

ผลของสารสกัดจากเมล็ดองุ่นต่อความคงทนของแรงยึดติด ของเนื้อฟันที่ถูกปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ Effect of Grape Seed Extract on Bond Durability to Sodium Hypochlorite-treated Dentin

ภวดี โลเกสเสถียร¹, สิทธิกร คุณวโรตม์², สุธนา จิตติเดชารักษ์²

¹ทันตแพทย์ปฏิบัติการ วิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดขอนแก่น

²ภาควิชาทันตกรรมบูรณะและปริทันตวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Pawat Logessathien¹, Sitthikorn Kunawarote², Sumana Jittidecharaks²

¹Dentist at Sirindhorn College of Public Health, Khon Kaen

²Department of Restorative Dentistry and Periodontology, Faculty of Dentistry, Chiang Mai University

ชม. ทันตสาร 2559; 37(2) : 49-60

CM Dent J 2016; 37(2) : 49-60

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลของสารละลายโปรแอนโธไซยานินจากสารสกัดจากเมล็ดองุ่นต่อค่าความคงทนของแรงยึดติดระหว่างเรซินคอมโพสิตกับเนื้อฟันที่ถูกปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์เมื่อผ่านการจำลองระยะเวลาด้วยวิธีการเทอร์โมไซคลิง

วิธีการวิจัย ใช้ฟันกรามแท้ 48 ซี่ ตัดฟันด้านบดเคี้ยวได้ต่อรอยต่อเนื้อฟันเคลือบฟัน 1 มม. สุ่มแบ่งเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ล้างผิวเนื้อฟันด้วยน้ำกลั่น 10 วินาที กลุ่มที่ 2 ปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5.25 เป็นเวลา 30 วินาที กลุ่มที่ 3 และ 4 ปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5.25 เป็นเวลา 30 วินาที แล้วหาสารละลายโปรแอนโธไซยานินความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 15 เป็นเวลา 15 วินาทีตามลำดับ หลังจากนั้นฟันทั้งหมดจะถูกล้างน้ำและเป่าลม ทำการยึดติดด้วยสารยึดติดระบบเซลฟ์เอทซ์ เคลียร์ฟิลเอสอีบอนด์ตามคำแนะนำของบริษัท อุดด้วยเรซินคอมโพสิตเคลียร์ฟิลเอพีเอ็กซ์ นำฟัน

Abstract

Objective: To evaluate the effect of proanthocyanidin solution, which was extracted from grape seed, on microtensile bond strength and bond durability to sodium hypochlorite-treated dentin.

Methods: 48 human permanent molars were used in this study. A flat dentin surface was prepared by slicing horizontally parallel to the occlusal surface at 1 mm below the lowest level of the dentino-enamel junction. The specimens were divided into four groups. Group 1, the dentin surface was rinsed with normal saline. Group 2, the dentin surface was treated with 5.25% sodium hypochlorite for 30 seconds. Groups 3 and 4, the dentin surface was treated with 5.25% sodium hypochlorite for 30 seconds, followed by 10% or 15% proanthocyanidin solution for 15 seconds, subse-

Corresponding Author:

สิทธิกร คุณวโรตม์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทันตแพทย์ ดร., ภาควิชาทันตกรรมบูรณะ
และปริทันตวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Sitthikorn Kunawarote

Assistant Professor Dr., Department of Restorative Dentistry and
Periodontology, Faculty of Dentistry, Chiang Mai University
E-mail: korn_ope@hotmail.com

ที่อุดแล้วในแต่ละกลุ่มไปเก็บในน้ำกลั่นอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเตรียมชิ้นงานเป็นรูปนาฬิกาทรายมีพื้นที่หน้าตัดในการยึดติดประมาณ 1 ตารางมิลลิเมตร แบ่งการทดสอบแต่ละกลุ่มออกเป็น 3 กลุ่มย่อยตามระยะเวลาคือ กลุ่มที่ 1 ทำการทดสอบทันทีหลังเตรียมชิ้นงานเสร็จ กลุ่มที่ 2 และ 3 จำลองระยะเวลาโดยการใช้วิธีการเทอร์โมไซคลิง 2,500 และ 5,000 รอบตามลำดับ เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดนำชิ้นงานไปทดสอบความแข็งแรงยึดติดแบบดึงระดับจุลภาค ที่ความเร็วหัวกด 1 มม./นาที่ นำค่าที่ได้ไปทดสอบทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียวและเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วยการเปรียบเทียบเชิงซ้อนชนิดแทมเฮนีย์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการศึกษา ค่าเฉลี่ยความแข็งแรงยึดติดแบบดึงระดับจุลภาคระหว่างเรซินคอมโพสิตและเนื้อฟัน ภายหลังจากเก็บชิ้นงานในน้ำกลั่น 24 ชั่วโมงและการจำลองระยะเวลาด้วยเทอร์โมไซคลิง 2,500 รอบ กลุ่มที่ได้รับการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์มีค่าต่ำกว่ากลุ่มการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญ กลุ่มที่ได้รับการปรับปรุงผิวเนื้อฟันด้วยสารละลายโปรแอนโธไซยานินความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 15 ให้ค่าเฉลี่ยความแข็งแรงยึดติดไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่ผ่านการเตรียมผิวเนื้อฟันด้วยสารใดๆ อย่างไรก็ตามเมื่อจำลองระยะเวลาด้วยเทอร์โมไซคลิง 5,000 รอบ ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในทุกกลุ่มทดลอง

สรุปผลการศึกษา การใช้สารละลายโปรแอนโธไซยานินความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 15 เป็นระยะเวลา 15 วินาทีบนเนื้อฟันที่ได้รับการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์สามารถปรับปรุงความแข็งแรงยึดติดแบบดึงระดับจุลภาคภายหลังจากการยึดติด 24 ชั่วโมง และค่าความคงทนของแรงยึดติดหลังจากการจำลองระยะเวลาด้วยเทอร์โมไซคลิงจำนวน 2,500 รอบ

คำสำคัญ: โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความแข็งแรงยึดติดแบบดึงระดับจุลภาค โปรแอนโธไซยานิน ความคงทนของแรงยึดติด

quently. All dentin specimens were rinsed with water and gently air dried, then were bonded with self-etch adhesive (Clearfill™ SE bond) following the manufacturer's instructions and resin composite (Clearfil™ AP-X Esthetics) were built up. After 24 hours water storage, all specimens were cut into hour-glass shape, which had a bonded surface area of 1 mm² approximately. Each group of specimens was divided into three subgroups by storage time; subgroup 1: microtensile bond strength was tested immediately; subgroups 2 and 3 were subjected to 2,500 and 5,000 cycles of thermocycling respectively. The microtensile bond strength of all bonded specimens was measured at a cross-head speed of 1 mm/min. All bond strength data were statistically analyzed using one-way ANOVA and Tamhane's multiple comparison ($p < 0.05$)

Result: Considering the 24 hours water storage and 2,500 cycles of thermocycling subgroups, the mean value of microtensile bond strength in the groups treated only with sodium hypochlorite were significantly lower than those in all other groups. There were no significant difference between the groups treated with 10% and 15% proanthocyanidin solution and non-treated groups. However, after 5,000 cycles of thermocycling, there was no significant difference in the bond strength between all the treatment groups.

Conclusion: Using of 10% and 15% proanthocyanidin solution for 15 seconds on sodium hypochlorite-treated dentin could improve microtensile bond strength of self-etch adhesive after 24 hours storage time and bond durability after aging by thermocycling for 2,500 cycles.

Keywords: sodium hypochlorite, microtensile, bond strength, proanthocyanidin, bond durability

บทนำ

โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite) เป็นสารละลายที่นิยมใช้ในการทำความสะอาด ซึ่งมีฤทธิ์ต้านจุลชีพ^(1,2) และมีคุณสมบัติเป็นสารที่สามารถสลายโปรตีนได้ (deproteinizing agent)^(3,4) จึงถูกนำมาใช้ในการรักษาทางทันตกรรมอย่างแพร่หลาย เช่น เป็นน้ำยาล้างคลองรากฟันในงานรักษารากฟัน หรือเป็นส่วนประกอบของสารที่ใช้ในการกำจัดรอยโรคฟันผุด้วยวิธีเคมีร่วมกับเชิงกล (chemomechanical caries removal)⁽⁵⁾ นอกจากนี้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการเตรียมเนื้อฟันที่ได้รับผลกระทบจากรอยผุ (caries-affected dentin) ก่อนกระบวนการยึดติดกับเรซินคอมโพสิต (resin composite) โดยใช้สารยึดติดระบบเซลฟ์เอทช์ (self-etch adhesive system)⁽⁶⁾ ด้วยคุณสมบัติของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่สามารถสลายสารประกอบอินทรีย์ได้ ทำให้เกิดการละลายองค์ประกอบอินทรีย์ในชั้นสเมียร์ (smear layer) ส่งผลในการลดความหนาของชั้นสเมียร์ซึ่งเป็นผลดีต่อการยึดติด อย่างไรก็ตามโซเดียมไฮโปคลอไรท์มีคุณสมบัติเป็นสารออกซิไดซ์ (oxidizing agent) ที่รุนแรง โดยแตกตัวและทิ้งสิ่งตกค้างเป็นอนุมูลอิสระ (free-radicals) ไว้ในเนื้อฟัน ซึ่งไปขัดขวางปฏิกิริยาโพลิเมอไรเซชัน (polymerization) ของเรซินโมโนเมอร์ (resin monomer)⁽⁷⁾ สอดคล้องกับหลายการศึกษาที่พบว่า โซเดียมไฮโปคลอไรท์มีผลลดค่าความแข็งแรงยึดติด (bond strength) ของเรซินคอมโพสิตกับเนื้อฟัน⁽⁸⁻¹⁰⁾ จึงมีการทดลองนำสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) มาใช้ปรับสภาพเนื้อฟันที่สัมผัสโซเดียมไฮโปคลอไรท์ เพื่อลดทอนผลของอนุมูลอิสระที่ตกค้างและปรับปรุงคุณสมบัติของเนื้อฟันให้เหมาะสมต่อการยึดติดของเรซินคอมโพสิต

สารประกอบโปรแอนโทไซยานิดิน (proanthocyanidin: PA) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งสกัดได้จากผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติหลายชนิดและพบมากในเมล็ดองุ่น⁽¹¹⁾ มีรายงานการนำสารละลายโปรแอนโทไซยานิดินมาใช้ในการทันตกรรมพบว่า การล้างเนื้อฟันด้วยสารละลายโปรแอนโทไซยานิดินความเข้มข้นร้อยละ 5 เป็นเวลา 10 นาที หลังการปนเปื้อนโซเดียมไฮโปคลอไรท์ สามารถเพิ่มความแข็งแรงยึดติดของเรซินซีเมนต์ (resin cement) ต่อเนื้อฟันที่ลดลงให้กลับมาได้⁽¹²⁾ อีกทั้งสารละลายโปรแอนโทไซยานิดินยังมีคุณสมบัติในการคงสภาพเส้นใยคอลลาเจน (collagen fiber) ซึ่งเป็น

องค์ประกอบของเนื้อฟัน โดยทำหน้าที่เป็นตัวประสานเส้นใยคอลลาเจน (cross-linker) ซึ่งช่วยเพิ่มความแข็งแรงยึดติดของเรซินคอมโพสิตกับเนื้อฟัน⁽¹³⁾ เพิ่มความคงทนต่อการยึดติด (bond durability) ของเรซินคอมโพสิตกับเนื้อฟันในระยะยาวได้^(14,15) แต่จากการศึกษาดังกล่าวข้างต้นพบว่าการใช้สารละลายโปรแอนโทไซยานิดินในการปรับปรุงเนื้อฟันก่อนการอุดด้วยเรซินคอมโพสิตนั้นใช้ระยะเวลาในการสัมผัสของสารละลายโปรแอนโทไซยานิดินกับเนื้อฟันค่อนข้างนานและไม่เหมาะสมที่จะนำมาปฏิบัติได้จริงทางคลินิก นอกจากนี้การศึกษเกี่ยวกับผลการใช้สารละลายโปรแอนโทไซยานิดินต่อการยึดติดในระยะยาวนั้นยังมีไม่มากนัก

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของโปรแอนโทไซยานิดินในสารละลายสารสกัดจากเมล็ดองุ่นต่อค่าความแข็งแรงยึดติดแบบดึงระดับจุลภาคและความคงทนของแรงยึดติดของเนื้อฟันที่ถูกปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์เมื่อผ่านการจำลองระยะเวลาด้วยวิธีการเทอร์โมไซคลิง (thermocycling) โดยมีสมมุติฐานคือ 1. ค่าความแข็งแรงยึดติดแบบดึงระดับจุลภาค (microtensile bond strength) ระหว่างเรซินคอมโพสิตและเนื้อฟันของกลุ่มเนื้อฟันปกติ เนื้อฟันที่ได้รับการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์และเนื้อฟันที่ได้รับการปรับปรุงด้วยสารละลายโปรแอนโทไซยานิดินที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 หรือ 15 ไม่มีความแตกต่างกันหลังจากทำการยึดติด 24 ชั่วโมง และ 2. ค่าความแข็งแรงยึดติดแบบดึงระดับจุลภาคระหว่างเรซินคอมโพสิตและเนื้อฟันของกลุ่มเนื้อฟันปกติ เนื้อฟันที่ได้รับการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์และเนื้อฟันที่ได้รับการปรับปรุงด้วยสารละลายโปรแอนโทไซยานิดินความเข้มข้นร้อยละ 10 หรือ 15 หลังจากผ่านการจำลองระยะเวลาของชิ้นงานโดยวิธีเทอร์โมไซคลิง 2,500 และ 5,000 รอบ ไม่มีความแตกต่างกัน

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดลอง

สารละลายโปรแอนโทไซยานิดินความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 15 เตรียมได้จากสารสกัดจากเมล็ดองุ่นเมกา-เนเชอรัล-โกลด์ชนิดผง (Grape seed extract (*Vitis vinifera*), Mega-Natural® gold; Madera, CA, USA) ซึ่งมีโปรแอนโทไซยานิดินร้อยละ 90 โดยใช้ผงสารสกัดปริมาณ 240 และ 360 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร แล้วกรอง

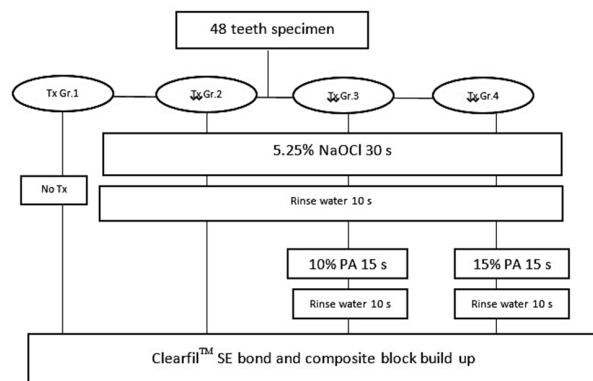
ส่วนที่ไม่ละลายน้ำออก และใช้สารละลายภายในระยะเวลาไม่เกิน 1 ชั่วโมง

สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5.25 โดยมีมวลต่อปริมาตร เตรียมโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยมีมวลต่อปริมาตร ปริมาณ 52.5 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่น 47.5 มิลลิลิตร

การเตรียมตัวอย่างฟัน

ใช้ฟันกรามแท้ที่ไม่มีรอยผุและไม่มีการบูรณะใดๆ จำนวน 48 ซี่ ได้รับเอกสารรับรองโครงการศึกษาวิจัยในมนุษย์ โดยคณะกรรมการพิษภัยผลิตภัณฑ์สุขภาพและป้องกันอันตรายของผู้บริโภค คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เลขที่ 28/2557 เก็บฟันในสารละลายไทมอล (thymol) ความเข้มข้นร้อยละ 0.01 ที่อุณหภูมิห้อง และทดลองหลังจากถอนฟันไม่เกิน 3 เดือน นำฟันมาทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่นเพื่อกำจัดเนื้อเยื่อแล้วเก็บในน้ำกลั่นก่อนการทดลอง 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง นำฟันมายึดกับฐานอีพ็อกซีเรซิน (epoxy resin) ให้แนวแกนฟันตั้งฉากกับพื้น โดยยึดส่วนของรากฟันต่ำกว่าคอฟัน 5 มิลลิเมตร ตัดฟันด้วยเครื่องใบมีดตัดความเร็วต่ำ (Isomet 1000 precision saw, Buehler Jebsen & Jessen Marketing, USA) ในแนวใกล้กลาง-ใกล้กลางขนานกับแนวแกนฟันห่างจากร่องกลางฟันมาด้านแก้มและด้านหลัง 3 มิลลิเมตร ตัดฟันด้านบดเคี้ยวตรงบริเวณใต้ต่อรอยต่อระหว่างเคลือบฟันและเนื้อฟัน (dentinoenamel junction) 1 มิลลิเมตรโดยแนวการตัดตั้งฉากกับแนวแกนฟัน นำผิวเนื้อฟันด้านบดเคี้ยวที่ได้ไปขัดด้วยกระดาษทรายน้ำ (silicon carbide abrasive paper) ความละเอียด 600 กริต (grit) ด้วยเครื่องขัดชิ้นงาน (Grinding/ Polishing Machine; MOPAO 160E, MEGA Advance Co. Ltd., China) โดยขัดผ่านน้ำเป็นเวลา 30 วินาที เพื่อให้เกิดชั้นสเมียร์ สุ่มแบ่งฟันเป็น 4 กลุ่มหลักตามการวิธีการปรับสภาพเนื้อฟันดังต่อไปนี้ (รูปที่ 1) **กลุ่มที่ 1 :** ล้างผิวเนื้อฟันด้วยน้ำกลั่น 10 วินาที เป็นกลุ่มควบคุม **กลุ่มที่ 2 :** ล้างผิวเนื้อฟันด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5.25 เป็นเวลา 30 วินาที ล้างน้ำ 10 วินาที **กลุ่มที่ 3 :** ล้างผิวเนื้อฟันด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5.25 เป็นเวลา 30 วินาที ล้างน้ำ 10 วินาที ทาสารละลายโปรแอนโธไซยานินความเข้มข้นร้อยละ 10 เป็นเวลา 15 วินาที ล้างน้ำ 10 วินาที **กลุ่ม**

ที่ 4 : ล้างผิวเนื้อฟันด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5.25 เป็นเวลา 30 วินาที ล้างน้ำ 10 วินาที ทาสารละลายโปรแอนโธไซยานินความเข้มข้นร้อยละ 15 เป็นเวลา 15 วินาที ล้างน้ำ 10 วินาที



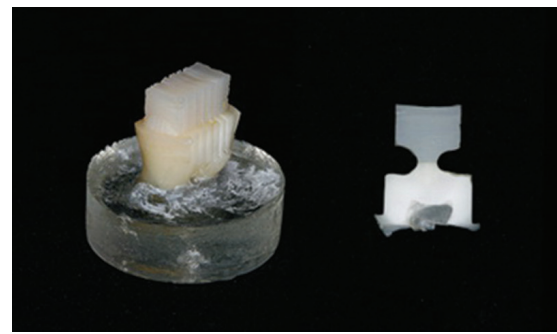
รูปที่ 1 แผนภูมิสรุปการปรับสภาพเนื้อฟันทั้ง 4 กลุ่ม

Figure 1 Diagram shows dentin surface treatment in all groups

การอุดเรซินคอมโพสิตบนเนื้อฟัน

นำตัวอย่างฟันที่เตรียมผิวฟันเรียบร้อยแล้วกลุ่มละ 12 ซี่ ทาสารยึดติดระบบเซลล์เพชเชอร์แบบสองขั้นตอน (2-step self etch adhesive system) เคลียร์ฟิลเอสอีบอนด์ (Clearfil™ SE bond; Kuraray Noritake Dental Inc, Japan) ตามคำแนะนำของบริษัท ดังแสดงในตารางที่ 1 แล้วจึงอุดด้วยเรซินคอมโพสิตเคลียร์ฟิลเอพีเอ็กซ์ เอสเทติกส์ (Clearfil™ AP-X Esthetics, Kuraray Noritake Dental Inc, Japan) สี A2 อุดเป็นชั้นละไม่เกิน 2 มิลลิเมตร ฉายแสงด้วยเครื่องฉายแสงบลูเฟส (Bluephase® LE curing light, Ivoclar Vivadent, Liechtenstein) ชั้นละ 20 วินาที จนมีความหนา รวมประมาณ 5 มิลลิเมตร เก็บตัวอย่างอย่างทั้งหมดในน้ำกลั่น อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้น นำตัวอย่างมาตัดในแนวด้านแก้ม-ด้านหลัง ขนานกับแนวแกนฟัน ด้วยเครื่องใบมีดตัดความเร็วต่ำ โดยให้ชิ้นงานมีความหนา ประมาณ 0.7 มิลลิเมตร จะได้ชิ้นงาน 36 ชิ้นต่อกลุ่มการเตรียมผิวเนื้อฟัน แล้วตัดแต่งชิ้นงานโดยใช้หัวกรอจากเพชรชนิดละเอียด รูปทรงกระบอก (Intensiv SA, Switzerland) กรอบบริเวณรอยต่อระหว่างเรซินคอมโพสิตกับฟันด้วยด้ามกรอความเร็วสูงร่วมกับน้ำ ได้ชิ้นงานรูปนาฬิกาทรายที่มีความกว้างในตำแหน่งรอยต่อระหว่างเนื้อฟันและเรซินคอมโพสิต

ประมาณ 1.5 มิลลิเมตร ซึ่งทำให้มีพื้นที่หน้าตัดในการยึดติดประมาณ 1 ตารางมิลลิเมตร ดังรูปที่ 2 แบ่งชิ้นงานกลุ่มการเตรียมผิวเนื้อฟันออกเป็น 3 กลุ่มย่อย กลุ่มละ 12 ชิ้นตามระยะเวลา กลุ่มที่ 1 คือทดสอบทันทีหลังจากการเตรียมชิ้นงานเสร็จ กลุ่มที่ 2 และ 3 ผ่านการจำลองระยะเวลาโดยใช้วิธีการเทอร์โมไซคลิง 2,500 รอบ และ 5,000 รอบตามลำดับโดยนำชิ้นงานที่ผ่านการตัดเป็นรูปนาฬิกาทรายใส่ในกล่องทดลองที่มีช่องที่มีความกว้าง 2 มิลลิเมตร ความยาว 13 มิลลิเมตรเพื่อนำเข้าเครื่องเทอร์โมไซคลิง โดยระยะเวลาการแช่ชิ้นงานในน้ำร้อนและน้ำเย็นเท่ากับ 30 วินาที



รูปที่ 2 แสดงการเตรียมตัวอย่างชิ้นงานรูปนาฬิกาทราย

Figure 2 Hour-glass specimens preparation

การทดสอบความแข็งแรงยึดติดแบบดึงระดับจุลภาค

ยึดชิ้นงานแต่ละกลุ่มลงบนแท่นทดสอบความแข็งแรงยึดติดแบบดึงระดับจุลภาคด้วยกาวไขยาโนอะครีเลตโมเดลรีแพร์ทูบลู (Model repair II blue; Dentsply, USA) ทำการทดสอบความแข็งแรงยึดติดแบบดึงระดับจุลภาค ด้วยเครื่องทดสอบวัสดุเอนกประสงค์ (Universal Testing Machine (UTM); Instron 5566, Instron (Thailand) Limited, Thailand) น้ำหนักหัวกดที่ใช้เท่ากับ 100 นิวตัน ที่ความเร็วหัวกด 1 มม./นาที หลังจากขึ้นเรซินคอมโพสิตหลุดจาก

เนื้อฟัน วัดพื้นที่หน้าตัดในการยึดติดด้วยเครื่องวัดดิจิตอล (Digital vernier caliper, Keiba, Japan) บันทึกพื้นที่หน้าตัดในการยึดติดของชิ้นงานแต่ละชิ้น โดยใช้เฉพาะชิ้นงานที่มีพื้นที่หน้าตัด 1.0 ± 0.3 ตารางมิลลิเมตร นำค่าแรงที่ทำให้ขึ้นเรซินคอมโพสิตหลุดออกจากเนื้อฟันมีหน่วยเป็นนิวตันหารด้วยพื้นที่หน้าตัดของการยึดติด เพื่อหาค่าความแข็งแรงยึดติดแบบดึงระดับจุลภาคเป็นหน่วยเมกะกาสปาล (megapascal, newton/mm², MPa)

ตารางที่ 1 แสดงส่วนประกอบ และวิธีใช้งานของผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ

Table 1 Compositions and Instructions of adhesive and restorative material

Materials	Batch No.	Compositions	Procedures
Clearfil™ SE bond (Kuraray Noritake Dental Inc., Japan)	081192	Primer: MDP, HEMA, hydrophilic dimethacrylate, DL-Camphorquinone, N,N-Diethanol-p-toluidine, water Bonding agent: MDP, Bis-GMA, HEMA, hydrophobic dimethacrylate, DL-Camphorquinone, N,N-Diethanol-p-toluidine, Silanated colloidal silica	Apply primer for 20 s; gently air dry; Apply bonding agent; light cure for 10 s
Clearfil™ AP-X Esthetics (Kuraray Noritake Dental Inc., Japan)	1202EA	Resin: Bis-GMA, TEGMA, DL-Camphorquinone, photoinitiators, accelerators, pigments Filler: silanated barium glass, silanated silica, silanated colloidal silica	Depth of cure (shade A2) 2.0 mm; light curing time (LED) 20 s
Abbreviations: MDP: 10-methacryloyloxydecyl dihydrogenphosphate; HEMA: 2-hydroxyethyl methacrylate; Bis-GMA: bisphenol A diglycidyl methacrylate; TEGDMA: triethyleneglycol dimethacrylate.			

การวิเคราะห์ลักษณะความล้มเหลวบริเวณรอยแตก (failure mode)

เมื่อผ่านการทดสอบค่าความแข็งแรงการยึดแบบดึงแล้ว ชิ้นงานจะผ่านกระบวนการปราศจากน้ำ (serial de-hydration) โดยใช้หลักการเดียวกันกับการศึกษาของ Montes และคณะ⁽¹⁶⁾ หลังจากนั้นนำชิ้นงานไปเคลือบทองด้วยเครื่องเคลือบทอง (Gold sputtering unit, JFC-1100E, JOEL Ltd., Japan) แล้วจึงตรวจสอบบริเวณรอยแตกด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM, JSM-6610LV SEM, JOEL Ltd., Japan) เพื่อศึกษาและบันทึกชนิดของความล้มเหลว โดยแบ่งชนิดของความล้มเหลวเป็น 4 ชนิด ดังนี้ 1.ความล้มเหลวระหว่างชั้นสารยึดติด (Adhesive failure) คือ การแตกทั้งหมดอยู่ระหว่างชั้นเรซินคอมโพสิตกับเนื้อฟัน หรือภายในเนื้อสารยึดติด 2.ความล้มเหลวในเนื้อฟัน (Cohesive failure in dentin) คือ การแตกทั้งหมดอยู่ภายในเนื้อฟัน 3.ความล้มเหลวในเนื้อเรซิน (Cohesive failure in resin) คือ การแตกทั้งหมดอยู่ภายในเนื้อเรซินคอมโพสิต 4.ความล้มเหลวแบบผสม (Mixed failure) คือ มีการแตกระหว่างชั้นเรซินคอมโพสิตกับเนื้อฟัน หรือภายในเนื้อสารยึดติด ร่วมกับการแตกภายในเนื้อฟัน หรือในเนื้อเรซินคอมโพสิต

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำผลการทดลองที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) เพื่อเปรียบเทียบค่าแรงยึดแบบดึงระดับจุลภาค ระหว่างการปรับปรุงด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์กับชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระในระยะเวลาต่างๆ ว่าจะมีความแตกต่างกันหรือไม่และเปรียบเทียบค่าแรงเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มด้วยการเปรียบเทียบเชิงซ้อนชนิดแทมเฮนีย์ (Tamhane) นำผลลัพธ์ของความล้มเหลวแต่ละชนิด มาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยการทดสอบไคสแควร์ (Chi-square) โดยใช้โปรแกรม SPSS V17.0 (SPSS Inc., USA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการศึกษา

ผลการทดสอบความแข็งแรงยึดติดแบบดึงระดับจุลภาค

ในการทดลองนี้สรุปค่าเฉลี่ย (mean) ความแข็งแรงยึดติดแบบดึงระดับจุลภาค และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ของแต่ละกลุ่มการทดลองได้แสดงในตารางที่ 2

เมื่อทำการเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยความแข็งแรงยึดติดแบบดึงระดับจุลภาคของแต่ละกลุ่มโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว และการเปรียบเทียบเชิงซ้อนชนิดแทมเฮนีย์พบว่า ค่าเฉลี่ยความแข็งแรงยึดติด

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานความแข็งแรงยึดติดแบบดึงระดับจุลภาค (MPa) ของกลุ่มการทดลองที่มีการเตรียมพื้นผิวต่างๆ กัน

Table 2 Mean values and standard deviations of microtensile bond strength

Dentin surface treatment	Duration		
	24 hr	Thermocycling (cycles)	
		2,500	5,000
No treatment	37.25 ^a ± 5.50 (1)	20.22 ^b ± 1.86 (5)	13.57 ^{c,d} ± 2.20 (9)
NaOCl	21.76 ^b ± 2.81 (2)	10.39 ^{c,d} ± 1.92 (6)	9.12 ^c ± 1.86 (10)
NaOCl + 10%PA	32.80 ^a ± 3.22 (3)	19.41 ^b ± 2.26 (7)	11.74 ^{d,c} ± 2.48 (11)
NaOCl + 15%PA	29.67 ^a ± 4.42 (4)	17.98 ^{b,c} ± 3.56 (8)	10.17 ^c ± 2.01 (12)

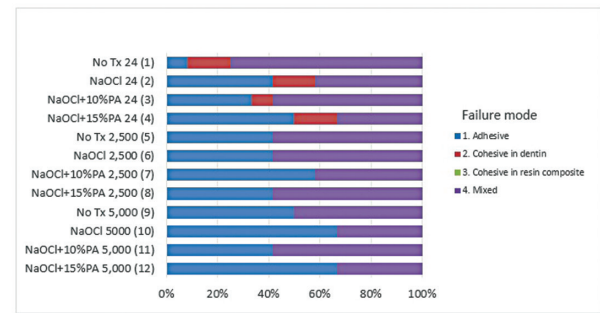
*หมายเหตุ - NaOCl คือ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ร้อยละ 5.25, PA คือ โปรแอนโธไซยานิน

- ตัวเลขที่ระบุภายในวงเล็บคือหมายเลขของกลุ่มการทดลอง
- ตัวอักษรยกที่แตกต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยความแข็งแรงยึดติดแบบดึงระดับจุลภาคแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

แบบดิงระดับจุลภาคของกลุ่มที่ทำการทดสอบทันทีหลังจากการเตรียมชิ้นงานเสร็จ พบว่ามีเพียงกลุ่มที่เนื้อฟันถูกปรับสภาพด้วยไฮโดรเจนไฮโปคลอไรท์ (กลุ่มที่ 2) เพียงกลุ่มเดียวที่ต่ำกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$) และเมื่อพิจารณาการจาลองระยะเวลาด้วยวิธีเทอร์โมไซคลิง พบว่าในกลุ่มการจาลองระยะเวลาด้วยเทอร์โมไซคลิงจำนวน 2,500 รอบ มีเพียงกลุ่มที่ผ่านการปรับสภาพด้วยไฮโดรเจนไฮโปคลอไรท์ (กลุ่มที่ 6) เพียงกลุ่มเดียวที่มีค่าเฉลี่ยความแข็งแรงยึดติดต่ำกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อพิจารณาการจาลองระยะเวลาด้วยเทอร์โมไซคลิงจำนวน 5,000 รอบ พบว่ากลุ่มที่ไม่ผ่านการเตรียมผิวเนื้อฟัน (กลุ่มที่ 9) มีค่าความแข็งแรงยึดติดแบบดิงระดับจุลภาคสูงกว่ากลุ่มที่เนื้อฟันถูกปรับสภาพด้วยไฮโดรเจนไฮโปคลอไรท์เพียงอย่างเดียว (กลุ่มที่ 10) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การปรับปรุงผิวเนื้อฟันด้วยสารละลายโปรแอนโธไซยานินร้อยละ 10 (กลุ่มที่ 11) ทำให้มีค่าความแข็งแรงยึดติดแบบดิงระดับจุลภาคไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ผ่านการเตรียมผิวเนื้อฟันอย่างใดก็ตามกลุ่มที่ปรับปรุงเนื้อฟันด้วยสารละลายโปรแอนโธไซยานินร้อยละ 10 และ 15 (กลุ่มที่ 11 และ 12 ตามลำดับ) มีค่าความแข็งแรงยึดติดแบบดิงระดับจุลภาคไม่แตกต่างจากกลุ่มที่เนื้อฟันถูกปรับสภาพด้วยไฮโดรเจนไฮโปคลอไรท์เพียงอย่างเดียว (กลุ่มที่ 10) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการวิเคราะห์ลักษณะความล้มเหลวบริเวณรอยแตก

จากการส่องดูชนิดของรอยความล้มเหลวของชิ้นงานจะได้จำนวนของชนิดของความล้มเหลวและร้อยละของแต่ละกลุ่มดังรูปที่ 3 พบว่าความล้มเหลวส่วนใหญ่จะเป็นความล้มเหลวแบบผสมร้อยละ 50 รองลงมาคือความล้มเหลวระหว่างชั้นสารยึดติดมีจำนวนร้อยละ 45.14 ความล้มเหลวในเนื้อฟันจะพบได้น้อยที่สุด (ร้อยละ 4.86) และไม่พบความล้มเหลวในเนื้อเรซินคอมโพสิตในการทดลองนี้ จากการวิเคราะห์เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทางสถิติโดยใช้โคสแควร์ พบว่าสัดส่วนชนิดของความล้มเหลวของการยึดติดแต่ละชนิด ไม่มีความสัมพันธ์กับวิธีการเตรียมพื้นผิวฟันในแต่ละกลุ่มการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)



*หมายเหตุ: NaOCl คือ ไฮโดรเจนไฮโปคลอไรท์ร้อยละ 5.25, PA คือ โปรแอนโธไซยานิน
- ตัวเลขที่ระบุภายในวงเล็บคือหมายเลขของกลุ่มการทดลอง

รูปที่ 3 กราฟแท่งแสดงร้อยละของความล้มเหลวแบบต่าง ๆ ในแต่ละกลุ่มการทดลอง

Figure 3 Percentages of failure mode

บทวิจารณ์

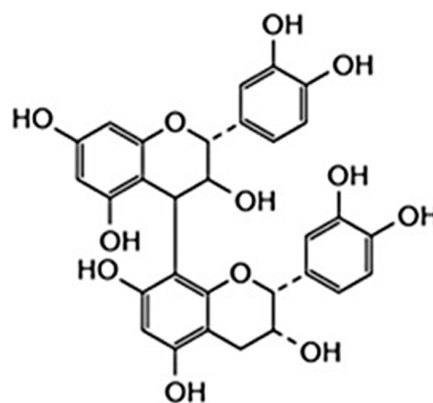
เมื่อพิจารณาจากสมมติฐานที่ตั้งไว้คือค่าความแข็งแรงยึดติดแบบดิงระดับจุลภาค ระหว่างเรซินคอมโพสิตกับเนื้อฟันที่ผ่านการปรับสภาพด้วยไฮโดรเจนไฮโปคลอไรท์แล้วปรับปรุงด้วยสารสกัดจากเมล็ดองุ่นของกลุ่มที่ทำการทดลองภายหลังจากการยึดติด 24 ชั่วโมง กลุ่มที่ผ่านการจาลองระยะเวลาของชิ้นงานโดยใช้วิธีการเทอร์โมไซคลิง 2,500 รอบ และ 5,000 รอบ ไม่แตกต่างจากกลุ่มเนื้อฟันที่ไม่ผ่านการปรับสภาพด้วยไฮโดรเจนไฮโปคลอไรท์ที่การจาลองระยะเวลาเดียวกัน พบว่าผลการทดลองมีความแตกต่างระหว่างกลุ่มอย่างน้อย 1 กลุ่ม ซึ่งทำให้ปฏิเสธสมมติฐานการทดลองที่ตั้งไว้

เป็นที่น่าสังเกตว่าในทุกๆ กลุ่มการทดลองเมื่อจำแนกตามการจาลองระยะเวลา พบว่ากลุ่มที่ปรับสภาพด้วยไฮโดรเจนไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5.25 เพียงอย่างเดียวก่อนการยึดติดเรซินคอมโพสิต จะมีค่าความแข็งแรงยึดติดแบบดิงระดับจุลภาคต่ำกว่ากลุ่มผิวฟันที่ไม่ได้รับการปรับสภาพด้วยไฮโดรเจนไฮโปคลอไรท์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับหลายการศึกษาที่พบว่า หากทำการปรับผิวเนื้อฟันด้วยไฮโดรเจนไฮโปคลอไรท์มากกว่าหรือเท่ากับ 15 วินาทีจะลดค่าความแข็งแรงยึดติดแบบดิงระดับจุลภาคระหว่างเนื้อฟันกับเรซินคอมโพสิต ไม่ว่าจะเป็นใช้สารยึดติดระบบเอทซ์แอนด์-รินส์^(7,9,17) หรือระบบเซลฟ์เอทซ์⁽¹⁸⁻²⁰⁾ เนื่องจากไฮโดรเจนไฮโปคลอไรท์นั้นจะมีปฏิกิริยาการแตกตัวเมื่อสัมผัสน้ำ เกิดเป็นอนุมูลอิสระที่มีคุณสมบัติเป็นตัวออกซิไดซ์ที่รุนแรง ทำให้เกิด

การขัดขวางการเกิดปฏิกิริยาในขั้นตอนของการกระตุ้นด้วยแสงของกระบวนการโพลิเมอไรเซชัน การขัดขวางนี้ทำให้ไม่เกิดการเชื่อมต่อของโพลิเมอร์ (propagation) ทำให้เกิดสายโพลิเมอร์ที่สั้นและไม่สมบูรณ์ มีผลทำให้ความแข็งแรงของชั้นยึดติดลดลง

ด้วยเหตุนี้ จึงมีการทดลองนำสารละลายโปรแอนโทไซยานินดินซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมาใช้เพื่อยับยั้งผลเสียของอนุมูลอิสระ โดยสารต้านอนุมูลอิสระจะให้อิเล็กตรอน (electron) กับสารอนุมูลอิสระ ทำให้สารอนุมูลอิสระเกิดความเสถียร ไม่ไปขัดขวางการเกิดโพลิเมอไรเซชันของเรซินคอมโพสิต จากการศึกษาของ Niparugs และคณะ⁽²¹⁾ รายงานถึงผลของการต้านอนุมูลอิสระที่หลงเหลืออยู่ในเนื้อฟันที่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร้อยละ 5.25 พบว่าการใช้สารละลายโปรแอนโทไซยานินดินความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 15 ปรับปรุงเนื้อฟันเป็นระยะเวลา 15 วินาทีให้ค่าความแข็งแรงยึดติดแบบดึงระดับจุลภาคไม่แตกต่างกับกลุ่มของเนื้อฟันที่ไม่ผ่านการเตรียมผิวเนื้อฟันภายหลังจากการยึดติด 24 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับผลของการศึกษานี้พบว่ากลุ่มที่ปรับปรุงผิวเนื้อฟันด้วยสารละลายโปรแอนโทไซยานินดินความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 15 สามารถปรับปรุงค่าความแข็งแรงยึดติดแบบดึงระดับจุลภาคได้ใกล้เคียงกับกลุ่มที่เป็นเนื้อฟันปกติ (ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ความเชื่อมั่นร้อยละ 95) โดยเฉพาะกลุ่มที่ผ่านการยึดติดมา 24 ชั่วโมง เนื่องมาจากคุณสมบัติของสารละลายโปรแอนโทไซยานินดินนั้นเป็นโพลิฟีนอลิกโพลิเมอร์ (polyphenolic polymer) ซึ่งเกิดจากการรวมตัวของฟลาโวนอลโมเลกุลเดี่ยว (monomer flavanol) ซึ่งมีโครงสร้างโมเลกุลเป็นวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) คู่ 1 วง และวงแหวนอะโรมาติกเดี่ยว 1 วง หมู่ไฮดรอกซิลในโมเลกุลของโปรแอนโทไซยานินดินมีความสามารถจับกับอนุมูลอิสระเป็นอย่างมาก โดยให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ ทำให้สารอนุมูลอิสระเกิดความเสถียร โดยส่วนใหญ่ฟลาโวนอลจะจับกันเป็นลักษณะเป็นโมเลกุลใหญ่ ดังรูปที่ 4 ทำให้มีตำแหน่งหมู่ไฮดรอกซิลในหนึ่งโมเลกุลมากขึ้นส่งผลให้มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระได้อย่างดี^(11,22)

นอกจากการที่อนุมูลอิสระของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปขัดขวางการเกิดโพลิเมอไรเซชันโดยตรงแล้ว ความเป็นเบสของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อาจส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพของสารยึดติดระบบเซลล์เฟสต่อการปรับสภาพผิว



รูปที่ 4 แสดงโครงสร้างโมเลกุลของโปรแอนโทไซยานินดิน
Figure 4 Molecular structure of Proanthocyanidin

ชั้นสเมียร์ เนื่องจากปฏิกิริยาสะเทินด้วย จากการศึกษาของ Kunawarote และคณะ⁽¹⁸⁾ พบว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นสารที่มีความเป็นเบสสูงมีค่าพีเอชโดยเฉลี่ยมากกว่า 11^(1,4,23) เมื่อใช้สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 6 เป็นระยะเวลา 15 และ 30 วินาทีปรับสภาพผิวเนื้อฟัน พบว่าค่าพีเอชบนพื้นผิวเนื้อฟันเพิ่มขึ้นจากระดับปกติค่าพีเอชเท่ากับ 7.29 เปลี่ยนแปลงเป็น 7.55 และ 7.73 ตามลำดับ ค่าพีเอชบนผิวเนื้อฟันที่เปลี่ยนแปลงมีผลต่อประสิทธิภาพการปรับสภาพชั้นสเมียร์ของสารยึดติดระบบเซลล์เฟส เนื่องจากระบบเซลล์เฟสอาศัยการทำงานของกลุ่มโมโนเมอร์ที่มีความเป็นกรด (functional monomer) โดยกลุ่มโมโนเมอร์ที่มีความเป็นกรดของเคสิลีนฟอสเฟตคือ 10-เมดิฟ (10-MDP, 10-methacryloyloctadecyl dihydrogen phosphate) ซึ่งมีค่าพีเอชประมาณ 2.0 ทำการปรับสภาพชั้นสเมียร์โดยหมู่ไฮโดรเจน ฟอสเฟต (hydrogen phosphate) ทำหน้าที่หลักในการละลายแร่ธาตุและเกิดการยึดติดพันธะเคมีกับแคลเซียมในเนื้อฟัน⁽²⁴⁾ เมื่อความเป็นกรดอ่อนของกลุ่มโมโนเมอร์ทำปฏิกิริยากับผิวฟันที่มีความเป็นเบสมากขึ้น ทำให้เกิดปฏิกิริยาการสะเทินลดประสิทธิภาพของโมโนเมอร์ที่มีความเป็นกรดเกิดการปรับสภาพชั้นสเมียร์ได้อย่างไม่เต็มที่ การแทรกซึมของเรซินน้อยลงจึงให้ค่าความแข็งแรงยึดติดแบบดึงระดับจุลภาคน้อยลง

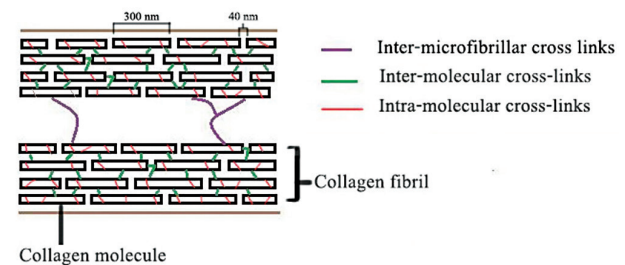
ความเป็นกรดของสารละลายโปรแอนโทไซยานินดินอาจช่วยลดปัญหาที่เกิดจากความเป็นเบสของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สะเทินความเป็นกรดของโมโนเมอร์ของระบบเซลล์เฟสในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการวัดค่าพีเอชของสารละลายโปร-

แอนโธไซยานินความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 15 ก่อนการปรับปรุงเนื้อฟันได้ค่าเท่ากับ 5.12 และ 4.64 ตามลำดับ เมื่อนำไปปรับปรุงเนื้อฟันที่ปรับสภาพด้วยไฮเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีค่าพีเอชพื้นผิวที่มีค่าเป็นเบส อาจทำให้เกิดการสะท้อนกับสารละลายโปรแอนโธไซยานินจนพื้นผิวของเนื้อฟันมีค่าพีเอชที่มีความเป็นเบสลดลง ทำให้การทำงานของโมโนเมอร์ที่มีความเป็นกรดของเซลล์เอพไซส์สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

เมื่อพิจารณาจากเนื้อฟันที่ผ่านการจำลองระยะเวลาการใช้งานโดยวิธีเทอร์โมไซคลิงจำนวน 2,500 และ 5,000 รอบพบว่าทุกกลุ่มค่าความแข็งแรงยึดติดแบบดึงระดับจุลภาคลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่ม 24 ชั่วโมง เนื่องจากการจำลองระยะเวลาการใช้งานโดยเทอร์โมไซคลิงทำให้เกิดการเสื่อมสลายของชั้นไฮบริดและค่าความแข็งแรงยึดติดน้อยลง หากเปรียบเทียบแต่ละกลุ่มที่การจำลองระยะเวลาเดียวกัน พบว่ากลุ่มที่ถูกปรับสภาพด้วยไฮเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีค่าความแข็งแรงยึดติดน้อยกว่ากลุ่มเนื้อฟันที่ไม่ได้รับการปรับสภาพด้วยไฮเดียมไฮโปคลอไรท์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากคุณสมบัติของไฮเดียมไฮโปคลอไรท์ส่งผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพของคอลลาเจน ทั้งในด้านลดความแข็งแรง และลดการต้านทานการเสื่อมสลาย⁽²⁵⁾ มีผลทำให้เกิดการเสื่อมสลายของชั้นไฮบริดได้ง่ายขึ้น

คุณสมบัติหนึ่งของโปรแอนโธไซยานินคือทำหน้าที่เป็นตัวประสานเส้นใยคอลลาเจน (collagen cross-linkers) ซึ่งเป็นองค์ประกอบในเนื้อฟัน โดยร้อยละ 90 ของปริมาณสารอินทรีย์ทั้งหมดที่อยู่ในเนื้อฟันเป็นคอลลาเจนชนิดที่ 1 (type I) ซึ่งประกอบไปด้วยกลุ่มกรดอะมิโน 3 ชนิดเรียงตัวซ้ำๆ กัน เป็นโครงสร้างโมเลกุล Gly-x-y เรียงต่อกันเป็นเกลียว (helix form) โดยโมเลกุลเดี่ยวเหล่านี้จะยึดกันด้วยตัวประสานเส้นใยคอลลาเจน 3 ชนิด^(26,27) ดังรูปที่ 5 โปรแอนโธไซยานินสามารถเป็นตัวประสานเส้นใยคอลลาเจนโดยคุณสมบัติแอมฟิฟิลิก (amphiphilic) ที่โมเลกุลเป็นวงแหวนอโรมาติกสามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีนหรือกรดอะมิโนเกิดเป็น พันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond)⁽²⁸⁾ ระหว่างโปรแอนโธไซยานินและเส้นใยคอลลาเจน⁽²⁹⁾ โดยจะเกิดพันธะกันในส่วนหางคาร์บอนิลของโมเลกุลโปรตีนในคอลลาเจนและกลุ่มไฮดรอกซิลของสารฟีนอลิกหรือโมเลกุลเดี่ยวของโปรแอนโธไซยานิน สามารถเพิ่มความแข็งแรงให้กับเนื้อฟัน^(15,30-34)

ลดสภาพให้ซึมได้ (permeability) ของคอลลาเจน ทำให้ลดการซึมผ่านและยับยั้งเอนไซม์คอลลาจีเนส (collagenase)⁽¹⁴⁾ ที่ทำหน้าที่สลายเส้นใยคอลลาเจนในเนื้อฟัน



รูปที่ 5 แสดงลักษณะโครงสร้างของเส้นใยคอลลาเจนและการประสานเส้นใยคอลลาเจนชนิดต่าง ๆ

Figure 5 Collagen structure and types of collagen cross-links

ในการศึกษารุ่นนี้เมื่อพิจารณาการปรับสภาพผิวเนื้อฟันด้วยสารละลายโปรแอนโธไซยานินในกลุ่มที่ผ่านการจำลองระยะเวลาด้วยวิธีเทอร์โมไซคลิง 2,500 รอบ พบว่าค่าความแข็งแรงยึดติดเทียบเท่ากับกลุ่มเนื้อฟันปกติไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและมีค่าสูงกว่ากลุ่มที่เนื้อฟันถูกปรับสภาพด้วยไฮเดียมไฮโปคลอไรท์เพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อพิจารณาในการจำลองระยะเวลาด้วยเทอร์โมไซคลิงที่ 5,000 รอบ พบว่ากลุ่มที่ปรับปรุงผิวเนื้อฟันด้วยสารละลาย โปรแอนโธไซยานินความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 15 มีค่าความแข็งแรงยึดติดไม่แตกต่างกับกลุ่มที่เนื้อฟันถูกปรับสภาพด้วยไฮเดียมไฮโปคลอไรท์เพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งอาจมาจากปัจจัยอื่นๆ ที่เข้ามามีผลต่อความแข็งแรงยึดติดระหว่างคอลลาเจนกับชั้นไฮบริด เช่นความเป็นกรดของสารละลายโปรแอนโธไซยานินที่ต่ำกว่าค่าพีเอชวิกฤต (critical pH) ของเนื้อฟัน (6.5-6.7)⁽³⁵⁾ โดยเฉพาะสารละลายโปรแอนโธไซยานินความเข้มข้นร้อยละ 15 มีค่าพีเอชต่ำที่สุด ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดละลายแร่ธาตุของชั้นสเมียร์ของเนื้อฟัน (demineralization) ทำให้ลดการยึดติดแบบพันธะเคมีระหว่างแร่ธาตุกับ 10-เอ็มดีพีที่อยู่ในโมโนเมอร์ของสารยึดติดชนิดนี้ได้ ส่งผลให้เกิดการเสื่อมสลายของชั้นไฮบริดได้ง่ายขึ้น ความคงทนต่อการยึดติดน้อยลงเมื่อผ่านการจำลองระยะเวลานานขึ้น ดังนั้นอาจจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องผลความแข็งแรงยึดติดแบบ

ดึงระดับจุลภาคและความคงทนการยึดติดของของเนื้อฟันปกติที่ถูกปรับปรุงด้วยสารละลายโปรแอนโทไซยานินต่อไป

บทสรุป

จากผลการทดลองภายใต้ขอบเขตการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่า การใช้สารละลายโปรแอนโทไซยานินจากสารสกัดจากเมล็ดงุ่นความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 15 เป็นระยะเวลา 15 วินาที ปรับปรุงเนื้อฟันที่ถูกปรับสภาพด้วยไฮเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5.25 สามารถปรับปรุงค่าความแข็งแรงยึดติดแบบดึงระดับจุลภาคภายหลังจากการยึดติด 24 ชั่วโมง และความคงทนการยึดติดของสารยึดติดระบบยึดติดเซลฟ์เอทช์เมื่อผ่านการจำลองระยะเวลาด้วยเทอร์โมไซคลิกจำนวน 2,500 รอบได้

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ขอขอบคุณบริษัทแอ็คเตอน (ประเทศไทย) จำกัดที่ให้การอนุเคราะห์วัสดุเพื่อทำการศึกษ ขอขอบคุณศูนย์วิจัยและบริการจุลทรรศน์ศาสตร์อิเล็กตรอน ศูนย์บริการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด ขอขอบคุณ ดร. ธนพัฒน์ ศาสตร์ระจุ สำหรับคำแนะนำในขั้นตอนการวิจัย วิธีใช้เครื่องมือวิจัยอย่างถูกต้องและให้คำปรึกษาเรื่องการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ และขอขอบคุณศูนย์วิจัยทันตวัสดุศาสตร์คณะทันตแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ที่สนับสนุนเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod* 2006; 32: 389-398.
2. Mohammadi Z. Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *Int Dent J* 2008; 58: 329-341.

3. Oberwalder M, Margreiter R, Maier HT, Zitt M, Ofner D. Acellular porcine cross-linked dermal collagen may be a valuable graft for pelvic floor reconstruction after extended resection. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24: 357-358.
4. Clarkson RM, Moule AJ. Sodium hypochlorite and its use as an endodontic irrigant. *Aust Dent J* 1998; 43: 250-256.
5. Zawaideh F, Palamara JE, Messer LB. Bonding of resin composite to caries-affected dentin after Carisolv((R)) treatment. *Pediatr Dent* 2011; 33: 213-220.
6. Taniguchi G, Nakajima M, Hosaka K, Iwamoto N, Ikeda M, Foxton RM, et al. Improving the effect of NaOCl pretreatment on bonding to caries-affected dentin using self-etch adhesives. *J Dent* 2009; 37: 769-775.
7. Lai SC, Mak YF, Cheung GS, Osorio R, Toledano M, Carvalho RM, et al. Reversal of compromised bonding to oxidized etched dentin. *J Dent Res* 2001; 80: 1919-1924.
8. Morris MD, Lee KW, Agee KA, Bouillaguet S, Pashley DH. Effects of sodium hypochlorite and RC-prep on bond strengths of resin cement to endodontic surfaces. *J Endod* 2001; 27: 753-757.
9. Nikaido T, Takano Y, Sasafuchi Y, Burrow MF, Tagami J. Bond strengths to endodontically-treated teeth. *Am J Dent* 1999; 12: 177-180.
10. Santos JN, Carrilho MR, De Goes MF, Zaia AA, Gomes BP, Souza-Filho FJ, et al. Effect of chemical irrigants on the bond strength of a self-etching adhesive to pulp chamber dentin. *J Endod* 2006; 32: 1088-1090.
11. Fine AM. Oligomeric proanthocyanidin complexes: history, structure, and phytopharmaceutical applications. *Altern Med Rev* 2000; 5: 144-151.

12. Manimaran VS, Srinivasulu S, Rajesh Ebenezar A, Mahalaxmi S, Srinivasan N. Application of a proanthocyanidin agent to improve the bond strength of root dentin treated with sodium hypochlorite. *J Conserv Dent* 2011; 14: 306-308.
13. Al-Ammar A, Drummond JL, Bedran-Russo AK. The use of collagen cross-linking agents to enhance dentin bond strength. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2009; 91: 419-424.
14. Castellan CS, Bedran-Russo AK, Karol S, Pereira PN. Long-term stability of dentin matrix following treatment with various natural collagen cross-linkers. *J Mech Behav Biomed Mater* 2011; 4: 1343-1350.
15. Castellan CS, Pereira PN, Grande RH, Bedran-Russo AK. Mechanical characterization of proanthocyanidin-dentin matrix interaction. *Dent Mater* 2010; 26: 968-973.
16. Montes MA, de Goes MF, Sinhoreti MA. The in vitro morphological effects of some current pre-treatments on dentin surface: a SEM evaluation. *Oper Dent* 2005; 30: 201-212.
17. Perdigao J, Lopes M, Geraldini S, Lopes GC, Garcia-Godoy F. Effect of a sodium hypochlorite gel on dentin bonding. *Dent Mater* 2000; 16: 311-323.
18. Kunawarote S, Nakajima M, Shida K, Kitasako Y, Foxton RM, Tagami J. Effect of dentin pretreatment with mild acidic HOCl solution on microtensile bond strength and surface pH. *J Dent* 2010; 38: 261-268.
19. Prasansuttiporn T, Nakajima M, Foxton RM, Tagami J. Scrubbing effect of self-etching adhesives on bond strength to NaOCl-treated dentin. *J Adhes Dent* 2012; 14: 121-127.
20. Prasansuttiporn T, Nakajima M, Kunawarote S, Foxton RM, Tagami J. Effect of reducing agents on bond strength to NaOCl-treated dentin. *Dent Mater* 2011; 27: 229-234.
21. Niparugs M, Sastraruji T, Kunawarote S, Jittidecharaks S. Effect of Grape Seed Extract on The Microtensile Bond Strength of NaOCl-treated Dentin. *CM Dent J* 2014; 35: 63-75.
22. Bors W, Michel C, Stettmaier K. Electron paramagnetic resonance studies of radical species of proanthocyanidins and gallate esters. *Arch Biochem Biophys* 2000; 374: 347-355.
23. Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spano JC, Marchesan MA, Pecora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz Dent J* 2002; 13: 113-117.
24. Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL. State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater* 2011; 27: 17-28.
25. Hashimoto M. A review--micromorphological evidence of degradation in resin-dentin bonds and potential preventional solutions. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2010; 92: 268-280.
26. Bedran-Russo AK, Pauli GF, Chen SN, McAlpine J, Castellan CS, Phansalkar RS, et al. Dentin biomodification: strategies, renewable resources and clinical applications. *Dent Mater* 2014; 30: 62-76.
27. Gelse K, Poschl E, Aigner T. Collagens—structure, function, and biosynthesis. *Adv Drug Deliv Rev* 2003; 55: 1531-1546.
28. Han B, Jaurequi J, Tang BW, Nimni ME. Proanthocyanidin: a natural crosslinking reagent for stabilizing collagen matrices. *J Biomed Mater Res A* 2003; 65: 118-124.

29. Ku CS, Sathishkumar M, Mun SP. Binding affinity of proanthocyanidin from waste *Pinus radiata* bark onto proline-rich bovine achilles tendon collagen type I. *Chemosphere* 2007; 67: 1618-1627.
30. Bedran-Russo AK, Karol S, Pashley DH, Viana G. Site specific properties of carious dentin matrices biomodified with collagen cross-linkers. *Am J Dent* 2013; 26: 244-248.
31. Hiraishi N, Sono R, Sofiqul I, Yiu C, Nakamura H, Otsuki M, et al. In vitro evaluation of plant-derived agents to preserve dentin collagen. *Dent Mater* 2013; 29: 1048-1054.
32. Bedran-Russo AK, Castellán CS, Shinohara MS, Hassan L, Antunes A. Characterization of bio-modified dentin matrices for potential preventive and reparative therapies. *Acta Biomater* 2011; 7: 1735-1741.
33. Liu Y, Dusevich V, Wang Y. Proanthocyanidins rapidly stabilize the demineralized dentin layer. *J Dent Res* 2013; 92: 746-752.
34. Scheffel DL, Hebling J, Scheffel RH, Agee K, Turco G, de Souza Costa CA, et al. Inactivation of matrix-bound matrix metalloproteinases by cross-linking agents in acid-etched dentin. *Oper Dent* 2014; 39: 152-158.
35. Mishra P, Palamara JE, Tyas MJ, Burrow MF. Effect of static loading of dentin beams at various pH levels. *Calcif Tissue Int* 2006; 79: 416-421.