การพัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติก ที่มีส่วนผสมจากกัญชาในการลดสารสื่ออักเสบชนิดทูเมอร์เน็คโครติกแฟคเตอร์อัลฟ่า

THE DEVELOPMENT OF PROBIOTIC MOUTHWASH FORMULATION WITH CANNABIS EXTRACTS ON THE REDUCTION OF PROINFLAMMATORY CYTOKINE : TNF-ALPHA LEVEL.

ณัฐพล นิสภา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2565

การพัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติก ที่มีส่วนผสมจากกัญชาในการลดสารสื่ออักเสบชนิดทูเมอร์เน็คโครติกแฟคเตอร์อัลฟ่า

ณัฐพล นิสภา

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ปีการศึกษา 2565
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

THE DEVELOPMENT OF PROBIOTIC MOUTHWASH FORMULATION WITH CANNABIS EXTRACTS ON THE REDUCTION OF PROINFLAMMATORY CYTOKINE : TNF-ALPHA LEVEL.

NATTAPON NISAPAR

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

2022

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

การพัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติก ที่มีส่วนผสมจากกัญชาในการลดสารสื่ออักเสบ ชนิดทูเมอร์เน็คโครติกแฟคเตอร์อัลฟ่า

ของ

ณัฐพล นิสภา

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

..... ที่ปรึกษาหลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร. ทันตแพทย์สรสัณห์ รังสิยานนท์)

..... ประธาน
(ศาสตราจารย์ ดร.สมบูรณ์ ธนาศุภวัฒน์)

..... ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.มาลัย ทวีโชติภัทร์)

..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร. ทันตแพทย์หญิงสินีภัทร์ ตลึงจิตร)

ชื่อเรื่อง	การพัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติก ที่มีส่วนผสมจากกัญชาในการลดสารสื่ออักเสบชนิดทูเมอร์เน็คโครติกแฟคเตอร์อัลฟ่า
ผู้วิจัย	ณัฐพล นิสภา
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. ทันตแพทย์ สรสัณห์ รังสิยานนท์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. มาลัย ทวีโชติภัทร์

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติก ผสมสารสกัดจากกัญชา (แคนนาบิไดออล,CBD) ต่อการลดระดับของทูเมอร์เน็คโครติกแฟคเตอร์อัลฟ่า (TNF-α) โดยเริ่มจาก เตรียมน้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกติกสายพันธุ์ *L. paracasei* MSMC39-1 ผสมสารสกัดจากกัญชา (CBD) ที่มีความเข้มข้นของ CBD ตั้งแต่ 0.5-1.0 ปริมาตร/ปริมาตร จำนวน 8 สูตร มาทดสอบความสามารถในการลดระดับสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α โดยใช้โมเดลในการกระตุ้น human monocytic cell line (ATCC, TIB202) ชนิดTHP-1 ด้วยลิโพพอลิแซ็กคาไรด์บริสุทธิ์ (LPS) ให้เกิดการหลั่งTNF-α และวัดความสามารถในการยับยั้งการหลั่ง TNF-α ของน้ำยาบ้วนปากแต่ละสูตรด้วยวิธี ELISA พบว่าน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติก ผสมสารสกัดจากกัญชา (CBD) มีความสามารถในการลดระดับ TNF-α ได้เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยพบว่าน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 1 (น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมแคนนาบิไดออล ร้อยละ 0.25, น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ร้อยละ 10 และส่วนประกอบอื่นๆของน้ำยาบ้วนปาก), สูตรที่ 2 (น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมแคนนาบิไดออล ร้อยละ 0.5, น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ร้อยละ 10 และส่วนประกอบอื่นๆของน้ำยาบ้วนปาก), สูตรที่ 3 (น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมแคนนาบิไดออล ร้อยละ 1, น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ร้อยละ 10 และส่วนประกอบอื่นๆของน้ำยาบ้วนปาก), สูตรที่ 7 (น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ร้อยละ 10 และส่วนประกอบอื่นๆของน้ำยาบ้วนปาก) และน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 8 (น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมอื่นๆของน้ำยาบ้วนปาก) สามารถลดระดับสารสื่ออักเสบได้ใกล้เคียงกันที่ 85-86% สูตรที่ 4 (น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมแคนนาบิไดออล ร้อยละ 0.25 และน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ร้อยละ 10), สูตรที่5 (น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมแคนนาบิไดออล ร้อยละ 0.5 และน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ร้อยละ 10 ; 0.5%CBD) และสูตรที่ 6 (น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมแคนนาบิไดออล ร้อยละ 1 และน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ร้อยละ 10) ลดได้ที่ 9.86%, 53.84% และ 76.10% ตามลำดับ จากผลการทดลองครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติก ผสมสารสกัดจากัญชา (CBD) มีความสามารถในการลดระดับ TNF-α และมีศักยภาพในการนำไปประยุกต์ใช้ทางคลินิกได้ต่อไป

คำสำคัญ : น้ำยาบ้วนปาก, โพรไบโอติก, กัญชา, สารสื่ออักเสบ, ทูเมอร์เน็คโครติกแฟคเตอร์อัลฟ่า

Title	THE DEVELOPMENT OF PROBIOTIC MOUTHWASH FORMULATION WITH CANNABIS EXTRACTS ON THE REDUCTION OF PROINFLAMMATORY CYTOKINE : TNF-ALPHA LEVEL.
Author	NATTAPON NISAPAR
Degree	MASTER OF SCIENCE
Academic Year	2022
Thesis Advisor	Associate Professor Dr. Sorasun Rungsiyanonte
Co Advisor	Associate Professor Dr. Malai Taweechotipatr

This study is aimed evaluating the effects of a probiotic mouthwash containing cannabis extracts (CBD) on the reduction of tumors Necrosis Factor Alpha (TNF-α) levels. There were eight probiotic mouthwashes prepared by infusing cannabis extract (CBD) with the concentration varied from 0.5-1.0 v/v. The test for TNF- α reduction was performed using a lipopolysaccharide (LPS) model to activate type THP-1 human monocytic cell line (ATCC, TIB202) to produce TNF- α. To assess the TNF-α level reduction, the ELISA technique was performed. The results revealed that a probiotic mouthwash containing CBD could reduce the TNF-α level, regardless of its concentration when compared to the control. The optimum ratio which could reduce the TNF-α level was in preparation 1: 0.25%, CBD, 10% probiotic supernatant and mouthwash ingredient; preparation 2: 0.5% CBD, 10% probiotic supernatant and mouthwash ingredient; preparation 3: 1% CBD, 10% probiotic supernatant and mouthwash ingredient; preparation 7: 10% probiotic supernatant and mouthwash ingredient; and preparation 8: mouthwash ingredient, at an almost similar level of inhibition at 85-86%. For preparation 4: 0.25% CBD and 10% probiotic supernatant; and preparation 5: 0.5% CBD and 10% probiotic supernatant; and preparation 6: 1% CBD and 10% probiotic supernatant, with inhibitions at 9.86%, 53.84% and 76.10%, respectively. Therefore, a probiotic mouthwash with CBD can reduce TNF-α levels and could potentially be applied in clinical usage.

Keyword : mouthwash, probiotic, cannabis, CBD, proinflammatory cytokine, TNF-alpha

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความอนุเคราะห์จาก รองศาสตราจารย์ ดร. ทพ. สรสัณห์ รังสิยานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และ รองศาสตราจารย์ ดร. มาลัย ทวีโชติภัทร์ อาจารย์ที่ปรึกษารอง ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์ให้คำปรึกษา คำแนะนำ และให้ความช่วยเหลือตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ทำให้ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ครบถ้วน ตลอดจนให้กำลังใจ และความเอาใจใส่ตลอดระยะเวลาที่ทำการวิจัยอย่างดียิ่ง ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณอาจารย์เป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร. สมบูรณ์ ธนาศุภวัฒน์ ประธานกรรมการสอบปริญญานิพนธ์ และอาจารย์ ดร. ทันตแพทย์หญิงสินีภัทร์ ตลึงจิตรร์ กรรมการสอบปริญญานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำ แนวทางแก้ไข ข้อคิดในการทำปริญญานิพนธ์ และคณาจารย์ทุกท่านที่ประสาทวิชาความรู้ให้แก่ผู้วิจัยตลอดระยะเวลาที่ศึกษาอยู่จนประสบความสำเร็จ

ขอขอบพระคุณนางสาวบุญรัตน์ ลัดดลา นางสาวพรทิพา วิธีจงเจริญ นางสาวไพวัลย์ บัวจันทร์ และภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลความรู้ และให้ความอนุเคราะห์ช่วยเหลือสถานที่และอุปกรณ์ในการทำวิจัย ตลอดจนช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกให้ตลอดระยะเวลาที่ทำการวิจัยเป็นอย่างดียิ่ง

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณครอบครัว พี่ น้อง เพื่อนนิสิตหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการช่องปาก และแม็กซิลโลเฟเชียลทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ และเป็นกำลังใจให้เสมอมา จนผู้วิจัยสามารถสำเร็จการศึกษาลุล่วงไปได้ด้วยดี

ณัฐพล นิสภา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญรูปภาพ ..... ฎ

บทที่ 1 บทนำ 1

ภูมิหลัง 1

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 3

ขอบเขตของงานวิจัย 4

กรอบแนวคิดวิจัย 4

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 5

สมมติฐานในการวิจัย 5

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 6

งานศัลยกรรมในช่องปาก 6

กระบวนการอักเสบและการหายของแผล 6

หัตถการและสารสื่ออักเสบ 10

Tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) 11

โพรไบโอติก 12

น้ำยาบ้วนปาก 16

กัญชา 21

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย 29
วัสดุ และอุปกรณ์ 29
วิธีการ 30
ส่วนที่ 1 การเตรียมน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก (probiotic supernatant) *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 30
ส่วนที่ 2 การเตรียมสูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 และส่วนผสมจากกัญชา 30
ส่วนที่ 3 การเพาะเลี้ยง human monocytic cell line ชนิด THP-1 และการกระตุ้นให้เกิดหลั่ง TNF-α 33
ส่วนที่ 4 การทดสอบน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก และส่วนผสมจากกัญชา และการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α 33
สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล 35
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล 36
ผลของค่าการดูดกลืนแสงของสูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 และส่วนผสมของสารสกัดจากกัญชา ต่อระดับของสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α 36
เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่งสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ของสูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 และส่วนผสมของสารสกัดจากกัญชา ต่อระดับของสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α 43
บทที่ 5 อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ 48
อภิปรายผลการวิจัย 48
สรุปผลการวิจัย 52
ข้อเสนอแนะ 52
บรรณานุกรม 53
ภาคผนวก 63

ประวัติผู้เขียน..... 66

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 แสดง mediator ต่าง ๆ ของ macrophage ที่ผลิตระหว่างการเกิดการหายของแผล 9

ตาราง 2 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งการเกิดคราบจุลินทรีย์ และยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ของส่วนผสมในน้ำยาบ้วนปาก 20

ตาราง 3 แสดงส่วนผสมของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่1-8 ที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก และแคนนาบิไดออล และน้ำยาบ้วนปากที่ไม่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก และส่วนผสมจากกัญชา 31

ตาราง 4 แสดงผลค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α ของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่1-8 และตัวแปรควบคุม ภายหลังการใส่สารเป็นเวลา 3 ชั่วโมง 30นาที 38

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพประกอบ 1 แสดงกระบวนการหายของแผล 7

ภาพประกอบ 2 แสดงกลไกการยับยั้งการปล่อย Proinflammatory cytokines ผ่าน NF-**K**B pathway 14

ภาพประกอบ 3 แสดงความแตกต่างกันทางกายภาพของกัญชาทั้ง 3 สายพันธุ์ 22

ภาพประกอบ 4 แสดงการสังเคราะห์แคนนาบินอยด์หลักในกัญชา 23

ภาพประกอบ 5 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ cannabidiolic acid (CBDA) และการเปลี่ยนเป็น cannabidiol (CBD) โดยการ decarboxylation 24

ภาพประกอบ 6 แผนภูมิแสดงผลค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm ของน้ำยาบ้วนปาก สูตรที่1-8 และตัวแปรควบคุมบวก เมื่อใช้น้ำเกลือ 0.9% เป็นตัวควบคุมลบ 39

ภาพประกอบ 7 แผนภูมิแสดงผลค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm ของน้ำยาบ้วนปาก สูตรที่1-8 และตัวแปรควบคุมบวก เมื่อใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว เป็นตัวควบคุมลบ..... 40

ภาพประกอบ 8 แผนภูมิแสดงผลค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm ของน้ำยาบ้วนปาก สูตรที่1-8 เมื่อใช้ตัวควบคุมบวกเป็นตัวเปรียบเทียบ 41

ภาพประกอบ 9 แผนภูมิแสดงผลค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm ของน้ำยาบ้วนปาก สูตรที่4-6 เมื่อใช้ตัวควบคุมบวกเป็นตัวเปรียบเทียบ 42

ภาพประกอบ 10 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α ของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 1-8 และตัวแปรควบคุมบวก เมื่อเทียบกับตัวแปรควบคุมลบที่เป็นน้ำเกลือ 0.9% 44

ภาพประกอบ 11 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α ของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 1-8 และตัวแปรควบคุมบวก เมื่อเทียบกับตัวแปรควบคุมลบที่เป็นอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว..... 45

ภาพประกอบ 12 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α ของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 4-6 และตัวแปรควบคุมบวก เมื่อเทียบกับตัวแปรควบคุมลบที่เป็นน้ำเกลือ 0.9% 46

ภาพประกอบ 13 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α ของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 4-6 และตัวแปรควบคุมบวก เมื่อเทียบกับตัวแปรควบคุมลบที่เป็นอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว..... 47

บทที่ 1
บทนำ

ภูมิหลัง

งานศัลยกรรมช่องปาก เป็นงานผ่าตัดอวัยวะภายในช่องปาก ประกอบด้วยหัตถการต่างๆ อาทิเช่น การผ่าตัดฟันคุด การถอนฟัน การผ่าตัดฟันฝัง การผ่าตัดตกแต่งปุ่มกระดูก การผ่าตัดเนื้อยึด การผ่าตัดเพื่อการทำศัลยกรรมรากเทียม เป็นต้น งานศัลยกรรมช่องปากมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการหายของแผลอย่างมาก เนื่องจากหัตถการที่ทำนั้นเป็นการผ่าตัดที่ทำให้เกิดบาดแผล มีผลกระตุ้นร่างกายให้เกิดกระบวนการตอบสนองต่อการเกิดบาดแผล[1] โดยส่วนมากอาการบวมหลังการผ่าตัดในช่องปากนั้น เป็นผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นได้เป็นปกติหลังการผ่าตัด เนื่องจากการตอบสนองต่อการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อระหว่างการทำการผ่าตัด อาการบวมจะบวมสูงสุดในระยะเวลา 48 ชั่วโมงหลังจากการผ่าตัด[2] หลังจากนั้นจะบวมลดลงในวันที่ 4 และหายอย่างเกือบเป็นปกติในวันที่ 7[3] เนื่องจากอาการบวม เป็นผลมาจากการการอักเสบที่ตอบสนองต่อการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อ ทันตแพทย์หลายท่านจะมีการจ่ายยาสเตียรอยด์เพื่อลดอาการปวดบวม โดยกลไกของยาจะไปทำให้หลอดเลือดมีการหดตัว และกดการหลั่งสารอักเสบต่าง ๆ เช่น Prostaglandins และ Leukotriene ซึ่งเป็นการสื่ออักเสบที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการเกิดการบวม[2]

การบวมที่เป็นผลข้างเคียงจากการผ่าตัดศัลยกรรมช่องปากนั้น เป็นส่วนหนึ่งของการทำงานของสารสื่ออักเสบต่าง ๆ ที่อยู่ในกระบวนการตอบสนองของร่างกายต่อการเกิดแผล ซึ่งกระบวนการตอบสนองของร่างกายต่อการเกิดแผลนั้นจะพบว่าสามารถแบ่งได้เป็น 3 ขั้นตอนที่มีความต่อเนื่องกัน นั่นคือ ระยะ hemostasis และ inflammatory, ระยะ proliferative และระยะ remodeling[4] โดยแต่ละระยะของกระบวนการหายของแผลนั้น จะมีความเกี่ยวข้องกับเซลล์เม็ดเลือดขาวต่าง ๆ และสารสื่ออักเสบ เซลล์ที่มีบทบาทมากในกระบวนการหายของแผลนั้น คือ Neutrophils และ Macrophage เซลล์ทั้งสองชนิดนี้จะมีบทบาทในการหลั่งสารสื่ออักเสบต่างๆ ออกมาเพื่อกระตุ้นให้เกิดกระบวนการหายของแผล[1] ในขณะเดียวกันสารที่หลั่งออกมาก็เป็นสารสื่ออักเสบซึ่งหากมีปริมาณไม่เหมาะสมหรือมากเกินไป จะทำให้การหายของแผลเกิดขึ้นได้ไม่ดี[5] ในแผลที่การหายของแผลมีความบกพร่องจะพบว่ามีปริมาณของ Tumor necrosis factor alpha (TNF-α) เฉพาะที่ และในระบบที่สูงขึ้น มีรายงานพบว่า TNF-α มีความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เกิดการหายของแผลที่ช้าในคนได้[6]

ในการทำหัตถการต่าง ๆ ที่ทำให้เกิดบาดแผลนั้นมีความเสี่ยงที่จะเกิดความซับซ้อนทางการรักษาในผู้ป่วยได้ ซึ่งโดยปกติทันตแพทย์ล้วนมีเป้าหมายเพื่อลดความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นได้ทั้งก่อนทำหัตถการ ระหว่างการทำหัตถการ และหลังการทำหัตถการ เพื่อให้ได้ผลการรักษาที่ดี โดยมีการใช้วิธีการต่าง ๆ เพื่อช่วยลดความเสี่ยง หรือการมุ่งหวังการลดปริมาณสารสื่ออักเสบไม่ให้มากเกินไปในกระบวนการหายของแผลก็เช่นกัน[6]

ปัจจุบันนอกจากการใช้ยาเพื่อรักษาและลดภาวะการอักเสบแล้ว การใช้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ก็เป็นอีกทางหนึ่งซึ่งเป็นที่นิยมในการนำมาใช้ เช่น ในการรักษาภาวะลำไส้อักเสบ หรือผิวหนังอักเสบ เป็นต้น โพรไบโอติก (probiotics) เป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต เมื่อมีในปริมาณที่เหมาะสมจะส่งผลดีต่อสุขภาพร่างกาย ช่วยป้องกัน และรักษาโรคได้ แต่โพรไบโอติกทุกชนิดไม่ได้มีผลลัพธ์เหมือนกัน แต่ละสายพันธุ์ แต่ละชนิดต่างมีการทำงาน และส่งผลต่อร่างกายโดยเฉพาะ เชื้อในสปีชีส์เดียวกันแต่เป็นคนละสายพันธุ์ก็ส่งผลแตกต่างกัน[7, 8]

Lactobacilli เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่เรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยวหรือต่อเป็นสาย เป็นเชื้อประจำถิ่นที่พบได้หลายอวัยวะ มีคุณสมบัติทนกรด และสามารถผลิตกรดแลคติคได้ มีหลากหลายสายพันธุ์ มีบทบาทสำคัญในการควบคุมระบบภูมิคุ้มกัน มีการศึกษาในคลินิกพบว่ามีความสามารถในการป้องกันและรักษากระบวนการอักเสบต่าง ๆ เช่น ลำไส้อักเสบ บางสายพันธุ์มีความสามารถในการลดการสร้าง proinflammatory cytokine เช่น TNF-α ได้ ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มที่มีรายงานว่าช่วยลด TNF-α ได้คือกลุ่ม Lactobacilli[9] จากการศึกษาค้นคว้าวิจัยเปรียบเทียบนั้นพบว่า *Lactobacillus paracasei* (*L. paracasei*) มีความสามารถในการปรับเปลี่ยนกระบวนการอักเสบได้ดี และสามารถลดระดับ TNF-α ได้[10]

L. paracasei ทั้งมีชีวิต และไม่มีชีวิตนั้นมีผลต่อสารสื่ออักเสบที่ถูกกระตุ้นจาก lipopolysaccharide (LPS) พบว่ามีการยับยั้งการปล่อย TNF-α และ Interleukin-6 (IL-6) โดย *L. paracasei* มีการกดการเหนี่ยวนำของ LPS ที่ไปจับตัวกับ toll-like receptor 4 (TLR 4) ซึ่งทำให้เกิด I-**K**Bα phosphorelation โดยการเพิ่มการทำงานของตัวควบคุม (negative regulators) ของ NF-**K**B pathway ผ่านการจับตัวกับTLR 2 และยังยับยั้งการ translocation ของ p50/p65 subunit ของ Nuclear factor kappa B (NF-**K**B) จากไซโตซอล (cytosol) ไปยังนิวเคลียส ใน NF-**K**B pathway ที่ควบคุมการแสดงออกของสารตัวกลางที่สำคัญในกระบวนการอักเสบ เช่น NO, COX-2, IL-1, IL-6, IL-8 และ TNF- α ทำให้ลดการอักเสบได้[10]

ปัจจุบันมีการนำสมุนไพร และสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้เป็นทางเลือกในการรักษาทางการแพทย์มากขึ้น เพื่อลดผลข้างเคียงจากการใช้ยา และลดค่าใช้จ่ายในการรักษา พบว่าสารสกัด

จากกัญชาที่เรียกว่าแคนาบินอย มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียซึ่งเป็นหนึ่งในสาเหตุที่ทำให้เกิดการหลั่งสารสื่ออักเสบได้[1] โดยเฉพาะในผู้ที่ได้รับการศัลยกรรมช่องปาก ที่อาจทำความสะอาดได้ไม่ดีเพียงพอ โดยพบว่าจะต้านเชื้อในกลุ่มแกรมบวกได้ดีกว่าแกรมลบ[11-13] โดยการรบกวนการส่งสัญญาณ AI-2 quorum sensing signal cascade ในแบคทีเรีย *Vibrio harveyi*[14] ซึ่งพบว่าแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์นั้น ก็มีระบบการส่งสัญญาณ AI-2 quorum sensing เพื่อใช้ในการสื่อสารและควบคุมการทำงานต่างๆของแบคทีเรียเช่นเดียวกัน ไม่ว่าจะเป็นการสร้างแผ่นคราบจุลินทรีย์ (biofilm formation), การตอบสนองต่อความเครียด (stress response) และการควบคุมยีนที่เกี่ยวข้องกับปัจจัยก่อโรค (virulence factor gene)[15] มีรายงานว่า CBD ที่เป็นสารสกัดจากกัญชาตัวหนึ่ง สามารถทำการยับยั้งการสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ ในแบคทีเรียแกรมลบได้อย่างดี และยังมีความสามารถในการเพิ่มประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของยาปฏิชีวนะทั้งในแกรมบวกและแกรมลบได้อีกด้วย[13] ด้วยความสามารถเหล่านี้แคนนาบินอยด์จึงน่าจะเป็นสารที่มีศักยภาพมาปรับใช้ในการยับยั้งแบคทีเรียในคราบจุลินทรีย์ได้ ทำให้มีความน่าสนใจในการนำมาเป็นส่วนผสมหนึ่งในการพัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปาก

เนื่องจากงานศัลยกรรมช่องปากเป็นงานที่ทำให้เกิดบาดแผล และเกิดกระตุ้นกระบวนการหายของแผล ซึ่งมีสารสื่ออักเสบมาเกี่ยวข้อง ปริมาณสารสื่ออักเสบที่มากเกินไปจะทำให้เกิดการหายของแผลที่ช้าลงได้ ปัจจุบันมีการศึกษาค้นคว้าวิจัยในการนำโพรไบโอติกมาช่วยลดภาวะการอักเสบ โดยพบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อ (supernatant) โพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. paracasei* MSMC39-1 ที่แยกได้จากอุจจาระเด็กทารกแรกคลอดที่มีสุขภาพดี ศูนย์การแพทย์พระเทพฯ มีผลลดระดับ TNF-α ได้[16] งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมหลัก คือ น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 และสารกัดจากกัญชาต่อระดับของสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ร่วมกับการทำศัลยกรรมในช่องปาก โดยหวังผลเชิงกายภาพ เช่น ลดการบวม และลดการอ้าปากได้น้อยลง เพื่อให้ผู้ที่มารับการรักษาทางศัลยกรรมช่องปากได้ผลการรักษาที่ดีต่อไป

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อศึกษาผลของสูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมหลัก คือ น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 และส่วนผสมของสารสกัดจากกัญชา ว่ามีผลลดระดับของสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α หรือไม่ เมื่อเทียบกับน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1

ขอบเขตของงานวิจัย

การวิจัยนี้ เป็นการวิจัยในห้องปฏิบัติการ โดยเน้นการพัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมสำคัญ คือ น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 โดยผสมร่วมกับสารสกัดจากกัญชา เพื่อออกฤทธิ์ในการลดสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ซึ่งจะทดสอบกับเซลล์ human monocytic cell line (ATCC, TIB202) ชนิด THP-1 ในห้องปฏิบัติการ โดยวัดระดับของสารสื่ออักเสบด้วย ELISA Bioassay

ตัวแปร

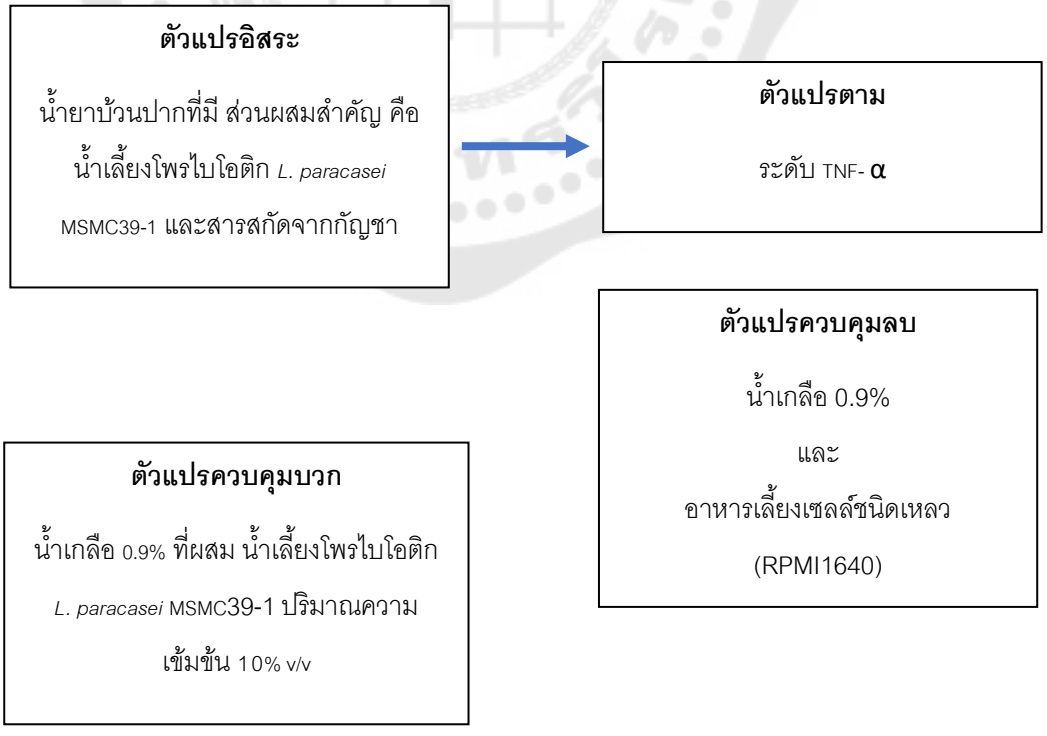
ตัวแปรอิสระ : สูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมสำคัญ คือ น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 และสารสกัดจากกัญชา

ตัวแปรตาม : ระดับของสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α

ตัวแปรควบคุมบวก : น้ำเกลือ 0.9% ที่ผสม น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 ปริมาณความเข้มข้น 10% v/v

ตัวแปรควบคุมลบ : น้ำเกลือ 0.9% และอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว (RPMI 1640)

กรอบแนวคิดวิจัย



ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงผลของน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมสำคัญ คือ น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 และสารสกัดจากกัญชาที่มีผลต่อระดับของสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α

2. สามารถนำผลที่ได้ไปประยุกต์ใช้กับผู้ป่วยในงานทางศัลยกรรมช่องปากเพื่อลดสภาวะการอักเสบภายหลังงานศัลยกรรมช่องปากได้

สมมติฐานในการวิจัย

H_0: น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมสำคัญ คือ น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 และสารสกัดจากกัญชาไม่มีผลในการเปลี่ยนแปลงระดับ TNF-α

H_1: น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมสำคัญ คือ น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 และสารสกัดจากกัญชามีผลลดระดับ TNF-α

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

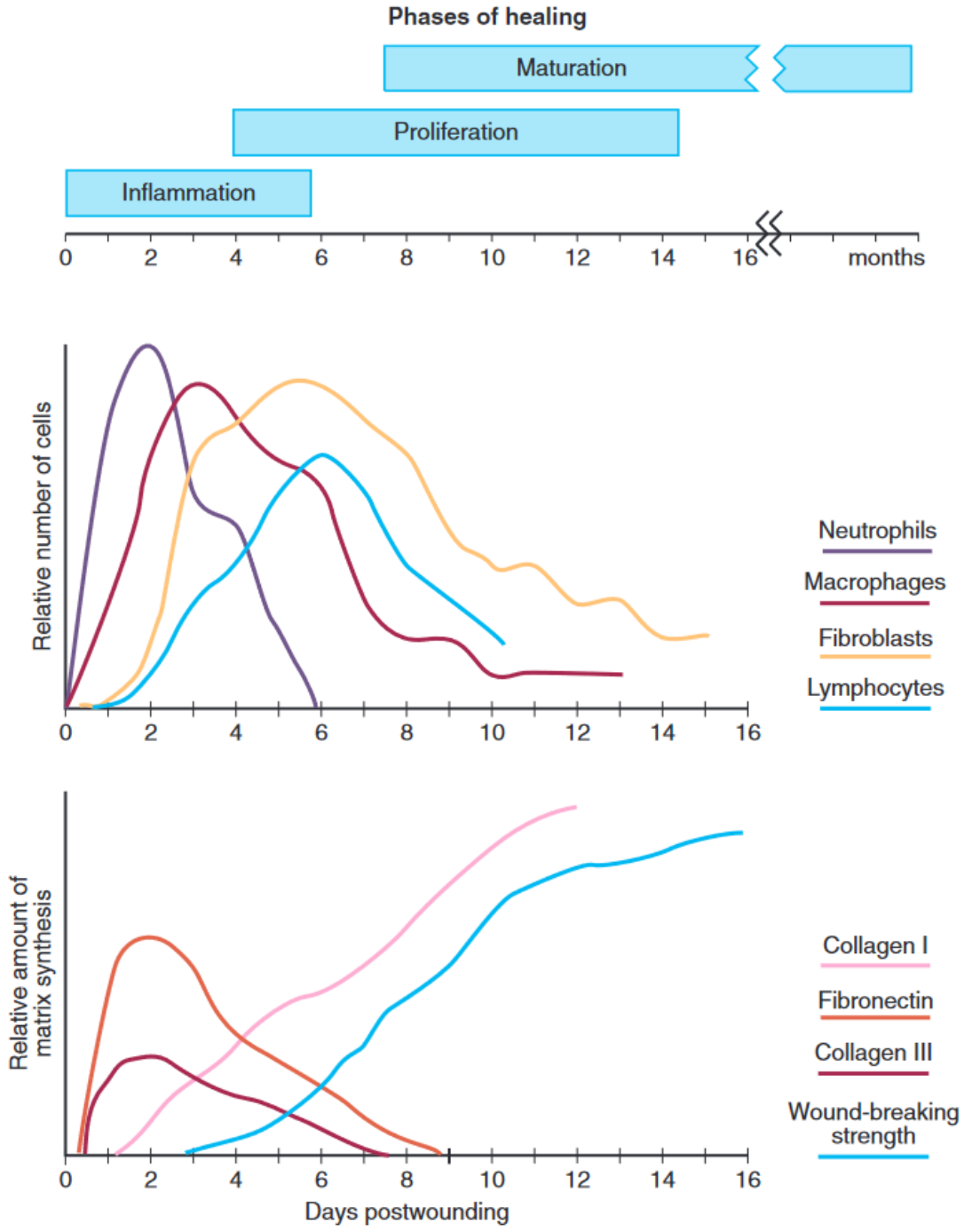
งานศัลยกรรมในช่องปาก

งานศัลยกรรมช่องปาก เป็นงานผ่าตัดอวัยวะภายในช่องปาก ประกอบด้วยหัตถการต่างๆ อาทิเช่น การถอนฟัน การผ่าตัดฟันคุด การผ่าตัดฟันฝัง การผ่าตัดตกแต่งปุ่มกระดูก การผ่าตัดเนื้อยึด การผ่าตัดเพื่อการทำศัลยกรรมรากเทียม เป็นต้น[17] งานศัลยกรรมช่องปากมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการหายของแผลอย่างมาก เนื่องจากหัตถการที่ทำนั้น เป็นการผ่าตัดที่ทำให้เกิดบาดแผล มีผลกระตุ้นร่างกายให้เกิดกระบวนการตอบสนองต่อการเกิดบาดแผล[1]

กระบวนการอักเสบและการหายของแผล

เป็นกระบวนการเดียวกันกับการตอบสนองต่อการเกิดบาดแผลในที่อื่น ๆของร่างกาย โดยสามารถแบ่งได้เป็น 3 ขั้นตอน ได้แก่[4, 18] (ภาพประกอบที่ 1 และ2)

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



ภาพประกอบ 1 แสดงกระบวนการหายของแผล

ที่มา: ดัดแปลงจากSchwartz 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 chemotactic ต่าง ๆ จากแผล โดยบริเวณแผลผ่าตัด จะมีการฉีดขาดของหลอดเลือด ทำให้extracellular matrix (ECM) จะมีการสัมผัสกับ platelets และเมื่อคอลลาเจนในชั้น subendothelial สัมผัสกับ platelets จะกระตุ้นให้เกิดกระบวนการ platelet aggregation, degranulation[19] และมีการกระตุ้น coagulation cascade เพื่อให้เกิดการหยุดไหลของเลือดโดย fibrin clot จะทำตัวเป็นโครงร่างให้เซลล์อักเสบต่าง ๆ เช่น polymorphonuclear leukocytes (PMNs, Neutrophils) และ Monocytes สามารถเคลื่อนตัวเข้ามาเกาะได้[1]

โดยเมื่อเรียงลำดับตามเวลาแล้ว เซลล์ที่มีการเคลื่อนตัวเข้ามาในบาดแผลอันดับแรกคือเซลล์ PMNs ซึ่งจะมีปริมาณสูงสุดหลังจากการเกิดบาดแผล 24 - 48 ชั่วโมง[1] 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[1]

เซลล์อักเสบกลุ่มต่อมาที่มีการเคลื่อนเข้ามายังแผลนั้น คือ macrophage ซึ่งจะมีการเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างมีนัยสำคัญใน 48 - 96 ชั่วโมงหลังเกิดบาดแผล[4] และจะยังคงอยู่จนกระทั่งเกิดการหายของแผล โดยมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการ phagocytosis, oxygen radical, nitric oxide synthesis และโดยเฉพาะการกระตุ้นและเรียกเซลล์ต่าง ๆ เข้ามาในบาดแผลมากขึ้นผ่านทาง cytokine[1, 19] เช่น TNF-α, IL-1 IL-6 และ growth factor ที่หลั่งออกมา 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[1]

ตาราง 1 แสดง mediator ต่าง ๆ ของ macrophage ที่ผลิตระหว่างการเกิดการหายของแผล

mediator ต่าง ๆ ของ macrophage ที่ผลิตระหว่างการเกิดการหายของแผล	
กระบวนการฟาโกไซโทซิส (Phagocytosis)	Reactive oxygen species, Nitric oxide
กระบวนการกำจัดเยื่อเนื้อตาย (Debridement)	Collagense, elastase
การเรียกเซลล์ชนิดอื่นๆ และการกระตุ้น (Cell recruitment and activation)	Growth factors : platelet-derived growth factor, transforming growth factor-β, epithelial growth factor, insulin-like growth factor Cytokines : tumor necrosis factor-α, Interleukin-1, 6 Fibrinectin
กระบวนการสร้างแมทริกซ์ (Matrix synthesis)	Growth factors : transforming growth factor-β, epithelial growth facto, platelet-derived growth factor Cytokines : tumor necrosis factor-α, Interleukin-1, interferon-γ Enzymes : arginase, collagenase Prostaglandins Nitric oxide
กระบวนการสร้างหลอดเลือดใหม่ (Angiogenesis)	Growth factors : fbroblast growth factor, vascular endothelial growth factor Cytokines : tumor necrosis factor-α Nitric oxide

ที่มา: ดัดแปลงจาก Schwartz SI, et al. Schwartz's principles of surgery. 2015

ระยะ Proliferation

ระยะ Proliferation นับเป็นระยะที่สองของกระบวนการหายของแผล โดยจะใช้เวลาประมาณ 4-12 วันหลังจากเกิดบาดแผล[20] โดยมี Platelet-derived growth factor (PDGF) เป็นตัวกระตุ้นให้ fibroblast เข้ามารวมตัวกันสร้าง collagen เพื่อทำให้เกิดการหดตัวของบาดแผล นอกจากนี้ระยะนี้ยังเกิดกระบวนการ angiogenesis จากการกระตุ้นของ cytokine ต่าง ๆ เช่น TNF-α, TGF-β, Vascular endothelial growth factor (VEGF) ด้วย[1, 20]

การสร้าง Matrix

Collagen มีบทบาทสำคัญในกระบวนการหายของแผล โดยชนิดที่มีความสำคัญต่อกระบวนการหายของแผลนั้นคือ collagen ชนิดที่ 1 ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของ extracellular matrix และ collagenชนิดที่ 3 ที่จะมีบทบาทสำคัญในการเสริมสร้างบาดแผล โดยพบว่าปริมาณเลือดที่มาเลี้ยงอย่างเพียงพอ และการปราศจากภาวการณ์ติดเชื้อนั้น สำคัญต่อกระบวนการสร้างคอลลาเจนอย่างมาก[1]

ระยะ Maturation และ Remodeling

เป็นขั้นตอนที่มีการจัดเรียงตัว collagen ที่สร้างมาให้เป็นระเบียบ โดยมีการทำลาย collagen เดิม และสร้างใหม่ โดยขั้นตอนการทำลายนั้นจะอาศัยเอนไซม์ matrix metalloprotenase (MMP) โดย collagen ชนิดที่ 3 จะถูกแทนที่เป็น collagen ชนิดที่ 1 เมื่อระยะเวลาผ่านไปจะมีความแข็งแรงมากขึ้น collagen จะเข้าสู่ภาวะสมดุล โดยระยะแรกจะเกิดเป็นแผลเป็นที่ไม่สมบูรณ์ มีความนูนแดง เรียกว่า immature scar และใช้เวลาอีกประมาณ 6–12 เดือน แผลจึงจะมีความสมบูรณ์ และ collagen จะมีการจัดเรียงตัวที่ดี[1]

หัตถการและสารสื่ออักเสบ

ในการทำหัตถการต่าง ๆ ที่ทำให้เกิดบาดแผลนั้นมีความเสี่ยงที่ทำให้เกิดความซับซ้อนทางการรักษาได้ ทันตแพทย์ล้วนมีเป้าหมายเพื่อลดความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นได้ ทั้งก่อนทำหัตถการ ระหว่างการทำหัตถการ และหลังการทำหัตถการ เพื่อให้ได้ผลการรักษาที่ดี โดยมีการใช้วิธีการต่างๆ เพื่อช่วยลดความเสี่ยง เช่น การปรับเปลี่ยนโภชนาการ การลดการสูบบุหรี่ ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการหายของแผล พบว่าการสูบบุหรี่ โรคเบาหวาน ภาวะทุพโภชนาการ การดื่มแอลกอฮอล์ อายุที่มาก การได้รับการฉายรังสีรักษา หรือการได้รับเคมีบำบัด ล้วนเป็นปัจจัยที่ทำให้ความเสี่ยงมีเพิ่มขึ้น[6]

การเปลี่ยนแปลงในระยะ inflammation ในกระบวนการหายของแผลจะทำให้เกิดปัญหาในการเปลี่ยนผ่านจากแผลฉับพลันไปเป็นแผลเรื้อรัง โดยสามารถใช้ inflammatory cytokine เป็น

marker ในการตรวจประเมินการหายของแผล โดย cytokine ที่มีบทบาทหลัก ได้แก่ IL-1, IL-6, IL-8, TNF-α[6, 21] ซึ่งเป็น cytokine ที่เหนี่ยวนำให้เกิดการเคลื่อนเข้ามาของ neutrophils ช่วยส่งเสริมการ epithelialization กระตุ้น fibroblast และกระตุ้นกระบวนการหายของแผล ขณะที่ proinflammatory cytokine เช่น TNF-α, IL-1, IL-6 เมื่อมีการหลั่งออกมาจะมีการ release secondary mediators ตามมาด้วย ได้แก่ NO, prostaglandins, vasoactive agents, endorphins, free-O2 radicals ต่าง ๆ ทำให้เกิดการตอบสนองของร่างกายทางระบบ (systemic effect) ต่าง ๆ เช่น ไข้ ปวด บวม แดง และร้อนได้ ซึ่งการที่มี proinflammatory cytokine ที่สูง พบว่ามีความสัมพันธ์กับการนอนโรงพยาบาลนานขึ้น หรือการเสียชีวิตได้[6]

การมีการอักเสบที่มากเกินไป ส่งผลให้สามารถเปลี่ยนการหายของแผลเป็นแบบเรื้อรังได้ เกิดจากการที่แผลที่ไม่สามารถหายได้ตามกระบวนการการหายของแผล[5] จะพบว่ามีระยะของ inflammatory phase ยาวนาน หรือซ้ำเดิมขึ้น เกิดการกระตุ้น PMNs และ Macrophage ทำให้เกิดการหลั่งเอนไซม์ออกมาย่อยโปรตีนตลอดเวลา[5, 20] เกิดการทำลายตัวของ extracellular matrix และการลดระดับของ growth factor ทำให้ในขั้นตอน proliferative phase ไม่สามารถเกิด granulation หรือ epithelialization ได้

ในแผลเรื้อรังจะพบว่ามี inflammatory cytokine ที่แตกต่างกันกับแผลเฉียบพลัน โดยแผลเฉียบพลันนั้นจะมี TNF-α และ IL-2 สูงสุดในช่วง 2-3 วันแรก และจะลดลง จากนั้นกระบวนการหายจะดำเนินต่อไปได้ และมี growth factor เช่น PDGF, IL-6, TGF-α, TGF-β จำนวนมากเพื่อกระตุ้นขั้นตอน Proliferative phase ในขณะที่แผลเรื้อรังนั้นจะพบว่ามี TNF-α และ IL-2 สูงตลอดเวลา มี growth factor ปริมาณที่น้อย และมีเอนไซมย่อยโปรตีน (MMP) ทำลาย ECM และส่งผลกลับไปให้ลดปริมาณของ growth factor ทำให้กระบวนการหายของแผลผิดปกติ[6]

Tumor necrosis factor-alpha (TNF-α)

TNF-α เป็น proinflammatory cytokine ที่เรียกได้ว่าเป็นกุญแจสำคัญในกระบวนการอักเสบ[22] โดยถูกสร้างมาจาก macrophage และ lymphocyte ระหว่างกระบวนการอักเสบเฉียบพลัน โดยทั่วไปจะหลั่งออกมาหลังจากเนื้อเยื่อได้รับอันตราย[21, 23]มีค่าครึ่งชีวิตอยู่ที่ 15-18 นาที[24] ซึ่งมีผลทำให้เกิดการตอบสนองที่หลากหลายภายในเซลล์ ไม่ว่าจะเป็นทำให้เกิดการตายของเซลล์ได้[20] สามารถกระตุ้นการ proliferation ของ fibroblast สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างสาร prostaglandin และกระตุ้นให้เกิดการแสดงออกของยีน collagenase[20] มีคุณสมบัติเดียวกัน

กับ IL-1 ที่เหนี่ยวนำให้เกิดเป็นแผลเรื้อรังได้ มีบทบาทในการเรียก neutrophils และ macrophage เข้ามาในบริเวณบาดแผล เหนี่ยวนำให้เกิดการสร้าง chemokine และ MMPs ในกระบวนการอักเสบจะพบว่า TNF-α, IL-1, และ IL-6 จะมีความเข้มข้นสูง[25] โดย TNF-α และ IL-1 เป็น cytokines ที่มีความสำคัญในการตอบสนองอย่างเฉียบพลัน[24] ซึ่ง TNF-α จะพบว่ามีค่าสูงขึ้นตั้งแต่ในชั่วโมงแรกของการเกิดบาดแผล ถูกปลดปล่อยออกจากเซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือด keratinocyte fibroblast ในบริเวณที่มีบาดแผล และไปกระตุ้นให้เข้าสู่การบวนการอักเสบโดยการเรียกเซลล์เม็ดเลือดขาวเข้ามายังบาดแผล[26] ในระยะที่มีการอักเสบ TNF-α จะเปลี่ยนมาถูกผลิตจาก neutrophils และ macrophages ที่อยู่ที่บาดแผลแทน กระบวนการนี้ทำให้มีการเพิ่มการอักเสบมากขึ้น TNF-α จะมีปริมาณสูงสุดใน 1 วันหลังจากนั้น และจะลดลงจนถึงระดับปกติ เกิดกระบวนการหายของแผลในลำดับอื่นๆ ต่อไป นอกเหนือจากนี้มีการทดลองในหนูพบว่า การมี anti-TNF-α สามารถทำให้เกิดแผลปิดช้าลงได้[9] สำหรับในแผลที่การหายของแผลมีความบกพร่องจะพบว่ามีปริมาณของ TNF-α ทั้งเฉพาะที่ และในระบบสูงขึ้น อีกทั้งมีรายงานในหลายวิจัยพบว่า TNF-α มีความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เกิดการหายของแผลที่ช้าในคนได้ [6]

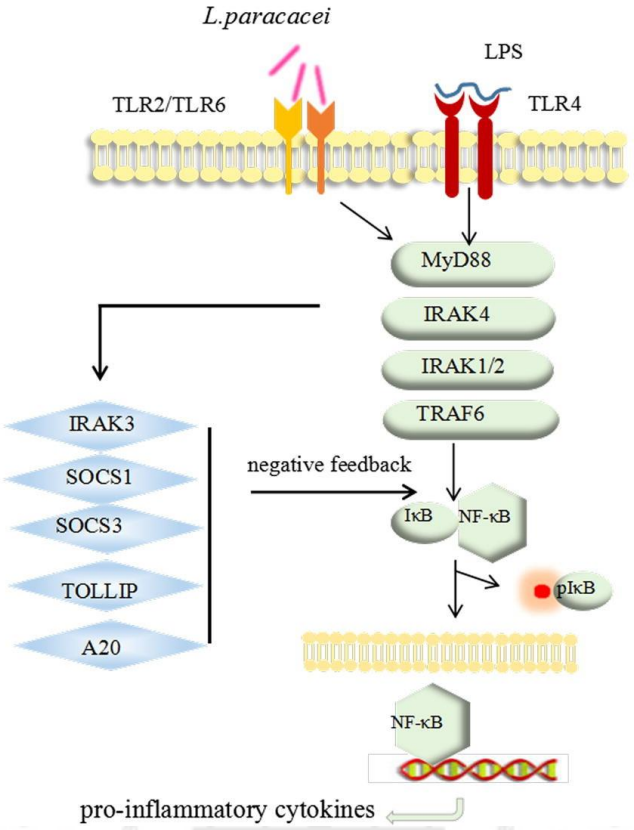
ตามธรรมชาตินั้นเมื่อมีสิ่งกระตุ้น phospholipase A_2 จะเปลี่ยน Phospholipids เป็น arachidonic acid ซึ่งจะผ่านเอนไซม์ lipoxygenases เป็น leukotriene ต่าง ๆ และบางส่วนจะผ่านเอนไซม์ cyclooxygenase (COX-1, COX-2) เกิดเป็น Prostaglandins E2 ซึ่งเป็นสารอักเสบสำคัญที่ทำให้เกิดการทำลายของเนื้อเยื่อและกระดูก โดยบทบาทของ TNF-α ต่อ prostaglandins นั้นจะทำให้ COX-2 มีการแสดงออกมากขึ้น

โพรไบโอติก

โพรไบโอติก เป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต เมื่อมีในปริมาณที่เหมาะสมจะส่งผลดีต่อสุขภาพร่างกาย ช่วยป้องกันและรักษาโรคได้[27] จากคำจำกัดความดังกล่าว จะเห็นว่ามี 2 คำหลักๆคือ ต้องเป็นเซลล์ที่มีชีวิต และต้องได้รับในปริมาณที่พอเหมาะ ซึ่งในปัจจุบันทำให้เป็นที่ถกเถียงกันมาก เนื่องจากมีการศึกษาพบว่าผลผลิตของโพรไบโอติก หรือแม้แต่ดีเอ็นเอ ก็สามารถให้ประโยชน์ต่อสุขภาพในบางสถานการณ์ได้[10] ความเชื่อว่าโพรไบติกมีผลดีนั้น เกิดจากการที่ Dr. Elie Metchnikoff ได้ตั้งข้อสังเกตว่าชาวบัลแกเรียมีอายุยืนยาวน่าจะมาจากการบริโภคโยเกิร์ต (yogurt) ที่มีส่วนประกอบของ *Lactobacillus bulgaricus* จึงเกิดแนวคิดว่านอกจากเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคแล้ว ในธรรมชาติยังมีเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ[27, 28] ซึ่งโพรไบโอติกที่ใกล้ตัวมนุษย์มากที่สุดคือ เชื้อประจำถิ่น (normal flora) ที่มีอยู่แล้วในร่างกายของมนุษย์[29]

แนวคิดในการเอาเชื้อประจำถิ่นมาใช้ประโยชน์ เกิดจากการสังเกตว่า โดยปกติแล้วในอวัยวะต่าง ๆ ของร่างกาย ที่สามารถติดต่อกับสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น ระบบทางเดินอาหาร ช่องปาก และช่องคลอด จะมีเชื้อประจำถิ่นหลายชนิดอาศัยอยู่ร่วมกัน โดยเชื้อแต่ละชนิดนั้นอาจส่งเสริมหรือยับยั้งการเจริญเติบโตซึ่งกันและกัน เพื่อรักษาสมดุลทั้งชนิดและปริมาณของเชื้อ ซึ่งหากมีปัจจัยภายในหรือภายนอกใดที่ทำให้เชื้อก่อโรคเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนมากขึ้นจนมีปริมาณมากกว่าเชื้อที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย จะทำให้เสียสมดุลและส่งผลให้ร่างกายเกิดโรคต่างๆ ตามมาได้[30] แต่เชื้อทุกชนิดไม่ได้ผลลัพธ์เหมือนกัน แต่ละสายพันธุ์ แต่ละชนิดต่างมีการทำงานส่งผลต่อร่างกายโดยเฉพาะ[7] เชื้อในสปีชีส์เดียวกันแต่เป็นคนละสายพันธุ์ก็ส่งผลแตกต่างกัน[7, 8]

Lactobacilli เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่เรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยวหรือต่อเป็นสาย เป็นเชื้อประจำถิ่นที่พบได้หลายอวัยวะ[31] มีคุณสมบัติทนกรด และสามารถผลิตกรดแลคติคได้ มีหลากหลายสายพันธุ์ มีบทบาทสำคัญในการควบคุมระบบภูมิคุ้มกัน มีการศึกษาในคลินิกพบว่ามีความสามารถในการป้องกัน และรักษากระบวนการอักเสบต่าง ๆ เช่น ลำไส้อักเสบ บางสายพันธุ์มีความสามารถในการลดการสร้าง proinflammatory cytokine เช่น TNF-**α** ได้[9] บางสายพันธุ์พบว่าจะเหนี่ยวนำให้มีการสร้าง IL-10 จาก T-cells จากการศึกษาของ Ki-Yi Sun et al. ที่มีการศึกษาผลของ *L. paracasei* ทั้งมีชีวิต และไม่มีชีวิต ต่อสารสื่ออักเสบที่ถูกกระตุ้นจาก LPS นั้นพบว่ามีการยับยั้งการปล่อย TNF-**α** และ IL-6 โดย *L. paracasei* มีการกดการเหนี่ยวนำของ LPS ที่จะไปจับตัวกับ toll-like receptor 4 (TLR 4) ที่ทำให้เกิด I-**K**B**α** phosphorelation โดยการเพิ่มการทำงานของตัวควบคุม (negative regulators) ของ NF-**K**B pathway ผ่านการจับตัวกับ TLR 2 และยังยับยั้งการ translocation ของ p50/p65 subunit ของ NF-**K**B จากไซโตซอล ไปยังนิวเคลียส ในNF-**K**B pathway ที่ควบคุมการแสดงออกของสารตัวกลางที่สำคัญในกระบวนการอักเสบ เช่น NO, COX-2, IL-1, IL-6, IL-8 และ TNF- **α** ทำให้ลดการอักเสบได้ ซึ่งนับเป็น therapeutic effect ของ *L. paracasei* [10] และยังพบว่า *L. paracasei* มีความสามารถในการลดการอักเสบได้ดี ปรับเปลี่ยนระบบภูมิคุ้มกันได้มากกว่า *L. plantarum* (ภาพประกอบที่ 2)



ภาพประกอบ 2 แสดงกลไกการยับยั้งการปล่อย Proinflammatory cytokines ผ่าน NF-**K**B pathway

ที่มา: ดัดแปลงจาก 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.2017

องค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกาประกาศให้ Lactobacilli และ Bifidobacteria เป็นโพรไบโอติกที่ใช้ในมนุษย์ได้อย่างปลอดภัย โดยเป็นที่ยอมรับในมาตรฐานความปลอดภัยตามหลักของ generally recognized as safe (GRAS) status[32] การใช้ในคนที่แข็งแรงไม่มีโรคประจำตัวนั้นนับว่าปลอดภัย แต่ต้องระวังในการใช้โพรไบโอติกในคนที่เสี่ยงติดเชื้อในกระแสเลือด โดยในการพัฒนาหรือผลิตไพรไบโอติกขึ้นมาในแต่ละสายพันธุ์นั้น ต้องมีการประเมินความปลอดภัยก่อน เนื่องจากกลไกการทำงานของโพรไบโอติกยังต้องมีการศึกษาอีกมาก และต้องมีช่องทางการให้ที่เหมาะสม เนื่องจากสายพันธุ์ที่ต่างกันสามารถให้ผลที่แตกต่างกันได้ และ

การศึกษาการใช้โพรไบโอติกในประชากร กลุ่มหนึ่งนั้น ไม่สามารถนำมาอ้างอิงไปถึงประชากรกลุ่มอื่นได้ จึงยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม[33]

สำหรับในประเทศไทยนั้นกระทรวงสาธารณสุขได้ประกาศให้โพรไบโอติก Lactobacilli เป็นสายพันธุ์ที่ได้รับการรับรองจากกระทรวง ตามประกาศราชกิจจานุเบกษา เรื่องบัญชีรายชื่อจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโพรไบโอติกได้ (หน้าที่ 21 เล่มที่ 128 ตอนพิเศษ 86)

การศึกษาโพรไบโอติกที่เกี่ยวข้องกับช่องปากนั้นยังมีไม่มากนัก มีการศึกษาของ Teanpaisan และคณะ ในปี 2015 ในการนำโพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. paracasei* SD1 มาผสมเข้ากับนมผง แล้วนำไปให้กลุ่มทดลองกิน พบว่าสามารถลดจำนวน *Streptococcus mutans* ที่เป็นเชื้อก่อโรคฟันผุลงได้อย่างมีนัยสำคัญ[34] ต่อมาได้มีการศึกษาต่อ พบว่าหากให้นมผงผสมโพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. paracasei* SD1 เป็นเวลาต่อเนื่อง มีผลต่อการลดฟันผุได้ โดยผลการทดลองพบว่ามีการลดจำนวนเชื้อ *Streptococcus mutans* และมีภูมิคุ้มกัน human neutrophil peptides 1-3 ในน้ำลายอย่างมีนัยสำคัญ[34]

ได้มีรายงานพบว่าโพรไบโอติกมีความสามารถในการสร้างสารที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide), แบคทีรีโอซิน (bacteriocin) รวมทั้งสารที่มีฤทธิ์เป็นกรด และสารยับยั้ง อื่นๆ[35,36] อีกทั้งยังมีความสามารถในการแย่งใช้อาหาร (substrate) ที่เชื้อก่อโรคจำเป็นต้องใช้ในการเติบโต ส่งผลให้มีการลดจำนวนของเชื้อก่อโรคได้[36]

อีกทั้งยังมีการศึกษาน้ำเลี้ยงเชื้อโพรไบโอติก (probiotic supernatant) ของ *L. paracasei* MSMC39-1 ที่แยกได้จากอุจจาระของเด็กทารกแรกคลอดที่มีสุขภาพดี จากศูนย์การแพทย์สมเด็จพระเทพฯ (SWUEC 37/2551) เมื่อนำไปทดสอบในห้องปฏิบัติการ (in vitro) พบว่า น้ำเลี้ยงเชื้อโพรไบโอติกจาก *L. paracasei* MSMC39-1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง proinflammatory cytokine ชนิด TNF- α ได้อย่างมีนัยสำคัญ[16] นอกจากนี้การศึกษาใน *in vivo* พบว่าสายพันธุ์นี้ช่วยลดการอักเสบได้ในสัตว์ทดลอง (EC no. SWU-A-012-2562, COA/AE-002-2563) และสามารถลดการอักเสบในตับ และ liver fibrosis ได้[37] อีกทั้งยังพบว่าสายพันธุ์นี้ช่วยลดการอักเสบของสิวในคนไข้สิวอักเสบได้[38] โดยความสามารถนี้เป็นคุณสมบัติเฉพาะของโพรไบโอติกสายพันธุ์นี้ โดยแต่ละสายพันธุ์อาจมีคุณสมบัติแตกต่างกันไป

น้ำยาบ้วนปาก

น้ำยาบ้วนปากเป็นผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปากที่ใช้ง่ายช่วย เสริมประสิทธิภาพในการทำความสะอาดช่องปาก เพิ่มเติมจากการแปรงฟันจามปกติ โดยเฉพาะในผู้ที่มีความบกพร่องทางร่างกาย[39] ส่วนผสมของน้ำยาบ้วนปวกประกอบไปด้วย ส่วนผสมพื้นฐาน ได้แก่ สารทำละลาย, สารให้ความชุมชื่น, สารลดแรงตึงผิว, สารแต่งรส, สี สารกันบูด, น้ำ, สารปรับความเป็นกรด-ด่าง ส่วนสารอื่นๆ ที่ใส่เพิ่มเติม เช่น ฟลูออไรด์ สารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ เป็นต้น[40] โดยสามารถนำมาใช้ในผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง หรือได้รับรังสีรักษา และเคมีบำบัดได้[41, 42]

น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์

แอลกอฮอล์มีความสามารถเป็นตัวทำละลายที่ดี เมื่อใช้ในความเข้มข้นที่เหมาะสมจะมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียได้ เอทานอลนับเป็นแอลกอฮอล์ที่มักใช้ในการผสมในน้ำยาบ้วนปาก จะมีความเข้มข้นที่ต่างกันไปในแต่ละสูตร[43]

พบว่าการใช้น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ทำให้เกิดอาการปากแห้งและมีน้ำลายน้อยลงได้[43] ส่วนอาการแสบร้อนเนื้อเยื่อภายในช่องปาก พบว่ามาสารถเกิดขึ้นได้ในผู้ป่วยที่ใช้เป็นระยะเวลาต่อเนื่อง โดยอาการแสบร้อนจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้นานขึ้น[44]

จากผลการศึกษาที่ผ่านมาพบสาเหตุหลักในการเกิดมะเร็งช่องปาก คือ การสูบบุหรี่และการดื่มสุรา แต่กลไกยังไม่เป็นที่แน่ชัด แต่มีผู้สันนิษฐานว่าการดื่มสุรา ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อเซลล์ ทำให้ไวต่อสารก่อมะเร็งมากขึ้น หรือเอทานอลอาจไปรบกวนกระบวนการถอดสายดีเอ็นเอ ทำให้เกิดความผิดพลาดจนเกิดเป็นเซลล์มะเร็งขึ้น ด้วยเหตุนี้จึงมีข้อสันนิษฐานว่าเอทานอลในน้ำยาบ้วนปากก็อาจทำให้เกิดผลได้เช่นเดียวกัน[45-47]

น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของคลอเฮกซิดีน

คลอเฮกซิดีนเป็นสารเคมีที่สามารถควบคุมเชื้อได้อย่างกว้างขวาง ทั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ และมีความสามารถควบคุมแผ่นคราบจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพจนสามารถใช้เป็นมาตรฐานอ้างอิงในการทดสอบน้ำยาบ้วนปากควบคุมแผ่นคราบจุลินทรีย์อื่น ๆ

กลไกการออกฤทธิ์ของคลอเฮกซิดีนในการต้านเชื้อแบคทีเรีย เกิดจากการที่คลอเฮกซิดีนมีสารที่มีเป็นประจุบวก จึงเกิดพันธะกับประจุลบบริเวณผิวเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย ทำให้เกิดการสูญเสียสภาพของผิวเซลล์ ก่อให้เกิดการรั่วของเซลล์ และทำให้เซลล์ตายในที่สุด นอกจากนี้ความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโต หรือฆ่าเชื้อของคลอเฮกซิดีนนั้น ขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นที่ใช้ โดยความเข้มข้นสูงก็สามารถที่จะฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ ขณะที่ความเข้มข้นต่ำก็จะทำได้แค่ยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อแบคทีเรีย[48]

อีกทั้งยังพบว่ามีความสามารถในการจับตัวบนผิวฟัน ลิ้น น้ำลาย ไบโอฟิล์ม และเนื้อเยื่อต่างๆ ภายในช่องปากได้ดี ส่งผลให้คอลเฮกซิดีนออกฤทธิ์ได้นานมากถึง 5 ชม[49]

ถึงแม้ว่าคลอเฮกซิดีนจะมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ และแผ่นคราบจุลินทรีย์ได้ดี แต่ก็มีข้อด้อย คือ การก่อให้เกิดคราบสีน้ำตาลบนฟัน, ลิ้น, และฟันปลอม ซึ่งเกิดจากประจุลบของคลอเฮกซิดีนจับตัวกับองค์ประกอบในคราบที่ตกค้างอยู่ของอาหาร และเครื่องดื่ม (interaction of di-cationic antiseptic with dietary chromogens)[50] มีรายงานถึงรสขม, การรับรสที่เปลี่ยนแปลง และอาการปวดแสบปวดร้อน ซึ่งอาการจะอยู่เพียงชั่วคราวและหายไปเมื่อหยุดใช้[51] สำหรับคนที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดฟันผุสูง แนะนำให้ใช้น้ำยาบ้วนปากคลอเฮกซิดีน ความเข้มข้นร้อยละ 0.12 เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ ทุก ๆ 2-3 เดือน เป็นระยะเวลาอย่างน้อย 1 ปี[52]

น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหย

น้ำมันหอมระเหย จัดเป็นสารประกอบจำพวกฟีนอลที่ไม่มีประจุ (phenol like substance, non-ionic) ประกอบด้วยสารสกัด 4 ชนิด ได้แก่ ไทมอล(thymol), เมธิลซาลิไซเลท (Methyl salicylate), เมนทอล (menthol), และยูคาลิปตอล(eucalyptol)

สารประกอบประเภทไทมอล (5-methyl-2-isopropylphenol) มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อโดยกลไกการยับยั้งเชื้อ เกิดจากการแทรกซึมเข้าสู่เยื่อหุ้มเซลล์ และทำให้เกิดการแตกตัวของเยื่อหุ้มเซลล์ โดยพบว่ามีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อจุลชีพที่ไม่พึ่งออกซิเจน (obligate anaerobes) และเชื้อ *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. ได้มากกว่าเชื้อจุลชีพกึ่งพึ่งออกซิเจน (facultative anaerobes) พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อได้ (minimal inhibition concentration) อยู่ที่ 0.02-0.09 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อได้ (minimal bactericidal concentration) อยู่ที่0.04-0.18 เปอร์เซ็นต์[53]

สารประกอบประเภทยูคาลิปตอล พบว่าสามารถยับยั้งการยึดเกาะของเชื้อ *Streptococcus mutans* และสามารถฆ่าเชื้อ *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum,* และ *Streptococcus mutans* ได้ภายหลังการสัมผัสกับยูคาลิปตอลเป็นเวลา 30 วินาที[54]

การศึกษาในมนุษย์ในปี 1994 พบว่าหลังจากการใช้น้ำยาบ้วนปากน้ำมันหอมระเหยเพียงหนึ่งครั้งสามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียในน้ำลายได้เป็นเวลา 5 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม [55] ทั้งยังมีการศึกษาพบว่าน้ำยาบ้วนปากน้ำมันหอมระเหยมีประสิทธิภาพในการลดการเกิดคราบจุลินทรีย์เหนือเหงือกและโรคเหงือกอักเสบได้ดี โดยพบว่าหลังการใช้น้ำยาบ้วนปากน้ำมันหอมระเหยเป็นเวลา 14 วัน ปริมาณเชื้อจุลชีพที่ไม่พึ่งออกซิเจน เชื้อจุลชีพแกรมลบที่ไม่พึ่ง

ออกซิเจน และจุลชีพที่สร้างสารระเหยประกอบซัลเฟอร์ (violatile sulphur compound producing organism) ในคราบจุลินทรีย์ลดลงร้อยละ 56.3-95.3[56]

มีรายงานถึงผลข้างเคียงของน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหย พบว่าเมื่อให้กลุ่มทดลองใช้วันละ 2 ครั้ง นาน 6 เดือน พบว่าสัดส่วนของเชื้อจุลชีพและเชื้อฉวยโอกาสไม่มีการเปลี่ยนแปลงภายหลังการใช้

น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของเซทิลไพรดีเนียม คลอไรด์

โครงสร้างของเซทิลไพรดีเนียม คลอไรด์ (Cetylpridinium Chloride) มีลักษณะเป็นทั้ง surfactant chains และมีประจุบวก ทำให้เซทิลไพรดีเนียม คลอไรด์ สามารถจับกับพื้นผิวในช่องปากที่เป็นไขมัน (lipid) และมีประจุลบได้[57]

เซทิลไพรดีเนียม คลอไรด์ เป็นสารที่ออกฤทธิ์ระงับเชื้อได้หลายกลุ่ม[58] โดยความสามารถในการระงับเชื้อ เกิดจากการที่เซทิลไพรดีเนียม คลอไรด์มีประจุเป็นบวก ทำให้มีความสามารถในการแทรกซึมไปในเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีประจุลบ ส่งผลให้เกิดการซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดเซลล์แตกตามมา ซึ่งกระบวนการดังกล่าวส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตและทำให้เกิดการตายของเซลล์ในที่สุด[59]

ในปี 2003 มีการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากเซทิลไพรดีเนียม คลอไรด์ ในการระงับเชื้อแบคทีเรีย ที่ความเข้มข้น 0.05 เทียบกับน้ำยาบ้วนปากคลอเฮกซิดีน ความเข้มข้น 0.12 และน้ำยาหลอก (placebo) พบว่าหลังหยุดบ้วนน้ำยาบ้วนปากเซทิลไพรดีเนียม คลอไรด์ เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง ปริมาณเชื้อแบคทีเรียในน้ำลายลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกลุ่มยาหลอก แต่หลังบ้วนนาน 3 ชั่วโมง พบว่าปริมาณเชื้อแบคทีเรีย ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[60]

การยับยั้งการสร้างคราบจุลินทรีย์ และการป้องกันโรคเหงือกอักเสบของน้ำยาบ้วนปากเซทิลไพรดีเนียม คลอไรด์ พบว่ามีการศึกษาที่ความเข้มข้นแตกต่างกันไป ทั้งความเข้มข้นร้อยละ 0.0.5 [61] , ร้อยละ 0.07 [62],และร้อยละ 0.1 [63] สามารถป้องกันการเกิดคราบจุลินทรีย์ และการเกิดโรคเหงือกอักเสบได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อใช้หลังการแปรงฟันปกติวันละ 2 ครั้ง เป็นระยะเวลา 6 เดือน ซึ่งมีความสามารถเทียบเท่ากับน้ำยาบ้วนปากน้ำมันหอมระเหย ที่ได้รับการรับรองจากสมาคมทันตแพทย์แห่งสหรัฐอเมริกาว่าเป็นน้ำยาบ้วนปากที่สามารถป้องกัน และลดการเกิดคราบจุลินทรีย์ได้[58]

อย่างไรก็ตามเนื่องจากเซทิลไพรดีเนียม คลอไรด์ มีประจุเป็นบวก จึงสามารถเกิดปฏิกิริยากับสารที่มีประจุลบได้ ที่สามารถพบได้ในน้ำยาบ้วนปากชนิดอื่น, ยาสีฟัน, เซรัม

(serum), ไขมัน (lipid), ฟอสโฟลิพิด (phospholipid) และโปรตีน ส่งผลให้ความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ลดลงได้[64]

การศึกษาถึงผลข้างเคียงของน้ำยาบ้วนปากเซทิลไพรดีเนียม คลอไรด์ พบว่าการใช้น้ำยาบ้วนปากเซทิลไพรดีเนียม คลอไรด์ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของเชื้อภายในช่องปาก เมื่อใช้เป็นระยะเวลานาน 6 สัปดาห์[59]

นอกจากสารออกฤทธิ์ในน้ำยาบ้วนปากที่พบได้บ่อยในปัจจุบันตามที่กล่าวไปข้างต้นแล้ว ยังมีสารออกฤทธิ์อีกหลายตัวที่ใช้ในน้ำยาบ้วนปากซึ่งมีกลไกลการออกฤทธิ์แตกต่างกันไป ดังที่ได้สรุปไว้ในตารางที่ 2

ตาราง 2 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งการเกิดคราบจุลินทรีย์ และยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ของส่วนผสมในน้ำยาบ้วนปาก

กลุ่มของสารออกฤทธิ์	ตัวอย่างสารออกฤทธิ์	กลไกการออกฤทธิ์
Bisbiguanide	Chlorhexidine	ยับยั้งการเคลื่อนย้ายน้ำตาลเข้าสู่เซลล์, ยับยั้งการสร้างกรด, ยับยั้งการนำกรดอะมิโนไปใช้,ยับยั้งการสังเคราะห์polysaccharide และการทำงานของเอนไซม์โปรตีนเอส (protease activity, รบกวนกระบวนการทำงานบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย(bacterial membrane)
Enzymes	Mutanase, dextranase, amyloglucosidase-glucose oxidase	ยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์ม โดยการย่อย polysaccharides ของแบคทีเรีย, ยับยั้งกระบวนการไกลโคไลซิส (glycolysis)ของแบคทีเรียโดยการเพิ่มการทำงานของระบบเพอร์ออกซิเดสในน้ำลาย(salivary peroxidase system)
Essential oil extracts	Menthol, thymol, eucalyptol, methyl salicylate	ยับยั้งการสร้างกรดของแบคทีเรีย, ลดการสังเคราะห์ lipopolysaccharide ของแบคทีเรีย
Metal salts	Zinc,copper, stannous ions	ยับยั้งการเคลื่อนย้ายน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ ,ยับยั้งการสร้างกรด, การทำงานของเอนไซม์โปรตีนเอส (protease activity)
Quaternary ammonium compounds	Cetylpyridinium chloride	ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย, และยับยั้งเอนไซม์ของแบคทีเรีย

ตาราง 1 (ต่อ)

กลุ่มของสารออกฤทธิ์	ตัวอย่างสารออกฤทธิ์	กลไกการออกฤทธิ์
Phenols	Triclosan	ยับยั้งการเคลื่อนย้ายน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ ,ยับยั้งการสร้างกรด, การทำงานของเอนไซม์โปรตีนเอส (protease activity)
Natural molecules	Plant extracts	ยับยั้งการสร้างกรด และการสังเคราะห์polysaccharide
Surfactants	Sodium lauryl sulfate, delmopinol	ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย, ยับยั้งเอนไซม์ของแบคทีเรีย

ที่มา : ดัดแปลงจาก Jafer M, Patil S, Hosmani J, Bhandi SH, Chalisserry EP, Anil S. Chemical plaque control strategies in the prevention of biofilm-associated oral diseases. J Contemp Dent Pract. 2016 Apr 1;17(4):337-43. Epub 2016/06/2

ปัจจุบันมีการนำสมุนไพร และสารสกัดที่ได้จากธรรมชาติมาใช้เป็นทางเลือกในการรักษาทางการแพทย์มากขึ้น ทั้งนี้เพื่อหวังผลในการลดผลข้างเคียงจากการใช้ยา และลดค่าใช้จ่าย พบว่าสมุนไพรและสารสกัดจากธรรมชาติหลายชนิดมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ ทำให้มีความน่าสนใจในการนำมาเป็นส่วนผสมหนึ่ง ในการพัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปาก

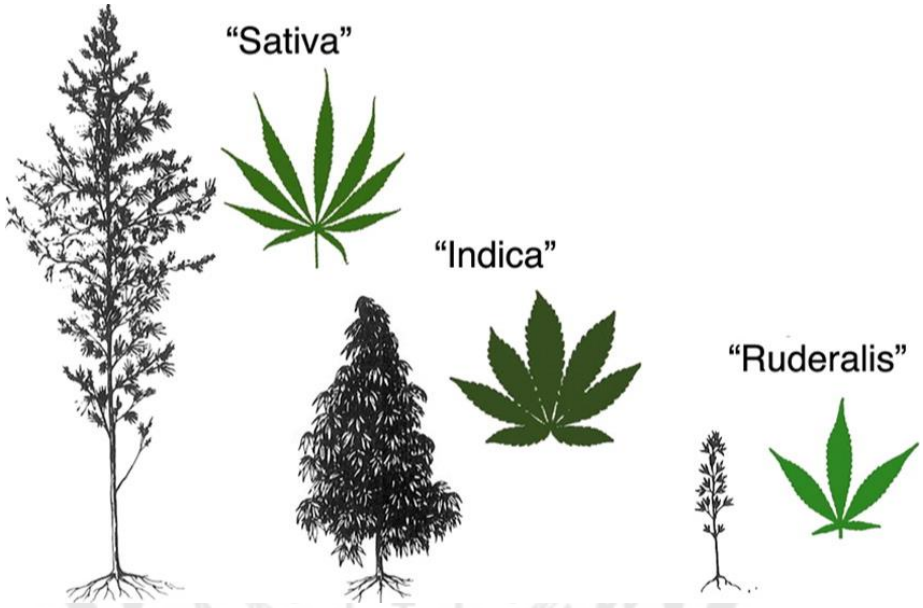
กัญชา

กัญชาจัดเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Cannabaceae มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Cannabis sativa L.* subsp. indica (Lam.)[65] ความหลากหลายทางพันธุกรรมขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม ถิ่นที่อยู่ และการปรับปรุงสายพันธุ์โดยมนุษย์ ทำให้มีสายพันธุ์ที่หลากหลาย การตั้งชื่อวิทยาศาสตร์จึงใช้ความแตกต่างกันของปริมาณสารแคนนาบินอยด์ (cannabinoid) เป็นตัวตั้งชื่อทางวิทยาศาสตร์

สำหรับสารแคนนาบินอยด์เป็นสารออกฤทธิ์สำคัญในกัญชา มี 2 ชนิด หลักที่มีการกล่าวถึงคือ tetrahydrocannabinol (THC) และ cannabidiol (CBD) [66]

กัญชาเป็นไม้ล้มลุก มีอายุ 1 ปี ลำต้นมีลักษระตรง สูงประมาณ 0.9-1.5 เมตร ใบเดี่ยว รูปร่างคล้ายฝ่ามือ เรียงตัวสลับกัน ขอบใบแตกเป็นแฉกประมาณ 5-7 แฉก แต่ละแฉกมีรูปร่างยาว

รี กว้างประมาณ 0.3-1.5 เซนติเมตร ยาว 6-10 เซนติเมตร โคนและปลายใบสอบ ขอบใบเป็นฟันเลื่อย มีสองเพศแยกต้นกัน ได้แก่เพศผู้และเพศเมีย ออกดอกเป็นช่อกระจุกตัวตามแขนงของใบและปลายกิ่ง ช่อดอกและใบของต้นเพศผู้เรียงตัวกันห่างๆ ต่างจากต้นเพศเมียที่เรียงชิดกัน เสกรของเพศผู้นั้นจะมีลักษณะการออกดอกห่างๆกัน แตกต่างจากเพศเมียที่จะออกดอกเป็นกระจุกติดๆกัน [67, 68]



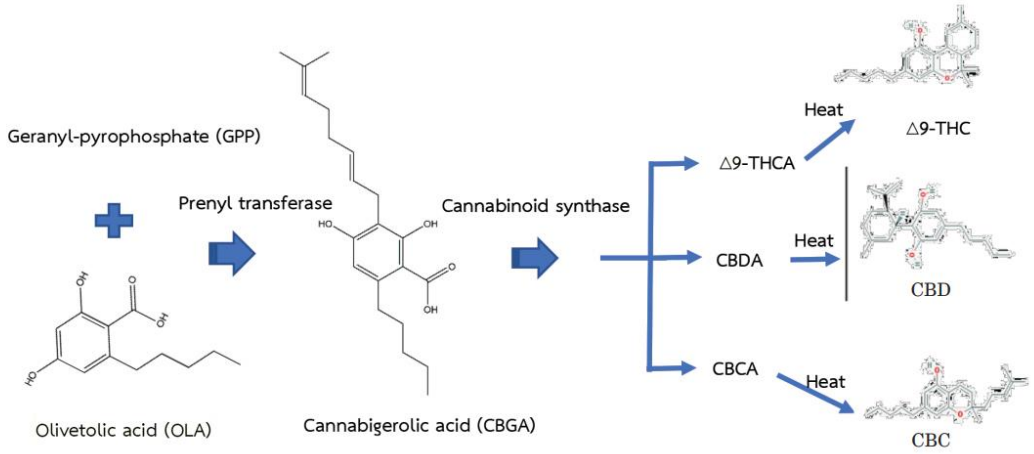
ภาพประกอบ 3 แสดงความแตกต่างกันทางกายภาพของกัญชาทั้ง 3 สายพันธุ์

ที่มา : ดัดแปลงจาก McPartland JM. Cannabis Systematics at the Levels of Family, Genus, and Species. 2018

ปัจจุบันสารออกฤทธิ์สำคัญในกัญชาพบว่ามีมากกว่า 545 ชนิด กว่า 100 ชนิด คือ สารจำพวกไฟโตแคนนาบินอยด์ (phytocannabinoids) ที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา[69] โดยมีโครงสร้างทางเคมีประกอบไปด้วย สารกลุ่มอัลคิลรีซอร์ซินอล (alkylresorcinol), ไขมัน, และสารจำพวกเทอร์ปีน (terpenes)[70] สารแคนนาบินอยด์ที่สำคัญในกัญชาที่พบได้มาก 2 ชนิดคือ tetrahydrocannabinol (THC) และแคนนาบิไดออล (cannabidiol (CBD))[71] นอกจากสารกลุ่มแคนนาบินอยด์แล้วที่กล่าวมาแล้ว ยังสามารถพบสารอื่นๆ ได้อีกมากกว่า 400 ชนิด เช่น สารกลุ่มเทอร์ปีนอยด์, สารกลุ่มฟลาโวนอยด์, สารกลุ่มอัลคาลอยด์, อัลเคน, และสเตียรอยด์ เป็นต้น,[72] ซึ่งจะพบสารออกฤทธิ์เหล่านี้ได้มากในส่วนของไทรโครม (trichromes) ที่เป็นส่วนในช่อดอก โดยจะพบในช่อดอกต้นเพศเมีย

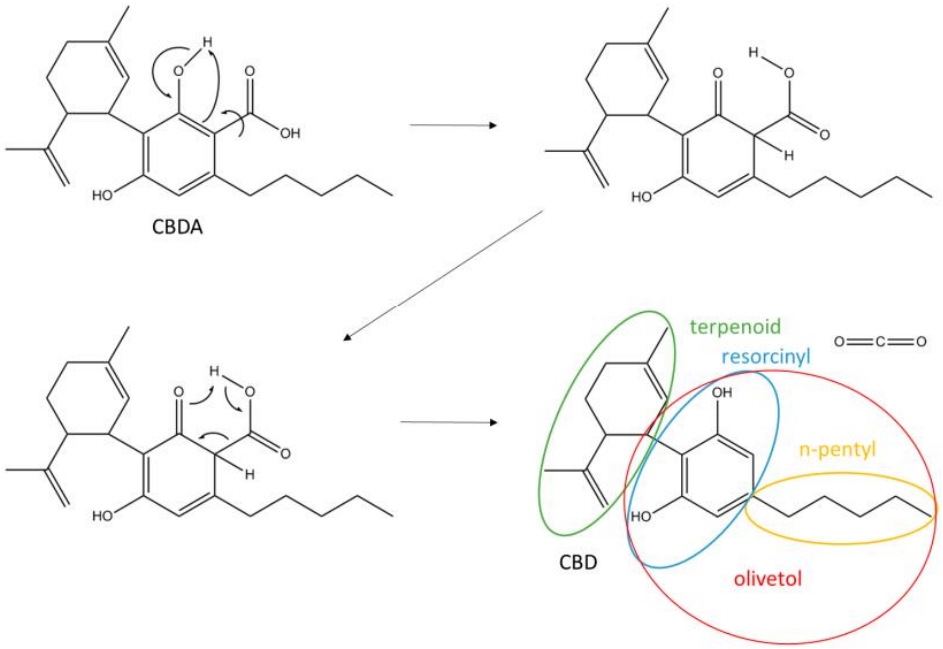
มากกว่าต้นเพศผู้ เมื่อนำมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์จะพบลักษณะคล้ายดอกเห็ดเล็กบนผิวช่อดอก

สารแคนนาบินอยด์นั้นเกิดจากปฏิกิริยาแอลคิลเลชัน (alkylation) ของสาร 2 ตัว ได้แก่ geranyl-pyrophosphate และ olivetolic acid ทำให้ได้กรดที่ชื่อว่า cannabigerolic acid (CBGA) หลังจากนั้น CBGA จะทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ cannabinoid synthase ได้สารจำพวก Δ9-tetrahydrocannabinolic acid, cannabichromenic acid (CBCA), และ cannabidiolic acid (CBDA) ออกมา จากนั้นจะถูกทำให้อยู่ในรูปแบบที่เป็นกลางด้วยความร้อน[73] ซึ่งเป็นแคนนาบินอยด์สำคัญที่กล่าวไว้ข้างต้น ได้แก่ Δ9-THC และ CBD โดยพบว่ามีการนำมาใช้และศึกษาเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ และทันตกรรมในปัจจุบัน (ภาพประกอบที่ 4 และ5)



ภาพประกอบ 4 แสดงการสังเคราะห์แคนนาบินอยด์หลักในกัญชา

ที่มา : ดัดแปลงจาก Bonini SA, et al. Cannabis sativa: A comprehensive ethnopharmacological review of a medicinal plant with a long history. 2018



ภาพประกอบ 5 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ cannabidiolic acid (CBDA) และการเปลี่ยนเป็น cannabidiol (CBD) โดยการ decarboxylation

ที่มา : ดัดแปลงจาก Martinenghi LD, et al. Isolation, Purification, and Antimicrobial Characterization of Cannabidiolic Acid and Cannabidiol from Cannabis sativa L. 2020

จากการศึกษาพบว่ากัญชามีกลไกการออกฤทธิ์ โดยประกอบด้วยการทำงานของระบบเอนโดแคนนาบินอยด์ (endocannabinoid systems) ที่อยู่ส่วนของระบบประสาทควบคุมของมนุษย์ ประกอบด้วย ตัวรับแคนนาบินอยด์ (cannabinoid receptors) สำหรับแคนนาบินอยด์ในร่างกายมนุษย์ (endocannabinoids) ที่มีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง ได้แก่ anandamide และ 2-arachidonoylglycerol และยังมีส่วนของเอนไซม์ที่ใช้ในการสร้างและขจัดแคนนาบินอยด์ ทำให้สมดุลของร่างกายให้เป็นปกติ ทั้งในการทำงานของระบบประสาท และการทำงานทางกายภาพ เช่น การตอบสนองของร่างกายต่อความอยากอาหาร,ความเจ็บปวด, การนอนหลับ, ขบวนการอักเสบ รวมถึงอาการชัก เป็นต้น ในส่วนของตัวรับที่สำคัญ ได้แก่ cannabinoid receptor 1 และ 2 (CB1 และ CB2) โดยในส่วนของ CB1 พบได้มากในสมองซึ่งเป็นระบบประสาทส่วนกลาง ในขณะที่ CB2 จะกระจายอยู่ตามระบบภูมิคุ้มกัน และระบบหลอดเลือดทั่วร่างกาย โดยเฉพาะบริเวณที่ได้รับการบาดเจ็บหรือเกิดการอักเสบ ส่วนในสมองนั้นพบได้บ้างแต่จะน้อยกว่า CB1

สารออกฤทธิ์สำคัญจากกัญชาส่วนใหญ่จะจับกับตัวรับทั้งสองชนิดและส่งผลต่อระบบต่างๆ ของร่างกาย โดยขึ้นอยู่กับชนิด ปริมาณ รูปแบบการบริหารของสารออกฤทธิ์ของแคนนาบินอยด์ และสภาพของร่างกายของผู้ที่ได้รับ โดยสาร THC พบว่าสามารถจับได้ดีกับตัวรับ CB1 ทำให้มีความสามารถออกฤทธิ์ต่อระบบจิตประสาทได้ดีกว่า CBD ที่จะไม่ได้เข้าจับโดยตรงกับ CB1 แต่จะไปขัดขวางการจับตัวของ THC ทำให้ endocannabinoids ทำงานได้ปกติตามเดิม และพบว่าCBD นั้นจะสามารถจับได้โดยตรงกับ CB2 ทำให้มีผลต่อการลดการอักเสบได้ดีกว่า THC[74]

ฤทธิ์ระงับปวด (analgesic effect)

มีรายงานที่เป็นการวิเคราะห์แบบอภิมาน (meta-analysis) ในปี 2015 เกี่ยวกับการใช้สารออกฤทธิ์ในกัญชาเพื่อช่วยในการช่วยลดอาการปวดในผู้ป่วยที่มีอาการปวดเรื้อรัง เช่น อาการปวดประสาท (neuropathic pain), อาการปวดจากมะเร็ง, อาการปวดกล้ามเนื้อ, และอาการปวดจากการอักเสบของรูมาตอยด์ เป็นต้น จำนวน 2,454 คน โดยได้รับยาหลากหลายรูปแบบ เช่น ไอระเหย THC, ไอระเหยของกัญชา, ยาในรูปแบบเม็ด ได้แก่ Nabilone และ Dronabinol, รวมถึงเสปรย์ที่พ่นในช่องปาก (Oromucosal spray เป็นต้น พบว่าส่วนใหญ่นั้นยังไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม[75] ยกเว้นในผู้ป่วยที่มีอาการปวดจากโรคปลอกประสาทเสื่อม โดยการได้รับยา Dronabinol หรือผู้ป่วยปวดประสาทที่ได้ THC/CBD ที่พบว่ามีอาการปวดลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม[76-78]

ฤทธิ์ต่อการลดอาการคลื่นไส้อาเจียน (anti-emetic effect)

มีรายงานพบว่ามีการใช้ THC และอนุพันธ์ของ THC 3 ชนิด ได้แก่ Dronabinol, Nabilone, Levonantradol, และ Nabiximols ในการลดอาการข้างเคียงของการทำเคมีบำบัดในผู้ป่วยจำนวน 1,772 คน พบว่าสามารถลดอาการคลื่นไส้อาเจียนได้ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม[75]

ฤทธิ์ต่อความอยากอาหาร (appetite stimulation)

มีการศึกษาการเพิ่มความอยากอาหารในผู้ป่วยโรคเอดส์โดยการให้ยา Dronaniol พบว่าในผู้ที่ได้รับยานั้นมีความอยากอาหารเพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับยา[75] อีกทั้งยังมีการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า THC สามารถลดการสูญเสียน้ำหนักของหนูบนล้อเลื่อนได้ อีกทั้งหนูที่ได้รับ THC นั้นพบว่ามีการเพิ่มระดับของฮอร์โมน leptin และมีระดับฮอร์โมน corticosterone ในกระแสเลือดที่ลดลง[79]

ฤทธิ์ต่อโรคลมชัก (epilepsy)

มีการศึกษาในผู้ป่วยโรคชักแบ่งเป็น เด็กจำนวน 72 คน และผู้ใหญ่ 60 คน ด้วยการให้ CBD (Epidiolex®) ขนาด 5-50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน เป็นเวลา 48 สัปดาห์ พบว่าภายใน

ระยะเวลา 12 สัปดาห์ ผู้ป่วยที่ได้รับ CBD มีความรุนแรง และความถี่ของการชักที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และขนาดของ CBD ที่ให้นั้นไม่มีความเป็นพิษต่อผู้ป่วย[80]

ฤทธิ์ต่อการลดความวิตกกังวล

มีรายงานถึงการใช้ CBD ในการคลายอาการวิตกกังวลของผู้ที่ได้รับ THC มากเกินไปจากการใช้กัญชาเกินขนาด พบว่าสามารถลดภาวะกังวลลงได้ และมีการศึกษาในผู้ป่วยที่มีภาวะกังวลทั่วไป (generalized social anxiety disorder) โดยการให้ CBD ขนาด 400-600 มิลลิกรัม พบว่ายาขนาดดังกลาวมีความปลอดภัย และสามารถช่วยลดอาการกังวลลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) อีกทั้งยังมีการศึกษาให้ยาNabilone ขนาด 1 มิลลิกรัม ให้กินวันละ 2 ครั้ง เป็นระยะเวลา 28 วัน พบว่าสามารถคลายกังวลได้อย่างมีนัยสำคัญ[81]

ฤทธิ์ต้านจุลชีพ (Antimicrobial activity)

นอกจากการออกฤทธิ์ทางระบบดังที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว ยังมีรายงานว่าแคนนาบินอยด์ยังมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียได้อีกด้วย โดยพบว่าจะต้านเชื้อกลุ่มแกรมบวก ได้ดีกว่าแกรมลบ[11-13] โดยมีการค้นพบว่าแคนนาบินอยด์สามารถรบกวนการส่งสัญญาณ AI-2 quorum sensing signal cascade ในแบคทีเรีย *Vibrio harveyi*[14] ซึ่งพบว่าแบคทีเรียก่อโรคปริทันต์นั้นก็มีระบบการส่งสัญญาณ AI-2 quorum sensing เพื่อใช้ในการสื่อสารและควบคุมการทำงานต่างๆ ของแบคทีเรียเช่นเดียวกัน ไม่ว่าจะเป็นการสร้างแผ่นคราบจุลินทรีย์ (biofilm formation), การตอบสนองต่อความเครียด (stress response) และการควบคุมยีนที่เกี่ยวข้องกับปัจจัยก่อโรค (virulence factor gene)[15] มีรายงานว่า CBD สามารถทำการยับยั้งการสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ ในแบคทีเรียแกรมลบได้อย่างดี และยังมีความสามารถในการเพิ่มประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของยาปฏิชีวนะ ทั้งในแกรมบวกและแกรมลบได้อีกด้วย[13] ในการศึกษาของ Wasim และคณะ พบว่าสารสกัดจากกัญชานั้นมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้อย่างดีทั้งกลุ่มแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus subtilis, Bacillus pumilus, S. aureus, and Micrococcus flavus* และแกรมลบ ได้แก่ *Proteus vulgaris and Bordetella bronchiseptica*[11] ด้วยความสามารถเหล่านี้แคนนาบินอยด์จึงน่าจะเป็นสารที่มีศักยภาพมาปรับใช้ในการยับยั้งแบคทีเรียในคราบจุลินทรีย์ได้

กัญชากับทันตกรรม

นอกเหนือจากฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับการฆ่าเชื้อแบคทีเรียดังที่ได้กล่าวข้างต้นแล้ว ยังมีการศึกษาของ Beneng และคณะ ที่ศึกษาในเส้นใยประสาท (nerve fiber) ของฟันพบว่ามีตัวรับ CB1 ประกอบอยู่เป็นจำนวนมาก ทำให้แคนนาบินอยด์มีศักยภาพมาปรับใช้ในการระงับอาการปวดฟันได้[82] ในปี 2021 Xia Qi และคณะ ได้ทำการประเมินผลของแคนนาบินอยด์ต่อกระบวนการสร้างฟัน (odontogenesis) และกระบวนการสร้างกระดูก (osteogenesis) ในเซลล์โพรงประสาท

ฟันมนุษย์ (Human Dental Pulp Cells :HDPCs) ในห้องปฏิบัติการพบว่า THC ที่ความเข้มข้น <5 μmol/L มีความเข้ากันได้ (biocompatible) กับ HDPCs อีกทั้งยังส่งเสริมให้เกิดการแบ่งตัวอีกด้วย ซึ่งนั้นหมายถึง THC มีศักยภาพที่ดีที่จะสามารถพัฒนาเป็นวัสดุปิดทับเนื้อเยื่อโดยตรง (direct pulp capping) ได้[83]

มีการนำ CBD มาผสมในผงขัดฟันเพื่อใช้ทดสอบความสามารถในการช่วยขจัดคราบจุลินทรีย์ของ Vasudevan และ Stahl ในปี 2020 โดยผสม CBD 1% โดยน้ำหนัก กับผงขัดฟันปกติ แล้วนำไปขัดฟันในอาสาสมัครจำนวน 12 คน เทียบกับการขัดโดยใช้ผงขัดปกติ โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 6 คน กลุ่มแรกใช้ผงขัดฟันที่มีส่วนผสมของ CBD ส่วนกลุ่มที่ 2 ใช้ผงขัดฟันปกติ ทำการเก็บตัวอย่างคราบจุลินทรีย์ก่อน และหลังการทดลอง พบว่าผงขัดฟันที่มีส่วนผสมของ CBD สามารถช่วยลดคราบจุลินทรีย์และฆ่าเชื้อแบคทีเรียในแผ่นคราบจุลทรีย์ได้อย่างมีนัยสำคัญ[84] ในปี 2020 ได้มีการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการลดเชื้อแบคทีเรียของยาสีฟันที่มีส่วนผสมของแคนนาบินอยด์เทียบกับยาสีฟันที่ไม่มีส่วนผสมของแคนนาบินอยด์ของ Manikrao และคณะ โดยให้ผู้ทำการทดลองใช้ยาสีฟันเป็นเวลาสามเดือนติดต่อกัน แล้วมาทำการเก็บคราบจุลินทรีย์ไปเพาะเชื้อและตรวจนับปริมาณเชื้อ พบว่าในผู้ที่ใช้ยาสีฟันที่มีส่วนผสมของแคนนาบินอยด์มีปริมาณเชื้อน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญมีเทียบกับกลุ่มที่ใช้ยาสีฟันที่ใช้ยาสีฟันปกติ[85]

ในปี 2020 Vasudevan และ Stahl ได้ทำการทดลองนำน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากกัญชา 2 สูตร ได้แก่ CBD และ CBG (Cannabigerol) ในปริมาณน้อยกว่า 1% ต่อน้ำหนัก มาทำการทดสอบในห้องปฏิบัติการเพื่อทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เก็บมาจากคราบจุลินทรีย์ของประชากรจำนวน 72 คน อายุ 18-83 ปี โดยมี 0.2% คลอเฮกซิดีน เป็นตัวควบคุมบวก พบว่าทั้งน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของ CBD และ CBG มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีไม่แตกต่างกับ 0.2% คลอเฮกซิดีนที่เป็นน้ำยาบ้วนปากมาตรฐานในปัจจุบัน[86]

เนื่องจากงานศัลยกรรมช่องปากเป็นงานที่ทำให้เกิดบาดแผล และเกิดกระตุ้นกระบวนการหายของแผลซึ่งมีสารสื่ออักเสบมาเกี่ยวข้อง ปริมาณสารสื่ออักเสบที่มากเกินไปจะทำให้เกิดการหายของแผลที่ช้าลง ปัจจุบันมีการศึกษาค้นคว้าวิจัยในการนำเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์มาช่วยลดภาวะการณ์อักเสบ เบื้องต้นมีผู้สนใจศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์โพรไบโอติก *L. paracasei* ที่มีต่อ TNF-α กับภาวะการอักเสบในช่องปากที่เกิดจากการทำศัลยกรรมในช่องปาก ซึ่งพบการหลั่งสารสื่ออักเสบตัวนี้ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปากที่

มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* สายพันธุ์ MSMC39-1 โดยจากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าสามารถลดระดับของสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ได้ ซึ่งจะนำมาผสมร่วมกับแคนนาบิไดออล (CBD) ที่ได้จากกัญชา ที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งเป็นสาเหตุของการเพิ่มการหลั่งสารสื่อการอักเสบได้ โดยเฉพาะในผู้ที่ได้รับการศัลยกรรมช่องปากที่อาจทำความสะอาดได้ไม่ดีเพียงพอ เพื่อให้นำไปประยุกต์ใช้ร่วมกับการทำศัลยกรรมในช่องปาก โดยหวังผลเชิงกายภาพ เช่น ลดการบวม และลดการอ้าปากได้น้อยลง เพื่อให้ผู้ที่มารับการรักษาทางศัลยกรรมช่องปากได้ผลการรักษาที่ดีต่อไป

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

วัสดุ และอุปกรณ์

1. Cannabidiol (CBD)
2. Glycerin (commercial grade)
3. Sodium saccharine (commercial grade)
4. Polysorbate 80 (commercial grade)
5. Sodium benzoate (Ajax Finechem Australia, New Zealand)
6. MRS broth (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, UK)
7. Lipopolysaccharide from *E.coli* (Sigma, USA)
8. Cell lines: THP-1 monocytic cells (ATCC, TIB 202)
9. Fetal bovine serum (Gibco-Invitrogen, USA)
10. Bovine serum album (BSA:Sigma, USA)
11. RPMI 1640 (Gibco-Invitrogen, USA)
12. Hemocytometer (Hausser Scientific, USA)
13. speed-vacuum drying (Speed vacuum : Rotational Vacuum Concentrator RVC 2-18, German)
14. ELISA plate: 96- well plate: High binding (Corning, USA)
15. Recombinant human TNF-α (R&D Systems, USA)
16. ELISA kit (R&D Systems, USA)
17. BioTek®Synergy™ HT (Multi-Detection Microplate Reader, USA)

วิธีการ

แบ่งวิธีการการทดลองออกเป็น 4 ส่วน ดังนี้

ส่วนที่ 1 การเตรียมน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก (probiotic supernatant) *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1

การเตรียมโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 ในอาหารเหลว (MRS broth ((Oxoid, Basingstoke, Hampshire, UK)) ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนใน ที่อุณหภูมิ 37ºC เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

การเตรียมน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกของ *L. paracasei* MSMC39-1

นำเชื้อโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 ที่ทำการเพาะเลี้ยงไว้ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน มาทำการเจือจางในอาหารเหลวให้ได้ปริมาณ 10^9 เซลล์/มิลลิลิตร แล้วทำการเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนใน ที่อุณหภูมิ 37ºC เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการแยกเอาส่วนของน้ำเลี้ยงเชื้อ (supernatant) โดยการปั่นเหวี่ยงที่ 4,000 x g เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปกรองด้วยกระดาษกรองปลอดเชื้อขนาดกรอง 0.22µm (Sigma, USA) และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20ºC จนกว่าจะมีการนำมาใช้ต่อไป

ส่วนที่ 2 การเตรียมสูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 **และส่วนผสมจากกัญชา**

วิธีการเตรียมน้ำยาบ้วนปากมีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 **และส่วนผสมจากกัญชา**

1. นำน้ำเลี้ยงโพรไอโอติกที่เก็บไว้ออกมาละลายน้ำแข็งในอุณหภูมิห้อง
2. ทำการปรับความเข้มข้นของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก โดยการเจือจางกับน้ำเกลือ 0.9% .ให้ได้ความเข้มข้น 10% ปริมาตร/ปริมาตร (v/v)
3. ชั่งหรือตวงกลีเซอรีนตามปริมาณของแต่ละสูตร ใส่ลงในภาชนะ ผสม CBD, พอลิซอเบท 80, โซเดียม เบนโซเอท และโซเดียม แซคคาริน ที่ชั่งไว้แล้ว
4. เติมน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกตามลงไปปริมาณตามแต่ละสูตร

การเตรียมสูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 และส่วนผสมจากกัญชา และน้ำยาบ้วนปากที่ไม่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก*L. paracasei* MSMC39-1 และส่วนผสมจากกัญชา

การเตรียมน้ำยาบ้วนปากสูตรที่1-8 ปริมาณ 10 ml โดยปรับเปลี่ยนปริมาณของแคนนาบิไดออล (Cannabidiol, CBD) และน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ดังที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 2

ตาราง 3 แสดงส่วนผสมของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่1-8 ที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก และแคนนาบิไดออล และน้ำยาบ้วนปากที่ไม่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก และส่วนผสมจากกัญชา

สูตร (หน่วย)	ปริมาณในตำรับยา								หน้าที่ของสาร
	1	2	3	4	5	6	7	8	
5%CBD (µl.)	500	1,000	2,000	500	1,000	2,000	-	-	สาระสำคัญ
กลีเซอรีน (µl.)	2,500	2,500	2,500	-	-	-	2,500	2,500	สารให้ความชุ่มชื่น
พอลิซอเบท 80 (µl)	100	100	100	-	-	-	100	100	สารช่วยละลาย
0.9%โซเดียมแซคคาริน (µl)	333	333	333	-	-	-	333	333	สารแต่งรส
น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก (µl)	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	-	สาระสำคัญ, ตัวทำละลาย
0.9%น้ำเกลือ (µl)	5,567	5,067	4,067	8,500	8,000	7,000	6,067	7,067	ตัวทำละลาย

โดย

สูตรที่ 1 คือ น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมแคนนาบิไดออล ร้อยละ 0.25, น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ร้อยละ 10 และส่วนประกอบอื่นๆของน้ำยาบ้วนปาก ; 0.25%CBD + 10%Pro + Mouthwash (MW)

สูตรที่ 2 คือ น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมแคนนาบิไดออล ร้อยละ 0.5, น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ร้อยละ 10 และส่วนประกอบอื่นๆของน้ำยาบ้วนปาก ; 0.5%CBD + 10%Pro + MW

สูตรที่ 3 คือ น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมแคนนาบิไดออล ร้อยละ 1, น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ร้อยละ 10 และส่วนประกอบอื่นๆของน้ำยาบ้วนปาก ; 1%CBD + 10%Pro + MW

สูตรที่ 4 คือ น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมแคนนาบิไดออล ร้อยละ 0.25 และน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ร้อยละ 10 ; 0.25%CBD + 10%Pro

สูตรที่ 5 คือ น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมแคนนาบิไดออล ร้อยละ 0.5 และน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ร้อยละ 10 ; 0.5%CBD + 10%Pro

สูตรที่ 6 คือ น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมแคนนาบิไดออล ร้อยละ 1 และน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ร้อยละ 10 ; 1%CBD + 10%Pro

สูตรที่ 7 คือ น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ร้อยละ 10 และส่วนประกอบอื่นๆของน้ำยาบ้วนปาก ; 10%Pro + MW

สูตรที่ 8 คือ น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วผสมเฉพาะส่วนประกอบอื่นๆของน้ำยาบ้วนปาก ; MW

ตัวควบคุมบวก คือ น้ำเลี้ยงโพรไบโอติกความเข้มข้นร้อยละ10 ; 10%Pro

ตัวควบคุมลบ คือ 0.9% น้ำเกลือ : NSS และอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว (RPMI 1640) : Media

หมายเหตุ เปอร์เซ็นต์ของสารสำคัญที่ระบุในแต่ละสูตร คือ ความเข้มข้นสุดท้ายที่ได้หลังการผสม

หลังจากที่ได้จัดเตรียมสูตรน้ำยาบ้วนปาก ที่มีส่วนผสมแตกต่างกัน ซึ่งจัดเป็นกลุ่มตัวอย่างที่จะศึกษากับ human monocytic cell line (ATCC, TIB202) ชนิด THP-1 โดยทำการแบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็นกลุ่ม 3 กลุ่มใหญ่ คือกลุ่มทดลอง, กลุ่มควบคุมลบ, และกลุ่มควบคุมบวก

•กลุ่มทดลอง

น้ำยาบ้วนปากมีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 และส่วนผสมจากกัญชา ทั้ง 8 สูตร

•กลุ่มควบคุมลบ

กลุ่มควบคุมลบ คือ น้ำเกลือ 0.9% และอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว (RPMI 1640)

•กลุ่มควบคุมบวก

กลุ่มควบคุมบวก คือ น้ำเกลือ 0.9% ที่ผสมน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 ปริมาณความเข้มข้น 10% v/v

ส่วนที่ 3 การเพาะเลี้ยง human monocytic cell line ชนิด THP-1 และการกระตุ้นให้เกิดหลั่ง TNF-α

การเพาะเลี้ยง human monocytic cell line (ATCC, TIB202) ชนิด THP-1

นำ human monocytic cell line (ATCC, TIB202) ชนิด THP-1 มาเลี้ยงในถาดเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม ก้นแบน (Corning, USA) โดยเลี้ยงด้วย RPMI 1640 (Gibco-Invitrogen, USA) และเสริมด้วย 10% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS; Gibco-Invitrogen, USA) และบ่มที่อุณหภูมิ 37ºC, 5%CO_2

สำหรับการนำมาใช้ในการทดลอง ทำการเจือจางให้ได้ 5 x 10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ทำการเพาะลงในถาดเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม โดยทำการนับเซลล์ด้วยฮีโมไซโตมิเตอร์ (Hemocytometer) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์หัวกลับ (inverted microscope (Nikon TMS No. 300679: Nikon, Japan))

การกระตุ้นให้เกิดหลั่ง TNF-α

นำ human monocytic cell line (ATCC, TIB202) ชนิด THP-1 ที่ได้เจือจางไว้ข้างต้นมาทำการกระตุ้นให้เกิดการหลั่ง TNF-α โดยการเติมลิโพพอลิแซ็กคาไรด์บริสุทธิ์ (LPS) ที่ได้จาก *Escherichia coli* ชนิด O127:B8 (Sigma,USA) ปริมาณ 10 µl (ความเข้มข้นสุดท้าย 100 ng/ml) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37ºC, 5%CO_2 เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 30นาที

ส่วนที่ 4 การทดสอบน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก และส่วนผสมจากกัญชา และการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α

การทดสอบน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก และส่วนผสมจากกัญชา

นำน้ำยาบ้วนปากแต่ละสูตรใส่ลงไปใน human monocytic cell line (ATCC, TIB202) ชนิด THP-1 ที่ได้ทำการกระตุ้นให้เกิดการหลั่ง TNF-α ไว้ สูตรละ 3 หลุม แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37˚C, 5%CO_2 เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 30 นาที จากนั้นทำการตรวจความมีชีวิตของเซลล์ โดยการนับเซลล์ด้วยฮีโมไซโตมิเตอร์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์หัวกลับ แล้วเก็บน้ำเลี้ยงเซลล์ไปตรวจระดับของ TNF-α โดยการนำน้ำเลี้ยงเซลล์ไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 x g เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4˚C จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80˚C ทันที เพื่อวิเคราะห์ความสามารถแล้วนำส่วนที่ได้ไปวัดความสามารถในการยับยั้งการหลั่ง TNF-α ด้วยวิธี ELISA ต่อไป

การวัดความสามารถในการยับยั้งการหลั่ง TNF-α

ทำการวัดระดับของ TNF-α ที่อยู่ในน้ำเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมได้ข้างต้น ด้วยเทคนิค ELISA โดยทำตามคู่มือของบริษัท (R&D Systems, USA) เริ่มจากการนำถาดหลุมจำนวน 96

หลุม (96-well microtiter plates (Corning,USA)) มาทำการเคลือบ (coated) ด้วย mouse anti-human TNF-α antibodies ปริมาณหลุมละ 100 µl โดยเจือจางใน phosphate-buffered saline (PBS) ที่ pH 7.4. เป็นเวลาข้ามคืน จากนั้นทำการล้าง antibodies ส่วนเกินออกด้วย PBS ที่ผสมกับ 0.05% Tween 20 (PBST) แล้วทำการเติม 1% (w/v) bovine serum album (BSA:Sigma, USA) ที่เจือจางใน PBS (reagent diluent) ปริมาณหลุมละ 300 µl ทิ้งเอาไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นล้างออกด้วย PBST 3 รอบ

ใช้ recombinant human TNF-α เป็นสารละลายมาตรฐาน (standard diluted) โดยทำการเจือให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ ด้วย PBS (reagent diluent) ดังนี้ 3.906, 7.812, 15.625, 31.5, 62.5, 125, 250, 500, และ 1,000 pg/ml

ทำการใส่สารละลายมาตรฐาน หรือสารตัวอย่างลงไปในหลุม ปริมาณหลุมละ 100 µl แล้วทิ้งเอาไว้ในตู้บ่มข้ามคืน จากนั้นนำออกมาล้างด้วย PBST เป็นจำนวน 3 รอบ และทำการเติม biotinylated goat anti-human TNF-α antibodies ปริมาณหลุมละ100 µl แล้วทิ้งเอาไว้อีก 2 ชั่วโมง ก่อนทำการล้างด้วย PBST อีก 3 รอบ จากนั้นเติม streptavidin-horseradish peroxidase ปริมาณหลุมละ 100 µl ทิ้งเอาไว้ 20 นาที ล้างออกด้วย PBST 3 รอบ แล้วเติม TMB (tetramethyl benzidine) ปริมาณหลุมละ 100 µl เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนสี ทิ้งเอาไว้อีก 20 นาที จากนั้นทำการหยุดปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีด้วยการเติม H_2SO_4 ปริมาณหลุมละ 50 µl แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง BioTek®Synergy™ HT (Multi-Detection Microplate Reader, USA) ที่ความยาวคลื่น 450 nm. นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน(standard curve) และคำนวณหาปริมาณสารตัวอย่างต่อไป โดยกระบวนการทั้งหมดทำภายใต้อุณหภูมิห้อง

โดยจะทำการทดลองทั้งหมด 2 รอบ

การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α

การคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α โดยคำนวณจากสูตร

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α = 100 × (1-(สารละลายตัวอย่าง ÷ ตัวควบคุมลบ))

เมื่อสารละลายตัวอย่าง : ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm จากน้ำเลี้ยงเซลล์ที่ใส่น้ำยาบ้วนปากแต่ละสูตร

และตัวควบคุมลบ : ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm จากน้ำเลี้ยงเซลล์ที่ได้จากกลุ่มตัวแปรควบคุมลบ

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

การคำนวณค่าของข้อมูลที่ได้มาทั้งหมดผ่านโปรแกรมคำนวณทางสถิติ GraphPad Prism เวอร์ชัน 9.3.1

1. หลังจากได้ข้อมูลทั้งหมดนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2. ทำการทดสอบข้อมูลด้วยสถิติ Mann-Whitney test

3. ทำการทดสอบนัยสำคัญการทดสอบโดยข้อมูลทั้งหมดที่ได้จากการวิจัยจะตั้งค่าระดับนัยสำคัญ (significant level) ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$)

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมหลัก คือ น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 ที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากกัญชาว่ามีผลในการเพิ่มหรือลดฤทธิ์ของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 ต่อระดับของสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการ โดยเน้นการพัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมสำคัญ คือ น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 โดยผสมร่วมกับสารสกัดจากกัญชาเพื่อฤทธิ์ในการลดสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ซึ่งจะทดสอบกับเซลล์ human monocytic cell line (ATCC, TIB202) ชนิด THP-1 ในห้องปฏิบัติการ โดยวัดระดับของสารสื่ออักเสบด้วย Sandwich ELISA

ในการศึกษานี้จะพบว่าสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ที่ได้จากการทดลอง มีระดับต่ำมากในระดับ picogram ในการคำนวณหาปริมาณสารสื่ออักเสบนี้จึงไม่สามารถเทียบเคียงกราฟมาตรฐานได้ ผู้วิจัยจึงแสดงผลของค่าสารสื่ออักเสบนี้ในรูปแบบของค่าการดูดกลืนแสงแทน

ผลของค่าการดูดกลืนแสงของสูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 และส่วนผสมของสารสกัดจากกัญชา ต่อระดับของสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α

ผลการทดลองน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 และส่วนผสมของสารสกัดจากกัญชาต่อระดับของสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α โดยการกระตุ้นให้เกิดการหลั่ง TNF-α ใน human monocytic cell line ชนิด THP-1 โดยการเติมลิโพพอลิแซ็กคาไรด์บริสุทธิ์ และน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ แล้วบ่มไว้เป็นเวลา 3 ชม. 30 นาที ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี ELISA พบว่าน้ำยาบ้วนปากทั้ง 8 สูตรมีระดับสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α น้อยกว่าเมื่อเทียบกับตัวแปรควบคุมลบ ได้แก่ น้ำเกลือ 0.9% และอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว ที่มีค่าการดูดกลืนแสง เท่ากับ 0.60180 และ 0.89070 ตามลำดับ แต่หากเมื่อนำมาเทียบกับตัวแปรควบคุมบวก คือ น้ำเลี้ยงโพรไบโอติกความเข้มข้นร้อยละ 10 ที่มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 0.43645 พบว่า 7 จาก 8 สูตร มีระดับสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ได้น้อยกว่า ยกเว้นสูตรน้ำยาบ้วนปากที่ 4 คือ น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมแคนนาบิไดออล ร้อยละ 0.25 และน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ร้อยละ 10 ที่ได้ค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าที่ 0.54255 และนับเป็นสูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีระดับสารสื่ออักเสบที่มากที่สุดในทั้ง 8 สูตร

โดยพบว่าน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 1 (น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมแคนนาบิไดออล ร้อยละ 0.25, น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ร้อยละ 10 และส่วนประกอบอื่นๆ ของน้ำยาบ้วนปาก), น้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 2 (น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมแคนนาบิไดออล ร้อยละ 0. 5, น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ร้อยละ 10 และส่วนประกอบอื่นๆ ของน้ำยาบ้วนปาก), น้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 3 (น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมแคนนาบิไดออล ร้อยละ 1, น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ร้อยละ 10 และส่วนประกอบอื่นๆ ของน้ำยาบ้วนปาก) ,น้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 7 (น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ร้อยละ 10 และส่วนประกอบอื่นๆของน้ำยาบ้วนปาก) และน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 8 (น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมเฉพาะส่วนประกอบอื่นๆของน้ำยาบ้วนปาก) มีระดับสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ได้ใกล้เคียงกัน โดยค่าการดูดกลืนแสงอยู่ที่ 0.08055, 0.07985, 0.08195, 0.07925 และ 0.08530 ตามลำดับ

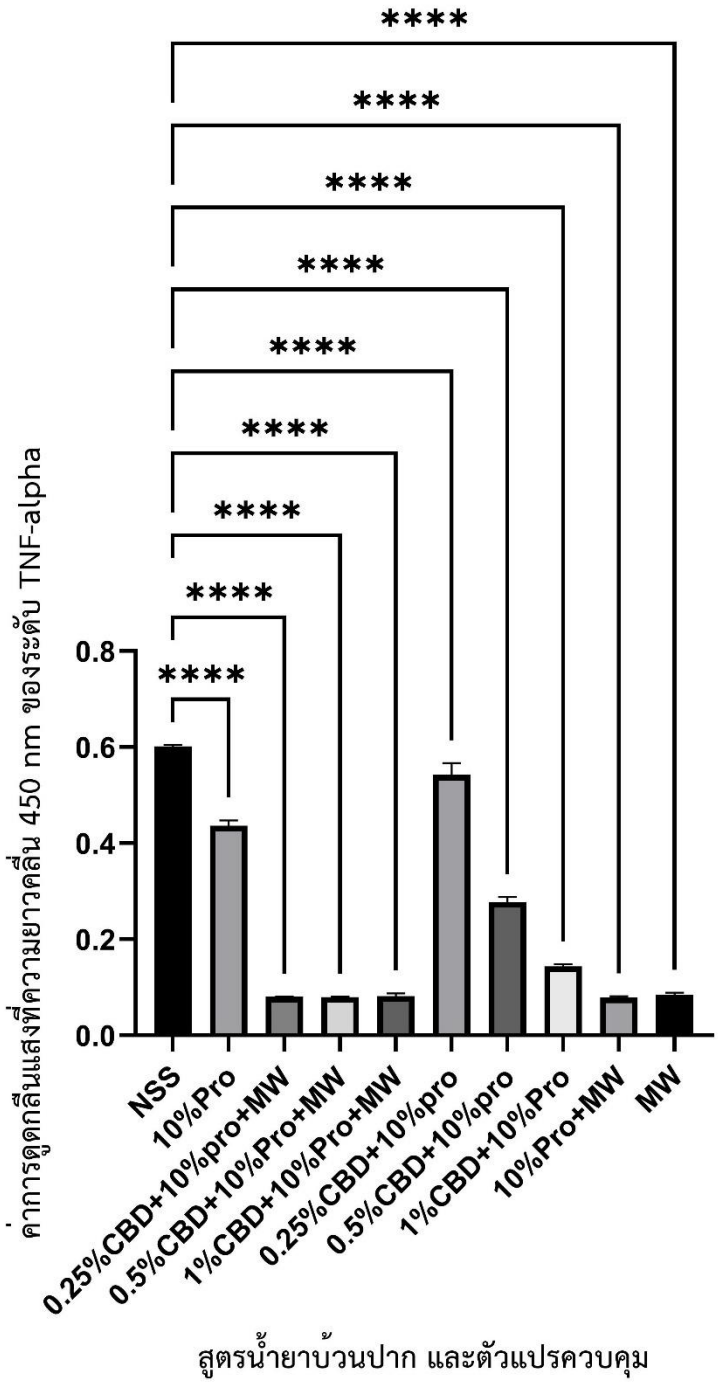
ส่วนน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 5 (น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมแคนนาบิไดออล ร้อยละ 0.5 และน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ร้อยละ 10) และน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 6 (น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมแคนนาบิไดออล ร้อยละ 1 และน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ร้อยละ 10) มีระดับสารสื่ออักเสบสูงกว่า สูตรที่ 1, 2, 3, 7 และ 8 คือมีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ที่ 0.27785 และ 0.14380 ตามลำดับ โดยพบว่าสูตรที่ 5 มีค่าการดูกลืนแสงสูงกว่าสูตรที่ 6

เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงของน้ำยาบ้วนปากแต่ละสูตรมาเทียบกับค่าที่ได้จากกลุ่มควบคุมบวก คือ น้ำเลี้ยงโพรไบโอติกปริมาณความเข้มข้น ร้อยละ10 พบว่าน้ำยาบ้วนปากทุกสูตรยกเว้นสูตรที่ 4 (น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมแคนนาบิไดออล ร้อยละ 0.25 และน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ร้อยละ 10) มีค่าการดูดกลืนแสงน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แต่น้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 4 กลับมีค่าการดูดกลืนแสงที่มากกว่าตัวควบคุมบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เช่นกัน (ตารางที่ 4 และภาพประกอบที่ 6, 7 และ 8)

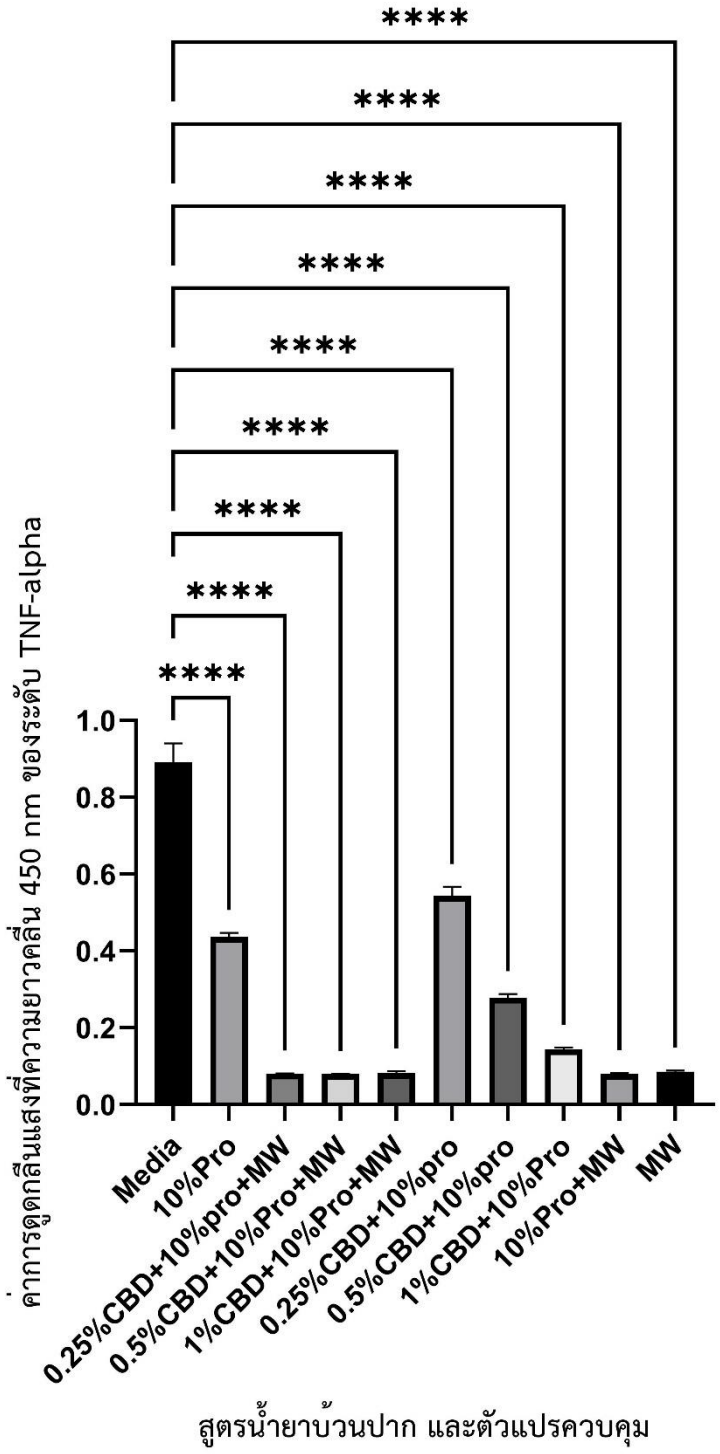
เมื่อนำเฉพาะสูตรที่ 4, 5 และ 6 เมื่อเทียบกับตัวแปรควบคุมบวกก็จะพบว่าทุกกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยสูตรที่ 4 มีระดับค่าการดูดกลืนแสงมากที่สุด และมากกว่ากลุ่มควบคุมบวกอีกด้วย ส่วนกลุ่มที่ 6 ก็มีค่าการดูกลืนแสงน้อยกว่ากลุ่มที่ 5 อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 4 และภาพประกอบที่ 9)

ตาราง 4 แสดงผลค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α ของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่1-8 และตัวแปรควบคุม ภายหลังการใส่สารเป็นเวลา 3 ชั่วโมง 30นาที

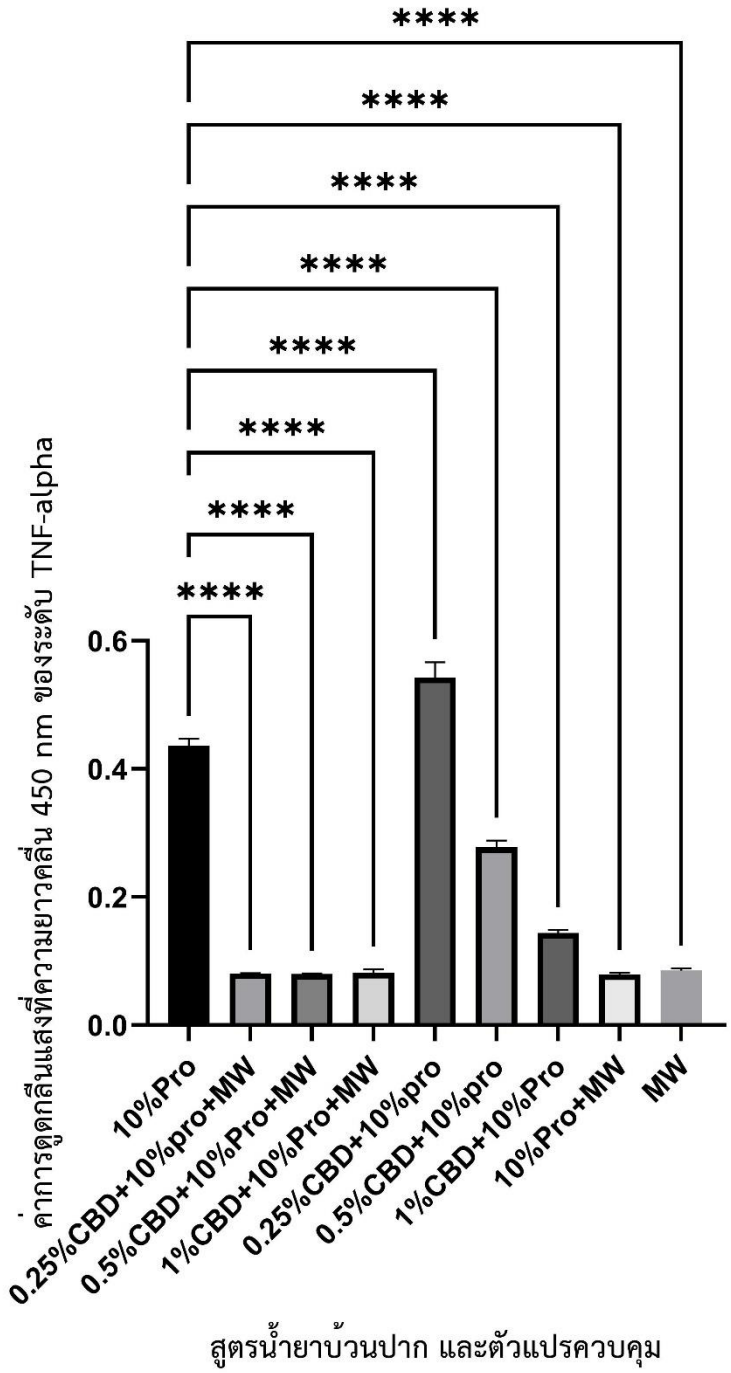
สูตร	ส่วนประกอบ	ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง(OD)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α เมื่อเทียบกับ NSS(%)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α เมื่อเทียบกับ Media(%)
1	0.25% CBD + 10%Pro + MW	0.08055	86.62	90.94
2	0.5% CBD + 10%Pro + MW	0.07985	86.73	91.02
3	1% CBD + 10%Pro + MW	0.08195	86.38	90.75
4	0.25% CBD + 10%Pro	0.54255	9.86	39.06
5	0.5% CBD + 10%Pro	0.27785	53.84	68.78
6	1% CBD + 10%Pro	0.14380	76.10	83.79
7	10%Pro + MW	0.07925	86.83	91.09
8	MW	0.08530	85.82	90.38
9	10%Pro (positive control)	0.43645	27.47	50.83
10	NSS	0.60180	ใช้เป็นตัวเทียบ	ใช้เป็นตัวเทียบ
11	Media	0.89070	ใช้เป็นตัวเทียบ	ใช้เป็นตัวเทียบ



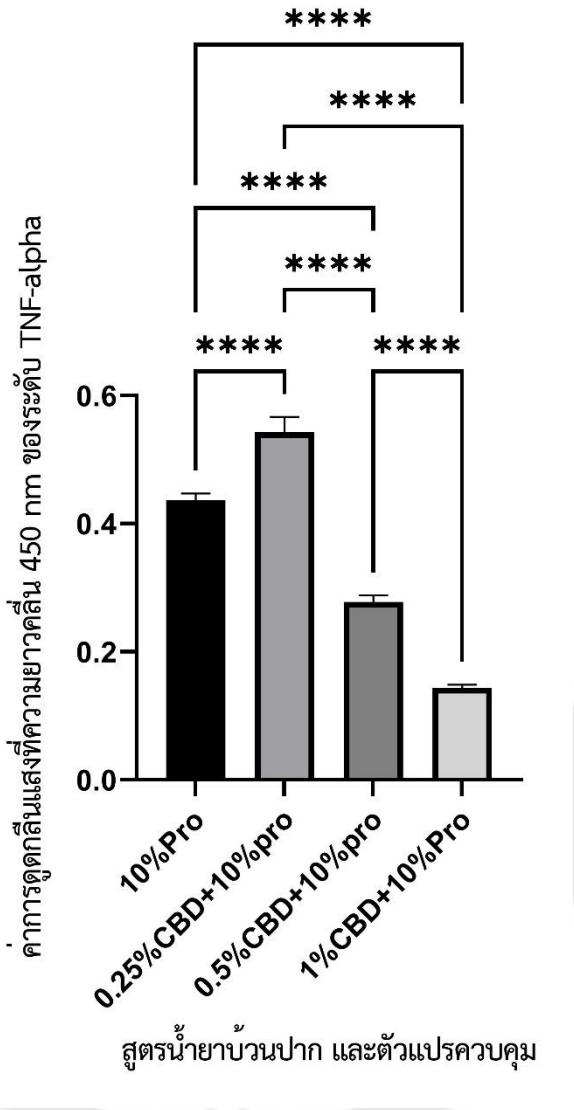
ภาพประกอบ 6 แผนภูมิแสดงผลค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm ของน้ำยาบ้วนปาก สูตรที่1-8 และตัวแปรควบคุมบวก เมื่อใช้น้ำเกลือ 0.9% เป็นตัวควบคุมลบ



ภาพประกอบ 7 แผนภูมิแสดงผลค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm ของน้ำยาบ้วนปาก สูตรที่1-8 และตัวแปรควบคุมบวก เมื่อใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว เป็นตัวควบคุมลบ



ภาพประกอบ 8 แผนภูมิแสดงผลค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm ของน้ำยาบ้วนปาก สูตรที่1-8 เมื่อใช้ตัวควบคุมบวกเป็นตัวเปรียบเทียบ



ภาพประกอบ 9 แผนภูมิแสดงผลค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm ของน้ำยาบ้วนปาก สูตรที่4-6 เมื่อใช้ตัวควบคุมบวกเป็นตัวเปรียบเทียบ

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่งสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ของสูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 และส่วนผสมของสารสกัดจากกัญชา ต่อระดับของสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α

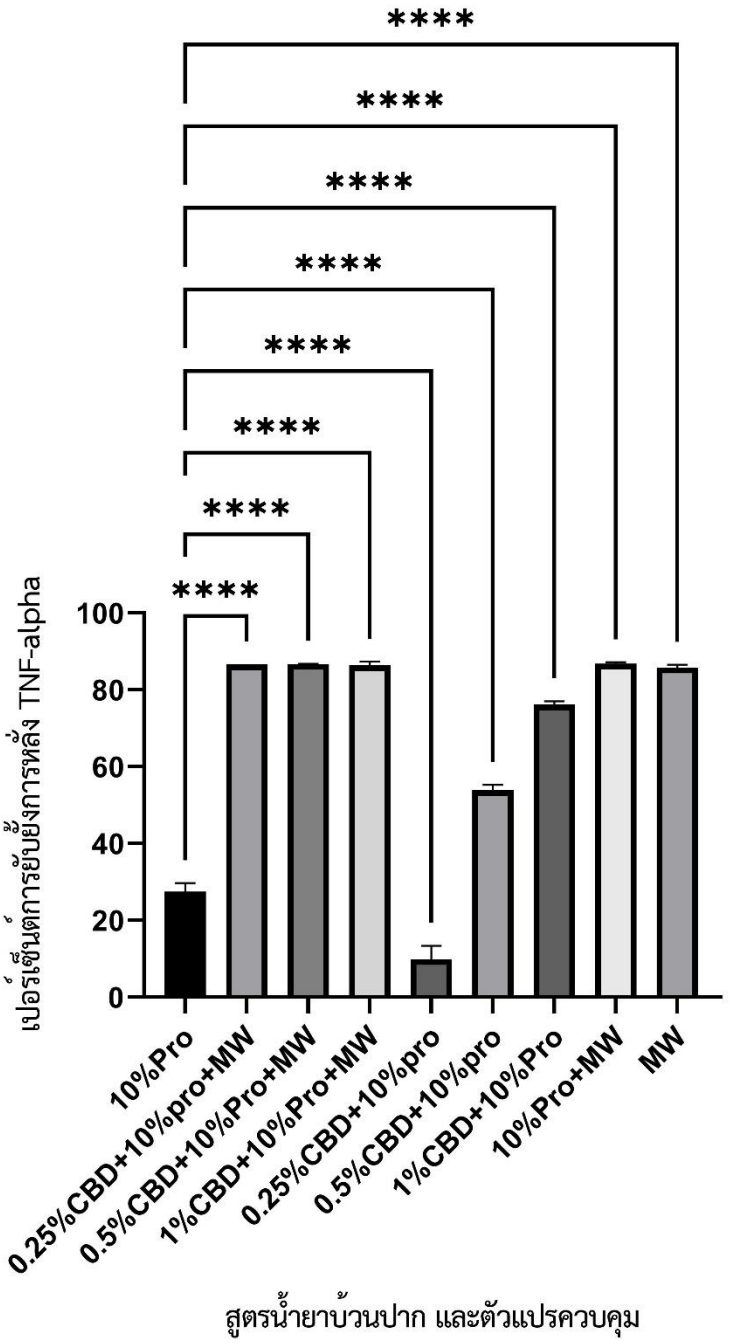
เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α น้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 1, 2, 3, 7 และ 8 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสารสื่ออักเสบได้ใกล้เคียงกันที่ 86.62%, 86.73%, 86.38%, 86.83% และ 85.82% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับตัวแปรควบคุมลบที่เป็นน้ำเกลือ 0.9% และเมื่อเทียบกับตัวแปรควบคุมลบที่เป็นอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว จะได้ 90.94%, 91.02%, 90.75%, 91.09%, และ 90.38% ตามลำดับ

ส่วนน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 4-6 ที่ไม่มีส่วนประกอบอื่นๆ ของน้ำยาบ้วนปาก พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α อยู่ที่ 9.86%, 53.84%, และ 76.10% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับตัวแปรควบคุมลบที่เป็นน้ำเกลือ 0.9% และ 39.06%, 68.78% และ 83.79% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับตัวแปรควบคุมลบที่เป็นอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว

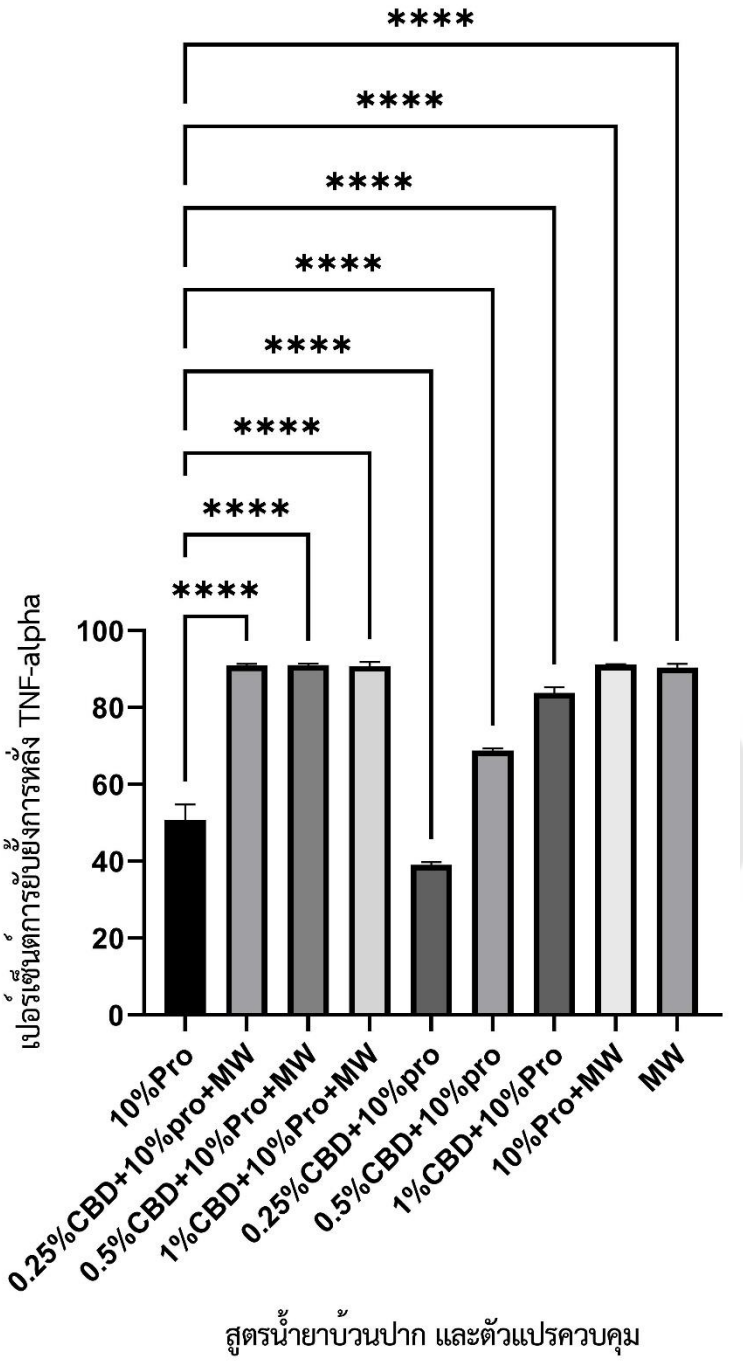
ส่วนของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกความเข้มข้นร้อยละ10 ซึ่งเป็นตัวควบคุมบวก จะพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่งสารสื่ออักเสบอยู่ที่ 27.47% เมื่อเทียบกับตัวแปรควบคุมลบที่เป็นน้ำเกลือ 0.9% และ 50.83% เมื่อเทียบกับตัวแปรควบคุมลบที่เป็นอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว

เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติก็ได้ผลวิเคราะห์ในทิศทางเดียวกับการวิเคราะห์ก่อนหน้านี้ กล่าวคือ เมื่อนำเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่งสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ของสูตรน้ำยาบ้วนปากแต่ละสูตรมาเทียบกับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่งสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ของตัวควบคุมบวก พบว่าน้ำยาบ้วนปากทุกสูตรยกเว้นสูตรที่ 4 (น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมแคนนาบิไดออลร้อยละ 0.25 และน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก ร้อยละ 10) มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่งสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ที่มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 4 และภาพประกอบที่ 10 และ 11)

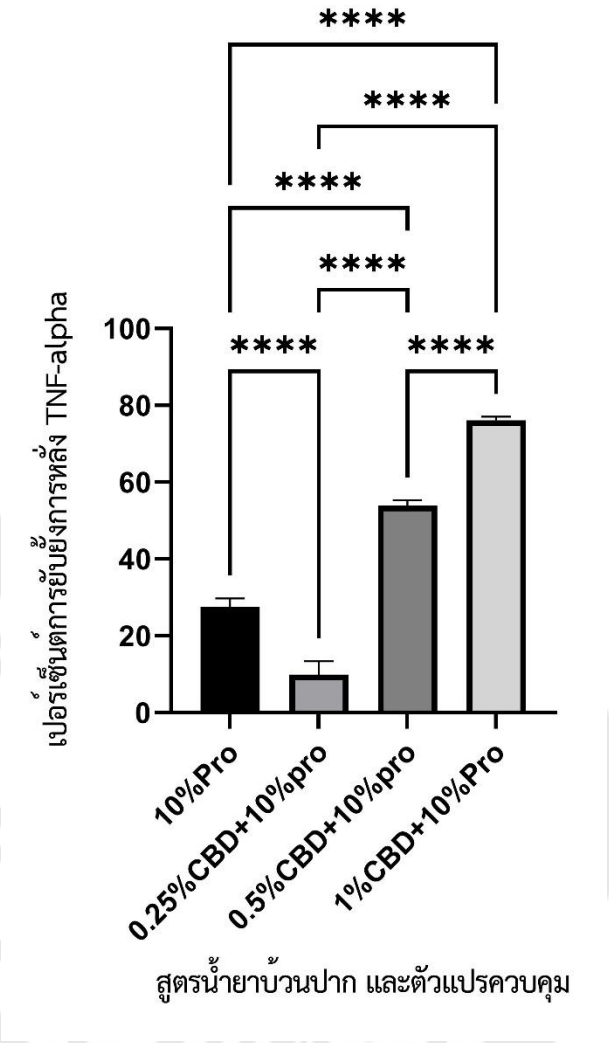
เมื่อนำเฉพาะสูตรที่ 4, 5 และ6 เมื่อเทียบกับตัวแปรควบคุมบวกก็จะพบว่าทุกกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยสูตรที่ 4 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่งสารสื่ออักเสบน้อยที่สุด และน้อยกว่ากลุ่มควบคุมบวกอีกด้วย ส่วนกลุ่มที่ 6 ก็มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่งสารสื่ออักเสบมากกว่ากลุ่มที่ 5 อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 4 และภาพประกอบที่ 12 และ13)



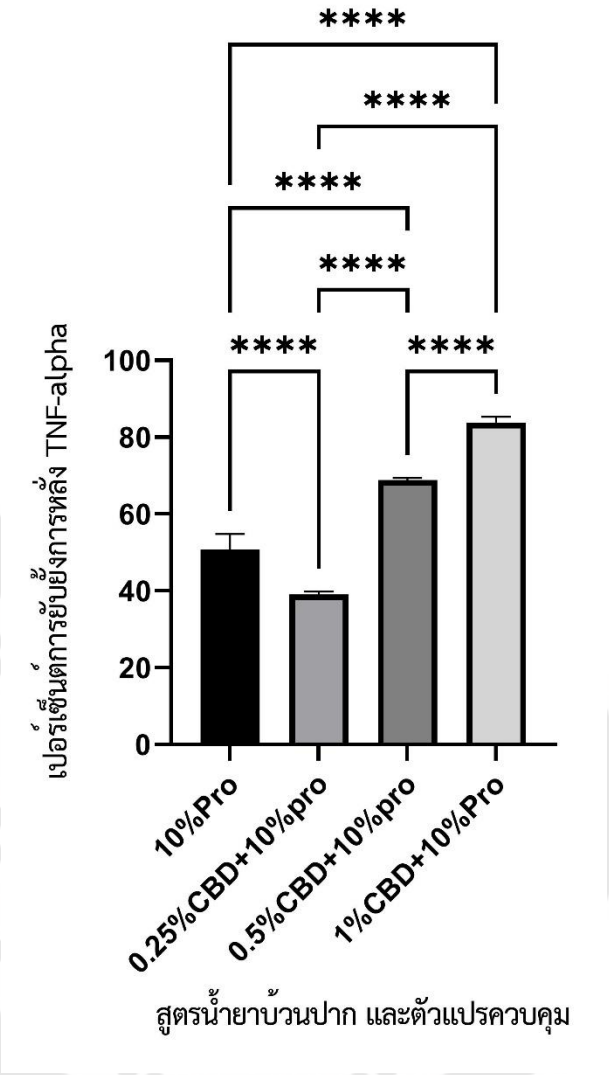
ภาพประกอบ 10 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α ของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 1-8 และตัวแปรควบคุมบวก เมื่อเทียบกับตัวแปรควบคุมลบที่เป็นน้ำเกลือ 0.9%



ภาพประกอบ 11 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α ของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 1-8 และตัวแปรควบคุมบวก เมื่อเทียบกับตัวแปรควบคุมลบที่เป็นอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว



ภาพประกอบ 12 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α ของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 4-6 และตัวแปรควบคุมบวก เมื่อเทียบกับตัวแปรควบคุมลบที่เป็นน้ำเกลือ 0.9%



ภาพประกอบ 13 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α ของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 4-6 และตัวแปรควบคุมบวก เมื่อเทียบกับตัวแปรควบคุมลบที่เป็นอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว

บทที่ 5
อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผลการวิจัย

งานศัลยกรรมช่องปาก เป็นงานผ่าตัดอวัยวะภายในช่องปาก เช่น การถอนฟัน การผ่าตัดฟันคุด การผ่าตัดฟันฝัง การแต่งปุ่มกระดูก การผ่าตัดเนื้อยึด การทำศัลยกรรมรากเทียม เป็นต้น มีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการหายของแผลอย่างมาก เนื่องจากหัตถการที่ทำนั้นเป็นการผ่าตัดที่ทำให้เกิดบาดแผล มีผลกระตุ้นร่างกายให้เกิดกระบวนการตอบสนองต่อการเกิดบาดแผล[1] แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอนมีความต่อเนื่องกัน นั่นคือ ระยะ hemostasis และ inflammatory, ระยะ proliferative และระยะ remodeling[4] โดยแต่ละระยะของกระบวนการหายของแผลนั้น จะมีความเกี่ยวข้องกับเซลล์เม็ดเลือดขาวต่าง ๆ และสารสื่ออักเสบ เซลล์ที่มีบทบาทมากในกระบวนการหายของแผลนั้น คือ Neutrophils และ Macrophage เซลล์ทั้งสองชนิดนี้จะมีบทบาทในการหลั่งสารสื่ออักเสบต่างๆ ออกมาเพื่อกระตุ้นให้เกิดกระบวนการหายของแผล[1] ในขณะเดียวกันสารที่หลั่งออกมาก็เป็นสารสื่ออักเสบซึ่งหากมีปริมาณไม่เหมาะสมหรือมากเกินไป จะทำให้การหายของแผลเกิดขึ้นได้ไม่ดี[5]

TNF-α เป็น proinflammatory cytokine ที่เรียกได้ว่าเป็นกุญแจสำคัญในกระบวนการอักเสบ[20] เป็นสารสื่ออักเสบที่เหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างสาร prostaglandins ที่จะส่งผลให้เกิดการปวด บวม แดง ร้อน ตามมา อีกทั้งในแผลที่การหายของแผลมีความบกพร่องจะพบว่ามีปริมาณของ TNF-α ทั้งเฉพาะที่และในระบบที่สูงขึ้น มีรายงานพบว่า TNF-α มีความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เกิดการหายของแผลที่ช้าในคนได้[5]

ปัจจุบันมีการศึกษาค้นคว้าวิจัยในการนำโพรไบโอติกมาช่วยลดภาวะการอักเสบ โดยพบว่าน้ำเลี้ยง (supernatant) โพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. paracasei* MSMC39-1 มีผลลดระดับ TNF-α ได้ทั้งในห้องปฏิบัติการและสัตว์ทดลอง[16] อีกทั้งยังสามารถลดระดับสารสื่ออักเสบในตับหนู[37, 87] และการอักเสบของสิวในคนไข้ที่มีสิวอักเสบได้อีกด้วย[38]

โดยปกติหลังภายหลังการทำศัลยกรรมช่องปาก หากมีการจ่ายน้ำยาบ้วนให้แก่คนไข้มักจะมีการจ่ายเป็นคลอเฮกซิดีน ซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้อย่างกว้างขวาง[48] แต่ก็ยังไม่มีความสามารถในการลดระดับสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ได้ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* สายพันธุ์ MSMC39-1 โดยจากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าสามารถลดระดับของสารสื่ออักเสบชนิด

TNF-α ได้ ซึ่งจะนำมาผสมร่วมกับแคนนาบิไดออล (CBD) ที่ได้จากกัญชา ที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย[11-13] ซึ่งเป็นสาเหตุของการเพิ่มการหลั่งสารสื่อการอักเสบได้[1] โดยเฉพาะในผู้ที่ได้รับการศัลยกรรมช่องปากที่อาจทำความสะอาดได้ไม่ดีเพียงพอ

ในการศึกษานี้จะพบว่าสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ที่ได้จากการทดลอง มีระดับต่ำมากในระดับ picogram ในการคำนวณหาปริมาณสารสื่ออักเสบนี้จึงไม่สามารถเทียบเคียงกราฟมาตรฐานได้ ผู้วิจัยจึงแสดงผลของค่าสารสื่ออักเสบนี้ในรูปแบบของค่าการดูดกลืนแสงแทน ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงจะแปลผันตรงต่อระดับสารสื่ออักเสบ กล่าวคือ ยิ่งค่าการดูดกลืนแสงมาก ปริมาณสารสื่ออักเสบก็มากเช่นกัน[88]

จากผลการทดลองน้ำยาบ้วนปากทั้ง 8 สูตร มาทดสอบความสามารถในการลดระดับสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α โดยใช้โมเดลในการกระตุ้น human monocytic cell line (ATCC, TIB 202) ชนิดTHP-1 ด้วยลิโพพอลิแซ็กคาไรด์บริสุทธิ์ (LPS) ให้เกิดการหลั่ง TNF-α และวัดความสามารถในการยับยั้งการหลั่ง TNF-α ของน้ำยาบ้วนปากแต่ละสูตรด้วยวิธี ELISA พบว่าน้ำยาบ้วนปากทั้ง 8 สูตร มีระดับสารสื่ออักเสบที่น้อยกว่าตัวควบคุมลบ และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่งสารสื่ออักเสบที่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่อาจกล่าวได้ว่าน้ำยาบ้วนปากทั้ง 8 สูตร มีความสามารถในการลดสารสื่ออักเสบได้ทั้งหมด เนื่องจากจะเห็นได้ว่าน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 1 (0.25% CBD + 10%Pro + MW), สูตรที่ 2 (0.5% CBD + 10%Pro + MW), สูตรที่ 3 (1% CBD + 10%Pro + MW) ,สูตรที่ 7 (10%Pro + MW) และสูตรที่ 8 (MW) ได้ค่าการดูดกลืนแสงที่น้อยมาก คือ 0.08055, 0.07985, 0.08195, 0.07925 และ 0.08530 ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่งสารสื่ออักเสบเมื่อเทียบกับน้ำเกลือ 0.9% อยู่ที่ 86.62%, 83.73%, 46.38%, 86.83%, และ85.82 ตามลำดับ และเมื่อเทียบกับอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว จะอยู่ที่ 90.94%, 91.02%, 90.75%, 91.09 % และ ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 8 ที่มีส่วนผสมเพียงเฉพาะส่วนประกอบของน้ำยาบ้วนปาก ได้แก่ กลีเซอรีน, พอลิซอเบท 80, และ 0.9% โซเดียมแซคคารีน ละลายในน้ำเกลือ 0.9% มีระดับของสารสื่ออักเสบที่ต่ำมาก ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากส่วนผสมเหล่านี้น่าจะมีผลเป็นพิษต่อ human monocytic cell line ที่ใช้ในการทดลอง

หากเทียบกับน้ำยาบ้วนปากชนิดอื่นที่มีการจ่ายหลังได้รับการศัลยกรรมช่องปาก ซึ่งมีส่วนผสมของน้ำยาบ้วนปากใกล้เคียงกัน ไม่ว่าจะเป็นคลอเฮกซิดีน หรือน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหย ก็มีการศึกษาของ I.Tsourounakis และคณะ ในปี 2013 พบว่าทั้ง 0.12% คลอเฮกซิดีน และน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยนั้นมี ผลทำให้เซลล์ไฟโบรบลาสต์จากเหงือก (gingival fibroblast) ตายเกือบหมด แม้จะทำการเจือจางน้ำยาบ้วนปาก

ทั้งสองเหลือเพียง 20% และใส่ในเซลล์เพียงแค่ 1 นาทีก็ตาม[89] และในการศึกษาของ S.Rajabalian และคณะ ในปี 2009 ก็พบว่าคลอเฮกซิดีนนั้นมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากเหงือก (gingival fibroblast cell line) เช่นกันแม้จะใช้ความเข้มข้นเพียง 0.001% เท่านั้น[90]

ยังมีอีกหลายการศึกษาพบว่าคลอเฮกซิดีนนั้นมีผลเป็นพิษต่อเซลล์ แม้จะใช้ในความเข้มข้นที่ต่ำ โดยส่งผลเป็นพิษต่อเซลล์ที่นำมาเลี้ยง (culture) ได้แก่ เซลล์เนื้อเยื่อบุผิว (epithelial cells), เซลล์ไฟโบรบลาสต์จากเหงือก (gingival fibroblasts), นิวโทรฟิล (neutrophils), เซลล์แมคโครฟาจ (macrophages), และเซลล์เม็ดเลือดแดง (red blood cells) [91-93] แต่ถึงอย่างนั้นก็ตาม เมื่อดูผลการศึกษาทางคลินิกก็พบว่า คลอเฮกซิดีนนั้นไม่ได้มีผลต่อการหายของแผลที่เหงือกแตกต่างกับยาหลอก (placebo) อย่างมีนัยสำคัญ โดยวัดจากการเจริญของเยื่อบุผิว (epithelialization) ภายหลังการผ่าตัดที่ 6 สัปดาห์[94]

เมื่อดูที่ผลของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 5 (0.5% CBD + 10%Pro) และสูตรที่ 6 (1% CBD + 10%Pro) จะเห็นว่ามีความสามารถในการลดระดับ TNF-α ลงได้อย่างมีนัยสำคัญโดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ 53.84% และ 76.10% ตามลำดับเมื่อเทียบกับตัวแปรควบคุมลบที่เป็นน้ำเกลือ 0.9% และ 68.78% และ 83.79% ตามลำดับเมื่อเทียบกับตัวแปรควบคุมลบที่เป็นอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว เช่นเดียวกับการศึกษาก่อนหน้าของ Ludda B. และคณะ ในปี 2015 ที่ได้ทำการน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. paracasei* MSMC39-1 ที่ใช้ในการศึกษานี้ ไปทดสอบในห้องปฏิบัติการ (in vitro) พบว่าสามารถการยับยั้ง proinflammatory cytokine ชนิด TNF- α ได้อย่างมีนัยสำคัญ[16] ผ่านการกดเหนี่ยวนำของ LPS ที่จะไปจับตัวกับ toll-like receptor 4 (TLR- 4) ที่ทำให้เกิด I-**K**Bα phosphorelation โดยการเพิ่มการทำงานของตัวควบคุม (negative regulators) ของ NF-**K**B pathway ผ่านการจับตัวกับ TLR 2 และยังยับยั้งการ translocation ของ p50/p65 subunit ของ NF-**K**B จากไซโตซอล ไปยังนิวเคลียสใน NF-**K**B pathway ที่ควบคุมกระบวนการลอกรหัส (transcription) TNF-α[10, 95, 96] รวมถึงมีความสอดคล้องกับการศึกษาใน *in vivo* ของ Chittapon และคณะ ในปี 2020 พบว่าโพรไบโอติกสายพันธุ์นี้ช่วยลดการอักเสบในตับและ liver fibrosis ในสัตว์ทดลองได้[37] อีกทั้งยังพบว่าสายพันธุ์นี้ช่วยลดการอักเสบของสิวในคนไข้สิวอักเสบได้จากการศึกษาของ Sathikulpakdee S และคณะ ในปี 2022 เมื่อนำเอาน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. paracasei* MSMC39-1 มาทำเป็นโลชั่น แล้วให้ผู้ป่วยใช้เป็นเวลา 4 สัปดาห์

แคนนาบิไดออล (CBD) เป็นสารออกฤทธิ์สำคัญที่สกัดได้จากส่วนของไทรโครมของกัญชาเพศเมีย ซึ่งได้มีการศึกษานำมาใส่ในน้ำยาบ้วนปาก และผงขัดฟันในปริมาณน้อยกว่า 1% ของ Vasudevan และ Stahl มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในคราบจุลินทรีย์ที่เก็บจากอาสาสมัครได้ดี[84, 86] น้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 5 และ 6 ในการศึกษานี้จึงมีการใส่ CBD เพื่อหวังผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย[11-13] และในการศึกษานี้ก็แสดงให้ว่า CBD นั้นมีความสามารถในการลด TNF-α ได้เช่นกัน เช่นเดียวกับการศึกษาของ Rangel L.และคณะ ในปี 2019 ที่ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับความสามารถในการสดสารสื่ออักเสบกลุ่ม TNF ของ CBD อนาล็อกของ CBD (Dimethyl-Heptyl-Cannabidiol ; DMH-CBD) ในเซลล์แมคโครฟาจ ด้วยการใส่ CBD และ DMH-CBD เอาไว้ก่อน 30นาที ก่อนทำการกระตุ้นให้เกิดการอักเสบด้วย LPS พบว่า CBD มีความสามารถลดการส่งสัญญาณของ NF-ΚB pathway ได้ที่ความเข้มข้น 15 μM และจะเพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น แต่หากมีความเข้มข้นสูงขึ้นที่ 58 μM ก็มีผลทำให้เซลล์แมคโครฟาจตายได้[97]

ในการศึกษาที่ผ่านมาจะพบว่า ทั้งน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก และ CBD ต่างมีความสามารถในการลดสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ได้[16, 37, 38, 97] แต่จากผลของน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 4 (0.25% CBD + 10%Pro) ในการศึกษานี้กลับพบว่ามีความสามารถในการลด TNF-α น้อยกว่ากลุ่มควบคุมบวก และน้ำยาบ้วนปากสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งพบว่าแม้ว่าจะมีรายงานหลายๆ การศึกษาพบว่า CBD จะสามารถลดการอักเสบได้[98-100] แต่ก็มีรายที่ขัดแย้งกันของ Karmaus และคณะ ในปี 2012 ที่ได้ทำการศึกษาผลของ CBD ที่ให้หนูได้กิน ก่อนกระตุ้นการอักเสบที่ปอดด้วยการพ่น LPS เข้าไปในปอด แล้วทำการตรวจจำนวนเซลล์นิวโทรฟิล และโมโนไซต์จากปอด ด้วยการตรวจในน้ำสวนล้างจากทางเดินหายใจ (bronchoalveolar lavage fluid), การตรวจจากผลชิ้นเนื้อ และการสกัด RNA พบว่าหนูที่ให้กิน CBD มีจำนวนเซลล์นิวโทรฟิล และโมโนไซต์เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ควบคู่กันกับมี mRNA ของสารสื่ออักเสบที่มากกว่า ไม่ว่าจะเป็น TNF-α, IL-5, IL-23 และ granulocyte colony stimulating factor (Gcsf) โดยยังไม่ทราบกลไกที่แน่ชัด[101]

นอกจากนี้อีกประเด็นที่น่าสนใจในการศึกษานี้ เกี่ยวกับสูตรน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 4 ซึ่งมีความเข้มข้นของ CBD 0.25% ในน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% ที่พบว่ามีความสามารถในการยับยั้งการหลั่ง TNF-α ที่น้อยกว่าตัวควบคุมบวกที่เป็นน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกเพียงอย่างเดียว คาดว่าปัจจัยที่เกี่ยวข้องอาจมาจากความเข้มข้นของ CBD ที่จะมีผลดีในการยับยั้งการสร้าง TNF-α มีความหลากหลาย เพราะหลายงานวิจัยก่อนหน้านี้แสดงค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่จะช่วยลด TNF-α ของ CBD ต่างกันไป โดยจากการศึกษาครั้งนี้หากอ้างอิงจากผลการศึกษาที่ได้ พบว่าสัดส่วนของ

CBD ที่ผสมกับน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก และให้ผลการยับยั้งที่ดีกว่าน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกเพียงอย่างเดียว คือ มากกว่าหรือเท่ากับ 0.5% ขึ้นไป

น้ำยาบ้วนปากที่หวังผลให้ลดสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ในอุดมคตินั้น ควรมีผลลระดับสารสื่ออักเสบได้โดยไม่เป็นพิษต่อเซลล์ ในการศึกษานี้พบว่าน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 6 (1% CBD + 10%Pro) มีความสามารถในการยับยั้ง TNF-α ได้ดีที่สุดโดยไม่เป็นพิษต่อเซลล์ human monocytic cell line แสดงถึงศักยภาพที่จะนำไปพัฒนาและศึกษาต่อไปในอนาคต

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาการพัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 และส่วนผสมของสารสกัดจากกัญชาในครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่ามีความสามารถในการลดระดับสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ได้ดีขึ้น เมื่อเทียบกับน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 โดยทดลองใน human monocytic cell line ชนิด THP-1 และพบว่า CBD มีผลเพิ่มประสิทธิภาพในการลดระดับสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 ได้ดีขึ้น และมีศักยภาพในการนำไปประยุกต์ใช้ทางคลินิกได้ต่อไป โดยพบว่าน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 6 (1% CBD + 10%Pro) มีความสามารถในการลดระดับ TNF-α ได้ดีที่สุด และน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 4 (0.25% CBD + 10%Pro) มีความสามารถในการลดระดับ TNF-α ได้น้อยที่สุด

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาเพื่อพัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *L. paracasei* MSMC39-1 และส่วนผสมของสารสกัดจากกัญชา เนื่องจากสุดท้ายหวังให้มีการนำไปใช้กับผู้ป่วยภายหลังการได้รับการศัลยกรรมช่องปาก ทำให้ยังต้องมีการศึกษาต่อไปอีกทั้งความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากเหงือก, ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย รวมถึงการพัฒนารสชาติ และกลิ่นให้ดียิ่งขึ้น

บรรณานุกรม

1. Schwartz SI, Brunicardi FC, Andersen DK, Billiar TR. Schwartz's principles of surgery. New York : McGraw-Hill Education; 2015.
2. Darawade DA, Kumar S, Mehta R, Sharma AR, Reddy GS. In search of a better option: Dexamethasone versus methylprednisolone in third molar impaction surgery. J Int Oral Health. 2014;6(6):14-7. eng.
3. Susarla SM, Blaeser BF, Magalnick D. Third molar surgery and associated complications. Oral Maxillofac Surg Clin North Am. 2003;15(2):177-86. eng. Epub 2007/12/20.
4. Sinno H, Prakash S. Complements and the wound healing cascade: An updated review. Plastic Surgery International. 2013.
5. Ashcroft GS, Jeong MJ, Ashworth JJ, Hardman M, Jin W, Moutsopoulos N, et al. Tumor necrosis factor-alpha (tnf-α) is a therapeutic target for impaired cutaneous wound healing. Wound Repair and Regeneration. 2012;20(1):38-49.
6. Lassig AAD, Lindgren BR, Itabiyi R, Joseph AM, Gupta K. Excessive inflammation portends complications: Wound cytokines and head and neck surgery outcomes. Laryngoscope. 2019;129(7):E238-E46.
7. Mileti E, Matteoli G, Iliev ID, Rescigno M. Comparison of the immunomodulatory properties of three probiotic strains of lactobacilli using complex culture systems: Prediction for in vivo efficacy (immunomodulatory probiotics). PLoS ONE. 2009;4(9):e7056.
8. FAO/WHO. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. 2002.
9. Masae R, Kazuyoshi K, Emi K, Hiromasa T, Keiko I, Yoshimichi I, et al. Critical role of tumor necrosis factor-α in the early process of wound healing in skin. Journal of Dermatology and Dermatologic Surgery. 2017;21(1):14-9.
10. Sun K-Y, Xu D-H, Xie C, Plummer S, Tang J, Yang XF, 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 (Philadelphia, Pa). 2017;92:1-11.

11. Wasim K, Haq I, Ashraf M. Antimicrobial studies of the leaf of cannabis sativa l. Pak J Pharm Sci. 1995;8(1):29-38. eng. Epub 1995/01/01.
12. Appendino G, Gibbons S, Giana A, Pagani A, Grassi G, Stavri M, et al. Antibacterial cannabinoids from cannabis sativa: A structure-activity study. J Nat Prod. 2008;71(8):1427-30. eng. Epub 2008/08/07.
13. Kosgodage US, Matewele P, Awamaria B, Kraev I, Warde P, Mastroianni G, et al. Cannabidiol is a novel modulator of bacterial membrane vesicles. Front Cell Infect Microbiol. 2019;9:324. eng. Epub 2019/09/26.
14. Soni D, Smoum R, Breuer A, Mechoulam R, Steinberg D. Effect of the synthetic cannabinoid hu-210 on quorum sensing and on the production of quorum sensing-mediated virulence factors by vibrio harveyi. BMC Microbiol. 2015;15:159. eng. Epub 2015/08/13.
15. Basavaraju M, Sisnity VS, Palaparthy R, Addanki PK. Quorum quenching: Signal jamming in dental plaque biofilms. Journal of Dental Sciences. 2016;11(4):349-52.
16. Ladda B, Theparee T, Chimchang J, Tanasupawat S, Taweechotipatr M. In vitro modulation of tumor necrosis factor [alpha] production in thp-1 cells by lactic acid bacteria isolated from healthy human infants. Anaerobe. 2015;33:109.
17. Thepphabutra A, Subbalekha K. Satisfaction of oral surgical patients with cold compression using temperature-maintaining gel. Thai Red Cross Nursing Journal. 2017;Vol 9 No 2
18. เจนวิถีสุข ก, มหาวิทยาลัยขอนแก่น ภ. ตำราศัลยศาสตร์. 10 ed.: ขอนแก่น : โครงการตำราศัลยศาสตร์ ภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น; 2551.
19. Koh T, Dipietro L. Inflammation and wound healing: The role of the macrophage. Expert Reviews in Molecular Medicine. 2011;13:e23.
20. Chen X, Thibeault SL. Role of tumor necrosis factor–α in wound repair in human vocal fold fibroblasts. Laryngoscope. 2010;120(9):1819-25.
21. Gutiérrez-Corrales A, Campano-Cuevas E, Castillo-Dalí G, Torres-Lagares D, Gutiérrez-Pérez J-L. Ability of salivary biomarkers in the prognostic of systemic and

buccal inflammation. Journal of Clinical and Experimental Dentistry. 2017;9(5):e716-e22.

22. Parameswaran N, Patial S. Tumor necrosis factor-α signaling in macrophages. Crit Rev Eukaryot Gene Expr. 2010;20(2):87-103. eng. Epub 2010/12/08.
23. Hall BE, Zhang L, Sun ZJ, Utreras E, Prochazkova M, Cho A, 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):188-95.
24. Veleska-Stevkovska D. Cytokines (il-1, tnf-α, il-6) and oral surgery interventions. Balkan journal of stomatology. 2010; 14:124-32.
25. Fernando Pereira Beserra LFSG, Maria Fernanda Hussni and Cláudia Helena Pellizzon. Regulatory mechanisms and chemical signaling of mediators involved in the inflammatory phase of cutaneous wound healing. IntechOpen. 2018.
26. Mast BA, Schultz GS. Interactions of cytokines, growth factors, and proteases in acute and chronic wounds. Wound Repair Regen. 1996;4(4):411-20. eng. Epub 1996/10/01.
27. Morais MBd, Jacob CMA. The role of probiotics and prebiotics in pediatric practice. Jornal de pediatria. 2006;82(5 Suppl):S189.
28. E M. The prolongation of life. 1910:343.
29. Twetman S, Stecksén-Blicks C. Probiotics and oral health effects in children. Int J Paediatr Dent. 2008;18(1):3-10. eng. Epub 2007/12/19.
30. Minna KS, Hilpi R, Soile T, Tuija P, Maija S, Ville V, et al. Lactobacillus bacteremia, clinical significance, and patient outcome, with special focus on probiotic l. Rhamnosus gg. Clinical Infectious Diseases. 2004;38(1):62-9.
31. Sookkhee S, Chulasiri M, Prachyabrued W. Lactic acid bacteria from healthy oral cavity of thai volunteers: Inhibition of oral pathogens. J Appl Microbiol. 2001;90(2):172-9. eng. Epub 2001/02/13.
32. Boyle RJ, Robins-Browne RM, Tang MLK. Probiotic use in clinical practice: What are the risks?(author abstract). American Journal of Clinical Nutrition. 2006;83(6):1256.
33. Kõll-Klais P, Mändar R, Leibur E, Marcotte H, Hammarström L, Mikelsaar M. Oral

lactobacilli in chronic periodontitis and periodontal health: Species composition and antimicrobial activity. Oral Microbiol Immunol. 2005;20(6):354-61. eng. Epub 2005/10/22.

34. Teanpaisan R, Piwat S, Tianviwat S, Sophatha B, Kampoo T. Effect of long-term consumption of sd1 on reducing mutans streptococci and caries risk: A randomized placebo-controlled trial. Dentistry journal. 2015;3(2):43.
35. Bermudez-Brito M, Plaza-Díaz J, Muñoz-Quezada S, Gómez-Llorente C, Gil A. Probiotic mechanisms of action. Annals of Nutrition and Metabolism. 2012;61(2):160-74.
36. Haukioja A. Probiotics and oral health. European Journal of Dentistry, 2010, Vol04(03). 2010;04(03):348-55.
37. Chittapon Jantararussamee SR, Malai Taweechotipatr, Udomsri Showpittapornchai, Wisuit Pradidarcheep. Hepatoprotective effect of probiotic lactic acid bacteria on - induced liver fibrosis in rats. Probiotics and Antimicrobial Proteins. 2020.
38. Sathikulpakdee S, Kanokrungsee S, Vitheejongjaroen P, Kamanamool N, Udompataikul M, Taweechotipatr M. Efficacy of probiotic-derived lotion from lactobacillus paracasei msmc 39-1 in mild to moderate acne vulgaris, randomized controlled trial. J Cosmet Dermatol. 2022. eng. Epub 2022/04/07.
39. Barnett ML. The rationale for the daily use of an antimicrobial mouthrinse. The Journal of the American Dental Association. 2006;137:S16-S21.
40. Raungsawat P, Itthidecharon C, Wanachantararak P. Influence of melaleuca cajuputi powell and cymbopogon citratus essential oil formulated in alcohol free mouthwash against candida albicans culture. Chiang Mai Dental Journal. 2019;Vol. 40 No. 3
41. Ellepola AN, Samaranayake LP. Adjunctive use of chlorhexidine in oral candidoses: A review. Oral Dis. 2001;7(1):11-7. eng. Epub 2001/05/17.
42. Galbraith LK, Bailey D, Kelly L, Rehn K, Spear S, Steinle C, et al. Treatment for alteration in oral mucosa related to chemotherapy. Pediatr Nurs. 1991;17(3):233-6. eng. Epub 1991/05/01.
43. Werner CWD, Seymour R. Are alcohol containing mouthwashes safe? British Dental

Journal. 2009;207(10):E19-9.

44. Madan PD, Sequeira PS, Shenoy K, Shetty J. The effect of three mouthwashes on radiation-induced oral mucositis in patients with head and neck malignancies: A randomized control trial. J Cancer Res Ther. 2008;4(1):3-8. eng. Epub 2008/04/18.
45. Ogden GR. Alcohol and oral cancer. Alcohol (Fayetteville, NY). 2005;35(3):169-73.
46. Winn D, Diehl S, Brown L, Harty L, Bravo-Otero E, Fraumeni J, et al. Mouthwash in the etiology of oral cancer in puerto rico. Cancer Causes & Control. 2001;12(5):419-29.
47. Cole P, Rodu B, Mathisen A. Alcohol-containing mouthwash and oropharyngeal cancer: A review of the epidemiology. The Journal of the American Dental Association. 2003;134(8):1079-87.
48. Block SS. Disinfection sterilzation and perservation. 2001.
49. Roberts WR, Addy M. Comparison of the in vivo and in vitro antibacterial properties of antiseptic mouthrinses containing chlorhexidine, alexidine, cetyl pyridinium chloride and hexetidine. Relevance to mode of action. J Clin Periodontol. 1981;8(4):295-310. eng. Epub 1981/08/01.
50. Jones CG. Chlorhexidine: Is it still the gold standard? Periodontol 2000. 1997;15:55-62. eng. Epub 1998/06/27.
51. Eldridge KR, Finnie SF, Stephens JA, Mauad AM, Munoz CA, Kettering JD. Efficacy of an alcohol-free chlorhexidine mouthrinse as an antimicrobial agent. J Prosthet Dent. 1998;80(6):685-90. eng. Epub 1998/11/26.
52. Anderson MH. A review of the efficacy of chlorhexidine on dental caries and the caries infection. J Calif Dent Assoc. 2003;31(3):211-4. eng. Epub 2003/04/16.
53. Shapiro S, Meier A, Guggenheim B. The antimicrobial activity of essential oils and essential oil components towards oral bacteria. Oral Microbiol Immunol. 1994;9(4):202-8. eng. Epub 1994/08/01.
54. Takarada K, Kimizuka R, Takahashi N, Honma K, Okuda K, Kato T. A comparison of the antibacterial efficacies of essential oils against oral pathogens. Oral Microbiol Immunol. 2004;19(1):61-4. eng. Epub 2003/12/18.
55. Jenkins S, Addy M, Newcombe RG. A comparison of cetylpyridinium chloride, triclosan

and chlorhexidine mouthrinse formulations for effects on plaque regrowth. J Clin Periodontol. 1994;21(6):441-4. eng. Epub 1994/07/01.

56. Fine DH, Furgang D, Sinatra K, Charles C, McGuire A, Kumar LD. In vivo antimicrobial effectiveness of an essential oil-containing mouth rinse 12 h after a single use and 14 days' use. J Clin Periodontol. 2005;32(4):335-40. eng. Epub 2005/04/07.
57. Kozak KM, Gibb R, Dunavent J, White DJ. Efficacy of a high bioavailable cetylpyridinium chloride mouthrinse over a 24-hour period: A plaque imaging study. Am J Dent. 2005;18 Spec No:18a-23a. eng. Epub 2005/09/24.
58. Witt J, Ramji N, Gibb R, Dunavent J, Flood J, Barnes J. Antibacterial and antiplaque effects of a novel, alcohol-free oral rinse with cetylpyridinium chloride. J Contemp Dent Pract. 2005;6(1):1-9. eng. Epub 2005/02/19.
59. Radford JR, Beighton D, Nugent Z, Jackson RJ. Effect of use of 0.05% cetylpyridinium chloride mouthwash on normal oral flora. Journal of Dentistry. 1997;25(1):35-40.
60. Sreenivasan PK, Tambs G, Gittins E, Nabi N, Gaffar A. A rapid procedure to ascertain the antimicrobial efficacy of oral care formulations. Oral Microbiol Immunol. 2003;18(6):371-8. eng. Epub 2003/11/19.
61. Allen DR, Davies R, Bradshaw B, Ellwood R, Simone AJ, Robinson R, et al. Efficacy of a mouthrinse containing 0.05% cetylpyridinium chloride for the control of plaque and gingivitis: A 6-month clinical study in adults. Compend Contin Educ Dent. 1998;19(2 Suppl):20-6. eng. Epub 1999/06/18.
62. Mankodi S, Bauroth K, Witt JJ, Bsoul S, He T, Gibb R, et al. A 6-month clinical trial to study the effects of a cetylpyridinium chloride mouthrinse on gingivitis and plaque. Am J Dent. 2005;18 Spec No:9a-14a. eng. Epub 2005/09/24.
63. Hu CZ, Jin HL, Liang JP, Chu M, Guo JZ, Lu Z, et al. [analysis for clinical effect of a rinse containing cetylpyridinium chloride in treatment of gingivitis and periodontitis]. Shanghai Kou Qiang Yi Xue. 2003;12(6):414-8. chi. Epub 2004/02/18.
64. Jafer M, Patil S, Hosmani J, Bhandi SH, Chalisserry EP, Anil S. Chemical plaque control strategies in the prevention of biofilm-associated oral diseases. J Contemp Dent

Pract. 2016;17(4):337-43. eng. Epub 2016/06/25.

65. Small E, Cronquist A. A practical and natural taxonomy for cannabis. Taxon. 1976;25(4):405-35.

66. Hillig KW. Genetic evidence for speciation in cannabis (cannabaceae). Genetic Resources and Crop Evolution. 2005;52(2):161-80.

67. Anderson LC. Leaf variation among cannabis species from a controlled garden. Botanical Museum Leaflets, Harvard University. 1980;28(1):61-9.

68. ราชบัณฑิตยสถาน. หนังสืออนุกรมวิธานพืช อักษร ก. หจก อรุณการพิมพ์. 2547.

69. Hanuš LO, Meyer SM, Muñoz E, Taglialatela-Scafati O, Appendino G. Phytocannabinoids: A unified critical inventory. Nat Prod Rep. 2016;33(12):1357-92. eng. Epub 2016/10/11.

70. Hill AJ, Williams CM, Whalley BJ, Stephens GJ. Phytocannabinoids as novel therapeutic agents in cns disorders. Pharmacol Ther. 2012;133(1):79-97. eng. Epub 2011/09/20.

71. Brenneisen R. Chemistry and analysis of phytocannabinoids and other cannabis constituents. In: ElSohly MA, editor. Marijuana and the cannabinoids. Totowa, NJ: Humana Press; 2007. p. 17-49.

72. Moreau M, Ibeh U, Decosmo K, Bih N, Yasmin-Karim S, Toyang N, et al. Flavonoid derivative of cannabis demonstrates therapeutic potential in preclinical models of metastatic pancreatic cancer. Front Oncol. 2019;9:660-. eng.

73. Sirikantaramas S, Taura F. Cannabinoids: Biosynthesis and biotechnological applications. In: Chandra S, Lata H, ElSohly MA, editors. Cannabis sativa l - botany and biotechnology. Cham: Springer International Publishing; 2017. p. 183-206.

74. Lu HC, Mackie K. An introduction to the endogenous cannabinoid system. Biol Psychiatry. 2016;79(7):516-25. eng. Epub 2015/12/25.

75. Whiting PF, Wolff RF, Deshpande S, Di Nisio M, Duffy S, Hernandez AV, et al. Cannabinoids for medical use: A systematic review and meta-analysis. Jama. 2015;313(24):2456-73. eng. Epub 2015/06/24.

76. Rice J, Cameron M. Cannabinoids for treatment of ms symptoms: State of the

evidence. Curr Neurol Neurosci Rep. 2018;18(8):50. eng. Epub 2018/06/21.

77. Nurmikko TJ, Serpell MG, Hoggart B, Toomey PJ, Morlion BJ, Haines D. Sativex successfully treats neuropathic pain characterised by allodynia: A randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial. Pain. 2007;133(1-3):210-20. eng. Epub 2007/11/13.

78. Svendsen KB, Jensen TS, Bach FW. Does the cannabinoid dronabinol reduce central pain in multiple sclerosis? Randomised double blind placebo controlled crossover trial. Bmj. 2004;329(7460):253. eng. Epub 2004/07/20.

79. Scherma M, Satta V, Collu R, Boi MF, Usai P, Fratta W, et al. Cannabinoid cb(1) /cb(2) receptor agonists attenuate hyperactivity and body weight loss in a rat model of activity-based anorexia. Br J Pharmacol. 2017;174(16):2682-95. eng. Epub 2017/06/01.

80. Szaflarski JP, Bebin EM, Cutter G, DeWolfe J, Dure LS, Gaston TE, et al. Cannabidiol improves frequency and severity of seizures and reduces adverse events in an open-label add-on prospective study. Epilepsy Behav. 2018;87:131-6. eng. Epub 2018/08/14.

81. Lim K, See YM, Lee J. A systematic review of the effectiveness of medical cannabis for psychiatric, movement and neurodegenerative disorders. Clin Psychopharmacol Neurosci. 2017;15(4):301-12. eng. Epub 2017/10/28.

82. Beneng K, Renton T, Yilmaz Z, Yiangou Y, Anand P. Cannabinoid receptor cb1-immunoreactive nerve fibres in painful and non-painful human tooth pulp. Journal of Clinical Neuroscience. 2010;17(11):1476-9.

83. Qi X, Liu C, Li G, Al-Alfe D, Paurazas S, Askar M, et al. Evaluation of cannabinoids on the odonto/osteogenesis in human dental pulp cells in vitro. Journal of Endodontics. 2021;47(3):444-50.

84. Vasudevan K, Stahl V. Cbd-supplemented polishing powder enhances tooth polishing by inhibiting dental plaque bacteria. J Int Soc Prev Community Dent. 2020;10(6):766-70. eng. Epub 2021/01/14.

85. Manikrao DLN, Bhalchim DS, Tiwari DH, Pendyala DSK, Kondreddy DK, Chandra DJ,

et al. Efficacy in reducing bacterial content in oral cavity by cannabinoids in oral care products-a comparative study. European Journal of Molecular & Clinical Medicine. 2021;7(9):3028-34.

86. Vasudevan K, Stahl V. Cannabinoids infused mouthwash products are as effective as chlorhexidine on inhibition of total-culturable bacterial content in dental plaque samples. Journal of Cannabis Research. 2020;2(1):20.

87. Jantararussamee C, Rodniem S, Taweechotipatr M, Showpittapornchai U, Pradidarcheep W. Hepatoprotective effect of probiotic lactic acid bacteria on thioacetamide-induced liver fibrosis in rats. Probiotics Antimicrob Proteins. 2021;13(1):40-50. eng. Epub 2020/05/30.

88. Banjonjit S, Taweechotipatr M, Rungsiyanont S. Effect of probiotic lactobacillus paracasei on tumor necrosis factor-alpha level in gingival crevicular fluid of patients undergoing impacted third molar removal. J Oral Sci. 2022;64(3):185-9. eng. Epub 2022/04/12.

89. Tsourounakis I, Palaiologou-Gallis AA, Stoute D, Maney P, Lallier TE. Effect of essential oil and chlorhexidine mouthwashes on gingival fibroblast survival and migration. Journal of Periodontology. 2013;84(8):1211-20.

90. Rajabalian S, Mohammadi M, Mozaffari B. Cytotoxicity evaluation of persica mouthwash on cultured human and mouse cell lines in the presence and absence of fetal calf serum. Indian Journal of Dental Research. 2009;20(2):169-73.

91. Mariotti AJ, Rumpf DA. Chlorhexidine-induced changes to human gingival fibroblast collagen and non-collagen protein production. J Periodontol. 1999;70(12):1443-8. eng. Epub 2000/01/13.

92. Mariotti A, Cochran DL. Characterization of fibroblasts derived from human periodontal ligament and gingiva. J Periodontol. 1990;61(2):103-11. eng. Epub 1990/02/01.

93. Giannelli M, Chellini F, Margheri M, Tonelli P, Tani A. Effect of chlorhexidine digluconate on different cell types: A molecular and ultrastructural investigation. Toxicol In Vitro. 2008;22(2):308-17. eng. Epub 2007/11/06.

94. Sanz M, Newman MG, Anderson L, Matoska W, Otomo-Corgel J, Saltini C. Clinical

enhancement of post-periodontal surgical therapy by a 0.12% chlorhexidine gluconate mouthrinse. J Periodontol. 1989;60(10):570-6. eng. Epub 1989/10/01.

95. Hee Kim C, Geun Kim H, Yun Kim J, Ra Kim N, Jun Jung B, Hye Jeong J, et al. Probiotic genomic DNA reduces the production of pro-inflammatory cytokine tumor necrosis factor-alpha. FEMS Microbiology Letters. 2012;328(1):13-9.

96. Vincenzi A, Goettert MI, Volken de Souza CF. An evaluation of the effects of probiotics on tumoral necrosis factor (tnf-α) signaling and gene expression. Cytokine & Growth Factor Reviews. 2021;57:27-38.

97. Silva RL, Silveira GT, Wanderlei CW, Cecilio NT, Maganin AGM, Franchin M, et al. Dmh-cbd, a cannabidiol analog with reduced cytotoxicity, inhibits tnf production by targeting nf-kb activity dependent on a(2a) receptor. Toxicol Appl Pharmacol. 2019;368:63-71. eng. Epub 2019/02/24.

98. Carrier EJ, Auchampach JA, Hillard CJ. Inhibition of an equilibrative nucleoside transporter by cannabidiol: A mechanism of cannabinoid immunosuppression. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2006;103(20):7895-900.

99. El-Remessy AB, Tang Y, Zhu G, Matragoon S, Khalifa Y, Liu EK, et al. Neuroprotective effects of cannabidiol in endotoxin-induced uveitis: Critical role of p38 mapk activation. Mol Vis. 2008;14:2190-203. eng. Epub 2008/12/05.

100. Ribeiro A, Ferraz-de-Paula V, Pinheiro ML, Vitoretti LB, Mariano-Souza DP, Quinteiro-Filho WM, et al. Cannabidiol, a non-psychotropic plant-derived cannabinoid, decreases inflammation in a murine model of acute lung injury: Role for the adenosine a(2a) receptor. Eur J Pharmacol. 2012;678(1-3):78-85. eng. Epub 2012/01/24.

101. Karmaus PWF, Wagner JG, Harkema JR, Kaminski NE, Kaplan BLF. Cannabidiol (cbd) enhances lipopolysaccharide (lps)-induced pulmonary inflammation in c57bl/6 mice. Journal of Immunotoxicology. 2013;10(3):321-8.

ภาคผนวก

แผนการดำเนินงานวิจัย (ปีที่เริ่มต้น – สิ้นสุด)

ปี (งบประมาณ)	กิจกรรม	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6	เดือนที่ 7	เดือนที่ 8	เดือนที่ 9	เดือนที่ 10	เดือนที่ 11	เดือนที่ 12	ร้อยละของกิจกรรมในปีงบประมาณ
ปีที่1	เก็บรวบรวมเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	x	x	x	x	x	x	x	x	x				50
	จัดเตรียมเอกสารเพื่อขออนุญาตคณะกรรมการจริยธรรมเพื่อการวิจัยในมนุษย์							x	x	x	x			30
	จัดเตรียมน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติก											x	x	20
	รวม													100
ปีที่2	เก็บรวบรวมข้อมูลตามขั้นตอนวิจัย	x	x	x	x									60
	วิเคราะห์ข้อมูลที่เก็บจากการทดลอง				X	x	x							20
	ประมวลผลและสรุปผลการวิจัย							x	x	x	x			10
	นำเสนอต่อกรรมพิจารณาทุนวิจัย											x	x	10
	รวม													100
ปีที่3	ผลวิจัยนำเสนอในงานประชุมและ/หรือตีพิมพ์ผลงานวิจัย													100
	รวม													100

MF-04-version-2.0
วันที่ 18 ต.ค. 61

หนังสือยืนยันการยกเว้นการรับรอง
คณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(เอกสารนี้เพื่อแสดงว่าคณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ ได้พิจารณาโครงการวิจัยนี้)

ชื่อโครงการวิจัย : การพัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมโพรไบโอติกและคลอโรฟิลล์สพาราเคเซอี ในการลดระดับของ ฟูโซบาคทีเรียนิวคลีแฟคเตอร์อัลฟา

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย : รองศาสตราจารย์ ดร. ทันตแพทย์สรสัณห์ รังสิยานนท์

หน่วยงานต้นสังกัด : คณะทันตแพทยศาสตร์

รหัสโครงการวิจัย : SWUEC-467/2563X

โครงการวิจัยนี้เป็นโครงการวิจัยที่เข้าข่ายยกเว้น (Research with Exemption from SWUEC)

วันที่ยืนยัน : 10 พฤศจิกายน 2563

ยืนยันโดย : คณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

คณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ดำเนินการรับรองโครงการวิจัยตามแนวทางหลักจริยธรรมการวิจัยในคนที่เป็นสากล ได้แก่ Declaration of Helsinki, the Belmont Report, CIOMS Guidelines และ the International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice (ICH-GCP)

ออกให้ ณ วันที่ 18 มกราคม 2564

ลงชื่อ.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทันตแพทย์หญิงณปภา เอี่ยมจิรกุล)
กรรมการและเลขานุการคณะกรรมการจริยธรรม
สำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์

(ลงชื่อ).....
(แพทย์หญิงสุรีพร ภัทรสุวรรณ)
ประธานคณะกรรมการจริยธรรม
สำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์

หมายเลขรับรอง : SWUEC/X-467/2563

ประวัติผู้เขียน