

JDAT

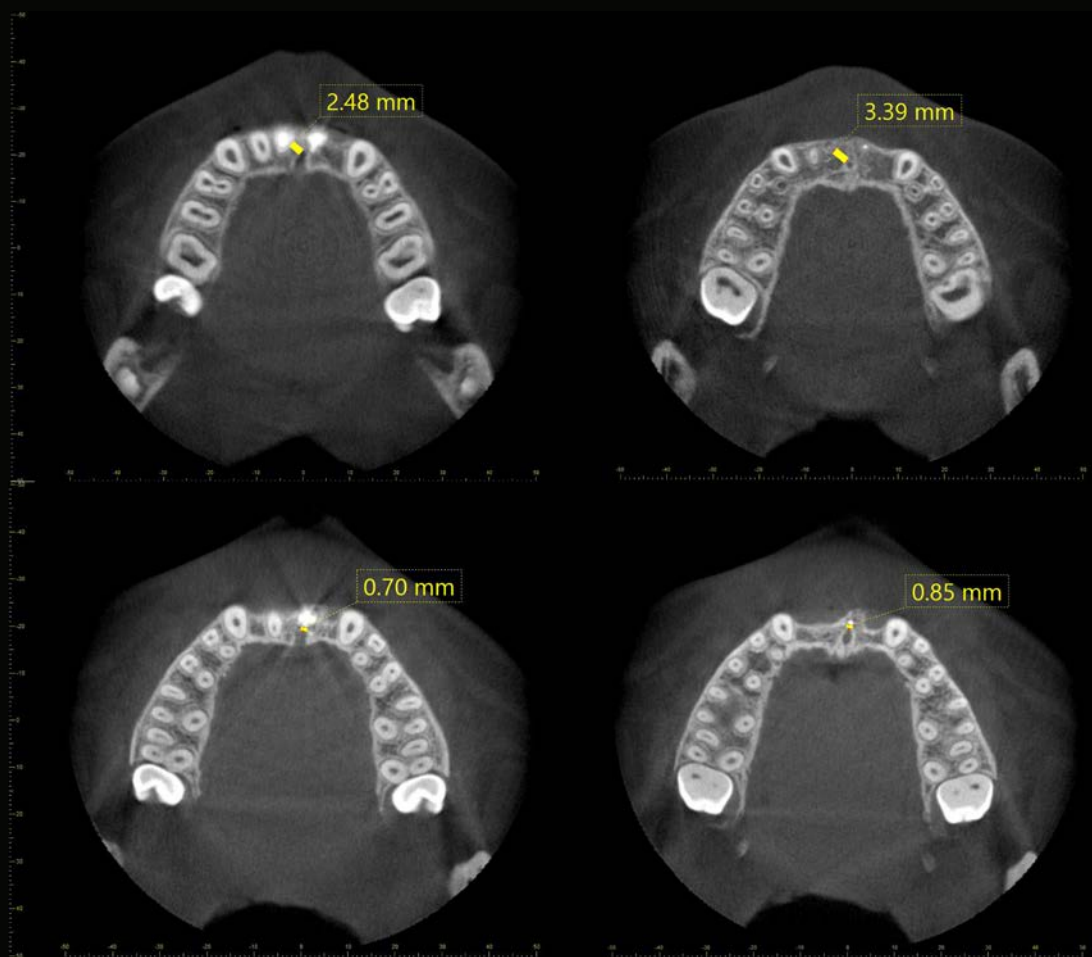
วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์



Journal of the Dental Association of Thailand

| www.jdat.org

ปีที่ 70 ฉบับที่ 2 เมษายน - มิถุนายน 2563 / Volume 70 Number 2 April -June 2020



CE Credits
QUIZ

Masticatory Muscle Responses to Mandibular Forward Positioning Appliances

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	Kiatpongson
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
Assist. 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
Assist. Prof. Dr. Lertrit Sarinnaphakorn, Chulalongkorn University, Thailand
Assist. Prof. Dr. Chootima Ratisoontom, Chulalongkorn University, Thailand
Assoc. Prof. Dr. Oranat Matungkasombut, Chulalongkorn University, Thailand
Assist. Prof. Kajorn Kungsadalpipob, Chulalongkorn University, Thailand
Assist. Prof. Dr. Thantrira Porntaveetus, Chulalongkorn University, Thailand
Assist. Prof. Pintu-On Chantarawatit, Chulalongkorn University, Thailand
Assist. Prof. Wannakorn Sriarj, Chulalongkorn University, Thailand
Assist. Prof. Dr. Pisha Pittayapat, Chulalongkorn University, Thailand
Assist. Prof. Dr. Yaowaluk Ngoenwiwatkul, Mahidol University, Thailand
Assoc. Prof. Dr. Somsak Mitirattanaku, Mahidol University, Thailand
Dr. Supatchai Boonpratham, Mahidol University, Thailand
Prof. Dr. Anak Iamaroon, Chiang Mai University, Thailand
Prof. Dr. Suttichai Krisanaprakornkit, Chiang Mai University, Thailand
Assist. Prof. Dr. Napapa Aimjirakul, Srinakharinwirot University, Thailand
Dr. Jaruma Sakdee, Srinakharinwirot University, Thailand
Assist. Prof. Dr. Aroonwan Lam-ubol, Srinakharinwirot University, Thailand
Assist. Prof. Dr. Sutee Suksudaj, Thammasat University, Thailand
Assist. Prof. Dr. Ichaya Yiemwattana, Naresuan University, Thailand.
Prof. Boonlert Kukiattrakoon, Prince of Songkla University, Thailand
Assist. Prof. Dr. Vanthana Sattabanasuk, Royal College of Dental Surgeons, 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

สวัสดีทันตแพทย์ทุกท่านครับ

ฉบับนี้เปิดเล่มมาพร้อมกับสถานการณ์โรคระบาดที่แผ่ขยายการระบาดไปทั่วโลกแล้ว มีหลายประเทศที่กำลังเผชิญกับปัญหาการระบาดอย่างหนักในหลายพื้นที่ของประเทศซึ่งขณะนี้ยังไม่มีมาตรการรักษาที่ได้ผลชัดเจน สิ่งหนึ่งที่พวกเราทำได้คือ การป้องกันตัวเองให้รอดพ้นจากการติดเชื้อ ซึ่งปฏิเสธไม่ได้เลยว่าอาชีพทันตแพทย์เป็นอาชีพหนึ่งที่มีความเสี่ยงอย่างมากต่อการสัมผัสเชื้อ มีโอกาสที่จะส่งต่อเชื้อทั้งจากตัวทันตแพทย์ไปยังผู้ป่วย จากผู้ป่วยมาที่ทันตแพทย์หรือระหว่างตัวผู้ป่วยเอง หากเราไม่มีมาตรการป้องกันการติดเชื้อในคลินิกที่เหมาะสม การระบาดในครั้งนี้อาจเป็นจุดเปลี่ยนที่ทำให้วิชาชีพเราต้องตระหนักและเข้มงวดกับแนวทางการป้องกันการติดเชื้อที่พวกเรากำลังทำกันอยู่ในคลินิกให้มีความรัดกุมมากยิ่งขึ้น เพื่อสร้างความมั่นใจในการให้การรักษาทางทันตกรรมทั้งต่อตัวผู้ป่วยเอง และบุคลากรในวิชาชีพครับ

ขอให้ทุกท่านผ่านเหตุการณ์นี้ไปอย่างปลอดภัยและพบกันใหม่ฉบับหน้าครับ

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 70 ฉบับที่ 2 เมษายน - มิถุนายน พ.ศ. 2563

บทความปริทัศน์

ไทเทเนียมและโลหะผสมไทเทเนียมในทางทันตกรรมรากเทียม
กวีตา กาญจนเมฆานันต์

Masticatory Muscle Responses to Mandibular Forward
Positioning Appliances

Napat Nalamliang
Udom Thongudomporn

รายงานผู้ป่วย

Management of a Traumatized Maxillary Left Central
Incisor by Moving the other Central Incisor across
the Midline

Sikkared parinyachaiphun
Pornhathai Liowsaitong
Thanit charoenrat
Niranlarp Rerksanan

Sectional Impression Trays with An Interlocking
Handle Using Implant Impression Components to
Fabricate Interim Dentures for A Patient with
Scleroderma-induced Microstomia

Watcharapong Aroonsang
Surasak Yowcharoensuk

บทวิทยากร

การด้านการสร้างไบโอฟิล์มของสารสกัดเซอร์ซิน
ที่เคลือบบนแผ่นไทเทเนียมด้วยวิธีทำให้เกิดฟิล์ม
บางหลายชั้นของโพลีอิเล็กโทรไลต์

จิตรัตน์ อังวรารวงศ์
นบชนก แก้ววิเชียร
ปณิสา ภูครองแถว
อรอุมา อังวรารวงศ์

Contents

Volume 70 Number 2 April - June 2020

Review Article

Titanium and Titanium Alloys in Implant Dentistry
Kavita Kanjanamekanant

Masticatory Muscle Responses to Mandibular Forward
Positioning Appliances

Napat Nalamliang
Udom Thongudomporn

Case Report

Management of a Traumatized Maxillary Left Central
Incisor by Moving the other Central Incisor across
the Midline

Sikkared parinyachaiphun
Pornhathai Liowsaitong
Thanit charoenrat
Niranlarp Rerksanan

Sectional Impression Trays with An Interlocking
Handle Using Implant Impression Components to
Fabricate Interim Dentures for A Patient with
Scleroderma-induced Microstomia

Watcharapong Aroonsang
Surasak Yowcharoensuk

Original Article

Anti-biofilm Activity of Sericin Extract Coated on
Titanium by Polyelectrolyte Multilayer Film Technique

Thidarat Angwarawong
Nopchanok Kaewwichian
Panisa Phukrongthaw
Onauma Angwaravong



วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์

JOURNAL OF THE DENTAL ASSOCIATION OF THAILAND

สารบัญ

ปีที่ 70 ฉบับที่ 2 เมษายน - มิถุนายน พ.ศ. 2563

บทวิทยากร

Relationship between Symphysis Dimensions and
Mandibular Incisors' Alveolar Bone Thickness in
Different Vertical Skeletal Patterns

Phuntin Uengkajornkul
Korapin Mahatumarat
Soontra Panmekiate

The Effect of Various Types of Silane Coupling
Agents on The Wettability of Hydrofluoric
Acid-Etched/Unetched Lithium Disilicate Surfaces

Tanapon Tarateeraseth
Tool Sriamporn
Niyom Thamrongananskul

อิทธิพลของชนิดและความหนาของแคดแคมเรซินเซรามิกต่อ
ความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาคที่มีต่อเนื้อฟัน

ศีลัสยา ลีลาพงศ์ฤทธิ์
ญาณี ตันติเลิศอนันต์
ศิริวิมล ศรีสวัสดิ์

Contents

Volume 70 Number 2 April - June 2020

Original Article

Relationship between Symphysis Dimensions and
Mandibular Incisors' Alveolar Bone Thickness in
Different Vertical Skeletal Patterns

Phuntin Uengkajornkul
Korapin Mahatumarat
Soontra Panmekiate

The Effect of Various Types of Silane Coupling
Agents on The Wettability of Hydrofluoric
Acid-Etched/Unetched Lithium Disilicate Surfaces

Tanapon Tarateeraseth
Tool Sriamporn
Niyom Thamrongananskul

Influence of Type and Thickness of CAD-CAM
Resin Ceramic on Micro-Tensile Bond Strength to Dentin

Seelassaya Leelaponglit
Yanee Tantilertanant
Sirivimol Srisawasdi

Front cover image:

Adapted from A pretreatment CBCT revealed the distance between the upper right incisor root and the incisive canal (see *Parinyachaiphun et al.* . Pages 110 for details)

บทความปริทัศน์

ไทเทเนียมและโลหะผสมไทเทเนียมในทางทันตกรรมรากเทียม Titanium and Titanium Alloys in Implant Dentistry

กวิตา กาญจนเมฆานันต์¹

Kavita Kanjanamekanant¹

¹ภาควิชาทันตกรรมประดิษฐ์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ ประเทศไทย

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

บทคัดย่อ

ไทเทเนียมและโลหะผสมไทเทเนียมมีการใช้งานอย่างกว้างขวางในทางการแพทย์และทางทันตกรรม ไทเทเนียมเป็นวัสดุที่มีความแข็งแรง มีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อทางชีวภาพ และความสามารถในการต้านทานการกัดกร่อนที่ดีเยี่ยม ในทางทันตกรรม ไทเทเนียมมีบทบาทสำคัญเพิ่มมากขึ้นอย่างมากในปัจจุบัน โดยทำหน้าที่เป็นรากฟันเทียมเพื่อทดแทนฟันที่สูญเสียไป ดังนั้นการใช้งานไทเทเนียมรวมถึงการศึกษาวิจัยเพื่อพัฒนาคุณสมบัติของไทเทเนียมจึงได้รับความสนใจมากขึ้นอย่างมาก บทความปริทัศน์นี้กล่าวถึงไทเทเนียมและโลหะผสมไทเทเนียมในด้านการตอบสนองของร่างกายต่อการใส่วัสดุปลูกฝังไทเทเนียม กระบวนการเกิดกระดูกเชื่อมประสานหรือกระบวนการออสซิโออินทิเกรชัน รวมถึงการศึกษาวิจัยและพัฒนาวัสดุไทเทเนียมและโลหะผสมไทเทเนียมเพื่อให้เกิดผลสำเร็จทางคลินิกที่ดียิ่งขึ้น

คำสำคัญ: การเกิดกระดูกเชื่อมประสาน, ไทเทเนียม, วัสดุปลูกฝัง

Abstract

Titanium (Ti) and titanium alloys have been widely used as biomaterials in medical and dental aspects. Titanium has high strength, excellent biocompatibility and corrosion resistance. In dentistry, titanium gains increasing important role as an implant material used in restoration for tooth loss. The uses of titanium, as well as research and developments of this material, are becoming in focus. This article reviewed the biological responses to titanium implant placement, and also osseointegration process. Research and developments of titanium and titanium alloys in order to achieve better clinical outcome were also mentioned.

Keyword: Osseointegration, Titanium, Implants

Received date: Aug 16, 2019

Revised date: Aug 28, 2019

Accepted date: Nov 7, 2019

Doi: 10.14456/jdat.2020.9

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ:

กวิตา กาญจนเมฆานันต์ ภาควิชาทันตกรรมประดิษฐ์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 34 อังรีดุนองต์ วังใหม่ ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 ประเทศไทย โทรศัพท์: 02-2188906, 098-854-9193 อีเมล: nix.kavita@hotmail.com

Correspondence to:

Kavita Kanjanamekanant, Department of Prosthodontics, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University. 34 Henry-Dunant Rd., Wangmai, Pathumwan, Bangkok, 10330 Thailand. Tel: 02-2188906, 098-854-9193 E-mail: nix.kavita@hotmail.com

บทนำ

ไทเทเนียม (Titanium; Ti) เป็นวัสดุที่ได้รับความนิยมใช้งานในทางการแพทย์และทางทันตกรรม เนื่องจากไทเทเนียมเป็นวัสดุที่มีความแข็งแรงสูง ความเป็นพิษต่ำ ความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อทางชีวภาพ (biocompatibility) และความต้านทานการกัดกร่อน (corrosion resistance) สูงเมื่อเทียบกับโลหะชนิดอื่น ๆ ด้วยคุณสมบัติเหล่านี้ ไทเทเนียมและโลหะผสมไทเทเนียมจึงเป็นวัสดุหลักที่ใช้เป็นวัสดุปลูกฝัง (implants) ที่เกี่ยวข้องกับการบูรณะเพื่อทดแทนการสูญเสียกระดูก เช่น ข้อเข่าเทียม ข้อสะโพกเทียม รากฟันเทียม ในทางทันตกรรม ไทเทเนียมเข้ามามีบทบาทสำคัญในการรักษาหลายด้าน เช่น ฟันเทียมถอดได้ ฟันเทียมติดแน่น ทันตกรรมจัดฟัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในทางด้านทันตกรรมรากฟันเทียม บทความปริทัศน์นี้จะกล่าวถึงคุณสมบัติของไทเทเนียมและโลหะผสมไทเทเนียม รวมถึงการวิจัยพัฒนาเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติของไทเทเนียมและโลหะผสมไทเทเนียมที่ใช้เป็นวัสดุปลูกฝังและรากฟันเทียมเพื่อส่งเสริมให้เกิดกระดูกเชื่อมประสานหรือกระบวนการออสซิอินทิเกรชัน (osseointegration) ที่ดียิ่งขึ้น

ไทเทเนียมและโลหะผสมไทเทเนียม

ไทเทเนียมที่ใช้งานทางการแพทย์และทางทันตกรรมโดยทั่วไปจะอยู่ในรูปไทเทเนียมบริสุทธิ์ที่ได้จากการสังเคราะห์ (commercially pure titanium; cpTi) และโลหะผสมไทเทเนียม (titanium alloys) ซึ่งเกิดจากการใส่โลหะชนิดอื่น (alloying elements) เพื่อเสริมโครงสร้างของไทเทเนียม เช่น Ti-6Al-4V ที่มีการใส่อลูมิเนียม (Aluminium; Al) และวานาเดียม (Vanadium; V) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลที่ต่ำกว่าไทเทเนียมเข้าไป ในปัจจุบันมีการจำแนกประเภทของไทเทเนียมและโลหะผสมไทเทเนียมได้หลายแบบ เช่น แบ่งตามโครงสร้างผลึกของไทเทเนียมได้เป็นอัลฟาไทเทเนียม (α -titanium) และเบต้าไทเทเนียม (β -titanium) และแบ่งประเภทของโลหะผสมไทเทเนียมตามผลของโลหะที่ใส่เพิ่มเข้าไปว่าส่งผลให้โครงสร้างผลึกของไทเทเนียมเกิดการเปลี่ยนแปลงและมีความเสถียรในทิศทางใด ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็นโลหะผสมชนิดอัลฟา โลหะผสมชนิดเบต้า โลหะผสมชนิดอัลฟา-เบต้า

และแบ่งย่อยเป็น โลหะผสมชนิดเข้าใกล้อัลฟา (near- α) และโลหะผสมชนิดเมตาสเตเบิล-เบต้า (metastable- β) นอกจากนี้แล้วสถาบันเอเอสทีเอ็ม อินเตอร์เนชันแนล (ASTM International) ของประเทศสหรัฐอเมริกา ได้กำหนดแนวทางในการแบ่งเกรดไทเทเนียมตามแนวทางที่ใช้ในการปรับปรุงคุณสมบัติของโลหะได้มากกว่า 30 เกรด โดยไทเทเนียมและโลหะผสมไทเทเนียมที่นิยมใช้เป็นวัสดุปลูกฝังมักเป็นไทเทเนียมเกรด 1 ถึง 5 ซึ่งมีความแตกต่างกันในสัดส่วนของไทเทเนียมและออกซิเจนที่เป็นส่วนประกอบ (ตารางที่ 1) โดยไทเทเนียมบริสุทธิ์จัดอยู่ในกลุ่มไทเทเนียมเกรด 1 ถึง 4 (ASTM F 67) มีไทเทเนียมเป็นองค์ประกอบมากกว่าร้อยละ 99 ธาตุอื่น ๆ ที่เป็นองค์ประกอบ ได้แก่ ออกซิเจน (Oxygen; O) เหล็ก (Iron; Fe) คาร์บอน (Carbon; C) ไฮโดรเจน (Hydrogen; H) และไนโตรเจน (Nitrogen; N) ในกลุ่มไทเทเนียมบริสุทธิ์ ไทเทเนียมเกรด 1 มีความบริสุทธิ์สูงสุด มีสัดส่วนออกซิเจนต่ำที่สุด มีความอ่อนและความยืดหยุ่นสูงที่สุด มีความต้านทานการกัดกร่อนสูง และสามารถขึ้นรูปได้ง่าย มักใช้ในกรณีที่ต้องการขึ้นรูปไทเทเนียมเป็นแผ่นหรือท่อ ในขณะที่ไทเทเนียมเกรด 4 จะมีสัดส่วนออกซิเจนสูงที่สุด และมีความแข็งแรงสูงที่สุดในกลุ่มไทเทเนียมบริสุทธิ์ สำหรับโลหะผสมไทเทเนียม Ti-6Al-4V จัดเป็นไทเทเนียมเกรด 5 (ASTM F 136) โลหะผสมไทเทเนียมชนิดนี้มีความแข็งแรงสูงเนื่องจากเป็นโลหะผสมชนิดอัลฟา-เบต้า มีน้ำหนักเบา มีความสามารถในการต้านทานการกัดกร่อนสูง และสามารถขึ้นรูปได้ง่ายเช่นกัน ทำให้ได้รับความนิยมในการใช้ทั้งทางการแพทย์และใช้งานในอุตสาหกรรมทั่วไป เช่น การบินและอวกาศ เรือเดินทะเล ไทเทเนียมที่นิยมใช้ในทางทันตกรรมรากฟันเทียมมักเป็นไทเทเนียมบริสุทธิ์โดยเฉพาะอย่างยิ่งไทเทเนียมเกรด 2 และ 4 ส่วนไทเทเนียมที่นิยมใช้ในทางการแพทย์เพื่อใช้ในการรักษาที่เกี่ยวข้องกับกระดูกโดยเฉพาะอย่างยิ่งในบริเวณที่ต้องรับแรงมากมักเป็นไทเทเนียมเกรด 5 เนื่องจากมีความแข็งแรงสูงกว่า¹⁻⁶ คุณสมบัติทั่วไปของไทเทเนียมเกรด 1 ถึงเกรด 5 แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 คุณสมบัติของแท่งไทเทเนียมสำหรับวัสดุปลูกฝัง (implant)*

Table 1 Properties of titanium bar for implant

	ไทเทเนียมเกรด				
	1	2	3	4	5
สัดส่วนออกซิเจน (%)	0.18	0.25	0.35	0.40	0.13
ความเค้นคราก (Yield Strength; MPa)	170	275	380	483	795
ความต้านทานแรงดึงสูงสุด (Ultimate tensile strength; MPa)	240	345	450	550	860
การยืดตัว (Elongation; %)	24	20	18	15	10
มอดูลัสยืดหยุ่น (Elastic modulus; GPa)	103-107	103-107	103-107	103-107	114-120

* ดัดแปลงจาก Elias และคณะ³ และ Sidambe และคณะ⁴

ความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อทางชีวภาพ และการเกิดกระดูกเชื่อมประสานหรือกระบวนการออสซิโออินทิเกรชัน

เป็นที่ทราบกันดีว่าไทเทเนียมและโลหะผสมไทเทเนียมมีคุณสมบัติที่ยอดเยี่ยมในแง่ของความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อทางชีวภาพ ซึ่งหมายถึง ความสามารถในการใช้งานไทเทเนียมและโลหะผสมไทเทเนียมได้โดยไม่เกิดอันตรายหรือความเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อ คุณสมบัติที่ดีเลิศในการต้านทานการกัดกร่อนยังทำให้การปลดปล่อยประจุเข้าสู่ร่างกายเกิดขึ้นค่อนข้างน้อยและส่งผลให้การเกิดความเป็นพิษต่อร่างกายเกิดได้น้อยเมื่อเทียบกับโลหะทางการแพทย์ชนิดอื่น ๆ ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อทางชีวภาพนี้ ได้แก่ การตอบสนองของร่างกายต่อวัสดุ (host response) และการสลายตัว (degradation) ของวัสดุในร่างกายโดยทั่วไป วัสดุชีวภาพที่ใช้ในการแพทย์สามารถแบ่งประเภทตามการตอบสนองของร่างกายได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ กลุ่มแรกคือวัสดุไบโอโทเลอรันท์ (biotolerant materials) ซึ่งทำให้เกิดการตอบสนองของร่างกายโดยการสร้างชั้นบาง ๆ คล้ายแคปซูลมาห่อหุ้มวัสดุ (encapsulation) ตัวอย่างของวัสดุกลุ่มนี้ เช่น ซิลิโคน แก้ว โพลีเมทิลเมทาคริลเลท (polymethylmethacrylate; PMMA) กลุ่มที่สอง คือ วัสดุเฉื่อยทางชีวภาพหรือไบโออินเนอร์ท (bioinert materials) หมายถึง ร่างกายมีการตอบสนองต่อวัสดุเพียงเล็กน้อย หรือวัสดุมีผลต่อเนื้อเยื่อรอบ ๆ เพียงเล็กน้อย วัสดุในกลุ่มนี้ ได้แก่ เหล็กกล้าไร้สนิม และไทเทเนียม กลุ่มที่สามคือ วัสดุชีวภาพหรือไบโอแอคทีฟ (bioactive materials) ซึ่งหมายถึงวัสดุสามารถกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองของเนื้อเยื่อโดยรอบได้เมื่อเข้าสู่ร่างกาย วัสดุกลุ่มนี้ เช่น ไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) แก้วชีวภาพหรือไบโอบีโกลาส (bioglass)^{7,8} ในทางการแพทย์ที่เกี่ยวข้องกับกระดูก Heimke⁹ ได้อธิบายระดับความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อสำหรับวัสดุปลูกฝังเพื่อทดแทนกระดูก (orthopedic implant materials) ในลักษณะคล้ายกันแต่มีการเพิ่มเติมในรายละเอียด กล่าวคือ วัสดุที่มีคุณสมบัติไบโอโทเลอรันท์สามารถทำให้เกิดการสร้างกระดูกได้โดยไม่มีการสัมผัสโดยตรงกับพื้นผิววัสดุ วัสดุชนิดไบโออินเนอร์ทสามารถกระตุ้นการสร้างกระดูกใหม่โดยมีการสัมผัสโดยตรงกับพื้นผิวของวัสดุ และวัสดุชนิดไบโอแอคทีฟสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างกระดูกใหม่โดยเกิดการเชื่อมระหว่างพื้นผิววัสดุและกระดูกที่สร้างขึ้นใหม่ด้วยพันธะเคมีหรือชีวภาพ

ในทางพันธุกรรม Branemark เป็นบุคคลแรกที่ประสบความสำเร็จในการนำไทเทเนียมมาใช้ในรากฟันเทียมในยุคนีปี 1970 นับจากนั้นมา การใช้รากฟันเทียมที่ทำจากไทเทเนียมหรือโลหะผสมไทเทเนียมในการรักษาผู้ป่วยได้รับความนิยมมากขึ้นและมี

การพัฒนาอย่างกว้างขวาง นอกจากนี้ Branemark ยังเป็นผู้ให้คำนิยามของคำ “osseointegration” (ออสซิโออินทิเกรชัน) ว่าหมายถึง การเกิดการยึดติดระหว่างกระดูกกับพื้นผิวของวัสดุ โดยไม่มีการขวางกั้นจากเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (fibrous connective tissue) และ “osseointegrated endosseous implants” ซึ่งหมายถึง การที่รากฟันเทียมสามารถทำให้เกิดการสร้างกระดูกโดยรอบได้โดยมีการสัมผัสโดยตรงระหว่างกระดูกและพื้นผิวรากฟัน (direct bone-to-implant contact) ซึ่งจะทำให้รากฟันเทียมสามารถรองรับแรงได้อย่างเหมาะสม¹⁰⁻¹⁴

ในทางคลินิก กระบวนการออสซิโออินทิเกรชันหรือการเกิดกระดูกเชื่อมประสานเริ่มขึ้นตั้งแต่มีการฝังรากฟันเทียมเข้าไปในกระดูก การตอบสนองระยะแรกของร่างกายเกิดจากเลือดจากเนื้อเยื่อที่สัมผัสกับรากฟันเทียม เซลล์กลุ่มแรกที่มีการตอบสนองได้แก่เกร็ดเลือด (platelet) หรือทอมโบไซต์ (thrombocytes)^{2,15-18} ที่เข้ามาพร้อมเลือด เกร็ดเลือดจะเข้ามาบริเวณรอบ ๆ และยึดเกาะบริเวณพื้นผิวของรากฟันเทียม เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง พร้อมกับการหลั่งสารหลายชนิดออกมาจากเกร็ดเลือด สารที่หลั่งออกมาจะเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ เช่น อะดีโนซีนไดฟอสเฟต (adenosine diphosphate; ADP) อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (adenosine triphosphate; ATP) ซีโรโทนิน (serotonin) หรือสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการแข็งตัวของเลือด เช่น วอน วิลเลแบรนด์ แฟกเตอร์ (von Willebrand factor)¹⁹ จากนั้นร่างกายจะตอบสนองต่อเหตุการณ์ดังกล่าวโดยเกิดการสร้างลิ่มเลือด (clot) ที่ค่อนข้างแข็งแรงรอบ ๆ พื้นผิวรากฟันเทียม ซึ่งจะทำหน้าที่เป็นแกนส่วนแรกที่จะดึงดูดเซลล์ชนิดต่าง ๆ ให้เข้ามายึดเกาะระหว่างพื้นผิวรากฟันเทียมและกระดูก ตามด้วยการหลั่งโปรตีนและปัจจัยกระตุ้นการเจริญเติบโต (growth factors) หลายชนิดเพื่อดึงดูดและกระตุ้นเซลล์ให้เข้ามาสู่บริเวณดังกล่าวมากขึ้น และเกิดการตอบสนองอื่น ๆ ตามมา ในขณะเดียวกัน ภายใน 24 ชั่วโมงแรก หลังการฝังรากฟันเทียม จะเกิดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแต่กำเนิด (innate immune system) ซึ่งช่วยทำลายแบคทีเรียแบบไม่เฉพาะเจาะจง เกิดกระบวนการอักเสบในระยะแรก พบอาการบวม แดง ร้อน มีการเคลื่อนตัวเข้ามาของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโพลีมอร์โฟนิวเคลียร์ (polymorphonuclear leukocytes; PMN) และโมโนไซต์ (monocytes) ซึ่งภายหลังเปลี่ยนสภาพเป็นแมคโครเฟจ (macrophage) เกิดการสลายตัวของเมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix) ในบริเวณโดยรอบ ทำให้เกิดการปลดปล่อยปัจจัยกระตุ้นการเจริญเติบโตต่าง ๆ เข้าสู่บริเวณดังกล่าวมากขึ้น ในช่วงท้ายของกระบวนการอักเสบ จะมีการหลั่งของปัจจัยกระตุ้นการเจริญเติบโตที่กระตุ้นการสร้างหลอดเลือดใหม่

หรือวีสีอีเอฟ (vascular endothelial growth factor; VEGF) และปัจจัยกระตุ้นการเจริญเติบโตที่กระตุ้นการทำงานของเซลล์ไฟโบรบลาสต์หรือเอฟจีเอฟ (fibroblast growth factors; FGFs) ซึ่งจะดึงดูดให้เซลล์ไฟโบรบลาสต์เข้ามาในบริเวณที่ฝังรากฟันเทียม หรือวัสดุปลูกฝัง เหนี่ยวนำให้เซลล์ไฟโบรบลาสต์เกิดการเจริญและสร้างเมทริกซ์นอกเซลล์ขึ้นมาใหม่^{2,20} วีสีอีเอฟจะเหนี่ยวนำให้เซลล์เพอร์ไซท์ (pericytes) ซึ่งเป็นเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์สร้างกระดูก (osteoblasts) และเซลล์บุผนังหลอดเลือด (endothelial cells) หลุดออกจากผนังหลอดเลือดและเกิดการเจริญเปลี่ยนแปลงของเซลล์ (differentiation) การเคลื่อนตัวเข้ามาของเซลล์สร้างหลอดเลือด ทำให้เกิดกระบวนการสร้างหลอดเลือดใหม่ขึ้น (angiogenesis) จากนั้น เซลล์สร้างกระดูก (osteoblasts) จะถูกดึงดูดให้เข้ามายึดเกาะกับบริเวณโดยรอบของพื้นผิวรากฟันเทียมและเกิดกระบวนการสร้างกระดูกใหม่ (osteogenesis) นอกจากวีสีอีเอฟและเอฟจีเอฟแล้วยังมีโปรตีนและปัจจัยกระตุ้นการเจริญเติบโตที่มีความสำคัญในกระบวนการนี้อีกหลายชนิด ตัวอย่างเช่น ไฟโบรเนคติน (fibronectin) และอินทิกริน (integrin) ซึ่งเป็นโปรตีนสำคัญที่ช่วยในการยึดเกาะ (adhesion protein) ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการยึดเกาะ การเพิ่ม

จำนวนและการเจริญของเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งช่วยให้เซลล์สร้างกระดูกสามารถยึดติดกับพื้นผิวไทเทเนียมได้โดยตรงในช่วงของกระบวนการสร้างกระดูก รวมถึงช่วยในการยึดเกาะของไฟโบรบลาสต์ในขั้นตอนการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ ทรานส์ฟอร์มมิงโกรทแฟคเตอร์เบต้า (transforming growth factor- β ; TGF- β) มีบทบาทในการกระตุ้นให้เซลล์ต้นกำเนิด (progenitors) ของเซลล์สร้างกระดูกมีการเจริญและเคลื่อนตัวเข้ามาบริเวณรอบ ๆ รากฟันเทียม เพลทเลททีไรฟ์โกรทแฟคเตอร์หรือพีดีจีเอฟ (platelet-derived growth factor; PDGF) ช่วยกระตุ้นการเจริญและการทำงานของเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันในบริเวณรอบ ๆ รากฟันเทียม^{2,20-25} อาจกล่าวได้ว่ากระบวนการเกิดกระดูกเชื่อมประสานเป็นผลจากการทำงานร่วมกันระหว่างปัจจัยหลายอย่าง เป็นการตอบสนองของเซลล์ร่างกายต่อไทเทเนียมซึ่งมีการประสานงานและควบคุมโดยโปรตีนและปัจจัยกระตุ้นการเจริญเติบโตชนิดต่าง ๆ หลายชนิด มีการตอบสนองของเซลล์ทั้งในระบบภูมิคุ้มกันและเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างกระดูก ขั้นตอนของกระบวนการเกิดกระดูกเชื่อมประสานอาจแบ่งออกเป็น 4 ระยะ²⁵ สรุปได้ตามตารางที่ 2

ตารางที่ 2 กระบวนการเกิดกระดูกเชื่อมประสานระหว่างพื้นผิวไทเทเนียมและกระดูก

Table 2 Osseointegration between titanium surface and bone

เหตุการณ์ที่เกิดขึ้น		
ระยะที่ 1	ระยะการห้ามเลือด (Haemostasis)	เกิดขึ้นทันทีหลังจากการใส่วัสดุปลูกฝังหรือรากเทียม มักเกิดในระดับหลายชั่วโมง เกิดการตอบสนองจากร่างกายในระยะแรกซึ่งมาจากการทำงานของเกร็ดเลือดและโปรตีนที่เข้ามาพร้อมกับเลือด มีการหลั่งโปรตีนและไซโตไคน์จากแกรนูโลของเกร็ดเลือด เช่น พีดีจีเอฟ ทรานส์ฟอร์มมิงโกรทแฟคเตอร์เบต้า ทำให้กระตุ้นกระบวนการอักเสบ
ระยะที่ 2	ระยะที่เกิดกระบวนการอักเสบ (Inflammatory phase)	เกิดกระบวนการอักเสบ ปวด บวม แดง ร้อน สามารถเกิดขึ้นได้ตั้งแต่ช่วงแรกหลังการฝังวัสดุปลูกฝังหรือรากเทียม อาจกินระยะเวลาเป็นวัน มีการเข้ามาของเม็ดเลือดขาวชนิดโพลิมอร์โฟนิวเคลียร์และแมคโครเฟจซึ่งเป็นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน
ระยะที่ 3	ระยะที่มีการเข้ามาและเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Proliferative phase)	ระยะนี้เริ่มจากการที่แมคโครเฟจหลั่งเอฟจีเอฟและวีสีอีเอฟ กระตุ้นไฟโบรบลาสต์จากเนื้อเยื่อรอบ ๆ รวมถึงเซลล์ต้นกำเนิดเพอร์ไซท์เข้ามาในบริเวณดังกล่าว เกิดการสร้างหลอดเลือดใหม่และการสร้างเมทริกซ์นอกเซลล์มาชดเชยส่วนที่ถูกทำลายไป รวมถึงมีการเข้ามาของเซลล์สร้างกระดูกซึ่งสามารถยึดเกาะโดยตรงบนพื้นผิวรากเทียมผ่านโปรตีนอินทิกริน มีการเริ่มต้นของกระบวนการสร้างกระดูก ระยะนี้อาจกินเวลาหลายวันหรือหลายสัปดาห์
ระยะที่ 4	ระยะที่เกิดการสร้างกระดูก (Remodeling phase)	เกิดกระบวนการรีโมเดลลิ่ง (remodeling) ซึ่งเป็นสมดุลของกระบวนการสร้างกระดูกและการสลายกระดูก เกิดการตกตะกอนของเนื้อเยื่อแข็ง ทำให้เกิดการสร้างกระดูกที่สมบูรณ์รอบวัสดุปลูกฝัง

การตอบสนองของร่างกายต่อวัสดุชีวภาพการแพทย์ได้รับอิทธิพลจากคุณสมบัติพื้นผิวของวัสดุอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ เนื่องจากพื้นผิวของวัสดุจะเป็นส่วนแรกที่สัมผัสกับเนื้อเยื่อ ตาม

ธรรมชาติ พื้นผิวของไทเทเนียมจะถูกปกคลุมด้วยชั้นบาง ๆ ของไทเทเนียมออกไซด์ซึ่งจะเกิดขึ้นได้เองอย่างรวดเร็วภายในระดับมิลลิวินาทีเมื่อพื้นผิวของไทเทเนียมสัมผัสกับอากาศหรือของเหลว

จากสภาพแวดล้อม เช่น ของเหลวจากเนื้อเยื่อ ปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นนี้เรียกว่า “พาสซีเวชัน” (passivation) ชั้นออกไซด์นี้จะมีความหนาประมาณ 2-5 นาโนเมตร สามารถสลายตัวและกลับมาก่อตัวขึ้นใหม่ได้เองอย่างค่อนข้างรวดเร็ว องค์ประกอบหลักของชั้นออกไซด์นี้เป็นไทเทเนียมออกไซด์ชนิดไทเทเนียมไดออกไซด์ (TiO_2) ซึ่งมักพบร่วมกับไทเทเนียม(III)ออกไซด์ (Ti_2O_3) และไทเทเนียม(II)ออกไซด์ (TiO)²⁶⁻²⁹ จากการศึกษาเชื่อว่าชั้นออกไซด์ที่เกิดขึ้นนี้มีความสำคัญต่อคุณสมบัติของไทเทเนียมทั้งในแง่ของความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อทางชีวภาพและ ความต้านทานการกัดกร่อน ชั้นออกไซด์นี้สามารถดูดซับประจุของแคลเซียมและฟอสเฟต รวมถึงเหนี่ยวนำโปรตีนบางชนิดเพื่อให้เกิดการสร้างอพาไทต์ (apatite) ซึ่งส่งเสริมกระบวนการเกิดการเกิดกระดูกเชื่อมประสาน^{6,27} เมื่อมีการใช้งานไทเทเนียมในร่างกาย ชั้นออกไซด์นี้จะเป็นส่วนแรกของไทเทเนียมที่สัมผัสกับเนื้อเยื่อและกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองของร่างกายในระยะแรก (initial host response) โดยเฉพาะอย่างยิ่งการตอบสนองของโปรตีนจากเลือดและเนื้อเยื่อโดยรอบ นอกจากนี้คุณสมบัติพื้นผิวของไทเทเนียมไม่ว่าจะเป็นความขรุขระของพื้นผิว (surface roughness) หรือเคมีพื้นผิว (surface chemistry) เช่น ชนิดของประจุบนพื้นผิว ซึ่งมีผลโดยตรงต่อความชอบน้ำ (hydrophobicity) หรือความสามารถในการเปียกของพื้นผิว (surface wettability) ของไทเทเนียม ล้วนมีผลสำคัญต่อการตอบสนองของร่างกาย ในแง่ของชนิด ปริมาณ และความสามารถของโปรตีนจากร่างกายที่จะเข้ามายึดเกาะบนพื้นผิวของวัสดุ^{2,30-33} หลายการศึกษาพบว่า ลักษณะพื้นผิวที่มีความชอบน้ำในระดับที่เหมาะสมจะทำให้เกิดการยึดเกาะของโปรตีนในระดับที่เหมาะสม และช่วยส่งเสริมการยึดเกาะรวมถึงการเจริญของเซลล์ได้ดีกว่าพื้นผิวที่ไม่ชอบน้ำ³³⁻³⁵ ชั้นไทเทเนียมออกไซด์ที่เกิดขึ้นบนพื้นผิวของไทเทเนียมมีประจุลบเล็กน้อย (slightly negatively charged) ทำให้คุณสมบัติความมีขั้วใกล้เคียงกับน้ำจึงมีคุณสมบัติชอบน้ำ ซึ่งเอื้อต่อการยึดเกาะของโปรตีนจากเลือดและของเหลวในร่างกายหลายชนิด เช่น อัลบูมิน (albumin) ลามินิน (laminin) วิโทรเนคติน (vitronectin) และที่สำคัญ คือ ไฟโบรเนคติน ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีบทบาทสำคัญในการยึดเกาะของเซลล์ การเพิ่มจำนวน และการเจริญเปลี่ยนแปลงของเซลล์และส่งผลในแง่ของการเหนี่ยวนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนและการเจริญเปลี่ยนแปลงของเซลล์สร้างกระดูกออสติโอเบลาสต์ ซึ่งมีผลโดยตรงต่อการสร้างกระดูกใหม่^{30,34,36-39} นอกจากนี้ ชั้นออกไซด์จะทำหน้าที่เป็นผนังกั้นระหว่างพื้นผิวของไทเทเนียมซึ่งอยู่ด้านล่างกับเนื้อเยื่อหรือของเหลวที่อยู่โดยรอบ ทำให้ไม่เกิดการแลกเปลี่ยนประจุจากปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างพื้นผิววัสดุกับสภาวะแวดล้อม จึงส่งผลดีในแง่ของการต้านทานการกัดกร่อน^{27,36,40}

การวิจัยและพัฒนาเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติของไทเทเนียมและโลหะผสมไทเทเนียม

การปรับปรุงคุณสมบัติเชิงกายภาพและเชิงกลของไทเทเนียมและโลหะผสมไทเทเนียมในระยะเริ่มต้น

การใช้งานไทเทเนียมและโลหะผสมไทเทเนียมทางการแพทย์ในช่วงแรกเกิดจากการนำไทเทเนียมบริสุทธิ์มาใช้แทนที่เหล็กกล้าไร้สนิม หรือโลหะผสมโคบอลต์-โครเมียม เนื่องจากไทเทเนียมบริสุทธิ์มีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อทางชีวภาพที่ดีกว่า มีความเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อที่ต่ำกว่า โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่ใช้เป็นวัสดุปลูกฝังในเนื้อเยื่อแข็ง เช่น กระดูก อย่างไรก็ตาม ไทเทเนียมบริสุทธิ์มีความแข็งแรงและความต้านทานการสึก (wear resistance) ที่ไม่สูงมากนัก จึงมีข้อจำกัดในการใช้งานในบริเวณที่ต้องรองรับแรงมาก การพัฒนาโลหะผสมไทเทเนียมจึงเกิดขึ้นเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติเชิงกายภาพและเชิงกลของไทเทเนียมให้ดีขึ้น^{1,3,41-43} เนื่องจากไทเทเนียมและโลหะผสมไทเทเนียมต้องมีการปลูกฝังเข้าไปในเนื้อเยื่อ เช่น กระดูก ดังนั้นการเลือกชนิดของโลหะที่จะใส่ลงไปโลหะผสมไทเทเนียมจะต้องพิจารณาอย่างรอบคอบ เพื่อไม่ให้เกิดการระคายเคืองหรือมีความเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อ และสามารถรองรับการเจริญของเซลล์ชนิดต่าง ๆ ที่มีบทบาทในกระบวนการสร้างกระดูก ตัวอย่างเช่น Ti-6Al-4V ซึ่งเป็นโลหะผสมไทเทเนียมชนิดอัลฟา-เบต้าที่มีการใช้งานกันมาก มีการใส่ลูมิเนียมและวานาเดียมซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลที่ต่ำกว่าไทเทเนียม ทำให้สามารถสร้างโลหะผสมไทเทเนียมซึ่งมีน้ำหนักเบาแต่ยังคงความแข็งแรงสูง นอกจากนี้ยังมีธาตุชนิดอื่น ๆ ที่นิยมใส่ในโลหะผสมไทเทเนียมเพื่อใช้ในการแพทย์ ได้แก่ ไนโอเบียม (Niobium; Nb) แทนทาลัม (Tantalum; Ta) โมลิบดีนัม (Molybdenum; Mo) เซอร์โคเนียม (Zirconium; Zr) สังกะสี (Zinc; Zn)

ค่ามอดูลัสของสภาพยืดหยุ่น (Modulus of elasticity; E) หรือมอดูลัสของยัง (Young's modulus) เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ต้องคำนึงถึง โดยหลักการ ค่ามอดูลัสของยังของวัสดุทางการแพทย์ที่ใช้ในการรักษาที่เกี่ยวข้องกับกระดูกควรมีค่าใกล้เคียงกับกระดูกซึ่งอยู่ที่ประมาณ 10-30 จิกะปาสคาล (GPa)⁴⁴⁻⁴⁶ ถ้าโลหะที่ใช้เป็นวัสดุปลูกฝังในกระดูกมีค่ามอดูลัสของสภาพยืดหยุ่นที่ต่างกับกระดูกมากเกินไป เช่น เหล็กกล้าไร้สนิม หรือโลหะผสมโคบอลต์-โครเมียมโมลิบดีนัม ซึ่งมีค่ามอดูลัสของยังอยู่ที่ประมาณ 200 จิกะปาสคาล จะส่งผลให้เกิดการบดบังความเค้น (stress shielding) โดยเมื่อโลหะและกระดูกได้รับแรงกระทำ โลหะซึ่งมีความแข็งแรงมากกว่าจะเป็นแกนหลักในการรับแรงและถ่ายทอดแรงเพียงบางส่วนลงสู่กระดูกและเนื้อเยื่อบริเวณรอบ ๆ ส่งผลให้เกิดการละลายตัวของกระดูกหรือเกิดการฝ่อ (atrophy) ของเนื้อเยื่อโดยรอบของวัสดุ

ปลูกฝังเนื่องจากได้รับแรงกระตุ้นที่น้อยเกินไป และอาจส่งผลให้การเชื่อมติดของวัสดุปลูกฝังกับกระดูกรวมถึงการสร้างกระดูกใหม่เกิดได้ช้าลง^{1,47} แม้ว่าโลหะผสมไทเทเนียมที่ใช้กันมาก เช่น Ti-6Al-4V มีค่ามอดูลัสของยังอยู่ที่ประมาณ 110 จิกะปาสคาล ซึ่งใกล้เคียงกับกระดูกมากกว่าโลหะชนิดอื่นก็ยังถือว่ามอดูลัสค่อนข้างสูง^{3,42,43,48} จึงมีการพัฒนาวัสดุในกลุ่มเบต้าไทเทเนียมให้มีค่ามอดูลัสของยังลดลงแต่ยังคงคุณสมบัติเชิงกลอื่น ๆ ไว้ เช่น Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr (TNTZ) และ Ti-35Nb-7Zr-5Ta (TNZT)⁴⁸⁻⁵⁰ ซึ่งมีการเติมไนโอเบียม แทนทาลัม และสังกะสี เข้าไปในโลหะผสมไทเทเนียม วัสดุกลุ่มนี้ค่ามอดูลัสของยังอยู่ที่ประมาณ 55-97 จิกะปาสคาล ซึ่งถือว่าใกล้เคียงกับกระดูกมาก นอกจากนี้ การใช้ไนโอเบียม แทนทาลัม และสังกะสี แทนที่วานาเดียมใน Ti-6Al-4V ยังช่วยขจัดความเป็นพิษของวานาเดียมในโลหะผสมไทเทเนียมลงด้วย นอกจาก TNTZ และ TNZT แล้ว ยังมีโลหะผสมเบต้าไทเทเนียมอื่น ๆ ที่มอดูลัสของยังค่อนข้างต่ำ เช่น โลหะผสมในกลุ่ม Ti-Fe-Ta, Ti-Fe-Mo-Mn-Nb-Zr, Ti-Mo-Mn-Nb-Zr ซึ่งมีการเติมเหล็ก โมลิบดีนัมและแมงกานีส (Manganese; Mn) เข้าไปในโลหะผสมไทเทเนียม^{47,48,50-54} การที่ค่ามอดูลัสของยังของโลหะผสมไทเทเนียมมีค่าใกล้เคียงกับกระดูกทำให้สามารถถ่ายทอดแรงและกระจายแรงที่ทำต่อกระดูกได้ดี ลดความเครียด (stress) ที่ส่งสู่กระดูก ลดการเกิดการบดบังความเค้น ส่งเสริมให้เกิดกระบวนการปรับรูปร่างกระดูก (bone remodeling) ที่เหมาะสม และเพิ่มความสำเร็จในการรักษา อย่างไรก็ตาม การที่ค่ามอดูลัสของยังลดลงนั้นอาจส่งผลให้ความแข็งแรงของวัสดุลดลงด้วย

การปรับปรุงคุณสมบัติพื้นผิวของไทเทเนียมและโลหะผสมไทเทเนียม

การปรับปรุงคุณสมบัติพื้นผิวของไทเทเนียมและโลหะผสมไทเทเนียมเกิดขึ้นเพื่อพัฒนาความสามารถในการตอบสนองของเนื้อเยื่อทางชีวภาพ เพิ่มความสามารถในการต้านทานการสึกและการกัดกร่อน รวมถึงเพิ่มอัตราการเกิดกระดูกเชื่อมประสานของไทเทเนียม หรืออีกนัยหนึ่งคือเพื่อปรับเปลี่ยนการตอบสนองของไทเทเนียมจากวัสดุที่มีลักษณะไบโออินเนอร์ทให้เป็นไบโอแอคทีฟอย่างที่กล่าวไปแล้ว ชั้นไทเทเนียมออกไซด์บนพื้นผิวของไทเทเนียมมีความสำคัญต่อการตอบสนองของร่างกาย การที่ไทเทเนียมจัดเป็นวัสดุชนิดไบโออินเนอร์ท ส่วนหนึ่งมาจากพื้นผิวไทเทเนียมไดออกไซด์ที่ค่อนข้างเฉื่อยต่อการเกิดปฏิกิริยาและมีอัตราการแลกเปลี่ยนประจุกับสิ่งแวดล้อมที่ต่ำ ซึ่งแม้จะมีผลดีในด้าน การต้านทานการกัดกร่อนแต่ก็อาจมีข้อด้อยเนื่องจากอาจทำให้

กระบวนการเกิดกระดูกเชื่อมประสานเกิดได้ช้า มีการศึกษาวิจัยมากมายที่พยายามปรับปรุงคุณสมบัติของชั้นออกไซด์นี้ทั้งในแง่ของการเพิ่มความหนา ความแข็งแรงและความเสถียร รวมถึงการเปลี่ยนแปลงประจุบนพื้นผิวของชั้นออกไซด์ ความหนาของชั้นไทเทเนียมออกไซด์ที่เพิ่มขึ้นถึงประมาณ 100-200 นาโนเมตรสามารถเพิ่มความต้านทานการกัดกร่อนของไทเทเนียม⁵⁵⁻⁵⁷ ซึ่งส่งผลดีในการช่วยส่งเสริมการเจริญและการทำงานของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ (mesenchymal stem cells) และเซลล์ที่มีบทบาทในการสร้างกระดูก

การปรับสภาพพื้นผิวของไทเทเนียมสามารถทำได้ด้วยวิธีเชิงกล วิธีทางเคมีและทางกายภาพ (ตารางที่ 3) การปรับสภาพพื้นผิวเชิงกลทำเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติพื้นผิวเพื่อให้เหมาะสมกับการยึดเกาะของเซลล์และกำจัดสิ่งสกปรกหรือสารปนเปื้อนออกจากพื้นผิว อาจทำได้โดยการขัด (polishing) หรือการเป่าทราย (sand blasting)^{40,58} อย่างไรก็ตาม เทคนิคเป่าทรายก็มีข้อเสียเนื่องจากอาจเกิดสิ่งตกค้างบนพื้นผิวจากการเป่าทรายซึ่งมักเป็นอนุภาคของอลูมิเนียมออกไซด์ (Al_2O_3)^{27,59-61} การใช้เลเซอร์ก็เป็นอีกวิธีที่ใช้ในการปรับสภาพพื้นผิวของไทเทเนียมด้วยวิธีเชิงกล ซึ่งช่วยให้เกิดคุณสมบัติพื้นผิวของไทเทเนียม เช่น โครงสร้างสามมิติและความหยาบผิว (surface roughness) ที่เอื้อต่อการยึดเกาะของเซลล์ ส่งเสริมให้กระบวนการการเกิดกระดูกเชื่อมประสานเกิดได้เร็วขึ้น และช่วยเพิ่มความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อทางชีวภาพและความต้านทานการกัดกร่อนของไทเทเนียม^{62,63}

การปรับสภาพพื้นผิวของไทเทเนียมด้วยวิธีทางเคมีอาจทำได้โดยใช้สารเคมีที่มีฤทธิ์เป็นกรดหรือด่างในการปรับสภาพพื้นผิว การใช้สารเคมีที่มีฤทธิ์เป็นกรด (acid treatment) มักใช้เพื่อกำจัดสิ่งสกปรกออกจากพื้นผิว การใช้สารเคมีที่มีฤทธิ์เป็นด่างร่วมกับความร้อน (alkali and heat treatment) เชื่อว่ามีส่วนช่วยเพิ่มการตอบสนองทางชีวภาพ เช่น การสร้างเนื้อเยื่อแข็ง^{36,40,64} การใช้กระแสไฟฟ้า (anodic oxidation) เพื่อสร้างชั้นของออกไซด์เป็นฟิล์มเคลือบบนพื้นผิวของไทเทเนียม หรือการใช้เทคนิคโซล-เจล (sol-gel coating) เพื่อสร้างชั้นคอลลอยด์ของไทเทเนียมไดออกไซด์หรือแคลเซียมฟอสเฟตเคลือบบนพื้นผิวของไทเทเนียม ช่วยเพิ่มความหนาและความเสถียรของชั้นออกไซด์บนพื้นผิวของไทเทเนียม^{2,40,65} ซึ่งส่งผลดีต่อการตอบสนองของเซลล์ในการสร้างกระดูกใหม่ การปรับสภาพพื้นผิวของไทเทเนียมยังสามารถใช้วิธีเชิงกลร่วมกับวิธีทางเคมี เช่น การเป่าทรายและ/หรือร่วมกับการใช้กรดกัด (Sandblasted, large grit, acid-etched surface; SLA) ซึ่งใช้อนุภาคเซรามิก

ขนาดเล็ก เช่น อลูมิเนียมออกไซด์ไทเทเนียมไดออกไซด์ และ แคลเซียมฟอสเฟตในการเป่าทราย หลังจากนั้นจะนำไปใช้ในสารละลายกรดแก่ (strong acid) เช่น กรดไฮโดรคลอริก (HCl) กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) กรดไฮโดรฟลูออริก (HF) หรือกรดไนตริก (HNO_3) ที่อุณหภูมิสูง ซึ่งเทคนิคนี้บริษัทผลิตรากเทียมหลายบริษัทนิยมใช้กันในอดีตที่ผ่านมา⁶⁶

การปรับสภาพพื้นผิวของไทเทเนียมด้วยวิธีทางกายภาพ ทำโดยการเคลือบพื้นผิวของไทเทเนียมด้วยสารต่าง ๆ ที่ช่วยเพิ่มความสามารถในการตอบสนองทางชีวภาพ การเคลือบพื้นผิวของไทเทเนียมด้วยเซรามิกที่มีคุณสมบัติไบโอแอคทีฟ เช่น ไฮดรอกซีอะพาไทต์ หรือแคลเซียมฟอสเฟต^{42,56,67} ช่วยปรับสภาพพื้นผิวของไทเทเนียมให้มีลักษณะร่องวาวทางชีวภาพมากขึ้น เซรามิกที่เคลือบจะทำให้ไทเทเนียมมีคุณสมบัติพื้นผิวเป็นออสทิโอคอนดักทีฟ (osteoconductive surface) ซึ่งหมายถึงพื้นผิวที่อนุญาตหรือส่งเสริมให้กระดูกเจริญเติบโต ช่วยส่งเสริมกระบวนการเกิดกระดูกเชื่อมประสาน และเลียนแบบกระบวนการหายของกระดูกตามกระบวนการปกติได้¹⁴ การเคลือบพื้นผิวของไทเทเนียมด้วยสารต่าง ๆ สามารถทำได้หลายวิธี ไม่ว่าจะเป็นการใช้พลาสมาสเปรย์ การเคลือบพื้นผิวด้วยวิธีการฝังตัวของไอออนและตกตะกอนสารบนพื้นผิว (ion implantation and deposition) การระเหย (evaporation) การชุบไอออน (ion plating) หรือวิธีสปัตเตอริง (sputtering) ตัวอย่างเช่น การเพิ่มประจุของไนโตรเจนบนพื้นผิวไทเทเนียมด้วยวิธีการฝังตัวของไอออนบนพื้นผิว เทคนิคนี้สามารถเพิ่มความแข็งพื้นผิว (surface hardness) ความต้านทานการสึกและ ความต้านทานการกัดกร่อนของไทเทเนียมได้เนื่องจากเกิดการสร้างขึ้นของไทเทเนียมไนไตรด์ที่อยู่ในรูป TiN และ Ti_2N ซึ่งช่วยเพิ่มความเสถียรของชั้นไทเทเนียมออกไซด์ และลดการเคลื่อนตัวของประจุบนพื้นผิวของไทเทเนียมที่อยู่ด้านล่าง^{68,69} การใส่ธาตุบางชนิด เช่น เซอร์โคเนียม ไนโอเบียม แทนทาลัม เข้าไปบนพื้นผิวของโลหะผสมไทเทเนียมก็สามารถช่วยเพิ่มความเสถียรของชั้นไทเทเนียมออกไซด์

ผ่านทางการสร้างออกไซด์ของโลหะ ZrO_2 Nb_2O_5 Ta_2O_5 และช่วยเพิ่มความต้านทานการกัดกร่อนของไทเทเนียมได้เช่นกัน^{54,70,71}

การปรับพื้นผิวไทเทเนียมด้วยการเคลือบด้วยโมเลกุลทางชีวภาพ (bioactive molecule) ไม่ว่าจะเป็นโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharides) โปรตีน หรือเปปไทด์ (peptide) กำลังอยู่ในความสนใจและมีการศึกษาวิจัยอย่างต่อเนื่อง ตัวอย่างเช่น การใช้เปปไทด์อาร์จินีน ไกลซีน แอสพาร์เทต หรือเปปไทด์อาร์จินีน-ไกลซีน-แอสพาร์เทต หรือเปปไทด์อาร์จินีน (Arginine-Glycine-Aspartate or RGD peptide) ร่วมกับคอลลาเจนและคอนดรอยติน ซัลเฟต (chondroitin sulfate) พบว่าสามารถเพิ่มความหนาแน่นและการยึดติดของกระดูกรอบสิ่งปลูกฝังได้⁷² การเคลือบพื้นผิวไทเทเนียมด้วยโบนีมอร์โฟเจเนติกโปรตีน 2 หรือ บีเอ็มพี-2 (bone morphogenetic protein-2; BMP-2) มีส่วนช่วยในการเปลี่ยนพื้นผิวไทเทเนียมให้เป็นออสทิโออินดักทีฟ (osteoinductive surface) ซึ่งหมายถึงพื้นผิวที่สามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์ที่ยังไม่พัฒนา (undifferentiated cells) และเซลล์ต้นกำเนิดชนิดพลูริโพเทนท์ (pluripotent stem cells) เกิดการพัฒนาของเซลล์เข้าสู่สายของเซลล์สร้างกระดูก (bone-forming cell lineage) ทำให้เกิดกระบวนการหายของแผล และการสร้างกระดูกใหม่ที่เร็วขึ้น^{14,73-77}

การปรับปรุงพื้นผิวของไทเทเนียมนอกจากจะมุ่งหวังให้เกิดกระดูกเชื่อมประสานที่ดีขึ้นแล้ว ยังมีการปรับปรุงพื้นผิวของไทเทเนียมให้มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลชีพเพื่อต่อสู้กับการติดเชืบบนพื้นผิวไทเทเนียมอีกด้วย เช่น การใช้เงิน (Silver; Ag) ทองแดง (Copper; Cu) หรือสังกะสี เคลือบบนพื้นผิวไทเทเนียมโดยใช้วิธีสปัตเตอริง หรือ พลาสมาสเปรย์ ถือว่าเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อจุลชีพได้หลายชนิด เช่น สแตฟีโลคอคคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*; *S. aureus*) และสเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์ (*Streptococcus mutans*) และ แคนดิดา อัลบิแคนส์ (*Candida albicans*; *C. albicans*)⁷⁸.

ตารางที่ 3 การปรับสภาพพื้นผิวของไทเทเนียมและโลหะผสมไทเทเนียม

Table 3 Surface modification of titanium and titanium alloys

การปรับสภาพพื้นผิว	เทคนิคที่ใช้	วัตถุประสงค์
เชิงกล	การขัด การพ่นหรือเป่าทราย การใช้เลเซอร์	ปรับปรุงคุณสมบัติพื้นผิวและความขรุขระพื้นผิว กำจัดสิ่งสกปรกบนพื้นผิวไทเทเนียม
เชิงเคมี	การใช้สารเคมีที่มีฤทธิ์เป็นกรดหรือด่าง การใช้กระแสไฟฟ้า การใช้เทคนิคโซล-เจล เพื่อสร้างชั้นคอลลอยด์ของไทเทเนียมไดออกไซด์	ปรับสภาพพื้นผิวให้เหมาะสมกับการยึดเกาะของเซลล์ กำจัดสิ่งสกปรก เพิ่มความหนาและความเสถียรของชั้นออกไซด์บนพื้นผิวของไทเทเนียม
เชิงกายภาพ	เคลือบพื้นผิวของไทเทเนียมด้วยสารที่มีคุณสมบัติไบโอแอคทีฟ อาจใช้วิธีพลาสมาสเปรย์ วิธีการฝังตัวของไอออนและตกตะกอนสารบนพื้นผิว ไอออนเพลตติง สปัตเตอริง หรือการใช้นาโนเทคโนโลยี	เพิ่มความสามารถในการตอบสนองทางชีวภาพของไทเทเนียม รวมถึงการเกิดกระดูกเชื่อมประสาน

ในปัจจุบันแม้ว่าจะมีวิธีการมากมายที่พัฒนาขึ้นมาเพื่อใช้ในการปรับปรุงคุณสมบัติทางพื้นผิวของไทเทเนียม แต่การพัฒนาที่สามารถนำเข้าสู่ทางพาณิชย์และใช้ได้ได้ในทางคลินิกนั้นมีจำนวนไม่มากนัก รากฟันเทียมที่มีการผลิตจำหน่ายในท้องตลาดส่วนใหญ่ยังใช้การปรับปรุงพื้นผิวไทเทเนียมเพื่อส่งเสริมให้เกิดพื้นผิวแบบออสทีโอคอนดักทีฟ ด้วยการปรับเปลี่ยนคุณสมบัติทางพื้นผิวของไทเทเนียมด้านต่าง ๆ เช่น ความขรุขระพื้นผิว คุณสมบัติความชอบน้ำ พลังงานพื้นผิว ในอดีตเชื่อว่าพื้นผิวไทเทเนียมควรมีความขรุขระเพียงเล็กน้อยเพื่อให้ส่งผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพและเชิงกลของวัสดุ ต่อมาภายหลังเมื่อมีการค้นพบว่าการใช้เลเซอร์ในการปรับสภาพพื้นผิวช่วยเร่งและเพิ่มอัตราการเกิดกระดูกเชื่อมประสานได้ แนวทางการพัฒนาพื้นผิวของไทเทเนียมจึงเปลี่ยนไปในทิศทางที่ทำให้เกิดความขรุขระพื้นผิวในระดับปานกลาง การศึกษาพบว่า ความขรุขระพื้นผิวของไทเทเนียมระดับปานกลาง (ค่า Sa ประมาณ 1-2 ไมครอน) ให้ผลต่อการตอบสนองของกระดูกมากกว่าพื้นผิวที่เรียบ (ค่า Sa น้อยกว่า 0.5 ไมครอน) ขรุขระน้อย (ค่า Sa ประมาณ 0.5-1 ไมครอน) และขรุขระมาก (ค่า Sa ตั้งแต่ 2 ไมครอนขึ้นไป)^{79,80} นอกจากนี้ การพัฒนาพื้นผิวไทเทเนียมในปัจจุบันให้ความสนใจกับการปรับสภาพในระดับนาโนมากขึ้น โดยพยายามสร้างให้เกิดพื้นผิวระดับนาโนบนไทเทเนียมที่มีโครงสร้างพื้นผิวระดับไมโคร มีการศึกษาที่รายงานว่าความขรุขระพื้นผิวระดับนาโนมีผลโดยตรงต่อการยึดติดของเซลล์ การเพิ่มจำนวนเซลล์และอาจควบคุมการปรับเปลี่ยนเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นในกระบวนการสร้างกระดูก อย่างไรก็ตามการศึกษาในระดับนาโนยังเป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการและการศึกษาในสัตว์ทดลอง⁸¹ ทำให้ยังขาดข้อมูลเชิงลึกในการวิเคราะห์ผลทางคลินิกว่าพื้นผิวระดับนาโนมีข้อดีที่เหนือกว่าแตกต่างอย่างชัดเจนกับพื้นผิวระดับไมโครหรือไม่อย่างไร ดังนั้นในส่วนนี้คงต้องศึกษาข้อมูลต่อไปในอนาคต

ในส่วนของรากฟันเทียม ตั้งแต่ช่วงทศวรรษ 1990 เป็นต้นมา รากฟันเทียมในท้องตลาดนิยมใช้การเป่าทรายและ/หรือร่วมกับการใช้กรดกัดในการปรับสภาพพื้นผิวของไทเทเนียม รากฟันเทียมระบบ Straumann รุ่น SLA ทำการเป่าทรายด้วยคอรัันดัม ตามด้วยการกัดด้วยกรดซัลฟิวริกและกรดไฮโดรคลอริก รากฟันเทียมระบบ Osstem มีการเตรียมพื้นผิวโดยการเป่าทรายด้วยอลูมิเนียมออกไซด์และใช้กรดกัด รากฟันเทียมระบบ Astra Tech รุ่น Osseo-Speed มีการเตรียมพื้นผิวโดยทำการเป่าทรายด้วยไทเทเนียมไดออกไซด์ตามด้วยการแช่ในกรดไฮโดรฟลูออริก อย่างไรก็ตามการเตรียมพื้นผิวด้วยวิธีนี้ทำให้ได้พื้นผิวที่มีลักษณะ

ไม่ชอบน้ำซึ่งไม่สนับสนุนการยึดเกาะของเซลล์และโปรตีนเท่าที่ควร จึงมีการพัฒนาปรับปรุงพื้นผิวเพิ่มเติมหลังจากที่เตรียมด้วยวิธีการเป่าทรายร่วมกับการใช้กรดกัดเพื่อให้มีคุณสมบัติชอบน้ำเพิ่มขึ้น โดยใช้วิธีการต่าง ๆ ตัวอย่างเช่น รากฟันเทียมระบบ Straumann รุ่น SLActive ทำการปรับพื้นผิวเพิ่มเติมจากการเป่าทรายร่วมกับการใช้กรดกัดภายใต้สภาวะที่มีก๊าซไนโตรเจน โดยนำไปแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นเท่ากับสารน้ำในร่างกาย ทำให้พื้นผิวไทเทเนียมมีลักษณะชอบน้ำมากขึ้น มีความขรุขระพื้นผิวที่เกิดขึ้นในระดับไมโครถึงนาโนเมตร ส่งผลให้พื้นผิวนี้สามารถดูดซึมเลือดและเป็นแกนช่วยในการยึดเกาะของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการยึดเกาะของเซลล์ เช่น โปรตีนไฟโบรเนคติน จึงช่วยสนับสนุนการยึดเกาะและการเจริญของเซลล์สร้างกระดูก รวมถึงเพิ่มการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างกระดูก⁸²⁻⁸⁵ รากฟันเทียมของระบบ Osstem ใช้หลักการในการเตรียมพื้นผิวคล้ายกัน โดยหลังจากที่ทำการเป่าทรายด้วยอลูมิเนียมออกไซด์และใช้กรดกัดแล้วก็นำไปแช่ต่อในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl₂) ซึ่งช่วยให้พื้นผิวมีความชอบน้ำมากขึ้น ส่งเสริมการยึดเกาะของโปรตีนในเลือด นอกจากนี้ การที่มีอนุภาคของแคลเซียมยังช่วยในการยึดเกาะของรากฟันเทียมกับกระดูกและส่งผลให้เกิดการหายของแผลเร็วขึ้น⁸⁶ ส่วนรากฟันเทียมระบบ Neoss รุ่น ProActive มีการปรับปรุงคุณสมบัติชอบน้ำบนพื้นผิวไทเทเนียมเพิ่มเติมจากการทำอิเล็กโทรเวตติ้ง (electrowetting) หลังจากการเป่าทรายและใช้กรดกัด ซึ่งพบว่าสามารถเพิ่มค่าแรงบิดที่ใช้ในการรื้อวัสดุปลูกฝังออกจากกระดูก (removal torque) ได้มากกว่าพื้นผิวแบบเดิม⁸⁷

บทสรุป

ไทเทเนียมและโลหะผสมไทเทเนียมได้รับความนิยมในการใช้งานในทางการแพทย์และทันตกรรมอย่างมากเนื่องจากคุณสมบัติที่โดดเด่นในแง่ความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อทางชีวภาพและความต้านทานการกัดกร่อน มีการศึกษามากมายเพื่อพัฒนาคุณสมบัติของไทเทเนียมทั้งในแง่คุณสมบัติเชิงกลและคุณสมบัติทางชีวภาพ การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับไทเทเนียมไม่ว่าจะเป็นการพัฒนาโลหะผสมไทเทเนียมชนิดใหม่ ๆ หรือการปรับปรุงพื้นผิวของไทเทเนียมด้วยเทคนิคต่าง ๆ นับเป็นเรื่องที่น่าสนใจและยังมีอีกหลายแง่มุมให้ทำการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้งานของไทเทเนียมในฐานะวัสดุชีวภาพทางการแพทย์ และเกิดความสำเร็สูงสุดในการรักษาผู้ป่วย

เอกสารอ้างอิง

1. Li Y, Yang C, Zhao H, Qu S, Li X, Li Y. New Developments of Ti-Based Alloys for Biomedical Applications. *Materials (Basel)* 2014;7(3):1709-800.
2. Tejero R, Anitua E, Orive G. Toward the biomimetic implant surface: Biopolymers on titanium-based implants for bone regeneration. *Prog Polym Sci* 2014;39(7):1406-47.
3. Elias CN, Lima JHC, Valiev R, Meyers MA. Biomedical applications of titanium and its alloys. *Jom-Us* 2008;60(3):46-9.
4. Sidambe AT. Biocompatibility of Advanced Manufactured Titanium Implants-A Review. *Materials (Basel)* 2014;7(12):8168-88.
5. Elias CN, Fernandes DJ, de Souza FM, Monteiro ED, de Biasi RS. Mechanical and clinical properties of titanium and titanium-based alloys (Ti G2, Ti G4 cold worked nanostructured and Ti G5) for biomedical applications. *J Mater Res Technol* 2019;8(1):1060-69.
6. Liu X, Chen S, Tsoi JKH, Matinlinna JP. Binary titanium alloys as dental implant materials-a review. *Regen Biomater* 2017;4(5):315-23.
7. Saini M, Singh Y, Arora P, Arora V, Jain K. Implant biomaterials: A comprehensive review. *World J Clin Cases* 2015;3(1):52-7.
8. Geetha M, Singh AK, Asokamani R, Gogia AK. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants - A review. *Prog Mater Sci* 2009;54(3):397-425.
9. Heimke G. Osseo-integrated implants. *Boca Raton, Fla.:* CRC Press; 1990.
10. Branemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindstrom J, Hallen O, *et al.* Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl* 1977;16:1-132.
11. Hansson HA, Albrektsson T, Branemark PI. Structural aspects of the interface between tissue and titanium implants. *J Prosthet Dent* 1983;50(1):108-13.
12. Branemark PI. Osseointegration and its experimental background. *J Prosthet Dent* 1983;50(3):399-410.
13. Albrektsson T, Branemark PI, Hansson HA, Lindstrom J. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthop Scand* 1981;52(2):155-70.
14. Albrektsson T, Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J* 2001;10 Suppl 2:S96-101.
15. Kanagaraja S, Lundstrom I, Nygren H, Tengvall P. Platelet binding and protein adsorption to titanium and gold after short time exposure to heparinized plasma and whole blood. *Biomaterials* 1996;17(23):2225-32.
16. Park JY, Gemmell CH, Davies JE. Platelet interactions with titanium: modulation of platelet activity by surface topography. *Biomaterials* 2001;22(19):2671-82.
17. Park JY, Davies JE. Red blood cell and platelet interactions with titanium implant surfaces. *Clin Oral Implants Res* 2000;11(6):530-9.
18. Kikuchi L, Park JY, Victor C, Davies JE. Platelet interactions with calcium-phosphate-coated surfaces. *Biomaterials* 2005;26(26):5285-95.
19. Gorbet MB, Sefton MV. Biomaterial-associated thrombosis: roles of coagulation factors, complement, platelets and leukocytes. *Biomaterials* 2004;25(26):5681-703.
20. Anitua E, Troya M, Orive G. Plasma rich in growth factors promote gingival tissue regeneration by stimulating fibroblast proliferation and migration and by blocking transforming growth factor-beta1-induced myodifferentiation. *J Periodontol* 2012;83(8):1028-37.
21. Tang Y, Wu X, Lei W, Pang L, Wan C, Shi Z, *et al.* TGF-beta1-induced migration of bone mesenchymal stem cells couples bone resorption with formation. *Nat Med* 2009;15(7):757-65.
22. Graves DT, Valentin-Opran A, Delgado R, Valente AJ, Mundy G, Piche J. The potential role of platelet-derived growth factor as an autocrine or paracrine factor for human bone cells. *Connect Tissue Res* 1989;23(2-3):209-18.
23. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003;9(6):669-76.
24. Drake CJ, LaRue A, Ferrara N, Little CD. VEGF regulates cell behavior during vasculogenesis. *Dev Biol* 2000;224(2):178-88.
25. Terheyden H, Lang NP, Bierbaum S, Stadlinger B. Osseointegration--communication of cells. *Clin Oral Implants Res* 2012;23(10):1127-35.
26. Bessho K, Fujimura K, Iizuka T. Experimental long-term study of titanium ions eluted from pure titanium miniplates. *J Biomed Mater Res* 1995;29(7):901-4.
27. Zhu X, Chen J, Scheideler L, Reichl R, Geis-Gerstorfer J. Effects of topography and composition of titanium surface oxides on osteoblast responses. *Biomaterials* 2004;25(18):4087-103.
28. McCafferty E, Wightman JP, Cromer TF. Surface properties of hydroxyl groups in the air-formed oxide film on titanium. *J Electrochem Soc* 1999;146(8):2849-52.
29. Sittig C, Textor M, Spencer ND, Wieland M, Vallotton PH. Surface characterization of implant materials c.p. Ti, Ti-6Al-7Nb and Ti-6Al-4V with different pretreatments. *J Mater Sci Mater Med* 1999;10(1):35-46.
30. Meyer U, Buchter A, Wiesmann HP, Joos U, Jones DB. Basic reactions of osteoblasts on structured material surfaces. *Eur Cell Mater* 2005;9:39-49.
31. Faucheu N, Schweiss R, Lutzow K, Werner C, Groth T. Self-assembled monolayers with different terminating groups as model substrates for cell adhesion studies. *Biomaterials* 2004;25(14):2721-30.
32. Rosales-Leal JI, Rodriguez-Valverde MA, Mazzaglia G, Ramon-

- Torregrosa PJ, Diaz-Rodriguez L, Garcia-Martinez O, *et al.* Effect of roughness, wettability and morphology of engineered titanium surfaces on osteoblast-like cell adhesion. *Colloid Surface A* 2010;365(1-3):222-9.
33. Tzoneva R, Faucheux N, Groth T. Wettability of substrata controls cell-substrate and cell-cell adhesions. *Biochim Biophys Acta* 2007;1770(11):1538-47.
34. Arima Y, Iwata H. Effect of wettability and surface functional groups on protein adsorption and cell adhesion using well-defined mixed self-assembled monolayers. *Biomaterials* 2007;28(20):3074-82.
35. Lee JH, Lee SJ, Khang G, Lee HB. Interaction of fibroblasts on polycarbonate membrane surfaces with different micropore sizes and hydrophilicity. *J Biomat Sci-Polym E* 1999;10(3):283-94.
36. Ma Z, Mao Z, Gao C. Surface modification and property analysis of biomedical polymers used for tissue engineering. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2007;60(2):137-57.
37. Mangano C, De Rosa A, Desiderio V, d'Aquino R, Piattelli A, De Francesco F, *et al.* The osteoblastic differentiation of dental pulp stem cells and bone formation on different titanium surface textures. *Biomaterials* 2010;31(13):3543-51.
38. Xie HG, Li XX, Lv GJ, Xie WY, Zhu J, Luxbacher T, *et al.* Effect of surface wettability and charge on protein adsorption onto implantable alginate-chitosan-alginate microcapsule surfaces. *J Biomed Mater Res A* 2010;92(4):1357-65.
39. Cairns ML, Meenan BJ, Burke GA, Boyd AR. Influence of surface topography on osteoblast response to fibronectin coated calcium phosphate thin films. *Colloid Surface B* 2010;78(2):283-90.
40. Liu XY, Chu PK, Ding CX. Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. *Mat Sci Eng R* 2004;47(3-4):49-121.
41. Guillemot F. Recent advances in the design of titanium alloys for orthopedic applications. *Expert Rev Med Devices* 2005;2(6):741-8.
42. Navarro M, Michiardi A, Castano O, Planell JA. Biomaterials in orthopaedics. *J R Soc Interface* 2008;5(27):1137-58.
43. Niinomi M. Mechanical biocompatibilities of titanium alloys for biomedical applications. *J Mech Behav Biomed Mater* 2008;1(1):30-42.
44. Reilly DT, Burstein AH, Frankel VH. The elastic modulus for bone. *J Biomech* 1974;7(3):271-5.
45. Mirzaali MJ, Schwiedrzik JJ, Thaiwichai S, Best JP, Michler J, Zysset PK, *et al.* Mechanical properties of cortical bone and their relationships with age, gender, composition and microindentation properties in the elderly. *Bone* 2016;93:196-211.
46. Zysset PK, Guo XE, Hoffer CE, Moore KE, Goldstein SA. Elastic modulus and hardness of cortical and trabecular bone lamellae measured by nanoindentation in the human femur. *J Biomech* 1999;32(10):1005-12.
47. Niinomi M, Nakai M. Titanium-Based Biomaterials for Preventing Stress Shielding between Implant Devices and Bone. *Int J Biomater* 2011;2011:836587.
48. Niinomi M, Liu Y, Nakai M, Liu H, Li H. Biomedical titanium alloys with Young's moduli close to that of cortical bone. *Regen Biomater* 2016;3(3):173-85.
49. Qazi JI, Rack HJ. Metastable beta titanium alloys for orthopedic applications. *Adv Eng Mater* 2005;7(11):993-8.
50. Brailovski V, Prokoshkin S, Gauthier M, Inaekyan K, Dubinskiy S, Petrzlik M, *et al.* Bulk and porous metastable beta Ti-Nb-Zr(Ta) alloys for biomedical applications. *Mat Sci Eng C-Mater* 2011;31(3):643-57.
51. Niinomi M. Recent metallic materials for biomedical applications. *Metall Mater Trans A* 2002;33(3):477-86.
52. Kuroda D, Kawasaki H, Yamamoto A, Hiromoto S, Hanawa T. Mechanical properties and microstructures of new Ti-Fe-Ta and Ti-Fe-Ta-Zr system alloys. *Mat Sci Eng C-Bio S* 2005;25(3):312-20.
53. Nag S, Banerjee R, Fraser HL. Microstructural evolution and strengthening mechanisms in Ti-Nb-Zr-Ta, Ti-Mo-Zr-Fe and Ti-15Mo biocompatible alloys. *Mat Sci Eng C-Bio S* 2005;25(3):357-62.
54. Okazaki Y. A new Ti-15Zr-4Nb-4Ta alloy for medical applications. *Curr Opin Solid St M* 2001;5(1):45-53.
55. Rodrigues DC, Valderrama P, Wilson TG, Palmer K, Thomas A, Sridhar S, *et al.* Titanium Corrosion Mechanisms in the Oral Environment: A Retrieval Study. *Materials (Basel)* 2013;6(11):5258-74.
56. Kim HW, Koh YH, Li LH, Lee S, Kim HE. Hydroxyapatite coating on titanium substrate with titania buffer layer processed by sol-gel method. *Biomaterials* 2004;25(13):2533-8.
57. Cabrini M, Cigada A, Rondelli G, Vicentini B. Effect of different surface finishing and of hydroxyapatite coatings on passive and corrosion current of Ti6Al4V alloy in simulated physiological solution. *Biomaterials* 1997;18(11):783-7.
58. Jiang XP, Wang XY, Lia JX, Li DY, Man CS, Shepard MJ, *et al.* Enhancement of fatigue and corrosion properties of pure Ti by sandblasting. *Mat Sci Eng a-Struct* 2006;429(1-2):30-5.
59. Zhang J, Xie YE, Zuo J, Li JX, Wei QP, Yu ZM, *et al.* Cell responses to titanium treated by a sandblast-free method for implant applications. *Mat Sci Eng C-Mater* 2017;78:1187-94.
60. Gittens RA, Olivares-Navarrete R, Cheng A, Anderson DM, McLachlan T, Stephan I, *et al.* The roles of titanium surface micro/nanotopography and wettability on the differential response of human osteoblast lineage cells. *Acta Biomater* 2013;9(4):6268-77.
61. Kang BS, Sul YT, Oh SJ, Lee HJ, Albrektsson T. XPS, AES and SEM analysis of recent dental implants. *Acta Biomater* 2009;5(6):2222-9.
62. Hsu SH, Liu BS, Lin WH, Chiang HC, Huang SC, Cheng SS. Characterization and biocompatibility of a titanium dental implant with

- a laser irradiated and dual-acid etched surface. *Biomed Mater Eng* 2007;17(1):53-68.
63. Yue TM, Yu JK, Mei Z, Man HC. Excimer laser surface treatment of Ti-6Al-4V alloy for corrosion resistance enhancement. *Mater Lett* 2002;52(3):206-12.
64. Kim HM, Miyaji F, Kokubo T, Nakamura T. Preparation of bioactive Ti and its alloys via simple chemical surface treatment. *J Biomed Mater Res* 1996;32(3):409-17.
65. Meretoja VV, De Ruijter AE, Peltola TO, Jansen JA, Narhi TO. Osteoblast differentiation with titania and titania-silica-coated titanium fiber meshes. *Tissue Eng* 2005;11(9-10):1489-97.
66. Schubach P, Glauser R, Bauer S. Al₂O₃ Particles on Titanium Dental Implant Systems following Sandblasting and Acid-Etching Process. *Int J Biomater* 2019;2019:6318429.
67. Hung KY, Lo SC, Shih CS, Yang YC, Feng HP, Lin YC. Titanium surface modified by hydroxyapatite coating for dental implants. *Surf Coat Tech* 2013;231:337-45.
68. Arenas MA, Tate TJ, Conde A, De Damborenea J. Corrosion behaviour of nitrogen implanted titanium in simulated body fluid. *Brit Corros J* 2000;35(3):232-6.
69. Fukumoto S, Tsubakino H, Inoue S, Liu L, Terasawa M, Mitamura T. Surface modification of titanium by nitrogen ion implantation. *Mat Sci Eng a-Struct* 1999;263(2):205-9.
70. Okazaki Y, Tateishi T, Ito Y. Corrosion resistance of implant alloys in pseudo physiological solution and role of alloying elements in passive films. *Mater T Jim* 1997;38(1):78-84.
71. Yu SY, Scully JR. Corrosion and passivity of Ti-13% Nb-13% Zr in comparison to other biomedical implant alloys. *Corrosion* 1997;53(12):965-76.
72. Rammelt S, Illert T, Bierbaum S, Scharnweber D, Zwipp H, Schneiders W. Coating of titanium implants with collagen, RGD peptide and chondroitin sulfate. *Biomaterials* 2006;27(32):5561-71.
73. Guillot R, Pignot-Paintrand I, Lavaud J, Decambon A, Bourgeois E, Josserand V, *et al.* Assessment of a polyelectrolyte multilayer film coating loaded with BMP-2 on titanium and PEEK implants in the rabbit femoral condyle. *Acta Biomater* 2016;36:310-22.
74. Teng FY, Chen WC, Wang YL, Hung CC, Tseng CC. Effects of Osseointegration by Bone Morphogenetic Protein-2 on Titanium Implants *In Vitro* and *In Vivo*. *Bioinorg Chem Appl* 2016;2016: 3837679.
75. Kim S, Park C, Moon BS, Kim HE, Jang TS. Enhancement of osseointegration by direct coating of rhBMP-2 on target-ion induced plasma sputtering treated SLA surface for dental application. *J Biomater Appl* 2017;31(6):807-18.
76. Yang DH, Lee DW, Kwon YD, Kim HJ, Chun HJ, Jang JW, *et al.* Surface modification of titanium with hydroxyapatite-heparin-BMP-2 enhances the efficacy of bone formation and osseointegration *in vitro* and *in vivo*. *J Tissue Eng Regen Med* 2015;9(9):1067-77.
77. Yang DH, Moon SW, Lee DW. Surface Modification of Titanium with BMP-2/GDF-5 by a Heparin Linker and Its Efficacy as a Dental Implant. *Int J Mol Sci* 2017;18(1). pii: E229.
78. Spriano S, Yamaguchi S, Baino F, Ferraris S. A critical review of multifunctional titanium surfaces: New frontiers for improving osseointegration and host response, avoiding bacteria contamination. *Acta Biomater* 2018;79:1-22.
79. Rupp F, Liang L, Geis-Gerstorfer J, Scheideler L, Huttig F. Surface characteristics of dental implants: A review. *Dent Mater* 2018;34(1):40-57.
80. Wennerberg A, Albrektsson T. Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review. *Clin Oral Implants Res* 2009;20 Suppl 4:172-84.
81. Vercellino M, Ceccarelli G, Cristofaro F, Balli M, Bertoglio F, Bruni G, Benedetti L, Avanzini MA, Imbriani M, Visai L. Nanostructured TiO₂ surfaces promote human bone marrow mesenchymal stem cells differentiation to osteoblasts. *Nanomaterials (Basel)* 2016;6(7):E124.
82. Wennerberg A, Galli S, Albrektsson T. Current knowledge about the hydrophilic and nanostructured SLActive surface. *Clin Cosmet Investig Dent* 2011;3:59-67.
83. Wennerberg A, Jimbo R, Stubinger S, Obrecht M, Dard M, Berner S. Nanostructures and hydrophilicity influence osseointegration: a biomechanical study in the rabbit tibia. *Clin Oral Implants Res* 2014;25(9):1041-50.
84. Wennerberg A, Svanborg LM, Berner S, Andersson M. Spontaneously formed nanostructures on titanium surfaces. *Clin Oral Implants Res* 2013;24(2):203-9.
85. Vlacic-Zischke J, Hamlet SM, Friis T, Tonetti MS, Ivanovski S. The influence of surface microroughness and hydrophilicity of titanium on the up-regulation of TGFβ/BMP signalling in osteoblasts. *Biomaterials* 2011;32(3):665-71.
86. Kim SB, Yun PY, Kim SY, Yi YJ, Kim JY, Kim YK. Prospective randomized clinical trial of hydrophilic tapered implant placement at maxillary posterior area: 6 weeks and 12 weeks loading. *J Adv Prosthodont* 2016;8(5):396-403.
87. Sennerby L, Gottlow J, Gottlo J. Integration of Neoss ProActive implants in comparison with other brands of dental implants. *Letters on Implant Dentistry* 2017;1:7-10.

Review Article

Masticatory Muscle Responses to Mandibular Forward Positioning Appliances

Napat Nalamliang¹, Udom Thongudomporn¹

¹Orthodontic Section, Department of Preventive Dentistry, Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University, Songkhla, Thailand

Abstract

An understanding of how the masticatory muscles respond to functional appliances that move the mandibular forward, i.e. activator, Herbst, Forsus appliance, etc. provides a necessary physiologic detail and it is essential to the field of orthodontics and oral physiology. Electromyography (EMG) has been used to assess both qualitative and quantitative muscle functions. A number of studies attempted to find out the response of masticatory muscles during the use of mandibular forward positioning appliances, but the results have been inconsistent. The purpose of this article is to present research findings related to the masticatory muscle responses to mandibular forward positioning appliances assessed by EMG.

Keywords: Electromyography, Functional, Masticatory Muscles, Orthodontic Appliances

Received date: Oct 15,2019

Revised date: Nov 19,2019

Accepted date: Dec 13,2019

Doi: 10.14456/jdat.2020.10

Correspondence to:

Udom Thongudomporn. Orthodontic Section Department of Preventive Dentistry, Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90110 Thailand Tel: 0-8189-71400 E-mail: udom.t@psu.ac.th

Introduction

Class II malocclusion is a common pattern worldwide¹⁻³ which comes to orthodontists with a variety of configurations that are skeletal, dental, or both.⁴ The skeletal problem, most common with mandibular skeletal retrusion^{5,6}, has been treated with functional appliances for decades to alter the neuromuscular activity around the mandible.⁷⁻¹⁰ The function of masticatory muscles is believe to affect craniofacial growth, orthodontic treatment, and dentofacial orthopedic treatments.¹¹⁻¹³ Therefore, the objective of this kind of treatment is to improve the

equilibrium of the muscles and correctly balance the forces inducing the growth and the development of craniofacial skeletal morphology.^{14,15}

The effect of orofacial musculature on the facial morphology and dentoalveolar position has been widely studied. The main muscles that are attached to the mandible are the masticatory muscles, e.g., masseter, temporalis, medial, and lateral pterygoid muscles, and other associated muscles such as suprahyoid muscles. These muscles may play a part in the dentoskeletal

morphology and also the possible cause of relapse after orthodontic treatment.¹⁶⁻²⁰ To determine the activity of these muscles, electromyography (EMG) is used because it is the most objective and reliable technique for evaluating muscle function.²¹

Electromyography (EMG)

EMG is an electrical technique to assess neuromuscular activity using electrodes which basically determine how active a muscle is during both static and dynamic conditions. It has been widely used in the research field and medical practices as a diagnostic tool in a nerve conduction study called an electrodiagnostic study²², as a treatment method called biofeedback training²³ and in neurophysiological studies to understand the activation pattern of muscles. Dentistry commonly uses EMG in studies of temporomandibular joint disorder, muscle disease of the head and neck region, cranial nerve lesion, seizure disorders, and in muscle response to various activities and appliances.^{7,24-27}

The EMG signal is an electrical current that is generated by the flow of ions across the membrane of muscle fibers which can activate a potential action to produce muscle contraction. The signal is transmitted through the surrounding tissues to reach the electrode detection surface.²⁸ Once the signal has been amplified and filtered, it is displayed in the time domain along with amplitude, duration, and frequency of muscle activity. The visual representation is called an electromyogram.²⁹ The electromyogram can be processed in various types depending on its application such as a mathematical analysis, like an integrated value, root mean square value, or frequency domain transformation to measure muscle fatigue.^{28,30,31}

There are two kinds of EMGs: surface EMG and intramuscular EMG. The intramuscular EMG can be performed using either needle or fine-wire electrodes that penetrate into the target muscle with a surface electrode as the reference. When the electrode is inserted into the muscle, the motor unit action potential can be recorded.²⁸ This represents the summated electrical

activity of action potentials of all muscle fibers which are innervated by the same motor nerve fiber. In contrast, surface EMG (sEMG), which is safer, easier and non-invasive, represents all electrical activity beneath the surface electrodes. Therefore, this method is very sensitive and easily affected by noise and environmental factors, like hair or a fat pad beneath the skin.^{28,31} Moreover, it cannot record the activity of deep muscles like the medial and lateral pterygoid muscles and can hardly assess muscles under unfavorable skin conditions, such as the posterior part of temporalis muscles which are covered with hair. Thus, the masseter muscle and the anterior temporalis muscle are more favorable for the surface EMG studies.³²

The EMG signal is affected by physiological, anatomical, biochemical, and technical factors. Carlo De Luca³⁰ described thoroughly these factors including the electrode structure, its placement, the intrinsic factors, e.g., muscle fiber type, diameter, subcutaneous tissue, and also other factors like age and sex. Therefore, comparisons of EMG both within and between individuals is potentially fraught with reliability problems unless a normalization technique is used.³³ Several forms of normalization exist, the most common method is to compare the raw signal with maximum voluntary isometric contraction. Due to the inconsistency of maximum effort, submaximal voluntary contraction is used instead in some studies.³⁴⁻³⁶ For comparison between participants, Ferrario *et al.*³⁷ also invented indices which were the asymmetry index, activity index, and torque index, which have been used in many studies of masticatory muscles.³⁸⁻⁴⁴

Mandibular forward positioning appliances

Since the 1930s, a wide range of functional appliances, designed to correct class II malocclusion with retrognathic mandible, gained popularity in Europe and spread throughout the rest of the world.^{4,45,46} These appliances aimed to stimulate mandibular growth by forward posturing of the mandible and they are effective to correct this type of skeletal and occlusal disharmony in preadolescent patients. The appliances can be either removable, activator or bionator, or fixed, Herbst appliance,

Forsus appliance, tooth borne, or tissue borne appliance (Frankel-II appliance).

The understanding is that a functional appliance in a growing patient can be very effective in reducing even a very large overjet⁴⁷ but some authors believe there is little evidence to support the fact that functional appliances significantly alter mandibular growth.^{48,49} In any case, there is still controversy.⁴⁷ From a systematic review of functional appliances in class II malocclusion⁴, most previous studies reported clinically significant supplementary elongation in the total mandibular length as a result of overall active treatment with functional appliances. The Herbst appliance showed the highest coefficient of efficiency (0.28 mm per month) followed by the Twin-block appliance (0.23 mm per month). On the other hand, some studies claimed that the main changes caused by functional appliances were of dentoalveolar nature that included distalization of the maxillary posterior segment, lingual inclination of maxillary incisors, mesialization of the mandibular posterior segment, and buccal inclination of mandibular incisors.^{50,51} Janson *et al.*⁵² reported that most changes were dentoalveolar with fewer skeletal effects in patients treated with the Frankel appliance, in contrast with Toth and McNamara.⁵³ The Frankel appliance can also rotate the mandible either forward or downward which may stretch the surrounding muscles which could initiate bone modeling at muscle-attached site.

The aim of this article was to present the masticatory muscle responses to mandibular forward positioning appliances in terms of EMG changes. Furthermore, the results of previous studies are discussed.

Masticatory muscle responses to mandibular forward positioning appliances

Table 1 summarizes all studies related to the use of EMG in studying the effect of mandibular forward positioning appliances.

Lateral pterygoid muscle

In 1973, McNamara¹⁰ was the first to study neuromuscular adaptation of mandibular forward-positioning appliance therapy using needle EMG to evaluate the lateral pterygoid muscles in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) during postural and functional movement. He found an

increase in lateral pterygoid activity from forward positioning of the mandible during the experimental period but after 8-12 weeks the activity decreased or disappeared. The results were used to develop the “lateral pterygoid muscle hypothesis” which stated that after the insertion of a functional appliance, an increase in postural activity of the lateral pterygoid muscle was responsible for increased condylar growth. In contrast, Sessle *et al.*⁷ reported a decrease in postural EMG activity of the masseter, digastric, and lateral pterygoid muscles in monkeys during the six-week experiment that gradually returned to the pretreatment level. Also, Yamin-Lacouture *et al.*⁹ demonstrated similar results as Sessle *et al.* by using implanted hook electrodes in monkeys with the Herbst, Frankel, and simulated Clark Twin-block appliances and demonstrated a decrease in EMG activity within the experimental period of 12 weeks which then returned to pretreatment levels. They reported that the decrease of EMG activity was possibly due to shortening of the lateral pterygoid after the insertion of the mandibular forward positioning appliances and the altered masticatory muscles changed the swallowing patterns. In 2000, Hiyama *et al.*⁵⁴ tried to develop a painless and non-invasive surface EMG technique to evaluate the lateral pterygoid muscle in humans and used it to evaluate the Herbst appliance during therapy. The results showed an increase in lateral pterygoid muscle activity immediately after insertion and removal of the appliance which supported the lateral pterygoid muscle hypothesis¹⁰ and then decreased to the previous level in 4-6 months which was presumed to be the lateral pterygoid muscle adaptation period.

Though these studies were not totally concordant, they concluded that there is a period of time when lateral pterygoid muscle activity rebounded to the original level which could imply that this muscle had an adaptability potential of around six weeks to six months.

Jaw-closing muscles: masseter and temporalis muscles

Research by Sessle *et al.*⁷ and Yamin-Lacouture *et al.*⁹ also studied the masseter muscles in monkeys. They reported the same results as the lateral pterygoid muscle which demonstrated decreased activity in 6-12 weeks and rebounded later. They reported that an

increase in the vertical dimension could elongate the masseter muscle and alter the swallowing pattern of the monkeys.

Rest position

In early human studies⁵⁵⁻⁵⁸, increased postural jaw elevator muscle activity was found during the use of an activator but other researchers⁵⁹⁻⁶² found no difference or even decreased activity. In 1988, the results of a cross-sectional study designed by Miraelles *et al.*⁵⁹ showed no significantly different integrated EMG values of the masseter and anterior temporalis muscles between activator users and non-users in the rest position. However, as discussed above, it is not recommended to compare the EMG values between participants. Later in 1999, Aggarval *et al.*⁵⁷ conducted a longitudinal study to observe ten young patients (ages between 9-12 years old) with Twin-block appliances. The locations of the electrodes were standardized to allow a comparison between participants over a period of time.⁶³ The results of the treatment at 1, 3, and 6 months showed an increase in peak-to-peak amplitude at rest in both muscles but the differences were not statistically significant ($p > 0.05$) in the anterior temporalis muscle. The improvement in temporalis muscle activity was in agreement with other investigators^{64,65} who reported that the values at each recording were higher with the appliance due to the intervening signal from posterior temporalis muscle, which tried to retract the mandible back. The increased postural activity of the masseter muscle was thought to be a stretching reflex due to the protrusion of the mandible.⁵⁷

A recent longitudinal study by Cuevas *et al.*⁴³ in 2013, investigated 27 patients treated with a Teuscher activator with high-pull headgear. The mean EMG values of the masseter, anterior and posterior temporalis muscles at rest after finishing the first phase of treatment (mean activator treatment time = 1.1 year) were not significantly different from the pretreatment values. By using Ferrario's EMG indices³⁷, the asymmetry index showed more symmetrical muscular condition after functional treatment. The activity index showed more predominance of the

anterior temporalis muscle in the rest position which supported the role that the temporalis muscles were important in positioning the mandible in normal young patients.³⁷ Two years after orthodontic treatment had finished, the mean EMG values increased and the author claimed that was due to good neuromuscular adaptation of the mandible. From another point of view, that possibly resulted from increased age of the children.

Isometric contraction

Another way to evaluate muscle activity is isometric contraction which can be performed while clenching the teeth with maximum or constant submaximal force.^{30,66,67} Similar to the rest position, various results were demonstrated in previous studies. Miraelles *et al.*⁵⁹ also reported no significant difference of integrated EMG values of the masseter and temporalis muscles between activator users and non-users. The results from a study by Aggarval *et al.*⁵⁷ were contrary to the results of a study by Miraelles in that an increase in peak-to-peak amplitude of both muscles during maximal voluntary clenching after six months of using a Twin-block appliance was found. Interestingly, when clenching immediately after the insertion, the muscle activity was lower in both the anterior temporalis and masseter muscles which was assumed to be the abrupt change of these muscles.

In 2011, Sood *et al.*⁶² designed a longitudinal study with 15 female patients with fixed functional appliances (Forsus™). The patients were evaluated periodically for two years with standardized placement of the electrodes.⁶³ During maximum voluntary clenching, the EMG values significantly decreased in 1-3 months ($p < 0.05$) after ligating the Forsus™ apparatus which concurred with other studies with functional appliances^{61,68,69}, then gradually started to increase and returned to pretreatment levels within six months and remained stable until the end of the two-year observation period. It was believed that this was due to muscle adaptation.

Cuevas *et al.*⁴³ also observed decreased left masseter activity after functional treatment. This finding was probably caused by unstable occlusion or less occlusal

contact area of the posterior teeth during maximum voluntary clenching after the position of the teeth and mandible were changed. In the 2-year observation period after finishing orthodontic treatment, left masseter activity increased to the pretreatment level, and the other jaw-elevated muscles had increased activity compared to the pretreatment level. These findings were associated with improvement in the occlusal conditions, i.e. contact quality and stability, after orthodontic treatment as well as the increase in age.

A recent randomized controlled trial study in 2014 by Satygo *et al.*⁷⁰ demonstrated a significant increase in sEMG activity of the masseter and anterior temporalis muscles during clenching after treatment with a pre-orthodontic trainer for 12 months. Thirty-six patients with class II division 1 with mandibular retrognathism were functionally treated. Twenty-two patients who had the same diagnosis were also included in the study but were untreated. The normal control group included 20 participants who had normal occlusion. The EMG recordings was analyzed without normalization. At the beginning of the study, the participants with a Class II, division 1 malocclusion (treated and untreated groups) showed EMG activity that was approximately 1.5-fold less than the control group. After 12 months, the control group remained with similar values in both masseter and anterior temporalis muscle. However, the treated group reported a significant increase in the activity of both muscles ($p < 0.001$) that reached the values of the control group. On the other hand, the untreated controls reported no significant change in the EMG activity compared to baseline. The authors cited Moss's functional matrix theory⁵⁶ and claimed that improvement in muscular activity would accelerate bone remodeling at the condyle and lead to adaptive mandibular growth and improvement in the Class II sagittal relationship. Similar to a previous experimental study, Erdem *et al.*¹⁴ demonstrated increased masseter and anterior temporalis activity during clenching after 12 months of activator treatment compared with the un-

treated group. This increase in muscle activity might be a result of a more stable occlusion after functional therapy.

In 2017, Di Palma *et al.*⁷¹ measured masticatory muscle coordination after functional treatment with a Sander appliance for 12 months without normalization technique by calculating the EMG indices, e.g. percentage overlapping coefficient, torque coefficient, and activity index, which were recommended due to the limitation to fix the position of the electrodes. A symmetrical activity was shown before and after treatment without alteration. They reasoned that a stable treatment outcome resulted from a good muscular equilibrium.

The findings of most aforementioned studies indicated that adaptation of these jaw closing muscles occurred within a certain period of time (six weeks to three months) whether the muscle activity was observed to increase or decrease.

Functional movement and other associated muscles

Many studies not only evaluated the masticatory muscles but also the other associated muscles, e.g., orbicularis and suprahyoid muscles^{7,9,43,61}, since their functions are related to mastication and deglutition. In an animal study, Yamin-Lacouture *et al.*⁹ also evaluated intramuscular EMG during swallowing at the anterior portion of the digastric muscles. As with other muscles, digastric muscle activity gradually decreased within 12 weeks and then was restored to the original value.

Again in a study by Cuevas *et al.*⁴³, the suprahyoid and jaw-closing muscles were studied during the swallowing and mastication. During both movements after functional treatment, all muscle activities increased continuously until two years after completion of orthodontic treatment which was assumed by the authors to be good adaptability of the jaw muscles to the new jaw position. Similar results were found in an experimental study by Erdem *et al.*¹⁴ during a 12-month observation period that compared 15 class II division 1 patients treated with an activator with ten untreated participants. The masseter and anterior temporalis muscle activities were increased during

chewing in the treated group after functional treatment, but there was no significant difference in the activity during swallowing compared with the untreated group which was contrary to the study by Cuevas *et al.*⁴³ However, Cuevas *et al.*⁴³ claimed that the suprahyoid muscle activity eventually decreased significantly and the authors discussed that it was probably related to more mature swallowing.

Erdem *et al.*¹⁴ found an increased orbicularis oris activity during whistling after 12 months of functional treatment compared with the untreated group with a 12 month observation period. Moreover, Saccucci *et al.*⁷² evaluated the upper and lower orbicularis oris muscles between 13 Class II division 1 children with deep bite and lip incompetence and 15 normal children. The sEMG was recorded before treatment with a preformed orthodontic/functional device (Occlus-o-Guide™ Ortho-Tain Inc. – Toa Alta, Puerto Rico) and at 3 and 6 months after treatment in many activities: at rest, during kissing, swallowing, mouth opening, clenching, and mandibular protrusive position. Before the treatment, the treated group showed lower activity of the lower orbicularis oris muscle in most activities except during swallowing. At 6 months after treatment, the treated group seemed to reach similar muscle activity as the normal children which claimed to be an improvement in form and function of the orofacial muscle structure.

Summary

This review presents the neuromuscular activity and adaptation associated with various types of mandibular forward positioning appliances and discusses the uses of

EMG as a tool to clarify the neurophysiology of the orofacial complex.

Due to the inconsistent findings among the studies, a standardized protocol to measure EMG is needed. For example, the normalization technique can reduce the factors which affect the reliability and allow between-participants comparisons. A multi-national consensus initiative called SENIAM (Surface Electromyography or Non-Invasive Assessment of Muscles) and the ISEK (International Society of Electromyography and Kinesiology) have unified the methodology of sEMG recordings which could be a consistent standard for future studies. To apply the investigations in dentistry, the diagnostic tool, treatment outcome evaluation, and even biofeedback training have been developed. The scientific devices and processing methods have also allowed the researcher to create interesting novel investigations concerning EMG that are more accurate and effective under a qualified methodology.

In conclusion, due to technological factors, research design, and other limitations in previous studies, the studies on EMG have no clear-cut agreement. As reviewed above, there was some reported improvement in EMG activity while other investigators reported different results in muscle activity, different appliances, and different periods of observation times. Thus, most of these results showed that the appliances could alter the orofacial neuromuscular activities by either improvement or reduction, and the adaptation of the muscles might occur within a few months or in a half year.

Table 1 Studies of masticatory muscle responses to mandibular forward positioning appliances

Author (s)	Study groups	Sample	Age	Material	Muscle (s)	Appliance (s)	Duration	Main finding
McNamara ¹⁰		28 rhesus monkeys (<i>Macaca mulatta</i>)		Needle EMG	Lateral pterygoid	Functional mandibular displacement	13 weeks	(I) There was increased activity of the superior head of the lateral pterygoid muscle, both at functional movements and at rest. (II) Eventually, the activity decreased and returned to baseline.
	I: infant	n=4 (control) n=3 (experiment)	0.4-0.7 yrs					
	II: juvenile	n=4 (control) n=3 (experiment)	1.5-2 yrs					
	III: adolescent	n=4 (control) n=3 (experiment)	4-4.5 yrs					
	IV: adult	n=4 (control) n=3 (experiment)	6-7 yrs					
Ahlgren ⁵⁵	Class II, Division 1 malocclusion	n=20	8-16 yrs	Wired EMG: raw data	Masseter, temporalis	Activator		(I) The activity of masseter muscles was increased, but temporalis muscles were inhibited during the daytime. (II) The increased activity was not observed during the nighttime.
Miralles, Berger et al. ⁵⁹	Class II, Division 1 malocclusion	n=15 (male 6, female 9)	8-15 yrs	Surface EMG; Integrated value	Masseter, anterior temporalis	Activator	Immediate	(I) There was no significant difference in EMG activity at rest and clenching between subjects with and without activator. (II) The activity in the masseter and temporalis muscles was significantly higher in subjects with the activator.
Sessle, Woodside et al. ⁷		Juvenile female monkeys (<i>Macaca fascicularis</i>)	1.5-2 yrs	Implanted EMG	Masseter, supra-hyoid, lateral pterygoid		12-18 weeks	EMG activity of the lateral pterygoid remained decreased for approximately 6 weeks. A rebound to the pre-appliance level occurred after 6 weeks.
	I	n=2				Herbst appliance		
	II	n=2				Functional protrusive appliance		
	III: control	n=2				-		
Yamin-Lacouture, Woodside et al. ⁹		Juvenile female monkeys (<i>Macaca fascicularis</i>)	1.5-2 yrs	Implanted hook EMG; mean area, mean maximum amplitude	Masseter, supra-hyoid, lateral pterygoid		12 months	Activity of all muscles was decreased within 3-6 weeks after wearing an appliance.
	I	n=2				Herbst appliances		
	II	n=2				Frankel appliances		
	III	n=2				Clark Twin-block appliances		
	IV: control	n=2				-		

Table 1 Studies of masticatory muscle responses to mandibular forward positioning appliances (cont.)

Author (s)	Study groups	Sample	Age	Material	Muscle (s)	Appliance (s)	Duration	Main finding
Uner <i>et al.</i> ⁶⁰	Angle Class II division 1 malocclusions	n=12 (treated) n=9 (untreated)	11.4±0.3 yrs 10.7±0.5 yrs	-	Masseter, anterior temporalis	Activator	-	(I) In both muscles, there was a significant decrease of activities during maximum clenching. (II) In both muscles, there was a significantly increase of activity at rest but the activity decreased at the end of treatment. (III) The activity of both muscles between the initial and the end of observation without the activator was not different.
Aggarwal, Kharbanda <i>et al.</i> ⁵⁷	Class II Division 1 malocclusion and retruded mandible	female, n=10	9-12 yrs	Surface EMG; peak-to-peak	Masseter, anterior temporalis	Twin-block appliances	Self-control 6 months, experiment 6 months	(I) At rest, both muscles had an increase in peak-to-peak amplitude but it was statistically insignificant in the anterior temporalis muscle. (II) During swallowing, the activity of both muscles was not different between patients with and without the Twin-block appliance. (III) During maximal voluntary clenching, there was a gradual increase in masseter activity.
Hiyama, Ono <i>et al.</i> ⁵⁴	Angle Class II, division 1 malocclusions	n=6 (male 1, female 5)	9.4-11.2 yrs	Intraoral surface EMG; mean integrated value	Lateral pterygoid	Herbst appliances	4-6 months	The activity of lateral pterygoid muscle immediately increased after the insertion, but it decreased after 4-6 months of treatment.
Tabe, Ueda <i>et al.</i> ⁶¹	Variety of skeletal relations and complete dentitions without any serious malocclusions	male, n=12	26.6 yrs	Right-sided portable surface EMG; average rectified value, integrated value, T/M ratio	Masseter, anterior temporalis, digastric	Activator Spring active appliance	Immediate	(I) All muscles had more activity during clenching than during daytime and sleep. (II) The activity of the digastric muscle tended to increase, but the activity of the temporalis muscle tended to decrease. (III) The temporalis-masseter ratios decreased while biting on the appliances.
Erdem <i>et al.</i> ¹⁴	CI division 1 malocclusions	n=15 (treated) n=10 (untreated)	11.3 ± 1.1 yrs 11.0 ± 1.3 yrs	Surface EMG; μV	Masseter, anterior temporalis	Activator	12 months	(I) The activity of the anterior temporalis and masseter muscles significantly increased in both groups. (II) In the treated group, the muscle activity increased significantly more than the untreated group during clenching and chewing, but it was not significantly different during swallowing.

Table 1 Studies of masticatory muscle responses to mandibular forward positioning appliances (cont.)

Author (s)	Study groups	Sample	Age	Material	Muscle (s)	Appliance (s)	Duration	Main finding
Sood, Kharbanda et al. ⁶²	Class II Division 1 malocclusion	female, n=15	10-14 yrs	Surface EMG; μV	Masseter, anterior temporalis	Flexible fixed functional appliance (FORSUS TM)	24 months	(I) The activity significantly decreased during swallowing and clenching at 1 and 3 months after treatment. (II) In 6 months, the muscle activity finally returned to initial levels and remained stable for 24 months.
Cuevas, Cacho et al. ⁴³	Class II division 1 malocclusion	n=27	11.6 yrs	Surface EMG; mean, asymmetry index, activity index	Masseter, anterior and posterior temporalis, supra-hyoid	Teuscher activator with high-pull headgear	After functional treatment (T1) 2 years after orthodontic treatment (T2)	(I) Activity of the muscles decreased at T1 but increased at T2 during clenching. (II) Activity of the suprahyoid muscle increased at T1 but decreased at T2 during swallowing. (III) Activity of the masseter muscle increased at T1 and further increased at T2 during mastication. (IV) There was no significant change in muscle activity during left and right lateral excursions and protrusion for all study periods.
Satygo, Silin et al. ⁷⁰	Class II, division 1 malocclusion No dental malocclusion	n=36 (treated) n=22 (untreated) n=20	7.6±1.3 yrs	Surface EMG; μV	Masseter, anterior temporalis	Pre-orthodontic trainer functional appliance	12 months	(I) There was a significant increase in muscle activity in both sides in the treated group. (II) In the treated group, the recorded EMG values were similar to the normal controls, while the untreated group remained with lower activity.
Di Palma, Tepedino et al. ⁷¹	Angle Class II, division 1 malocclusion	n=10 (male 5, female 5)	9-13 yrs	Surface EMG: percentage overlapping coefficient; torque coefficient; activity index	Masseter, anterior temporalis	Sander functional appliance	12 months	All subjects maintained a muscular equilibrium (POC index: right-left side within muscle; Activity index: masseter vs. temporalis; Torque coefficient: lateral deviant couples), without statistical significant variations.

References

1. Jonsson T, Arnlaugsson S, Karlsson KO, Ragnarsson B, Arnarson EO, Magnusson TE. Orthodontic treatment experience and prevalence of malocclusion traits in an Icelandic adult population. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007;131(1):8.e11-8.
2. Gabris K, Marton S, Madlena M. Prevalence of malocclusions in Hungarian adolescents. *Eur J Orthod* 2006;28(5):467-70.
3. Kositbowornchai S, Keinprasit C, Poomat N. Prevalence and distribution of dental anomalies in pretreatment orthodontic Thai patients. *Khon Kaen Dent J* 2010;13(2):92-9.
4. Cozza P, Baccetti T, Franchi L, De Toffol L, McNamara JA, Jr. Mandibular changes produced by functional appliances in Class II malocclusion: a systematic review. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2006;129(5):599.e1-12; discussion e1-6.
5. Panherz H, Zieber K, Hoyer B. Cephalometric characteristics of Class II division 1 and Class II division 2 malocclusions: a comparative study in children. *Angle Orthod* 1997;67(2):111-20.
6. McNamara JA, Jr. Components of class II malocclusion in children 8-10 years of age. *Angle Orthod* 1981;51(3):177-202.
7. Sessle BJ, Woodside DG, Bourque P, Gurza S, Powell G, Voudouris J, et al. Effect of functional appliances on jaw muscle activity. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1990;98(3):222-30.
8. O'Brien K, Wright J, Conboy F, Sanjie Y, Mandall N, Chadwick S, et al. Effectiveness of treatment for Class II malocclusion with the Herbst or twin-block appliances: a randomized, controlled trial. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2003;124(2):128-37.
9. Yamin-Lacouture C, Woodside DG, Sectakof PA, Sessle BJ. The action of three types of functional appliances on the activity of the masticatory muscles. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1997;112(5):560-72.
10. McNamara JA, Jr. Neuromuscular and skeletal adaptations to altered function in the orofacial region. *Am J Orthod* 1973;64(6):578-606.
11. Panherz H. Activity of the temporal and masseter muscles in class II, division 1 malocclusions. An electromyographic investigation. *Am J Orthod* 1980;77(6):679-88.
12. Takada K, Lowe AA, Freund VK. Canonical correlations between masticatory muscle orientation and dentoskeletal morphology in children. *Am J Orthod* 1984;86(4):331-41.
13. Moss ML, Salentijn L. The primary role of functional matrices in facial growth. *Am J Orthod* 1969;55(6):566-77.
14. Erdem A, Kilic N, Eroz B. Changes in soft tissue profile and electromyographic activity after activator treatment. *Aust Orthod J* 2009;25(2):116-22.
15. Saccucci M, Tecco S, Ierardoa G, Luzzi V, Festa F, Polimeni A. Effects of interceptive orthodontics on orbicular muscle activity: a surface electromyographic study in children. *J Electromyogr Kinesiol* 2011;21(4):665-71.
16. Lowe AA, Takada K. Associations between anterior temporal, masseter, and orbicularis oris muscle activity and craniofacial morphology in children. *Am J Orthod* 1984;86(4):319-30.
17. Lowe AA. Correlations between orofacial muscle activity and craniofacial morphology in a sample of control and anterior open-bite subjects. *Am J Orthod* 1980;78(1):89-98.
18. Ingervall B. Facial morphology and activity of temporal and lip muscles during swallowing and chewing. *Angle Orthod* 1976;46(4):372-80.
19. Panherz H, Anehus-Panherz M. Muscle activity in class II, division 1 malocclusions treated by bite jumping with the Herbst appliance. An electromyographic study. *Am J Orthod* 1980;78(3):321-9.
20. Miralles R, Hevia R, Contreras L, Carvajal R, Bull R, Manns A. Patterns of electromyographic activity in subjects with different skeletal facial types. *Angle Orthod* 1991;61(4):277-84.
21. Witkowska A. An outline of the history of electromyography. The significance of surface electromyography in neurophysiological diagnosis. *Nowiny Lekarskie* 2008;77(3):227-300.
22. Misra UK, Kalita J, Nair PP. Diagnostic approach to peripheral neuropathy. *Ann Indian Acad Neur* 2008;11(2):89-97.
23. Basmajian JV. Control and training of individual motor units. *Science* 1963;141(3579):440-1.
24. Beniczky S, Conradsen I, Henning O, Fabricius M, Wolf P. Automated real-time detection of tonic-clonic seizures using a wearable EMG device. *Neurology* 2018;90(5):e428-e34.
25. Grabb PA, Albright AL, Scلابassi RJ, Pollack IF. Continuous intraoperative electromyographic monitoring of cranial nerves during resection of fourth ventricular tumors in children. *J Neurosurg* 1997;86(1):1-4.
26. Pinho JC, Caldas FM, Mora MJ, Santana-Penin U. Electromyographic activity in patients with temporomandibular disorders. *J Oral Rehabil* 2000;27(11):985-90.
27. Kumar S, Prasad N. Cervical EMG profile differences between patients of neck pain and control. *Disabil Rehabil* 2010;32(25):2078-87.
28. Luca CD. Electromyography. Encyclopedia of Medical Devices and Instrumentation. John Wiley Publisher 2006:98-109.
29. Nishi SE, Basri R, Alam MK. Uses of electromyography in dentistry: An overview with meta-analysis. *Eur J Oral Sci* 2016;10(3):419-25.
30. DeLuca CJ. The Use of Surface Electromyography in Biomechanics. *J Appl Biomech* 1997(13):135-63.
31. Chowdhury RH, Reaz MB, Ali MA, Bakar AA, Chellappan K,

- Chang TG. Surface electromyography signal processing and classification techniques. *Sensors* 2013;13(9):12431-66.
32. Moyers RE. Temporomandibular muscle contraction patterns in Angle Class II, division 1 malocclusions; an electromyographic analysis. *Am J Orthod* 1949;35(11):837-57, illust.
33. Yang JF, Winter DA. Electromyographic amplitude normalization methods: improving their sensitivity as diagnostic tools in gait analysis. *Arch Phys Med Rehabil* 1984;65(9):517-21.
34. Knutson LM, Soderberg GL, Ballantyne BT, Clarke WR. A study of various normalization procedures for within day electromyographic data. *J Electromyogr Kinesiol* 1994;4(1):47-59.
35. Huang DH, Chou SW, Chen YL, Chiou WK. Frowning and Jaw Clenching Muscle Activity Reflects the Perception of Effort During Incremental Workload Cycling. *J Sci Med Sport* 2014;13(4):921-8.
36. O'Leary S, Falla D, Jull G. The relationship between superficial muscle activity during the cranio-cervical flexion test and clinical features in patients with chronic neck pain. *Man Ther* 2011;16(5):452-5.
37. Nishi SE, Basri R, Alam MK, Komatsu S, Komori A, Sugita Y, *et al.* Evaluation of Masticatory Muscles Function in Different Malocclusion Cases Using Surface Electromyography. *J Hard Tissue Biol* 2017;26(1):23-8.
38. Iodice G, Danzi G, Cimino R, Paduano S, Michelotti A. Association between posterior crossbite, skeletal, and muscle asymmetry: a systematic review. *Eur J Orthod* 2016;38(6):638-51.
39. Reynolds AK, Nickel JC, Liu Y, Leeper DK, Riffel KM, Liu H, *et al.* Sex differences in jaw muscle duty factors during exercise in two environments: A pilot study. *J Electromyogr Kinesiol* 2016;30:15-22.
40. Wozniak K, Piatkowska D, Szyszka-Sommerfeld L, Buczkowska-Radlinska J. Impact of Functional Appliances on Muscle Activity: A Surface Electromyography Study in Children. *Med Sci Monit* 2015;21:246-53.
41. Sabashi K, Saitoh I, Hayasaki H, Iwase Y, Kondo S, Inada E, *et al.* A Cross-Sectional Study of Developing Resting Masseter Activity in Different Angle Classifications in Adolescence. *CRANIO* 2009;27(1):39-45.
42. Cuevas MJ, Cacho A, Alarcon JA, Martin C. Longitudinal evaluation of jaw muscle activity and mandibular kinematics in young patients with Class II malocclusion treated with the Teuscher activator. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2013;18(3):e497-504.
43. Wieczorek A, Loster JE. Activity of the masticatory muscles and occlusal contacts in young adults with and without orthodontic treatment. *BMC Oral Health* 2015;15(1):116.
44. McNamara JA, Jr., Peterson JE, Jr., Alexander RG. Three-dimensional diagnosis and management of Class II malocclusion in the mixed dentition. *Semin Orthod* 1996;2(2):114-37.
45. Chen JY, Will LA, Niederman R. Analysis of efficacy of functional appliances on mandibular growth. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2002;122(5):470-6.
46. DiBiase AT, Cobourne MT, Lee RT. The use of functional appliances in contemporary orthodontic practice. *Br Dent J* 2015;218(3):123-8.
47. Pancherz H. A cephalometric analysis of skeletal and dental changes contributing to Class II correction in activator treatment. *Am J Orthod* 1984;85(2):125-34.
48. Bjork A. The principle of the Andresen method of orthodontic treatment a discussion based on cephalometric x-ray analysis of treated cases. *A Am J Orthod* 1951;37(7):437-58.
49. Hirzel H-C, Grewe JM. Activators: A practical approach. *Am J Orthod* 1974;66(5):557-70.
50. Saikoski LZ, Cançado RH, Valarelli FP, Freitas KMSd. Dento-skeletal effects of Class II malocclusion treatment with the Twin Block appliance in a Brazilian sample: A prospective study. *Dental Press J Orthod* 2014;19:36-45.
51. Janson GR, Toruno JL, Martins DR, Henriques JF, de Freitas MR. Class II treatment effects of the Frankel appliance. *Eur J Orthod* 2003;25(3):301-9.
52. Toth LR, McNamara JA, Jr. Treatment effects produced by the twin-block appliance and the FR-2 appliance of Frankel compared with an untreated Class II sample. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1999;116(6):597-609.
53. Hiyama S, Ono PT, Ishiwata Y, Kuroda T, McNamara JA, Jr. Neuromuscular and skeletal adaptations following mandibular forward positioning induced by the Herbst appliance. *Angle Orthod* 2000;70(6):442-53.
54. Ahlgren J. Early and late electromyographic response to treatment with activators. *A Am J Orthod* 1978;74(1):88-93.
55. Moss JP. Function-fact or fiction? *Am J Orthod* 1975;67(6):625-46.
56. Aggarwal P, Kharbanda OP, Mathur R, Duggal R, Parkash H. Muscle response to the twin-block appliance: an electromyographic study of the masseter and anterior temporal muscles. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1999;116(4):405-14.
57. Ingervall B, Bitsanis E. Function of masticatory muscles during the initial phase of activator treatment. *Eur J Orthod* 1986;8(3):172-84.
58. Miralles R, Berger B, Bull R, Manns A, Carvajal R. Influence of the activator on electromyographic activity of mandibular elevator muscles. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1988;94(2):97-103.
59. Uner O, Darendeliler N, Bilir E. Effects of an activator on the masseter and anterior temporal muscle activities in Class II malocclusions. *J Clin Pediatr Dent* 1999;23(4):327-32.

60. Tabe H, Ueda HM, Kato M, Nagaoka K, Nakashima Y, Matsumoto E, *et al.* Influence of functional appliances on masticatory muscle activity. *Angle Orthod* 2005;75(4):616-24.
61. Sood S, Kharbanda OP, Duggal R, Sood M, Gulati S. Neuro-muscular adaptations with flexible fixed functional appliance--a 2-year follow-up study. *J Orofac Orthop* 2011;72(6):434-45.
62. Yuen SWH, Hwang JCC, Poon PWF. Changes in power spectrum of electromyograms of masseter and anterior temporal muscles during functional appliance therapy in children. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1990;97(4):301-7.
63. Moyers RE. An electromyographic analysis of certain muscles involved in temporomandibular movement. *Am J Orthod* 1950;36(7):481-515.
64. Latif A. An electromyographic study of the temporalis muscle in normal persons during selected positions and movements of the mandible. *Am J Orthod* 1957;43(8):577-91.
65. Ferrario VF, Sforza C, Colombo A, Ciusa V. An electromyographic investigation of masticatory muscles symmetry in normo-occlusion subjects. *J Oral Rehabil* 2000;27(1):33-40.
66. Tartaglia GM, Moreira Rodrigues da Silva MA, Bottini S, Sforza C, Ferrario VF. Masticatory muscle activity during maximum voluntary clench in different research diagnostic criteria for temporomandibular disorders (RDC/TMD) groups. *Man Ther* 2008;13(5):434-40.
67. Tallgren A, Christiansen RL, Ash M, Jr., Miller RL. Effects of a myofunctional appliance on orofacial muscle activity and structures. *Angle Orthod* 1998;68(3):249-58.
68. Pancherz H, Anehus-Pancherz M. Muscle activity in Class II, Division 1 malocclusions treated by bite jumping with the Herbst appliance. *Am J Orthod* 1980;78(3):321-9.
79. Satygo EA, Silin AV, Ramirez-Yanez GO. Electromyographic muscular activity improvement in Class II patients treated with the pre-orthodontic trainer. *J Clin Pediatr Dent* 2014;38(4):380-4.
70. Di Palma E, Tepedino M, Chimenti C, Tartaglia GM, Sforza C. Effects of the functional orthopaedic therapy on masticatory muscles activity. *J Clin Exp Dent* 2017;9(7):e886-e91.
71. Saccucci M, Tecco S, Ierardoa G, Luzzi V, Festa F, Polimeni A. Effects of interceptive orthodontics on orbicular muscle activity: A surface electromyographic study in children. *J Electromyogr Kinesiol* 2011;21(4):665-71.

Case Report

Management of a Traumatized Maxillary Left Central Incisor by Moving the other Central Incisor across the Midline

Sikkared Parinyachaiphun¹, Pornhathai Liewsaitong¹, Thanit Charoenrat², Niranlarp Rerksanan²

¹Private practice, Bangkok, Thailand

²Department of Orthodontics, Faculty of dentistry, Chulalongkorn university, Bangkok, Thailand

Abstract

A 12-year-old boy who had a bicycle accident was sent to the orthodontic department to resolve his protrusion problem. His maxillary left lateral incisor was missing because of the accident. The avulsed maxillary left central incisor was replanted. However, three month later, it had external root resorption, so it was removed. The other traumatized maxillary right central incisor was moved across the midline to precede the maxillary left central incisor. Orthodontic treatment was completed within 30 months. Then, the patient was referred to the department of periodontology and operative dentistry for esthetic crown lengthening, frenectomy and composite veneers. There was no significant root resorption. The patient and his parents were satisfied with the results.

Keyword: Midline crossing, Root resorption, Traumatized tooth

Received date: Dec 17,2019

Revised date: Feb 28,2020

Accepted date: Mar 2,2020

Doi: 10.14456/jdat.2020.11

Correspondence to:

Pornhathai Liewsaitong. 29/84 Surawong Rd, Suriyawong, Bangrak, Bangkok 10500, Thailand. Tel: 0819855384 Email: liew.pht@gmail.com

Introduction

Traumatic dental injuries were found in one third of Thai children aged 11-13 years old.¹ The severity of injuries varies from crown fracture, crown-root fracture to periodontium injuries or even losing some teeth. To manage the space after losing an upper anterior tooth could be challenging and a multidisciplinary approach may be needed. Treatment options are replanting the tooth, opening space for dental substitution, substituting the central incisor or doing a tooth transplantation.² Moving

the maxillary central incisor across midline, though rarely being done, might be a good option in some situations. A study in beagle dogs reported a root resorption after moving a central incisor across the midline³ and its following study showed that removing the mid palatal suture area before moving an incisor worsened the resorption.⁴ However, Bosio *et al*, reported a satisfied outcome after moving a central incisor across midline in a patient who lost the maxillary left central incisor and had an ipsilateral canine

impacted.⁵ Other reports showed treatments of patient under 12 years old with successful outcomes.⁶⁻⁸ In this article, the maxillary right central incisor which was moved across the midline had been traumatized. The root resorption was being observed during the treatment. This article will explain the treatment of a patient who had a large overjet by moving the traumatized 11 across the midline to substitute the 21.

Diagnosis and etiology

A 12-year-old boy was referred for orthodontic consultation. His chief complaint was dental protrusion.

He had a maxillary left central incisor and a maxillary left lateral incisor avulsed in a bicycle accident eight months ago but only 21 was replanted. 11 was subluxation and had an uncomplicated crown-root fracture with a negative EPT test. Root canal treatments were done within seven days after the accident. However, 21 was diagnosed with replacement root resorption three months after the trauma. The patient had no other medical or dental problems. No other unusual habits were found. Photographs, dental impressions and radiographs were collected during the first visit (Fig. 1, 2, 3, 4).



Figure 1 Facial and intraoral pretreatment photographs

For clinical examination, the patient had a mesofacial type and symmetric face with a convex profile. He had a competent lip at rest and upper, lower lip protrusion. When he smiled, 20 % of his upper incisor showed. The upper dental midline was 2 mm deviated to the left facial midline while a lower midline was on the facial center. Intraoral examination showed a bilateral full-cusp Class II molar relationship. 11 was severely protruded and discolored. 22 was clinically missing. Overjet and overbite were 8 mm and 2 mm, respectively. He had mild spacing in both the upper and lower arch.

The panoramic radiograph (Fig. 3A) revealed no fractures of both condylar necks and clear maxillary sinuses. All third molars were forming. The periapical films showed normal periodontal space of 11 and 31

which had root canal treatment done after the trauma (Fig 3B). 21 which was filled with calcium hydroxide, had a sign of external root resorption. The CBCT revealed the distance between the root of 11 and incisive canal was 2.48 mm and 3.39 mm at the distance of opening of canal and a root apex (Fig 5). Pre-treatment cephalometric analysis presented skeletal Class I with orthognathic maxilla and mandible, skeletal deep bite (Fig 4, Table 1). The maxillary and mandibular incisors were protruded and the interincisal angle was acute. Nasolabial angle was also acute and the distance of the upper lip to E-line was large.

The patient was diagnosed with skeletal Class I skeletal deep bite, dental Class II division 1 malocclusion, upper and lower lip protrusion.



Figure 2 Pretreatment dental casts

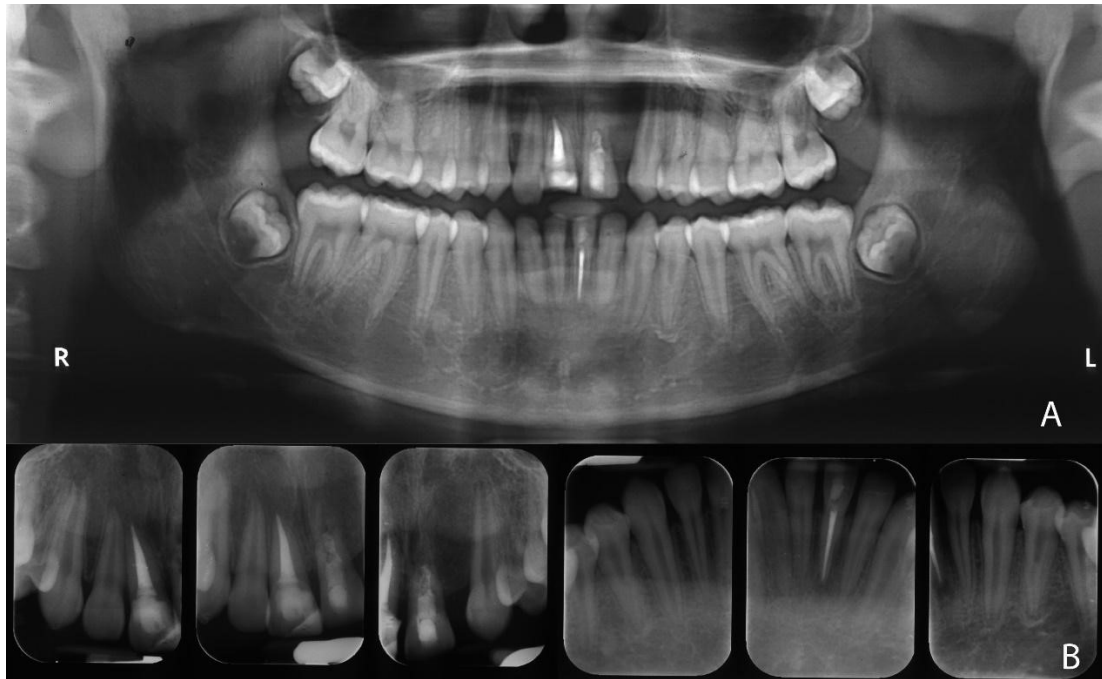


Figure 3 A pretreatment panoramic radiograph, B pretreatment periapical radiograph of maxillary and mandibular anterior teeth



Figure 4 Pretreatment cephalometric radiograph



Figure 5 A pretreatment CBCT revealed the distance between the upper right incisor root and the incisive canal was 2.48 mm at the level of incisive canal opening B 3.39 at the level of root apex C post treatment CBCT, 0.7 mm at the level of incisive canal opening D 0.85 mm at the level of root apex

Table 1 Cephalometric values pre and immediate post treatment

Measurement	Thai norm	Pretreatment	Interpretation	Posttreatment
SNA	79-87	83	Orthognathic Mx	81
SNB	76-82	79	Orthognathic Md	80
ANB	2-6	4	Skeletal Class I	1
Wits	(-5) - (-1)	2	Dental base Class I	-1
FMA	21-29	20	Skeletal deep bite	18.5
UI-NA	24-32	51.5	UI proclination	28
UI-NA (mm)	4-8	15.5	UI protrusion	9.5
LI-NB	26-38	36	LI normal inclination (protrusion tendency)	29
LI-NB (mm)	4-8	10.5	LI protrusion	8.5
IMPA	95-103	108	LI proclination	99.5
UI-LI	110-126	90.5	Acute interincisal angle	121.5
H- angle	10 -18	27.5	Convex profile	23
UL to E-line	-3 - 1	9	Upper lip protrusion	4.5
LL to E-line	0-4	11	Lower lip protrusion	6.5
FCA	5-13	12.5	Normal facial contour	12
NLA	78 - 100	78	Acute NLA	83

Treatment objective

The primary goal of the treatment was to reduce upper teeth protrusion and to improve facial esthetics. Canine Class II malocclusion would be corrected to Class I in order to obtain normal overjet, overbite while maintaining skeletal relationship and reduce upper and lower lip protrusion.

Due to the full cusp Class II molar relationship, two treatment plans were possible, as follows:

1. Extraction of 21 and move tooth 11 across the midline to substitute 21
2. Extraction of both maxillary first premolars and 21 with post treatment dental substitution on maxillary left central and lateral incisors
3. Extraction of 14 and transplant to 21 position

Treatment selected

After discussions with the patient and his parents, the first treatment plan was selected, 11 would be moved across the midline and reshaped to mimic 21. Besides, 12, 13 and 23 would need restorations for better esthetics. The molar relationship would remain in full cusp Class II and the maxillary premolars would function as canines to obtain canine Class I relationship on both sides. The overjet would be reduced to normal. The lower arch would be aligned, and the spaces would be closed. According to this plan, the patient would not need to wear dental prostheses afterwards. The disadvantages of this plan were the risks of root resorption during moving the traumatized incisor across midline, massive restorations and periodontal surgery on the upper anterior region. For the second treatment option, the patient has to lose two other sound teeth and get dental substitution for 21 and 22 during the waiting period for growth cessation before being able to place the implants. Moreover, due to the full cusp Class II canine relationship, two TADs were needed in order to obtain maximum anchorage for maximum

overjet reduction. In the third option, 14 will be removed to provide a space for overjet reduction and will be autotransplanted to the 21 position. The success rate of autotransplantation is high especially when premolars are transplanted to maxillary incisor areas.⁹ The transplanted tooth can be orthodontically moved within three months after procedure without any sign of root resorption.¹⁰ After transplantation 14 and 23 would need restoration and crown lengthening for better esthetics. The disadvantages of this plan were the patient had to undergo a transplant surgical procedure, endodontic treatment of 14, risk of 14 ankylosis and root resorption which were possible complications after transplantation. However the labial frenum will not be shifted and no implant would be needed.

Treatment progress

21 was removed due to its poor condition. Maxillary teeth were bonded with Ormco® brackets, Roth prescription (slot 0.018 x 0.025 inches). 11 was bonded with a left central incisor's bracket. 12 was bonded with a right central incisor's bracket. Transpalatal arch was banded to the maxillary first molar and bonded to both left and right maxillary first and second premolars in order to reinforce the anchorage for moving the incisor across the midline (Fig. 6).



Figure 6 Transpalatal arch bonded to maxillary premolars and banded to maxillary molars to prevent arch collapse during the treatment

Elastomeric chains were used to move the maxillary upper right incisor across midline on 0.017" x 0.025" stainless steel main arch wire. It took seven months to move this tooth to its new position. By shifting 11 across the midline, 12 drifted into the right maxillary central incisors position spontaneously. Reverse L-loops with 0.016" x 0.022" stainless steel wire were used to maintain the overbite and reduce the overjet after all the incisors were in their new position.¹¹ After debonding, temporary composite resin was applied between 11 and 12 to maintain

the space while waiting for the composite veneers. A fixed retainer was placed from the maxillary premolar to premolar (Fig. 7). After completion of restorations, wraparound retainers were delivered in both upper and lower arches.

Six months after debonding, crown lengthening from 14 to 24 and frenectomy were done to enhance the esthetics. Composite veneers were done six months afterwards (Fig. 8). Final restoration would be defined again after the patient reached the age of 20 years old.



Figure 7 Extraoral and intraoral posttreatment photographs (debonding date)



Figure 8 Intraoral pictures after anterior teeth restoration

Treatment results

After 30 months of orthodontic treatment, the appliances were debonded (Fig. 7). Good occlusion with 2 mm overjet and overbite were obtained. Full cusp Class II molar relationship was maintained. The maxillary first premolars were in the position of canines to mimic canine Class I and no balancing interference was observed. The width of upper canines was reduced on both mesial and distal side to resemble lateral incisors. From lateral cephalometric superimposition, the mandible grew 5 mm forward and 11 mm downward causing the reduction of ANB angle. The upper incisors were retracted for 5 mm by means of controlled tipping. The maxillary molars were moved 2 mm mesially because of the use of Class III elastic. Moreover, mandibular growth carried the upper first molars forward along with the lower first molar without changing the molar relationship. In mandibular arch, lower incisors were tipped 2 mm lingually while lower molars were extruded 3.5 mm without any antero-posterior movement (Fig. 9).

No significant root resorption was found on the right maxillary central incisor (Fig. 10). CBCT showed a shift of median palatine suture according to upper incisal movement (Fig. 11). The distance between the

right upper incisor reduced to 0.7 mm and 0.85 mm respectively (Fig. 5). The patient and his parents were satisfied with the results of appearance.

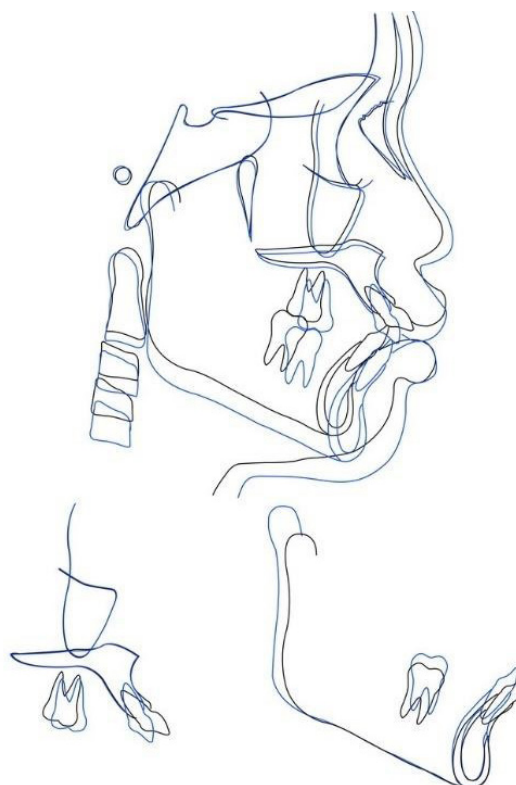


Figure 9 Superimposition of cephalometric radiograph (initial in black, debonding in blue)

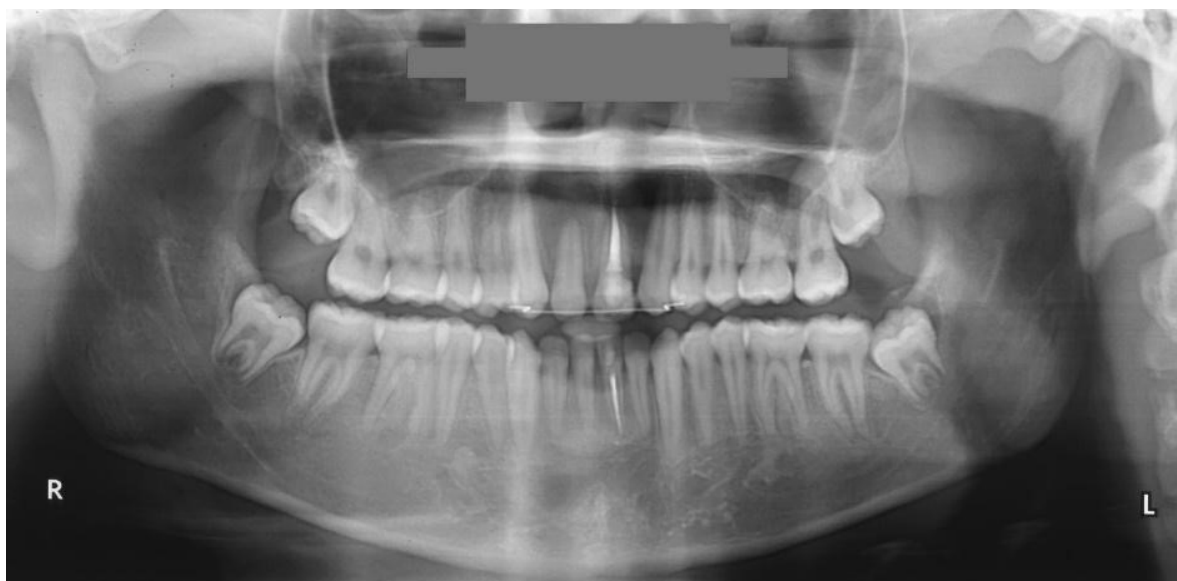


Figure 10 Post treatment panoramic radiograph

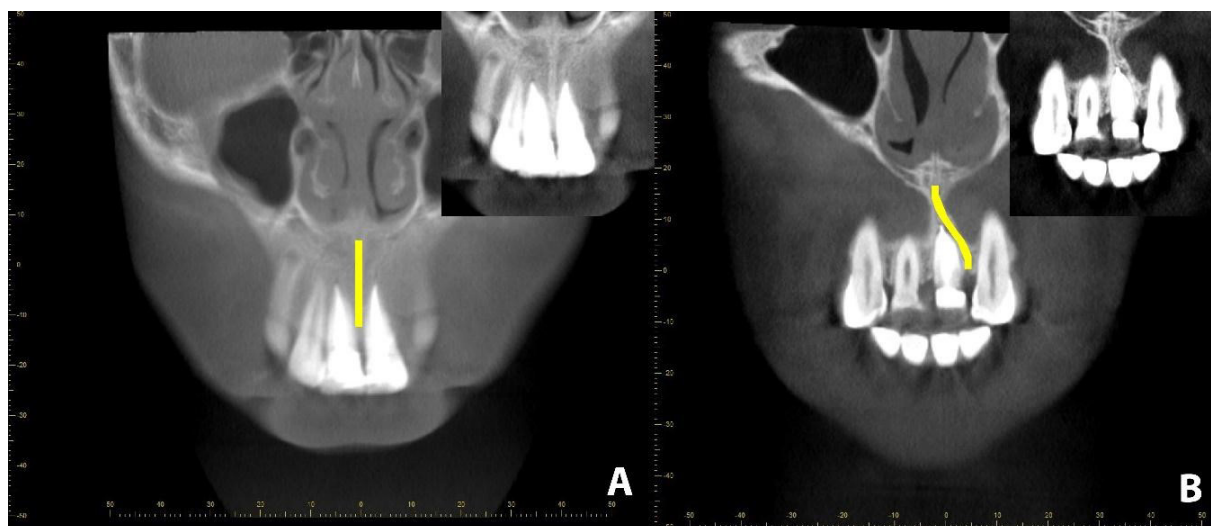


Figure 11 CBCT of the palatine suture A before treatment B after treatment

Discussion

To reduce the large overjet in a Class II full cusp patient, removing the tooth in each quadrant to provide the space is one of the general choices. In this case, the patient had one traumatized incisor with poor condition and had lost one tooth in the same quadrant, the tooth from the other side had to be moved to precede the one in poor condition. The important structure in the median line of the palate were the median palatine suture and the

incisive canal. The contact of the root and the cortical plate of the palatine canal can cause a root resorption.^{12,13} The CBCT prior to the treatment should be done to locate the distance between the incisors apex and the incisive canal. The average distance from the incisive canal to an upper central incisor were 3 mm and 4 mm at the level of the incisive canal opening and the root apex of the maxillary incisor, respectively.¹⁴ The CBCT shows no

contact of both structures (Fig. 5). Moreover, a previous study showed the shifting of the median palatine suture as well as the labial frenum and the incisive papilla when moving the incisor across the midline.⁵ It implied that the tooth did not cross the median palatal suture, but the structure remodeled as the tooth was moved. This case also showed the deviation of the suture (Fig. 11).

The traumatized teeth was reported to be more prone to develop root resorption than a normal tooth.¹⁵ If the tooth shows no sign of root resorption at least 4-5 months after the trauma, that tooth will have a lower risk of root resorption.¹⁶ In the study, 11 was traumatized for one year without any sign of resorption. And also there was no significant root resorption detected after the treatment. This suggests that a tooth with a history of trauma can be successfully moved across the midline without significant root resorption.

As the frenum was shifted, the frenectomy had to be done to improve the esthetic. There was a six-month waiting period after debonding before the periodontal surgery and the restorative treatment. In addition, gingival margin, tooth size and shape were attributed to smile esthetics. In this report, the right lateral incisor was moved to substitute the right central incisor. Both maxillary canines were substituted as lateral incisors. Kokich and Kinzer recommended some guidelines for lateral incisor substitution such as bracket placement level, torque and reducing enamel on the distal surface more than on the mesial surface.¹⁷ Using an upside down canine bracket to facilitate the finishing step is also recommended.¹⁸ In this case, the upper canine were bonded without placing brackets upside down because the initial inclination were acceptable. No additional torque in the upper canines was needed at the end. For the smile activeness, shape size and color of canine had influences.¹⁹ The canines were reshaped after being debonded. Direct composite veneers from an upper right premolar to a left premolar were chosen as a final restoration for this patient because of his age. Wraparound retainers were used without a fixed retainer after finishing all the upper restoration.

Conclusion

In adolescent patients, moving a central incisor across the midline can be done even if the incisor was traumatized. CBCT before starting treatment is recommended to avoid contact of an incisor root to the incisive canal. Median palatine suture would be remodeled as an incisor was moved crossed the midline. Frenectomy needs to be performed to enhance the esthetic. Long term stability needs to be investigated.

Reference

1. Malikaew P, Watt RG, Sheiham A. Prevalence and factors associated with traumatic dental injuries (TDI) to anterior teeth of 11-13 year old Thai children. *Community Dent Health* 2006;23(4):222-7.
2. Kokich VG, Crabill KE. Managing the patient with missing or malformed maxillary central incisors. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2006;129(4Suppl):S55-63.
3. Follin M, Ericsson I, Thilander B. Orthodontic movement of maxillary incisors through the midpalatal suture area—an experimental study in dogs. *Eur J Orthod* 1984;6(4):237-46.
4. Follin M, Ericsson I, Thilander B. Orthodontic tooth movement through the midpalatal suture area after surgical removal of the suture. An experimental study in dogs. *Eur J Orthod* 1985;7(1):17-24.
5. Bosio JA, Bradley TG, Hefti AF. Moving an incisor across the midline: a treatment alternative in an adolescent patient. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2011;139:533-43.
6. Melnik AK. Orthodontic movement of a supplemental maxillary incisor through the midpalatal suture area. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1993;104(1):85-90.
7. McCollum AG. Crossing the midline: a long-term case report. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1999;115:559-62.
8. Pair J. Movement of a maxillary central incisor across the midline. *Angle Orthod* 2011;81(2):341-9.
9. Kvint S, Lindsten R, Magnusson A, Nilsson P, Bjerklin K. Auto-transplantation of teeth in 215 patients. A follow-up study. *Angle Orthod* 2010;80(3):446-51.
10. Ferreira MM, Ferreira HM, Botelho F, Carrilho E. Autotransplantation combined with orthodontic treatment: a case involving the maxillary central incisors with root resorption after traumatic injury. *Restor Dent Endod* 2015;40(3):236-40.
11. Techalertpaisarn P, Versluis A. Analysis of reversed L-loops as closing loops with anterior intrusive force. *J Orthod* 2018;45(3):192-7.
12. Chung CJ, Choi YJ, Kim KH. Approximation and contact of the

maxillary central incisor roots with the incisive canal after maximum retraction with temporary anchorage devices: Report of 2 patients.

Am J Orthod Dentofacial Orthop 2015;148(3):493-502.

13. Pan Y, Chen S. Contact of the incisive canal and upper central incisors causing root resorption after retraction with orthodontic mini-implants: A CBCT study. *Angle Orthod* 2019;89(2):200-5.

14. Matsumura T, Ishida Y, Kawabe A, Ono T. Quantitative analysis of the relationship between maxillary incisors and the incisive canal by cone-beam computed tomography in an adult Japanese population. *Prog Orthod* 2017;18(1):24.

15. Goldson L, Henrikson CO. Root resorption during Begg treatment; a longitudinal roentgenologic study. *Am J Orthod* 1975;68(1):55-66.

16. Malmgren O, Goldson L, Hill C, Orwin A, Petrini L, Lundberg M.

Root resorption after orthodontic treatment of traumatized teeth.

Am J Orthod 1982;82(6):487-91.

17. Kokich VO, Jr., Kinzer GA. Managing congenitally missing lateral incisors. Part I: Canine substitution. *J Esthet Restor Dent* 2005; 17(1):5-10.

18. Thickett E, Taylor NG, Hodge T. Choosing a pre-adjusted orthodontic appliance prescription for anterior teeth. *J Orthod* 2007;34(2):95-100.

19. Brough E, Donaldson AN, Naini FB. Canine substitution for missing maxillary lateral incisors: the influence of canine morphology, size, and shade on perceptions of smile attractiveness. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2010;138(6):705.e1-9; discussion 705-7.

Case Report

Sectional Impression Trays with An Interlocking Handle Using Implant Impression Components to Fabricate Interim Dentures for A Patient with Scleroderma-induced Microstomia

Watcharapong Aroonsang¹, Surasak Yowcharoensuk²

¹Department of Prosthodontics, Faculty of Dentistry, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

²Dental World Clinic Chiang Mai, 180/1 Raj Chiang Saen Road, Haiya, Muang, Chiang Mai, Thailand

Abstract

Recording impressions in patients with microstomia is usually difficult for both the patients and clinicians. It is impossible to use a conventional impression procedure for patients with a limited mouth opening. So, modification of the clinical and laboratory procedures is necessary. This case report describes the construction of maxillary and mandibular sectional impression trays with an interlocking handle, using implant impression components, for a patient with microstomia induced by scleroderma.

Keyword: Microstomia, Scleroderma, Sectional tray

Received date: Jul 9,2019

Revised date: Aug 21,2019

Accepted date: Jan 27,2020

Doi: 10.14456/jdat.2020.12

Correspondence to:

Watcharapong Aroonsang, Department of Prosthodontics, Faculty of Dentistry, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200 Thailand. Tel: 053-944438 Email: watcharapong.a@cmu.ac.th, awatcharapong@gmail.com

Introduction

Scleroderma is an autoimmune disease that affects connective tissues and blood vessels.¹ This condition leads to fibrosis, thickened skin and mucosa, and sometimes problems with internal organs and joints. Facial skin becomes hard and tight, resulting in a mask-like appearance and a reduced mouth opening. Patients may present finger and toe deformities (Raynaud phenomenon). This condition is challenging in dental treatment due to an abnormally small oral orifice (microstomia) and increased tongue rigidity.

Without a surgical operation to enlarge the oral aperture, it is difficult to provide prosthetic treatment for patients with microstomia caused by scleroderma. Prosthodontic management has been described in the literature.²⁻⁵ The insertion of a full-arch stock impression tray may not be possible due to a limited mouth opening. Treatment modifications include flexible impression trays,⁶ flexible stock trays⁷ and sectional impression trays.^{3,4,8} Some patients may complain of an inability to place and

remove the prostheses. Several designs of sectional collapsed dentures have also been suggested.^{5,9,10}

This clinical report describes a technique to fabricate maxillary and mandibular sectional impression trays with an interlocking handle connected by an implant impression post and an implant analog, collectively known as implant impression components, for a partially edentulous patient with microstomia induced by scleroderma.

Clinical Report

A 60-year-old, partially edentulous man with microstomia induced by scleroderma was seeking prosthodontic treatment to replace missing teeth, which were 11, 12, 21, 22, 45, 46 and 47 at a private dental clinic in Chiang Mai, Thailand. He presented tight and mask-like facial skin along with hand deformities. Oral examination revealed a limited mouth opening which measured to

be about 18 mm between the lower border of the upper lip and the incisal edge of the mandibular central incisor (Fig. 1). He also presented limited tongue movement. His oral hygiene was poor and extensive caries were found on some of the remaining teeth. Treatment options were discussed, which were removable prostheses and implant therapy. The patient did not agree to any surgical treatments to enlarge the oral orifice, nor to implant therapy.

The treatment goals were to maintain good oral hygiene, control dental caries, and replace the missing teeth by means of removable prostheses. The sequence of treatment included extraction of non-restorable teeth, periodontal treatment, restorative treatment and caries control, interim acrylic partial dentures and definitive removable partial dentures.

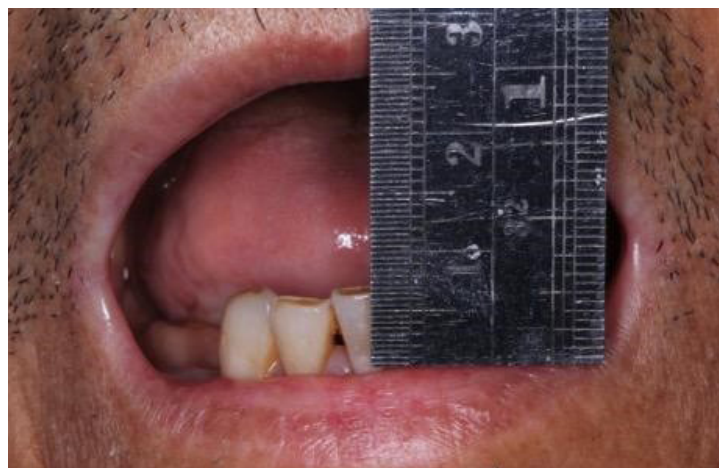


Figure 1 Extra-oral view of patient with a limited mouth opening of 18 mm

Preliminary impression and fabrication of study models

After periodontal and restorative treatments were rendered, the patient returned two weeks following the extraction. The maxillary and mandibular interim acrylic partial dentures were fabricated to transition the patient through the healing phase and for esthetic purposes. A full-arch stock tray could not be inserted due to the limited oral orifice. So, four sectional, stock, perforated trays were used to make the preliminary impression on each side of both dental arches according to the technique

described by Dikbas and colleagues⁴ and Suzuki and colleagues.¹¹ Four half-arch one-step impressions were made using putty and light-bodied polyvinylsiloxane (PVS) impression material (Silagum, DMG, Hamburg, Germany). One side of the impression was poured with Type III dental stone (Kromotipo 3, Lascod, Florence, Italy), and a half-arch cast was fabricated. Then, the impression of the other side was trimmed to remove the excess material and positioned on the cast (Fig. 2A). To ensure complete seating of the impression on the cast, care was taken that only the teeth

came in contact with the impression (Fig. 2B). The second half of the cast was poured with dental stone while the

assembly was held with finger pressure until the stone was set. Finally, a one-piece preliminary cast was fabricated (Fig. 3).

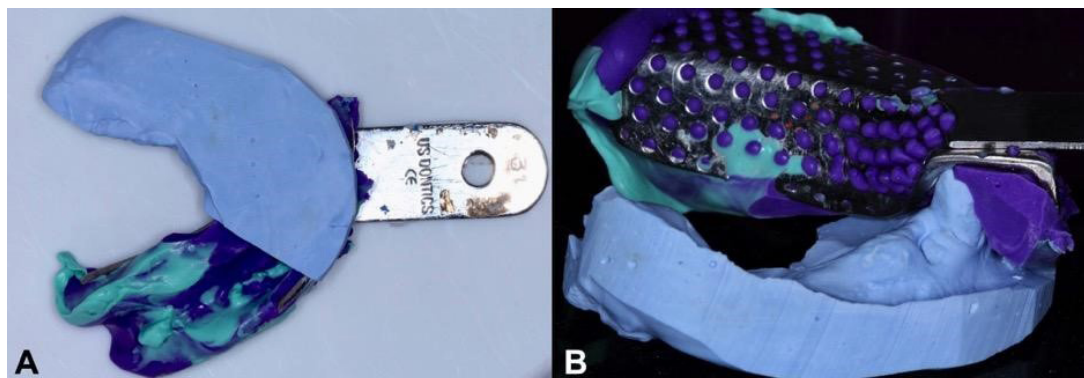


Figure 2 A) A half-arch cast was positioned in the impression of the other side of the jaw B) Only the teeth came in contact with the impression to ensure complete seating.

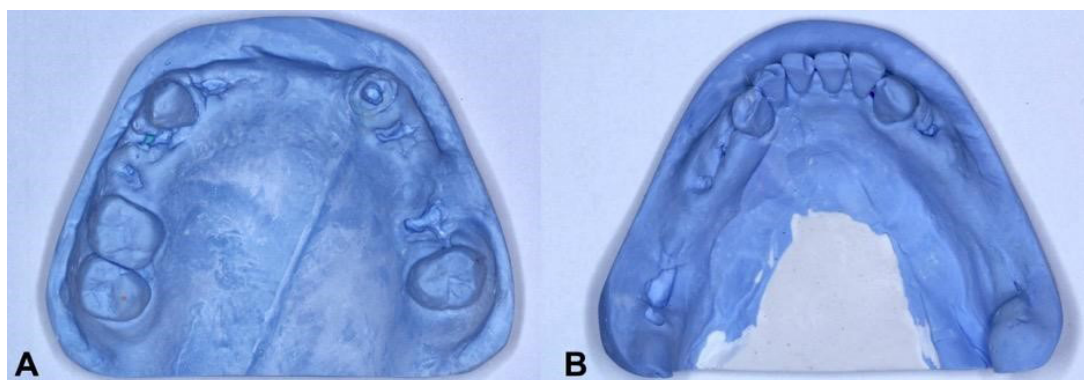


Figure 3 The completed maxillary and mandibular preliminary casts.

The preliminary casts were carefully examined. The design of the interim acrylic partial dentures included rest seats on the maxillary molars; teeth 16, 17 and 27, whereas 33 and 43 were planned to receive wrought-wire clasps. The endodontically treated tooth 23 was planned to have a short metal coping to support the maxillary prosthesis. Occlusal rest seats were prepared, using a 014 round diamond bur, on the mesial marginal ridge of the upper right first molar, and distal marginal ridges of both upper second molars.

Sectional impression trays with an interlocking handle

The remaining teeth on the preliminary casts were covered with two layers of pink baseplate wax as a spacer. Palate was used as a tissue stop for a maxillary tray. Mandibular tray stoppers were placed on incisal edges of teeth 33 and 43. The custom impression trays

were fabricated with autopolymerizing acrylic resin (Instant Tray Mix Acrylic Resin, Lang, Wheeling, IL, USA) on the preliminary casts. The trays were then sectioned along the midline using a cutting disc. The tray handle was also sectioned (Fig. 4), and the implant impression coping and lab analog (Biohorizon, Birmingham, AL, USA) were attached to the handle using pattern resin (Pattern Resin LS, GC, Tokyo, Japan) (Fig. 5). The impression coping was attached to one side of the sectioned tray, and the implant analog was attached to the other side, so the sectional tray could be precisely re-assembled. To stabilise the trays with an accurate fit, the 5 mm x 5 mm key-ways were prepared on one side of the tray in the palatal area of the maxillary tray and the lingual area of the mandibular tray. Then keys made of pattern resin were added on the other side to provide additional support (Fig. 6).

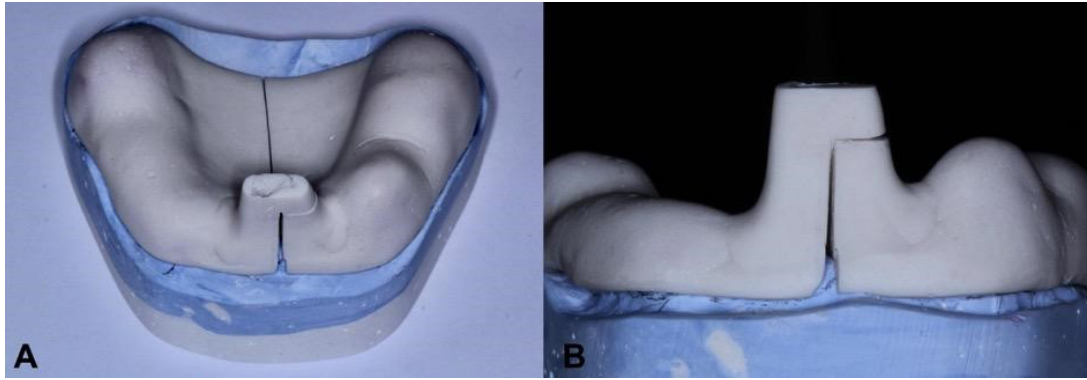


Figure 4 The custom-made tray on the upper preliminary cast after sectioning the tray at the base (A) and at the handle (B)



Figure 5 The implant impression components were attached to the handle using pattern resin. The impression coping was attached to one side of the sectioned tray, and the implant analog was attached to the other side.

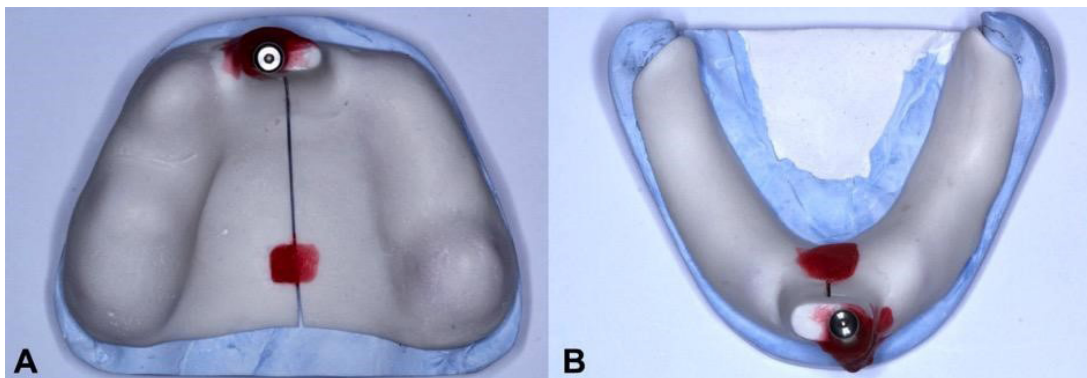


Figure 6 The completed maxillary and mandibular sectional custom trays. Note the 5 mm x 5 mm key-ways on the palatal area of the upper tray and the lingual side of the lower tray.

Impression procedure

The sectional custom trays were reassembled intra-orally and tried as shown in Figure 7. The assembled trays were removed from the patient's mouth with some difficulty. Border molding could not be performed due to difficulties in insertion and removal. Light-bodied and medium-bodied PVS impression materials (Silagum, DMG, Hamburg, Germany) were used to record a definitive

impression. While the light-bodied material was injected over abutment teeth, the impression trays were filled with the medium-bodied impression material, and inserted in two pieces. Then these two pieces were accurately reassembled by hand-tightening the implant impression coping and lab analog. Care was taken to load the trays with only enough medium-bodied material to control the excess of the impression materials. The assembled tray was posi-

tioned, seated, and held in place without border molding due to skin stiffness and tongue rigidity. After the impression material was completely set, the tray was removed in one

piece (Fig. 8) with some difficulty by gently rotating the tray out of the mouth. The master casts were fabricated using Type IV dental stone (Kromotypo4, Lascod, Florence, Italy).



Figure 7 The sectional custom tray was tried in

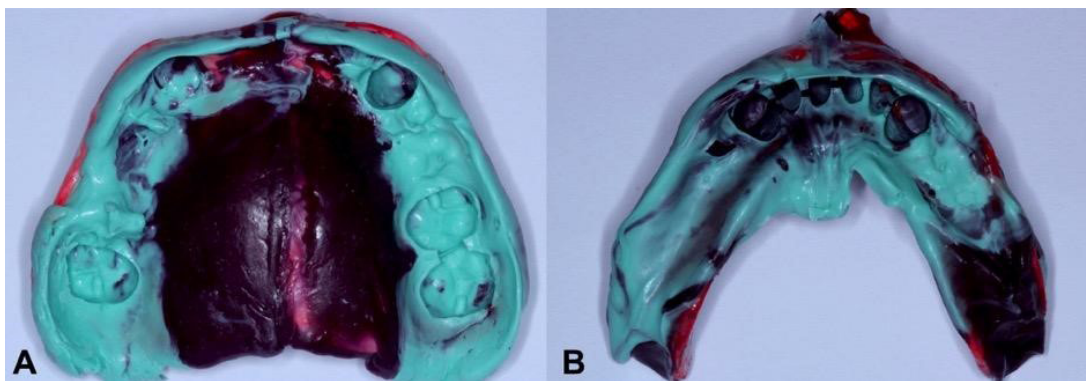


Figure 8 The maxillary and mandibular impressions

Denture fabrication and placement

The acrylic partial dentures were fabricated using a conventional technique. The dentures were processed using heat-polymerised acrylic resin. During the denture delivery appointment, the patient was able to properly insert and remove both the maxillary and the mandibular dentures with practice in front of a mirror. Instructions for cleaning were provided.

The patient was seen again one week post-placement. The patient reported pain and discomfort underneath the mandibular denture on chewing. Pressure indicator paste was used to identify the pressure spot areas. They were properly adjusted. Occlusion was checked. The patient was recalled every month for

two months to monitor the changes of alveolar ridge following the tooth extraction, and the interim partial dentures were intra-orally relined as needed (Fig. 9).



Figure 9 Intra-oral frontal view after insertion of maxillary and mandibular prostheses

Discussion

Patients with microstomia pose some difficulties to the clinician. However, conservative treatment can be performed using modifications of the laboratory and clinical procedures. The most common technique for such patients is the use of sectional impressions, instead of regular full-arch one-piece impressions. The sectional impressions are then recorded in two parts and repositioned extra-orally. The key to this technique is the joining mechanism between the parts of the sectional trays to facilitate relocation. Several designs of connecting mechanisms have been widely described in the literature, such as interlocking handles,¹² pins,⁵ Lego blocks,¹³ locking levers¹⁴ and orthodontic expansion screws.¹⁵

This article describes the use of sectional impression trays with an implant impression coping and an implant analog to facilitate tray assembly. The sterilized and reused metal implant impression components are financially affordable for this technique, and are generally available in dental clinics. The trays can be accurately assembled due to the precise fit between the implant impression coping and impression analog. However, this technique has some disadvantages in terms of additional tray fabrication time and longer chair time, which are considered as common drawbacks for any other technique in the fabrication of sectional impression trays.

Besides the accurate relocation of the locking mechanism, one requirement of the sectional tray is the ease of intra-oral assembly. The sectional trays presented in this article have the locking mechanism located in the tray handle. The advantage of this design is that the tray is easy to assemble and disassemble using an implant screwdriver, since the tray handle is located in the anterior part of the mouth (Fig. 7). A similar sectional tray design has been described by Fernandes and colleagues¹² with the interlocking mechanism located in the tray handle. Wax patterns of the interlocking mechanism were fabricated, cast in base metal alloy and attached to the handle of the

sectional trays. In the case described here, it was possible to remove the assembled impression trays from the mouth in one piece. So, the likelihood of errors in re-assembling the trays extra-orally was minimized.

Four sectional, stock, perforated trays were used to make a preliminary impression for each quadrant. The study cast was fabricated by means of reseating the first half of the cast on the second half of the preliminary impression. While the preliminary impression was made on one side of the arch, an attempt was made to capture as many oral structures beyond the midline as possible, to aid in orienting the first half of the cast in the second half of the impression. A similar technique has been described by Dhanasomboon and Kiatsirijoj.⁷ Their technique would be more accurate than other methods, such as recording the preliminary impression using putty silicone impression material with finger pressure.¹⁰

Summary

Patients with microstomia pose a challenge to clinicians in prosthetic rehabilitation, especially while recording impressions. However, these patients can be managed conservatively by clinical and laboratory procedure modifications. This case report describes a method for fabrication of sectional impression trays with interlocking handles using implant impression components for a patient with microstomia induced by scleroderma. This tray fabrication technique is simple, inexpensive and applicable for patients with microstomia.

References

1. Lynch MA, Brightman VJ, Greenberg MS. Oral medicine diagnosis and treatment. 9th ed. Philadelphia: JB Lippincott; 1994.
2. al-Hadi LA. A simplified technique for prosthetic treatment of microstomia in a patient with scleroderma: a case report. *Quintessence Int* 1994;25(8):531-3.
3. Watanabe I, Tanaka Y, Ohkubo C, Miller AW. Application of cast magnetic attachments to sectional complete dentures for a patient with microstomia: a clinical report. *J Prosthet Dent* 2002;88(6):573-7.

4. Dikbas I, Koksall T, Kazazoglu E. Fabricating sectional-collapsible complete dentures for an edentulous patient with microstomia induced by scleroderma. *Quintessence Int* 2007;38(1):15-22.
5. Gozde Turk A, Ulusoy M. A Collapsible Partial Denture for a Patient with Limited Mouth Opening Induced by Scleroderma: A Clinical Report. *J Prosthodont* 2015;24(4):334-8.
6. Whitsitt JA, Battle LW. Technique for making flexible impression trays for the microstomic patient. *J Prosthet Dent* 1984;52(4):608-9.
7. Dhanasomboon S, Kiatsiriroj K. Impression procedure for a progressive sclerosis patient: a clinical report. *J Prosthet Dent* 2000;83(3):279-82.
8. Benetti R, Zupi A, Toffanin A. Prosthetic rehabilitation for a patient with microstomia: a clinical report. *J Prosthet Dent* 2004;92(4):322-7.
9. Colvenkar SS. Sectional impression tray and sectional denture for a microstomia patient. *J Prosthodont* 2010;19(2):161-5.
10. Yenisey M, Kulunk T, Kurt S, Ural C. A prosthodontic management alternative for scleroderma patients. *J Oral Rehabil* 2005;32(9):696-700.
11. Suzuki Y, Abe M, Hosoi T, Kurtz KS. Sectional collapsed denture for a partially edentulous patient with microstomia: a clinical report. *J Prosthet Dent* 2000;84(3):256-9.
12. Fernandes AS, Mascarenhas K, Aras MA. Custom sectional impression trays with interlocking type handle for microstomia patients. *Indian J Dent Res* 2009;20(3):370-3.
13. Luebke RJ. Sectional impression tray for patients with constricted oral opening. *J Prosthet Dent* 1984;52(1):135-7.
14. Baker PS, Brandt RL, Boyajian G. Impression procedure for patients with severely limited mouth opening. *J Prosthet Dent* 2000;84(2):241-4.
15. Mirfazaelian A. Use of orthodontic expansion screw in fabricating section custom trays. *J Prosthet Dent* 2000;83(4):474-5.

การด้านการสร้างไบโอฟิล์มของสารสกัดเซอริซินที่เคลือบบนแผ่นไทเทเนียมด้วยวิธีทำให้เกิดฟิล์มบางหลายชั้นของโพลีอิเล็กโทรไลต์

Anti-biofilm Activity of Sericin Extract Coated on Titanium by Polyelectrolyte Multilayer Film Technique

จิตรัตน์ อังวรารวงศ์¹, นบชนก แก้ววิเชียร², ปณิสรา ภูครองแถว², อรอุมา อังวรารวงศ์³

Thidarat Angwarawong¹, Nopchanok Kaewwichian², Panisa Phukrongthaw², Onauma Angwaravong³

¹สาขาวิชาทันตกรรมประดิษฐ์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น ประเทศไทย

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

²คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น ประเทศไทย

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

³แขนงวิชาทันตกรรมสำหรับเด็ก สาขาวิชาทันตกรรมป้องกัน คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น ประเทศไทย

³Division of Pediatric Dentistry, Department of Preventive Dentistry, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand

บทคัดย่อ

การติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับสิ่งปลูกฝังเป็นภาวะแทรกซ้อนหนึ่งที่พบได้ในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยรากฟันเทียม โดยสาเหตุที่สำคัญเกิดจากการยึดติดของเชื้อจุลชีพและการสร้างไบโอฟิล์มบนสิ่งปลูกฝังไทเทเนียม มีหลายการศึกษาพยายามปรับปรุงคุณสมบัติพื้นผิวของไทเทเนียมด้านการต้านเชื้อจุลชีพ การทำให้เกิดฟิล์มบางหลายชั้นของโพลีอิเล็กโทรไลต์หรือพอลิเมอร์ฟิล์ม เป็นเทคนิคหนึ่งที่ใช้ในการปรับปรุงคุณสมบัติทางพื้นผิวของชีววัสดุ เซอริซินเป็นไกลโคโปรตีนที่ผลิตจากหอนไหม มีคุณสมบัติในการส่งเสริมกระบวนการออสติโออินทีเกรชันและมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ คือ ปรับปรุงคุณสมบัติด้านการต้านการสร้างไบโอฟิล์มของพื้นผิวไทเทเนียมโดยใช้สารสกัดเซอริซินที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 0.5 1.5 และ 10 โดยมวลต่อปริมาตร เคลือบบนไทเทเนียมด้วยวิธีพอลิเมอร์ฟิล์ม ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างกระดูกปฏิกิริยาของมนุษย์ ทดสอบการต้านการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อสเตรปโทคอคคัส ออเรียส และแคนดิดา อัลบิแคนส์ ด้วยวิธีวัดการสร้างไบโอฟิล์มและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดหรือเอสอีเอ็ม ผลการศึกษาพบว่าไทเทเนียมที่เคลือบด้วยสารสกัดเซอริซินไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างกระดูกปฏิกิริยาของมนุษย์ ที่ 24 ชั่วโมง ร้อยละการมีชีวิตของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่อยู่ในไบโอฟิล์มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติบนพื้นผิวไทเทเนียมที่เคลือบด้วยสารสกัดเซอริซินเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้เคลือบ ขณะที่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของร้อยละการมีชีวิตของเชื้อสเตรปโทคอคคัส ออเรียส ที่อยู่ในไบโอฟิล์มในทุกกลุ่ม ผลที่ได้จากการวิเคราะห์เอสอีเอ็มสอดคล้องกับผลที่ได้จากวิธีวัดการสร้างไบโอฟิล์ม สรุปได้ว่าไทเทเนียมที่เคลือบด้วยสารสกัดเซอริซินที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 0.5 1.5 และ 10 โดยมวลต่อปริมาตร ด้วยวิธีพอลิเมอร์ฟิล์มสามารถลดการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์บนพื้นผิวไทเทเนียม ผลที่ได้นี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของเทคนิคนี้เพื่อเป็นทางเลือกในการลดภาวะแทรกซ้อนจากการติดเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ในผู้ป่วยที่ผ่าตัดทางทันตกรรมรากฟันเทียม

คำสำคัญ: การด้านการสร้างไบโอฟิล์ม, เซอริซิน, วิธีทำให้เกิดฟิล์มบางหลายชั้นของโพลีอิเล็กโทรไลต์, ไทเทเนียม

Abstract

Implant-related infection is a complication that could be found in patients receiving dental implant treatment. It is mainly caused by microbial adhesion and biofilm formation on titanium-base implants. Many studies tried to improve titanium surface properties to achieve antimicrobial activity. Polyelectrolyte multilayer (PEM) film is one of the methods used to modify biomaterial surface properties. Sericin, a glycoprotein produced by silkworm, is capable of promoting osseointegration process and possesses antimicrobial activity. The objective of this study is to improve anti-biofilm activity of titanium surface, using sericin extracts at concentrations of 0.1, 0.5, 1, 5 and 10 % w/v coating on titanium surface by PEM film technique. The cytotoxicity test was performed on primary human osteoblasts. The anti-biofilm activity against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* was determined by biofilm formation assay and scanning electron microscope (SEM). The results showed that titanium coated with sericin extracts showed no toxic effect on osteoblasts at 24 hours incubation period. The percentage of *Candida albicans* cell viability in biofilm was significantly reduced on sericin-coated titanium surface compared to uncoated group, whereas no significant difference of *Staphylococcus aureus* cell viability was found. The results from SEM analysis corresponded to the results from the biofilm formation assay. In conclusion, coating titanium surfaces with sericin extract at concentrations of 0.1, 0.5, 1, 5 and 10 % w/v by PEM film technique could reduce *Candida albicans* biofilm formation on titanium surface. These findings suggested the potential of this technique as an alternative way to reduce complication from *Candida albicans* infection in patients receiving implant treatment.

Keyword: Anti-biofilm activity, Sericin, Polyelectrolyte multilayers film, Titanium

Received date: Jul 9, 2019

Revised date: Aug 15, 2019

Accepted date: Dec 13, 2019

Doi: 10.14456/jdat.2020.13

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

ไทเทเนียมและไทเทเนียมอัลลอยด์เป็นวัสดุปลูกฝัง (implanted biomaterials) ที่ได้รับความนิยมทั้งทางการแพทย์และทันตกรรม เช่น ใช้เป็นสิ่งปลูกฝังออร์โธพีดิกส์ (orthopedic implant) และรากฟันเทียม (dental implant) เนื่องจากมีคุณสมบัติทางกลและเคมีที่ดี มีความต้านทานต่อการสึกกร่อนและมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (biocompatibility) กับเนื้อเยื่อในร่างกาย¹

ปัจจุบันมีความพยายามปรับปรุงคุณสมบัติของไทเทเนียมอย่างต่อเนื่องโดยมุ่งเน้นให้สามารถทำหน้าที่ได้หลากหลาย ทั้งการเพิ่มคุณสมบัติด้านการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactivity) เพื่อตอบสนองอย่างจำเพาะเจาะจงต่อการเกาะกลุ่ม (colonization) ของเซลล์ชนิดต่าง ๆ เช่น เซลล์สร้างกระดูก (osteoblasts) เซลล์สร้างเส้นใย (fibroblasts) และแมกโครเฟจ (macrophage) ให้การเกิดกระดูกเชื่อมประสาน

หรือกระบวนการออสซิโออินทีเกรชั่น (osseointegration) ได้เร็วขึ้น รวมถึงต้องสามารถต่อต้านการสร้างแผ่นคราบชีวภาพหรือไบโอฟิล์ม (biofilm formation) และต่อสู้กับการติดเชื้อบนพื้นผิวไทเทเนียม²

การติดเชื้อบริเวณผิวรากฟันเทียมเป็นภาวะแทรกซ้อนที่สามารถพบได้บ่อย นอกจากจะเกิดจากความบกพร่องเกี่ยวกับความสามารถของระบบภูมิคุ้มกัน (compromised immune ability) ที่บริเวณรอยต่อระหว่างกระดูกและเนื้อเยื่อแล้ว การสร้างไบโอฟิล์มบนพื้นผิวรากฟันเทียมถือว่ามีบทบาทสำคัญในการเริ่มต้นของกระบวนการติดเชื้อ³ ในช่องปากมีภาวะแวดล้อมจุลภาคที่มีความซับซ้อนของเชื้อจุลชีพ มีแนวโน้มที่จะยึดติด (adhesion) กับพื้นผิวใด ๆ ก็ตามที่เหมาะสมและสร้างไบโอฟิล์มขึ้นมาได้⁴ มีรายงานว่า การเกิดเนื้อเยื่อรอบสิ่งปลูกฟันอักเสบ (peri-implantitis) มีความสัมพันธ์กับเชื้อจุลชีพก่อโรคปริทันต์ ได้แก่ เชื้อแอกกรีเกรทิแบคทีเรีย แอคทีโนมัยซีเทมโคมิแทนส์ (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) พอร์ไฟโรโมนาส จิงจิวัลลิส (*Porphyromonas gingivalis*) แทนเนอเรลลา ฟอรัซียเธีย (*Tannerella forsythia*) และทรีโพเนมา เดนทิกอลา (*Treponema denticola*)^{4,5} และมีรายงานว่าผู้ป่วยที่สูญเสียฟันจากโรคปริทันต์และแทนที่ฟันที่สูญเสียไปโดยการใส่รากฟันเทียมมีโอกาสสูงที่จะเกิดเนื้อเยื่อรอบสิ่งปลูกฟันอักเสบ⁵ อย่างไรก็ตามการเกิดเนื้อเยื่อรอบสิ่งปลูกฟันอักเสบยังมีความสัมพันธ์กับเชื้อจุลชีพที่ไม่ได้พบทั่วไปในโรคปริทันต์อักเสบด้วย ได้แก่ เชื้อในสกุลสแตฟิโลคอคคัส (*Staphylococcus* species) เช่น สแตฟิโลคอคคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*; *S. aureus*) และสแตฟิโลคอคคัส อีพิดีมาติดิส (*Staphylococcus epidermidis*) และเชื้อในสกุลแคนดิดา (*Candida* species) เช่น แคนดิดา อัลบิแคนส์ (*Candida albicans*; *C. albicans*)^{4,5} โดยพบว่า เชื้อสแตฟิโลคอคคัส ออเรียส และแคนดิดา อัลบิแคนส์ เป็นเชื้อจุลชีพที่พบได้บ่อยในผู้ป่วยที่เกิดเนื้อเยื่อรอบสิ่งปลูกฟันอักเสบ^{5,6} มีรายงานว่าเชื้อสแตฟิโลคอคคัส ออเรียส มีความสามารถในการจับที่สูงและจำเพาะ (high and specific affinity) กับพื้นผิวไทเทเนียม เป็นตัวเริ่มต้นในการสร้างไบโอฟิล์ม และเป็นสาเหตุที่พบได้บ่อยในการติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับสิ่งปลูกฝัง (implant-related infection)⁷ ขณะที่แคนดิดา อัลบิแคนส์ เป็นจุลชีพก่อโรคแบบฉวยโอกาส (opportunistic pathogen) ที่พบได้ทั่วไปในไบโอฟิล์มบนพื้นผิวรากฟันเทียม และสามารถพัฒนาต่อให้เกิดเนื้อเยื่อรอบสิ่งปลูกฟันอักเสบได้⁶ นอกจากนี้แคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่อยู่ในไบโอฟิล์มยังมีอิทธิพลต่อการเพิ่มการเกาะกลุ่มของเชื้อจุลชีพชนิดอื่นในไบโอฟิล์ม⁸ และทำให้เชื้อจุลชีพที่อยู่ในไบโอฟิล์มเกิดการดื้อต่อยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการรักษาการติดเชื้อมากยิ่งขึ้น^{9,10} ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าเชื้อสแตฟิโลคอคคัส ออเรียส และแคนดิดา อัลบิแคนส์เป็นจุลชีพก่อโรคที่มีบทบาทสำคัญต่อการเกิดเนื้อเยื่อรอบสิ่งปลูกฟันอักเสบและการติดเชื้อของรากฟันเทียม

การสร้างไบโอฟิล์มที่เริ่มต้นทันทีหลังจากการยึดติดของเชื้อจุลชีพเป็นเหตุการณ์สำคัญที่ทำให้เกิดการติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับสิ่งปลูกฝัง ดังนั้นการป้องกันการสร้างไบโอฟิล์มโดยการเตรียมพื้นผิวชีววัสดุให้มีคุณสมบัติต้านเชื้อจุลชีพถือเป็นวิธีการที่ดีที่สุดในการหลีกเลี่ยงการแพร่กระจายของจุลชีพก่อโรคและการเสื่อมสภาพของวัสดุ (material deterioration)¹¹ ในทศวรรษที่ผ่านมา มีการศึกษาจำนวนมากรายงานความสามารถในการปรับเปลี่ยนพื้นผิวของวัสดุปลูกฝังไทเทเนียม (titanium-based implant) เพื่อส่งเสริมการเกิดกระบวนการออสซิโออินทีเกรชั่น ลดการยึดติดของเชื้อจุลชีพ ด้านการสร้างไบโอฟิล์มและทำให้เกิดประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อจุลชีพ^{2,3,11-13} เช่น การเคลือบพื้นผิวไทเทเนียมด้วยธาตุโลหะอนินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลชีพ (inorganic antimicrobial metal elements) ได้แก่ เงิน (Ag; silver) ทองแดง (Cu; copper) หรือสังกะสี (Zn; zinc) โดยวิธีสปัตเตอริง (sputtering) หรือการพ่นเคลือบด้วยพลาสมา (plasma spray) แม้ว่าวิธีการนี้จะมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อจุลชีพ อย่างไรก็ตามวิธีการนี้จำเป็นต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง นอกจากนี้การปลดปล่อยไอออนของโลหะ (metallic ions release) จากชั้นที่เคลือบอาจจะทำให้เกิดความเป็นพิษกับเซลล์และเนื้อเยื่อข้างเคียงได้²

วิธีทำให้เกิดฟิล์มบางหลายชั้นของโพลีอิเล็กโตรไลต์หรือพอลิอิเล็กโตรไลต์มัลติเลเยอร์ (polyelectrolyte multilayer (PEM) film technique) เป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ในการปรับปรุงพื้นผิวของวัสดุ ที่ใช้หลักการของการดูดซับเป็นชั้นต่อชั้น (layer by layer) ของสารละลายโพลีอิเล็กโตรไลต์ที่มีประจุตรงกันข้าม ส่งผลให้เกิดแรงดึงดูดไฟฟ้าสถิตต่อกัน (electrostatic interaction) โดยชั้นของโพลีอิเล็กโตรไลต์เหล่านี้สามารถจัดระเบียบได้ด้วยตัวเอง (electrostatic self-assembly) และทำให้เกิดเป็นแผ่นฟิล์มหลายชั้นระดับนาโนเมตร¹⁴ ที่สามารถควบคุมความหนาของพอลิอิเล็กโตรไลต์ได้และเลือกใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นโพลีอิเล็กโตรไลต์ได้หลากหลาย เช่น ดีเอ็นเอ โปรตีน โมเลกุลชีวภาพ และโพลิเมอร์ชีวภาพ วิธีนี้มีข้อดี คือ ทำได้ง่าย รวดเร็ว สามารถทำซ้ำได้ ราคาไม่แพง มีความเสถียร ไม่มีข้อจำกัดของรูปร่างชีววัสดุที่นำมาเคลือบ มีประสิทธิภาพในการสร้างพื้นผิวที่มีความไวทางชีวภาพ และสามารถนำไปพัฒนาพื้นผิววัสดุเพื่อใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ได้มากมาย¹⁵ มีหลายการศึกษาทำการปรับปรุงคุณสมบัติด้านการต้านเชื้อจุลชีพของพื้นผิวรากฟันเทียมด้วยวิธีพอลิอิเล็กโตรไลต์^{16,17} เช่น Wong และคณะ ในปี 2010¹⁷ พบว่าเจนตามัยซิน (gentamycin) และไดโคลฟีแนก (diclofenac) ในพอลิอิเล็กโตรไลต์ที่เคลือบบนไทเทเนียมสามารถต้านการยึดติดและมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อสแตฟิโลคอคคัส ออเรียส ได้โดยไม่เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างกระดูกของหนูชนิดเอ็มซี3ที3-อี1 (MC3T3-E1 cells) ในปี 2019 Rodríguez และคณะ¹⁶ พบว่าเปปไทด์-เบปไทด์ (β -peptide)

ไคโตซาน (chitosan) และกรดไฮอะลูโรนิก (hyaluronic acid) ในพีอีเอ็มฟิล์มมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส และส่งเสริมการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างกระดูก เอ็มซี3ที3-01

เซอริซิน (sericin) คือ โกลโคโปรตีนธรรมชาติที่สร้างจากหนอนไหม (silkworm) พบได้ประมาณร้อยละ 25-30 ของโปรตีนไหม เป็นโปรตีนก้อนกลมที่ละลายน้ำได้ (water soluble globular protein family)¹⁸ มีคุณสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) ออสัญฐาน (amorphous) และลักษณะคล้ายกาว ทำหน้าที่ในการยึดโปรตีนเส้นไหมไฟโบรอิน (silk fibroin protein) เข้าด้วยกันเพื่อสร้างเป็นรังไหม ในอดีตเซอริซินถือว่าเป็นของเสียที่เกิดจากกระบวนการผลิตเส้นไหม อย่างไรก็ตามในปัจจุบันพบว่าเซอริซินมีคุณสมบัติที่ดีทางชีวภาพหลายด้าน เช่น มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเนื้อเยื่อ มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidation)¹⁹ ช่วยในการหายของแผล (wound healing)²⁰ การต้านเชื้อจุลินทรีย์^{13,21} ป้องกันรังสียูวี²² การต้านมะเร็ง²² และส่งเสริมให้เกิดกระบวนการสร้างกระดูก²³ จึงมีการนำเอาเซอริซินมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางทั้งทางการแพทย์ ยา และอุตสาหกรรมด้านความสวยงาม^{18,24,25}

เซอริซินมีการนำมาใช้ในการปรับปรุงพื้นผิวของไทเทเนียม เช่น Zhang และคณะในปี 2008¹³ ปรับปรุงพื้นผิวไทเทเนียมด้วยกรดโพลีเมทาคริลิก (poly(methacrylic acid)) และเซอริซินที่ได้จากไหมบอมบิกซ์ มอไร (*Bombyx mori*) พบว่าสามารถส่งเสริมการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (cell proliferation) การทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase activity) และเพิ่มการสะสมของแคลเซียม (calcium deposition) ได้นอกจากนี้ยังมีประสิทธิภาพในการลดการยึดติดของเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส และสแตปฟีโลคอคคัส อีพิเดอร์มิดิส ได้มากกว่ากลุ่มควบคุมไทเทเนียม ในปี 2013 Nayak และคณะ²³ ทำการตรึงพื้นผิวไทเทเนียมด้วยเซอริซินที่ได้จากไหมทาสาร์ แอนเทอเรีย มายลิทตา (*Tasar silkworm, Antherea mylitta*) จากนั้นนำมาทดสอบการทำงานของเซลล์ไลน์สร้างกระดูกหนูเอ็มจี-63 (MG-63 cells) พบว่าไทเทเนียมที่ตรึงพื้นผิวด้วยเซอริซินสามารถส่งเสริมการยึดติดของเซลล์ การเพิ่มจำนวนของเซลล์ และการแสดงออกของยีนโบนีโอโซโลโปรตีน (bone sialoprotein) ออสติโอแคลซิน (osteocalcin) และเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส เมื่อเปรียบเทียบกับไทเทเนียมที่ไม่ได้ปรับปรุงพื้นผิว

ในปัจจุบันมีการศึกษาเพียงเล็กน้อยที่ใช้เซอริซินในการปรับปรุงพื้นผิวของไทเทเนียมเพื่อส่งเสริมการทำงานของเซลล์สร้างกระดูกและต้านเชื้อจุลินทรีย์^{13,23} นอกจากนี้ยังไม่มีการศึกษาใดที่ใช้เซอริซินในการปรับปรุงพื้นผิวของไทเทเนียมด้วยวิธีพีอีเอ็มฟิล์มเพื่อศึกษาผลการต้านการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นการศึกษานี้จึงศึกษาคุณสมบัติของเซอริซินที่เคลือบบนแผ่นไทเทเนียม

ด้วยวิธีพีอีเอ็มฟิล์ม ในด้านการต้านการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส และแคนดิดา อัลบิแคนส์ เพื่อหวังผลในการลดการติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับสิ่งปลูกฝัง ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของความล้มเหลวของรากฟันเทียม

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมแผ่นไทเทเนียม

แท่งไทเทเนียม (commercial pure titanium grade II, KVM Heating Element Co., Lt., Pathumthani, Thailand) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร ถูกตัดให้มีความหนา 3 มิลลิเมตร และขัดให้เรียบทั้งสองด้านด้วยกระดาษทรายน้ำความละเอียด 500 800 และ 1000 ด้วยเครื่องขัดพื้นผิววัสดุ (variable speed grinder polisher, Ecomet 3, Buehler, Illinois, USA) จากนั้นทำความสะอาดด้วยน้ำไร้ประจุ (deionized water) ภายใต้อุปกรณ์ทำความสะอาดระบบอัลตราโซนิก (ultrasonic cleaner, Vibraclean 300, MDT biologic company, New York, USA) 10 นาที 2 ครั้ง ตามด้วยอะซิโตนและเอทานอลอย่างละ 10 นาที เพื่อกำจัดไขมัน²⁸ และล้างด้วยน้ำไร้ประจุ 5 นาที

2. การเคลือบไทเทเนียมด้วยสารสกัดเซอริซินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธีทำให้เกิดพีอีเอ็มฟิล์ม

เตรียมสารละลายโพลีไดอัลลิโดแมททิวแอมโมเนียมคลอไรด์หรือพีดีดีเอ็มซี (poly(diallyldimethylammonium chloride), PDADMAC, Aldrich, Missouri, USA) และสารละลายโพลีไซเดียม-4-สไตรีนซัลโฟเนทหรือพีเอสเอส (poly(sodium 4-styrene sulfonate), PSS, Aldrich) ให้มีความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ในไฮเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ และเตรียมสารละลายสารสกัดเซอริซินที่ได้จากไหมบอมบิกซ์ มอไร (*Bombyx mori*, sericin extract powder, Specialty Natural Product®, Chonburi, Thailand) ให้ได้ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร จากนั้นนำมาเจือจางต่อให้ได้ความเข้มข้นร้อยละ 5 1.0.5 และ 0.1 โดยมวลต่อปริมาตร

การทำให้เกิดพีอีเอ็มฟิล์มบนแผ่นไทเทเนียม โดยจุ่มไทเทเนียมที่เตรียมไว้ลงในสารละลายชนิดต่าง ๆ บนเครื่องเขย่าแบบหมุนเป็นวงกลม (orbital shaker, PSU-10i, Grant Instrument (Cambridge) Ltd, Cambridge, UK) เริ่มจากจุ่มไทเทเนียมลงในสารละลายพีดีดีเอ็มซีซึ่งเป็นสารละลายที่มีประจุบวก 5 นาที ล้างด้วยน้ำไร้ประจุ 3 ครั้ง ครั้งละ 2 นาที แล้วจุ่มต่อในสารละลายพีเอสเอส ซึ่งเป็นสารละลายที่มีประจุลบ เป็นเวลา 5 นาที ล้างด้วยน้ำไร้ประจุ 3 ครั้ง ครั้งละ 2 นาที ทำการจุ่มสลับไปมาจนถึงขั้นที่ 9 ซึ่งเป็นขั้นที่พีดีดีเอ็มซีอยู่ด้านบนสุด²⁶ จากนั้นนำไปจุ่มในสารละลายสารสกัดเซอริซินที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 0.5 1.5 หรือ 10 โดยมวลต่อปริมาตร 30 นาที ล้างด้วยน้ำไร้ประจุ 3 ครั้ง ครั้งละ 2 นาที ทิ้งไว้ให้แห้ง

ก่อนนำชิ้นงานไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป นำชิ้นงานไปทำให้ปราศจากเชื้อทั้งสองด้านด้วยแสงอัลตราไวโอเลต (ultraviolet) ที่ได้จากตู้กรองอากาศปราศจากเชื้อ (airstream class II biological safety cabinet, Esco Lifesciences (Thailand) Co., Ltd, Bangkok, Thailand) ด้านละ 30 นาที²⁷

3. การเพาะเลี้ยงเซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิของมนุษย์ (primary human osteoblast cell culture)

นำเซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิของมนุษย์ที่ได้จากการตัดปุ่มกระดูก (torectomy) ขากรรไกรบนหรือล่างที่ขัดขวางการใส่ฟันเทียมที่เหลือจากโครงการวิจัยเลขที่ HE612210 ซึ่งผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดดีเอ็มอีเอ็มที่มีฟีนอลเรด (Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) with phenol red, Gibco, New York, USA) ที่มีการเติมแอลกลูตามีน (L-glutamine, GlutaMax™ supplement, Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA) ความเข้มข้นร้อยละ 1 ยาต้านปฏิชีวนะและยาต้านเชื้อรา (antibiotic-antimycotic, Thermo Fisher Scientific) ความเข้มข้นร้อยละ 1 และซีรัมที่ได้จากลูกอ่อนวัว (fetal bovine serum, FBS, HyClone™ FBS, HyClone, Utah, USA) ร้อยละ 15 ในสภาวะควบคุมที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 อากาศร้อยละ 95 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในการศึกษาที่ใช้เซลล์รุ่น (passage) ที่ 5 ถึง 6 จากอาสาสมัคร 3 ราย

4. การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิของมนุษย์ต่อสารสกัดเซโรซินที่เคลือบบนแผ่นไทเทเนียม โดยวิธีเอ็มทีที (MTT assay)

นำชิ้นตัวอย่างที่ปราศจากเชื้อของทั้ง 7 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มไทเทเนียมที่ไม่ได้เคลือบซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม (control group) กลุ่มไทเทเนียมที่เคลือบด้วยพีแอดีเอ็มและพีเอสเอส 9 ชั้น ที่มีชั้น

พีแอดีเอ็มอยู่บนสุด กลุ่มไทเทเนียมที่เคลือบด้วยสารสกัดเซโรซินที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 0.5 1 5 และ 10 โดยมวลต่อปริมาตรกลุ่มละ 3 ชิ้น ใส่ลงไปในจานเลี้ยงเซลล์ชนิด 24 หลุม (24-well tissue culture plate, 24-well TCP, Corning, NY, USA) หลุมละ 1 ชิ้น ทำการหว่านเซลล์สร้างกระดูกในปริมาณ 5×10^4 เซลล์ต่อหลุมบนชิ้นงานตัวอย่าง และบนจานเลี้ยงเซลล์ ซึ่งใช้เป็นกลุ่มควบคุมแบบลบ (negative control) ทั้งไว้ 10 นาที จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ 500 ไมโครลิตรต่อหลุม และเพาะเลี้ยงต่อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออก ล้างด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซลาเยนหรือพีบีเอส (phosphate buffer saline, PBS) ใส่สารละลายเอ็มทีที ((3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide), MTT, USB Corporation, Ohio, USA) ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดดีเอ็มอีเอ็มที่ปราศจากฟีนอลเรด (DMEM without phenol red, Gibco) หลุมละ 300 ไมโครลิตร แล้วนำไปเพาะเลี้ยงต่อ 30 นาที เมื่อครบเวลาดูดสารละลายเอ็มทีทีที่ทิ้ง ล้างด้วยพีบีเอส และใส่สารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์หรือดีเอ็มเอสโอ (dimethyl sulfoxide, DMSO, Merck, Darmstadt, Germany) หลุมละ 500 ไมโครลิตร นำไปฉายให้ผลึกออกให้หมด จากนั้นดูดสารละลายที่ได้ในขั้นตอนสุดท้ายไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ด้วยเครื่องวัดค่าดูดกลืนแสงไมโครเพลต (microplate reader, Varioskan Flash, Thermo Fisher scientific) ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ภายในเวลา 30 นาที จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณร้อยละการมีชีวิตรอดของเซลล์เปรียบเทียบกับไทเทเนียมที่ไม่ได้เคลือบซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมตามสมการที่ 1 การศึกษาครั้งนี้ในแต่ละการทดลองใช้ตัวอย่าง 3 ชิ้นต่อกลุ่ม และทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แต่ละครั้งใช้เซลล์สร้างกระดูกจากอาสาสมัครคนละราย

$$\text{ร้อยละการมีชีวิตของเซลล์} = \frac{\text{ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มที่เพาะเลี้ยงบนไทเทเนียมที่เคลือบด้วยสารต่าง ๆ} \times 100}{\text{ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มที่เพาะเลี้ยงบนไทเทเนียมที่ไม่ได้เคลือบ}}$$

5. การเตรียมเชื้อจุลชีพ

เตรียมเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส สายพันธุ์ ATCC 25923 DMST 8840 และแคนดิดา อัลบิแคนส์ สายพันธุ์ ATCC 10231 DMST 5815 โดยการถ่ายเชื้อ (streak) จากแหล่งเก็บเชื้อ (stock culture) ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดวุ้นทริปติกซอย (Tryptic soy agar, Soyabean Casein Digest Medium (Tryptone

Soya Broth), HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, India) แล้วบ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเชยเชื้อ 1 โคโลนีใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวทริปติกซอย (Tryptic soy broth) นำมาบ่มในตู้บ่มเพาะเชื้อ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบตามเวลาทำการปรับปริมาณเชื้อ โดยปรับปริมาณเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส ให้ได้เท่ากับ 10^8 โคโลนีฟอร์มมิงยูนิต

ต่อมิลลิลิตรหรือซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร (colony forming unit per milliliter; CFU/ml) และเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ให้ได้เท่ากับ 10^6 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer, DU 730, Beckman Coulter Inc., California, USA) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้มีค่าความเข้มแสง (optical density, OD) เท่ากับ 0.1 เท่ากันทั้ง 2 เชื้อ²⁸

6. การทดสอบประสิทธิภาพการต้านการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดเซอรินซินที่เคลือบบนไทเทเนียมด้วยวิธีวัดการสร้างไบโอฟิล์ม (biofilm formation assay)

ทำการดูดเชื้อแต่ละชนิดที่เตรียมไว้ จำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง ตามด้วยชิ้นงาน 1 ชิ้นต่อ 1 หลอดทดลอง แล้วนำไปบ่มเพาะเชื้อในเครื่องเขย่าแบบหมุนเป็นวงกลม 24 ชั่วโมง เพื่อส่งเสริมให้เกิดการยึดติดของเชื้อ (adhesion phase) บนชิ้นงาน และเกิดเป็นไบโอฟิล์ม (biofilm phase) ขึ้น เมื่อครบกำหนดเวลาดูดอาหารเลี้ยงเชื้อออก ล้างด้วยฟิเอส 5 มิลลิลิตร 3 ครั้ง เพื่อกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ได้ยึดติด (non-adherent cells) บนชิ้นงานออก จากนั้นใส่ฟิเอสลงในหลอดทดลอง 5 มิลลิลิตร ทำการปิดฝาหลอดทดลองแล้วห่อหุ้มส่วนฝาหลอดทดลองด้วยแผ่นพาราฟิล์ม (Parafilm M® Laboratory Film, California, USA) นำหลอดทดลอง

ทั้งหมดไปปั่นในเครื่องอัลตราโซนิกเป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปปั่นต่อในเครื่องผสมสารวอร์เท็กซ์ (vortex mixer, Vortex-Genie®2, NewYork, USA) 1 นาที เพื่อให้จุลินทรีย์ที่อยู่ในไบโอฟิล์มหลุดออกจากชิ้นงาน²⁹ จากนั้นทำการดูดฟิเอสที่มีเชื้อจุลินทรีย์แขวนลอยอยู่จำนวน 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวก์ (microcentrifuge tube) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่มีฟิเอสอยู่ 900 ไมโครลิตร จากนั้นทำให้เจือจางลงครึ่งละ 10 เท่า (ten-fold serial dilution) จนถึงความเข้มข้นที่ 10^{-6} ทำการหยดเชื้อแต่ละชนิดของและความเข้มข้นลงจานเพาะเชื้อ (drop plate technique) หยดละ 10 ไมโครลิตร จำนวน 3 หยด ต่อความเข้มข้น นำไปบ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการนับจำนวนโคโลนีในแต่ละจานเพาะเชื้อ โดยจะเลือกนับที่ระดับความเข้มข้นที่มีโคโลนีแยกออกจากกันอย่างชัดเจนและอยู่ในช่วง 3-30 โคโลนีต่อหยด นำจำนวนโคโลนีจากทั้ง 3 หยด ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันมาหาจำนวนโคโลนีเฉลี่ย จากนั้นคำนวณหาค่าการเจริญเติบโตของเชื้อบนจานเพาะเชื้อในหน่วยซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร (สมการที่ 2) จากนั้นนำค่าที่ได้ไปคำนวณร้อยละการมีชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในไบโอฟิล์ม โดยเทียบกับกลุ่มควบคุม (สมการที่ 3) ในแต่ละการทดลองจะใช้ชิ้นตัวอย่าง 3 ชิ้นต่อกลุ่ม ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

$$\text{จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (CFU/ml)} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีเฉลี่ย} \times \text{ระดับความเจือจาง}}{\text{ปริมาตรของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ (ml)}} \quad \text{สมการที่ 2}$$

$$\text{ร้อยละการมีชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์ในไบโอฟิล์ม} = \frac{\text{จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (CFU/ml) ของกลุ่มไทเทเนียมที่เคลือบด้วยสารต่าง ๆ} \times 100}{\text{จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (CFU/ml) ของกลุ่มไทเทเนียมที่ไม่ได้เคลือบ}} \quad \text{สมการที่ 3}$$

7. ตรวจสอบรูปร่างและปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

นำชิ้นตัวอย่างแต่ละชิ้นที่ผ่านการฆ่าเชื้อใส่ลงในหลอดทดลองที่มีเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส เท่ากับ 10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร หรือมีเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ เท่ากับ 10^6 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร จำนวน 5 มิลลิลิตร ไปบ่มเพาะเชื้อในเครื่องเขย่าแบบหมุนเป็นวงกลม ในตู้บ่มเชื้อ 24 ชั่วโมง จากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเชื้อออก ล้างด้วยฟิเอส 1 ครั้ง ทำการตรึงเซลล์ (fixation) ด้วยสารละลายกลูตารัลดีไฮด์ (glutaraldehyde, Aldrich) ร้อยละ 3 นาน 30 นาที ล้างด้วยฟิเอส 2 ครั้ง นำไปประจุอีก 3 ครั้ง และทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำชิ้นงานตัวอย่างมาอบด้วยทองร้อยละ 99.9

เพื่อตรวจสอบรูปร่างและปริมาณของเชื้อผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope, SEM, S-3000N, HITACHI, Tokyo, Japan) ในแต่ละการทดลองจะใช้ชิ้นตัวอย่าง 3 ชิ้นต่อกลุ่ม ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

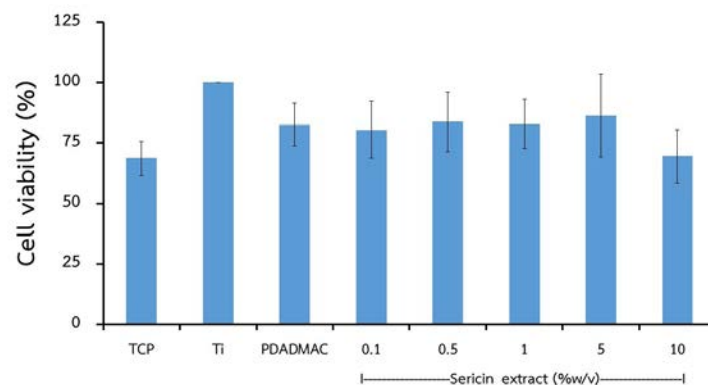
นำข้อมูลที่ได้จากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์และการต้านการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อจุลินทรีย์บนแผ่นไทเทเนียมที่เคลือบด้วยสารสกัดเซอรินซินด้วยวิธีพีอีเอ็มฟิล์มมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยทดสอบการแจกแจงของข้อมูลด้วยสถิติทดสอบโคลโมโกรอฟ-สมิรโนฟ (Kolmogorov-Smirnov test) พบว่าข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติ จึงทำการวิเคราะห์ข้อมูลต่อด้วย

การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way analysis of variance, one-way ANOVA) และการเปรียบเทียบพหุคูณ (multiple comparison) ด้วยวิธีบอนเฟอร์โรนี (Bonferroni) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยโปรแกรมเอสพีเอสเอส (SPSS® 22.0 for window)

ผลการศึกษา

1. ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิของมนุษย์ต่อสารสกัดเซอรินซินที่เคลือบบนแผ่นไทเทเนียม

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างกระดูกต่อสารสกัดเซอรินซินที่เคลือบบนไทเทเนียมด้วยวิธีพีอีเอ็มฟิล์มที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 0.5 1 5 และ 10 โดยมวลต่อปริมาตร ที่เวลา 24 ชั่วโมง (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 ร้อยละการมีชีวิตของเซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิของมนุษย์ต่อสารสกัดเซอรินซินที่เคลือบบนแผ่นไทเทเนียมด้วยพีอีเอ็มฟิล์ม ที่เวลาเพาะเลี้ยง 24 ชั่วโมง ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

ตัวย่อ: TCP, จานเลี้ยงเซลล์; Ti, แผ่นไทเทเนียม; PDADMAC, แผ่นไทเทเนียมที่เคลือบด้วยพีดีอีเอ็มฟิล์ม

Figure 1 Percentage of primary human osteoblast cell variability on sericin coated on titanium by PEM film technique at 24 hours incubation. Data were presented as the mean $\pm$ SD (n=3).

Abbreviations: TCP, Tissue culture plate; Ti, Titanium disc; PDADMAC, PDADMAC coated on titanium disc

2. ผลการทดสอบประสิทธิภาพการด้านการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดเซอรินซินที่เคลือบบนไทเทเนียม

การศึกษาการด้านการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อสแตปิโลคอคคัส ออเรียส (รูปที่ 2A) พบว่าไทเทเนียมที่ไม่ได้เคลือบมีค่าร้อยละการมีชีวิตของเชื้อที่อยู่ในไบโอฟิล์มมากที่สุดและมีค่าใกล้เคียงกลุ่มที่เคลือบด้วยพีดีอีเอ็มฟิล์มอยู่ชั้นบนสุด ส่วนกลุ่มที่เคลือบด้วยสารสกัดเซอรินซินที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 0.5 1 5 และ 10 โดยมวลต่อปริมาตร มีค่าร้อยละการมีชีวิตของเชื้อน้อยกว่ากลุ่มไทเทเนียมที่ไม่ได้เคลือบและกลุ่มที่เคลือบด้วยพีดีอีเอ็มฟิล์มอยู่ชั้นบนสุด อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกกลุ่มการทดลอง แสดงให้เห็นว่าสารสกัดเซอรินซินที่ความเข้มข้น

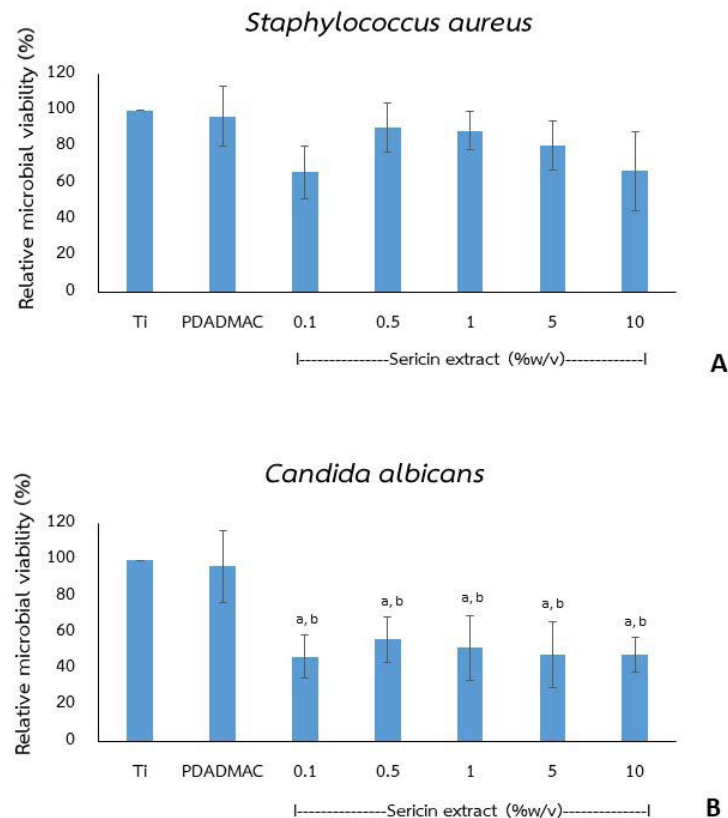
พบว่ากลุ่มไทเทเนียมที่เคลือบด้วยสารสกัดเซอรินซินทุกความเข้มข้นมีค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์น้อยกว่ากลุ่มไทเทเนียมที่ไม่ได้เคลือบ แต่มีค่ามากกว่ากลุ่มที่เพาะเลี้ยงบนจานเลี้ยงเซลล์ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมแบบลบ อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ที่เพาะเลี้ยงบนชิ้นงานไทเทเนียมของทุกกลุ่มการทดลอง แสดงให้เห็นว่าสารสกัดเซอรินซินที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1-10 โดยมวลต่อปริมาตร ที่เคลือบบนไทเทเนียมด้วยวิธีพีอีเอ็มฟิล์มไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิของมนุษย์ ดังนั้นจึงใช้ความเข้มข้นของสารสกัดเซอรินซินที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1-10 โดยมวลต่อปริมาตร ในการทดสอบความสามารถในการด้านการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อจุลินทรีย์

ร้อยละ 0.1-10 โดยมวลต่อปริมาตรที่เคลือบบนไทเทเนียมด้วยวิธีพีอีเอ็มฟิล์มไม่พบประสิทธิภาพในการด้านการสร้างสแตปิโลคอคคัส ออเรียส ไบโอฟิล์มเมื่อเปรียบเทียบกับแผ่นไทเทเนียมที่ไม่ได้เคลือบ

การศึกษาการด้านการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ (รูปที่ 2B) พบว่าไทเทเนียมที่ไม่ได้เคลือบมีค่าร้อยละการมีชีวิตของเชื้อที่อยู่ในไบโอฟิล์มมากที่สุด และมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่เคลือบด้วยพีดีอีเอ็มฟิล์มอยู่ชั้นบนสุด ขณะที่กลุ่มที่เคลือบด้วยสารสกัดเซอรินซินที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 0.5 1 5 และ 10 โดยมวลต่อปริมาตร มีค่าร้อยละการมีชีวิตของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่อยู่ในไบโอฟิล์ม แตกต่างกับ

อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีค่าแตกต่างจากกลุ่มไทเทเนียมที่ไม่ได้เคลือบและกลุ่มที่เคลือบด้วยพีดีดีเอ็มที่ชั้นบนสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลที่ได้นี้อาจกล่าวได้ว่าสารสกัดเซอรินที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1-10 โดยมีผลต่อปริมาตรที่เคลือบอยู่บน

แผ่นไทเทเนียมด้วยวิธีพีอีเอ็มฟิล์มมีประสิทธิภาพในการต้านการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ เมื่อเปรียบเทียบกับแผ่นไทเทเนียมที่ไม่ได้เคลือบ



รูปที่ 2 ร้อยละการมีชีวิตของเชื้อสแตปไฟโลคอคคัส ออเรียส (A) และแคนดิดา อัลบิแคนส์ (B) ในไบโอฟิล์ม ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($n=3$) a แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มไทเทเนียมที่ไม่ได้เคลือบกับกลุ่มอื่นๆ b แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มไทเทเนียมที่มีพีดีดีเอ็มที่ชั้นบนสุดกับกลุ่มอื่นๆ ($p<0.05$)

ตัวย่อ: TCP, จานเลี้ยงเซลล์; Ti, แผ่นไทเทเนียม; PDADMAC, แผ่นไทเทเนียมที่เคลือบด้วยพีดีดีเอ็ม

Figure 2 Percentage of microbial viability of *Staphylococcus aureus* biofilm(A) and *Candida albicans* (B) in biofilm. Data were presented as the mean $\pm$ SD ($n=3$). a indicates significant difference between uncoated Ti group and other groups. b indicates significant difference between PDADMAC coated on Ti group and other groups ($p<0.05$).

Abbreviations: TCP, Tissue culture plate; Ti, Titanium disc; PDADMAC, PDADMAC coated on titanium disc

3. ผลการตรวจสอบการรูปร่างและปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

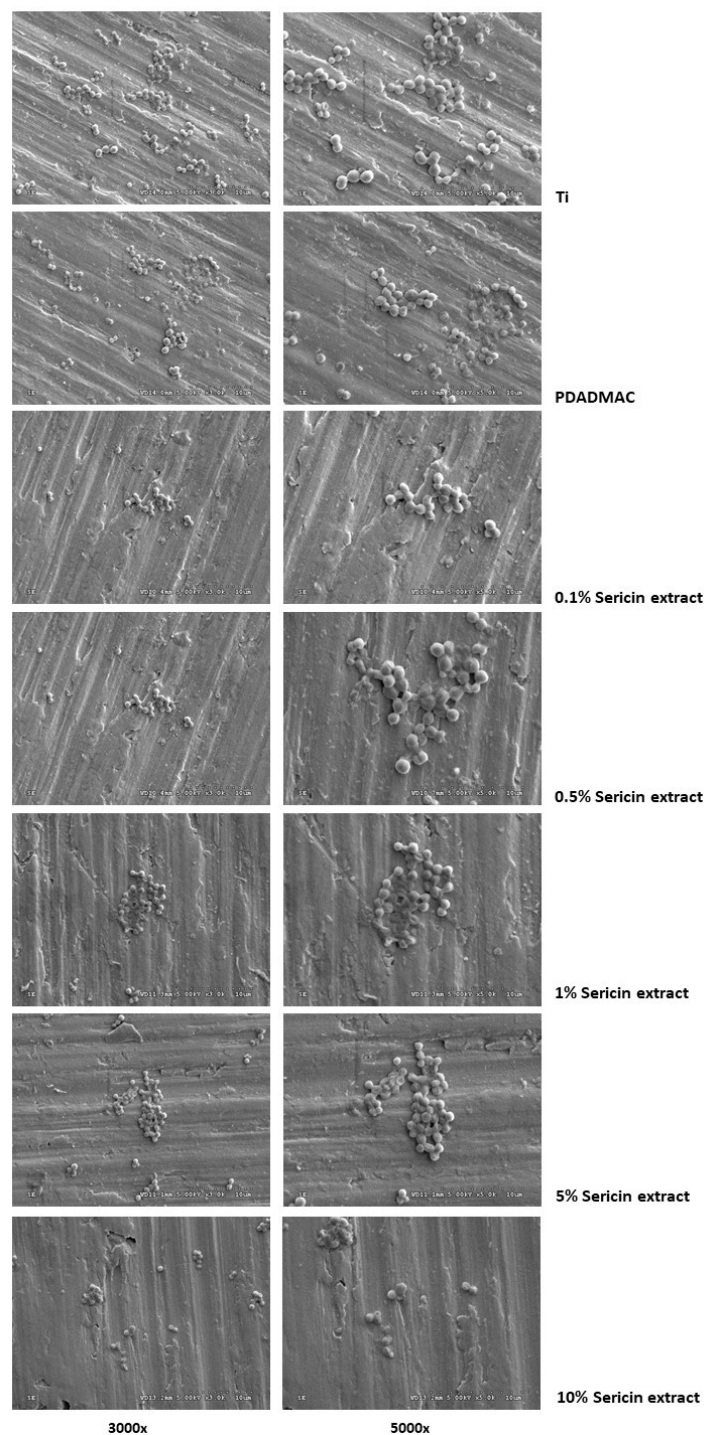
การตรวจสอบรูปร่างและปริมาณของเชื้อสแตปไฟโลคอคคัส ออเรียส (รูปที่ 3) และแคนดิดา อัลบิแคนส์ (รูปที่ 4) ที่อยู่ในไบโอฟิล์มบนไทเทเนียมที่มีการเตรียมพื้นผิวที่แตกต่างกัน ที่ 24 ชั่วโมง พบว่าการเปลี่ยนแปลงพื้นผิวของไทเทเนียมโดยการเคลือบด้วยพีดีดีเอ็มชั้นบนสุดและเซอรินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ไม่มีผลต่อรูปร่างปกติของเชื้อทั้งสองชนิด เมื่อตรวจสอบด้วยเอสอีเอ็ม พบว่า เชื้อสแตปไฟโลคอคคัส ออเรียส ยังคงแสดงรูปร่างกลมที่จับตัวกันเป็นกลุ่ม

เหมือนกันในทุกพื้นผิว ส่วนแคนดิดา อัลบิแคนส์ พบทั้งเซลล์รูปร่างค่อนข้างกลมของยีสต์ (yeast) และรูปร่างเป็นสาย (filamentous) แบบซูโดไฮฟี (pseudo-hyphae) และไฮฟี (hyphae) อย่างไรก็ตามพื้นผิวที่แตกต่างกันส่งผลให้มีปริมาณเชื้อในไบโอฟิล์มแตกต่างกัน โดยพบว่าปริมาณเชื้อในไบโอฟิล์มของทั้ง 2 ชนิด เป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดยกลุ่มไทเทเนียมที่ไม่ได้เคลือบสารใด ๆ มีปริมาณของเชื้อทั้งสองชนิดหนาแน่นใกล้เคียงกันกับกลุ่มไทเทเนียมที่เคลือบพีดีดีเอ็มชั้นบนสุด แต่มีความหนาแน่นมากกว่ากลุ่มไทเทเนียมที่ถูกเคลือบด้วยสารสกัด เซอรินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยเฉพาะ

ในเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ จะเห็นความแตกต่างอย่างชัดเจน ส่วนไทเทเนียมที่ถูกเคลือบด้วยสารสกัดเซอรินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ไม่มีความแตกต่างของปริมาณของเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส

และแคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่ชัดเจน ซึ่งผลที่ได้จากตรวจสอบด้วยเอสอีเอ็มสอดคล้องกับผลที่ได้จากวิธีวัดการสร้างไบโอฟิล์ม

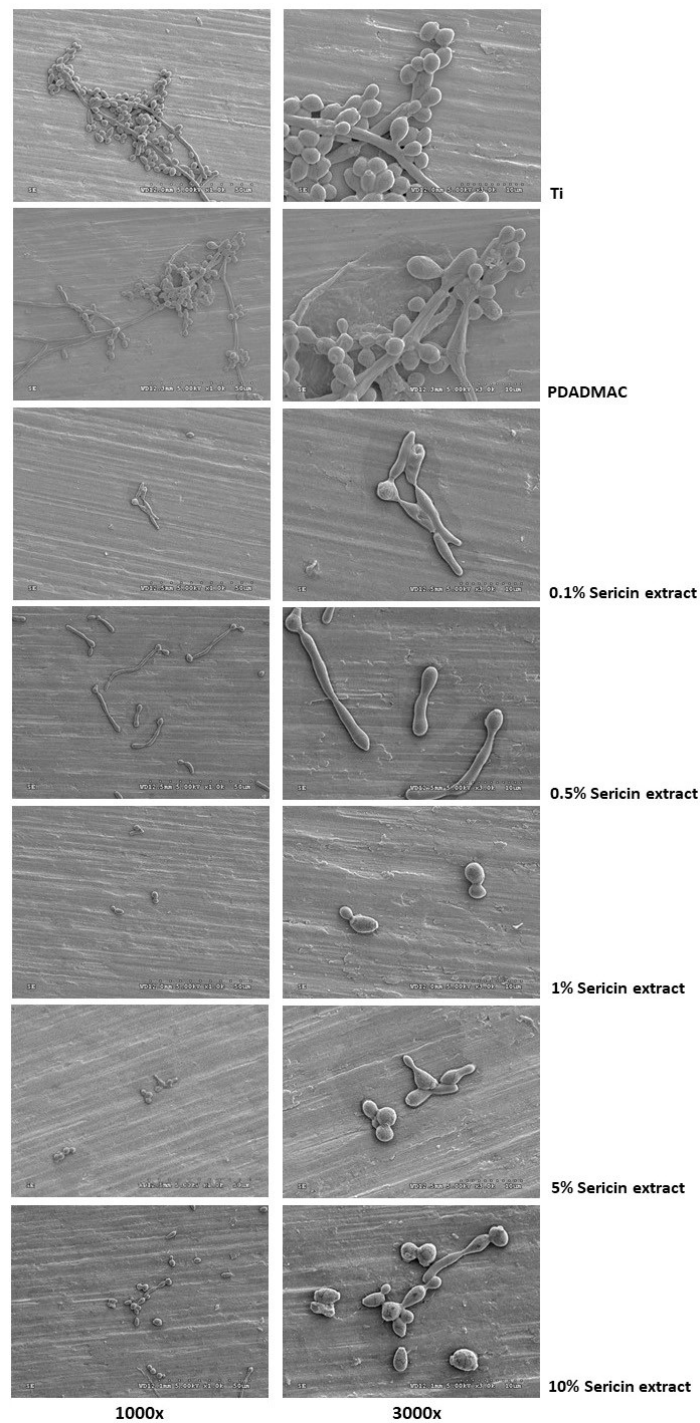
Staphylococcus aureus



รูปที่ 3 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส ไบโอฟิล์ม ที่กำลังขยาย 3000x และ 5000x ด้วย: TCP,จานเลี้ยงเซลล์; Ti,แผ่นไทเทเนียม; PDADMAC,แผ่นไทเทเนียมที่เคลือบด้วยพีแอดีแม็ค

Figure 3 Scanning electron micrograph of *Staphylococcus aureus* biofilm at 3000x and 5000x magnification
Abbreviations: TCP, Tissue culture plate; Ti, Titanium disc; PDADMAC, PDADMAC coated on titanium disc

Candida albicans



รูปที่ 4 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของแคนดิดา อัลบิแคนส์ ไบโอฟิล์ม ที่กำลังขยาย 1000x และ 3000x ด้วย: TCP,จานเลี้ยงเซลล์; Ti,แผ่นไทเทเนียม; PDADMAC,แผ่นไทเทเนียมที่เคลือบด้วยพีแอดีเอ็มซี

Figure 4 Scanning electron micrograph of *Candida albicans* biofilm at 1000x and 3000x magnification
Abbreviations: TCP, Tissue culture plate; Ti, Titanium disc; PDADMAC, PDADMAC coated on titanium disc

บทวิจารณ์

การติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับสิ่งปลูกฝังเป็นสาเหตุอย่างหนึ่งที่นำไปสู่ความล้มเหลว ไทเทเนียมและไทเทเนียมอัลลอยด์ที่ใช้ทำสิ่งปลูกฝังทางการแพทย์มีคุณสมบัติเข้ากันได้ทางชีวภาพกับเนื้อเยื่อของร่างกาย ดังนั้นหลังจากฝังสิ่งปลูกฝังไทเทเนียมเข้าไปในกระดูกจะเกิดการสร้างขึ้นของโปรตีนปกคลุมผิวสิ่งปลูกฝัง ทำให้เกิดสภาวะที่เหมาะสมต่อการยึดติดและเจริญเติบโตของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างกระดูกรอบสิ่งปลูกฝัง ในทางตรงข้ามก็จะเกิดสภาวะที่เหมาะสมต่อการเกาะกลุ่มของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยและเกิดไบโอฟิล์มขึ้นมาได้ภายใน 30 นาที^{3,12} การก่อตัวของไบโอฟิล์มมีบทบาทสำคัญในการเริ่มและการลุกลามของการติดเชื้อรอบ ๆ สิ่งปลูกฝัง โดยจะทำให้ลายเนื้อเยื่อที่อยู่ข้างเคียง นำไปสู่การเกิดหลอดเลือดมากที่ไม่ดี (poor vascularization) สิ่งปลูกฝังหลวม (loosening) หรือแยกออก (detachment) หรือเกิดการเคลื่อนตำแหน่ง (dislocation) ในที่สุดก็ส่งผลให้เกิดความล้มเหลวของสิ่งปลูกฝัง³¹ นอกจากนี้การติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับไบโอฟิล์มบนอุปกรณ์การแพทย์ทำให้เกิดปัญหาต่อการรักษามากยิ่งขึ้นเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในไบโอฟิล์มจะดื้อต่อยาต้านจุลินทรีย์ และพบบ่อยครั้งว่ามีความจำเป็นที่จะต้องเอาสิ่งปลูกฝังเหล่านี้ออก¹⁰ ดังนั้นการป้องกันการสร้างไบโอฟิล์มโดยการเตรียมพื้นผิววัสดุให้มีความเหมาะสมด้านเชื้อจุลินทรีย์ถือเป็นวิธีการที่ดีที่สุดในการหลีกเลี่ยงการแพร่กระจายของจุลินทรีย์ก่อโรคและการเสื่อมสภาพของวัสดุ¹¹

การศึกษารุ่นนี้เป็นการศึกษาแรกที่ทำการศึกษาการเตรียมแผ่นไทเทเนียมที่เคลือบด้วยสารสกัดเซโรซินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยวิธีฟิสิกส์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการต้านการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส และแคนดิดา อัลบิแคนส์ แม้ว่าจะมีรายงานว่าเกิดการเนื้องอกของสิ่งปลูกฝังอีกเสบมีความสัมพันธ์กับจุลินทรีย์ก่อโรครุนแรง อย่างไรก็ตามการเกิดเนื้องอกของสิ่งปลูกฝังอีกเสบยังมีความสัมพันธ์เชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ได้พบทั่วไปในโรครุนแรงอีกเสบด้วย ได้แก่ เชื้อในสกุลสแตปฟีโลคอคคัส และเชื้อในสกุลแคนดิดา ในการศึกษาครั้งนี้เลือกใช้เชื้อจุลินทรีย์ 2 ชนิด คือเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส และแคนดิดา อัลบิแคนส์ เนื่องจากมีการศึกษาพบว่าเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส มีความสามารถในการยึดติดกับพื้นผิวไทเทเนียม เป็นตัวเริ่มต้นในการสร้างไบโอฟิล์มและพบได้บ่อยในการติดเชื้อชีววัสดุที่เป็นโลหะทั้งสิ่งปลูกฝังออร์โทพีดิกส์ และรากฟันเทียม⁷ นอกจากนี้จากการศึกษาของKronstrom และคณะ ในปี 2000³² อ้างว่าเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส มีความสัมพันธ์กับการเกิดความล้มเหลวของกระบวนการออสซิโออินทีเกรชั่น จากการตรวจพบปริมาณซีรัมอิมมูโนโกลอบูลินจี

แอนติบอดีไทเตอร์ (serum IgG antibody titers) ต่อเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส ในผู้ป่วยที่เกิดความล้มเหลวของกระบวนการออสซิโออินทีเกรชั่นในระยะที่สองของการผ่าตัดรากฟันเทียม (stage-two implant surgery) มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่ประสบความสำเร็จของกระบวนการออสซิโออินทีเกรชั่นในการใส่รากฟันเทียม ซึ่งเป็นการบ่งชี้ถึงกระบวนการในการป้องกันเพื่อต่อต้านต่อการติดเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส ในปี 2014 Persson และคณะ⁵ พบปริมาณของเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส ในตำแหน่งที่เกิดเนื้องอกของสิ่งปลูกฝังอีกเสบมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับตำแหน่งรากฟันเทียมที่มีสุขภาพดี (healthy implant site) ส่วนแคนดิดา อัลบิแคนส์ เป็นเชื้อราที่พบบ่อยที่สุดในช่องปาก¹⁰ และสามารถพบได้ในคนที่มีสุขภาพช่องปากที่ดี เชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์สามารถยึดติดและเกิดการสร้างไบโอฟิล์มขึ้นมากับทุกส่วนของส่วนประกอบของรากฟันเทียม (dental implant components) โดยเฉพาะส่วนฟิกซ์เจอร์ (fixture) ที่พบว่ามี การสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ มากกว่าและหนาแน่นกว่าชิ้นส่วนอื่น ๆ เช่น หลักยึดสิ่งปลูกฝัง (implant abutment) ในปี 2019 Alrabiah และคณะ⁶ พบว่าไบโอฟิล์มใต้เหงือกในตำแหน่งที่เกิดเนื้องอกของสิ่งปลูกฝังอีกเสบจะมีเชื้อในสกุลแคนดิดา มากกว่าตำแหน่งรากฟันเทียมที่มีสุขภาพดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยแคนดิดา อัลบิแคนส์ เป็นจุลินทรีย์ก่อโรครุนแรงในสกุลแคนดิดาที่พบมากที่สุดในโครงสร้างของไบโอฟิล์ม มีหลายการศึกษาที่รายงานถึงอิทธิพลของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่เจริญเติบโตอยู่ในไบโอฟิล์ม เช่น Janus และคณะ ในปี 2017⁸ พบว่าในสภาวะที่มีอากาศ (aerobic condition) เชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ที่อยู่ในไบโอฟิล์มจะส่งเสริมให้เกิดการเกาะกลุ่มกันของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ซึ่งได้แก่ เชื้อสกุลพรีโวเทลลา (*Prevotella species*) และสกุลฟูโซแบคทีเรีย (*Fusobacterium species*) ได้มากกว่าในไบโอฟิล์มที่ไม่มีเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ อยู่ ดังนั้นผู้วิจัยกลุ่มนี้จึงสรุปว่าเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ สามารถเปลี่ยนแปลงชีวนิเวศจุลินทรีย์หรือไม่โครไบโอม (microbiome) ของแบคทีเรีย โดยการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศ (anaerobic bacteria) ในระยะเริ่มต้นของการเกิดไบโอฟิล์มได้ ในทางกลับกันเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ สเตรปโตคอคคัส แสงควินิส (*Streptococcus sanguinis*) และสเตรปโตคอคคัส มิวแทนส์ (*Streptococcus mutans*) ที่เจริญเติบโตร่วมกับแคนดิดา อัลบิแคนส์ ไบโอฟิล์มบนไทเทเนียมก็มีอิทธิพลต่อการควบคุมความรุนแรง (virulence) ของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์

โดยแสดงให้เห็นจากการเพิ่มการเจริญเติบโตของไฮฟี (hyphal development) และเพิ่มการแสดงออกของยีนส์ที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของแคนดิดา อัลบิแคนส์ หลายชนิด³³ มีรายงานว่าแคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่เจริญเติบโตอยู่ในไบโอฟิล์มจะมีความดื้อต่อยาต้านเชื้อราฟลูโคนาโซล (antifungal fluconazole) 100 เท่าหรือมากกว่า และมีความดื้อต่อยาต้านเชื้อราแอมโฟเทอริซิน บี (antifungal amphotericin B) มากกว่า 20-30 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์อิสระ (planktonic cells)¹⁰ นอกจากนี้แคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่อยู่รวมกันกับเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส ในไบโอฟิล์มจะส่งผลให้เชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส มีลักษณะฟีโนไทป์ (phenotype) แตกต่างไปจากไบโอฟิล์มที่มีเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส เพียงชนิดเดียว และมีผลให้เชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส มีความดื้อต่อยาแวนโคไมซิน (vancomycin) มากขึ้น⁹ จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นว่าทั้งเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส และแคนดิดา อัลบิแคนส์ มีความสัมพันธ์กับการเกิดการติดเชื้อของรากฟันเทียมและเป็นเชื้อที่ทำให้เกิดปัญหาต่อการรักษามากยิ่งขึ้น

ก่อนเริ่มต้นศึกษาประสิทธิภาพการต้านการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดเซโรซินที่เคลือบบนไทเทเนียมด้วยวิธีฟิโอมฟิล์มได้ทำการทดสอบก่อนว่าไทเทเนียมที่ทำการเตรียมด้วยวิธีนี้มีความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างกระดูกหรือไม่ ในการศึกษาครั้งนี้เลือกใช้เซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิของมนุษย์ในการทดสอบแทนการใช้เซลล์ที่ได้จากสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น เช่น หนู เนื่องจากต้องการลดปัจจัยความแตกต่างของเซลล์และต้องการเชื่อมโยงผลที่ได้ไปยังการใช้งานทางคลินิก ส่วนการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ในการศึกษานี้เลือกใช้วิธีเอ็มทีที เนื่องจากวิธีนี้เป็นการวัดความเป็นพิษและความมีชีวิตของเซลล์จากการวัดกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ (cellular metabolic activity) ที่ได้รับการยอมรับทำได้ง่าย ราคาไม่แพง และมีความแม่นยำในการทำซ้ำสูง (high reproducibility) แต่วิธีนี้ต้องระมัดระวังการถูกรบกวนโดยสารที่มีสีอื่น ๆ วิธีเอ็มทีทีอาศัยหลักการว่าเซลล์ที่มีชีวิตจะใช้เอนไซม์ไมโทคอนเดรียดีไฮโดรจีเนส (mitochondrial dehydrogenase) เปลี่ยนสารละลายเอ็มทีทีสีเหลืองที่เป็นเกลือเตตราโซเลียม (tetrazolium salt) ให้เป็นผลิตภัณฑ์ฟอร์มาซาน (formazan) ที่มีสีม่วงไม่ละลายน้ำแต่สามารถละลายได้ในตัวทำละลาย เช่น ดีเอ็มเอสโอ ทำให้ได้สารละลายสีม่วงน้ำเงินที่นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงและคำนวณร้อยละการมีชีวิตของเซลล์³⁴

ผลการทดสอบความมีชีวิตของเซลล์สร้างกระดูกปฐมภูมิของมนุษย์ที่ 24 ชั่วโมง แม้ว่าสารสกัดเซโรซินที่เคลือบบนแผ่นไทเทเนียมด้วยวิธีฟิโอมฟิล์มที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 0.5 1 5 และ 10 โดยมวลต่อปริมาตร มีค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์

น้อยกว่ากลุ่มไทเทเนียมที่ไม่ได้เคลือบ อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มไทเทเนียมที่เคลือบด้วยสารสกัดเซโรซินมีค่าเฉลี่ยร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ค่ามากกว่า 50 และมีค่าสูงกว่ากลุ่มของเซลล์ที่เพาะเลี้ยงอยู่บนภาตเลี้ยงเซลล์ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมแบบลบและใช้เป็นมาตรฐานทั่วไปในการเลี้ยงเซลล์ ผลที่ได้นี้แสดงให้เห็นว่าไทเทเนียมที่เคลือบด้วยสารสกัดเซโรซินด้วยวิธีฟิโอมฟิล์มที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.1-10 โดยมวลต่อปริมาตร ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างกระดูก ดังนั้นจึงสามารถใช้สารสกัดเซโรซินที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.1-10 โดยมวลต่อปริมาตร ในการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อจุลินทรีย์ในขั้นตอนต่อไปได้

การทดสอบการต้านเชื้อจุลินทรีย์สามารถทำได้หลายวิธี เช่น วิธีดิสดิฟฟิวชัน (disc diffusion method)³⁵ วิธีไทม์คิลลิ่ง (time killing assay)³⁵ และวิธีวัดการสร้างไบโอฟิล์ม²⁹ ในการศึกษาครั้งนี้เลือกใช้วิธีวัดการสร้างไบโอฟิล์มในการทดสอบการต้านเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งวิธีนี้ประกอบไปด้วยหลายขั้นตอน ได้แก่ การทำให้เกิดการยึดติดของเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นทำการบ่มเพาะเชื้อต่อเพื่อให้เกิดการสร้างไบโอฟิล์ม เมื่อถึงระยะเวลาที่กำหนดทำการล้างเชื้อที่ไม่ได้ยึดติดออก ตามด้วยการทำให้จุลินทรีย์ที่อยู่ในไบโอฟิล์มหลุดออกจากชิ้นงาน จากนั้นทำการเจือจางสารละลายฟิโอม ที่ได้ที่มีเชื้อจุลินทรีย์แขวนลอยอยู่และนำไปบ่มเพาะเชื้อ เมื่อครบตามกำหนดเวลาจึงทำการนับจำนวนโคโลนีในแต่ละจานเพาะเชื้อเพื่อคำนวณหาค่าการเจริญเติบโตของเชื้อต่อไป จะเห็นว่าวิธีการนี้ได้จำลองให้ไบโอฟิล์มเกิดขึ้นซึ่งเป็นการเลียนแบบการเกิดไบโอฟิล์มก่อนที่จะเกิดการติดเชื้อบนสิ่งปลูกฝังในมนุษย์ แต่วิธีการนี้ก็มีข้อจำกัดเนื่องจากไม่สามารถทราบได้ว่าในขั้นตอนการเขย่าและสั่นชิ้นงานเพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์อยู่ในไบโอฟิล์มหลุดออกจากชิ้นงานนั้นเชื้อจุลินทรีย์ที่หลุดออกจากชิ้นงานหมดหรือไม่ อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ครั้งนี้ได้มีการควบคุมระยะเวลาที่ใช้ในการเขย่าและสั่นชิ้นงานให้เท่ากันทุกกลุ่มทดลอง ร่วมกับผลที่ได้จากเอสบีเอ็มที่พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ยูบขึ้นงานในทุกกลุ่มการทดลองมีปริมาณไม่มากนัก จึงคิดว่าระยะเวลาที่ใช้ในการเขย่าและสั่นเพื่อเอาเชื้อจุลินทรีย์ออกจากวิธีและระยะเวลาที่กำหนดไว้น่าจะทำให้เชื้อหลุดออกได้หมด อย่างไรก็ตามถ้าต้องการยืนยันว่าระยะเวลาที่ใช้ในการเขย่าและสั่นตามที่กำหนดไว้ในการศึกษานี้เพียงพอต่อการทำให้เชื้อหลุดออกจากชิ้นงานหมดหรือไม่ อาจตรวจสอบได้โดยการนำชิ้นงานภายหลังจากการการเขย่าไปตรวจสอบด้วยเอสบีเอ็ม

ผลที่ได้จากการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อจุลินทรีย์ครั้งนี้ พบว่าสารสกัดเซโรซินที่เคลือบบน

แผ่นไทเทเนียมด้วยวิธีฟิโอะเอ็มฟิล์มที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 0.5 1.5 และ 10 โดยมวลต่อปริมาตร ไม่มีผลต่อการต้านการยึดติดของเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส แต่มีประสิทธิภาพในการต้านการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ เมื่อเทียบกับแผ่นไทเทเนียมที่ไม่ได้เคลือบ จากการทบทวนวรรณกรรมที่ผ่านมาการศึกษาเพียงเล็กน้อยที่รายงานถึงผลของเซอรินต่อการต้านประสิทธิภาพในการต้านเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียสและเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์^{13,20,21,36} โดยผลของเซอรินต่อการต้านเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับ Ahamad และ Vootla ในปี 2018²¹ ที่พบว่าสารสกัดเซอรินที่ได้จากไหมทาชาร์ แอนเทอเรีย มายลิทา ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.0025-0.01 โดยมวลต่อปริมาตร มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ และสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส อย่างไรก็ตามผลที่ได้เกี่ยวกับประสิทธิภาพของสารสกัดเซอรินต่อการต้านเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส ยังมีความขัดแย้งกันในปัจจุบัน เช่น Senakoon และคณะ ในปี 2009³⁶ พบว่าสารสกัดเซอรินที่ได้จากไหมป่าอีรีหรือชาเมียริซิน (Eri silkworm, *Samia ricini*) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.002-0.004 โดยมวลต่อปริมาตร มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตและการแบ่งเซลล์ (cell division) ของเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส โดยทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส มีรูปร่างที่ผิดปกติและสูญเสียการทำหน้าที่ไป สอดคล้องกับ Ahamad และ Vootla²¹ ที่กล่าวไว้ข้างต้นและยังสอดคล้องกับ Zhang และคณะ ในปี 2008¹³ ที่รายงานประสิทธิภาพในการต้านการยึดติดของเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส บนไทเทเนียมที่ทำการปรับปรุงโดยตรงพื้นผิวด้วยการใช้กรดโพลีเมทาคริลิกร่วมกับเซอรินที่ได้จากบอมบิกซ์ มอไร ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยมวลต่อปริมาตร ว่าสามารถลดการยึดติดของเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส ได้มากกว่ากลุ่มควบคุมไทเทเนียม อย่างไรก็ตามผู้วิจัยกลุ่มนี้อ้างว่าประสิทธิภาพในการต้านการยึดติดของเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส บนพื้นผิวไทเทเนียมที่ปรับปรุงนี้เป็นผลมาจากกรดโพลีเมทาคริลิกที่เคลือบอยู่ชั้นล่างมากกว่าผลจากเซอรินที่อยู่ชั้นบน ซึ่งตรงกันข้ามกับผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ ที่พบว่าการใช้พีแอดีเอ็มค พีเอสเอส และสารสกัดเซอรินจากไหมบอมบิกซ์ มอไร ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 - 10 โดยมวลต่อปริมาตร ในการปรับปรุงพื้นผิวแผ่นไทเทเนียมด้วยวิธีฟิโอะเอ็มฟิล์มไม่มีประสิทธิภาพในการต้านการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส รวมถึงแผ่นไทเทเนียมที่มีชั้นพีแอดีเอ็มคอยู่บนสุดก่อนที่จะเคลือบด้วยเซอรินก็ไม่มีประสิทธิภาพในการต้านการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส เช่นกัน โดยผลที่ได้ในการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Liu และคณะ ในปี 2018²⁰ ที่พบว่าวัสดุทำแผล (wound dressing)

ที่ได้จากการผสมเซอรินความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยมวลต่อปริมาตร เข้าไปในวุ้น (agar) ไม่มีผลต่อเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส ในด้านการต้านเชื้อแบคทีเรียและการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (bacteriostatic activity) การที่ผลการศึกษาที่ผ่านมามีความแตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากเซอรินที่ใช้ในการทดสอบได้มาจากไหมต่างสายพันธุ์กัน วิธีการสกัดเซอรินต่างกัน ความเข้มข้นของเซอรินที่ใช้แตกต่างกัน รวมถึงการนำเอาเซอรินมาประยุกต์ใช้ด้วยวิธีที่ต่างกัน นอกจากนี้ยังมีความแตกต่างกันในวิธีการทดสอบชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ และวิธีการคำนวณประสิทธิภาพในการต้านเชื้อและการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ ซึ่งปัจจัยทั้งหมดเหล่านี้อาจทำให้ได้ผลการทดลองที่ได้แตกต่างกันไป

ความเข้มข้นของสารสกัดเซอรินที่ใช้ในการศึกษานี้ แม้ว่าจะมีค่ามากกว่าการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Ahamad และ Vootla²¹ และการศึกษาของ Senakoon และคณะ³⁶ แต่จะเห็นว่าทั้งสองกลุ่มการศึกษานี้ใช้สารละลายสารสกัดเซอรินทดสอบกับเชื้อจุลชีพโดยตรง ต่างจากการศึกษาของ Zhang และคณะ¹³ และการศึกษาของ Liu และคณะ²⁰ ที่มีการใช้สารสกัดเซอรินเข้าไปในวัสดุที่ต้องการทดสอบก่อนที่จะนำมาทดสอบกับเชื้อจุลชีพ ซึ่งพบว่าความเข้มข้นของสารสกัดเซอรินที่ใช้อยู่ในช่วงร้อยละ 0.5-2 โดยมวลต่อปริมาตร ซึ่งก็มีค่าเพิ่มมากขึ้นกว่าสองการศึกษาแรกในการศึกษารุ่นนี้เลือกใช้ความเข้มข้นร้อยละ 0.1-10 โดยมวลต่อปริมาตร ซึ่งมีช่วงที่คาบเกี่ยวกับการศึกษาของ Zhang และคณะ และ Liu และคณะ นอกจากนี้ความเข้มข้นของสารสกัดเซอรินที่ใช้ในการศึกษารุ่นนี้เป็นความเข้มข้นของสารละลายของสารสกัดเซอรินที่ใช้ในการเคลือบเพื่อทำให้เกิดฟิโอะเอ็มฟิล์ม แต่ไม่ใช่ความเข้มข้นของสารสกัดเซอรินที่เคลือบอยู่บนแผ่นไทเทเนียม ซึ่งจะมีปริมาณของสารสกัดเซอรินน้อยกว่าในสารละลายที่ใช้ในการเตรียมฟิโอะเอ็มฟิล์มมาก เนื่องจากโดยทั่วไปแล้วฟิโอะเอ็มฟิล์มที่เคลือบอยู่บนวัสดุจะมีความหนาระดับนาโนเมตร¹⁴ ดังนั้นแม้ว่าความเข้มข้นของสารละลายสารสกัดเซอรินที่เตรียมในการศึกษานี้จะมีความเข้มข้นมากกว่าการศึกษาก่อนหน้านี้แต่ความเข้มข้นหรือปริมาณของเซอรินที่อยู่ในฟิโอะเอ็มฟิล์มอาจมีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย ซึ่งปริมาณของสารสกัดเซอรินที่แท้จริงที่อยู่ในฟิโอะเอ็มฟิล์มบนไทเทเนียมจำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต

ในการศึกษารุ่นนี้พบว่าประสิทธิภาพในการต้านการเกิดไบโอฟิล์มของแคนดิดา อัลบิแคนส์ บนไทเทเนียมที่เคลือบด้วยสารสกัดเซอรินที่ความเข้มข้นที่ต่างกันไม่แสดงผลออกมาตามขนาดของความเข้มข้นที่ใช้ (dose-dependent effect) ทั้งที่ความเข้มข้นของสารละลายของสารสกัดเซอรินที่ใช้มีค่าต่างกันถึง 100 เท่า น่าจะมาจากเหตุผลที่ความเข้มข้นหรือปริมาณของเซอรินที่อยู่ใน

ฟิโอมฟิล์มทุกความเข้มข้นอาจมีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย แม้ว่าผลที่ได้จากการศึกษาในหลอดทดลอง (*in vitro*) ครั้งนี้พบว่า สารสกัดเซโรซินที่เคลือบบนไทเทเนียมมีประสิทธิภาพในการลดจำนวนการมีชีวิตของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ได้ถึงประมาณร้อยละ 50 และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม การทดลองในระดับนี้ยังไม่สามารถกำจัดเชื้อได้หมด และยังไม่ทราบแน่ชัดว่ามีความแตกต่างในทางคลินิกหรือไม่ ดังนั้นจำเป็นต้องทำการศึกษาเพิ่มทางคลินิกต่อไปในอนาคต

มีรายงานว่ากรดอะมิโน (amino acid) หลายชนิด เช่น อาร์จินีน (arginine) และไลซีน (lysine) มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น เชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส สแตปฟีโลคอคคัส อีพิเดอร์มิดิส เอสเชอริเชีย โคไล (*Escherichia coli*) และแคนดิดา อัลบิแคนส์^{37,38} เซโรซินเป็นไกลโคโปรตีนที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่สำคัญ 18 ชนิด โดยพบกรดอะมิโนชนิดเซอรีน (serine) มากที่สุดประมาณร้อยละ 31 ตามมาด้วยไกลซีน (glycine) ร้อยละ 19.1 และกรดแอสพาร์ติก (aspartic acid) ร้อยละ 17.8 ส่วนอาร์จินีน และไลซีนพบเพียงเล็กน้อย คือ ร้อยละ 3.9 และ 2.7 ตามลำดับ³⁹ การศึกษานี้ทำให้ข้อมูลว่าสารสกัดเซโรซินที่เคลือบบนแผ่นไทเทเนียมด้วยวิธีทำให้เกิดฟิโอมฟิล์มที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1-10 โดยมวลต่อปริมาตร ไม่ส่งผลต่อเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส ทั้งนี้อาจเกิดจากอาร์จินีนและไลซีนที่พบในเซโรซินที่ใช้ในการศึกษานี้มีปริมาณที่น้อยเกินกว่าที่จะส่งผลต่อเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส หรืออาจเกิดจากสัดส่วนของอาร์จินีนและไลซีนในสารสกัดเซโรซินที่ใช้ในการศึกษานี้ไม่เอื้อต่อการต้านการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส จากการศึกษาของ Borman และคณะ ในปี 2017⁴⁰ รายงานว่าสัดส่วนของอาร์จินีนและไลซีนมีผลต่อประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส โดยสายเปปไทด์ที่มีอาร์จินีน 3 ตัว และ ไลซีน 1 ตัว จะมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส แต่จะให้ผลตรงกันข้ามถ้าแทนที่อาร์จินีนด้วยไลซีน ในการศึกษาพบว่าสารสกัดเซโรซินที่เคลือบบนแผ่นไทเทเนียมด้วยวิธีทำให้เกิดฟิโอมฟิล์มที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1-10 โดยมวลต่อปริมาตร มีประสิทธิภาพในการต้านการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ยังไม่ทราบถึงกลไกที่แน่ชัดในการต้านการสร้างแคนดิดา อัลบิแคนส์ ไบโอฟิล์มของสารสกัดเซโรซินที่เคลือบบนแผ่นไทเทเนียมด้วยวิธีฟิโอมฟิล์ม แต่คาดว่าจะมาจากการกรดอะมิโนที่อยู่ในสารสกัดเซโรซิน โดยเฉพาะกรดอะมิโนชนิดไลซีน และอาร์จินีนที่สามารถทะลุผ่านผนังเซลล์ (cell wall) และเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) ของแคนดิดา อัลบิแคนส์ ไปจับกับเยื่อหุ้มไมโทคอนเดรีย (mitochondrial membrane) ส่งผลให้ไมโทคอนเดรีย

เกิดความเสียหาย (mitochondrial damage) ในที่สุดก็เกิดการตายของเซลล์แบบที่มีการตั้งโปรแกรมไว้แล้วหรือที่เรียกว่า อะพอโทซิส (cell apoptosis)⁴¹ อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคตเพื่อให้ทราบถึงกลไกการต้านการสร้างแคนดิดา อัลบิแคนส์ ไบโอฟิล์มของสารสกัดเซโรซินที่เคลือบบนแผ่นไทเทเนียมด้วยวิธีฟิโอมฟิล์มที่แน่ชัด เพื่อที่จะนำสารสกัดเซโรซินมาประยุกต์ใช้ให้ได้ประสิทธิภาพมากที่สุดในการป้องกันการติดเชื้อในผู้ป่วยผ่าตัดฝังรากฟันเทียม

บทสรุป

สารสกัดเซโรซินที่เคลือบบนแผ่นไทเทเนียมด้วยวิธีฟิโอมฟิล์มที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 0.5 1 5 และ 10 โดยมวลต่อปริมาตร ไม่มีประสิทธิภาพในการต้านการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส แต่สามารถต้านการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อแคนดิดา อัลบิแคนส์ ได้เมื่อเทียบกับแผ่นไทเทเนียมที่ไม่ได้เคลือบ โดยความเข้มข้นของเซโรซินในช่วงร้อยละ 0.1-10 โดยมวลต่อปริมาตร มีผลต่อร้อยละการมีชีวิตของเชื้อ แคนดิดา อัลบิแคนส์ ในไบโอฟิล์มไม่แตกต่างกัน

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ทำการวิจัยขอขอบคุณคณะทันตแพทยศาสตรมหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สนับสนุนทุนวิจัยและเอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัยในครั้งนี้

แหล่งเงินทุน: คณะทันตแพทยศาสตร มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

1. Kulkarni M, Mazare A, Gongadze E, Perutkova Š, Kralj-Iglič V, Milošev I, et al. Titanium nanostructures for biomedical applications. *Nano-technology* 2015;26(6):062002.
2. Spriano S, Yamaguchi S, Baino F, Ferraris S. A critical review of multifunctional titanium surfaces: New frontiers for improving osseointegration and host response, avoiding bacteria contamination. *Acta Biomater* 2018;79:1-22.
3. Zhao L, Chu PK, Zhang Y, Wu Z. Antibacterial coatings on titanium implants. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2009;91(1):470-80.
4. Belibasakis GN. Microbiological and immuno-pathological aspects of peri-implant diseases. *Arch Oral Biol* 2014;59(1):66-72.
5. Persson GR, Renvert S. Cluster of bacteria associated with peri-implantitis. *Clin Implant Dent Relat Res* 2014;16(6):783-93.
6. Alrabiah M, Alshagroud RS, Alsahhaf A, Almojaly SA, Abduljabbar T, Javed F. Presence of *Candida* species in the subgingival oral biofilm of patients with peri-implantitis. *Clin Implant Dent Relat Res* 2019;21(4):781-85.

7. Harris LG, Richards RG. Staphylococci and implant surfaces: a review. *Injury* 2006;37 Suppl 2:S3-14.
8. Janus MM, Crielard W, Volgenant CM, van der Veen MH, Brandt BW, Krom BP. *Candida albicans* alters the bacterial microbiome of early *in vitro* oral biofilms. *J Oral Microbiol* 2017;9(1):1270613.
9. Harriott MM, Noverr MC. *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* form polymicrobial biofilms: effects on antimicrobial resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53(9):3914-22.
10. K Kumamoto CA. *Candida* biofilms. *Curr Opin Microbiol* 2002;5(6):608-11.
11. Chouirfa H, Bouloussa H, Migonney V, Falentin-Daudre C. Review of titanium surface modification techniques and coatings for antibacterial applications. *Acta Biomater* 2019;83:37-54.
12. Damiati L, Eales MG, Nobbs AH, Su B, Tsimbouri PM, Salmeron-Sanchez M, *et al*. Impact of surface topography and coating on osteogenesis and bacterial attachment on titanium implants. *J Tissue Eng* 2018;9:2041731418790694.
13. Zhang F, Zhang Z, Zhu X, Kang ET, Neoh KG. Silk-functionalized titanium surfaces for enhancing osteoblast functions and reducing bacterial adhesion. *Biomaterials* 2008;29(36):4751-9.
14. Decher G. Fuzzy Nanoassemblies: Toward Layered Polymeric Multicomposites. *Science* 1997;277(5330):1232-37.
15. Boudou T, Crouzier T, Ren K, Blin G, Picart C. Multiple functionalities of polyelectrolyte multilayer films: new biomedical applications. *Adv Mater* 2010;22(4):441-67.
16. Rodríguez LAL, Lee MR, Ortiz BJ, Gastfriend BD, Whitehead R, Lynn DM, *et al*. Preventing *S. aureus* biofilm formation on titanium surfaces by the release of antimicrobial beta-peptides from polyelectrolyte multilayers. *Acta Biomater* 2019;93:50-62.
17. Wong SY, Moskowitz JS, Veselinovic J, Rosario RA, Timachova K, Blaisse MR, *et al*. Dual functional polyelectrolyte multilayer coatings for implants: permanent microbicidal base with controlled release of therapeutic agents. *J Am Chem Soc* 2010;132(50):17840-8.
18. Zhang YQ. Applications of natural silk protein sericin in biomaterials. *Biotechnol Adv* 2002;20(2):91-100.
19. Fan JB, Wu LP, Chen LS, Mao XY, Ren FZ. Antioxidant activities of silk sericin from silkworm *bombyx mori*. *J Food Biochem* 2007;33(1):74-88.
20. Liu L, Cai R, Wang Y, Tao G, Ai L, Wang P, *et al*. Polydopamine-Assisted Silver Nanoparticle Self-Assembly on Sericin/Agar Film for Potential Wound Dressing Application. *Int J Mol Sci* 2018;19(10):2875.
21. Ahamad SI, Vootla SK. Extraction and evaluation of antimicrobial potential of *Antheraea mylitta* silk sericin. *Int J Recent Sci Res* 2018;9(1):23019-22.
22. Zhaorigetu S, Yanaka N, Sasaki M, Watanabe H, Kato N. Inhibitory effects of silk protein, sericin on UVB-induced acute damage and tumor promotion by reducing oxidative stress in the skin of hairless mouse. *J Photochem Photobiol B* 2003;71(1-3):11-17.
23. Nayak S, Dey T, Naskar D, Kundu SC. The promotion of osseointegration of titanium surfaces by coating with silk protein sericin. *Biomaterials* 2013;34(12):2855-64.
24. Kunz RI, Brancalhao RM, Ribeiro LF, Natali MR. Silkworm Sericin: Properties and Biomedical Applications. *Biomed Res Int* 2016;2016:8175701.
25. Lamboni L, Gauthier M, Yang G, Wang Q. Silk sericin: A versatile material for tissue engineering and drug delivery. *Biotechnol Adv* 2015;33(8):1855-67.
26. Angwarawong T, Dubas ST, Arksornnukit M, Pavasant P. Differentiation of MC3T3-E1 on poly(4-styrenesulfonic acid-co-maleic acid) sodium salt-coated films. *Dent Mater J* 2011;30(2):158-69.
27. Katara G, Hemvani N, Chitnis S, Chitnis V, Chitnis DS. Surface disinfection by exposure to germicidal UV light. *Indian J Med Microbiol* 2008;26(3):241-2.
28. Shrivastava S, Bera T, Roy A, Singh G, Ramachandrarao P, Dash D. Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. *Nanotechnology* 2007;18(22):225103.
29. Marra J, Paleari AG, Rodriguez LS, Leite AR, Pero AC, Compagnoni MA. Effect of an acrylic resin combined with an antimicrobial polymer on biofilm formation. *J Appl Oral Sci* 2012;20(6):643-8.
30. Peri-implant mucositis and peri-implantitis: a current understanding of their diagnoses and clinical implications. *J Periodontol* 2013;84(4):436-43.
31. Campoccia D, Montanaro L, Arciola CR. The significance of infection related to orthopedic devices and issues of antibiotic resistance. *Biomaterials* 2006;27(11):2331-9.
32. Kronstrom M, Svensson B, Erickson E, Houston L, Braham P, Persson GR. Humoral immunity host factors in subjects with failing or successful titanium dental implants. *J Clin Periodontol* 2000;27(12):875-82.
33. Cavalcanti YW, Wilson M, Lewis M, Del-Bel-Cury AA, da Silva WJ, Williams DW. Modulation of *Candida albicans* virulence by bacterial biofilms on titanium surfaces. *Biofouling* 2016;32(2):123-34.
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. Balouiri M, Sadiki M, Ibensouda SK. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal* 2016;6(2):71-79.
36. Senakoon W, Nuchadomrong S, Sirimungkararat S, Senawong T, Kitikoon P. Antibacterial Action of Eri (Samia Ricini) Sericin Against *Escherichia Coli* and *Staphylococcus Aureus*. *As. J. Food Ag-Ind* 2009;Special Issue:S222-S28
37. Pinazo A, Manresa MA, Marques AM, Bustelo M, Espuny MJ, Pérez L. Amino acid-based surfactants: New antimicrobial agents. *Adv Colloid Interface Sci* 2016;228:17-39.
38. Dawgul MA, Greber KE, Bartoszewska S, Baranska-Rybak W, Sawicki W, Kamysz W. *In Vitro* Evaluation of Cytotoxicity and Permeation Study on Lysine- and Arginine-Based Lipopeptides with Proven Antimicrobial Activity. *Molecules* 2017;22(12):2173.
39. Kato N, Sato S, Yamanaka A, Yamada H, Fuwa N, Nomura M. Silk protein, sericin, inhibits lipid peroxidation and tyrosinase activity. *Biosci Biotechnol Biochem* 1998;62(1):145-7.
40. Bormann N, Kolisak A, Kasper S, Schoen L, Hilpert K, Volkmer R, *et al*. A short artificial antimicrobial peptide shows potential to prevent or treat bone infections. *Sci Rep* 2017;7(1):1506.
41. Park SC, Kim JY, Kim EJ, Cheong GW, Lee Y, Choi W, *et al*. Hydrophilic Linear Peptide with Histidine and Lysine Residues as a Key Factor Affecting Antifungal Activity. *Int J Mol Sci* 2018;19(12): pii: E3781.

Relationship between Symphysis Dimensions and Mandibular Incisors' Alveolar Bone Thickness in Different Vertical Skeletal Patterns

Phuntin Uengkajornkul¹, Korapin Mahatumarat², Soontra Panmekiate³

¹Graduate student, Department of Orthodontics, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

²Department of Orthodontics, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

³Department of Radiology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

Abstract

This study determined the relationship between symphysis dimensions and the alveolar bone thickness (ABT) at the mandibular incisors in different vertical skeletal patterns. 75 patients (average age 24.5 years) were divided into three groups according to their vertical skeletal pattern (skeletal deepbite, skeletal normal bite, and skeletal openbite). The labial and lingual ABTs at the mandibular incisors at the cervical, mid-root, and apical levels and the mandibular symphysis height and width were measured from cone-beam computed tomography images. The symphysis ratio was the ratio of symphysis width to symphysis height. One-way ANOVA was used to determine the differences in symphysis dimensions and ABT between the three groups and Pearson's correlation coefficient was used to determine the relationship between symphysis dimensions and ABTs at a 0.05 significance level. The symphysis dimensions and ABT were related in every skeletal pattern. Symphysis height negatively correlated with only labial apical ABT in skeletal normal bite patients. The relationship between symphysis width and ratio and ABT, mainly at the lingual surface, in skeletal openbite patients was the strongest, followed by skeletal normal bite and deepbite patients. The positive relationship between the mandibular symphysis width and symphysis ratio and ABT at the mandibular incisors was the strongest in skeletal openbite patients. The skeletal openbite patients with a taller symphysis had a stronger tendency to have a thinner lingual mid-root to apical ABT and total apical ABT compared with the other vertical skeletal patterns. The limited amount of mandibular incisor tooth movement in these patients should be considered.

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

Received date: Dec 23,2019

Revised date: Jan 13,2020

Accepted date: Feb 3,2020

Doi: 10.14456/jdat.2020.14

Correspondence to:

Phuntin Uengkajornkul, Resident, Department of Orthodontics, Chulalongkorn University 34 Henri-Dunant Rd, Patumwan, 10330, Bangkok, Thailand. Tel: 0830366276 E-mail: phuntinu@gmail.com

Introduction

The alveolar bone is one of the periodontal tissues that support the teeth in the jaws. To achieve the ideal orthodontic tooth movement, orthodontists expect that the alveolar bone will adapt consistent with tooth movement. Thus, tooth movement should occur based on the treatment plan without causing any damage to the supporting bone. However, some deleterious consequences after orthodontic treatment, such as reduced alveolar bone thickness (ABT), bony dehiscences, and cortical plate perforations, have been reported, particularly at the anterior mandibular region¹⁻⁴ Moreover, the severity of alveolar bone loss after orthodontic treatment is related to the initial ABT.⁵ Therefore, the thickness of the alveolar bone is considered as the boundary for tooth movement and violating this limit might negatively affect the bony support. Previous studies^{6,7} revealed a very thin layer of labial and lingual alveolar bone in this area, especially at the upper-half root level. Not surprisingly, the mandibular anterior region is the most restricted for orthodontic tooth movement in the labio-lingual direction.⁸

Numerous studies have indicated that the factors related to the mandibular incisor's ABT include aging⁹, amount of crowding and rotation¹⁰, and skeletal relationship.¹¹⁻¹⁵ At the apical level, skeletal openbite (hyperdivergent) patients had thinner alveolar bone compared with skeletal normal and skeletal deepbite (hypodivergent) patients. However the ABTs at the cervical to mid-root level were similar between the three vertical facial types.¹¹⁻¹³ Although a skeletal openbite is strongly associated with thin alveolar bone, a very thin alveolus is present in every vertical skeletal pattern.^{14,15}

The mandibular symphysis dimensions are other factors associated with the ABT in the anterior mandible. Severe alveolar bone loss at the mandibular incisors was found in orthodontic patients who had a narrow and tall symphysis.⁴ Patients with a short and wide symphysis tended to have a thicker alveolar bone at the apical level.¹⁶ However, the relationship between

symphysis dimensions and the ABT at the mandibular anterior teeth with different vertical skeletal patterns has not been reported.

Cone-beam computed tomography (CBCT) is commonly used for three-dimensional structural examination in orthodontics. The data from CBCT images overcome some of the drawbacks of conventional lateral cephalometry (a two-dimensional image), such as structural overlapping and magnification error. The anterior mandible is a three-dimensional structure, consisting of four incisors. Therefore, the ABT of each tooth, which cannot be measured exactly using conventional lateral cephalometry, can be examined individually on CBCT images. Moreover the accuracy of the dimensional measurements from CBCT images corresponds with actual structure sizes, thus clinicians and researchers can get more accurate qualitative and quantitative data from CBCT images.^{17,18}

The aim of this study was to evaluate the relationship between the ABT at the mandibular incisors at the cervical to apical levels and mandibular symphysis dimensions in different vertical skeletal patterns.

Materials and Methods

The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University (HREC-DCU 2018-041). 75 Patients in the Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University (36 males and 39 females) whose CBCT images were acquired from August 2013 to April 2018, were selected with the following inclusion criteria: age between 18 to 30 years, no previous orthodontic treatment, full permanent dentition without severe rotation or more than 3 mm crowding of the mandibular incisors, Class I sagittal skeletal relationship, no oral pathology or periodontal disease, and the landmarks used in this study were easily identified on the CBCT image. The sample size was calculated from a previous study¹⁴ using the G* power program version 3.1.9.2. twenty five

patients were determined to be required per group for a 0.05 significance level and 80 % power of the test.

The CBCT images were taken with a 3DX Accuitomo 170 machine (J. Morita, Kyoto, Japan) with 60-90 kVp, 1-10 mA, and 17.5 sec scanning time while the patients bit in maximum intercuspation. The CBCT image field of view was 8x8 cm with a 0.165 mm voxel size. The patients were divided into three groups (25 patients/group) based on vertical skeletal pattern (i.e. skeletal deepbite; 12 males 13 females, skeletal normal bite; 12 males 13 females, and skeletal openbite; 11 males 14 females). Lateral cephalograms constructed from the CBCT images using the maximum intensity projection method, were used for skeletal pattern identification. The sagittal skeletal relationship was identified using Wits appraisal (AO-BO).¹⁹ Patients with a Class I skeletal relationship, based on Thai norms (AO-BO = -4.1-0.7 mm)²⁰, were recruited in this study. The palatal plane-mandibular plane (PP-MP) angle used to identify the vertical skeletal pattern was constructed in the palatal plane (ANS to PNS) and a line tangential to the lower border of the mandible as the mandibular plane and Thai norms of the palatal PP-MP angle²¹ were used as standard values to categorize patients (skeletal deepbite < 21°, skeletal normal bite = 21°-29°, and skeletal openbite > 29°).

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 thick slice was used for the 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 at 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 apical to the cemento-enamel junction, defined as the

cervical level, 6 mm apical to the cemento-enamel junction, defined as the mid-root level, and at the root apices, defined as the apical level (Fig. 1). For the symphysis dimension measurements, the mandibular midline was used as the sagittal plane. The symphysis height was measured from the midpoint of the alveolar crest to Menton (Me). The symphysis width was measured from Pogonion (Pog) perpendicular to the symphysis height to the external limit of the lingual cortical bone. The symphysis ratio was calculated by dividing the symphysis width by symphysis height (Fig. 2). One month after the first measurement, 20 % of the patients were randomly selected. The same operator measured all variables again to determine the intra-rater reliability. An intra-class correlation coefficient (ICC) of 0.82-0.91 was found, showing excellent intra-rater reliability.

All statistical analyses were performed using SPSS v.22.00 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The significance level was set at 0.05. The Kolomgorov-Smirnov test verified a normal distribution for all variables. The ABTs in the same subject were compared between the left and right teeth by the independent *t*-test. The result showed a nonsignificant difference in the ABTs between the left and right teeth, thus the data were combined for further statistical analysis. A comparison of all variables according to sex was performed using the independent *t*-test. No significant differences were found between the male and female variables; therefore, sex was not included as an independent variable in this study. One-way ANOVA and Tukey's post-hoc test were performed to determine the differences in age, sagittal skeletal relationship, ABTs, and symphysis dimensions of the mandibular incisors between the three vertical skeletal patterns. Pearson correlation coefficients were used to evaluate the relationship between the symphysis dimensions and ABTs at the mandibular incisors in the three vertical skeletal patterns.

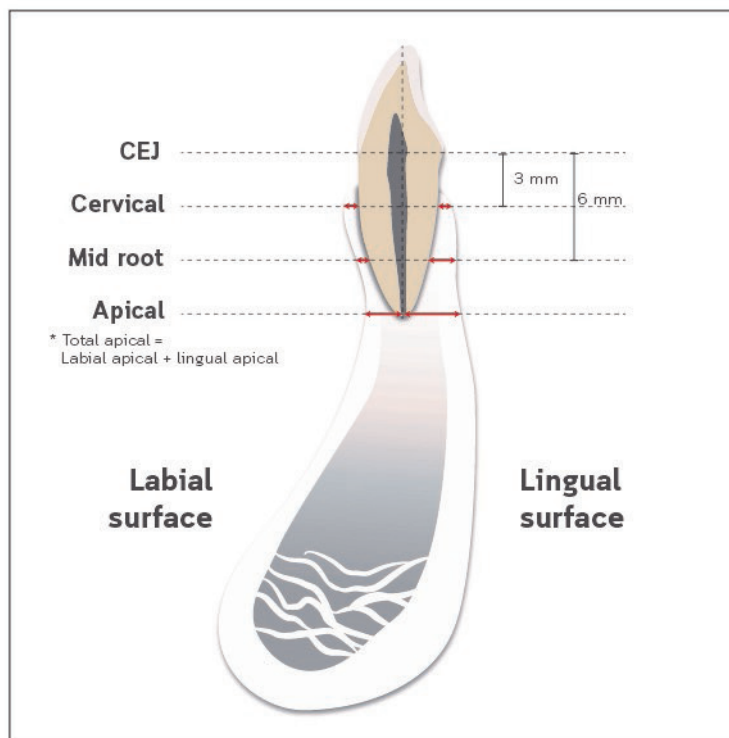


Figure 1 The labial and lingual ABTs at the four mandibular incisors were measured perpendicular to the long axis of each tooth from the root surface to the external limit of the mandibular labial and lingual cortical bones.

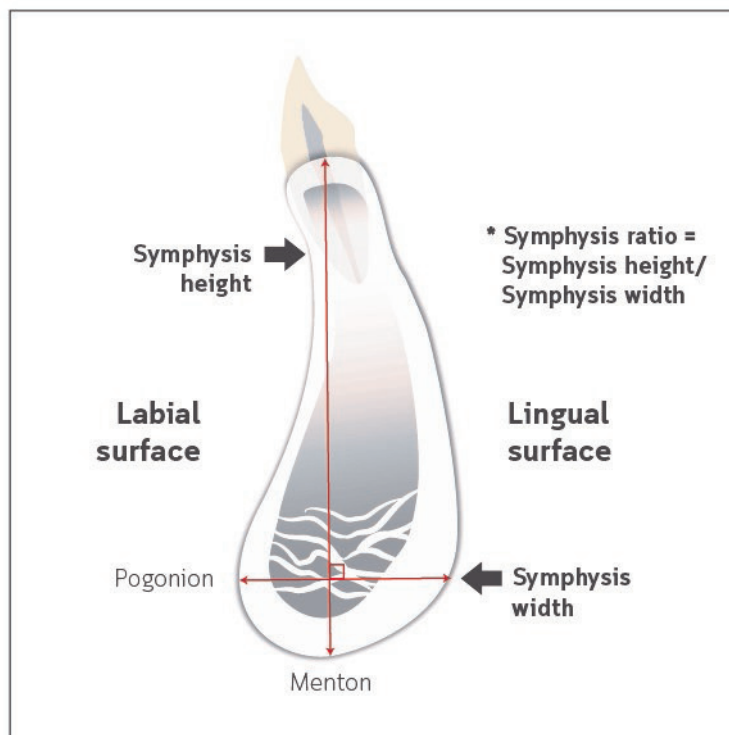


Figure 2 Symphysis width and height were measured from an anteroposterior cross-section of the mandibular symphysis. The symphysis ratio was the ratio of the symphysis width to symphysis height.

Results

The descriptive analytic summary of the subjects is presented in Table 1. There was no significant difference

in age or Wits appraisal (sagittal skeletal relationship) between the three groups.

Table 1 Comparison of the means and standard deviations in the age, sagittal skeletal pattern, symphysis dimensions, and ABTs in the different vertical skeletal patterns

Measurement	Deepbite (D) (N = 25)	Normal bite (N) (N = 25)	Openbite (O) (N = 25)	ANOVA <i>p</i> -value	Tukey's tests Statistically different groups
Age (year)	23.47 ± 4.50	25.87 ± 5.60	24.33 ± 4.40	NS	-
Wit's appraisal (mm)	-1.29 ± 1.36	-1.34 ± 0.97	-1.35 ± 1.14	NS	-
Symphysis height (mm)	30.89 ± 2.07	32.71 ± 3.71	34.23 ± 3.79	0.012	D vs. O
Symphysis width (mm)	14.08 ± 1.58	13.41 ± 1.10	13.34 ± 1.87	NS	-
Symphysis ratio	0.45 ± 0.05	0.41 ± 0.05	0.40 ± 0.04	0.007	D vs O
Mandibular central incisor's ABT					
Labial-cervical	1.06 ± 0.36	0.83 ± 0.28	0.90 ± 0.32	NS	-
Labial-mid root	0.65 ± 0.25	0.48 ± 0.19	0.48 ± 0.29	NS	-
Labial-apical	3.94 ± 1.40	3.26 ± 1.21	2.94 ± 0.87	NS	-
Lingual-cervical	0.81 ± 0.29	0.82 ± 0.33	0.79 ± 0.25	NS	-
Lingual-mid root	1.65 ± 0.60	1.27 ± 0.45	1.19 ± 0.49	0.041	D vs O
Lingual-apical	5.36 ± 1.69	4.94 ± 0.92	4.42 ± 1.23	NS	-
total apical	9.29 ± 1.28	8.21 ± 1.38	7.37 ± 1.55	0.002	D vs O
Mandibular lateral incisor's ABT					
Labial-cervical	1.11 ± 0.41	0.89 ± 0.33	0.84 ± 0.37	NS	-
Labial-mid root	0.42 ± 0.17	0.35 ± 0.11	0.32 ± 0.17	NS	-
Labial-apical	4.22 ± 1.32	3.51 ± 1.16	3.33 ± 0.79	NS	-
Lingual-cervical	1.09 ± 0.30	0.93 ± 0.25	0.98 ± 0.32	NS	-
Lingual-mid root	2.27 ± 0.63	1.45 ± 0.42	1.39 ± 0.59	< 0.001	D vs O
Lingual-apical	5.40 ± 1.60	4.71 ± 0.62	4.55 ± 1.37	NS	-
total apical0	9.62 ± 1.29	8.22 ± 1.32	7.89 ± 1.58	0.004	D vs N, D vs O

*Values are presented as mean ± standard deviation

The symphysis height in the skeletal openbite patients (34.23 ± 3.79 mm) was significantly higher compared with the skeletal deepbite patients (30.89 ± 2.07 mm). However, there was not a significant difference in symphysis width between the three groups. The symphysis ratio in the skeletal openbite patients (0.40 ± 0.04) was significantly lower than that of the skeletal deepbite patients (0.45 ± 0.05).

Our results demonstrated that the mean values of the lingual mid-root and total apical ABTs of the skeletal deepbite patients were significantly higher compared with the skeletal openbite patients. Moreover, the total apical ABT at the mandibular lateral incisors in the skeletal deepbite patients was also significantly higher compared with the skeletal normal bite patients.

Correlation between symphysis dimensions and Labial ABTs (Table 2)

The skeletal deepbite patients demonstrated only a weak positive relationship between symphysis width and the lateral incisors' labial cervical ABT. The results indicated that the skeletal normal bite patients had a weak negative correlation between symphysis height and the labial apical ABT at the lateral incisors. In addition, the symphysis width in the skeletal normal bite patients was weakly correlated with the labial cervical ABT at the lateral incisors and the symphysis ratio was moderately correlated with the labial apical ABT at the central incisors.

We found that the symphysis width in the skeletal openbite patients was weakly positively related to the central incisors' labial apical ABT and the lateral incisors' labial cervical ABT. The symphysis ratio in the skeletal openbite patients had a weak positive correlation with the labial apical ABT at the central incisors and had a moderate positive correlation with the labial apical ABT at the lateral incisors, ($R = 0.492$), which was the strongest relationship between labial ABT and symphysis dimensions.

Correlation between symphysis dimensions and lingual ABTs (Table 3)

The skeletal deepbite patients demonstrated a weak positive correlation between the symphysis width and the lingual apical ABT at the central and lateral incisors and between the symphysis ratio and lingual apical ABT at the central incisors.

The symphysis width of the skeletal normal bite patients was weakly positively correlated with the lingual mid-root ABT at the lateral incisors and was moderately positively correlated with the central incisors' lingual mid-root to apical ABTs and the lateral

incisors' lingual cervical and apical ABTs. Moreover, the symphysis ratio had a weak positive correlation with the lingual apical ABT of the central incisors.

The skeletal openbite patients' symphysis width had a weak positive correlation with the lingual mid-root ABT at the central incisors and was moderately positively correlated with the central incisors' lingual apical ABT and the lateral incisors' lingual mid-root ABT. Additionally, we found that the symphysis width demonstrated a strong positive correlation, which was the strongest correlation found among the lingual ABTs, ($R = 0.702$), with the lingual apical ABT at the lateral incisors. The symphysis ratio had a weak positive correlation with the lingual mid-root ABT at the lateral incisors, and was moderately positively correlated with the lingual apical ABT at both teeth.

Correlation between symphysis dimensions and total apical ABT (Table 4)

The skeletal deepbite patients had only a weak positive relationship between the symphysis width and total apical ABT at the central incisors and between the symphysis ratio and total apical ABT at both teeth.

The symphysis width in the skeletal normal bite patients revealed a weak positive correlation with the total apical ABT at the central and lateral incisors. Furthermore, the symphysis ratio demonstrated a moderate positive correlation with the total apical ABT at both teeth.

A strong positive correlation between the symphysis width and the total apical ABT was found at the central and lateral incisors in the skeletal openbite patients. Moreover, the relationship between the symphysis width and total apical ABT at the lateral incisors demonstrated the strongest correlation ($R = 0.719$) in this study. The symphysis ratio was moderately positively correlated with the total apical ABT at the central and lateral incisors.

Table 2 Correlation between symphysis dimensions and mandibular incisors' labial alveolar bone thickness

Sites	Deepbite (N = 25)			Normal bite (N = 25)			Openbite (N = 25)		
	Symphysis Height	Symphysis Width	Symphysis Ratio	Symphysis Height	Symphysis Width	Symphysis Ratio	Symphysis Height	Symphysis Width	Symphysis Ratio
Central incisor									
Labial-cervical	0.220	0.320	0.130	0.286	0.110	-0.117	-0.038	0.149	0.264
Labial-mid root	-0.024	-0.022	0.005	0.031	0.320	0.255	-0.270	-0.085	-0.187
Labial-apical	-0.108	-0.040	0.031	-0.351	0.282	0.442*	-0.177	0.315*	0.336*
Lateral incisor									
Labial-cervical	0.277	0.352*	0.014	0.223	0.332*	-0.018	0.165	0.302*	0.127
Labial-mid root	-0.139	0.229	0.354	0.031	0.159	0.146	0.059	0.276	-0.023
Labial-apical	-0.281	0.053	0.177	-0.376**	0.236	0.278	-0.242	0.225	0.492**

****** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

***** Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

Table 3 Correlation between symphysis dimensions and mandibular incisors' lingual alveolar bone thickness

Sites	Deepbite (N = 25)			Normal bite (N = 25)			Openbite (N = 25)		
	Symphysis Height	Symphysis Width	Symphysis Ratio	Symphysis Height	Symphysis Width	Symphysis Ratio	Symphysis Height	Symphysis Width	Symphysis Ratio
Central incisor									
Labial-cervical	0.264	0.229	0.008	0.178	0.328	0.101	0.309	0.132	0.163
Labial-mid root	-0.025	-0.154	0.167	0.078	0.409*	0.232	0.264	0.379**	0.338
Labial-apical	0.131	0.371**	0.349*	-0.131	0.489**	0.385*	0.071	0.569**	0.520**
Lateral incisor									
Labial-cervical	0.082	0.318	0.160	0.129	0.448**	0.227	0.149	0.318	0.090
Labial-mid root	0.032	0.319	0.226	0.347	0.368*	0.294	0.162	0.460*	0.366*
Labial-apical	0.166	0.313*	0.198	0.194	0.568**	0.207	-0.114	0.702**	0.437**

****** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

***** Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

Table 4 Correlation between symphysis dimensions and mandibular incisors' total apical alveolar bone thickness

Sites	Deepbite (N = 25)			Normal bite (N = 25)			Openbite (N = 25)		
	Symphysis Height	Symphysis Width	Symphysis Ratio	Symphysis Height	Symphysis Width	Symphysis Ratio	Symphysis Height	Symphysis Width	Symphysis Ratio
Central incisor									
total apical	0.028	0.308**	0.356*	-0.360	0.393*	0.478*	-0.260	0.679**	0.462*
Lateral incisor									
total apical	0.075	0.184	0.370*	-0.293	0.328*	0.536**	-0.081	0.719**	0.590**

****** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

***** Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

Discussion

Vertical skeletal patterns and symphysis dimensions were the independent variables in the current study. However, other factors might be related to ABT. Koh *et al.*⁹ reported that the alveolar bone level is reduced in an age-dependent manner. Older patients tend to have thinner alveolar bone; therefore, in the present study, we recruited only 18–30-year-old subjects. In addition, some types of malocclusion, such as crowding or rotation, impact the thickness of the alveolar plate.¹⁰ Thus, based on our inclusion criteria, the subjects in our study had only mild crowding (0–3 mm). Moreover, the sagittal skeletal pattern is related to the mandibular incisor's ABT.^{11,12,14} Based on this, only skeletal Class I relationship patients were recruited to eliminate this confounding factor.

The present study used lateral cephalograms constructed from CBCTs to identify the sagittal and vertical skeletal patterns. Previous studies^{22,23} revealed that the reliability of lateral cephalograms constructed from CBCTs was comparable to conventional lateral cephalograms and valid for scientific research. Moreover, some landmarks; such as Menton, Pogonion, and the upper and the lower incisal edge and root apex, of the lateral cephalograms constructed from CBCTs had a significantly higher reliability compared with conventional lateral cephalograms.²³ The small field of view (FOV) (8x8 cm) of the CBCT images, which does not involve the cranial base, was used in this study. The palatal plane-mandibular plane (PP-MP) angle was selected to identify each subject's vertical skeletal pattern instead of the Sella to Nasion-mandibular plane (SN-MP) angle. Petchdachai²¹ reported a high correspondence between the PP-MP angle and other parameters, e.g. Frankfurt's horizontal plane and SN-MP angle, which are commonly used to identify the vertical skeletal pattern. In addition, the small FOV CBCT images used in this study have a small voxel size and provide higher partial resolution and display structural details better. Because our study investigated the ABT of the mandibular incisors, which is very thin, the small voxel size (0.165 mm) results in more accurate measurements compared with the larger voxel size.

Previous studies^{24,25} have found that the mandibular symphysis in hyperdivergent patients was taller and narrower compared with hypodivergent patients. These findings partly corresponded with ours. The results of our study indicated that the symphysis height in skeletal openbite patients was significantly higher compared with skeletal deepbite patients. However, we did not find a significant difference in symphysis width between the skeletal openbite and deepbite patients. Thus, these results suggest that the mandibular symphysis in hyperdivergent patients was higher, but not narrower, than that in hypodivergent patients. The different finding between our results and previous studies^{24,25} may be due to using different types of radiographs. The previous studies used conventional lateral cephalograms for evaluating the symphysis dimensions, whereas our study used CBCT imaging. Therefore, our study measured the symphysis dimensions at the mid-sagittal plane without the involvement of adjacent structures.

The present study detected differences in the mandibular incisors' ABT between vertical skeletal patterns. Consistent with the results of other studies^{12,14}, the mandibular incisors' ABT at the root apex level in skeletal deepbite patients was significantly thicker compared with skeletal openbite patients. The thinner bony support of the skeletal openbite patients might be a consequence of dento-alveolar compensation, because the teeth and alveolar bone over-erupted to maintain the overbite for the increased vertical skeletal dimensions. Although previous studies¹²⁻¹⁴ indicated that there was no difference in ABT at the upper half root level between vertical skeletal patterns, the current study found that the lingual alveolar bone at the mid-root level in skeletal deepbite patients was significantly thicker compared with the skeletal openbite patients. The different ethnicities of the subjects between our study and former studies might explain the disparate results.

The present study also found differences in the relationship between the symphysis dimensions and the ABT at the mandibular incisors between the labial and

lingual plates, which was similar to the results of Foosiri *et al.*,¹⁶ The labial alveolar bone had a weak to moderate relationship with the symphysis width at the cervical level and demonstrated a moderate relationship with the symphysis ratio at the apical level. However, the symphysis width and symphysis ratio had a weak to moderate positive relationship with all levels of the lateral incisor's lingual ABT and mid-root to apical level of the central incisor's ABT. Moreover, a strong positive correlation was found between the symphysis width and the lingual apical ABT at the lateral incisor. The total apical ABT at both teeth demonstrated a moderate positive relationship with the symphysis width and had strong positive relationship with the symphysis ratio. Studies of the postnatal growth of the mandibular symphyseal area^{26,27} found that the lingual cortex of the anterior mandible, including the dento-alveolar process, and the protruding chin, underwent periosteal bone deposition during growth. In contrast, the labial side of the anterior mandible above the protruding chin exhibited an inconsistent pattern of periosteal bone resorption, with some patients demonstrating resorption only at the interdental area, while others had resorption over the entire surface. The similar bone remodeling activity at the protruding chin and lingual cortex of the anterior mandible and the different bone remodeling activity at the protruding chin and labial cortex, which is located above the protruding chin, might explain the stronger association between the lingual ABT and symphysis width and ratio, compared with the labial ABT.

Our study found a relationship between the symphysis dimensions and the mandibular incisors' ABTs in every vertical skeletal pattern. However, the number of ABTs that were significantly related to the symphysis dimensions and the degree of correlation coefficient were different in each vertical skeletal pattern. Thus, the relationship between symphysis dimensions and ABT was strongest in skeletal openbite patients and weakest in skeletal deepbite patients. The strongest correlation ($R = 0.68-0.72$) among the groups was found in skeletal openbite patients between symphysis width and total

apical ABT of both teeth and between symphysis width and lingual apical ABT at the lateral incisors. Whereas the relationship between apical ABT and symphysis width and ratio in skeletal deepbite patients was only weakly positively correlated ($R = 0.31-0.37$). The overall result from our study and a previous study¹⁶, which demonstrated that apical alveolar bone and lingual alveolar bone tended to be thicker in patients with a wide and short symphysis compared with those with a narrow and long symphysis, and this relationship was stronger in skeletal openbite patients, compared with skeletal deepbite patients. The difference in the amount of chin prominence between vertical skeletal patterns might explain these findings. A thick protruding chin area (protuberantia mentalia) was commonly found in hypodivergent patients, and hyperdivergent patients naturally had a small protruding chin area. Moreover, there was a wider range in the protruding chin areas between hypodivergent patients compared with the hyperdivergent patients, which had a narrow range.²⁸ Because our study defined symphysis width as a linear measurement from Pog point to the external lingual limit of the symphysis, the protruding chin area was involved in the measurement. Therefore, in skeletal openbite patients, the symphysis width was better correlated with the ABT of the mandibular incisors than that of skeletal deepbite patients.

Based on our results, the relationship between the symphysis dimensions and ABT was strongest in the skeletal openbite patients and weakest in the skeletal deepbite patients. Orthodontists should include the mandibular symphysis dimensions as a factor that is related to ABT, especially in skeletal openbite patients. This is because thin alveolar bone is associated with negative consequences after orthodontic treatment.²⁻⁴ To prevent deleterious effects, such as alveolar bone loss or bony dehiscence and fenestration, the pre-treatment alveolar bone at the mandibular incisors should be considered the limit for orthodontic tooth movement, particularly in skeletal openbite patients, who have a tall and narrow symphysis. The type and amount of tooth movement

should be initially planned based on the amount of bony support. In patients requiring lingual tooth movement, bodily tooth movement or controlled tipping should be selected rather than un-controlled tipping that can potentially move the root apex through the labial plate as the crown is moving lingually. Similarly, labial tooth movement should be achieved using controlled tipping with a rotation center at the root apex rather than bodily tooth movement. Importantly, clinicians should use a low force for orthodontic tooth movement and carefully monitor the existing labial and lingual alveolar bone at the mandibular incisors throughout the treatment period.

Hoang *et al.*¹⁵ hypothesized that the thin alveolar bone found in hyperdivergent patients resulted from vertical dental compensation, which maintained the overbite by over-eruption of dentoalveolar process. The overall results of our study, which indicated a negative relationship between symphysis height and apical ABT, supports this idea. However, skeletal normal bite patients were the only group that demonstrated this tendency; the skeletal openbite patients did not have this relationship. This finding may be due to an inadequate sample size per group, which is a limitation of our study. Future studies should increase the number of patients to better evaluate the relationship between symphysis dimensions and ABT in different vertical skeletal patterns.

Conclusion

The positive relationship between the mandibular symphysis width and symphysis ratio, which is the ratio of symphysis width to symphysis height, and the ABT at the mandibular incisors was strongest in the skeletal openbite patients. The skeletal openbite patients with a taller symphysis were more likely to have a thinner lingual mid-root to apical ABT and total apical ABT, compared with the other vertical dimension patients. The limited amount of mandibular incisor tooth movement that can take place in these patients should be carefully considered.

References

1. 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.
2. 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; discussion 109-10.
3. Wainwright WM. Faciolingual tooth movement: its influence on the root and cortical plate. *Am J Orthod* 1973;64(3):278-302.
4. 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.
5. 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 non-extraction patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2016;149(2):192-201.
6. Gracco A, Luca L, Bongiorno 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. Proffit WR, Fields HW, Sarver DM. Contemporary Orthodontics. 5th ed. St Louis, Mo: Mosby Elsevier; 2012.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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):134-40.
13. 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):ZC29-33.

14. 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.
15. Hoang N, Nelson G, Hatcher D, Oberoi S. Evaluation of mandibular anterior alveolus in different skeletal patterns. *Prog Orthod* 2016;17:22.
16. 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.
17. 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.
18. Timock AM, Cook V, McDonald T, Leo MC, Crowe J, Benninger BL, Covell DA Jr. 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.
19. Jacobson A. The “Wits” appraisal of jaw disharmony. *Am J Orthod* 1975;67(2):125-38.
20. Chaiworawitkul M. Cephalometric norms of northern Thais. *J Thai Assoc Orthod* 2008;7:1-7.
21. Petdachai S. CBCT and Dentistry: Airway volume in normal facial pattern. 1st ed. Bangkok: CU Printing House; 2017.
22. Navarro Rde L, Oltramari-Navarro PV, Fernandes TM, et al. Comparison of manual, digital and lateral CBCT cephalometric analyses. *J Appl Oral Sci* 2013;21(2):167-176.
23. Chen MH, Chang JZC, Kok, SH, Chen YJ, Huang YD, Cheng KY, Lin PL. Intraobserver reliability of landmark identification in cone-beam computed tomography-synthesized two-dimensional cephalograms versus conventional cephalometric radiography: A preliminary study. *J Dent Sci* 2014; 9:56-62.
24. Beckmann SH, Kuitert RB, Prahl-Andersen B, Segner D, The RP, Tuinzing DB. Alveolar and skeletal dimensions associated with overbite. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1998;113(4):443-52.
25. Kuitert R, Beckmann S, van Loenen M, Tuinzing B, Zentner A. Dentoalveolar compensation in subjects with vertical skeletal dysplasia. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2006;129(5):649-57.
26. Enlow DH, Harris DB. A study of the postnatal growth of human mandible. *Am J Orthod* 1964;50(1):25-50.
27. Kurihara S, Enlow DH, Rangel RD. Remodeling reversals in anterior parts of the human mandible and maxilla. *Angle Orthod* 1980;50(2):98-106.
28. Haskell BS. The human chin and its relationship to mandibular morphology. *Angle Orthod* 1979;49(3):153-66.

The Effect of Various Types of Silane Coupling Agents on The Wettability of Hydrofluoric Acid-Etched/Unetched Lithium Disilicate Surfaces

Tanapon Tarateeraseth¹, Tool Sriamporn², Niyom Thamrongananskul¹

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

²Department of Prosthodontics, College of Dental Medicine, Rangsit University, Pathumthani, Thailand

Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of treating the etched/unetched lithium disilicate surface with various types of silane coupling agents on the contact angle measurement. One hundred fifty lithium disilicate disks were prepared to dimensions of 10 millimeters in diameter and 3 millimeters in height. The samples were randomly divided into two groups: hydrofluoric etched and unetched lithium disilicate surfaces before silane application. Each group was further divided into five subgroups, according to type of silane coupling agent used to treat the prepared surfaces, no treatment (control), Kerr silane primer, Monobond N, Rely X ceramic primer and an experimental silane, respectively. The contact angles between deionized water and the prepared surface were measured using a contact angle tester via the sessile drop method. Data were statistically analyzed using Two-way analysis of variance and Tukey's multiple comparison tests ($\alpha=0.05$). The results showed that in the unetched lithium disilicate disk group, the lowest contact angle values were observed in the control group, whereas the Monobond N group showed the highest contact angle values. Within the etched group, the control group also demonstrated lowest contact angle and the Kerr silane primer group exhibited highest contact angle value. In conclusion, application of silane coupling agents significantly reduced the wettability of deionized water on the silane-coated surface. The type of silane coupling agent selected significantly influenced the wettability of deionized water. Etching the surface with hydrofluoric acid prior to silane application significantly increased surface wettability in all treatment groups except for groups that were treated with resin-containing silane primer.

Keywords: Contact angle, Hydrofluoric acid, Lithium disilicate, Silane coupling agent, Surface treatment

Received date: Dec 23,2019

Revised date: Jan 23,2020

Accepted date: Feb 3,2020

Doi: 10.14456/jdat.2020.15

Correspondence to:

Tool Sriamporn, Department of Prosthodontics, College of Dental Medicine, Rangsit University. 52/347 Muang-Ake, Phaholyothin Road, Lak-Hok, 12000, Pathum Thani, Pathum Thani, Thailand. Tel: 0-2997-2200-30 Ext. 4312 E-mail: Tool.s@rsu.ac.th

Introduction

All-ceramic restorations have gained increasing popularity due to their biocompatibility and ability to mimic natural tooth structure that offers good esthetics. Newer types of ceramics such as lithium disilicate glass and zirconia ceramic have demonstrated more than sufficient strength to withstand intraoral forces. They can be used to fabricate inlays, onlays, and crowns in both the anterior and posterior regions.¹ However, the longevity of the ceramic restoration does not depend solely on the mechanical properties of the material alone. Several other factors affect restoration longevity; for example, caries index, type of dentition, site of restoration, size of restoration, reasons for placement, oral cleanliness, etc.² The quality of the tooth-restoration bond is a dominant factor that greatly influences the clinical outcome.^{3,4} A reliable resin bond promotes retention of the restoration,⁵ improves its marginal adaptability,^{6,7} reduces microleakage^{6,7} and enhances fracture resistance.⁸

Several methods had been proposed to achieve the optimal resin-ceramic bond including mechanical with chemical modifications, as mechanical treatment alone may be inadequate in providing a reliable bond between the ceramic surface and resin cement. For silica-based ceramics, a reliable bond between the resin-ceramic surfaces can be achieved by hydrofluoric acid etching (mechanical bonding) along with silane priming (chemical bonding).

Hydrofluoric acid promotes the bondability of lithium disilicate by roughening its surface which increases the total surface area available for bonding.⁹ The mechanism can be explained by the bond affinity between fluoride and silicon being higher than that of silicon-oxygen.¹⁰ The acid selectively removes the glassy matrix of the lithium disilicate surface, leaving an exposed crystalline structure which is responsible for the micro-mechanical retention with resin cements.^{11,12}

Silane coupling agents are used in various applications in the field of dentistry. Trialkoxysilanes, such as 3-methacryloyloxypropyltrimethoxysilane (MPS), is one

of the most commonly used silane coupling agents.¹³ Silane molecules can react to water molecules via hydrolysis to produce three silanol groups (-Si-OH) from the corresponding methoxy groups (-Si-O-CH₃). The silanol groups are capable of forming stable siloxane networks (-Si-O-Si-O-) on the glass ceramic surface. Application of silane may be one of the most crucial steps in obtaining an optimal bond between silica-based ceramic and resin cement.

Various types of silane coupling agents are commercially available in the market. Two-bottle systems are known to provide a longer shelf life and increase initial reactivity compared to the one-bottle system.¹⁴ However, to simplify the bonding procedure, manufacturers tend to produce prehydrolyzed single-bottle silanes that contain other universal adhesive primers which may include many other components such as bisphenol A glycidyl methacrylate (Bis-GMA), phosphate-containing monomers, etc.¹⁵

Organofunctional silanes are bifunctional molecules that promote the chemical bond of silica-based ceramic and composite resins.¹⁶ Its hydrophobic property may influence the reduction of the hydrolytic degradation of the bond.^{17,18} Many studies have proven silane coupling agents to improve the bond strength of silica-based ceramic and resin cement. However, studies regarding the contact angle and wettability of substrate after treatment with silane coupling agents of different compositions is still limited. Silane coupling agents are believed to help increase the surface energy of the substrate and wettability of the luting agent to the coated ceramic surface.^{16,19,20}

The purpose of this study was to investigate the effect of treating the etched/unetched lithium disilicate ceramic surface with various types of silane coupling agents on the contact angle measurement of deionized water. The null hypothesis was that the different types of silane coupling agents used would not affect the contact angle formed between the deionized water droplets and the etched/unetched lithium disilicate glass ceramic surfaces.

Materials and Methods

Lithium disilicate disks preparation

One hundred fifty lithium disilicate disks (IPS e.max Press, Ivoclar-Vivadent, Schaan, Liechtenstein) were prepared by waxing up disk-shaped samples with diameters of 10 millimeters and heights of 3 millimeters. The lost wax technique and heat-pressed processes were performed according to the manufacturer's instructions.

The samples were polished with 1000-grit silicon carbide abrasive paper²¹ using a polishing machine (Minitch 233, Presi, Le Locle, Switzerland), spinning in clockwise motion at 200 rounds/minute for 5 minutes

with a pressure of 2 kg/cm² under running water. The abrasive papers were replaced between samples. After polishing, the samples were ultrasonically cleaned in distilled water for 10 minutes using an ultrasonic cleaner (Ultrasonic cleaner VI, Yoshida dental trade distribution Co., Tokyo, Japan).

Setting up the experimental groups

The samples were randomly assigned into ten groups (n=15) based on the type of silane coupling agent used to treat the surface of lithium disilicate and whether the sample was acid-etched. (Table 1);

Table 1 List of materials used

Product name	Types	Compositions	Manufacturer/Supplier
IPS e.max Press (Lot Y10318)	Lithium disilicate glass ceramic	SiO ₂ , Li ₂ O, K ₂ O, P ₂ O ₅ , ZrO ₂ , ZnO, other oxides and ceramic pigments	Ivoclar-Vivadent, Schaan/Liechtenstein
Kerr silane primer (Lot 7072259)	Silane	Ethanol, (1-methylethylidene) bis[4,1-phenyleneoxy(2- hydroxy-3, 1-propanediyl)] bismethacrylate Poly(oxy-1,2-ethanediyl), α,α' -[(1- methylethylidene)di-4,1-phenylene] bis[ω -[(2- methyl-1-oxo-2-propen-1-yl)oxy]- 2,2'-ethylenedioxydiethyl dimethacrylate 3-trimethoxysilylpropyl methacrylate	Kerr corporation, West Collins Avenue Orange, California, USA
Monobond N (Lot X41367)	Silane	Ethanol, methacrylated phosphoric acid ester, sulphide methacrylate, 3- trimethoxysilylpropyl methacrylate	Ivoclar-Vivadent, Schaan/Liechtenstein
RelyX ceramic primer (Lot N988623)	Silane	Ethanol, water, methacryloxypropyltrimethoxysilane	3M ESPE Dental products, Conway Avenue St. Paul, Minnesota, USA
Experimental silane: 3(Trimethoxysilyl) propyl methacrylate (Lot SHBJ3136)	Silane	Water, ethanol, acetic acid, methacryloxypropyltrimethoxysilane	Sigma-Aldrich, Missouri, USA
IPS ceramic etching gel (Lot Y06707)	Hydrofluoric acid	4.5% Hydrofluoric acid	Ivoclar-Vivadent, Schaan/Liechtenstein

- Group 1. No silane (NS), serves as a control group
- Group 2. Kerr silane primer (KP)
- Group 3. Monobond N (MN)
- Group 4. RelyX ceramic primer (RX)
- Group 5. Experimental silane (ES)

Group 6-10 were identical to Groups 1-5 in terms of the silane coupling agent used; however, these groups were etched with 4.5% hydrofluoric acid gel (IPS ceramic etching gel, Ivoclar-Vivadent, Schaan/Liechtenstein) for 20 seconds, rinsed with deionized water spray for 60 seconds and gently air dried¹² prior to application of respective silane coupling agents.

The experimental silane was prepared by mixing a solution of 95% ethanol / 5% distilled water in a beaker. The pH of the solution was adjusted to 4.5-5.5 with acetic acid using a digital pH meter (Orion 420A pH meter, Thermo Electron Corporation, Massachusetts, USA). The solution was transferred to a plastic bottle and silane coupling agent (3-(Trimethoxysilyl)propyl methacrylate, Sigma-Aldrich, Missouri, USA) was added with stirring to yield a 2% final concentration. The solution was left untouched for five minutes allowing the hydrolysis and silanol formation. A magnetic stirrer and bar (Hotplate stirrer UC152, Stuart Scientific, Staffordshire, UK) was used to gently mix the solution for 1-2 minutes.

A drop of the respective silane coupling agent was applied to each sample using a micropipette (10 microliters) and smeared into thin coat using a microbrush (Citisen Micro Applicator, Huanghua Promise Dental, Hebei, China). After silane application, the treated samples were left untouched, allowing the silane to react with the disk surfaces according to the manufacturers' instruction. New microbrushes were used to remove any remaining excess around the borders of the samples. Then, the sample were air-dried for ten seconds using a triple syringe from a mobile dental unit (10 millimeters from the sample, pressure 40-50 pound per square inch). Before proceeding to the next step, the samples were checked to make sure that the surface was completely dried (no movement of solution).

Sessile drop test, contact angle measurement

The degree of wettability was determined by contact angle measurement. Using a needle, ten microliters of deionized water was placed on the center of the treated/untreated substrate surface to examine the contact angle formed between the deionized water droplet and the prepared substrate. The contact angles were measured digitally with a goniometer (DSA10 MK2, Krüss, Hamburg, Germany) after five seconds. For each drop, the angles obtained from both ends of the captured image were averaged and the mean values of each tested group recorded.

Data analysis

The contact angle between deionized water and the substrate surface are presented as mean $\pm$ SD. The statistical analysis of the contact angles of all groups were performed using SPSS 20.0 software for Windows (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA). The data were normally distributed and Two-way analysis of variance was applied. Tukey's multiple comparison tests were conducted to determine the significant differences between all treatment groups ($\alpha=0.05$).

Results

Figure 1 shows contact angle images for all experimental groups. The average contact angles obtained from each respective silane groups are shown in Table 2.

The non-etched samples (G1-5) generally yielded larger contact angles than the etched samples (G6-10). In the unetched groups, the control group exhibited the smallest contact angle (G1, 17.02°), while the Monobond N group showed the largest contact angle (G3, 46.37°). Kerr silane primer exhibited a larger contact angle (G2, 38.99°) than both RelyX ceramic primer (G4) and the experimental silane group (G5), which were relatively similar (32.09° and 32.53°, respectively). There were significant differences between all tested groups except RelyX ceramic primer and the experimental silane group.

In hydrofluoric acid-etched groups, the control group also exhibited the smallest contact angle (G6, 8.23°),

while Kerr silane primer demonstrated the largest contact angle (G7, 38.82°). The Monobond N group showed significantly larger contact angles (G8, 20.63°) than

both RelyX ceramic primer (G9) and the experimental silane group (G10), which were relatively similar (13.53° and 13.29°, respectively).



Figure 1 Contact angle of deionized water on etched and unetched lithium disilicate disks treated with different types of silane coupling agent. Group without hydrofluoric etching: (G1) Control, (G2) Kerr silane primer, (G3) Monobond N, (G4) RelyX ceramic primer, (G5) Experimental silane primer. Group with hydrofluoric etching prior to silane application: (G6) HF-no silane, (G7) HF-Kerr silane primer, (G8) HF-Monobond N, (G9) HF-RelyX ceramic primer, (G10) HF-Experimental silane

Table 2 Average contact angle of respective silane group in degree (°) on etched and unetched lithium disilicate glass

Silane coupling agents (n=15)	Mean contact angle	
	Mean (SD)	
	Unetched disks	Etched disks
Control	17.02 (2.42) ^a	8.23 (1.11) ^e
Kerr silane primer	38.99 (3.76) ^b	38.82 (3.54) ^b
Monobond N	46.37 (4.24) ^c	20.63 (1.87) ^f
RelyX ceramic primer	32.09 (3.80) ^d	13.53 (1.42) ^g
Experimental silane	32.53 (3.29) ^d	13.29 (1.51) ^g

Values with different letters superscripted vary significantly.

Discussion

Based on the results of this study, there were significant differences in the contact angle formed between the deionized water and the etched/unetched lithium disilicate glass ceramic surface treated with various types of silane coupling agent. Therefore, the null hypothesis was rejected. Many silane coupling agent brands are not composed of pure MPS but of a mixture of MPS and other adhesive substances. Recent studies have suggested that the simplified systems, using combinations of different functional groups along with other components, may reduce the bond strength of glass ceramic and resin cement when compared to the conventional two-bottle system.^{15,22}

Contact angle values indicate the wettability of a surface and can be used to calculate the surface

energy.¹⁸ Contact angle is defined as the angle where the liquid/vapor interface meets a liquid interface/solid surface. The degree of wettability depends upon the surface energy (surface tension) of the interfaces involved such that the total energy is minimized. Several methods can be used to measure contact angle of surfaces (static sessile drop, dynamic sessile drop, dynamic Wilhelmy, or single-fiber Wilhelmy method). In this study, static sessile drop was used due to its convenient operation and popularity.²³

The lithium disilicate disks were polished with 1000-grit silicon carbide abrasive paper to standardize the roughness of the disks' surfaces. Alteration of surface topography (e.g. grinding, acid-etching, air-borne particle abrasion) can physically contribute to the adhesion pro-

cess by altering the surface area and wetting behavior of ceramic which in turn affects the surface energy and adhesive potential to resin.^{17,24}

Selecting a probing medium is an important aspect when measuring the contact angle. Liquid of known surface tension such as 1-bromo-naphthalene (44.4 mJ/m²), diiodomethane (50.8 mJ/m²) and water (72.8 mJ/m²) are commonly used.²⁵ However, selecting an appropriate probing liquid depends on the objective of the study.¹⁸ If the purpose was to examine the wettability of silane coupling agent on a ceramic surface, the respective silane coupling agent should be used as the probing liquid. In this study, deionized water was used as a probing liquid to investigate the differences between the silane-treated substrate surfaces.

Based on the results obtained in this study, in the non-etched lithium disilicate group, all silanated surfaces (G2-5) exhibited significantly larger contact angles than the control group (G1). This result suggests that application of silane coupling agents may lower the surface energy of the substrate. Similar findings were observed in a study by Della Bona *et al.*¹⁷ which conducted an experiment using lithium disilicate-based ceramic treated with different protocols including application of silane coupling agent before measuring the contact angle. The author explained that treating the ceramic surface with silane makes the surface hydrophobic. The hydrophobic property may reduce hydrolytic degradation of the bond and would also promote the wetting of adhesive. In his study, 8 % methacryloxy propyl trimethoxy silane (MPTMS) was used to treat the ceramic surface. High-performance liquid chromatography grade water (HPLC water) and liquid resin of known surface tension were used as the probing liquid (72.6 mN/m and 39.7 mN/m, respectively). However, when the silane coupling agent was applied and the liquid resin was dropped, 'beads up' of the liquid resin was observed on the silanated ceramic surface. The author explained that for an adhesive to completely wet the substrate surface, it must be of low viscosity and the surface tension of the adhesive must be lower than the

critical surface energy of the substrate. Another study by Farge *et al.*²⁶ also demonstrated the relationship of surface energy/tension to its wetting property. The author used different adhesive systems that differed in the composition of the solvent. It was reported that the liquid (solvent) with lower surface tension had better wettability than ones with higher surface tension; for example, ethanol (22.4 mN/m) shown superior wetting property than ethanol-water.

The contact angle shown in the pure silane groups, RelyX ceramic primer (G4) and experimental silane (G5), were not significantly different from one another but were significantly smaller than groups with additives, Kerr silane primer and Monobond N. Additional components other than MPS may result in an increase or decrease in the contact angle. In the current study, silane with additives produced larger contact angles than ones without additives. The additives such as extra resins in Kerr silane primer, which was meant to eliminate the bonding steps following the priming procedure or the phosphate-containing and sulfide methacrylate monomers in Monobond N and those were believed to promote chemical adhesion with various substances, may alter the polarity of substrate surfaces and/or the surface energy leading to an increase in contact angle. In a study by Chen *et al.*,²⁷ the application of Monobond Plus phosphate-containing monomer and sulfide monomer on zirconia significantly increased the contact angle of deionized water when compared to the unconditioned surface (15.1° to 74.1°). However, the author believed that incorporating BisGMA resins to silane coupling agents may reduce the contact angle formed between deionized water and the silanated lithium disilicate surface. The author explained that the extra resins might inhibit the condensation reaction of silane coupling agent, thus, lowering both the contact angle and bond strength.

In the hydrofluoric acid-etched lithium disilicate groups (G6-10), all treatment groups exhibited lower contact angles than the unetched group, except for Kerr silane primer group (G7). Generally, the results can be explained by the effect of acid-etching. Acid-etching

altered the surface topography of the samples.¹⁷ The total surface area and surface energy were increased in the roughened surfaces allowing them to draw more medium onto their surface, increasing the wettability of the substrate. Ramakrishnaiah *et al.*²¹ studied the effect of hydrofluoric acid etching duration on silica-based ceramic. The study showed that increasing the etching duration significantly altered the surface topography. The longer the duration, the rougher the surface. Increasing etching duration increases surface roughness and wettability which in turn lowers the contact angle. However, when Kerr silane primer was applied on the etched-surfaces, a thin layer of resin was formed on the substrate's surface. This layer of resin may have filled the pits created from the etching process which may have masked the roughening effect of hydrofluoric acid.

The degree of surface wettability and surface energy may contribute to the improvement of bond quality; however, its physical contribution is not the only factor. Adhesion of dental ceramics to resin based material is the result of physico-chemical interactions between the substrate and adhesive.¹⁸ A clean and dry surface of the restoration is a prerequisite to create a proper bond with the adherend,^{28,29} as surface contamination or surface impurity can reduce the surface energy of the substrate,²⁴ and thus have a negative effect on the quality of bond. In a study by Tani *et al.*,²⁹ it was proven that a surface with superior wettability and surface energy might not be able to provide optimal bond. Therefore, chemical adhesion also plays an important role in obtaining good bond quality. As long as the bonding site is clean and has a sufficient amount of Si-OH site on the ceramic surface, a reliable bond is achievable.²⁴ Further studies should investigate the relationship between contact angles and the shear bond strength of silanated glass ceramic surfaces.

Although treating the lithium disilicate surfaces with silane coupling agent may seem to reduce the wettability of the substrate surface to deionized water, hydrofluoric acid etching along with silane application

are proven to be the gold standard treatment protocols that are crucial to obtain optimal bond.^{30,31}

Conclusions

Within the limitations of this in vitro study, the following can be concluded:

1. Silane coupling agents significantly reduced the wettability of deionized water on treated lithium silicate surfaces.
2. The types of silane coupling agent significantly influence the degree of wettability.
3. Hydrofluoric acid etching generally significantly increased the wettability, except for groups that were treated with resin-containing silane primer.

Acknowledgements

We would like to thank Chulalongkorn Dental materials R&D center and Oral biology research center staffs for assisting in preparation of the experimental silane. Thanks to Lily See for proofreading the article.

References

1. Guess PC, Schultheis S, Bonfante EA, Coelho PG, Ferencz JL, Silva NR. All-ceramic systems: laboratory and clinical performance. *Dent Clin North Am* 2011;55(2):333-52.
2. Chadwick B, Treasure E, Dummer P, Dunstan F, Gilmour A, Jones R, *et al.* Challenges with studies investigating longevity of dental restorations--a critique of a systematic review. *J Dent* 2001;29(3):155-61.
3. Tian T, Tsoi JK, Matinlinna JP, Burrow MF. Aspects of bonding between resin luting cements and glass ceramic materials. *Dent Mater* 2014;30(7):e147-62.
4. Carvalho RM, Manso AP, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH. Durability of bonds and clinical success of adhesive restorations. *Dent Mater* 2012;28(1):72-86.
5. el-Mowafy O. The use of resin cements in restorative dentistry to overcome retention problems. *J Can Dent Assoc* 2001;67(2):97-102.
6. Rosentritt M, Behr M, Lang R, Handel G. Influence of cement type on the marginal adaptation of all-ceramic MOD inlays. *Dent Mater* 2004;20(5):463-9.
7. Albert FE, El-Mowafy OM. Marginal adaptation and microleakage of Procera AllCeram crowns with four cements. *Int J Prosthodont* 2004;17(5):529-35.

8. Jensen ME, Sheth JJ, Tolliver D. Etched-porcelain resin-bonded full-veneer crowns: *in vitro* fracture resistance. *Compendium* 1989; 10(6):336-8, 40-1, 44-7.
9. Prochnow C, Venturini AB, Grasel R, Gundel A, Bottino MC, Valandro LF. Adhesion to a Lithium Disilicate Glass Ceramic Etched with Hydrofluoric Acid at Distinct Concentrations. *Braz Dent J* 2018;29(5):492-9.
10. Ozcan M, Allahbeickaraghi A, Dundar M. Possible hazardous effects of hydrofluoric acid and recommendations for treatment approach: a review. *Clin Oral Investig* 2012;16(1):15-23.
11. Sundfeld Neto D, Naves LZ, Costa AR, Correr AB, Consani S, Borges GA, *et al.* The Effect of Hydrofluoric Acid Concentration on the Bond Strength and Morphology of the Surface and Interface of Glass Ceramics to a Resin Cement. *Oper Dent* 2015;40(5):470-9.
12. Sriamporn T, Kraisintu P, See LP, Swasdison S, Klaisiri A, Thamrongananskul N. Effect of Different Neutralizing Agents on Feldspathic Porcelain Etched by Hydrofluoric Acid. *Eur J Dent* 2019;13(1):75-81.
13. Matinlinna JP, Lassila LV, Ozcan M, Yli-Urpo A, Vallittu PK. An introduction to silanes and their clinical applications in dentistry. *Int J Prosthodont* 2004;17(2):155-64.
14. Matinlinna JP, Lung CYK, Tsoi JKH. Silane adhesion mechanism in dental applications and surface treatments: A review. *Dent Mater* 2018;34(1):13-28.
15. Lee HY, Han GJ, Chang J, Son HH. Bonding of the silane containing multi-mode universal adhesive for lithium disilicate ceramics. *Restor Dent Endod* 2017;42(2):95-104.
16. Yavuz T, Eraslan O. The effect of silane applied to glass ceramics on surface structure and bonding strength at different temperatures. *J Adv Prosthodont* 2016;8(2):75-84.
17. Della Bona A, Shen C, Anusavice KJ. Work of adhesion of resin on treated lithia disilicate-based ceramic. *Dent Mater* 2004;20(4):338-44.
18. Della-Bona A. Characterizing ceramics and the interfacial adhesion to resin: II- the relationship of surface treatment, bond strength, interfacial toughness and fractography. *J Appl Oral Sci* 2005;13(2):101-9.
19. May LG, Passos SP, Capelli DB, Ozcan M, Bottino MA, Valandro LF. Effect of silica coating combined to a MDP-based primer on the resin bond to Y-TZP ceramic. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2010;95(1):69-74.
20. de Carvalho RF, Cotes C, Kimpara ET, Leite FP, Ozcan M. Heat treatment of pre-hydrolyzed silane increases adhesion of phosphate monomer-based resin cement to glass ceramic. *Braz Dent J* 2015; 26(1):44-9.
21. Ramakrishnaiah R, Alkheraif AA, Divakar DD, Matinlinna JP, Vallittu PK. The Effect of Hydrofluoric Acid Etching Duration on the Surface Micromorphology, Roughness, and Wettability of Dental Ceramics. *Int J Mol Sci* 2016;17(6):822.
22. Swank HM, Motyka NC, Bailey CW, Vandewalle KS. Bond strength of resin cement to ceramic with simplified primers and pretreatment solutions. *Gen Dent* 2018;66(5):33-7.
23. Huhtamäki T, Tian X, Korhonen J, Ras R. Surface-wetting characterization using contact-angle measurements. *Nat Protoc* 2018;13:1521-38.
24. Della Bona A, Borba M, Benetti P, Pecho OE, Alessandretti R, Mosele JC, *et al.* Adhesion to Dental Ceramics. *Curr Oral Health Rep* 2014;1(4):232-8.
25. Van Oss CJ, Giese RF, Wu W. On the Predominant Electron-Donicity of Polar Solid Surfaces. *J Adhesion* 1997;63(1-3):71-88.
26. Farge P, Alderete L, Ramos SM. Dentin wetting by three adhesive systems: influence of etching time, temperature and relative humidity. *J Dent* 2010;38(9):698-706.
27. Chen L, Shen H, Suh BI. Effect of incorporating BisGMA resin on the bonding properties of silane and zirconia primers. *J Prosthet Dent* 2013;110(5):402-7.
28. Zakir M, Ashraf U, Tian T, Han A, Qiao W, Jin X, *et al.* The Role of Silane Coupling Agents and Universal Primers in Durable Adhesion to Dental Restorative Materials - a Review. *Curr Oral Health Rep* 2016;3(3):244-53.
29. Tani C, Manabe A, Itoh K, Hisamitsu H, Wakumoto S. Contact angle of dentin bonding agents on the dentin surface. *Dent Mater J* 1996;15(1):39-44.
30. Murillo-Gómez F, Goes MFD. Effect of Different Silane Treatments on Long-Term Bonding Between Non-Etched Glass-Ceramic and Resin Cement. *Odovtos-Int J Dent Sc* 2017;19:33-46.
31. Nagai T, Kawamoto Y, Kakehashi Y, Matsumura H. Adhesive bonding of a lithium disilicate ceramic material with resin-based luting agents. *J Oral Rehabil* 2005;32(8):598-605.

อิทธิพลของชนิด และความหนาของแคดแคมเรซินเซรามิกต่อความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาคที่มีต่อเนื้อฟัน

Influence of Type and Thickness of CAD-CAM Resin Ceramic on Micro-tensile Bond Strength to Dentin

ศีลัสยา ลีลาพงศ์ฤทธิ์¹, ญาณิ์ ตันติเลิศอนันต์¹, ศิริวิมล ศรีสวัสดิ์¹

Seelassaya Leelaponglit¹, Yaneer Tantilertanant¹, Sirivimol Srisawasdi¹

¹ภาควิชาทันตกรรมหัตถการ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

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

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของชนิด และความหนาที่ต่างกันของแคดแคมเรซินเซรามิก ต่อค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาค เมื่อใช้เรซินซีเมนต์ชนิดบ่มตัวด้วยปฏิกิริยาเคมีร่วมกับแสง เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ฟันกรามน้อยของมนุษย์ที่ถูกถอนออกมาแล้ว ใช้ด้านใกล้แก้ม หรือด้านใกล้ลิ้นที่ตัด และขัดเรียบ จำนวน 108 ซี่ แบ่งกลุ่มแบบสุ่ม จำนวน 9 กลุ่ม ยึดติดกับแคดแคมเรซินเซรามิก 3 ผลิตภัณฑ์ คือ โซฟุบล็อกเฮซี [Shofu block HC[®] (SHOFU, Japan)] วิต้าอีนาไมก [Vita Enamic[®] (VITA, Germany)] และเซราสมาร์ท [Cerasmart[®] (GC, USA)] โดยแต่ละผลิตภัณฑ์จะใช้วัสดุขนาดประมาณ 4 x 4 มิลลิเมตร และมีความหนา 2 3 และ 4 มิลลิเมตร ยึดติดกับเนื้อฟันด้วยสารยึดติด สก๊อตช์บอนด์ยูนิเวอร์ซอล [Scotchbond Universal[®] (3M ESPE, USA)] แบบโททอลเอทซ์ และเรซินซีเมนต์รีไลเอ็กซ์อัลติเมท แอดฮีซีฟ เรซินซีเมนต์ [RelyX[™] Ultimate Adhesive Resin Cement[®] (3M ESPE, USA)] และฉายแสง 40 วินาที หลังจากผ่านกระบวนการจำลองการใช้งานในช่องปาก ด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิร้อนเย็นเป็นจังหวะ 10,000 รอบ แบ่งขึ้นทดสอบให้มีขนาดประมาณ 1 x 1 มิลลิเมตร ตามกลุ่มของวัสดุที่มีความหนา 2 3 และ 4 มิลลิเมตร นำไปทดสอบหาค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาค วิเคราะห์ผลทางสถิติโดยกำหนดระดับนัยสำคัญที่ร้อยละ 95 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาคระหว่างกลุ่มด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนสองทาง และทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยการเปรียบเทียบเชิงซ้อนชนิดทูไคย์ จากการทดสอบพบว่า ความหนาของแคดแคมเรซินเซรามิกที่แตกต่างกันไม่มีผลต่อค่าเฉลี่ยความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาคของแคดแคมเรซินเซรามิกกับเนื้อฟัน ($p = 0.203$) ในขณะที่ชนิดของแคดแคมเรซินเซรามิกที่แตกต่างกันส่งผลให้ค่าเฉลี่ยความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาคของแคดแคมเรซินเซรามิกกับเนื้อฟัน มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.032$) โดยเซราสมาร์ทไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับโซฟุบล็อกเฮซี และวิต้าอีนาไมก ($p = 0.195$ และ 0.653 ตามลำดับ) แต่โซฟุบล็อกเฮซี และวิต้าอีนาไมกมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.027$) ภายใต้ข้อจำกัดของการศึกษานี้ทำให้สรุปได้ว่า ความหนาของแคดแคมเรซินเซรามิกไม่มีผลต่อค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาค ในขณะที่ชนิดของแคดแคมเรซินเซรามิกมีผลต่อค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

คำสำคัญ: ความหนาของวัสดุ, ความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาค, แคดแคมเรซินเซรามิก

Abstract

The aim of this in vitro study was to evaluate the effect of types and thickness of CAD-CAM resin ceramic on micro-tensile bond strength when using dual-cured resin cement. Flat buccal or lingual surface of 108 extracted healthy human premolars were randomly allocated into 9 groups. Three CAD-CAM resin ceramics Shofu block HC[®] (SHOFU, Japan), Vita Enamic[®] (VITA, Germany) and Cerasmart[®] (GC, USA) were prepared into an approximate size of 4 x 4 mm², with different thickness of 2, 3 or 4 mm, and bonded to dentin using Scotchbond Universal[®] (3M ESPE, USA) and RelyX[™] Ultimate Adhesive Resin Cement[®] (3M ESPE, USA). After 10,000 cycles of thermocycling, specimens were sectioned into an approximate size of 1 x 1 mm² with different thickness of 2, 3 or 4 mm for micro-tensile bond testing. Data was analyzed using a two-way ANOVA and Tukey's post hoc test, and level of confidence was set at 95 %. Considering within the same type of CAD-CAM resin ceramic, micro-tensile bond strength between CAD-CAM resin ceramic and dentin showed no significant difference among all groups of various thicknesses ($p = 0.203$). However, types of CAD-CAM resin ceramic had a significant effect on the micro-tensile bond strength to bonded dentin ($p = 0.032$). Cerasmart[®] showed no significant difference from Shofu block HC[®] and Vita Enamic[®] ($p = 0.195$ and 0.653 respectively), whereas Shofu block HC[®] was significantly different from Vita Enamic[®] ($p = 0.027$). Within the limitation of this study, we concluded that the thickness of resin ceramics may not influence micro-tensile bond strength, while the types of resin ceramics significantly showed more impact on micro-tensile bond strength.

Keywords: CAD-CAM resin ceramic, Material thickness, Micro-tensile bond strength

Received date: Dec 23,2019

Revised date: Jan 30,2020

Accepted date: Feb 20,2020

Doi: 10.14456/jdat.2020.16

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ:

ศิริวิมล ศรีสวัสดิ์, ภาควิชาทันตกรรมทันตกรรม คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 34 ถ. อังรีตุนังต์ ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 ประเทศไทย
โทรศัพท์: 02-218-8795 อีเมล: operhead@gmail.com

Correspondence to:

Sirivimol Srisawasdi, Department of operative dentistry, Faculty of dentistry, Chulalongkorn University, 34 Henri Dunant Road, Pathumwan, Bangkok 10330 Thailand. Tel: 02-218-8795 e-mail: operhead@gmail.com

บทนำ

วัสดุแคดแคมเรซินเซรามิก [Computer-aided design and computer-aided manufacturing resin ceramic (CAD-CAM resin ceramic)] เป็นกลุ่มของวัสดุที่มีองค์ประกอบของเซรามิกและโพลิเมอร์ โดยสามารถออกแบบ และขึ้นรูปชิ้นงานได้ด้วยระบบคอมพิวเตอร์ หรือที่เรียกว่าแคดแคม ข้อดีของวัสดุประเภทนี้ คือ มีค่าความยืดหยุ่นของมอดุลัสใกล้เคียงกับเนื้อฟันมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับเซรามิกแบบดั้งเดิม สามารถขึ้นรูปชิ้นงานได้ง่าย ยึดอายุห้วงกรของเครื่องกลึงชิ้นงาน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มลิเทียมไดซิลิเกต และกลุ่มโพลีคริสตัลไลน์เซรามิก นอกจากนี้ยังสามารถซ่อมแซมชิ้นงานด้วยเรซินคอมโพสิตได้¹⁻³

วัสดุแคดแคมเรซินเซรามิก หรือแคดแคมเรซินเซรามิกบล็อก สามารถแบ่งเป็น 3 ชนิด ตามองค์ประกอบที่อยู่ภายในวัสดุ ได้แก่ 1) แคดแคมเรซินบล็อก เช่น ลาวาอัลติเมท [Lava Ultimate[®] (3M ESPE, USA)] เซราสมาร์ท โดยวัสดุเซราสมาร์ท มีองค์ประกอบคือ เรซินเมทริกซ์ ร้อยละ 29 โดยน้ำหนัก ได้แก่ พูบูบิสโพรเมทาคริล ล็อกซีอีท็อกซีฟีนิลโพรเพน [2, 2-bis (4-methacryloxyethoxyphenyl) propane (Bis-MEPP)] ยูรีเทนไดเมทาคริเลท [urethane dimethacrylate (UDMA)] ไดเมทาคริเลท [Dimethacrylate (DMA)] และมีวัสดุอัดแทรก ร้อยละ 71 โดยน้ำหนัก คือ ซิลิกาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 นาโนเมตร และอนุภาคนาโน

นาโนของแบรียมกลาส ขนาด 300 นาโนเมตร จึงได้รับการจัดเป็น เรซินคอมโพสิต² 2) แคดแคมเรซินบล็อกที่มีเซอร์โคเนียซิลิกาเป็น องค์ประกอบ เช่น โซฟูล็อกเอชซี มีองค์ประกอบของวัสดุอุดแทรก ร้อยละ 61 โดยน้ำหนัก ได้แก่ ซิลิกา ซิลิเกต และเซอร์โคเนียซิลิเกต และมีโครงข่ายของพอลิเมอร์ที่ประกอบไปด้วยยูรีเทนไดเมทาคริเลท [urethane dimethacrylate (UDMA)] และไตรเอทาลีนไกลคอล ไดเมทาคริเลท [triethylene glycol dimethacrylate (TEGDMA)] ร้อยละ 39 โดยน้ำหนัก³ 3) แคดแคมเรซินในโครงข่ายกลาสเซรามิก เช่น วิต้าอีนาไมก วัสดุกลุ่มนี้จัดเป็นเซรามิกที่มีโครงข่ายของพอลิเมอร์ (Polymer-infiltrated ceramic) อยู่ภายใน และมีองค์ประกอบ ของโครงข่ายเซรามิกชนิดเฟลด์สปาร์ ร้อยละ 86 โดยน้ำหนัก ซึ่งประกอบไปด้วย ซิลิกา อะลูมินามออกไซด์ โซเดียมออกไซด์ โพแทสเซียมออกไซด์ โบรอนไดรอกไซด์ เซอร์โคเนียไดรอกไซด์ และแคลเซียมออกไซด์ และมีโครงข่ายของพอลิเมอร์ที่ประกอบไป ด้วยยูรีเทน ไดเมทาคริเลท [urethane dimethacrylate (UDMA)] และไตรเอทาลีนไกลคอลไดเมทาคริเลท [triethylene glycol dimethacrylate (TEGDMA)] ร้อยละ 14 โดยน้ำหนัก^{1,4} วัสดุกลุ่มนี้ จึงจัดเป็นวัสดุไฮบริดเซรามิกที่แท้จริง

องค์ประกอบ และความหนาของวัสดุส่งผลต่อค่าความ แข็งแรงพันธะการยึดติดระหว่างวัสดุบูรณะกับเนื้อฟัน จากผลของ แสงที่ผ่านวัสดุได้แตกต่างกัน วัสดุที่มีองค์ประกอบที่หนาแน่น และ มีความหนามาก แสงจะผ่านได้น้อยลง^{5,6} แคดแคมเรซินในโครงข่าย กลาสเซรามิก วิต้าอีนาไมก ซึ่งจัดเป็นลูกผสมระหว่างเรซิน และเซรามิก ที่ความหนา 2 มิลลิเมตร มีความโปร่งแสงน้อยกว่าที่ความหนา 1 มิลลิเมตรอย่างมีนัยสำคัญ⁷ นอกจากนี้วิต้าอีนาไมก ยอมให้แสงผ่าน ได้น้อยกว่าไอพีเอสอีแม็ก [IPS e-max® (Ivoclar, Liechtenstein)] และลาวาอัลติเมท ทั้งที่ระดับความหนา 1 และ 2 มิลลิเมตรเพราะ วิต้าอีนาไมก ประกอบไปด้วยอนุภาคของเฟลด์สปาร์ที่หนาแน่นถึง ร้อยละ 86 และมีองค์ประกอบของอะลูมินาออกไซด์ จึงทำให้ ความโปร่งแสงค่อนข้างต่ำกว่าลาวาอัลติเมท⁸ การยอมให้แสงผ่าน ลดลงนี้เอง จะลดการเกิดพอลิเมอร์ของเรซินซีเมนต์ อาจส่งผลต่อ ความแข็งแรงพันธะของวัสดุ และฟัน

การเตรียมผิวชิ้นงาน และการยึดติดร่วมกับเรซินซีเมนต์ เป็นอีกปัจจัยที่ส่งผลต่อความแข็งแรงพันธะของวัสดุกับฟัน การยึด ติดวัสดุกับโครงสร้างฟัน เกิดจากการยึดติดทั้งทางกล และทางเคมี การยึดติดทางกล คือ การทำให้พื้นผิวของชิ้นงานมีความหยาบเพื่อ เพิ่มพื้นที่ผิวในการยึดติด สามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การพ่นด้วย อนุภาคชนิดต่าง ๆ การกรอด้วยหัวกรออากาศเพชรแบบหยาบ การกัดผิว ด้วยกรด เป็นต้น ซึ่งการเลือกใช้วิธีเตรียมผิวชิ้นงานจะขึ้นกับชนิด

ของวัสดุที่ใช้^{9,10} การพ่นด้วยอนุภาคชนิดต่าง ๆ จะทำให้เกิดรอย ที่ผิวด้านในของชิ้นงานด้านที่ยึดติดกับเรซินซีเมนต์ โดยต้องเลือกชนิด ขนาดอนุภาค แรงดัน ระยะห่าง และองค์ประกอบของการพ่น ให้เหมาะกับ ชนิดของวัสดุ อนุภาคที่พ่นจะกระแทกกับผิวของเซรามิกทำให้เกิด รอยที่ผิวในระดับจุลภาค^{11,12} วัสดุที่มีองค์ประกอบของเรซินคอมโพสิต จะนิยมเลือกใช้อะลูมินา หรืออะลูมินาผสมซิลิกาซึ่งจะช่วยเพิ่มการ ยึดติดทางกลได้มากขึ้น¹³ ส่วนกรดที่ใช้เตรียมผิวเซรามิก คือ กรด ไฮโดรฟลูออริก ความเข้มข้นร้อยละ 2.5-10 กรดจะทำให้เกิดการ เปื่อยของโครงสร้างคริสตัล และเกิดรูพรุนขนาดเล็กจำนวนมาก รongรับการแทรกซึมของสารเรซินซีเมนต์ต่อไป¹² สำหรับการเพิ่ม แรงยึดติดทางเคมี ได้แก่ การใช้สารควบคู่โซเลน การเคลือบผิวด้วย ซิลิกา เป็นต้น¹⁴ สารควบคู่โซเลน มีส่วนประกอบของโมเลกุลที่มี กลุ่มโบฟังก์ชันนอล ซึ่งสารนี้จะเกิดพันธะไฮดรอกซีระหว่างผลึก ซิลิกาบนผิวกลาสเซรามิก และปลายอีกด้านเป็นคาร์บอนพันธะคู่ เพื่อให้เกิดพอลิเมอร์กับกลุ่มเมทาคริเลทของเรซินซีเมนต์^{14,15} การเกิดพันธะดังกล่าวช่วยเพิ่มความสามารถในการฉาบตัวของผิววัสดุ และทำให้ค่าความแข็งแรงพันธะเพิ่มสูงขึ้น¹⁶⁻¹⁸ โดยผู้ผลิตแนะนำให้ เตรียมผิววัสดุโซฟูล็อกเอชซี และเซราสมาร์ท ด้วยการพ่นด้วย อะลูมินาออกไซด์ และทาด้วยสารควบคู่โซเลน ก่อนการยึดติด ส่วนวิต้าอีนาไมกเตรียมผิวด้วยการทากรดไฮโดรฟลูออริกแล้วล้างออก และทาด้วยสารควบคู่โซเลน

เรซินซีเมนต์ (Resin cement) เป็นอีกปัจจัยที่ส่งผลต่อ ค่าความแข็งแรงพันธะระหว่างเนื้อฟัน และชิ้นงาน ไม่ว่าจะเป็นเซรามิก หรือเรซินคอมโพสิต เรซินซีเมนต์เป็นวัสดุที่มีองค์ประกอบเหมือน เรซินคอมโพสิต มีองค์ประกอบของพอลิเมอร์ ชนิดเมทาคริเลท เช่น บิสฟีนอลเอไดไกลซิไดลเมทาคริเลท [bisphenol A diglycidyl methacrylate (Bis-GMA)] และยูรีเทน ไดเมทาคริเลท [urethane dimethacrylate (UDMA)] รวมกับวัสดุอุดแทรกอนินทรีย์ขนาดเล็ก¹⁹ ข้อดีของวัสดุเรซินซีเมนต์ คือ มีความแข็งแรงต่อแรงกดอัด และแรง ดึงสูง (20-50 เมกะพาสคาล) ละลายตัวต่ำ มีสี และความโปร่งแสง ให้เลือกใช้งานได้หลากหลาย อย่างไรก็ตาม เรซินซีเมนต์ชนิดนี้ ต้องได้รับการเตรียมผิวฟัน และชิ้นงานก่อน ข้อควรระวังของเรซิน ซีเมนต์คือมีการทำงานหลายขั้นตอน มีอัตราการเกิดการหดตัว จากการเกิดปฏิกิริยาได้มากกว่าซีเมนต์ชนิดอื่น ๆ จึงต้องพิจารณา เลือกใช้ซีเมนต์ให้เหมาะสมกับการใช้งาน^{19,20} ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับ การเกิดพอลิเมอร์ของเรซินซีเมนต์ ได้แก่ ระบบการเกิดปฏิกิริยา สารยึดติด และเทคนิคการยึดติด วัสดุที่เลือกใช้ ชนิด และองค์ ประกอบ รวมทั้งพลังงานความเข้มแสงจากเครื่องฉายแสงที่ใช้ ระยะทางของแสงถึงวัสดุ และระยะเวลาในการฉายแสง²¹

เรซินซีเมนต์ชนิดบ่มตัวด้วยปฏิกิริยาเคมีร่วมกับแสง (Dual-cured resin cement) เป็นเรซินซีเมนต์ที่มีส่วนผสมของตัวกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาเคมี เช่น เบนโซอิลเปอร์ออกไซด์ และตัวกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาด้วยแสง เช่น แคมโฟควิโนน การเกิดพอลิเมอร์จะเริ่มเกิดปฏิกิริยาจากการกระตุ้นด้วยแสง หลังจากนั้นจะเกิดปฏิกิริยาเคมี ซึ่งจะให้ค่าความแข็งแรงพันธะของชั้นเรซินซีเมนต์สูงขึ้น^{6,12,20} Caughman และคณะ ในปี 2001 พบว่าการฉายแสงทำให้ปริมาณการเกิดพอลิเมอร์ของเรซินซีเมนต์ชนิดบ่มตัวด้วยปฏิกิริยาเคมีร่วมกับแสงของผลิตภัณฑ์วาริโอลิงค์ทู [Variolink II® (Ivoclar, Liechtenstein)] มีมากกว่าไม่ฉายแสง²² เนื่องจากต้องอาศัยแสงร่วมในการเกิดปฏิกิริยาของเรซินซีเมนต์ชนิดดังกล่าว ดังนั้นความหนาของวัสดุที่มีผลต่อการส่องผ่านของแสงจึงมีผลด้วย²³ ในปี 2011 Kilinc และคณะ พบว่าความหนาของเซรามิกไอพีเอสเอ็มเพรสส์เอสเตติก [IPS Empress Esthetic® (Ivoclar, Liechtenstein)] ที่มากกว่า 3 มิลลิเมตร ทำให้ความแข็งแรงของเรซินซีเมนต์ทั้งชนิดบ่มตัวด้วยแสง และชนิดบ่มตัวด้วยปฏิกิริยาเคมีร่วมกับแสงมีค่าน้อยกว่าความหนาที่น้อยกว่า 3 มิลลิเมตร²⁴ นอกจากนี้ อุณหภูมิในช่องปาก ยังมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดพอลิเมอร์ของเรซินซีเมนต์ด้วย การเพิ่มอุณหภูมิจนถึง 60 องศาเซลเซียส ทำให้การเกิดพอลิเมอร์เพิ่มขึ้นร้อยละ 36 ในทางกลับกันถ้าลดอุณหภูมิลงจนถึง 3 องศาเซลเซียส การเกิดพอลิเมอร์จะลดลง ร้อยละ 27²⁵ แม้เรซินซีเมนต์ชนิดบ่มตัวด้วยปฏิกิริยาเคมีร่วมกับแสง จะสามารถเกิดปฏิกิริยาได้เอง แต่การได้รับแสงเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับเรซินซีเมนต์ชนิดนี้ ซึ่งความหนาของวัสดุ ชนิดหรือองค์ประกอบของวัสดุเป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการได้รับแสงของเรซินซีเมนต์

จะเห็นว่าแคดแคมเรซินเซรามิก เป็นวัสดุชนิดใหม่ มีคุณสมบัติที่มีค่าความยืดหยุ่นของมอดูลัสใกล้เคียงพันธะธรรมชาติ ถนอมฟันคู่สบ และสามารถเข้ากับระบบแคดแคมได้^{1,26} แต่ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับวัสดุนี้โดยเฉพาะเกี่ยวกับการใช้ระดับความหนาที่แตกต่างกัน และการเปรียบเทียบการยึดติดในแต่ละชนิด ดังนั้นการศึกษานี้จึงทำขึ้นเพื่อประเมินผลของชนิดและความหนาของแคดแคมเรซินเซรามิก ที่มีต่อค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาคระหว่างแคดแคมเรซินเซรามิกที่มีความหนาระดับต่างกับเนื้อฟัน เมื่อใช้เรซินซีเมนต์ชนิดบ่มตัวด้วยการเกิดปฏิกิริยาเองร่วมกับแสง โดยมีสมมติฐานงานวิจัยว่า ชนิดและความหนาของแคดแคมเรซินเซรามิกต่างกัน ทำให้ค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาค เมื่อใช้เรซินซีเมนต์ชนิดบ่มตัวด้วยปฏิกิริยาเคมีร่วมกับแสง ไม่มีความแตกต่างกัน ข้อกำหนดของงานวิจัยคือให้ชนิดของแคดแคมเรซินเซรามิก และการเตรียมผิวชิ้นงานที่แตกต่างกัน

ตามคุณสมบัติของแต่ละชนิด จัดรวมเป็นปัจจัยเรื่องชนิดของแคดแคมเรซินเซรามิก

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย

ระเบียบวิธีวิจัยในการศึกษานี้ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ของคณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เลขที่ HREC-DCU 2018-079 โดยใช้ฟันมนุษย์ซี่กรามน้อย ไม่มีพยาธิสภาพ หรือได้รับการบูรณะใด ๆ และได้รับการถอนตามแผนการรักษาจำนวน 108 ซี่ แขนงสกรัลลาย ไธมอลความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ฟันที่ถูกทำความสะอาดฟัน และกรอตัดรากออกให้รอยตัดต่ำกว่าแนวรอยต่อระหว่างเคลือบฟัน และเคลือบรากฟันไปทางรากฟัน 2 มิลลิเมตร ฟันหนึ่งซี่จะได้ชิ้นฟันส่วนใกล้แก้ม และส่วนใกล้ลิ้น โดยการตัดแบ่งครึ่ง ในแนวใกล้กลาง-ไกลกลาง (Mesio-distal) ยึดติดส่วนรากฟันกับอีพอกซีเรซิน (Epoxy resin) หันด้านส่วนใกล้แก้ม หรือส่วนด้านใกล้ลิ้นให้ขนานกับระนาบฟัน จากนั้นกรอตัดผิวเคลือบฟันด้านใกล้แก้ม หรือด้านลิ้นออกไปอีกประมาณ 3 มิลลิเมตร ด้วยเครื่องตัดฟันความเร็วต่ำ รุ่น Isomet 1000 Precision saw (Buehler, IL, USA) ภายใต้น้ำหล่อเลี้ยง ให้ได้ผิวส่วนเนื้อฟันด้านใกล้กลาง หรือไกลกลางที่เรียบ และมีขนาดพื้นที่อย่างน้อย กว้าง 4 มิลลิเมตร และยาว 4 มิลลิเมตร ขัดผิวฟันที่ถูกตัดไปแล้ว เพื่อจำลองการเกิดชั้นสเมียร์^{27,28} ด้วยเครื่องขัดผิววัสดุอัตโนมัติ รุ่น minitech 233 (Pace Technologies, USA) ใช้กระดาษทรายขนาด 600 กริต ผ่านน้ำหล่อเลี้ยงที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 วินาที เปลี่ยนกระดาษทรายทุก 5 ชิ้นฟัน²⁹ นำฟันมาแบ่งกลุ่มแบบสุ่ม จำนวน 9 กลุ่มย่อย ตามชนิดและความหนาของแคดแคมเรซินเซรามิก กลุ่มละ 12 ซี่ฟัน

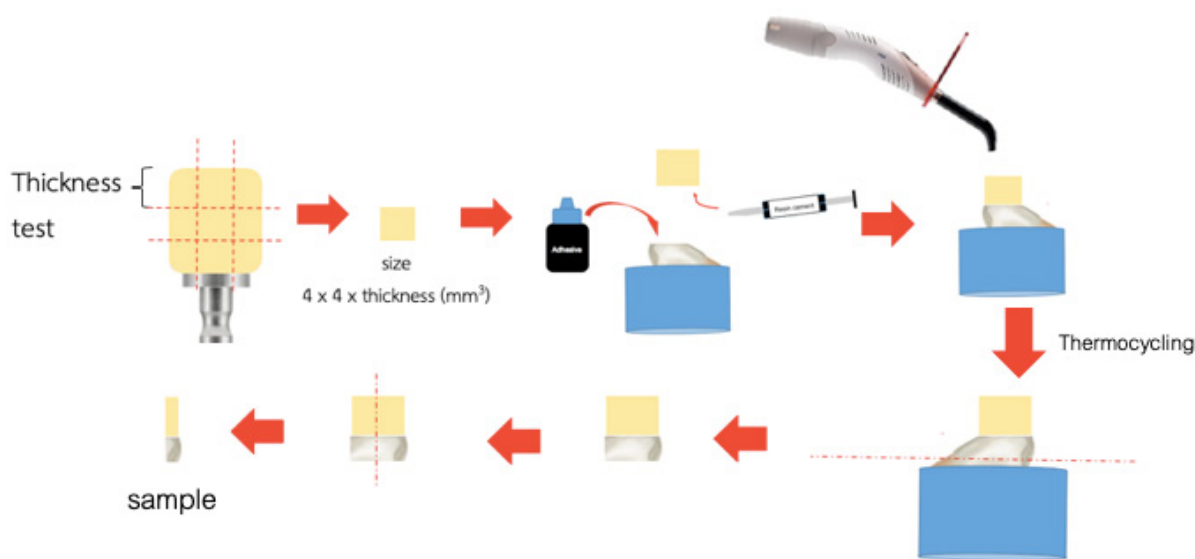
ตัดแคดแคมเรซินเซรามิกบล็อก โซฟุบล็อกเอชซี เจดสี A3 ชนิดโปร่งแสงมาก (HT) เซราสมาร์ท เจดสี A3 HT และ วิต้าอีนาไมก เจดสี 3M2 HT ซึ่งเทียบเท่ากับสี A3 HT ด้วยเครื่องตัดความเร็วต่ำ (Isomet 1000 precision Saw, Buehler, IL, U.S.A.) ภายใต้น้ำหล่อเลี้ยง ให้ได้ขนาดอย่างน้อย 4 X 4 ตารางมิลลิเมตร โดยตัดแยกความหนา 2 3 และ 4 มิลลิเมตร กลุ่มละ 12 ซี่ จากนั้นขัดผิววัสดุผ่านน้ำหล่อเลี้ยง ด้วยเครื่องขัดผิววัสดุอัตโนมัติ รุ่น minitech 233 (Pace Technologies, USA) โดยใช้กระดาษทรายความหยาบ 120 240 400 และ 600 กริต ตามลำดับ จากนั้นเตรียมผิววัสดุตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต โดยมีรายละเอียด ดังนี้

ก่อนยึดติด ทำการพ่นผิววัสดุโซฟุบล็อกเอชซี และวัสดุเซราสมาร์ท ด้วยอะลูมิเนียมออกไซด์ ขนาด 50 ไมโครเมตร ใช้แรงดัน 0.2-0.3 บาร์ เป็นเวลา 10 วินาที ล้างให้สะอาดด้วยเครื่องล้าง

ความถี่สูง รุ่น 5210 (Branson, Germany) และเป่าให้แห้ง จากนั้น ทาด้วยสารเซรามิกไพรเมอร์ซิลาน [Silane®, (Ultradent, USA)] ทิ้งไว้ให้แห้งอย่างน้อย 60 วินาที³⁰

ก่อนการยึดติด ทาผิววัสดุวีต้าอีนาเมก ด้วยกรดไฮโดร-ฟลูออริกอัลตราเด็นท์พอร์ซเลนเอทช์ [Ultradent Porcelain Etch® (Ultradent, USA)] ร้อยละ 9 เป็นเวลา 90 วินาที จากนั้นล้างน้ำออก 2 นาที และเป่าให้แห้ง แล้วทาด้วยสารเซรามิกไพรเมอร์ซิลาน ทิ้งไว้ให้แห้งอย่างน้อย 60 วินาที³¹ ยึดติดวัสดุบนฟันด้วยสารยึดติด สก็อตช์บอนด์ยูนิเวอร์ซอลด้วยวิธีโททอลเอทช์ และเรซินซีเมนต์ รีไลเอ็กซ์อัลติเมทแอดฮีซีฟเรซินซีเมนต์โดยนำขึ้นงานกดลงบนผิวฟัน ด้านใกล้แก้มที่ได้เตรียมไว้โดยใช้เครื่องให้แรง (Durameter, ASTM D 2240 Type A, PTC Instrument, U.S.A.) ใช้แรง 1 นิวตัน และ ใช้พู่กันขนาดเล็ก หรือไมโครเบรช (microbrush) ปาดซีเมนต์ส่วน เกินออก จากนั้นฉายแสงบนชิ้นงาน ใช้เครื่องฉายแสงชนิดแอลอีดี (LED Curing light Demi™ Plus, Kerr, USA) ที่มีความเข้ม

แสงมากกว่า 1,000 มิลลิวัตต์ต่อตารางเซนติเมตร โดยให้หน้าตัด ของเครื่องฉายแสงขนานกับหน้าตัดของชิ้นงาน และแนบติดกับ หน้าตัดด้านวัสดุของชิ้นงาน ฉายแสงเป็นระยะเวลา 40 วินาที ตรวจสอบความเข้มแสงให้มีค่าไม่ต่ำกว่า 1,000 มิลลิวัตต์ต่อตาราง เซนติเมตร เมื่อฉายแสงชิ้นงานทุก 10 ชิ้น²⁹ เมื่อยึดติดชิ้นงานแล้ว จำลองการใช้งานในช่องปาก โดยนำชิ้นตัวอย่างทดสอบทุกชิ้น แช่ น้ำในเครื่องควบคุมอุณหภูมิร้อนเย็นเป็นจังหวะ (Thermocycling unit, KMIT, Samut Prakarn, Thailand) ที่อุณหภูมิ 5 และ 55 องศาเซลเซียส จำนวน 10,000 รอบ โดยแช่ที่อุณหภูมิละ 30 วินาที พักระหว่างอุณหภูมิ 5 วินาที จากนั้นตัดชิ้นทดสอบเพื่อทดสอบ ค่าความแข็งแรงพันธะโดยตัดเป็นแบบแท่ง (Stick) ด้วยเครื่อง ตัดความเร็วต่ำผ่านน้ำหล่อเลี้ยง ให้ได้ชิ้นทดสอบขนาดกว้าง 1 มิลลิเมตร ยาว 1 มิลลิเมตร และมีความสูงของแต่ละกลุ่ม จำนวน 4 ชิ้นต่อฟัน 1 ซี่



รูปที่ 1 ขั้นตอนการเตรียมชิ้นทดสอบ โดยเตรียมแคดแคมเรซินเซรามิก ให้มีขนาดอย่างน้อย 4 x 4 x (ความหนา) ลูกบาศก์มิลลิเมตร และยึดติดชิ้นงานด้วย สารยึดติด สก็อตช์บอนด์ยูนิเวอร์ซอล และเรซินซีเมนต์ชนิดบ่มตัวด้วยปฏิกิริยาเคมีร่วมกับเรซินซีเมนต์รีไลเอ็กซ์อัลติเมทแอดฮีซีฟเรซินซีเมนต์ จากนั้น ฉายแสงเป็นระยะเวลา 40 วินาที หลังจากผ่านกระบวนการจำลองการใช้งานในช่องปาก 10,000 รอบ ตัดชิ้นทดสอบให้มีขนาด 1 x 1 x (ความหนา) ลูกบาศก์มิลลิเมตร

Figure 1 Sample preparation: CAD-CAM resin ceramic was sectioned into size 4 x 4 x (thickness) mm³ and cemented with Scotchbond Universal® (3M ESPE, USA) adhesive and RelyX™ Ultimate Adhesive Resin Cement® (3M ESPE, U.S.A). After 10,000 cycles of thermocycling, sample was sectioned into size 1 x 1 x (thickness) mm³

นำชิ้นงานมาทดสอบค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาค โดยใช้เครื่องทดสอบแรงแบบอเนกประสงค์ รุ่น EZ-S (SHIMADZU, Japan) ให้ชิ้นของสารยึดติด และเรซินซีเมนต์ ตั้งฉากกับแรงดึงที่จะใช้กับชิ้นทดสอบ และใช้แรง 100 นิวตัน เคลื่อนตัวด้วยความเร็ว 0.5 มิลลิเมตรต่อนาที จนชิ้นวัสดุหลุดออกจากพื้นบันทึกค่าที่ได้เป็นหน่วยเมกะปาสคาล โดยใช้สูตร

[แรง(ค่าความต้านทานหน่วยเป็นกิโลกรัม) × 9.8 / พื้นที่ยึดติดของชิ้นทดสอบ] แล้วนำไปคำนวณค่าทางสถิติ

ค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาคที่ได้ของแต่ละชิ้นทดสอบทั้ง 4 ชิ้น จะนำมาเฉลี่ยเป็นค่าของพื้น 1 ซี ซึ่งหากมีการแตกหักก่อนการทดสอบ จะเป็นได้ 2 กรณี³²

1. วัสดุหลุดจากโครงสร้างพื้น ขณะอยู่ในเครื่องจำลองการใช้งานในช่องปาก ให้คิดค่าชิ้นงานที่หลุด เป็น 0 เมกะปาสคาล³²
2. วัสดุหลุดจากโครงสร้างพื้น ขณะตัดชิ้นงาน จะไม่นำมาคิดค่าชิ้นงานที่หลุดออก³²

หลังจากชิ้นงานแตกหัก ตรวจสอบลักษณะการแตกหักภายหลังการทดสอบค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาค ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ รุ่น SZ 61 (Olympus, Japan) ที่กำลังขยาย 40 เท่า และบันทึกลักษณะพื้นผิวที่พบแบ่งออกเป็น การแตกหักชนิดเกิดการหลุดระหว่างรอยต่อ ซึ่งอาจจะเห็นชั้นสารยึดติดหลุดออกจากโครงสร้างพื้น หรือโครงสร้างวัสดุ โดยไม่ทำให้โครงสร้างพื้น หรือวัสดุแตก (Adhesive failure mode) การแตกในชั้นโครงสร้างพื้น หรือวัสดุ (Cohesive failure mode) และแบบผสม (Mix failure mode) คือการแตกหักมากกว่า 1 ชนิด ได้แก่ การแตกหักชนิดเกิดการหลุดระหว่างรอยต่อ ร่วมกับการแตกในชั้นโครงสร้างพื้น หรือวัสดุ หรือร่วมกันทั้งหมด จากนั้นสุ่มชิ้นงานกลุ่มละ 2 ชิ้น เพื่อดูพื้นผิวที่แตกหักด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด รุ่น QUANTATM250 (FEI company, USA) กำลังขยาย 3,500 เท่า **การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ**

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมเอสพีเอสเอส เวอร์ชัน 22 โดยทดสอบการแจกแจงของข้อมูลด้วยการทดสอบของครัสคัล-วอลล์ (Kruskal Wallis test) จากนั้นเปรียบเทียบข้อมูลค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาคระหว่างชนิดของวัสดุ และระหว่างแต่ละระดับความหนาของวัสดุ ใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนสองทาง (Two-way ANOVA) และทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยการเปรียบเทียบเชิงซ้อนชนิดทูคี (Tukey post hoc multiple comparison test) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ผลการวิจัย

ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาค จะแสดงในตารางที่ 1 พบว่า ความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาคของวัสดุทั้งสามผลิตภัณฑ์ คือ โซฟูล็อก

เอชซี วีต้าอีนามิก และเซราสมาร์ท ที่ระดับความหนาที่แตกต่างกัน คือ 2 3 และ 4 มิลลิเมตร พบว่าค่าเฉลี่ยความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาคของวัสดุแต่ละความหนากับเนื้อฟัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.203$)

ส่วนระหว่างชนิดแคดแคมเรซินเซรามิกที่แตกต่างกัน เมื่อยึดติดกับเนื้อฟัน พบว่าค่าเฉลี่ยความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาคของวัสดุแต่ละชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.032$) ซึ่งในแต่ละชนิดของวัสดุ พบว่า เซราสมาร์ท ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับโซฟูล็อกเอชซี และวีต้าอีนามิก ($p = 0.195$ และ 0.653 ตามลำดับ) แต่โซฟูล็อกเอชซี และวีต้าอีนามิกมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.027$) โดยมีลำดับค่าเฉลี่ยค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาคของวัสดุจากมากไปน้อยคือ วีต้าอีนามิก เซราสมาร์ท และโซฟูล็อกเอชซี (22.48 ± 3.73 เมกะปาสคาล 21.53 ± 4.95 เมกะปาสคาล และ 19.65 ± 4.54 เมกะปาสคาล ตามลำดับ)

เมื่อพิจารณาแยกตามระดับความหนาที่แตกต่างกัน ค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาค เมื่อยึดติดกับเนื้อฟัน ที่ระดับความหนาของวัสดุ 2 และ 3 มิลลิเมตร พบว่า ชนิดของแคดแคมเรซินเซรามิกไม่ทำให้ค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาคแตกต่างกัน ส่วนที่ระดับความหนา 4 มิลลิเมตร พบว่า โซฟูล็อกเอชซี มีค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาคแตกต่างกันกับวีต้าอีนามิกและ เซราสมาร์ท อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ระหว่างวีต้าอีนามิก และเซราสมาร์ท ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ก่อนการทดสอบหาค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาค มีจำนวนชิ้นงานที่แตกหัก แสดงดังตารางที่ 2

เนื่องจากเกิดการแตกหักระหว่างการตัดชิ้นงาน จึงไม่นำชิ้นนั้นมาคำนวณค่าเฉลี่ยเป็นค่าต่อชิ้นของค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาค ก่อนวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

หลังจากทดสอบหาค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาคแล้ว ตรวจสอบลักษณะการแตกหักที่ผิวหน้าของหน้าตัดชิ้นงานที่แตก ซึ่งสามารถแบ่งรายละเอียดตามชนิดวัสดุ ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้ แสดงตามรูปที่ 2

โซฟูล็อกเอชซี มีการแตกหักชนิดเกิดการหลุดระหว่างรอยต่อ ร้อยละ 75.5 ชนิดเกิดการแตกในชั้นโครงสร้างวัสดุ ร้อยละ 10.5 และแบบผสมร้อยละ 13.9

วีต้าอีนามิกมีการแตกหักชนิดเกิดการหลุดระหว่างรอยต่อ ร้อยละ 23.4 ชนิดเกิดการแตกในชั้นโครงสร้างวัสดุ ร้อยละ 65.5 และแบบผสมร้อยละ 11.1

เซราสมาร์ท มีการแตกหักชนิดเกิดการหลุดระหว่างรอยต่อ ร้อยละ 88.3 ชนิดเกิดการแตกในชั้นโครงสร้างวัสดุ ร้อยละ 6.7 และแบบผสมร้อยละ 5

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาคของแคดแคมเรซินเซรามิกทั้ง 3 ผลิตภัณฑ์ที่ระดับความหนา 2 3 และ 4 มิลลิเมตร

Table 1 Mean $\pm$ SD of micro-tensile bond strength value in each group of 3 CAD-CAM resin ceramic at thickness 2, 3 and 4 mm

Mean $\pm$ SD of micro-tensile bond strength value (MPa)				
CAD-CAM resin ceramic	Thickness 2 mm	Thickness 3 mm	Thickness 4 mm	Mean $\pm$ SD of each material
Shofu block HC [®]	21.72 $\pm$ 3.80 ^{A,a}	18.74 $\pm$ 5.45 ^{A,a}	18.49 $\pm$ 3.81 ^{A,a}	19.65 $\pm$ 4.54 ^A
Vita Enamic [®]	20.32 $\pm$ 4.46 ^{A,a}	23.08 $\pm$ 2.29 ^{A,a}	24.03 $\pm$ 3.31 ^{B,a}	22.48 $\pm$ 3.73 ^B
Cerasmart [®]	20.62 $\pm$ 4.53 ^{A,a}	19.55 $\pm$ 6.95 ^{A,a}	24.42 $\pm$ 4.96 ^{B,a}	21.53 $\pm$ 4.95 ^{A,B}

หมายเหตุ:

ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในแถวเดียวกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Remark:

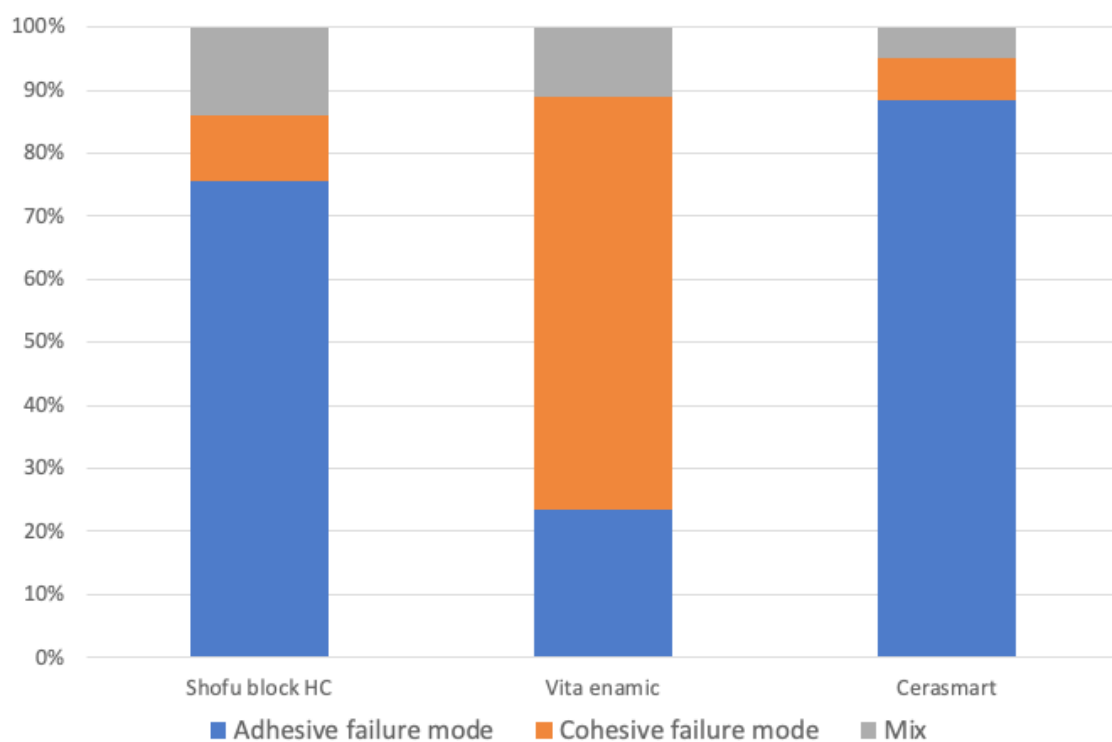
Group with the same uppercase letter in each column are not statistically different ($p > 0.05$)

Group with the same lowercase letter in each row are not statistically different ($p > 0.05$)

ตารางที่ 2 จำนวนชิ้นงานที่แตกหักก่อนการทดสอบ

Table 2 Amount of pretest failure sample

	Thickness of Shofu block HC [®]			Thickness of Vita Enamic [®]			Thickness of Cerasmart [®]		
	2 mm	3 mm	4 mm	2 mm	3 mm	4 mm	2 mm	3 mm	4 mm
Dislodge 1 piece/ 1 tooth	2	3	2	1	-	-	1	3	4
Dislodge 2 pieces/1 tooth	-	-	2	-	-	-	-	-	1

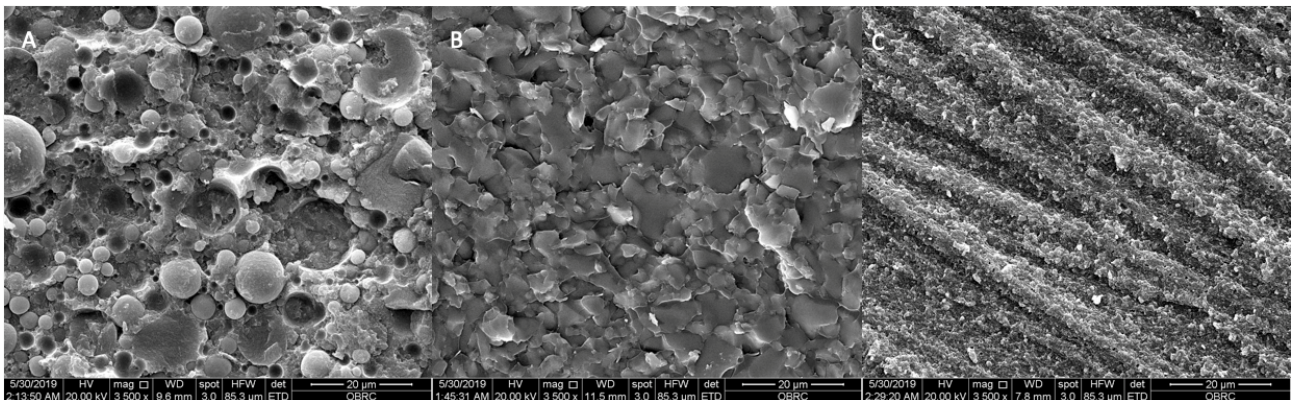


รูปที่ 2 กราฟแสดงประเภทการแตกหักที่ผิวหน้าตัดของชิ้นงานที่ผ่านการทดสอบหาค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาคโดยแบ่งกลุ่มตามชนิดของวัสดุ

Figure 2 Graph of failure type of fracture surfaces from micro-tensile bond strength test

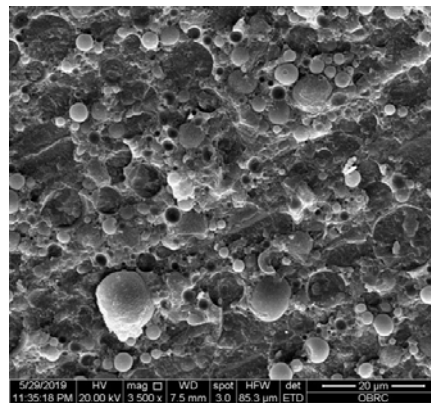
การส่มตัวอย่าง เพื่อนำไปส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดกำลังขยาย 3,500 เท่า แสดงพื้นผิวหน้าบริเวณที่แตกหักของวัสดุชนิดต่าง ๆ ดังรูปที่ 3 แสดงชนิดการแตกหักในโครงสร้างวัสดุ ทำให้สามารถเห็นลักษณะโครงสร้างภายในชั้นแคดแคมเรซินเซรามิก ลักษณะพื้นผิวที่แตกหักของโซฟุบล็อกเอชซี พบวัสดุทรงกลม 2 ขนาดแตกต่างกันในเมทริกซ์

ที่หลุดออก (รูปที่ 3A) พื้นผิวของ วิต้าอีนาไมกพบลักษณะผลึกที่มีรูปร่างไม่แน่นอนอัดแน่นอยู่ในเนื้อวัสดุ (รูปที่ 3B) พื้นผิวของเซราสมาร์ท พบอนุภาคขนาดเล็กอัดแน่นปริมาณมาก (รูปที่ 3C) ส่วนผิวหน้าบริเวณที่แตกหักแบบเกิดการแตกหักระหว่างชั้นรอยต่อของโซฟุบล็อกเอชซี และเรซินซีเมนต์ จะพบว่ามียูนาภาคนิดอื่นเหลืออยู่ที่ผิวหน้ารอยแตกด้วย (รูปที่ 4)



รูปที่ 3 พื้นผิวหน้าตัดบริเวณที่แตกหักชนิดการแตกหักในชั้นโครงสร้างของแคดแคมเรซินเซรามิกชนิดต่างๆ ผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดกำลังขยาย 3,500 เท่า (A;Shofu block HC®, B;Vita Enamic®, C;Cerasmart®)

Figure 3 Scanning electron microscope images (3500x) of fracture surfaces (Cohesive failure mode) from micro-tensile bond strength test (A;Shofu block HC®, B;Vita Enamic®, C;Cerasmart®)



รูปที่ 4 พื้นผิวหน้าตัดบริเวณที่แตกหักชนิดการแตกหักในชั้นรอยต่อระหว่าง โซฟุบล็อกเอชซี และโครงสร้างฟัน ผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดกำลังขยาย 3,500 เท่า

Figure 4 Scanning electron microscope images (3500x) of Shofu block HC® fracture surfaces (Adhesive failure mode) from micro-tensile bond strength test

อภิปรายผลการทดลอง

การศึกษานี้เป็นการศึกษาถึงอิทธิพลของชนิดและความหนาของแคดแคมเรซินเซรามิก ต่อความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาคระหว่างแคดแคมเรซินเซรามิก และเนื้อฟัน พบว่า

ความหนาที่แตกต่างกันของวัสดุชนิดเดียวกันไม่มีผลต่อความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาคเมื่อยึดติดวัสดุกับเนื้อฟัน ในขณะที่ชนิดของวัสดุที่แตกต่างกันมีผลต่อความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาค

แคดแคมเรซินบล็อก ผลิตภัณฑ์ เซราสมาร์ท มีค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาคในแต่ละระดับความหนาไม่แตกต่างกัน เมื่อตรวจดูภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดตามรูป 3C พบว่า วัสดุอัดแทรกมีขนาดเล็ก และมีปริมาณมาก ซึ่งจากการศึกษาก่อนหน้านี้ พบว่าวัสดุอัดแทรกมีขนาดเล็กกว่า 500 นาโนเมตร และกระจายอยู่จำนวนมาก³³ ด้วยอนุภาควัสดุอัดแทรกขนาดเล็ก แสงส่องผ่านได้⁷ และยอมให้แสงผ่านได้มากกว่าเซรามิก^{34,35} จึงเอื้อต่อการเกิดปฏิกิริยาสร้างพอลิเมอร์ของเรซินซีเมนต์ นอกจากนี้ องค์ประกอบของ เซราสมาร์ท ที่มีแบเรียมกลาส เมื่อทาผิวชั้นงานด้วยเซรามิกไพรเมอร์ที่เป็นสารควบคู่ไซเลนภายหลังการเตรียมผิว ด้วยการพ่นด้วยอนุภาคอะลูมิเนียมออกไซด์³⁶ ทำให้สามารถเพิ่มแรงยึดติดทางเคมี จึงอาจส่งผลให้ได้ค่าความแข็งแรงพันธะไม่แตกต่างกันในแต่ละระดับความหนาของวัสดุ

แคดแคมเรซินในโครงข่ายกลาสเซรามิก ผลิตภัณฑ์ วิต้า-อีนามิกซึ่งเป็นวัสดุกลุ่มผสมระหว่างเซรามิกและโพลิเมอร์นั้น มีค่าความแข็งแรงพันธะระดับจุลภาคในแต่ละระดับความหนาไม่แตกต่างกัน และไม่แตกต่างกับกลุ่มแคดแคมเรซินบล็อก โครงสร้างของวัสดุกลุ่มนี้มีลักษณะโครงสร้างเป็นโครงข่ายเชื่อมกันของเซรามิกกลุ่มเฟลด์สปาร์กับเรซินโพลิเมอร์ วัสดุอัดแทรกมีขนาดระหว่าง 1 ถึง 5 ไมโครเมตร⁴ ซึ่งอาจมีผลต่อการส่องผ่านของแสงได้ลดลง⁴ เมื่อดูพื้นผิวด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ตามรูป 3B ลักษณะดังกล่าว นอกจากจะทำให้พ่นทานต่อการเกิดการเสื่อมสลายของวัสดุอัดแทรกจากเมทริกซ์³⁷ ด้วยโครงสร้างพื้นฐานที่เป็นเซรามิกกลุ่มเฟลด์สปาร์ทำให้วัสดุกลุ่มนี้สามารถเตรียมผิวด้วยกรดไฮโดรฟลูออริก การใช้กรดไฮโดรฟลูออริกเตรียมผิวชั้นงานวิต้าอีนามิก ทำให้ค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาคเพิ่มสูงขึ้น³⁸ กรดไฮโดรฟลูออริก จะกำจัดกลาสเมทริกซ์ออกบางส่วน ทำให้ผิวหน้าวัสดุมีรอยขรุขระเมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดจะพบรูพรุนขนาดเล็กจำนวนมาก^{14,39} ซึ่งจะเพิ่มความสามารถในการไหลผ่านพื้นผิววัสดุ เพิ่มปริมาณพื้นที่ผิวในการยึดติดทางกล⁴⁰ Gungor และคณะเปรียบเทียบผลของการเตรียมผิววิต้าอีนามิก พบว่าค่าความแข็งแรงพันธะแรงเฉือนของการเตรียมผิวด้วยกรดไฮโดรฟลูออริก มากกว่าการพ่นด้วยอะลูมิเนียมออกไซด์ ขนาด 50 ไมครอนอย่างมีนัยสำคัญ⁴¹ จึงทำให้วิต้าอีนามิกได้ค่าความแข็งแรงพันธะที่มาก นอกจากนี้การใช้สารควบคู่ไซเลนเตรียมผิวหลังจากใช้กรดกัดจะเพิ่มแรงยึดติดทางเคมี ช่วยเพิ่มความแข็งแรงพันธะให้กับวัสดุวิต้าอีนามิกด้วย 10 กระบวนการเตรียมพื้นผิวทั้งหมดจะทำให้เพิ่มพลังงานพื้นผิว (Surface energy) และส่งเสริมให้เกิดการไหลผ่านที่ติดพื้นผิว เกิดกลไกการยึดติดทางกลระดับจุลภาค (micromechanical interlock) และเกิดการยึดติดได้แข็งแรงกว่า^{30,31} ดังจะ

เห็นได้ว่าค่าความแข็งแรงพันธะของวัสดุวิต้าอีนามิกในการศึกษาฉบับนี้มากกว่าวัสดุอีกสองชนิด

แม้ว่าแคดแคมเรซินบล็อกที่มีเซอร์โคเนียซิลิกาเป็นองค์ประกอบ ผลิตภัณฑ์โซฟุบล็อกเอชซี มีค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาคที่ไม่แตกต่างกันในแต่ละระดับความหนา แต่ค่าเฉลี่ยความแข็งแรงพันธะแรงดึงมีค่าต่ำกว่าวัสดุอีกสองกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะที่ความหนา 4 มิลลิเมตร ในภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 3,500 เท่า ตามรูปที่ 4 พบว่า มีอนุภาคกลม 2 ขนาด ที่แตกต่างกันอยู่ในเมทริกซ์ คือ ขนาดเล็กขนาด 1 ไมโครเมตร และขนาดใหญ่ 10 ไมโครเมตร⁴² ซึ่งอนุภาควัสดุอัดแทรกที่เป็นเซอร์โคเนียมีความทึบแสง⁴³ รวมทั้งมีขนาดอนุภาคของวัสดุอัดแทรกใหญ่กว่าเซราสมาร์ท⁴⁴ จึงอาจมีผลต่อการส่องผ่านของแสงได้ลดลง นอกจากนี้ โซฟุบล็อกเอชซีมีลักษณะเดียวกับเรซินคอมโพสิตชนิดไฮบริด⁴⁵ ผู้ผลิตแนะนำให้เตรียมผิวด้วยการพ่นอนุภาคอะลูมิเนียมออกไซด์ และทาไซเลน จากการศึกษาที่พบว่า การที่โซฟุบล็อกเอชซี ถูกเตรียมผิวด้วยการพ่นด้วยอนุภาคอะลูมิเนียมออกไซด์ อนุภาคของวัสดุอัดแทรกสามารถหลุดออกจากเมทริกซ์ เนื่องจากการไซเลนของวัสดุอัดแทรกเซอร์โคเนียที่ไม่ดีพอ⁴⁶ รวมถึงการที่มีวัสดุอัดแทรกเป็นเซอร์โคเนีย ทำให้การทาสารควบคู่ไซเลนไม่สามารถเพิ่มแรงยึดได้มากพอ ส่งผลให้ค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงมีค่าน้อยกว่าวัสดุกลุ่มอื่น ๆ อย่างไรก็ตามเนื่องจากเซอร์โคเนียสามารถเพิ่มแรงยึดได้ด้วยการทาด้วยสารไพรเมอร์ที่มีส่วนผสมของสารเทินเมทาคริลอิลอีท็อกซีเตติลไดไฮโดรเจนฟอสเฟตหรือเทินเอ็มดีพี [10-methacryloyloxydecyl dihydrogenphosphate (10-MDP)]⁴⁷ จึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้สารนี้ในการส่งเสริมการยึดติดให้กับผลิตภัณฑ์โซฟุบล็อกเอชซี นอกจากนี้ การปรับระยะเวลาที่ใช้ในการทาเซรามิกไพรเมอร์มีระยะเวลานานขึ้นกว่าระยะเวลาตามที่บริษัทผู้ผลิตกำหนด⁴⁸ หรือใช้ความร้อนเพิ่มช่วยเร่งปฏิกิริยาของการเกิดพันธะไฮล๊อกเซน⁴⁹ อาจจะทำให้เพิ่มค่าความแข็งแรงพันธะได้มากขึ้น จึงควรทำการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

บล็อกแคดแคมเรซินเซรามิกที่ใช้ในการวิจัยนี้มีสีเดียวกัน และความโปร่งแสงชนิดโปร่งแสงมาก (HT) ที่ระดับความหนาที่แตกต่างกัน แคดแคมเรซินเซรามิกที่ใช้ในการศึกษานี้ได้แก่ โซฟุบล็อกเอชซี เซราสมาร์ท และวิต้าอีนามิกเนื่องจากเป็นแคดแคมเรซินเซรามิกที่มีใช้ในท้องตลาดปัจจุบัน สารยึดติดที่ใช้ในการศึกษานี้คือ สารยึดติดแบบยูนิเวอร์ซอลสก็อตช์บอนด์ยูนิเวอร์ซอล เนื่องจากสารยึดติดชนิดนี้ ให้ค่าความแข็งแรงพันธะสูง และอ้างว่าสามารถยึดติดได้ทุกพื้นผิววัสดุบูรณะทางอ้อม เนื่องจากมีส่วนผสมของสารควบคู่ไซเลนอยู่ประมาณร้อยละ 10⁵⁰⁻⁵² ร่วมกับการใช้เรซินซีเมนต์-รีไลเอ็กซ์อัลติเมทแอตอีซีฟเรซินซีเมนต์ ซึ่งเป็นเรซินซีเมนต์ชนิด

บ่มตัวด้วยปฏิกิริยาเคมีร่วมกับแสง ทุกชั้นตัวอย่างผ่านกระบวนการจำลองการใช้งานในช่องปาก เพื่อให้ใกล้เคียงสภาวะทางคลินิกมากที่สุด

แม้ว่าการศึกษานี้จะใช้เรซินซีเมนต์ชนิดบ่มตัวด้วยปฏิกิริยาเคมีร่วมกับแสง ซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยาได้ทั้งสองแบบ แต่การทำให้เกิดปฏิกิริยาการบ่มตัวด้วยแสงเป็นสิ่งที่จำเป็นอย่างยิ่งต่อการเกิดพอลิเมอร์^{22,53} การศึกษานี้กำหนดให้ฉายแสงร่วมด้วยโดยกำหนดให้ปลายเครื่องมือฉายแสงอยู่ชิดกับผิวหน้าของวัสดุ และให้ความหนาของวัสดุเป็นตัวกำหนดปัจจัยเรื่องระยะทางของแสงถึงวัสดุ มีการแนะนำให้ใช้เรซินซีเมนต์ชนิดบ่มตัวด้วยปฏิกิริยาเคมีร่วมกับแสงในกรณีที่ต้องการลดปัญหาการเกิดพอลิเมอร์ที่ไม่สมบูรณ์ เช่นกรณีเมื่อยัดติดเซรามิกชนิดลูไซต์ที่หนามากกว่า 2 มิลลิเมตรขึ้นไป²⁴ ซึ่งความโปร่งแสงขึ้นกับค่าการกระจายแสง (refractive index) ของอนุภาคของวัสดุอัดแทรก เมทริกซ์ และความหนาของวัสดุ⁵⁴ จากการศึกษาของ Kilinc และคณะ ในปี 2011 พบว่าเมื่อเซรามิกชนิดลูไซต์ที่หนาเกิน 3 มิลลิเมตรขึ้นไป จะทำให้เกิดการแข็งตัวของชั้นเรซินซีเมนต์ชนิดบ่มตัวด้วยปฏิกิริยาเคมีร่วมกับแสงน้อยกว่าเซรามิกที่มีความหนา 1 มิลลิเมตร อย่างมีนัยสำคัญ²⁴ การศึกษานี้จึงเลือกใช้วัสดุที่ระดับความหนาสูงสุดที่ 4 มิลลิเมตร ตามการเตรียมฟันทั่วไป⁵⁵ อย่างไรก็ตาม ความแข็งแรงพันธะแรงดึงยังขึ้นกับวิธีการเตรียมผิวของวัสดุร่วมด้วย ทำให้อิทธิพลจากความหนาของวัสดุไม่มีผลต่อค่าเฉลี่ยความแข็งแรงพันธะแรงดึงอย่างชัดเจนนัก

ทั้งนี้การศึกษานี้ศึกษาในระดับความหนาของแคดแคมเรซินเซรามิก 2 3 และ 4 มิลลิเมตรและใช้เรซินซีเมนต์เพียงยี่ห้อเดียว รวมทั้งการศึกษาจำลองสถานการณ์ในห้องปฏิบัติการเท่านั้น ซึ่งในสภาวะทางคลินิก การผลิตชิ้นงานจะมีระดับความหนาที่แตกต่างกันไป รวมทั้งอาจมีปัจจัยอื่นที่แตกต่างกันไป เช่น สภาพผิวฟันที่ยึดติดแบบต่าง ๆ หรือสัดส่วนพื้นผิวที่ยึดติดกับโครงสร้างฟันต่อพื้นผิวที่ไม่มีการยึดติดกับโครงสร้างฟัน (configuration factor) เป็นต้น ดังนั้นผลลัพธ์อาจแตกต่างจากการศึกษานี้ จึงควรศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการใช้ร่วมกับเรซินซีเมนต์ชนิดอื่น ๆ หรือการยัดติดระยะยาวในทางคลินิกต่อไป

สรุปผลการวิจัย

เมื่อยึดแคดแคมเรซินเซรามิกที่มีความหนาที่แตกต่างกันกับเนื้อฟัน ด้วยเรซินซีเมนต์ชนิดบ่มตัวด้วยปฏิกิริยาเคมีร่วมกับแสง พบว่าค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาค ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนชนิดของแคดแคมเรซินเซรามิก มีองค์ประกอบ และการเตรียมผิวเซรามิกที่แตกต่างกัน มีผลต่อค่า

ความแข็งแรงพันธะที่แตกต่างกัน ซึ่งแนะนำว่า สามารถยึดวัสดุวีต้าอีนาไมก และเซรามาร์ท ที่มีความหนาน้อยกว่า หรือเท่ากับ 4 มิลลิเมตร ให้ติดกับเนื้อฟันด้วยเรซินซีเมนต์ชนิดบ่มตัวด้วยปฏิกิริยาเคมีร่วมกับแสง ส่วนวัสดุโซฟุบล็อกเอชซี เป็นวัสดุที่มีปัจจัยเรื่องความหนาที่ส่งผลต่อการลดลงของค่าความแข็งแรงพันธะแรงดึงระดับจุลภาค ดังนั้นจึงควรระมัดระวังในการยัดติดวัสดุที่มีความหนา 4 มิลลิเมตรขึ้นไป ด้วยเรซินซีเมนต์ชนิดบ่มตัวด้วยปฏิกิริยาเคมีร่วมกับแสง

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจาก ทุนสำหรับนิสิตหลักสูตรฝึกอบรมเพื่อวุฒิบัตร ราชวิทยาลัยทันตแพทย์แห่งประเทศไทย และผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์วิจัยทันตวัสดุศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อำนวยความสะดวกในการใช้สถานที่ และเครื่องมือในการทำวิจัย ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ทันตแพทย์หญิง ดร. สรณันท์ จันทรางศุ ที่ให้คำปรึกษาการใช้สถิติในการวิเคราะห์ข้อมูล รวมทั้งคณาจารย์ภาควิชาทันตกรรมทันตการ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่าน ที่ให้ความรู้ และคำแนะนำในการทำศึกษานับนี้ตลอดมา

เอกสารอ้างอิง

1. Gracis S, Thompson VP, Ferencz JL, Silva NR, Bonfante EA. A new classification system for all-ceramic and ceramic-like restorative materials. *Int J Prosthodont* 2015;28(3):227-35.
2. Della Bona A, Corazza PH, Zhang Y. Characterization of a polymer-infiltrated ceramic-network material. *Dent Mater* 2014;30(5):564-9.
3. He LH, Swain M. A novel polymer infiltrated ceramic dental material. *Dent Mater* 2011;27(6):527-34.
4. Lise DP, Van Ende A, De Munck J, Yoshihara K, Nagaoka N, Cardoso Vieira LC, et al. Light irradiance through novel CAD-CAM block materials and degree of conversion of composite cements. *Dent Mater* 2018;34(2):296-305.
5. Lim HN, Yu B, Lee YK. Spectroradiometric and spectrophotometric translucency of ceramic materials. *J Prosthet Dent* 2010;104(4):239-46.
6. Ayres AP, Andre CB, Pacheco RR, Carvalho AO, Bacelar-Sa RC, Rueggeberg FA, et al. Indirect restoration thickness and time after light-activation effects on degree of conversion of resin cement. *Braz Dent J* 2015;26(4):363-7.
7. Awad D, Stawarczyk B, Liebermann A, Ilie N. Translucency of esthetic dental restorative CAD/CAM materials and composite resins with respect to thickness and surface roughness. *J Prosthet Dent* 2015;113(6):534-40.

8. Stawarczyk B, Awad D, Ilie N. Blue-light transmittance of esthetic monolithic CAD/CAM materials with respect to their composition, thickness, and curing conditions. *Oper Dent* 2016;41(5):531-40.
9. Yavuz T, Ozyilmaz OY, Dilber E, Tobi ES, Kilic HS. Effect of different surface treatments on porcelain-resin bond strength. *J Prosthodont* 2017;26(5):446-54.
10. Peumans M, Valjakova EB, De Munck J, Mishevskia CB, Van Meerbeek B. Bonding effectiveness of luting composites to different CAD/CAM materials. *J Adhes Dent* 2016;18(4):289-302.
11. Soares CJ, Soares PV, Pereira JC, Fonseca RB. Surface treatment protocols in the cementation process of ceramic and laboratory-processed composite restorations: A Literature Review. *J Esthet Restor Dent* 2005;17(4):224-35.
12. Blatz MB, Sadan A, Kern M. Resin-ceramic bonding: a review of the literature. *J Prosthet Dent* 2003;89(3):268-74.
13. Rodrigues SA, Ferracane JL, Bona A. Influence of surface treatments on the bond strength of repaired resin composite restorative materials. *Dent Mater* 2009;25(4):442-51.
14. Hori S, Minami H, Minesaki Y, Matsumura H, Tanaka T. Effect of hydrofluoric acid etching on shear bond strength of an indirect resin composite to an adhesive cement. *Dent Mater J* 2008;27(4):515-22.
15. Aida M, Hayakawa T, Mizukawa K. Adhesion of composite to porcelain with various surface conditions. *J Prosthet Dent* 1995;73(5):464-70.
16. Terry DA, Blatz MB. Surface treatments for tooth-colored restorations: Part 2. *Dent Today* 2011;30(3):126,8,30-1.
17. Yoshida K, Kamada K, Atsuta M. Effects of two silane coupling agents, a bonding agent, and thermal cycling on the bond strength of a CAD/CAM composite material cemented with two resin luting agents. *J Prosthet Dent* 2001;85(2):184-9.
18. Mamanee T, Takahashi M, Nakajima M, Foxton RM, Tagami J. Initial and long-term bond strengths of one-step self-etch adhesives with silane coupling agent to enamel-dentin-composite in combined situation. *Dent Mater J* 2015;34(5):663-70.
19. Ladha K, Verma M. Conventional and contemporary luting cements: an overview. *J Indian Prosthodont Soc* 2010;10(2):79-88.
20. Stamatacos C, Simon JF. Cementation of indirect restorations: an overview of resin cements. *Compend Contin Educ Dent* 2013;34(1):42-4, 6.
21. De Souza G, Braga RR, Cesar PF, Lopes GC. Correlation between clinical performance and degree of conversion of resin cements: a literature review. *J Appl Oral Sci* 2015;23(4):358-68.
22. Caughman WF, Chan DC, Rueggeberg FA. Curing potential of dual-polymerizable resin cements in simulated clinical situations. *J Prosthet Dent* 2001;85(5):479-84.
23. Pazin MC, Moraes RR, Goncalves LS, Borges GA, Sinforeti AC, Correr-Sobrinho L. Effects of ceramic thickness and curing unit on light transmission through leucite-reinforced material and polymerization of dual-cured luting agent. *J Oral Sci* 2008;50(2):131-6.
24. Kilinc E, Antonson SA, Hardigan PC, Kesercioglu A. The effect of ceramic restoration shade and thickness on the polymerization of light- and dual-cure resin cements. *Oper Dent* 2011;36(6):661-9.
25. Daronch M, Rueggeberg FA, De Goes MF. Monomer conversion of pre-heated composite. *J Dent Res* 2005;84(7):663-7.
26. Spitznagel FA, Vuck A, Gierthmuhlen PC, Blatz MB, Horvath SD. Adhesive bonding to hybrid materials: an overview of materials and recommendations. *Compend Contin Educ Dent* 2016;37(9):630-7.
27. Oliveira SS, Pugach MK, Hilton JF, Watanabe LG, Marshall SJ, Marshall GW, Jr. The influence of the dentin smear layer on adhesion: a self-etching primer vs. a total-etch system. *Dent Mater* 2003;19(8):758-67.
28. Tagami J, Tao L, Pashley DH, Hosoda H, Sano H. Effects of high-speed cutting on dentin permeability and bonding. *Dent Mater* 1991;7(4):234-9.
29. ISO11405 Dentistry-Testing of adhesion to tooth structure. 2015.
30. Sturz CR, Faber FJ, Scheer M, Rothamel D, Neugebauer J. Effects of various chair-side surface treatment methods on dental restorative materials with respect to contact angles and surface roughness. *Dent Mater J* 2015;34(6):796-813.
31. Stawarczyk B, Liebermann A, Eichberger M, Guth JF. Evaluation of mechanical and optical behavior of current esthetic dental restorative CAD/CAM composites. *J Mech Behav Biomed Mater* 2015;55:1-11.
32. Armstrong S, Breschi L, Özcan M, Pfeifferkorn F, Ferrari M, Van Meerbeek B. Academy of Dental Materials guidance on *in vitro* testing of dental composite bonding effectiveness to dentin/enamel using micro-tensile bond strength. *Dent Mater* 2017;33:133-43.
33. Lawson NC, Bansal R, Burgess JO. Wear, strength, modulus and hardness of CAD/CAM restorative materials. *Dent Mater* 2016;32(11):e275-e83.
34. Mainjot AK, Dupont NM, Oudkerk JC, Dewael TY, Sadoun MJ. From artisanal to CAD-CAM blocks: state of the art of indirect composites. *J Dent Res* 2016;95(5):487-95.
35. Lauvahutanon S, Takahashi H, Shiozawa M, Iwasaki N, Asakawa Y, Oki M, et al. Mechanical properties of composite resin blocks for CAD/CAM. *Dent Mater J* 2014;33(5):705-10.
36. Filho AM, Vieira LC AE, Monteiro Júnior S. Effect of different ceramic surface treatments on resin microtensile bond strength. *J Prosthodont* 2004;13(1):28-35.
37. Tsujimoto A, Barkmeier WW, Takamizawa T. Influence of

thermal cycling on flexural properties and simulated wear of computer-aided design/ computer-aided manufacturing resin composites. *Oper Dent* 2017;42(1):101-10.

38. Campos F, Almeida CS, Rippe MP, de Melo RM, Valandro LF, Bottino MA. Resin bonding to a hybrid ceramic: effects of surface treatments and aging. *Oper Dent* 2016;41(2):171-8.

39. Garboza CS, Berger SB, Guiraldo RD, Piovezan AP, Gonini A, Moura SK, *et al.* Influence of surface treatments and adhesive systems on lithium disilicate microshear bond strength. *Braz Dent J* 2016;27(4):458-62.

40. Ramakrishnaiah R, Alkhwraif AA, Divakar DD, Matinlinna JP, Vallittu PK. The effect of hydrofluoric acid etching duration on the surface micromorphology, roughness, and wettability of dental ceramics. *Int J Mol Sci* 2016;17(6).pii: E822.

41. Gungor MB, Nemli SK, Bal BT, Unver S, Dogan A. Effect of surface treatments on shear bond strength of resin composite bonded to CAD/CAM resin-ceramic hybrid materials. *J Adv Prosthodont* 2016;8(4):259-66.

42. Okada R, Asakura M, Ando A, Kumano H, Ban S, Kawai T, *et al.* Fracture strength testing of crowns made of CAD/CAM composite resins. *J prosth res* 2018;62(3):287-92.

43. Habib E, Wang R, Wang Y, Zhu M, Zhu X. Inorganic fillers for dental resin composites: present and future. *ACS Biomaterial* 2016;2:1-11.

44. Habib E, Wang R, Zhu X. Monodisperse silica-filled composite restoratives mechanical and light transmission properties. *Dent Mater* 2017;33(3):280-7.

45. Koizumi H, Saiki O, Nogawa H, Hliraba H, Okazaki T, Matsumura H. Surface roughness and gloss of current CAD/CAM resin composites before and after toothbrush abrasion. *Dent Mater J* 2015;34(6):881-7.

46. Yoshihara K, Nagaoka N, Maruo Y, Nishigawa G, Irie M, Yoshida Y,

et al. Sandblasting may damage the surface of composite CAD–CAM blocks. *Dent Mater* 2017;33(3):124-35.

47. Chen L, Suh BI, Brown D, Chen X. Bonding of primed zirconia ceramics: evidence of chemical bonding and improved bond strengths. *Am J Dent* 2012;25(2):103-8.

48. Lee Y, Chae M, Kim KH, Kwon TY. Effect of dental silane primer activation time on resin–ceramic bonding. *J adhes sci technol* 2015;29(11):1155-67.

49. de Carvalho RF, Martins ME, de Queiroz JR, Leite FP, Ozcan M. Influence of silane heat treatment on bond strength of resin cement to a feldspathic ceramic. *Dent Mater J* 2011;30(3):392-7.

50. Munoz MA, Luque-Martinez I, Malaquias P, Hass V, Reis A, Campanha NH, *et al.* *In vitro* longevity of bonding properties of universal adhesives to dentin. *Oper Dent* 2015;40(3):282-92.

51. Munoz MA, Luque I, Hass V, Reis A, Loguercio AD, Bombarda N. Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. *J Dent* 2013;41(5):404-11.

52. Tsujimoto A, Barkmeier WW, Takamizawa T, Wilwerding TM, Latta MA, Miyazaki M. Interfacial characteristics and bond durability of universal adhesive to various substrates. *Oper Dent* 2017;42(2):E59-E70.

53. Tanoue N, Koishi Y, Atsuta M, Matsumura H. Properties of dual-curable luting composites polymerized with single and dual curing modes. *J Oral Rehabil* 2003;30(10):1015-21.

54. Nakajima M, Arimoto A, Prasansuttiorn T, Thanatvarakorn O, Foxton RM, Tagami J. Light transmission characteristics of dentine and resin composites with different thickness. *J Dent* 2012;40 Suppl 2:e77-82.

55. Harald O, Edward J, V. A. Sturdevant's art and science of operative dentistry. 6, editor. St.Louis: ELSEVIER; 2013.

แบบทดสอบบทความวิชาการการศึกษาต่อเนื่อง
วิทยาสารทันตแพทยศาสตร์ ปีที่ 70 ฉบับที่ 2 เดือน เมษายน - มิถุนายน 2563

CONTINUING EDUCATION QUIZ

Masticatory Muscle Responses to Mandibular Forward Positioning Appliances

Napat Nalamliang¹, Udom Thongudomporn¹

¹Orthodontic Section, Department of Preventive Dentistry, Faculty of Dentistry, Prince of Songkla University, Songkhla, Thailand

1. เครื่องมือใด ใช้ในการวัดการทำงานของกล้ามเนื้อบดเคี้ยว
 - ก. Electrocardiogram (ECG)
 - ข. Electromyography (EMG)
 - ค. Electroencephalogram (EEG)
 - ง. Electrogastrogram (EGG)
2. ข้อใดถูกต้องเกี่ยวกับเครื่องมือ mandibular forward positioning appliances
 - ก. ช่วยกระตุ้นการเคี้ยวเครื่องมือในปาก ทำให้มีประสิทธิภาพในการเคี้ยวดีขึ้น
 - ข. กระตุ้นการสร้างกระดูกรอบรากฟันหลังล่าง ทำให้ฟันหลังล่างเคลื่อนที่มาทางด้านหน้ามากขึ้น
 - ค. ทำให้กล้ามเนื้อและเนื้อเยื่อโดยรอบขากรรไกรล่างโดนยืด และไปกระตุ้นการสร้างกระดูกขากรรไกรล่าง
 - ง. ไม่มีความเกี่ยวข้องกับกล้ามเนื้อบดเคี้ยวและการเจริญของขากรรไกร
3. กล้ามเนื้อใด ไม่ได้ถูกกล่าวถึงในการศึกษาก่อนหน้านี้เกี่ยวกับการตอบสนองของกล้ามเนื้อ ต่อเครื่องมือ mandibular forward positioning appliances
 - ก. Trapezius muscle
 - ข. Supra-hyoid muscle
 - ค. Masseter muscle
 - ง. Orbicularis oris muscle
4. ข้อใดกล่าวถูกต้อง
 - ก. การศึกษาก่อนหน้านี้ทำการวัดกล้ามเนื้อในลิงเท่านั้น เนื่องจากมีปัญหาในแง่ของจริยธรรมในมนุษย์
 - ข. กล้ามเนื้อ Lateral pterygoid ถูกศึกษามาอย่างแพร่หลายด้วย surface electromyography
 - ค. Raw signal ของ electromyography เป็นมาตรฐานในการเปรียบเทียบการทำงานของกล้ามเนื้อระหว่างบุคคล
 - ง. การศึกษาการทำงานของกล้ามเนื้อ มีทั้งการวัดระหว่างพัก (rest) และวัดขณะกัดแน่น (contraction)
5. จาก review นี้ การทำงานของกล้ามเนื้อบดเคี้ยวจะเกิดการปรับตัวสู่สภาพเดิมเมื่อใส่เครื่องมือไปนานเท่าใด
 - ก. 3-5 วัน
 - ข. 1-2 สัปดาห์
 - ค. 3-6 สัปดาห์
 - ง. 2-6 เดือน

กรุณา ลงทะเบียนหรือ Login ใน www.cdec.or.th เพื่อตอบคำถามและรับคะแนน 3 หน่วยกิจกรรม
<http://descdec.cda.or.th/CDECEXam/ExamAns?EXAMKEY=94484>