Original Article

Effect of Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) on Surface Microhardness of Human Enamel

Kornkamon Sukjit[1], Thunyarat Denkongphol[2], Pavana Jangvangsit[3] and Rathagorn Putthacharoen[4]

[1]Department of Restorative Dentistry, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand

[2]Private Dental Clinic, Bangkok, Thailand

[3]Private Dental Clinic, Sakonnakhon, Thailand

[4]Private Dental Clinic, Pathum Thani, Thailand

Correspondence to:

Kornkamon Sukjit. Department of Restorative Dentistry, Faculty of Dentistry, Khon Kaen University, Muaeng, Khon Kaen 40002 Thailand

Tel: 043-202405 Fax: 043-202862 E-mail: nidchan46@yahoo.com

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) on surface microhardness of demineralized enamel surface of human tooth. Twenty-six extracted human maxillary premolars were kept in 0.1 % thymol solution for 2 weeks after extraction. The tooth was cut vertically into 2 halves; buccal and lingual using diamond tooth cutting device. Fifty two specimens were randomly divided into 2 groups; control and experimental groups (N = 26 each). For demineralization, all specimens were stored in 0.1 M lactic acid pH 4.8 for 4 days. All speciemens were subjected to Vicker's microhardness measurement (VHN_{C1} for control group and VHN_{E1} for experimental group). The specimens in control and experimental groups were stored in 0.1 M lactic acid pH 4.75 for 10 minutes twice a day and then in artificial saliva at 37°C for 14 days, except that in experimental group, the specimens were applied with CPP-ACP tooth mousse for 3 minutes before storage in artificial saliva. After 14 days storage, the VHN_{C2}, VHN_{E2} were measured and ΔVHN_C and ΔVHN_E which were the difference between VHN_{C1}, VHN_{C2} and VHN_{E1}, VHN_{E2} were calculated. In control group, All the VHN are VHN_{C1} = 242.07 kgf/mm^2, VHN_{C2} = 201.69 kgf/mm^2 and ΔVHN_C = -40.37 kgf/mm^2. In experimental group, all the VHN are VHN_{E1} = 245.31 kgf/mm^2, VHN_{E2} = 259.62 kgf/mm^2 and ΔVHN_E = 14.31 kgf/mm^2. ΔVHN_C and ΔVHN_E were tested by paired *t*-test (p = 0.05). Mean average of surface microharness of control group significantly differenced to study group ($p < 0.001$). The specimens treated with CPP-ACP showed significantly more microhardness value than those not treated ($p < 0.001$). It is concluded that CPP-ACP tooth mousse increased human enamel surface microhardness.

Key words: Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP); Demineralization; Remineralization

Received Date: Dec 16, 2015 Accepted Date: Mar 22, 2016

doi: 10.14456/jdat.2016.8

บทวิทยาการ

ผลของสารคาซีอินฟอสฟอเปปไทด์กับอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตต่อความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันมนุษย์

กรกมล สุขจิตร[1], ธัญญรัตน์ เด่นกองพล[2], ภาวนา จางวางสิทธิ์[3] และรฐกร พุทธเจริญ[4]

[1]ภาควิชาทันตกรรมบูรณะ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น

[2]คลินิกทันตกรรมเอกชน กรุงเทพ ประเทศไทย

[3]คลินิกทันตกรรมเอกชน สกลนคร ประเทศไทย

[4]คลินิกทันตกรรมเอกชน ปทุมธานี ประเทศไทย

ติดต่อเกี่ยวกับบทความ:

กรกมล สุขจิตร ภาควิชาทันตกรรมบูรณะ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

โทรศัพท์: 043-202405 โทรสาร: 043-202862 อีเมล: nidchan46@yahoo.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารคาซีอินฟอสฟอเปปไทด์ กับอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟต (CCP-ACP) ต่อความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันมนุษย์ ฟันกรามน้อยแท้ของมนุษย์ที่ถูกถอนออกมาจำนวน 26 ซี่ถูกนำมาแช่ไว้ในน้ำยาไทมอลความเข้มข้นร้อยละ 0.1 เป็นเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นจะถูกตัดแบ่งในแนวดิ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ ด้านแก้ม และด้านลิ้นด้วยเครื่องตัดฟันหัวกากเพชร ชิ้นตัวอย่าง 52 ชิ้นจะถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ กลุ่มควบคุม และกลุ่มศึกษาโดยวิธีสุ่มได้กลุ่มละ 26 ชิ้นงาน เพื่อให้เกิดกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุก่อนการทดลองจะนำชิ้นตัวอย่างทั้งหมดแช่ในสารละลายแลคติกความเข้มข้น 0.1 โมลที่สภาวะความเป็นกรดด่างเท่ากับ 4.8 เป็นเวลา 4 วัน ทำการวัดความแข็งผิวระดับจุลภาควิคเกอร์ครั้งที่ 1 จะทำให้ได้ค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของกลุ่มควบคุม (VHN_{C1}) และกลุ่มศึกษา (VHN_{E1}) ก่อนการทดลองในแต่ละวันจะนำชิ้นตัวอย่างทั้งหมดแช่ในสารละลายแลคติกความเข้มข้น 0.1 โมลที่สภาวะความเป็นกรดด่างเท่ากับ 4.75 ครั้งละ 10 นาทีวันละ 2 ครั้ง (เช้าและเย็น) และเก็บไว้ในน้ำลายเทียมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 วันโดยกลุ่มศึกษาจะได้รับการทาสาร CPP-ACP เป็นเวลา 3 นาทีวันละ 2 ครั้ง (เช้าและเย็น) หลังจากแช่สารละลายแลคติก 10 นาที ก่อนจะนำกลับไปแช่ในน้ำลายเทียมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ส่วนในกลุ่มควบคุมจะไม่ได้รับการทาสาร CPP-ACP ก่อนจะนำกลับไปแช่ในน้ำลายเทียม เมื่อครบกำหนด 14 วัน นำชิ้นงานทั้ง 2 กลุ่มมาวัดความแข็งผิวระดับจุลภาคครั้งที่ 2 ทำให้ได้ค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของกลุ่มควบคุม (VHN_{C2}) และกลุ่มศึกษา (VHN_{E2}) จากนั้นคำนวณความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคของกลุ่มควบคุม (ΔVHN_C) และกลุ่มศึกษา (ΔVHN_E) และวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ paired *t*-test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 ผลการวิจัยพบว่า ในกลุ่มควบคุมมี VHN_{C1} เท่ากับ 242.07 kgf/mm^2 และกลุ่มศึกษามี VHN_{E1} เท่ากับ 245.31 kgf/mm^2 ส่วนค่า VHN_{C2} ในกลุ่มควบคุมเท่ากับ 201.69 kgf/mm^2 ซึ่งมีค่า ΔVHN_C ลดลงเท่ากับ -40.37 kgf/mm^2 เมื่อเทียบกับค่าก่อนการทดลอง ในกลุ่มศึกษามี VHN_{E2} เท่ากับ 259.62 kgf/mm^2 ซึ่งมีค่า ΔVHN_E เพิ่มขึ้นเท่ากับ 14.31 kgf/mm^2 เมื่อเทียบกับค่าก่อนการทดลอง วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ paired *t*-test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบว่า ค่าเฉลี่ยความแตกต่างของความแข็งผิวระดับจุลภาคของกลุ่มควบคุม และกลุ่มศึกษามีค่าต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) สรุปผลการวิจัย ค่าเฉลี่ยความแตกต่างของความแข็งผิวระดับจุลภาคของกลุ่มควบคุม และกลุ่มศึกษามีค่าต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ($p < 0.001$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สารคาซีอินฟอสฟอเปปไทด์กับอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตทำให้ค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันมนุษย์มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

คำสำคัญ: สารคาซีอินฟอสฟอเปปไทด์กับอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟต; การสูญเสียแร่ธาตุ; การคืนกลับของแร่ธาตุ

บทนำ

ปัจจุบันโรคฟันผุยังคงเป็นปัญหาด้านทันตสาธารณสุขของประเทศไทยในทุกกลุ่มอายุ ในอดีตการรักษาทำได้โดยการกรอตัดฟันส่วนที่ผุออกเพื่อกำจัดเนื้อฟันที่มีการสูญเสียแร่ธาตุออกก่อนทำการบูรณะ ปัจจุบันมีการพัฒนาองค์ความรู้ในการรักษาโรคฟันผุ รวมทั้งวิธีในการป้องกันการเกิดโรคฟันผุ สำหรับฟันที่ผุระยะเริ่มต้นและยังไม่มีโพรงฟันเกิดขึ้น มีการรักษาโดยการส่งเสริมการคืนกลับของแร่ธาตุโดยไม่ต้องกรอตัดเนื้อฟัน[1,2]

สารที่นิยมนำมาใช้ป้องกันและควบคุมโรคฟันผุได้แก่ ฟลูออไรด์ แต่ฟลูออไรด์มีข้อจำกัดในการใช้ป้องกันฟันผุบริเวณหลุมและร่องฟัน และการได้รับฟลูออไรด์ ในปริมาณที่มากเกินไปจะส่งผลให้เกิดฟลูออโรซิส (fluorosis) การใช้สารที่ไม่ใช่ฟลูออไรด์จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการป้องกัน และควบคุมโรคฟันผุ ได้แก่ สารคาซีอินฟอสฟอเปปไทด์กับอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟต (casein phosphopeptide – amorphous calcium phosphate; CPP-ACP) โดยคาซีอินฟอสฟอเปปไทด์ กับอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟตจัดเป็นสารที่ไม่ใช่ฟลูออไรด์ที่ประกอบด้วยแคลเซียม และฟอสเฟต[3]

CPP-ACP ได้พัฒนาขึ้นมาจากสารฟอสฟอเปปไทด์ (phosphopeptide) จากคาซีอิน (casein) ในน้ำนม คาซีอินฟอสโฟเปปไทด์ (casein phosphopeptides; CPP) ประกอบด้วย ลำดับของมัลติฟอสฟอซีริล (multiphosphoseryl) ซึ่งมีความสามารถที่จะคงสภาพแคลเซียมฟอสเฟตในสารละลายอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟอสเฟต (amorphous calcium phosphate; ACP) ภายในสารละลายขนาดนาโนคอมเพล็ก (nanocomplex)[4] โมเลกุลเชิงซ้อนขนาดนาโนของ CPP-APP จะจับกันบริเวณผิวฟัน ช่วยป้องกันกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุและสามารถทำให้เกิดกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุที่โครงสร้างรอยโรคของเคลือบฟันระดับใต้พื้นผิว (enamel subsurface lesion) โดยการสร้างอะมอร์ฟัสแคลเซียมฟลูออไรด์ฟอสเฟต (amorphous calcium fluoride phosphate) และทำให้คงสภาพด้วยคาซีอินฟอสฟอเปปไทด์ ที่บริเวณผิวฟันซึ่งสารเหล่านี้สามารถแพร่เข้าไปในบริเวณที่เป็นรอยโรคได้ โดยสารละลายแคลเซียมฟอสเฟตและฟลูออไรด์สามารถช่วยเร่งกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุด้วยฟลูออโรอะพาไทต์ (fluoroapatite) ซึ่งต้านสภาวะความเป็นกรด และมีความสามารถที่จะแทรกซึมเข้าไปในบริเวณที่เป็นรอยโรคของเคลือบผิวฟันในระดับลึกได้ ข้อดีจากการที่สารสามารถแทรกซึมเข้าไปในรอยโรคได้นั้นจะสามารถทำให้เคลือบฟันที่มีความทึบแสงหรือรอยโรคสีขาว (white spot lesion) กลับมาเป็นปกติได้[4]

จากการศึกษาพบว่า CPP-ACP มีผลยับยั้งกระบวนการการสูญเสียแร่ธาตุและช่วยส่งเสริมกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุสู่ตัวฟัน ในปี ค.ศ. 2003 Cai และคณะ[5] ได้ศึกษาถึงผลของเม็ดอมที่ปราศจากน้ำตาล โดยใช้น้ำตาลแอลกอฮอล์ (sugar alcohol) ทดแทน และมี CPP-ACP เป็นส่วนประกอบ ในกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุสู่รอยโรคของเคลือบฟันระดับใต้พื้นผิว พบว่า เม็ดอมที่มี CPP-ACP เป็นส่วนประกอบ 18.8 มิลลิกรัม และ 56.4 มิลลิกรัม จะช่วยส่งเสริมกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุในรอยโรคได้ร้อยละ 78 และ 176 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า CPP-ACP สามารถช่วยส่งเสริมให้เกิดกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุ โดยขึ้นกับปริมาณ (dose response) ของ CPP-ACP

CPP-ACP มีชื่อทางการค้าคือ Recaldent™ และ Phoscal® Recaldent™ ที่อยู่ในรูปแบบครีมป้ายฟัน ได้แก่ จีซีทูธมูส (GC Tooth Mousse®, GC Corp. Tokyo, Japan) ซึ่งเป็นครีมที่มีน้ำเป็นพื้นฐาน (water base) และปราศจากน้ำตาล โดยบริษัทผู้ผลิตแนะนำให้ใช้ “ทูธมูส” ในการป้องกันฟันผุ รวมถึงการใช้ในการป้องกันฟันผุในผู้ป่วยจัดฟัน ใช้ป้องกันการเกิดการสึกกร่อน ใช้รักษาอาการเสียวฟัน ใช้ภายหลังการฟอกสีฟัน ภายหลังการขูดหินปูนและเกลารากฟัน และใช้ร่วมกับฟลูออไรด์ในการป้องกันฟันผุ[6]

นอกจากนี้ ในปี ค.ศ. 1999 Recaldent™ ยังได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยา (Food and Drug Administration; FDA) ว่ามีความปลอดภัยและ Recaldent™ สามารถใช้ได้ในผู้ที่มีภาวะไม่สามารถ

ทนต่อน้ำตาลแลคโตสได้ เนื่องจาก Recaldent™ ไม่มีส่วนประกอบของน้ำตาลแลคโตส อย่างไรก็ตามไม่แนะนำให้ใช้ Recaldent™ ในผู้ที่แพ้โปรตีนในน้ำนมวัว (milk protein allergies)[7]

ในปี ค.ศ. 2005 Lennon และคณะ[8] ได้ศึกษาสารคาซีอินฟอสฟอเปปไทด์ที่ผสมอยู่ในครีมป้ายฟันและฟลูออไรด์ต่อการกร่อนของเคลือบฟัน โดยสรุปว่า การใช้ฟลูออไรด์เจลเฉพาะที่สามารถป้องกันการกร่อนของผิวเคลือบฟันได้มากกว่า ในขณะที่คาซีอินฟอสฟอเปปไทด์หรือฟลูออไรด์ 250 ส่วนในหนึ่งล้านส่วน (ppm) หรือสารทั้งสองผสมกัน สามารถที่จะป้องกันการกร่อนได้เพียงเล็กน้อย

การวัดแข็งผิวระดับจุลภาคเป็นวิธีการวัดถึงกระบวนการสูญเสียและกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุโดยทางอ้อม (indirect) ถ้าระยะที่เกิดจากหัวกดมากขึ้นก็แสดงว่าเกิดกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุ แต่ถ้าหากระยะที่เกิดจากหัวกดน้อยลงก็แสดงว่าเกิดกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุ ความสัมพันธ์ระหว่างระยะความแข็งผิวระดับจุลภาคกับส่วนประกอบที่เป็นแร่ธาตุ โดยเฉพาะองค์ประกอบด้านปริมาณจะได้นำมาเปรียบเทียบกับการทดลองเชิงปริมาณ[9,10]

ในปี พ.ศ. 2548 CPP-ACP มีจำหน่ายในประเทศไทยอยู่ในรูปแบบครีม ชื่อทูธมูส ซึ่งยังไม่มีรายงานผลของ CPP-ACP ต่อความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันมนุษย์ ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับผลของ CPP-ACP ชนิดครีม ชื่อทูธมูสต่อความแข็งผิวระดับจุลภาคแบบวิคเกอร์ของเคลือบฟันมนุษย์นอกเหนือจากฟลูออไรด์เพื่อเป็นแนวทางในการจัดการโรคฟันผุระยะแรกได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาผลของ CPP-ACP ชนิดครีม ชื่อทูธมูสต่อความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันมนุษย์ภายหลังกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุ

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษานี้เป็นการวิจัยในห้องปฏิบัติการ ตัวอย่างที่ศึกษา คือฟันกรามน้อยของมนุษย์ที่ถูกถอน จำนวน 26 ซี่ ภายหลังจากถอนฟันถูกเก็บรักษาในสารไทมอลร้อยละ 0.1 (0.1 % thymol) เป็นเวลา 2 สัปดาห์

เกณฑ์ในการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ศึกษา

1. เป็นฟันกรามน้อยของมนุษย์ที่ถูกถอนช่วงอายุ 18 - 30 ปี
2. มีเคลือบฟันด้านแก้ม (buccal) และลิ้น (lingual) ปกติ
3. ฟันไม่มีพยาธิสภาพ ฟันตกกระ (fluorosis) หรือมีภาวะเคลือบฟันเจริญพร่อง (enamel hypoplasia)
4. ไม่มีวัสดุอุดบริเวณเคลือบฟันด้านแก้มและด้านลิ้นที่ใช้ทดสอบ
5. บริเวณเคลือบฟันด้านแก้มและด้านลิ้นที่ใช้ทดสอบไม่มีรอยฟันผุ หรือมีรอยสีขาว หรือสีน้ำตาล (white spot/brown spot) เมื่อดูด้วยตาเปล่า
6. ไม่เป็นฟันที่เคยรักษาคลองรากฟัน (root canal treatment) มาก่อน

นำฟันกรามน้อยที่ถูกคัดเลือกแล้วมาทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่าและตัดแบ่งฟันโดยใช้เครื่องตัดฟันหัวกากเพชร (diamond-coated band saw) ภายใต้น้ำเย็น โดยตัดในแนวแกนฟัน (long axis) ออกเป็นสองส่วน คือ ชิ้นด้านแก้ม ด้านลิ้น และตัดแบ่งในแนวด้านใกล้กลางและไกลกลางของฟัน หลังจากนั้นจึงทำการตัดส่วนตัวฟันออกจากรากฟันที่บริเวณคอฟัน

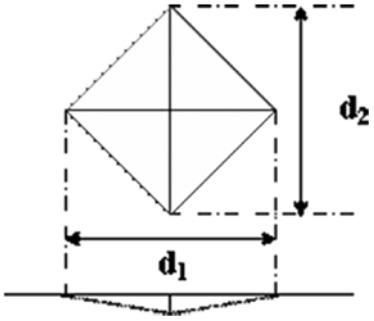
นำชิ้นตัวอย่างด้านแก้มและด้านลิ้นที่ตัดแล้วมายึดด้วยเรซินใส ชนิดแข็งตัวได้เองในท่อพีวีซี โดยให้ส่วนของเคลือบฟันโผล่พ้นเรซินขึ้นมาด้านบนขนานกับฐานของท่อพีวีซีเพื่อที่จะให้บริเวณที่จะวัดค่าความแข็งผิวเป็นบริเวณพื้นเรียบที่สุด ทำการแบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุม ซึ่งใช้ชิ้นตัวอย่างด้านแก้มและด้านลิ้นในฟันซี่เดียวกันมาแบ่งเป็นกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุมโดยวิธีสุ่มโยนเหรียญในขั้นตอนกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุ จะนำชิ้นตัวอย่างทั้งในกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุมแช่สารละลายกรดแลคติกความเข้มข้น 0.1 โมล ปริมาณ 800 มล. ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่สภาวะความเป็นกรด-ด่าง 4.8 เป็นเวลา 4 วัน

ตารางที่ 1 *องค์ประกอบของวัสดุที่ใช้ในการศึกษานี้*

Table 1 *Composition of materials used in this study*

Materials	Ingredients	
Tooth Mousse® (pH = 6.6)	Glycerol, CPPACP, D-sorbitol, CMC-Na, Propylene glycol, Silicone dioxide, Xylitol, Titanium dioxide, Phosphoric acid, Flavoring, Zinc oxide, Sodium saccharin, Ethyl p-hydroxybenzoate, Magnesium oxide, Guar gum, Propyl p-hydroxybenzoate, Butyl p-hydroxybenzoate, Pure water	
Artificial saliva (pH = 7)	Potassium Chloride BP	0.65 g/liter
	Magnesium Chloride BP	0.058 g/liter
	Calcium Chloride BP	0.165 g/liter
	Di-potassium hydrogen phosphate USP	0.804 g/liter
	Potassium dihydrogen phosphate	0.465 g/liter
	Sodium benzoate	2.0 g/liter
	Sodium carboxymethyl cellulose BP	7.8 g/liter
	Deionized water	
Lactic acid (pH = 4.8)	0.1 M lactic acid	

จากนั้นทำการวัดค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันทั้งกลุ่มควบคุม และกลุ่มศึกษาทั้งหมด เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานโดยใช้เครื่องทดสอบความแข็งผิวระดับจุลภาคแบบวิคเกอร์ (Vicker microhardness tester: Matsuzawa Model MXT 70) ใช้แรงกด 500 กรัม เป็นเวลา 10 วินาที ทำการทดสอบ 3 รอยกดระยะห่างจาก 2 จุดที่จะทำการวัดต้องมีค่าไม่น้อยกว่า 100 ไมโครเมตร โดยผู้ทำการวัดเป็นคนเดียวกันจำนวน 3 ครั้ง นำความกว้างที่วัดได้ คำนวณเป็นค่าความแข็งผิวแบบวิคเกอร์ (Vicker hardness number; VHN) แล้วบันทึกผลที่ได้และนำมาหาค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันเป็นค่า VHN พื้นฐานของกลุ่มควบคุม และกลุ่มศึกษากำหนดเป็นค่า VHN_{C1} และ VHN_{E1} ตามลำดับ ค่า VHN คำนวณได้จากสูตร[11] และรูปที่ 1



$$VHN = \frac{1.854P}{d^2}$$

โดยที่ HV คือ ค่าความแข็งแบบวิคเกอร์ (kgf/mm^2)
P คือ แรงกด (kgf)
d คือ ขนาดเส้นทแยงมุม d1 และ d2 เฉลี่ย (mm.)

รูปที่ 1 *ลักษณะความยาวทะแยงมุมของรอยกดหัวเพชรของ Vickers Hardness Test*

Figure 1 *The diagonal length of the indentation from Vickers Hardness Test*

ขั้นตอนการทดลองในกลุ่มควบคุม

1. นำชิ้นตัวอย่างทั้งหมดแช่ในน้ำลายเทียม 500 มล. ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 โดยเปลี่ยนน้ำลายเทียมทุกวัน

2. ภายหลังวัดค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟัน ครั้งที่ 1 (VHN_{C1}) แล้วให้นำชิ้นส่วนเคลือบฟันแช่สารละลายกรดแลคติก ความเข้มข้น 0.1 โมล ที่สภาวะความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.75 วันละ 2 ครั้ง (เช้าและเย็นช่วงเวลาห่างกัน 12 ชั่วโมง) ครั้งละ 10 นาที เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ในระหว่างวันชิ้นงานจะแช่ในน้ำลายเทียมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อครบ 2 สัปดาห์จะทำการวัดค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันครั้งที่ 2 (VHN_{C2}) แล้วบันทึกผลที่ได้

ขั้นตอนการทดลองในกลุ่มศึกษา

1. นำชิ้นตัวอย่างทั้งหมดแช่ในน้ำลายเทียมปริมาณ 500 มล. ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 โดยเปลี่ยนน้ำลายเทียมทุกวัน

2. ภายหลังวัดค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟัน ครั้งที่ 1 (VHN_{E1}) นำชิ้นส่วนเคลือบฟันแช่สารละลายกรดแลคติก ความเข้มข้น 0.1 โมล ที่สภาวะความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.75 นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นและเช็ดให้แห้งด้วยผ้าก๊อซ

3. แล้วนำชิ้นตัวอย่างมาทา CPP-ACP ชนิดทูธมูสปริมาณเท่ากับเมล็ดถั่วเขียว ลงบนชิ้นตัวอย่างที่เตรียมไว้ด้วยพู่กัน เป็นชั้นบาง ๆ ให้ทั่วผิวเคลือบฟัน นาน 3 นาที หลังจากนั้นทำการเช็ดออกด้วยผ้าก๊อซแล้วนำกลับไปแช่ในน้ำลายเทียมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

4. ทำตามขั้นตอนที่ 1 ถึง 3 วันละ 2 ครั้งทุกวัน (เช้าและเย็นช่วงเวลาห่างกัน 12 ชั่วโมง) เป็นเวลา 2 สัปดาห์

5. ทำการวัดค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟัน ครั้งที่ 2 (VHN_{E2}) แล้วบันทึกผลที่ได้

นำค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันครั้งที่ 1 และ 2 มาหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันทั้งกลุ่มควบคุม และกลุ่มศึกษา (ΔVHN_C และ ΔVHN_E)

ทำการสุ่มชิ้นตัวอย่างของกลุ่มศึกษาจำนวน 2 ชิ้น คือ ก่อนและหลังทาสาร CPP-ACP และกลุ่มควบคุม 1 ชิ้นเตรียมโดยปล่อยชิ้นงานให้แห้งเป็นเวลา 24 ชม. แล้วไปทำให้แห้ง (dehydration) ด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 50 เป็นเวลา 20 นาที และความเข้มข้นร้อยละ 75 เป็นเวลา 20 นาที ความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นเวลา 20 นาที ความเข้มข้นร้อยละ 100 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเข้าเครื่อง critical-point dryer แล้วนำไปเคลือบผิวด้วยทองด้วยเครื่องเคลือบผิว (sputter coater) เป็นเวลา 3 นาที เพื่อศึกษาลักษณะพื้นผิวเคลือบฟันของชิ้นตัวอย่างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM, HITACHI Co.Ltd. Japan) ที่กำลังขยาย 2,000 เท่า

การคำนวณทางสถิติ

ค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันบรรยายด้วยสถิติเชิงพรรณนา คำนวณค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และความแปรปรวน

ทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแตกต่างของค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันระหว่างก่อนและหลังทำการทาด้วย CPP-ACP ในกลุ่มควบคุม และในกลุ่มศึกษาทำการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย Paired *t*-test ที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.001$

ผล

1. ผลของ CPP-ACP ต่อความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟัน

เพื่อศึกษาผลของ CPP-ACP ชนิดครีม ชื่อทูธมูสต่อความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันมนุษย์ภายหลังกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุ

ตารางที่ 2 *ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันในกลุ่มควบคุมและกลุ่มศึกษา*

Table 2 *Mean and Standard deviation (mean ± SD) of the microhardness values of human enamel surface in control and experimental groups*

Group	Number of specimen (piece)	VHN_1 (kgf/mm^2)	VHN_2 (kgf/mm^2)	ΔVHN (kgf/mm^2)
Control group (acid + artificial saliva)	26	242.07 ± 10.97	201.69 ± 7.92	-40.38^a ± 7.97
Experimental group (acid + CPP-ACP + artificial saliva)	26	245.31 ± 11.46	259.62 ± 10.85	14.31^b ± 6.19

ΔVHN^a and ΔVHN^b are significantly different to each other ($p < 0.001$)

จากการวัดค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันพบว่า ค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันหลังจากผ่านกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุมีค่าใกล้เคียงกันคือ ในกลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟัน (VHN_{C1}) เท่ากับ 242.07 kgf/mm^2 และกลุ่มศึกษามีค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟัน (VHN_{E1}) เท่ากับ 245.31 kgf/mm^2 ส่วนค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคหลังการทดลองในกลุ่มควบคุม (VHN_{C2}) เท่ากับ 201.69 kgf/mm^2 ซึ่งมีค่าลดลงเท่ากับ -40.38 kgf/mm^2 คิดเป็นร้อยละ 16.67 เมื่อเทียบกับค่าก่อนการทดลอง ในกลุ่มศึกษามีค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคหลังการทดลอง (VHN_{E2}) เท่ากับ 259.62 kgf/mm^2 ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้นเท่ากับ 14.31 kgf/mm^2 คิดเป็นร้อยละ 5.51 เมื่อเทียบกับค่าก่อนการทดลอง

ค่าเฉลี่ยความแตกต่างของค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มศึกษาเมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย Paired *t*-test จะพบว่าค่าเฉลี่ยความแตกต่างของค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันระหว่างก่อนและหลังทาสาร CPP-ACP ของกลุ่มควบคุมและกลุ่มศึกษามีค่าเท่ากับ 57.93 kgf/mm^2 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานมีค่าเท่ากับ 9.90 kgf/mm^2 และที่ค่าประมาณความเชื่อมั่น 95 % (95 % CI) เท่ากับ 50.69 ถึง 58.68 ซึ่งพบว่า ค่าเฉลี่ยความแตกต่างของค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันระหว่างก่อนและหลังทาสาร CPP-ACP ของกลุ่มควบคุม และกลุ่มศึกษาแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ($p < 0.001$)

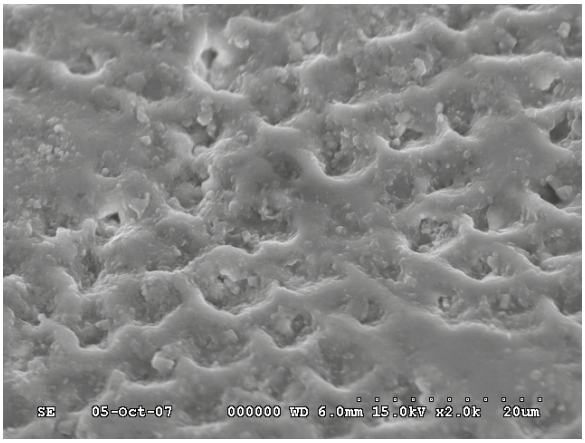
2. ผลของ CPP-ACP ต่อลักษณะของพื้นผิวเคลือบฟัน

จากการตรวจผิวเคลือบฟันด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด เพื่อศึกษาลักษณะพื้นผิวของชิ้นตัวอย่างของกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุมพบว่า ภาพผิวเคลือบฟันภายหลังผ่านกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุ (รูป 2 A) เป็นผิวเคลือบฟันที่ผ่านการแช่ในสารละลายกรดแลคติก ความเข้มข้น 0.1 โมล ที่สภาวะความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4.8 เป็นเวลา 4 วัน พบว่า ผิวเคลือบฟันมีการสูญเสียอินทรีย์สาร (prism sheath) ซึ่งเป็นส่วนประกอบเคลือบฟันที่อยู่รอบ ๆ ส่วนที่เป็นอินทรีย์สาร (prism core)

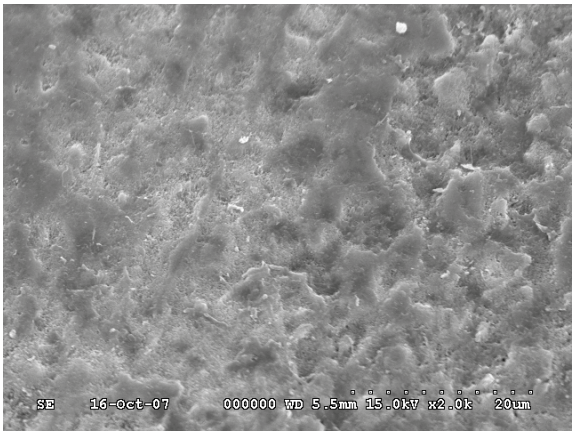
คล้ายกับการกัดกรดผิวเคลือบฟันที่ไม่ได้ผ่านการตัด (non-cutting enamel etching) จึงทำให้เห็นลักษณะผิวเคลือบฟันเป็นรูพรุนกระจายเต็มบริเวณผิวเคลือบฟัน มีการหลุดกะเทาะของผิวเคลือบฟัน

ภาพผิวเคลือบฟันในกลุ่มควบคุม (รูป 2B) เป็นผิวเคลือบฟันที่ไม่ได้ผ่านการทาสาร CPP-ACP พบว่าผิวเคลือบฟันมีลักษณะเป็นรูพรุนมาก แทบมองไม่เห็นโครงสร้างของเนื้อฟัน ไม่มีลักษณะของสารหรือแร่ธาตุมาเคลือบที่ผิวเคลือบฟัน

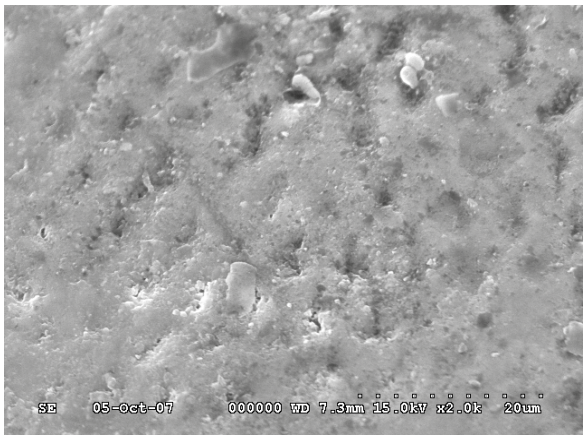
ภาพผิวเคลือบฟันในกลุ่มศึกษา (รูป 2C) เป็นผิวเคลือบฟันที่ผ่านการทาสาร CPP-ACP พบว่าผิวเคลือบฟันบริเวณที่เคยมีการสูญเสียแร่ธาตุจะมีแร่ธาตุหรือสารบางอย่างมาอุดปิด จึงทำให้ลักษณะของผิวเคลือบฟันมีรูพรุนน้อยกว่าก่อนทาสาร CPP-ACP



A



B



C

รูปที่ 2 *ลักษณะผิวเคลือบฟัน เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (กำลังขยาย 15 kV, 2000x)*

A. ผิวเคลือบฟันที่ผ่านกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุ

B. ผิวเคลือบฟันที่ผ่านกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุในกลุ่มควบคุม

C. ผิวเคลือบฟันในกลุ่มศึกษา

Figure 2 *Photomicrographs of human enamel surface using SEM at 15 kV, 2000x magnification*

A. *Enamel surface after demineriza*tion

B. Enamel surface after demineralization in control group

C. Enamel surface in experimental group

บทวิจารณ์

การศึกษานี้ศึกษาผลของ CPP-ACP ต่อผิวเคลือบฟันมนุษย์ปกติ ประเมินผลด้วยการวัดความแข็งผิวระดับจุลภาคแบบวิคเกอร์ ถึงแม้ว่าจะเป็นการวัดการสูญเสียแร่ธาตุหรือการสะสมกลับแบบทางอ้อมแต่ก็มีข้อดีคือ เป็นวิธีที่ทำได้ไม่ยากนักสามารถทำซ้ำได้และไม่ทำลายชิ้นงาน แต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้มีข้อด้อยคือไม่สามารถบ่งบอกปริมาณการสูญเสียแร่ธาตุได้ ชิ้นงานที่ทดสอบจะต้องมีลักษณะผิวเรียบและได้ระนาบเดียวกัน[9] ซึ่งต้องมีการขัดผิวฟันให้เรียบ ผิวฟันที่ถูกขัดจะอยู่ห่างจากผิวภายนอกไม่เท่ากัน แต่ในการศึกษานี้ไม่ได้มีการขัดผิวฟัน เนื่องจากต้องการวัดที่ผิวภายนอกเคลือบฟันจริง โดยขณะที่วัดต้องเลือกพื้นที่ที่ตั้งฉากกับหัวกดและลักษณะรอยกดมีความสมมาตรที่สุด

จากการศึกษาของ Gutierrez-salazar และคณะ ในปี ค.ศ. 2001[12] พบว่า ค่าเคลือบฟันมนุษย์ปกติมีค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคเท่ากับ 268 - 375 kgf/mm^2 การศึกษานี้ในกลุ่มควบคุม และกลุ่มศึกษา (VHN_{C1} และ VHN_{E1}) พบว่า มีค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคเท่ากับ 242.07 kgf/mm^2 และ 245.31 kgf/mm^2 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าภายหลังผ่านกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุ ค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคมีค่าลดลงจากค่าเฉลี่ยของเคลือบฟันปกติ และค่าระหว่าง 2 กลุ่มมีค่าแตกต่างกันเล็กน้อย อาจเป็นผลมาจากความแตกต่างของความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันทางด้านแก้มและด้านลิ้น

ในการศึกษานี้ค่าเฉลี่ยความแตกต่างของค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันหลังทาสาร CPP-ACP ในกลุ่มควบคุมมีค่าลดลงเท่ากับ (ΔVHN_C) -40.37 คิดเป็นร้อยละ 16.67 และกลุ่มศึกษามีค่าเพิ่มขึ้นเท่ากับ (ΔVHN_E) 14.31 คิดเป็นร้อยละ 5.51 ซึ่งการทดสอบด้วยสถิติ Paired *t*-test พบว่า ค่าเฉลี่ยความแตกต่างของค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันระหว่างกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.001$ ทั้งนี้เนื่องจาก CPP มีความสามารถรวมตัวกับแคลเซียมและฟอสเฟตช่วยให้เกิดความคงทนไม่ตกตะกอน นอกจากนี้ CPP ยังช่วยให้ ACP คงอยู่บนผิวฟันทำให้เกิดความอิ่มตัวของแคลเซียมและฟอสเฟต ซึ่งจะช่วยลดการสูญเสียแร่ธาตุและกระตุ้นการส่งเสริมให้เกิดกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุได้[13] ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ หทัยชนก สุขเกษม ในปี พ.ศ. 2549[14] ที่พบว่า เคลือบฟันที่ถูกสึกกร่อนโดยเครื่องดื่มโคลา และได้รับการทาด้วย CPP-ACP และกลุ่มที่ได้รับน้ำลายเทียมมีความแข็งผิวระดับจุลภาคเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่ากลุ่มที่ได้รับการทาด้วย CPP-ACP มีความแข็งผิวระดับจุลภาคมากกว่ากลุ่มที่สัมผัสกับน้ำลายเทียมเพียงอย่างเดียว

การศึกษาของ Hegde และคณะ ในปี ค.ศ. 2012[15] ศึกษาประสิทธิภาพของการคืนกลับของแร่ธาตุของ CPP-ACP โดยใช้ SEM-EDX (scanning electron microscopy with energy dispersive x-ray analysis) ซึ่งพบว่า CPP-ACP มีประสิทธิภาพในการคืนกลับของแร่ธาตุในเคลือบฟันที่มีการจำลองให้เกิดการผุในระยะเริ่มแรกในห้องปฏิบัติการ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Somani ในปี ค.ศ. 2014[16] ซึ่งศึกษาผลของประสิทธิภาพในการคืนกลับของแร่ธาตุของ CPP-ACP และ CPP-ACPF (ซึ่งก็คือ CPP-ACP ที่มีส่วนประกอบของฟลูออไรด์) แต่เป็นการจำลองการเกิดโดยการแช่ชิ้นงานในเครื่องดื่มที่มีคาร์บอเนต (carbonate drink) เพื่อให้เกิดฟันกร่อน (dental erosion) และวัดโดยการใช้เครื่องวัดความแข็งผิวแบบวิคเกอร์ ผลการทดลองพบว่า CPP-ACP และ CPP-ACPF ให้ผลในการเพิ่มความแข็งผิวมากกว่าน้ำลายเทียมอย่างมีนัยสำคัญ

นอกจากนี้ มีการศึกษาในสัตว์ทดลอง ในห้องปฏิบัติการและการศึกษาแบบอิน ไซตู *(in situ)* ที่แสดงถึงประสิทธิภาพในการสะสมกลับของแร่ธาตุของ CPP-ACP[5,17,18,19]

ภาพผิวเคลือบฟันภายหลังทาสาร CPP-ACP (รูป 5 C) เป็นผิวเคลือบฟันที่ผ่านการทาสาร CPP-ACP พบว่าผิวเคลือบฟันบริเวณที่เคยมีการสูญเสียแร่ธาตุจะมีแร่ธาตุหรือสารมาอุดปิด จึงทำให้ลักษณะของผิวเคลือบฟันมีรูพรุนน้อยกว่าก่อนทาสาร CPP-ACP ซึ่งอาจเป็นผล

มาจากแคลเซียมหรือฟอสเฟตที่อยู่ในสาร CPP-ACP จากภาพดังกล่าวจะเห็นว่า เกิดกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุ และจากการวัดค่าความแข็งผิวหลังทาสารจะเห็นว่า มีค่าเพิ่มขึ้นซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Oshiro M และคณะ ในปี 2007[20] ที่ศึกษาเรื่องผลของสาร CPP-ACP ต่อกระบวนการคืนกลับแร่ธาตุของฟันวัวโดยศึกษาผิวเคลือบฟันจากกล้องจุลทรรศน์ FE-SEM (Field Emission Scanning Electron Microscope) พบว่าสาร CPP-ACP มีประสิทธิภาพในการป้องกันกระบวนการสูญเสียแร่ธาตุของเคลือบฟันและเนื้อฟัน Yamaguchi และคณะในปี ค.ศ. 2005[21] ก็ศึกษาของผลของสาร CPP-ACP ต่อคุณสมบัติทางกลของเคลือบฟันวัวเช่นกันซึ่งทดสอบโดยเครื่องมืออัลตราโซนิกพบว่า สารอนินทรีย์ที่อยู่ใน CPP-ACP ทำให้เกิดการคืนกลับของแร่ธาตุ

อย่างไรก็ตามมีการศึกษาประสิทธิภาพของการคืนกลับของแร่ธาตุโดยการใช้ CPP-ACP ในรูปแบบครีมในเคลือบฟันที่มีการจำลองให้เกิดการผุในระยะเริ่มแรก และ CPP-ACPF โดยเปรียบเทียบกับน้ำลายเทียมและยาสีฟันเครสท์ (Crest™) โดยวัดความแข็งผิวระดับจุลภาค (surface microhardness; SMH) ผลการศึกษาพบว่า มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญของค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของชิ้นงานที่ทำการรักษาด้วย CPP-ACP, CPP-ACPF และยาสีฟัน[22] ซึ่งได้ผลการศึกษาเหมือนกับการศึกษาของ Turssi CP และคณะ ในปี ค.ศ. 2011[23]

จากการศึกษานี้พบว่า ความแข็งผิวระดับจุลภาคเพิ่มขึ้นจากการทา CPP-ACP แต่ยังไม่ทราบแน่ชัดว่าความแข็งผิวระดับจุลภาคที่เพิ่มขึ้นเกิดจากองค์ประกอบตัวใดจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป นอกจากนี้ควรมีการศึกษาทางคลินิกถึงผลของสาร CPP-ACP ในการรักษาฟันผุในระยะเริ่มแรก

เนื่องจากการศึกษานี้เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการ อาจมีปัจจัยบางอย่างที่แตกต่างจากสภาพในช่องปากซึ่งไม่สามารถควบคุมได้ เช่น ความแตกต่างของผิวเคลือบฟันระหว่างบุคคล ความแตกต่างของสภาพน้ำลายในปาก เป็นต้น

บทสรุป

การศึกษานี้เป็นการศึกษาถึงความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันในกลุ่มที่ใช้สาร CPP-ACP (กลุ่มศึกษา) เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ใช้สาร CPP-ACP (กลุ่มควบคุม) จากผลการทดลองสรุปได้ว่า ค่าเฉลี่ยความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันหลังการทดลอง ในกลุ่มควบคุมเท่ากับ (VHN_{C2}) 201.69 ± 7.92 kgf/mm^2 ซึ่งมีค่าลดลงเท่ากับ (ΔVHN) -40.37 ± 7.97 kgf/mm^2 เมื่อเทียบกับค่าก่อนการทดลอง ส่วนในกลุ่มศึกษามีค่าเท่ากับ (VHN_{E2}) 259.62 ± 10.85 kgf/mm^2 ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้นเท่ากับ (ΔVHN) 14.31 ± 6.19 kgf/mm^2 เมื่อเทียบกับค่าก่อนการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแตกต่างของค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันระหว่างกลุ่มควบคุม และกลุ่มศึกษาเมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย Paired *t*-test พบว่า ค่าเฉลี่ยความแตกต่างของค่าความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันระหว่างก่อนและหลังการทดลองของกลุ่มควบคุม และกลุ่มศึกษาแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ($p < 0.001$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ฟันกลุ่มที่ได้รับการทาสาร CPP-ACP มีความแข็งผิวระดับจุลภาคของเคลือบฟันเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากการส่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด ก่อนการทดลองซึ่งยังไม่ได้รับการทาสาร CPP-ACP พบว่า ผิวเคลือบฟันมีลักษณะขรุขระ ไม่เรียบ มีรูพรุนขนาดใหญ่กระจายเต็มบริเวณผิวเคลือบฟัน มีการหลุดกะเทาะของผิวเคลือบฟันและมีการเปิดของท่อเนื้อฟัน ส่วนหลังการทดลองผิวเคลือบฟันที่ผ่านการทาสาร CPP-ACP พบว่า ผิวฟันมีลักษณะขรุขระน้อยกว่า

เอกสารอ้างอิง

1. Mount GJ, Ngo H. Minimal intervention: a new concept for operative dentistry. ***Quintessence Int*** 2000;31:527-33.
2. Tsang P, Qi F, Shi W. Medical approach to

dental caries: fight the disease, not the lesion. ***Pediatr Dent*** 2006;28:188-91.
3. Roberts AJ. Role of models in assessing new agents for caries prevention-non-fluoride systems. ***Adv Dent Res*** 1995;9:304-11; discussion 312-4.
4. Mount GJ. Defining, classifying, and placing incipient caries lesions in perspective. ***Dent Clin North Am*** 2005;49:701-23
5. Cai F, Shen P, Morgan MV, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions in situ by sugar-free lozenges containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. ***Aust Dent J*** 2003;48:240-3.
6. Vieira AE, Delbem AC, Sassaki KT, Rodrigues E, Cury JA, Cunha RF. Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel. ***Caries Res*** 2005;39:514-20.
7. Recaldent™ [homepage on the internet] Cadbury Enterprise Pte Ltd [updated 15 Nov 2015; cited Oct, 2015] Available from: www.recaldent.com.
8. Lennon AM, Pfeffer M, Buchalla W, Becker K, Lennon S, Attin T. Effect of a casein/calcium phosphate-containing tooth cream and fluoride on enamel erosion in vitro. ***Caries Res*** 2006;40:154-7.
9. Arends J, Ten Bosch JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. ***J Dent Res*** 1992;71 Spec No:924-8
10. Ten Bosch JJ, Angmar-Månsson B. A review of quantitative methods for studies of mineral content of intra-oral caries lesions. ***J Dent Res*** 1991;70:2-14.
11. Material hardness [homepage on the internet] CALCE and the University of Maryland [updated 2015 May 25; cited 2015] Available from: http://www.calce.umd.edu/general/Facilities/Hardness_ad_.htm
12. Gutierrez-salazar M, Reyes-gasga J. Enamel hardness and caries susceptibility in human teeth. ***Rev Latin Am Met Mat*** 2001;21:36-40
13. Reynolds EC. Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: a review. ***Spec Care Dentist*** 1998;18:8-16.
14. Sukasame H, Panich M, Poolthong S. Effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on hardness of enamel eroded by a cola drink. ***CU Dent J*** 2005;29:183-94.
15. Hegde MN, Moany A. Remineralization of enamel subsurface lesions with casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: A quantitative energy dispersive X-ray analysis using scanning electron microscopy: An in vitro study. ***J Conserv Dent*** 2012;15(1);61-7
16. Somani R, Jaidka S, Singh DJ, Arora V. Remineralizing potential of various agents on dental erosion. ***J Oral Biol Craniofac Res***.2014;104-108
17. Walker G, Cai F, Shen P, Reynolds C, Ward B, Fone C, *et al*. Increased remineralization of tooth enamel by milk containing added casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. ***J Dairy Res*** 2006;73:74-8.
18. Iijima Y, Cai F, Shen P, Walker G, Reynolds C, Reynolds EC. Acid resistance of enamel subsurface lesions remineralized by a sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate.

Caries Res 2004;38:551-6.

19. Shen P, Cai F, Nowicki A, Vincent J, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. ***J Dent Res*** 2001;80:2066-70.
20. Oshiro M, Yamaguchi K, Takamizawa T, Inage H, Watanabe T, Irokawa A, *et al*. Effect of CPP-ACP paste on tooth mineralization: an FE-SEM study. ***J Oral Sci*** 2007;49:115-20.
21. Yamaguchi K, Miyazaki M, Takamizawa T, Inage H, Moore BK. Effect of CPP-ACP paste on mechanical properties of bovine enamel as determined by an ultrasonic device. ***J Dent*** 2006;34:230-6.
22. de Oliveira PR, Fonseca AB, Silva EM, Coutinho TC, Tostes MA. Remineralizing potential of CPP-ACP cremes with and without fluoride in artificial enamel lesions. ***Aust Dent J*** 2015 Jan 27: doi: 10.111/adj.12305. [Epub ahead of print]
23. Turssi CP, Maeda FA, Messias DCF, Rehder Neto FC, Serra MC, Galafassi D. Effect of potential Remineralizing agents on acid softened enamel. ***Am J Dent*** 2011;24:165-8