ผลของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคเซอิ กับระดับของทูเมอร์เน็คโครซิสแฟคเตอร์อัลฟ่าในน้ำเหลืองเหงือกของผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าฟันกรามล่างซี่ที่สามคุด

EFFECT OF PROBIOTIC *Lactobacillus paracasei* ON TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA LEVEL IN GINGIVAL CREVICULAR FLUID AMONG PATIENTS UNDERGOING IMPACTED THIRD MOLAR REMOVAL

สุสมา บรรจงจิตร

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2563

ผลของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคเซอิ กับระดับของทูเมอร์เน็คโครซิสแฟคเตอร์อัลฟ่าในน้ำเหลืองเหงือกของผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าฟันกรามล่างซี่ที่สามคุด

สุสมา บรรจงจิตร

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ปีการศึกษา 2563
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

EFFECT OF PROBIOTIC *Lactobacillus paracasei* ON TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA LEVEL IN GINGIVAL CREVICULAR FLUID AMONG PATIENTS UNDERGOING IMPACTED THIRD MOLAR REMOVAL

SUSAMA BANJONGJIT

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of MASTER OF SCIENCE

(Oral and Maxillofacial Sciences)

Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University

2020

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

ผลของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคเซอิ กับระดับของทูเมอร์เน็คโครซิสแฟคเตอร์อัลฟ่า ในน้ำเหลืองเหงือกของผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าฟันกรามล่างซี่ที่สามคุด

ของ

สุสมา บรรจงจิตร

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

..... ที่ปรึกษาหลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร. ทพ.สรสัณห์ รังสิยานนท์)

..... ประธาน

(ศาสตราจารย์ ดร.สมบูรณ์ ธนาศุภวัฒน์)

..... ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร.มาลัย ทวีโชติภัทร์)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทพญ.มานิสา ศรีชลเพ็ชร์)

ชื่อเรื่อง	ผลของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคเซอิ กับระดับของทูเมอร์เน็คโครซิสแฟคเตอร์อัลฟ่า ในน้ำเหลืองเหงือกของผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าฟันกรามล่างซี่ที่สามคุด
ผู้วิจัย	สุสมา บรรจงจิตร
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2563
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. ทพ. สรสัณห์ รังสิยานนท์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. มาลัย ทวีโชติภัทร์

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย : เพื่อศึกษาผลของโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* ที่มีต่อระดับของไซโตไคน์ที่ทำให้เกิดการอักเสบชนิด TNF-α ในน้ำเหลืองเหงือก อาการปวด อาการบวม ภาวะการอ้าปากลำบาก และระยะการอ้าปากในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าฟันคุด วัสดุและวิธีการทดลอง : เก็บข้อมูลจากผู้ป่วยที่เข้ามารับการผ่าฟันคุดล่าง ที่ภาควิชาศัลยศาสตร์และเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ จำนวน 30 คน โดยแบ่งเป็นสองกลุ่มคือ (1) กลุ่มทดลองที่ได้รับการล้างแผลด้วยน้ำเกลือผสมโพรไบโอติก และ (2) กลุ่มควบคุมที่ได้รับการล้างแผลด้วยน้ำเกลือ 0.9% โดยมีการเก็บรวบรวมข้อมูลน้ำเหลืองเหงือก ข้อมูลอาการปวด อาการบวม การอ้าปากลำบากด้วย Visual analog scale score และระยะการอ้าปากทั้งหมด 3 ครั้ง คือก่อนการทำหัตถการ หลังการทำหัตถการที่ 24 ชั่วโมง และ หลังการทำหัตถการ 7 วัน ซึ่งน้ำเหลืองเหงือกจะมีการนำมาวิเคราะห์หาปริมาณระดับของ TNF-α ด้วยวิธีการ ELISA โดยข้อมูลจะมีการนำมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยสถิติอ้างอิง (ANCOVA และ Mann-Whitney U test) ที่ระดับความเชื่อมั่น $p<0.05$ ผลการทดลอง : โพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei -MSMC39* สามารถลดระดับการหลั่งของสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ในน้ำเหลืองเหงือกในกลุ่มทดลอง และมี %TNF-α inbition ที่ดีกว่ากลุ่มควบคุม ($p<0.05$) สำหรับ Visual analog scale score ของอาการปวด อาการบวม และภาวะการอ้าปากลำบากในกลุ่มทดลองนั้นมีค่าน้อยกว่าในกลุ่มควบคุม ($p>0.05$) ในขณะที่ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าค่าเฉลี่ยของระยะการอ้าปากของกลุ่มทดลองมีค่าสูงกว่าค่าเฉลี่ยของระยะการอ้าปากของกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p=0.014$ สรุปผลการทดลอง : ผลการวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* สามารถลดระดับของสารสื่ออักเสบ TNF-α ในน้ำเหลืองเหงือกได้ และแสดงให้เห็นถึงผลเชิงบวกของการลดภาวะแทรกซ้อนอาการปวก อาการบวม และภาวะการอ้าปากลำบาก ที่เกิดขึ้นภายหลังการทำหัตถการ

คำสำคัญ : โพรไบโอติก, น้ำยาล้างแผล, ทูเมอร์เน็กโครซิสแฟคเตอร์อัลฟ่า

Title	EFFECT OF PROBIOTIC *Lactobacillus paracasei* ON TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA LEVEL IN GINGIVAL CREVICULAR FLUID AMONG PATIENTS UNDERGOING IMPACTED THIRD MOLAR REMOVAL
Author	SUSAMA BANJONGJIT
Degree	MASTER OF SCIENCE
Academic Year	2020
Thesis Advisor	Associate Professor Dr. Sorasun Rungsiyanonte
Co Advisor	Associate Professor Dr. Malai Taweechotipatr

Objective: To evaluate the effects of the probiotic *Lactobacillus paracasei* on Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) levels in gingival crevicular fluid, pain, swelling, trismus, and interincisal distance among patients undergoing impacted third molar removal. Materials and Methods: The population consisted of 30 patients who were undergoing impacted third molar removal at the Department of Oral Surgery and Oral Medicine at Srinakharinwirot University. They divided into two groups: wound irrigation with a probiotic and with 0.9% normal saline for the control group. Also, gingival crevicular fluid was collected. The subjective visual analog scale score of pain, swelling, trismus, and interincisal distance were collected at three different time periods (baseline before surgery, 24 hours, and seven days after the operation respectively). The gingival crevicular fluid was determined using the TNF- α level by ELISA technique. The data were statistically analyzed with inferential statistics (ANCOVA and Mann-Whitney U test) at a statistically significant level of $p<0.05$ significantly. Result: The probiotic *Lactobacillus paracasei -MSMC39* could reduce the TNF-α level in gingival crevicular fluid in the experimental group and had a higher percentage of TNF-α inhibition than the control group ($p<0.05$). The visual analog scale score of pain, swelling, and trismus in the experimental group was lower than in the control group ($p>0.05$). Meanwhile, the result indicated that the mean of the interincisal distance of the experimental group was higher than the mean of the control group at a statistically significant level of $p=0.014$. Conclusion: The results indicated that probiotic *Lactobacillus paracasei* can reduce TNF-α levels in gingival crevicular fluid and had positive effects on the reduction of post-operative complications in the terms of pain, swelling, and trismus.

Keyword : probiotics, mouth irrigation, TNF-α

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความอนุเคราะห์จาก รองศาสตราจารย์ ดร. ทพ. สรสัณห์ รังสิยานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และ รองศาสตรจารย์ ดร. มาลัย ทวีโชติภัทร์ อาจารย์ที่ปรึกษารอง ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์ให้คำปรึกษา คำแนะนำ และให้ความช่วยเหลือตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร้องต่างๆ ทำให้ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ครบถ้วน ตลอดจนให้กำลังใจและความเมตตา และความเอาใจใส่ตลอดระยะเวลาที่ทำการวิจัยอย่างดียิ่ง ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณอาจารย์เป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณศาสตรจารย์ ดร. สมบูรณ์ ธนาศุภวัฒน์ ประธานกรรมการสอบปริญญานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตรจารย์ ดร. ทพญ. มานิสา ศรีชลเพ็ชร์ กรรมการสอบปริญญานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำ แนวทางแก้ไขข้อคิดในการทำปริญญานิพนธ์ ตลอดจนคณาจารย์สาขาวิชาวิทยาการช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล และคณาจารย์ทุกท่านที่ประสาทวิชาความรู้ให้แก่ผู้วิจัยตลอดระยะเวลาที่ศึกษาอยู่จนประสบความสำเร็จ

ขอขอบพระคุณนางสาวบุญรัตน์ ลัดดลา และนางสาวพรทิพา วิธีจงเจริญ และภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลความรู้ และให้ความอนุเคราะห์ช่วยเหลือสถานที่และอุปกรณ์ในการทำวิจัย ตลอดจนช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกให้ตลอดระยะเวลาที่ทำการวิจัยเป็นอย่างดียิ่ง

ขอขอบพระคุณนางสาวสรินพร ผลานุสนธิ์ นางสาวรานี สมรัตน์ นางสาววรรณเพ็ญ สร้อยสูงเนิน นายนิรุธ ศรีมันตะ นางสาวกุลธิดา อ่อนสะอาด ภาควิชาศัลยศาสตร์และเวชศาสตร์ช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์อำนวยความสะดวก ให้ความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาการทำวิจัยเป็นอย่างดี จนสำเร็จลุล่วง

ขอขอบพระคุณทุนอุดหนุนการวิจัยจากโรงพยาบาลทันตกรรม คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒที่ทำให้การวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณครอบครัว พี่ น้อง เพื่อนนิสิตหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียลทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ และเป็นกำลังใจให้เสมอมา จนผู้วิจัยสามารถสำเร็จการศึกษาลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุสมา บรรจงจิตร

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ช

สารบัญ ..... ซ

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญรูปภาพ ..... ฎ

บทที่ 1 บทนำ 1

ภูมิหลัง 1

ความมุ่งหมายของงานวิจัย 4

ความสำคัญของงานวิจัย 4

ขอบเขตของงานวิจัย 5

ประชากรที่ใช้ในงานวิจัย 5

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในงานวิจัย 5

ตัวแปรที่ศึกษา 6

กรอบแนวคิดงานวิจัย 7

สมมติฐานในการวิจัย 7

บทที่2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 8

งานศัลยกรรมในช่องปาก 8

การผ่าฟันคุด 8

กระบวนการอักเสบและการหายของแผล 12

หัตถการและสารสื่ออักเสบ 17

Tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) 18
โพรไบโอติก 19
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 24
การกำหนดประชากรและการเลือกกลุ่มตัวอย่าง 24
วัสดุอุปกรณ์และการเก็บรวบรวมข้อมูล 26
การวิเคราะห์ข้อมูล 32
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล 34
ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง 34
ผลการวิเคราะห์ข้อมูลข้อมูลฟันคุดของกลุ่มตัวอย่าง 36
ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของตัวแปร 38
ผลการเปรียบเทียบระดับของสารสื่ออักเสบ TNF- α 38
ผลการเปรียบเทียบผลการประเมินอาการปวด อาการบวม การอ้าปาก โดยใช้ Visual analog scale (VAS) 43
ผลการเปรียบเทียบระดับการอ้าปาก 46
บทที่ 5 อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ 49
อภิปรายผลการวิจัย 49
สรุปผลการวิจัย 52
ข้อเสนอแนะ 52
บรรณานุกรม 54
ภาคผนวก 60
ประวัติผู้เขียน 72

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทั่วไป 35

ตาราง 2 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลฟันคุด 37

ตาราง 3 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของกลุ่มทดลองและควบคุม 39

ตาราง 4 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของกลุ่มทดลอง 39

ตาราง 5 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของกลุ่มควบคุม 41

ตาราง 6 แสดงผลการประเมินอาการปวด อาการบวม และการอ้าปาก โดยใช้ Visual analog scale (VAS) score 44

ตาราง 7 แสดงผลการเปรียบเทียบระดับการอ้าปาก (มิลลิเมตร) 47

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพประกอบ 1 กรอบแนวคิดวิจัย 7

ภาพประกอบ 2 แสดงชนิดของฟันคุดล่าง Class I 9

ภาพประกอบ 3 แสดงชนิดของฟันคุดล่าง Class II 10

ภาพประกอบ 4 แสดงชนิดของฟันคุดล่าง Class III 11

ภาพประกอบ 5 แสดงกระบวนการหายของแผล 13

ภาพประกอบ 6 แสดง cytokines ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการ inflammation 15

ภาพประกอบ 7 แสดง mediator ต่าง ๆ ของ macrophage ที่ผลิตระหว่างการเกิดการหายของแผล 16

ภาพประกอบ 8 แสดงเพศของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม 35

ภาพประกอบ 9 แสดงอายุเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม ... 36

ภาพประกอบ 10 แสดงชี่ของฟันคุดที่ได้รับการผ่า 36

ภาพประกอบ 11 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของกลุ่มทดลอง 40

ภาพประกอบ 12 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของกลุ่มควบคุม 41

ภาพประกอบ 13 แสดงผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม 42

ภาพประกอบ 14 แสดงค่า% TNF-α inhibition ของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม 43

ภาพประกอบ 15 แสดงผลผลการประเมินการอ้าปากโดยใช้ Visual analog scale (VAS) score ของอาการปวด อาการบวม และการอ้าปาก 45

ภาพประกอบ 16 แสดงระดับการอ้าปากของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม 48

บทที่ 1
บทนำ

ภูมิหลัง

งานศัลยกรรมช่องปาก เป็นงานผ่าตัดอวัยวะภายในช่องปาก ประกอบด้วยหัตถการต่าง ๆ อาทิเช่น การถอนฟัน การผ่าฟันคุด การผ่าตัดฟันฝัง การผ่าตัดตกแต่งปุ่มกระดูก การผ่าตัดเนื้อยึด การผ่าตัดเพื่อการทำศัลยกรรมรากเทียม เป็นต้น[1] งานศัลยกรรมช่องปากมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการหายของแผลอย่างมาก เนื่องจากหัตถการที่ทำนั้นเป็นการผ่าตัดที่ทำให้เกิดแผล มีผลกระตุ้นร่างกายให้เกิดกระบวนการตอบสนองต่อการเกิดบาดแผล[2]

ฟันกรามซี่ที่สามเป็นฟันซี่สุดท้ายที่จะขึ้นมาในช่องปาก และมักจะกลายเป็นฟันคุดที่ไม่สามารถขึ้นมาในช่องปากได้ หลายครั้งคนไข้จะไม่มีอาการใด ๆ แต่ในบางครั้งฟันคุดที่ไม่ขึ้นมาในช่องปากนั้นก็ก่อให้เกิดความผิดปกติต่าง ๆ ได้[3] โดยทั่วไปฟันคุดควรทำการผ่าตัดออก ยกเว้นมีข้อห้ามในการทำหัตถการ การผ่าฟันคุดนั้นจะมีความยากเพิ่มขึ้นเมื่อคนไข้มีอายุเพิ่มขึ้น และเมื่อปล่อยทิ้งไว้อาจเกิดความยุ่งยากในการผ่าตัดและเกิดผลข้างเคียงในการผ่าตัดเพิ่มขึ้นได้[4]

อาการบวมหลังผ่าฟันคุดนั้น เป็นผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นได้เป็นปกติในการผ่าฟันคุดซี่ที่สาม เนื่องจากการตอบสนองต่อการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อระหว่างการทำการผ่าฟันคุด อาการบวมจะบวมสูงสุดในระยะเวลา 48 ชั่วโมงหลังจากการผ่าตัด[5] หลังจากนั้นจะบวมลดลงในวันที่ 4[6-8] และหายอย่างเกือบเป็นปกติในวันที่ 7[6-8] เนื่องจากอาการบวม เป็นผลมาจากการการอักเสบที่ตอบสนองต่อการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อ ทันตแพทย์หลายท่านจึงมีการจ่ายเสตียรอยด์เพื่อลดอาการปวดบวม โดยกลไกของยาจะไปทำให้เกิดหลอดเลือดหดตัว และกดการหลั่งสารอักเสบต่าง ๆ เช่น prostaglandins และ leukotriene ซึ่งเป็นสารสื่ออักเสบที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการเกิดการบวม[5]

การบวมที่เป็นผลข้างเคียงจากการผ่าฟันคุดนั้น เป็นส่วนหนึ่งของการทำงานของสารสื่ออักเสบต่าง ๆ ที่อยู่ในกระบวนการตอบสนองของร่างกายต่อการเกิดแผล ซึ่งกระบวนการตอบสนองของร่างกายต่อการเกิดแผลนั้นจะพบว่าสามารถแบ่งได้เป็น 3 ขั้นตอนที่มีความต่อเนื่องกัน นั่นคือ ระยะ hemostasis และ inflammatory ระยะ proliferative และระยะ remodeling[9] โดยแต่ละระยะของกระบวนการหายของแผลนั้น จะมีความเกี่ยวข้องกับเซลล์เม็ดเลือดขาวต่าง ๆ และสารสื่ออักเสบ โดยเซลล์ที่มีบทบาทมากในกระบวนการหายของแผลนั้นคือ Neutrophils และ Macrophage เซลล์ทั้งสองชนิดนี้จะมีบทบาทในการหลั่งสารสื่ออักเสบต่าง ๆ ออกมา เพื่อกระตุ้นให้เกิดกระบวนการหายของแผล[2] ในขณะเดียวกันสารที่หลั่งออกมา ก็เป็น

สารสื่ออักเสบซึ่งหากมีปริมาณไม่เหมาะสมหรือมากเกินไป จะทำให้การหายของแผลเกิดขึ้นได้ไม่ดี[10] ในแผลที่การหายของแผลมีความบกพร่องจะพบว่ามีปริมาณของ tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) เฉพาะที่และในระบบสูงขึ้น มีรายงานในหลายงานวิจัยพบว่า TNF-α มีความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เกิดการหายของแผลที่ช้าในคนได้[11]

Tumor necrosis factor-alpha

TNF-α เป็น proinflammatory cytokine ที่ถูกสร้างมาจาก macrophage และ lymphocyte ระหว่างกระบวนการอักเสบเฉียบพลัน โดยทั่วไปจะหลั่งออกมาหลังจากเนื้อเยื่อได้รับอันตราย มีบทบาทในการเรียก neutrophils และ macrophage เข้ามาในบาดแผลเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้าง chemokine และ matrix metallopeptidases (MMPs) ในกระบวนการอักเสบจะพบว่า TNF-α , IL-1, IL-6 จะมีความเข้มข้นสูง[12] โดย TNF-α และ IL-1 เป็น cytokines ที่มีความสำคัญในการตอบสนองอย่างเฉียบพลัน TNF-α จะมีปริมาณสูงสุดใน 1 วันหลังจากนั้นจากนั้นจะลดลงจนถึงระดับปกติ[13] โดยบทบาทของ TNF-α ต่อ prostaglandins นั้นจะทำให้ COX-2 มีการแสดงออกมากขึ้น ทำให้ prostaglandins มีระดับสูงขึ้น เกิดการแสดงออก ปวด บวม แดง ร้อน

ในการทำหัตถการต่าง ๆ ที่ทำให้เกิดบาดแผลนั้นมีความเสี่ยงที่ทำให้เกิดความซับซ้อนทางการรักษาทันตแพทย์ล้วนมีเป้าหมายเพื่อลดความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นได้ทั้งก่อนทำหัตถการระหว่างการทำหัตถการ และหลังการทำหัตถการ เพื่อให้ได้ผลการรักษาที่ดี โดยมีการใช้วิธีการต่าง ๆ เพื่อช่วยลดความเสี่ยง และลดปริมาณสารสื่ออักเสบไม่ให้มากเกินไปในกระบวนการหายของแผลก็เช่นกัน[11]

ปัจจุบันนอกจากการใช้ยาเพื่อรักษาและลดภาวะการอักเสบแล้ว การใช้จุลินทรีย์ที่มีชีวิตก็เป็นอีกทางหนึ่งซึ่งเป็นที่นิยมในการนำมาใช้ในทางการแพทย์ เช่น ในการรักษาภาวะลำไส้อักเสบเป็นต้น จุลินทรีย์ที่มีชีวิตหรือโพรไบโอติกนั้น เมื่อมีในปริมาณที่เหมาะสมจะส่งผลดีต่อสุขภาพร่างกาย ช่วยป้องกันและรักษาโรคได้ แต่โพรไบโอติกทุกชนิดไม่ได้ให้ผลลัพธ์เหมือนกัน แต่ละสายพันธุ์ แต่ละชนิดมีกลไกและการทำงานที่ส่งผลต่อร่างกายโดยเฉพาะ โพรไบโอติกในสปีชีส์เดียวกันแต่เป็นคนละสายพันธุ์ก็ส่งผลแตกต่างกัน[14, 15]

Lactobacilli เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีรูปร่างเป็นท่อน เป็นเชื้อประจำถิ่น (Normal microbiota) ในร่างกายที่พบได้หลายอวัยวะ มีคุณสมบัติทนกรด และสามารถผลิตกรดแลคติคได้ มีหลากหลายสายพันธุ์ มีความปลอดภัย กลุ่ม lactobacilli มี

การศึกษาและนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกมากที่สุด มีบทบาทสำคัญในการควบคุมระบบภูมิคุ้มกัน มีการศึกษาในคลินิกพบว่ามีความสามารถในการป้องกันและรักษากระบวนการอักเสบต่าง ๆ เช่น ลำไส้อักเสบ บางสายพันธุ์มีความสามารถในการลดการสร้าง proinflammatory cytokine เช่น TNF-α ได้ ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มที่มีรายงานว่าช่วยลด TNF-α ได้คือกลุ่ม lactobacilli[13] จากการศึกษาค้นคว้าวิจัยเปรียบเทียบนั้นพบว่า *Lactobacillus paracasei* มีความสามารถในการปรับเปลี่ยนกระบวนการอักเสบได้ดี และสามารถลดระดับTNF-α ได้ [16]

L. paracasei ทั้งมีชีวิตและไม่มีชีวิตมีบทบาทต่อสารสื่ออักเสบที่ถูกกระตุ้นจาก lipopolysaccharide (LPS) นั้นพบว่ามีการยับยั้งการปล่อย TNF-α และ interleukin (IL) โดย *L. paracasei* มีการยับยั้งการเหนี่ยวนำของ LPS ที่ทำให้เกิดกระบวนการ IKBα phosphorelation และยังยับยั้งการ translocation ของ p50/p65 subunit ของ nuclear factor kappa B (NF-KB) จาก cytosol ไปยังนิวเคลียสใน NF-KB pathway ทำให้ลดการปล่อย proinflammatory cytokines[16]

Lactobacillus หลายสายพันธุ์ที่มีการศึกษาและนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกมากที่สุด ซึ่งสายพันธุ์ *L. paracasei* ได้รับการขึ้นทะเบียนจากกระทรวงสาธารณสุข ตามประกาศราชกิจจานุเบกษา เรื่องบัญชีรายชื่อจุลินทรีย์ที่ใช้เป็น โพรไบโอติกในอาหารเพื่อบริโภคที่ได้ (หน้าที่ 21 เล่มที่ 128 ตอนพิเศษ 86) ซึ่งโพรไบโอติกและสารที่โพรไบโอติกสร้างขึ้นมีคุณสมบัติและกลไกการทำงานที่ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ (antimicrobial activity) ปรับภูมิคุ้มกัน (immunomodulation) ลดอนุมูลอิสระ(antioxidant) ลดระดับคอลเลสเตอรอล (cholesterol lowering) ยับยั้งเซลล์มะเร็ง (anticancer) และบางสายพันธุ์สามารถลดการอักเสบ (anti-inflammmation) เป็นต้น ซึ่งโพรไบโอติกยังเป็นที่ยอมรับด้านความปลอดภัยตามหลักของ generally recognized as safe (GRAS) status จากการศึกษาสายพันธุ์โพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 ที่แยกได้จากอุจจาระเด็กทารกแรกคลอดที่มีสุขภาพดีจากศูนย์การแพทย์สมเด็จพระเทพฯ (SWUEC 37/2551) เมื่อทดสอบในหลอดทดลอง (in vitro) พบว่า น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก (probiotic supernatant) จาก *L. paracasei* MSMC39-1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง cytokine ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ (proinflammatory cytokine) ชนิด TNF-α ได้อย่างมีนัยสำคัญ[17] นอกจากนี้การศึกษา in vivo พบว่าสายพันธุ์นี้ช่วยลดการอักเสบได้ในสัตว์ทดลอง (EC no. SWU-A-012-2562, COA/AE-002-2563,) และสามารถลดการอักเสบในตับและลด liver fibrosis ได้[18] และพบว่าสายพันธุ์นี้ช่วยลดการอักเสบของสิวในคนไข้สิวอักเสบได้ (SWUEC-

339/2562F) โดยความสามารถนี้เป็นคุณสมบัติเฉพาะของโพรไบโอติกแต่ละสายพันธุ์ซึ่งอาจมีคุณสมบัติแตกต่างกันไป

งานศัลยกรรมช่องปากเป็นงานที่ทำให้เกิดแผลและเกิดการกระตุ้นกระบวนการหายของแผลซึ่งมีสารสื่ออักเสบมาเกี่ยวข้อง ปริมาณสารสื่ออักเสบที่มากเกินไปจะทำให้เกิดการหายของแผลที่ช้าลง ปัจจุบันมีการศึกษาค้นคว้าวิจัยในการนำเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์มาช่วยลดภาวะการอักเสบ แต่เนื่องจากยังไม่มีผู้ศึกษาวิจัยความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์กับภาวะการอักเสบในช่องปากที่เกิดจากการทำศัลยกรรมในช่องปาก งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโพรไบโอติก *L. paracasei* ที่มีผลต่อ TNF-α ภายในช่องปากในน้ำเหลืองเหงือก ซึ่ง *L. paracasei* ที่ใช้เป็นสายพันธุ์ MSMC39-1 ที่แยกได้จากอุจจาระเด็กทารกแรกคลอดที่มีสุขภาพดี ศูนย์การแพทย์สมเด็จพระเทพฯ (SWUEC 37/2551) มีกลไกหลักที่สามารถยับยั้งระดับ TNF-α ได้[17] ซึ่งมีการศึกษาในสัตว์ทดลองและมนุษย์แล้วว่าสามารถลดการอักเสบได้ เพื่อให้ทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่างโพรไบโอติกที่มีความสามารถในการลดสารสื่ออักเสบ และระดับของสารสื่ออักเสบที่เกิดขึ้นจากการทำศัลยกรรมในช่องปาก สามารถนำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ เพื่อให้ผู้ที่มารับการรักษาทางศัลยกรรมช่องปากได้ผลการรักษาที่ดีต่อไป

ความมุ่งหมายของงานวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ตั้งความมุ่งหมายไว้ดังนี้

1. เพื่อศึกษาผลของสายพันธุ์ *Lactobacillus paracasei* ที่มีต่อระดับของไซโตไคน์ที่ทำให้เกิดการอักเสบชนิด TNF-α ในน้ำเหลืองเหงือก ในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าฟันคุด

2. เพื่อศึกษาผลของสายพันธุ์ *Lactobacillus paracasei* ที่มีต่ออาการปวด อาการบวม และการอ้าปาก ในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าฟันคุด

3. เพื่อศึกษาผลของสายพันธุ์ *Lactobacillus paracasei* ที่มีต่อระดับการอ้าปาก ในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าฟันคุด

ความสำคัญของงานวิจัย

1. ทราบถึงผลของโพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. paracasei* ที่มีผลต่อระดับ TNF-α ในน้ำเหลืองเหงือก และอาการปวด อาการบวม และระดับการอ้าปาก ในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าฟันคุด

2. สามารถนำผลที่ได้ไปประยุกต์ใช้กับผู้ป่วยในงานทางศัลยกรรมช่องปากอื่น ๆ เพื่อลดสภาวะการอักเสบ และผลจากการอักเสบได้

ขอบเขตของงานวิจัย

เป็นการนำวิทยาศาสตร์พื้นฐานโดยกระบวนการเตรียมน้ำเกลือที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 ที่มีคุณสมบัติลดไซโตไคน์ที่ทำให้เกิดการอักเสบ นำมาการศึกษาทางคลินิก โดยสุ่มตัวอย่างจากผู้ที่มารับการผ่าฟันคุด ณ โรงพยาบาลทันตกรรม คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ จำนวน 30 คน อายุ 20-30 ปี ทั้งเพศชายและหญิง โดยเปรียบเทียบระดับ TNF-α ในน้ำเหลืองเหงือก ประเมินอาการปวด อาการบวม ระดับการอ้าปาก โดยใช้ Visual analog scale (VAS) score และวัดระดับการอ้าปาก ในผู้ป่วยที่ได้รับการล้างแผลด้วยน้ำเกลือที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* และได้รับการล้างแผลด้วยน้ำเกลือที่ไม่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. paracasei*

ประชากรที่ใช้ในงานวิจัย

ผู้ที่มารับการผ่าฟันคุดล่าง ณ โรงพยาบาลทันตกรรม คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในงานวิจัย

กลุ่มตัวอย่าง คือ ผู้ที่มารับการผ่าฟันคุดล่าง ณ โรงพยาบาลทันตกรรม คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ จำนวน 30 คน

กำหนดขนาดกลุ่มตัวอย่าง ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป G*power โดยอำนาจการทดสอบ (Power) เท่ากับ 0.90 ระดับความเชื่อมั่นที่ 0.5 และขนาดอิทธิพล (effect size) .50 (ระดับปานกลาง) การศึกษาครั้งนี้ใช้กลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่ม ได้จำนวนตัวอย่างกลุ่มละ 12 คน รวมเป็น 24 คน และเพื่อป้องกันการสูญหายของกลุ่มตัวอย่างระหว่างการทดลอง ได้ทำการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างเพิ่มขึ้นร้อยละ 20 ได้กลุ่มตัวอย่างกลุ่มละ 15 คน รวมเป็น 30 คน

คุณสมบัติของกลุ่มตัวอย่างที่เลือกเข้าศึกษา (Inclusion criteria)

1. ผู้ที่มารับการผ่าฟันคุดล่าง ณ โรงพยาบาลทันตกรรม คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
2. เป็นผู้ที่มีอายุ 20 – 30 ปี ทั้งเพศชายและหญิง
3. เป็นผู้ที่มารับการผ่าฟันคุดล่างที่มีการเปิดเหงือกและกรอกระดูกร่วมด้วย
4. เป็นผู้ที่ไม่มีโรคประจำตัว ไม่รับประทานยาใด ๆ เป็นประจำ และไม่มีประวัติการแพ้ยา
5. เป็นผู้ที่มีสุขภาวะในช่องปากดี ได้แก่ ไม่เป็นโรคปริทันต์อักเสบ โรคถุงหนองปลายรากฟันทั้งที่กำลังอยู่ในระหว่างการรักษาคลองรากฟันหรือวางแผนที่จะได้รับการรักษาคลอง

รากฟัน รวมทั้งผู้ป่วยที่มีฟันผุในระยะลุกลาม เสี่ยงต่อการมีฟันผุสูง และไม่มีรอยโรคหรือแผลในช่องปาก หรือการติดเชื้ออื่น ๆ เช่น เชื้อรา เริม เป็นต้น

เกณฑ์การคัดออกของกลุ่มตัวอย่าง (Exclusion criteria)

1. เป็นผู้ที่ใส่ฟันปลอมชนิดถอดได้ และใส่ฟันปลอมชนิดติดแน่นที่มีความไม่สมบูรณ์ของฟันปลอมติดแน่นนั้น (Faulty prosthesis)

2. เป็นผู้ที่ติดเครื่องมือจัดฟันชนิดติดแน่นในช่องปาก หรืออยู่ระหว่างขั้นตอนการจัดฟันโดยใส่เครื่องมือจัดฟันชนิดถอดได้

3. ฟันคุดล่างที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นเป็นโรคเหงือกอักเสบรอบฟันคุดมาก่อนการผ่าตัดภายใน 1 สัปดาห์ แม้ได้รับการรักษาแล้ว

4. เป็นผู้ที่กำลังรับประทานยา ทายา หรือมีการอมกลั้วปากด้วยน้ำยาบ้วนปากที่มีผลในการกดภูมิคุ้มกัน หรือกดภาวะการอักเสบอยู่ เช่น ยาหรือน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของ Steroid หรือ NSAIDs หรือ cyclosporin

5. เป็นผู้ที่กำลังรับประทานยาฆ่าเชื้อ ที่มีผลในการต้านเชื้อจุลชีพมาก่อนการทำการผ่าตัดเป็นระยะเวลาน้อยกว่า 1 สัปดาห์

เกณฑ์การถอนผู้เข้าร่วมการวิจัยหรือยุติการเข้าร่วมการวิจัย
(Withdrawal or termination criteria)

1. กรณีที่การผ่าฟันคุดนั้น พบมีสภาวะแทรกซ้อนหรือขณะขั้นตอนการผ่าตัดพบอุปสรรค ทำให้เกิดความล่าช้าในขณะรักษา ไม่สามารถเสร็จสิ้นการผ่าตัดได้ตามระยะเวลาเฉลี่ยของการผ่าตัดฟันคุดล่าง โดยนับระยะเวลาตั้งแต่ขั้นตอนการกรีดเปิดเหงือกเป็นต้นไปจนเสร็จสิ้นการเย็บแผลและล้างแผล เกินระยะเวลา 60 นาที เนื่องจากมีการศึกษาพบว่าอาการแทรกซ้อนจะพบได้มากขึ้นเมื่อการผ่าฟันคุดนานเกินกว่า 60 นาที [19]

2. กรณีที่การผ่าฟันคุดนั้น พบมีความจำเป็นจะต้องจ่ายยาฆ่าเชื้อหลังการผ่าฟันคุด แม้ใช้ระยะเวลาในการรักษาน้อยกว่า 60 นาที แต่มีความเสียหายต่อเนื้อเยื่อมากหรือคาดการณ์ว่ามีการเสี่ยงติดเชื้อสูง สมควรได้รับยาฆ่าเชื้อหลังการผ่าฟันคุด

ตัวแปรที่ศึกษา

1. ตัวแปรอิสระ คือ การได้รับการล้างแผลด้วยน้ำเกลือ 0.9% ที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* และการได้รับการล้างแผลด้วยน้ำเกลือ 0.9%

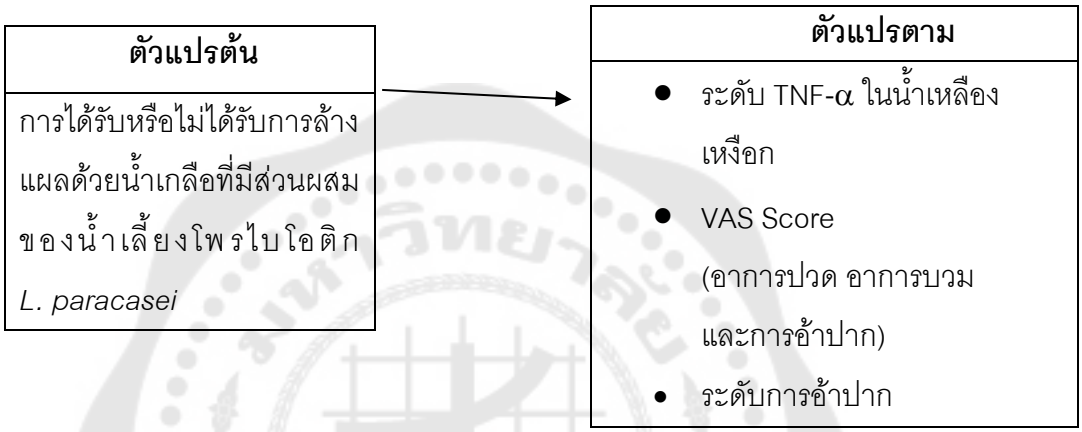
2. ตัวแปรตาม ได้แก่

2.1 ระดับ TNF-α ในน้ำเหลืองเหงือก

2.2 VAS score (อาการปวด อาการบวม และการอ้าปาก)

2.3 ระดับการอ้าปาก

กรอบแนวคิดงานวิจัย



ภาพประกอบ 1 กรอบแนวคิดวิจัย

สมมติฐานในการวิจัย

H_0: *L. paracasei* ไม่มีผลในการเปลี่ยนแปลงระดับ TNF-α ในน้ำเหลืองเหงือก VAS score และระดับการอ้าปาก หลังการรักษาโดยการผ่าฟันคุด

H_1: *L. paracasei* มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับ TNF-α ในน้ำเหลืองเหงือก VAS score และระดับการอ้าปาก หลังการรักษาโดยการผ่าฟันคุด

บทที่2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานศัลยกรรมในช่องปาก

งานศัลยกรรมช่องปาก เป็นงานผ่าตัดอวัยวะภายในช่องปาก ประกอบด้วยหัตถการต่าง ๆ อาทิเช่น การถอนฟัน การผ่าฟันคุด การผ่าตัดฟันฝัง การผ่าตัดตกแต่งปุ่มกระดูก การผ่าตัดเนื้อยึด การผ่าตัดเพื่อการทำศัลยกรรมรากเทียม เป็นต้น[1]งานศัลยกรรมช่องปากมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการหายของแผลอย่างมาก เนื่องจากหัตถการที่ทำนั้นเป็นการผ่าตัดที่ทำให้เกิดแผลมีผลกระตุ้นร่างกายให้เกิดกระบวนการตอบสนองต่อการเกิดบาดแผล[2]

การผ่าฟันคุด

ฟันกรามซี่ที่สามเป็นฟันซี่สุดท้ายที่จะขึ้นมาในช่องปาก และมักจะกลายเป็นฟันคุดที่ไม่สามารถขึ้นมาในช่องปากได้ หลายครั้งคนไข้จะไม่มีอาการใด ๆ แต่ในบางครั้งฟันคุดที่ไม่ขึ้นมาในช่องปากนั้นก็ก่อให้เกิดความผิดปกติต่าง ๆ ได้[3] โดยทั่วไปฟันคุดควรทำการผ่าตัดออก ยกเว้นมีข้อห้ามในการทำหัตถการ การผ่าฟันคุดนั้นจะมีความยากเพิ่มขึ้นเมื่อคนไข้มีอายุเพิ่มขึ้น และเมื่อปล่อยทิ้งไว้อาจเกิดความยุ่งยากในการผ่าตัดและเกิดผลข้างเคียงในการผ่าตัดเพิ่มขึ้น[4]

ฟันคุดนั้นทั่วไปแล้วจะพบได้ในขากรรไกรล่างและขากรรไกรบน โดยฟันคุดในขากรรไกรล่างมีการจัดจำแนกชนิดได้ตามการจัดจำแนกของ Pell และ Gregery ได้เป็น 3 ลักษณะหลัก คือ

1. แบ่งตามช่องว่างระหว่างขอบหน้าของ ramus และด้านไกลกลางของฟันกรามซี่ที่สอง คือ

1.1 Class I ช่องว่างนั้นมีความกว้างเท่ากับฟันคุด ดังภาพประกอบที่ 2

1.2 Class II ช่องว่างนั้นมีความกว้างน้อยกว่าฟันคุด ดังภาพประกอบที่ 3

1.3 Class III ฟันคุดฝังอยู่ใน ramus เกือบทั้งหมดหรือทั้งหมด ดังภาพประกอบที่ 4

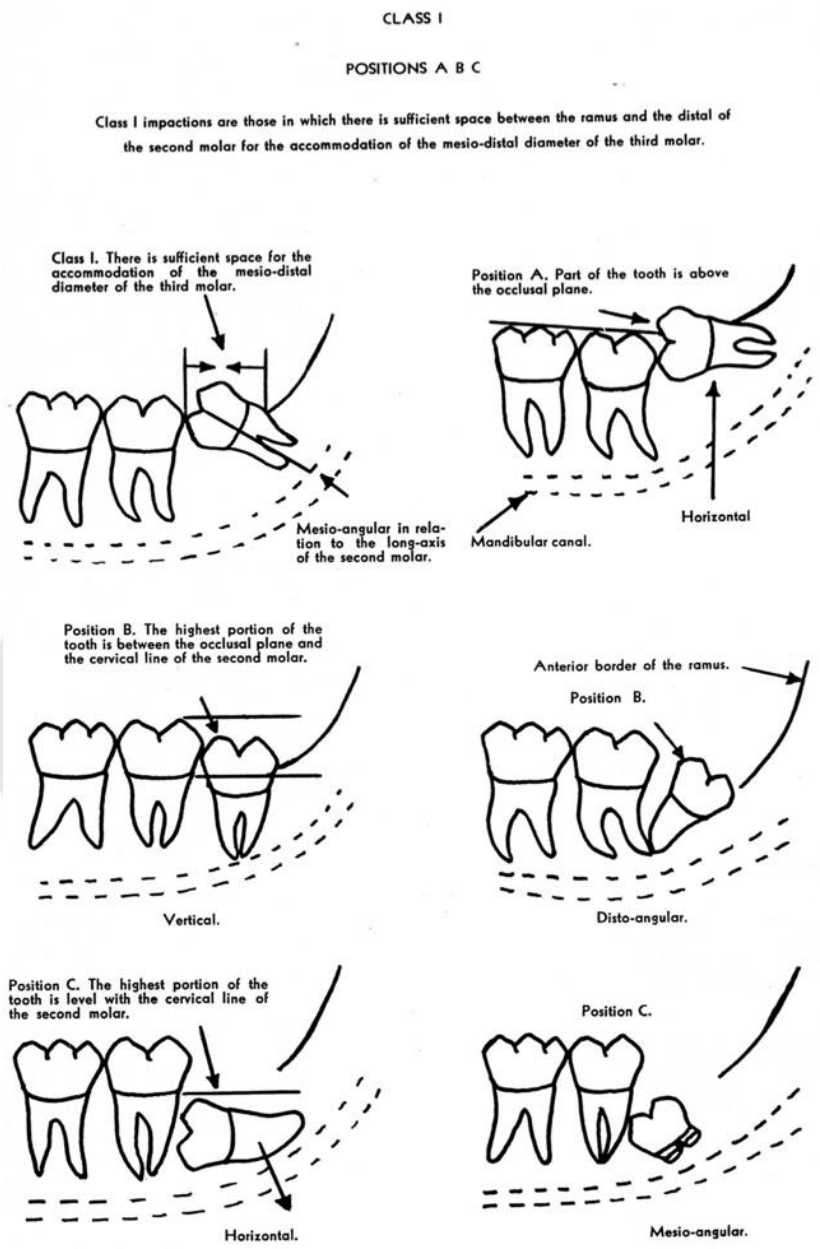
2. แบ่งตามความลึกของฟันคุด คือ

2.1 Position A ส่วนบนสุดของฟันคุดสูงเท่ากับด้านบดเคี้ยวของฟันกรามซี่ที่สอง

2.2 Position B ส่วนบนสุดของฟันคุดสูงอยู่ระหว่างด้านบดเคี้ยวและคอฟันของฟันกรามซี่ที่สอง

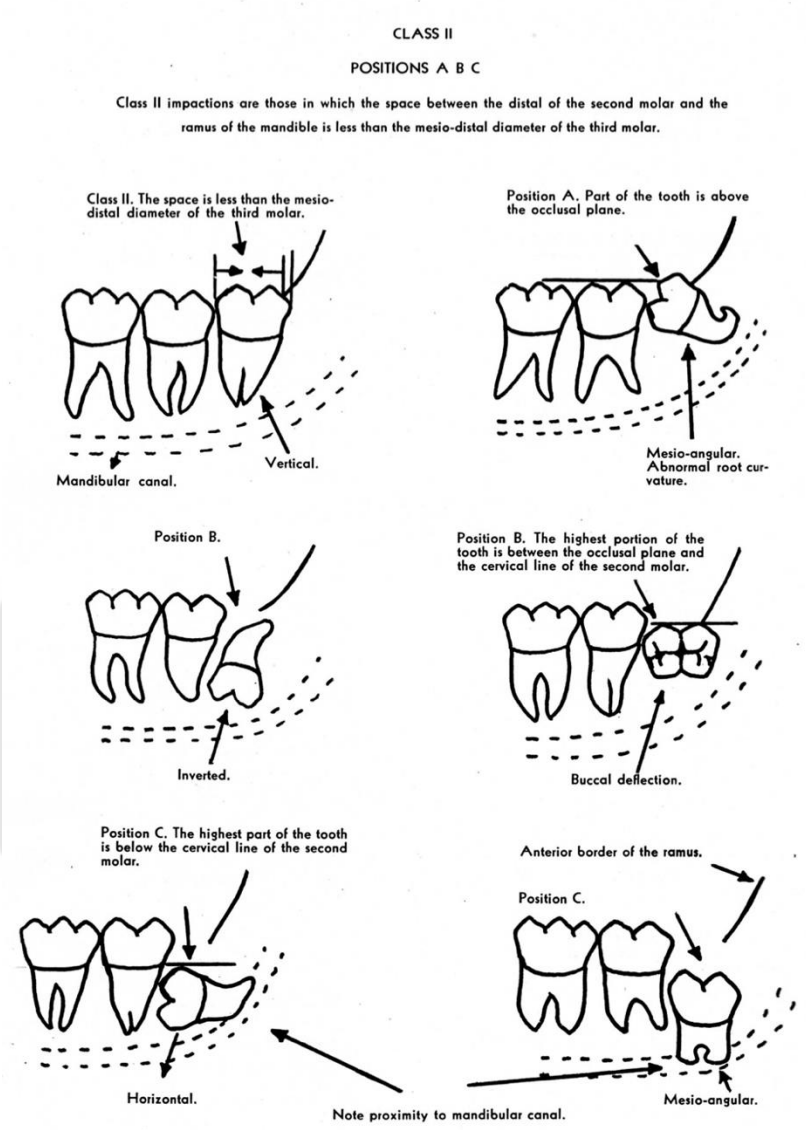
2.3 Position C ส่วนบนสุดของฟันคุดอยู่ต่ำกว่าคอฟันของฟันกรามซี่ที่สอง

3. แบ่งตามความสัมพันธ์ระหว่างแนวตามยาวของฟันคุดกับแนวตามยาวของฟันกรามซี่ที่สอง[20]



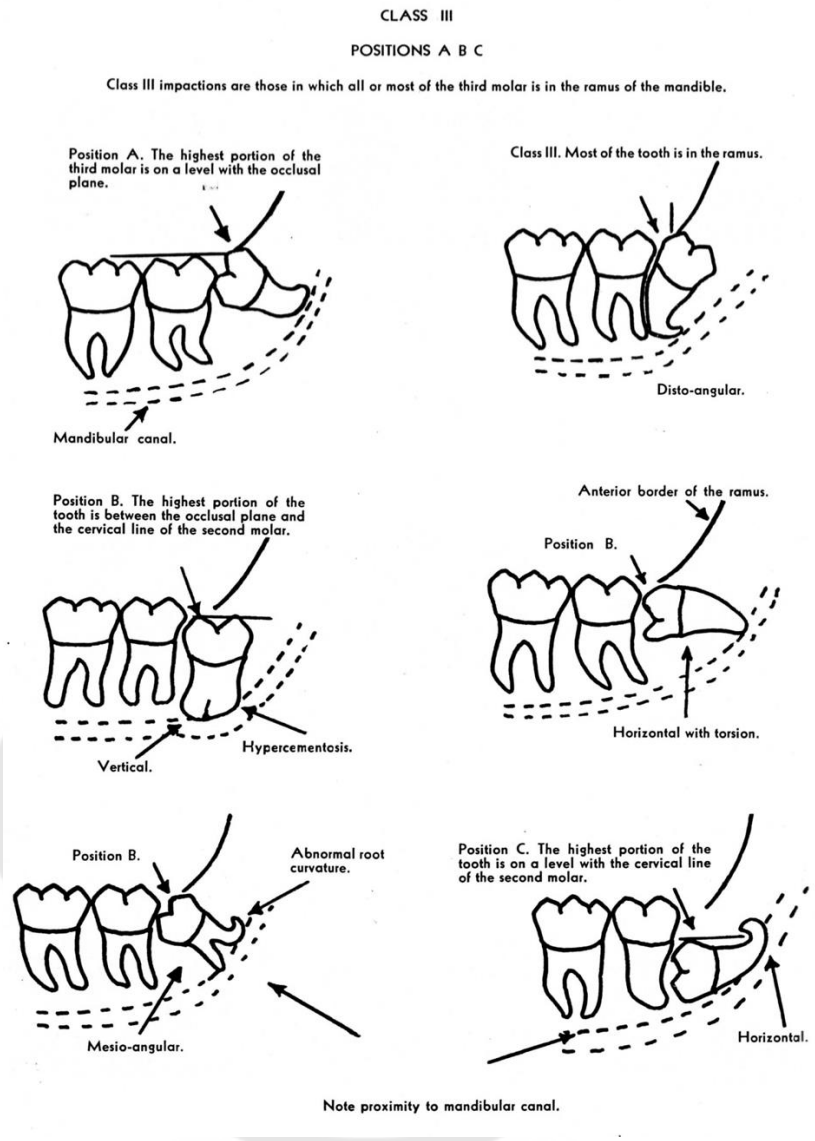
ภาพประกอบ 2 แสดงชนิดของฟันคุดล่าง Class I

ที่มา: Pell GJ GB. Impacted mandibular third molars: classification and modified techniques for removal. Dent Digest 1993; 39:330-338.



ภาพประกอบ 3 แสดงชนิดของฟันคุดล่าง Class II

ที่มา: Pell GJ GB. Impacted mandibular third molars: classification and modified techniques for removal. Dent Digest 1993; 39:330-338.



ภาพประกอบ 4 แสดงชนิดของฟันคุดล่าง Class III

ที่มา: Pell GJ GB. Impacted mandibular third molars: classification and modified techniques for removal. Dent Digest 1993; 39:330-338.

การผ่าฟันคุดนั้น เป็นงานศัลยกรรมที่ก่อให้เกิดผลข้างเคียงหลังการผ่าตัดหลายอย่าง โดยผลข้างเคียงเหล่านี้เกิดขึ้นได้เป็นปกติในการผ่าฟันคุดในขากรรไกรล่างมากกว่าการผ่าฟันคุดในขากรรไกรบน ผลข้างเคียงของการผ่าฟันคุดที่เกิดขึ้นได้ อาทิเช่น การเกิดเลือดออกหลังทำการผ่าฟันคุด กระดูกเบ้าฟันอักเสบโดยไม่ติดเชื้อ การบาดเจ็บของเส้นประสาท การหายของแผลที่

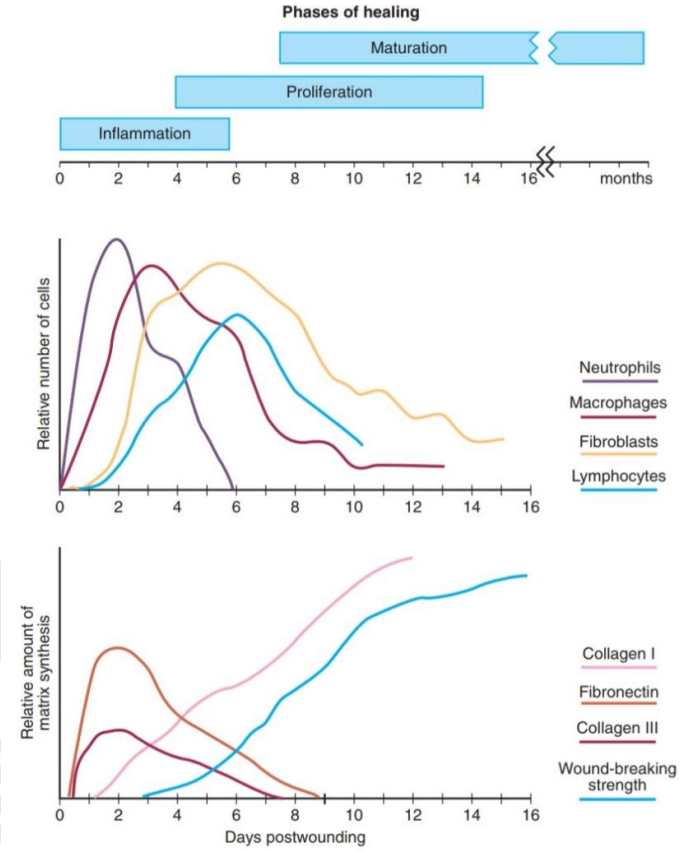
ช้าลง การเกิดโรคปริทันต์ และการติดเชื้อ โดยทั่วไปแล้วอาการส่วนใหญ่มักจะสามารถทำการป้องกันได้[21] โดยการจากศึกษาของ Elitsa พบว่าอาการบวมจะพบได้ใน Pell และ Gregery Class III position A มากกว่า Class III position B เบ้าฟันอักเสบโดยไม่ติดเชื้อจะพบได้มากใน Pell and Gregery Class III position A มากกว่า Class I position A และ Class II position A ตามลำดับ[22]

อาการบวมหลังผ่าฟันคุดนั้น เป็นผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นได้เป็นปกติในการผ่าฟันคุดซี่ที่สาม เนื่องจากการตอบสนองต่อการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อระหว่างการทำการผ่าฟันคุด อาการบวมจะบวมสูงสุดในระยะเวลา 48 ชั่วโมงหลังจากการผ่าตัด[5] หลังจากนั้นจะบวมลดลงในวันที่ 4 [6-8]และหายอย่างเกือบเป็นปกติในวันที่ 7[6-8] เนื่องจากอาการบวม เป็นผลมาจากการการอักเสบที่ตอบสนองต่อการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อ ทันตแพทย์หลายท่านจะมีการจ่ายเสตียรอยด์เพื่อลดอาการปวดบวม โดยกลไกของยาจะไปกดการเกิดหลอดเลือดหดตัว และกดการหลั่งสารอักเสบต่าง ๆ เช่น prostaglandins และ leukotriene ซึ่งเป็นการสื่ออักเสบที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการเกิดการบวม[5]

กระบวนการอักเสบและการหายของแผล

เป็นกระบวนการเดียวกันกับการตอบสนองต่อการเกิดบาดแผลในที่อื่น ๆของร่างกาย โดยสามารถแบ่งได้เป็น 3 ขั้นตอน (ภาพประกอบที่ 5) ได้แก่ [9, 23]

1. ระยะ hemostasis และ inflammatory
2. ระยะ proliferative
3. ระยะ remodeling



ภาพประกอบ 5 แสดงกระบวนการหายของแผล

ที่มา: Schwartz SI, Brunicardi FC, Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG, et al. Schwartz's principles of surgery. 2015.

ระยะ Hemostasis และ Inflammation

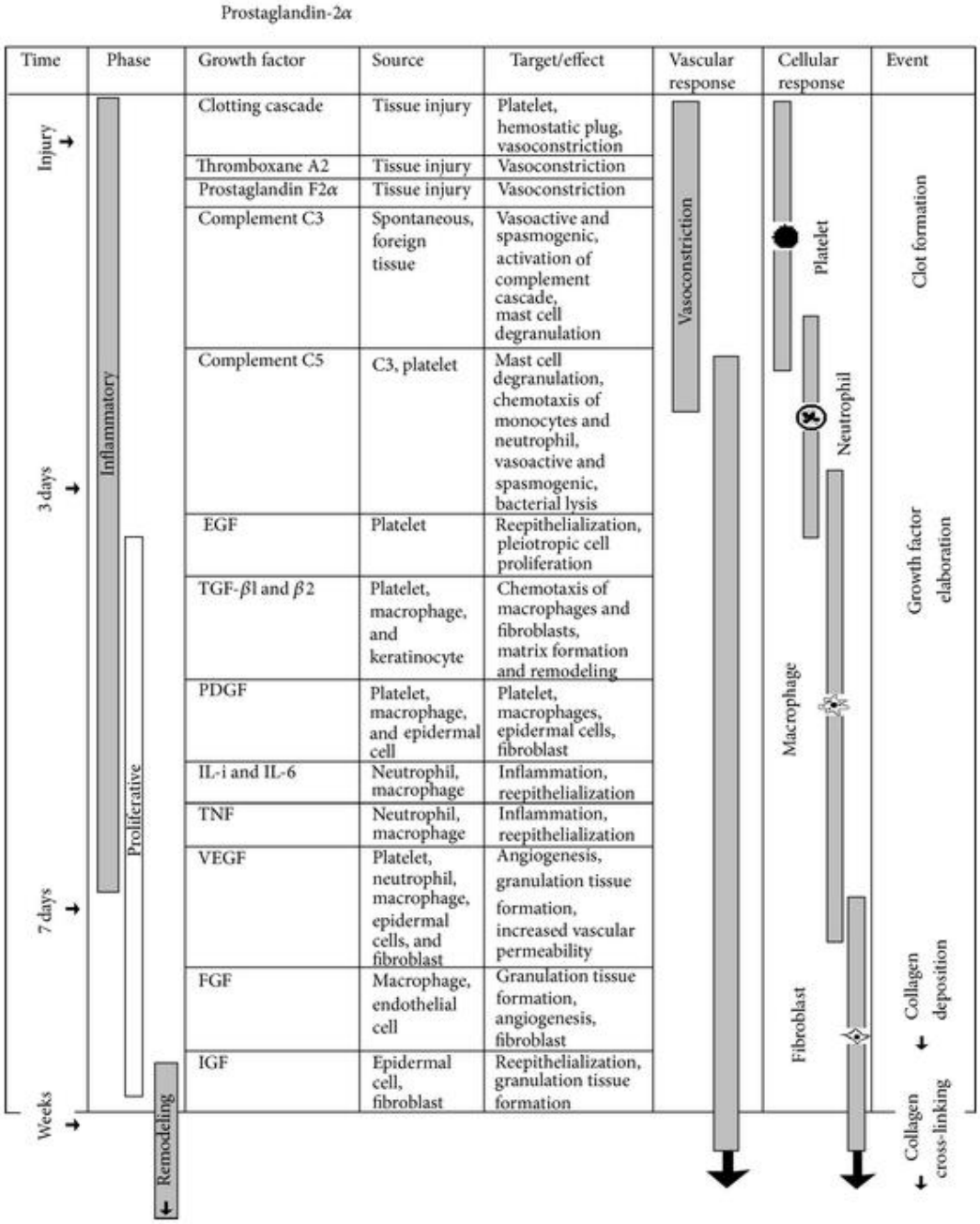
เป็นระยะ inflammatory เป็นระยะที่มีการปล่อยสาร chemotaxis ต่าง ๆ จากแผล โดยบริเวณแผลผ่าตัด จะมีการฉีกขาดของหลอดเลือด extracellular matrix (ECM) จะมีการสัมผัสกับเกล็ดเลือด และเมื่อคอลลาเจนในชั้น subendothelial สัมผัสกับเกล็ดเลือดจะกระตุ้นให้เกิดกระบวนการ platelet aggregation, degranulation[24] และมีการกระตุ้น coagulation cascade เพื่อให้เกิดการหยุดไหลของเลือดโดย fibrin clot จะทำตัวเป็นโครงสร้างให้เซลล์อักเสบต่าง ๆ เช่น polymorphonuclear leukocytes (PMNs, Neutrophils) และ Monocytes สามารถเคลื่อนตัวเข้ามาเกาะได้[2] ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นของกระบวนการ Hemostasis

นอกจากนั้นบาดแผลยังมีการปล่อยสาร Thromboxane A2 และ prostaglandin 2-α เพื่อให้เกิดกระบวนการหดตัวของหลอดเลือดอีกด้วย[9]

โดยเมื่อเรียงลำดับตามเวลาแล้ว เซลล์ที่มีการเคลื่อนตัวเข้ามาในบาดแผลอันดับแรก คือเซลล์ PMNs ซึ่งจะมีปริมาณสูงสุดหลังจากการเกิดบาดแผล 24 - 48 ชั่วโมง[2] จากการรั่วของผนังหลอดเลือด การปล่อย prostaglandin การปล่อยสาร chemotaxis ต่าง ๆ อาทิ interleukin-1(IL-1), tumor necrosis factor-α (TNF-α), transforming growth factor-β (TGF-β), platelet factor-4 หรือสารจากแบคทีเรียทั้งหมดนี้จะเป็นตัวกระตุ้นที่จะทำให้มีการเพิ่มจำนวนของ Neutrophils มากยิ่งขึ้น ซึ่ง PMNs เป็นเซลล์หลักที่มีการหลั่ง cytokine ต่าง ๆ ในภาวะที่มีการอักเสบ โดยเฉพาะ TNF-α ที่เป็นสารที่มีความสำคัญในการเกิดการสร้างหลอดเลือดและการสังเคราะห์คอลลาเจน[2] (ภาพประกอบที่ 6)

เซลล์อักเสบกลุ่มต่อมาที่มีการเคลื่อนเข้ามายังแผลนั้น คือ macrophage เป็นเซลล์อักเสบที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการหายของแผล[9] ซึ่งจะมีการเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างมีนัยสำคัญใน 48 - 96 ชั่วโมงหลังเกิดบาดแผล[2] และจะยังคงอยู่จนกระทั่งเกิดการหายของแผล โดยมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการ phagocytosis, oxygen radical, nitric oxide synthesis และโดยเฉพาะการกระตุ้นและเรียกเซลล์ต่าง ๆ เข้ามาในบาดแผลมากขึ้นผ่านทาง cytokine [2, 24] (ภาพประกอบที่ 7) เช่น TNF-α, IL-1 interleukin-6 (IL-6) และ growth factor ที่หลั่ง หรือจากการที่มีการติดต่อกันระหว่างเซลล์ ทำให้เซลล์ macrophage มีส่วนควบคุมกระบวนการ proliferation ของเซลล์ กระบวนการสังเคราะห์ matrix และการสร้างหลอดเลือดใหม่

สำหรับเซลล์ T Lymphocyte เป็นอีกเซลล์หนึ่งที่จะเข้ามายังบาดแผล โดยจะมีปริมาณสูงสุดใน 1 สัปดาห์หลังจากการได้รับการบาดเจ็บ ซึ่งเป็นช่วงรอยต่อระหว่าง inflammatory phase และ proliferative phase มีบทบาทลดการสังเคราะห์คอลลาเจนของ fibroblast ผ่าน interferon-γ (IFN-γ) TNF-α และ IL-1 โดยที่จะไม่เกิดขึ้นถ้าเซลล์ fibroblast และเซลล์ lymphocyte ไม่ได้มีการติดต่อกันโดยตรง[2]



ภาพประกอบ 6 แสดง cytokines ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการ inflammation

ที่มา: Sinno H, Prakash S. Complements and the wound healing cascade: an updated review. Plast Surg Int. 2013;2013:146764.

Macrophage activities during wound healing

ACTIVITY	MEDIATORS
Phagocytosis	Reactive oxygen species Nitric oxide
Débridement	Collagenase, elastase
Cell recruitment and activation	Growth factors: PDGF, TGF-β, EGF, IGF Cytokines: TNF-α, IL-1, IL-6 Fibronectin
Matrix synthesis	Growth factors: TGF-β, EGF, PDGF Cytokines: TNF-α, IL-1, IFN-γ Enzymes: arginase, collagenase Prostaglandins Nitric oxide
Angiogenesis	Growth factors: FGF, VEGF Cytokines: TNF-α Nitric oxide

EGF = epithelial growth factor; FGF = fibroblast growth factor; IGF = insulin-like growth factor; IFN-γ = interferon-γ; IL = interleukin; PDGF = platelet-derived growth factor; TGF-β = transforming growth factor-β; TNF-α = tumor necrosis factor-α; VEGF = vascular endothelial growth factor.

ภาพประกอบ 7 แสดง mediator ต่าง ๆ ของ macrophage ที่ผลิตระหว่างการเกิดการหายของแผล

ที่มา: Schwartz SI, Brunicardi FC, Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG, et al. Schwartz's principles of surgery. 2015.

ระยะ Proliferation

ระยะ Proliferation นับเป็นระยะที่สองของกระบวนการหายของแผล เป็นระยะที่จำเป็นในการหายของแผล[25] โดยจะใช้เวลาประมาณ 4-12 วันหลังจากเกิดบาดแผล โดยมี platelet-derived growth factor (PDGF) เป็นตัวกระตุ้นให้ fibroblast เข้ามารวมตัวกันสร้าง collagen เพื่อทำให้เกิดการหดตัวของบาดแผล นอกจากนี้ระยะนี้ยังเกิดกระบวนการ angiogenesis จากการกระตุ้นของ cytokine ต่าง ๆ เช่น TNF-α, transforming growth factor-β (TGF-β), vascular endothelial growth factor (VEGF) ด้วย[2, 25]

การสร้าง Matrix

Collagen มีบทบาทสำคัญในกระบวนการหายของแผล โดยชนิดที่มีความสำคัญต่อกระบวนการหายของแผลนั้นคือ collagen ชนิดที่ 1 ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของ extracellular matrix และ collagen ชนิดที่ 3 ที่จะมีบทบาทสำคัญในการเสริมสร้างบาดแผล โดยปริมาณเลือดที่มาเลี้ยงอย่างเพียงพอและการปราศจากภาวะการติดเชื้อนั้นสำคัญต่อกระบวนการสร้างคอลลาเจนอย่างมาก[2]

Maturation และ Remodeling

เป็นขั้นตอนที่มีการจัดเรียงตัว collagen ที่สร้างมาให้เป็นระเบียบ โดยมีการทำลาย collagen เดิม และสร้างใหม่ โดยขั้นตอนการทำลายนั้นจะอาศัยเอนไซม์ Matrix metallopeptidases (MMP) โดย collagen ชนิดที่ 3 จะถูกแทนที่เป็น collagen ชนิดที่ 1 เมื่อระยะเวลาผ่านไปจะมีความแข็งแรงมากขึ้น collagen จะเข้าสู่ภาวะสมดุล โดยระยะแรกจะเกิดเป็นแผลเป็นที่ไม่สมบูรณ์มีความนูนแดง เรียกว่า immature scar และใช้เวลาอีกประมาณ 6 – 12 เดือนแผลจึงจะมีความ mature collagen มีการจัดเรียงตัวที่ดี[2]

หัตถการและสารสื่ออักเสบ

ในการทำหัตถการต่าง ๆ ที่ทำให้เกิดบาดแผลนั้นมีความเสี่ยงที่ทำให้เกิดความซับซ้อนทางการรักษาได้ ทันตแพทย์ล้วนมีเป้าหมายเผื่อลดความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นได้ทั้งก่อนทำหัตถการ ระหว่างการทำหัตถการ และหลังการทำหัตถการ เพื่อให้ได้ผลการรักษาที่ดี โดยมีการใช้วิธีการต่าง ๆ เพื่อช่วยลดความเสี่ยง เช่น การปรับเปลี่ยนโภชนาการ การลดการสูบบุหรี่ ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการหายของแผล การสูบบุหรี่ เบาหวาน ภาวะทุกโภชนาการ การดื่มแอลกอฮอล์ อายุที่มาก การได้รับการฉายรังสีรักษา หรือการได้รับเคมีบำบัดล้วนเป็นปัจจัยที่ทำให้ความเสี่ยงมีเพิ่มขึ้น[11]

การเปลี่ยนแปลงในระยะ inflammation ในกระบวนการหายของแผลจะทำให้เกิดปัญหาในการเปลี่ยนผ่านจากแผลเฉียบพลันไปเป็นแผลเรื้อรัง โดยสามารถใช้ inflammatory cytokine เป็น marker ในการตรวจประเมินการหายของแผล โดย cytokine ที่มีบทบาทหลักได้แก่ IL-1, IL-6, IL-8, TNF-α[11, 26] เป็น cytokine ที่เหนี่ยวนำให้เกิดการเคลื่อนเข้ามาของ neutrophils ช่วยส่งเสริมการ epithelialization กระตุ้น fibroblast และกระตุ้นกระบวนการหายของแผล ขณะที่ proinflammatory cytokine เช่น TNF-α, IL-6, IL-1 เมื่อมีการหลั่งออกมาจะมีการปล่อย secondary mediators ตามมาด้วยได้แก่ nitrous oxide (NO), prostaglandins, vasoactive agents, endorphins, free-O_2 radicals, ต่าง ๆ ทำให้เกิดผลทางระบบต่าง ๆ เช่น ไข้

ปวด บวม แดง ร้อนได้ ซึ่งการที่มี proinflammatory cytokine สูงความสัมพันธ์กับการนอนโรงพยาบาลนาน หรือการเสียชีวิต[11]

การมีการอักเสบที่มากเกินไปที่ส่งผลให้เปลี่ยนการหายของแผลเฉียบพลันเป็นแบบเรื้อรังนั้นเกิดจากการที่แผลที่ไม่สามารถหายได้ตามกระบวนการการหายของแผล[10] จะพบว่ามีระยะของ inflammatory phase ยาวนานหรือซ้ำเดิมขึ้น เกิดการกระตุ้น PMNs และ macrophage มีการหลั่งเอนไซม์ย่อยโปรตีนตลอดเวลา เกิดการทำลายตัวของ extracellular matrix และการลดระดับของ growth factor ทำให้ในขั้นตอน proliferative phase ไม่สามารถเกิด granulation หรือ epithelialization ได้

ในแผลเรื้อรังจะพบมี inflammatory cytokine ที่แตกต่างกันกับแผลเฉียบพลัน โดยแผลเฉียบพลันนั้นจะมี TNF-α, IL-2 สูงสุดใน 2-3 วันและจะลดลงและกระบวนการหายจะดำเนินต่อไปได้ และมี growth factor เช่น PDGF, IL-6, TGF-α, TGF-β จำนวนมากเพื่อกระตุ้นขั้นตอน proliferative phase ในขณะที่แผลเรื้อรังนั้นจะพบว่ามี TNF-α, IL-2 ที่เป็น proinflammatory cytokine สูงตลอดเวลา[10, 25] และมี growth factor ปริมาณที่น้อย และมีเอนไซมย่อยโปรตีน (matrix metalloprotease) ทำลาย extracellular matrix (ECM) และส่งผลกลับไปลดปริมาณของ growth factor ทำให้กระบวนการหายของแผลผิดปกติ [11]

Tumor necrosis factor-alpha (TNF-α)

TNF-α เป็น proinflammatory cytokine ที่ถูกสร้างมาจาก macrophage และ lymphocyte ระหว่างกระบวนการอักเสบเฉียบพลัน โดยทั่วไปจะหลั่งออกมาหลังจากเนื้อเยื่อได้รับอันตราย[26, 27] มีค่าครึ่งชีวิตอยู่ที่ 15-18 นาที[28] ซึ่งมีผลทำให้เกิดการตอบสนองที่หลากหลายภายในเซลล์ ทำให้เกิดการตายได้ [25] สามารถกระตุ้นการ proliferation ของ fibroblast สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างสาร prostaglandin และเกิดกระตุ้นให้เกิดการแสดงออกของยีน collagenase[25] มีคุณสมบัติเดียวกันกับ interleukin-1 ที่เหนี่ยวนำให้เกิดเป็นแผลเรื้อรังได้ มีบทบาทในการเรียก neutrophils macrophage เข้ามาในบาดแผลเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้าง chemokine และ MMPs ในกระบวนการอักเสบจะพบว่า TNF-α, IL-1, IL-6 จะมีความเข้มข้นสูง [12] โดย TNF-α และ IL-1 เป็น cytokines ที่มีความสำคัญในการตอบสนองอย่างเฉียบพลัน[28] ซึ่ง TNF-α จะพบว่ามีค่าสูงขึ้นตั้งแต่ในชั่วโมงแรกของการเกิดบาดแผล ถูกปลดปล่อยออกจากเซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือด keratinocyte fibroblast ในบริเวณที่มีบาดแผล และไปกระตุ้นให้เข้าสู่การบวนการอักเสบโดยการเรียกเซลล์เม็ดเลือดขาวเข้ามายังบาดแผล[29] ในระยะที่มีการอักเสบ

TNF-α จะเปลี่ยนมาถูกผลิตจาก neutrophils และ macrophages ที่อยู่ที่บาดแผลแทน กระบวนการนี้ทำให้มีการเพิ่มการอักเสบมากขึ้น TNF-α จะมีปริมาณสูงสุดใน 1 วัน ซึ่งอยู่ในระยะ inflammation หลังจากนั้น จากนั้นจะลดลงจนถึงระดับปกติ เกิดกระบวนการหายของแผล การทดลองในหนูพบว่าการมี anti-TNF-α ทำให้แผลปิดช้า[13] สำหรับในแผลที่การหายของแผลมีความบกพร่องจะพบว่ามีปริมาณของ TNF-α เฉพาะที่และในระบบสูงขึ้น มีรายงานในหลายวิจัยพบว่า TNF-α มีความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เกิดการหายของแผลที่ช้าในคนได้[11]

ตามธรรมชาตินั้นเมื่อมีสิ่งกระตุ้น phospholipase A2 จะเปลี่ยน phospholipids เป็น arachidonic acid ซึ่งจะผ่านเอนไซม์ lipoxygenases เป็น leukotriene ต่าง ๆ และบางส่วนจะผ่านเอนไซม์ cyclooxygenase (COX-1, COX-2) เกิดเป็น prostaglandins E2 ซึ่งเป็นสารอักเสบสำคัญที่ทำให้เกิดการทำลายของเนื้อเยื่อ โดยบทบาทของ TNF-α ต่อ prostaglandins นั้นจะทำให้ COX-2 มีการแสดงออกมากขึ้น ทำให้ prostaglandins มีระดับสูงขึ้น เกิดการแสดงออก ปวด บวม แดง ร้อน

ในทางทันตกรรม TNF-α นั้นนิยมตรวจวัดเพื่อวินิจฉัยและพยากรณ์โรคในช่องปาก เช่น โรคปริทันต์อักเสบ และความเสี่ยงการเกิดฟันผุ ผ่านวิธีการ immunoassays[26]

โพรไบโอติก

โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต เมื่อมีในปริมาณที่เหมาะสมจะส่งผลดีต่อสุขภาพร่างกายช่วยป้องกันและรักษาโรคได้[15] ความเชื่อว่าโพรไบโอติก มีผลดีนั้นเกิดจากการที่ Dr. Elie Metchnikoff ตั้งข้อสังเกตว่าผู้บริโภคโยเกิร์ต (yogurt) ที่มีส่วนประกอบของ *Lactobacillus bulgaricus* จะมีอายุยืนกว่า จึงเกิดแนวคิดว่านอกจากเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคแล้ว ในธรรมชาติยังมีเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ซึ่งโพรไบโอติกที่พบได้ง่ายที่สุด คือ เชื้อประจำถิ่น (normal flora) ที่มีอยู่ในร่างกายเป็นธรรมชาติ [30] ช่องปาก และ ระบบทางเดินอาหาร เป็นส่วนของรางกายที่มีการติดต่อกับสิ่งแวดล้อมภายนอก พบว่ามีเชื้อประจำถิ่นหลายชนิดอยู่ร่วมกัน ซึ่งปกติแล้วเชื้อจะมีความสมดุล โดยเชื้อแต่ละชนิดนั้นจะมีการอยู่ร่วมกันโดยรักษาสมดุลทั้งในแง่ของชนิดและปริมาณของเชื้อ จากการที่เชื้อแต่ละชนิดมีความสามารถในการส่งเสริมหรือยับยั้งการเจริญเติบโตซึ่งกันและกันได้ โดยสมดุลนี้จะมีการปรับเปลี่ยนเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงมาจากปัจจัยภายนอก หรือปัจจัยภายใน ซึ่งส่งผลเอื้อให้เชื้อก่อโรคมีการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนมากขึ้นจนมากกว่าปริมาณของเชื้อประจำถิ่น ส่งผลให้สมดุลของเชื้อเปลี่ยนแปลงไป และส่งผลให้ร่างกายเกิดโรคต่าง ๆ[31] แต่เชื้อทุกชนิดไม่ได้ได้ผลลัพธ์เหมือนกัน แต่ละสายพันธุ์

แต่ละชนิดต่างมีการทำงานส่งผลต่อร่างกายโดยเฉพาะ[14, 15] เชื้อในสปีชีส์เดียวกันแต่เป็นคนละสายพันธุ์ก็ส่งผลแตกต่างกัน จากข้อสังเกตนี้ทำให้มีการนำเชื้อประจำถิ่นมาใช้ในมนุษย์ [15]

ความปลอดภัยในการใช้โพรไบโอติกในการใช้งานในมนุษย์นั้น พบว่าแบคทีเรียกลุ่ม Bifidobacteria ที่เกี่ยวข้องกับอาหารได้รับการยอมรับว่ามีความปลอดภัย ความผิดปกติที่อาจเกิดขึ้นพบเฉพาะในคนไข้กลุ่มที่มีโรคประจำตัวอยู่แล้ว ในการศึกษาของ Salminen พบการเกิด *Lactobacillus* endocarditis ในผู้ป่วยที่มีการใช้ *L. rhamnosus* เป็นเวลานาน [15, 32] ในทางการแพทย์มีการศึกษาและนำโพรไบโอติกมาใช้ในโรคภูมิแพ้ การอักเสบ และการติดเชื้อ[33] ในทางคลินิกมีการนำมาใช้ในการจัดการฟันผุและโรคเหงือก[34] โดยในการศึกษาต่าง ๆ ไม่พบว่ามีผลข้างเคียงรุนแรง แต่ก็พบว่าการศึกษาโพรไบโอติกที่เกี่ยวกับช่องปากยังมีน้อยเมื่อเทียบกับการศึกษาโพรไบโอติกที่เกี่ยวกับทางเดินอาหาร [34] องค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกาประกาศให้ Lactobacilli และ Bifidobacteria เป็นโพรไบโอติกที่ใช้ในมนุษย์ได้อย่างปลอดภัย โดยเป็นที่ยอมรับในมาตรฐานความปลอดภัยตามหลักของ generally recognized as safe (GRAS) status[35] การใช้ในคนที่แข็งแรงไม่มีโรคประจำตัวนั้นนับว่าปลอดภัย แต่ต้องระวังในการใช้โพรไบโอติกในคนที่เสี่ยงติดเชื้อในกระแสเลือด โดยในการพัฒนาหรือผลิตโพรไบโอติกขึ้นมาในแต่ละสายพันธุ์นั้นต้องมีการประเมินความปลอดภัยก่อน เนื่องจากกลไกการทำงานของโพรไบโอติกยังต้องมีการศึกษาอีกมาก และต้องมีช่องทางการให้ที่เหมาะสม เนื่องจากสายพันธุ์ที่ต่างกันสามารถให้ผลที่แตกต่างกันได้ และการศึกษาการใช้โพรไบโอติกในประชากร กลุ่มหนึ่งไม่สามารถอ้างอิงไปถึงประชากรกลุ่มอื่นได้ จึงยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม[36]

ทั่วไปแล้วการทำงานของโพรไบโอติกมี 3 กลไกหลักคือ การทำปฏิกิริยาโดยตรงกับเชื้อก่อโรค ทำให้ก่อโรคได้ยากขึ้น กลไกที่สองคือโพรไบโอติกจะสร้างสารที่ช่วยป้องกันหรือต่อต้านเชื้อก่อโรคได้ กลไกสุดท้ายคือปรับเปลี่ยนระบบภูมิคุ้มกัน ต้านการอักเสบ[37] การนำโพรไบโอติกมาใช้ในช่องปากมีการศึกษาการนำโพรไบโอติกมาใช้เป็นตัวเสริมในการรักษาโรคปริทันต์อักเสบเรื้อรัง โดยพบว่าโพรไบโอติกบางสายนั้นสามารถลด cytokines ในน้ำเหลืองเหงือกได้[38] สามารถลดการสะสม plaque และเกิดเหงือกอักเสบลดลง ซึ่งมีการแนะนำให้นำโพรไบโอติกมาใช้ในการควบคุม plaque และ ต้านการอักเสบ[39]

กลไกที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันของโพรไบโอติก ในการศึกษาต่าง ๆ พบว่ายังมีน้อย แต่จากการศึกษาของ Hooper ในลำไส้เล็กพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของยีน mucin-encoding ซึ่งช่วยกระตุ้นการผลิตมิวคัสเพื่อมาเคลือบป้องกันลำไส้เล็ก ในการศึกษาอื่นๆ พบว่า toll-like receptor (TLR receptor) ถูกกระตุ้นด้วย lipopolysaccharide (LPS) ซึ่งยังสร้าง cytokines ผ่าน

intracellular signaling pathways ซึ่งจะมีการกระตุ้น transcription factors เช่น NF-**K**B โดยในแบคทีเรียที่ไม่ก่อโรคนั้นจะพบว่าสามารถกดการทำงานของภูมิคุ้มกันได้ด้วยการยับยั้ง NF-**K**B pathway โดยตรง หรือการทำให้ NF-**K**B ทำงานได้ในระยะที่สั้นลงจากการที่มีการส่งเสริมการนำ nuclear factor ออกจาก NF-**K**B unit ทำให้ไม่สามารถทำงานได้ ซึ่งนับเป็น pathway ที่สำคัญที่โพรไบโอติกใช้ในการควบคุมการอักเสบของลำไส้เล็ก[36]

โพรไบโอติกสามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ Lactic acid producing substances bacteria , Non-lactic acid producing substances bacteria , non-pathogenic yeasts , non-spore forming bacteria โดยคุณสมบัติในอุดมคติของโพรไบโอติกนั้นต้องไม่มีความสามารถทำให้เกิดโรค ต้องมีความเสถียร มีความสามารถในการอยู่รอดและสามารถเผาผลาญอาหาร[40] โพรไบโอติกกลุ่มหลักคือกลุ่มแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติกได้ ซึ่งคือกลุ่ม *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* เป็นจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria) พบเป็นเชื้อประจำถิ่นในร่างกายรวมทั้งพบได้ทั่วไปในอาหาร พืชผัก สิ่งแวดล้อม สายพันธุ์โพรไบโอติกที่พบบ่อยคือ *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Enterococcus* spp. สายพันธุ์ที่มีการศึกษาและนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกมากที่สุดคือ *Lactobacillus*[40] ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ได้รับการรับรองจากกระทรวงสาธารณสุข ตามประกาศราชกิจจานุเบกษา เรื่องบัญชีรายชื่อจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโพรไบโอติกที่ได้ (หน้าที่ 21 เล่มที่ 128 ตอนพิเศษ 86) ซึ่งโพรไบโอติกและสารที่โพรไบโอติกสร้างขึ้นมีคุณสมบัติและกลไกการทำงานที่ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ ต้านการอักเสบ ลดอนุมูลอิสระ เป็นต้น

Lactobacilli เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีรูปร่างเป็นท่อนเดี่ยว หรือสาย เป็นเชื้อประจำถิ่นที่พบได้หลายอวัยวะ[41] มีคุณสมบัติทนกรด และสามารถผลิตกรดแลคติคได้ มีหลากหลายสายพันธุ์ มีบทบาทสำคัญในการควบคุมระบบภูมิคุ้มกัน มีการศึกษาในคลินิกพบว่ามีความสามารถในการป้องกันและรักษากระบวนการอักเสบต่าง ๆ เช่นลำไส้อักเสบ บางสายพันธุ์มีความสามารถในการลดการสร้าง proinflammatory cytokine เช่น TNF-α ได้[13] บางสายพันธุ์พบว่าจะเหนี่ยวนำให้มีการสร้าง IL-10 จาก T-cells จากการศึกษาของ Ki-Yi Sun และคณะ ที่มีการศึกษาผลของ *L. paracasei* ทั้งมีชีวิตและไม่มีชีวิตต่อสารสื่ออักเสบที่ถูกกระตุ้นจาก LPS นั้นพบว่ามีการยับยั้งการปล่อย TNF-α และ IL-α โดย *L. paracasei* มีการกดการเหนี่ยวนำของ LPS ให้เกิดกระบวนการ I**K**Bα phosphorelation และยังยับยั้งการ translocation ของ p50/p65 subunit ของ NF-**K**B จาก cytosol ไปยังนิวเคลียสใน NF-**K**B pathway ทำให้ลดการปล่อย proinflammatory cytokines ซึ่งนับเป็น therapeutic effect ของ *L. paracasei* [16] ซึ่ง

นอกจากลด inflammation แล้ว *L. paracasei* ยังมีความสามารถในการเพิ่มการแสดงออกของ negative regulator ของ TLR-signaling ได้ [14] พบว่า *L. paracasei* มีความสามารถในการลดการอักเสบได้ดี ปรับเปลี่ยนระบบภูมิคุ้มกันได้มากกว่า *L. plantarum*

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาโพรไบโอติก (probiotic supernatant) ของ *L. paracasei* MSMC39-1 ที่แยกได้จากอุจจาระเด็กทารกแรกคลอดที่มีสุขภาพดี ซึ่งเป็นวิธีการคัดแยกจุลินทรีย์จากมนุษย์ทางหนึ่งนอกจากการคัดแยกจากทางเดินอาหาร จากการศึกษาสายพันธุ์โพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 ที่แยกได้จากอุจจาระเด็กทารกแรกคลอดที่มีสุขภาพดีจากศูนย์การแพทย์สมเด็จพระเทพฯ (SWUEC 37/2551) เมื่อทดสอบในหลอดทดลอง (*in vitro*) พบว่าน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก (probiotic supernatant) จาก *L. paracasei* MSMC39-1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง cytokine ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ (proinflammatory cytokine) ชนิด TNF-α ได้อย่างมีนัยสำคัญ[17] นอกจากนี้การศึกษา *in vivo* พบว่าสายพันธุ์นี้ช่วยลดการอักเสบได้ในสัตว์ทดลอง (EC no. SWU-A-012-2562, COA/AE-002-2563,) และสามารถลดการอักเสบในตับและลด liver fibrosis ได้[18] และพบว่าสายพันธุ์นี้ช่วยลดการอักเสบของสิวในคนไข้สิวอักเสบได้ (SWUEC-339/2562F) โดยความสามารถนี้เป็นคุณสมบัติเฉพาะของโพรไบโอติกแต่ละสายพันธุ์ซึ่งอาจมีคุณสมบัติแตกต่างกันไป

สำหรับการศึกษาผลของโพรไบโอติกที่เกี่ยวข้องกับงานทันตกรรมนั้น ยังมีการศึกษาอยู่ไม่มากนัก ในปี 2011 Sookhee และคณะพบว่าเมื่อคัดแยกสายพันธุ์แบคทีเรียที่ผลิตกรดจากช่องปากของอาสาสมัครที่มีสุขภาพช่องปากที่ดี จะได้สายพันธุ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลชีพอื่นที่ก่อโรค เช่น *Candida* ได้ โดยพบว่าสายพันธุ์ของ *L. paracasei* และ *L. rhamnosus* เป็นสายพันธุ์ที่ให้ผลดี[42]

การศึกษาของ Teanpaisan และคณะ ในปี 2015 มีการศึกษา in vivo เรื่องผลของการให้โพรไบโอติก *L. paracasei* SD1 รูปแบบนมผงเพื่อลดจำนวนเชื้อ *Streptococcus mutans* และลดความเสี่ยงฟันผุ พบว่าสามารถลดได้อย่างมีนัยสำคัญ[43] ต่อมาในปี 2018 ได้มีการศึกษาต่อเรื่องการให้โพรไบโอติก *L. paracasei* SD1 ในรูปแบบนมเป็นเวลาต่อเนื่องพบมีผลต่อการลดฟันผุ โดยผลการทดลองพบมีการลดจำนวนเชื้อ *Streptococcus mutans* และมีภูมิคุ้มกัน human neutrophil peptides 1-3 ในน้ำลายอย่างมีนัยสำคัญ[44]

งานศัลยกรรมช่องปากเป็นงานที่ทำให้เกิดแผลและเกิดการกระตุ้นกระบวนการหายของแผลซึ่งมีสารสื่ออักเสบมาเกี่ยวข้อง ปริมาณสารสื่ออักเสบที่มากเกินไปจะทำให้เกิดการหายของแผลที่ช้าลง ปัจจุบันมีการศึกษาค้นคว้าวิจัยในการนำเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์มาช่วยลด

ภาวะการอักเสบ แต่เนื่องจากยังไม่มีผู้ศึกษาวิจัยความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์กับภาวะการอักเสบในช่องปากที่เกิดจากการทำศัลยกรรมในช่องปาก งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของโพรไบโอติก *L. paracasei* ที่มีต่อ TNF-α ภายในช่องปากในน้ำเหลืองเหงือก ซึ่ง *L. paracasei* ที่ใช้เป็นสายพันธุ์ MSMC39-1 ที่แยกได้จากอุจจาระเด็กทารกแรกคลอดที่มีสุขภาพดี ศูนย์การแพทย์สมเด็จพระเทพฯ (SWUEC 37/2551) ซึ่งมีการศึกษาในมนุษย์แล้วว่าสามารถลดการอักเสบ มีกลไกหลักที่สามารถยับยั้งระดับ TNF-α ได้[17] เพื่อให้ทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการลดสารสื่ออักเสบ และระดับของสารสื่ออักเสบที่เกิดขึ้นจากการทำศัลยกรรมในช่องปาก เพื่อสามารถนำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ เพื่อให้ผู้ที่มารับการรักษาทางศัลยกรรมช่องปากได้ผลการรักษาที่ดีต่อไป

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้

1. การกำหนดประชากรและการเลือกกลุ่มตัวอย่าง
2. วัสดุอุปกรณ์
3. การเก็บรวบรวมข้อมูล
4. สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

การกำหนดประชากรและการเลือกกลุ่มตัวอย่าง

ประชากร

ผู้ที่มารับการรักษาโดยการผ่าฟันคุด ณ โรงพยาบาลทันตกรรม คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

การกำหนดขนาดของกลุ่มตัวอย่าง (Sample size)

กลุ่มตัวอย่าง คือ ผู้ที่มารับการผ่าฟันคุดล่าง ณ โรงพยาบาลทันตกรรม คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ จำนวน 30 คน

กำหนดขนาดกลุ่มตัวอย่าง ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป G*power โดยอำนาจการทดสอบ (Power) เท่ากับ 0.90 ระดับความเชื่อมั่นที่ 0.5 และขนาดอิทธิพล (effect size) .50 (ระดับปานกลาง) การศึกษาครั้งนี้ใช้กลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่ม ได้จำนวนตัวอย่างกลุ่มละ 12 คน รวมเป็น 24 คน และเพื่อป้องกันการสูญหายของกลุ่มตัวอย่างระหว่างการทดลอง ได้ทำการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างเพิ่มขึ้นร้อยละ 20 ได้กลุ่มตัวอย่างกลุ่มละ 15 คน รวมเป็น 30 คน

คุณสมบัติของกลุ่มตัวอย่างที่เลือกเข้าศึกษา (Inclusion criteria)

1. ผู้ที่มารับการผ่าฟันคุดล่าง ณ โรงพยาบาลทันตกรรม คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
2. เป็นผู้ที่มีอายุ 20– 30 ปี ทั้งเพศชายและหญิง
3. เป็นผู้ที่มารับการผ่าฟันคุดล่างที่มีการเปิดเหงือกและกรอกระดูกร่วมด้วย
4. เป็นผู้ที่ไม่มีโรคประจำตัว ไม่รับประทานยาใด ๆ เป็นประจำ และไม่มีประวัติการแพ้ยา

5. เป็นผู้ที่มีสุขภาวะในช่องปากดี ได้แก่ ไม่เป็นโรคปริทันต์อักเสบ โรคฝีหนองปลายรากฟันทั้งที่กำลังอยู่ในระหว่างการรักษาคลองรากฟันหรือวางแผนที่จะได้รับการรักษาคลองรากฟัน รวมทั้งผู้ป่วยที่มีฟันผุในระยะลุกลาม เสี่ยงต่อการมีฟันผุสูง และไม่มีรอยโรคหรือแผลในช่องปาก หรือการติดเชื้ออื่น ๆ เช่น เชื้อรา เริม เป็นต้น

เกณฑ์การคัดออกของกลุ่มตัวอย่าง (Exclusion criteria)

1. เป็นผู้ที่ใส่ฟันปลอมชนิดถอดได้ และใส่ฟันปลอมชนิดติดแน่นที่มีความไม่สมบูรณ์ของฟันปลอมติดแน่นนั้น (Faulty prosthesis)

2. เป็นผู้ที่ติดเครื่องมือจัดฟันชนิดติดแน่นในช่องปาก หรืออยู่ระหว่างขั้นตอนการจัดฟันโดยใส่เครื่องมือจัดฟันชนิดถอดได้

3. ฟันคุดล่างที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นเป็นโรคเหงือกอักเสบรอบฟันคุดมาก่อนการผ่าตัดภายใน 1 สัปดาห์ แม้ได้รับการรักษาแล้ว

4. เป็นผู้ที่กำลังรับประทานยา ทายา หรือมีการอมกลั้วปากด้วยน้ำยาบ้วนปากที่มีผลในการกดภูมิคุ้มกัน หรือกดภาวะการอักเสบอยู่ เช่น ยาหรือน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของ Steroid หรือ NSAIDs หรือ cyclosporin

5. เป็นผู้ที่กำลังรับประทานยาฆ่าเชื้อ ที่มีผลในการต้านเชื้อจุลชีพมาก่อนการทำการผ่าตัดเป็นระยะเวลาน้อยกว่า 1 สัปดาห์

เกณฑ์การถอนผู้เข้าร่วมการวิจัยหรือยุติการเข้าร่วมการวิจัย (Withdrawal or termination criteria)

1. กรณีที่การผ่าฟันคุดนั้น พบมีสภาวะแทรกซ้อนหรือขณะขั้นตอนการผ่าตัดพบอุปสรรค ทำให้เกิดความล่าช้าในขณะรักษา ไม่สามารถเสร็จสิ้นการผ่าตัดได้ตามระยะเวลาเฉลี่ยของการผ่าตัดฟันคุดล่าง โดยนับระยะเวลาตั้งแต่ขั้นตอนการกรีดเปิดเหงือกเป็นต้นไปจนเสร็จสิ้นการเย็บแผลและล้างแผล เกินระยะเวลา 60 นาที เนื่องจากมีการศึกษาพบว่าอาการแทรกซ้อนจะพบได้มากขึ้นเมื่อการผ่าฟันคุดนานเกินกว่า 60 นาที [19]

2. กรณีที่การผ่าฟันคุดนั้น พบมีความจำเป็นจะต้องจ่ายยาฆ่าเชื้อหลังการผ่าฟันคุด แม้ใช้ระยะเวลาในการรักษาน้อยกว่า 60 นาที แต่มีความเสียหายต่อเนื้อเยื่อมาก หรือคาดการณ์ว่ามีการเสี่ยงติดเชื้อสูง สมควรได้รับยาฆ่าเชื้อหลังการผ่าฟันคุด

วัสดุอุปกรณ์และการเก็บรวบรวมข้อมูล

การวิจัยนี้เป็นการเก็บข้อมูลจากผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษา ณ คลินิกศัลยศาสตร์ช่องปาก โรงพยาบาลทันตกรรม คณะทันตแพทยศาสตร์ โดยผู้ป่วยถูกส่งตัวมาเพื่อรับการผ่าตัดนำฟันคุดออก โดยนิสิตระดับหลังปริญญาของหลักสูตรวิทยาการช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล ทั้งนี้ในการเก็บข้อมูลผู้ป่วยของการวิจัยนี้จะใช้ผู้ป่วยที่มีปัญหาฟันคุดล่าง ซึ่งตรวจประเมินและวินิจฉัยรวมทั้งมีภาพรังสีของฟันซี่ดังกล่าว และทันตแพทย์ประเมินแล้วว่าต้องได้รับการผ่าฟันคุดออกด้วยวิธีการผ่าตัดซึ่งต้องประกอบด้วยขั้นตอนการกรีดเปิดเหงือก การกรอแต่งกระดูก การกรอแบ่งฟันตามมาตรฐานในการให้การรักษาผู้ป่วยทางศัลยกรรมช่องปาก โดยผู้ป่วยที่จะเข้ารับการรักษาจะถูกส่งตัวจากแผนกตรวจและวิเคราะห์โรคให้มาติดต่อเพื่อรับการนัดและวางแผนการผ่าตัดดังกล่าว ผู้ช่วยวิจัยหรือผู้ร่วมวิจัยจะได้เชิญชวนผู้เข้าร่วมวิจัยและจัดจำแนกกลุ่มประชากรเป็น 2 กลุ่ม ในวันที่ผู้ป่วยเข้ารับการนัดหมาย โดยการสุ่มแบบอิสระจนได้จำนวนประชากรครบตามที่ตั้งไว้ เมื่อผู้ป่วยรับทราบข้อกำหนดและลงนามในแบบยินยอมเข้าร่วมการรักษาและวิจัยแล้ว ผู้วิจัยจะได้เก็บข้อมูลในส่วนที่ 1 ได้แก่ เพศ และอายุ โดยไม่มีการระบุตัวตนของผู้ป่วยแต่จะใช้รหัสตัวเลขแทนตัวผู้ป่วยและจำแนกกลุ่มประชากรเป็น 2 กลุ่ม ทั้ง 2 กลุ่มจะถูกเก็บข้อมูลผ่านแบบสอบถามและการเก็บตัวอย่างน้ำเหลืองเหงือก ดังมีขั้นตอน คือ

ตอนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของประชากร ได้แก่ เพศ อายุ

ตอนที่ 2 แบบสอบถามประเมิน VAS score ในแต่ละหัวข้อ ได้แก่ อาการปวด อาการบวม และการอ้าปาก และการวัดระยะการอ้าปาก

ตอนที่ 3 ตัวอย่างน้ำเหลืองเหงือกเพื่อนำไปวัดระดับของ TNF-α

กลุ่มตัวอย่างแบ่งออกเป็นกลุ่ม 2 กลุ่ม คือกลุ่มทดลอง และ กลุ่มควบคุม

กลุ่มตัวอย่างกลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มทดลอง โดยเป็นผู้ที่มารับการผ่าฟันคุด จำนวน 15 คน โดยหลังการผ่าฟันคุดได้รับการล้างแผลด้วยน้ำเกลือ 0.9% ที่ผสมน้ำเลี้ยง *L. paracasei* 70% ในปริมาตร 40 มิลลิลิตร

กลุ่มตัวอย่างกลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มควบคุม โดยเป็นผู้ที่มารับการผ่าฟันคุด จำนวน 15 คน โดยหลังการผ่าฟันคุดได้รับการล้างแผลด้วยน้ำเกลือ 0.9% ปริมาตร 40 มิลลิลิตร

โดยผู้วิจัยจะเป็นผู้ทำหัตถการผ่าฟันคุดให้ผู้เข้าร่วมวิจัยทุกคนที่เข้าร่วมวิจัยด้วยตนเอง

ส่วนที่ 1 การเตรียมโพรไบโอติก

การเตรียมโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1

นำโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 ที่เก็บรักษาไว้ โดยนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารอาหารแข็ง MRS agar ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนใน anaerobic jar ที่ 37ºC เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นจะนำมาเพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวน เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

การเตรียมน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก (probiotic supernatant) ของ *L. paracasei* MSMC39-1

นำ *L. paracasei* MSMC39-1 มาปรับความเข้มข้นสุดท้าย (final concentration) ให้ได้ 10^9CFU/ml และนำไปบ่มที่ 37°C ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนใน anaerobic jar เมื่อครบเวลา 48 ชั่วโมง นำไปแยกเอาส่วนน้ำเลี้ยง (supernatant) และกรองผ่านกระดาษกรองขนาด filter 0.22 μm เก็บในอุณหภูมิต่ำเพื่อทดสอบต่อไป

การทดสอบการยับยั้ง TNF-α ในเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด monocytic cell line (THP-1)

การทดสอบการยับยั้ง TNF-α เพื่อยืนยันคุณสมบัติที่คงที่ของโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 โดยเพาะเลี้ยงเซลล์ monocytic cell line (THP-1) ซึ่งเป็นโมเดลการทดสอบของเซลล์ภูมิคุ้มกัน เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ Roswell Park Memorial Institute (RPMI) ที่มี fetal bovine serum และ penicillin-streptomycin โดยเพาะเลี้ยงจนกระทั่งเซลล์มีการเจริญเติบโตได้ 70% จากนั้นนับจำนวนเซลล์จำนวน $2.5x10^5$ cells/ml และเพาะลงใน 96-well plates จากนั้นเติม probiotic supernatant ของ *L. paracasei* MSMC39-1 และกระตุ้นเซลล์ให้เกิดการอักเสบโดยเติม 20 μg/ml purified lipopolysaccharide (LPS) ที่ได้จาก *Escherichia coli* serotype O127:B8 (Sigma, USA) เมื่อครบ 24 ชั่วโมง เก็บน้ำเลี้ยงเซลล์ที่ได้มาปั่นที่ 3,000 รอบต่อนาที ที่ 4 °C นาน 5 นาทีจากนั้นนำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้ง tumor necrotic factor ด้วยวิธี sandwich ELISA จากนั้นคำนวณ percentage of TNF-α inhibition

% TNF-α inhibition = 100 × (observed ÷ baseline -1)

observed = secreted TNF-α of experiment (pg/ml) and

baseline = secreted TNF-α of MRS bacterial culture medium (pg/ml)

ส่วนที่ 2 การเตรียมน้ำยาสำหรับใช้ในกลุ่มทดลอง

นำน้ำเลี้ยง (supernatant) ที่กรองและเก็บไว้ในอุณหภูมิต่ำ มาผสมในน้ำเกลืออัตราส่วน 70:30 ได้ความเข้มข้นของน้ำเลี้ยง 70% เนื่องจากงานวิจัยก่อนหน้าพบว่าเป็นความ

เข้มข้นที่มากที่สุดที่ทำให้ยังมี cell viability มากกว่า 95% และไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ และเก็บในอุณหภูมิต่ำต่อไปเพื่อเตรียมไว้ใช้ในการทดลอง

ส่วนที่ 3 การเก็บข้อมูล

กลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมจะมีการเก็บข้อมูลก่อนการผ่าฟันคุด หลังการผ่าฟันคุด 24 ชั่วโมง และหลังการผ่าฟันคุด 7 วัน

ทั้งนี้ผู้วิจัยเตรียมการเก็บข้อมูล โดยใช้แบบสอบถามการวัดระยะการอ้าปากกว้างสุด และการเก็บตัวอย่างน้ำเหลืองเหงือก โดยเก็บข้อมูลด้วยตนเองและจะเป็นผู้ทำหัตถการผ่าฟันคุดด้วยตนเองในกลุ่มตัวอย่างทุกคนที่นำมาศึกษา โดยข้อมูลที่จัดเก็บมีดังนี้

1. วันที่ผู้ป่วยเข้ารับการผ่าฟันคุด

ก่อนผู้ป่วยเข้ารับการผ่าตัด ทั้งกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมจะได้รับการเก็บน้ำเหลืองเหงือกครั้งที่ 1 เพื่อนำไปวิเคราะห์ถึงระดับของสารสื่ออักเสบ TNF-α มีการประเมิน VAS score (อาการปวด อาการบวม และการอ้าปาก) และวัดระยะการอ้าปากสูงสุด จากนั้นจึงเข้าสู่ขั้นตอนการผ่าฟันคุดตามมาตรฐานการรักษาทางศัลยศาสตร์ช่องปาก

สำหรับกลุ่มทดลอง หลังจากเก็บตัวอย่างน้ำเหลืองเหงือก ก่อนการเริ่มหัตถการจะให้ผู้ป่วยกลั้วปากด้วยน้ำน้ำเกลือ 0.9% ที่ผสมน้ำเลี้ยง *L. paracasei* 70% ในปริมาตร 10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 นาที และหลังจากขั้นตอนการเย็บแผลจะทำการล้างด้วยน้ำเกลือ 0.9% ที่ผสมน้ำเลี้ยง *L. paracasei* 70%อีก 40 ml เป็นเวลา 1 นาที และนำมาชุบผ้าก๊อซหมาด ให้คนไข้กัดเพื่อห้ามเลือดต่อไปอีก 1 ชั่วโมง

สำหรับกลุ่มควบคุม หลังจากเก็บตัวอย่างน้ำเหลืองเหงือก ก่อนการเริ่มหัตถการจะให้ผู้ป่วยกลั้วปากด้วยน้ำเกลือ เป็นเวลา 1 นาที หลังจากขั้นตอนการเย็บแผลจะทำการล้างด้วยน้ำเกลือ 0.9% อีก 40 ml เป็นเวลา 1 นาที และนำมาชุบผ้าก๊อซหมาด ให้คนไข้กัดเพื่อห้ามเลือดต่อไปอีก 1 ชั่วโมง

โดยหลังจากการทำหัตถการ ผู้ป่วยทั้งกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมจะได้รับการจ่ายยาเฉพาะยาพาราเซตตามอลเพื่อการระงับอาการปวดเท่านั้น หากในกรณีที่พบผลแทรกซ้อนภายหลังการรักษาในระยะ24 ชม ซึ่งต้องมีการจ่ายยาในกลุ่ม NSAIDs จะถอนการเก็บข้อมูลผู้ป่วยออกจากการวิจัย

VAS Score (อาการบวม และ อาการปวด)

โดยผู้ป่วยเป็นผู้ตอบแบบสอบถามนี้ด้วยตนเอง

แบบสอบถามเพื่อประเมิน VAS Score และระยะการอ้าปาก **แบบเก็บข้อมูล**

โปรดให้คะแนนเพื่อจัดทำคะแนน VAS score 1-5

โดย 5 คือมากที่สุด 4 คือมาก 3 คือปานกลาง 2 คือน้อย และ 1 คือน้อยที่สุด

การประเมิน	คำถาม	ระดับ				
		1	2	3	4	5
1. การปวด	คุณรู้สึกปวดแผลผ่าฟันคุดระดับใด					
2. การบวม	คุณรู้สึกมีอาการบวมที่แก้มหรือช้ำที่แก้มระดับใด					
3. ภาวะอ้าปากได้น้อย	คุณรู้สึกว่าคุณอ้าปากได้ยากระดับใด					

ระยะการอ้าปาก

ผู้วิจัยเป็นผู้วัดค่า โดยวัดค่าจากปลายฟันหน้าบนถึงปลายฟันหน้าล่าง ในขณะที่ผู้ป่วยอ้าปาก กว้างสุด และจดบันทึกระยะการอ้าปากสูงสุด _____ มิลลิเมตร

จัดเก็บน้ำเหลืองเหงือก (Gingival crevicular fluid; GCF)

ผู้วิจัยเป็นผู้จัดเก็บตัวอย่างน้ำเหลืองเหงือกด้วยตนเอง โดยขั้นตอนการจัดเก็บ GCF จากผู้ป่วยมีดังนี้

1. ให้ผู้ป่วยอมกลั้ว Normal saline 10 ml เป็นเวลา 1 นาที 1 ครั้ง

2. ตำแหน่งที่จะเก็บตัวอย่าง ให้ isolate กันน้ำลายด้วย cotton roll และเป่าลมเบาๆ ให้แห้ง

3. ใช้ Paper point ขนาด M ที่ sterile สอดลงไปบริเวณ Sulcus ที่บริเวณเหงือกด้านแก้มของฟันกรามล่างซี่ที่สองที่อยู่ติดกับตำแหน่งฟันคุดที่ทำการผ่าฟันคุด โดยสอดลึกลงไปจนรู้สึกถึงแรงต้าน เก็บตัวอย่างเป็นเวลา 30 วินาที ทำซ้ำ 2 ครั้งเพื่อนำมาหาเป็นค่าเฉลี่ยซึ่งเป็นตัวแทนค่าของกลุ่มตัวอย่างนั้น

4. นำ Paper point ที่ได้จัดเก็บน้ำเหลืองเหงือกแล้ว มาใส่ใน sterile polypropylene container ที่ใส่สารละลาย phosphate buffered saline (PBS) 200 μl และ sterile polypropylene container เปล่าอย่างละ 1 ชิ้น และเก็บไว้ในอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์ ELISA

2. วันติดตามผลการรักษาผู้ป่วย 24 ชั่วโมงหลังการผ่าฟันคุด

ผู้ป่วยจะได้รับการติดตามผลการรักษารวมถึงการเก็บข้อมูลประเมิน VAS score (อาการปวด อาการบวม และการอ้าปาก) และวัดระยะการอ้าปากสูงสุด รวมทั้งการเก็บน้ำเหลืองเหงือกครั้งที่ 2 เพื่อนำไปวิเคราะห์ถึงระดับของสารสื่ออักเสบ TNF-α

VAS Score (อาการบวม และ อาการปวด)

โดยผู้ป่วยเป็นผู้ตอบแบบสอบถามนี้ด้วยตนเอง

แบบสอบถามเพื่อประเมิน VAS Score และระยะการอ้าปาก **แบบเก็บข้อมูล**

โปรดให้คะแนนเพื่อจัดทำคะแนน VAS score 1-5

โดย 5 คือมากที่สุด 4 คือมาก 3 คือปานกลาง 2 คือน้อย และ 1 คือน้อยที่สุด

การประเมิน	คำถาม	ระดับ				
		1	2	3	4	5
1. การปวด	คุณรู้สึกปวดแผลผ่าฟันคุดระดับใด					
2. การบวม	คุณรู้สึกมีอาการบวมที่แก้มหรือช้ำที่แก้มระดับใด					
3. ภาวะอ้าปากได้น้อย	คุณรู้สึกว่าคุณอ้าปากได้ยากระดับใด					

ระยะการอ้าปาก

ผู้วิจัยเป็นผู้วัดค่า โดยวัดค่าจากปลายฟันหน้าบนถึงปลายฟันหน้าล่างในขณะที่ผู้ป่วยอ้าปาก กว้างสุด และจดบันทึกระยะการอ้าปากสูงสุด _____ มิลลิเมตร

จัดเก็บน้ำเหลืองเหงือก (Gingival crevicular fluid; GCF)

ผู้วิจัยเป็นผู้จัดเก็บตัวอย่างน้ำเหลืองเหงือกด้วยตนเอง โดยขั้นตอนการจัดเก็บน้ำเหลืองเหงือก จากผู้ป่วยมีดังนี้

1. ให้ผู้ป่วยอมกลั้ว Normal saline 10 ml เป็นเวลา 1 นาที 1 ครั้ง
2. ตำแหน่งที่จะเก็บตัวอย่าง ให้ isolate กันน้ำลายด้วย cotton roll และเป่าลมเบาๆ ให้แห้ง
3. ใช้ Paper point ขนาด M ที่ sterile สอดลงไปบริเวณ Sulcus ที่บริเวณเหงือกด้านแก้มของฟันกรามล่างซี่ที่สองที่อยู่ติดกับตำแหน่งฟันคุดที่ทำการผ่าฟันคุด โดย

สอดลึกลงไปจนรู้สึกถึงแรงต้าน เก็บตัวอย่างเป็นเวลา 30 วินาที ทำซ้ำ 2 ครั้งเพื่อนำมาหาเป็นค่าเฉลี่ยซึ่งเป็นตัวแทนค่าของกลุ่มตัวอย่างนั้น

4. นำ Paper point ที่ได้จัดเก็บน้ำเหลืองเหงือกแล้ว มาใส่ใน sterile polypropylene container ที่ใส่สารละลาย phosphate buffered saline (PBS) 200 μl และ sterile polypropylene container เปล่าอย่างละ 1 ชิ้น และเก็บไว้ในอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำไปวิเคราะห์ ELISA

3. วันติดตามผลการรักษาผู้ป่วย 7 วัน หลังการผ่าฟันคุด

ผู้ป่วยจะได้รับการติดตามผลการรักษาและการเก็บข้อมูลประเมิน VAS score (อาการปวด อาการบวม และการอ้าปาก) และวัดระยะการอ้าปาก ครั้งที่ 3 รวมทั้งได้รับการตัดไหมแผลที่ผ่าตัดไปแล้ว

VAS Score (อาการบวม และ อาการปวด)

โดยผู้ป่วยเป็นผู้ตอบแบบสอบถามนี้ด้วยตนเอง

แบบสอบถามเพื่อประเมิน VAS Score และระยะการอ้าปาก **แบบเก็บข้อมูล**

โปรดให้คะแนนเพื่อจัดทำคะแนน VAS score 1-5

โดย 5 คือมากที่สุด 4 คือมาก 3 คือปานกลาง 2 คือน้อย และ 1 คือน้อยที่สุด

การประเมิน	คำถาม	ระดับ				
		1	2	3	4	5
1. การปวด	คุณรู้สึกปวดแผลผ่าฟันคุดระดับใด					
2. การบวม	คุณรู้สึกมีอาการบวมที่แก้มหรือช้ำที่แก้มระดับใด					
3. ภาวะอ้าปากได้น้อย	คุณรู้สึกว่าคุณอ้าปากได้ยากระดับใด					

ระยะการอ้าปาก

ผู้วิจัยเป็นผู้วัดค่า โดยวัดค่าจากปลายฟันหน้าบนถึงปลายฟันหน้าล่างในขณะที่ผู้ป่วยอ้าปาก กว้างสุด และจดบันทึกระยะการอ้าปากสูงสุด _____ มิลลิเมตร

ส่วนที่ 3 การวิเคราะห์ปริมาณ TNF-α

นำ paper point ที่จัดเก็บไว้ใน polypropylene container เปล่ามาใส่ในสารละลาย phosphate buffered saline (PBS) 200 μl ที่ 4 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ข้ามคืน[45] หลังจากนั้นนำ polypropylene container ทั้งที่เตรียมทิ้งไว้ข้ามคืนแล้ว และ polypropylene container ที่เหลือมาปั่นในเครื่อง centrifuged ที่ 400g นาน 4 นาทีที่ 4 องศาเซลเซียส paper point จะถูกแยกชั้นออก จากนั้นแยกส่วนของ paper point และส่วนของเหลวเหนือตะกอนเก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส[46]

ส่วนของเหลวเหนือตะกอนจะนำมาตรวจสอบด้วยวิธีทางวิทยาภูมิคุ้มกันโดยใช้ ELISA โดยเคลือบผิว ELISA plate ด้วย mouse anti-human TNF-α antibodies เป็น capture antibody ใช้ recombinant human TNF (R&D Systems, USA) เป็น standard ที่ความเข้มข้น 1.9, 3.9, 7.82, 15.63, 31.5, 62.5, 125, 250, 500 ρg/ml และ detection antibody ใช้เป็น biotinylated goat anti-human TNF antibodies (R&D Systems, USA) หลังจากเติม streptavidin-horseradish peroxidase conjugate แล้วตรวจสอบปฏิกิริยาโดยใส่ TMB substrate (R&D Systems, USA) และนำไปวัดค่าความหนาแน่นการส่องผ่านของแสงในสารละลายที่ OD 450 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer นำค่าที่ได้นำมาคำนวณหาปริมาณของ TNF โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน ปริมาณของ TNF-α ที่ได้จะประเมินจากปริมาณเป็น picograms (pg) ค่าความเข้มข้นของแต่ละตัวอย่างจะได้เป็นปริมาณ (pg/ μL)[46] นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์เชิงสถิติต่อไป

การวิเคราะห์ข้อมูล

เมื่อสิ้นกระบวนการทดลอง การเก็บข้อมูล และวิเคราะห์ปริมาณ TNF-α แล้ว จะนำข้อมูลมาจัดกระทำเพื่อวิเคราะห์ทางสถิติต่อไป

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้โปรแกรม SPSS ในการวิเคราะห์ข้อมูลโดยกำหนดระดับความเชื่อมั่นที่ 95%

- ข้อมูลทั่วไปวิเคราะห์โดยใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ จำนวน ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- ทดสอบหาความแปรปรวนของข้อมูลด้วย Shapiro Wilk test

- ข้อมูลความแตกต่างในกลุ่มนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบโดยใช้สถิติ Independent Sample T-test , Mann-Whitney U test และ ANCOVA

- ข้อมูลความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่นำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบใช้สถิติ Paired Sample T-test

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ *Lactobacillus paracasei* ที่มีต่อระดับของไซโตไคน์ที่ทำให้เกิดการอักเสบชนิด TNF-α ในน้ำเหลืองเหงือก และประเมินผลของโพรไบโอติก *L. paracasei* ต่อสภาวะทางคลินิก ได้แก่ อาการปวด อาการบวม การอ้าปาก และระดับการอ้าปากในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าฟันคุด

กลุ่มตัวอย่างเป็นผู้ที่มารับการผ่าฟันคุด ณ โรงพยาบาลทันตกรรม คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ จำนวน 30 คน โดยแบ่งเป็นกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับการล้างแผลด้วยน้ำเกลือที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. paracasei* (กลุ่มทดลอง) จำนวน 15 คน และกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับการล้างแผลด้วยน้ำเกลือที่ไม่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *L. paracasei* ซึ่งจะได้รับเพียงการล้างแผลด้วยน้ำเกลือ 0.9% (กลุ่มควบคุม) จำนวน 15 คน ผลการศึกษามีรายละเอียดแบ่งเป็น 3 ส่วน

1. ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทั่วไป
2. ผลการวิเคราะห์ข้อมูลฟันคุดของกลุ่มตัวอย่าง
3. ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

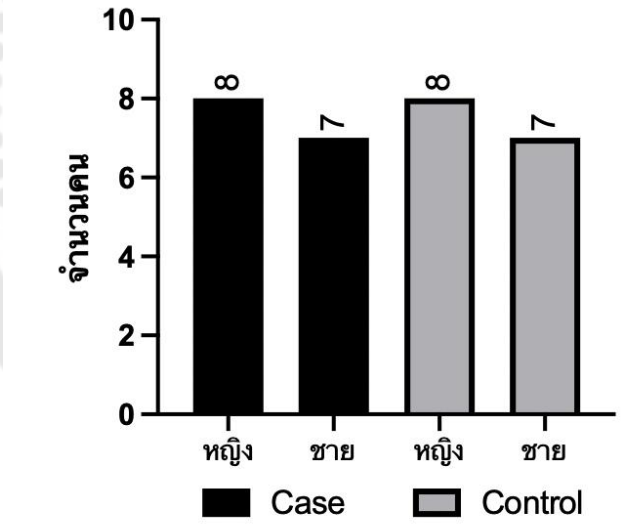
ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง

ผลการศึกษาพบว่า กลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมเป็นเพศหญิงร้อยละ 53.3 และเป็นเพศชายร้อยละ 46.7 โดยกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีอายุเฉลี่ย 22.40 ปี (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 4.87) และ 22.73 ปี (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 2.79) ตามลำดับ ซึ่งถือว่ากลุ่มตัวอย่างที่นำมาศึกษาครั้งนี้มีความใกล้เคียงกันทั้งด้านเพศและอายุเฉลี่ย

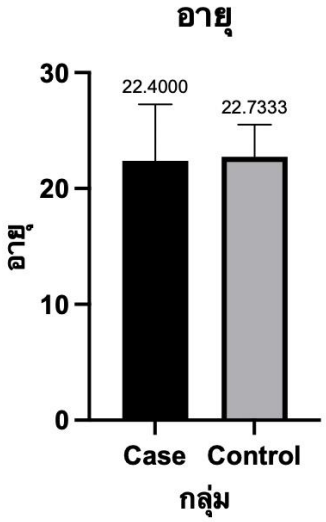
กลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีค่าความดันโลหิต Systolic blood pressure (SBP) เฉลี่ย 123.00 mmHg (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 8.72 mmHg) และ 119.87 mmHg (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 11.22 mmHg) ตามลำดับ ค่าความดันโลหิต Diastolic blood pressure (DBP) เฉลี่ย 77.80 mmHg (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 7.16 mmHg) และ 74.60 mmHg (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 10.38) ตามลำดับ และอัตราการเต้นของหัวใจเฉลี่ย 89.47 ครั้งต่อนาที (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 11.99 ครั้งต่อนาที) และ 91.47 ครั้งต่อนาที (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 12.48 ครั้งต่อนาที) ตามลำดับ ดังแสดงผลในตารางที่ 2 และภาพประกอบ 8 และ 9 ซึ่งจะพบว่ากลุ่มตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ตาราง 1 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลทั่วไป

ข้อมูลทั่วไป	กลุ่มทดลอง (n = 15)	กลุ่มควบคุม (n = 15)	p-value
เพศ			
หญิง	8 (53.3)	8 (53.3)	1.000
ชาย	7 (46.7)	7 (46.7)	
อายุ (ปี)	22.40 ± 4.87	22.73 ± 2.79	0.820
SBP (mmHg)	123.00 ± 8.72	119.87 ± 11.22	0.400
DBP (mmHg)	77.80 ± 7.16	74.60 ± 10.38	0.334
PR (bpm)	89.47 ± 11.99	91.47 ± 12.48	0.658



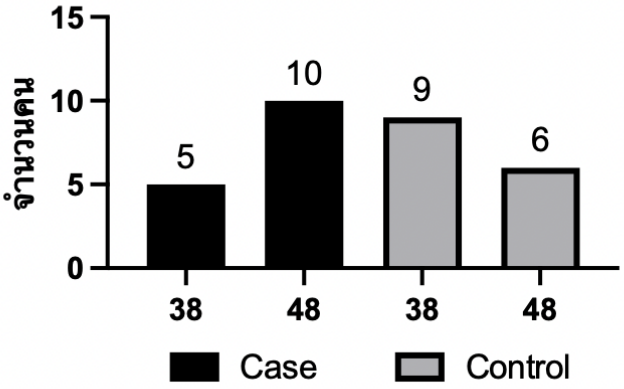
ภาพประกอบ 8 แสดงเพศของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม



ภาพประกอบ 9 แสดงอายุเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลข้อมูลฟันคุดของกลุ่มตัวอย่าง

ผลการศึกษาพบว่า กลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีข้อมูลการผ่าฟันคุดไม่แตกต่างกัน โดยกลุ่มทดลองส่วนมากได้รับการผ่าฟันกรามล่างซี่ที่สามคุดข้างขวา (ฟันซี่48) ร้อยละ 66.7 ส่วนกลุ่มควบคุมส่วนมากได้รับการผ่าฟันกรามล่างซี่ที่สามคุดข้างซ้าย (ฟันซี่38) ร้อยละ 60 ตามลำดับ ดังแสดงในภาพประกอบ 10



ภาพประกอบ 10 แสดงซี่ของฟันคุดที่ได้รับการผ่า

ฟันคุดทั้งกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมส่วนมากมีตำแหน่งตามการจำแนกชนิดตามการจัดจำแนกของ Pell และ Gregery เป็น Horizontal angulation ร้อยละ 53.3 และ 46.7 ตามลำดับ (p-value = 1.000) โดยส่วนมากเป็นฟันคุดใน Class II ร้อยละ 66.7 และ 66.7 ตามลำดับ (p-value = 1.000) และส่วนมากมีความลึกของฟันคุดที่ Position B ร้อยละ 40.0 และ 60.0 ตามลำดับ (p-value = 0.410)

ทั้งกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมส่วนมากมีฟันคุดที่ยังไม่ขึ้นมาในช่องปาก (Clinical absence) ร้อยละ 66.7 และ 80.0 ตามลำดับ (p-value = 0.682) กลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีระยะเวลาการผ่าตัดเฉลี่ย 46.47 นาที (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 22.04 นาที) และ 42.8 นาที (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 18.44 นาที) ตามลำดับ (p-value = 0.625) มีจำนวนไหมเย็บเฉลี่ย 3.27 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 1.16) และ 3.00 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.85) ตามลำดับ (p-value = 0.478) ดังแสดงผลในตารางที่ 3

ตาราง 2 แสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลฟันคุด

ข้อมูลฟันคุด	**กลุ่มทดลอง (n = 15)**	**กลุ่มควบคุม (n = 15)**	p-value
ซี่ฟัน			
38	5 (33.3)	9 (60.0)	0.143
48	10 (66.7)	6 (40.0)	
Angulation			
Vertical	2 (13.3)	2 (13.3)	1.000
Mesio-angular	5 (33.3)	6 (40.0)	
Horizontal	8 (53.3)	7 (46.7)	
Classification			
Class I	4 (26.7)	4 (26.7)	1.000
Class II	10 (66.7)	10 (66.7)	
Class III	1 (6.7)	1 (6.7)	
Position			
Depth A	4 (26.7)	4 (26.7)	0.410

ตาราง 3 (ต่อ)

ข้อมูลฟันคุด	กลุ่มทดลอง (n = 15)	กลุ่มควบคุม (n = 15)	p-value
Depth B	6 (40)	9 (60.0)	
Depth C	5 (33.3)	2 (13.3)	
Status			
Clinical absence	10 (66.7)	12 (80.0)	0.682
Partial eruption	5 (33.3)	3 (20.0)	
ระยะเวลาการผ่าตัด (นาที)	46.47 ± 22.04	42.8 ± 18.44	0.625
จำนวน stitches	3.27 ± 1.16	3.00 ± 0.85	0.478

ข้อมูลนำเสนอในรูปแบบ จำนวน(%) หรือ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

P-value corresponds to Independent samples t-test, Chi-square test

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของตัวแปร

ผลการเปรียบเทียบระดับของสารสื่ออักเสบ TNF- α

ผลการศึกษาพบว่าเมื่อนำน้ำเหลืองเหงือกมาวิเคราะห์หาสารสื่ออักเสบ TNF- α ในกลุ่มทดลองโดยแสดงผลด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรเฉลี่ยของสารสื่ออักเสบก่อนการทดลองเท่ากับ 0.0785 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0216) และมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรเฉลี่ยของสารสื่ออักเสบหลังการทดลองเท่ากับ 0.0782 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0272) สำหรับกลุ่มควบคุมนั้นมีค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของสารสื่ออักเสบก่อนการทดลองเท่ากับ 0.0671 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0170) และมีค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของสารสื่ออักเสบหลังการทดลองเท่ากับ 0.0937 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0416)

เมื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยก่อนและหลังการทดลองของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมโดยพิจารณาค่าสถิติด้วยการทดสอบความแตกต่างของค่ากลางของสองประชากรที่อิสระต่อกัน (Independent Samples T-test) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงผลในตารางที่ 4

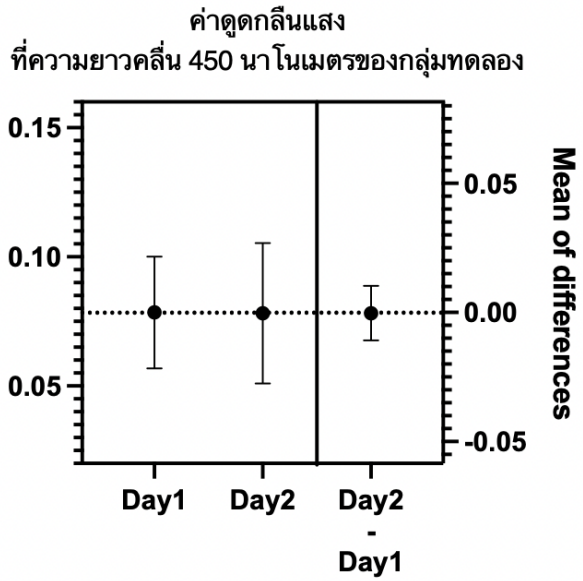
ตาราง 3 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของกลุ่มทดลองและควบคุม

	กลุ่มทดลอง					
	กลุ่ม	**N**	**Mean ± SD**	**95% CI**	**t**	**p**
ก่อนการทดลอง	กลุ่มทดลอง	15	0.0785 ± .0216	(-0.003 – 0.026)	1.604	0.120
	กลุ่มควบคุม	15	0.0671 ± .017			
หลังการทดลอง	กลุ่มทดลอง	15	0.0782 ± .0272	(-0.042 – 0.011)	-1.209	0.237
	กลุ่มควบคุม	15	0.0937 ± .0416			

เมื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยก่อนและหลังการทดลองของกลุ่มทดลอง โดยพิจารณาค่าสถิติด้วยการทดสอบความแตกต่างของค่ากลางของสองประชากรที่ไม่อิสระต่อกัน (Paired Samples T-test) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อพิจารณาจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรเฉลี่ยก่อนและหลังการทดลองของกลุ่มทดลองพบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน นั่นคือมีค่า เท่ากับ 0.0785 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0216) และ 0.0782 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0272) ตามลำดับ ดังแสดงผลในตารางที่ 5 และภาพประกอบ 11

ตาราง 4 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของกลุ่มทดลอง

	กลุ่มทดลอง					
	การทดลอง	**N**	**Mean ± SD**	**95% CI**	**t**	**p**
ค่าเฉลี่ย OD	ก่อน	15	0.0785 ± .0216	(-0.010 – 0.010)	0.54	0.958
	หลัง		0.0782 ± .0272			

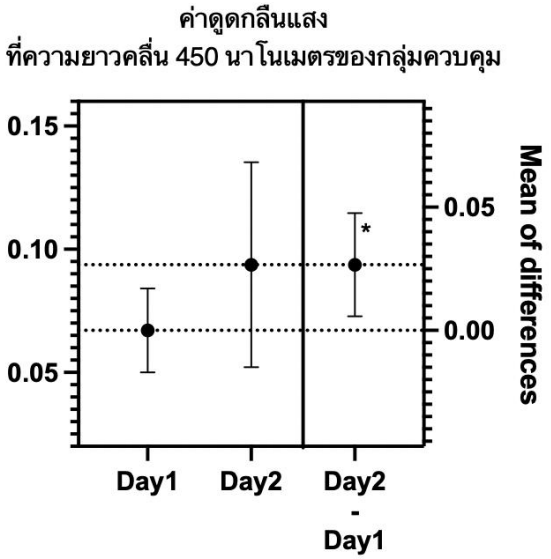


ภาพประกอบ 11 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของกลุ่มทดลอง

สำหรับกลุ่มควบคุมนั้นมีค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของสารสื่ออักเสบก่อนการทดลองเท่ากับ 0.0671 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0170) และมีค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของสารสื่ออักเสบหลังการทดลองเท่ากับ 0.0937 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0416) เมื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยก่อนและหลังการทดลองโดยพิจารณาค่าสถิติด้วยการทดสอบความแตกต่างของค่ากลางของสองประชากรที่ไม่อิสระต่อกัน (Paired Samples T-test) พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อพิจารณาจากค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรก่อนและหลังการทดลองพบว่าค่าเฉลี่ยหลังการทดลองมีค่าสูงกว่าก่อนการทดลอง นั่นคือมีค่าเท่ากับ 0.0671 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0170) และ 0.0937 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0416) ตามลำดับ ดังแสดงผลในตารางที่ 6 และภาพประกอบ 12

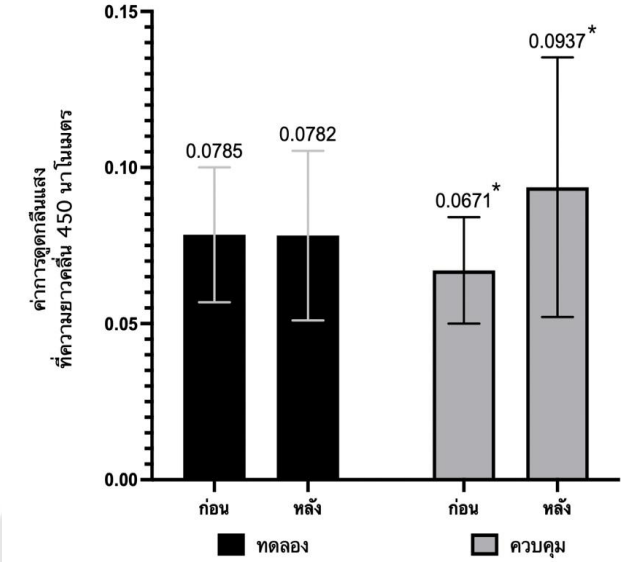
ตาราง 5 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของกลุ่มควบคุม

	กลุ่มควบคุม					
	การทดลอง	N	Mean ± SD	95% CI	t	p
ค่าเฉลี่ย OD	ก่อน	15	0.0671 ± .0170	(-0.048 - -0.006)	-2.725	0.016*
	หลัง		0.0937 ± .0416			



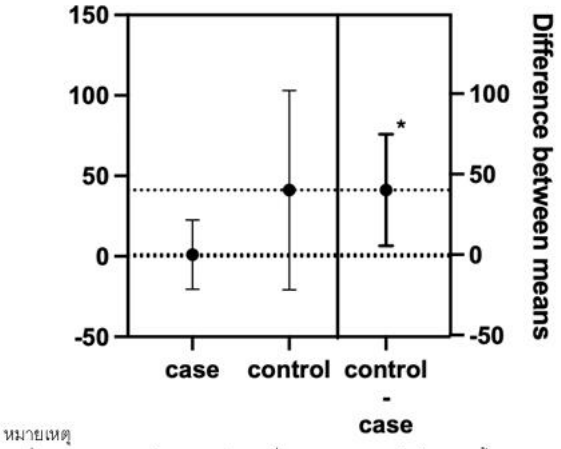
ภาพประกอบ 12 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของกลุ่มควบคุม

เมื่อพิจารณาจากค่าทางสถิติแล้วนั้น แม้ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของสารสื่ออักเสบเฉลี่ยหลังการทดลองในกลุ่มทดลองจะมีค่าน้อยกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อพิจารณาในกลุ่มพบว่าในกลุ่มทดลองมีระดับค่าเฉลี่ยก่อนและหลังการทดลองแตกต่างกันเล็กน้อยอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่ในกลุ่มควบคุมมีระดับค่าเฉลี่ยก่อนและหลังการทดลองแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยหลังการทดลองมีค่าเฉลี่ยสูงกว่าก่อนการทดลอง ดังแสดงในภาพประกอบ 13



ภาพประกอบ 13 แสดงผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม

เมื่อคำนวนด้วยสูตรคำนวน % TNF-α inhibition = 100 × (observed ÷ baseline - 1) โดยใช้ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของสารสื่ออักเสบก่อนการทดลองและหลังการทดลอง พบว่าในกลุ่มทดลองมีค่า % TNF-α inhibition เท่ากับ -0.339847069ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีค่า % TNF-α inhibition เท่ากับ 39.71172962 ซึ่งหมายความว่ากลุ่มทดลองมีความสามารถในการยับยั้ง TNF-α ได้มากกว่ากล่มควบคุม เมื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ย % TNF-α inhibition ของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมโดยพิจารณาค่าสถิติด้วยการทดสอบความแตกต่างของค่ากลางของสองประชากรที่อิสระต่อกัน (Independent Samples T-test) พบว่ากลุ่มทดลองมีค่าสูงกว่าอย่างมีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ทางสถิติที่พบว่ากลุ่มทดลองมีค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของสารสื่ออักเสบก่อนและหลังการทดลองแตกต่างกันเล็กน้อย ขณะที่กลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยก่อนการทดลองสูงกว่าหลังการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในภาพประกอบ 14



ภาพประกอบ 14 แสดงค่า% TNF-α inhibition ของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม

จึงสามารถอนุมานได้ว่า *Lactobacillus paracasei* มีผลลดระดับของไซโตไคน์ที่ทำให้เกิดการอักเสบชนิด TNF-α ในน้ำเหลืองเหงือกในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าฟันคุด

ผลการเปรียบเทียบผลการประเมินอาการปวด อาการบวม การอ้าปาก โดยใช้ Visual analog scale (VAS)

ผลการศึกษาพบว่าเมื่อเปรียบเทียบผลการประเมินอาการปวดโดยใช้ Visual analog scale (VAS) score ใน 24 ชั่วโมงหลังจากการผ่าฟันคุดโดยพิจารณาค่าสถิติด้วยการทดสอบความแตกต่างของค่ากลางของสองประชากรที่เป็นอิสระต่อกัน (Mann - Whitney U Test) พบว่ากลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีค่าไม่แตกต่างกัน โดยกลุ่มทดลองมีอาการปวดเฉลี่ย 1.67 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.82) และกลุ่มควบคุมมีอาการปวดเฉลี่ย 2.33 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 1.11) และเมื่อเปรียบเทียบผลการประเมินอาการปวดโดยใช้ Visual analog scale (VAS) score ใน 7 วันหลังจากการผ่าฟันคุดโดยพิจารณาค่าสถิติด้วยการทดสอบความแตกต่างของค่ากลางของสองประชากรที่เป็นอิสระต่อกัน (Mann - Whitney U Test) พบว่ากลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีค่าไม่แตกต่างกัน โดยกลุ่มทดลองมีอาการปวดเฉลี่ย 1.13 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.52) และกลุ่มควบคุมมีอาการปวดเฉลี่ย 1.53 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 1.13)

เมื่อเปรียบเทียบผลการประเมินอาการบวมโดยใช้ Visual analog scale (VAS) score ใน 24 ชั่วโมงหลังจากการผ่าฟันคุดโดยพิจารณาค่าสถิติด้วยการทดสอบความแตกต่างของค่ากลางของสองประชากรที่เป็นอิสระต่อกัน (Mann - Whitney U Test) พบว่ากลุ่มทดลองและ

กลุ่มควบคุมมีค่าไม่แตกต่างกัน โดยกลุ่มทดลองมีอาการบวมเฉลี่ย 2.87 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 1.13) และกลุ่มควบคุมมีอาการบวมเฉลี่ย 3.60 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 1.18) และเมื่อเปรียบเทียบผลการประเมินอาการบวมโดยใช้ Visual analog scale (VAS) score ใน 7 วันหลังจากการผ่าฟันคุดโดยพิจารณาค่าสถิติด้วยการทดสอบความแตกต่างของค่ากลางของสองประชากรที่เป็นอิสระต่อกัน (Mann - Whitney U Test) พบว่ากลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีค่าไม่แตกต่างกัน โดยกลุ่มทดลองมีอาการบวมเฉลี่ย 1.27 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.59) และกลุ่มควบคุมมีอาการบวมเฉลี่ย 1.27 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.46)

เมื่อเปรียบเทียบผลการประเมินการอ้าปากโดยใช้ Visual analog scale (VAS) score โดยพิจารณาค่าสถิติด้วยการทดสอบความแตกต่างของค่ากลางของสองประชากรที่เป็นอิสระต่อกัน (Mann - Whitney U Test) พบว่ากลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีค่าไม่แตกต่างกัน โดยกลุ่มทดลองมีการอ้าปากเฉลี่ย 2.67 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 1.29) และกลุ่มควบคุมมีการอ้าปากเฉลี่ย 2.87 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.83) และเมื่อเปรียบเทียบผลการประเมินการอ้าปากโดยใช้ Visual analog scale (VAS) score ใน 7 วันหลังจากการผ่าฟันคุดโดยพิจารณาค่าสถิติด้วยการทดสอบความแตกต่างของค่ากลางของสองประชากรที่เป็นอิสระต่อกัน (Mann - Whitney U Test) พบว่ากลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีค่าไม่แตกต่างกัน โดยกลุ่มทดลองมีการอ้าปากเฉลี่ย 1.47 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.92) และกลุ่มควบคุมมีการอ้าปากเฉลี่ย 1.53 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.64) ดังแสดงผลในตารางที่ 7

ตาราง 6 แสดงผลการประเมินอาการปวด อาการบวม และการอ้าปาก โดยใช้ Visual analog scale (VAS) score

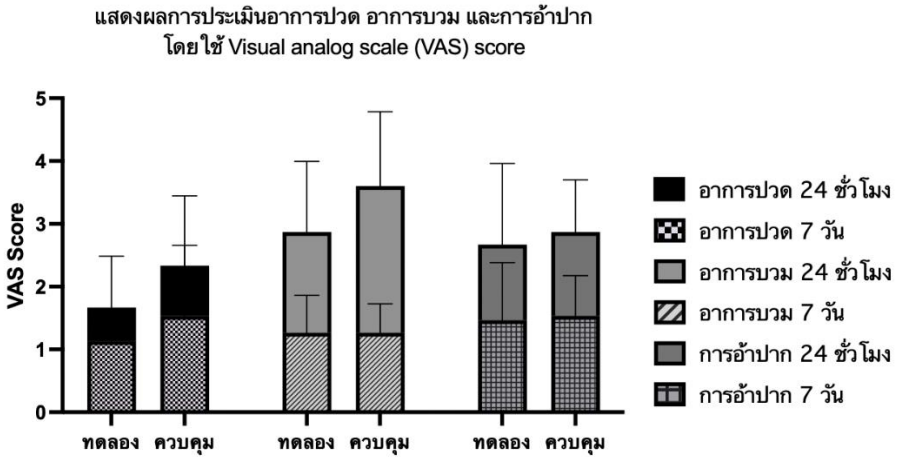
	VAS score			
	กลุ่ม	N	Mean ± SD	p
อาการปวด 24 ชั่วโมง	กลุ่มทดลอง	15	1.67 ± 0.82	0.089
	กลุ่มควบคุม	15	2.33 ± 1.11	
อาการปวด 7 วัน	กลุ่มทดลอง	15	1.13 ± 0.52	0.160
	กลุ่มควบคุม	15	1.53 ± 1.13	
อาการบวม 24 ชั่วโมง	กลุ่มทดลอง	15	2.87 ± .1.13	0.081
	กลุ่มควบคุม	15	3.60 ± .1.18	

ตาราง 7 (ต่อ)

	VAS score			
	กลุ่ม	N	Mean ± SD	p
อาการบวม 7 วัน	กลุ่มทดลอง	15	1.27 ± 0.59	0.757
	กลุ่มควบคุม	15	1.27 ± 0.46	
การอ้าปาก 24 ชั่วโมง	กลุ่มทดลอง	15	2.67 ± 1.29	0.913
	กลุ่มควบคุม	15	2.87 ± 0.83	
การอ้าปาก 24 ชั่วโมง	กลุ่มทดลอง	15	1.47 ± 0.92	0.408
	กลุ่มควบคุม	15	1.53 ± 0.64	

ข้อมูลนำเสนอในรูปแบบ จำนวน(%) หรือ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

P-value corresponds to Mann-Whitney U test.



ภาพประกอบ 15 แสดงผลผลการประเมินการอ้าปากโดยใช้ Visual analog scale (VAS) score ของอาการปวด อาการบวม และการอ้าปาก

เมื่อพิจารณาค่าทางสถิติแล้วนั้นพบว่า กลุ่มทดลองมีค่าเฉลี่ย Visual analog scale (VAS) score ของอาการปวด อาการบวม และการอ้าปาก ระหว่างกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมทั้งใน 24 ชั่วโมงหลังการผ่าฟันคุดและ 7 วันหลังผ่าฟันคุด แม้จะพบว่ามีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อพิจารณาถึงค่าเฉลี่ย Visual analog scale (VAS) score ของอาการปวด อาการบวม และการอ้าปากใน 24 ชั่วโมงหลังการผ่าฟันคุดและ 7 วันหลังผ่าฟันคุด จะพบว่าในกลุ่มทดลองมีค่าเฉลี่ยน้อยกว่ากลุ่มควบคุม ยกเว้นค่าเฉลี่ย Visual analog scale (VAS) score ของอาการบวมใน 7 วันหลังจากผ่าฟันคุดที่มีค่าเฉลี่ยของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมเท่ากัน และพบว่าเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย Visual analog scale (VAS) score ของอาการปวด อาการบวม และการอ้าปาก ของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมระหว่าง 24 ชั่วโมง และ 7 วันหลังผ่าฟันคุด จะพบว่าค่าเฉลี่ยของทั้งกลุ่มทดลองและควบคุม 7 วันหลังผ่าฟันคุดจะมีค่าน้อยกว่า 24 ชั่วโมงหลังผ่าฟันคุด ดังแสดงผลในภาพประกอบ 15

ผลการเปรียบเทียบระดับการอ้าปาก

ผลการศึกษาพบว่า เมื่อทำการพิจารณาค่าสถิติด้วยการทดสอบความแตกต่างของค่ากลางของสองประชากรที่อิสระต่อกัน (Independent Samples T-test) พบว่ากลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยระดับการอ้าปากก่อนการผ่าฟันคุดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วม (ANCOVA) โดยควบคุมอิทธิพลระดับการอ้าปากก่อนผ่าฟันคุด พบว่ากลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยระดับการอ้าปากหลังการผ่าฟันคุดที่ 24 ชั่วโมงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกลุ่มทดลองอ้าปากได้มากกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีค่าระดับการอ้าปากเฉลี่ย 40.27 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 6.53) และ 30.33 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 7.12) ตามลำดับ และเมื่อทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วม (ANCOVA) โดยควบคุมอิทธิพลระดับการอ้าปากก่อนผ่าฟันคุด พบว่ากลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยระดับการอ้าปากหลังการผ่าฟันคุด 7 วันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกลุ่มทดลองอ้าปากได้มากกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมมีค่าระดับการอ้าปากเฉลี่ย 45.27 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 3.99) และ 38.47 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 5.06) ตามลำดับ ดังแสดงผลในตารางที่ 8

ตาราง 7 แสดงผลการเปรียบเทียบระดับการอ้าปาก (มิลลิเมตร)

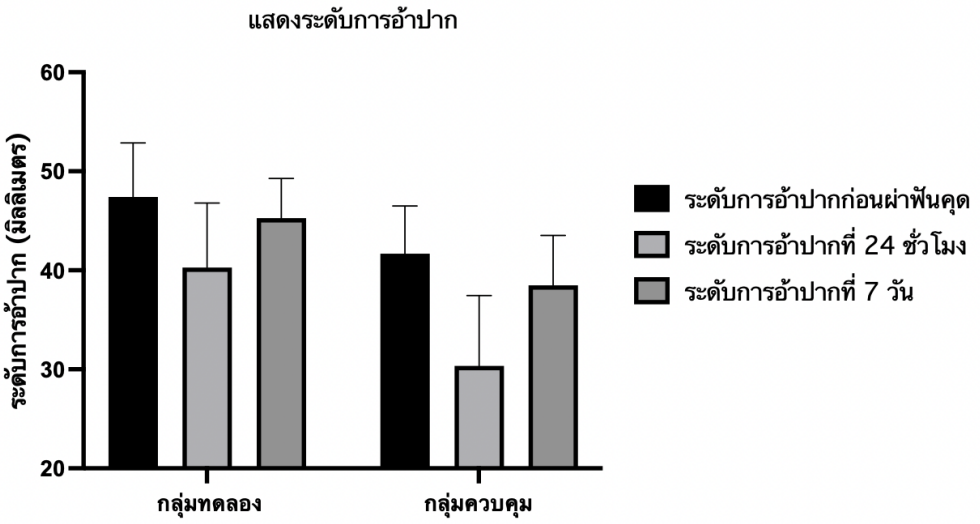
	ระดับการอ้าปาก (มิลลิมิตร)			
	กลุ่ม	**N**	**Mean ± SD**	**p**
ระดับการอ้าปาก ก่อนผ่าฟันคุด	กลุ่มทดลอง	15	47.40 ± 5.46	0.005*
	กลุ่มควบคุม	15	41.67 ± 4.82	
ระดับการอ้าปาก ที่ 24 ชั่วโมง	กลุ่มทดลอง	15	40.27 ± 6.53	0.014*
	กลุ่มควบคุม	15	30.33 ± 7.12	
ระดับการอ้าปาก ที่ 7 วัน	กลุ่มทดลอง	15	45.27 ± 3.99	0.019*
	กลุ่มควบคุม	15	38.47 ± 5.06	

ข้อมูลนำเสนอในรูปแบบ จำนวน(%) หรือ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

P-value corresponds to Independent samples t-test, ANCOVA.

เมื่อพิจารณาจากค่าทางสถิติแล้วนั้น แม้ระดับการอ้าปากก่อนการผ่าฟันคุดในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมจะมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อทำการวิเคราะห์โดยความคุมอิทธิพลของการอ้าปากก่อนการผ่าฟันคุดแล้วก็ยังคงพบว่าระดับการอ้าปากเฉลี่ยในกลุ่มทดลองมีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งการวัดที่ 24 ชั่วโมงและ 7 วันหลังการผ่าฟันคุด โดยใน 24 ชั่วโมงหลังการผ่าฟันคุดกลุ่มควบคุมจะอ้าปากได้น้อยที่สุด และกลับมาอ้าปากได้มากขึ้นในวันที่ 7 หลังการผ่าฟันคุด ดังแสดงในภาพประกอบ 16

แม้พิจารณาจากค่าทางสถิติของการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย Visual analog scale (VAS) การอ้าปาก ของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมระหว่าง 24 ชั่วโมง และ 7 วันหลังผ่าฟันคุดจะพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากเป็นการวัดแบบ Subjective แต่เมื่อวัดระยะการอ้าปากนั้นพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม อาจสรุปได้ว่า *Lactobacillus paracasei* มีผลต่อระดับการอ้าปากในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าฟันคุด



ภาพประกอบ 16 แสดงระดับการอ้าปากของกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม

บทที่ 5
อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผลการวิจัย

งานศัลยกรรมในช่องปาก ส่วนมากเป็นงานหัตถการที่เกี่ยวข้องกับการผ่าตัดและส่งผลทำให้เกิดแผล การบาดเจ็บของเนื้อเยื่อและมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการหายของแผล โดยหัตถการนั้นจะกระตุ้นร่างกายให้เกิดกระบวนการตอบสนองต่อการเกิดบาดแผล[2] ซึ่งกระบวนการตอบสนองต่อการเกิดบาดแผลนั้นจะมีขั้นตอนต่าง ๆ ซึ่งใช้ระยะเวลาแตกต่างกัน [9, 23] โดยกระบวนการที่เกิดขึ้นหลังการผ่าตัดทันที เมื่อหลอดเลือดมีการฉีกขาด จะมีการปล่อยสารสื่ออักเสบต่าง ๆ ออกมา[2] เพื่อกระตุ้นให้เกิดกระบวนการหายของแผลต่อไป ในกระบวนการหายของแผลนั้นสามารถประเมินการหายของแผลได้จากสารสื่ออักเสบที่ใช้เป็นตัวบ่งชี้ (marker) ในการตรวจ เช่น IL-1 IL-6 IL-8 TNF-α [11, 26] สำหรับ TNF-α เป็นสารสื่ออักเสบที่เหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างสาร prostaglandins ที่ส่งผลทำให้เกิดการปวด บวม แดง ร้อน [11] นอกจากนี้ TNF-α ยังมีความสำคัญต่อการตอบสนองอย่างเฉียบพลัน [28] โดยจะมีค่าสูงขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงแรกหลังจากเกิดบาดแผล [29] และมีปริมาณสูงสุดใน 1 วันหลังการบาดเจ็บ และจะมีระดับของสารนี้ลดลงจนถึงระดับปกติ ซึ่งการที่พบว่าระดับของสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α หากมีค่าสูงขึ้นมาก จะส่งผลต่อความล่าช้าในกระบวนการหายของแผล [1]

ในทางทันตกรรมนิยมใช้ค่าของสารสื่ออักเสบชนิดนี้มาเป็นตัววัดเพื่อพยากรณ์โรคปริทันต์อักเสบและความเสี่ยงการเกิดฟันผุ [26] สำหรับงานด้านศัลยกรรมการผ่าตัดนั้น ส่วนมากพบผลแทรกซ้อนที่เกิดขึ้นหลังจากการผ่าตัดที่สามารถเกิดขึ้นได้บ่อย อาทิเช่น อาการปวด อาการบวม และการอ้าปากได้ลำบาก เป็นต้น [47] ซึ่งมีสาเหตุหลักมาจากกระบวนการอักเสบของแผล จึงมีการนำวัสดุต่าง ๆ มาใช้เพื่อมุ่งเน้นให้ลดการอักเสบ เช่นการใช้ Povidone Iodine เนื่องจากสามารถส่งเสริมการหายของแผล [48] หรือการใช้ยากลุ่ม NSAIDS ซึ่งนอกจากยาและสารสังเคราะห์ที่พบว่ามีความสามารถในการลดสารสื่ออักเสบแล้วนั้น ปัจจุบันมีการศึกษาที่ให้ความสนใจศึกษาโพรไบโอติกหรือจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่มีความสามารถในการลดสารสื่ออักเสบอีกด้วย ซึ่งพบว่า *L. paracasei* MSMC39-1 มีความสามารถในการลดสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ทั้งในห้องปฏิบัติการและในสัตว์ทดลอง [17] สามารถลดสารสื่ออักเสบในตับ และลดการอักเสบของสิวในคนไข้ที่มีสิวอักเสบได้ ซึ่งพบว่าเป็นคุณสมบัติเฉพาะของโพรไบโอติกสายพันธุ์นี้ [49] ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาผลของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 ซึ่งได้รับการศึกษาและพิสูจน์

แล้วว่ามีผลต่อการลดสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α โดยครั้งนี้มุ่งศึกษาในน้ำเหลืองเหงือกของผู้ที่มารับการผ่าฟันคุด โดยมีการเก็บน้ำเหลืองเหงือกเพื่อประเมินระดับของ TNF-α ประเมินอาการปวด อาการบวม และการอ้าปากด้วย Visual analog scale (VAS) score และวัดระยะการอ้าปาก เปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม พบว่าในกลุ่มทดลองมีค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของสารสื่ออักเสบเฉลี่ยน้อยกว่ากลุ่มควบคุม เมื่อเปรียบเทียบภายในกลุ่มทดลองพบว่าค่าเฉลี่ยก่อนและหลังการทดลองไม่แตกต่างกัน ขณะที่เมื่อเปรียบเทียบภายในกลุ่มควบคุมจะพบว่าหลังการทดลองมีค่าเฉลี่ยสูงกว่าก่อนการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับเมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของสารสื่ออักเสบมาคำนวนเพื่อหา % TNF-α inhibition เนื่องจากโดยทั่วไปสารสื่ออักเสบ TNF-α ร่างกายสร้างออกมาในปริมาณน้อยระดับ picogram แม้จะใช้ ELISA ที่มีความสามารถในการตรวจค่าปริมาณ TNF-α ถึงระดับ picogram และในการศึกษานี้เก็บตัวอย่างจากน้ำเหลืองเหงือกซึ่งมีปริมาณของสารสื่ออักเสบดังกล่าวน้อยมากเช่นกัน ให้การคำนวณหาปริมาณของสารสื่ออักเสบนี้ไม่สามารถเทียบเคียงกราฟมาตรฐานได้[50, 51] เนื่องจาก ผู้วิจัยจึงแสดงผลของค่าสารสื่ออักเสบนี้ในรูปของค่าการดูดกลืนแสงแทน

นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มทดลองมีค่าร้อยละของ TNF-α inhibition ติดลบ ซึ่งต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นถึงการมีความสามารถในการลดปริมาณสารสื่ออักเสบอย่างมีนัยสำคัญ สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้าที่พบว่า *L. paracasei* MSMC39-1 และน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกมีความสามารถในการลดสารสื่ออักเสบ TNF-α ได้ [17]

ในการศึกษาทางทันตกรรมนั้น พบการศึกษาของ Afacan และคณะในปี 2019 [51] ซึ่งเป็นการศึกษาเปรียบเทียบระดับของสารสื่ออักเสบชนิด TNF ในน้ำเหลืองเหงือกและในน้ำลายของผู้ที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบ ผู้ที่เป็นโรคเหงือกอักเสบแบบรุกราน ผู้ที่เป็นโรคเหงือกอักเสบ และผู้ที่มีสุขภาพเหงือกดี จากการศึกษานี้พบความแตกต่างของระดับสารสื่ออักเสบชนิดนี้ โดยพบว่าปริมาณสารสื่ออักเสบในน้ำเหลืองเหงือกและในน้ำลายของผู้ที่เป็นโรคปริทันต์ และผู้ที่เป็นโรคเหงือกอักเสบแบบรุกราน มีค่าสูงกว่าน้ำเหลืองเหงือกของผู้ที่เป็นโรคเหงือกอักแสบ และผู้ที่มีสุขภาพเหงือกดี[51] ให้ผลสอดคล้องกันกับการศึกษาของ Gokul และคณะในการศึกษาที่ใกล้เคียงกัน [52] นอกจากนี้ การศึกษาของ Bostrom และคณะ พบว่าในกลุ่มผู้ที่มีการสูบบุหรี่จะพบสารสื่ออักเสบ TNF-α สูงกว่ากลุ่มผู้ที่ไม่สูบบุหรี่อย่างมีนัยสำคัญ [53] จากการศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าสารอักเสบที่สามารถตรวจได้ในน้ำเหลืองเหงือกมีความสัมพันธ์โดยตรงกับความรุนแรงของการอักเสบ [51] โดยการทดลองของผู้วิจัยครั้งนี้พบว่าในกลุ่มทดลองที่ได้รับการล้างแผลด้วยน้ำเกลือ

ผสมโพรไบโอติกนี้ มีสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ที่น้อยกว่า ซึ่งหมายถึงในกลุ่มทดลองพบมีปริมาณของสารสื่ออักเสบน้อยกว่ากลุ่มควบคุม สะท้อนถึงมีการอักเสบที่น้อยกว่าในกลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับอาการแสดงทางคลินิกภายหลังการผ่าตัดฟันคุดในกลุ่มทดลอง ที่พบว่ากลุ่มทดลองจะมีระดับการอ้าปากได้มากกว่ากลุ่มควบคุม

เมื่อศึกษาผลของโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1ที่มีต่ออาการปวด อาการบวม และการอ้าปาก ด้วย Visual analog scale (VAS) score พบว่าในกลุ่มทดลองมีคะแนนเฉลี่ย Visual analog scale (VAS) score ของอาการปวด อาการบวม และการอ้าปากต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ถึงแม้ว่าจะไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ก็พบแนวโน้มของอาการปวด บวมและการอ้าปากที่ดีกว่าสำหรับกลุ่มทดลอง โดยหากพิจารณาจากค่าเฉลี่ยอาการต่าง ๆ ของทั้งกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมเมื่อวัดใน 24 ชั่วโมงจะมีค่าต่ำกว่าค่าเฉลี่ยของทั้งกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมที่คำนวณได้ในวันที่ 7 หลังจากผ่าฟันคุด ซึ่งสอดคล้องกับทฤษฎีและลักษณะธรรมชาติของการตอบสนองต่อการบาดเจ็บและการอักเสบของแผล ที่จะพบว่าค่าของสารสื่ออักเสบจะเพิ่มขึ้นอย่างมากทันทีภายหลังจากเกิดการบาดเจ็บ และจะค่อย ๆ ลดลงจนกลับมาเป็นระดับปกติเมื่อเวลาผ่านไป [13] เช่นเดียวกับในการศึกษาของ Uematsu และคณะ [54] ที่ศึกษาปริมาณสารสื่ออักเสบ TNF-α ในน้ำเหลืองเหงือกระหว่างการเคลื่อนฟันในการจัดฟัน โดยพบว่าปริมาณของสารสื่ออักเสบ TNF-α ของกลุ่มที่มีการเคลื่อนฟันและเกิดการอักเสบจะมีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของปริมาณสารสื่ออักเสบ TNF-α ที่สามารถวัดได้จากน้ำเหลืองเหงือก และเมื่อเวลาผ่านไปครบ 7 วัน ประมาณสารสื่ออักเสบ TNF-α จะพบว่าลดลงจากการวัดใน 24 ชั่วโมงอย่างมีนัยสำคัญ [54]

โดยเมื่อศึกษาผลของโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1ที่มีต่อระดับการอ้าปากของผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าฟันคุด พบว่าระดับการอ้าปากเฉลี่ยในกลุ่มทดลองมีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งการวัดที่ 24 ชั่วโมงและ 7 วันหลังการผ่าฟันคุด โดยใน 24 ชั่วโมงหลังการผ่าฟันคุดกลุ่มควบคุมจะอ้าปากได้น้อยที่สุด และกลับมาอ้าปากได้มากขึ้นในวันที่ 7 หลังการผ่าฟันคุด โดยทั้งกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมจะมีค่าเฉลี่ยระดับการอ้าปากสูงสุดก่อนผ่าฟันคุดและมีค่าต่ำลงในการวัดที่ 24 ชั่วโมง และเมื่อวัดอีกครั้งที่ 7 วันหลังจากผ่าฟันคุดระดับการอ้าปากเฉลี่ยจะเพิ่มขึ้นและเข้าใกล้ค่าเฉลี่ยระดับการอ้าปากก่อนการทดลอง แนวโน้มนี้แสดงให้เห็นถึงอาการภายหลังได้รับการผ่าฟันคุดที่รุนแรงน้อยกว่า สามารถฟื้นตัวได้เร็วกว่าในกลุ่มทดลอง

ในการศึกษาของ Hamid และคณะ [48] มีการนำ povidine iodeine มาใช้ล้างแผลตอนการกรอฟันระหว่างการผ่าฟันคุด [48] เนื่องจาก povidine iodine มีคุณสมบัติในการลดอาการ

อักเสบ [55] พบว่ากลุ่มที่ได้รับ povidine iodine มีคะแนนเฉลี่ยอาการปวดหลังการผ่าฟันคุด ด้วย Visual analog scale (VAS) ระหว่างกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อวัดระยะการอ้าปากพบว่ากลุ่มที่ได้รับ povidine iodine นั้นมีการอ้าปากได้ระยะทางมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของผู้วิจัยในครั้งนี้พบผลการวิจัยเป็นไปในทิศทางคล้ายคลึงกัน โดยเป็นที่น่าสนใจว่าระยะการอ้าปากที่สามารถวัดได้และไม่มีความสัมพันธ์กับคะแนนเฉลี่ย Visual analog scale (VAS) score [48]

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาการใช้โพรไบโอติกเพื่อลดสารสื่ออักเสบในน้ำเหลืองเหงือกในการทำหัตถการในช่องปาก เช่น การผ่าฟันคุด ยังไม่เคยมีการรายงานมาก่อน จากการศึกษานี้สรุปผลได้ดังนี้

1. จากการศึกษาผลของโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* ที่มีต่อระดับของสารสื่ออักเสบ หรือไซโตไคน์ที่ทำให้เกิดการอักเสบชนิด TNF-α ในน้ำเหลืองเหงือก พบว่าในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าฟันคุดและได้รับโพรไบโอติกล้างแผล พบว่าโพรไบโอติก *L. paracasei* มีความสามารถในการยับยั้งระดับของไซโตไคน์ที่ทำให้เกิดการอักเสบชนิด TNF-α ในกลุ่มทดลองได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีเปอร์เซ็นต์ที่แสดงถึงความสามารถในการยับยั้ง TNF-α ในกลุ่มทดลองดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

2. ผลของโพรไบโอติก *L. paracasei* ที่มีต่ออาการปวด อาการบวมและการอ้าปาก ในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าฟันคุด ด้วย Visual analog scale (VAS) score พบว่าในกลุ่มทดลองที่ได้โพรไบโอติกมีอาการปวด อาการบวม และการอ้าปากได้ดีกว่ากลุ่มควบคุม แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3. ผลของ *L. paracasei* ที่มีต่อระดับการอ้าปาก ในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าฟันคุด พบว่า *L. paracasei* มีความสามารถในการลดภาวะการอ้าปากลำบากได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาครั้งนี้พบแนวโน้มที่น่าสนใจและเห็นประโยชน์ของการนำโพรไบโอติกมาใช้ร่วมกับงานทางศัลยกรรมช่องปาก อย่างไรก็ตามแม้ว่าผลจากการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการจะแสดงให้เห็นค่าที่ลดลงของสารสื่ออักเสบ แต่หากสามารถดัดแปลงให้บริเวณแผลผ่าตัดหรือผู้ป่วยสามารถสัมผัสกับโพรไบโอติกได้นานขึ้น เพราะการสัมผัสที่นานขึ้นจะเอื้อต่อคุณประโยชน์ของโพรไบโอติกมากขึ้นในการลดอาการอักเสบ แต่จากการวิจัยครั้งนี้ใช้ระยะเวลาที่โพรไบโอติกได้

สัมผัสกับบริเวณแผลผ่าฟันคุดนั้นเป็นระยะเวลาสั้น ดังนั้นเพื่อเป็นการพัฒนาปรับปรุงต่อไป อาจพิจารณาเพิ่มระยะเวลาที่โพรไบโอติกสัมผัสให้นานมากขึ้น อีกประเด็นคือ การเก็บข้อมูลอาการทางคลินิกนั้น อาจมีอคติในการแจ้งข้อมูลของผู้ป่วยได้และเพื่อเป็นการควบคุมตัวแปรกวน ในการออกแบบการทดลอง อาจพิจารณาวางแผนการทดลองในลักษณะ split mouth technique เพื่อลดความแตกต่างของประสบการณ์ระหว่างผู้เข้าร่วมการทดลอง และควรเก็บข้อมูลชนิดและปริมาณยาที่ผู้ป่วยรับประทานหลังการทำหัตถการโดยละเอียด เพื่อให้สามารถประเมิน Visual analog scale (VAS) score ได้ชัดเจนเพิ่มขึ้น รวมถึงการพิจารณาใช้โพรไบโอติกสายพันธุ์อื่นมาทดลองร่วมด้วยเพื่อให้สามารถเห็นผลชัดเจนยิ่งขึ้น

บรรณานุกรม

1. Amornluck Thepphabutra, K.S., *Satisfaction of Oral Surgical Patients with Cold Compression Using Temperature-maintaining Gel.* วารสารพยาบาลสภากาชาดไทย, 2016.
2. Schwartz, S.I., et al., *Schwartz's principles of surgery.* 2015.
3. Stevao, E.L.d.L., *Are Impacted Third Molars Always Necessary to be Removed? - Part II*

Eber Luis de Lima Stevao. EC Dental Science, 2019. **18.4**: p. 652-661.

4. senior editor, L.J.P. and E.E.I.I.J.R.H.M.R.T. associate editors, *Contemporary oral and maxillofacial surgery*. 1993: Second edition. St. Louis : Mosby-Year Book, [1993] ©1993.
5. Darawade, D.A., et al., *In search of a better option: dexamethasone versus methylprednisolone in third molar impaction surgery.* Journal of international oral health : JIOH, 2014. **6**(6): p. 14-17.
6. Susarla, S.M., B.F. Blaeser, and D. Magalnick, *Third molar surgery and associated complications.* Oral Maxillofac Surg Clin North Am, 2003. **15**(2): p. 177-86.
7. Ayaz, H., *Post-operatitve complications associated with impacted mandibular third molar removal.* 2012.
8. Peterson, L., *Postoperative patient management*, in *Contemporary oral and maxillofacial surgery*., E.I.E. Peterson LJ, Hupp JR, et al, editors, Editor. 1998, Mosby: New York. p. 249-256.
9. Sinno, H. and S. Prakash, *Complements and the wound healing cascade: an updated review.* Plast Surg Int, 2013. **2013**: p. 146764.
10. Ashcroft, G.S., et al., *Tumor necrosis factor-alpha (TNF-**α**) is a therapeutic target for impaired cutaneous wound healing.* Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society, 2012. **20**(1): p. 38-49.
11. Lassig, A.A.D., et al., *Excessive inflammation portends complications: Wound*

cytokines and head and neck surgery outcomes. Laryngoscope, 2019. **129**(7): p. E238-e246.

12. Fernando Pereira Beserra and M.F.H.a.C.H.P. Lucas Fernando Sérgio Gushiken, *Regulatory Mechanisms and Chemical Signaling of Mediators Involved in the Inflammatory Phase of Cutaneous Wound Healing.* IntechOpen, 2018.
13. Ritsu, M., et al., *Critical role of tumor necrosis factor-α in the early process of wound healing in skin.* Journal of Dermatology & Dermatologic Surgery, 2017. **21**(1): p. 14-19.
14. Mileti, E., et al., *Comparison of the immunomodulatory properties of three probiotic strains of Lactobacilli using complex culture systems: prediction for in vivo efficacy*. PLoS One, 2009. **4**(9): p. e7056.
15. WHO/FAO, *Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food.* 2002(Ontario).
16. Sun, K.-Y., et al., *Lactobacillus paracasei modulates LPS-induced inflammatory cytokine release by monocyte-macrophages via the up-regulation of negative regulators of NF-kappaB signaling in a TLR2-dependent manner.* Cytokine, 2017. **92**: p. 1-11.
17. Ladda, B., et al., *In vitro modulation of tumor necrosis factor alpha production in THP-1 cells by lactic acid bacteria isolated from healthy human infants.* Anaerobe, 2015. **33**: p. 109-16.
18. Chittapon Jantararussamee, S.R., Malai Taweechotipatr, Udomsri Showpittapornchai, Wisuit Pradidarcheep., *Hepatoprotective effect of probiotic lactic acid bacteria on -induced liver fibrosis in rats.* Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2020.
19. Pairoje Sriaroon, C.T., Yupapan Jamonniem, and S. Khameiam, *Relations of the tooth position and the operation time to the complications after surgical removal of impacted molars.* CU Dent J., 2005. **28**.
20. Pell GJ, G.B., *Impacted mandibular third molars: classification and modified techniques for removal.* Dent Digest, 1993. **39**: p. 330-338.
21. Hosein, M., M. Motamedi, and F. Kavandi, *New Concepts in Impacted Third Molar*

Surgery. 2013.

22. Deliverska, E.G.P., Milena, *Complications after extraction of impacted third molars- Literature review.* 2016.
23. Jenwitheesuk, K., *Basic Wound Healing and Wound Bed Preparation.* Srinagarind Med J, 2013. **28**.
24. Koh, T.J. and L.A. DiPietro, *Inflammation and wound healing: the role of the macrophage.* Expert reviews in molecular medicine, 2011. **13**: p. e23-e23.
25. Chen, X. and S.L. Thibeault, *Role of tumor necrosis factor-alpha in wound repair in human vocal fold fibroblasts.* Laryngoscope, 2010. **120**(9): p. 1819-25.
26. Gutiérrez-Corrales, A., et al., *Ability of salivary biomarkers in the prognostic of systemic and buccal inflammation.* Journal of clinical and experimental dentistry, 2017. **9**(5): p. e716-e722.
27. Hall, B.E., et al., *Conditional TNF-α overexpression in the tooth and alveolar bone results in painful pulpitis and osteitis.* Journal of dental research, 2016. **95**(2): p. 188-195.
28. Veleska-Stevkovska, D., *Cytokines (IL-1, TNF-α, IL-6) and Oral Surgery Interventions.* Balkan journal of stomatology, 2010. **14**: p. 124-132.
29. Mast, B.A. and G.S. Schultz, *Interactions of cytokines, growth factors, and proteases in acute and chronic wounds.* Wound Repair Regen, 1996. **4**(4): p. 411-20.
30. Meurman, J.H., *Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry?* Eur J Oral Sci, 2005. **113**(3): p. 188-96.
31. Twetman, S. and C. Stecksen-Blicks, *Probiotics and oral health effects in children.* Int J Paediatr Dent, 2008. **18**(1): p. 3-10.
32. Salminen, M.K., et al., *Lactobacillus bacteremia, clinical significance, and patient outcome, with special focus on probiotic L. rhamnosus GG.* Clin Infect Dis, 2004. **38**(1): p. 62-9.
33. Shanahan, F., *Probiotics: a perspective on problems and pitfalls.* Scand J Gastroenterol Suppl, 2003(237): p. 34-6.

34. Allaker, R.P. and A.S. Stephen, *Use of Probiotics and Oral Health.* Current oral health reports, 2017. **4**(4): p. 309-318.

35. Indian Council of Medical Research Task, F., I. Co-ordinating Unit, and D.B.T. Co-ordinating Unit, *ICMR-DBT guidelines for evaluation of probiotics in food.* The Indian journal of medical research, 2011. **134**(1): p. 22-25.

36. Boyle, R.J., R.M. Robins-Browne, and M.L. Tang, *Probiotic use in clinical practice: what are the risks?* Am J Clin Nutr, 2006. **83**(6): p. 1256-64; quiz 1446-7.

37. Koll-Klais, P., et al., *Oral lactobacilli in chronic periodontitis and periodontal health: species composition and antimicrobial activity.* Oral Microbiol Immunol, 2005. **20**(6): p. 354-61.

38. Stamatova, I. and J.H. Meurman, *Probiotics and periodontal disease.* Periodontol 2000, 2009. **51**: p. 141-51.

39. Krasse, P., et al., *Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic Lactobacillus reuteri.* Swed Dent J, 2006. **30**(2): p. 55-60.

40. George, V.T., et al., *The Promising Future of Probiotics: A New Era in Periodontal Therapy.* Journal of International Oral Health, 2016. **8**: p. 404-408.

41. Wattanarat, O., *The Use of Probiotics for Caries Prevention.* CM Dent J, 2017. **38**(2): p. 39-51.

42. Sookkhee, S., M. Chulasiri, and W. Prachyabrued, *Lactic acid bacteria from healthy oral cavity of Thai volunteers: inhibition of oral pathogens.* J Appl Microbiol, 2001. **90**(2): p. 172-9.

43. Teanpaisan, R., et al., *Effect of Long-Term Consumption of Lactobacillus paracasei SD1 on Reducing Mutans streptococci and Caries Risk: A Randomized Placebo-Controlled Trial.* Dentistry journal, 2015. **3**(2): p. 43-54.

44. Rawee Teanpaisan, S.P., Nuntiya Pahumunto, Onnida Wattanarat, Chanika Manmontri, Areerat Nirunsittirat, Suttichai Krisanaprakornkit, *Evaluation of probiotic product for prevention of dental caries in young children.* สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข, 2018.

45. Guentsch, A., et al., *Comparison of gingival crevicular fluid sampling methods in*

patients with severe chronic periodontitis. Journal of periodontology, 2011. **82**(7): p. 1051-1060.

46. Padisar, P., et al., *Assessment of tumor necrosis factor alpha (TNFα) and interleukin 6 level in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement: a randomized split-mouth clinical trial.* Electronic physician, 2018. **10**(8): p. 7146-7154.

47. Bataineh, A.B. and R.A. Batarseh, *The effect of modified surgical flap design for removal of lower third molars on lingual nerve injury.* Clin Oral Investig, 2017. **21**(6): p. 2091-2099.

48. Mahmoud Hashemi, H., et al., *Effect of Low-Concentration Povidone Iodine on Postoperative Complications After Third Molar Surgery: A Pilot Split-Mouth Study.* Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 2015. **73**(1): p. 18-21.

49. Jantararussamee, C., et al., *Hepatoprotective Effect of Probiotic Lactic Acid Bacteria on Thioacetamide-Induced Liver Fibrosis in Rats.* Probiotics Antimicrob Proteins, 2021. **13**(1): p. 40-50.

50. Albuquerque, A.F.M., et al., *Effect of pre-emptive analgesia on clinical parameters and tissue levels of TNF-α and IL-1β in third molar surgery: a triple-blind, randomized, placebo-controlled study.* International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 2017. **46**(12): p. 1615-1625.

51. Afacan, B., et al., *Gingival crevicular fluid and salivary HIF-1α, VEGF, and TNF-α levels in periodontal health and disease.* Journal of Periodontology, 2019. **90**(7): p. 788-797.

52. Gokul, K., *Estimation of the level of tumor necrosis factor-α in gingival crevicular fluid and serum in periodontal health and disease: A biochemical study.* Indian Journal of Dental Research, 2012. **23**(3): p. 348-352.

53. Boström, L., L.E. Linder, and J. Bergström, *Smoking and crevicular fluid levels of IL-6 and TNF-a in periodontal disease.* Journal of Clinical Periodontology, 1999. **26**(6): p. 352-357.

54. Uematsu, S., M. Mogi, and T. Deguchi, *Interleukin (IL)-1β, IL-6, Tumor Necrosis*

Factor-α, Epidermal Growth Factor, and β2-Microglobulin Levels Are Elevated in Gingival Crevicular Fluid during Human Orthodontic Tooth Movement. Journal of Dental Research, 1996. **75**(1): p. 562-567.

55. Beukelman, C.J., et al., *Anti-inflammatory properties of a liposomal hydrogel with povidone-iodine (Repithel) for wound healing in vitro.* Burns, 2008. **34**(6): p. 845-55.

ภาคผนวก

MF-04-version-2.0
วันที่ 18 ต.ค. 61

หนังสือรับรองจริยธรรมการวิจัยของข้อเสนอการวิจัย
เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมการวิจัยและใบยินยอม
หมายเลขข้อเสนอการวิจัย SWUEC- 041/2563E

ข้อเสนอการวิจัยนี้และเอกสารประกอบของข้อเสนอการวิจัยตามรายการแสดงด้านล่าง ได้รับการพิจารณาจากคณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒแล้ว คณะกรรมการฯ มีความเห็นว่าข้อเสนอการวิจัยที่จะดำเนินการมีความสอดคล้องกับหลักจริยธรรมสากล ตลอดจนกฎหมาย ข้อบังคับและข้อกำหนดภายในประเทศ จึงเห็นสมควรให้ดำเนินการวิจัยตามข้อเสนอการวิจัยนี้ได้

ชื่อโครงการวิจัยเรื่อง: ผลของโพรไบโอติกแลคโตบาซิลลัสพาราเคเซอิ กับระดับของทูเมอร์เน็คโครติกแฟคเตอร์อัลฟ่าในน้ำเหลืองเหงือกของผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดฟันคุด

ชื่อผู้วิจัยหลัก: รองศาสตราจารย์ ดร. ทันตแพทย์สรสัณห์ รังสิยานนท์

สังกัด: คณะทันตแพทย์ศาสตร์

เอกสารที่รับรอง:
1. แบบเสนอโครงการวิจัย
2. โครงการวิจัย
3. เอกสารชี้แจงผู้เข้าร่วมการวิจัย
4. หนังสือให้ความยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย

เอกสารที่พิจารณาทบทวน

1.	แบบเสนอโครงการวิจัย	ฉบับที่ 2 วัน/เดือน/ปี 14 เม.ย. 2563
2.	โครงร่างการวิจัย	ฉบับที่ 2 วัน/เดือน/ปี 14 เม.ย. 2563
3.	เอกสารชี้แจงผู้เข้าร่วมการวิจัย	ฉบับที่ 2 วัน/เดือน/ปี 14 เม.ย. 2563
4.	หนังสือให้ความยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย	ฉบับที่ 2 วัน/เดือน/ปี 14 เม.ย. 2563

(ลงชื่อ).....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทันตแพทย์หญิงณปภา เอี่ยมจิรกุล)
กรรมการและเลขานุการคณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์

(ลงชื่อ).....
(แพทย์หญิงสุรีพร ภัทรสุวรรณ)
ประธานคณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์

หมายเลขรับรอง : SWUEC/E-041/2563
วันที่ให้การรับรอง : 14/04/2563
วันหมดอายุใบรับรอง : 14/04/2564

829

สำเนา

แบบ สป/สผ/อสป/001-n
หน้า 1 ของจำนวน 2 หน้า

คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร

☐การประดิษฐ์
☐การออกแบบผลิตภัณฑ์
☑อนุสิทธิบัตร

ข้าพเจ้าผู้ลงลายมือชื่อในคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ตามพระราชบัญญัติสิทธิบัตร พ.ศ.2522 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติสิทธิบัตร(ฉบับที่ 2) พ.ศ.2535 และพระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 3) พ.ศ.2542

สำหรับเจ้าหน้าที่	
วันรับคำขอ 14 พ.ค. 2564	เลขที่คำขอ 2103001331
วันยื่นคำขอ 14 พ.ค. 2564	
สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ	
ใช้กับแบบผลิตภัณฑ์ ประเภทผลิตภัณฑ์	
วันประกาศโฆษณา	เลขที่ประกาศโฆษณา
วันออกสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร	เลขที่สิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
ลายมือชื่อเจ้าหน้าที่	

1. ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์ **ผลิตภัณฑ์และกรรมวิธีการผลิตน้ำยาล้างแผลในงานศัลยกรรมช่องปากและด้วยโพรไบโอติกสายพันธุ์ไทยที่มีคุณสมบัติลดสารสื่ออักเสบ**

2.คำขอรับสิทธิบัตรการออกแบบผลิตภัณฑ์นี้เป็นคำขอสำหรับแบบผลิตภัณฑ์อย่างเดียวกันและเป็นคำขอลำดับที่
ในจำนวน คำขอ ที่ยื่นในคราวเดียวกัน

3. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร☐บุคคลธรรมดา☑นิติบุคคล ☐หน่วยงานรัฐ ☐มูลนิธิ ☐อื่นๆ
ชื่อ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ที่อยู่114 ซอยสุขุมวิท 23
ตำบล/แขวง คลองเตยเหนืออำเภอ/เขต วัฒนาจังหวัด กรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10110ประเทศ ไทย
อีเมล
☐เลขประจำตัวประชาชน☑ เลขทะเบียนนิติบุคคล☐เลขประจำตัวผู้เสียภาษีอากร 0 9 9 4 0 0 0 1 5 8 1 8 1 ☐เพิ่มเติม (ดังแนบ)
ในกรณีที่กรมฯ สื่อสารกับท่าน ท่านสะดวกใช้ทาง☐อีเมลผู้ขอ☑อีเมลตัวแทน

3.1 สัญชาติไทย	
3.2 โทรศัพท์0-26495000 ต่อ11015,11081	
3.3 โทรสาร0-2259-1822	

4. สิทธิในการขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
☐ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบ☑ผู้รับโอน☐ผู้ขอรับสิทธิโดยเหตุอื่น

ยกเว้นค่าธรรมเนียม
ตามกฎกระทรวง พ.ศ. ๒๕๔๗ ว่าด้วยอัตราค่าธรรมเนียมและการยกเว้นค่าธรรมเนียม ในการขอรับสิทธิบัตรและอนุสิทธิบัตร และประกาศคณะกรรมการสิทธิบัตร

5. ตัวแทน(ถ้ามี)
ชื่อนางสาวนิยดา รุ่งเรืองผล
ที่อยู่114 มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ซอยสุขุมวิท 23
ตำบล/แขวง คลองเตยเหนืออำเภอ/เขต วัฒนาจังหวัด กรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10110ประเทศ ไทย
อีเมล niyada76@gmail.com
เลขประจำตัวประชาชน 3 2 2 0 1 0 0 2 9 0 9 1 7 ☐เพิ่มเติม (ดังแนบ)

5.1 ตัวแทนเลขที่ 2454	
5.2 โทรศัพท์0-26495000 ต่อ 11015,11081	
5.3 โทรสาร 0-2259-1822	

6. ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบผลิตภัณฑ์☐ชื่อและที่อยู่เดียวกันกับผู้ขอ
ชื่อรองศาสตราจารย์ ทพ.สรสัณห์ รังสิยานนท์
ที่อยู่ 177/14 ถนนสุขุมวิท 39
ตำบล/แขวงคลองตันเหนืออำเภอ/เขตวัฒนาจังหวัด กรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10110 ประเทศ ไทย
อีเมล peted2000@hotmail.com
เลขประจำตัวประชาชน 3 6 0 9 9 0 0 3 3 2 2 2 8 ☑เพิ่มเติม (ดังแนบ)

7. คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิม
ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอให้ถือว่าได้ยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ ในวันเดียวกับคำขอรับสิทธิบัตร
เลขที่ วันยื่น เพราะคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิมเพราะ
☐คำขอเดิมมีการประดิษฐ์หลายอย่าง☐ถูกคัดค้านเนื่องจากผู้ขอไม่มีสิทธิ☐ขอเปลี่ยนแปลงประเภทของสิทธิ

หมายเหตุ ในกรณีที่ไม่อาจระบุรายละเอียดได้ครบถ้วน ให้จัดทำเป็นเอกสารแนบท้ายแบบพิมพ์นี้โดยระบุหมายเลขกำกับข้อและหัวข้อที่แสดงรายละเอียดเพิ่มเติมดังกล่าวด้วย

สำหรับเจ้าหน้าที่

จำแนกประเภทสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร

☐กลุ่มวิศวกรรม	☐กลุ่มเคมี	สิทธิบัตรการออกแบบ	อนุสิทธิบัตร
สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (วิศวกรรม)	สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เคมีเทคนิค)	☐สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 1)	☐อนุสิทธิบัตร (วิศวกรรม)
สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (ไฟฟ้า)	สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (ปิโตรเคมี)	☐สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 2)	☐อนุสิทธิบัตร (เคมี)
สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (ฟิสิกส์)	สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เทคโนโลยีชีวภาพ)	☐สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 3)	
	สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เภสัชภัณฑ์)		

แบบ สป/สผ/อสป/001-ก(ใบต่อ)
หน้า 2 ของจำนวน 2 หน้า

7. การยื่นคำขอนอกราชอาณาจักร ☐ PCT ☐เพิ่มเติม (ดังแนบ)

วันยื่นคำขอ	เลขที่คำขอ	ประเทศ	สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ	สถานะคำขอ
8.1				
8.2				
8.3				

8.4 ☐ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรขอสิทธิให้ถือว่าได้ยื่นคำขอนี้ในวันที่ได้ยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรในต่างประเทศเป็นครั้งแรกโดย
☐ได้ยื่นเอกสารหลักฐานพร้อมคำขอนี้ ☐ขอยื่นเอกสารหลักฐานหลังจากวันยื่นคำขอนี้

9. การแสดงการประดิษฐ์หรือการออกแบบผลิตภัณฑ์ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรได้แสดงการประดิษฐ์ที่หน่วยงานของรัฐเป็นผู้จัด
วันแสดง วันเปิดงานแสดง ผู้จัด

10. การประดิษฐ์เกี่ยวกับจุลชีพ

10.1 เลขทะเบียนฝากเก็บ	10.2 วันที่ฝากเก็บ	10.3 สถาบันฝากเก็บ/ประเทศ
TISTR P002	3 มีนาคม พ.ศ. 2563	สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย / ประเทศไทย

11. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรขอยื่นเอกสารภาษาต่างประเทศก่อนในวันยื่นคำขอนี้ และจะจัดยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ที่จัดทำเป็นภาษาไทยภายใน 90 วัน นับจากวันยื่นคำขอนี้
โดยขอยื่นเป็นภาษา
☐อังกฤษ ☐ฝรั่งเศส ☐เยอรมัน ☐ญี่ปุ่น ☐อื่นๆ

12. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรขอให้อธิบดีประกาศโฆษณาคำขอรับสิทธิบัตรหรือรับจดทะเบียนและประกาศโฆษณาอนุสิทธิบัตรนี้หลังจากวันที่
☐ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรขอให้ใช้รูปเขียนหมายเลข ในการประกาศโฆษณา

13. คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ประกอบด้วย

ก. แบบพิมพ์คำขอ		3 หน้า
ข. รายละเอียดการประดิษฐ์ หรือคำพรรณนาแบบผลิตภัณฑ์		4 หน้า
ค. ข้อถือสิทธิ		1 หน้า
ง. รูปเขียน	- รูป	- หน้า
จ. ภาพแสดงแบบผลิตภัณฑ์		
☐รูปเขียน	- รูป	- หน้า
☐ภาพถ่าย	- รูป	- หน้า
ฉ. บทสรุปการประดิษฐ์		1 หน้า

14. เอกสารประกอบคำขอ
☐เอกสารแสดงสิทธิในการขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
☐หนังสือรับรองการแสดงการประดิษฐ์/การออกแบบผลิตภัณฑ์
☑หนังสือมอบอำนาจ
☐เอกสารรายละเอียดเกี่ยวกับจุลชีพ
☐เอกสารการขอนับวันยื่นคำขอในต่างประเทศเป็นวันยื่นคำขอในประเทศไทย
☐เอกสารขอเปลี่ยนแปลงประเภทของสิทธิ
☑เอกสารอื่นๆ

15. ข้าพเจ้าขอรับรองว่า
☑ การประดิษฐ์นี้ไม่เคยยื่นขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรมาก่อน
☐การประดิษฐ์นี้ได้พัฒนาปรับปรุงมาจาก

16. ลายมือชื่อ
☐ ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ☑ตัวแทน
(นางสาวนิยดา รุ่งเรืองผล)

หมายเหตุ บุคคลใดยื่นขอรับสิทธิบัตรการประดิษฐ์หรือการออกแบบผลิตภัณฑ์ หรืออนุสิทธิบัตร โดยการแสดงข้อความอันเป็นเท็จแก่พนักงานเจ้าหน้าที่เพื่อให้ได้ไปซึ่งสิทธิบัตรหรืออนุสิทธิบัตร ต้องระวางโทษจำคุกไม่เกินหกเดือน หรือปรับไม่เกินห้าพันบาท หรือทั้งจำทั้งปรับ

แบบ สป/สผ/อสป/012-ก

หน้า 1 ของจำนวน 1 หน้า

ใบต่อแนบท้าย แบบ สป/สผ/อสป/001-ก

เพิ่มเติมข้อที่ 6. ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบผลิตภัณฑ์

2. รองศาสตราจารย์มาลัย ทวีโชติภัทร์*
หน่วยงานต้นสังกัด คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ที่อยู่ 61/97 ซอยทวีมิตร 12 ถนนพระราม 9 แขวงห้วยขวาง เขตห้วยขวาง กรุงเทพฯ ประเทศ ไทย
อีเมล malai@g.swu.ac.th
เลขบัตรประชาชน 3-4406-00172-93-8
3. ทันตแพทย์หญิงสุสมา บรรจงจิตร*
หน่วยงานต้นสังกัด คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ที่อยู่ 10 เพชรเกษม 21 ปากคลองภาษีเจริญ ภาษีเจริญ กรุงเทพฯ ประเทศ ไทย
อีเมล susama.banjongjit@g.swu.ac.th
เลขบัตรประชาชน 1-1037-00724-60-5

รายละเอียดการประดิษฐ์

ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์

ผลิตภัณฑ์และกรรมวิธีการผลิตน้ำยาล้างแผลในงานศัลยกรรมช่องปากด้วยโพรไบโอติกสายพันธุ์ไทยที่มีคุณสมบัติลดสารสื่ออักเสบ

สาขาวิทยาการที่เกี่ยวข้องกับการประดิษฐ์

เทคโนโลยีชีวภาพ

ภูมิหลังของศิลปะหรือวิทยาการที่เกี่ยวข้อง

โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต เมื่อมีในปริมาณที่เหมาะสมจะส่งผลดีต่อสุขภาพร่างกาย ช่วยป้องกันและรักษาโรค รวมถึงมีบทบาทสำคัญในการควบคุมระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งแต่ละสายพันธุ์อาจมีคุณสมบัติแตกต่างกันไป การศึกษาในคลินิกพบว่ามีความสามารถในการป้องกันและรักษากระบวนการอักเสบต่าง ๆ บางสายพันธุ์มีความสามารถในการลดการสร้างสารสื่ออักเสบ เช่น ทูเมอร์เนคโครติกแฟคเตอร์อัลฟา (TNF-α) ได้ ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มที่มีรายงานว่าช่วยลดทูเมอร์เนคโครติกแฟคเตอร์อัลฟาได้คือกลุ่มแล็กโทบาซิลไล โดยพบว่าแล็กโทบาซิลลัส พาราคาเซอิ (*Lactobacillus paracasei)* มีความสามารถในการปรับเปลี่ยนกระบวนการอักเสบได้ดี และสามารถลดระดับทูเมอร์เนคโครติกแฟคเตอร์อัลฟาได้ ซึ่งสายพันธุ์ที่ได้รับการรับรองจากกระทรวงสาธารณสุข ตามประกาศราชกิจจานุเบกษา เรื่องบัญชีรายชื่อจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโพรไบโอติกที่ได้ (หน้าที่ 21 เล่มที่ 128 ตอนพิเศษ 86) เป็นที่ยอมรับด้านความปลอดภัยโดยทั่วไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีการศึกษาน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก (probiotic supernatant) ของแล็กโทบาซิลลัส พาราคาเซอิ ทีไอเอสทีอาร์ พี002 ที่แยกได้จากอุจจาระเด็กทารกแรกคลอดที่มีสุขภาพดี (SWUEC 37/2551) พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งสารสื่ออักเสบชนิดทูเมอร์เนคโครติกแฟคเตอร์อัลฟาได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (SWUEC-339/2562F) และสายพันธุ์นี้ยังช่วยลดการอักเสบในสัตว์ทดลองได้ (EC no. SWU-A-012-2562, COA/AE-002-2563, manuscript under revision EC11/2561) โดยเป็นคุณสมบัติเฉพาะของโพรไบโอติกสายพันธุ์นี้

งานศัลยกรรมช่องปากเป็นงานที่ทำให้เกิดแผลและเกิดการกระตุ้นกระบวนการหายของแผลซึ่งมีสารสื่ออักเสบมาเกี่ยวข้อง ทูเมอร์เนคโครติกแฟคเตอร์อัลฟาก็เป็นสารสื่ออักเสบที่มีการเพิ่มปริมาณขึ้นเมื่อเกิดแผล โดยปกติจะมีปริมาณสูงที่สุดใน 1 วันหลังจากเกิดแผล และจากนั้นจะลดลงจนถึงระดับปกติ ซึ่งมีบทบาทโดยตรงทำให้โพสตาแกลนดิน (prostaglandins) ที่เป็นสารสื่ออักเสบที่มีผลต่อการแสดงออกของอาการปวด บวม แดง ร้อน ของบริเวณที่เกิดแผลมีปริมาณสูงขึ้น ทำให้เกิดการแสดงออกของการอักเสบมากขึ้น ซึ่งปริมาณสารสื่ออักเสบที่มากเกินไปจะทำให้เกิดการหายของแผลที่ช้าลงและเกิดผลแทรกซ้อนได้ เพื่อผลการรักษาที่ดีได้มีการคิดค้นวิธีการต่าง ๆ เพื่อลดปริมาณสารสื่ออักเสบไม่ให้มากเกินไปภายหลังจากงานศัลยกรรมต่าง ๆ ซึ่งการใช้จุลินทรีย์ที่มีชีวิตเป็นอีกทางหนึ่งในการลดปริมาณสารสื่ออักเสบที่เกิดขึ้น

จากข้อมูลสิทธิบัตรที่ผ่านมาพบว่ามีการผลิตน้ำยาบ้วนปากเพื่อควบคุมเหงือกอักเสบด้วยการใช้สารอิมิดาโซอิลคีโทนมาผสม (เลขที่คำขอ 8301000461/เลขที่สิทธิบัตร 399) มีการผลิตน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติที่ได้มาจากสารสกัดสมุนไพร (เลขที่คำขอ 2003000559/เลขที่สิทธิบัตร 16947) รวมถึงมีการนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดและใบเทียนบ้านมาทำเป็นสเปรย์สำหรับใช้ในช่องปากเพื่อยับยั้งเชื้อใน

ช่องปาก (เลขที่คำขอ 1603000450/เลขที่สิทธิบัตร 13951) แต่ยังไม่พบการผลิตน้ำยาล้างแผลในช่องปากที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกแต่อย่างใด

ดังนั้นจึงนำมาสู่การพัฒนากรรมวิธีการผลิต เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์และกรรมวิธีการผลิตน้ำยาล้างแผลในงานศัลยกรรมช่องปากด้วยโพรไบโอติกสายพันธุ์ไทยที่มีคุณสมบัติลดสารสื่ออักเสบ โดยผลิตภัณฑ์น้ำยาสำหรับล้างแผลในงานศัลยกรรมช่องปากนี้เป็นรูปแบบที่ง่ายต่อการใช้งานและยังเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในให้แก่ทันตแพทย์เลือกใช้สำหรับล้างแผลในงานศัลยกรรมช่องปากที่เพื่อลดสารสื่ออักเสบ รวมทั้งยังไม่พบผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างแผลที่ผลิตจากโพรไบโอติกสายพันธุ์ไทยนี้ในประเทศไทย

ลักษณะและความมุ่งหมายของการประดิษฐ์

การประดิษฐ์นี้เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์และกรรมวิธีการผลิตน้ำยาล้างแผลในงานศัลยกรรมช่องปากด้วยโพรไบโอติกสายพันธุ์ไทยที่มีคุณสมบัติลดสารสื่ออักเสบ โดยเพาะเลี้ยงโพรไบโอติกสายพันธุ์ไทย แล็กโทบาซิลลัส พาราคาเซอิ ทีไอเอสทีอาร์ พี002 ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 10^9 จำนวนเซลล์โคโลนีต่อมิลลิลิตร มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลวเอ็มอาร์เอส (deMan Rogosa Sharpe ; MRS) เป็นเวลา 24 ถึง 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปแยกเอาเฉพาะส่วนน้ำเลี้ยง และนำไปกรองผ่านกระดาษกรองรูขนาด 0.22 ไมครอน และนำน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกมาผสมลงในน้ำเกลือ 0.9 เปอร์เซ็นต์ในอัตราส่วน 70 ต่อ 30 ซึ่งจะเป็นน้ำยาสำหรับใช้ในการล้างแผล โดยนำมาฉีดล้างก่อนในบริเวณที่เตรียมทำหัตถการเป็นเวลา 1 ถึง 3 นาที จากนั้นดูดออกและทำการผ่าตัดตามปกติ หลังจากขั้นตอนการเย็บแผล จะทำการล้างด้วยน้ำยาล้างแผลที่เตรียมไว้อีกครั้งเป็นเวลา 1 ถึง 3 นาที และนำมาซุบผ้าก๊อซใช้กัดเพื่อห้ามเลือดต่อไปอีกนาน 1 ชั่วโมง โดยเพื่อทดสอบว่าน้ำยาล้างแผลที่เตรียมไว้นี้มีผลต่อการลดสารสื่ออักเสฐหรือไม่ ด้วยการนำน้ำเหลืองเหงือกทั้งก่อนและหลังการล้างด้วยน้ำยาล้างแผลที่เตรียมไว้มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งสารสื่ออักเสบชนิดทูเมอร์เนคโครติกแฟคเตอร์อัลฟาด้วยวิธีแซนวิชอีไลซา (sandwich ELISA) โดยเปรียบเทียบกับน้ำเหลืองเหงือกก่อนและหลังการล้างด้วยน้ำเกลือชนิดปกติอย่างเดียว

ความมุ่งหมายของการประดิษฐ์นี้ เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์และกรรมวิธีการผลิตน้ำยาล้างแผลในงานศัลยกรรมช่องปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกสายพันธุ์ไทยที่มีคุณสมบัติลดสารสื่ออักเสบ โดยเป็นรูปแบบที่สะดวกต่อการใช้งาน และมีคุณสมบัติลดสารสื่ออักเสบได้ ประเด็นสำคัญยังไม่มีผลิตภัณฑ์น้ำยาสำหรับล้างแผลในงานศัลยกรรมช่องปากที่มีโพรไบโอติกสายพันธุ์ไทยที่มีคุณสมบัติลดสารสื่ออักเสบในประเทศไทย ซึ่งโพรไบโอติกนี้เป็นสายพันธุ์ที่มีความจำเพาะกับคนไทยเนื่องจากแยกได้จากคนไทย ดังนั้นจึงเหมาะแก่การนำมาใช้ล้างแผลสำหรับงานศัลยกรรมช่องปากเพื่อช่วยลดสารสื่ออักเสบที่เกิดขึ้นภายหลังจากการทำศัลยกรรมช่องปาก ลดภาวะแทรกซ้อนที่อาจเกิดขึ้นได้จากการที่มีค่าสารสื่ออักเสบมากเกินไป

การเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

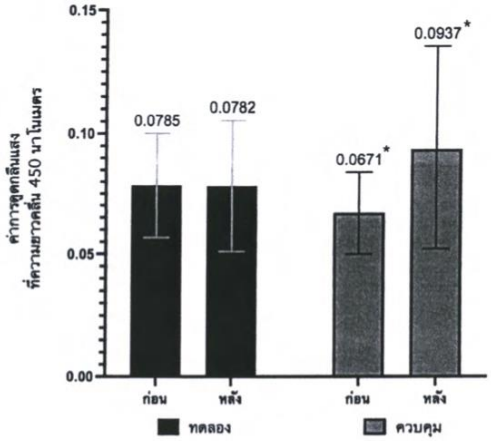
กระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกสายพันธุ์ไทย มีขั้นตอนดังนี้

1. เพาะเลี้ยงโพรไบโอติกสายพันธุ์ แล็กโทบาซิลลัส พาราคาเซอิ ทีไอเอสทีอาร์ พี002 บนอาหารอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวเอ็มอาร์เอส เป็นเวลา 24 ถึง 48 ชั่วโมง

2. เตรียมน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก แล็กโทบาซิลลัส พาราคาเซอิ ทีไอเอสทีอาร์ พี002 ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 10^9 จำนวนเซลล์โคโลนีต่อมิลลิลิตรไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้เครื่องผลิตแก๊สในโถที่ไร้ออกซิเจน (anaerobic jar) เมื่อครบเวลา 48 ชั่วโมง นำไปแยกเอาส่วนน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกและกรองผ่านกระดาษกรองรูขนาด 0.22 ไมครอน เก็บในอุณหภูมิ 3 ถึง 5 องศาเซลเซียส
3. ทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งทูเมอร์เนคโครติกแฟคเตอร์อัลฟาของโพรไบโอติกสายพันธุ์ไทยในเซลล์เพาะเลี้ยงชนิดโมโนไซติกเซลล์ไลน์ (monocytic cell line) เพื่อยืนยันคุณสมบัติที่คงที่ของโพรไบโอติกแล็กโทบาซิลลัส พาราคาเซอิ ทีไอเอสทีอาร์ พี002 พบว่าน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งเมอร์เนคโครติกแฟคเตอร์อัลฟา
4. ผลิตน้ำยาล้างแผลโดยนำน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกที่ผ่านการกรองมาแล้วมาผสมลงในน้ำเกลือ 0.9 เปอร์เซ็นต์ในอัตราส่วน 70 ต่อ 30
5. ทดสอบคุณสมบัติวิเคราะห์ความเป็นกรดและด่าง (พีเอช) ด้วยเครื่องมือวัดค่าพีเอชแบบกระดาษ พบว่ามีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 3 ถึง 4
6. การตรวจสอบคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างแผลในงานศัลยกรรมช่องปากด้วยโพรไบโอติกสายพันธุ์ไทยที่มีคุณสมบัติลดสารสื่ออักเสบ โดยทดลองทางคลินิกโดยนำมาใช้ในการล้างแผลในงานผ่าตัดฟันคุด โดยเตรียมน้ำยาที่ได้ จำนวน 10 มิลลิลิตร และ 40 มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยน้ำยาล้างแผล 10 มิลลิลิตรนั้นจะนำมาใช้ล้างก่อนการผ่าฟันคุด โดยฉีดล้างก่อนในบริเวณที่เตรียมทำหัตถการเป็นเวลา 1 ถึง 3 นาที จากนั้นดูดออก และทำการผ่าตัดตามปกติ หลังจากขั้นตอนการเย็บแผล จะทำการล้างด้วยน้ำยาล้างแผลอีก 40 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 ถึง 3 นาที และนำน้ำยาล้างแผลมาซุบผ้าก๊อซหมาด ให้คนไข้กัดเพื่อห้ามเลือดต่อไปอีกเป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง

จากผลการทดสอบพบว่า ในกลุ่มที่ได้รับการล้างแผลด้วยน้ำยาล้างแผล มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรเฉลี่ยของสารสื่ออักเสบก่อนการทดลองเท่ากับ 0.0785 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0216) และมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรเฉลี่ยของสารสื่ออักเสบหลังการทดลองเท่ากับ 0.0782 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0272) เมื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยก่อนและหลังการทดลองโดยพิจารณาค่าสถิติด้วยการทดสอบความแตกต่างของค่ากลางของสองประชากรที่ไม่อิสระต่อกัน (Paired Samples T-test) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อพิจารณาจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น450 นาโนเมตรเฉลี่ยก่อนแหละหลังการทดลองพบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน ในกลุ่มควบคุมนั้นมีค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของสารสื่ออักเสบก่อนการทดลองเท่ากับ 0.0671 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0170) และมีค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรของสารสื่ออักเสบหลังการทดลองเท่ากับ 0.0937 (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.0416) เมื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยก่อนและหลังการทดลองโดยพิจารณาค่าสถิติด้วยการทดสอบความแตกต่างของค่ากลางของสองประชากรที่ไม่อิสระต่อกัน พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อพิจารณาจากค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรก่อนและหลังการทดลองพบว่าค่าเฉลี่ยหลังการทดลองมีค่าสูงกว่าก่อนการทดลอง เมื่อพิจารณาจากค่าทางสถิติแล้วนั้น พบว่าในกลุ่มทดลองมีระดับค่าเฉลี่ยก่อนและหลังการทดลองแตกต่างกันเล็กน้อย ขณะที่ในกลุ่มควบคุม

ซึ่งคือล้างด้วยน้ำเกลือธรรมดา มีระดับค่าเฉลี่ยก่อนและหลังการทดลองแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยหลังการทดลองมีค่าเฉลี่ยสูงกว่าก่อนการทดลอง จึงสามารถอนุมานได้ว่าน้ำยาสำหรับล้างแผลที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก ที่ใช้ร่วมกับงานศัลยกรรมช่องปากนี้มีผลในการลดระดับของสารสื่ออักเสบที่เกิดขึ้นจากสภาวะของขบวนการอักเสบได้



รูปที่ 1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรเฉลี่ยของสารสื่ออักเสบ ก่อนและหลังล้างด้วยน้ำยาล้างแผล (กลุ่มทดลอง) และล้างด้วยน้ำเกลืออย่างเดียว (กลุ่มควบคุม)

คำอธิบายรูปเขียนโดยย่อ (ถ้ามี)

-

วิธีการในการประดิษฐ์ที่ดีที่สุด

ดังแสดงในการเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

ข้อถือสิทธิ

ข้อถือสิทธิ

1. กรรมวิธีการผลิตน้ำยาล้างแผลในงานศัลยกรรมช่องปากด้วยโพรไบโอติกสายพันธุ์ไทยที่มีคุณสมบัติลดสารสื่ออักเสบซึ่งมีกระบวนการผลิตดังนี้

ก. เพาะเลี้ยงโพรไบโอติกสายพันธุ์ แล็กโทบาซิลลัส พาราคาเซอิ ทีไอเอสทีอาร์ พี002 บนอาหารอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวเอ็มอาร์เอส เป็นเวลา 24 ถึง 48 ชั่วโมง

ข. เตรียมน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก แล็กโทบาซิลลัส พาราคาเซอิ ทีไอเอสทีอาร์ พี002 ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 10^9 จำนวนเซลล์โคโลนีต่อมิลลิลิตรไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้เครื่องผลิตแก๊สในโถที่ไร้ออกซิเจน (anaerobic jar) เมื่อครบเวลา 48 ชั่วโมง นำไปแยกเอาส่วนน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกและกรองผ่านกระดาษกรองรูขนาด 0.22 ไมครอน เก็บในอุณหภูมิ 3 ถึง 5 องศาเซลเซียส

ค. ทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งทูเมอร์เนคโครติกแฟคเตอร์อัลฟาของโพรไบโอติกสายพันธุ์ไทยในเซลล์เพาะเลี้ยงชนิดโมโนไซติกเซลล์ไลน์ (monocytic cell line) เพื่อยืนยันคุณสมบัติที่คงที่ของโพรไบโอติกแล็กโทบาซิลลัส พาราคาเซอิ ทีไอเอสทีอาร์ พี002 พบว่าน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งเมอร์เนคโครติกแฟคเตอร์อัลฟา

ง. ผลิตน้ำยาล้างแผลโดยนำน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกที่ผ่านการกรองมาแล้วมาผสมลงในน้ำเกลือ 0.9 เปอร์เซ็นต์ในอัตราส่วน 70 ต่อ 30

จ. ทดสอบคุณสมบัติวิเคราะห์ความเป็นกรดและด่าง (พีเอช) ด้วยเครื่องมือวัดค่าพีเอชแบบกระดาษ พบว่ามีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 3 ถึง 4

ฉ. การตรวจสอบคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างแผลในงานศัลยกรรมช่องปากด้วยโพรไบโอติกสายพันธุ์ไทยที่มีคุณสมบัติลดสารสื่ออักเสบ โดยทดลองทางคลินิกโดยนำมาใช้ในการล้างแผลในงานผ่าตัดฟันคุด โดยเตรียมน้ำยาที่ได้ จำนวน 10 มิลลิลิตร และ 40 มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยน้ำยาล้างแผล 10 มิลลิลิตรนั้นจะนำมาใช้ล้างก่อนการผ่าฟันคุด โดยฉีดล้างก่อนในบริเวณที่เตรียมทำหัตถการเป็นเวลา 1 ถึง 3 นาที จากนั้นดูดออก และทำการผ่าตัดตามปกติ หลังจากขั้นตอนการเย็บแผล จะทำการล้างด้วยน้ำยาล้างแผลอีก 40 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 ถึง 3 นาที และนำมาซุบผ้าก๊อซหมาด ให้คนไข้กัดเพื่อห้ามเลือดต่อไปอีกเป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง

2. ผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างแผลที่ผลิตตามกรรมวิธีข้อถือสิทธิ์ที่ 1 ซึ่งมีส่วนผสมน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกแล็กโทบาซิลลัส พาราคาเซอิ ทีไอเอสทีอาร์ พี002 มีความเข้มข้น 10^9 จำนวนเซลล์โคโลนีต่อมิลลิลิตร

3. ผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างแผลที่ผลิตตามกรรมวิธีข้อถือสิทธิ์ที่ 1 ซึ่งมีส่วนผสมน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกแล็กโทบาซิลลัส พาราคาเซอิ ทีไอเอสทีอาร์ พี002 และน้ำเกลือ 0.9 เปอร์เซ็นต์ในอัตราส่วน 70 ต่อ 30 ตามลำดับ

4. ผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างแผลที่ผลิตตามกรรมวิธีข้อถือสิทธิ์ที่ 1 ซึ่งผ่านการทดสอบการลดปริมาณสารสื่ออักเสบชนิดทูเมอร์เนคโครติกแฟคเตอร์อัลฟา (TNF-α) ที่เกิดขึ้นหลังจากงานศัลยกรรมในช่องปาก

บทสรุปการประดิษฐ์

ผลิตภัณฑ์และกรรมวิธีการผลิตน้ำยาล้างแผลในงานศัลยกรรมช่องปากด้วยโพรไบโอติกสายพันธุ์ไทยที่มีคุณสมบัติลดสารสื่ออักเสบ โดยกรรมวิธีการผลิต เริ่มจากนำโพรไบโอติกสายพันธุ์ไทย แล็กโทบาซิลลัส พาราคาเซอิ ที ไอเอสทีอาร์ พี002 ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 10^9 จำนวนเซลล์โคโลนีต่อมิลลิลิตร มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลวเอ็มอาร์เอส (deMan Rogosa Sharpe ; MRS) เป็นเวลา 24 ถึง 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปแยกเอาเฉพาะส่วนน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกและนำไปกรองผ่านกระดาษกรองรูขนาด 0.22 ไมครอน การเตรียมน้ำยาล้างแผลโดยนำน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกมาผสมลงในน้ำเกลือ 0.9 เปอร์เซ็นต์ ในอัตราส่วน 70 ต่อ 30 ขั้นตอนการใช้นำน้ำยามาฉีดล้างก่อนในบริเวณที่เตรียมทำหัตถการเป็นเวลา 1 ถึง 3 นาที จากนั้นดูดออกและทำการผ่าตัดตามปกติ หลังจากขั้นตอนการเย็บแผล จะทำการล้างด้วยน้ำยาล้างแผลที่เตรียมไว้อีกครั้งเป็นเวลา 1 ถึง 3 นาที และใช้น้ำยาล้างแผลมาซุบผ้าก๊อซใช้กัดเพื่อห้ามเลือดต่อไปอีกนาน 1 ชั่วโมง โดยน้ำยาล้างแผลที่ผสมน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกเพื่องานศัลยกรรมช่องปากนี้ ส่วนสำคัญคือใช้น้ำเลี้ยงโพรไบโอติกที่มีคุณสมบัติลดสารสื่ออักเสบ เพื่อลดปริมาณสารสื่ออักเสบชนิด ทูเมอร์เนคโครติกแฟคเตอร์อัลฟา (TNF-α) ที่เกิดขึ้นหลังจากงานศัลยกรรมในช่องปาก

Certification No. TISTR P002

Certificate issue date 3 MARCH 2020

Certificate

Microbial Deposit for Patent Application

This is to certify that Srinakharinwirot University deposited the strain of *Lactobacillus paracasei* MSMC 39-1 at TISTR Culture Collection, Thailand Institute of Scientific and Technological Research for patent application with the accession number

TISTR P002

(Mr.Pongsathon Phapugrangkul)

Senior Research Officer

Acting Director of Biodiversity Research Centre

Thailand Institute of Scientific and Technological Research

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	สุสมา บรรจงจิตร
วัน เดือน ปี เกิด	27 กุมภาพันธ์ 2535
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	ทันตแพทย์ศาสตร์บัณฑิต มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ