณครึ่งหนึ่งของประชากรที่ศึกษา⁵ และในประเทศไทยพบความชุกของผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันมีฟันซ้อนเกร้อยละ 89.6 ของผู้ป่วยทั้งหมดที่เข้ารับบริการในคลินิกทันตกรรมจัดฟัน⁶ โดยรวมแล้วพบว่าปัญหาฟันซ้อนเกเป็นปัญหาที่พบได้ทั่วไปในประชากรทุกเชื้อชาติ ดังนั้นการแก้ไขปัญหามันจึงเป็นข้อพิจารณาสำคัญประการหนึ่งสำหรับทันตแพทย์จัดฟันเพื่อการวางแผนการรักษาอย่างเหมาะสม

การจัดการกับปัญหาฟันซ้อนเกโดยการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันนั้น สามารถทำได้ทั้งการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันที่ร่วมกับการถอนฟันและวิธีการรักษาที่ไม่ถอนฟัน โดยการถอนฟันแต่บางซี่เพื่อแก้ไขฟันซ้อนเกมีความเหมาะสมกับผู้ป่วยที่ต้องการพื้นที่ในส่วนโค้งแนวฟัน (arch perimeter) ในปริมาณมากเพื่อจัดการกับปัญหาฟันซ้อนเกที่มาก หรือใช้ในผู้ป่วยที่มีฟันหน้าหรือริมฝีปากยื่นไปด้านหน้า เพื่อใช้พื้นที่จากการถอนฟันดังกล่าวในการเคลื่อนฟันหน้าเข้าไปด้านหลังเพื่อลดความอูมของฟันและริมฝีปาก ส่วนในการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันโดยไม่ถอนฟันจะมีความเหมาะสมกับผู้ป่วยที่ต้องการคงตำแหน่งของฟันหน้าและริมฝีปากในตำแหน่งเดิมได้ดีกว่าวิธีการรักษาที่ร่วมกับการถอนฟัน แต่ในทางคลินิกมักพบว่าปลายฟันตัดมีการเคลื่อนที่ไปทางด้านริมฝีปากเพิ่มขึ้น หลังการแก้ไขฟันซ้อนเกด้วยวิธีนี้⁹⁻¹¹

บทความปริทัศน์นี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อรวบรวมข้อมูลการศึกษาปัจจัยที่มีผลให้ฟันตัดล่างเคลื่อนออกไปทางด้านริมฝีปากจากการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันโดยไม่ถอนฟัน และผลของการเคลื่อนฟันดังกล่าวต่อการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะปริทันต์เพื่อประโยชน์ในการพิจารณาวางแผนการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันที่เหมาะสม

ปัจจัยที่มีผลให้ปลายฟันหน้าล่างเคลื่อนที่ไปทางริมฝีปาก

จากพื้นฐานความรู้ทางชีวกลศาสตร์การเคลื่อนฟัน (biomechanics of tooth movement)¹² พบว่าขั้นตอนการปรับระดับและเรียงฟัน (leveling and aligning phase) มีผลช่วย

ลดโค้งของสปริงในฟันล่าง (curve of Spee) และแก้ไขการมีฟันซ้อนเกในช่วงต้นของการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันติดแน่น ส่งผลให้ตัวฟันตัดล่างล้มเอียงไปทางด้านริมฝีปาก (labial crown tipping) จากโมเมนต์ที่เกิดขึ้น¹³ การเคลื่อนที่เช่นนี้ทำให้ปลายตัดของฟันเคลื่อนที่ไปออกไปทางริมฝีปากเพิ่มขึ้น ดังนั้นปริมาณของฟันซ้อนเกและการมีโค้งของสปริงจึงเป็นสิ่งที่ต้องพิจารณาในการวางแผนการรักษาทางทันตกรรมจัดฟัน

1. ปัจจัยจากปริมาณฟันที่ซ้อนเก

ปัจจัยหลักที่มีผลต่อการเอียงของแกนฟันตัดล่างมีสาเหตุจากการแก้ไขฟันที่ซ้อนเก โดย Weinberg และ Sadowsky⁸ อธิบายความสัมพันธ์ดังกล่าวโดยใช้การวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณ (multiple linear regression analysis) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของฟันในขากรไกรล่างหลังการแก้ไขฟันซ้อนเกด้วยการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันโดยไม่ถอนฟัน พบว่าร้อยละ 52 ของความยาวส่วนโค้งแนวฟันที่เพิ่มขึ้นเกิดจากการแก้ไขปัญหามันซ้อนเกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยในทฤษฎีได้มีผู้นำเสนอสัดส่วนปริมาณการแก้ไขฟันซ้อนเกต่อการเอียงไปทางด้านริมฝีปากของฟันตัดล่าง โดย McLaughlin¹⁴ ได้เสนอว่าในการแก้ไขฟันซ้อนเกทุก ๆ 1 มิลลิเมตร จะเกิดการเอียงตัวของฟันหน้าตัดล่างไปข้างหน้า 1.25 องศา ส่วน Sadowsky¹⁵ ได้นำเสนอเป็นระยะทางที่ตัวฟันตัดล่างด้านริมฝีปากเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (L1-APog) 0.5 มิลลิเมตร ต่อการแก้ไขฟันซ้อนเกทุก ๆ 1 มิลลิเมตร

การศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยใช้แบบจำลองฟัน (typodont)¹⁶ ซึ่งออกแบบให้ฟันมีการซ้อนเป็นปริมาณ 3.5 มิลลิเมตร เพื่อศึกษาปริมาณการเปลี่ยนแปลงของแนวแกนฟันหลังการเรียงฟันด้วยลวดนิกเกิลไทเทเนียม (nickel-titanium) ขนาด 0.014 นิ้ว, 0.016 นิ้ว, 0.018 นิ้ว และ 0.020 นิ้ว โดยวัดการเปลี่ยนแปลงแนวแกนฟันภายหลังการเรียงฟันด้วยลวดนิกเกิลไทเทเนียมแต่ละขนาด พบว่าในแต่ละช่วงมีการเปลี่ยนแปลงของแนวแกนฟันเกิดขึ้น 3.81-7.45 องศา โดยช่วงที่พบการเปลี่ยนแปลงมากที่สุดเกิดขึ้นหลังการเรียงฟันด้วยลวดขนาด 0.014 นิ้ว ที่มีขนาดเล็กที่สุดในการศึกษานี้ ซึ่งพบการเปลี่ยนแปลงมากกว่าในช่วงอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยผลดังกล่าวเกิดขึ้นจากการใช้ลวดซึ่งมีคุณสมบัติการคืนกลับรูปร่างเดิมได้ (shape memory effect) และมีความยืดหยุ่นสูง (high flexibility)^{17,18} เช่น ลวดนิกเกิลไทเทเนียม หรือลวดเหล็กกล้าไร้สนิมชนิดมัลติสแตรนด์ (multi-strand stainless steel) โดยเมื่อใส่ลวดเข้าไปในช่องของแบร็กเกต (bracket slot) ซึ่งติดอยู่กับฟันที่ซ้อนเก ลวดจะเกิดการโค้งงอไปตามตำแหน่งการซ้อนเกของฟัน และจากคุณสมบัติของลวดที่จะพยายามกลับคืนสู่รูปร่างเดิม ทำให้เกิดแรงดึงฟันออกไปในทุกทิศทางเพื่อเพิ่มพื้นที่ในส่วนโค้งแนวฟันให้ฟันที่ซ้อนเกสามารถ

เรียงตัวได้ โดยฟันหน้าจะได้รับผลจากแรงผลักค่อนข้างมากเนื่องด้วยเป็นตำแหน่งที่มักพบการซ้อนเก^{3,19} รวมถึงขนาดของฟันที่มีขนาดเล็กเมื่อเทียบกับฟันในตำแหน่งอื่น ๆ จึงส่งผลให้ฟันตัดล่างถูกดึงมาทางด้านริมฝีปากได้ง่ายขึ้น และจากสมการทางคณิตศาสตร์ของ Germane และคณะ²⁰ ซึ่งได้เปรียบเทียบความยาวส่วนโค้งแนวฟันที่เพิ่มขึ้นจากการขยายของฟันในแต่ละตำแหน่ง พบว่าฟันหน้าที่เอียงไปด้านริมฝีปากจะทำให้ความยาวส่วนโค้งแนวฟันเพิ่มมากกว่าการขยายฟันหลังออกทางด้านข้างเกือบ 4 เท่า ดังนั้นการเอียงไปด้านริมฝีปากของฟันตัดจึงเป็นผลที่พบได้ทั่วไปจากการเรียงฟันที่ซ้อนเก ซึ่งมีประสิทธิผลในการเพิ่มส่วนโค้งแนวฟันสำหรับการเรียงฟัน

การศึกษาทางคลินิกในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันโดยไม่ถอนฟันให้ผลไปในทิศทางเดียวกันกับการศึกษาทางห้องปฏิบัติการที่กล่าวมาข้างต้น โดยพบฟันตัดล่างเอียงไปทางด้านริมฝีปากเพิ่มขึ้นเสมอหลังการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันโดยไม่ถอนฟัน ผลการศึกษาพบว่ามุมระหว่างแกนฟันตัดล่างซีกกลางและระนาบของขากรรไกรล่าง (incisor-mandibular plane angle) เพิ่มขึ้นในช่วง 6.8 ถึง 8.4 องศา โดยศึกษาในผู้ป่วยที่มีปริมาณฟันซ้อนเกเฉลี่ย 2.38 ถึง 5.43 มิลลิเมตร²¹⁻²³ ผลการเปลี่ยนแปลงแนวแกนฟันจากการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันโดยไม่ถอนฟัน แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบปริมาณการเปลี่ยนแปลงของแนวแกนฟันตัดล่างในการศึกษาทางคลินิกด้วยวิธีการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันโดยไม่ถอนฟัน

Table 1 Comparison of lower incisor inclination changes from non-extraction orthodontic treatment in clinical studies.

การศึกษา	N	ดัชนีวัดปริมาณฟันซ้อนเก	IMPA ก่อนรักษา	IMPA หลังรักษา	IMPA ที่เปลี่ยนแปลง
Paquette และคณะ (1992) ²²	30	II 5.1 มม.	91.3 องศา	99.7 องศา	8.4 องศา
Luppanapornlarp และ Johnston (1993) ²³	29	II 2.9 มม.	94.9 องศา	100.0 องศา	5.1 องศา
Bishara และคณะ (1997) ⁷	46	TSALD 1.55	97.0 องศา	103.1 องศา	6.1 องศา
Erdinc และคณะ (2007) ²¹	49	II 2.38 มม.	94.92±7.24 องศา	100.56±7.73 องศา	5.64 องศา
Pandis และคณะ (2007) ²⁴	54	II 5.43 มม.	94.70±6.98 องศา	101.50±8.10 องศา	6.80 องศา

II: Irregularity index โดย Little²⁵

TSALD: ปริมาณพื้นที่ที่ต้องการในส่วนโค้งแนวฟัน (tooth size-arch length discrepancy)

IMPA: มุมระหว่างแนวแกนฟันตัดล่างและระนาบของขากรรไกรล่าง โดย Tweed²⁶

2. ปัจจัยจากปริมาณโค้งของสปี

จากการศึกษาพัฒนาการการเปลี่ยนแปลงโค้งของสปีพบว่าในผู้ใหญ่ควรมีโค้งของสปีอยู่ในช่วงไม่เกิน 2 มิลลิเมตร²⁷ สำหรับผู้ป่วยที่มีปริมาณโค้งของสปีที่ลึกเกินกว่าค่าปกติ Andrew²⁸ ได้อธิบายถึงการพัฒนาการของความผิดปกติดังกล่าวซึ่งอาจเกิดร่วมกับปริมาณฟันซ้อนเกที่เพิ่มขึ้นจากการเจริญเติบโตของขากรรไกรล่างที่มีการเจริญเติบโตในทิศลงและไปข้างหน้า ซึ่งการเจริญเติบโตดังกล่าวอาจเกิดขึ้นในระยะเวลาที่ยาวนานกว่า หรือมีปริมาณที่มากกว่าการเจริญเติบโตของขากรรไกรบน จึงอาจได้รับแรงจากฟันตัดบน และริมฝีปากบนกระทำต่อฟันหน้าล่าง ทำให้เกิดแรงผลักฟันกลับไปทางด้านหลังและขึ้นด้านบน มีผลให้ฟันหน้าล่างเกิดการซ้อนเกและยื่นยาวขึ้น ทำให้โค้งของสปีมีปริมาณลึกเพิ่มขึ้น

การลดปริมาณโค้งของสปีเกิดขึ้นในช่วงแรกของการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันพร้อม ๆ กับการแก้ไขฟันซ้อนเกในขั้นตอนการปรับระดับและเรียงฟัน หากโค้งของสปีในฟันล่างมีปริมาณมาก ลวดจะทำให้เกิดแรงกดที่เบร็กเกตของฟันตัดล่างซึ่งอยู่หน้าต่อจุดศูนย์กลางฟัน (center of resistance) ในทิศทางลงสู่ปลายราก ทำให้เกิดโมเมนต์ (moment) ที่ทำให้ฟันตัดล่างล้มเอียงไปทาง

ด้านริมฝีปากเพิ่มขึ้น ซึ่งผลดังกล่าวจะเกิดขึ้นได้มากในลวดกลมซึ่งถูกใช้ในช่วงเริ่มต้นของการรักษา²⁹

ในทางทฤษฎีการลดปริมาณโค้งของสปีทุก ๆ 1 มิลลิเมตร จะต้องการพื้นที่ในส่วนโค้งแนวฟันเพิ่มขึ้นในปริมาณใกล้เคียงกัน³⁰ แต่จากการศึกษาในแบบจำลองฟันโดยใช้วิธีการคำนวณทางคณิตศาสตร์กลับพบว่า การลดโค้งของสปีไม่ได้ใช้พื้นที่ในส่วนโค้งแนวฟันมากนัก โดย Braun และคณะ³¹ ได้นำเสนอสมการเส้นตรง $Y = 0.2462 X - 0.1723$ โดยให้ Y แทนปริมาณส่วนโค้งแนวฟันที่ต้องการในการลดโค้งของสปี และ X แทนผลรวมของปริมาณโค้งของสปีทางด้านซ้ายและขวา พบว่าในการลดโค้งของสปีที่ 1 มิลลิเมตร จะใช้พื้นที่ในส่วนโค้งแนวฟันเพียง 0.3 มิลลิเมตรเท่านั้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Germane และคณะ³² ซึ่งพบปริมาณพื้นที่ในส่วนโค้งแนวฟันที่ต้องการต่อปริมาณการลดลงของโค้งของสปีมีค่าน้อยกว่า 1:1 โดยความสัมพันธ์ดังกล่าวไม่ได้เป็นไปในลักษณะของเส้นตรงซึ่งมีผลจากรูปร่างของส่วนโค้งแนวฟัน และระดับความลึกของโค้งของสปี ดังนั้นพื้นที่ที่ต้องการสำหรับลดปริมาณโค้งของสปีจึงอาจไม่ใช่ปัจจัยหลักที่ทำให้ฟันตัดล่างเอียงไปทางด้านริมฝีปาก

ส่วนการศึกษาคลินิกของ Pandis และคณะ¹¹ พบว่าทุก ๆ 1 มิลลิเมตร ของการลดโค้งของสปี ส่งผลให้ฟันตัดล่างมีแนวแกนฟันเปลี่ยนแปลงไป 4 องศา และได้สรุปว่าปัจจัยหลักในการทำให้โค้งของสปีเรียบเกิดขึ้นจากการกดฟันหน้าล่างลงทางปลายรากฟันแบบสัมพันธ์ (relative intrusion) ทำให้ฟันตัดล่างมีแกนฟันเอียงไปทางด้านริมฝีปากซึ่งสามารถอธิบายได้จากแรงกดตามหลักชีวกลศาสตร์ของการเคลื่อนฟัน^{31,33} ในการศึกษาโดยใช้ระเบียบวิธีการไฟไนต์เอลิเมนต์ (finite element method)¹³ ได้แสดงให้เห็นว่าเมื่อมีแรงเดียว (single force) มากระทำที่ตัวฟันตัดล่างจะทำให้ฟันตัดล่างเกิดการล้มเอียงมาทางด้านริมฝีปากเสมอ ไม่ว่าจะเป็นแรงในทิศทางจากด้านลิ้นไปด้านริมฝีปาก หรือแรงกดในทิศลงสู่ปลายรากฟัน ซึ่งเป็นแรงที่พบได้บ่อยจากการปรับระดับและเรียงฟัน จึงสนับสนุนแนวคิดที่แรงจากการแก้ไขปัญหของฟันที่ซ้อนเก ทำให้ปลายฟันตัดถูกผลักออกไปด้านหน้าและเกิดการเอียงของแนวแกนฟันตามตำแหน่ง และทิศทางของแรงที่เกิดขึ้น

อวัยวะปริทันต์บริเวณฟันหน้าล่าง

จากการศึกษากระโหลกศีรษะของมนุษย์อายุระหว่าง 20 ถึง 70 ปี จำนวน 3,416 ซี่³⁴ พบฟันที่มีสภาวะการละลายของสันกระดูกเข้าฟัน (bony dehiscence) หรือการเกิดช่องโหว่ของกระดูกเข้าฟัน (fenestration) ร้อยละ 7.5 ของฟันที่ศึกษาทั้งหมด โดยไม่พบความสัมพันธ์ของการเกิดรอยโรคของกระดูกเข้าฟันกับอายุกระโหลก ในจำนวนนี้พบรอยโรคที่ตำแหน่งของฟันหน้าล่างจำนวน 92 ซี่ จากฟันที่พบรอยโรคทั้งหมด 258 ซี่ ซึ่งมีปริมาณที่สูงกว่าในบริเวณอื่น ความชุกดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาแบบย้อนหลัง (retrospective study) โดยใช้ภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ชนิดโคนบีม (cone-beam computed tomography) ศึกษาการละลายของสันกระดูกเข้าฟันโดยเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่มีการสบฟันผิดปกติประเภทต่าง ๆ และมีความสัมพันธ์ของขากรรไกรในแนวตั้งที่ปกติ (normodivergent pattern)³⁵ และอีกการศึกษาที่เปรียบเทียบในกลุ่มที่มีความสัมพันธ์ของขากรรไกรในแนวตั้งแต่ละชนิด³⁶ ทั้งสองการศึกษาพบว่าในทุกกลุ่มจะพบการละลายของสันกระดูกเข้าฟันสูงสุดในตำแหน่งของฟันตัดในขากรรไกรล่างเช่นเดียวกันซึ่งแสดงให้เห็นว่าแม้ในภาวะปกติที่ไม่ได้รับการจัดฟันตำแหน่งด้านริมฝีปากของฟันตัดล่างมีแนวโน้มที่จะเกิดการละลายของสันกระดูกเข้าฟันสูงกว่าในบริเวณอื่น ๆ ไม่ว่าจะมีการสบฟันผิดปกติชนิดใด หรือมีความสัมพันธ์ในแนวตั้งของขากรรไกรเป็นอย่างไร

การเปลี่ยนแปลงของอวัยวะปริทันต์จากการเคลื่อนที่ของฟันหน้าล่างไปทางด้านริมฝีปาก

การรักษาทางทันตกรรมจัดฟันพบเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อปริมาณของกระดูกครอบรากฟันทั้งในส่วนของความสูงของกระดูกและความหนาของกระดูก^{37,38} นอกจากนี้ความหนาบางของ

กระดูกเข้าฟันยังเป็นตัวจำกัดขอบเขตของการเคลื่อนฟัน ทำให้การเคลื่อนฟันออกจากกระดูกโดยการผลักฟันตัดไปทางด้านริมฝีปากเป็นสิ่งที่ต้องให้ความระมัดระวังเพื่อไม่ให้เกิดความพิการของอวัยวะปริทันต์ เช่น การละลายของสันกระดูกเข้าฟัน หรือ การเกิดช่องโหว่ของกระดูกเข้าฟันในบริเวณตำแหน่งรากฟัน Karring และคณะ³⁹ ได้อธิบายกลไกการเกิดการละลายของสันกระดูกเข้าฟันจากการที่ฟันเคลื่อนที่ออกนอกกระดูกเข้าฟันเป็นผลให้เกิดการทำลายองค์ประกอบทางอินทรีย์ (organic) และอนินทรีย์ (inorganic) รวมไปถึงเซลล์กระดูก (osteogenic cells) ทำให้การทำลายของอวัยวะปริทันต์เกิดขึ้น โดยแม้ว่าบริเวณใกล้เคียงจะมีส่วนของเซลล์กระดูกอยู่ แต่จะไม่สามารถสร้างกระดูกมาหุ้มรอบรากฟันในตำแหน่งที่เกินจากขอบเขตของกระดูกขากรรไกรได้ อีกทั้งแรงดันที่กระทำต่อสันกระดูกเข้าฟันทางด้านริมฝีปากจากการที่ฟันเคลื่อนที่โดยการล้มเอียงไปทางด้านริมฝีปาก⁴⁰ ซึ่งในบริเวณสันกระดูกเข้าฟันดังกล่าวจะประกอบไปด้วยกระดูกทึบ (cortical bone) เป็นส่วนใหญ่ซึ่งมีเซลล์กระดูกที่น้อย ทำให้เกิดการตายของเซลล์แบบไม่ติดเชื้อ (hyalinization) และเกิดการละลายของสันกระดูกเข้าฟันทางอ้อม (indirect bone resorption)

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะปริทันต์ภายหลังการเคลื่อนที่ของฟันตัดล่างไปทางด้านริมฝีปากพบมีการศึกษาทั้งในสัตว์ทดลอง และการศึกษาทางคลินิก โดยพบว่าการศึกษาในสัตว์ทดลองจะสามารถเคลื่อนฟันตัดล่างไปทางด้านริมฝีปากได้ในปริมาณมาก และสามารถศึกษาการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะปริทันต์โดยการวัดทางตรงได้ (direct measurement) เช่น การเปิดแผ่นเหงือก (flap) เพื่อวัดการลดลงของปริมาณกระดูกเข้าฟันในแนวตั้งเพื่อศึกษาการละลายของสันกระดูกเข้าฟัน ส่วนการศึกษาทางคลินิกโดยมากจะเป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง เนื่องจากข้อพิจารณาทางจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ ทำให้การวัดทางตรงทำได้จำกัด

1. การศึกษาในสัตว์ทดลอง

การศึกษาในสัตว์ทดลองที่ศึกษาผลของการเคลื่อนฟันตัดไปทางด้านหน้ากับการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะปริทันต์พบการศึกษาทั้งหมดทำการศึกษาในลิง (ตารางที่ 2) โดย Steiner และคณะ⁴¹ ได้เคลื่อนฟันตัดซี่กลางบนและล่างในลิงเป็นระยะทาง 3.05 ± 0.8 มิลลิเมตร โดยใช้เวลา 13 สัปดาห์ และคงสภาพไว้ 3 สัปดาห์ก่อนที่จะวัดการเปลี่ยนแปลง พบภาวะของเหงือกกรันเป็นระยะ 1.01 ± 0.4 มิลลิเมตร และสันกระดูกเข้าฟันถูกทำลาย 5.48 ± 3.1 มิลลิเมตร ซึ่งมีความมากกว่ากลุ่มควบคุมโดยใช้ฟันเขียวที่ไม่ได้เคลื่อนที่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) และพบการทำลายเกิดขึ้นในฟันตัดล่างมากกว่าฟันตัดบน การศึกษาสืบเนื่องโดย Engelking และ Zachrisson⁴² ได้ใช้ลิงกลุ่มเดิมที่ถูกใช้ในการศึกษาก่อนหน้า โดยเว้นระยะไว้ 8 เดือนหลังจากการศึกษาแรกเสร็จสิ้น พบภาวะเหงือกกรันมีความรุนแรงมากขึ้น โดยพบ

เหงือกยื่นเพิ่มขึ้นจากเดิม 2-3 มิลลิเมตร จึงตั้งข้อสังเกตว่าผลของการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันที่มีผลต่ออวัยวะปริทันต์อาจไม่แสดงออกทันทีหลังการเคลื่อนฟัน แต่เมื่อถึงระยะโดยการคงสภาพฟันตัดไว้ในตำแหน่งที่ถูกเคลื่อนมาข้างหน้าจะทำให้การทำลายของอวัยวะปริทันต์มีความรุนแรงมากขึ้น เช่นเดียวกับ Batenhorst และคณะ⁴³ ได้ใช้การศึกษาแบบแบ่งส่วนในช่องปาก (split-mouth design) ในลิงที่ได้รับการเคลื่อนฟันตัดล่างมาข้างหน้าเป็นระยะ 6 มิลลิเมตร และคงสภาพไว้ 8 เดือน พบภาวะของเหงือกยื่นประมาณ 2 มิลลิเมตร ซึ่งไม่พบในฟันที่เป็นกลุ่มควบคุม เมื่อเปิดแผ่นเหงือกพบการละลายของสันกระดูกเบ้าฟันเกิดขึ้นที่ด้านริมฝีปากของกลุ่มทดลอง ส่วนในด้านลิ้น ด้านใกล้กลาง และด้านไกลกลาง พบการพอกของกระดูกเพิ่มมากขึ้น แต่ในการศึกษาของ Wingard และ Bowers⁴⁴ ได้ผลที่ขัดแย้ง โดยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของภาวะเหงือกยื่นเมื่อเคลื่อนฟันตัดล่างออกไปด้านหน้า โดยมีระยะทางที่เคลื่อนเฉลี่ย 3.35 มิลลิเมตร และถูกคงสภาพไว้ 4 เดือน

จากตารางที่ 2 จะพบความสัมพันธ์ระหว่างระยะที่ฟันตัดล่างเคลื่อนที่ไปด้านหน้าต่อการลดลงของอวัยวะปริทันต์จากการศึกษาในลิง โดยพบว่าทุก ๆ การเคลื่อนฟัน 1 มิลลิเมตร จะพบกระดูก 0.51 ถึง 1.80 มิลลิเมตร และพบเหงือกยื่น 0.33 ถึง 0.53 มิลลิเมตร กล่าวคือการเคลื่อนที่ของฟันไปทางด้านริมฝีปากมากขึ้น จะมีแนวโน้มของการทำลายอวัยวะปริทันต์เพิ่มสูงขึ้น โดยผลที่เกิดขึ้นในกระดูกเบ้าฟันจะมีปริมาณที่มากกว่าในเหงือก

2. การศึกษาในมนุษย์

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสันกระดูกเบ้าฟันในมนุษย์สามารถใช้ภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ชนิดโคน빔ในการประเมินโดยวัดระยะระหว่างรอยต่อเคลือบฟันและเคลือบรากฟัน (cemento-enamel junction) ถึงสันกระดูกเบ้าฟัน หากระยะดังกล่าวที่มากกว่า 2 มิลลิเมตรจะบ่งชี้ถึงการละลายของสันกระดูกเบ้าฟัน Castro และคณะ⁴⁵ ได้เปรียบเทียบการละลายของสันกระดูกเบ้าฟันด้วยวิธีดังกล่าว โดยประเมินก่อนและหลังการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันโดยไม่ถอนฟัน พบฟันตัดล่างเป็นตำแหน่งที่มีระยะดังกล่าวทางด้านริมฝีปากเพิ่มขึ้นภายหลังการรักษา โดยมีความสูงสูงกว่าฟันในตำแหน่งอื่น ๆ โดยพบสัดส่วนฟันที่มีระยะดังกล่าวเพิ่มขึ้นได้มากถึงร้อยละ 75 ในด้านริมฝีปากของฟันตัดล่างซึ่งกลางทั้งหมดที่ศึกษา โดยในจำนวนนี้พบร้อยละ 61.67 ที่มีระยะดังกล่าวมากกว่า 2 มิลลิเมตรภายหลังการรักษาทางทันตกรรมโดยไม่ถอนฟัน โดยมีระยะระหว่างรอยต่อเคลือบฟันและเคลือบรากฟันถึงสันกระดูกเบ้าฟันเฉลี่ยก่อนการรักษา 1.72 ± 0.98 มิลลิเมตร และเพิ่มเป็น 2.28 ± 1.56 มิลลิเมตร ภายหลังการรักษา ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0001$)

จากการศึกษารายการณ⁴⁶ ในผู้ป่วยเพศหญิงวัย 19 ปี ที่ได้ถูกนำมาศึกษาภายหลังการเสียชีวิต โดยได้รับการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันโดยไม่ถอนฟันเป็นเวลา 19 เดือน พบปลายรากฟันบางส่วนหลุดพ้นจากกระดูกเบ้าฟันทางด้านลิ้น และพบการละลายของสันกระดูกเบ้าฟันทั้งทางด้านลิ้น และด้านริมฝีปาก ในบริเวณฟันตัดล่าง ร่วมกับพบลักษณะทางกายวิภาคจากภาพถ่ายรังสีกะโหลกศีรษะด้านข้างก่อนการรักษาที่มีลักษณะกระดูกครอบรากฟันหน้าล่างที่บางซึ่งน่าจะเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการละลายของสันกระดูกเบ้าฟันเกิดขึ้นได้ง่าย^{47,48}

ข้อมูลจากการศึกษาวิจัยทางคลินิกที่ศึกษาภาวะเหงือกยื่นภายหลังการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันโดยไม่ถอนฟันถูกแสดงในตารางที่ 3

โดยในการศึกษาแบบย้อนหลังที่ใช้ข้อมูลของผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันโดยไม่ถอนฟัน Allais และ Melsen⁴⁷ พบตัวอย่างร้อยละ 35 มีภาวะเหงือกยื่นภายหลังการรักษาเปรียบเทียบกับร้อยละ 17 ของตัวอย่างที่ยังไม่ได้รับการรักษาซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม ส่วนในการศึกษาของ Melsen และ Allais⁴⁸ ในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันโดยไม่ถอนฟัน พบผู้ป่วยมีภาวะเหงือกยื่นเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 21 ก่อนการรักษาเป็นร้อยละ 35 หลังการรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในจำนวนนี้มีเพียงร้อยละ 2.8 ที่มีภาวะเหงือกยื่นมากกว่า 2 มิลลิเมตร 2.1 การศึกษาที่วัดการเคลื่อนที่ของฟันหน้าล่างไปทางด้านริมฝีปากด้วยมุมของแนวแกนฟัน

จากตารางที่ 3 พบ 4 การศึกษา^{37,49-51} ซึ่งให้ข้อมูลของการเปลี่ยนแปลงแนวแกนฟันที่เอียงไปข้างหน้า และการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะปริทันต์ โดยพบว่า 3 ใน 4 เป็นการศึกษาที่พิจารณาปริมาณของการเกิดเหงือกยื่น โดยการศึกษาของ Årtun และ Kongstad⁴⁹, การศึกษาของ Djeu และคณะ⁵⁰ และการศึกษาของ Yared และคณะ⁵¹ ใช้การคัดกลุ่มศึกษาที่มีฟันเอียงตัวไปทางด้านริมฝีปากจากผู้ป่วยที่เสร็จสิ้นการรักษาแล้ว โดยสองการศึกษาแรกมีกลุ่มเปรียบเทียบโดยใช้ผู้ป่วยที่มีการเปลี่ยนแปลงแนวแกนฟันที่น้อย แต่การศึกษาของ Yared และคณะ ไม่ได้ใช้กลุ่มเปรียบเทียบและไม่ได้วัดการเกิดเหงือกยื่นก่อนการรักษา ทำให้ข้อมูลที่ได้มีเพียงช่วงติดตามผลการรักษา (follow-up) เท่านั้น และมีเพียงการศึกษาของ Årtun และ Kongstad⁴⁹ ที่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) ของการเกิดเหงือกยื่นระหว่างกลุ่มที่มีแนวแกนฟันที่เอียงไปด้านริมฝีปาก และกลุ่มที่ไม่มีการเอียงไปทางด้านริมฝีปาก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะในการศึกษานี้ได้ทำการศึกษาในตัวอย่างที่มีการเปลี่ยนแปลงแนวแกนฟันที่เอียงไปด้านริมฝีปากมากกว่า 10 องศา ต่างจากอีกสองการศึกษาซึ่งศึกษาในกลุ่มตัวอย่างที่มีการเปลี่ยนแปลงแนวแกนฟันที่เอียงไปด้านริมฝีปากเฉลี่ยเพียง 5 องศา ส่วนอีกการ

ศึกษาโดย Garlock และคณะ³⁷ เป็นการศึกษาที่มีการควบคุมวิธีการรักษา (treatment protocol) ทำให้ตัวอย่างที่ศึกษามีความเหมือนกันมากกว่าการศึกษาแบบย้อนหลังที่กล่าวมา แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ไม่ได้มีกลุ่มเปรียบเทียบ จึงวิเคราะห์การละลายของสันกระดูกขาพื้นด้วยภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ชนิดโคนบีบเปรียบเทียบก่อนและหลังการรักษาซึ่งพบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

Yared และคณะ⁵¹ ได้สรุปถึงผลการรักษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับโอกาสที่จะพบอวัยวะปริทันต์บริเวณฟันตัดล่างถูกทำลายรวมทั้งมีความรุนแรงเพิ่มขึ้นในฟันที่มีแนวการเอียงตัวของฟันมากกว่า 95 องศาภายหลังการรักษา ร่วมกับการมีความหนาของเหงือกอิสระ (free gingiva) ที่น้อยกว่า 0.5 มิลลิเมตรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยในการศึกษานี้พบว่าตัวอย่างร้อยละ 92.86 ที่พบภาวะเหงือกอักเสบจะมีแนวการเอียงตัวของฟันภายหลังการรักษา มากกว่าหรือเท่ากับ 96 องศา เช่นเดียวกับการพบเหงือกอักเสบในกลุ่มตัวอย่างร้อยละ 93 ที่มีความหนาของเหงือกอิสระน้อยกว่า 0.5 มิลลิเมตร

เมื่อพิจารณาสัดส่วนของการเกิดการทำลายอวัยวะปริทันต์ต่อแนวแกนฟันที่เปลี่ยนไป โดยพิจารณาแกนฟันที่เปลี่ยนไปที่ 2.5 องศาในการศึกษาที่วัดการเปลี่ยนแปลงเป็นมุมเพื่อให้สามารถเปรียบเทียบกับระยะทางการเคลื่อนที่ที่ 1 มิลลิเมตร^{14,15} จากตารางที่ 3 เมื่อพิจารณาทั้ง 3 การศึกษาซึ่งวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างแนวแกนฟันที่เปลี่ยนไปและระยะของเหงือก พบว่าใน 2 การศึกษา^{50,51} ได้วิเคราะห์ในกลุ่มตัวอย่างที่มีแนวแกนฟันเอียงไปทางด้านริมฝีปากเพิ่มขึ้นประมาณ 5 องศา ซึ่งพบการเกิดเหงือกอักเสบในปริมาณที่ค่อนข้างน้อยในสัดส่วน 2.5 องศา ต่อ ภาวะเหงือกอักเสบไม่เกิน 0.12 มิลลิเมตร แต่ในอีกการศึกษาของ Artun และ Kongstad⁴⁹ พบภาวะเหงือกอักเสบเกิดขึ้นมากกว่า โดยอยู่ที่ 0.20 มิลลิเมตร ต่อการเปลี่ยนแปลงแนวแกนฟัน 2.5 องศา ซึ่งสัดส่วนที่มากกว่านี้อาจเนื่องจากการศึกษาดังกล่าววิเคราะห์ในกลุ่มตัวอย่างที่มีแนวแกนฟันที่เปลี่ยนแปลงไปมากกว่า 10 องศาในผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของขากรรไกรชนิดที่ 3 (skeletal Class III) ทำให้ได้สัดส่วนของการเกิดเหงือกอักเสบต่อการเปลี่ยนแปลงแนวแกนฟันมีค่ามากขึ้น ต่างจากการศึกษาอื่นที่ศึกษาในผู้ป่วยที่มีการสบฟันผิดปกติทั้งชนิดที่ 1, 2 และ 3 แต่อย่างไรก็ตามความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการเอียงตัวของฟันตัดล่างกับการเกิดเหงือกอักเสบในทุกการศึกษาเกิดขึ้นในปริมาณที่ค่อนข้างน้อย และอาจไม่มีนัยสำคัญทางคลินิก^{37,47,52-54}

ส่วนการศึกษาที่วัดแนวแกนฟันที่เปลี่ยนแปลงต่อการเกิดการละลายของสันกระดูกขาพื้นจากภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ชนิดโคนบีบพบสัดส่วนการระยะการละลายของสันกระดูกขาพื้น 1.167 มิลลิเมตร ต่อ การเปลี่ยนแปลงแนวแกนฟัน 2.5 องศา ซึ่งพบมีปริมาณมากกว่าการเกิดเหงือกอักเสบ แต่ยังคงพบมีการศึกษาในเรื่องดังกล่าวที่ค่อนข้างน้อย และยังต้องการการศึกษาแบบสุ่มที่มีกลุ่มควบคุม (randomised clinical trial) เพื่อให้ได้ข้อมูลในส่วนนี้ที่ชัดเจนยิ่งขึ้น

2.2 การศึกษาที่วัดการเคลื่อนที่ของฟันหน้าล่างไปทางด้านริมฝีปากด้วยระยะทาง

จากตารางที่ 3 พบ 2 การศึกษาซึ่งศึกษาในกลุ่มตัวอย่างเดียวกัน^{47,48} โดยวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระยะทางที่ฟันตัดล่างเคลื่อนที่มาทางด้านริมฝีปากกับระยะของเหงือกอักเสบในลักษณะของการศึกษาแบบแบ่งกลุ่มที่มีปัจจัยและไม่มีปัจจัย (case-control study) โดยศึกษาในผู้ป่วยกลุ่มละ 150 ราย พบว่าภาวะเหงือกอักเสบภายหลังการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันโดยไม่ถอนฟันมีความชุกของการเกิดเหงือกอักเสบค่อนข้างน้อย และพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เฉพาะในฟันตัดล่างซึ่งกลางด้านขวา และฟันตัดล่างซึ่งข้างด้านซ้ายเท่านั้น หากพิจารณาค่าสัดส่วนของการเกิดเหงือกอักเสบ พบว่าเหงือกจะลดลงไป 0.1 มิลลิเมตร ต่อ ระยะที่ด้านริมฝีปากในฟันตัดล่างเคลื่อนมาทางด้านริมฝีปาก 1 มิลลิเมตร ซึ่งมีสัดส่วนของการเกิดเหงือกอักเสบใกล้เคียงกับการเปลี่ยนแปลงแนวแกนฟัน 2.5 องศาของ Yared และคณะ⁵¹ ซึ่งวัดมุมของแนวแกนฟันที่เปลี่ยนแปลง

การศึกษาเกี่ยวกับการทำลายของอวัยวะปริทันต์จากการเคลื่อนฟันตัดล่างมาทางด้านริมฝีปากยังมีจำนวนการศึกษาที่ไม่มาก และด้วยหลักฐานที่มีอยู่จะพบการทำลายของอวัยวะปริทันต์ในปริมาณที่น้อย แต่แนวโน้มของการเกิดภาวะดังกล่าวยังคงพบได้ในหลายๆการศึกษา อย่างไรก็ตามยังมีปัจจัยอื่นนอกเหนือจากการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะปริทันต์บริเวณฟันตัดล่าง ได้แก่ ความหนาของกระดูกขาพื้นและเหงือก อายุของผู้ป่วย รวมไปถึงพฤติกรรมในการดูแลสุขภาพช่องปากของผู้ป่วย จึงเป็นประเด็นสำคัญที่ควรนำมาพิจารณาร่วมกันเพื่อการวางแผนการรักษาที่เหมาะสม โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงต่อการถูกทำลายของอวัยวะปริทันต์ เช่น ผู้ป่วยสูงอายุ⁵⁵ การมีเหงือกอักเสบที่บาง กระดูกขาพื้นบาง หรือมีความพิการของกระดูกขาพื้นอยู่ก่อนแล้ว⁵⁶ เป็นต้น

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบผลของการเคลื่อนที่ไปทางด้านริมฝีปากในฟันตัดล่างต่อการทำลายของอวัยวะปริทันต์ในลิง

Table 2 Comparison of periodontal tissue changes from labial displacement of lower incisors in monkey studies.

การศึกษา	N	กลุ่มทดลอง	กลุ่มควบคุม	เวลาในการเคลื่อนฟัน	เวลาในการคงสภาพ	การเคลื่อนที่ของฟัน (+) ด้านริมฝีปาก (-) ด้านลิ้น	ความสูงของเหงือก / กระดูก (B) (+) เพิ่ม, (-) ลด	สัดส่วนระยะเคลื่อนฟัน:ระยะวันของเหงือก / กระดูก (B)	เพิ่มเติม
Batenhorst และคณะ (1974) ⁴³	2	31, 32 หรือ 41, 42	31, 32 หรือ 41, 42	54-64 วัน	240 วัน	+ 6 มม.	ท: - 3.15 มม. ค: - 0.35 มม. ท: - 7.38 มม. (B) ค: - 2.5 มม. (B)	1 : 0.53 1 : 1.23 (B)	- กลุ่มทดลองมีการเคลื่อนที่ขึ้นไปทางปลายฟัน 5 มม. ระหว่างการคงสภาพ - อวัยวะปริทันต์ถูกทำลายมากทางด้านริมฝีปาก
Wingard และ Bowers (1976) ⁴⁴	4	31, 41	32, 42	36-95 วัน	120 วัน	+ 3.35 มม.	ท: - 1.7 มม. (B) [†] ค: ไม่เปลี่ยนแปลง (B)	1 : 0.51 (B)	- ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
Steiner และ คณะ (1981) ⁴¹	5	31, 41	33, 43	13 สัปดาห์	3 สัปดาห์	+ 3.05±0.8 มม.	ท: - 1.01±0.4 มม.* ค: -0.20±0.3 มม. ท: - 5.48±3.1 มม. (B)* ค: -1.52±1.0 มม. (B)	1 : 0.33 1 : 1.80 (B)	
Engelking และ Zachrisson (1982) ⁴²	5	31, 41	-	13 สัปดาห์	8 เดือน	+ 3.05±0.8 มม.	ท: - 2-3 มม.	-	- ใช้สัตว์ทดลองจากการศึกษาของ Steiner และคณะ

ท: กลุ่มทดลอง

ค: กลุ่มควบคุม

[†] ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.001)

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบผลของการเคลื่อนที่ทางด้านริมฝีปากในฟันตัดล่างต่อการทำลายของอวัยวะปริทันต์ในมนุษย์

Table 3 Comparison of periodontal tissue changes from labial displacement of lower incisors in clinical studies.

การศึกษา	N	กลุ่มทดลอง	กลุ่มควบคุม	เวลาในการเคลื่อนฟัน	เวลาในการคงสภาพ	การเคลื่อนที่ของฟัน (+) ด้านริมฝีปาก (-) ด้านลิ้น	ความสูงของเหงือก / กระดูก (B) (+) เพิ่ม, (-) ลด	สัดส่วนระยะเคลื่อนฟัน:ระยะรันของเหงือก / กระดูก (B)	เพิ่มเติม
Årtun และ Kongstad (1987) ⁴⁹	40	31, 32, 41, 42 31, 41 แนวแกนฟันเพิ่ม N=40	31, 32, 41, 42 N=19	-	-	ท: + >10 องศา ค: <2 องศา	ท:- 0.79±0.98 มม.*** ค: - 0.09±0.29 มม.	2.5 องศา : 0.20	
Djeu และ คณະ (2002) ⁵⁰	67	แนวแกนฟันเพิ่ม N=40	31, 41 แนวแกนฟันลด N=27	33.2 เดือน	-	ท: + 5.03±6.37 องศา ค: - 4.37±6.21 องศา	ท: - 0.04±0.17 มม. [†] (ซี 31) ค: - 0.02±0.11 มม. (ซี 31) ท: - 0.10±0.32 มม. [†] (ซี 41) ค: - 0.07±0.28 มม. (ซี 41)	2.5 องศา : 0.02 2.5 องศา : 0.05	- ปริมาณการเรียงของแนวแกนฟันไม่สัมพันธ์กับภาวะเหงือกอักเสบ
Yared และ คณະ (2006) ⁵¹	34	31, 41	-	7-47 เดือน	7-47 เดือน	ท: + 5.85±3.92 องศา	ท: 0.28 มม. [†]	2.5 องศา : 0.12	- พบเหงือกอักเสบสัมพันธ์กับการมีแกนฟันเอียงมากกว่า 95 องศาและความหนาของเหงือกอิสระน้อยกว่า 0.5 มม.
Garlock และ คณະ (2016) ³⁷	57	41	-	22.7±7.3 เดือน	-	ท: + 2.40±6.90 องศา	ท: - 1.12±2.26 มม.(B)**	2.5 องศา : 1.17 (B)	- พบการเปลี่ยนแปลงของความสูงและความหนาของกระดูกด้านริมฝีปากภายหลังการรักษา แต่ไม่พบความสัมพันธ์กับปริมาณการเรียงตัวของฟันตัดล่าง
Allais และ Melsen (2003) ⁴⁷	300	31, 32, 41, 42 จัดฟัน N=150	31, 32, 41, 42 ไม่จัดฟัน N=150	-	-	ท: + 3.4±2.6 มม. ค: - 0.22 มม.	ท: - 0.36 มม. ค: - 0.22 มม.	1 มม. : 0.10	- เฉพาะในฟันซี่ 41 และ 32 ที่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
Melsen และ Allais (2005) ⁴⁸	150	31, 32, 41, 42 หลังจัดฟัน	31, 32, 41, 42 ก่อนจัดฟัน	-	-	ท: + 3.4 มม.±2.6 มม. T0: - 0.20±0.68 มม.	ท: - 0.34±0.69 มม.* T0: - 0.20±0.68 มม.	1 มม. : 0.10	

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

** แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.01)

*** แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.001)

ท: กลุ่มทดลอง

ค: กลุ่มควบคุม

T₀: ก่อนการทดลอง

[†] ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

บทสรุป

การรักษาทางทันตกรรมฟันจัดเพื่อแก้ไขฟันซ้อนเกโดยไม่ถอนฟันพบการเคลื่อนที่ของฟันตัดล่างไปทางด้านริมฝีปากเพิ่มขึ้นทั้งในส่วนของตำแหน่งปลายตัดของฟัน และการเอียงตัวของแนวแกนฟัน ซึ่งเกิดจากปัจจัยด้านปริมาณฟันซ้อนเก และความลึกของโค้งของสปี ซึ่งตำแหน่งของกระดูกเบ้าฟันรอบฟันหน้าล่าง โดยเฉพาะด้านริมฝีปากพบเป็นตำแหน่งที่มีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดการละลายของสันกระดูกเบ้าฟันได้มากกว่าในบริเวณอื่น แม้ไม่ได้รับการรักษาทางทันตกรรมจัดฟัน และเมื่อมีการเคลื่อนที่ของฟันตัดล่างมาทางด้านริมฝีปากพบเป็นปัจจัยที่ช่วยส่งเสริมการเกิดการละลายของสันกระดูกเบ้าฟัน และการเกิดเหงือกกรันตามมา การศึกษาในมนุษย์ที่มีอยู่พบว่าการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันโดยไม่ถอนฟันซึ่งมีการเคลื่อนที่ของฟันตัดล่างมาทางด้านริมฝีปากนั้นส่งผลต่อปริมาณเหงือกกรันในปริมาณที่น้อย แต่อย่างไรก็ตามแนวโน้มการเกิดภาวะดังกล่าวยังพบได้ในทุกการศึกษา ดังนั้นการรักษาทางทันตกรรมจัดฟันโดยไม่ถอนฟันจึงควรวางแผนการรักษาอย่างระมัดระวัง และมีการประเมินสภาวะของอวัยวะปริทันต์เป็นระยะเพื่อลดไม่ให้เกิดความวิการของอวัยวะปริทันต์

เอกสารอ้างอิง

1. Jayachandar D, Saravana Dinesh S. Factors affecting patient's desire for seeking orthodontic treatment. *Int J Orthod Rehabil* 2016;7(3):89-91.
2. Lew KK. Attitudes and perceptions of adults towards orthodontic treatment in an Asian community. *Community Dent Oral Epidemiol* 1993;21(1):31-5.
3. Buschang PH, Shulman JD. Incisor crowding in untreated persons 15-50 years of age: United States, 1988-1994. *Angle Orthod* 2003;73(5):502-8.
4. Foster TD, Day AJ. A survey of malocclusion and the need for orthodontic treatment in a Shropshire school population. *Br J Orthod* 1974;1(3):73-8.
5. Lew KK, Foong WC, Loh E. Malocclusion prevalence in an ethnic Chinese population. *Aust Dent J* 1993;38(6):442-9.
6. Kositbowornchai S, Keinprasit C, Poomat N. Prevalence and distribution of dental anomalies in pretreatment orthodontic Thai patients. *Khon Kaen University Dent J* 2010;13(2):92-100.
7. Bishara SE, Cummins DM, Zaher AR. Treatment and posttreatment changes in patients with Class II, Division 1 malocclusion after extraction and nonextraction treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1997;111(1):18-27.
8. Weinberg M, Sadowsky C. Resolution of mandibular arch crowding in growing patients with Class I malocclusions treated nonextraction. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1996;110(4):359-64.
9. Fleming PS, DiBiase AT, Sarri G, Lee RT. Comparison of mandibular arch changes during alignment and leveling with 2 preadjusted edgewise appliances. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2009;136(3):340-7.
10. Yitschaky O, Neuhoof MS, Yitschaky M, Zini A. Relationship between dental crowding and mandibular incisor proclination during orthodontic treatment without extraction of permanent mandibular teeth. *Angle Orthod* 2016;86(5):727-33.
11. Pandis N, Polychronopoulou A, Sifakakis I, Makou M, Eliades T. Effects of levelling of the curve of Spee on the proclination of mandibular incisors and expansion of dental arches: a prospective clinical trial. *Aust Orthod J* 2010;26(1):61-5.
12. Lindauer SJ. The basics of orthodontic mechanics. *Semin Orthod* 2001;7(1):2-15.
13. Lombardo L, Stefanoni F, Mollica F, Laura A, Scuzzo G, Siciliani G. Three-dimensional finite-element analysis of a central lower incisor under labial and lingual loads. *Prog Orthod* 2012;13(2):154-63.
14. McLaughlin R, Bennett J, Trevisi H. Systemised Orthodontic Treatment Mechanics. Maryland Heights, MO: Mosby; 2001.
15. Sadowsky P. The geometry of cephalometry. In: Jacobson A, Jacobson, RL., editor. Radiographic Cephalometry. 2nd ed. ed. Hanover Park, IL: Quintessence; 2006. p. 137-44.
16. Baratieri C, Rocha R, Campos C, Menezes L, Ribeiro GLU, Ritter D, et al. Evaluation of the lower incisor inclination during alignment and leveling using superelastic NiTi archwires: a laboratory study. *Dental Press J Orthod* 2012;17:51-7.
17. Gravina MA, Brunharo IH, Fraga MR, Artese F, Campos MJ, Vitral RW, et al. Clinical evaluation of dental alignment and leveling with three different types of orthodontic wires. *Dental Press J Orthod* 2013;18(6):31-7.
18. Jian F, Lai W, Furness S, McIntyre GT, Millett DT, Hickman J, et al. Initial arch wires for tooth alignment during orthodontic treatment with fixed appliances. *Cochrane Database Syst Rev* 2013(4):Cd007859.
19. Shigenobu N, Hisano M, Shima S, Matsubara N, Soma K. Patterns of dental crowding in the lower arch and contributing factors. A statistical study. *Angle Orthod* 2007;77(2):303-10.
20. Germane N, Lindauer SJ, Rubenstein LK, Revere JH, Isaacson RJ. Increase in arch perimeter due to orthodontic expansion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1991;100(5):421-7.
21. Erdinc AE, Nanda RS, Dandajena TC. Profile changes of patients treated with and without premolar extractions. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007;132(3):324-31.
22. Paquette DE, Beattie JR, Johnston LE. A long-term comparison

- of nonextraction and premolar extraction edgewise therapy in “borderline” Class II patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1992;102(1):1-14.
23. Luppapornlarp S, Johnston LE Jr. The effects of premolar-extraction: a long-term comparison of outcomes in “clear-cut” extraction and nonextraction Class II patients. *Angle Orthod* 1993;63(4):257-72.
24. Pandis N, Polychronopoulou A, Eliades T. Self-ligating vs conventional brackets in the treatment of mandibular crowding: A prospective clinical trial of treatment duration and dental effects. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007;132(2):208-15.
25. Little RM. The irregularity index: a quantitative score of mandibular anterior alignment. *Am J Orthod* 1975;68(5):554-63.
26. Tweed CH. The diagnostic facial triangle in the control of treatment objectives. *Am J Orthod* 1969;55(6):651-67.
27. Marshall SD, Caspersen M, Hardinger RR, Franciscus RG, Aquilino SA, Southard TE. Development of the curve of Spee. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2008;134(3):344-52.
28. Andrews LF. The six keys to normal occlusion. *Am J Orthod* 1972;62(3):296-309.
29. Theerasopon P, Kosuwan W, Charoemratrote C. Stress assessment of mandibular incisor intrusion during initial leveling in continuous arch system with different archwire shapes of superelastic nickel-titanium: A three-dimensional finite element study. *Int J Health Allied Sci* 2019;8(2)92-7.
30. Proffit WR, Epker BN. Treatment planning for dentofacial deformities. In: Bell WH, Proffit WR, White RP, editors. Surgical correction of dentofacial deformities. Philadelphia: WB Saunders; 1980. p. 167.
31. Braun S, Hnat WP, Johnson BE. The curve of Spee revisited. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1996;110(2):206-10.
32. Germane N, Staggers JA, Rubenstein L, Revere JT. Arch length considerations due to the curve of Spee: A mathematical model. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1992;102(3):251-5.
33. Woods M. A reassessment of space requirements for lower arch leveling. *J Clin Orthod* 1986;20(11):770-8.
34. Larato DC. Alveolar plate fenestrations and dehiscences of the human skull. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1970;29(6):816-9.
35. Yagci A, Veli İ, Uysal T, Ucar FI, Ozer T, Enhos S. Dehiscence and fenestration in skeletal Class I, II, and III malocclusions assessed with cone-beam computed tomography. *Angle Orthod* 2011;82(1):67-74.
36. Enhos S, Uysal T, Yagci A, Veli İ, Ucar FI, Ozer T. Dehiscence and fenestration in patients with different vertical growth patterns assessed with cone-beam computed tomography. *Angle Orthod* 2012;82(5):868-74.
37. Garlock DT, Buschang PH, Araujo EA, Behrems RG, Kim KB. Evaluation of marginal alveolar bone in the anterior mandible with pretreatment and posttreatment computed tomography in nonextraction patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2016;149(2):192-201.
38. Yu Q, Pan Xg, Ji Gp, Shen G. The Association between Lower Incisal Inclination and Morphology of the Supporting Alveolar Bone — A Cone-Beam CT Study. *Int J Oral Sci* 2009;1(4):217-23.
39. Karring T, Nyman S, Thilander B, Magnusson I. Bone regeneration in orthodontically produced alveolar bone dehiscences. *J Periodontol Res* 1982;17(3):309-15.
40. Yan W, Jiao X, Shao P, Cai W. Stress distribution in the mandibular central incisor and periodontal ligament while opening the bite: A finite element analysis. *Biomed Res* 2012;23(3):343-8.
41. Steiner GG, Pearson JK, Ainamo J. Changes of the marginal periodontium as a result of labial tooth movement in monkeys. *J Periodontol* 1981;52(6):314-20.
42. Engelking G, Zachrisson BU. Effects of incisor repositioning on monkey periodontium after expansion through the cortical plate. *Am J Orthod* 1982;82(1):23-32.
43. Batenhorst KF, Bowers GM, Williams JE Jr. Tissue changes resulting from facial tipping and extrusion of incisors in monkeys. *J Periodontol* 1974;45(9):660-8.
44. Wingard CE, Bowers GM. The effects of facial bone from facial tipping of incisors in monkeys. *J Periodontol* 1976;47(8):450-4.
45. Castro LO, Castro IO, de Alencar AHG, Valladares-Neto J, Estrela C. Cone beam computed tomography evaluation of distance from cemento-enamel junction to alveolar crest before and after non-extraction orthodontic treatment. *Angle Orthod* 2016;86(4):543-9.
46. Wehrbein H, Bauer W, Diedrich P. Mandibular incisors, alveolar bone, and symphysis after orthodontic treatment. A retrospective study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1996;110(3):239-46.
47. Allais D, Melsen B. Does labial movement of lower incisors influence the level of the gingival margin? A case-control study of adult orthodontic patients. *Eur J Orthod* 2003;25(4):343-52.
48. Melsen B, Allais D. Factors of importance for the development of dehiscences during labial movement of mandibular incisors: a retrospective study of adult orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2005;127(5):552-61.
49. Årtun J, Krogstad O. Periodontal status of mandibular incisors following excessive proclination A study in adults with surgically treated mandibular prognathism. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1987;91(3):225-32.
50. Djeu G, Hayes C, Zawaideh S. Correlation between mandibular central incisor proclination and gingival recession during fixed appliance therapy. *Angle Orthod* 2002;72(3):238-45.

51. Yared KF, Zenobio EG, Pacheco W. Periodontal status of mandibular central incisors after orthodontic proclination in adults. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2006;130(1):6.e1-8.
52. Closs LQ, Grehs B, Raveli DB, Rösing CK. Changes in lower incisor inclination and the occurrence of gingival recession. *R Dental Press Ortodon Ortop Facial* 2009;14:66-73.
53. Renkema AM, Navratilova Z, Mazurova K, Katsaros C, Fudalej PS. Gingival labial recessions and the post-treatment proclination of mandibular incisors. *Eur J Orthod* 2015;37(5):508-13.
54. Marie Renkema A, Fudalej PS, Renkema A, Bronkhorst E, Katsaros C. Gingival recessions and the change of inclination of mandibular incisors during orthodontic treatment. *Eur J Orthod* 2013;35(2):249-55.
55. Pernet F, Kiliaridis S, Vento C, Pandis N. Long-term evaluation of lower incisors gingival recessions after orthodontic treatment. 2019.
56. Mahmoud S, GhoneimaAhmed, StewartKelton, LiuSean. Risk factors contributing to gingival recession among patients undergoing different orthodontic treatment modalities. *Interv Med Appl Sci* 2018;10(1):19-26.

The Study of Difference in Clinical Tooth Color Measurement among Visual Method Using White Light Box, Intraoral Scanner and Spectrophotometer

Paweena Sangasaeng¹, Chaivut Prunkngarmpun¹, Wilawan Weraarchakul²

¹Department of Prosthodontics, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Khon Kaen

²Department of Community Dentistry, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Khon Kaen

Abstract

The aims of study were to compare visual method using white light box, intraoral scanner and spectrophotometer in clinical tooth color measurement and to determine the reliability of tooth shade selection among visual method using white light box, intraoral scanner and spectrophotometer. Forty maxillary right central incisors and canines of 18 – 40 years old volunteers which no pathologic and restoration teeth were included in this study. Each tooth shade was measured six times, twice for each method with at least one day apart. Tooth color measurements were described in L* a* b* and tooth color difference (ΔE) according to CIELAB color system. In this system 'L' is a lightness coordinate, 'a' is a redness-greenness coordinate and 'b' is a yellowness-blueness coordinate. The Kruskal – Wallis statistic was used to verify the significant difference of average color difference (ΔE) at $P < 0.05$. Results indicated significance difference in L* a* b* among all three methods. The average color difference (ΔE) of visual method were higher than the intraoral scanner method on both maxillary central incisor (8.05 versus 4.99) and canine (9.5 versus 4.95). Average reliability of visual method was 0.63 (range 0.56-0.69) in maxillary right central incisor and 0.63 (range 0.61-0.53) in canine while average reliability of intraoral scanner method was 0.70 (range 0.60-0.76) in maxillary right central incisor and 0.82 (range 0.63-0.91) in canine. Average reliability of tooth shade selection using spectrophotometer was highest at 0.87 (range 0.70-0.96) in maxillary right central incisor and 0.88 (range 0.76-0.95) in canine. In conclusion, average color difference (ΔE) from visual method is higher than intraoral scanner. Tooth color measurement using spectrophotometer is the most reliable method followed by intraoral scanner and visual method is the lowest.

Keywords: Intraoral scanner, spectrophotometer, tooth color measurement

Received Date: Nov 29, 2018

Revised Date: Dec 19, 2018

Accepted Date: Feb 15, 2019

Doi: 10.14456/jdat.2019.35

Correspondence to:

Chaivut Prunkngarmpun, Department of Prosthodontics, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002 Thailand.
Tel: 0878310770 email: pchaivut007@gmail.com

Introduction

Contemporary practice in prosthetic dentistry is to restore the patient's dentition to normal function and esthetics. Esthetic dentistry had become a concern in modern dental practice. One of the major complications in fixed prosthodontics. Color selection of a restoration or prosthesis is an important clinical procedure to harmonize with the remaining natural dentition.^{1,2} The value of L^* , a^* , and b^* are used in the CIELAB color system to describe the color according by The Commission International de l'Eclairage (CIE). The L^* value indicates lightness, where $L^* = 0$ yields black and $L^* = 100$ indicates perfect white. Negative values of a^* correspond to green color, while the opposing positive values indicate red color. Similarly, negative values of b^* reflect the blue color, and the opposing positive values indicate the yellow color. This system defines the color space in approximately uniform steps of human color perception. The CIELAB color space (color difference, or ΔE_{ab}^*) represents approximately equally perceived shade gradations, an arrangement that makes interpretation of color measurements more meaningful. Color difference can be expressed as a single numerical value which indicates the size of difference.³ It has been reported that average observers can detect color difference of 1 unit under standardized laboratory conditions whereas the spectrophotometer reveal 0.48.⁴ The perceptible color difference ranges from 1 in an *in vitro* test to 3.7 in an *in vivo* test, while the acceptable difference ranges from 2.72 in an *in vitro* study to 6.8 in an *in vivo* study.⁵⁻⁷

There are two available methods to assess the color of dental restoration, which are visual and instrumental approach. Visual color measurement is still the most common clinical approach, however it might be negatively influenced by several factors such as type and quality of light and experience of clinicians.⁸ Different light sources will express difference lights and effect the object causing the same object to appeared different

colors.⁹ The ideal temperature of light source for tooth color selection is 5500 K which is spectrally balanced throughout the visible spectrum. Color rendering index (CRI) is another important aspect of light which should be greater than 90. Such light source is recommended for shade matching.¹⁰ There are many commercial products of color-corrected ambient lighting which are suitable for shade matching in the dental operation field.¹¹ Instrumental measurements reveal color by quantified the object and the shade result is shown instantly.¹² There are many instruments those can assist in shade matching which are colorimeter, digital cameras as filter colorimeter, spectrophotometer and intraoral scanner.^{13,14} Spectrophotometers such as Spectroshade, Easy shade, and Crystaleye are the most accurate color measurement. They are differed in shade measurement area and cost.^{13,15}

Nowadays, the chairside intraoral scanners can be used as an alternative to conventional impression and communicate oral information with laboratories. They can be separated in two types. The first type is single image camera recording individual image of dentition such as the iTero, E4D and Trios. The Trios camera records images at a rapid rate and able to capture color of dentition while scanning. The other is a video camera for example the Lava.¹⁶ However, this method is not commonly used in daily clinical practice because of high cost and inconsistency.¹⁷ Hence, the author aimed to compare the difference in color parameters, and the reliability of color measurement in clinical situation between conventional visual method by using white light box, intraoral scanner method that use 3 shapes (TRIOS 3, Copenhagen, Denmark), and spectrophotometer (Vita Easyshade® V, Vident, Brea, California, USA) which was high reliable and accurate^{15,18} at the Prosthodontics Department, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University.

Materials and Methods

This study evaluated the three color measurements by $L^*a^*b^*$ value of maxillary right central incisor and canine in 18 – 40 years old of 40 participants. The Ethical Committee in Human Research of Khon Kaen University approved of the research protocol (HE602274). There were exclusion criteria including the pathological discolor tooth, the presence of carious lesion, the non-vital tooth, the presence of crowns or veneers related to the tooth to be matched, the patient with smoking habit, the patient that previously undergone whitening procedures, and the patient undergone orthodontic treatment at the time of the shade determination. An observer in this study was a dentist who was tested with the Fransworth – Munsell 100 hue test to rule out inherent color deficiencies and had accuracy and examination test to test validity in tooth color selection. Since the results of the color analysis of shade guides in the same environment are different from each other. In other words, the shade guides analyzed in the study are not identical with each other.^{19,20} Therefore, a new full set of shade tabs from Vitapan 3D master shade guide (Vita Zahnfabrik, Bad Sackingen, Germany) which was made in August 2016 were cleaned

with an ultrasonic cleaner for 15 minutes before experiment then converted the shade tab to $L^*a^*b^*$ by spectrophotometer and recorded the data for creating the color library in this study. Participants received teeth polishing with the pumice before all tooth color selection procedure; Visual Method Using White Light Box, Intraoral Scanner and Spectrophotometer, respectively. Then all of procedures were repeated again in the same patient on another day for reliability test.

Visual method using white light box

The white light box is set to be a constant environment which has neutral grey cloth as walls and mounted ring light in side (Aputure®, Amaran Inc, China). The ring light was selected because it has light temperature at 5500 K and CRI more than 95 tested with CL-500 light measurement instruments (Konica Minolta, Inc., Japan) (Fig. 1A, 1B). The participant position was set in the same level of the examiner's eyes and the distance of white light box was fixed at 20 centimeters (Fig. 1C, 1D).²¹ Participants were suggested to keep their teeth wet by tongue licking to get accurate measurement.

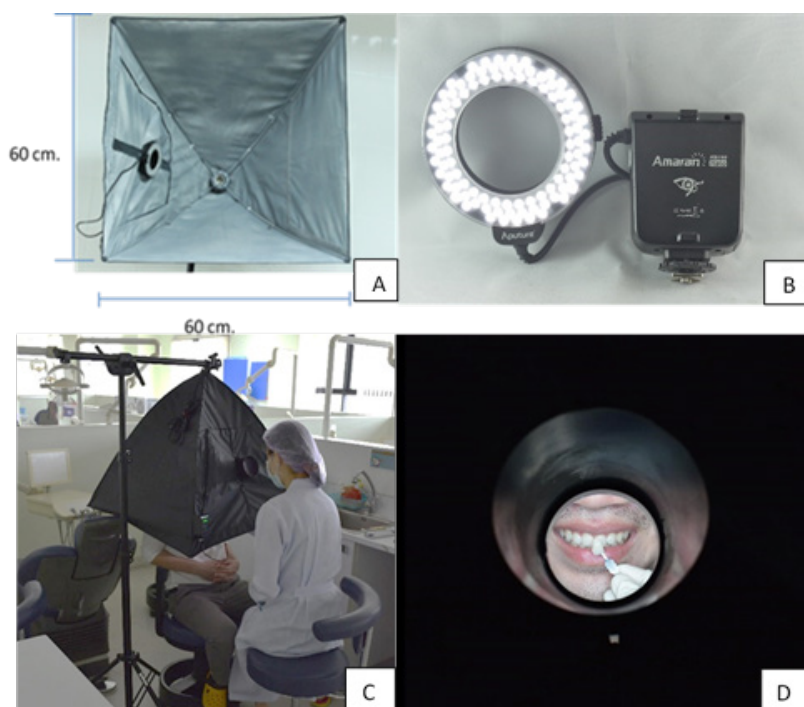


Figure 1 The internal of White light box (A), The ring light (B). The tooth color was selected by the observer with the conventional visual method using white light box (C). The tooth color when the observer looked through the white light box (D).

To avoid eyes fatigue, the shade of each tooth was selected by the observer within 3 minutes at the center of tooth.¹⁰ Every two shade selection procedures was given a five-minute break and 20 minutes break was given after every four selection procedures. The measurement data was recorded by using shade tab code number, then data was converted to L*, a*, b* value by using the color library.

Intraoral scanner method

Prior to measurement, the intraoral scanner was calibrated according to the manufacturer's instructions.

A procedure was begun by tooth scanning which the scanner tip need to be stabilized until the blue overlay clears; slowly move the scanner 90 degrees from occlusal to buccal of maxillary right incisor and canine (Fig.2). The scanner was also recalibrated after every ten consecutive scans for standardization. The participant's tooth colors were recorded three times per one tooth continuously at the center of the tooth. The data were converted to the L*, a*, b* by using L*a*b* library and average L*, a*, b* values.



Figure 2 The intraoral scanner was used by the observer to do the tooth color measurement (A). A scanned picture and tooth color were shown in the monitor. (B)

Spectrophotometer method

The probe tip of spectrophotometer was held 90° contact the middle third of the tooth (Fig. 3). The

measurement of this method was repeated three times per each tooth and recorded to average L*, a*, b*. The device was recalibrated after every after ten scans.



Figure 3 The spectrophotometer was used by the observer to do the tooth color selection.

Descriptive statistic demonstrated median and interquartile range of L*, a*, b* which collected from

three different techniques. The color difference (ΔE) were compared between conventional visual method

under artificial light source and spectrophotometer, and intraoral scanner and spectrophotometer using the equation as follow³ :

$$\Delta E_{vs}^* = \sqrt{(L_v^* - L_s^*)^2 + (a_v^* - a_s^*)^2 + (b_v^* - b_s^*)^2}$$

V is a conventional visual method. This data will change if use a deference device.

S is spectrophotometer.

All analysis were done using statistical analysis program SPSS 19.0. Analytical statistic were used to compare median of the descriptive data by using Kruskal – Wallis statistic which was set significant level at $p < 0.05$. If any of the data was significant, the Mann-Whitney U statistic will be used to identify which value was difference. Moreover, Spearman Rank correlation were used to determine reliability of each parameter.

Results

The median and interquartile range of the L* of visual method using white light box, intraoral scanner, and spectrophotometer methods for maxillary right incisor were 77.77 ± 2.60 , 82.6 ± 0.27 , and 83.11 ± 5.54 , respectively. The a* were 0.60 ± 1.02 , 0.13 ± 0.06 , and -0.98 ± 1.70 , respectively and the b* were 14.50 ± 3.69 , 16.70 ± 0.00 , and 22.77 ± 5.96 , respectively. While the L* of visual method using white light box, intraoral scanner, and spectrophotometer for maxillary right canine were 73.86 ± 7.16 , 78.18 ± 5.50 and 78.19 ± 6.21 , respectively. The a* were 2.00 ± 1.24 , 1.09 ± 0.13 , and 1.09 ± 0.78 , respectively and the b* were 19.84 ± 7.12 , 25.53 ± 7.00 and 26.56 ± 7.02 , respectively as shown in Table 1. The data was tested for normal distribution by Shapiro-Wilk Test and the result showed that it was not normally distributed. The result from Kruskal-Wallis test revealed that there was significantly difference in L*, a* and b* from different color measurement methods ($p = 0.001$). Then the multiple comparison by Mann Whitney U test revealed that there were significantly differences in L* a* and b* value of maxillary right central incisors and canine when compared the visual method using white light box and the

spectrophotometer ($p = 0.001$). There were significantly differences in L* a* and b* value of maxillary right central incisors and canine when compared visual method using white light box compared to intraoral scanner ($p = 0.001$). On the contrary, the intraoral scanner method compared to the spectrophotometer method revealed that there were no statistically significant differences between L* value of maxillary right central incisors and L* a* b* value of the maxillary right canines ($p > 0.05$) while the a* and b* value of maxillary right central incisors revealed the significant difference in each method ($p = 0.001$).

The color differences of maxillary right central incisor and canine were revealed in figure 4. It was indicated that mean color difference between visual method using white light box and spectrophotometer was higher than the color difference between intraoral scanner and spectrophotometer.

The reliability of tooth color measurement in three methods on maxillary right central incisor was estimated by Spearman Rank's correlation as shown in figure 5. It was indicated that the mean L* a* b* of visual method using white light box method was 0.63 and the lowest correlation was shown in L* value = 0.56 and the highest correlation was revealed in a* value = 0.69. The mean L* a* b* of the intraoral scanner method was 0.68 and the lowest correlation was shown in b* value = 0.55 and the highest correlation was revealed in a* value = 0.76. The mean L* a* b* of the spectrophotometer method was 0.86 and the lowest correlation was shown in L* value = 0.67 and the highest correlation was revealed in a* and b* value = 0.96. The maxillary right canine was indicated that the mean L* a* b* of visual method using white light box was 0.62 and the lowest correlation was shown in b* value = 0.53 and the highest correlation was revealed in a* value = 0.72. The mean L* a* b* of the intraoral scanner method was 0.81 and the lowest correlation was shown in b* value = 0.63 and the highest correlation was revealed in a* and b* value = 0.91. The mean L* a* b* of the spectrophotometer method was 0.88 and the lowest correlation was shown in L* value = 0.76 and the highest correlation was revealed in b* value = 0.97.

Table 1 The comparison of color values on maxillary right central incisors and maxillary right canines by three methods.

Color values	Technique	N	Median	Interquartile Range	Minimum	Maximum	Kruskal-Wallis P-value
L1	Visual method	40	77.77	2.60	71.57	84.20	<0.0001
	Intraoral scanner	40	82.60	0.27	72.01	82.60	
	Spectrophotometer	40	83.11	5.54	70.24	89.87	
a1	Visual method	40	0.60	1.02	-0.8	2.07	<0.0001
	Intraoral scanner	40	0.13	0.06	0.13	1.85	
	Spectrophotometer	40	-0.98	1.70	-2.76	2.87	
b1	Visual method	40	14.5	3.69	11.57	26.29	<0.0001
	Intraoral scanner	40	16.7	0.0	16.47	27.38	
	Spectrophotometer	40	22.77	5.96	9.2	28.92	
L3	Visual method	40	73.86	7.16	64.3	79.55	<0.0001
	Intraoral scanner	40	78.18	5.50	66.12	82.60	
	Spectrophotometer	40	78.19	6.21	68.69	85.10	
a3	Visual method	40	2.0	1.24	0.17	3.70	<0.0001
	Intraoral scanner	40	1.09	0.97	0.13	2.97	
	Spectrophotometer	40	1.09	0.78	-2.12	4.06	
b3	Visual method	40	19.84	7.12	12.57	27.55	<0.0001
	Intraoral scanner	40	25.53	7	16.68	31	
	Spectrophotometer	40	26.56	7.02	13.7	33.82	

L1 = L* value of maxillary right central incisor

a1 = a* value of maxillary right central incisor

b1= b* value of maxillary right central incisor

L3 = L* value of maxillary right canine

a3 = a* value of maxillary right canine

b3= b* value of maxillary right canine

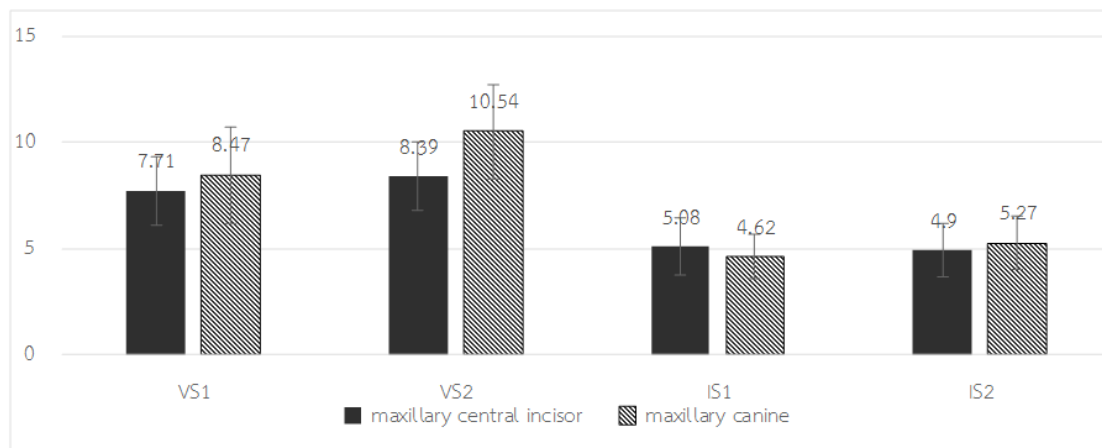


Figure 4 CIELAB color difference (ΔE) of maxillary central incisor and canine between visual method using white light box and spectrophotometer and between intraoral scanner and spectrophotometer.

VS1: ΔE between visual method using white light box and spectrophotometer in first test

VS2: ΔE between visual method using white light box and spectrophotometer in second test

IS1: ΔE between intraoral scanner and visual method using white light box in first test

IS2: ΔE between intraoral scanner and visual method using white light box in second test

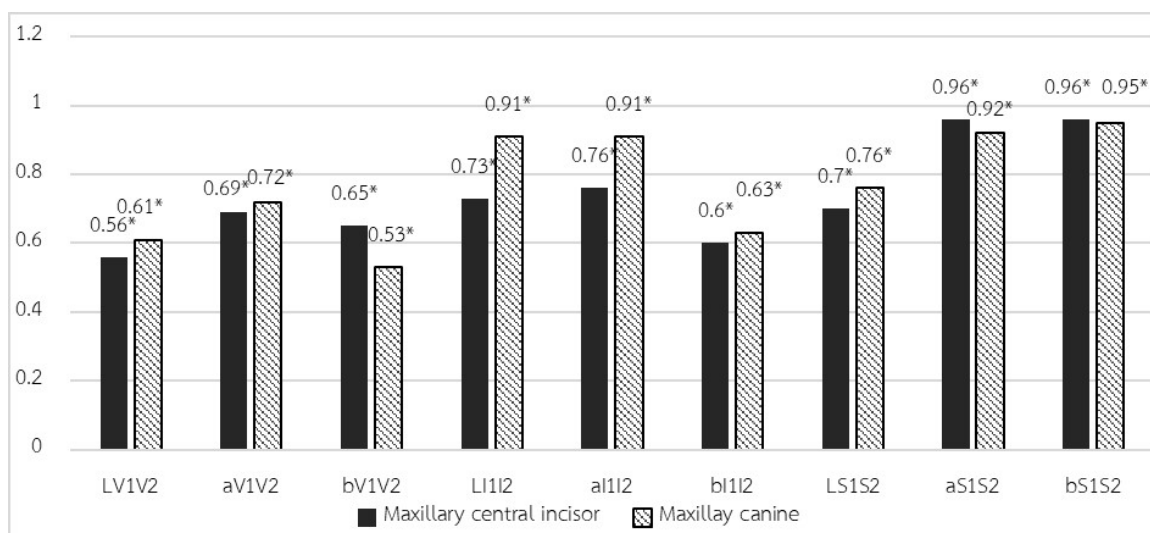


Figure 5 The spearman correlation reliability of L*, a*, b* values of maxillary right central incisor and canine among tooth color measurements of visual method using white light box and between intraoral scanner and spectrophotometer method.

LV1V2: L*value of visual method in first test and second test

aV1V2: a* value of visual method in first test and second test

bV1V2: b* value of visual method in first test and second test

LI1I2: L*value of intraoral scanner method in first test and second test

aI1I2: a*value of intraoral scanner method in first test and second test

LS1S2: L* value of spectrophotometer method in first test and second test

aS1S2: a* value of spectrophotometer method in first test and second test

bS1S2: b* value of spectrophotometer method in first test and second test

* statistical significance at p-value < 0.05

Discussion

Since there were no standard methods to evaluate the shade-detecting function of visual method and intraoral scanner measurement. The color value from these two methods were converted to L*a*b* value by using the spectrophotometer to correspond with shade tab of the Vitapan 3D master in visual measurement.

Previous study demonstrated the Vitapan 3D-Master shade guide has more uniform color space than other systems.²² In addition, the reliability of commercial shade guides that produced by the same manufacturer should be re-evaluated.¹⁹ Hence, the L*a*b* color value library in this study was converted from the Vita 3D master which was tested by the Vita Easyshade V[®]. There were studies that proved the excellent repeatability of Vita Easyshade as well as the laboratory spectrophotometer (PSD1000).^{15,23} Although the Vitapan 3D master shade guide

consist of 26 shade tabs; this system does not cover all range of normal teeth color which leads to limitation of visual measurement. However, this method is still commonly used.

An earlier *in vitro* study comparing L* a* and b* which use shade tab as a specimen found no statistically difference among intraoral scanner, spectrophotometer and conventional visual method using the white light box was controlled environment. The study showed visual method and intraoral scanner measurement were strongly accurate compared to the Vita Easyshade[®] V.²⁴ However, the result was different in this clinical study, as the conventional visual method presented the lower accuracy and reliability than the intraoral scanner method. The a* and b* value obtained from maxillary right central incisors revealed the significant difference in each method although the management of the confounding factors was

the same with *in vitro* study such as, (1) the environment which well controlled by white light box, (2) the experienced observer who was capable in color matching, (3) the relaxation time which was provided to avoid the observers eye fatigue and visual angle of the observer might be deceptive. However, there were several problems when clinical tooth color selection was performed. The tooth characteristic causes the difficulty for shade selection, such as, the double layering effect which caused by enamel translucency and dentin opacity, a curved tooth surface, and non-homogenous color.²⁵ Other factors that affected human color perception such as human emotion which can cause limitations in traditional visual shade selection.²⁶

For the color accuracy evaluation, the mean color difference of visual method using white light box method on both maxillary right central incisor and canine (8.05 and 9.50) were higher than the intraoral scanner method (4.99 and 4.95). The color difference of both methods was higher than the perceptible color difference ($\Delta E = 3.7$). However, the intraoral scanner method was still in clinical acceptable difference range ($\Delta E = 6.8$).⁵⁻⁷ The accuracy of a^* and b^* values by the intraoral scanner was slightly lower especially on maxillary central incisor. The data of the Trios intraoral scanner revealed as positive a^* value and negative b^* values which exhibited more redness and less yellowness hue than the Vita Easyshade® V while the visual method using white light box was not corresponding with the spectrophotometer in all value. The L^* value of visual method was lower than the spectrophotometer which can be interpreted that the values of the visual method appeared to be darker than the Vita Easyshade® V while the a^* and b^* values were too varied to conclude. The laboratory study by Yoon *et al.*, 2016 found high degree of correlation between Trios Pod and Shade Eye – NCC for L^* and b^* values, except the a^* value.²⁷

In this study, the strong agreement of reliability was found among three color measurement methods which was 0.73 on maxillary central incisor and 0.77 on

maxillary canine whereas the earlier *in vitro* study showed 0.96 on the Vita 3D master shade tab.²⁴ It had been stated that the data collected from spot-measurement devices may not be entirely accurate because of the non-homogenous shade structure of the natural teeth, and the errors of image which was taken on the arch curve of natural tooth; not on the flat plane. So, the curve position of natural tooth may affect the position of measurement devices. The color measurement of the exact same spot on a curved tooth surface also proved to be challenging, which might affected the consistency of the measurements.¹⁸ However, one study explained that the spot measurements in particular were more accurate because the measurements were made with the tip of the probe.²⁸ For the intraoral scanner method, the reliability was slightly lower than the spectrophotometer since the spectrophotometer was aligned in parallel and contacted closely to the labial surface of each tooth. Moreover, the color was directly measured by the spectrophotometer from small regions in the individual teeth while the multiple angles of the entire labial surface were captured with the intraoral scanner. The entire tooth surface measurement devices provide the detailed color map of the tooth as well as an average shade value from the overlapping camera.^{16,27} The scanning picture on the touch screen monitor of the Trios intraoral scanner was also difficult to point by finger in order to measure at the same position. Furthermore, after autoclaving, the drying mark on mirror of scanner tip was detected and affected to the tooth color measurement. The visual method using white light box was poorly reliable compared to the instrument tooth color measurement which is consistent with the previous study.²⁹

The study of Culpepper found the maxillary canine was the most consistent matched utilizing all shade guides and light sources because the maxillary canine has the highest Chroma (intensity) of the dominant hue (color) of the teeth.³⁰ Similar to this study which found that the maxillary canine had higher accuracy and reliability than the maxillary central incisor, Lasserre,

2011 also found more errors on central incisors due to their high translucency property.³¹

Previous studies usually had more than one observer to ascertain the efficiency of tooth color measurement methods.³⁰⁻³² Unfortunately when there are many observers, the problem of positioning the device has occurred. Thus, most of studies have to limit the area of shade measurement by drawing the square or circle shape on tooth surface or covering the unselected area with silicone and leave 5 mm diameter hole with the same size as Vita Easyshade's tip. Nevertheless, the limited area may reduce the efficiency of visual color measurement. In this study, there is only one observer who did not have color deficiency, have experience in conventional tooth color selection, and also trained to use the color measurement instruments. This observer was trained and know where the area of measurement is, so the area of was fixed without reduction of efficiency of shade selection method. And this process can produce the reliability of methods.

Conclusion

Results of this study indicated that there are significant differences in clinical tooth color measurement among the visual method using white light box, the intraoral scanner and the spectrophotometer. The visual method using white light box had low accuracy and reliability when compared to the spectrophotometer. The Intraoral scanner showed higher color difference than the perceptible range which has lower reliability than spectrophotometer but still could be use in clinical situation within acceptable range. Although, it was easier to find the variation in L* a* b* values, since there were difficulties to match the instrument's position of each method. The maxillary canines presented a strong agreement of accuracy and reliability in all tooth color measurement methods which was higher than maxillary incisors.

References

1. Geary JL, Kinirons MJ. Colour perception of laboratory-fired samples of body-coloured ceramic. *J Dent* 1999;27(2):145-8.
2. Goodacre CJ, Bernal G, Rungcharassaeng K, Kan JYK. Clinical complications in fixed prosthodontics. *J Prosthet Dent* 2003; 90(1):31-41.
3. Robertson AR. 1976 Color-Difference Formulae. *Color Res Appl* 1977;2(1):7-11.
4. Paul S, Peter A, Pietrobon N, Hammerle CH. Visual and spectrophotometric shade analysis of human teeth. *J Dent Res* 2002;81(8):578-82.
5. Kuehni RG, Marcus RT. An Experiment in Visual Scaling of Small Color Difference. *Color Res Appl* 1979;4(2):83-91.
6. Johnston WM, Kao EC. Assessment of appearance match by visual observation and clinical colorimetry. *J Dent Res* 1989;68(5):819-22.
7. Ragain JC, Johnston WM. Color Acceptance of Direct Dental Restorative Materials by Human Observers. *Color Res Appl* 2000;25(4):278-85.
8. Curd FM, Jasinevicius TR, Graves A, Cox V, Sadan A. Comparison of the shade matching ability of dental students using two light sources. *J Prosthet Dent* 2006;96(6):391-6.
9. Chu SJ, Devigus A, Paravina RD, Mielezsko AJ. Elements Affecting Color. Fundamentals of color: shade matching and communication in esthetic dentistry 2ed. China: Quintessence 2010. p. 24-5.
10. Miller LL. Shade selection. *J Esthet Dent* 1994;6(2):47-60.
11. Wee AG. Description of Color, Color-Replication Process. and Esthetics. In: Rosenstiel SF, Land MF, Fujimoto J, editors. CONTEMPORARY FIXED PROSTHODONTICS. USA: Elsevier; 2006. p. 709-39.
12. Paravina RD, Powers JM. Color matching. Esthetic color training in dentistry. St. Louis: Mosby; 2004. p. 139-80.
13. Brewer JD, Wee A, Seghi R. Advances in color matching. *Dent Clin North Am* 2004;48(2):v,341-58.
14. Gotfredsen KGM, Ben Brahem E, Hosseini M, Petkov M, Sitorovic M. Effectiveness of Shade Measurements Using a Scanning and Computer Software System: a Pilot Study. *Int J Oral Dent Health* 2015;1-4.
15. Dozic A, Kleverlaan CJ, El-Zohairy A, Feilzer AJ, Khashayar G. Performance of five commercially available tooth color-measuring devices. *J Prosthodont* 2007;16(2):93-100.
16. Fasbinder DJ. Computerized technology for restorative dentistry. *Am J Dent* 2013;26(3):115-20.
17. Hugo B, Witzel T, Klaiber B. Comparison of *in vivo* visual and

computer-aided tooth shade determination. *Clin Oral Investig* 2005;9(4):244-50.

18. Kim-Pusateri S, Brewer JD, Davis EL, Wee AG. Reliability and accuracy of four dental shade-matching devices. *J Prosthet Dent* 2009;101(3):193-9.

19. Cal E, Sonugelen M, Guneri P, Kesercioglu A, Kose T. Application of a digital technique in evaluating the reliability of shade guides. *J Oral Rehabil* 2004;31(5):483-91.

20. Cal E, Guneri P, Kose T. Comparison of digital and spectrophotometric measurements of colour shade guides. *J Oral Rehabil* 2006;33(3):221-8.

21. Pizzamiglio E. A color selection technique. *J Prosthet Dent* 1991;66(5):592-6.

22. Paravina RD, Powers JM, Fay RM. Color comparison of two shade guides. *Int J Prosthodont* 2002;15(1):73-8.

23. Corciolani G, Vichi A. Repeatability of colour reading with a clinical and a laboratory spectrophotometer. *International Dentistry S A* 2006;8(5):62-70.

24. Sangaseng P, Prunkngarmpun C, Weraarchakul W. A Comparison of Tooth Color Measurement by Conventional Visual under Artificial Light Source, Intraoral Scanner and Spectrophotometer Methods. [Thesis]. Khon Kaen, Thailand: Khon Kaen University; 2018.

25. O'Brien WJ. Double layer effect and other optical phenomena

related to esthetics. *Dent Clin North Am* 1985;29(4):667-72.

26. Carsten DL. Successful shade matching--what does it take? *Compend Contin Educ Dent* 2003;24(3):175-8.

27. Yoon HI, Bae JW, Park JM, Chun YS, Kim MA, Kim M. A Study on Possibility of Clinical Application for Color Measurements of Shade Guides Using an Intraoral Digital Scanner. *J Prosthodont* 2018;27(7):670-5.

28. Bolt RA, Bosch JJ, Coops JC. Influence of window size in small-window colour measurement, particularly of teeth. *Phys Med Biol* 1994;39(7):1133-42.

29. Okubo SR, Kanawati A, Richards MW, Childress S. Evaluation of visual and instrument shade matching. *J Prosthet Dent* 1998;80(6):642-8.

30. Culpepper WD. A comparative study of shade-matching procedures. *J Prosthet Dent* 1970;24(2):166-73.

31. Lasserre JF, Pop-Ciutrla IS, Colosi HA. A comparison between a new visual method of colour matching by intraoral camera and conventional visual and spectrometric methods. *J Dent* 2011;39Suppl3:e29-36.

32. Alshiddi IF, Richards LC. A comparison of conventional visual and spectrophotometric shade taking by trained and untrained dental students. *Aust Dent J* 2015;60(2):176-81.

Alveolar Bone Macroscopic Changes as a Response to Light Controlled-tipping Maxillary Dental Arch Expansion in Young Adults: A Cone-beam Computed Tomography Study

Chanchai Pattanaviriyapisan¹, Chairat Chareomratrote², Udom Thongudomporn²

¹Dental department, Kanchanadit hospital, Suratthani

²Department of Preventive Dentistry, Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University, Songkhla

Abstract

The objectives of this study were to examine the amount of expansion, the changes of molar inclination, crown and root position of maxillary first molars, as well as changes of alveolar bone thickness, alveolar bone height and buccal bone position by using cone-beam computed tomography (CBCT) after light controlled-tipping expansion in young adult subjects. Factors related to changes in alveolar bone thickness (ABT) were also investigated. Maxillary dental expansion was performed in twenty-four patients (age 15.3-26.5-year-old) with orthodontic fixed appliances and a straight rectangular titanium molybdenum alloy (TMA[®]) wire which produced 126 ± 27 g of expansion force. Dento-alveolar changes were evaluated using CBCT images acquired before (T_0) and 3 months after expansion (T_1). Mann-Whitney U-tests, Wilcoxon matched pairs signed rank tests, Kruskal-Wallis test with the Dunn-Bonferroni tests were used to compare the changes. Spearman's rank correlation analysis was performed to identify factors associated with the changes of ABT. The significance level was set at .05. Significant buccal controlled-tipping of the first molars occurred leading to a significant increase of intermolar width (IMW) ($P < 0.01$). ABT at bucco-crestal site of mesio-buccal root (ABT-MB-L1) significantly decreased ($P < 0.05$), while ABT at palatal sites (ABT-Pa) significantly increased ($P < 0.05$). Buccal bone position (BucBonePos) significantly displaced buccally ($P < 0.05$). Δ IMW and the rate of expansion significantly positively related to Δ ABT-MB-L1 ($P < 0.05$). Initial ABT was significantly negatively correlated with Δ ABT-MB-L1 and Δ ABT-Pa ($P < 0.05$). The study concluded that some degrees of ABT-MB-L1 reduction and ABT-Pa gain were observed when applying force lower than 130 g for controlled-tipping maxillary dental arch expansion. These changes were related to Δ IMW, rate of expansion, and initial ABT. Buccal displacement of outer surface of bucco-crestal bone was observed.

Keywords: Cone-beam computed tomography, Slow maxillary expansion, Alveolar bone change, Light force

Received Date: Jan 22, 2019

Revised Date: Feb 13, 2019

Accepted Date: Mar 21, 2019

Doi: 10.14456/jdat.2019.36

Correspondence to:

Udom Thongudomporn. Department of Preventive Dentistry, Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112 Thailand, Tel: 074-429875 E-mail: udom2t@gmail.com

Introduction

Determining how alveolar bone responses to orthodontic tooth movement have interested researchers over the years because the quality and quantity of the bone surrounding the teeth in final position justify the success and prognosis of treatment. The concept that orthodontic force induces alveolar bone resorption on the pressure side and bone apposition on the tension side has been well accepted.¹ However, at macroscopic level, it has been demonstrated that bone remodeling: tooth movement ratio is not a 1:1 basis in maxillary incisor retraction studies.^{2,3} Studies on the changes of alveolar bone thickness after rapid maxillary expansion (RME) provide similar results.⁴ Generally, as the posterior teeth are expanded, reduced buccal alveolar thickness, especially at the crestal level, and increased palatal alveolar thickness are observed.^{5,6}

High force magnitude produced from RME appliances may provoke the occurrence of reduced buccal bone thickness during maxillary arch expansion.^{6,7} An alternative protocol so called slow maxillary expansion (SME) providing lower force systems has been proposed.⁸ Using light force to move teeth may minimize the occurrence of undermining resorption, and may reduce lag phase during tooth movement.⁹ Light force could be advantageous not only to the adjacent alveolar bone, but also to the neighboring cortical bone of the loaded area resulting in displacement of both tooth and alveolar bone.¹⁰ However, results with regards to alveolar bone response following SME have been controversial.¹¹ A study applying an Alveolar Development Appliance (ADA) which produces 300 g of continuous expansion force on the palatal alveolar bone of maxillary posterior teeth found evidence of young bone formation on the buccal aspect of the teeth.¹¹ In contrast, Brunetto *et al.*, (2013)¹² compared the effects of RME and SME and demonstrated that vertical and horizontal bone losses were found in both groups with greater bone loss shown in SME group. Most SME appliances such as quad-helix, or

NiTi expander produce a significant degree of buccal crown tipping of the posterior teeth,^{4,13} which may generate excessive stress at the buccal alveolar crest leading to the loss of bucco-crestal alveolar thickness.

To minimize expansion force and to decrease posterior buccal crown tipping, maxillary dental expansion method proposed by Gill *et al.*,¹⁴ was modified by using a straight rectangular titanium molybdenum alloy (TMA[®]) wire with the largest size of wire that sufficiently fits into the bracket slots to produce anti-buccal tipping torque. Due to the relatively low load deflection and stiffness characteristics of TMA[®] wire, light force is generated although a large range of activation is performed.¹⁵ According to our pilot laboratory test on a series of 10 untreated maxillary models, when a straight 0.016"×0.022" TMA[®] wire was bent into an arch form with an intermolar width of 43-47 mm, the wire produced 126 ± 27 g of total expansion force.

The objectives of this prospective cone-beam computed tomography (CBCT) study were to examine the amount of expansion, the changes of molar inclination, crown and root position of maxillary first molars, as well as changes of alveolar bone thickness, alveolar bone height and buccal bone position after maxillary dental arch expansion with orthodontic fixed appliance in combination with light force by using straight rectangular TMA[®] wire in a group of young adult subjects. In addition, factors that might relate to changes in alveolar bone thickness during expansion were investigated.

Materials and Methods

Subjects and study protocol

This prospective cohort study was performed at the Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University under the approval of the faculty ethical committee (Ethic approval No. EC 5803-13-P-HR). Informed consent was obtained from subjects who agreed to participate in this study. For under 20-year-old subjects, the consent

forms were signed by the parents. The sample size was calculated by G*Power (Version 3.1)¹⁶ using parameters taken from a quad helix appliance study on changes in alveolar bone around the maxillary first molars¹⁷ (mean difference of alveolar bone thickness = 1.6 mm, difference of standard deviation = 1.3 mm, significance level = 0.05, power = 0.90). A sample size of 18 subjects was required. To increase the power of the study, 24 subjects (10 males, 14 females) aged 15.3-26.5-year-old with mean age \pm SD of 19.2 ± 2.8 -year-old were involved in this study.

The inclusion criteria were: (1) no more than 4 mm bilateral maxillary dental expansion required, (2) hypo- or normo-divergent facial pattern ($15^\circ \leq \text{SN-GoMe} \leq 35^\circ$) that would allow an increase in lower facial height by creating clockwise rotation of the mandible, (3) no unilateral or posterior crossbite, (4) presence of all permanent teeth from right to left maxillary second molars, (5) no metal crown on posterior teeth, (6) healthy periodontal condition without gingival recession or signs of traumatic occlusion, (7) no craniofacial disorders, (8) no underlying disease and no signs and symptoms of temporomandibular joint disorders. Exclusion criteria were the occurrence of periodontal gingival pockets ≥ 4 mm or progressive gingival recession during treatment, missed appointments, and early arch width corrected during the aligning and leveling stage.

Subjects were treated using 0.018" \times 0.025" slot pre-adjusted edgewise brackets from left to right second premolars (Roth system, Master Series™; American Orthodontics®, Sheboygan, WI, USA) and buccal tubes (Non-convertible, LP™; American Orthodontics®, Sheboygan, WI, USA) on left and right maxillary first molars. Instruction on oral care was given after bonding. Leveling and alignment were accomplished by progressing the archwires from 0.012", 0.014", 0.016" \times 0.016", and 0.016" \times 0.022" Ni-Ti. CBCT imaging was taken before starting maxillary expansion (T_0). CBCT (3D Accuitomo 170®, J Morita Mfg. Corp., Kyoto, Japan) was performed at 90 kV and 5 mA with a 17.5-second exposure time, 0.25 mm voxel resolution and 100 \times 100 mm field of view. Arch expansion was accomplished using

a straight length of 0.016" \times 0.022" beta-titanium alloy wire (TMA®, Ormco™, Orange, CA, USA). The TMA® wire was tied to all brackets using ligature wires. Every 3-4 weeks the wire was removed, straightened, and re-engaged in the brackets. Periodontal status was determined by measuring the depths of gingival pockets and recording presence or absence of gingival recession on the maxillary posterior teeth.

When maxillary posterior arch width was expanded to the determined amount, the maxillary arch was maintained with a 0.016" \times 0.022" passive stainless steel wire for 3 months to allow bone remodeling (T_1).¹⁸ At T_1 , CBCT imaging was performed.

CBCT analysis

Changes of crown and root position, alveolar bone thickness and height between T_0 and T_1 were determined from the CBCT scans. All CBCT scans were viewed on OneVolumeViewer® software (OneVolume Viewer®, version 11.0; J Morita Mfg. Corp., Kyoto, Japan). The CBCT images were oriented base on three planes which were respectively constructed: 1) sagittal plane connecting the mid-cranial base and anterior nasal spine (ANS); 2) axial plane from the ANS to posterior nasal spine (PNS); and 3) coronal plane perpendicular to the axial plane passing through the points to be measured.¹² Five sections of coronal plane (C-plane1 to C-plane5) were established for the measurement of different parameters (Table 1).

C-plane1 was used to measure intermolar width (IMW). C-plane2 was used to measure first molar inclination (6Incl), crown position (CrownPos), root position (RootPos), alveolar bone height (ABH), total alveolar bone thickness (TotalABT) and buccal bone position (BucBonePos). For the measurement of alveolar bone thickness (ABT), C-plane3 – C-plane5 were used to measure ABT of mesio-buccal (MB), disto-buccal (DB), and palatal (Pa) root, respectively (Fig. 1-3). Definitions of nine dental and seventeen alveolar bone variables are presented in Table 1.

Table 1 Definitions of abbreviations, reference lines and measurements used in this study

Operation terms	Description
Reference lines	
Mid-S-line	Mid sagittal line: a vertical line connecting the mid-cranial base and anterior nasal spine
H-line	Horizontal line: a perpendicular line to Mid-S-line passing the highest point of the palatal vault
Coronal plane sections (C-plane)	
C-plane1	C-plane passing through the central pit of right and left molars
C-plane2	C-plane passing through the bifurcation between Pa and DB of right and left molars
C-plane3	C-plane passing through the widest side of MB root of each molars
C-plane4	C-plane passing through the widest side of DB root of each molars
C-plane5	C-plane passing through the widest side of Pa root of each molars
Dental measurements	
IMW	Intermolar width: distance between central pit of right and left molars on the C-plane1
6Incl	Molar inclination: an angle formed by a line connecting between the deepest pit and the mid-furcation intersecting with the line perpendicular to Mid-S-line on the C-plane2
Crown position (CrownPos)	
H- CrownPos	Horizontal crown position: perpendicular distance from Mid-S-line to the deepest pit of the maxillary first molar on the C-plane2
V- CrownPos -B	Vertical buccal crown position: distance from the buccal CEJ perpendicular to H-line on the C-plane2
V- CrownPos -Pa	Vertical palatal crown position: distance from the palatal CEJ perpendicular to H-line on the C-plane2
Root position (RootPos)	
	Perpendicular distance from Mid-S-line to the outer most surface of the first molar root on the C-plane2
RootPos -L1	Root position at 3.0 mm apical to the CEJ
RootPos -L2	Root position at 6.0 mm apical to the CEJ
RootPos -L3	Root position at 9.0 mm apical to the CEJ
RootPos -L4	Root position at apex of the root
Alveolar bone measurements	
Alveolar bone thickness (ABT)	Perpendicular distance to Mid-S-line, ranging from the surface of MB, DB, and Pa root to the outer most surface of the bone measured on C-plane3, C-plane4 and C-plane5, respectively.
ABT-MB-L1, ABT-MB-L2, ABT-MB-L3	ABT of MB root at 3.0, 6.0, and 9.0 mm apical to the CEJ respectively
ABT-DB-L1, ABT-DB-L2, ABT-DB-L3	ABT of DB root at 3.0, 6.0, and 9.0 mm apical to the CEJ respectively
ABT-Pa-L1, ABT-Pa-L2, ABT-Pa-L3	ABT of Pa root at 3.0, 6.0, and 9.0 mm apical to the CEJ respectively
Alveolar bone height (ABH)	Perpendicular distance to H-line ranging from CEJ to the same side of alveolar crest level measured on C-plane2
ABH-B	ABH ranging from buccal CEJ to buccal alveolar bone crest
ABH-Pa	ABH ranging from palatal CEJ to palatal alveolar bone crest
Total alveolar bone thickness (TotalABT)	Perpendicular distance to Mid-S-line ranging between the outer most surface of the buccal and palatal bone in each level measured on C-plane2
TotalABT-L1, TotalABT-L2, TotalABT-L3	TotalABT at 3.0, 6.0, and 9.0 mm apical to the CEJ respectively
Buccal bone position (BucBonePos)	Perpendicular distance to Mid-S-line ranging from Mid-S-line to the outer most surface of buccal alveolar bone in each level measured on C-plane2
BucBonePos-L1, BucBonePos-L2, BucBonePos -L3	BucBonePos at 3.0, 6.0, and 9.0 mm apical to the CEJ respectively

A horizontal line (H-line) perpendicular to sagittal plane passing the highest point of the palatal vault was constructed. Perpendicular distances of all bony points to H-line from T_0 CBCT images were registered and transferred to the T_1 CBCT images to determine Δ ABT, Δ TotalABT, and Δ BucBonePos.

All CBCT measurements were performed by an investigator who was blinded from subjects' identity and the sequence of materials being measured. All data from 10 randomly selected subjects were measured twice at 4 weeks apart to assess reliability by using paired t -tests and to assess measurement error by using Dahlberg's formula,¹⁹ respectively. Paired t -tests revealed no significant differences between the two sets of replicate measurements ($P=0.35$) and Dahlberg's error was 0.4 mm and 0.4° for linear and angular variables, confirming the measurements were reliable.

Statistical analysis

Shapiro-Wilk tests showed non-normally distribution of some parameters. Consequently, Mann-Whitney U -tests, Wilcoxon matched pairs signed rank tests, and Kruskal-Wallis test with the Dunn-Bonferroni tests were used to compare the changes between sexes and changes within group, as appropriate. Spearman's rank correlation analysis was performed to identify factors associated with Δ ABT. All calculations were performed using statistical software (SPSS, version 23; IBM, New York, NY, USA) with a significance level of 0.05.

Results

There was no significant difference in pretreatment arch width, molar inclination and amount of expansion between sexes of all subjects; therefore, the data for male and female subjects were pooled. Moreover, since changes of bilateral variables were not statistically significant, mean values between sides were considered.

Table 2 Comparisons of Means \pm Standard Deviations (SD) of intermolar width, crown and root position between T_0 and T_1

Variables	T_0	T_1	$T_1 - T_0$			P -value [‡]
	Mean \pm SD	Mean \pm SD	Mean \pm SD	Min-Max	P -value [†]	
IMW (mm)	45.8 \pm 2.2	47.8 \pm 2.8	1.9 \pm 1.1	0.9-3.9	0.00**	0.02*
6Incl (degree)	89.6 \pm 2.4	91.6 \pm 2.3	2.1 \pm 0.9	-0.1-3.9	0.00**	
V-CrownPos-B (mm)	14.7 \pm 2.9	14.6 \pm 3.1	-0.1 \pm 0.7	-1.1-0.5	0.17	
V-CrownPos-Pa (mm)	14.6 \pm 2.9	14.7 \pm 2.9	0.1 \pm 0.5	-1.2-0.5	0.58	
H-CrownPos (mm)	23.0 \pm 1.1	23.8 \pm 1.4	0.8 \pm 0.6 ^a	0.2-1.7	0.00**	
RootPos-L1 (mm)	27.5 \pm 1.2	28.0 \pm 1.3	0.5 \pm 0.2 ^b	0.1-1.0	0.00**	
RootPos-L2 (mm)	28.0 \pm 1.4	28.1 \pm 1.3	0.1 \pm 0.2 ^c	-0.3-0.4	0.06	
RootPos-L3 (mm)	28.4 \pm 1.3	28.5 \pm 1.2	0.1 \pm 0.4 ^c	-0.4-0.5	0.26	0.02*
RootPos-L4 (mm)	28.4 \pm 1.2	28.4 \pm 1.2	0.0 \pm 0.1 ^c	-0.2-0.2	0.90	

IMW, intermolar width; 6Incl, molar inclination; CrownPos, crown position; RootPos, root position; V, vertical; H, horizontal; B, buccal; Pa, palatal; L1, 3.0 mm from cemento-enamel junction (CEJ); L2, 6.0 mm from CEJ; L3, 9.0 mm from CEJ; L4, root apex

[†] P -value of Wilcoxon matched-pairs signed-ranks test comparing difference between T_0 and T_1 of each variable.

[‡] P -value of Kruskal-Wallis test comparing differences of changes of crown and root position within each tooth. Different letters represent statistically significant differences.

* Statistically significant at $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Table 2 shows crown and root changes between T_0 and T_1 . IMW significantly increased by 1.9 ± 1.1 mm ($P < 0.01$) (range: 0.9-3.9 mm). First molar crowns significantly moved buccally ($\Delta H\text{-CrownPos} = 0.8 \pm 0.6$ mm; $P < 0.01$) but revealed non-significant extrusion ($\Delta V\text{-CrownPos-B} = -0.1 \pm 0.7$ mm, $\Delta V\text{-CrownPos-Pa} = 0.1 \pm 0.5$ mm; $P > 0.05$). Roots showed no significant change in bucco-palatal dimension in all levels ($P > 0.05$), except for RootPos-L1 ($\Delta \text{RootPos-L1} = 0.5 \pm 0.2$ mm; $P < 0.01$). The movement could be considered as controlled-tipping.²⁰

Significant decrease of ABT-MB-L1 was observed ($\Delta \text{ABT-MB-L1} = -0.20 \pm 0.18$ mm; $P < 0.05$), but ABT of all levels of palatal root significantly increased ($P < 0.05$). BucBonePos-L1 significantly increased ($\Delta \text{BucBonePos-L1} = 0.07 \pm 0.15$ mm; $P < 0.05$) indicating that buccal surface of the alveolar bone at L1 level displaced buccally. No significant changes of TotalABT, ABH-B, and ABH-Pa were observed ($P > 0.05$) (Table 3).

Table 3 Comparison of Means \pm Standard Deviations (SD) of alveolar bone measurement between T_0 and T_1

Variables	Before expansion (T_0)	3 months of maintenance (T_1)	$T_1 - T_0$	P-value [†]
	Mean \pm SD	Mean \pm SD		
ABT-MB-L1 (mm)	1.92 \pm 0.50	1.70 \pm 0.60	-0.20 \pm 0.18	0.01*
ABT-MB-L2 (mm)	2.44 \pm 0.96	2.38 \pm 1.00	-0.06 \pm 0.25	0.27
ABT-MB-L3 (mm)	2.62 \pm 0.92	2.56 \pm 0.97	0.05 \pm 0.35	0.44
ABT-DB-L1 (mm)	2.44 \pm 0.50	2.38 \pm 0.43	-0.06 \pm 0.26	0.26
ABT-DB-L2 (mm)	3.45 \pm 0.87	3.40 \pm 0.95	-0.06 \pm 0.19	0.17
ABT-DB-L3 (mm)	3.48 \pm 0.88	3.45 \pm 0.89	-0.02 \pm 0.10	0.24
ABT-Pa-L1 (mm)	1.57 \pm 0.34	1.75 \pm 0.20	0.18 \pm 0.24	0.01*
ABT-Pa-L2 (mm)	2.11 \pm 1.02	2.31 \pm 0.94	0.20 \pm 0.19	0.01*
ABT-Pa-L3 (mm)	2.70 \pm 1.87	2.92 \pm 1.88	0.20 \pm 0.26	0.01*
ABH-B (mm)	2.01 \pm 0.28	1.98 \pm 0.37	-0.03 \pm 0.26	0.54
ABH-Pa (mm)	2.01 \pm 0.29	2.06 \pm 0.32	0.05 \pm 0.13	0.06
TotalABT-L1 (mm)	15.13 \pm 1.12	15.12 \pm 1.07	-0.01 \pm 0.15	0.89
TotalABT-L2 (mm)	16.87 \pm 1.79	16.86 \pm 1.78	-0.01 \pm 0.08	0.60
TotalABT-L3 (mm)	18.51 \pm 2.30	18.57 \pm 2.37	0.06 \pm 0.23	0.21
BucBonePos-L1 (mm)	28.26 \pm 1.30	28.32 \pm 1.32	0.07 \pm 0.15	0.04*
BucBonePos-L2 (mm)	29.00 \pm 1.10	29.02 \pm 1.09	0.03 \pm 0.07	0.12
BucBonePos-L3 (mm)	30.09 \pm 1.11	30.12 \pm 1.10	0.02 \pm 0.12	0.31

ABT, alveolar bone thickness; ABH, alveolar bone height; TotalABT, total alveolar bone thickness; BucBonePos, buccal bone position; MB, mesio-buccal root; DB, disto-buccal root; Pa, palatal root; L1, 3.0 mm from cemento-enamel junction (CEJ); L2, 6.0 mm from CEJ; L3, 9.0 mm from CEJ.

[†] P-value of Wilcoxon matched-pairs signed-ranks test

* Statistically significant at $P < 0.05$.

Regarding correlation analysis, Δ ABT-MB-L1 showed significant correlations with Δ IMW ($r=0.77$; $P<0.01$), rate of expansion ($r=0.51$; $P<0.05$), and initial ABT-MB-L1 ($r=-0.42$; $P<0.05$). For Δ ABT-Pa-L1 and Δ ABT-

Pa-L2, significant correlations with initial ABT-Pa-L1 and ABT-Pa-L2 were found respectively. ($r=-0.85$ and -0.52 ; $P<0.01$, respectively) (Table 4).

Table 4 Correlations between the changes of alveolar bone thickness and position and some factors.

Variables	R			
	Δ IMW	Rate of expansion	Δ 6Incl	Initial ABT
Δ ABT-MB-L1	0.77**	0.51*	0.18	-0.42*
Δ ABT-Pa-L1	0.32	0.01	0.14	-0.85**
Δ ABT-Pa-L2	0.02	-0.05	0.01	-0.52**
Δ ABT-Pa-L3	0.04	0.20	-0.23	0.20
Δ BucBonePos-L1	-0.24	-0.27	-0.10	0.06

R, correlation coefficients, Spearman's rank correlation analysis

ABT, alveolar bone thickness; BucBonePos, buccal bone position; MB, mesio-buccal root; Pa, palatal root; L1, 3.0 mm from cemento-enamel junction (CEJ); L2, 6.0 mm from CEJ; L3, 9.0 mm from CEJ. Δ IMW, amount of expansion; Δ 6Incl, molar inclination change.

* Statistically significant at $P<0.05$, ** $P<0.01$.

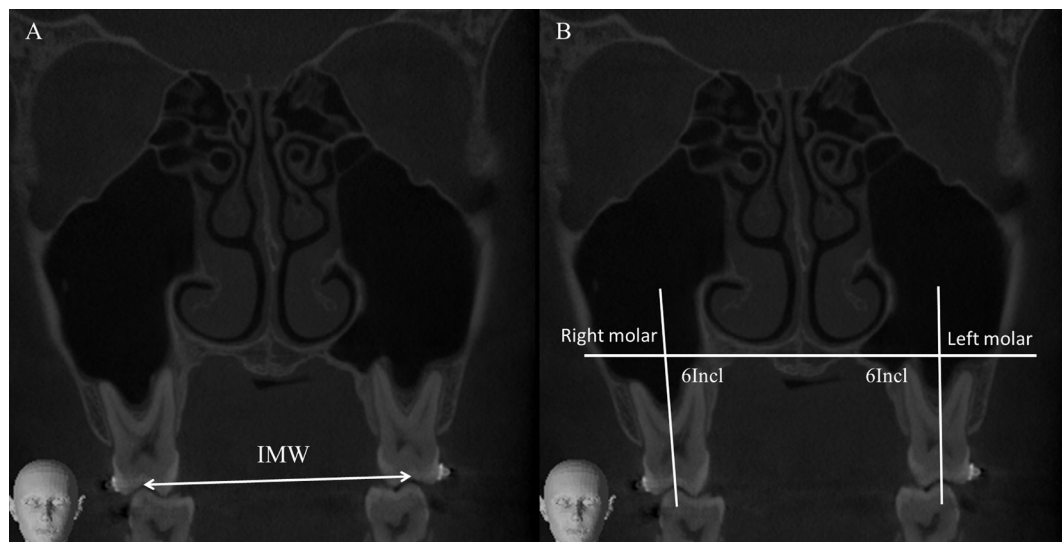


Figure 1 (A) Measurement of intermolar width (IMW) at C-plane1. (B) Measurement of maxillary first molar inclination (6Incl) at C-plane2. (Details described in Table 1)

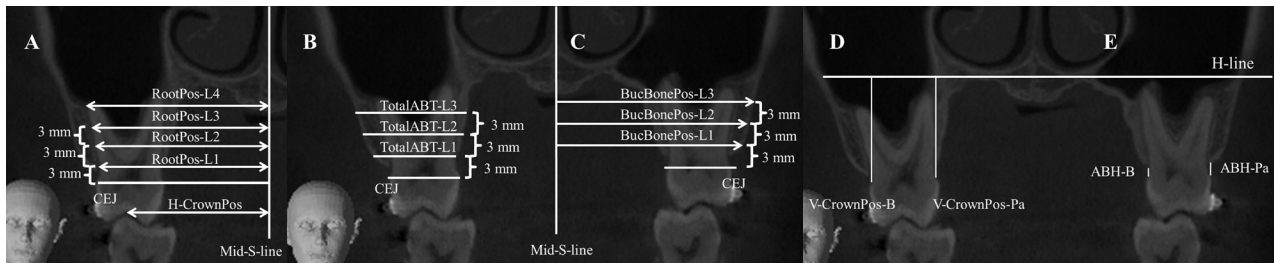


Figure 2 (A) Measurement of crown and root positions, (B) measurement of total alveolar bone thickness (TotalABT), (C) measurement of buccal bone position (BucBonePos), (D) measurement of vertical crown position and (E) measurement of alveolar bone height at C-plane2. CEJ, cemento-enamel junction; H-CrownPos, horizontal crown position; RootPos-L1, root position at crestal level; RootPos-L2, root position at mid root level; RootPos-L3, root position at apical level; RootPos-L4, root position at apex of the root; L1, 3.0 mm apical to CEJ; L2, 6.0 mm apical to CEJ; L3, 9.0 mm apical to CEJ; H-line, Horizontal reference line; V-CrownPos-B, vertical buccal crown position; V-CrownPos-Pa, vertical palatal crown position; ABH-B, buccal alveolar bone height; ABH-Pa, palatal alveolar bone height (Details described in Table 1)

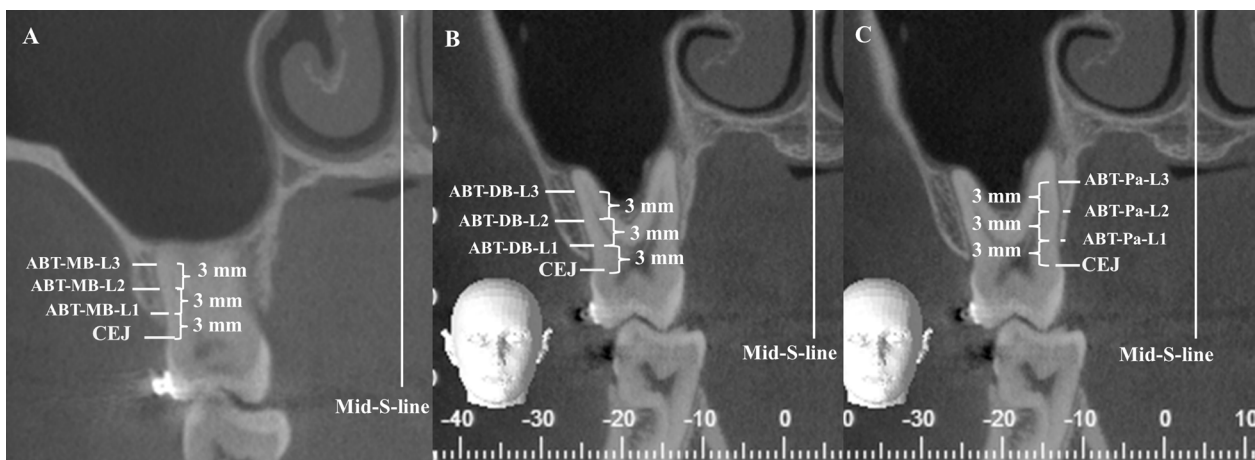


Figure 3 Measurement of buccal and palatal alveolar bone thickness (ABT). (A) Measurement of buccal ABT of mesio-buccal root. (ABT-MB) at C-plane3. (B) Measurement of buccal ABT of disto-buccal root. (ABT-DB) at C-plane4. (C) Measurement of palatal ABT of palatal root. (ABT-Pa) at C-plane5. L1, 3.0 mm apical to CEJ; L2, 6.0 mm apical to CEJ; L3, 9.0 mm apical to CEJ. (Details described in Table 1)

Discussion

With the application of approximately 126 g of maxillary expansion force produced from a straight rectangular TMA[®] wire, first molars were moved buccally with minimal tipping. ABT significantly decreased on the labial side but increased on the palatal side. BucBonePos displaced buccally, whereas TotalABT and ABH remained unchanged.

The expansion rate at the molar region of our study (0.8 ± 0.2 mm/month) is comparable to that produced by quad-helix.⁴ However, the degree of first molar inclination change of our study ($2.1 \pm 0.9^\circ$) is much less than those produced by other types of slow expanders.^{4,13} Probably

because of minimal tipping, molar extrusion in our study was not significant. This may subsequently lead to the ability to maintain alveolar height on both buccal and palatal sides in our study.

The significant changes of bucco-crestal and palatal bone thickness indicate a lag between bone remodeling and tooth movement, even though the force was lower than the recommended amount for dental expansion (450-900 g).⁸ Our finding agrees with Kraus *et al.*, who revealed reduction of buccal bone thickness following expansion with light force in a group of young adult dogs.²¹ Nevertheless, buccal

drift of the alveolar process was evident, since we found that BucBonePos-L1 significantly buccally displaced indicating the existence of cortical bone remodeling. In the aforementioned dog study,²¹ histological investigation revealed bone apposition not only on the trailing edges (i.e. the PDL side of the tension areas), but also on the leading edges (i.e. the palatal bone adjacent to the root apex and the periosteal side of the buccal bone in the coronal level) of the buccally tipped roots. Further biomarker study may provide more insight into the response of the alveolar bone to light expansion force.

Significant correlations between the rate of expansion and Δ ABT-MB-L1, and between Δ IMW and Δ ABT-MB-L1 imply that the faster the rate of expansion, the greater the probability of bucco-crestal alveolar bone thickness reduction. Also, the more the arch is expanded, the thinner the bucco-crestal alveolar bone thickness becomes. We could not find a significant correlation between change of molar inclination and change of alveolar bone thickness. This may be due to the low variability of molar inclination change (Δ IncI = 2.1 ± 0.9 degree) which restricted the correlation analysis to detect the statistical relationship. Interestingly, we found significant negative correlation between initial ABT at MB-L1 and Δ ABT. This can be interpreted that the thinner the initial buccal alveolar bone, the more alveolar bone thickness reduction would occur during expansion. The result is supported by previous findings.^{5,6} Initial thickness of alveolar bone may be an indicator of remodeling capability. Further studies are needed to test this presumption.

The present study has several strengths. To ensure the accuracy of bone measurement on CBCT, we used 0.25 mm voxel size which can provide good spatial resolution for adequate visualization of the buccal bone.²² Also, we allowed 3 months of resting period to ensure complete remodeling of the alveolar bone.¹⁸ We measured changes of tooth position, inclination, alveolar bone thickness and alveolar bone height based on stable external references. Thus, the reading of bone changes is independent from dental changes. This provides a useful information on what really occur to the bone when the

tooth is moved. Previous studies used cusp tips or root apexes as references for measuring molar inclination changes.¹² Measurements using these landmarks can be affected by root resorption or occlusal attrition occurs. In this study, we used anatomical landmarks that were minimally affected by root resorption, occlusal attrition, or molar rotation, i.e., the central pit and furcation, thereby reducing the likelihood of measurement errors over time.

Some limitations are worth mentioning. The sample size is rather small. A longer period of study involving larger number of patients should be emphasized to evaluate the periodontal adaptation and stability after expansion. Assessing the effect of growth status and gender may provide useful information on the factors affecting dental and bone changes due to expansion. A prospective comparison with other types of expander is required to confirm the efficacy, benefits and cost-effectiveness of the technique employed in this study.

Based on the results observed, light controlled-tipping expansion with a straight rectangular TMA[®] wire could be beneficial for a patient who needs maxillary arch expansion with minimal buccal crown tipping. However, the procedure must be performed with caution since there is a lag between alveolar bone remodeling and tooth movement, causing the reduction of buccal alveolar bone thickness. This warning should be emphasized to patients who have thin buccal alveolar bone.

Conclusion

When the maxillary dental arch was expanded using a straight rectangular TMA[®] wire in combination with full-fixed edgewise appliances in young adult patients, the following conclusions could be drawn:

1. The first molars moved buccally with controlled tipping manner. No dental extrusion was found.
2. Reduction of bucco-crestal thickness, but increases of palatal bone were observed. Alveolar bone height was maintained. Outer surface of buccal bone at the crestal level displaced buccally.
3. Changes of alveolar bone thickness were significantly

correlated with the amount of arch expansion, rate of expansion, and initial corresponding bone thickness.

Acknowledgements

We would like to express our gratitude to Graduate School and Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University, for supporting this research.

References

1. Melsen B. Biological reaction of alveolar bone to orthodontic tooth movement. *Angle Orthod* 1999;69(2):151-8.
2. Vardimon AD, Oren E, Ben-Bassat Y. Cortical bone remodeling/tooth movement ratio during maxillary incisor retraction with tip versus torque movements. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1998;114(5):520-9.
3. Yodthong N, Charoemratrote C, Leethanakul C. Factors related to alveolar bone thickness during upper incisor retraction. *Angle Orthod* 2012;83(3):394-401.
4. Huynh T, Kennedy DB, Joondeph DR, Bollen AM. Treatment response and stability of slow maxillary expansion using Haas, hyrax, and quad-helix appliances: a retrospective study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2009;136(3):331-9.
5. Garib DG, Henriques JFC, Janson G, de Freitas MR, Fernandes AY. Periodontal effects of rapid maxillary expansion with tooth-tissue-borne and tooth-borne expanders: a computed tomography evaluation. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2006;129(6):749-58.
6. Rungcharassaeng K, Caruso JM, Kan JY, Kim J, Taylor G. Factors affecting buccal bone changes of maxillary posterior teeth after rapid maxillary expansion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007;132(4):428.e1-8.
7. Isaacson RJ, Ingram AH. Forces produced by rapid maxillary expansion: II. Forces present during treatment. *Angle Orthod* 1964;34(4):261-70.
8. Hicks EP. Slow maxillary expansion: a clinical study of the skeletal versus dental response to low-magnitude force. *Am J Orthod* 1978;73(2):121-41.
9. Tomizuka R, Shimizu Y, Kanetaka H, Suzuki A, Urayama S, Kikuchi M, et al. Histological evaluation of the effects of initially light and gradually increasing force on orthodontic tooth movement. *Angle Orthod* 2007;77(3):410-16.
10. Yee JA, Türk T, Elekdağ-Türk S, Cheng LL, Darendeliler MA. Rate of tooth movement under heavy and light continuous orthodontic forces. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2009;136(2):151-9.
11. Williams MO, Murphy NC. Beyond the ligament: a whole-bone periodontal view of dentofacial orthopedics and falsification of universal alveolar immutability. *Semin Orthod* 2008;14(4):246-59.
12. Brunetto M, Andriani Jda S, Ribeiro GL, Locks A, Correa M, Correa LR. Three-dimensional assessment of buccal alveolar bone after rapid and slow maxillary expansion: a clinical trial study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2013;143(5):633-44.
13. Karaman A. The effects of nitium maxillary expander appliances on dentofacial structures. *Angle Orthod* 2002;72(4):344-54.
14. Gill D, Naini F, McNally M, Jones A. The management of transverse maxillary deficiency. *Dent Update* 2004;31(9):516-23.
15. Kusy RP, Whitley JQ. Thermal and mechanical characteristics of stainless steel, titanium-molybdenum, and nickel-titanium archwires. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007;131(2):229-37.
16. Faul F, Erdfelder E, Buchner A, Lang AG. Statistical power analyses using G* Power 3.1: Tests for correlation and regression analyses. *Behav Res Methods* 2009;41(4):1149-60.
17. Corbridge JK, Campbell PM, Taylor R, Ceen RF, Buschang PH. Transverse dentoalveolar changes after slow maxillary expansion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2011;140(3):317-25.
18. Sarikaya S, Haydar B, Ciger S, Ariyürek M. Changes in alveolar bone thickness due to retraction of anterior teeth. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2002;122(1):15-26.
19. Dahlberg G. Statistical methods for medical and biological students. *Br Med J* 1940;2(4158): 358-359.:358-9
20. Smith RJ, Burstone CJ. Mechanics of tooth movement. *Am J Orthod* 1984;85(4):294-307.
21. Kraus CD, Campbell PM, Spears R, Taylor RW, Buschang PH. Bony adaptation after expansion with light-to-moderate continuous forces. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2014;145(5):655-66.
22. Molen AD. Considerations in the use of cone-beam computed tomography for buccal bone measurements. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2010;137(4):130-5.

ผลของสารสกัดลูกเดือยต่อเซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิของมนุษย์: ความเป็นพิษต่อเซลล์และการพอกพูนของแคลเซียมในหลอดทดลอง

The Effects of Adlay Extract on Primary Human Osteoblast Cells: Cytotoxicity and *In vitro* Calcification

จิตารัตน์ อังวรารวงศ์¹, นรีกานต์ จันทกนกการ², นิรัชชา เจริญกิจจารุ², วรินทร์ ตริวัฒน์นา¹, อรอุมา อังวรารวงศ์³
Thidarat Angwarawong¹, Nareekarn Chantakanakakorn², Niracha Chareonkitjatorn¹, Warinthon Triwatana¹, Onauma Angwaravong³

¹สาขาวิชาทันตกรรมประดิษฐ์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น

¹Department of Prosthodontics, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Khon Kaen

²คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น

²Faculty of Dentistry, Khon Kean University, Khon Kaen University, Khon Kaen

³สาขาวิชาทันตกรรมป้องกัน คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น

³Department of Preventive Dentistry, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Khon Kaen

บทคัดย่อ

โรคกระดูกพรุนเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญปัญหาหนึ่งของโลก ซึ่งโรคนี้มีผลทำให้มวลกระดูกลดลงและทำให้โครงสร้างจุลภาคภายในกระดูกมีการเสื่อมสลายลง ส่งผลให้ความแข็งแรงของกระดูกลดลง รวมถึงส่งผลต่อกระบวนการออสซิโออินทิเกรชันในผู้ป่วยที่ต้องการทำการรากเทียม หลายปีที่ผ่านมาได้มีการศึกษาจำนวนมากเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติเพื่อหวังผลในการป้องกันโรคกระดูกพรุนและส่งเสริมกระบวนการสร้างกระดูก มีรายงานว่าสารสกัดลูกเดือยมีคุณสมบัติในการเพิ่มจำนวนเซลล์ สามารถกระตุ้นการทำงานของอัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ระดับแคลเซียมและความหนาแน่นของกระดูกหนู อย่างไรก็ตามปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาใดที่ทำการทดสอบผลของสารสกัดลูกเดือยต่อเซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิของมนุษย์ ดังนั้นในการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลของสารสกัดลูกเดือยต่อความเป็นพิษต่อเซลล์และการพอกพูนของแคลเซียมในหลอดทดลองของเซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิของมนุษย์ โดยประเมินความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธีเอ็มทีทีที่ประกอบด้วยสารสกัดลูกเดือยที่ความเข้มข้น 3 15 30 150 300 และ 600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมที่ได้จากลูกอ่อนวัวร้อยละ 2 และ 15 ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง และประเมินผลของสารสกัดลูกเดือยที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการพอกพูนของแคลเซียมในหลอดทดลองด้วยการย้อมอะลิซารินเรดในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบด้วยซีรัมที่ได้จากลูกอ่อนวัวร้อยละ 15 ที่เวลา 14 และ 21 วัน ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดลูกเดือยที่ความเข้มข้น 3-600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างกระดูกมนุษย์ รวมถึงสารสกัดลูกเดือยที่ความเข้มข้น 150 300 และ 600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่งเสริมการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างกระดูกมนุษย์เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้ใส่สารสกัดลูกเดือยที่เวลา 72 ชั่วโมง ทั้งในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมที่ได้จากลูกอ่อนวัวร้อยละ 2 และ 15 นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดลูกเดือยที่ความเข้มข้น 3-600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สนับสนุนการพอกพูนของแคลเซียมในหลอดทดลอง ผลที่ได้จากการศึกษานี้เป็นข้อมูลเบื้องต้นก่อนที่จะนำมาประยุกต์ใช้ในการปรับเตรียมพื้นผิวไททาเนียมสำหรับรากเทียมทางทันตกรรมเพื่อนำไปใช้ในผู้ป่วยที่มีปัญหาเกี่ยวกับกระดูกพรุนต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ: การพอกพูนของแคลเซียมในหลอดทดลอง, ความเป็นพิษต่อเซลล์, เซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิของมนุษย์, สารสกัดลูกเดือย

Abstract

Osteoporosis is one of the major public health problems of the world. The disease causes the loss of bone mass and degeneration of bone microarchitecture resulting in decreased bone strength and osseointegration process is also affected in implant patient. In the past decade, a large number of research on various natural products has been conducted to find a way to prevent osteoporosis and promote osteogenesis. It has been revealed that adlay extract can increase cell proliferation and upregulates alkaline phosphatase activity, calcium level and bone density in mouse model. However, there is a lack of the study on the effect of adlay extract on primary human osteoblasts. This research thus aimed to examine the cytotoxicity and *in vitro* calcification of adlay extract on human osteoblasts. Cytotoxicity was evaluated using MTT assay, testing adlay extract at concentration of 3, 15, 30, 150, 300, and 600 µg/ml prepared in DMEM with 2 % and 15 % fetal bovine serum (FBS) at 24, 48, and 72 hours. Alizarin Red-S staining was used to analyze *in vitro* calcification of osteoblasts cultured in DMEM containing 15 % FBS and different concentrations of adlay extract and at 14 and 21 days. Results from this study showed that 3-600 µg/ml adlay extract had no toxic effect on primary human osteoblasts, and that 150, 300 and 600 µg/ml adlay extract promoted cell proliferation when compared to control group at 72 hours in both 2 % and 15 % FBS in DMEM. Furthermore, 3-600 µg/ml adlay extract increased *in vitro* calcification. This study served as initial information for its future use for surface modification of dental implant in patient with osteoporotic bone.

Keyword: *In vitro* calcification, cytotoxicity, primary human osteoblasts, adlay extract

Received Date: Jan 8, 2019

Revised Date: Jan 29, 2019

Accepted Date: Feb 26, 2019

Doi: 10.14456/jdat.2019.37

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ:

ธิดารัตน์ อังวรารวงศ์ สาขาวิชาทันตกรรมประดิษฐ์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ. เมือง จ. ขอนแก่น 40002 ประเทศไทย

โทรศัพท์: 043 202 405 โทรสาร: 043 202 862 อีเมล: thidarat_ang@hotmail.com

Correspondence to:

Thidarat Angwarawong, Department of Prosthodontics, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002 Thailand.

Tel: 043 202 405 Fax: 043 202 862 E-mail: thidarat_ang@hotmail.com

บทนำ

โรคกระดูกพรุน (osteoporosis) นับเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญปัญหาหนึ่งของโลก เกิดจากความไม่สมดุลของกระบวนการปรับแต่งกระดูก (bone remodeling process) ที่มีอัตราการสลายมากกว่าอัตราการสร้างกระดูก ลักษณะของโรคมีผลให้มวลกระดูก (bone mass) ลดลง โครงสร้างจุลภาคของกระดูกมีการเสื่อมสลาย (bone microarchitectural deterioration) ทำให้กระดูกเปราะมากขึ้น จึงส่งผลต่อความแข็งแรงของกระดูกและเพิ่มโอกาสกระดูกหัก^{1,2} มีการอ้างว่ากระดูกของผู้ป่วยที่เป็น

โรคกระดูกพรุนมีลักษณะคล้ายกับกระดูกที่มีความหนาแน่นระดับดีสี่ (D4)³ ตามการจำแนกของมิช (Misch bone density classification)⁴ ในกรณีที่ผู้ป่วยเป็นโรคกระดูกพรุนและมีการสูญเสียฟัน การทดแทนฟันที่สูญเสียไปด้วยรากเทียม (dental implant) ไม่ถือว่าเป็นข้อห้ามใช้^{3,5,6} มีรายงานว่าอัตราความล้มเหลวของการบูรณะด้วยรากเทียมในผู้ป่วยที่เป็นโรคกระดูกพรุนไม่มีความแตกต่างกับผู้ป่วยที่มีสุขภาพดี⁶⁻⁸ สิ่งที่มีความสำคัญเพื่อให้เกิดความสำเร็จในการบูรณะด้วยรากเทียมในผู้ป่วยที่เป็นโรคกระดูกพรุนคือการให้

คำวินิจฉัยและการวางแผนการรักษาอย่างระมัดระวังและถูกต้อง มีคำแนะนำว่าผู้ป่วยที่มีลักษณะของกระดูกที่พรุน ควรมีการสร้างเสริมมวลกระดูกก่อนการรักษาด้วยรากเทียม ร่วมกับการเพิ่มจำนวนรากเทียม เพิ่มขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง เพิ่มความยาวและเพิ่มพื้นผิวของรากเทียม (implant body area) รวมถึงควรเลือกรากเทียมให้มีรูปร่าง (implant geometry) ที่เหมาะสมและมีการปรับสภาพพื้นผิวของรากเทียมให้เอื้อต่อการเกิดกระดูกเชื่อมประสานหรือกระบวนการออสซิโออินทีเกรชัน (osseointegration)³⁻⁵ ในปัจจุบันมีงานวิจัยจำนวนมากที่พยายามปรับปรุงพื้นผิวของรากเทียมให้เหมาะสมเพื่อหวังผลในการกระตุ้นการเจริญเติบโตและการทำงานของเซลล์สร้างกระดูก (osteoblast) เพื่อเพิ่มการสร้างกระดูกรอบรากเทียมให้มีมวลกระดูกมากขึ้นสำหรับการยึดรากเทียมในผู้ป่วยที่เป็นโรคกระดูกพรุน^{9,10}

ในช่วงหลายปีที่ผ่านมาได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ (natural products) หลายชนิด เช่น ส้มสามใบ (*Poncirus trifoliata*) พวงไข่มุกหรืออัลเดอร์เบอร์รี่ (*Sambucus williamsii* Hance หรือ Elderberry) และข้าวजू (*Fructus Corni* หรือ Dogberry) ในการรักษาโรคกระดูกพรุน เนื่องจากวิธีนี้จะช่วยลดอาการไม่พึงประสงค์ และมีความเหมาะสมต่อการรักษาระยะยาวมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ยาที่ผ่านการสังเคราะห์ทางเคมี นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติกลุ่มนี้สามารถเพิ่มการทำงานของเซลล์สร้างกระดูกในด้านต่าง ๆ ได้ เช่น การเพิ่มจำนวนเซลล์ (cell proliferation) การแปรสภาพของเซลล์สร้างกระดูก (osteoblast differentiation) และการพอกแร่ธาตุของกระดูกในหลอดทดลอง (*in vitro* bone mineralization) ผ่านการแสดงออกของยีนและโปรตีนที่เป็นตัวบ่งชี้ของการสร้างกระดูก (bone marker) และวิถี (pathway) ที่เกี่ยวข้อง¹¹

ลูกเดือย มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Coix lachryma-jobi* L. แต่เป็นที่รู้จักในชื่อภาษาอังกฤษว่า adlay หรือ coix หรือ Job's tears หรือ Chinese pearl barley ลูกเดือยสามารถพบได้หลายประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น จีน อินเดีย ญี่ปุ่น เกาหลี ไทยและมาเลเซีย มีส่วนประกอบหลัก คือ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน นอกจากนี้ยังอุดมไปด้วยแร่ธาตุ (เช่น ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม และโปแตสเซียม) วิตามิน แคโรทีนอยด์ (carotenoids) ไฟโตสเตอรอล (phytosterols) โพลีฟีนอล (polyphenols) และแลคแทม (lactams)¹² ลูกเดือยถูกบันทึกในตำราแพทย์แผนจีนว่ามีสรรพคุณหลายอย่าง เช่น ขับระบายความร้อน ขับปัสสาวะ ระบายหนอง กระตุ้นการทำงานของปอดและม้าม รักษาโรคไขข้อ (arthritis) ท้องร่วง (diarrhea) และโรคผิวหนัง¹²⁻¹⁴ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารสกัดลูกเดือยมีคุณสมบัติที่ดีทาง

ชีวภาพหลายด้าน ได้แก่ ด้านการอักเสบ (anti-inflammation)¹⁵⁻¹⁷ ด้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant)¹⁸⁻²¹ ด้านมะเร็ง (anti-cancer)²¹⁻²⁵ ด้านภูมิแพ้ (anti-allergy)²⁶⁻²⁹ ด้านภาวะอ้วน (anti-obesity)³⁰ ป้องกันแผลในระบบทางเดินอาหาร (gastroprotection)³¹ รวมถึงด้านการเกิดโรคกระดูกพรุน (anti-osteoporosis)^{13,14}

มีการศึกษาที่รายงานผลของลูกเดือยต่อการต้านการเกิดโรคกระดูกพรุน เช่น Yang และคณะ ในปี ค.ศ. 2008¹³ ที่ทำการศึกษาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระดูก (bone tissue culture) พบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากลูกเดือย (water extract of adlay) ความเข้มข้น 30-300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถผันกลับการลดลงของการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase activity) ในเนื้อเยื่อกระดูกที่เพาะส่วนบนของหนูแรกเกิด (neonatal rat calvaria tissues) และเพิ่มระดับแคลเซียมในเนื้อเยื่อเมตาฟิเซียลของกระดูกต้นขา (femoral metaphyseal tissues) ในหนูปกติที่ถูกกระตุ้นด้วยพาราไทรอยด์ฮอร์โมนและหนูที่ตัดรังไข่ (ovariectomized mouse) นาน 4 สัปดาห์ได้ ต่อมาในปี ค.ศ. 2013 Yang และคณะ¹⁴ ทำการศึกษาเพิ่มเติมโดยให้ลูกเดือยร้อยละ 10 และ 30 ผสมลงในอาหารหนู หรือให้สารสกัดด้วยน้ำจากลูกเดือย 0.3 กรัม/กิโลกรัม/วัน กับหนูที่เหนี่ยวนำให้เกิดโรคกระดูกพรุนโดยการตัดรังไข่ พบว่า สามารถผันกลับการลดลงของการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส และเพิ่มระดับแคลเซียมในเมตาฟิเซียลของกระดูกต้นขา และเพิ่มความหนาแน่นของกระดูกในหนูที่เป็นโรคกระดูกพรุนได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากลูกเดือยที่ความเข้มข้น 0.1 0.3 และ 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่งเสริมการเพิ่มจำนวนเซลล์สร้างกระดูกที่ได้จากกระดูกที่เพาะส่วนบนของหนูผ่านทางวิถีการส่งสัญญาณเอกซ์ตราเซลล์ลูลาร์ซิกแนล-เรกูเลทโคเนสสันทูหรือเอิร์กวันทู (extracellular signal-regulated kinase1/2 (ERK1/2) signaling pathway) จากที่กล่าวมาข้างต้นกลุ่มผู้วิจัยทั้ง 2 การศึกษาจึงอ้างว่าสารสกัดลูกเดือยมีความสามารถในการย้อนกลับสภาวะโรคกระดูกพรุนในหนูให้สู่สภาวะปกติได้และเสนอว่าสารสกัดลูกเดือยถือเป็นอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพในการป้องกันโรคกระดูกพรุน

แม้ว่าจะมีการศึกษาเกี่ยวกับผลของลูกเดือยต่อการป้องกันการเกิดโรคกระดูกพรุน อย่างไรก็ตามการศึกษาในหลอดทดลอง (*in vitro* study) ที่ผ่านมา ผลที่ได้จะมาจากการทดลองที่ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกระดูกหนู ส่วนที่ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์จะใช้เซลล์สร้างกระดูกจากหนูและตรวจสอบเพียงการเพิ่มจำนวนเซลล์เท่านั้น ปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาใดที่ทำการทดสอบผลของสารสกัดลูกเดือยต่อเซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิของมนุษย์ (primary human osteoblast cells) ในการทดสอบความเป็น

พิษของเซลล์ และการพอกพูนของแคลเซียมในหลอดทดลอง (*in vitro* calcification) จึงเป็นที่มาของการศึกษาวิจัยครั้งนี้โดยคาดหวังว่าจะได้ข้อมูลพื้นฐานเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงคุณสมบัติพื้นผิวไทเทเนียมของรากเทียมเพื่อใช้ในผู้ป่วยที่มีสภาวะกระดูกพรุนต่อไปในอนาคต

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมสารละลายของสารสกัดลูกเต๋อยที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

เริ่มจากการเตรียมอาหารเลี้ยงเซลล์มาตรฐานชนิด ดีเอ็มอีเอ็มที่มีฟีนอลเรด (Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) with phenol red, Gibco™, New York, USA) โดยการเติมแอลกลูตามีน (L-glutamine, GlutaMax™ supplement, Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA) ความเข้มข้น ร้อยละ 1 ยาต้านปฏิชีวนะและยาต้านเชื้อรา (antibiotic-antimycotic, Thermo Fisher Scientific) ความเข้มข้นร้อยละ 1 จากนั้นแบ่งอาหารเลี้ยงเซลล์ออกเป็น 2 กลุ่มตามปริมาณของซีรัม ที่ได้จากลูกอ่อนวัว (fetal bovine serum, FBS, HyClone™ FBS, HyClone, Utah, USA) ที่จะเติมเข้าไป คือความเข้มข้นร้อยละ 2 หรือ 15 จากนั้นทำการละลายสารสกัดลูกเต๋อยชนิดผง (Coix lacryma extract powder, Special Natural Products Co., Ltd., Chonburi, Thailand) ให้ได้ความเข้มข้น 600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วกรองด้วยที่กรองสารสำหรับไซริงค์ (Minisart® syringe filter pore size 0.2 µm, Sartorius-Stedim Biotech, Thermo Fisher Scientific) นำสารละลายของสารสกัดลูกเต๋อยที่ความเข้มข้น 600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ที่ได้มาเจือจางลงในอาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มอีเอ็มที่เตรียมไว้จนได้สารละลายของสารสกัดลูกเต๋อยตามความเข้มข้นที่ต้องการคือ 300 150 30 15 และ 3 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

2. การเพาะเลี้ยงเซลล์สร้างกระดูกปฐมนิคมของมนุษย์

เก็บชิ้นกระดูกมนุษย์จากการตัดปุ่มกระดูก (torectomy) ขากรรไกรบนและล่างที่ขัดขวางต่อการใส่ฟันเทียม จากอาสาสมัครที่ได้รับรายละเอียดเกี่ยวกับการทำวิจัยและเซ็นต์ชื่อในใบยินยอม ซึ่งผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (HE612210) ด้วยความสมัครใจ จากนั้นนำชิ้นกระดูกที่ได้มาตัดให้ได้ขนาด 2X2 ตารางมิลลิเมตร ล้างด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลินหรือพีบีเอส (phosphate buffer saline, PBS) แล้วนำไปจุ่มในสารทริปซินอีดีทีเอ (trypsin-EDTA, Thermo Fisher Scientific) ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 เพื่อกำจัดเนื้อเยื่อไขมันและเนื้อเยื่อฮิมาโตโปอิติก (hematopoietic tissue) จากนั้นนำไปวางในจานเพาะเลี้ยงขนาด 35x10 มิลลิเมตร (Coring, NY, USA) ซึ่งบรรจุอาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มอีเอ็มที่มีซีรัมร้อยละ 15

ภายใต้สภาวะมาตรฐาน ที่ควบคุมให้มีคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 และอากาศร้อยละ 95 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทำการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุกวันวันวันจนกระทั่งเซลล์กลั่นออกมาจากชิ้นกระดูกและเจริญเต็มจานเลี้ยงเซลล์ (confluence) จากนั้นทำการย้ายเซลล์ (subculture) ไปยังฟลาสก์เลี้ยงเซลล์ปริมาตร 25 ลูกบาศก์เซนติเมตร (Coring) ในอัตราส่วน 1:2 ของเซลล์ เพาะเลี้ยงต่อจนกระทั่งเซลล์เจริญเติบโตหนาแน่นร้อยละ 80 ของพื้นที่ทั้งหมดในฟลาสก์เลี้ยงเซลล์ ก่อนที่จะนำเซลล์ที่ได้ไปใช้ในการทดลองจะนำเซลล์ไปเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีการเติมออสทีโอเจนิคแฟกเตอร์ (osteogenic factors) ที่ประกอบด้วย เบตาไกลีเซอโรฟอสเฟต (β -glycerophosphate, glycerol-2-phosphate disodium salt hydrate, Sigma, St. Louis, MO, USA) ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ วิตามินซี (l-ascorbic acid sodium salt, Sigma) ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และเดกซามาทาโซน (dexamethasone, Sigma) ความเข้มข้น 10 นาโนโมลาร์ เป็นเวลา 21 วัน ไปย้อมด้วยอะลิซารินเรด-เอส (Alizarin Red-S staining, Sigma) ร้อยละ 1 ในแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ต่อน้ำ 1 ต่อ 100 โดยปริมาตร (1:100 (v/v) ammonium hydroxide/water, pH 4.2) เพื่อยืนยันคุณสมบัติการพอกแคลเซียมของเซลล์สร้างกระดูกปฐมนิคมของมนุษย์ในการศึกษารุ่นนี้จะใช้เซลล์รุ่น (passage) ที่ 3-5 จากอาสาสมัคร 3 คน

3. การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างกระดูกปฐมนิคมของมนุษย์โดยวิธีเอ็มทีที (MTT assay)

ทำการหว่านเซลล์สร้างกระดูกมนุษย์ความหนาแน่น 1×10^4 เซลล์/หลุม ในจานเลี้ยงเซลล์ชนิด 48 หลุม (48-well tissue culture plate, Corning) และเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มอีเอ็มที่มีซีรัมร้อยละ 15 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเปลี่ยนเป็นอาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มอีเอ็มที่ปราศจากซีรัม เพาะเลี้ยงต่อ 6 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดให้เปลี่ยนเป็นอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนประกอบของสารสกัดลูกเต๋อยตามความเข้มข้นต่าง ๆ ที่เตรียมไว้ ร่วมกับซีรัมร้อยละ 2 หรือ 15 และเพาะเลี้ยงต่อ 24 48 และ 72 ชั่วโมง โดยกำหนดให้เซลล์ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีเฉพาะซีรัมแต่ไม่มีสารสกัดลูกเต๋อยเป็นกลุ่มควบคุมแบบบวก ส่วนเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมและมีการเติมไตรตัน-เอกซ์ (Triton-X) ร้อยละ 1 เป็นกลุ่มควบคุมแบบลบ เมื่อครบกำหนดทำการทดสอบความเป็นพิษของเซลล์ด้วยวิธีเอ็มทีที ((3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide), MTT, USB Corporation, Cleveland, OH, USA) โดยดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออก ล้างด้วยพีบีเอส ดูดทิ้ง จากนั้นใส่สารละลายเอ็มทีทีที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดดีเอ็มอีเอ็มที่ปราศจากฟีนอลเรด (DMEM without

phenol red, Gibco) 100 ไมโครลิตร/หลุม นำไปเพาะเลี้ยงต่อ 30 นาที เมื่อครบเวลาดูดสารละลายเยื่อที่ี้ออก ล้างด้วยฟิเบส ใส่สารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์หรือดีเอ็มเอสโอ (dimethyl sulfoxide, DMSO, Merck, Germany) 100 มิลลิลิตร/หลุม นำไปเขย่าละลายผลึกออกแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ด้วยเครื่องวัดค่าดูดกลืนแสงไมโครเพลต (Microplate reader, Varioskan Flash, Thermo Fisher scientific) ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

$\text{ร้อยละการมีชีวิตของเซลล์} = \frac{\text{ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มที่ใส่สารสกัดลูกเดียวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ} \times 100}{\text{ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มที่ไม่ใส่สารสกัดลูกเดียว}}$	สมการที่ 1
---	------------

4. การพอกพูนของแคลเซียมในหลอดทดลองด้วยการย้อมอะลิซารินเรด (Alizarin red S staining)

ทำการหว่านเซลล์สร้างกระดูกมนุษย์ 2×10^4 เซลล์ต่อหลุม ในจานเลี้ยงเซลล์ชนิด 48 หลุม และเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ดีเอ็มอีเอ็มที่มีซีรัมร้อยละ 15 จนกระทั่งเซลล์เจริญเติบโตหนาแน่นร้อยละ 80-90 จึงเปลี่ยนไปเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 15 ที่มีการเติมออกซีโทจินิคแพกเตอร์และสารสกัดลูกเดียวที่ความเข้มข้น 0 3 15 30 150 300 และ 600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็นเวลา 14 และ 21 วัน เมื่อครบกำหนดให้คงสภาพเซลล์ด้วยเมทานอลเย็น (cold methanol) 10 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำไร้ประจุ (de-ionized water) แล้วย้อมด้วยสารละลายอะลิซารินเรด-เอส (Sigma) 3 นาที ดูดทิ้ง ตามด้วยการล้างด้วยน้ำไร้ประจุจนกระทั่งสี ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการวัดปริมาณแคลเซียมด้วยไซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์โมโนไฮเดรต (cetylpyridinium chloride monohydrate, Sigma) เข้มข้นร้อยละ 10 ในโซเดียมฟอสเฟต 10 มิลลิโมลลาร์ จำนวน 500 ไมโครลิตร/หลุม นำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้องเพื่อละลายสีที่ย้อมติด (de-staining) จากนั้นนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ระดับ 570 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณร้อยละการละลายของตะกอนสีในการทดลองแต่ละครั้งจะทำการหว่านเซลล์ 1 หลุม/กลุ่ม และทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง จากเซลล์สร้างกระดูกมนุษย์ของอาสาสมัคร 3 คน

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 2 หรือ 15 และการพอกพูนของแคลเซียมในหลอดทดลองมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยทดสอบการแจกแจงของข้อมูลด้วยสถิติทดสอบโคลโมโกรอฟ-สมิรโนฟ (Kolmogorov-Smirnov test) พบว่าข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติ จึงทำการ

ในการทดลองแต่ละครั้ง แต่ละกลุ่มการทดลองจะทำการหว่านเซลล์ 3 หลุม นำค่าการดูดกลืนแสงของทั้ง 3 หลุม มาหาค่าเฉลี่ยของการดูดกลืนแสง จากนั้นนำค่าเฉลี่ยที่ได้ของแต่ละกลุ่มมาคำนวณร้อยละการมีชีวิตของเซลล์โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมแบบบวกตามสมการที่ 1 ในการศึกษาครั้งนี้ทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง แต่ละครั้งจะใช้เซลล์สร้างกระดูกที่ได้มาจากอาสาสมัครคนละคน จากนั้นนำค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ในแต่ละครั้งที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติต่อไป

วิเคราะห์ข้อมูลต่อด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way analysis of variance, one-way ANOVA) และเปรียบเทียบพหุคูณ (multiple comparison) ด้วยวิธีเชฟเฟ (Scheffe) หรือดันทันที 3 (Dunnett T3) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยโปรแกรมเอสพีเอสเอส (SPSS® 22.0 for window)

ผลการศึกษา

1. ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดลูกเดียวต่อเซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิของมนุษย์ด้วยวิธีเอ็มทีที

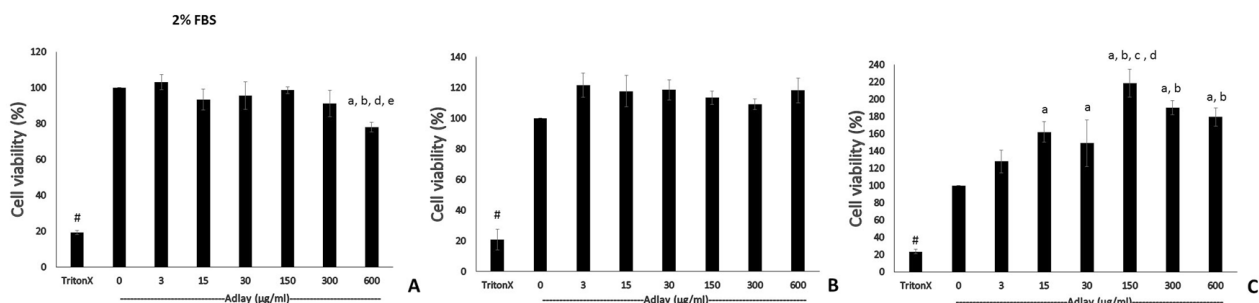
1.1 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดลูกเดียวต่อเซลล์สร้างกระดูกในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 2

เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเซลล์สร้างกระดูกมนุษย์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 2 ร่วมกับสารสกัดลูกเดียวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมง ผลที่ได้พบว่ากลุ่มที่ใส่สารสกัดลูกเดียวที่ความเข้มข้น 3-300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่ได้ใส่สารสกัดลูกเดียวซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมแบบบวกอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนกลุ่มที่มีความเข้มข้น 600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์น้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ไม่ใส่และใส่สารสกัดลูกเดียวที่ความเข้มข้น 3 30 และ 150 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่วนค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในกลุ่มควบคุมแบบลบ มีค่าน้อยที่สุดและแตกต่างจากกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 1A) จากผลการทดลองจะเห็นว่ากลุ่มที่ใส่สารสกัดลูกเดียวที่ความเข้มข้น 3-300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์มากกว่า 80 มีเพียงกลุ่มที่มีความเข้มข้น 600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เท่านั้นที่มีค่าประมาณร้อยละ 77 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดลูกเดียวไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิของมนุษย์เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 2 เป็นเวลา

24 ชั่วโมง ตรงกันข้ามกับกลุ่มที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีการเติมไตรตัน-เอกซ์ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมแบบลบที่แสดงให้เห็นถึงความเป็นพิษต่อเซลล์จากค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ที่มีค่าน้อยกว่า 50

เมื่อทำการทดสอบที่ 48 ชั่วโมง พบว่าค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ในกลุ่มที่ใส่สารสกัดลูกเต๋อยความเข้มข้น 3-600 ไมโครกรัม/มิลลิตร มีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุมแบบบวก แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 1B) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดลูกเต๋อยที่ความเข้มข้น 3-600 ไมโครกรัม/มิลลิตร ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างกระดูกของมนุษย์เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ 48 ชั่วโมง

เมื่อทำการเพาะเลี้ยงนานขึ้น คือ 72 ชั่วโมง พบว่าค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ในกลุ่มสารสกัดลูกเต๋อยความเข้มข้น 3-600 ไมโครกรัม/มิลลิตร มีค่ามากกว่ากลุ่มที่ไม่ใส่สารสกัดลูกเต๋อย และมีค่ามากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นในกลุ่มความเข้มข้น 3 ไมโครกรัม/มิลลิตร ที่มีค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์น้อยที่สุดและแตกต่างจากกลุ่มที่มีความเข้มข้น 150 300 และ 600 ไมโครกรัม/มิลลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนกลุ่มที่มีความเข้มข้น 150 ไมโครกรัม/มิลลิตร มีค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์มากที่สุดและแตกต่างจากกลุ่มที่มีความเข้มข้น 0 3 15 และ 30 ไมโครกรัม/มิลลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 1C)



รูปที่ 1 ร้อยละการมีชีวิตของเซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิของมนุษย์ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนประกอบของสารสกัดลูกเต๋อยที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และซีรัมร้อยละ 2 ที่ 24 (A) 48 (B) และ 72 ชั่วโมง (C) ข้อมูลแสดง ค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($n=3$) # แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างไตรตัน-เอกซ์ และกลุ่มอื่น ๆ a b c d และ e แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มสารสกัดลูกเต๋อย ที่มีความเข้มข้น 0 3 15 30 และ 150 ไมโครกรัม/มิลลิตร ($p<0.05$)

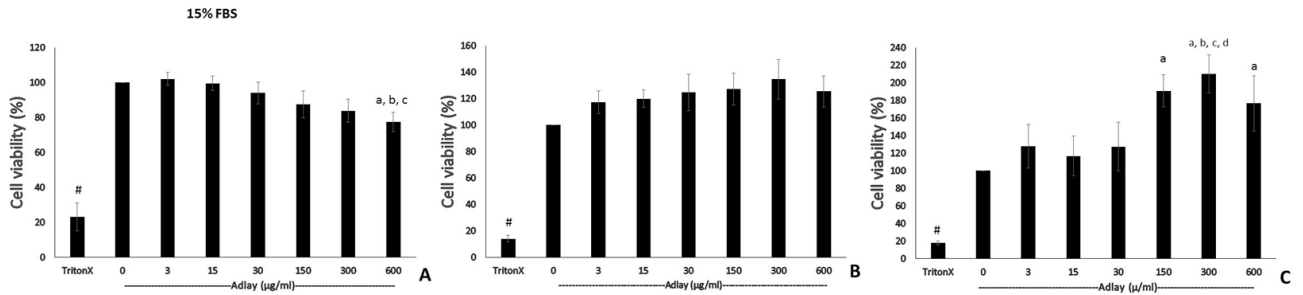
Figure 1 Primary human osteoblast cell viability cultured in DMEM containing adlay extract at various concentrations and 2 % FBS at 24 (A), 48 (B) and 72 (C) hours incubation. Data were presented as the mean \pm SD ($n=3$). # indicates significant difference between Triton-x and other groups. a, b, c, d, e indicates significant difference compared to 0, 3, 15, 30 and 150 $\mu\text{g/ml}$ adlay, respectively ($p<0.05$).

1.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดลูกเต๋อยต่อเซลล์สร้างกระดูกในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 15

ผลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเซลล์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 15 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ในกลุ่มควบคุมแบบบวกแตกต่างกับกลุ่มที่ใส่สารสกัดลูกเต๋อยที่ความเข้มข้น 3-300 ไมโครกรัม/มิลลิตร ที่มีค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์มากกว่าร้อยละ 80 อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่มีความเข้มข้น 600 ไมโครกรัม/มิลลิตร นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มที่มีความเข้มข้น 600 ไมโครกรัม/มิลลิตร มีค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ประมาณร้อยละ 77 ซึ่งมีค่าน้อยที่สุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกลุ่มความเข้มข้น 3 และ 15 ไมโครกรัม/มิลลิตร (รูปที่ 2A)

เมื่อทดสอบที่ 48 ชั่วโมง พบว่าค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ที่มีการใส่สารสกัดลูกเต๋อยความเข้มข้น 3-600 ไมโครกรัม/มิลลิตร มีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุมแบบบวกอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 2B)

เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ถึง 72 ชั่วโมง พบว่าค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ในกลุ่มสารสกัดลูกเต๋อยที่ความเข้มข้น 3-600 ไมโครกรัม/มิลลิตร มีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุมแบบบวก อย่างไรก็ตามมีเพียงกลุ่มที่มีความเข้มข้น 150 300 และ 600 ไมโครกรัม/มิลลิตร เท่านั้นที่มีค่ามากกว่ากลุ่มที่ไม่ใส่สารสกัดลูกเต๋อยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มสารสกัดลูกเต๋อยที่ความเข้มข้น 300 ไมโครกรัม/มิลลิตร มีค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์มากที่สุดและแตกต่างจากกลุ่มที่ความเข้มข้น 3 15 และ 30 ไมโครกรัม/มิลลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 2C)



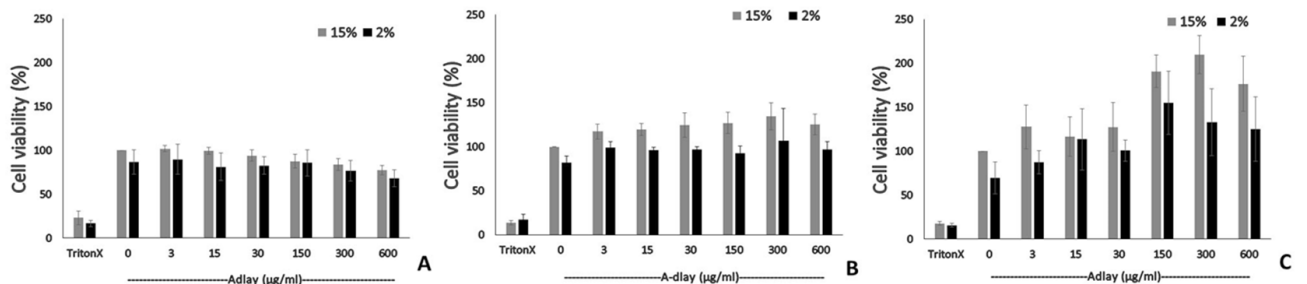
รูปที่ 2 ร้อยละการมีชีวิตของเซลล์สร้างกระดูกปฐมนุญของมนุษย์ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนประกอบของสารสกัดลูกเดือยที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ และซีรัมร้อยละ 15 ที่ 24 (A) 48 (B) และ 72 ชั่วโมง (C) ข้อมูลแสดง ค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3) # แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างไตรตัน-เอกซ์ และกลุ่มอื่น ๆ a b c และ d แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มสารสกัดลูกเดือยที่มีความเข้มข้น 0 3 15 30 และ 150 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (p<0.05)

Figure 2 Primary human osteoblast cell viability cultured in DMEM containing adlay extract at various concentrations and 15 % FBS at 24 (A), 48 (B) and 72 (C) hours incubation. Data were presented as the mean \pm SD (n=3). # indicates significant difference between Triton-x and other groups. a, b, c, d indicates significant difference compared to 0, 3, 15, 30 and 150 μ g/ml adlay, respectively (p<0.05).

1.3 ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดลูกเดือยต่อเซลล์สร้างกระดูกในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 2 เปรียบเทียบกับร้อยละ 15

เมื่อเปรียบเทียบการมีชีวิตของเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 2 และ 15 ที่ 24 48 และ 72 ชั่วโมง โดยให้ค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 15 และไม่มีการใส่สารสกัดลูกเดือยเป็นร้อยละ 100 ของ

แต่ละช่วงเวลาเพาะเลี้ยงเซลล์ (รูปที่ 3) จะเห็นว่าค่าเฉลี่ยการมีชีวิตของเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 15 มีค่ามากกว่าในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 2 ในทุกช่วงเวลานอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดลูกเดือยที่ใส่เพิ่มเข้าไปในความเข้มข้นต่างๆ ให้ผลต่อค่าการมีชีวิตของเซลล์สอดคล้องกันทั้งที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 15 หรือร้อยละ 2



รูปที่ 3 ร้อยละการมีชีวิตของเซลล์สร้างกระดูกปฐมนุญของมนุษย์ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนประกอบของสารสกัดลูกเดือยที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ และซีรัมร้อยละ 2 เปรียบเทียบกับซีรัมร้อยละ 15 ที่ 24 (A) 48 (B) และ 72 ชั่วโมง (C)

Figure 3 Primary human osteoblast cell viability cultured in DMEM containing adlay extract at various concentrations and 2 % FBS compare to 15 % FBS at 24 hours (A), 48 hours (B), and 72 hours (C) incubation.

2. การพอกพูนของแคลเซียมในหลอดทดลองด้วยการย้อมอะลิซารินเรด

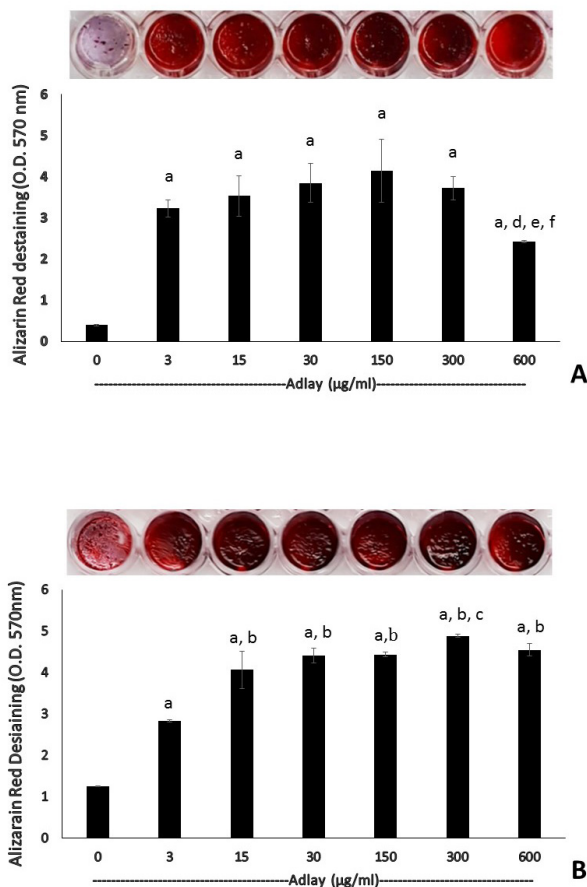
เมื่อทดสอบการพอกพูนของแคลเซียมในหลอดทดลองด้วยวิธีการย้อมอะลิซารินเรด พบว่าที่ 14 วัน เซลล์สร้างกระดูกปฐมนุญของมนุษย์ที่เพาะเลี้ยงร่วมกับสารสกัดลูกเดือยมีการย้อมติดสีแดงของอะลิซารินเรดมากกว่ากลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นว่า

กลุ่มที่ใส่สารสกัดลูกเดือยมีการพอกพูนของแคลเซียมมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้ใส่สารสกัดลูกเดือย ยืนยันผลที่ได้จากการวัดปริมาณของแคลเซียมโดยการละลายสีแดงที่ย้อมติดด้วยไซทิลไทริดีนีมคลอไรด์โมโนไฮเดรต พบว่ากลุ่มที่ใส่สารสกัดลูกเดือยในทุกความเข้มข้นจะมีปริมาณของแคลเซียมมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกลุ่มสารสกัดลูกเดือยความเข้มข้น 600

ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีการพอกพูนแคลเซียมน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ใส่สารสกัดลูกเต๋อยที่ความเข้มข้นอื่น ๆ และมีค่าน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่มีความเข้มข้น 30 150 และ 300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (รูปที่ 4A)

หลังจากเพาะเลี้ยง 21 วัน พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดลูกเต๋อยเพิ่มขึ้นเซลล์สร้างกระดูกมนุษย์จะมีการพอกพูนของแคลเซียมมากขึ้น และมีค่ามากกว่ากลุ่มที่ไม่ใส่สารสกัดลูกเต๋อย

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกลุ่มที่มีความเข้มข้น 3 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีการพอกพูนของแคลเซียมน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่มีความเข้มข้น 15-600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (รูปที่ 4B) นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ระยะเวลาเพิ่มขึ้นจะเกิดการพอกพูนของแคลเซียมมากขึ้น ซึ่งสังเกตได้จากการย้อมติดสีแดงของสีอะลิซารินเรดในวันที่ 21 มีสีแดงเข้มกว่าในวันที่ 14



รูปที่ 4 การพอกพูนของแคลเซียมในหลอดทดลองและร้อยละการละลายสีที่ย้อมติดในเซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิของมนุษย์ที่ 14 (A) และ 21 (B) วัน ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3) a b c d e และ f แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มสารสกัดลูกเต๋อยที่มีความเข้มข้น 0 3 15 30 150 และ 300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ($p < 0.05$)

Figure 4 In vitro calcification and percentage of alizarin red de-staining of primary human osteoblasts at 14 (A) and 21 (B) days. Data were presented as the mean \pm SD (n=3). a, b, c, d, e, f indicates significant difference compared to 0, 3, 15, 30, 150, 300 µg/ml adlay, respectively ($p < 0.05$).

บทวิจารณ์

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกๆ ที่ทำการทดสอบในหลอดทดลองของสารสกัดลูกเต๋อยกับเซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิของมนุษย์ แม้ว่าการศึกษาทางด้านชีววิทยาของเซลล์สร้างกระดูกในหลอดทดลองสามารถทำได้ในเซลล์ที่มีแหล่งที่มาแตกต่างกัน ทั้งจากเซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิที่ได้มาจากหลากหลายสายพันธุ์

(species) เช่น คน หนู (mouse/rat) กระต่าย และวัว หรือจากเซลล์ไลน์ (cell lines) ที่เป็นเซลล์อิมมอร์ทัล (immortalized cells) หรือเซลล์ไลน์มะเร็ง (malignant cell lines)³² อย่างไรก็ตามเซลล์แต่ละชนิดจะมีข้อดี ข้อด้อยและข้อจำกัดที่แตกต่างกันไป เช่น การใช้เซลล์สร้างกระดูกที่ได้จากสัตว์ เช่น หนู มีข้อดี

คือนำมาใช้ได้ง่าย สามารถเลือกใช้ได้ทุกตำแหน่งของกระดูก แต่มีข้อด้อยเรื่องความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ (interspecies differences) และจีโนมิกส์ (genomic) ส่วนการใช้เซลล์สร้างกระดูกปฐมนิคมของมนุษย์แม้ว่าจะไม่มีความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์และมีความสัมพันธ์กับการศึกษาทางคลินิกมากกว่า แต่ก็มียข้อด้อยคือมีข้อจำกัดเกี่ยวกับตำแหน่งของกระดูกที่นำมาใช้ และอาจมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องจากอาสาสมัครแต่ละรายและความแตกต่างทางพันธุกรรมที่อาจส่งผลต่อความแข็งแรงต่อเซลล์สร้างกระดูกมนุษย์ที่นำมาเพาะเลี้ยง การใช้เซลล์สร้างกระดูกปฐมนิคมไม่ว่าจะมาจากแหล่งใดเซลล์ที่ได้มาจะมีการเสื่อมสภาพของโครงสร้างและหน้าที่เมื่อเซลล์อายุมากขึ้น แตกต่างจากการใช้เซลล์ไลน์กระดูก (osteoblast cell line) ที่ใช้ได้อย่างไม่จำกัดจำนวนเซลล์และการดูแลรักษาทำได้ง่าย โดยเซลล์ไลน์กระดูกมีทั้งเซลล์ที่ได้จากหนู เช่น เอ็มซี3ที3-อี1 (MC3T3-E1) และเซลล์จากมนุษย์ที่เป็นเซลล์มะเร็ง เช่น ซาโอซ-2 (SaOs-2) และเอ็มจี-63 (MG-63) ซึ่งเซลล์เหล่านี้อาจมีพฤติกรรมของเซลล์บางอย่างที่เปลี่ยนแปลงไปจากเซลล์ปกติ ดังนั้นในการศึกษานี้จึงเลือกใช้เซลล์สร้างกระดูกปฐมนิคมของมนุษย์ในการทดลอง เนื่องจากต้องการลดปัจจัยความแตกต่างทางสายพันธุ์ของเซลล์และต้องการเชื่อมโยงผลการศึกษาที่ได้ไปใช้ในทางคลินิก

กระบวนการแปรสภาพของเซลล์สร้างกระดูก มีทั้งหมด 3 ขั้นตอน คือ 1) การเพิ่มจำนวนเซลล์ 2) การสร้างและสะสมเมทริกซ์ภายนอกเซลล์ (extracellular matrix) และ 3) การพอกแร่ธาตุ³³ โดยแต่ละขั้นตอนจะมีการสร้าง การสะสมสารต่าง ๆ ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน ซึ่งความแตกต่างนี้สามารถนำมาใช้ในการกำหนดช่วงระยะในการทดสอบการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์สร้างกระดูกได้ด้วยวิธีการที่ต่างกัน ในการศึกษานี้นอกจากจะทดสอบผลของสารสกัดลูกเต๋อยต่อความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างกระดูกปฐมนิคมของมนุษย์แล้ว ยังทำการทดสอบขั้นต้นอย่างง่ายเกี่ยวกับผลของลูกเต๋อยต่อการทำงานของเซลล์สร้างกระดูกมนุษย์ ในขั้นตอนการเพิ่มจำนวนเซลล์และการพอกแร่ธาตุ อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ไม่ได้ศึกษาการทำงานของเซลล์สร้างกระดูกทั้งหมด จำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติมในขั้นตอนการสร้างและสะสมเมทริกซ์ภายนอกเซลล์ต่อไปในอนาคต

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์สามารถทำได้หลายวิธี เช่น วิธีอะลามาร์บลู (alarmarBlue assay) วิธีแอลดีเอส (lactate dehydrogenase (LDH) assay) วิธีเอทีพี (adenosine tri-phosphate (ATP) assay) และวิธีย้อมสีเซลล์ที่มีชีวิตและเซลล์ตาย (live/dead cell staining) อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้เลือกใช้วิธีเอ็มทีทีในการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดลูกเต๋อยต่อเซลล์สร้างกระดูก เนื่องจากวิธีนี้เป็นวิธีที่ใช้วัดความเป็นพิษต่อเซลล์และวัดความมีชีวิตของเซลล์ที่ได้รับการยอมรับ ทำได้ง่าย ราคาไม่แพง และมีความแม่นยำในการทำซ้ำสูง (high reproducibility) วิธีเอ็มทีที

อาศัยหลักการว่าเซลล์ที่มีชีวิตจะมีไมโทคอนเดรียดีไฮโดรจีเนส (mitochondrial dehydrogenase) ที่จะเปลี่ยนสารละลายเอ็มทีทีซึ่งเป็นเกลือเตตราโซเลียม (tetrazolium salt) และมีสีเหลืองให้เป็นฟลิคฟอร์มาซาน (formazan) ที่มีสีม่วง ไม่ละลายน้ำ แต่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายดีเอ็มเอสโอ ได้สารละลายสีม่วงที่สามารถนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงได้³⁴ การศึกษานี้เริ่มต้นทดสอบโดยการเลี้ยงเซลล์สร้างกระดูกมนุษย์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ประกอบด้วยซีรัมร้อยละ 2 เนื่องจากต้องการลดปัจจัยในการเจริญเติบโตของเซลล์สร้างกระดูกมนุษย์ที่ได้จากซีรัมและให้เห็นผลจากสารสกัดลูกเต๋อยที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ชัดเจนยิ่งขึ้น ผลที่ได้พบว่าสารสกัดลูกเต๋อยที่ความเข้มข้น 3-600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างกระดูกปฐมนิคมของมนุษย์เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 2 ที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง ซึ่งบอกได้จากค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่ใส่สารสกัดลูกเต๋อยและมีค่ามากกว่าร้อยละ 50

การศึกษานี้ยังต้องการตรวจสอบเพิ่มเติมว่าสารสกัดลูกเต๋อยมีผลต่อการพอกพูนของแคลเซียมในหลอดทดลองหรือไม่ ซึ่งต้องทำการเพาะเลี้ยงเซลล์นาน 14-21 วัน โดยปกติแล้วเซลล์สร้างกระดูกมนุษย์จะทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนประกอบของซีรัมเท่ากับหรือมากกว่าร้อยละ 10 เพื่อให้เซลล์สามารถเจริญเติบโตได้อย่างสมบูรณ์แข็งแรง อย่างไรก็ตามจากการศึกษาของ Whitson และคณะ ในปี 1992³⁵ และการศึกษาของ McAlinden และ Wilsons ในปี ค.ศ. 2000³⁶ แนะนำว่าปริมาณของซีรัมร้อยละ 15 หรือ 20 เป็นปริมาณของซีรัมที่แนะนำเพื่อให้เกิดการเพิ่มจำนวนเซลล์และการพอกพูนของแคลเซียมของเซลล์สร้างกระดูก ดังนั้นในการศึกษานี้จึงทำการทดสอบผลของสารสกัดลูกเต๋อยต่อความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างกระดูกมนุษย์ขณะที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 15 ด้วย ผลที่ได้พบว่าค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับกลุ่มที่มีซีรัมร้อยละ 2 แต่เซลล์สร้างกระดูกที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 15 จะมีค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของเซลล์มากกว่าในกลุ่มที่มีซีรัมร้อยละ 2 ผลที่ได้นี้ช่วยยืนยันว่าซีรัมร้อยละ 15 ที่ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเซลล์ไม่มีผลต่อการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดลูกเต๋อยต่อเซลล์สร้างกระดูกปฐมนิคมของมนุษย์และปริมาณของซีรัมที่ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเซลล์มีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์สร้างกระดูกปฐมนิคมของมนุษย์ ดังนั้นในส่วนของการทดสอบผลของสารสกัดลูกเต๋อยต่อการพอกพูนของแคลเซียมในหลอดทดลองจึงเลือกใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 15 ในการเพาะเลี้ยงเซลล์

เมื่อพิจารณาที่ค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ทั้งที่มีซีรัมร้อยละ 2 และ

15 พบว่าที่เวลา 24 ชั่วโมง สารสกัดลูกเต๋อยที่ความเข้มข้น 3-600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างกระดูกมนุษย์ แต่ไม่ส่งเสริมการยึดเกาะและการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างกระดูกมนุษย์เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้ใส่สารสกัดลูกเต๋อย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มที่ไม่ใส่สารสกัดลูกเต๋อยความเข้มข้น 600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ที่พบว่ามีความเสี่ยงต่อการมีชีวิตของเซลล์น้อยกว่ากลุ่มที่ไม่ใส่สารสกัดลูกเต๋อยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อเพาะเลี้ยง 48 ชั่วโมงกลับพบว่ากลุ่มที่ไม่ใส่สารสกัดลูกเต๋อยความเข้มข้น 600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์เพิ่มมากขึ้นจนไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ไม่ใส่สารสกัดลูกเต๋อย แสดงให้เห็นว่าสารสกัดลูกเต๋อยที่ความเข้มข้น 600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่งเสริมการเพิ่มจำนวนเซลล์ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาที่เวลา 72 ชั่วโมง พบว่าในกลุ่มที่อาหารเลี้ยงเซลล์มีซีรัมร้อยละ 2 สารสกัดลูกเต๋อยที่ความเข้มข้น 15 30 150 300 และ 600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่งเสริมการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างกระดูกมนุษย์เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้ใส่สารสกัดลูกเต๋อย ขณะที่กลุ่มอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมร้อยละ 15 สารสกัดลูกเต๋อยที่ความเข้มข้น 150 300 และ 600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่งเสริมการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างกระดูกมนุษย์ ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Yang และคณะ¹⁴ ที่พบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากลูกเต๋อยที่ความเข้มข้น 0.1 0.3 และ 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่งเสริมการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างกระดูกที่ได้จากกะโหลกศีรษะของหนูตัวอ่อนที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรัมจากวัว (heat-inactivated fetal calf serum) นาน 24 ชั่วโมง การที่ผลการศึกษานี้แตกต่างจากการศึกษาของ Yang และคณะ¹⁴ ในช่วงระยะเวลาที่สารสกัดลูกเต๋อยมีผลต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์ ทั้งนี้อาจมาจากความแตกต่างของระเบียบวิธีการวิจัย เช่น ชนิดของเซลล์ ความเข้มข้นและแหล่งที่มาของสารสกัดลูกเต๋อย เทคนิคการวัดความมีชีวิตของเซลล์ และชนิดของซีรัมที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามผลที่ได้จากทั้งสองการศึกษาที่สื่อให้เห็นว่าสารสกัดลูกเต๋อยที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1-600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์และสามารถส่งเสริมการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างกระดูกได้

ในการศึกษานี้ยังพบว่าสารสกัดลูกเต๋อยที่ความเข้มข้น 3-600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่งเสริมการพอกพูนของแคลเซียมในหลอดทดลองของเซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิของมนุษย์ ซึ่งจะเห็นว่าค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มที่ไม่ใส่สารสกัดลูกเต๋อยมีค่ามากกว่ากลุ่มที่ไม่ใส่สารสกัดลูกเต๋อยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะเมื่อทำการเพาะเลี้ยงที่ 21 วัน ในกลุ่มที่ไม่ใส่สารสกัดลูกเต๋อยมีค่าการดูดกลืนแสงประมาณ 1.2 ขณะที่ในกลุ่มที่ไม่ใส่สารสกัดลูกเต๋อยมีสูงเกือบถึง 5 อย่างไรก็ตามค่าการดูดกลืนแสงที่สูงมากขนาดนี้อาจจะอยู่ในสภาวะอิ่มตัวของสารละลายของสื่อลิซารินเรดที่ย้อม

ติดหรือไม่ก็ได้ ดังนั้นการหาค่าขีดจำกัดบนสุดของความไว (sensitivity) ของค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตรของสารละลายของสื่อลิซารินเรดที่ย้อมติดเพิ่มเติมอาจจะช่วยยืนยันให้การแปลผลในส่วนนี้ถูกต้องชัดเจนมากยิ่งขึ้น ผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Yang และคณะ¹³ ที่พบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากลูกเต๋อยที่ความเข้มข้น 30-300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถเพิ่มระดับแคลเซียมในเมตาโฟเซียลของกระดูกต้นขาของหนูปกติที่ถูกกระตุ้นด้วยพาราไทรอยด์ฮอร์โมนและหนูที่ตัดรังไข่ขนาด 4 สัปดาห์ได้ การที่สารสกัดลูกเต๋อยสามารถส่งเสริมการพอกพูนของแคลเซียมในหลอดทดลองของเซลล์สร้างกระดูกมนุษย์ได้ อาจเป็นเพราะว่าลูกเต๋อยมีส่วนประกอบที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive component) หลายตัวที่ส่งผลในทางบวกต่อกระบวนการสร้างกระดูก เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acid) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และแร่ธาตุบางชนิด¹² ในลูกเต๋อยประกอบด้วยกรดฟีนอลิกหลายชนิดด้วยกัน แต่กรดฟีนอลิกหลักที่พบ ได้แก่ กรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid) กรดพี-ไฮดรอกซีเบนโซอิก (p-hydroxybenzoic acid) กรดพิกูมาริก (p-coumaric acid) และกรดวานิลลิก (vanillic acid)¹² มีการศึกษารายงานคุณสมบัติทางชีวภาพของกรดวานิลลิกกับกระบวนการสร้างกระดูก เช่น Xiao และคณะ³⁷ พบว่ากรดวานิลลิกจากพวงไข่มุกหรืออัลเดอร์เบอร์รี่สามารถกระตุ้นการทำงานของเซลล์สร้างกระดูกได้ โดยส่งเสริมการเพิ่มจำนวนเซลล์และการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสของเซลล์สร้างกระดูกหนูเอ็มซี3 ที3-อี1 และยูเอ็มอาร์ 106 (UMR 106) เพิ่มการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างกระดูก ได้แก่ ออสทีโอแคลซิน (osteocalcin) รันท์รีเลทเทดทรานสคริปชันแฟกเตอร์ทูหรือรันจทู (runt-related transcription factor 2, Runx2) และอัลคาไลน์ฟอสฟาเตส และเพิ่มอัตราส่วนของยีนออกซิทีโอโปรทีจีริน (osteoprotegerin, OPG) ต่อยูเอ็มอาร์ 106 นอกจากนี้ยังเพิ่มการพอกพูนของแคลเซียมในเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ของกระดูกหนู (rat bone mesenchymal stem cells) และกระตุ้นให้เกิดการเติมหมู่ฟอสเฟตของไมโทเจน-แอคทีเวเตดโปรตีนไคเนสไคเนสไคเนส (mitogen-activated protein kinase kinase 1/2 (MEK1/2)) และเอร์กินันท์ในเซลล์ยูเอ็มอาร์ 106 ได้ แสดงให้เห็นว่ากรดวานิลลิกทำหน้าที่คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen-like effects) ในการกระตุ้นการทำงานของเซลล์สร้างกระดูกผ่านทางวิธีการส่งสัญญาณแมพไคเนส-เมดิเอทเตดเอสโตรเจนรีเซพเตอร์ (MAP kinase (MEK/ERK)-mediated estrogen receptor signaling pathway)

เคอซีทิน (quercetin) และรูติน (rutin) เป็นสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่พบได้ในลูกเต๋อย^{11,12} จากการศึกษาของ

Srivastava และคณะ³⁸ พบว่าเควอซิทินและรูตินส่งเสริมการแปรสภาพของเซลล์สร้างกระดูก โดยสามารถเพิ่มการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส การพอกพูนของแคลเซียม และเพิ่มการแสดงออกของตัวบ่งชี้การแปรสภาพของเซลล์สร้างกระดูก ได้แก่ ออสทีโอพอนติน (osteopontin) ออสทีริกซ์ (osterix) ริงซ์ทู ออสทีโอโปรทีจีรีน และออสทีโอแคลซินของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่ได้จากไขกระดูกหนู นอกจากนี้ Satué และคณะ³⁹ ยังทำการศึกษาในเซลล์สร้างกระดูกหนูเอ็มซี3ที3-อี1 พบว่าเควอซิทินสนับสนุนการแสดงออกของยีนโบนโซอะโลโปรตีน (bone sialoprotein) และออสทีโอแคลซิน แต่ลดการแสดงออกของยีนแรงค์ไลแกนต์

ลูกเต๋อยังอุดมไปด้วยเกลือแร่หลายชนิด เช่น ฟอสฟอรัส และแมกนีเซียม ซึ่งเป็นเกลือแร่ที่พบได้ในกระดูก มีความสำคัญต่อกระบวนการสร้างและปรับแต่งกระดูก และมีส่วนสำคัญในการเสริมสร้างความแข็งแรงให้กับกระดูก⁴⁰ เช่น ฟอสฟอรัสจะทำงานควบคู่กับแคลเซียมในกระบวนการสร้างกระดูกโดยมีวิตามินดีช่วยให้เกิดการรวมตัว ส่วนแมกนีเซียมจะช่วยให้การเปลี่ยนรูปวิตามินดีให้อยู่ในรูปแบบที่ร่างกายนำไปใช้ได้ (active form) เพื่อช่วยในการดูดซึมแคลเซียมเพื่อให้กระดูกมีความหนาแน่นเพิ่มขึ้น ถือเป็นการสร้างเสริมความแข็งแรงให้กับกระดูก

จากที่กล่าวมาข้างต้นอาจกล่าวได้ว่ากระดูกเควอซิทิน รูติน ฟอสฟอรัส และแมกนีเซียม ที่พบในลูกเต๋อยาจเป็นสารที่มีความสำคัญอย่างมากต่อการพอกพูนของแคลเซียมในหลอดทดลอง ในอนาคตต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อในคุณสมบัตินี้ รวมถึงคุณสมบัติด้านอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องเกี่ยวกับกระบวนการสร้างกระดูก

การศึกษานี้ให้ข้อมูลเบื้องต้นบางส่วนว่าสารสกัดลูกเต๋อยที่มีความเข้มข้น 3-600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิของมนุษย์และส่งเสริมการพอกพูนของแคลเซียมในหลอดทดลอง อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับผลของสารสกัดลูกเต๋อยต่อการทำงานของเซลล์สร้างกระดูกมนุษย์ในด้านต่าง ๆ เช่น การแสดงออกของยีนและโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างกระดูก ก่อนที่จะนำมาประยุกต์ใช้ทางคลินิก เช่น การปรับปรุงพื้นผิวไททาเนียมสำหรับรากเทียมเพื่อนำไปใช้ในผู้ป่วยที่มีปัญหาเกี่ยวกับกระดูก เช่น ผู้ป่วยที่เป็นโรคกระดูกพรุนต่อไป

บทสรุป

ผลเบื้องต้นที่ได้จากการศึกษานี้สามารถสรุปได้ว่า สารสกัดลูกเต๋อยที่มีความเข้มข้น 3-600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิของมนุษย์ โดยสารสกัดลูกเต๋อยที่มีความเข้มข้น 150 300 และ 600 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่งเสริมการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างกระดูกเมื่อทำการเพาะเลี้ยงที่ 72 ชั่วโมง และสารสกัดลูกเต๋อยที่มีความเข้มข้น 3-600

ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สนับสนุนการทำงานของเซลล์สร้างกระดูกมนุษย์ในแง่ของการพอกพูนของแคลเซียมในหลอดทดลอง

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ทำการวิจัยขอขอบคุณคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์ และสนับสนุนทุนอุดหนุนในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณ นาย พิบุรณ์ เห่งณี ที่ให้ความสะดวกและช่วยเหลือในการจัดเก็บชิ้นกระดูก และเซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิของมนุษย์ตลอดการศึกษาในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Sambrook P, Cooper C. *Osteoporosis*. *Lancet* 2006;367(9527):2010-8.
2. Tsolaki IN, Madianos PN, Vrotsos JA. Outcomes of dental implants in osteoporotic patients. A literature review. *J Prosthodont* 2009; 18(4):309-23.
3. Venkatakrishnan C, Bhumathan S, Chandran C, Poovannan S. Dental implants in patients with osteoporosis – A review. *Biomed Pharmacol J* 2017;10(3):1415-18.
4. Misch C. Bone Density: A Key Determinant for Treatment Planning. In: Misch C, editor. *Dental Implant Prosthetics*. 2 ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Mosby; 2015. p. 237-52.
5. Gaetti-Jardim EC, Santiago-Junior JF, Goiato MC, Pellizer EP, Magro-Filho O, Jardim Junior EG. Dental implants in patients with osteoporosis: a clinical reality? *J Craniofac Surg* 2011;22(3):1111-3.
6. Holahan CM, Koka S, Kennel KA, Weaver AL, Assad DA, Regennitter FJ, et al. Effect of osteoporotic status on the survival of titanium dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008;23(5):905-10.
7. Famili P, Zavoral JM. Low Skeletal Bone Mineral Density Does Not Affect Dental Implants. *J Oral Implantol* 2015;41(5):550-3.
8. Giro G, Chambrone L, Goldstein A, Rodrigues JA, Zenóbio E, Feres M, et al. Impact of osteoporosis in dental implants: A systematic review. *World J Orthop* 2015;6(2):311-5.
9. Alghamdi HS, Cuijpers VM, Wolke JG, van den Beucken JJ, Jansen JA. Calcium-phosphate-coated oral implants promote osseointegration in osteoporosis. *J Dent Res* 2013;92(11):982-8.
10. Javed F, Vohra F, Zafar S, Almas K. Significance of osteogenic surface coatings on implants to enhance osseointegration under osteoporotic-like conditions. *Implant Dent* 2014;23(6):679-86.
11. An J, Yang H, Zhang Q, Liu C, Zhao J, Zhang L, et al. Natural products for treatment of osteoporosis: The effects and mechanisms on promoting osteoblast-mediated bone formation. *Life Sci* 2016;147:46-58.
12. Zhu F. Coix: Chemical composition and health effects. *Trends in Food Science & Technology* 2017;61:160-75.
13. Yang RS, Chiang W, Lu YH, Liu SH. Evaluation of osteoporosis prevention by adlay using a tissue culture model. *Asia Pac J Clin Nutr* 2008;17 Suppl 1:143-6.
14. Yang RS, Lu YH, Chiang W, Liu SH. Osteoporosis Prevention by Adlay (Yi Yi: The Seeds of Coix Lachryma-Jobi L. var. ma-yuen Stapf)

in a Mouse Model. *J Tradit Complement Med* 2013;3(2):134-8.

15. Huang DW, Chung CP, Kuo YH, Lin YL, Chiang W. Identification of compounds in adlay (Coix lachryma-jobi L. var. ma-yuen Stapf) seed hull extracts that inhibit lipopolysaccharide-induced inflammation in RAW 264.7 macrophages. *J Agric Food Chem* 2009;57(22):10651-7.

16. Huang DW, Kuo YH, Lin FY, Lin YL, Chiang W. Effect of Adlay (Coix lachryma-jobi L. var. ma-yuen Stapf) Testa and its phenolic components on Cu²⁺-treated low-density lipoprotein (LDL) oxidation and lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation in RAW 264.7 macrophages. *J Agric Food Chem* 2009;57(6):2259-66.

17. Choi G, Han AR, Lee JH, Park JY, Kang U, Hong J, *et al.* A comparative study on hulled adlay and unhulled adlay through evaluation of their LPS-induced anti-inflammatory effects, and isolation of pure compounds. *Chem Biodivers* 2015;12(3):380-7.

18. Manosroi J, Khositsuntiwong N, Manosroi A. Biological activities of fructooligosaccharide (FOS)-containing Coix lachryma-jobi Linn. extract. *J Food Sci Technol* 2014;51(2):341-6.

19. Choi Y, Jeong HS, Lee J. Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea. *Food Chemistry* 2007;103(1):130-38.

20. Tseng YH, Yang JH, Chang HL, Lee YL, Mau JL. Antioxidant properties of methanolic extracts from monaschal adlay. *Food Chemistry* 2006;97(3):375-81.

21. Manosroi A, Sainakham M, Chankhampan C, Abe M, Manosroi W, Manosroi J. Potent *in vitro* anti-proliferative, apoptotic and anti-oxidative activities of semi-purified Job's tears (Coix lachryma-jobi Linn.) extracts from different preparation methods on 5 human cancer cell lines. *J Ethnopharmacol* 2016;187:281-92.

22. Woo JH, Li D, Wilsbach K, Orita H, Coulter J, Tully E, *et al.* Coix seed extract, a commonly used treatment for cancer in China, inhibits NFκB and protein kinase C signaling. *Cancer Biol Ther* 2007;6(12):2005-11.

23. Yu F, Gao J, Zeng Y, Liu CX. Inhibition of Coix seed extract on fatty acid synthase, a novel target for anticancer activity. *J Ethnopharmacol* 2008;119(2):252-58.

24. Lu X, Liu W, Wu J, Li M, Wang J, Wu J, *et al.* A polysaccharide fraction of adlay seed (Coix lachryma-jobi L.) induces apoptosis in human non-small cell lung cancer A549 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2013;430(2):846-51.

25. Chang HC, Huang YC, Hung WC. Antiproliferative and chemopreventive effects of adlay seed on lung cancer *in vitro* and *in vivo*. *J Agric Food Chem* 2003;51(12):3656-60.

26. Hsu HY, Lin BF, Lin JY, Kuo CC, Chiang W. Suppression of allergic reactions by dehulled adlay in association with the balance of TH1/TH2 cell responses. *J Agric Food Chem* 2003;51(13):3763-9.

27. Chen HJ, Lo YC, Chiang W. Inhibitory effects of adlay bran (Coix lachryma-jobi L. var. ma-yuen Stapf) on chemical mediator release and cytokine production in rat basophilic leukemia cells. *J Ethnopharmacol* 2012;141(1):119-27.

28. Chen HJ, Hsu HY, Chiang W. Allergic immune-regulatory effects of adlay bran on an OVA-immunized mice allergic model. *Food Chem Toxicol* 2012;50(10):3808-13.

29. Chen HJ, Shih CK, Hsu HY, Chiang W. Mast cell-dependent allergic responses are inhibited by ethanolic extract of adlay (Coix lachryma-jobi L. var. ma-yuen Stapf) testa. *J Agric Food Chem* 2010;58(4):2596-601.

30. Choi EK, Cho YJ, Yang HJ, Kim KS, Lee IS, Jang JC, *et al.* Coix seed extract attenuates the high-fat induced mouse obesity via PPARγ and C/EBPα a downregulation. *Molecular & Cellular Toxicology* 2015;11(2):213-21.

31. Chung CP, Hsia SM, Lee MY, Chen HJ, Cheng F, Chan LC, *et al.* Gastroprotective activities of adlay (Coix lachryma-jobi L. var. ma-yuen Stapf) on the growth of the stomach cancer AGS cell line and indomethacin-induced gastric ulcers. *J Agric Food Chem* 2011;59(11):6025-33.

32. Czekanska EM, Stoddart MJ, Richards RG, Hayes JS. In search of an osteoblast cell model for *in vitro* research. *Eur Cell Mater* 2012;24:1-17.

33. Owen TA, Aronow M, Shalhoub V, Barone LM, Wilming L, Tassinari MS, *et al.* Progressive development of the rat osteoblast phenotype *in vitro*: reciprocal relationships in expression of genes associated with osteoblast proliferation and differentiation during formation of the bone extracellular matrix. *J Cell Physiol* 1990; 143(3):420-30.

34. Mueller H, Kassack MU, Wiese M. Comparison of the usefulness of the MTT, ATP, and calcein assays to predict the potency of cytotoxic agents in various human cancer cell lines. *J Biomol Screen* 2004;9(6):506-15.

35. Whitson SW, Whitson MA, Bowers DE, Jr., Falk MC. Factors influencing synthesis and mineralization of bone matrix from fetal bovine bone cells grown *in vitro*. *J Bone Miner Res* 1992;7(7):727-41.

36. McAlinden MG, Wilson DJ. Comparison of cancellous bone-derived cell proliferation in autologous human and fetal bovine serum. *Cell Transplant* 2000;9(4):445-51.

37. Xiao HH, Gao QG, Zhang Y, Wong KC, Dai Y, Yao XS, *et al.* Vanillic acid exerts oestrogen-like activities in osteoblast-like UMR 106 cells through MAP kinase (MEK/ERK)-mediated ER signaling pathway. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2014;144 Pt B:382-91.

38. Srivastava S, Bankar R, Roy P. Assessment of the role of flavonoids for inducing osteoblast differentiation in isolated mouse bone marrow derived mesenchymal stem cells. *Phytomedicine* 2013;20(8-9):683-90.

39. Satue M, Arriero Mdel M, Monjo M, Ramis JM. Quercitrin and taxifolin stimulate osteoblast differentiation in MC3T3-E1 cells and inhibit osteoclastogenesis in RAW 264.7 cells. *Biochem Pharmacol* 2013;86(10):1476-86.

40. Palacios C. The role of nutrients in bone health, from A to Z. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2006;46(8):621-8.

Characteristics of Gingival Biotype of Maxillary Incisors in Thai Young Adults

Pimchanok Sutthiboonyapan¹, Kraisorn Arsathong², Jutarat Phuensuriya², Jatupon Fuengfu², Hom-Lay Wang³ and Kajorn Kungsadalpipob¹

¹Department of Periodontology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

²Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

³Department of Periodontics and Oral Medicine, University of Michigan School of Dentistry, Ann Arbor, MI, USA

Abstract

The aim of this study was to determine gingival phenotype prevalence and characteristics in maxillary incisors in young adults. The maxillary incisors of 100 periodontally healthy subjects (mean age 22.20±0.84 years) were examined by 2 calibrated examiners. The gingival phenotype was identified using transparency probing and visual inspection. Clinical parameters; probing depth, gingival recession, clinical attachment level, gingival width, papilla height, and tooth shape were determined. Descriptive analysis was performed and the clinical parameters between gingival phenotypes were compared using the *t*-test and ANOVA. The result demonstrated that maxillary incisor teeth displayed a thin phenotype (66 %) when assessed using probe translucency. The gingival phenotype was associated with tooth shape ($p<0.01$). Thin gingival phenotype showed significantly narrower gingival width, but higher papilla height compared with the thick phenotype ($p<0.001$). A scalloped gingival contour was noted when the papilla height was more than or equal to 4 mm. A thick-flat, thick-scalloped, and thin-scalloped contour was associated with square, ovoid, and triangular tooth shape, respectively. In conclusion, most subjects demonstrated a thin gingival phenotype. The thin phenotype was associated with higher papilla height and triangular tooth shape, while the thick phenotype was associated with broader keratinized tissue width and ovoid/square tooth shape.

Keyword: Gingival phenotype, Gingival biotype, Papilla height, Tooth shape, Maxillary incisors

Received Date: Jan 8, 2019

Revised Date: Feb 4, 2019

Accepted Date: Mar 13, 2019

Doi: 10.14456/jdat.2019.38

Correspondence to:

Kajorn Kungsadalpipob Department of Periodontology Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University 34 Henry Dunant Rd., Wangmai, Pathumwan, Bangkok 10330, Thailand Tel: +66-2-218-8850, Fax: +66-2-218-8851 Email: Kajornk@gmail.com

Introduction

Variations in the shape of teeth and periodontium between individuals have been observed for many years.¹ In 1969, Ochsenbein and Ross identified two types of gingiva architecture; scalloped-thin and flat-thick, depending on the underlying bone morphology and tooth shape.² Subsequently, several terms were proposed to describe the morphologic characteristics of gingiva. Soft tissue characteristics were defined as gingival phenotype or gingival biotype.^{3,4} The term periodontal biotype⁵ and periodontal morphotype⁶ were also used to determine gingival morphology related to tooth shape, crown height, and gingival and bone morphology. Subsequently, gingival thickness, keratinized tissue, and tooth dimension were used to determine periodontal phenotype.³

The gingival phenotype has a significant impact on treatment outcome. The thin phenotype has higher risk of gingival recession and complete interdental papilla fill after an immediate implant placement.⁷ Higher amount of marginal bone loss was observed in thin gingival phenotype. Other trauma or inflammation results in gingival recession in thin phenotype, while pocket formation is seen in thick phenotype.^{1,8} Thick gingival phenotype demonstrated thick underlying bone.⁹ Thus, minimal ridge resorption is occurred after surgery, leading to more predictable result.¹⁰ The gingival phenotype was found to be the most significant factor to determine the facial gingival margin in dental implants.¹¹

The gingival phenotype can be determined using several methods. Direct measurement is the most accurate method to determine gingival thickness^{8,12} however, the injection to anaesthetize the tissue can traumatize the gingiva and create discomfort. Alternative methods were proposed, using a periodontal probe seen through the gingiva¹³ or visual assessment.¹⁴ Some technologies such as ultrasound and Cone Beam Computed Tomography (CBCT) can be also be used to determine gingival thickness with minimal tissue trauma and better accuracy.^{9,15,16} However, transparency probing and visual assessment are still more practical and widely used due to their simplicity.

Gingival contour is the appearance of gingival morphology in relation to teeth. It can be either flat or scalloped contour. Along with the visual assessment, the gingival contour can be classified into 3 categories; thin-scalloped, thick-flat and thick-scalloped contour.^{14,17}

It has been shown that different population represented different gingival phenotype and contour.¹⁸ To our knowledge, the gingival phenotype of maxillary incisors in relation to other clinical parameters is still inconclusive. Thus, the aim of the present study was determine the characteristics of gingival phenotype in to the maxillary incisors of a young adult periodontally healthy population.

Materials and Methods

Subjects

The study protocol was approved by the Ethics Committee, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University (Study ID: 3200502#45/2013) and has been conducted in full accordance with the World Medical Association Declaration of Helsinki. A hundred and five dental students from the Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, ages 20–24 participated in this cross-sectional study. Sample size calculation was performed. The inclusion criteria were; having all four maxillary anterior teeth, no history of orthodontic treatment, and good oral hygiene and gingival health. Subjects were excluded if there were clinical signs of periodontal disease defined as having pockets exceeding 3 mm or taking medications with any known effect on the periodontal soft tissues. Oral hygiene instructions, tooth polishing, and calculus removal (if necessary) were provided to all subjects. All subjects provided informed consent.

Clinical parameters

The intra- and inter-examiner reliability of the clinicians who performed the clinical examinations was determined. The Pearson's correlation coefficient of inter- and intra-examiner reliability was 0.666–1.000 ($p < 0.01$) and the corresponding kappa statistic was 0.767–1.000 ($p < 0.01$).

Six clinical parameters were evaluated by two calibrated clinicians (KK and PS) as follows:

1. Gingival phenotype was assessed using two methods.

1.1) Transparency probing

The evaluation was based on the transparency of the periodontal probe (CPU 15 UNC, Hu-Friedy, Chicago, IL, USA) through the gingival margin while probing the sulcus at the mid-facial aspect of the 4 incisors. If the outline of the underlying periodontal probe could be seen through the gingiva, it was categorized as thin; if not, it was categorized as thick¹³ (Fig. 1).

1.2) Visual inspection

Gingival contour was categorized into 3 types: Thin-scalloped, Thick-flat, and Thick-scalloped gingiva¹⁴, based on gingival curvature and morphology by visual assessment. Clinical photos of the upper anterior teeth were taken and evaluated to confirm the clinical findings.

2. Probing depth (PD)

A periodontal probe (CPU 15 UNC, Hu-Friedy, Chicago, IL, USA) was used to measure the PD to the nearest

0.5 mm at the mid-facial, mesio-facial, and disto-facial aspect of the four incisors.

3. Gingival recession (RE)

The distance between the free gingival margin and the cemento-enamel junction was measured at the mid-facial, mesio-facial, and disto-facial aspect of the four incisors using the same periodontal probe. A positive number was recorded if there was gingival recession.

4. Gingival width (GW)

This parameter was defined as the distance from the free gingival margin to the mucogingival junction. The same periodontal probe was used to measure at the mid-facial to the nearest 0.5 mm.

5. Papilla height (PH)

PH was defined as the distance from the top of the interdental papilla to a line connecting the mid-facial soft tissue margin of the two adjacent teeth. PH was assessed to the nearest 0.5 mm using the same periodontal probe at the mesial and the distal aspect of both central incisors (Fig. 2).



Figure 1 Illustration of thin (A) and thick (B) gingival phenotype by transparency probing method.

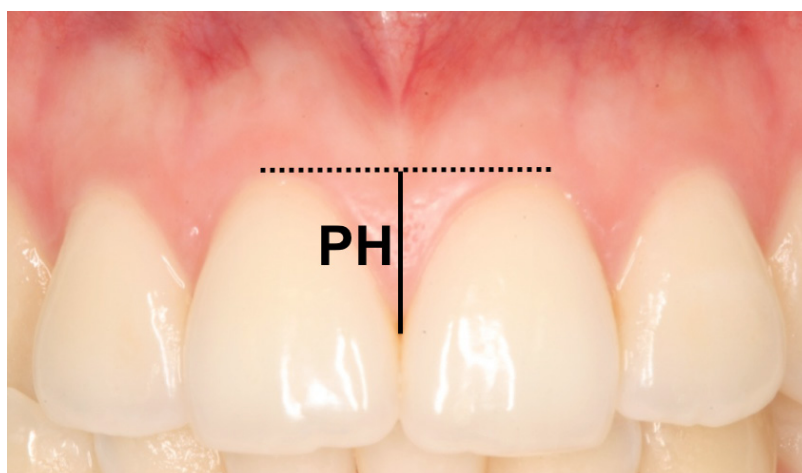


Figure 2 Measurement of papilla height (PH).

6. Tooth shape (TS)

Visual inspection was performed to categorize tooth shape¹⁹ as follows:

- Square shape was defined as a tooth with parallel interproximal lines.
- Triangular shape was defined as a tooth with flared interproximal lines from the gingival margin to the incisal edge.
- Oval shape was defined as a tooth with interproximal lines that curved towards each other incisally and cervically.

Statistical analysis

The descriptive data; tooth shape, gingival phenotype of each tooth, was used to categorize each subject. The characteristics presented in most of their anterior teeth was used, otherwise, those of the central incisors were used.

Descriptive analysis was performed to determine the prevalence of gingival phenotype and tooth shape. Associations between gingival phenotype and gender and tooth shape were analyzed using the Chi-square test. The difference between clinical parameters and gingival phenotype was analyzed using the independent *t*-Test and ANOVA after testing for normal distribution with the Kolmogorov-Smirnov test (SPSS version 16, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). A significance level of $\alpha = 0.05$ was used.

Results

Based on the exclusion criteria, 100 periodontally healthy Thai dental students with 400 maxillary incisors were examined. The subjects comprised 42 males and 58 females with a mean age of 22.20 ± 0.84 years.

The majority of the subjects (66 %) had thin gingival phenotype when assessed by probe translucency, and 42 % had a thin-scalloped gingiva contour. The same trend was also demonstrated in both central and lateral incisors (data not shown). There was no significant difference between gender and gingival phenotype (Table 1).

The periodontal parameters of the central (CI) and lateral incisors (LI) were similar (Table 2). There were no differences in mean PD and RE between thick and thin gingival phenotypes. However, the maxillary central and lateral incisors with a thick gingival phenotype had a significantly wider GW and lower PH compared with teeth with a thin phenotype (GW = 5.51 ± 1.10 vs. 4.84 ± 1.21 mm; PH = 4.23 ± 0.74 vs. 3.84 ± 0.94 mm; $p \leq 0.01$). Moreover, subjects with thick-flat gingiva demonstrated a significantly lower PH than those with thick-scalloped and thin-scalloped gingiva (3.06 ± 0.66 vs. 4.41 ± 0.56 and 4.38 ± 0.65 mm, respectively) ($p \leq 0.01$). A flat gingival contour was observed when the PH < 4 mm in 90 % of the subjects while over 70 % of the subjects had a scalloped gingival contour when the PH was ≥ 4 mm (Table 1).

The prevalence of tooth shape when categorized into ovoid, square, and triangular teeth was 33 %, 38 % and 29 %, respectively. Ovoid and square tooth shape was the most common found in females (37.90 %), while square tooth shape was the most prevalent in males (38.10 %). There was no significant association between tooth shape and gender. However, a strong association

between gingival phenotype and tooth shape was found ($p<0.01$). A thick gingival phenotype was associated with square and ovoid teeth, while a thin gingival phenotype was associated with square and triangular teeth. Significant associations were found between thick-flat gingiva and square teeth, thick-scalloped gingiva and ovoid teeth, and thin-scalloped gingiva and triangular teeth (Fig. 3, Table 3).

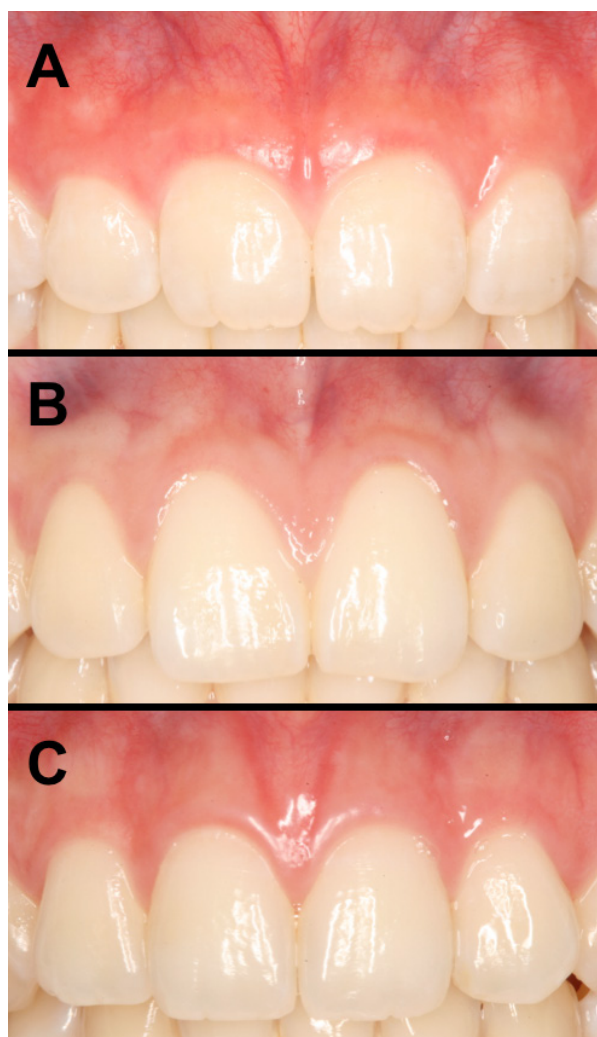


Figure 3 Different tooth shape presented in different gingival phenotype. A) Square teeth with thick-flat gingiva. B) Triangular teeth with thin-scalloped gingiva. C) Ovoid teeth with thick-scalloped gingiva.

Table 1 Distribution of gender, gingival width, and papilla height according to gingival phenotype and gingival contour.

	Gender		GW		PH	
	Male	Female	<5 mm	≥5 mm	<4 mm	≥4 mm
Gingival phenotype						
- Thick	17 (40 %)	17 (29 %)	7 (20 %)	27 (80 %)	21 (62 %)	13 (38 %)
- Thin	25 (60 %)	41 (71 %)	37 (56 %)	29 (44 %)	19 (29 %)	47 (71 %)
Gingival contour						
- Thick flat	8 (19 %)	15 (26 %)	2 (8 %)	21 (92 %)	21 (91 %)	2 (9 %)
- Thick scalloped	19 (45 %)	16 (27 %)	15 (43 %)	20 (57 %)	8 (23 %)	27 (77 %)
- Thin scalloped	15 (36 %)	27 (47 %)	27 (64 %)	15 (36 %)	11 (26 %)	31 (74 %)

Table 2 Comparison of clinical parameters between gingival phenotype and gingival contour (mean (SD))

	Gingival phenotype		Gingival Contour		
	Thick	Thin	Thick flat	Thick scalloped	Thin scalloped
PD (mm)					
CI	1.78 (0.40)	1.77 (0.30)	1.74 (0.37)	1.81 (0.39)	1.76 (0.25)
LI	1.76 (0.31)	1.82 (0.30)	1.80 (0.30)	1.83 (0.35)	1.80 (0.29)
RE (mm)					
CI	-1.70 (0.41)	-1.60 (0.53)	-1.62 (0.42)	-1.79 (0.41) †	-1.50 (0.57) ‡
LI	-1.70 (0.49)	-1.56 (0.49)	-1.67 (0.49)	-1.64 (0.49)	-1.54 (0.49)
GW (mm)					
CI	5.51 (1.10)	4.84 (1.21) **	5.96 (1.05)	5.11 (1.19) ††	4.54 (1.01) ††
LI	5.48 (1.25)	4.82 (1.21) *	5.87 (1.21)	4.95 (1.10) ††	4.58 (1.10) ††
PH (mm)					
CI	3.84 (0.94)	4.23 (0.74) *	3.06 (0.66)	4.41 (0.56) ††	4.38 (0.65) ††
LI	3.35 (0.98)	3.83 (0.72) **	2.86 (0.76)	3.97 (0.64) ††	4.03 (0.61) ††

* significant difference between thick&thin $P < 0.01$

** significant difference between thick&thin $P < 0.001$

‡ significant difference between thick flat&thin scalloped $P < 0.01$

†† significant difference between thick flat&thin scalloped $P < 0.001$

† significant difference between thick flat&thick scalloped $P < 0.01$

†† significant difference between thick flat&thick scalloped $P < 0.001$

Table 3 The relationship between gingival parameter and tooth shape.

Gingival parameter		Tooth shape (%)		
		ovoid	square	triangular
Gingival phenotype	Thick	47.10*	41.20*	11.80
	Thin	25.80	36.40*	37.90*
Gingival contour	Thick flat	39.10	56.50*	4.30
	Thick scalloped	42.90*	31.40	25.70
	Thin scalloped	21.40	33.30	45.20*

* statistically significance ($p < 0.05$)

Discussion

The present study evaluated the prevalence and characteristics of gingival phenotype in Thai-young adults. We found that the majority of subjects presented with a thin gingival phenotype with scalloped gingival contour. The subjects were dental students who tended to have healthy periodontal condition and good oral hygiene practice. Assessment of gingival phenotype should be done only when the gingival tissue is not inflamed. ;otherwise, misinterpretation can occur.

There is wide variation in the definitions used to classify gingival phenotype. Some studies classified the phenotype based on gingival thickness into thick and thin phenotypes.^{8,12,13} Other studies considered tooth morphology in addition to gingival morphology and thickness.^{1,6,14} Currently, there is no consensus definition and categorization of gingival phenotype.¹⁷ Thus, the term gingival phenotype was used in the present study and evaluated using two methods.

We found that 66 % of the subjects had thin gingival phenotype and thin-scalloped gingival contour. This result is different from those of previous studies which, overall, a thick gingival phenotype (51.90 %) was found more often compared with a thin phenotype, according to a systematic review.¹⁷ Difference in prevalence of gingival phenotype between studies may be due to study criteria in the examination or survey. In the systematic review, entire anterior teeth and/or premolars were included in the analysis, while only maxillary incisors were evaluated in our study. However, the high prevalence of a thin-scalloped gingival contour in our study was similar to that of a previous investigation.¹⁴

No association between gingival phenotype and gender was found in our subjects, which is in agreement with other studies.^{20,21} However, in Caucasians and Indians, a significant association was found between gender and gingival phenotype.^{14,18} In these studies, male maxillary central incisors were associated with a thick gingival phenotype while those of females were associated with a thin gingival phenotype. The prevalence of a specific gingival phenotype

may vary depending on ethnic genetic variations that impact tooth morphology and the periodontium.¹⁸

All subjects presented with a low PD, demonstrating healthy periodontal status. The mean GW of the upper incisors was 5.08 ± 1.21 mm, which was similar to previous studies.^{6,14,22} Thus, 5 mm GW was used to classify subjects in Table 1. GW represents the zone of keratinized gingiva which the greatest width usually found in the maxillary anterior region.²³ A wider zone of keratinized tissue width was significantly associated with a thick phenotype, while a narrower zone was significantly associated with a thin phenotype. This relationship has been noted in other studies.^{6,14} Broad keratinized tissue zone in combination with a thick gingival phenotype may lead to the low incidence of gingival recession seen in those areas after nonsurgical periodontal therapy.⁸

Transparency probing, and visual assessment were used for gingival evaluation in our study. Transparency probing was originally used for determining the gingival thickness on the facial aspect of dental implants.¹³ Subsequently, visual assessment was used as a simple method for clinical practice.¹⁴ However, a significant difference between visual assessment versus transparency probing and direct measurement was demonstrated. Visual assessment always detected a thin phenotype when the gingival thickness was less than 0.6 mm, and a thick phenotype when the thickness more than 1 mm. When using transparency probing, a thin phenotype was detected if the gingival thickness was 0.6 mm while finding a thick phenotype when the gingival thickness was more than 1.2 mm.¹² The use of transparency probing provides a similar assessment compared to using direct measurement and thus, it is more reliable to evaluate gingival thickness compared with visual assessment.

We found that in both thick and thin gingiva, the PH seen in scalloped contour, which was usually >4 mm, was significantly higher compared with that of the flat type. It has been stated that a scalloped contour will be assessed when the PH is >4 mm.²⁴ In the present

study, the 4 mm PH was used to categorize patient to determine gingival contour and our findings supported the previous statement. This finding demonstrated that although visual assessment was accurate for categorizing the gingival contour as scalloped or flat, it is not accurate for determining gingival thickness. Therefore, we suggest that both methods should be used to analyze gingival morphology. Gingival thickness should be assessed by transparency probing and gingival contour should be determined by visual assessment. Measuring PH and using 4 mm as the break point should be used to determine the gingival contour leading to more accurate risk assessment.

Square tooth morphology was found the most in our subjects. Females tended to have square and ovoid tooth shape and males have square and triangular tooth shape, however no significant association between gender and tooth shape was found. Our results were different from another study that showed females were associated with triangular shape while males were associated with square tooth shape.²⁵ The ethnicities of the subjects between studies may explain these disparate findings.

The gingival contour affects the visual appearance of tooth shape. The association between gingival phenotype and tooth shape was shown in several studies.^{1,6,14,26} Thick gingiva was associated with a square (short-wide) tooth shape and thin gingiva was associated with a tapered (long-narrow) tooth shape. We identified a scalloped contour in both thick and thin phenotypes in teeth where the interproximal lines converged cervically. Moreover, a previous study determined that a scalloped gingival contour was found along with slender teeth, regardless of gingival thickness.¹⁴ In our study, tooth shape was classified into 3 types and each type was significantly associated with a different gingival contour. A thick-flat gingival contour was associated with square teeth, a thick-scalloped gingival contour was associated with ovoid teeth, while a thin-scalloped gingival contour was associated with triangular teeth.

In this study, we included subjects with no history of orthodontic treatment, because tooth position may affect the gingival phenotype. If the teeth are not

in alignment in a facio-palatal position, different gingival thicknesses and tooth morphology may be present between teeth. This condition may result in different gingival phenotypes/contours seen between the left and right central and lateral incisors. Thus, representative characteristics needed to be determined at the subject level. The process used to determine the subject level characteristics was based on previous studies.^{12,14}

The present study highlights the possible impact of ethnicity on teeth and soft tissue variations. Thai young adults tend to have a thin gingival phenotype and slender teeth, thus, may have higher esthetic risk after dental treatment. Clinicians should be aware of these differences to modify the patient's treatment plan accordingly to each individual. A future study may be conducted to determine gingival phenotype using ultrasound or CBCT in addition to the two gingival assessment methods used in our study to confirm the reliability of the assessment. A long-term esthetic risk assessment on maxillary anterior teeth should also be performed amongst different gingival phenotype.

Conclusions

A thin gingival phenotype with scalloped gingival contour was most commonly found in the maxillary incisors of this Thai-young adult group. A thin phenotype was associated with slender teeth, higher papilla height, and narrower gingival width, while a thick phenotype was associated with square teeth, less papilla height, and wider gingival width. Transparency probing in combination with visual assessment should be used for optimally evaluating the gingival phenotype. The identification of a scalloped gingival contour can be confirmed when the papilla height is > 4 mm. Gingival phenotype and contour should be determined in routine periodontal examination.

Acknowledgement

This study was supported by the Dental Research Fund, Dental Research Project 3200502#37/2013, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University.

Acknowledgement

1. Olsson M, Lindhe J. Periodontal characteristics in individuals with varying form of the upper central incisors. *J Clin Periodontol* 1991;18(1):78–82.
2. Ochsenbein C, Ross S. A reevaluation of osseous surgery. *Dent Clin North Am* 1969;13(1):87–102.
3. Müller HP, Eger T. Gingival phenotypes in young male adults. *J Clin Periodontol* 1997;24(1):65–71.
4. Weisgold AS. Contours of the full crown restoration. *Alpha Omegan* 1977;70(3):77–89.
5. Seibert J, Lindhe J. Esthetics and periodontal therapy. In: Textbook of Clinical Periodontology. 2nd ed. Copenhagen, Denmark: Munksgaard; 1989. p. 477–514.
6. Olsson M, Lindhe J, Marinello CP. On the relationship between crown form and clinical features of the gingiva in adolescents. *J Clin Periodontol* 1993;20(8):570–7.
7. Annibali S, Bignozzi I, Iacovazzi L, La Monaca G, Cristalli MP. Immediate, early, and late implant placement in first-molar sites: a retrospective case series. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2011;26(5):1108–22.
8. Claffey N, Shanley D. Relationship of gingival thickness and bleeding to loss of probing attachment in shallow sites following nonsurgical periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 1986;13(7):654–7.
9. Fu JH, Yeh CY, Chan HL, Tatarakis N, Leong DJM, Wang HL. Tissue biotype and its relation to the underlying bone morphology. *J Periodontol* 2010;81(4):569–74.
10. Kao RT, Fagan MC, Conte GJ. Thick vs. thin gingival biotypes: a key determinant in treatment planning for dental implants. *J Calif Dent Assoc* 2008;36(3):193–8.
11. Nisapakultorn K, Suphanantachai S, Silkosessak O, Rattanamongkolgul S. Factors affecting soft tissue level around anterior maxillary single-tooth implants. *Clin Oral Implants Res* 2010;21(6):662–70.
12. Kan JY, Morimoto T, Rungcharassaeng K, Roe P, Smith DH. Gingival biotype assessment in the esthetic zone: visual versus direct measurement. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2010;30(3):237–43.
13. Kan JY, Rungcharassaeng K, Umezaki K, Kois JC. Dimensions of peri-implant mucosa: an evaluation of maxillary anterior single implants in humans. *J Periodontol* 2003;74(4):557–62.
14. De Rouck T, Eghbali R, Collys K, De Bruyn H, Cosyn J. The gingival biotype revisited: transparency of the periodontal probe through the gingival margin as a method to discriminate thin from thick gingiva. *J Clin Periodontol* 2009;36(5):428–33.
15. Januário AL, Barriviera M, Duarte WR. Soft tissue cone-beam computed tomography: a novel method for the measurement of gingival tissue and the dimensions of the dentogingival Unit. *J Esthet Restor Dent* 2008;20(6):366–73.
16. Tsiolis FI, Needleman IG, Griffiths GS. Periodontal ultrasonography. *J Clin Periodontol* 2003;30(10):849–54.
17. Zweers J, Thomas RZ, Slot DE, Weisgold AS, Van der Weijden FG. Characteristics of periodontal biotype, its dimensions, associations and prevalence: a systematic review. *J Clin Periodontol* 2014;41(10):958–71.
18. Vandana KL, Savitha B. Thickness of gingiva in association with age, gender and dental arch location. *J Clin Periodontol* 2005;32(7):828–30.
19. Williams J. A new classification of human teeth with special reference to a new system of artificial teeth. *Dent Cosm* 1914;52:627–8.
20. Cook DR, Mealey BL, Verrett RG, Mills MP, Noujeim ME, Lasho DJ, et al. Relationship between clinical periodontal biotype and labial plate thickness: an *in vivo* study. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2011;31(4):344–54.
21. Fischer KR, Richter T, Kebschull M, Petersen N, Fickel S. On the relationship between gingival biotypes and gingival thickness in young Caucasians. *Clin Oral Implants Res* 2015;26(8):865–9.
22. Stein JM, Lintel-Höping N, Hammäcker C, Kasaj A, Tamm M, Hanisch O. The gingival biotype: measurement of soft and hard tissue dimensions - a radiographic morphometric study. *J Clin Periodontol* 2013;40(12):1132–9.
23. Ainamo J, Löe H. Anatomical characteristics of gingiva: a clinical and microscopic study of the free and attached gingiva. *J Periodontol* 1966;37(1):5–13.
24. Kois JC. Predictable single-tooth peri-implant esthetics: five diagnostic keys. *Compend Contin Educ Dent* 2004;25(11):895–6, 898, 900 passim; quiz 906–7.
25. Horvath SD, Wegstein PG. The correlation between anterior tooth form and gender—a 3D analysis in humans. *Eur J Esthet Dent* 2012;7(3):334–43.
26. Stellini E, Comuzzi L, Mazzocco F, Parente N, Gobatto L. Relationships between different tooth shapes and patient's periodontal phenotype. *J Periodontol Res* 2013;48(5):657–62.

Association of Skeletal Bone Mineral Density and Periodontitis in Postmenopausal Women of the Electricity Generating Authority of Thailand (EGAT)

Rapatchata Suthasinekul¹, Sanutm Mongkornkarn¹, Chanika Sritara², Attawood Lertpimonchai¹, Suphot Tamsailom¹, Artit Udomsak³

¹Department of Periodontology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok

²Division of Nuclear Medicine, Department of Diagnostic and Therapeutic Radiology, Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok

³Medical and Health Department, Health Division, Electricity Generating Authority of Thailand, Nonthaburi

Abstract

This study aimed to investigate the association between skeletal bone mineral density (BMD) and periodontitis in postmenopausal women of the Electricity Generating Authority of Thailand (EGAT) workers. This cross-sectional study comprised of 395 postmenopausal women, aged 35-82 years old. BMD was assessed at three skeletal sites by using dual-energy X-ray absorptiometry. BMD values at each site were converted into T-scores. The t-score at the worst site was used to categorize each participant into osteoporosis, osteopenia, or normal BMD groups. The periodontal assessments included probing depth (PD), clinical attachment level (CAL), plaque score, and number of remaining teeth. The participants were classified into the no/mild periodontitis or moderate/severe periodontitis groups. The mean BMD between the periodontitis groups and the mean periodontal variables between BMD categories were compared. The degree of association between the BMD groups and periodontitis, adjusted for known confounders, was analyzed using binary logistic regression. Comparing the two periodontitis groups, there was no significant difference in the mean BMD at any skeletal sites or at the worst site. Among the BMD groups, there was no significant difference in mean number of remaining teeth, mean PD, and mean plaque score, while the mean CAL difference of 0.3 mm was demonstrated between the osteopenia and osteoporosis groups. ($P<0.001$). After adjusting for confounders, there was no significant association between osteoporosis and periodontitis in postmenopausal participants, whereas increasing age and plaque score $\geq 40\%$ were the factors significantly associated with moderate/severe periodontitis ($P<0.05$). There was no significant association between osteoporosis and periodontitis in postmenopausal women of the EGAT population. However, studies in various populations should confirm this finding.

Keywords: Bone density, Osteoporosis, Periodontal-systemic disease interactions, Periodontitis, Postmenopausal

Received Date: Jan 18, 2019

Revised Date: Feb 4, 2019

Accepted Date: Mar 9, 2019

Doi: 10.14456/jdat.2019.39

Correspondence to:

Sanutm Mongkornkarn. Department of Periodontology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, 34 Henri Dunant Rd, Wangmai, Pathumwan, Bangkok 10330 Thailand. Tel: 02-2188849, 080-9740440 Fax: 02-2188851 E-mail: Sanutm.M@chula.ac.th

Introduction

Periodontitis is a chronic inflammatory disease. Besides the bacterial plaque biofilm which is the key etiologic factor of periodontitis; other factors, such as genetics, smoking, and various systemic conditions may also trigger the host immune system and hasten the disease progression.¹ In the literature, osteoporosis is one of the potential risk factors leading to a more severe periodontal breakdown.¹

Osteoporosis is a systemic skeletal bone disease that results in decreased bone mineral density (BMD), weakened bone architecture, and increased risk of bone fracture.² This condition is usually found in the elderly and especially in postmenopausal women.² Previous surveys with Thai women aged 40-80 years old,³ according to the Thai BMD reference, showed that the prevalence of osteoporosis and osteopenia was 14-20 % and 27-37 %, respectively. Both osteoporosis and periodontitis are chronic diseases demonstrating cumulative effect with age and feature bone loss. Moreover, these two diseases share several common risk factors including age, sex, body size, socioeconomic status, smoking, diabetes, and alcohol consumption.⁴ Therefore, there is a biological possibility that periodontal destruction is influenced by systemic bone loss.^{5,6}

Associations between decreased BMD or osteoporosis and periodontitis were well documented in the literature; however, the association of these two diseases in postmenopausal women was still inconclusive.¹ This may be attributed to the differences in sample size, population groups, methods of investigation, and surrogate outcomes of periodontal disease. Only one study⁷ reported the association between osteoporosis and periodontal disease in the Thai population. However, the influence of confounding factors was not analyzed. Therefore, the objective of this study was to investigate the association between skeletal BMD and periodontitis, controlling for known confounding factors, in a large sample of postmenopausal women of the Electricity Generating Authority of Thailand (EGAT) population.

Materials and Methods

This cross-sectional study was conducted on postmenopausal women who were current and ex-employees of the EGAT with the initial aim of studying cardiovascular risk factors. The survey was extended to investigate skeletal BMD and periodontal disease. The cohort profile of the EGAT surveys has been previously described.⁸ Our study included two consecutive participant groups, 174 participants (35-60 years old) from the second survey of the third cohort (EGAT 3/2, June-August 2014), and 221 participants (60-82 years old) from the fifth survey of the first cohort (EGAT 1/5, June-August 2012).

The study protocol was approved by the Human Research Ethics Committee of the Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University and the Institutional Review Board and Committee on Human Rights Related to Research Involving Human Participants, Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Thailand. The participants gave informed consent prior to the study. The participants' sociodemographic and health-related characteristics including age, diabetes, body mass index (BMI), smoking status, alcohol consumption, monthly income, education level, medications (including calcium/vitamin D supplements, hormone replacement therapy, and anti-bone resorption drugs) and menopausal age were acquired via questionnaires, interviews, physical examinations, and laboratory tests of blood chemistry by trained personnel from Ramathibodi Hospital. The data were stratified as shown in Table 1.

The participants' BMD was assessed using dual energy X-ray absorptiometry (DXA) analysis unless they met any of the exclusion criteria or conditions potentially affecting bone metabolism or DXA analysis: 1) any lesions or artifact at the L1-L4 vertebrae, 2) low-energy fracture at any site, 3) traumatic fracture involving the spine or femur, 4) any treatment and/or illness expected to affect bone metabolism except calcium/vitamin D supplementation, hormone replacement therapy, and anti-bone resorption drugs, 5) spinal surgery (such as orthopedic implant, laminectomy, or vertebroplasty),

6) early or surgical menopause and/or orchiectomy, or 7) scoliosis of the lumbar spine, with a Cobb angle of more than 20 degrees.⁹

The BMD assessment was performed as previously described.¹⁰ The participants underwent DXA (QDR 4500W; Hologic, Bedford, MA) at the lumbar spine (L1-L4) and left proximal femur (femoral neck and total hip). A daily quality control procedure was performed every morning, using a spine phantom, to assure an accuracy of the machine to be greater than 98.5 %. The participant's examined site BMD was converted to the T-score using the mean BMD and standard deviation (SD) of the three skeletal sites from non-Hispanic white women aged 20–29 years old from the United States National Health and Nutrition Examination Survey (US NHANES)¹¹ as normal reference values.²

$$T\text{-score} = \frac{\text{patient's BMD} - \text{mean BMD of young normal adults}}{\text{SD of BMD of young normal adults}}$$

The worst site T-score in each participant was used to categorize the participant's BMD status into the groups according to the WHO guidelines:² (1) osteoporosis: T-score > 2.5 SD below the reference values; (2) osteopenia: T-score ranged from 1-2.5 SD below the reference values; (3) normal: T-score above the osteopenia cutoff.

Participants who were at risk for bacterial endocarditis or hematogenous joint infection, undergoing hemodialysis, or requiring antibiotic prophylaxis were excluded from the dental examinations. Individuals who were fully edentulous or unwilling to have a dental examination were also excluded. The dental examinations, similar to the previous EGAT study protocol,¹² consisted of the determination of the number of remaining teeth, presence of supragingival plaque, probing depth (PD), and gingival recession (RE). All fully erupted teeth, except third molars and retained roots were examined. The presence of supragingival plaque was assessed by running a probe across two sites per tooth: mesio-buccal and mid-buccal aspects in quadrants 1 and 4 and mesio-lingual and mid-lingual aspects in quadrants 2 and 3. PD and RE were measured using a PCP-UNC15 probe in millimeters and were rounded down

to the nearest millimeter on six sites per tooth: mesio-buccal, mid-buccal, disto-buccal, mesio-lingual, mid-lingual, and disto-lingual. The PD was the distance from the free gingival margin to the bottom of the gingival sulcus/pocket. The RE was the distance from the cemento-enamel junction (CEJ) to the free gingival margin. The clinical attachment level (CAL), was the sum of the PD and RE.¹² The examinations were performed by eight periodontists who were calibrated for the periodontal measurements prior to the survey. The intraclass correlation coefficient (ICC) for the inter-examiner agreement on PD and RE was 0.83 and 0.86, respectively. The intra-examiner agreement on PD was 0.87-0.94 and for RE was 0.94-0.99. The percent of inter-examiner agreement (within ± 1 mm) for PD and RE was 99.75 % and 100 %, respectively. The percent of intra-examiner agreement for PD and RE was 99.02 % - 100 % and 100 %, respectively. At the end of the dental examination, each participant was given a report of their dental treatment needs.

The periodontitis case definitions of the Centers for Disease Control and Prevention-American Academy of Periodontology (CDC-AAP)¹³ were used to define the participants' periodontal condition as stated: "no periodontitis: no evidence of mild, moderate, or severe periodontitis; mild periodontitis: ≥ 2 interproximal sites with CAL ≥ 3 mm, and ≥ 2 interproximal sites with PD ≥ 4 mm (not on the same tooth) or 1 site with PD ≥ 5 mm; moderate periodontitis: ≥ 2 interproximal sites with CAL ≥ 4 mm (not on the same tooth), or ≥ 2 interproximal sites with PD ≥ 5 mm (not at the same tooth); severe periodontitis: ≥ 2 interproximal sites with CAL ≥ 6 mm (not on the same tooth) and ≥ 1 interproximal site with PD 5 mm." For data analyses, the participants were categorized into two periodontal groups based on different clinical treatment needs:¹⁴ (1) no/mild periodontitis and (2) moderate/severe periodontitis.

All analyses were performed using a standard software package (IBM SPSS, Statistics for Windows, Version 24.0, IBM Corp., Armonk, NY). The participants' variables were described as frequency distributions and/or mean \pm SD. The independent sample *t*-test was used to compare the mean skeletal BMD between the two

periodontal groups. One-way analysis of variance (ANOVA) with Bonferroni post-hoc test was used to compare the mean periodontal variables between BMD status. The association between BMD status and periodontitis were determined using the Pearson's chi-square test. Binary logistic regression analysis was used to investigate the degree of association between BMD status and the risk of having moderate/severe periodontitis, along with other variables of interest. These variables were age, plaque score, diabetes, BMI, smoking, alcohol consumption, income, education, medications (calcium/vitamin D supplements, hormone replacement therapy, and anti-bone resorption drugs) and menopausal age. Variables were also

used to adjust for confounding effects. The crude (unadjusted) and adjusted odds ratios (ORs) and their confidence intervals (CIs) were calculated for each variable. For all statistical tests, significance was considered at $P < 0.05$.

Results

Of the 494 postmenopausal participants, 99 individuals were excluded due to incomplete medical or dental records, leaving 395 participants in the study. The participants' sociodemographic and health-related characteristics according to the periodontal status are demonstrated in Table 1.

Table 1 Characteristics of participants according to the periodontal status

Characteristic	No/mild periodontitis ^a (n=89)	Moderate/severe periodontitis ^a (n=306)	Total (n=395)	P value ^b
Age (years), mean \pm SD	56.0 \pm 10.3	62.4 \pm 8.4	61.0 \pm 9.2	<0.001
Plaque score, n (%)				
80-100%	12 (13.5)	112 (36.6)	124 (31.4)	<0.001
40-79%	59 (66.3)	161 (52.6)	220 (55.7)	
0-39%	18 (20.2)	33 (10.8)	51 (12.9)	
BMD status, n (%)				
Normal	11 (12.4)	39 (12.7)	50 (12.7)	
Osteopenia	54 (60.6)	152 (49.7)	206 (52.1)	0.15
Osteoporosis	24 (27.0)	115 (37.6)	139 (35.2)	
Diabetes, n (%)				
Poorly controlled (HbA1c \geq 7%)	4 (4.5)	19 (6.3)	23 (5.8)	0.54
Well controlled (HbA1c<7%)	6 (6.7)	13 (4.2)	19 (4.8)	
No	79 (88.8)	274 (89.5)	353 (89.4)	
BMI (kg/m ²), n (%)				
Underweight (<18.5)	6 (6.7)	13 (4.2)	19 (4.8)	0.07
Normal (18.5-22.9)	42 (47.2)	111 (36.3)	153 (38.7)	
Overweight (\geq 23)	41 (46.1)	182 (59.5)	223 (56.5)	
Smoking status, n (%)				
Current smokers	0 (0.0)	2 (13.0)	2 (0.5)	<0.001
Former smokers	0 (0.0)	13 (31.5)	13 (3.3)	
Non-smokers	89 (100.0)	291 (55.5)	380 (96.2)	
Alcohol consumption, n (%)				
Current drinkers	3 (3.4)	4 (1.3)	7 (1.8)	
Former drinkers	21 (23.6)	70 (22.9)	91 (23.0)	0.42
Non-drinkers	65 (73.0)	232 (75.8)	297 (75.2)	

Table 1 Characteristics of participants according to the periodontal status (cont.)

Characteristic	No/mild periodontitis ^a (n=89)	Moderate/severe periodontitis ^a (n=306)	Total (n=395)	P value ^b
Income (Baht/month), n (%)				
< 20,000	15 (16.9)	84 (27.5)	99 (25.1)	0.01
20,000-49,999	25 (28.1)	107 (35.0)	132 (33.4)	
≥ 50,000	49 (55.1)	115 (37.6)	164 (41.5)	
Education level, n (%)				0.23
< Bachelor's degree	21 (23.6)	94 (30.7)	115 (29.1)	
≥ Bachelor's degree	68 (76.4)	212 (69.3)	280 (70.9)	
Medications ^c , n (%)				0.71
Yes	19 (21.3)	71 (23.2)	90 (22.8)	
No	70 (81.7)	235 (76.8)	305 (77.2)	
Menopausal age (years), mean ± SD	47.2 ± 5.4	48.5 ± 5.5	48.2 ± 5.5	0.06

^aCDC-AAP periodontitis case definitions.¹³

^bIndependent sample t-test for continuous data; Pearson's chi-square test for categorical data.

^cMedications comprised of calcium/vitamin D supplements, hormone replacement therapy, and anti-bone resorption drugs.

The participants' age ranged from 35 to 82 years old (mean ± SD = 61.0 ± 9.2). The prevalence of moderate/severe periodontitis was 77.5 %. Only 12.9 % of the participants had fair oral hygiene (plaque score <40 %). The prevalence of diabetes was 10.6 %, with 5.8 % poorly controlled and 4.8 % well controlled diabetes. More than half (56.5 %) of the participants were overweight. Only 3.8 % reported ever smoking, of which only two participants (0.5 %) were current smokers. In addition, 1.8 % of the participants currently drink alcohol. Less than half (41.5 %) of the participants had a monthly income of at least 50,000 Thai Baht. Moreover, 70.9 % of the participants had at least a bachelor's degree. Postmenopausal women comprised of 44 % of the total female participants of the two surveys. The mean age

at menopause was 48.2 ± 5.5 years. Of these participants, 6.1 % had premature menopause¹⁵ (<40 years of age); 14.7 % had early menopause¹⁵ (40 to <45 years of age). Almost 23 % of the study participants (22.8 %) received medications that enhanced or stabilized their BMD including calcium (22 %)/vitamin D supplements (3.5 %), hormone replacement therapy (1 %), and anti-bone resorption drugs (0.3 %). Comparing the two periodontal status groups, there were significant differences in age, plaque score, smoking status and income observed.

The participants' BMD status according to their periodontal status is shown in Table 1. The prevalence of participants with osteopenia and osteoporosis was 52.1 % and 35.2 %, respectively. The mean BMD according to periodontal status is demonstrated in Table 2.

Table 2 BMD according to the periodontal status (Mean ± SD) (g/cm²)

Sites of measurement	No/mild periodontitis	Moderate/severe periodontitis
Femoral neck*	0.658 ± 0.107	0.646 ± 0.114
Total hip*	0.838 ± 0.126	0.816 ± 0.126
Lumbar spine*	0.877 ± 0.120	0.840 ± 0.132
The worst site*	0.658 ± 0.107	0.646 ± 0.113

*No significant difference between periodontal status (P>0.05), by using independent sample t-test.

Among the three skeletal sites examined, the femoral neck most commonly demonstrated the worst site BMD with a prevalence of 99.2 %. There was no significant difference in the mean BMD at any skeletal sites or at the worst site between the two periodontal groups.

Pearson's correlation coefficients between the worst site BMD and periodontal variables are shown in Table 3.

The worst site BMD significantly correlated with the number of remaining teeth ($r=0.15$) and mean CAL ($r=-0.14$) ($P<0.05$), but was not significantly correlated with mean PD and plaque score.

The participants' periodontal variables according to the BMD status are illustrated in Table 4.

The mean periodontal variables between the BMD status groups were compared using ANOVA. There was no significant difference in the mean number of remaining teeth, mean PD, and mean plaque score between the BMD groups. The mean CAL of the osteoporosis group was higher than the osteopenia and normal BMD groups. A significant difference in the mean CAL between the osteopenia and osteoporosis was observed with the mean difference of 0.3 mm ($P=0.03$).

The association between BMD status and periodontitis was identified by the Pearson's chi-square test Figure 1.

Table 3 Correlation between the worst site BMD and periodontal variables

	Number of remaining teeth	Plaque score	Mean PD	Mean CAL
The worst site BMD	0.15*	-0.03	0.05	-0.14*

* Significant correlation at $P<0.05$, by using Pearson's correlation coefficients.

Table 4 Periodontal variables according to the BMD status (Mean \pm SD)

Variables	Number of remaining teeth	Plaque score (%)	Mean PD (mm)	Mean CAL* (mm)
Normal (n=50)	23.6 \pm 5.8	63.4 \pm 21.5	2.3 \pm 0.6	2.6 \pm 0.9
Osteopenia (n=206)	23.7 \pm 5.3	65.3 \pm 23.8	2.2 \pm 0.5	2.6 \pm 0.9
Osteoporosis (n=139)	21.8 \pm 6.6	67.2 \pm 23.7	2.3 \pm 0.5	2.9 \pm 1.2
Total (n=395)	22.7 \pm 5.9	65.7 \pm 23.5	2.2 \pm 0.5	2.7 \pm 1.0

* Significant different between the osteoporosis and osteopenia groups ($P=0.03$) with the mean CAL difference of 0.3 mm, using ANOVA and Bonferroni post-hoc analysis.

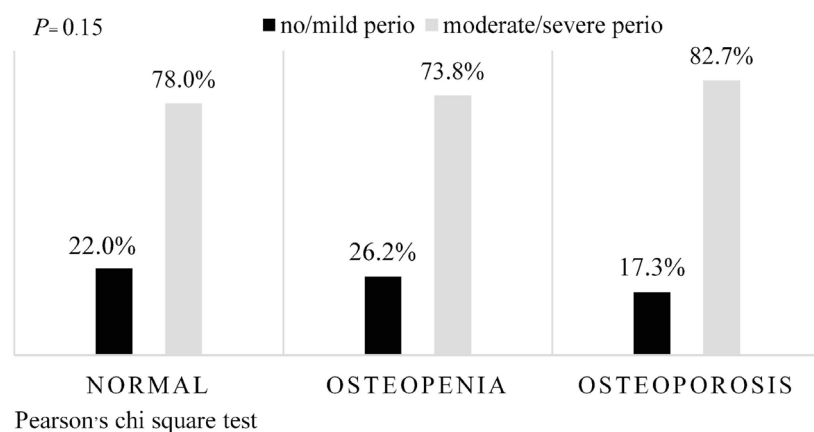


Figure 1 Proportion of participants in the 2 periodontitis groups according to the BMD status.

The percentage of participants with periodontitis was the highest in the osteoporosis group, with descending percentages found in the normal and osteopenia groups. In contrast, the percentage of the no/mild periodontitis participants was the highest in the osteopenia group, with descending percentages found in the normal and

osteoporosis groups. However, there was no significant association between the periodontitis groups and BMD status observed ($P=0.15$).

The degree of association between BMD status and periodontitis was analyzed using binary logistic regression (Table 5).

Table 5 Crude and adjusted odds ratios and 95% confidence intervals for the risk of moderate/severe periodontitis in the study population.

Variables	Crude*		Adjusted*	
	OR	95%CI	OR	95%CI
Age (1 year)	1.09	1.06-1.12 [‡]	1.09	1.06-1.13 [‡]
Plaque score				
80-100 %	5.09	2.23-11.64 [‡]	5.94	2.47-14.27 [‡]
40-79 %	1.49	0.78-2.84	1.84	0.91-3.71
0-39 % ^a				
Bone status				
Osteoporosis	1.35	0.61-3.01	0.70	0.29-1.70
Osteopenia	0.79	0.38-1.66	0.61	0.27-1.34
Normal ^a				
Diabetes				
Poorly controlled	1.37	0.43-4.14	-	-
Well controlled	0.63	0.23-1.70		
No ^a				
BMI (kg/m ²)				
Overweight	1.68	1.03-2.74 [‡]	-	-
Underweight	0.82	0.29-2.30		
Normal ^a				
Alcohol consumption				
Current drinker	0.37	0.82-1.71	-	-
Former drinker	0.93	0.53-1.64		
Non-drinker ^a				
Income (Baht/month)				
<20,000	2.37	1.25-4.54 [‡]	-	-
20,000-49,999	1.82	1.05-3.16 [‡]		
≥ 50,000 ^a				
Education	1.44	0.83-2.48	-	-
< Bachelor's degree				
≥ Bachelor's degree ^a				
Medication ^b (yes)	1.21	0.64-2.30	-	-
Menopausal age (1year)	1.00	0.95-1.06		

^areference group

^bMedications comprised of calcium/vitamin D supplements, hormone replacement therapy, and anti-bone resorption drugs.

* ORs and 95% CIs were obtained by binary logistic regression analysis using individuals with no/mild periodontitis as the reference group.

Adjusted by age, plaque score, diabetes, BMI, alcohol consumption, income, education, medications, and menopausal age.

[‡] $P < 0.05$ and > 0.01 .

[#] $P < 0.001$.

In the unadjusted analysis, osteoporosis was not significantly associated with moderate/severe periodontitis. Increasing age (1-year increment), having a plaque score ≥ 80 %, being overweight, and having an income less than 50,000 Baht were significantly associated with moderate/severe periodontitis. After adjusting for confounders, increasing age, and having a plaque score ≥ 80 %, were factors significantly associated with moderate/severe periodontitis ($P < 0.001$).

Discussion

The main objective of this study was to determine the association between skeletal BMD and periodontitis in postmenopausal participants of the EGAT population. In our study, the significant difference in the mean CAL of 0.3 mm was demonstrated between the osteoporosis and osteopenia groups, suggesting the greater severity of periodontitis as BMD status worsened. However, the association between osteoporosis and moderate/severe periodontitis was not significantly demonstrated in the bivariate logistic analysis after adjusting for age, plaque score, diabetes, BMI, smoking habit, alcohol consumption, income, education, medications (calcium/vitamin D supplements, hormone replacement therapy, and anti-bone resorption drugs) and menopausal age. When analyzing the data using different periodontitis grouping (non-severe and severe periodontitis groups), there were also no significant association between osteoporosis and severe periodontitis (data not shown). Our results correlated with the findings of other studies,¹⁶⁻¹⁹ but may not concur with several previous studies.²⁰⁻²⁸

In our study, the mean BMD and standard deviation of the non-Hispanic white women aged 20-29 years¹¹ was used as a normal reference in calculating T-score based on the WHO recommendations.² Even though there was the recommendation of using the normal reference mean of the same ethnic and sex,^{29,30} there was not enough information regarding the mean and standard deviation of skeletal BMD values of all three examination sites in Thai women aged 20-29 years.

Worldwide prevalence of osteoporosis is difficult to determine because of the differences in definitions and diagnosis. In our study, the prevalence of osteopenia and osteoporosis in participants aged 35-82 years old was 35 % and 52 %, respectively. These findings were similar to those of a Thai study.³ Using the Thai BMD reference, the prevalence of osteoporosis increased after the age of 50, reaching a level of more than 50 % after the age of 70.³ According to the U.S. Department of Health and Human Services 2010,³¹ 29 % of non-hispanic white women was diagnosed as having osteoporosis. The reason of the lower prevalence of osteoporosis in Caucasians may be partly explained by the smaller builds in our participants, as compared with the Caucasians.³² The bones in our participants are likely to be smaller due to the areal-based nature.

In this study, the mean BMD differences between the periodontal groups at various skeletal sites and at the worst site ranged from 0.012 to 0.037 g/cm². Even though there was no significant difference in the mean BMD between the periodontitis groups, it is important to note that a decrease of 0.01 g/cm²/year in total hip BMD is associated with an increased risk of fragility fracture with adjusted odds ratio of 1.15 (95%CI: 1.01; 1.32) in women.³³

The periodontitis case definitions of the CDC-AAP recommended for population-based surveillance of periodontitis¹³ was used in our study. The results demonstrated that 79 % of our participants had periodontitis (data not shown). Using the same CDC-AAP definitions, the prevalence of periodontitis in asian american women age 30 years or older from the NHANES 2011-2012 data³⁴ was 37.4 %. The almost 2-fold higher prevalence of periodontitis in our study were mainly due to the large percentage of our participants (87.4 %) with poor oral hygiene.

In our study, the worst site BMD was positively correlated with number of remaining teeth and negatively correlated with the mean CAL. However, when analyzing the association between the BMD groups and mean periodontal variables, there was no significant difference

in the mean number of remaining teeth, mean PD and mean plaque score between the BMD groups. In our study, plaque score was assessed, while plaque index or calculus index were evaluated in other studies.^{16,18} Although different variables used to assess oral hygiene status, our result was similar to previous studies^{16,18} that reported no association between oral hygiene and BMD status. The non-significant correlation between the mean number of remaining teeth and mean PD found in our study concurred with previous studies.^{17,19,35,36} One study³⁵ reported no significant difference in periodontal status as determined by PD, RE and gingival bleeding between osteoporotic women and women with normal BMD. Another study¹⁷ reported no significant correlation between systemic BMD and mean PD and number of missing teeth in women aged 46-55 years old. Moreover, there are two studies that reported a non-significant correlation between skeletal BMD and number of remaining teeth³⁶ and the deepest probing depth site per person¹⁹ in postmenopausal women. These study results suggest that systemic bone mass may not be an important factor in the pathogenesis of periodontitis in postmenopausal women. In contrast, previous studies conducted with asian postmenopausal women reported a lower mean number of remaining teeth with worsening BMD status.^{25,37} The longitudinal study in postmenopausal japanese women³⁷ reported decreased BMD of the lumbar spine and femoral neck were associated with the number of tooth loss. When interpreting results, it is important to note that the underlying cause for tooth loss was often unknown.

Our finding of a negative correlation between the worst site BMD or worsened BMD status and mean CAL was similar to the cross-sectional study in Thai postmenopausal women⁷ that reported significant correlation between decreased lumbar BMD and increased percentage site of CAL 3-4 mm in the posterior teeth. However, that study did not report the degree of association in the regression model. In contrast, a study of postmenopausal caucasian women⁵ reported no significant correlation between skeletal BMD and CAL. However, they found a significant

correlation between skeletal BMD and interproximal alveolar bone loss.

In our study, the significant difference in mean CAL was observed only between the osteoporosis and osteopenia groups. The non-significant difference in the mean CAL between the osteoporosis and normal BMD groups may be explained by the small sample size of the normal BMD group. In the literature, the significant inverse association between BMD and CAL were well documented in postmenopausal women.^{20,21,38,39} The summary of the results were shown in the systematic review and meta-analysis⁴⁰ which reported a mean CAL difference of 0.34 mm between the osteoporosis and normal BMD groups. The cohort study of postmenopausal women from Buffalo Clinical Center of the Observational Study²¹ reported significant associations between BMD of the spine, forearm, whole body, the worst site T-score and CAL among women without subgingival calculus after adjusting for age, smoking habit, education level and time since last dental cleaning. That study results also suggested that age and oral hygiene were important modifiers of the association between systemic BMD and periodontal disease.

The effect of smoking as a confounder was not analyzed in the binary logistic regression model since there were only two smokers who participated in our study. In the literature, early or premature menopause results in decreased estrogen hormone leading to decreased skeletal BMD and osteoporosis.^{2,15} In contrast, a history of taking oral contraceptives or medications including calcium or vitamin D supplements, hormone replacement therapy or anti-bone resorption drugs were shown to provide benefits in increasing or stabilizing skeletal bone mineral bone density^{2,15} Thus, this study included time since menopause and medications (calcium/vitamin D supplements, hormone replacement therapy and anti-bone resorption drugs) as confounders for data analysis, while there was no available data regarding the history of contraceptive use. Our study showed that after adjusting for known confounders, the association of osteoporosis and

moderate/severe periodontitis could not be demonstrated. This non-significant association between BMD status and periodontitis contradicted several reports of most postmenopausal women studies^{20,22-24,26,37} but concurred with some studies as follows.^{16,18,19} A study of US postmenopausal women¹⁹ found no significant association between five periodontal variables including mean CAL and number of sites with CAL of ≥ 4 mm as a unit of analysis and systemic BMD, after controlling for age, smoking habit and number of remaining teeth. Similarly, two other large cross-sectional studies of postmenopausal women in the United Kingdom^{16,18} found no significant association between osteoporosis and periodontitis after adjusting for several confounders.

Significant associations between osteoporosis and periodontitis were also reported in other populations of younger age groups,²⁹ in both sexes.^{28,29} Even though a significant association between osteoporosis and periodontitis was not demonstrated in our postmenopausal participants, there might be an association between these two diseases in other Thai population groups. Since osteoporosis and periodontitis are multifactorial diseases, several unknown confounding factors may still influence the association between these two diseases and result in the non-significant finding.

The strengths of this study include its relatively large sample size, use of DXA as it is the gold standard of BMD assessment,² full mouth periodontal examination with calibrated periodontists, which is highly accurate in assessing periodontal disease, and controlling for several confounding factors in the data analysis. The limitation of this study was oral bone density and/or oral radiographs was not able to be assessed in the oral examinations of our survey. Moreover, it was conducted in only one population group; therefore, our findings may not completely be able to generalize. Further studies in other Thai populations need to be conducted to confirm this finding.

Conclusion

Osteoporosis was not significantly associated with moderate to severe periodontitis in the postmenopausal women of the EGAT population. Increasing age and poor oral hygiene are the factors that place individuals at risk for periodontitis. However, the association between skeletal BMD and periodontal disease need to be further investigated in other population groups.

Acknowledgements

This study was supported by the Special Research Funding for Faculty Grant, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University and the Chulalongkorn Academic Advancement into its 2nd Century Project (CUAASC). The authors thank the faculty and staff of the Graduate Periodontics Program, Chulalongkorn University and Ramathibodi Hospital for their assistance in examinations and data entry. The authors also thank Dr. Kevin Tompkins (Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University) for his assistance in manuscript preparation. The authors report no conflicts of interest related to this study.

References

1. Albandar JM, Susin C and Hughes FJ. Manifestations of systemic diseases and conditions that affect the periodontal attachment apparatus: case definitions and diagnostic considerations. *J Clin Periodontol* 2018;45Suppl20:s171-9.
2. World Health Organization. Prevention and management of osteoporosis. *World Health Organ Tech Rep Ser* 2003;921:1-164.
3. Limpaphayom KK, Taechakraichana N, Jaisamram U, Bunyavejchevin S, Chaikittisilpa S, Poshychinda M, *et al.* Prevalence of osteopenia and osteoporosis in Thai women. *Menopause* 2001;8(1):65-9.
4. Guiglia R, Di-Fede O, Lo-Russo L, Sprini D, Rini GB, Campisi G. Osteoporosis, jawbones and periodontal disease. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2013;18(1):e93-9.
5. Tezal M, Wactawski-Wende J, Grossi SG, Ho AW, Dunford R, Genco R. The relationship between bone mineral density and periodontitis in postmenopausal women. *J Periodontol* 2000;71(9):1492-8.
6. Wang CJ and McCauley LK. Osteoporosis and periodontitis. *Current Osteoporosis Reports* 2016;14(6):284-91.
7. Sanguandeegul S. Periodontal status of Thai postmenopausal

women with low bone mineral density [dissertation]. Chiang Mai: Chiang Mai University; 2009.

8. Vathesatogkit P, Woodward M, Tanomsup S, Ratanachaiwong W, Vanavan S, Yamwong S, *et al.* Cohort profile: the electricity generating authority of Thailand study. *Int J Epidemiol* 2012;41(2):359-65.

9. Sritara C, Thakkestian A, Ongphiphadhanakul B, Amnuaywattakorn S, Utamakul C, Akrawichien, *et al.* Age-adjusted dual x-ray absorptiometry-derived trabecular bone score curve for the lumbar spine in Thai females and males. *J Clin Densitom* 2016;19(4):494-501.

10. Sritara C, Ongphiphadhanakul B, Chailurkit L, Yamwong S, Ratanachaiwong W, Sritara P. Serum uric acid levels in relation to bone-related phenotypes in men and women. *J Clin Densitom* 2013;16(3):336-40.

11. Looker AC, Borrud LG, Hughes JP, Fan B, Shepherd JA, Melton LJ 3rd. Lumbar spine and proximal femur bone mineral density, bone mineral content, and bone area: United States, 2005-2008. *Vital Health Stat* 11 2012;(251):1-132.

12. Torrungruang K, Tamsailom S, Rojanasomsith K, Sutdhibhisal S, Nisapakultorn K, Vanichjakvong O, *et al.* Risk indicators of periodontal disease in older Thai adults. *J Periodontol* 2005;76(4):558-65.

13. Eke PI, Page RC, Wei L, Thornton-Evans G, Genco RJ. Update of the case definitions for population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol* 2012;83(12):1449-54.

14. Liu Y, Yu Y, Nickel JC, Iwasaki LR, Duan P, Dimmer-Beck M, *et al.* Gender differences in the association of periodontitis and type 2 diabetes. *Int Dent J* 2018;68(6):433-40.

15. Davis SR, Lambrinoudaki I, Lumsden M, Mishra GD, Pal L, Rees M, *et al.* Menopause. *Nat Rev Dis Primers* 2015;1:15004.

16. Darcey J, Devlin H, Lai D, Walsh T, Southern H, Marjanovic E, *et al.* An observational study to assess the association between osteoporosis and periodontal disease. *Br Dent J* 2013;215(12):617-21.

17. Elders PJ, Habets LL, Netelenbos JC, van der Linden LW, van der Stelt PF. The relation between periodontitis and systemic bone mass in women between 46 and 55 years of age. *J Clin Periodontol* 1992;19(7):492-6.

18. Marjanovic EJ, Southern HN, Coates P, Adams JE, Walsh T, Horner K, *et al.* Do patients with osteoporosis have an increased prevalence of periodontal disease? A cross-sectional study. *Osteoporos Int* 2013;24(7):1973-9.

19. Weyant RJ, Pearlstein ME, Churak AP, Forrest K, Famili P, Cauley JA. The association between osteopenia and periodontal attachment loss in older women. *J Periodontol* 1999;70(9):982-91.

20. Al Habashneh R, Alchalabi H, Khader YS, Hazza'a AM, Odat

Z, Johnson GK. Association between periodontal disease and osteoporosis in postmenopausal women in Jordan. *J Periodontol* 2010;81(11):1613-21.

21. Brennan RM, Genco RJ, Hovey KM, Trevisan M, Wactawski-Wende J. Clinical attachment loss, systemic bone density, and subgingival calculus in postmenopausal women. *J Periodontol* 2007;78(11):2104-11.

22. Gomes-Filho IS, Passos Jde S, Cruz SS, Vianna MI, Cerqueira Ede M, Oliveira DC, *et al.* The association between postmenopausal osteoporosis and periodontal disease. *J Periodontol* 2007;78(9):1731-40.

23. Gondim V, Aun J, Fukuda CT, Takayama L, Latorre Mdo R, Pannuti CM, *et al.* Severe loss of clinical attachment level: an independent association with low hip bone mineral density in postmenopausal females. *J Periodontol* 2013;84(3):352-9.

24. Juluri R, Prashanth E, Gopalakrishnan D, Kathariya R, Devanoorkar A, Viswanathan V, *et al.* Association of postmenopausal osteoporosis and periodontal disease: A double-blind case-control study. *J Int Oral Health* 2015;7(9):119-23.

25. Kim CS, Kim EK, Lee KS, Lee HK, Choi YH, Hwang TY, *et al.* Relationship between bone mineral density, its associated physiological factors, and tooth loss in postmenopausal Korean women. *BMC Womens Health* 2015;15:1-6.

26. Passos JS, Vianna MI, Gomes-Filho IS, Cruz SS, Barreto ML, Adan L, *et al.* Osteoporosis/osteopenia as an independent factor associated with periodontitis in postmenopausal women: a case-control study. *Osteoporos Int* 2013;24(4):1275-83.

27. Wactawski-Wende J, Hausmann E, Hovey K, Trevisan M, Grossi S, Genco RJ. The association between osteoporosis and alveolar crestal height in postmenopausal women. *J Periodontol* 2005;76(11Suppl):2116-24.

28. Yoshihara A, Seida Y, Hanada N, Miyazaki H. A longitudinal study of the relationship between periodontal disease and bone mineral density in community-dwelling older adults. *J Clin Periodontol* 2004;31(8):680-4.

29. Ronderos M, Jacobs DR, Himes JH, Pihlstrom BL. Associations of periodontal disease with femoral bone mineral density and estrogen replacement therapy: cross-sectional evaluation of US adults from NHANES III. *J Clin Periodontol* 2000;27(10):778-86.

30. Songpatanasilp T, Sritara C, Kittisomprayoonkul W, Chaiumnay S, Nimitphong H, Charatcharoenwithaya N, *et al.* Thai Osteoporosis Foundation (TOPF) position statements on management of osteoporosis. *Osteoporos Sarcopenia* 2016;2(4):191-207.

31. U.S. Department of Health and Human Services, Health Resources and Services Administration, Maternal and Child Health Bureau. *Women's Health USA* 2010. Rockville, Maryland.

32. Fryar CD, Gu Q, Ogden CL, Flegal KM. Anthropometric reference data for children and adults: United States, 2011-2014. *Vital Health Stat* 3 2016;(39):1-46.
33. Berger C, Langsetmo L, Joseph L, Hanley DA, Davison KS, Josse RG, *et al.* Association between change in BMD and fragility fracture in women and men. *J Bone Miner Res* 2009;24(2):361-70.
34. Eke PI, Dye BA, Wei L, Slade GD, Thornton-Evans GO, Borgnakke WS, *et al.* Update on Prevalence of Periodontitis in Adults in the United States: NHANES 2009 to 2012. *J Periodontol* 2015;86(5):611-22.
35. Kribbs PJ, Chesnut CH 3rd, Ott SM, Kilcoyne RF. Relationships between mandibular and skeletal bone in a population of normal women. *J Prosthet Dent* 1990;63(1):86-9.
36. Ignasiak Z, Radwan-Oczko M, Rozek-Piechura K, Cholewa M, Skrzek A, Ignasiak T, *et al.* Analysis of the relationships between edentulism, periodontal health, body composition, and bone mineral density in elderly women. *Clin Interv Aging* 2016;11:351-6.
37. Iwasaki M, Nakamura K, Yoshihara A, Miyazaki H. Change in bone mineral density and tooth loss in Japanese community-dwelling postmenopausal women: a 5-year cohort study. *J Bone Miner Metab* 2012;30(4):447-53.
38. Penoni DC, Torres SR, Farias ML, Fernandes TM, Luiz RR, Leão AT. Association of osteoporosis and bone medication with the periodontal condition in elderly women. *Osteoporos Int* 2016;27(5):1887-96.
39. Pepelassi E, Nicopoulou-Karayianni K, Archontopoulou AD, Mitsea A, Kavadella A, Tsiklakis K, *et al.* The relationship between osteoporosis and periodontitis in women aged 45-70 years. *Oral Dis* 2012;18(4):353-9.
40. Penoni DC, Fidalgo TK, Torres SR, Varela VM, Masterson D, Leão AT, *et al.* Bone Density and Clinical Periodontal Attachment in Postmenopausal Women: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Dent Res* 2017;96(3):261-9.

Effects of Blood Contamination on Apatite Formation, pH and Ion Release of Three Calcium Silicate-based Materials

Nareerat Thanavibul¹, Anchana Panichuttra¹, Chootima Ratisoontorn¹

¹Department of Operative Dentistry, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

Abstract

The aim of this study was to assess the effects of blood contamination on the apatite formation, pH and ion release of three calcium silicate-based materials. ProRoot MTA (WMTA), Biodentine and TotalFill BC RRM putty (TRRM) were exposed to blood (blood-contaminated condition) or normal saline (non-blood-contaminated condition) for 24 hours. Samples were divided into 6 groups: WMTA without blood, WMTA with blood, Biodentine without blood, Biodentine with blood, TRRM without blood and TRRM with blood. Three samples of each group were analysed for apatite formation using X-ray diffractometer (XRD) and an energy-dispersive X-ray spectroscope (EDX) integrated into a scanning electron microscope (SEM) after immersion in phosphate-buffered saline (PBS) for 1, 7, 14 and 28 days. Five samples of each group were used to measure pH, calcium and silicon ion release using a pH meter and inductively coupled plasma-optical emission spectrometer (ICP-OES) after immersion in deionized water for 1, 7, 14 and 28 days. Apatite formation was found in the blood-contaminated groups later than the non-blood-contaminated groups. In both conditions, WMTA demonstrated apatite formation earlier than other materials. The pH and calcium ion release of the materials were not significantly affected by blood contamination ($P>0.05$). Silicon ion release was reduced in all blood-contaminated groups ($P<0.05$). Blood contamination delays apatite formation and decreases silicon ion release of calcium silicate-based materials.

Keyword: Apatite formation, Blood contamination, Calcium silicate-based materials, Ion release

Received Date: Feb 26, 2019

Revised Date: Mar 15, 2019

Accepted Date: Apr 11, 2019

Doi: 10.14456/jdat.2019.40

Correspondence to:

Chootima Ratisoontorn, Department of Operative Dentistry Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, 34 Henri-Dunant Road, Pathumwan, Bangkok 10330, Thailand. Tel: 02-2188795 Fax: 02-2188794 Email: Chootima.R@chula.ac.th

Introduction

A characteristic of bioactivity is the ability to form apatite when in contact with a serum-like solution.¹ The development of a carbonated apatite surface after immersion in biological fluids is one of the

key elements for tissue adaptation.² Apatite formation provides clinical advantages by creating an appropriate environment for cell differentiation and supporting hard tissue formation.^{3,4}

Mineral trioxide aggregate (MTA) is a calcium silicate-based material that is widely used in endodontic procedures.⁵ An advantage of MTA is its bioactivity, which results in the formation of a bond between mineralized tissue and the material.⁶ The *In vitro* bioactivity of MTA has been reported after immersion in phosphate-containing fluids.^{7,8} Other advantages of MTA are the release of inorganic ions and generating an alkaline pH.⁹ Calcium ion release induces osteoblast proliferation, differentiation and extracellular matrix mineralization.¹⁰ while silicon ions are essential for metabolic processes associated with bone calcification and inducing apatite precipitation.¹¹

Several new calcium silicate-based materials have been developed, aiming to improve MTA drawbacks of a long setting time and tooth discoloration. Biodentine (Septodont, Saint-Maur-des-Fosses, France) has a reduced setting time by adding calcium chloride as a setting accelerator and maintains tooth color stability with an alternative radiopacifier.^{12,13} Another material is TotalFill BC RRM putty (TRRM) (BUSA, BRASSELER, Savannah, GA, USA), which is produced as a premixed putty product to avoid mixing inconsistency. These materials are recommended for the same clinical applications as MTA because they exhibit similar properties.^{14,15}

In clinical procedures such as endodontic surgery, perforation repair, vital pulp therapy and regenerative endodontics, MTA may come into contact with blood during placement. The contamination of MTA by blood

has been investigated in a number of laboratory studies in terms of the effects on its properties.¹⁶⁻¹⁸ Blood contamination had a detrimental effect on the surface microhardness of MTA and caused a change in the surface microstructure¹⁶ and compressive strength.¹⁷ In addition, exposure to blood during setting has a negative effect on marginal adaptation of MTA.¹⁸

In endodontic applications, it could be difficult to completely avoid material surface contamination with blood. Different calcium silicate-based materials may show varying degrees of bioactivity, because of differences in their compositions and ion releasing properties.^{19,20} Thus, the aim of this study was to assess the effects of blood contamination on the apatite formation, pH and ion release of WMTA, Biodentine and TRRM.

Materials and Methods

Specimen Preparation

The study protocol was approved by the Human Research Ethics Committee of the Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University (HREC-DCU 2017-051). Whole fresh blood was collected from a healthy volunteer after informed consent.

Three calcium silicate-based materials, ProRoot MTA (WMTA) (Dentsply Sirona Endodontics, Tulsa, OK, USA), Biodentine and TRRM were used. The compositions of the test materials were given in Table 1.

Table 1 Composition of test materials.

Material	Composition
ProRoot MTA (WMTA)	Powder: tricalcium silicate, dicalcium silicate, tricalcium aluminate, bismuth oxide, calcium sulphate dihydrate or gypsum Liquid: water
Biodentine	Powder: tricalcium silicate, dicalcium silicate, calcium carbonate, zirconium oxide, calcium oxide, iron oxide Liquid: water, calcium chloride, a hydrosoluble polymer
TotalFill BC RRM (TRRM)	Calcium silicate, zirconium oxide, tantalum pentoxide, calcium phosphate monobasic, filler agents

The materials were prepared in accordance with the manufacturer's instructions. WMTA was mixed with distilled water using a 3:1 powder-to-water ratio. Biodentine was mixed by adding 5 drops of liquid into the powder capsule and mixed for 30 seconds using an amalgamator at 4,000 rotations/minute. TRRM was a premixed putty material.

Plaster of Paris ring moulds²¹ (5 mm in diameter, 2 mm in height) were prepared and stored at 37°C in a water bath for 24 hours. The moulds were placed on a glass slide and then dropped with 10 µL of whole fresh blood (blood-contaminated specimens) or 10 µL of normal saline (non-blood-contaminated specimens). The moulds were then filled with their respectively prepared materials as follows.

Group 1: WMTA exposed to normal saline
(WMTA/non-blood)

Group 2: WMTA exposed to blood
(WMTA/blood)

Group 3: Biodentine exposed to normal saline
(Biodentine/non-blood)

Group 4: Biodentine exposed to blood
(Biodentine/blood)

Group 5: TotalFill BC RRM exposed to normal saline
(TRRM/non-blood)

Group 6: TotalFill BC RRM exposed to blood
(TRRM/blood)

Each specimen was placed in an incubator for 24 hours (37 ± 1°C, >95 % relative humidity) to set. After setting, the disc-shaped specimens were sterilised with ultraviolet light for 30 minutes per side.

Apatite formation

Three specimens per group were individually immersed in 5 ml of PBS²² and stored at 37 ± 1°C for 1, 7, 14 and 28 days. The PBS was changed weekly. At each time point, the specimens were dried in a vacuum desiccator for 1 day. Apatite formation was analyzed using a X-ray diffractometer (XRD) and an energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX) that was integrated into a scanning electron microscope (SEM).

XRD. Specimen phase composition was evaluated using XRD (D8 Discover, Bruker, Karlsruhe, Germany). The scan range was 10-65°2 θ with a scan speed of 2°2 θ per minute. Phase identification was accomplished using search match software using the ICDD database (International Centre for Diffraction Data, Newtown Square, PA).

SEM and EDX. The specimens were mounted on aluminum stubs and coated with platinum. The specimen surface was observed using SEM (JSM-6610LV, JEOL, Tokyo, Japan) at 10,000x. Elemental analysis was performed using EDX (X-MaxN 50, Oxford instruments, Oxfordshire, United Kingdom) and the data were used to calculate the surface calcium-to-phosphorus atomic (Ca/P) ratio (stoichiometric hydroxyapatite Ca/P ratio is 1.67).²³

pH and Ion Release

Five specimens per group were individually immersed in 5 ml of deionized water. The solutions were collected after 1, 7, 14 and 28 days for evaluation. The deionized water was replaced at the end of each time point. The pH measurements were performed on the collected solutions with a pH meter (710A, Thermo Scientific Orion, USA). Calcium and silicon ion release were measured by ICP-OES (OPTIMA 7300DV, PerkinElmer, USA).

Statistical Analysis

The pH and ion release were presented as means and standard deviation. Two-way analysis of variance with the Student *t*-test was used to determine the significant differences between groups using IBM SPSS software version 22.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA). The results were considered statistically significant if the *p*-value was less than 0.05.

Results

Apatite formation

After immersion in PBS for 1, 7, 14 and 28 days, the crystal structure of hydroxyapatite on the materials was determined by XRD. Surface morphology and elemental composition of the materials were examined by SEM and EDX. Representative data of each group were shown in Figure 1, 2 and 3.

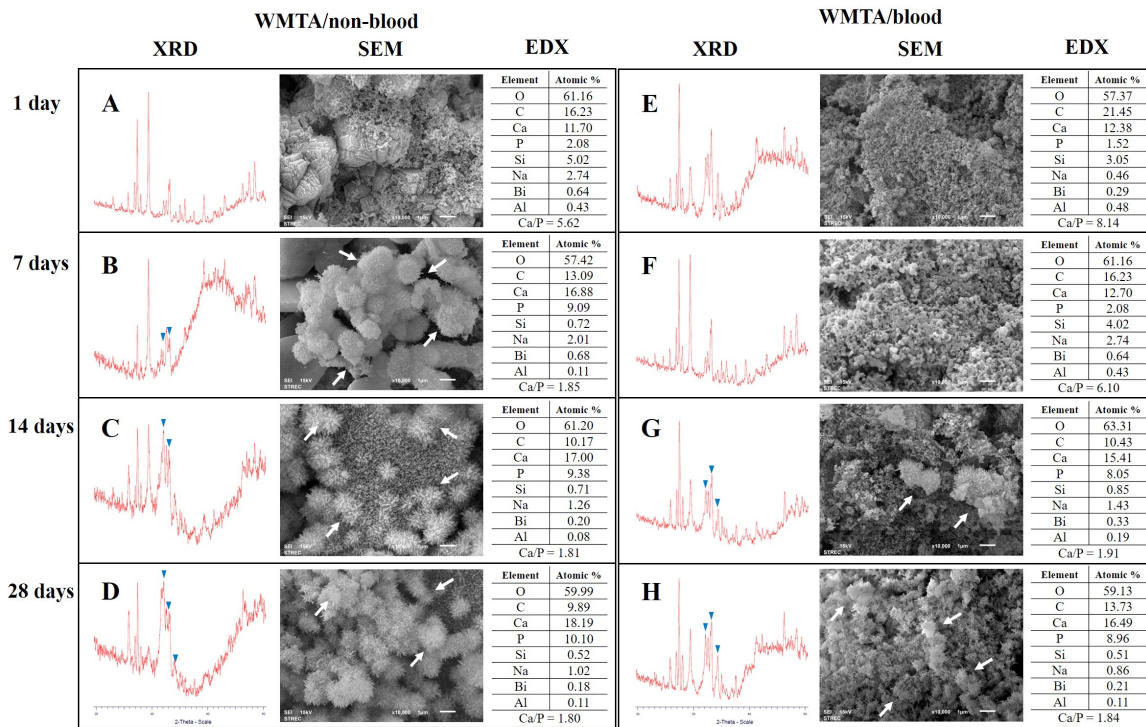


Figure 1 Representative XRD, SEM and EDX data of WMTA/non-blood after immersion in PBS for 1, 7, 14 and 28 days (A, B, C and D respectively) and WMTA/blood after immersion in PBS for 1, 7, 14 and 28 days (E, F, G and H respectively). ▼ = hydroxyapatite. SEM images of the surface of test materials at x10,000 magnification, white arrow = spherical precipitates.

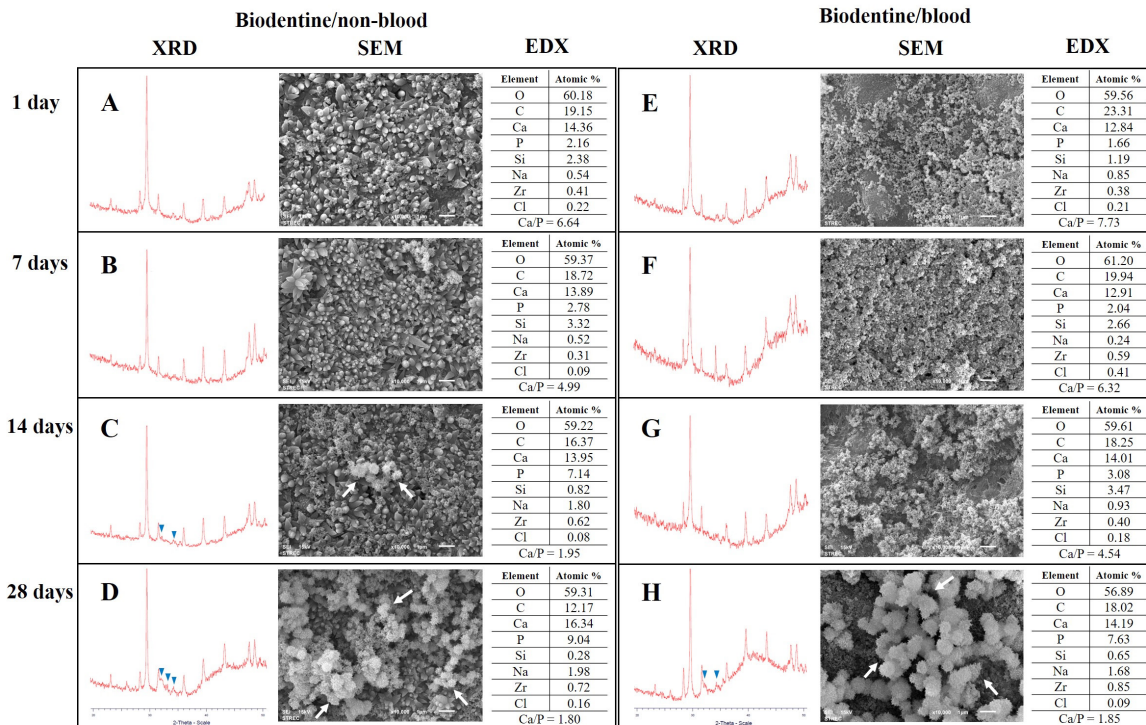


Figure 2 Representative XRD, SEM and EDX data of Biodentine/non-blood after immersion in PBS for 1, 7, 14 and 28 days (A, B, C and D respectively) and Biodentine/blood after immersion in PBS for 1, 7, 14 and 28 days (E, F, G and H respectively). ▼ = hydroxyapatite. SEM images of the surface of test materials at x10,000 magnification, white arrow = spherical precipitates.

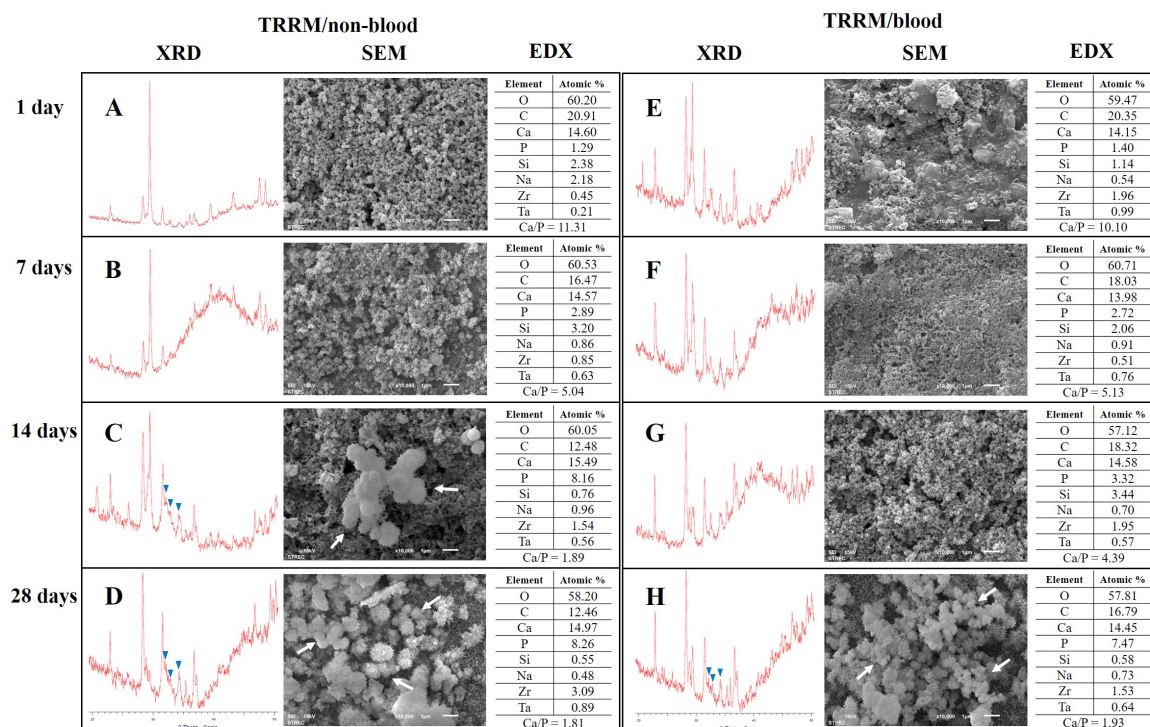


Figure 3 Representative XRD, SEM and EDX data of TRRM/non-blood after immersion in PBS for 1, 7, 14 and 28 days (A, B, C and D respectively) and TRRM/blood after immersion in PBS for 1, 7, 14 and 28 days (E, F, G and H respectively). ▼ = hydroxyapatite. SEM images of the surface of test materials at x10,000 magnification, white arrow = spherical precipitates.

The WMTA/non-blood group

XRD detected hydroxyapatite crystals ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, ICDD: 00-003-0747) at days 7, 14 and 28, but not at day 1 (Fig. 1A – 1D). SEM demonstrated the amorphous and irregular surface at day 1 (Fig. 1A), then at days 7, 14 and 28, spherical precipitates formed over the surface (Fig. 1B – 1D). EDX indicated the presence of elements of oxygen (O), carbon (C), calcium (Ca), phosphorus (P), silicon (Si), sodium (Na), bismuth (Bi) and aluminum (Al). Ca/P ratio was 5.62 at day 1, then, decreased to 1.85, 1.81 and 1.80 at days 7, 14 and 28, respectively.

The WMTA/blood group

XRD found hydroxyapatite crystals at days 14 and 28, but not at days 1 and 7 (Fig. 1E – 1H). SEM displayed spherical precipitates on the surface at days 14 and 28. EDX showed the presence of O, C, Ca, P, Si, Na and Bi with Ca/P ratio of 8.14, 6.10, 1.91 and 1.84 at days 1, 7, 14 and 28, respectively (Fig. 1E – 1H).

The Biodentine/non-blood group

XRD detected hydroxyapatite crystals at days 14 and 28, but not at days 1 and 7 (Fig. 2A – 2D). SEM showed spherical precipitates over the surface at days

14 and 28. EDX revealed the presence of O, C, Ca, Si, P, Na, zirconium (Zr) and chlorine (Cl) with Ca/P ratio of 6.64, 4.49, 1.95 and 1.80 at days 1, 7, 14 and 28, respectively (Fig. 2A – 2D).

The Biodentine/blood group

XRD detected hydroxyapatite crystals at day 28, but not at days 1, 7 and 14 (Fig. 2E – 2H). At days 28, spherical precipitates were found over the surface under SEM. EDX revealed the presence of O, C, Ca, Si, P, Na, Zr and Cl with Ca/P ratio of 7.73, 6.32, 4.54 and 1.85 at days 1, 7, 14 and 28, respectively (Fig. 2E – 2H).

The TRRM/non-blood group

XRD detected hydroxyapatite crystals at days 14 and 28, but not at days 1 and 7 (Fig. 3A – 3D). SEM showed spherical precipitates over the surface at days 14 and 28 (Fig. 3C – 3D). EDX revealed the presence of O, C, Ca, P, Si, Na, Zr and tantalum (Ta) with Ca/P ratio of 11.31, 5.04, 1.89 and 1.81 at days 1, 7, 14 and 28, respectively (Fig. 3A – 3D).

The TRRM/blood group

XRD detected hydroxyapatite crystals at day 28, but not at days 1, 7 and 14 (Fig. 3E – 3H). At day 28, spherical precipitates were found over the surface under

SEM. EDX revealed the presence of O, C, Ca, P, Si, Na, Zr and Ta with Ca/P ratio of 10.10, 5.13, 4.39 and 1.93 at days 1, 7, 14 and 28, respectively (Fig. 3E – 3H).

pH and Ion Release

The pH of specimens immersed in deionized water for 1, 7, 14 and 28 days were shown in Table 2.

Each material exhibited an alkaline pH (11.03-12.14) at each time point. No significant differences was found between conditions of the same material at any time point. Biodentine and TRRM displayed a significantly higher pH compared with WMTA at each time point ($P<0.05$).

The calcium ion releases of each material immersed in the deionized water for 1, 7, 14 and 28 days were determined (Table 3).

There was no significant difference in calcium ion release between conditions of the same material at each time point. However, the Biodentine/non-blood and Biodentine/blood groups showed a significantly higher calcium ion release compared with the WMTA/non-blood and WMTA/blood groups at each time point ($P<0.05$).

The silicon ion releases of each material immersed in the deionized water for 1, 7, 14 and 28 days were displayed in Table 4.

Table 2 pH of test materials immersed in deionized water.

Period (day)	WMTA /non-blood	WMTA /blood	Biodentine /non-blood	Biodentine /blood	TRRM /non-blood	TRRM /blood
1	11.24 ± 0.2 ^a	11.36 ± 0.11 ^a	11.47 ± 0.06 ^b	11.43 ± 0.04 ^b	11.46 ± 0.07 ^b	11.51 ± 0.04 ^b
7	11.49 ± 0.22 ^a	11.67 ± 0.12 ^a	12.05 ± 0.08 ^b	12.07 ± 0.11 ^b	12.12 ± 0.03 ^b	12.14 ± 0.03 ^b
14	11.27 ± 0.25 ^a	11.32 ± 0.21 ^a	11.73 ± 0.2 ^b	11.83 ± 0.01 ^b	11.69 ± 0.14 ^b	11.7 ± 0.15 ^b
28	11.03 ± 0.34 ^a	11.3 ± 0.21 ^a	11.63 ± 0.1 ^b	11.59 ± 0.07 ^b	11.55 ± 0.1 ^b	11.41 ± 0.15 ^b

Mean ± SD, n = 5.

Mean values followed by different superscripted letters in the same row were significantly different ($P<0.05$).

Table 3 Calcium ion release (mg/L) of test materials immersed in deionized water.

Period (day)	WMTA /non-blood	WMTA /blood	Biodentine /non-blood	Biodentine /blood	TRRM /non-blood	TRRM /blood
1	32.24 ± 18.01 ^a	52.76 ± 39.27 ^a	184.92 ± 41.22 ^b	190.08 ± 23.53 ^b	62.32 ± 32.38 ^a	74.25 ± 22.39 ^a
7	66.55 ± 56.72 ^a	84.71 ± 12.93 ^a	215.3 ± 31.33 ^b	197.58 ± 57.24 ^b	195.36 ± 13.15 ^b	193.1 ± 30.91 ^b
14	60.69 ± 39.13 ^a	72.39 ± 57.72 ^a	159.73 ± 54.09 ^b	160.73 ± 52.76 ^b	124.97 ± 33.87 ^{ab}	121.74 ± 32.59 ^{ab}
28	38.82 ± 22.69 ^a	39.96 ± 8.12 ^a	114.83 ± 23.29 ^b	113.3 ± 32.15 ^b	83.22 ± 18.1 ^c	65.82 ± 18.55 ^c

Mean ± SD, n = 5.

Mean values followed by different superscripted letters in the same row were significantly different ($P<0.05$).

Table 4 Silicon ion release (mg/L) of test materials immersed in deionized water.

Period (day)	WMTA /non-blood	WMTA /blood	Biodentine /non-blood	Biodentine /blood	TRRM /non-blood	TRRM /blood
1	1.21 ± 0.12 ^a	0.87 ± 0.13 ^b	0.8 ± 0.1 ^b	0.41 ± 0.14 ^c	0.78 ± 0.07 ^b	0.48 ± 0.09 ^c
7	1.64 ± 0.18 ^a	1.11 ± 0.2 ^b	0.94 ± 0.13 ^b	0.64 ± 0.13 ^c	0.96 ± 0.12 ^b	0.57 ± 0.14 ^c
14	1.4 ± 0.2 ^a	0.76 ± 0.18 ^b	0.83 ± 0.13 ^b	0.44 ± 0.08 ^c	0.76 ± 0.11 ^b	0.49 ± 0.04 ^c
28	1.49 ± 0.25 ^a	0.85 ± 0.15 ^b	0.79 ± 0.14 ^b	0.4 ± 0.05 ^c	0.7 ± 0.12 ^b	0.41 ± 0.08 ^c

Mean ± SD, n = 5.

Mean values followed by different superscripted letters in the same row were significantly different ($P<0.05$).

Within the same material, the non-blood-contaminated groups had significantly higher silicon ion releases compared with the blood-contaminated groups at each time point ($P < 0.05$). In each group, the pH, calcium, and silicon ion release increased to a maximum level at day 7, then, gradually decreased.

Discussion

The present study tested three calcium silicate-based materials to compare the effects of blood contamination on apatite formation, pH and ion release. In the majority of endodontic applications, material comes into contact with blood or tissue fluid during placement. Many previous studies investigated MTA's properties when it was mixed with blood.^{16,17} However, mixing MTA with blood represents a situation that may be far from the clinical reality in which the material comes concomitantly into contact with fluids. Therefore, this study designed the method of contamination by placing the materials into the moulds that were filled with human whole fresh blood immediately after mixing to most closely simulate the clinical conditions.

MTA is one of the calcium silicate-based materials considered to be bioactive. Previous studies reported that, when it came into contact with phosphate-containing fluids, MTA produced hydroxyapatite that represented bioactivity.^{7,8} For *in vitro* evaluation of apatite formation, various methods have been used to identify the deposits on the material surface.^{19,24,25} XRD identifies the phases related to the materials,²⁶ while SEM with EDX provides images of a material's surface microstructure and quantifies the elements on its surface layers.⁵ Spherical precipitates observed under SEM were recognised as apatite crystals (apatite spherulites) as mentioned in previous studies.²⁶⁻²⁸ Apatite precipitates have been previously observed on MTA, Biodentine and EndoSequence Root Repair Material surfaces immersed in phosphate-buffered solutions.^{22,29,30} In the present study, hydroxyapatite crystals were detected under XRD in all test materials at different immersion times. The results showed that detection of hydroxyapatite crystal by XRD concurred with SEM and EDX analyses. SEM micrographs displayed spherical precipitates over

the material surface and EDX revealed Ca/P ratio similar to stoichiometric hydroxyapatite²³ at all-time points of which XRD detected the hydroxyapatite crystals.

In this study, when apatite was detected on the material via XRD, EDX concurrently demonstrated the Ca/P ratio that is similar to stoichiometric hydroxyapatite,²³ suggesting the presence of calcium phosphate deposits.²⁷ Meanwhile, Si was decreased from the surface, suggesting its accumulation mainly in the subsurface calcium silicate hydrate phase.²⁷ Calcium silicate-based materials have been made based on a composition of calcium and silicate. MTA is one of the most popular calcium silicate-based materials used in endodontics which mainly composed of tricalcium silicate, dicalcium silicates, tricalcium aluminate and bismuth oxide. Meanwhile, Biodentine is a powder and liquid system that consists of tricalcium silicate, dicalcium silicate, calcium oxide, calcium carbonate and zirconium oxide as radiopacifier. The liquid contains calcium chloride which decreases the setting time and a hydrosoluble polymer as a water reducing agent. TRRM is produced as a premixed product in putty consistency which is composed of calcium silicates, zirconium oxide, tantalum oxide, calcium phosphate monobasic and filler agents. In this study, although all materials had bioactivity potential, WMTA demonstrated apatite precipitation earlier than other materials in both conditions. Notably, it is well-known that ionic dissolution is an initial step in the apatite precipitation.³¹ Different calcium silicate-based materials have shown varying degrees of bioactivity, because compositional differences may influence the ion dissolution.

An apatite layer on a calcium silicate-based material forms as a result of the chemical reactions between the material and solution. During the hydration reaction, the silanol groups (Si-OH) on calcium silicate hydrate are deprotonated in an alkaline pH.³² Negative charges (SiO⁻) interact with calcium ions, resulting in an increase in cations that can act as nucleation sites for apatite formation from amorphous calcium phosphate.¹ In the present study, the blood-contaminated groups exhibited apatite precipitation later than the non-blood-contaminated groups. Furthermore, prior to detecting

apatite formation, blood-contaminated groups displayed a lower Si atomic percentage than non-blood-contaminated groups. Thus, blood might impede Si on material's surface during the hydration reaction leading to delayed apatite formation. The presence of silicon is crucial for a material to exhibit bioactivity.³² Dissolving the material in an alkaline environment releases silicon ion that form the silica gel surface layer in calcium silicate hydrate gel and creates silanol groups.³² Our results indicated that for each material, silicon ion release from the non-blood-contaminated group was significantly higher than the blood-contaminated counterpart. These results suggest that blood may reduce silicon ion release, and inhibit the development of the silica gel layer on the material's surface. The role of silicon ions in hard tissue formation was suggested in early bone calcification and inhibition of osteoclastogenesis.^{11,33} Our study showed that the release of silicon ions from WMTA was greater than that from Biodentine and TRRM no matter whether there was blood contamination or not. Increased silicon ion release facilitates osteoblast differentiation and inhibits osteoclastogenesis, thus promoting the healing of periapical tissues.^{10,33} However, whether the reduced silicon ion release in blood-contaminated calcium silicate-based materials has an impact on hard tissue formation requires further studies.

The results of this study showed that blood contamination delays apatite formation and decreases silicon ion release of calcium silicate-based materials, but not their pH or calcium ion release. Calcium ion and hydroxide exchange occur following calcium silicate hydration. MTA has an alkaline pH, resulting from calcium ion release and calcium hydroxide formation.³⁴ After the cement hydration reaction, it continues to release calcium and silicon ions.³² Our study demonstrated that all test materials released calcium and silicon ions and maintained an alkaline pH that reached its maximum value at day 7 and decreased over time. WMTA's calcium ion release pattern is in accordance with a previous study.³⁵ Our results demonstrated that Biodentine and TRRM had a higher pH and calcium ion release compared with WMTA at all experimental time points. This finding is similar to a previous report where Biodentine showed a higher

calcium ion release than that of WMTA.²² The higher calcium ion release from Biodentine may be attributable to the calcium chloride added as an accelerator.³⁶ It has been demonstrated, by both *in vitro* and *in vivo* studies, that pulpal wound healing by the deposition of mineralized apatite depends on pH and calcium ion release.^{37,38}

Lack of solubility has been mentioned as a preferred characteristics of root-end filling and root repair materials.³⁹ Though solubility of TRRM has not been previously reported, some studies have reported low or no solubility of WMTA.^{40,41} While, Biodentine demonstrated higher solubility compare with WMTA.^{42,43} High solubility could contribute to higher calcium ion release of Biodentine found in our study. Nonetheless, there was no report of solubility of these calcium silicate-based materials when contaminated with blood. Even though we did not find any significant difference in pH and calcium ion release between blood contaminated and non-contaminated conditions of the same material in this study, the solubility of these materials under blood contaminated condition remains to be identified.

The importance of hydroxyapatite in supporting osteoblastic differentiation which leads to bone bonding is well-known. The presence of an extensive apatite layer on biomaterials promotes the adsorption of proteins and the formation of a protein layer that favours osteoblast adhesion.^{44,45} Moreover, their deposition over time improved sealing at the interface between dentin and materials.⁸ Therefore, the delay of an apatite formation may affect the osteoblast behaviour and the sealing ability between dentin and materials. Further studies are required to examine the effects of blood contamination on cell-material as well as dentine-material interactions.

Conclusions

Blood contamination delays apatite formation and decreases silicon ion release of calcium silicate-based materials, but not their pH or calcium ion release. WMTA demonstrates earlier apatite formation and greater silicon ion release compared with Biodentine and TRRM when exposed to blood. Based on these findings, we hypothesize that blood contamination of calcium silicate-based

materials interrupts ion exchange during hydration and reduces the formation of the silanol groups that act as sites for nucleation of apatite formation. Blood exposure reduces a material's silicon ion release. Therefore, blood may inhibit the development of a silica gel layer on a material's surface. Thus, hemorrhage control is needed before placing the materials in the clinical situations.

Acknowledgements

This study was supported by the 90th anniversary of Chulalongkorn University Scholarship. The authors deny any conflicts of interest related to this study.

References

1. Kokubo T, Takadama H. How useful is SBF in predicting *in vivo* bone bioactivity? *Biomaterials* 2006;27(15):2907-15.
2. Knabe C, Ducheyne P. Cellular response to bioactive ceramics. *Bioceramics and their clinical applications*: Elsevier; 2008. p. 133-64.
3. Cai X, Ten Hoopen S, Zhang W, Yi C, Yang W, Yang F, *et al.* Influence of highly porous electrospun PLGA/PCL/nHA fibrous scaffolds on the differentiation of tooth bud cells *in vitro*. *J Biomed Mater Res A* 2017;105(9):2597-607.
4. Téclès O, Laurent P, Aubut V, About I. Human tooth culture: a study model for reparative dentinogenesis and direct pulp capping materials biocompatibility. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2008;85(1):180-7.
5. Prati C, Gandolfi MG. Calcium silicate bioactive cements: biological perspectives and clinical applications. *Dental materials* 2015; 31(4):351-70.
6. Hench LL, Splinter RJ, Allen W, Greenlee T. Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. *J Biomed Mater Res A* 1971;5(6):117-41.
7. Sarkar NK, Caicedo R, Ritwik P, Moiseyeva R, Kawashima I. Physicochemical basis of the biologic properties of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2005;31(2):97-100.
8. Reyes-Carmona JF, Felipe MS, Felipe WT. Biomineralization ability and interaction of mineral trioxide aggregate and white portland cement with dentin in a phosphate-containing fluid. *J Endod* 2009;35(5):731-6.
9. Parirokh M, Torabinejad M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--Part I: chemical, physical, and antibacterial properties. *J Endod* 2010;36(1):16-27.
10. 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.
11. Carlisle EM. Silicon: a possible factor in bone calcification. *Science* 1970;167(3916):279-80.
12. Setbon H, Devaux J, Iserentant A, Leloup G, Leprince J. Influence of composition on setting kinetics of new injectable and/or fast setting tricalcium silicate cements. *Dental materials* 2014;30 (12):1291-303.
13. Vallés M, Roig M, Duran-Sindreu F, Martínez S, Mercadé M. Color stability of teeth restored with Biodentine: a 6-month *in vitro* study. *J Endod* 2015;41(7):1157-60.
14. Nowicka A, Lipski M, Parafiniuk M, Sporniak-Tutak K, Lichota D, Kosierkiewicz A, *et al.* Response of human dental pulp capped with biodentine and mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2013; 39(6):743-7.
15. Chen I, Karabucak B, Wang C, Wang HG, Koyama E, Kohli MR, *et al.* Healing after root-end microsurgery by using mineral trioxide aggregate and a new calcium silicate-based bioceramic material as root-end filling materials in dogs. *J Endod* 2015;41(3):389-99.
16. Nekoofar MH, Oloomi K, Sheykhrezae MS, Tabor R, Stone DF, Dummer PM. An evaluation of the effect of blood and human serum on the surface microhardness and surface microstructure of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J* 2010;43(10):849-58.
17. Nekoofar MH, Stone DF, Dummer PM. The effect of blood contamination on the compressive strength and surface microstructure of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J* 2010; 43(9):782-91.
18. Salem Milani A, Rahimi S, Froughrehyani M, Vahid Pakdel M. Effect of Blood Contamination on Marginal Adaptation and Surface Microstructure of Mineral Trioxide Aggregate: A SEM Study. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects* 2013;7(3):157-63.
19. Gandolfi MG, Siboni F, Primus CM, Prati C. Ion release, porosity, solubility, and bioactivity of MTA Plus tricalcium silicate. *J Endod* 2014;40(10):1632-7.
20. Gandolfi MG, Taddei P, Modena E, Siboni F, Prati C. Biointeractivity-related versus chemi/physisorption-related apatite precursor-forming ability of current root end filling materials. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2013;101(7):1107-23.
21. Shen Y, Peng B, Yang Y, Ma J, Haapasalo M. What do different tests tell about the mechanical and biological properties of bioceramic materials? *Endodontic Topics* 2015;32(1):47-85.
22. Han L, Okiji T. Bioactivity evaluation of three calcium silicate-based endodontic materials. *Int Endod J* 2013;46(9):808-14.
23. Wang L, Nancollas GH. Calcium orthophosphates: crystallization and dissolution. *Chemical reviews* 2008;108(11):4628-69.

24. Guimarães BM, Vivan RR, Piazza B, Alcalde MP, Bramante CM, Duarte MAH. Chemical-physical Properties and Apatite-forming Ability of Mineral Trioxide Aggregate Flow. *J Endod* 2017;43(10):1692-6.
25. Oliveira IR, Andrade TL, Jacobovitz M, Pandolfelli VC. Bioactivity of calcium aluminate endodontic cement. *J Endod* 2013;39(6):774-8.
26. Chen CC, Ho CC, David Chen CH, Wang WC, Ding SJ. *In vitro* bioactivity and biocompatibility of dicalcium silicate cements for endodontic use. *J Endod* 2009;35(11):1554-7.
27. Gandolfi MG, Taddei P, Tinti A, Prati C. Apatite-forming ability (bioactivity) of ProRoot MTA. *Int Endod J* 2010;43(10):917-29.
28. Han L, Kodama S, Okiji T. Evaluation of calcium-releasing and apatite-forming abilities of fast-setting calcium silicate-based endodontic materials. *Int Endod J* 2015;48(2):124-30.
29. Gandolfi MG, Ciapetti G, Taddei P, Perut F, Tinti A, Cardoso MV, *et al.* Apatite formation on bioactive calcium-silicate cements for dentistry affects surface topography and human marrow stromal cells proliferation. *Dent Mater* 2010;26(10):974-92.
30. Shokouhinejad N, Nekoofar MH, Razmi H, Sajadi S, Davies TE, Saghiri MA, *et al.* Bioactivity of EndoSequence root repair material and bioaggregate. *Int Endod J* 2012;45(12):1127-34.
31. Khor K, Li H, Cheang P, Boey S. *In vitro* behavior of HVOF sprayed calcium phosphate splats and coatings. *Biomaterials* 2003;24(5):723-35.
32. Camilleri J. Mineral Trioxide Aggregate in Dentistry: From Preparation to Application: Springer; 2014.
33. Tian J, Qi W, Zhang Y, Glogauer M, Wang Y, Lai Z, *et al.* Bioaggregate Inhibits Osteoclast Differentiation, Fusion, and Bone Resorption *In Vitro*. *J Endod* 2015;41(9):1500-6.
34. Camilleri J. Hydration mechanisms of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J* 2007;40(6):462-70.
35. Camilleri J. Characterization of hydration products of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J* 2008;41(5):408-17.
36. Bortoluzzi EA, Broon NJ, Duarte MAH, de Oliveira Demarchi ACC, Bramante CM. The use of a setting accelerator and its effect on pH and calcium ion release of mineral trioxide aggregate and white Portland cement. *J Endod* 2006;32(12):1194-7.
37. Holland R, Souza Vd, Nery MJ, Faraco Júnior IM, Bernabé PFE, Otoboni Filho JA, *et al.* Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with a white mineral trioxide aggregate. *Braz Dent J* 2002:23-6.
38. Okabe T, Sakamoto M, Takeuchi H, Matsushima K. Effects of pH on mineralization ability of human dental pulp cells. *J Endod* 2006;32(3):198-201.
39. Grossman LI. Solubility of root canal cements. *J Dent Res* 1978;57(9-10).
40. Danesh G, Dammaschke T, Gerth HU, Zandbiglari T, Schafer E. A comparative study of selected properties of ProRoot mineral trioxide aggregate and two Portland cements. *Int Endod J* 2006;39(3):213-9.
41. Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod* 1995;21(7):349-53.
42. Kaup M, Schäfer E, Dammaschke T. An *in vitro* study of different material properties of Biodentine compared to ProRoot MTA. *Head & face medicine* 2015;11(1):16.
43. Singh S, Podar R, Dadu S, Kulkarni G, Purba R. Solubility of a new calcium silicate-based root-end filling material. *J Conserv Dent* 2015;18(2):149-53.
44. Porter AE. Nanoscale characterization of the interface between bone and hydroxyapatite implants and the effect of silicon on bone apposition. *Micron* 2006;37(8):681-8.
45. Porter AE, Botelho CM, Lopes MA, Santos JD, Best SM, Bonfield W. Ultrastructural comparison of dissolution and apatite precipitation on hydroxyapatite and silicon-substituted hydroxyapatite *in vitro* and *in vivo*. *J Biomed Mater Res A* 2004;69(4):670-9.

Vertical Skeletal Pattern influences Alveolar bone Thickness in the Anterior Mandible of Thais

Phuntin Uengkajornkul¹, Korapin Mahatumarat¹, Soontra Panmekiate²

¹Department of Orthodontics, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok

²Department of Radiology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok

Abstract

This study evaluated the alveolar bone thickness (ABT) of the mandibular incisors in Thais with different vertical skeletal patterns. One hundred and thirty-five patients (average age 24.2 years) were divided into three groups according to their vertical skeletal pattern (i.e. skeletal deepbite, skeletal normal bite, and skeletal openbite). The labial and lingual ABTs of the mandibular incisors at 3 mm (cervical level) and 6 mm (mid-root level) apical to the cemento-enamel junction (CEJ) and at the root apices (apical level) were measured from cone-beam computed tomography images. One-way ANOVA was used to determine the differences in ABT between the groups at a 0.05 significance level. There were the differences in ABT between the three groups ($p < 0.001$), with the greatest difference seen between the skeletal deepbite and openbite patients. The skeletal deepbite patients had the significantly thickest labial and lingual alveolar bones of the mandibular incisors followed by the skeletal normal bite and skeletal openbite patients, which were also significantly different from each other, at the lingual mid-root and total apical ABT. In conclusion, considering the alveolar bone as the boundary for tooth movement, greater movement of the mandibular incisors in an antero-posterior direction can be performed in skeletal deepbite patients, while skeletal openbite can undergo the least movement, mainly at the lingual mid-root and root apex levels.

Keywords: Alveolar bone thickness, Cone-beam computed tomography, Mandibular incisors, Vertical skeletal pattern

Received Date: Mar 12, 2019

Revised Date: Mar 27, 2019

Accepted Date: Apr 26, 2019

Doi: 10.14456/jdat.2019.41

Correspondence to:

Phuntin Uengkajornkul, Department of Orthodontics, Chulalongkorn University 34 Henri-Dunant Rd, Patumwan Bangkok 10330, Thailand.

Tel: 0830366276 E-mail: phuntinu@gmail.com

Introduction

To achieve ideal tooth movement, the alveolar bone must adapt consistent with tooth movement, and cortical plate formation must equal the alveolar proper resorption. Hence, successful orthodontic tooth movement

must occur within the confines of the alveolar bone. However, the amount of tooth movement that the alveolar bone can adapt to is limited. According to the Envelope of discrepancy model, which indicates the

boundary for tooth movement,¹ the mandibular anterior region was the most restricted area for orthodontic tooth movement due to its relatively narrow width. Numerous studies found that deleterious side effects from orthodontic treatment; such as reduced alveolar bone thickness (ABT), bony dehiscences, and perforations of the cortical plate, were related to excessive movement of the mandibular incisors in the labial-lingual direction.²⁻⁵

Previous studies^{6,7} measured the alveolar bone thickness at the anterior mandible to determine the allowable distance for tooth movement. These studies showed a very thin layer of labial and lingual alveolar bone in this area, especially at the upper half of root level. In addition, bony dehiscences and fenestrations at the mandibular incisors were frequently found in non-orthodontic patients.⁸ Moreover, the severity of alveolar bone loss after orthodontic treatment was higher in patients who initially had thin alveolar bone.⁹

Vertical facial type is an anatomical factor that associated the alveolar bone thickness in the anterior mandible, especially at the apical level. Skeletal openbite (hyper-divergent) patients had thinner alveolar bone compared with skeletal normal bite (normo-divergent) and skeletal deepbite (hypo-divergent) patients. Some studies indicated that the ABT at the cervical to mid-root level were not different between the three vertical facial types.¹⁰⁻¹² However, Hoang *et al.*,¹³ found a difference in ABT at the alveolar crest level between the three vertical skeletal patterns. Although a skeletal openbite is strongly associated with thin alveolar bone, a very thin alveolus was found in every vertical skeletal pattern.¹⁴ However, the association between vertical skeletal type and ABT in a Thai population has not been evaluated.

Cone-beam computed tomography (CBCT) is commonly used for three-dimensional structural examination in orthodontics. The data from CBCT images can solve some problems that are found in conventional lateral cephalometry (a two-dimensional image) such as structural overlapping and magnification error. The anterior mandible is a three-dimensional structure, which consists

of four incisors. Therefore, the alveolar bone thickness of each tooth, which could not be exactly measured using conventional lateral cephalometry, can be examined individually with CBCT. Moreover, the accuracy of the dimensional measurements from CBCT images correspond with actual structure sizes, thus clinicians and researchers can get better qualitative and quantitative data from CBCT.¹⁵⁻¹⁶

The aim of this study was to evaluate the labial and lingual ABT of the mandibular incisors at the cervical to apical levels between groups with different vertical skeletal patterns using CBCT in a Thai population.

Materials and Methods

The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University (HREC-DCU 2018-041). One hundred and thirty-five patients at the Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University (65 males and 70 females; age 24.17 ± 5.04 years) whose CBCT images were acquired from August 2013 to April 2018 for maxillary impacted or embedded teeth localization and implant placement treatment planning, were selected using the following inclusion criteria: 1. age 18–30 years-old, 2. no previous orthodontic treatment, 3. full permanent dentition of the mandibular arch without severe rotation or more than 3 mm of mandibular incisor crowding, 4. without oral pathology or periodontal disease of the mandibular arch, and 5. the landmarks used in the study were clearly visible on the CBCT image. The sample size was calculated based on a previous study¹³ at a 0.05 significance level and 80 % power using program G* power version 3.1.9.2. This calculation indicated that 28 patients were required per group.

The CBCT images were obtained using a 3DX Accuitomo 170 machine (J. Morita, Kyoto, Japan) with 90 kVp, 5 mA, and 17.5 sec scanning time. The field of view of the CBCT images was 8 x 8 cm with a 0.165 mm voxel size. The patients were divided to three groups (45 patients/group) based on vertical skeletal pattern (skeletal deepbite: 22 males, 23 females, skeletal normal bite: 22 males, 23 females, and skeletal openbite: 21 males,

24 females). The Thai norms for the palatal plane-mandibular plane (PP-MP) angle¹⁷ were used to categorize the patients (skeletal deepbite < 21°, skeletal normal bite = 21°–29°, and skeletal openbite > 29°) (Fig. 1). Furthermore, the Wits appraisal analysis was used to identify the sagittal maxillo-mandibular relationship (Fig. 2).¹⁸

Infinitt proprietary software v.2 (Infinitt Co., Seoul, Republic of Korea) was used for examining and measuring the CBCT images by a single operator who had been trained and supervised by a board certified oral and maxillofacial radiologist. A 1 mm slice thickness was used for bone thickness measurement. The sagittal slice was set along the long axis of each tooth and aligned perpendicular to the alveolar ridge curvature. The labial and lingual ABTs of the four mandibular incisors were measured perpendicular to the long axis of each tooth from the root surface to the external limit of the mandibular labial and lingual cortical bones at 3 mm (cervical level) and 6 mm (mid-root level) apical to the

cemento-enamel junction (CEJ) and at the root apices (apical level) (Fig. 3).

One month after the first measurement, 20 % of the patients were randomly selected. The same operator measured all variables to determine Intra-rater reliability.

Statistical analysis was performed using SPSS v.22.00 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The significance level was set at 0.05. The Kolomgorov-Smirnov test verified the normal distribution of all variables. The ABTs of the same patient were compared between the left and right teeth and between the central and lateral incisors using the independent *t*-test. The difference between the male and female patients' variables were analyzed using the independent *t*-test. One-way ANOVA and Tukey's post-hoc test were performed to determine the differences in the ABTs of the mandibular incisors between the three vertical skeletal pattern groups.

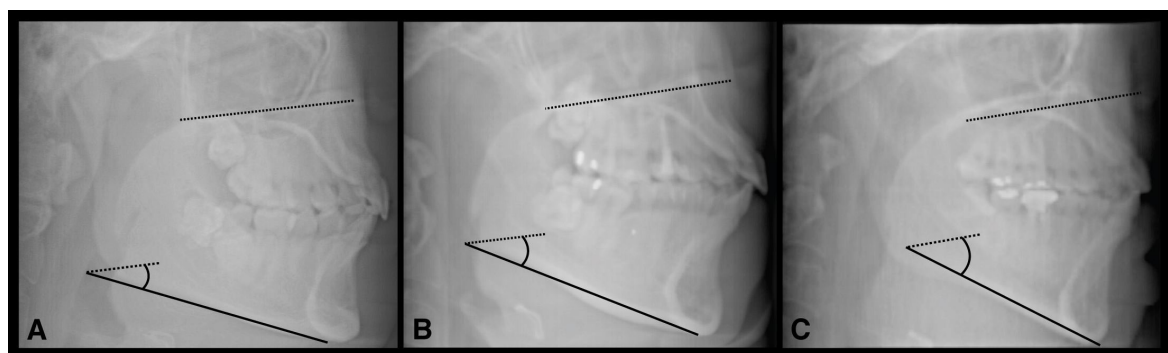


Figure 1 PP-MP angle measurement in a sagittal maximum intensity projection view of the CBCT image. (A) skeletal deepbite patient, (B) skeletal normal bite patient, and (C) skeletal openbite patient.

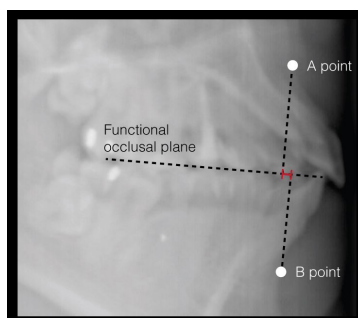


Figure 2 Wits appraisal analysis, the distance between projecting point A and B in perpendicular lines along the functional occlusal plane, in a sagittal maximum intensity projection view of the CBCT images.

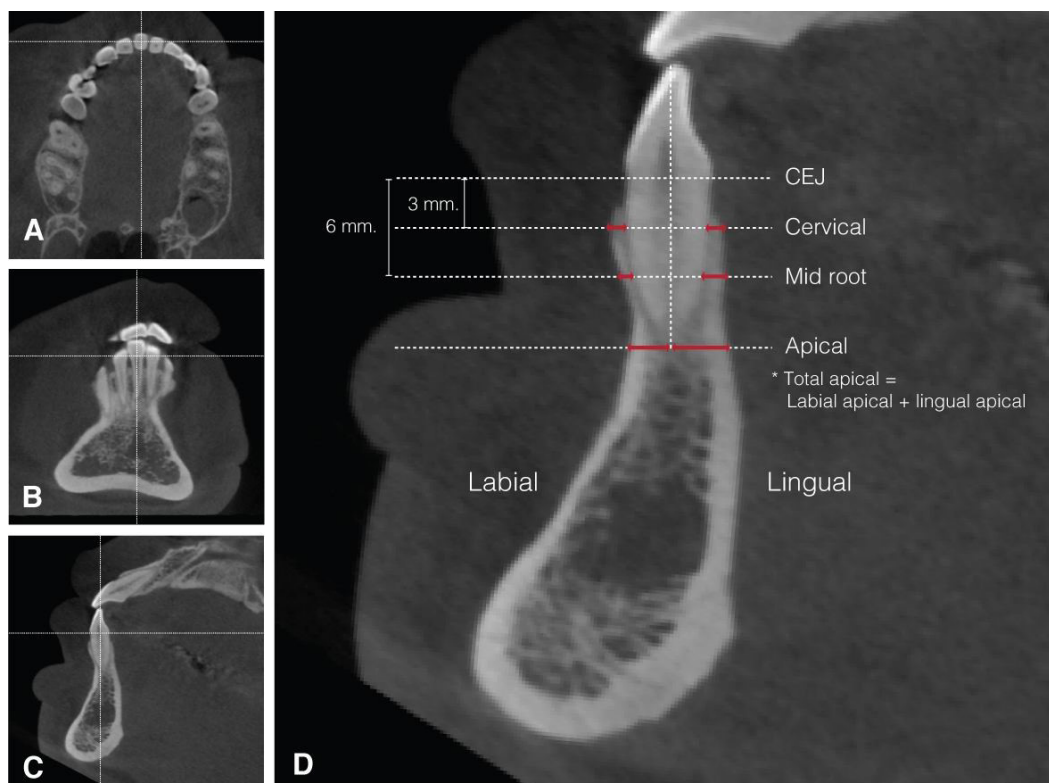


Figure 3 (A-C) The multiplanar reconstruction used to measure the ABT of the mandibular incisors. (D) Anteroposterior cross-section of the mandibular incisors. Bone thickness was measured perpendicular to the long axis of the tooth.

Results

An intra-class correlation coefficient (ICC) of 0.87–0.97 was found, indicating excellent intra-rater reliability. There were no significant differences between the ABTs of the left and right teeth and between male and female patients; thus, the data were combined for further statistical analysis. However, the ABT measurements between the central and lateral mandibular incisors were significantly different. Consequently, the measurements of the central and lateral incisors were analyzed separately.

The descriptive analysis of the patients is shown in Table 1. There were no significant differences in age or sagittal skeletal relationship between the three groups.

The results indicated that at the labial bone, the mean ABT at the cervical to mid-root level was less than 1 mm (Table 2).

There were no significant differences between the mean cervical ABT of the central or lateral incisors between three groups. At the mid-root level of the central incisors, the ABT in the skeletal deepbite group

(0.61 ± 0.24 mm.) was significantly higher compared with the skeletal openbite group (0.46 ± 0.21 mm.). The apical alveolar bone of all groups was the thickest area of the labial plate and the mean skeletal deepbite group's ABT was significantly higher compared with the other groups (Table 2).

The lingual alveolar bone was the thinnest at the cervical level and tended to become thicker from the cervical to apical level in every group (Table 3). The mean ABTs in the skeletal deepbite group were significantly higher than those of the other groups, except for the skeletal normal bite group at the lingual cervical ABT of the central incisors and the lingual apical ABT of the central and lateral incisors. The skeletal openbite group's alveolar bone was the significantly thinnest at all levels, however there was no significant difference in lingual cervical ABT between the skeletal openbite and normal bite groups (Table 3).

When the labial and lingual apical ABTs were combined as total apical ABT, the difference between the three groups was significant (Table 4). The skeletal deepbite group demonstrated the thickest total apical alveolar bone (central incisor = 9.06 ± 1.37 mm. and

lateral incisor = 9.37 ± 1.22 mm.) followed by the skeletal normal bite (central incisor = 8.07 ± 1.56 mm. and lateral incisor = 8.29 ± 1.53 mm.) and skeletal openbite (central incisor = 6.77 ± 1.47 mm. and lateral incisor = 7.24 ± 1.69 mm.) groups.

Table 1 Means and standard deviations of age, vertical skeletal pattern, and antero-posterior skeletal pattern.

Measurement	Overall	Deepbite	Normal bite	Openbite
Age (year)	24.17 ± 5.04	23.82 ± 4.78	25.27 ± 5.49	23.42 ± 4.74
PP-MP angle (°)	25.40 ± 7.10	17.43 ± 3.09	25.48 ± 1.20	33.30 ± 3.37
Wits appraisal(mm.)	-1.45 ± 4.43	-1.32 ± 4.10	-1.42 ± 4.37	-1.31 ± 4.89

Values were presented as mean \pm standard deviation.

PP-MP angle, Angle formed between palatal plane and mandibular plane.

Mean values of age and Wits appraisal were not statistically significant different.

Table 2 Comparison of the labial alveolar bone thickness between the three vertical skeletal patterns and the multiple comparison test results.

Measurements (mm.)	Deepbite (D)	Normal bite (N)	Openbite (O)	ANOVA <i>p</i> -value	Tukey's tests Significantly different groups
Central incisor					
Labial-cervical (1)	0.86 ± 0.34	0.79 ± 0.34	0.75 ± 0.35	NS	-
Labial-mid root (2)	0.61 ± 0.24	0.52 ± 0.24	0.46 ± 0.21	0.012	D vs O
Labial-apical (3)	4.03 ± 1.21	3.48 ± 1.12	3.11 ± 0.79	< 0.001	D vs N , D vs O
ANOVA <i>P</i> -value	< 0.001	< 0.001	< 0.001		
Tukey's tests	1 vs 3	1 vs 3	1 vs 3		
Statistically different groups	2 vs 3	2 vs 3	2 vs 3		
Lateral incisor					
Labial-cervical (1)	0.92 ± 0.36	0.85 ± 0.42	0.74 ± 0.34	NS	-
Labial-mid root (2)	0.44 ± 0.26	0.37 ± 0.17	0.34 ± 0.16	NS	-
Labial-apical (3)	4.39 ± 1.17	3.71 ± 1.13	3.39 ± 0.89	< 0.001	D vs N , D vs O
ANOVA <i>P</i> -value	< 0.001	< 0.001	< 0.001		
Tukey's tests	1 vs 3	1 vs 3	1 vs 3		
Statistically different groups	2 vs 3	2 vs 3	2 vs 3		

Values were presented as mean \pm standard deviation.

Table 3 Comparison of the lingual alveolar bone thickness between the three vertical skeletal patterns and the multiple comparison test results.

Measurements (mm.)	Deepbite (D)	Normal bite (N)	Openbite (O)	ANOVA <i>p</i> -value	Tukey's tests Significantly different groups
Central incisor					
Lingual-cervical (1)	0.81 ± 0.33	0.74 ± 0.32	0.65 ± 0.25	0.046	D vs O
Lingual-mid root (2)	1.53 ± 0.67	1.21 ± 0.52	0.89 ± 0.49	< 0.001	D vs N, D vs O, N vs O
Lingual-apical (3)	5.03 ± 1.29	4.60 ± 1.14	3.67 ± 1.31	< 0.001	D vs O, N vs O
ANOVA <i>P</i> -value	< 0.001	< 0.001	< 0.001		
Tukey's tests	1 vs 2,3	1 vs 3	1 vs 3		
Statistically different groups	2 vs 3	2 vs 3	2 vs 3		
Lateral incisor					
Labial-cervical (1)	1.04 ± 0.35	0.82 ± 0.36	0.75 ± 0.34	< 0.001	D vs N, D vs O
Labial-mid root (2)	2.05 ± 0.71	1.47 ± 0.57	1.11 ± 0.65	< 0.001	D vs N, D vs O, N vs O
Labial-apical (3)	4.99 ± 1.30	4.58 ± 1.06	3.84 ± 1.39	< 0.001	D vs O, N vs O
ANOVA <i>P</i> -value	< 0.001	< 0.001	< 0.001		
Tukey's tests	1 vs 2,3	1 vs 2,3	1 vs 3		
Statistically different groups	2 vs 3	2 vs 3	2 vs 3		

Values were presented as mean ± standard deviation.

Table 4 Comparison of the total apical alveolar bone thickness between the three vertical skeletal patterns and the multiple comparison test results.

Measurements (mm.)	Deepbite (D)	Normal bite (N)	Openbite (O)	ANOVA <i>p</i> -value	Tukey's tests Significantly different groups
Central incisor					
total apical	9.06 ± 1.37	8.07 ± 1.56	6.77 ± 1.47	< 0.001	D vs N, D vs O, N vs O
Lateral incisor					
total apical	9.37 ± 1.22	8.29 ± 1.53	7.24 ± 1.69	< 0.001	D vs N, D vs O, N vs O

Values were presented as mean ± standard deviation.

Discussion

The present study evaluated the ABT of the mandibular incisors between different vertical skeletal pattern groups. However, there are other factors related to alveolar bone thickness. A previous study¹⁹ reported that ABT decreases as people age. Moreover, the amount of crowding impacts ABT, patients with mild crowding

had thicker alveolar bone compared with those with severe crowding.²⁰ Hence, the subjects in our study were 18-30 years-old, and had only mild crowding (0-3 mm).

The small field of view (FOV) of the CBCT images (8x8 cm) used in this study did not cover the cranial base region to reduce the radiation dose to the patient.

Therefore, the palatal plane-mandibular plane (PP-MP) angle was used to identify the patients' vertical skeletal pattern rather than the Sella to Nasion-mandibular plane (SN-MP) angle. Petchdachai¹⁷ reported a high correspondence between the PP-MP angle and other parameters, e.g. the Frankfurt horizontal plane and SN-MP angle, which are commonly used to identify the vertical skeletal pattern.

Although the absence of some anatomical landmarks that are used for cephalometric analysis is a disadvantage of using small FOV CBCT images, the small voxel size was an advantage in our study. The small FOV CBCT images provided higher spatial resolution and more clearly display the image details. Because our study investigated the ABT of the mandibular incisors, which is very thin, the small voxel size (0.165 mm) allowed for more accurate measurement compared with a larger size. However objects smaller than the voxel size cannot be identified on CBCT images because of partial volume effect. Therefore, alveolar bone that was thinner than 0.165 mm could not be detected using CBCT. For instance, some teeth that were actually covered by very thin alveolar bone were misdiagnosed as a bony dehiscence or fenestration by CBCT.²¹ This limitation of CBCT analysis should be considered when it is used to estimate alveolar bone thickness.

The present study found differences in mandibular incisors' ABT between vertical skeletal pattern patients. Skeletal deepbite patients presented the thickest alveolar bone and skeletal openbite patients had the thinnest alveolus. Similar to previous studies¹⁰⁻¹², the difference in ABT between vertical skeletal relationships was found at the root apex, particularly for total apical ABT.

Although the previous studies¹⁰⁻¹² indicated that the thickness of the alveolar plates at the cervical to mid-root level was not different between vertical skeletal patterns, our study did find differences in ABT at these levels between the three groups. We found that, at the mid-root level of lingual alveolar bone, the skeletal openbite patients' ABT was the thinnest followed by the skeletal normal bite and skeletal deepbite patients. Additionally, at the cervical level, the skeletal openbite patients' lingual alveolar bone was significantly thinner compared with the skeletal deepbite patients at the

central incisor and was significantly thinner than that of the skeletal deepbite and normal bite patients at the lateral incisor. These findings were similar to those of Hoang *et al.*,¹³ The very thin bony support of the skeletal openbite patients might be a consequence of dentoalveolar compensation, because the teeth and alveolar bone over-erupted to maintain the overbite for the increased vertical skeletal dimension.²²

Although the differences in ABT at the cervical to mid-root level were significant, our results indicated that the labial plate at the cervical to mid-root level and lingual plate at the cervical level were very thin (0.5–1 mm) in every vertical skeletal relationship. These results confirmed those of previous studies.^{6,7,23} Therefore, clinicians should consider the labial alveolar bone thickness at the cervical to mid-root level and lingual alveolar bone at cervical level as less than 1 mm in all patients.

A previous study indicated that the alveolar bone was thicker going from the cervical to apical level.²⁴ The present study found a similar pattern for the lingual alveolar bone. However, there was no significant difference in labial ABT between the cervical and mid-root level. Prior studies of postnatal growth of the mandibular symphyseal area²⁵⁻²⁶ revealed that the lingual cortex of the anterior mandible, including the dentoalveolar process, underwent periosteal bone deposition during growth, whereas the labial side of the anterior mandible above the protruding chin experienced highly variable periosteal bone resorption, especially at the upper half root level. The difference in the bone remodeling between the labial and lingual cortex might explain why the lingual alveolar bone was thicker going from the cervical to apical level, however, the labial cervical ABT was not significantly different from the labial mid-root ABT.

Thin initial ABT is associated with negative consequences after orthodontic treatment.^{2-5,13} To prevent deleterious effects such as alveolar bone loss, bony dehiscence, or fenestration, the pre-treatment alveolar bone thickness of the mandibular incisors should be considered as the boundary of orthodontic tooth movement, particularly in skeletal openbite patients. The type and amount of tooth movement should be initially planned

based on the amount of ABT. For instance, when requiring lingual tooth movement, bodily tooth movement or controlled tipping should be selected instead of un-controlled tipping that might move the root apex penetrate the labial plate surface while the crown is moving lingually. Similarly, labial tooth movement should be performed using controlled tipping with a rotation center at the root apex instead of bodily tooth movement. Importantly, clinicians should use a low force for orthodontic tooth movement and carefully monitor the existing labial and lingual alveolar bone of the mandibular incisors throughout the treatment period.

If excessive tooth movement of the mandibular incisors beyond the boundary of the alveolar housing is desired, orthognathic surgery might be an appropriate treatment option.²⁷ Corticotomy-assisted orthodontic treatment is another option for increasing the amount of mandibular incisor tooth movement. A clinical study²⁸ reported that after tooth movement was completed, the alveolar bone reduction was less in patients treated with corticotomy alone or combined with bone grafting.

Studies have shown that the sagittal skeletal relationship was also related to the mandibular incisor's alveolar bone dimensions.^{10,12} Due to the limited sample size, evaluating the effect of the sagittal skeletal relationship on ABT could not be included in this study. To expand our understanding of the influence of skeletal relationships on ABT of the mandibular incisors ABT, a future CBCT study using a larger sample size should investigate the differences in ABT in patients with all vertical and sagittal skeletal pattern combinations.

Conclusion

There were the differences in mandibular incisor ABT at various areas between the three vertical skeletal patterns. Skeletal deepbite patients had the thickest alveolar bone and those with skeletal openbite had the thinnest, particularly at the lingual mid-root and total apical levels. Thus, skeletal deepbite patients can tolerate more antero-posterior tooth movement in the mandibular incisor area. In contrast, skeletal openbite patients can tolerate limited movement of the mandibular incisor in antero-posterior direction, mainly at root apex level.

References

1. Proffit WR, Fields HW, Sarver DM. Contemporary Orthodontics. 5th ed. St Louis, Mo: Mosby Elsevier; 2012.
2. Sarikaya S, Haydar B, Ciger S, Ariyurek M. Changes in alveolar bone thickness due to retraction of anterior teeth. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2002;122(1):15-26
3. Handelman CS. The anterior alveolus: its importance in limiting orthodontic treatment and its influence on the occurrence of iatrogenic sequelae. *Angle Orthod* 1996;66(2):95-109.
4. Wainwright WM. Faciolingual tooth movement: its influence on the root and cortical plate. *Am J Orthod* 1973;64(3):278-302.
5. Wehrbein H, Bauer W, Diedrich P. Mandibular incisors, alveolar bone, and symphysis after orthodontic treatment. A retrospective study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1996;110(3):239-46.
6. Gracco A, Luca L, Bongiomo MC, Siciliani G. Computed tomography evaluation of mandibular incisor bony support in untreated patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2010;138(2):179-87.
7. Garib DG, Yatabe MS, Ozawa TO, Silva Filho OG. Alveolar bone morphology under the perspective of the computed tomography: Defining the biological limits of tooth movement. *Dental Press J Orthod* 2010;15(5):192-205.
8. Yagci A, Veli I, Uysal T, Ucar FI, Ozer T, Enhos S. Dehiscence and fenestration in skeletal Class I, II, and III malocclusions assessed with cone-beam computed tomography. *Angle Orthod* 2012;82(1):67-74.
9. Garlock DT, Buschang PH, Araujo EA, Behrents RG, Kim KB. Evaluation of marginal alveolar bone in the anterior mandible with pretreatment and posttreatment computed tomography in nonextraction patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2016;149(2):192-201.
10. Baysal A, Ucar FI, Buyuk SK, Ozer T, Uysal T. Alveolar bone thickness and lower incisor position in skeletal Class I and Class II malocclusions assessed with cone-beam computed tomography. *Korean J Orthod* 2013;43(3):134-140.
11. Ponraj RR, Korath VA, Nagachandran, Vijayalakshmi D, Parameswaran R, Raman P, et al. Relationship of anterior alveolar dimensions with mandibular divergence in Class I malocclusion – A cephalometric study. *J Clin Diagn Res* 2016;10(5):29-33.
12. Molina-Berlanga N, Llopis-Perez J, Flores-Mir C, Puigdollers A. Lower incisor dentoalveolar compensation and symphysis dimensions among Class I and III malocclusion patients with different facial vertical skeletal patterns. *Angle Orthod* 2013;83(6):948-55.
13. Hoang N, Nelson G, Hatcher D, Oberoi S. Evaluation of mandibular anterior alveolus in different skeletal patterns. *Progress in Orthodontics* 2016;17:22.
14. Gama A, Vedovello S, Vedovello-Filho M, Lucato AS, Junior

- MS. Evaluation of the alveolar process of mandibular incisor in Class I, II and III individuals with different facial patterns. *UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde* 2012;14(2):95-8.
15. Lagravère MO, Carey J, Toogood RW, Major PW. Three-dimensional accuracy of measurements made with software on cone-beam computed tomography images. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2008;134(1):112-6.
16. Timock AM, Cook V, McDonald T, Leo MC, Crowe J, Benninger BL, *et al.* Accuracy and reliability of buccal bone height and thickness measurements from cone-beam computed tomography imaging. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2011;140(5):734-44.
17. Petdachai S. CBCT and Dentistry: Airway volume in normal facial pattern. 1st ed. Bangkok: CU Printing House; 2017.
18. Jacobson A. The “Wits” appraisal of jaw disharmony. *AM J Orthod* 1975;67(2):125-38.
19. Koh KK, Tan JS, Nambiar P, Ibrahim N, Mutalik S, Khan Asif M. Age estimation from structural changes of teeth and buccal alveolar bone level. *J Forensic Leg Med* 2017;48:15-21.
20. Uysal T, Yagci A, Ozer T, Veli I, Ozturk A. Mandibular anterior bony support and incisor crowding: Is there a relationship? *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2012;142(5):645-53.
21. Sun L, Zhang L, Shen G, Wang B, Fang B. Accuracy of cone-beam computed tomography in detecting alveolar bone dehiscences and fenestrations. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2015;147(3):313-23.
22. Anwar N, Fida M. Compensation for vertical dysplasia and its clinical application. *Eur J Orthod* 2009;31(5):516-22.
23. Foosiri P, Mahatumarat K, Panmekiate S. Relationship between mandibular symphysis dimensions and mandibular anterior alveolar bone thickness as assessed with cone-beam computed tomography. *Dental Press J Orthod* 2018;23(1):54-62.
24. Nauert K, Berg R. Evaluation of labio-lingual bony support of lower incisors in orthodontically untreated adults with the help of computed tomography. *J Orofac Orthop* 1999;60(5):321-34.
25. Enlow DH, Haris DB. A study of the postnatal growth of human mandible. *Am J Orthod* 1964;50(1):25-50.
26. Kurihara S, Enlow DH, Rangel RD. Remodeling reversals in anterior parts of the human mandible and maxilla. *Angle Orthod* 1980 Apr;50(2):98-106.
27. Houston WJ, Edler R. Long-term stability of the lower labial segment relative to the A-POG line. *EUR J Orthod* 1990;12(3):302-10.
28. Bhattacharya P, Bhattacharya H, Anjum A, Bhandari R, Agarwal DK, Gupta A, *et al.* Assessment of Corticotomy Facilitated Tooth Movement and Changes in Alveolar Bone Thickness - A CT Scan Study. *J Clin Diagn Res* 2014;8(10):26-30.

How Thick Peri-implant Tissue Affected Esthetic Satisfaction on Single Implant Restoration in Treated Periodontal Patients

Tharntip Suwanwichit¹, Navawan Sophon¹, Teerawut Tangsathian¹, Kakanang Supanimitkul¹,
Kajorn Kungsadelpipob¹, Sirikarn P. Arunyanak¹

¹Department of Periodontology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok

Abstract

To identify the factors affecting the esthetic outcome of implant-supported single crowns in periodontal patients, thirty-four periodontitis patients with implants were consecutively examined for esthetic outcomes. A questionnaire was used to measure the satisfaction of patients with peri-implant soft tissues, implant crown, smile, and total implant treatment using a visual analogue scale (VAS). Ten clinicians applied the Pink and White Esthetic Score (PES/WES) to each patient. The association between the clinical factors and the degree of patient satisfaction was analyzed using the Pearson chi-square test. The mean overall patient's satisfaction was 80.2 % and the mean PES/WES was 12.67. Peri-implant tissue biotype was significantly associated with the degree of patient satisfaction on papilla height, contour, color, and labial mucosa surface. A thick peri-implant tissue was the only significant factor in determining the degree of patients' satisfaction in periodontal patients. However, all patients reported acceptable esthetic outcomes.

Keywords: dental implant, esthetic, patient satisfaction, periodontitis, visual analogue scale

Received Date: Feb 1, 2019

Revised Date: Feb 25, 2019

Accepted Date: May 30, 2019

Doi: 10.14456/jdat.2019.42

Correspondence to:

Sirikarn P. Arunyanak, Department of Periodontology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University 34 Henri-Dunant Road, Pathumwan, Bangkok 10330, Thailand Tel.: +662 218 8850 Fax: +662 218 8849 E-mail: phothikhuns@gmail.com

Introduction

Peri-implant soft tissue and implant evaluation is commonly used to assess the esthetic outcomes of implant treatment.¹ However, most periodontal patients have an excessive exposed tooth length due to gingival

recessions and alveolar bone loss. Therefore, these cases may be more challenging to obtain esthetic outcomes of a natural smile and beautiful teeth. Esthetic outcomes are directly affected by gingival recession, soft tissue

biotype, keratinized gingiva, and smile line. Several studies have demonstrated the influence of these factors on esthetics.¹⁻³

The satisfaction of the patient should be considered as a very important success criterion for dental implant therapy. Although numerous studies⁴⁻⁶ investigated patient satisfaction and the quality of life in those receiving dental implant treatments, there are limited studies addressing this aspect when evaluating the treatment outcomes of anterior single implants in periodontal patients. Esthetic satisfaction is the primary concern for anterior maxillary implants. An objective assessment can be performed by a clinician and is based on defined criteria for evaluating the natural appearance of the implant and restoration. In 2009, Belser *et al.*⁷ modified a previously published Pink Esthetic Score (PES) and combined it with an implant restorative index to generate the Pink and White Esthetic Score (PES/WES). An overall score of 12 is defined as the threshold of clinical acceptability. Additionally, Cosyn *et al.*⁸ presented data by ranking the degree of esthetic outcomes of the PES/WES. For example, the individual PES/WES score have been categorized into an almost perfect result ($PES \geq 12$, $WES \geq 9$) and unfavorable outcome ($PES < 8$, $WES < 6$). To accomplish successful long-term implant treatment outcomes, peri-implant esthetics must be considered and properly managed to avoid complications and a reduced quality of life for patients. However, the specific clinical factors which affect the satisfaction of patients on esthetic outcome is not well understood. Therefore, the aim of this study was to identify those factors affecting the satisfaction of periodontal patients with implant-supported single crowns.

Materials and Methods

The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University (HREC-DCU 2018-012). This cross-sectional

clinical study retrieved data from a main survey of 200 dental implant patients who received endosseous dental implant treatment from 1996–2014. The patients were evaluated when they came for maintenance program visits at the Graduate Periodontics Clinic, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University. The patients were advised about the objective and process of the study before signing informed consent for participation. The participants in this study consisted of 34 consecutive periodontal patients with a single tooth implant placement in the esthetic zone, which was defined as the maxillary right canine to maxillary left canine. All 34 dental implants were in prosthetic function for at least one year. Inclusion criteria for all participants were: 1) Treated periodontal patients and 2) the presence of a single tooth implant placement in the esthetic zone defined as the maxillary right canine to maxillary left canine, which was functional for at least one year. Patients were excluded if presenting one or more of the following criteria: 1) Multiple implants or 2) Patients who had pseudo-papilla regeneration made of pink acrylic or porcelain to artificially create the interproximal papilla. Their demographic data and history of implant treatment were obtained from history taking, chart review, and dental examination.

Digital extraoral and intraoral photographs (Canon EOS 650 D, Japan with a 100 mm, Canon macro lens, and a ring flash) were taken with a digital camera. An extraoral photograph of each patient with a natural smile was taken. Standardized clinical photographs were taken according to previously published methods.⁷ An alginate impression of the upper jaw was taken to fabricate a master model that was used in combination with the digital photographs by clinicians to assess implant esthetic outcomes.

The patient's degree of satisfaction with their dental implant treatment outcome was assessed using a visual analogue scale (VAS) questionnaire, which was modified from Belser *et al.*⁷ (Table 1).

Table 1 Patients satisfaction questionnaire.

Variables		Questionnaire
Esthetic-related variables	Peri-implant mucosa	1. I am pleased with the position of the mucosa in the approximal embrasure (papilla height).
		2. I am pleased with the position of the labial surface of the peri-implant mucosa.
		3. I am pleased with the contour, color, and surface of the labial mucosa.
	Implant restoration	4. I am pleased with the shape and mesio-distal dimension of my crown.
		5. I am pleased with the surface, texture, translucency, and color of my crown.
Smile perception		6. I am pleased with my smile line.
Overall satisfaction		7. I am satisfied with the overall result.

The questionnaires were accompanied by simple and precise instructions.

Clinical and radiographic examinations were performed during one visit before receiving routine maintenance care. Periodontal care at the implant sites were performed according to the CIST protocol.⁹ The clinical evaluation was performed by three examiners (NS, TT, and KS) who assessed the following clinical parameters:

- Modified plaque index (mPLI)¹⁰: scores were determined at the mesiobuccal, mid-buccal, distobuccal, and mid-lingual surfaces of each implant.
- Modified bleeding index (mBLI)¹⁰: scores were determined at the mesiobuccal, mid-buccal, distobuccal, mesiolingual, mid-lingual, and distolingual surfaces of each implant.
- Probing pocket depth: measurements were taken at the mesiobuccal, mid-buccal, distobuccal, mesiolingual, mid-lingual, and distolingual of each implant.
- Recession was the level of mucosal margin in relation to the restorative margin.
- Tissue biotype was classified as thin if the outline of the underlying periodontal probe could be seen through the buccal gingiva, and thick if the probe could not be seen.¹¹
- Modified periodontal screening and recording (mPSR)¹²: scores were determined at six sextants of the mouth to assess the patient's periodontal status.

The measurement procedures were manually performed using a plastic periodontal probe (12-UNC COLORVUE®; Hu-Friedy, Chicago, IL, USA.) for the implants

and a conventional manual University of North Carolina periodontal probe (UNC-15; Hu-friedy, Chicago, IL, USA.) was used for natural teeth. The distances were measured to the nearest millimeter.

The radiographic examination was performed using standardized periapical radiographs. Digital radiographs were then taken and was imported using dental software (Infinitt proprietary software v.2: Infinitt Co., Seoul, Korea) and evaluated on a computer screen. The distance from the implant shoulder to the alveolar bone crest was measured in millimeters at the mesial and distal aspect of each implant by one examiner (TS). The most severe bone level site was selected to represent the amount of bone loss. Due to different implant systems, a universal point of reference applicable to all implants could not be defined. Therefore, a suitable reference point at the fixture-abutment connection or abutment-crown connection was defined for each implant system.

Five prosthodontists and five periodontists performed the esthetic assessment. The clinicians, third-year residents, had not previously treated any of the participants. The clinicians assessed their degree of satisfaction with the dental implant treatment outcomes by examining the cast model and dental photographs. The standardized photographs were viewed using a PowerPoint program on a 14-inch notebook (Lenovo™ idealpad 710S Plus, Intel® Core™ i7-7500U). The clinicians scored the esthetic outcomes using the original PES/WES index by Belser *et al.*⁷ Criteria of the peri-implant mucosa (pink esthetic) was used for evaluation of the soft tissue around single

implant crowns. The PES is based on five variables; 1) Mesial papilla 2) Distal papilla 3) Facial curvature 4) Level of facial mucosa and 5) Root convexity and color. Criteria of the implant crown was used (white esthetic) for evaluation of restoration. The WES is based on five variables; 1) Tooth form 2) Outline/volume 3) Color (hue/value) 4) Surface texture and 5) Translucency and characterization. Each variable is assessed with a 2-1-0 score, with 2 being the best and 0 being the poorest score. All variables are assessed by comparison with a natural reference tooth. An overall score of 12 is defined as the threshold of clinical acceptability. For study evaluation, the following variables were classified according to established definitions:

1) Implant survival: the implant with a restoration was present at the follow-up examination; however, its condition is not specified.⁹

2) Biological complications: disturbances in implant function by biological processes that affected the tissues supporting the implant.¹³

A. Peri-implant mucositis: presence of soft tissue inflammation with bleeding on probing at least one aspect of the dental implant (recorded from the mBLI) and no signs of supporting bone loss after initial bone remodeling.¹⁴

B. Peri-implantitis: presence of soft tissue inflammation with bleeding on probing at least one aspect of the dental implant (recorded from the mBLI) and bone loss around an osseointegrated implant beyond functional remodeling ≥ 2 mm from the time of loading.¹⁴ When there was no baseline radiograph, a threshold vertical distance of 2 mm from the expected marginal bone level was diagnosed as peri-implantitis.¹⁵

3) Smile type: the smile was defined as a high, average, or low smile by examining an extraoral photograph.¹⁶

Calibration

Prior to the study, the three examiners held intra- and inter-calibration sessions using five volunteer participants who had at least one dental implant restoration. An intra-class correlation coefficient was used to standardize data acquisition and the assessment of study variables. The mean intra- and inter-examiner calibration indicated an

excellent agreement with intra-class correlation coefficient of 0.88 and 0.86, respectively. Intra-examiner calibration of radiographic bone level was analyzed before evaluating the implants of the study patient by assessing the bone loss on thirty randomly selected implants from the faculty database. The assessment was repeated one week later to evaluate the reproducibility of the results. An intra-class correlation coefficient of 0.86 was obtained.

Statistical analysis

The statistical software SPSS version 22.0 was used for data analysis. A normality test was used to determine a normal distribution of the study population. Descriptive analysis was used to evaluate the demographic data, implant characteristics, esthetic outcomes, and VAS scores. The VAS score of the satisfaction of patients was categorized into two groups using the non-excellent outcomes (score < 90 %) and excellent outcome (score ≥ 90 %) as a breaking point. The associations between the esthetic clinical variables and patients' satisfaction (non-excellent group versus excellent group) were analyzed using the Pearson Chi-square test. The effect of the speciality of the clinicians was performed using the Pearson correlation. For all statistical analysis, the $p < 0.05$ was considered significant.

Results

Of the 200 patients participating in the survey, 47 patients had received dental implant therapy in the esthetic zone. Of these, 13 patients who did not meet the inclusion criteria were excluded. Finally, 34 participants with 34 maxillary single implants were examined. There were 15 males and 19 females, with an average age of 52.2 ± 13.3 years old. The mean follow-up period was 72 ± 52 months. Most of the patients (76 %) were treated using the delayed implant placement protocol. The overall mean distance from the implant abutment interface to the first bone-to-implant contact was 0.96 ± 1.13 mm. The implant survival rate was 100 %.

The demographic data at the participant and implant level is presented in Tables 2 and 3.

Table 2 Demographic data and clinical characteristics at participant level.

Subject Characteristic (N=34)		Number (%)
mPSR	Score 1 (bleeding)	4 (11.8 %)
	Score 2 (bleeding and calculus)	5 (14.7 %)
	Score 3 (probing depth 4-6 mm)	24 (70.6 %)
	Score 4 (probing depth >6 mm)	1 (2.9 %)
Smoking status	Former smoker	3 (8.8 %)
	Current smoker	1 (2.9 %)
	Non smoker	30 (88.3 %)
Smile line	Low smile line	7 (20.6 %)
	Average smile line	17 (50 %)
	High smile line	10 (29.4 %)

Table 3 Demographic data and clinical characteristics at implant level.

Implant characteristic (N=34)		Number (%)
Reason for tooth extraction	Tooth fracture	10 (29.4 %)
	Endodontic	5 (14.7 %)
	Periodontic	4 (11.8 %)
	Caries, Congenital Missing, Trauma, Non-restorable	15 (44.1 %)
Implant location	Central incisor	20 (58.8 %)
	Lateral incisor	11 (32.4 %)
	Canine	3 (8.8 %)
Implant system	Astra tech	13 (38.2 %)
	Straumann	10 (29.4 %)
	Paragon	4 (11.8 %)
	Others	7 (20.5 %)
Peri-implant status	Healthy	7 (20.6 %)
	Peri-implant mucositis	22 (64.7 %)
	Peri-implantitis	5 (14.7 %)
Probing depth	< 4 mm	15 (44.1 %)
	≥ 4 mm	19 (55.9 %)

Table 3 Demographic data and clinical characteristics at implant level. (cont.)

Implant characteristic (N=34)		Number (%)
Keratinized mucosa	MGJ \leq 2 mm	3 (8.8 %)
	MGJ $>$ 2 mm	31 (91.2 %)
Gingival recession	Recession	2 (5.9 %)
	No recession	32 (94.1 %)
Tissue biotype	Thick biotype	18 (52.9 %)
	Thin biotype	16 (47.1 %)
Shape of crown	Triangular shape	9 (26.5 %)
	Oval shape	12 (35.3 %)
	Square shape	13 (38.3 %)

About three-fourths of the participants (73.5 %) had a pocket depth of \geq 4 mm (mPSR score of 3 & 4). Only 2.9 % of the patients were current smokers. Half of the participants had an average smile line (50 %). Tooth extraction due to periodontal disease was reported by 11.8 % of the patients. Out of the 34 implants, 20 (58.8 %), 11 (32.4 %), and 3 (8.8 %) were placed in the central incisor, lateral incisor, and canine region, respectively. The patients in this study had implants from various implant systems, the majority of which were AstraTech (38 %) and Straumann (29 %). The prevalence of peri-implant diseases was 64.7 %

for peri-implant mucositis and 14.7 % for peri-implantitis. Nineteen (55.9 %) of the implants had a probing depth of \geq 4 mm. Facial keratinized tissue of \leq 2 mm was observed in 8.8 % of the cases. Nearly all implants had no mucosal recession (94.1 %). There were 16 (47.1 %) implants with a thin peri-implant biotype, whereas 18 (52.9 %) implants had a thick peri-implant tissue. Square-, triangular-, and oval-shaped implant restorations were observed in 38.3 %, 26.5 %, and 35.3 %, of the patients, respectively.

The mean patient satisfaction based on VAS scores is illustrated in Figure 1.

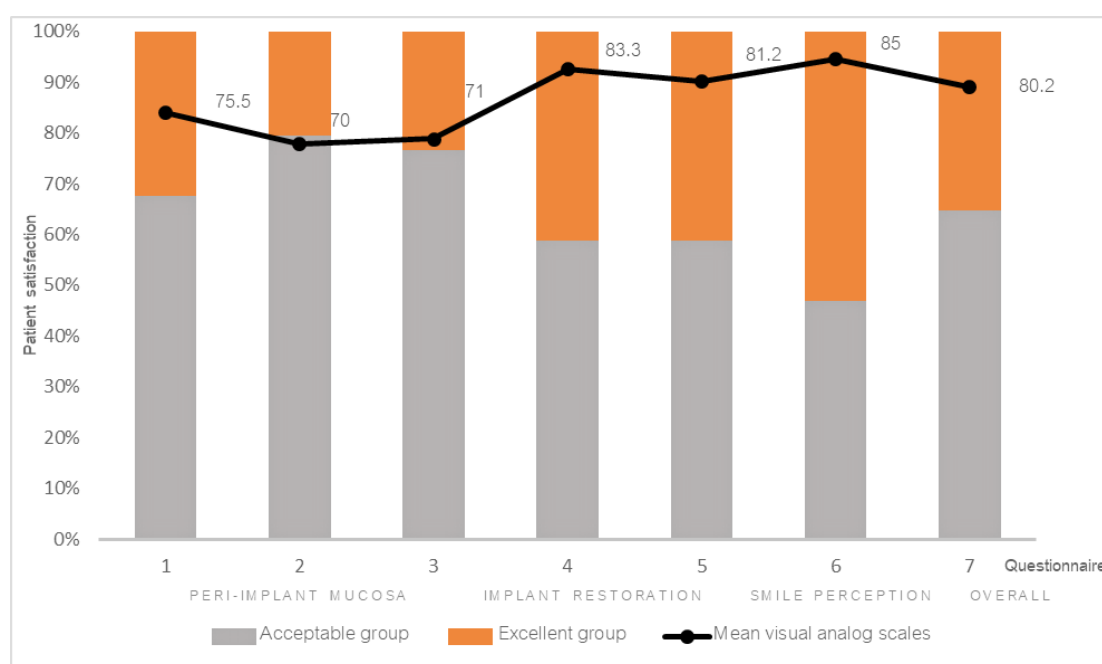


Figure 1 Mean visual analogue scale scores and categorical scores

The patients gave a lower mean score for the peri-implant mucosa compared with the implant restoration (mean Q1-Q3: 70-75.5 % vs. mean Q4-Q5: 81.2-83.3 %). The overall mean of patient satisfaction was 80.2 %. To better understand the VAS score distribution, the VAS scores were classified into two groups: non-excellent outcome (score<90 %) and excellent outcome (≥90 %).

About one-third of the participants (35.3 %) reported excellent satisfaction with the overall treatment.

The peri-implant tissue biotype was significantly associated with the degree of patient satisfaction with the papilla height (Q1: $p = 0.002$), contour, color, and the labial mucosa surface (Q3: $p = 0.025$) (Fig. 2 and 3).

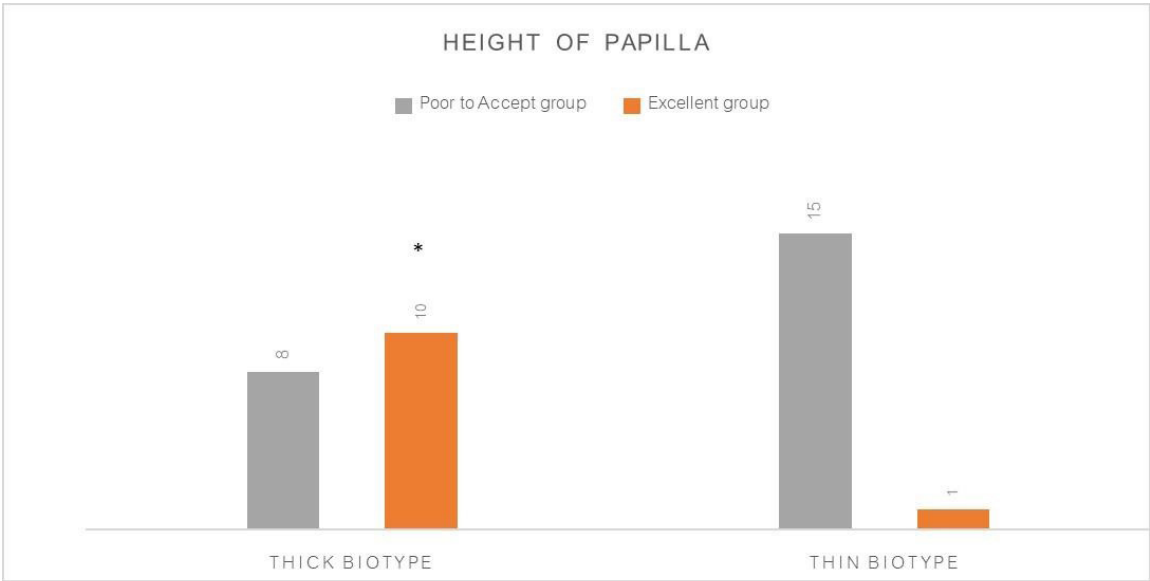


Figure 2 Esthetic-related variables: Questionnaire 1 (height of papilla)



Figure 3 Esthetic-related variables: Questionnaire 3 (contour, color, and surface)

In contrast, there was no association found between biological complications, probing depth, keratinized mucosa, mucosal recession, shape of crown, or smile line and the degree of patients' satisfaction.

Additionally, there were no sex or age differences in patients' satisfaction level.

The ten clinicians applied the PES/WES index for esthetic evaluation (Table 4).

Table 4 Mean PES and WES scores of the 34 dental implants determination based on speciality.

	5 Periodontal residents	5 Prosthodontics residents	Total 10	Pearson Correlation	p-value
Mean PES	5.54±1.93	6.77±2.79	6.2	0.820	0.000*
Mean WES	6.26±1.61	6.73±2.12	6.5	0.544	0.001*
Mean PES/WES	11.82±3.18	13.51±4.29	12.67	0.768	0.000*

*Significant correlation ($p < 0.05$)

The mean PES, WES, and total PES/WES were 6.2, 6.5, and 12.67, respectively, which were all clinically acceptable. Further analysis of the effect of the speciality of the clinicians was performed using the Pearson correlation. The periodontist and prosthodontist residents had a significant positive correlation at a good level for the PES/WES evaluation ($r = 0.768$, $p = 0.000$). Although the periodontists gave lower scores, the difference was not significant.

Discussion

The results indicated that the patients' overall satisfaction level with implant therapy was generally high with a mean score of 80.2 %, which was comparable to other studies.^{17,18} Moreover, approximately 36 % of the patients stated that the implant treatment met their high expectations of overall treatment outcome (VAS score ≥ 90 %). Similar results have been reported following implant treatment in healthy periodontal patients.^{7,19}

Our questionnaire evaluated factors that were categorized as periodontal and prosthodontic clinical factors. We found that tissue biotype was the most important factor in determining the degree of patients' satisfaction in periodontal patients. These findings were similar to those of previous studies. Romeo *et al.*²⁰ showed that a thick biotype significantly correlated with the presence of an interproximal papilla. In addition,

Abrahamsson *et al.*²¹ found that increased soft and hard tissue remodeling reestablished healthy peri-implant mucosa dimensions, especially in a thin biotype. In contrast, our study did not find that mucosal recession and keratinized gingiva had any impact on the degree of patients' satisfaction. Although many studies^{1,2} demonstrated that mucosal recession occurred more frequently following implant placement in a thin tissue biotype, the present study observed only two cases (5.9 %) with a facial marginal mucosal level of ≥ 1 mm and three cases (8.8 %) with keratinized mucosa of ≤ 2 mm. The majority of patients had excellent quality peri-implant soft tissue, thus these factors did not have a significant effect on esthetic outcomes in this study.

There are numerous studies indicating that peri-implant diseases are affected by past periodontal history.^{13,22-24} The prevalence of peri-implant diseases in our cross-sectional study was 64.7 % for peri-implant mucositis and 16.7 % for peri-implantitis. However, we observed only one participant (2.9 %) with an mPSR score of 4 with a probing depth of more than 6 mm. The patients in the present study attended regular maintenance visits after implant therapy that may have contributed to our findings of periodontal disease control and minimal bone loss of 0.96 mm during the prolonged follow-up period of 72 months. Consequently, probing

depth and biological complications did not significantly impact the esthetic outcomes in periodontal patients as assessed by VAS scores in this study.

When a prosthodontic rehabilitation is planned, a variety of fundamental parameters for an esthetic smile including the position of the lips, gingival tissue condition, color, shape, and tooth position should be thoroughly considered.²⁵ However, this study found that the crown and smile line shape did not impact a patient's satisfaction scores. In contrast, Levi and colleagues²⁶ found that the restoration shape was critical for patients' overall acceptance of a dental implant treatment. These different outcomes may result from the dissimilarity of the participants and implant characteristics between studies. We observed equal proportions of implant restoration shapes with a mean VAS score above 80 %.

In the present study, the overall PES/WES was 12.7, which was clinically acceptable for periodontal patients. The mean PES and WES results were 6.2 and 6.5, respectively. These scores were slightly lower scores compared with a previous study by Belser *et al.*,⁷ They evaluated the esthetic outcomes of maxillary anterior single tooth implants inserted using an early implant placement protocol and reported a higher mean PES than mean WES scores (7.8 vs. 6.9). Most of the patients (76 %) received delayed implant placement. This result was similar to a prior study, which reported that the esthetic scores in the delayed group were marginally lower compared with the immediate placement group.²⁷ Another important characteristic of the patients is having a history of or current periodontitis. Kolerman *et al.*²⁸ found that patients with severe or aggressive periodontitis were significantly associated with a low PES score. It was found that 20 % of the patients had a connective tissue graft or free gingival graft to improve soft tissue quality prior to implant surgery. Having this procedure may have positively influenced the esthetic outcome of their implant restorations.^{3,29} Migliorati *et al.*³⁰ found a significantly higher PES in patients receiving a connective tissue graft. For the white esthetic score, this study had a mean WES score comparable to that of a previous study³¹ because

implant-supported prostheses fabrication and delivery were supervised by experienced prosthodontists. However, the use of titanium abutments and porcelain fused to metal restorations in the majority of cases in this study may have contributed to the low WES scores.

There were some limitations in this study. This study evaluated a limited number of maxillary single implants. This small sample size makes it difficult to draw any larger conclusions. Moreover, each variable was separately analyzed that could possibly affect the degree of patients' satisfaction in treated periodontal patients. However, the effect of each factor on the degree of patients' satisfaction are interrelated, and may have a synergistic rather than a cumulative effect. Therefore, a future prospective study with a larger number of dental implants is required to determine the clinical factors associated with the degree of patients' satisfaction. In addition, a complex relationship between each factor may also be resolved with a large sample size.

Conclusion

The degree of patients' satisfaction around single-tooth implant in the anterior maxilla was mainly influenced by the peri-implant biotype. It is recommended that treatment resulting in a thick mucosa is important to achieve an excellent degree of patients' satisfaction in periodontal patients. However, these patients reported acceptable esthetic outcomes that were comparable to general patients.

Conflict of Interest and Source of Funding

The authors declare that they have no conflict of interest. This study was supported by a grant from the Chulalongkorn Academic Advancement into Its 2nd Century Project (CUAASC Fund) of Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.

Acknowledgements

The authors are grateful to Dr. Attawood Lertpimonchai for his help in the statistical analysis. We would like to thank Dr. Kevin A. Tompkins for reviewing the manuscript in English.

References

1. Kois JC. Predictable single tooth peri-implant esthetics: five diagnostic keys. *Compend Contin Educ Dent* 2001;22(3):199-206.
2. Evans CD, Chen ST. Esthetic outcomes of immediate implant placements. *Clin Oral Implants Res* 2008;19(1):73-80.
3. Lee A, Fu JH, Wang HL. Soft tissue biotype affects implant success. *Implant Dent* 2011;20(3):e38-e47.
4. Carlsson B, Carlsson GE. Prosthodontic complications in osseointegrated dental implant treatment. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1994;9(1):90-4.
5. Baracat LF, Teixeira AM, dos Santos MBF, da Cunha VdPP, Marchini L. Patients' expectations before and evaluation after dental implant therapy. *Clin Implant Dent Relat Res* 2011;13(2):141-5.
6. Papaspyridakos P, Chen CJ, Singh M, Weber HP, Gallucci G. Success criteria in implant dentistry: a systematic review. *J Dent Res* 2012;91(3):242-8.
7. Belser UC, Grütter L, Vailati F, Bornstein MM, Weber HP, Buser D. Outcome evaluation of early placed maxillary anterior single-tooth implants using objective esthetic criteria: a cross-sectional, retrospective study in 45 patients with a 2-to 4-year follow-up using pink and white esthetic scores. *J Periodontol* 2009;80(1):140-51.
8. Cosyn J, Eghbali A, De Bruyn H, Collys K, Cleymaet R, De Rouck T. Immediate single-tooth implants in the anterior maxilla: 3-year results of a case series on hard and soft tissue response and aesthetics. *J Clin Periodontol* 2011;38(8):746-53.
9. Lang NP, Berglundh T, Heitz Mayfield LJ, Pjetursson BE, Salvi GE, Sanz M. Consensus statements and recommended clinical procedures regarding implant survival and complications. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19Suppl:150-4.
10. Mombelli A, van Oosten MA, Schürch E Jr, Lang NP. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. *Oral Microbiol Immunol* 1987;2(4):145-51.
11. Kan JY, Rungcharassaeng K, Umezaki K, Kois JC. Dimensions of peri-implant mucosa: an evaluation of maxillary anterior single implants in humans. *J Periodontol* 2003;74(4):557-62.
12. Khocht A, Zohn H, Deasy M, Chang KM. Screening for periodontal disease: radiographs vs. PSR. *J Am Dent Assoc* 1996;127(6):749-56.
13. Berglundh T, Persson L, Klinge B. A systematic review of the incidence of biological and technical complications in implant dentistry reported in prospective longitudinal studies of at least 5 years. *J Clin Periodontol* 2002;29Suppl3:197-212.
14. Koldstad OC, Scheie AA, Aass AM. The association between selected risk indicators and severity of peri-implantitis using mixed model analyses. *J Clin Periodontol* 2011;38(3):285-92.
15. Sanz M, Chapple IL. Clinical research on peri-implant diseases: consensus report of Working Group 4. *J Clin Periodontol* 2012;39Suppl12:202-6.
16. Tjan AH, Miller GD, The JG. Some esthetic factors in a smile. *J Prosthet Dent* 1984;51(1):24-28.
17. Taylor EJ, Yuan JC, Lee DJ, Harlow R, Afshari FS, Knoernschild KL, et al. Are predoctoral students able to provide single tooth implant restorations in the maxillary esthetic zone? *J Dent Educ* 2014;78(5):779-88.
18. Fava J, Lin M, Zahran M, Jokstad A. Single implant-supported crowns in the aesthetic zone: patient satisfaction with aesthetic appearance compared with appraisals by laypeople and dentists. *Clin Oral Implants Res* 2015;26(10):1113-20.
19. Pjetursson BE, Karoussis I, Bärn W, Brägger U, Lang NP. Patients' satisfaction following implant therapy: a 10-year prospective cohort study. *Clin Oral Implants Res* 2005;16(2):185-93.
20. Romeo E, Lops D, Rossi A, Storelli S, Rozza R, Chiapasco M. Surgical and prosthetic management of interproximal region with single-implant restorations: 1-year prospective study. *J Periodontol* 2008;79(6):1048-55.
21. Abrahamsson I, Berglundh T, Wennström J, Lindhe J. The peri-implant hard and soft tissues at different implant systems. A comparative study in the dog. *Clin Oral Implants Res* 1996;7(3):212-9.
22. Mombelli A, Müller N, Cionca N. The epidemiology of peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res* 2012;23Suppl6:67-76.
23. Derks J, Tomasi C. Peri-implant health and disease. A systematic review of current epidemiology. *J Clin Periodontol* 2015;42Suppl16:158-71.
24. Karoussis IK, Kotsovilis S, Fourmousis I. A comprehensive and critical review of dental implant prognosis in periodontally compromised partially edentulous patients. *Clin Oral Implants Res* 2007;18(6):669-79.
25. Pithon MM, Santos AM, Viana de Andrade AC, Santos EM, Couto FS, da Silva Coqueiro R. Perception of the esthetic impact of gingival smile on laypersons, dental professionals, and dental students. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2013;115(4):448-54.
26. Levi A, Psoter WJ, Agar JR, Reisine ST, Taylor TD. Patient self-reported satisfaction with maxillary anterior dental implant treatment. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003;18(1):113-20.
27. Felice P, Soardi E, Piattelli M, Pistilli R, Jacotti M, Esposito M. Immediate non-occlusal loading of immediate post-extractive versus delayed placement of single implants in preserved sockets of the anterior maxilla: 4-month post-loading results from a pragmatic multicentre randomised controlled trial. *Eur J Oral Implantol* 2011;4(4):329-44.
28. Kolerman R, Mijiritsky E, Barnea E, Dabaja A, Nissan J, Tal H. Esthetic Assessment of Implants Placed into Fresh Extraction Sockets for Single-Tooth Replacements Using a Flapless Approach. *Clin Implant Dent Relat Res* 2017;19(2):351-64.
29. Fu JH, Lee A, Wang HL. Influence of tissue biotype on implant esthetics. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2011;26(3):499-508.
30. Migliorati M, Amorfini L, Signori A, Biavati AS, Benedicenti S. Clinical and Aesthetic Outcome with Post-Extractive Implants with or without Soft Tissue Augmentation: A 2-Year Randomized Clinical Trial. *Clin Implant Dent Relat Res* 2015;17(5):983-95.
31. Cho HL, Lee JK, Um HS, Chang BS. Esthetic evaluation of maxillary single-tooth implants in the esthetic zone. *J Periodontol Implant Sci* 2010;40(4):188-93.

กำลังแรงยึดเหนี่ยวของเซอรโคเนียกับเรซินซีเมนต์เมื่อใช้สารยึดติดชนิดต่าง ๆ

Shear Bond Strengths of Zirconia/Resin Cement Using Different Adhesives

อวิรุทธิ์ คล้ายศิริ¹, นันทวรรณ กระจ่างตา¹, ตุลย์ ศรีอัมพร², นิยม อารังคือนันต์สกุล³

Awiruth Klaisiri¹, Nantawan Krajangta¹, Tool Sriamporn², Niyom Thamrongananskul³

¹สาขาวิชาทันตกรรมทันตการ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ จ.ปทุมธานี

¹Division of Operative dentistry, Faculty of Dentistry, Thammasat University, Pathumthani.

²สาขาวิชาทันตกรรมประดิษฐ์ วิทยาลัยทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต จ.ปทุมธานี

²Division of Prosthodontics, College of Dental medicine, Rangsit University, Pathumthani.

³ภาควิชาทันตกรรมประดิษฐ์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

³Department of Prosthodontics, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok.

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาลำดับกำลังแรงยึดเหนี่ยวระหว่างเซอรโคเนียกับเรซินซีเมนต์ เมื่อใช้สารยึดติดที่มีหมู่ฟอสเฟตเป็นหมู่ฟังก์ชันในองค์ประกอบ 2 ผลิตภัณฑ์ (adhesives) ได้แก่ ซิงเกิลบอนด์ยูนิเวอร์ซอลและตัวกระตุ้นบ่มตัวสองรูปแบบ (Single Bond Universal+dual cure activator, SU) เอ็กไซท์เอฟดีเอสซี (Excite F DSC, EX) และสารไพรเมอร์ (primer) 1 ผลิตภัณฑ์ ได้แก่ อัลลอยไพรเมอร์ (Alloy primer, AP) ฟังก์ชันงานเซอรโคเนียขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร หนา 4 มิลลิเมตร จำนวน 60 ชิ้นลงในท่อพีวีซีด้วยยิปซัมทางทันตกรรม นำไปขัดผิวหน้าด้วยซิลิกอนคาร์ไบด์ที่ระดับความหยาบ 600 กริต แบ่งกลุ่มของชิ้นงานออกเป็น 6 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ชิ้น ตามการปรับสภาพผิวหน้าของเซอรโคเนีย ได้แก่ กลุ่มที่ 1 AP กลุ่มที่ 2 SU กลุ่มที่ 3 AP+SU กลุ่มที่ 4 EX กลุ่มที่ 5 AP+EX กลุ่มที่ 6 ไม่มีการปรับสภาพผิว (no tx) ใช้แม่แบบซิลิโคนที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร ลึก 2 มิลลิเมตร วางบนผิวหน้าของชิ้นงานที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว ฉีดเรซินซีเมนต์ลงในรูแม่แบบ ฉายแสงเป็นเวลา 40 วินาที แกะแม่แบบออกและนำชิ้นงานแช่ในน้ำกลั่นแล้วเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงก่อนนำชิ้นงานไปหาลำดับกำลังแรงยึดเหนี่ยวด้วยเครื่องทดสอบสากลที่ความเร็วหัวกดเท่ากับ 0.5 มิลลิเมตรต่อวินาที คำนวณกำลังแรงยึดเหนี่ยวโดยนำแรงเฉือนสูงสุดหารด้วยพื้นที่ผิวรอยต่อระหว่างเซอรโคเนียและเรซินซีเมนต์ในหน่วยเมกะพาสคาล วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ความแปรปรวนทางเดียว และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่ม ด้วยการเปรียบเทียบเชิงซ้อนชนิดทุกคู่ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ผลการศึกษาพบว่า ลำดับกำลังแรงยึดเหนี่ยวของกลุ่มที่ 1 ถึงกลุ่มที่ 6 คือ AP;14.12±2.56 SU;19.25±2.00 AP+SU;23.53±2.15 EX;18.93±1.93 AP+EX;22.91±2.14 และ no tx;8.05±1.64 เมกะพาสคาล ตามลำดับ โดยกำลังแรงยึดเหนี่ยวกลุ่มที่ 3 และกลุ่มที่ 5 ไม่แตกต่างกันและมีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ 1 กลุ่มที่ 2 กลุ่มที่ 4 และกลุ่มที่ 6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยกลุ่มที่ 6 มีกำลังแรงยึดเหนี่ยวต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จึงสรุปได้ว่า การใช้สารไพรเมอร์ที่มีเอมดีพีร่วมกับสารยึดติดจะหาลำดับกำลังแรงยึดเหนี่ยวระหว่างเซอรโคเนียและเรซินซีเมนต์ที่สูงกว่าการใช้สารยึดติดหรือการใช้สารไพรเมอร์เพียงอย่างเดียว การใช้สารยึดติดแบบยูนิเวอร์ซอล/สารยึดติดที่มีหมู่ฟอสเฟตเป็นหมู่ฟังก์ชันสามารถใช้ทดแทนการใช้สารไพรเมอร์ที่มีเอมดีพีในการปรับสภาพผิวเซอรโคเนียได้

คำสำคัญ: กำลังแรงยึดเหนี่ยว, เซอรโคเนีย, เรซินซีเมนต์ สารยึดติด, เอมดีพี

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the effects of two different adhesives containing phosphate monomer [Single Bond Universal+dual activator (SU), Excite F DSC (EX)] and one primer containing MDP [Alloy primer (AP)] application on zirconia/resin cement bond strength. Sixty zirconia disks (6 mm diameter, 4 mm thick) were prepared and embedded in dental gypsum. Specimens were polished with 600 grit silicon carbide paper. The samples were randomly divided into six groups (N=10 in each group) according to different treatments applied on zirconia surfaces: Group1 (AP), Group2 (SU), Group3 (AP+SU), Group4 (EX), Group5 (AP+EX) and Group6 (no tx). A silicone template (3 mm diameter, 2 mm thick) was placed on top of treated zirconia surface. The resin cement was filled into the mold and then light-cured for 40 seconds. All bonded specimens were kept in distilled water at 37°C for 24 hours and they were subjected to shear bond strength measurement using a universal testing machine at a crosshead speed of 0.5 mm/min. The data were statistically analyzed using one-way ANOVA and Tukey's test ($\alpha=0.05$). The shear bond strengths of Group1 to Group 6 were AP;14.12±2.56, SU;19.25±2.00, AP+SU;23.53±2.15, EX;18.93±1.93, AP+EX;22.91±2.14, and no tx;8.05±1.64 MPa, respectively. The bond strengths of Group3 and Group5 were significantly higher than those of Group1, Group2, Group4, and Group6 ($p<0.05$). However, Group6 showed the lowest bond strength ($p<0.05$). In conclusion, the primer containing MDP application followed by adhesive application increased shear bond strength between zirconia and resin cement. The universal adhesive/adhesive containing phosphate monomer may be alternative to the primer containing MDP for zirconia surface treatment.

Keywords: Shear bond strength, Zirconia, Resin cement, Adhesive, MDP

Received Date: Jan 28, 2019

Revised Date: Mar 22, 2019

Accepted Date: May 7, 2019

Doi: 10.14456/jdat.2019.43

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ:

อวิรุทธ์ คล้ายศิริ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต 99 หมู่ 18 ถ.พหลโยธิน อ. คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120 ประเทศไทย
โทรศัพท์ 02-9869051 โทรสาร 02-9869205 อีเมล: Dentton@hotmail.com

Correspondence to:

Awiruth Klaisiri, Faculty of Dentistry, Thammasat University 99 M.18 Klongluang, Pathumthani, 12120 Thailand. Tel: 02-9869051
Fax: 02-9869205 E-mail: Dentton@hotmail.com

บทนำ

เซอรโคเนีย (zirconia) เป็นวัสดุที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในงานทันตกรรม โดยเฉพาะการผลิตชิ้นงานจากห้องปฏิบัติการ เช่น อินเลย์ ออนเลย์ ครอบฟัน และ สะพานฟัน เป็นต้น เซอรโคเนียเป็นเซรามิกที่มีความแข็งแรงและสวยงาม สามารถเข้ากับเนื้อเยื่อได้ดี (biocompatibility) มีความคงทนของสี (long-term color stability) ต้านทานต่อการสึก (wear resistance) และมีความสำเร็จทางคลินิกที่ดี¹⁻³

ความสำเร็จทางคลินิกของเซอรโคเนียขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย โดยปัจจัยที่สำคัญที่สุดอันหนึ่งคือ การเตรียมผิวเซอรโคเนีย และการยึดชิ้นงานด้วยเรซินซีเมนต์ การเตรียมผิวของเซอรโคเนียมีทั้งแบบเชิงกลระดับจุลภาค (micromechanical bond) และแบบการยึดติดทางเคมี (chemical bond) โดยการเตรียมผิวเซอรโคเนียแบบเชิงกลระดับจุลภาคทำได้หลายวิธีเพื่อให้เกิดแรงยึดที่สูง เช่น การพ่นผงอะลูมิเนียมออกไซด์ (aluminum oxide sandblasting)⁴

การทำไทรโบเคมีคอลด้วยซิลิกา (tribochemical silica coating)⁵ การกัดด้วยกรดไฮโดรฟลูออริกในสภาวะที่ไม่ปกติ⁶ เป็นต้น ส่วนการยึดติดทางเคมีทำได้โดยใช้สารมอนอเมอร์ที่มีหมู่ฟอสเฟตเป็นหมู่ฟังก์ชัน (phosphate functional monomer) ปรับสภาพผิวของเซอโรโคเนีย โดยสารมอนอเมอร์เหล่านั้นจะไปเกิดการยึดติดทางเคมีกับชั้นออกไซด์บนผิวของเซอโรโคเนีย ส่งผลให้เกิดแรงยึดที่สูงขึ้น มีการศึกษามากมาย รายงานถึงการใช้สารไพรเมอร์ที่ประกอบด้วยสารมอนอเมอร์ที่มีหมู่ฟอสเฟตเป็นหมู่ฟังก์ชันสามารถเพิ่มค่าแรงยึดติดระหว่างเซอโรโคเนียและเรซินซีเมนต์/เรซินคอมโพสิตได้⁷⁻¹¹

สารมอนอเมอร์ที่มีหมู่ฟอสเฟตเป็นหมู่ฟังก์ชันที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายคือ สารเทิน-เมทาคริลอยล๊อกซีดีซิลไดไฮโดรเจนฟอสเฟต หรือสารเอ็มดีพี (10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate, MDP) สารเอ็มดีพีสามารถเกิดการยึดติดทางเคมีกับชั้นออกไซด์ของวัสดุทางทันตกรรมได้ เช่น โลหะผสมพื้นฐาน (base metal alloy)^{12,13} และเซอโรโคเนีย⁷⁻¹¹ ยิ่งไปกว่านั้นสารเอ็มดีพียังสามารถเกิดพันธะทางเคมีกับโครงสร้างของฟันทั้งเคลือบฟันและเนื้อฟันได้อีกด้วย^{14,15} จึงได้มีการนำสารเอ็มดีพีมาใส่ในสารไพรเมอร์ เช่น อัลลอยไพรเมอร์ (alloy primer) ซีไพรเมอร์พลัส (Z primer plus) เป็นต้น เพื่อปรับสภาพผิวของเซอโรโคเนียให้เกิดการยึดติดทางเคมีที่ดีขึ้นระหว่างเซอโรโคเนียและเรซินซีเมนต์¹¹ ปัจจุบันได้มีการนำสารเอ็มดีพีหรือสารมอนอเมอร์ที่มีหมู่ฟอสเฟตเป็นหมู่ฟังก์ชันมาใส่ไว้ในสารยึดติด เช่น สารยึดติดแบบยูนิเวอร์ซอล (universal adhesive) สารยึดติดผลิตภัณฑ์เอกซ์ไซท์เอฟดีเอสซี (excite F DSC) เป็นต้น เพื่อหวังผลให้เกิดการยึดติดทางเคมีกับโครงสร้างฟันและวัสดุที่มีชั้นออกไซด์ มีการศึกษามากมายรายงานถึงความสำเร็จของการนำสารยึดติดที่มีเอ็มดีพีมาใช้ในการปรับสภาพผิวเซอโรโคเนีย เพื่อเพิ่มกำลังแรงยึดระหว่างเซอโรโคเนียกับเรซินซีเมนต์¹⁶⁻¹⁹ Al Jaidei และคณะ ปี ค.ศ. 2017 รายงานว่า ค่ากำลังแรงยึดของกลุ่มที่ไม่มีการปรับสภาพผิวเซอโรโคเนียมีค่า 10.74 เมกะพาสคาล และเมื่อทำการปรับสภาพผิวเซอโรโคเนียด้วยสารยึดติดแบบยูนิเวอร์ซอลที่มีเอ็มดีพี ค่ากำลังแรงยึดระหว่างเซอโรโคเนียกับเรซินซีเมนต์เพิ่มขึ้นอย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติเป็น 20.21 เมกะพาสคาล¹⁷ นอกจากนี้ Kim และคณะ ปี ค.ศ. 2015 ได้รายงานค่ากำลังแรงยึดของการใช้สารยึดติดแบบยูนิเวอร์ซอลในการปรับสภาพผิวของเซอโรโคเนียมีค่า 37.7 เมกะพาสคาล ซึ่งมีค่าสูงกว่าการใช้อัลลอยไพรเมอร์ปรับสภาพผิวเซอโรโคเนียซึ่งมีค่า 26.9 เมกะพาสคาล¹¹ แต่การศึกษาของ Xie และคณะ ปี ค.ศ. 2016 กลับไม่พบความแตกต่างของการใช้สารยึดติดแบบยูนิเวอร์ซอลและสารไพรเมอร์ที่มีเอ็มดีพีในการปรับสภาพผิวเซอโรโคเนีย¹⁹

ปัจจุบันยังมีการศึกษาที่รายงานค่ากำลังแรงยึดของการใช้สารยึดติดแบบยูนิเวอร์ซอลในการปรับสภาพผิวของเซอโรโคเนียที่แตกต่างกันออกไป และการศึกษาที่ใช้สารไพรเมอร์ที่มีเอ็มดีพีแล้วตามด้วยการทาสารยึดติดแบบยูนิเวอร์ซอลนั้นยังมีรายงานออกมาไม่มาก และผลการศึกษาที่ยังมีค่าที่แตกต่างกันออกไป ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาค่ากำลังแรงยึดเหนี่ยวระหว่างเซอโรโคเนียกับเรซินซีเมนต์โดยการปรับสภาพผิวเซอโรโคเนียด้วยอัลลอยไพรเมอร์ สารยึดติดแบบยูนิเวอร์ซอล และสารยึดติดที่มีมอนอเมอร์ที่มีหมู่ฟอสเฟตเป็นหมู่ฟังก์ชัน เปรียบเทียบกับการไม่ได้ปรับสภาพผิวเซอโรโคเนีย จึงมีความน่าสนใจและเป็นที่มาของการศึกษานี้ โดยมีสมมติฐานการศึกษาคือ กำลังแรงยึดเหนี่ยวระหว่างเซอโรโคเนียกับเรซินซีเมนต์ โดยใช้สารไพรเมอร์ที่มีเอ็มดีพีร่วมกับสารยึดติด และการใช้สารยึดติด/สารไพรเมอร์ที่มีเอ็มดีพีเพียงอย่างเดียวมีค่าแตกต่างกัน และกำลังแรงยึดเหนี่ยวระหว่างเซอโรโคเนียกับเรซินซีเมนต์ โดยใช้สารยึดติดแบบยูนิเวอร์ซอล สารยึดติดที่มีมอนอเมอร์ที่มีหมู่ฟอสเฟตเป็นหมู่ฟังก์ชัน และสารไพรเมอร์ที่มีเอ็มดีพีมีค่าแตกต่างกัน

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

สารไพรเมอร์ (Alloy primer) สารยึดติด (Singlebond universal, Excite F DSC) และเรซินซีเมนต์ (Multilink N) ที่ใช้ในการศึกษานี้แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สารไพรเมอร์ สารยึดติดและเรซินซีเมนต์ที่ใช้ในการศึกษานี้

Table 1 Primer, adhesives and resin cement used in the study.

Material	Composition
Alloy primer (Kuraray Noritake Dental Inc., Okayama, Japan) Lot: 580093	MDP, VBATDT, acetone
Singlebond universal (3M, Deutschland GmbH, Neuss, Germany) Lot: 483316	MDP, Bis-GMA, HEMA, DMA, methacrylate functional copolymer, silane, filler, initiators, ethanol, water

ตารางที่ 1 สารไพรเมอร์ สารยึดติดและเรซินซีเมนต์ที่ใช้ในการศึกษานี้ (ต่อ)

Table 1 Primer, adhesives and resin cement used in the study. (cont.)

Material	Composition
Singlebond universal dual cure activator (3M, Deutschland GmbH, Neuss, Germany) Lot: 472079	sodium toluene sulfinate and ethanol
Excite F DSC (Ivoclar vivadent, AG, FL-9494 Schaan, Liechtenstein) Lot: W86930	Bis-GMA, ethanol, HEMA, phosphonic acid acrylate, potassium fluoride
Multilink N (Ivoclar vivadent, AG, FL-9494 Schaan, Liechtenstein) Lot: W34404	Pastes of dimethacrylates, HEMA, inorganic fillers, ytterbiumtrifluoride, benzoylperoxide, initiators, stabilizers and pigments

Abbreviations: 10-MDP, 10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate; VBATDT, 6-(4-vinylbenzyl-n-propyl) amino-1,3,5-triazine-2,4-dithione; Bis-GMA, bisphenol A-glycidyl methacrylate; HEMA, 2-hydroxyethyl methacrylate; DMA, dimethacrylate.

การเตรียมชิ้นงานเซอรโคเนีย

เตรียมชิ้นงานเซอรโคเนียที่เผาอย่างเต็มที่ (fully sintered zirconia disk) จากเซอรโคเนียบล็อก (VITA YZ HT, VITA Zahnfabrik, Germany) จำนวน 60 ชิ้น ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร และสูง 4 มิลลิเมตร ทำรอยบากที่ด้านข้างของเซอรโคเนียเพื่อสร้างการยึดติดเชิงกลกับยิปซัมทางทันตกรรม ผึงชิ้นเซอรโคเนียลงในท่อพีวีซีโดยยึดด้วยยิปซัมทางทันตกรรม จัดให้ผิวหน้าของเซอรโคเนียสูงจากผิวของยิปซัมประมาณ 1 มิลลิเมตร²⁰ ทิ้งไว้จนยิปซัมแข็งตัว จากนั้นนำชิ้นงานไปขัดผิวหน้าด้วยกระดาษซิลิกอนคาร์ไบด์ที่ความหยาบ 600 กริท (3M Wetordry abrasive sheet, 3M, Minnesota, USA) ภายใต้น้ำหล่อเลี้ยงด้วยเครื่องขัดอัตโนมัติ (Nano 2000 grinder-polisher with a FEMTO 1000 polishing head, Pace Technologies, Arizona, USA) ด้วยน้ำหนกกด 2 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ในทิศทางวนเข็มนาฬิกา ขณะที่ชิ้นงานจะหมุนตามเข็มนาฬิกา ซึ่งใช้เวลาขัด 2 นาทีต่อชิ้นงาน จากนั้นนำชิ้นงานไปทำความสะอาดด้วยเครื่องล้างความถี่สูง (Ultrasonic cleaner VI, Yoshida dental trade distribution Co., Tokyo, Japan) เป็นเวลา 15 นาที

แบ่งกลุ่มของชิ้นงานออกเป็น 6 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ชิ้น ตามการปรับสภาพผิวหน้าของเซอรโคเนีย ดังต่อไปนี้

- กลุ่มที่ 1: อัลลอยไพรเมอร์ (AP)
- กลุ่มที่ 2: ซิงเกิลบอนด์ยูนิเวอร์ซอลและตัวกระตุ้นบ่มตัวสองรูปแบบ (SU)
- กลุ่มที่ 3: อัลลอยไพรเมอร์+ซิงเกิลบอนด์ยูนิเวอร์ซอลและตัวกระตุ้นบ่มตัวสองรูปแบบ (AP+SU)
- กลุ่มที่ 4: เอ็กซีไซด์เอพทีเอสซี (EX)

กลุ่มที่ 5: อัลลอยไพรเมอร์+เอ็กซีไซด์เอพทีเอสซี (AP+EX)

กลุ่มที่ 6: ไม่มีการปรับสภาพผิวเซอรโคเนีย

การปรับสภาพผิวของเซอรโคเนียก่อนยึดด้วยเรซินซีเมนต์

การทำด้วยอัลลอยไพรเมอร์

นำเทปกาวยาหน้าเดียว (Scotch blue Painter's tape, 3M, Minnesota, USA) ที่มีความหนาประมาณ 80 ไมโครเมตร ตัดให้มีความกว้างและความยาว 10 มิลลิเมตร และเจาะรูให้มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 2 มิลลิเมตร พร้อมกับตัดด้านข้างให้ถึงรูวงกลมด้านใดด้านหนึ่ง การตัดนี้เพื่อให้ง่ายต่อการดึงเทปกาวยาออกในภายหลัง ติดเทปกาวยังกล่าวลงบนผิวเซอรโคเนีย แล้วใช้ฟู่กันขนาดเล็ก (applicator Tips, Dentsply DeTrey GmbH, Konstanz, Germany) ชุบอัลลอยไพรเมอร์แล้วทาที่ผิวของเซอรโคเนียที่เตรียมไว้ให้ทั่ว 1 รอบ แล้วใช้ฟู่กันด้ามใหม่ชุบสารไพรเมอร์ที่กองอยู่ตามขอบในวงของแผ่นเทปออกให้หมด จากนั้นเป่าด้วยลมจากทริปปิเลไชรินจ์ที่ปราศจากละอองน้ำและน้ำมัน ด้วยแรงดัน 40-50 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ระยะห่าง 10 มิลลิเมตร เป่าจนอัลลอยไพรเมอร์บนผิวเซอรโคเนียแห้งสนิท เก็บชิ้นงานในภาชนะที่มีฝาปิดเพื่อป้องกันการสัมผัสกับฝุ่นละอองสกปรก ก่อนที่จะดำเนินการขั้นตอนต่อไป

การทำด้วยสารยึดติด

ใช้ฟู่กันขนาดเล็ก ชุบสารยึดติดแล้วทาที่ผิวหน้าของเซอรโคเนียให้ทั่ว 1 รอบ แล้วใช้ฟู่กันด้ามใหม่ชุบสารยึดติดที่กองอยู่ตามขอบในวงของแผ่นเทปออกให้หมด จากนั้นใช้ลมจากทริปปิเลไชรินจ์ที่ปราศจากละอองน้ำและน้ำมัน ด้วยแรงดัน 40-50 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ระยะห่าง 10 มิลลิเมตร เป่าเพื่อกำจัดตัวทำละลายให้ระเหยออกจากผิวหน้าของเซอรโคเนียจนแห้งสนิท โดยสังเกตได้จากไม่มีการไหลของสารและผิวหน้าเซอรโคเนียมีความมันเงา

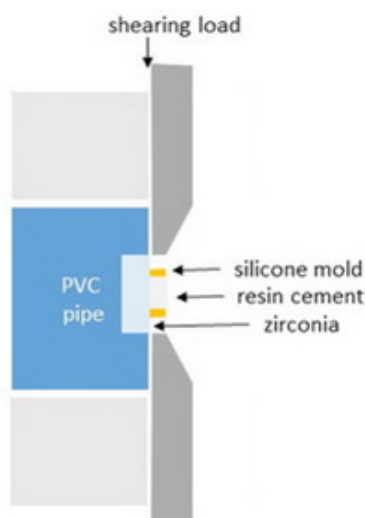
เก็บชิ้นงานในภาชนะที่มีฝาปิดเพื่อป้องกันการสัมผัสกับฝุ่นละอองสกปรก ก่อนที่จะดำเนินการขั้นตอนต่อไป

การยึดด้วยเรซินซีเมนต์ชนิดบ่มตัวสองรูปแบบ

นำแม่แบบซิลิโคน (Honigum putty, DMG GmbH, Hamburg, Germany) ที่มีรูขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร ลึก 2 มิลลิเมตร วางลงบนผิวหน้าเซอโรโคเนียที่ผ่านการปรับสภาพผิวด้วยวิธีการต่าง ๆ โดยให้รู้แม่แบบที่จะใช้บรรจุเรซินซีเมนต์นั้นอยู่ตรงและครอบคลุมรูของเทปกาวยาเดียว จากนั้นฉีดเรซินซีเมนต์ (Multilink N, Ivoclar vivadent, AG, FL-9494 Schaan, Liechtenstein) ลงในรูแม่แบบ ฉายแสงเป็นเวลา 40 วินาที เพื่อให้เกิดการบ่มตัว โดยให้ปลายท่อฉายแสงตั้งฉากและแนบชิดกับผิวหน้าของแม่แบบ จากนั้นค่อย ๆ แกะแม่แบบและเทปกาวยาออกด้วยความระมัดระวัง ฉายแสงซ้ำอีกครั้งเป็นเวลา 40 วินาที ที่ทิ้งไว้อีก 10 นาทีเพื่อให้เกิดพอลิเมอร์สมบูรณ์ จากนั้นนำชิ้นทดสอบแช่ในน้ำกลั่น โดยเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Incubator; Contherm 160M, Contherm Scientific Ltd., Korokoro, Lower Hutt, New Zealand)

การทดสอบค่ากำลังแรงยึดเฉือน

นำชิ้นทดสอบยึดเข้ากับอุปกรณ์เพื่อทดสอบกำลังแรงยึดเฉือน โดยให้แนวรนาบของปลายมีดที่ใช้ทดสอบแรงเฉือน (shearing blade) ขนานกับรอยต่อระหว่างเซอโรโคเนียกับเรซินซีเมนต์ และให้อยู่ห่างประมาณ 1 มิลลิเมตร (รูปที่ 1) แล้วทำการทดสอบวัดกำลังแรงยึดเฉือนระหว่างเซอโรโคเนียกับเรซินซีเมนต์ ด้วยเครื่องทดสอบสากล (Universal testing machine; EZ-S 500N, Shimadzu corporation, Kyoto, Japan) ที่ความเร็วของหัวกด (crosshead speed) เท่ากับ 0.5 มิลลิเมตรต่อนาที คำนวณค่ากำลังแรงยึดเฉือนโดยนำแรงเฉือนสูงสุดหารด้วยพื้นที่ของเรซินซีเมนต์ที่สัมผัสกับเซอโรโคเนีย ซึ่งค่าที่ได้มีหน่วยเป็นเมกะพาสคาล



รูปที่ 1 องค์ประกอบของการทดสอบกำลังแรงยึดเฉือน

Figure 1 Shear bond strength test configuration

การศึกษารูปแบบความล้มเหลว

การศึกษารูปแบบความล้มเหลวหลังการแตกหัก โดยนำชิ้นงานที่ผ่านการทดสอบไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอไมโครสโคปที่กำลังขยาย 40 เท่า เพื่อดูรูปแบบความล้มเหลว (mode of failure) ของแรงยึดติดระหว่างเซอโรโคเนียกับเรซินซีเมนต์ สามารถแบ่งเป็น 3 แบบ คือ 1) การยึดไม่อยู่ (adhesive failure) เกิดความล้มเหลวระหว่างรอยต่อของเซอโรโคเนียและเรซินซีเมนต์ เมื่อดูบนผิวเซอโรโคเนียจะไม่พบเรซินซีเมนต์หลงเหลืออยู่เลย 2) การเชื่อมแน่นล้มเหลว (cohesive failure) เกิดความล้มเหลวในเนื้อวัสดุเรซินซีเมนต์ เมื่อดูบนผิวเซอโรโคเนียจะพบเรซินซีเมนต์ติดที่ผิวเซอโรโคเนียอยู่ทั้งหมด 3) การล้มเหลวแบบผสม (mixed failure) เกิดความล้มเหลวทั้งแบบการยึดไม่อยู่และการเชื่อมแน่นล้มเหลว เมื่อดูผิวเซอโรโคเนียจะพบเรซินซีเมนต์ติดบนผิวเซอโรโคเนียอยู่เป็นหย่อม ๆ

สถิติที่ใช้ทดสอบ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ความแปรปรวนทางเดียว (one-way analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วยการเปรียบเทียบเชิงซ้อนชนิดทูกีย์ (Tukey's multiple comparisons) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการศึกษา

การวิจัยนี้ไม่พบการแตกหักของชิ้นทดสอบก่อนการทดสอบกำลังแรงยึดเฉือน (prematurely failed specimen) ในทุกกลุ่มการทดลอง

ค่ากำลังแรงยึดเฉือนและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานแสดงไว้ในตารางที่ 2

โดยค่ากำลังแรงยึดเฉือนของ กลุ่มที่ 3 (AP+SU) และ กลุ่มที่ 5 (AP+EX) มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ 1 (AP) กลุ่มที่ 2 (SU) กลุ่มที่ 4 (EX) และกลุ่มที่ 6 (no tx) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และพบว่ากลุ่มที่ 6 (no tx) มีค่ากำลังแรงยึดเฉือนต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

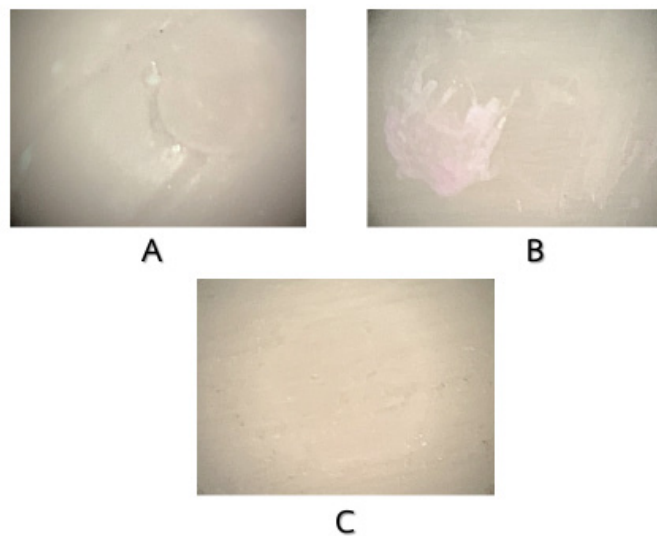
รูปแบบความล้มเหลวที่พบภายหลังจากการทดสอบกำลังแรงยึดเฉือนระหว่างเซอโรโคเนียกับเรซินซีเมนต์ (ตารางที่ 2) โดยกลุ่มที่ 1 (AP) พบการล้มเหลวแบบผสมร้อยละ 90 การล้มเหลวแบบเชื่อมแน่นล้มเหลวร้อยละ 10 กลุ่มที่ 2 (SU) และ กลุ่มที่ 4 (EX) พบการล้มเหลวแบบผสมร้อยละ 80 การล้มเหลวแบบเชื่อมแน่นล้มเหลวร้อยละ 20 กลุ่มที่ 3 (AP+SU) และ กลุ่มที่ 5 (AP+EX) พบการล้มเหลวแบบผสมร้อยละ 60-70 การล้มเหลวแบบเชื่อมแน่นล้มเหลวร้อยละ 30-40 และในกลุ่มที่ 6 (no tx) พบการล้มเหลวแบบยึดไม่อยู่ร้อยละ 100 ตัวอย่างรูปแบบความล้มเหลวได้แสดงไว้ดังรูปที่ 2

ตารางที่ 2 ค่ากำลังแรงยึดเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (เมกะพาสคาล) และรูปแบบความล้มเหลว

Table 2 Mean bond strength, standard deviation (Megapascal) and mode of failure

Group	Mean bond strength (SD)	Mode of failure		
		Adhesive	Mixed	Cohesive
1. (AP)	14.12 (2.56) ^a	0	90	10
2. (SU)	19.25 (2.00) ^b	0	80	20
3. (AP+SU)	23.53 (2.15) ^c	0	60	40
4. (EX)	18.93 (1.93) ^b	0	80	20
5. (AP+EX)	22.91 (2.14) ^c	0	70	30
6. (no tx)	8.05 (1.64) ^d	100	0	0

The value with identical letters indicates no statistically significant difference



รูปที่ 2 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอไมโครสโคปแสดงรูปแบบความล้มเหลว

A. การเชื่อมแน่นล้มเหลวในเรซินซีเมนต์

B. การล้มเหลวแบบผสม

C. การยึดไม่อยู่บนผิวของเซอร์โคเนีย

Figure 2 Illustrations from stereo microscope Show mode of failure

A. Cohesive failure in resin cement

B. Mixed failure

C. Adhesive failure in zirconia surface

บทวิจารณ์

จากการศึกษาพบว่า กำลังแรงยึดเหนี่ยวระหว่างเซอร์โคเนียและเรซินซีเมนต์ โดยใช้สารไพรเมอร์ที่มีเอมิตีฟร่วมกับสารยึดติด (AP+SU, AP+EX) และการใช้สารยึดติด/สารไพรเมอร์ที่มีเอมิตีฟเพียงอย่างเดียว (AP, SU, EX) มีค่าแตกต่างกัน และกำลังแรงยึดเหนี่ยวระหว่างเซอร์โคเนียกับเรซินซีเมนต์ โดยใช้สารยึดติดแบบยูนิเวอร์ซอล (SU) สารยึดติดที่มีมอนอเมอร์ที่มีหมู่ฟอสเฟตเป็นหมู่ฟังก์ชัน (EX) และสารไพรเมอร์ที่มีเอมิตีฟ (AP) มีค่าไม่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงยอมรับสมมติฐานแรกที่ตั้งไว้และปฏิเสธสมมติฐานที่สอง

รูปแบบความล้มเหลวที่เกิดขึ้น พบว่ากลุ่มที่ไม่มีการปรับสภาพผิวเซอร์โคเนียเป็นแบบยึดไม่อยู่ร้อยละ 100 ส่วนกลุ่มที่มีการปรับสภาพผิวด้วยอัลลอยไพรเมอร์ หรือสารยึดติดเป็นแบบผสมร้อยละ 80-90 การล้มเหลวแบบเชื่อมแน่นล้มเหลวย้อยละ 10-20 ส่วนกลุ่มที่มีการปรับสภาพผิวด้วยอัลลอยไพรเมอร์แล้วตามด้วยการทาสารยึดติดเป็นแบบผสมร้อยละ 60-70 การล้มเหลวแบบเชื่อมแน่นล้มเหลวย้อยละ 30-40 ซึ่งสอดคล้องกับค่ากำลังแรงยึดที่ได้ โดยพบว่ากลุ่มที่มีกำลังแรงยึดต่ำจะให้รูปแบบความ

ล้มเหลวแบบยัดไม่อยู่มากที่สุด¹⁷ โดยสอดคล้องกับการศึกษาของ Kim และคณะ ปี ค.ศ. 2015¹¹ และ Al Jeaidi และคณะ ปี ค.ศ. 2017¹⁷

เซอร์โคเนียเป็นเซรามิกที่มีชั้นออกไซด์เป็นองค์ประกอบ²¹ โดยชั้นออกไซด์นี้มีความสำคัญในการเกิดการยึดติดทางเคมีระหว่างเซอร์โคเนียกับสารเคมีที่มีหมู่ฟอสเฟตเป็นหมู่ฟังก์ชัน เช่น อัลลอยไพรเมอร์ สารยึดติด เป็นต้น เมื่อทาสารไพรเมอร์หรือสารยึดติดที่มีหมู่ฟอสเฟตเป็นหมู่ฟังก์ชันลงบนผิวเซอร์โคเนีย ปลายข้างที่มีหมู่ฟอสเฟตจะเกิดการยึดติดทางเคมีกับชั้นออกไซด์ของเซอร์โคเนีย⁹ ส่วนปลายอีกข้างหนึ่งเป็นคาร์บอนพันธะคู่จะเกิดปฏิกิริยาการเกิดพอลิเมอร์กับสารยึดติดหรือเรซินซีเมนต์ได้

อัลลอยไพรเมอร์เป็นสารไพรเมอร์ที่มีเอมิตีฟเป็นมอนอเมอร์หลัก โดยเอมิตีฟเป็นสารที่มีหมู่ฟอสเฟตเป็นหมู่ฟังก์ชันซึ่งสามารถเกิดการยึดติดทางเคมีกับชั้นออกไซด์ของเซอร์โคเนียได้ มีการศึกษามากมาย พบว่าสารเอมิตีฟเกิดการยึดติดทางเคมีที่ดีกับเซอร์โคเนีย⁷⁻¹⁰ จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเมื่อทาสารที่มีเอมิตีฟหรือสารที่มีหมู่ฟอสเฟตเป็นหมู่ฟังก์ชันบนผิวเซอร์โคเนียจะให้ค่าแรงยึดที่สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้ทำการปรับสภาพผิวเซอร์โคเนีย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Kim และคณะ ปี ค.ศ. 2015 พบว่าการใช้อัลลอยไพรเมอร์ทาบนเซอร์โคเนียก่อนยึดด้วยเรซินซีเมนต์จะเพิ่มค่ากำลังแรงยึดระหว่างเซอร์โคเนียกับเรซินซีเมนต์ได้¹¹ การศึกษาของ Tanis และคณะ ปี ค.ศ. 2015 รายงานว่า การใช้สารไพรเมอร์ที่มีเอมิตีฟปรับสภาพผิวเซอร์โคเนียก่อนยึดด้วยเรซินซีเมนต์จะทำให้ได้ค่ากำลังแรงยึดที่สูงขึ้น¹⁰ และการศึกษาของ Al Jeaidi และคณะ ปี ค.ศ. 2017 พบว่าเซอร์โคเนียที่ไม่มีการปรับสภาพผิวด้วยสารเอมิตีฟหรือสารที่มีหมู่ฟอสเฟตเป็นหมู่ฟังก์ชันจะให้แรงยึดที่ต่ำเมื่อทำการยึดด้วยเรซินซีเมนต์ เนื่องจากเรซินซีเมนต์มีความหนืดที่สูงเมื่อเทียบกับสารไพรเมอร์หรือสารยึดติด จึงไม่สามารถเกิดการไหลแผ่เข้าไปในผิวที่มีความขรุขระของเซอร์โคเนียได้¹⁷

จากการศึกษาครั้งนี้ เมื่อเปรียบเทียบการปรับสภาพผิวเซอร์โคเนียด้วยสารอัลลอยไพรเมอร์กับสารยึดติดที่มีเอมิตีฟหรือมีหมู่ฟอสเฟตเป็นหมู่ฟังก์ชัน พบว่าการทาสารยึดติดที่มีเอมิตีฟหรือมีหมู่ฟอสเฟตเป็นหมู่ฟังก์ชันให้ค่ากำลังแรงยึดที่สูงกว่าการปรับสภาพผิวเซอร์โคเนียด้วยสารอัลลอยไพรเมอร์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Kim และคณะ ปี ค.ศ. 2015 ได้ศึกษาถึงค่ากำลังแรงยึดของสารยึดติดผลิตภัณฑ์ซึ่งเกลบบอนด์ยูนิเวอร์ซอลและสารอัลลอยไพรเมอร์ พบว่าการทาสารยึดติดผลิตภัณฑ์ซึ่งเกลบบอนด์ยูนิเวอร์ซอลให้ค่าแรงยึดที่สูงกว่าการทาสารอัลลอยไพรเมอร์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากในสารยึดติดผลิตภัณฑ์ซึ่งเกลบบอนด์ยูนิเวอร์ซอล ประกอบด้วยสารเอมิตีฟและเรซินมอนอเมอร์ ซึ่งเรซินมอนอเมอร์นี้จะไปทำให้ชั้นรอยต่อระหว่างเซอร์โคเนียกับเรซินซีเมนต์มีความแข็งแรงขึ้น จึงส่งผลให้มีกำลังแรงยึดที่สูงขึ้น¹¹ และการศึกษาของ Ferreira da Silva และคณะ ปี ค.ศ. 2018

รายงานว่าการทาสารยึดติดผลิตภัณฑ์ซึ่งเกลบบอนด์ยูนิเวอร์ซอลให้ค่าแรงยึดที่สูงกว่าการทาสารเอ็มซีไพรเมอร์ (MZ primer) เนื่องจากสารเอ็มซีไพรเมอร์มีมอนอเมอร์ที่มีหมู่คาร์บอกซิลเป็นหมู่ฟังก์ชัน ซึ่งหมู่คาร์บอกซิลจะเกิดการจับกับชั้นออกไซด์บนผิวเซอร์โคเนียได้บางและไม่เสถียร จึงให้ค่าแรงยึดที่ต่ำเมื่อเทียบกับการทาสารยึดติดผลิตภัณฑ์ซึ่งเกลบบอนด์ยูนิเวอร์ซอลที่มีเอมิตีฟเป็นมอนอเมอร์ แต่จากการศึกษาเดียวกันกลับพบว่า การทาสารยึดติดผลิตภัณฑ์ซึ่งเกลบบอนด์ยูนิเวอร์ซอลให้ค่าแรงยึดที่ไม่แตกต่างกับการทาสารซีไพรเมอร์พลัส (Z primer plus) เนื่องจากสารซีไพรเมอร์พลัส ประกอบด้วยเอมิตีฟและมอนอเมอร์ที่มีหมู่คาร์บอกซิลเป็นหมู่ฟังก์ชัน ดังนั้นค่าแรงยึดที่ได้จึงเกิดจากรวมกันของสารเอมิตีฟและมอนอเมอร์ที่มีหมู่คาร์บอกซิลเป็นหมู่ฟังก์ชันจับกับชั้นออกไซด์บนผิวเซอร์โคเนีย จึงทำให้มีค่าแรงยึดที่ไม่แตกต่างกับการทาสารยึดติดผลิตภัณฑ์ซึ่งเกลบบอนด์ยูนิเวอร์ซอล²² ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Xie และคณะ ปี ค.ศ. 2016 ที่พบว่า การทาสารยึดติดผลิตภัณฑ์ซึ่งเกลบบอนด์ยูนิเวอร์ซอลให้ค่าแรงยึดที่ไม่แตกต่างกับการทาสารซีไพรเมอร์พลัส¹⁹ แต่ตรงข้ามกับการศึกษาของ Amaral และคณะ ปี ค.ศ. 2014 และ Seabra และคณะ ปี ค.ศ. 2014 รายงานว่าการปรับสภาพผิวเซอร์โคเนียสารยึดติดผลิตภัณฑ์ซึ่งเกลบบอนด์ยูนิเวอร์ซอลให้ค่าแรงยึดที่สูงกว่าการปรับสภาพผิวด้วยสารซีไพรเมอร์พลัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ^{16,18}

Amaral และคณะ ปี ค.ศ. 2014 และ Al Jeaidi และคณะ ปี ค.ศ. 2017 รายงานว่าการใช้สารยึดติดผลิตภัณฑ์ซึ่งเกลบบอนด์ยูนิเวอร์ซอลสามารถเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการเกิดการยึดติดทางเคมีระหว่างเซอร์โคเนียกับเรซินซีเมนต์ได้^{6,17} Seabra และคณะ ปี ค.ศ. 2014 พบว่าสารยึดติดผลิตภัณฑ์ซึ่งเกลบบอนด์ยูนิเวอร์ซอลสามารถเพิ่มแรงยึดติดระหว่างเซอร์โคเนียกับเรซินคอมโพสิตได้¹⁸ Kim และคณะ ปี ค.ศ. 2015 และ Xie และคณะ ปี ค.ศ. 2016 รายงานว่าการใช้สารยึดติดแบบยูนิเวอร์ซอลทำให้เกิดการยึดติดที่ีระหว่างเซอร์โคเนียกับเรซินซีเมนต์^{19,23} นอกจากนี้ยังสามารถต้านทานการสลายด้วยน้ำ (hydrolysis) บริเวณรอยต่อของเซอร์โคเนียกับเรซินซีเมนต์ได้อีกด้วย¹⁹ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้พบว่า ค่ากำลังแรงยึดเฉือนของการปรับสภาพผิวเซอร์โคเนียด้วยสารยึดติดที่มีเอมิตีฟหรือมีหมู่ฟอสเฟตเป็นหมู่ฟังก์ชันมีค่าสูงกว่าการปรับสภาพผิวเซอร์โคเนียด้วยสารอัลลอยไพรเมอร์ จึงอาจสรุปได้ว่าการใช้สารยึดติดแบบยูนิเวอร์ซอลหรือสารยึดติดที่มีหมู่ฟอสเฟตเป็นหมู่ฟังก์ชันเป็นอีกทางเลือกหนึ่งแทนการใช้สารไพรเมอร์ที่มีเอมิตีฟในการปรับสภาพผิวเซอร์โคเนีย

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า การปรับสภาพผิวด้วยอัลลอยไพรเมอร์แล้วตามด้วยการทาสารยึดติดจะให้ค่ากำลังแรงยึดเฉือนที่สูงกว่าการปรับสภาพผิวด้วยสารยึดติดหรืออัลลอยไพรเมอร์เพียงอย่างเดียว เนื่องจากการปรับสภาพผิวด้วยอัลลอยไพรเมอร์

จะเป็นการเพิ่มการยึดติดทางเคมี และยิ่งไปกว่านั้นอัลลอยไพรเมอร์จะทำให้เพิ่มการไหลแผ่ (wettability) ของเรซินมอนอเมอร์เข้าไปในผิวของเซอโรโคเนียได้ดียิ่งขึ้น เกิดเป็นชั้นรอยต่อที่แข็งแรงขึ้น¹¹ ส่งผลให้ค่าการยึดติดที่สูงขึ้นตามมาได้ โดยการศึกษาของ Xie และคณะ ปี ค.ศ. 2016 รายงานว่าการปรับสภาพผิวของเซอโรโคเนียด้วยสารไพรเมอร์ที่มีเอ็มดีพีแล้วตามด้วยการทาสารยึดติดแบบยูนิเวอร์ซอลที่มีเอ็มดีพี มีผลทั้งให้ค่าแรงยึดที่สูงขึ้นและให้ค่าแรงยึดที่ไม่แตกต่างกับการทาสารยึดติดเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับผลิตภัณฑ์ของสารยึดติดแบบยูนิเวอร์ซอล¹⁹

ด้วยข้อจำกัดของการศึกษาในครั้งนี้ที่ทำการเตรียมผิวเซอโรโคเนียโดยการขัดผิวหน้าด้วยกระดาษซิลิกอนคาร์ไบด์ที่มีความหยาบ 600 กริท เพียงอย่างเดียว จึงทำให้ไม่สามารถเปรียบเทียบกับวิธีการเตรียมผิวเซอโรโคเนียโดยวิธีอื่น ๆ ได้ ซึ่งมีการศึกษาพบว่าเมื่อทำการเตรียมผิวโดยการพ่นอนุภาคอะลูมินัมออกไซด์จะทำให้ค่าการยึดติดที่สูงขึ้น ดังนั้นควรมีการศึกษาต่อไปถึงวิธีการเตรียมผิวเซอโรโคเนียวิธีต่าง ๆ ร่วมกับการใช้สารไพรเมอร์และสารยึดติดเพื่อเปรียบเทียบค่าการยึดติดระหว่างเซอโรโคเนียและเรซินซีเมนต์

บทสรุป

การใช้สารไพรเมอร์ที่มีเอ็มดีพีร่วมกับสารยึดติดจะทำให้กำลังแรงยึดระหว่างเซอโรโคเนียและเรซินซีเมนต์ที่สูงกว่าการใช้สารยึดติดหรือการใช้สารไพรเมอร์ที่มีเอ็มดีพีเพียงอย่างเดียว การใช้สารยึดติดแบบยูนิเวอร์ซอลหรือสารยึดติดที่มีมอนอเมอร์ที่มีหมู่ฟอสเฟตเป็นหมู่ฟังก์ชันสามารถใช้ทดแทนการใช้สารไพรเมอร์ที่มีเอ็มดีพีในการปรับสภาพผิวเซอโรโคเนียได้

เอกสารอ้างอิง

- Piconi C, Maccauro G. Zirconia as a ceramic biomaterial. *Biomaterials* 1999;20(1):1-25.
- Denry I, Kelly J. State of the art of zirconia for dental applications. *Dent Mater* 2008;24(3):299-307.
- Sailor I, Gottnerb J, Kanelb S, Hammerle C. Randomized controlled clinical trial of zirconia-ceramic and metal-ceramic posterior fixed dental prostheses: 3-year follow-up. *Int J Prosthodont* 2009;22(6):553-60.
- Torres SM, Borges GA, Spohr AM, Cury AA, Yadav S, Platt JA. The effect of surface treatments on the micro-shear bond strength of a resin luting agent and four all-ceramic systems. *Oper Dent* 2009;34(4):399-407.
- Wandscher VF, Fraga S, Pozzobon JL, Soares FZ, Foletto EL, May LG, *et al*. Tribochemical Glass Ceramic Coating as a New Approach for Resin Adhesion to Zirconia. *J Adhes Dent* 2016;18(5):435-40.
- Sriamporn T, Thamrongananskul N, Busabok C, Poolthong S, Uo M, Tagami J. Dental zirconia can be etched by hydrofluoric acid. *Dent Mater J* 2014;33(1):79-85.
- de Souza G, Hennig D, Aggarwal A, Tam LE. The use of MDP-based

- materials for bonding to zirconia. *J Prosthet Dent* 2014;112(4):895-902.
- Kitayama S, Nikaido T, Takahashi R, Zhu L, Ikeda M, Foxton RM, *et al*. Effect of primer treatment on bonding of resin cements to zirconia ceramic. *Dent Mater* 2010;26(5):426-32.
- Koizumi H, Nakayama D, Komine F, Blatz MB, Matsumura H. Bonding of resin-based luting cements to zirconia with and without the use of ceramic priming agents. *J Adhes Dent* 2012;14(4):385-92.
- Tanis MC, Akay C, Karakis D. Resin cementation of zirconia ceramics with different bonding agents. *Biotechnol Biotechnol Equip* 2015;29(2):363-7.
- Kim JH, Chae SY, Lee Y, Han GJ, Cho BH. Effects of multipurpose, universal adhesive on resin bonding to zirconia ceramic. *Oper Dent* 2015;40(1):55-62.
- Bulbul M, Kesim B. The effect of primers on shear bond strength of acrylic resin to different types of metals. *J Prosthet Dent* 2010;103(5):303-8.
- Nima G, Ferreira PVC, de Paula AB, Consani S, Giannini M. Effect of metal primers on bond strength of a composite resin to nickel-chrome metal alloys. *Braz Dent J* 2017;28(2):210-5.
- Yokota Y, Fujita KN, Uchida R, Aida E, Aoki NT, Aida M, *et al*. Quantitative Evaluation of MDP-Ca Salt and DCPD after Application of an MDP-based One-step Self-etching Adhesive on Enamel and Dentin. *J Adhes Dent* 2016;18(3):205-13.
- Yokota Y, Nishiyama N. Determination of molecular species of calcium salts of MDP produced through decalcification of enamel and dentin by MDP-based one-step adhesive. *Dent Mater J* 2015;34(2):270-9.
- Amaral M, Belli R, Cesar PF, Valandro LF, Petschelt A, Lohbauer U. The potential of novel primers and universal adhesives to bond to zirconia. *J Dent* 2014;42(1):90-8.
- Al Jeaidi ZA, Alqahtani MA, Awad MM, Rodrigues FP, Alrahlah AA. Bond strength of universal adhesives to air-abraded zirconia ceramics. *J Oral Sci* 2017;59(4):565-70.
- Seabra B, Arantes-Oliveira S, Portugal J. Influence of multimode universal adhesives and zirconia primer application techniques on zirconia repair. *J Prosthet Dent* 2014;112(2):182-7.
- Xie H, Li Q, Zhang F, Lu Y, Tay FR, Qian M, *et al*. Comparison of resin bonding improvements to zirconia between one-bottle universal adhesives and tribochemical silica coating, which is better? *Dent Mater* 2016;32(3):403-11.
- International Organization for Standardization. ISO/TR 11405 Dental materials-Guidance on testing of adhesion to tooth structure. Geneva:ISO;2003.
- Lohbauer U, Zipperle M, Rischka K, Petschelt A, Müller FA. Hydroxylation of dental zirconia surfaces: characterization and bonding potential. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2008;87(2):461-7.
- Ferreira da Silva DF, de Oliveira Lopes R, de Souza NC, Marcondes ML, Danesi P, Spohr AM. Bond to Zirconia Ceramic: Evaluation of Different Primers and a Universal Adhesive. *Open Dent J* 2018;12(1):929-36.
- Kim TW, Yang DK, Kim SI, Shin SJ, Park JW. Evaluation of universal bonding agent containing MDP on zirconia bonding. *Dent Mater* 2015;31(1):e37-e38.

Efficacy of Articaine Infiltration for Pulp Treatment in Mandibular Primary Molars: A Randomized Split-mouth Clinical Trial

Anchana Areethamsirkul¹, Siriruk Nakornchai¹, Benjamas Apipan²

¹Department of Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Mahidol University, Bangkok

²Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Faculty of Dentistry, Mahidol University, Bangkok

Abstract

This clinical trial aimed to compare pain scores and adverse events between buccal infiltration with 4 % articaine with epinephrine 1:200,000 and nerve block with 2 % lidocaine with epinephrine 1:100,000 in pulp treatment in mandibular primary molars. Twenty-six children received pulp treatments on both sides of the mandible with inferior alveolar nerve block with lidocaine and buccal infiltration with articaine in random sequences. Pain scores were assessed during injection and pulp removal by video observation and through participant's self-reporting after the procedure. Additional local anesthesia and adverse events were monitored. The Wilcoxon Signed-Rank test and the McNemar test were used for statistical analysis. Pain scores during injection in lidocaine nerve block (2.4 ± 1.2) and articaine infiltration (1.7 ± 0.9) were significantly different ($p=0.002$). There was no statistical difference in pain scores during pulp removal, overall pain from self-reporting and additional local anesthesia. One case in each method reported lip biting after treatment. No other adverse events were reported in this study. In conclusion, mandibular infiltration with articaine was not different from inferior alveolar nerve block with lidocaine in pain control and adverse events when performing pulp treatment in mandibular primary molars; however, it provided less pain during injection.

Keywords: Articaine, Infiltration anesthesia, Primary molar, Pulp treatment

Received Date: Feb 2, 2019

Revised Date: Feb 28, 2019

Accepted Date: Jun 20, 2019

Doi: 10.14456/jdat.2019.44

Correspondence to:

Siriruk Nakornchai, Department of Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Mahidol University, No. 6, Yothi Road, Ratchathewi District, Bangkok 10400, Thailand Tel: +662-200-7821 Fax: +662-200-7820 E-mail: siriruk.nak@mahidol.ac.th

Introduction

Local anesthesia plays an important role for pain control in dentistry, especially in the pediatric field since pain can directly affect the behavior of children.¹ Inadequate pain control can cause dental fear, anxiety and can lead to behavior disturbance and a negative attitude towards dental treatment in the future.² Inferior alveolar nerve block is a common local anesthetic technique used in mandibular teeth with the benefit of widely anesthetized tissue, which is useful for quadrant dentistry. There are several disadvantages of nerve block such as pain during the injection^{3,4}, prolonged numbness involving lip, tongue and buccal mucosa which lead to self-inflicted soft tissue trauma especially in young children⁵, nerve injury, trismus, hematoma and facial nerve paresis.⁶ Moreover, it has been found that failure rates of nerve block may range from 44-84 % due to variations of an anatomical landmark.^{1,7} Mandibular infiltration showed the potential of tissue anesthetization indifferently to inferior alveolar nerve block with more advantages in several areas such as simplicity of usage, comfort when injected, less opportunity to damage the nerve, and less chance of post-operational soft tissue trauma.⁸ Nonetheless, a limited anesthetized area by mandibular infiltration with lidocaine, which is considered as a gold standard of local anesthetic agent⁹, showed less effectiveness than inferior alveolar nerve block when treating pulpotomy and extraction in children.¹⁰

Articaine hydrochloride has been used in dental practice since 1976.¹¹ It is the only amide anesthetic agent that consists of thiophene ring, which helps increasing lipid solubility and potency. In comparison to lidocaine, the potency of articaine is 1.5 times while its toxicity is only 0.6 times.⁹ Studies of mandibular infiltration with 4 % articaine showed similar pulpal anesthesia compared to inferior alveolar nerve block with 2 % lidocaine in adults.^{12,13} However, there were only few studies done in mandibular primary molars when treating pulpitis. In addition, none of them studied the adverse events.^{7,14} Therefore, this study aimed to compare the efficacy, including pain scores and adverse events, of mandibular buccal infiltration with 4 % articaine with epinephrine

1:200,000 and inferior alveolar nerve and long buccal nerve block with 2 % lidocaine with epinephrine 1:100,000 in pulp treatment in mandibular primary molars.

Materials and Methods

This study was prospective, randomized clinical controlled trial and split mouth design, carried out from March 2017 to May 2018. Ethical approval was given by the institutional review board of the Faculties of Dentistry and Pharmacy, Mahidol University (MU-DT/PY-IRB 2017/012.2802). Trial registration number in clinicaltrials.in.th was TCTR20180221001. The sample size was calculated according to Arali⁷, which compared pain scores during access opening in children who received pulp treatment between mandibular buccal infiltration with articaine and inferior alveolar nerve block with lidocaine. The difference in pain scores was 0.2. Therefore, the sample size in this study was 26 for each technique with 90 % power and 0.01 level of significance.

Healthy children aged 4-8 years old were screened from the Department of Pediatric Dentistry, the Faculty of Dentistry, Mahidol University, Bangkok and Pak Phayun hospital, Phatthalung, Thailand. Participants who presented with both sides of primary mandibular first or second molars with extensive dental caries that need pulp therapy and had co-operative behavior (Frankl behavior rating scale 3 or 4) were included in the study. Those who had a history of local anesthetic agent allergy, analgesic medication prior to dental treatment or signs of pulp necrosis such as periapical abscess, tooth mobility or facial swelling were excluded. Participants were randomized to particular treatment sequences either with 2 % lidocaine or 4 % articaine through selecting assigned numbers sealed in an envelope at the beginning of the process. All anesthetic and pulp treatment procedures were done by three postgraduate students, who had the same years of experience in pediatric dentistry. Each participant received treatment from the same operator and was blinded from anesthetic agents and techniques. All the procedures were video recorded. The procedure started from the right side of

the mandible at the first visit. Before injection, topical anesthesia with 20 % benzocaine (Pac Dent®, USA) was applied with cotton pellet at dried soft tissue at the site of injection for 1 minute. Then, the local anesthesia was given with 27-gauge, 21 millimeters needle (Terumo Dental needle®, Japan) with the injection rate of 1 milliliter/minute. After randomization, half of the participants received inferior alveolar and long buccal nerve block with 2 % lidocaine with epinephrine 1:100,000 (Medicaine™, Huons, Korea) 1.8 ml in their first dental visit, followed by buccal infiltration with 4 % articaine with epinephrine 1:200,000 (Septanest®N, Septodont, Canada) 0.8 ml at mucobuccal fold near the apex of the root and indirect injection of lingual soft tissue through interdental papilla distally to the treated tooth 0.3 ml during their second dental visit with at least 1-week interval. The other half of

participants received treatment with alternate sequences. The local anesthesia was confirmed by participants' reporting of soft tissue numbness and probing at buccal and lingual sulcus of the treated tooth. Thereafter, rubber dam isolation was placed and pulpotomy or pulpectomy were performed. Pulpotomies were done in the teeth that were diagnosed with reversible pulpitis, while teeth with irreversible pulpitis were treated by pulpectomies. If inadequate pain control occurred, additional intrapulpal injection would be given. After all the procedures had been done, participants were asked to assess pain using the Faces Pain Scale-Revised (FPSR)¹⁵ as shown in Figure 1. The pain scale was rated from 0 to 10; in which 0 indicated no pain and 10 indicated the most severe pain.

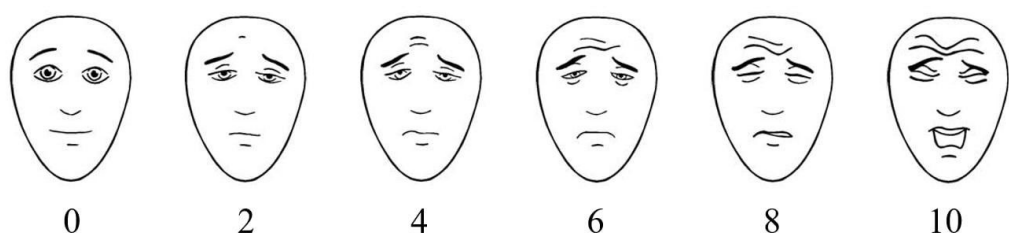


Figure 1 Faces pain scale-revised.

Complications were monitored during injection, after injection, after treatment and 24 hours after treatment via phone call. The video was cut into two parts: during injection of local anesthesia and during access opening and pulp removal, then labeled with code. The sound-eye-

motor (SEM) score¹⁶ as shown in Table 1 was evaluated by two blinded independent observers. Ten cases were used for the calibration of SEM score to ensure the reliability of examiners at a 2-week interval. When the scores were different, further discussion was done.

Table 1 SEM pain scale.

Observations	1 comfort	2 mild discomfort	3 moderately painful	4 painful
Sounds	No sounds indicating pain	Non-specific sounds; possible pain indications	Specific verbal complaints "OW" raises voice	Verbal complaint indicates intense pain e.g. scream, sobbing
Eyes	No eye signs of discomfort	Eye wide, show of concern, no tear	Watery eyes, eyes flinching	Crying, tears running down face
Motor	Hands relaxed no apparent body tenseness	Hands show some distress or tension	Random movement of arms or body without aggressive intention of physical contact, grimace, twitch	Movement of hands to make aggressive contact, e.g. punching, pulling head away

Statistical analysis

All data were processed by SPSS software (24.0, SPSS Inc., Chicago Ill, USA). Inter-examiner and intra-examiner reliability were tested by Cohen's Kappa statistics and results were 0.88 and 1 respectively. Wilcoxon Match-Pairs Signed-Rank test was used to analyze the difference of pain scores from video observation during injection and pulp removal as well as participants' self-reporting between the two local anesthetic techniques. The pain scores using the same local anesthetic technique with different time sequences was analyzed by Mann-Whitney U test. The McNemar test was used to compare the need of additional local anesthesia. A *p*-value less than 0.05 was accepted as a statistical significance.

Results

In this study, twenty-six participants, 13 boys and 13 girls, ages ranging from 4 to 7 years old (average 5.2 ± 0.7 years) were included. One participant reported having the history of dental injection prior to the study. Sixteen mandibular first primary molars and 36 mandibular second primary molars were analyzed. Baseline variables are shown in Table 2.

Pain score during injection in lidocaine nerve block and articaine infiltration were statistically significant ($p=0.002$). On the contrary, pain scores during pulp removal and participant's self-reporting were not significantly different ($p=0.115$ and $p=0.109$). All pain scores are shown in Table 3.

Considering the effect of the tooth location, there were 18 participants who received treatment in the same tooth location in both sides of the mandible. The pain score during injection also showed the significant difference between articaine infiltration and lidocaine nerve block ($p=0.004$). Whereas, pain score during pulp removal and self-reported pain score were not different between articaine infiltration and lidocaine nerve block ($p=0.396$ and $p=0.356$) shown in Table 4.

Since the numbers of treatments in both groups were different, comparison of the same treatments was analyzed as shown in Table 5. Eight participants received pulpotomy and six participants received pulpectomy on both sides of the mandible. Pain scores during pulp removal and participant's self-reporting were not different between articaine infiltration and lidocaine nerve block.

The comparisons of pain scores using the same local anesthetic technique with different time sequence were shown in Table 6. There were no differences between the first and the second dental visits in both lidocaine nerve block and articaine infiltration.

There were 2/26 (7.7 %) cases in lidocaine nerve block and 3/26 (11.5 %) cases in articaine infiltration that required additional local anesthesia, which were not significantly different ($p=1.000$). There was one case in each method who reported self-inflicted soft tissue trauma at the lower lip after treatment. No other immediate and one day post-operative adverse events were found in this study.

Table 2 Number of tooth types and pulp treatments in different local anesthetic techniques.

Variables	Lidocaine nerve block	Articaine buccal infiltration	<i>p</i> -value
Tooth			
- First mandibular primary molar	7	9	0.727
- Second mandibular primary molar	19	17	
Treatment			
- Pulpotomy	10	18	0.039*
- Pulpectomy	16	8	

*statistically significant ($p<0.05$), McNemar's test

Table 3 Mean±SD of pain scores in different local anesthetic techniques.

Procedures	Pain scores (mean±SD)		p-value
	Lidocaine nerve block	Articaine buccal infiltration	
Injection	2.4±1.2	1.7±0.9	0.002*
Pulp removal	1.8±1.0	1.5±0.8	0.115
Self-reported	1.3±1.7	0.7±1.3	0.109

*statistically significant ($p<0.05$), Wilcoxon match pairs Signed-Rank test

Table 4 Pain scores of the same tooth location in different local anesthetic techniques.

Procedures	Pain scores (mean±SD)		p-value
	Lidocaine nerve block	Articaine buccal infiltration	
Injection	2.7±1.2	1.9±1.0	0.004*
Pulp removal	2.0±1.1	1.8±0.8	0.396
Self-reported	1.4±1.8	1.0±1.4	0.356

*statistically significant ($p<0.05$), Wilcoxon match pairs Signed-Rank test

Table 5 Comparison of pain scores in different local anesthetic techniques base on treatments.

Treatments	Pain scores (mean±SD)		p-value
	Lidocaine nerve block	Articaine buccal infiltration	
Pulpotomy (8 cases)			
- Pulp removal	1.8±1.0	1.6±0.9	0.581
- Self-reported	0.8±1.0	1.0±1.5	0.739
Pulpectomy (6 cases)			
- Pulp removal	2.3±1.3	1.3±0.8	0.180
- Self-reported	1.0±1.7	0.0±0.0	0.066

*statistically significant ($p<0.05$), Wilcoxon match pairs Signed-Rank test

Table 6 Comparison of pain scores in different local anesthetic techniques base on visit sequence.

Local anesthetic techniques	Pain scores (mean±SD)		p-value
	1 st visit	2 nd visit	
Lidocaine nerve block			
- Injection	2.4±1.2	2.4±1.3	0.815
- Pulp removal	2.0±0.9	1.7±1.1	0.185
- Self-reported	1.4±1.5	1.2±1.9	0.570
Articaine infiltration			
- Injection	1.7±0.8	1.8±1.1	1.000
- Pulp removal	1.5±0.7	1.5±0.8	1.000
- Self-reported	0.9±1.3	0.5±1.2	0.235

*statistically significant ($p<0.05$), Mann-Whitney U test

Discussion

Pain was subjective and depended on an individual's experience.^{14,17} This study was designed as the prospective randomized split mouth with at least 1-week wash out period, which minimized carryover effects. However, the carryover effect could not be completely eliminated. The same local anesthetic technique with different time sequences was statistically analyzed. We found no difference between the two different dental visits. Thus all data could be used in this study.

The local anesthetic technique used in this study was buccal infiltration with lingual indirect injection through interdental papilla, which has not been used in the previous studies.^{7,14} The reason of indirect lingual injection is that buccal infiltration cannot provide adequate lingual soft tissue numbness, which is needed when performing pulp treatment with rubber dam isolation and restored with a full stainless steel crown.^{18,19} The amount of articaine used in this study was 0.8 ml which is the lowest amount that could be effectively used in pulp treatment of mandibular primary molars.¹⁴

Pain assessment in this study focused on two aspects. First, the pain reported by participants, which is considered as the gold standard for pain evaluation.^{15,20} FPSR was a scale that showed the highest validity and appropriateness for the participants' age in the study.¹⁵ Another aspect for pain evaluation was also used, since children might have limitations when reporting their pain. Observational assessment with the SEM pain scale via video was done during injection and pulp removal. The SEM pain scale was suitable for monitoring participants when receiving dental treatment with great reliability.¹⁶ Video was repeatable and observers should be blinded from the local anesthesia methods when evaluating the SEM pain scale during pulp removal. However, the injection technique could not be blinded when evaluating the SEM pain scale during injection because the different position of needle insertion.

Pain assessment by the SEM pain scale during injection in this study showed significant lower pain score of articaine buccal infiltration compared to lidocaine

nerve block. The similar results were also found in previous studies.^{7,14,21} More pain might be obtained with nerve block because of deeper tissue penetration and a higher amount of local anesthetic agent used compared to buccal infiltration.²² On the contrary, one parallel randomized controlled trial found that the pain during injection was not different.²³ In addition, use of topical anesthesia before injection in a different site may affect pain. Mucosal dryness of the inferior alveolar nerve block area is more difficult than that of the buccal area. In our study, we were aware of the effect so we controlled dryness at both areas before applying topical anesthetic gel to maintain the efficacy of topical anesthesia.

Although, the number of pulpotomy and pulpectomy between the two groups were different but both treatments needed pulp removal. Pain scores during pulp removal and participant's self-reported overall pain were not different in this study, similar to the results of one previous study.²³ However, some studies showed a lower pain score of articaine infiltration compared to lidocaine nerve block during pulp removal^{7,14} and participant's self-reporting.^{7,14,21} This might result from the differences in the protocol of the studies, such as the different ages of the participants, the amount of local anesthesia used and the pain assessment methods.

The need of additional local anesthesia was found only in the second primary mandibular molars in all five cases, which later received profound anesthesia after additional intrapulpal injection. This might be due to the density of the bone, which can decrease the penetration of local anesthesia.¹⁶ Moreover, this study used 0.8 milliliters for buccal infiltration which was the earlier reported minimum amount of local anesthesia.¹⁴ Increasing the amount of local anesthetic agent could be considered when using articaine infiltration to provide better pain control compared to lidocaine nerve block.⁷ Even though one paralleled study showed no difference when using a higher amount of local anesthesia.²³ The unsuccessful anesthesia of the inferior alveolar nerve block might be explained by the anatomical variation

of the mandibular foramen. Repeating the local anesthesia or a supplemental injection should be done to enhance the success rate of this technique.²⁴

Immediate adverse events were not found in this study. The follow up protocol was designed to monitor via telephone for convenience and practical reasons. The only adverse event found in this study was lower lip biting in one case of each local anesthetic method. Both participants reported lip biting after receiving the first dental injection at the second primary mandibular molars. This result may demonstrate that not only infiltration, but also modified mental nerve block might be obtained after articaine infiltration which led to the numbness of the lower lip.²⁵ Similarly, the incidence of soft tissue injury was one out of forty-nine cases in both lidocaine and articaine injections in the previous parallel randomized controlled trial.²³ Therefore, postoperative advice of self-inflicted soft tissue trauma should be given even after buccal infiltration. No other adverse events were found in this study.

Conclusion

Buccal infiltration with articaine could be effectively used in pulp treatment of mandibular primary molars, with less pain during injection compared to nerve block with lidocaine. Postoperative advice of possible self-inflicted soft tissue trauma should be given after buccal infiltration.

Acknowledgements

The authors would like to acknowledge Dr. Kaewta Boonchoo, Dr. Tongchai Chotitanmapong, the entire staff of the Department of Pediatric Dentistry, the Faculty of Dentistry, Mahidol University and Pak Phayun hospital, and participants and their parents who are involved in this study.

The author declares no conflict of interest.

References

1. Malamed SF. Handbook of local anesthesia. 6th ed. St Louis: Mosby; 2013. p. 225-227, 280-284.
2. American Academy of Pediatric Dentistry. Guideline on behavior guidance for the pediatric dental patient. *Pediatr Dent* 2015;37(5):57-70.
3. Jones CM, Heidmann J, Gerrish AC. Children's ratings of dental injection and treatment pain, and the influence of the time taken to administer the injection. *Int J Paediatr Dent* 1995;5(2):81-5.
4. Tudeschchoie DG, Rozbahany NA, Hajiahmadi M, Jabarifar E. Comparison of the efficacy of two anesthetic techniques of mandibular primary first molar: A randomized clinical trial. *Dent Res J (Isfahan)* 2013;10(5):620-3.
5. College C, Feigal R, Wandera A, Strange M. Bilateral versus unilateral mandibular block anesthesia in a pediatric population. *Pediatr Dent* 2000;22(6):453-7.
6. Ogle OE, Mahjoubi G. Local anesthesia: agents, techniques, and complications. *Dent Clin North Am* 2012;56(1):133-48.
7. Arali V, P M. Anaesthetic efficacy of 4% articaine mandibular buccal infiltration compared to 2% lignocaine inferior alveolar nerve block in children with irreversible pulpitis. *J Clin Diagn Res* 2015;9(4):ZC65-7.
8. Meechan JG. Infiltration anesthesia in the mandible. *Dent Clin North Am* 2010;54(4):621-9.
9. Leith R, Lynch K, O'Connell AC. Articaine use in children: a review. *Eur Arch Paediatr Dent* 2012;13(6):293-6.
10. Oulis CJ, Vadiakas GP, Vasilopoulou A. The effectiveness of mandibular infiltration compared to mandibular block anesthesia in treating primary molars in children. *Pediatr Dent* 1996;18(4):301-5.
11. Yapp KE, Hopcraft MS, Parashos P. Articaine: a review of the literature. *Br Dent J* 2011;210(7):323-9.
12. Zain M, Rehman Khattak SU, Sikandar H, Shah SA, Fayyaz. Comparison of anaesthetic efficacy of 4% articaine primary buccal infiltration versus 2% lidocaine inferior alveolar nerve block in symptomatic mandibular first molar teeth. *J Coll Physicians Surg Pak* 2016;26(1):4-8.
13. Corbett IP, Kanaa MD, Whitworth JM, Meechan JG. Articaine infiltration for anesthesia of mandibular first molars. *J Endod* 2008;34(5):514-8.
14. Chopra R, Marwaha M, Bansal K, Mittal M. Evaluation of buccal infiltration with articaine and inferior alveolar nerve block with lignocaine for pulp therapy in mandibular primary molars. *J Clin Pediatr Dent* 2016;40(4):301-5.
15. Cohen LL, Lemanek K, Blount RL, Dahlquist LM, Lim CS, Palermo TM, et al. Evidence-based assessment of pediatric pain. *J Pediatr Psychol* 2008;33(9):939-55.
16. Wright GZ, Weinberger SJ, Marti R, Plotzke O. The effectiveness

of infiltration anesthesia in the mandibular primary molar region. *Pediatr Dent* 1991;13(5):278-83.

17. Arrow P. A comparison of articaine 4% and lignocaine 2% in block and infiltration analgesia in children. *Aust Dent J* 2012;57(3):325-33.

18. Haas DA, Harper DG, Saso MA, Young ER. Comparison of articaine and prilocaine anesthesia by infiltration in maxillary and mandibular arches. *Anesth Prog* 1990;37(5):230-7.

19. El-Kholey KE. Anesthetic efficacy of 4 % articaine during extraction of the mandibular posterior teeth by using inferior alveolar nerve block and buccal infiltration techniques. *J Maxillofac Oral Surg* 2017;16(1):90-5.

20. Zarbock SF. Pediatric pain assessment. *Home Care Provid* 2000;5(5):181-4.

21. Alinejhad D, Bahrololoomi Z, Navabazam A, Asayesh MA.

Comparison of visual analog scale scores in pain assessment during pulpotomy using different injection materials in children aged 6 to 8 and 8 to 10 years. *J Contemp Dent Pract* 2018;19(3):313-7.

22. Sharaf AA. Evaluation of mandibular infiltration versus block anesthesia in pediatric dentistry. *ASDC J Dent Child* 1997;64(4):276-81.

23. Alzahrani F, Duggal MS, Munyombwe T, Tahmassebi JF. Anaesthetic efficacy of 4% articaine and 2% lidocaine for extraction and pulpotomy of mandibular primary molars: an equivalence parallel prospective randomized controlled trial. *Int J Paediatr Dent* 2018;28(3):335-44.

24. Meechan JG. How to overcome failed local anaesthesia. *Br Dent J* 1999;186(1):15-20.

25. Currie CC, Meechan JG, Whitworth JM, Corbett IP. Is mandibular molar buccal infiltration a mental and incisive nerve block? A randomized controlled trial. *J Endod* 2013;39(4):439-43.

น้ำยาล้างคลองรากฟัน: การพิจารณาเลือกใช้เพื่อความสำเร็จในการรักษาเนื้อเยื่อในของฟันน้ำนม Root Canal Irrigants: Considerations for Success in Pulp Treatment for Primary Teeth

ศิริพร ส่งศิริประดับบุญ¹, ณัฐนันท์ โกวิทวัฒนา¹

Siriporn Songsiripradubboon¹, Nattanan Govitvattana¹

¹ภาควิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ

¹Department of Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok

1. ในระหว่างการล้างคลองรากฟันปลายเข็มของกระบอกน้ำยาล้างคลองรากฟันควรอยู่ที่ตำแหน่งใดจึงจะเหมาะสมที่สุด
 - ก. พอติปลายรากฟัน
 - ข. ลึกที่สุดเท่าที่ใส่ปลายเข็มลงไปได้
 - ค. เหนือกว่าความยาวทำงาน 1-2 มิลลิเมตร
 - ง. ต่ำกว่า canal orifice 1-2 มิลลิเมตร
2. น้ำยาล้างคลองรากฟันชนิดใดที่มีผลช่วยกำจัดชั้นสเมียร์ได้
 - ก. น้ำเกลือ
 - ข. โซเดียมไฮโปคลอไรต์
 - ค. คลอเฮกซิดีน
 - ง. EDTA
3. ข้อใดเป็นการจัดการในกรณีที่มีการรั่วซึมของน้ำยาโซเดียมไฮโปคลอไรต์ออกนอกปลายรากได้อย่างเหมาะสม
 - ก. ใช้เครื่องดูดกำลังแรงสูง (high-volume aspirator) ช่วยดูดเลือดและของเหลวออกจากคลองรากฟัน
 - ข. กรณีที่มีอาการบวมเล็กน้อย แนะนำให้ผู้ป่วยประคบร้อนตั้งแต่นั้นวันนั้นและประคบต่อเนื่อง 1-2 วัน
 - ค. กรณีที่มีอาการบวมเล็กน้อย แนะนำให้ผู้ป่วยประคบร้อนในวันนั้น และประคบเย็นในวันถัดไป
 - ง. ไม่ควรจ่ายยาปฏิชีวนะหลังเกิดอุบัติเหตุ
4. ข้อใดกล่าวถึงคุณสมบัติของน้ำยาล้างคลองรากฟันคลอเฮกซิดีนได้ถูกต้อง
 - ก. ความเข้มข้นที่ใช้ คือ ร้อยละ 0.12 เช่นเดียวกับในน้ำยาบ้วนปากคลอเฮกซิดีน
 - ข. คลอเฮกซิดีนมีคุณสมบัติเด่น คือ การละลายเนื้อเยื่อต่าง ๆ
 - ค. หากคลอเฮกซิดีนสัมผัสกับโซเดียมไฮโปคลอไรต์จะเกิดปฏิกิริยาได้ตะกอนสีน้ำตาลแดง
 - ง. คลอเฮกซิดีนไม่ทำปฏิกิริยาใด ๆ กับ EDTA
5. ข้อใดไม่ถูกต้องในการเลือกใช้น้ำยาล้างคลองรากฟัน
 - ก. ในการรักษาพัลโพโตมี สามารถเลือกใช้น้ำเกลือ น้ำกลั่น หรือโซเดียมไฮโปคลอไรต์ในระหว่างการรักษาได้
 - ข. ในการรักษาพัลเพคโตมี ควรเลือกใช้น้ำยาที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์เพื่อกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในคลองรากฟัน
 - ค. ในการรักษาพัลเพคโตมี ควรเลือกใช้น้ำยาที่มีความเข้มข้นสูงเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ
 - ง. หากต้องการกำจัดชั้นสเมียร์ สามารถเลือกใช้ EDTA หรือ MTAD มาใช้ในการล้างชั้นตอนสุดท้ายได้

