เปรียบเทียบการหายของแผลในส่วนของเนื้อเยื่ออ่อนทางคลินิกด้วยการเสริมสันเหงือกโดยใช้กระดูกปลูกถ่ายเอกพันธุ์และเยื่อกั้นคอลลาเจนร่วมกับการใช้หรือไม่ใช้เพลทเลท ริช ไฟบริน

COMPARING OF CLINICAL SOFT TISSUE HEALING OF RIDGE AUGMENTATION BY USING ALLOGRAFT BONE AND COLLAGEN MEMBRANE WITH OR WITHOUT PLATELET-RICH FIBRIN

นวลทิพย์ ตปนียากร[1] วราภรณ์ สุวรรณรงค์[2] และ แสงโสม ประจะเนย์[3]

[1] นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาปริทันตวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, mnuanthip@hotmail.com

[2] ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาปริทันตวิทยา และกลุ่มวิจัยไบโอฟิล์ม คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, warsuw@kku.ac.th

[3] รองศาสตราจารย์ ภาควิชาปริทันตวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, sanpra@kku.ac.th

---

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้ เพื่อที่จะเปรียบเทียบการหายของแผลทางคลินิกในส่วนของเนื้อเยื่ออ่อนด้วยวิธีการผ่าตัดชักนำให้กระดูกคืนสภาพร่วมกับใช้เพลทเลท ริช ไฟบรินและไม่ใช้เพลทเลท ริช ไฟบรินในบริเวณที่มีความวิการของสันกระดูก

ผู้ป่วยสุขภาพแข็งแรง 10 ราย (เพศหญิง 8 ราย, เพศชาย 2 ราย) ที่มีความวิการของสันกระดูกเฉพาะที่ในตำแหน่งด้านตรงกันข้ามจะได้รับเลือก ให้ปลูกกระดูกโดยวิธีการชักนำให้กระดูกคืนสภาพด้วยกระดูกปลูกถ่ายเอก-พันธุ์และเยื่อกั้นคอลลาเจนทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบ แต่จะใช้เยื่อกั้นเพลทเลท ริช ไฟบรินในกลุ่มทดสอบ เพื่อประเมินการหายของเนื้อเยื่ออ่อน เยื่อกั้นเพลทเลท ริชไฟบรินได้มาจากเลือดของผู้ป่วย 10 มิลลิลิตร นำมาผสมกับกระดูกปลูกถ่ายและใช้คลุมเยื่อกั้นคอลลาเจนก่อนการปิดแผ่นเหงือกในตำแหน่งทดสอบ ประเมินการหายของเนื้อเยื่ออ่อนด้วยการประเมินความเจ็บปวด (Visual Analog Scale; VAS scale) จาก 1 ถึง 10 ในวันที่ 3, 7, 14 และ 30 ดัชนีการหายของแผล (Healing Index; HI) ให้คะแนนจากระดับ 1 ถึง 5 ในวันที่ 3, 7, 14, 30 และ 90 หลังจากการผ่าตัด

พบว่ามีการหายของเนื้อเยื่ออ่อนทุกตำแหน่งผ่าตัด ค่าเฉลี่ยความเจ็บปวดไม่แตกต่างกันทั้งสองกลุ่มหลังวันที่ 14 ค่าเฉลี่ยดัชนีการหายของแผลในกลุ่มทดสอบมีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุม ในวันที่ 3, 7 และ14 แต่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.046$) ในวันที่ 14

การใช้เพลทเลท ริช ไฟบริน เป็นวัสดุชีวภาพร่วมกับวิธีการชักนำให้กระดูกคืนสภาพ สามารถกระตุ้นการปิดของแผลและกระตุ้นกระบวนการหายของแผลในการเพิ่มขนาดสันเหงือก ทั้งนี้จำเป็นต้องมีการศึกษาในระยะยาวและมีกลุ่มตัวอย่างที่มากขึ้น เพื่อยืนยันคุณสมบัติที่ดีของเพลทเลท ริช ไฟบรินในการส่งเสริมการหายของแผลต่อไป

คำสำคัญ: เพลทเลท ริช ไฟบริน, สันเหงือกว่าง, วิศวกรรมเนื้อเยื่อ

ABSTRACT

The purpose of this study was to compare clinical soft tissue healing in guided bone regeneration using allograft bone and collagen membrane with or without platelet-rich fibrin

Ten healthy patients (8 females, 2 males) with bilateral localized alveolar ridge defects were selected in split-mouth design. Guided bone regeneration (GBR) technique was performed by using allograft and collagen membrane in both control and test sites, but platelet-rich fibrin (PRF) membrane was used only in test site to evaluate soft tissue healing. PRF membrane was obtained from venous blood sample of 10 cc mixed with allograft and to cover the collagen membrane before flap closer in a test site. The soft tissue healing was assessed by The Visual Analog Scale (VAS scale) range from 1 to 10 from day 3, 7, 14 and 30. Healing Index (HI) score range from 1 to 5 from day 3, 7, 14, 30 and 90, postoperatively.

The soft tissue healing period was eventful in all surgical sites. Mean VAS scale showed no different in both groups after 14 days. Mean HI score in test group showed higher than control group from day 3, 7 and 14, but statistical significance ($p = 0.046$) found at day 14.

Using PRF membrane as biomaterial in conjunction with GBR can accelerate initial soft tissue coverage and promote wound healing process in ridge augmentation procedure. Furthermore, larger sample size and long-term studies are needed to confirm the positive effect of PRF in enhancing the wound healing.

Keywords: Platelet-rich fibrin, Edentulous ridge, Tissue engineering

1. บทนำ

การสูญเสียฟันเป็นปัญหาสุขภาพช่องปากที่สำคัญอย่างหนึ่งของคนไทย จากการศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยที่มีผลต่อการสูญเสียฟันพบว่าโรคฟันผุ โรคปริทันต์ อุบัติเหตุต่อฟันและหรือกระดูกเบ้าฟัน การสูบบุหรี่ การเคี้ยวหมาก อายุ มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการสูญเสียฟันของประชากร (Chatrchaiwiwatana, 2007; Farzad & Mohammadi, 2012) หลังจากการสูญเสียฟันจะเกิดการละลายตัวของสันกระดูกเบ้าฟันทั้งความกว้างและความสูง โดยเสี้ยนใยกระดูกจะลดลงไป (Pietrokovski, 1975) การเปลี่ยนแปลงขนาดและรูปร่างของกระดูกเบ้าฟันจะส่งผลให้เกิดการยุบตัวของเนื้อเยื่ออ่อนในบริเวณดังกล่าวร่วมด้วย ทำให้เกิดปัญหาในการใส่ฟันเทียมที่เหมาะสมทั้งด้านการทำหน้าที่และความสวยงาม โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากจำเป็นต้องใส่ฟันเทียมชนิดรากเทียม (dental implant) (Schropp et al, 2003; Pietrokovski & Massler, 1967) วิธีการรักษาเพื่อแก้ไขความวิการของกระดูกเบ้าฟันที่ใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ การปลูก-ถ่ายกระดูก (bone graft) การยืดกระดูกรองรับฟัน (distraction osteogenesis) การแยกกระดูกรองรับฟัน (bone-splitting) และการชักนำให้กระดูกคืนสภาพ (Guided Bone Regeneration; GBR) (Jung et al, 2013) พบว่าวิธีการชัก-นำให้กระดูกคืนสภาพเป็นวิธีที่มีการนำมาใช้กันมากในปัจจุบัน โดยวิธีนี้มีหลักการคล้ายคลึงกับการชักนำให้เนื้อเยื่อ-คืนสภาพ (Guided Tissue Regeneration; GTR) (Nyman et al ,1980) การชักนำให้กระดูกคืนสภาพ มีหลักการในการแยกเนื้อเยื่ออ่อนออกจากกระดูกที่มีความวิการ โดยใช้เยื่อกั้น (barrier membrane) (Dahlin et al, 1988) โดยจะพบเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างกระดูกในลิ่มเลือดใต้เยื่อกั้นนั้น และเซลล์ที่เกี่ยวข้องนั้นจะพัฒนาไปเป็นเซลล์สร้าง-

กระดูก (osteoblast) ซึ่งจะทำหน้าที่ในกระบวนการสร้างกระดูกต่อไป (Schenk et al, 1994) การชักนำให้กระดูกคืนสภาพต้องอาศัยเซลล์ตั้งต้นหลายชนิด ดังนั้นปัจจัยพื้นฐานที่สำคัญ ได้แก่ การแยกเซลล์ออก (cell exclusion) การครอบคลุมความวิการ (tenting) การเป็นโครงค้ำยัน (scaffolding) การมีความคงที่ (stabilization) และการเป็นโครงร่าง (framework) (Wang & Carroll, 2001) นอกจากนี้การทำนายผลการรักษาด้วยวิธีการชักนำให้กระดูกคืนสภาพอาศัยหลักการ 4 ข้อดังนี้ คือ การปิดแผลแบบปฐมภูมิ (primary closure) การสร้างเส้นเลือดใหม่ (angiogenesis) การคงช่องว่าง (space maintenance) และการคงตัวของลิ่มเลือดหรือบาดแผล (stability of the blood clot/wound) (Wang & Boyapati, 2006) จากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับผลสำเร็จของการปลูกกระดูกด้วยวิธีการชักนำให้กระดูกคืนสภาพโดยการประเมินอัตราการรอดชีวิต (survival rate) และอัตราความสำเร็จ (success rate) ของรากเทียม พบว่าอัตราความสำเร็จในการฝังรากเทียมบริเวณที่มีการเสริมกระดูกทั้งในแนวราบและแนวดิ่งด้วยวิธีการชักนำให้กระดูกคืนสภาพอยู่ในช่วงร้อยละ 61.5-100 ที่การติดตามผล 6 เดือนขึ้นไป นอกจากนี้ยังมีรายงานอัตราการรอดชีวิตในการฝังรากเทียมบริเวณที่มีการปลูกกระดูกด้วยวิธีการชักนำให้กระดูกคืนสภาพอยู่ในช่วงร้อยละ 79-100 หลังการใส่ฟันเทียมอย่างน้อย 1 ปี ซึ่งอัตราการรอดชีวิตนี้ พบว่าไม่แตกต่างจากอัตราการรอดชีวิตในการฝังรากเทียมบริเวณกระดูกที่ไม่ผ่านการปลูกกระดูกมาก่อน (pristine bone) (Hammerle, 2002) ในปัจจุบันวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (tissue engineering) เป็นกระบวนการสร้างเนื้อเยื่อเพื่อให้เกิดการงอกใหม่ ซ่อมแซม และทดแทนเนื้อเยื่อรวมทั้งอวัยวะที่สูญเสียไปหรือได้รับบาดเจ็บ รวมถึงการปรับปรุงการทำงานของเนื้อเยื่อ ซึ่งองค์ประกอบหลักของวิศวกรรมเนื้อเยื่อ ได้แก่ เซลล์ (cells) โมเลกุลที่ส่งสัญญาณ (signaling molecules) และโครงค้ำยัน (scaffold) (Chen & Jin, 2010) เนื่องจากกระบวนการหายของกระดูก จะมีเซลล์ตั้งต้นในการสร้างกระดูกเข้ามาทำหน้าที่ร่วมกับสารชีวโมเลกุล (bioactive molecules) ซึ่งเซลล์และสารชีวโมเลกุลเหล่านี้จะพบได้ในบริเวณบาดแผล แต่อาจจะไม่เพียงพอต่อการกระตุ้นการสร้างกระดูกที่เหมาะสม จึงมีการคิดค้นพัฒนาและนำสารชีวโมเลกุลมาใช้ เพื่อกระตุ้นให้เกิดการหายของบาดแผลทั้งในส่วนของเนื้อเยื่ออ่อนและเนื้อเยื่อแข็งให้ดียิ่งขึ้น โดยหลายปีที่ผ่านมามีผู้ให้ความสนใจในการนำผลิตผลจากเลือดผู้ป่วยมาใช้ร่วมกับการปลูกกระดูก การคิดค้นและพัฒนาเกล็ดเลือดเข้มข้น รุ่นที่ 2 โดย Choukroun ในปี ค.ศ. 2000 เรียก เพลทเลท ริช ไฟบริน (platelet rich fibrin; PRF) (Dohan, 2006) ซึ่งเพลทเลท ริช ไฟบรินถูกนำมาใช้ในงานศัลยกรรมช่องปาก เพื่อส่งเสริมกระบวนการหายของแผล เพลทเลท ริชไฟบรินมีส่วนประกอบที่สำคัญ คือ โครงร่างตาข่ายไฟบริน (fibrin mesh) ซึ่งในโครงร่างตาข่ายไฟบรินจะพบเกล็ดเลือดร้อยละ 95 (Dohan, 2010) และเม็ดเลือดขาว (leukocyte) (Dohan, 2006; Dohan, 2010) ร้อยละ 50 (Dohan, 2010) รวมทั้งมีเพลทเลท-ดีไรฟ์ โกรธ แฟคเตอร์ (platelet-derived growth factors; PDGFs) ทรานฟอร์มมิง โกรธ แฟคเตอร์ เบตา (transforming growth factor β; TGF-β) และอินซูลิน-ไลค์ โกรธ แฟคเตอร์ (insulin-like growth factors; IGFs) มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเลือดปกติ นอกจากนี้ยังพบสายโปรตีนไกลคานิก (glycanic chains) และไกลโคโปรตีน (glycoprotein) เกาะอยู่ในโครงสร้างไฟบริน โดยส่วนประกอบเหล่านี้มีความสำคัญต่อกระบวนการหายของแผล (Dohan, 2006) เพลทเลท ริช ไฟบรินมีคุณสมบัติเป็นสารกระตุ้นที่ไม่จำเพาะ (mitogen) สามารถกระตุ้นการเจริญของเซลล์สร้างกระดูก (Gassling et al, 2010) เซลล์สร้างเส้นใยเหงือก (gingival fibroblasts) และเซลล์สร้างเส้นใยของเอ็นยึดปริทันต์ (periodontal ligament fibroblasts) ได้ จากการทบทวนวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง แสดงให้เห็นว่าเพลทเลท ริช ไฟบรินมีคุณสมบัติที่เหมาะสมหลายประการในการส่งเสริมกระบวนการหายของแผลทั้งในส่วนของเนื้อเยื่ออ่อนและเนื้อเยื่อแข็ง ดังนั้น ผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการนำ

เพลทเลท ริช ไฟบรินมาใช้ร่วมกับการผ่าตัดปลูกกระดูกในบริเวณที่มีความวิการของสันกระดูกด้วยวิธีการชักนำให้กระดูกคืนสภาพเพื่อประเมินการหายของแผลในส่วนของเนื้อเยื่ออ่อนทางคลินิก

2. วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อที่จะเปรียบเทียบการหายของแผลทางคลินิกในส่วนของเนื้อเยื่ออ่อนด้วยวิธีการผ่าตัดชักนำให้กระดูกคืนสภาพร่วมกับใช้เพลทเลท ริช ไฟบรินและไม่ใช้เพลทเลท ริช ไฟบรินในบริเวณที่มีความวิการของสันกระดูก

3. ระเบียบวิธีการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัยและการกำหนดกลุ่มตัวอย่าง

เป็นการศึกษาวิจัยเชิงทดลองทางคลินิกแบบมีกลุ่มควบคุมที่มีการจัดกลุ่มด้วยวิธีสุ่ม (randomized, controlled clinical trials) โดยการสุ่มตัวอย่างแบบง่าย ในผู้ป่วยที่จำเป็นต้องได้รับการผ่าตัดปลูกกระดูกก่อนการฝังรากเทียมที่มารับการรักษาที่คลินิกศัลยกรรมปริทันต์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น แบบแบ่งส่วนช่องปาก (split-mouth design) เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุม (control) คือ บริเวณที่ได้รับการผ่าตัดด้วยวิธีการชักนำให้กระดูกคืนสภาพโดยการใช้กระดูกปลูกถ่ายเอกพันธุ์ชนิดชัวร์ออส® พลัส (SureOss® Plus, Hans Biomed Corp., Seoul, Korea) ร่วมกับการใช้เยื่อกั้นคอลลาเจนชนิดคอลลาไกด์® (CollaGuide®, Bioland, Cheongwon, Korea) และกลุ่มทดสอบ (test) คือ บริเวณที่ได้รับการผ่าตัดด้วยวิธีการชักนำให้กระดูกคืนสภาพโดยการใช้กระดูกปลูกถ่ายเอกพันธุ์ชนิดชนิดชัวร์ออส® พลัส ผสมกับชิ้นเพลทเลท ริช ไฟบรินร่วมกับการใช้เยื่อกั้นคอลลาเจนชนิดคอลลาไกด์® และเยื่อเพลทเลท ริช ไฟบริน

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษานำร่อง โดยมีการกำหนดประชากร คือ 10 ราย แบ่งเป็นกลุ่มควบคุม 10 บริเวณ และกลุ่มทดสอบ 10 บริเวณ ข้อกำหนดในการคัดเข้าของประชากรศึกษานี้ (inclusion criteria) ได้แก่ เป็นผู้ป่วยเพศชายหรือเพศหญิงอายุระหว่าง 18-70 ปี มีสุขภาพร่างกายแข็งแรง ไม่มีโรคทางระบบที่มีผลต่อการหายของแผลทั้งในส่วนเนื้อเยื่ออ่อนและเนื้อเยื่อแข็ง ผู้ป่วยที่มีความวิการของสันกระดูกบริเวณสันเหงือกว่างในแนวราบและแนวดิ่ง ทั้งด้านซ้ายและด้านขวา ดังนี้คือ ความวิการของกระดูกจะต้องอยู่ในขากรรไกรเดียวกัน ครอบคลุมบริเวณฟัน 1-2 ซี่ โดยทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบควรจะอยู่ในบริเวณเดียวกัน กล่าวคือ บริเวณส่วนหน้าของช่องปาก (anterior region) หรือบริเวณส่วนหลังของช่องปาก (posterior region) โดยไม่รวมฟันกรามหลังซี่สุดท้าย ส่วนข้อกำหนดในการคัดออกของประชากรศึกษานี้ (exclusion criteria) ได้แก่ ผู้ป่วยที่มีโรคทางระบบ เช่น โรคเบาหวาน โรคกระดูกพรุน โรคเลือด โรคความดันโลหิตสูงที่ควบคุมไม่ได้และโรคอื่น ๆ ที่ส่งผลต่อการรักษา ผู้ป่วยที่สูบบุหรี่ ดื่มแอลกอฮอล์ หรือใช้สารเสพติด อยู่ในขณะตั้งครรภ์หรือให้นมบุตร มีประวัติรับการรักษาด้วยเคมีบำบัด รังสีรักษาที่บริเวณศีรษะ ใบหน้าและขากรรไกร รับประทานยาละลายเกล็ดเลือด ยาละลายลิ่มเลือด และยาสเตียรอยด์ ผู้ป่วยที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบและหรือโรคติดเชื้อในช่องปากที่ยังไม่ได้รับการรักษา ผู้ป่วยที่มีปัญหาสุขภาพจิต และผู้ป่วยที่ไม่สมัครใจและไม่สามารถเข้าร่วมรับการรักษาได้ตามกำหนด ส่วนข้อกำหนดในการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างออกจากการทดลอง (withdrawal of participant criteria) ได้แก่ ผู้ป่วยมีอาการข้างเคียงที่รุนแรงจากการผ่าตัด เช่น การติดเชื้อ มีภาวะเลือดออกผิดปกติหลังผ่าตัด ผู้ป่วยที่จำเป็นต้องได้รับการรักษาทางทันตกรรมหรือทางการแพทย์ที่ส่งผลต่อการวิจัย ผู้ป่วยไม่สามารถมาตามนัดตามระยะเวลาที่กำหนดไว้ได้ และผู้ป่วยขอถอนตัวออกจากการวิจัย

คัดกรองผู้ป่วยตามข้อกำหนดในการคัดเข้าและคัดออก อธิบายขั้นตอนและวิธีการดำเนินการวิจัยแก่ผู้ป่วยเบื้องต้น อธิบายจริยธรรมในการวิจัยและให้ผู้ป่วยกรอกใบยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย งานวิจัยนี้ได้ผ่านคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (HE592305) เรียบร้อยแล้ว

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

ผู้ดำเนินการวิจัย ประกอบด้วยทันตแพทย์จำนวน 3 คน และนักเทคนิคการแพทย์ 1 คน ดังนี้

ผู้วิจัยคนที่ 1 เป็นทันตแพทย์ มีหน้าที่เตรียมและคัดกรองผู้ป่วยเข้าร่วมโครงการตามข้อกำหนดในการคัดเข้าของประชากรศึกษา

ผู้วิจัยคนที่ 2 เป็นทันตแพทย์ มีหน้าที่ตรวจในช่องปาก ทำการผ่าตัดปลูกกระดูกด้วยวิธีการชักนำให้-กระดูกคืนสภาพทั้งบริเวณกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบ

ผู้วิจัยคนที่ 3 เป็นนักเทคนิคการแพทย์ มีหน้าที่เจาะเลือดผู้ป่วยและปั่นเลือดเพื่อเตรียมเพลทเลท ริช ไฟบริน สำหรับใช้ในกลุ่มทดสอบ

ผู้วิจัยคนที่ 4 เป็นทันตแพทย์ เป็นผู้วัดผลและบันทึกข้อมูลโดย มีการปรับมาตรฐานระหว่างผู้ตรวจ (inter – examiner calibration) กับทันตแพทย์ผู้เชี่ยวชาญด้านปริทันตวิทยา และภายในผู้ตรวจ (intra– examiner calibration) โดยการตรวจซ้ำในผู้ป่วยคนเดิม ผู้ป่วยร้อยละ 10 (ผู้ป่วย 2 คน) จะถูกสุ่มเพื่อตรวจซ้ำภายหลังจากการตรวจรอบแรกไปแล้ว 30 นาที โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายในชั้น (Intraclass Correlation Coefficiency; ICC) ซึ่งต้องมีค่ามากกว่า 0.8 ขึ้นไป

3.3 วิธีการผ่าตัดปลูกกระดูกด้วยวิธีการชักนำให้กระดูกคืนสภาพ

ฉีดยาชาเฉพาะที่ด้วยยาชา 2% ลิโดเคนที่มีส่วนผสมของสารบีบหลอดเลือด (2% lidocaine with epinephrine 1:100,000) จากนั้นลงรอยกรีดบริเวณสันเหงือกว่างในแนวนอนค่อนมาทางด้านเพดานหรือลิ้นประมาณ 2-3 มิลลิเมตร ในลักษณะเฉียง (bevel) หลังจากนั้นลงรอยกรีดในแนวดิ่ง 2 ตำแหน่งเชื่อมรอยกรีดกลางสันกระดูก ให้เลยบริเวณรอยต่อเยื่อเมือก-เหงือก (mucogingival junction) เปิดแผ่นเหงือกแบบแผ่นพับที่แยกออกจากกระดูกข้างใต้และกำจัดเนื้อเยื่อแกรนูเลชันเพื่อให้เห็นความวิการของกระดูกชัดเจน ประเมินความวิการของกระดูกและวัดขนาดในแนวราบและแนวดิ่งหน่วยเป็นมิลลิเมตร ลดแรงดึงของแผ่นเหงือกโดยการกรีดบริเวณเยื่อหุ้มกระดูกทางด้านล่างของแผ่นเหงือกในแนวราบ ให้สามารถดึงแผ่นเหงือกเลื่อนขึ้นมาทางตัวฟันได้ เพื่อให้เกิดการปิดของแผลผ่าตัดแบบปฐมภูมิ (primary passive closure) กรอบริเวณกระดูกทึบ (compact bone) ที่มีความวิการด้วยหัวกรอช้าทรงกลมขนาดเล็กเป็นหลุม เพื่อให้เลือดเข้ามายังบริเวณที่จะเสริมกระดูก เติมเกล็ดกระดูกชัวร์ออส ®พลัส ที่เตรียมไว้ ให้เต็มความ-วิการของกระดูกในบริเวณที่ต้องการ หลังจากนั้นใช้เยื่อกั้นคอลลาไกด์® ปิดคลุมเกล็ดกระดูกทั้งหมด และคลุมโดยรอบบริเวณความวิการของกระดูกออกไปอย่างน้อย 3 มิลลิเมตร เย็บปิดแผลด้วยวิธีการเย็บแบบไม่ต่อเนื่อง (interrupted suture) ด้วยเข็มที่มีด้ายร้อยและวัสดุเย็บแผลแบบแบบสลายตัวชนิดไวคริล ขนาด 3-0 เพื่อให้เกิดการปิดของแผลผ่าตัดแบบปฐมภูมิมากที่สุด ส่วนในกลุ่มทดสอบจะมีการปั่นเลือดให้ได้ส่วนของ เพลทเลท ริช ไฟบริน โดยเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำมีเดียนคิวบิทอล (median cubital vein) ด้วยเข็มรูปปีกผีเสื้อเบอร์ 24 ลงในหลอดสำหรับปั่นเลือดให้ได้เพลทเลท ริช ไฟบริน ปริมาณ 10 มิลลิลิตร จำนวน 2 หลอด เท่ากับ 20 มิลลิลิตรต่อคน นำหลอดที่เก็บเลือดแล้วไปปั่นทันทีในเครื่อง A-PRF™ ที่ความเร็ว 1300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 14 นาที (ตามคู่มือของบริษัทผู้ผลิต) นำคีมคีบชิ้นเพลทเลท ริช ไฟบรินออกมาจากหลอดด้วยความนิ่มนวล ใช้กรรไกรตัดส่วนที่เป็นเม็ดเลือดแดงทาง

ด้านล่างออกไป จากนั้นนำเพลทเลท ริช ไฟบรินทั้งสองชิ้นวางไว้บนถาดและกดด้วย PRF Box® เพื่อให้เป็นเยื่อกั้น-เพลทเลท ริช ไฟบริน (PRF membrane) และของเหลว (PRF exudate) เตรียมเกล็ดกระดูกชัวร์ออส ®พลัส ผสมกับเยื่อเพลทเลท ริช ไฟบรินที่ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ และของเหลวที่ได้จากการกด หลังจากนั้นนำสารใส่ลงไปยังบริเวณกระดูกที่มีความวิการให้เต็ม ใช้เยื่อกั้นคอลลาไกด์® ปิดคลุมโดยรอบความวิการของกระดูกออกไปอย่างน้อย 3 มิลลิเมตร นำแผ่นเพลทเลท ริช ไฟบรินวางบนเยื่อกั้นคอลลาไกด์® จากบริเวณที่เป็นรอยต่อของแผ่นเหงือกบริเวณเยื่บแผลออกไปประมาณ 3 มิลลิเมตรก่อนเย็บปิดแผล ในทำนองเดียวกับกลุ่มควบคุม จากนั้นให้คำแนะนำในการดูแลแผลหลังผ่าตัด ผู้ป่วยจะได้รับยาปฏิชีวนะ น้ำยาบ้วนปากและยาบรรเทาอาการปวด

3.4 การเก็บรวบรวมข้อมูล

การประเมินความเจ็บปวดหลังผ่าตัด โดยแบบประเมินความเจ็บปวด (Visual Analog Scale; VAS) ให้ผู้ป่วยขีดเส้นลงบนแบบประเมินในช่วงหมายเลข 0-10 โดยหมายเลข 0 หมายถึงไม่มีความเจ็บปวด ส่วนหมายเลข 10 หมายถึงมีความเจ็บปวดมากที่สุด โดยประเมินในวันที่ 3, 7, 14 และ 30

ดัชนีการหายของแผลหลังผ่าตัด โดยให้ระดับค่าดัชนีการหายของแผล (Healing Index; HI) (Landry, 1988) เป็น 1-5 โดยหมายเลข 1 หมายถึงระดับการหายของแผลด้อยที่สุด ส่วนหมายเลข 5 หมายถึงระดับการหายของแผลดีที่สุด โดยประเมินในวันที่ 3, 7, 14, 30 และ 90 ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงค่าดัชนีการหายของแผล (Healing Index; HI) (Landry, 1988)

1 Very poor	Tissue colour: ≥ 50% of gingiva red ● Response to palpation: bleeding ● Granulation tissue: present ● Incision margin: not epithelialized, with loss of epithelium beyond incision margin ● Suppuration present
2 Poor	Tissue colour: ≥ 50% of gingiva red ● Response to palpation: bleeding ● Granulation tissue: present ● Incision margin: not epithelialized, with connective tissue exposed
3 Good	Tissue colour: ≥ 25% and < 50% of gingiva red ● Response to palpation: no bleeding ● Granulation tissue: none ● Incision margin: no connective tissue exposed
4 Very good	Tissue colour: < 25% of gingiva red ● Response to palpation: no bleeding ● Granulation tissue: none ● Incision margin: no connective tissue exposed
5 Excellent	Tissue colour: all tissues pink ● Response to palpation: no bleeding ● Granulation tissue: none ● Incision margin: no connective tissue exposed

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรมคำนวณสถิติ SPSS statistic 19.0 ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $\alpha = 0.05$ โดยใช้สถิติ ดังนี้ สถิติเชิงพรรณนาวิเคราะห์ข้อมูลพื้นฐานในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบ เพื่อหาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานและร้อยละของอายุ เพศ สถิติเชิงอนุมาน เปรียบเทียบดัชนีการหายของแผลและประเมินความเจ็บปวดหลังผ่าตัด ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบ กรณีข้อมูลแจกแจงปกติใช้สถิติทดสอบทีแบบจับคู่ (paired t-test) กรณีข้อมูลแจกแจงไม่ปกติใช้สถิติทดสอบเครื่องหมาย-ลำดับที่ของวิลคอกซัน (Wilcoxon signed-rank test)

4. ผลการวิจัย

ผู้ป่วย 10 ราย เพศหญิง 8 รายและเพศชาย 2 ราย อายุ 19-65 ปี (อายุเฉลี่ย 48.20 ± 16.11) บริเวณสันเหงือกว่างที่ใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบกันแบ่งออกเป็นบริเวณฟันหน้า 4 บริเวณ ฟันหลัง 4 บริเวณ และฟันหน้ากับฟันกรามน้อย 2 บริเวณ

ผลการประเมินค่าเฉลี่ยความเจ็บปวดหลังผ่าตัดพบว่า ในกลุ่มควบคุมเท่ากับ 3.6±1.19, 1.8±1.13, 0.3±0.48 และ 0 ในวันที่ 3, 7, 14 และ 30 ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มทดสอบเท่ากับ 3.3±1.33, 1.6±1.29, 0.6±0.84 และ 0 ในวันที่ 3, 7, 14 และ 30 ตามลำดับ ซึ่งในกลุ่มทดสอบมีแนวโน้มค่าเฉลี่ยความเจ็บปวดน้อยกว่าในส่วนกลุ่มควบคุม โดยไม่พบความเจ็บปวดเลย 30 วันหลังผ่าตัดในทั้งสองกลุ่ม แต่เมื่อทดสอบทางสถิติพบว่าทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $\alpha = 0.05$ ส่วนค่าเฉลี่ยความเจ็บปวดของทั้งสองกลุ่มมีแนวโน้มลดลงเท่ากับ 3.4±1.24,1.7±1.18, 0.45±0.68 และ0 ในวันที่ 3, 7, 14 และ 30 ตามลำดับ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยค่าเฉลี่ยความเจ็บปวดหลังผ่าตัดในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบ

VAS score	Day 3	Day 7	Day 14	Day 30
Control	3.6 ± 1.19	1.8 ± 1.13	0.3 ± 0.48	0
Test	3.3 ± 1.33	1.6 ± 1.29	0.6 ± 0.84	0
Mean	3.4 ± 1.24	1.7 ± 1.18	0.45 ± 0.68	0
p	0.39	0.39	0.18	1.000

ค่าเฉลี่ยดัชนีการหายของแผลหลังการผ่าตัดพบว่า ในกลุ่มควบคุมเท่ากับ 2.1±0.56, 2.3±0.67, 2.7±0.67, 4.1±0.73 และ 5 ในวันที่ 3, 7, 14, 30 และ 90 วัน ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มทดสอบเท่ากับ 2.2±0.42, 2.5±0.70, 3.1±0.73, 4.1±0.73 และ 5 ในวันที่ 3, 7, 14, 30 และ 90 วัน ตามลำดับ ซึ่งในกลุ่มทดสอบมีแนวโน้มระดับค่าเฉลี่ยดัชนีการหายของแผลมากกว่ากลุ่มควบคุม ในช่วงวันที่ 3, 7 และ 14 และเมื่อทดสอบทางสถิติพบว่าในวันที่ 14 ค่าดัชนีการหายของแผลของกลุ่มทดสอบอยู่ในระดับมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.046$) แต่ในวันที่ 30 และ 90 พบว่าทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน ส่วนค่าเฉลี่ยดัชนีการหายของแผลของทั้งสองกลุ่มมีแนวโน้มมากขึ้นเท่ากับ 2.1±0.48, 2.4±0.68, 2.9±0.71, 4.1±0.71 และ 5 ในวันที่ 3, 7, 14, 30 และ 90 ตามลำดับ ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยดัชนีการหายของแผลหลังการผ่าตัดในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบ

Healing Index	Day 3	Day 7	Day 14	Day 30	Day 90
Control	2.1 ± 0.56	2.3 ± 0.67	2.7 ± 0.67	4.1 ± 0.73	5
Test	2.2 ± 0.42	2.5 ± 0.70	3.1 ± 0.73	4.1 ± 0.73	5
Mean	2.1 ± 0.48	2.4 ± 0.68	2.9 ± 0.71	4.1 ± 0.71	5
p	0.317	0.317	0.046*	1.000	1.000

* Statistically significant ($p < 0.05$)

5. การอภิปรายผล

การศึกษานี้เป็นการศึกษานำร่องในผู้ป่วย 10 ราย ทางคลินิกแบบมีกลุ่มควบคุมที่มีการจัดกลุ่มด้วยวิธีสุ่มแบบแบ่งส่วนช่องปากด้านซ้ายและขวาในขากรรไกรเดียวกัน เพื่อที่จะเปรียบเทียบการหายของแผลทางคลินิกในส่วนของเนื้อเยื่ออ่อนด้วยวิธีการผ่าตัดชักนำให้กระดูกคืนสภาพร่วมกับใช้เพลทเลท ริช ไฟบรินและไม่ใช้เพลทเลท ริช ไฟบรินในบริเวณที่มีความวิการของสันกระดูกในระยะเวลา 90 วัน เนื่องจากการผ่าตัดในช่องปากนั้นความเจ็บปวดเป็นอาการสำคัญที่เกิดขึ้นได้ในกระบวนการหายของบาดแผล จากการศึกษานี้พบว่าผลการประเมินค่าเฉลี่ยความเจ็บปวด (VAS score) หลังผ่าตัดในกลุ่มทดสอบมีแนวโน้มความเจ็บปวดน้อยกว่ากลุ่มควบคุมในวันที่ 3 และวันที่ 7 เมื่อทดสอบทางสถิติพบว่าทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $\alpha = 0.05$ โดยค่าเฉลี่ยความเจ็บปวดทั้งสองกลุ่มมีแนวโน้มลดลงจากวันที่ 3 เท่ากับ 3.4 ± 1.24 ถึงวันที่ 7 เท่ากับ 1.7 ± 1.18 และไม่พบความเจ็บปวดเลยในวันที่ 30 เช่นเดียวกับการศึกษาของ Alparslan และคณะ (Alparslan, 2017) ไม่พบความแตกต่างของกลุ่มทดสอบที่มีการใส่เพลทเลท ริช ไฟบรินในแผลถอนฟันกรามซี่สุดท้ายกับกลุ่มควบคุม ในการประเมินความเจ็บปวดหลังถอนฟันไปในวันที่ 1, 3 และ 7 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีแนวโน้มลดลงจนไม่มีความเจ็บปวดในวันที่ 7 ทั้งสองกลุ่ม แต่การศึกษาของ Marenzi และคณะ (Marenzi, 2015) ที่ประเมินความเจ็บปวดของแผลถอนฟันแบบแบ่งส่วนช่องปากในกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดสอบที่ใส่เพลทเลท ริช ไฟบริน ในผู้ป่วย 26 ราย พบว่าระดับความเจ็บปวดเฉลี่ยหลังการทดลองในกลุ่มทดสอบเท่ากับ 3.2 ± 0.3 และกลุ่มควบคุมเท่ากับ 4.1 ± 0.1 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในวันที่ 3 หลังการถอนฟันทั้งสองกลุ่ม โดยพบว่าผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มไม่มีความเจ็บปวดในวันที่ 4 หลังการถอนฟัน ซึ่งหลายการศึกษาพบความขัดแย้งในเรื่องความเจ็บปวดของกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบ เนื่องจากอาจเกิดจากหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น วิธีการทดลอง ตำแหน่งหัตถการ ระยะเวลาในการทำหัตถการและระยะเวลาในการประเมินความเจ็บปวดของแต่ละการศึกษา

นอกจากนี้จากการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยดัชนีการหายของแผล (HI) หลังการผ่าตัดในกลุ่มทดสอบมีแนวโน้มมากกว่ากลุ่มควบคุมในวันที่ 3, 7 และ 14 โดยพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.046$) ในวันที่ 14 และหลังจากนั้นค่าเฉลี่ยดัชนีการหายของแผลในวันที่ 30 และ 90 ของทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า เพลทเลท ริช ไฟบริน สามารถกระตุ้นให้เกิดการหายของแผลได้ดีในช่วง 14 วัน หลังการผ่าตัด ซึ่งสามารถอธิบายได้ จากการศึกษาในห้องทดลองที่พบว่าโกรธแฟคเตอร์จะถูกปล่อยออกมาอย่างต่อเนื่องจากเพลทเลท ริช-ไฟบรินในช่วง 5 ชั่วโมงแรก (Su et al, 2009) จนถึง 7 วัน (Dohan et al, 2009) หรือในบางการศึกษานานถึง 28 วัน (Su et al, 2009) ซึ่งหมายถึงเพลทเลท ริช ไฟบรินจะสามารถกระตุ้นสิ่งแวดล้อมในเวลาที่เหมาะสมในการสร้าง

เนื้อเยื่อใหม่ในช่วงแรกของขบวนการหายของแผล นอกจากนี้ยังเพิ่มการเกาะของเซลล์ เพิ่มจำนวนเซลล์และคอลลาเจนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ (Wu et al, 2009) โดยเยื่อเพลทเลท ริช ไฟบรินสามารถกระตุ้นให้เกิดการพัฒนาขั้นตอนสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผลและการเจริญเต็มที่ของเนื้อเยื่ออ่อน จากการที่ไฟบรินเป็นสารธรรมชาติที่ช่วยในการสร้างหลอดเลือดใหม่ อาศัยเมทริกซ์ภายนอกเซลล์ที่ช่วยทำให้เซลล์หลอดเลือด (endothelial cell) มีการเคลื่อนที่ แบ่งตัวและมีลักษณะการแสดงออกต่างๆ โดย Dohan และคณะ (Dohan et al, 2009) พบว่าเยื่อเพลทเลท ริช ไฟบรินสามารถปลดปล่อยเพลทเลท-ดีไรฟ์ โกรธ แฟคเตอร์และทรานฟอร์มมิง โกรธ-แฟคเตอร์-เบตาได้อย่างช้าๆ อย่างมีนัยสำคัญ อย่างน้อยนาน 1 สัปดาห์ ซึ่งแสดงว่าเยื่อกั้นเพลทเลท ริช ไฟบรินที่นำมาใช้ร่วมในการผ่าตัดครั้งนี้ จะกระตุ้นให้เกิดสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการสร้างใหม่ของแผลได้ คล้ายคลึงกับในการศึกษาของ Jankovic และคณะ (Jankovic, 2012) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบการหายของแผลหลังปิดเหงือกร่นในผู้ป่วย 15 รายแบบแบ่งส่วนช่องปากในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบที่มีการใช้เพลทเลท ริช ไฟบริน พบว่าดัชนีการหายของแผลในกลุ่มทดสอบมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในช่วง 1 และ 2 สัปดาห์หลังการผ่าตัด จากความหนาแน่นสูง (high density) ของเส้นใยไฟบริน (fibrin fibers) ที่ทำให้เกิดความคงตัวของแผลผ่าตัดและชักนำให้เกิดการสร้างใหม่ของหลอดเลือดเข้ามาเลี้ยงบาดแผลอย่างรวดเร็ว โดยค่าดัชนีการหายของแผลที่มีแนวโน้มดีขึ้นเกิดจากการทำงานของโกรธแฟคเตอร์หลักในเพลทเลท ริช ไฟบริน ได้แก่ เพลทเลท-ดีไรฟ์ โกรธแฟคเตอร์ วาสคูลาร์-เอนโดธีเลียล โกรธแฟคเตอร์และทรานฟอร์มมิง โกรธแฟคเตอร์ ในการสร้างหลอดเลือดใหม่และเมทริกซ์ของเซลล์ในกระบวนการหายของเนื้อเยื่ออ่อน

จากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าผลของค่าเฉลี่ยดัชนีการหายของแผลที่มีแนวโน้มมากขึ้นและค่าเฉลี่ยความเจ็บปวดของแผลหลังผ่าตัดที่ลดลงในทั้งสองกลุ่ม โดยกลุ่มที่ใช้ เพลทเลท ริช ไฟบรินร่วมด้วยสามารถส่งเสริมกระบวนการสร้างใหม่ของเนื้อเยื่ออ่อน ทำให้ผลการหายของแผลในระยะ 2 สัปดาห์แรกดีขึ้นอย่างชัดเจน ส่วนผลการศึกษาในส่วนการหายของกระดูกนั้นจะต้องมีการติดตามในระยะยาวต่อไป

6. บทสรุปและข้อเสนอแนะ

เพลทเลท ริช ไฟบริน สามารถส่งเสริมกระบวนการสร้างใหม่ของเนื้อเยื่ออ่อนทางคลินิก ทำให้ผลการหายของแผลในระยะ 2 สัปดาห์แรกดีขึ้นอย่างชัดเจน แต่เนื่องจากการศึกษานี้เป็นการศึกษานำร่อง จึงควรมีการเพิ่มจำนวนกลุ่มตัวอย่างให้มากขึ้น เพื่อให้เกิดความมั่นใจมากยิ่งขึ้น สามารถนำไปพัฒนาและประยุกต์ใช้ในทางทันตกรรมเพิ่มขึ้นต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาทุกท่าน เจ้าหน้าที่และบุคลากร คลินิกศัลยกรรมปริทันต์ คลินิกทันตรังสี คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และกลุ่มวิจัยไบโอฟิล์มที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Chatrchaiwiwatana, S. (2007). Factors affecting tooth loss among rural Khon Kaen adults: analysis of two data sets. *Public Health*, 121(2), 106-112. doi: 10.1016/j.puhe.2006.06.010

Chen, F. M., & Jin, Y. (2010). Periodontal tissue engineering and regeneration: current approaches and expanding

opportunities. *Tissue Eng Part B Rev*, 16(2), 219-255. doi: 10.1089/ten.TEB.2009.0562

Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J., Mouhyi, J., & Gogly, B. (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics*, 101(3), e51-55. doi: 10.1016/j.tripleo.2005.07.010

Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J., Mouhyi, J., & Gogly, B. (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics*, 101(3), e45-50. doi: 10.1016/j.tripleo.2005.07.009

Dohan, D. M., Del Corso, M., Diss, A., Mouhyi, J., & Charrier, J. B. (2010). Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane. *J Periodontol*, 81(4), 546-555.

Dohan, D. M., de Peppo, G. M., Doglioli, P., & Sammartino, G. (2009). Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth Factors*, 27(1), 63-69.

Dahlin, C., Linde, A., Gottlow, J., & Nyman, S. (1988). Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plast Reconstr Surg*, 81(5), 672-676.

Dohan, D. M., Rasmusson, L., & Albrektsson, T. (2009). Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol*, 27(3), 158-167.

Esen, A., Menziletoğlu, D., &IŞık, BK. (2017). Effect of plateletrich fibrin in reducing postoperative complications after impacted third molar surgery: a prospective, randomized controlled clinical study. *Acta Odontol Turc*, 34(2), 46-49.

Farzad, M., & Mohammadi, M. (2012). Guided bone regeneration: A literature review. J Oral Health Oral *Epidemiol*, 1(1), 3-18.

Gassling, V., Douglas, T., Warnke, P. H., Acil, Y., Wiltfang, J., & Becker, S. T. (2010). Platelet-rich fibrin membranes as scaffolds for periosteal tissue engineering. *Clin Oral Implants Res*, 21(5), 543-549.

Jankovic, S., Aleksic, Z., Klokkevold, P., Lekovic, V., Dimitrijevic, B., Kenney, E. B., & Camargo, P. (2012). Use of platelet-rich fibrin membrane following treatment of gingival recession: a randomized clinical trial. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 32(2), e41-50.

Jung, R. E., Fenner, N., Hammerle, C. H., & Zitzmann, N. U. (2013). Long-term outcome of implants placed with guided bone regeneration (GBR) using resorbable and non-resorbable membranes after 12-14 years. *Clin Oral Implants Re*s, 24(10), 1065-1073.

Landry, R. G., Turnbull, R. S., & Howley, T. (1988). Effectiveness of benzydamyne HC1 in the treatment of periodontal post-surgical patients. *Res Clin Forum*, 10, 105-118.

Marenzi, G., Riccitiello, F., Tia, M., di Lauro, A., & Sammartino, G. (2015). Influence of Leukocyte- and Platelet-

Rich Fibrin (L-PRF) in the Healing of Simple Postextraction Sockets: A Split-Mouth Study. *Biomed Res Int*, 2015, 369273.

Nyman, S., Karring, T., Lindhe, J., & Planten, S. (1980). Healing following implantation of periodontitis-affected roots into gingival connective tissue. *J Clin Periodontol*, 7(5), 394-401.

Pietrokovski, J. (1975). The bony residual ridge in man. *J Prosthet Dent*, 34(4), 456-462.

Schropp, L., Wenzel, A., Kostopoulos, L., & Karring, T. (2003). Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: a clinical and radiographic 12-month prospective study. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 23(4), 313-323.

Schenk, R. K., Buser, D., Hardwick, W. R., & Dahlin, C. (1994). Healing pattern of bone regeneration in membrane-protected defects: a histologic study in the canine mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 9(1), 13-29.

Su, C. Y., Kuo, Y. P., Tseng, Y. H., Su, C. H., & Burnouf, T. (2009). In vitro release of growth factors from platelet-rich fibrin (PRF): a proposal to optimize the clinical applications of PRF. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics*, 108(1), 56-61.

Tsai, C. H., Shen, S. Y., Zhao, J. H., & Chang, Y. C. (2009). Platelet-rich fibrin modulates cell proliferation of human periodontally related cells in vitro. *J Dent Sci*, 4, 130-135.

Wang, H. L., & Boyapati, L. (2006). "PASS" principles for predictable bone regeneration. *Implant Dent*, 15(1), 8-17.

Wang, H. L., & Carroll, M. J. (2001). Guided bone regeneration using bone grafts and collagen membranes. *Quintessence Int*, 32(7), 504-515.

Wu, C. L., Lee, S. S., Tsai, C. H., Lu, K. H., Zhao, J. H., & Chang, Y. C. (2012). Platelet-rich fibrin increases cell attachment, proliferation and collagen-related protein expression of human osteoblasts. *Aust Dent J*, 57(2), 207-212.