ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
E47213

THE USE OF REPLICA TECHNIQUE TO STUDY DENTIN PERMEABILITY IN PRIMARY TEETH

MONTICHA RANGCHAROEN

MASTER OF SCIENCE
IN DENTISTRY

THE GRADUATE SCHOOL
CHIANG MAI UNIVERSITY
SEPTEMBER 2011

b00254121

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
E47213

THE USE OF REPLICA TECHNIQUE TO STUDY DENTIN PERMEABILITY IN PRIMARY TEETH

MONTICHA RANGCHAROEN

A THESIS SUMITTED TO THE GRADUATE SCHOOL IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN DENTISTRY

THE GRADUATE SCHOOL
CHIANG MAI UNIVERSITY
SEPTEMBER 2011

THE USE OF REPLICA TECHNIQUE TO STUDY
DENTIN PERMEABILITY
IN PRIMARY TEETH

MONTICHA RANGCHAROEN

THIS THESIS HAS BEEN APPROVED
TO BE A PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN DENTISTRY

EXAMINING COMMITTEE

.....CHAIRPERSON

Assoc. Prof. Dr. Sittichai Wanachantararak

.....MEMBER

Assoc. Prof. Dr. Noppakun Vongsavan

.....MEMBER

Asst. Prof. Dr. Varisara Sirimaharaj

THESIS ADVISOR

.....

Asst. Prof. Dr. Varisara Sirimaharaj

5 September 2011

© Copyright by Chiang Mai University

ACKNOWLEDGEMENT

I would like to express my sincere gratitude to many persons whose generosity and helpfulness have contributed to this project.

I would like to extend my appreciation to Assistant Professor Doctor Varisara Sirimaharaj and Associate Professor Doctor Sittichai Wanachantararak, my advisors, invaluable guidance, advice and support during this project and other aspects of my Master's course.

I wish to thank Assistant Professor Chompoonuch Kunlertkij, Assistant Professor Jurairat Kunachaichote, Dr. Papimon Chompuinwai, Dr. Piranit Kantaputra, Dr. Ubonwan Teerapiboon, lecturers from Pediatric dentistry division, for their instruction and supportion through the course. And special thankful to Ms. Phirawan Chiranantraphorn for helping me in processing administration work smoothly.

I am thrilling in kindness of the patients and their parents who provided the teeth for the research. Without them this study would not have been possible. Many thanks to the staffs from dental departments in the hospitals and many private dental clinics in Chiang Mai Province who's collected the teeth for me. I wish to thank the dental assistant staffs from Pedodontics clinic for helping me in keeping the teeth.

I am grateful to Mrs. Suchanya Aroonrungrote for her help concerning scanning electron microscopic. Thank the Institute of product quality and standardization Maejo University for favor the gold-palladium coater and the Scanning Electron Microscopic. Many special thanks for the Department of Orthodontics and Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Chiang Mai university.

I would like to recognize The Graduate School, Chiang Mai University and Faculty of Dentistry, Chiang Mai University for the financial support in my research.

I am thankful my beloved friends, Dr. Onnida Wattanarat, Dr. Porntipa Pipatpaitoon, Dr. Amornrat Suwannachai, Dr. Sathian Suravisankul, Dr. Darin Tachachonggintana, Dr. Sinee Chaowarat, Dr. Tatsana Saelim, Dr. Kamoltip Boonsongsawat, and Dr. Achiraya Duanduan for being the consultants. And special thanks Mr. Preecha Fangphasertsuk for his encourages and understands me.

This thesis is dedicated to my parents, Mr. Vichan Rangcharoen and Mrs. Rungkan Rangcharoen, my aunt, Mrs. Saknop Sanaejan and my sister, Ms. Vikanda Rangcharoen for their warmest love, and encouragement in everything especially in doing the research work. Everybody makes me success in my research. Thank you very much.

Monticha Rangcharoen

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การใช้เทคนิคการจำลองแบบเพื่อศึกษาสภาพซึมผ่านได้ของเนื้อฟันในฟันน้ำนม

ผู้เขียน นางสาวมนทิชา ร่างเจริญ

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ทันตแพทยศาสตร์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ. ทญ. ดร. วริศรา ศิริมหาราช

บทคัดย่อ

E47213

การศึกษานี้ใช้ฟันตัดน้ำนมล่างที่ไม่มีพยาธิสภาพใดๆ จำนวน 25 ซี่ โดยทำการทดลองภายใน 24 ชั่งโมงหลังจากถอนฟัน โดยกรอตัดรากฟันต่ำกว่ารอยต่อของเคลือบฟันและเคลือบรากฟัน 1 มิลลิเมตร ใช้บาร์บโบร์ชดึงเนื้อเยื่อในโพรงฟันออกใต้น้ำ แล้วต่อรากฟันเข้ากับเครื่องวัดแรงดันซึ่งมีน้ำบรรจุอยู่ กรอตัดปลายฟันน้ำนม ให้ลึกเข้าไปในชั้นเนื้อฟัน จนมีบริเวณเนื้อฟันเผยผึ่ง หลังจากนั้นกรอตัดฟันต่อจากบริเวณเนื้อฟันที่เผยผึ่งอีกประมาณ 1 มิลลิเมตร ตั้งความดันไว้ที่ 0, 15, 30 และ 45 เซนติเมตรน้ำตามลำดับ แบ่งบริเวณเนื้อฟันที่เผยผึ่งออกเป็นสองส่วนเท่าๆกัน ใช้เจลกรดฟอสฟอริกกัดบริเวณเนื้อฟันที่เผยผึ่งด้านหนึ่ง ส่วนอีกด้านหนึ่งไม่ต้องใช้กรดกัด พิมพ์บริเวณเนื้อฟันที่ทำการทดลองด้วยวัสดุพิมพ์ปากซิลิโคนในแต่ละความดัน หล่อรอยพิมพ์ที่ได้ด้วยเรซิน นำชิ้นงานที่ได้มาอ่านผลภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และวัดขนาดของหยดน้ำโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ ไซออน อิมเมจ นำฟันที่แห้งหลังจากที่ได้ทำการทดลองแล้ว ไปส่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และนำฟันมาตัดในแนวดิ่งออกเป็น 2 ส่วนจากด้านริมฝีปากมาด้านลิ้นของฟัน นำไปส่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดอีกครั้ง เพื่อวัดระยะห่าง ระหว่างพื้นผิวฟัน กับหลังคาโพรงประสาทฟัน โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ไซออน อิมเมจ

จากผลการทดลองพบหยดน้ำขนาดเล็กบริเวณแบบจำลองผิวฟัน ที่ไม่ได้ใช้กรดกัดพื้นผิวฟันระหว่างที่ให้ความดันในทุกตัวอย่าง โดยมีแนวโน้มที่จะพบหยดน้ำบริเวณขอบของพื้นผิวฟันมากกว่าบริเวณตรงกลางของพื้นผิวฟัน ซึ่งค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของหยดน้ำบริเวณขอบของพื้นผิวฟันมีค่า 5.29±0.62, 5.35±0.45, 5.87±0.45 และ6.51±0.77 ไมโครเมตร ที่ความดัน 0, 15, 30 และ45 เซนติเมตรน้ำตามลำดับ โดยค่าเฉลี่ยของขนาดของหยดน้ำบริเวณขอบของพื้นผิวฟันที่ความดัน 45 เซนติเมตรน้ำมีค่ามากกว่าค่าเฉลี่ยของขนาดของหยดน้ำที่ความดัน 0 และ15 เซนติเมตรน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

E47213

ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลาง ของหยดน้ำบริเวณตรงกลางของผิวฟัน มีค่า 5.53±0.51, 5.61±0.32, 5.83±0.41 และ6.81±0.78 ไมโครเมตรที่ความดัน 0, 15, 30 และ45 เซนติเมตรน้ำ ตามลำดับ โดยค่าเฉลี่ยของขนาดของหยดน้ำบริเวณตรงกลางของพื้นผิวฟันที่ความดัน 45 เซนติเมตรน้ำมีค่ามากกว่าค่าเฉลี่ยของขนาดของหยดน้ำที่ความดัน 0 เซนติเมตรน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และค่าเฉลี่ยของขนาดของหยดน้ำบริเวณขอบและตรงกลางของพื้นผิวฟันมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

พบท่อเนื้อฟัน บริเวณแบบจำลองผิวฟันที่ได้ทำการใช้กรดกัดผิวฟันในทุกตัวอย่าง ซึ่งมีค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของท่อเนื้อฟันบริเวณตรงกลางของพื้นผิวฟัน 2.46±0.10, 2.47±0.13, 2.48±0.07 และ2.56±0.05 ไมโครเมตรตามลำดับ โดยค่าเฉลี่ยของขนาดของท่อเนื้อฟันที่ความดัน 45 เซนติเมตรน้ำมีค่ามากกว่าค่าเฉลี่ยของขนาดของท่อเนื้อฟันที่ความดัน 0 เซนติเมตรน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

บริเวณผิวฟันแห้งของด้านที่ไม่ได้ใช้กรดกัดที่ผ่านการทดลองมาแล้ว พบว่าผิวฟันไม่เรียบและไม่พบรูเปิดท่อเนื้อฟัน แต่พบรูเปิดท่อเนื้อฟันในบริเวณผิวฟันแห้งที่ใช้กรดกัด ซึ่งมีลักษณะค่อนข้างกลมในทุกตัวอย่าง โดยค่าเฉลี่ยของท่อเนื้อฟันบริเวณ ตรงกลางและขอบของพื้นผิวฟัน มีค่า 2.77±0.10 และ 2.32±0.09 ไมโครเมตรตามลำดับ พบว่าขนาดของท่อเนื้อฟันบริเวณตรงกลางของพื้นผิวฟันแห้งมีค่ามากกว่าขนาดของท่อเนื้อฟันแห้งบริเวณขอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดของท่อเนื้อฟันบริเวณตรงกลางของผิวฟันแห้งที่ถูกกรดกัด มีขนาดของท่อเนื้อฟันใหญ่กว่าขนาดของท่อเนื้อฟันของฟันที่ถูกกรดกัดหลังจากให้ความดัน 0 เซนติเมตรน้ำ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ค่าเฉลี่ยของระยะห่างระหว่างโพรงประสาทฟัน กับตรงกลางของพื้นผิวฟัน ที่ไม่ได้ถูกกรดกัด, ตรงกลางของพื้นผิวฟันที่ถูกกรดกัด และพื้นผิวฟันแห้งมีค่าประมาณ 1.64±0.33, 1.66±0.29 และ 1.62±0.34 มิลลิเมตรตามลำดับ

สรุป: พบหยดน้ำบนผิวเนื้อฟันที่ไม่ได้ใช้กรดกัดในฟันน้ำนมระหว่างที่ให้ความดันภายในโพรงประสาทฟัน รูปร่างของหยดน้ำมีลักษณะกลมหรือเป็นวงลี บางหยดน้ำเชื่อมต่อกัน เมื่อเพิ่มความดันพบว่าขนาดของหยดน้ำใหญ่ขึ้น ไม่พบหยดน้ำบนผิวฟันที่ใช้กรดกัดในฟันน้ำนมระหว่างที่ให้ความดันภายในโพรงประสาทฟัน

Thesis Title The Use of Replica Technique to Study Dentin Permeability in Primary Teeth

Author Ms. Monticha Rangcharoen

Degree Master of Science (Dentistry)

Thesis Advisor Asst. Prof. Dr. Varisara Sirimaharaj

Abstract

E47213

This study used twenty five intact lower primary incisors. The tooth was tested within 24 hours after extracted. The tip of root was cut off at the level of 1 mm below the CEJ. Dental pulp tissue was removed with barded broach under water. The pulp cavity was then filled with NSS and the tooth was connected to manometer. The high speed cylinder diamond bur was used for cutting the incisal edge until exposed dentin. Approximately 1 mm from exposed dentin was further removed. Intrapulpal pressure was raised to 0, 15, 30 and 45 cmH_20 consecutively for 30 seconds. Half of prepared surface was etched with 37% phosphoric acid gel while another half was left unetched. The silicone impression material was used to record study surface for each pressure levels. Resin replica was casted from the impression and then examine under SEM. The fluid droplet sizes were measures and analysed using Scion Image Program. The experimented dry dentin surface was examined under a SEM. Later, the tooth was separated longitudinally (labial to lingual) into 2 sections. The dentin surface of the separated tooth was examined in a SEM to measure the distance between cut dentin surface and pulpal roof using Scion Image Program.

The result showed the replicas of unetched dentin surface, small droplets were recorded during applying pressure from 30 seconds in most cases. The fluid droplets were tended to appear at the peripheral area more than in the central of the cut dentin surface. The mean±SD of the diameter of fluid droplets in the peripheral area of the unetched dentin surface were 5.29±0.62 μm, 5.35±0.45 μm, 5.87±0.45 μm and

E47213

6.51±0.77 μm at 0, 15, 30 and 45 cmH_2O, respectively. The droplet sizes recorded at 45 cmH_2O were statistically significant greater than those at 0 cmH_2O andv15 cmH_2O ($P<0.05$).

The mean±SD of the diameter of fluid droplets in the central area of the cut unetched dentin surface were 5.53±0.51 μm, 5.61±0.32 μm, 5.83±0.41 μm and 6.81±0.78 μm at the pressure of 0, 15, 30 and 45 cmH_2O, respectively. The droplet sizes recorded at 45 cmH_2O were statistically significant greater than those at 0 cmH_2O ($P<0.05$). In the samples that both areas show the fluid droplets, the size of droplets at the peripheral area did not differ significantly from those at the central area.

The dentinal tubules were found at the replica of an etched dentin surface of all samples. The mean±SD of the diameter of dentinal tubule in the central area of the etched dentin surface were 2.46±0.10 μm, 2.47±0.3 μm, 2.48±0.07 μm and 2.56±0.05 μm at 0, 15, 30 and 45 cmH_2O, respectively. The dentinal tubule sizes recorded at 45 cmH_2O were statistically significant greater than those at 0 cmH_2O ($P<0.05$).

The dry surface of an experimented unetched exposed dentin was uneven and the opening end of dentinal tubules was not found. But, the opening end was found on the etched exposed dentin. They appeared like circular shape in every sample. The mean±SD of the diameter of the dentinal tubule of dry dentin surface was 2.77±0.10 μm at the central area and 2.32±0.09 μm at the peripheral area. The size of dentinal tubules at the central area of the dentin dry surface was statistically significant greater than those at the peripheral area ($P<0.001$). The diameter of the dentinal tubules at the central area of the etched exposed dentin dry surface was statistically significant greater than those at the central area of etched dentin after apply different pressure ($P<0.001$).

The mean±SD of the distance from the dental pulp to the central area of unetched dentin surface, etched dentin surface and dry dentin surface were approximate 1.64±0.33 mm, 1.66±0.29 mm and 1.62±0.34 mm, respectively.

Conclusion: There was fluid appearance on unetched dentin surface in primary teeth during apply intrapulpal pressure. The shape of fluid droplets was round or ellipse and some droplets coalesced. Raising pulpal pressure resulted in the increase of the size of fluid droplets. No fluid droplet was observed on etched dentin surface in primary teeth during apply intrapulpal pressure.

TABLE OF CONTENTS

	Page
ACKNOWLEDGEMENTS	iii
ABSTRACT (THAI)	v
ABSTRACT (ENGLISH)	vii
LIST OF TABLES	xiii
LIST OF FIGURES	xv
CHAPTER I INTRODUCTION	1
1.1 Rationale	1
1.2 Objectives	3
1.3 Hypothesis	3
CHAPTER II REVIEW OF THE LITERATURE	4
2.1 Dentin	4
2.1.1 Dentinogenesis	4
2.1.2 Structure of dentin	12
2.1.3 Types of dentin	14
2.1.4 Components of dentin	16
2.2 Dentinal tubule	20

2.2.1 Dentinal tubule in primary tooth 21

2.2.2 Dentinal tubule in permanent tooth 22

2.3 Dentin permeability 24

2.3.1 Fluid flow measurement 27

2.3.1.1 Hydraulic conductant 28

2.3.1.2 Replica technique 30

2.4 Dental impression material 31

2.4.1 A non elastic impression material 32

2.4.2 An elastic impression material 33

2.4.2.1 Agar hydrocolloid 33

2.4.2.2 Alginate 33

2.4.2.3 Polysulfide rubber 33

2.4.2.4 Additional (vinyl) silicone 34

2.4.2.5 Polyether rubber 34

2.4.2.6 Condensation silicone rubber 34

CHAPTER III MATERIALS AND METHODS 37

3.1 Sample collection 37

3.2 Tooth preparation 38

3.3 Preparation of dentin surface 40

3.4 Preparation of dry dentin surface 43

3.5 Preparation tooth for measuring distance from cut dentin surface to dental pulp 43

3.6 Processing for Scanning Electron Microscope 43

3.7 Statistical Analysis 46

CHAPTER IV RESULTS 47

CHAPTER V DISCUSSION 71

CHAPTER VI CONCLUSIONS 77

BIBLIOGRAPHY 78

APPENDICES 83

Appendix A 84

Appendix B 88

Appendix C 92

Appendix D 96

Appendix E 98

Appendix F 99

Appendix G 100

Appendix H 101

Appendix I 102

Appendix J 103

Appendix K 104

Appendix L 105

Appendix M 106

CURRICULUM VITAE 107

LIST OF TABLES

Table		Page
1	The number of dentinal tubules and tubule diameter of permanent tooth	23
2	Classification of impression materials	32
3	Mechanical, physical and properties of elastic impression materials	36
4	The mean values of diameter of fluid droplets on the peripheral area of the unetched exposed dentin surface	49
5	The mean values diameter of fluid droplets on the center of the exposed unetched dentin surface	54
6	The mean values diameter of dentinal tubule on the etched exposed dentin surface	60
7	The diameter of dentinal tubules of etched dentine dry surface	67
8	The diameter of dentinal tubules of etched dentin dry surface and the replica of etched dentin surface	69
9	Conclusion sizes of fluid droplets on the peripheral area of the unetched dentin surface at 0 cmH_2O	84
10	Conclusion sizes of fluid droplets on the peripheral area of the unetched dentin surface at 15 cmH_2O	85
11	Conclusion sizes of fluid droplets on the peripheral area of the unetched dentin surface at 30 cmH_2O	86

12 Conclusion sizes of fluid droplets on the peripheral area of the unetched dentin surface at 45 cmH_2O 87

13 Conclusion sizes of fluid droplets on the central area of the unetched dentin surface at 0 cmH_2O 88

14 Conclusion sizes of fluid droplets on the central area of the unetched dentin surface at 15 cmH_2O 89

15 Conclusion sizes of fluid droplets on the central area of the unetched dentin surface at 30 cmH_2O 90

16 Conclusion sizes of fluid droplets on the central area of the unetched dentin surface at 45 cmH_2O 91

17 Conclusion sizes of dentinal tubules on the etched dentin surface at 0 cmH_2O 92

18 Conclusion sizes of dentinal tubules on the etched dentin surface at 15 cmH_2O 93

19 Conclusion sizes of dentinal tubules on the etched dentin surface at 30 cmH_2O 94

20 Conclusion sizes of dentinal tubules on the etched dentin surface at 45 cmH_2O 95

21 Conclusion sizes of dentinal tubules on the central area of the etched dentin dry surface 96

22 Conclusion sizes of dentinal tubules on the peripheral area of the etched dentin dry surface 97

LIST OF FIGURES

Figure		Page
1	A von Korff's fiber	5
2	The first collagen fibers; matrix vesicle; enamel epithelium; basal lamina	6
3	Odontoblast arrangement	7
4	Small collagen fibril; microfilament; multivesicular bodies; elongated secretory granules; mitochondria; rough endoplasmic reticulum	8
5	Interglobular dentin	9
6	The changing of odontoblasts and capillaries in the dentinogenesis process	10
7	Early development of dentin	11
8	Late development of dentin	12
9	Terminology and distribution of dentin	15
10	Dentinal tubule, peritubular dentin, intertubular dentin	19
11	The cross sectional section of the tooth	19
12	A crown cross-sectioned preparation surface	26
13	The electronic hydraulic conductance measurement system	29
14	Unetched dentin surfaces in which the pulp pressure was set at 30 mmHg	31
15	Prolonged retention of lower anterior primary teeth	37
16	Root section	38
17	The tooth was attached to Perspex collar	39
18	Connecting the collar to water manometer	40

19	Perspex cap for loading a hydrophobic, silicone rubber material	41
20	Impression from recording cut dentin surface	42
21	Samples were coated with gold palladium	44
22	A gold palladium coater machine	45
23	A Scanning Electron Microscope	45
24	A replica of the unetched dentin surface (0 cmH_2O)	50
25	A replica of the unetched dentin surface (15 cmH_2O)	51
26	A replica of the unetched dentin surface (30cmH_2O)	52
27	A replica of the unetched dentin surface (45 cmH_2O)	53
28	A replica of the unetched central dentin surface (0 cmH_2O)	55
29	A replica of the unetched central dentin surface (15 cmH_2O)	56
30	A replica of the unetched central dentin surface (30cmH_2O)	57
31	A replica of the unetched central dentin surface (45 cmH_2O)	58
32	A replica of the etched exposed dentin surface (0 cmH_2O)	61
33	A replica of the etched exposed dentin surface (15 cmH_2O)	62
34	A replica of the etched exposed dentin surface (30 cmH_2O)	63
35	A replica of the etched exposed dentin surface (45 cmH_2O)	64
36	Dentin surface of dry tooth	65
37	Dentinal tubules of the etched exposed dentin dry surface at the central area	67
38	Dentinal tubules of the etched exposed dentin dry surface at the central area	68
39	The cut dentin surface in longitudinal	70