การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากจากโพรไบโอติก ที่มีส่วนผสมของกัญชา และพรอพอลิส ในการลดสารสื่ออักเสบชนิดทูเมอร์เน็คโครซิสแฟคเตอร์อัลฟ่า

THE EFFECTIVENESS COMPARISON OF PROBIOTIC MOUTHWASH FORMULATION WITH CANNABIS EXTRACTS AND PROPOLIS ON THE REDUCTION OF TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA

ณัฐญาณ์ ซื่อตรงตระกูล

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2566

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากจากโพรไบโอติก ที่มีส่วนผสมของกัญชา และพรอพอลิส ในการลดสารสื่ออักเสบชนิดทูเมอร์เน็คโครซิสแฟคเตอร์อัลฟ่า

ณัฐญาณ์ ซื่อตรงตระกูล

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ปีการศึกษา 2566
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

THE EFFECTIVENESS COMPARISON OF PROBIOTIC MOUTHWASH FORMULATION WITH CANNABIS EXTRACTS AND PROPOLIS ON THE REDUCTION OF TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA

NATTAYA SUETRONGTRAKOOL

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

2023

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากจากโพรไบโอติก ที่มีส่วนผสมของกัญชา และพรอพอลิส ในการลดสารสื่ออักเสบชนิดทูเมอร์เน็คโครซิสแฟคเตอร์อัลฟ่า

ของ

ณัฐญาณ์ ซื่อตรงตระกูล

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการช่องปากและแม็กซิลโลเฟเชียล
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

..... ที่ปรึกษาหลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร.สรสัณห์ รังสิยานนท์)

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

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

..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร.สินีภัทร์ ตลึงจิตร)

ชื่อเรื่อง	การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากจากโพรไบโอติก ที่มีส่วนผสมของกัญชา และพรอพอลิส ในการลดสารสื่ออักเสบชนิดทูเมอร์เน็คโครซิสแฟคเตอร์อัลฟ่า
ผู้วิจัย	ณัฐญาณ์ ซื่อตรงตระกูล
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2566
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. สรสัณห์ รังสิยานนท์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. มาลัย ทวีโชติภัทร์

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบ ผลของน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติก ที่มีส่วนผสมของกัญชา และ พรอพอลิส ในการลดสารสื่ออักเสบชนิดทูเมอร์เน็คโครซิสแฟคเตอร์อัลฟ่า (TNF-α) โดยเตรียมน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติก สูตรผสมสารสกัดกัญชา (CBD) สูตรผสมพรอพอลิส และสูตรผสมทั้งกัญชาและพรอพอลิสทั้งหมด 4 สูตร นำมาการทดสอบในห้องปฏิบัติการ กับเซลล์โมโนไซด์ THP-1 ที่ถูกกระตุ้นด้วยลิโพพอลิแซ็กคาไรด์บริสุทธิ์ (LPS) ให้เกิดการหลั่ง TNF-α และตรวจวัดความสามารถในการยับยั้งการหลั่ง TNF-α ของตัวแปรต่างๆ ด้วยวิธี Sandwich ELISA และนำผลมาเปรียบเทียบกัน ผลวิจัยพบว่า น้ำยาบ้วนปากทั้ง 4 สูตร ได้แก่ น้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกผสมกับพรอพอลิสร้อยละ 1, น้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกผสมกับพรอพอลิสร้อยละ 5, น้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกผสมสารสกัดกัญชาร้อยละ 1 และพรอพอลิสร้อยละ 1, น้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกผสมสารสกัดกัญชาร้อยละ 1 และพรอพอลิสร้อยละ 5 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง TNF-α มากกว่าร้อยละ 90 และมีประสิทธิภาพในการลดการหลั่ง TNF-α มากกว่าน้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และพบว่าน้ำยาบ้วนปากสูตรที่มีประสิทธิภาพลดการหลั่ง TNF-α ได้ดีที่สุด คือ สูตรน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกผสมกับพรอพอลิสร้อยละ 5 ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง TNF-α เท่ากับ ร้อยละ 92.96

คำสำคัญ : น้ำยาบ้วนปาก, โพรไบโอติก, พรอพอลิส, กัญชา, ทูเมอร์เน็คโครติกแฟคเตอร์อัลฟ่า

Title	THE EFFECTIVENESS COMPARISON OF PROBIOTIC MOUTHWASH FORMULATION WITH CANNABIS EXTRACTS AND PROPOLIS ON THE REDUCTION OF TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA
Author	NATTAYA SUETRONGTRAKOOL
Degree	MASTER OF SCIENCE
Academic Year	2023
Thesis Advisor	Associate Professor Sorasun Rungsiyanonte , Ph.D.
Co Advisor	Associate Professor Malai Taweechotipatr , Ph.D.

The objective of this study is to compare the effectiveness of probiotic mouthwash formulation with cannabis extracts (CBD) and propolis on the reduction of tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) levels. The four different probiotic mouthwash formulations were prepared by adding the cannabis extract (CBD), propolis and both. The in vitro study was performed using THP-1 monocytic cells, producing TNF-α activated by lipopolysaccharide (LPS). The reduction of TNF-α was then measured by Sandwich ELISA technique. The results showed that the formulation of probiotics with 1% propolis, probiotics with 5% propolis, probiotics with 1% CBD and 1% propolis, and the formulation of probiotics with 1% CBD and 5% propolis show the percentage of TNF-α inhibition more than 90% when compared with the control group. Moreover, all the formulations show more effective TNF-α inhibition at a statistically significant level ($p<0.05$) when compared with probiotic mouthwash alone. While the optimal formulation was probiotics with 5% propolis with the TNF-α percentage inhibition of 92.96%

Keyword : Mouthwash, Probiotics, Propolis, Cannabis, TNF-alpha

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความอนุเคราะห์จาก รองศาสตราจารย์ ดร. ทพ. สรสัณห์ รังสิยานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และ รองศาสตราจารย์ ดร. มาลัย ทวีโชติภัทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และชี้แนะแนวคิด ตลอดการทำการวิจัย ให้ความช่วยเหลือตรวจสอบ แก้ไขข้อผิดพลาดต่างๆ ทำให้ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ครบถ้วน ตลอดจนให้กำลังใจและเอาใจใส่ตลอดระยะเวลาอย่างดียิ่ง ผู้วิจัยจึงกราบขอบพระคุณอาจารย์ทั้งสองท่านเป็นอย่างสูง

ขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร. สมบูรณ์ ธนาศุภวัฒน์ ประธานกรรมการสอบปริญญานิพนธ์ และอาจารย์ ดร. ทันตแพทย์หญิงสินีภัทร์ ตลึงจิตร กรรมการสอบปริญญานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำ ตรวจสอบข้อแก้ไขต่างๆในปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ และขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่มอบวิชา และความรู้ให้แก่ผู้วิจัยตลอดระยะเวลาที่ศึกษาจนปัจจุบัน

ขอบคุณนิสิตดุษฎีบัณฑิต นิสิตบัณฑิตศึกษา และเจ้าหน้าที่ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ให้ความช่วยเหลือ ทั้งด้านสถานที่ อุปกรณ์ ข้อมูลความรู้ และอำนวยความสะดวก ตลอดการทำการวิจัยอย่างดียิ่ง

ขอบคุณนิสิตบัณฑิตศึกษา สาขาวิชาวิทยาการช่องปาก และแม็กซิลโลเฟเชียล ที่ให้ความช่วยเหลือ แนะแนวทางตลอดการทำการวิจัย ขอบคุณเพื่อนทันตแพทยศาสตร์บัณฑิตที่สนับสนุนด้านการหาข้อมูลประกอบการทำการวิจัย ขอบคุณเพื่อนๆ หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการช่องปาก และแม็กซิลโลเฟเชียลทุกคน ที่ช่วยเหลือและเป็นกำลังใจตลอดมา และสุดท้ายนี้ ขอบคุณ ครอบครัวและคนรัก สำหรับกำลังใจและการสนับสนุนในทุกๆด้าน ตั้งแต่เริ่มต้นเข้าเรียนจนจบการศึกษาได้ด้วยดี

ณัฐญาณ์ ซื่อตรงตระกูล

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญรูปภาพ ..... ฎ

บทที่ 1 บทนำ 1

ภูมิหลัง 1

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 4

ขอบเขตของการวิจัย 4

กรอบแนวคิดในการวิจัย 5

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 6

สมมติฐานของการวิจัย 6

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 7

โพรไบโอติก (Probiotics) 7

กระบวนการอักเสบและการหายของแผล 12

Tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) 18

กัญชา (Cannabis) 20

พรอพอลิส (Propolis) 31

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 48

วัสดุและอุปกรณ์ 48

วิธีการ 49
ขั้นตอนที่ 1 เตรียมน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก (Probiotic supernatant) *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 49
ขั้นตอนที่ 2 49
2.1 เตรียมน้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 และส่วนผสมจากสารสกัดพรอพอลิส ปริมาณ 10 มิลลิลิตร (ชุดที่ 1) 49
2.2 เตรียมน้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 และส่วนผสมจากสารสกัดพรอพอลิสร่วมกับสารสกัดกัญชา ปริมาณ 10 มิลลิลิตร (ชุดที่ 2) 50
ขั้นตอนที่ 3 เพาะเลี้ยง Human monocytic cell line ชนิด THP-1 52
ขั้นตอนที่ 4 ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของน้ำยาบ้วนปาก ชุดที่1 และชุดที่2 ด้วย MTT assay 52
ขั้นตอนที่ 5 ทดสอบน้ำยาบ้วนปากชุดที่1 และชุดที่2 พร้อมกับการกระตุ้นการหลั่ง TNF-α และวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α 53
สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล 54
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล 55
ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 สารสกัดพรอพอลิส และสารสกัดจากกัญชาด้วย MTT assay 55
ผลการทดสอบการยับยั้งการหลั่งสารอักเสบชนิด TNF-α ของน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 สารสกัดพรอพอลิส และสารสกัดจากกัญชา 56
ผลการคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α ของน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 สารสกัดพรอพอลิส และสารสกัดจากกัญชา 60

บทที่ 5 อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ 65
อภิปรายผลการวิจัย 65
สรุปผลการวิจัย 69
ข้อเสนอแนะ 70
บรรณานุกรม 71
ภาคผนวก 80
แผนการดำเนินงานวิจัย 80
ประวัติผู้เขียน 82

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 ส่วนผสมของน้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 และสารสกัดพรอพอลิสทั้ง 2 สูตร 50

ตาราง 2 ส่วนผสมของน้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 สารสกัดพรอพอลิส และสารสกัดกัญชา ทั้ง 2 สูตร 50

ตาราง 3 ค่าการดูดกลืนแสง และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α เทียบกับอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว ของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ และตัวแปรควบคุม..... 57

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพประกอบ 1 Growth factor , cytokine ต่างๆ และผลต่อกระบวนการหายของแผล..... 18

ภาพประกอบ 2 บทบาทของ TNF-α ต่อการเกิดแผลเรื้อรัง 19

ภาพประกอบ 3 ลักษณะใบและดอกของต้นกัญชา 20

ภาพประกอบ 4 โครงสร้างทางโมเลกุลของ CBD 21

ภาพประกอบ 5 กลไกและโมเลกุลที่เกี่ยวข้องในระบบ Endocannabinoid system (ECS) 22

ภาพประกอบ 6 ผลของสาร Endocannabinoid ต่อระบบต่างๆของร่างกาย ผ่าน Endocannabinoid system (ECS) 23

ภาพประกอบ 7 สาร cannabinoids ที่พบในร่างกาย ที่ได้จากพืช และที่ได้จากการสังเคราะห์ .. 24

ภาพประกอบ 8 ผลการต้านอนุมูลอิสระของ CBD 26

ภาพประกอบ 9 ผลการต้านอนุมูลอิสระทางอ้อมของ CBD ผ่าน Endocannabinoid system... 27

ภาพประกอบ 10 ผลของ CBD ในการกดการทำงานของภูมิคุ้มกันโดยสรุป..... 28

ภาพประกอบ 11 สัดส่วนองค์ประกอบของพรอพอลิส..... 32

ภาพประกอบ 12 คุณสมบัติต่างๆของพรอพอลิส 34

ภาพประกอบ 13 กลไกการออกฤทธิ์โดยตรงต่อเชื้อในการต้านเชื้อแบคทีเรียของพรอพอลิส..... 35

ภาพประกอบ 14 ฤทธิ์ต้านมะเร็งที่มีกลไกคล้ายคลึงสารเคมีบำบัดของพรอพอลิส 38

ภาพประกอบ 15 กลไกการต้านอนุมูลอิสระ และการต้านการอักเสบของพรอพอลิส..... 41

ภาพประกอบ 16 กระบวนการที่ส่งผลส่งเสริมการหายของแผลของพรอพอลิส..... 42

ภาพประกอบ 17 ผลของพรอพอลิสต่อกระบวนการหายของแผลผ่านการควบคุมปริมาณ fibronectin..... 43

ภาพประกอบ 18 เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ เมื่อทำการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ และตัวแปรควบคุม เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 30 นาที..... 56

ภาพประกอบ 19 แผนภูมิแสดงค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm ของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ เทียบกับอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลวเป็นตัวแปรควบคุมลบ 58

ภาพประกอบ 20 แผนภูมิแสดงค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm ของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ เทียบกับน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% เป็นตัวแปรควบคุมบวก..... 59

ภาพประกอบ 21 แผนภูมิแสดงค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm ของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ เทียบกับสารสกัดกัญชา 1% เป็นตัวแปรควบคุมบวก 60

ภาพประกอบ 22 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α เทียบกับอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว ของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ และน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% 62

ภาพประกอบ 23 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α เทียบกับอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว ของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ และ สารสกัดกัญชา 1%..... 63

ภาพประกอบ 24 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α เทียบกับอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว ของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ และน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกผสมสารสกัดกัญชา 1% จากการศึกษาก่อนหน้า..... 64

บทที่ 1
บทนำ

ภูมิหลัง

โพรไบโอติก หมายถึง จุลินทรีย์ที่มีชีวิต ซึ่งเมื่อร่างกายได้รับในปริมาณที่เพียงพอจะทำให้เกิดผลที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ[1, 2] โดยจุลินทรีย์เหล่านี้อาจเป็น แบคทีเรีย หรือยีสต์ ส่วนใหญ่จะนิยมใช้แบคทีเรียกลุ่มแลคโตบาซิลลัส และไบไฟโดแบคทีเรียม ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้ ส่วนยีสต์ที่จัดเป็นโพรไบโอติก คือ *Saccharomyces boulardii* โดยโพรไบโอติกจากเชื้อแต่ละชนิด แต่ละสายพันธุ์ จะส่งผลต่อร่างกายต่างกัน[3] ผลของโพรไบโอติกต่อร่างกาย ได้แก่ (1) คงสมดุลของเชื้อที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายและเชื้อก่อโรค[3] โดยส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ส่งผลดีต่อร่างกาย[4] และขัดขวางการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค[4, 5] (2) ขัดขวางการก่อตัวของเชื้อก่อโรคบนเนื้อเยื่อ[5] (3) ส่งเสริมเกราะป้องกันต่อการติดเชื้อ โดยกระตุ้นการสร้างเยื่อเมือกบริเวณทางเดินอาหาร[3-5] (4) ผลิตสารที่เป็นพิษต่อเชื้อก่อโรค[3] (5) ส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันโดยกระตุ้นการสร้างอิมมูโนโกลบูลิน[3, 5] และกระตุ้นความสามารถในการกำจัดเชื้อก่อโรคของระบบภูมิคุ้มกัน[3] ต้านการอักเสบโดยลดการหลั่งสารก่อการอักเสบต่างๆ[3, 5, 6]

ปัจจุบันได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการนำโพรไบโอติกมาใช้ร่วมกับทั้งทางการแพทย์ และทางทันตกรรม โดยทางการแพทย์นิยมนำมารักษาโรคระบบทางเดินอาหารต่างๆ เช่น ภาวะท้องเสียจากไวรัสโรตาในเด็ก, ภาวะท้องเสียที่เกี่ยวข้องกับการได้รับยาปฏิชีวนะ[3, 5, 7], โรคลำไส้แปรปรวน (Irritable bowel syndrome)[3, 7], โรคลำไส้ใหญ่อักเสบเรื้อรัง (Ulcerative colitis), โรคโครห์น (Crohn's disease)[7, 8], โรคกระเพาะอาหารที่มีสาเหตุจากเชื้อ *H. Pylori*[5, 7] และยังนำมาใช้รักษาร่วมกับการรักษามะเร็ง[5] ภูมิแพ้[3, 5] การติดเชื้อบริเวณแผลผ่าตัด การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ[5] รวมถึงใช้ร่วมกับการรักษาภาวะเมแทบอลิกซินโดรมหรือภาวะอ้วนลงพุง[9, 10] และโรคตับแข็ง[11, 12] ในทางทันตกรรมเองก็มีการศึกษาโพรไบโอติกในการลดอัตราการเกิดฟันผุ[13, 14] การใช้ร่วมในการรักษาโรคปริทันต์[14, 15] การลดกลิ่นปาก[14] การรักษาการติดเชื้อราในช่องปาก[16] และการใช้ร่วมในการรักษาคลองรากฟัน[17, 18] ในขณะที่งานทางศัลยกรรมซึ่งมักจะเกี่ยวข้องกับการเกิดกระบวนการอักเสบเพื่อนำไปสู่การหายของแผล ยังมีการศึกษาเพียงเล็กน้อยในการนำโพรไบโอติกมาใช้ร่วมในการรักษา จึงยังเป็นประเด็นที่น่าสนใจ และน่าทำการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อนำผลที่ได้มาปรับใช้ในการส่งเสริมผลการรักษาหลังการทำศัลยกรรมในช่องปากต่อไป

กระบวนการหายของแผล (Wound healing) สามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ระยะที่สำคัญ ได้แก่ (1) ระยะการเกิดลิ่มเลือด และการแข็งตัวของเลือด (2) ระยะการอักเสบ แบ่งเป็นระยะต้น

และระยะหลัง (3) ระยะการสร้างเนื้อเยื่อทดแทน และ (4) ระยะการปรับสมดุลโครงสร้างของแผล [19-23] โดยกระบวนการหายของแผลที่ดีควรจะเกิดเรียงตามลำดับของแต่ระยะ มีการคาบเกี่ยวต่อเนื่องกันในแต่ละระยะ และใช้เวลาในแต่ละระยะอย่างเหมาะสม หากมีขั้นตอนใดผิดปกติ ขาดหายไป หรือใช้ระยะเวลานานกว่าปกติ จะส่งผลให้แผลไม่หาย หรือเกิดแผลเรื้อรังได้ [21, 22] กระบวนการที่มักส่งผลต่อการเกิดแผลเรื้อรังคือกระบวนการอักเสบ หรือ Inflammatory phase อาจเกิดจากการถูกขัดขวางหรือมีการยืดเยื้อของระยะอักเสบนานผิดปกติและไม่เข้าสู่ระยะต่อไปของการหายของแผล โดยเซลล์ที่มีบทบาทสำคัญ คือ แมคโครฟาจ (Macrophages) ที่จะพบมากในช่วงระยะหลังของการอักเสบ [21, 23, 24] มีบทบาทในการกำจัดเซลล์ที่ตาย, กำจัดเชื้อโรคบริเวณแผล, หลั่งไซโตไคน์ที่ส่งเสริมกระบวนการอักเสบ และดึงดูดเซลล์อื่นๆมาสู่บริเวณบาดแผลเพื่อเข้าสู่ระยะต่อไปของกระบวนการหายของแผล [21, 23, 24] ตัวอย่างไซโตไคน์ที่หลั่งออกมา เช่น Nitric Oxide, IL-1, IL-6, TNF-α, Platelet derived growth factor (PDGF), Vascular endothelial growth factor (VEGF) เป็นต้น [23, 24]

Tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) เป็นหนึ่งใน proinflammatory cytokines ที่หลั่งจากแมคโครฟาจในระยะอักเสบ ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการหายของแผล [22, 25] และหากมีปริมาณที่สูงผิดปกติจะเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดแผลเรื้อรังได้ [22, 25] การศึกษาเพื่อรักษาภาวะผิดปกติของการอักเสบของแผลส่วนใหญ่ จึงมุ่งเน้นไปที่การลดระดับของ TNF-α [25] จากการวิจัยที่ผ่านมาของกลุ่มวิจัย พบว่าโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 สามารถลดปริมาณ TNF-α จากแผล หลังผ่าตัดฟันกรามซี่ที่ 3 ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [26] และนำมาพัฒนาต่อเป็นน้ำยาบ้วนปาก เพื่อง่ายต่อการใช้งาน โดยได้มีการเพิ่มสารสกัดจากกัญชา และพบว่าสูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกและสารสกัดกัญชา สามารถลดปริมาณ TNF-α ได้ดีมากขึ้นกว่าโพรไบโอติกเพียงอย่างเดียว [27]

กัญชาได้ถูกนำมาใช้ทางการแพทย์ร่วมในการรักษาในหลายๆด้าน เช่น ใช้บรรเทาอาการเจ็บปวด ลมชัก [28-31] รักษากล้ามเนื้อหดเกร็ง ลดการอักเสบ อาการนอนไม่หลับ และต้อหิน เนื่องจากกัญชามีฤทธิ์ผ่อนคลายและช่วยให้สงบ [28, 29, 32-34] ซึ่งส่วนใหญ่เป็นฤทธิ์จากสาร Cannabidiol (CBD) โดยพบว่า เมื่อได้รับในขนาดต่ำจะออกฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาท แต่หากให้ในขนาดปานกลางถึงมากจะออกฤทธิ์ผ่อนคลายได้ [28] และยังสามารถใช้รักษาการติดเชื้อจากแบคทีเรียและเชื้อราได้ด้วย [33] นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาพบว่า สาร CBD จากกัญชาอาจใช้ในการรักษาภาวะผิดปกติที่เกิดจากการใช้สารโอปิออยด์, โคเคน และสารกระตุ้นจิตประสาทอื่นๆได้ [28, 33] รวมถึงสามารถใช้ร่วมในการรักษาโรคทางระบบหลอดเลือดและหัวใจ โรคทางระบบประสาท

มะเร็ง และโรคทางระบบเมแทบอลิกได้ และยังพบว่าสามารถช่วยส่งเสริมการหายของแผลได้อีกด้วย[32] มีการศึกษามากมายยืนยันว่า กัญชามีคุณสมบัติหลากหลายทั้งต้านการอักเสบ ต้านอนุมูลอิสระ ต้านจุลินทรีย์ได้[35, 36] ในทางทันตกรรมเองก็มีการศึกษาเกี่ยวกับการนำกัญชามาใช้ร่วมกับการรักษาเช่นกัน จากฤทธิ์บรรเทาปวด ต้านการอักเสบและยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของกัญชา พบว่ามีการนำกัญชามารักษาอาการปวดจากฟันและเหงือก รักษาและป้องกันฟันผุ รวมถึงลดอาการเหงือกอักเสบ โดยใช้เป็นยาต้านเชื้อจุลินทรีย์ ยาฆ่าเชื้อเพื่อส่งเสริมสุขภาพช่องปากของผู้ป่วย[37] ทั้งนี้ นอกจากกัญชาแล้ว ยังมีสารสกัดอีกหลายชนิด ที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ และส่งเสริมการหายของแผลได้ อาจมีสารสกัดที่สามารถเสริมฤทธิ์โพรไบโอติกได้ดีเช่นกัน หรืออาจมากกว่ากัญชา ไปจนถึงอาจเสริมฤทธิ์กัญชาและโพรไบโอติกได้มากขึ้นไปกว่าเดิม

พรอพอลิส (Propolis) หรือ กาวผึ้ง (Bee glue) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาลที่ถูกเก็บสะสมโดยผึ้งงาน จากใบและเปลือกของต้นไม้หลากหลายชนิด เมื่อสารเหนียวจากต้นไม้ถูกเก็บมาจะถูกผสมกับเอนไซม์ของผึ้งกลายเป็น พรอพอลิส[38-42] คุณสมบัติและสารประกอบทางเคมีของพรอพอลิสจะแตกต่างกันไปตามแหล่งพื้นที่ต่างๆ ขึ้นกับชนิดพันธุ์ไม้และลักษณะภูมิประเทศของแถบนั้น[38, 40-43] โดยพรอพอลิสจากแต่ละที่จะมีสีและเนื้อสัมผัสต่างกันไป เนื่องจากภูมิประเทศและภูมิอากาศที่ต่างกัน [39, 40] สารต่างๆที่พบในพรอพอลิสมีมากกว่า 300 ชนิด[39, 42, 44] โดยปริมาณและชนิดสารที่พบจะต่างกันไปในพรอพอลิสแต่ละชนิดด้วย[40] สารออกฤทธิ์สำคัญในพรอพอลิส ได้แก่ โพลีฟีนอล กลุ่มฟลาโวนอยด์[38-40] นอกจากนี้ พรอพอลิสยังอุดมไปด้วย แร่ธาตุ และวิตามิน[38, 39, 41] ในปัจจุบันมีการนำพรอพอลิสมาใช้เป็นส่วนประกอบของยาและผลิตภัณฑ์ต่างๆหลายชนิด ได้แก่ ยาสีฟัน ยาอม น้ำยาบ้วนปาก ครีม ยาแก้ไอ สบู่ หมากฝรั่ง แชมพู ไปจนถึง ลูกอม และเค้ก[38, 40] จากการที่พรอพอลิสมีองค์ประกอบทางเคมีที่หลากหลาย และคุณสมบัติที่แตกต่างกัน ทำให้พรอพอลิสมีฤทธิ์มากมาย ที่ส่งเสริมการรักษาโรคต่างๆได้ โดยสามารถช่วยยับยั้งการเกิดแผล ส่งเสริมการหายของแผล ต้านการเกิดอาการแพ้ ป้องกันการบาดเจ็บของระบบหลอดเลือดและหัวใจ ไต และตับ อีกทั้งยังมีฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา เชื้อไวรัส ฤทธิ์ต้านการเกิดมะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบอีกด้วย[38-41, 43, 45]

มีการศึกษามากมายนำพรอพอลิสมาใช้ร่วมกับการรักษาทางทันตกรรม จากฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียต่างๆ ซึ่งครอบคลุมถึงการต้านเชื้อก่อโรคในช่องปากได้หลายชนิด [46-48] รวมถึงความสามารถในการส่งเสริมการหายของแผลภายในช่องปาก[46, 49] มีการศึกษาคุณสมบัติของพรอพอลิสในการนำมาใช้เป็นน้ำยาล้างคลองรากฟัน หรือนำมาทำเป็นยาสำหรับใส่คลองรากฟัน

ระหว่างการรักษา[46] และยังพบว่าพรอพอลิสสามารถใช้รักษาอาการเสียวฟันได้ดีใกล้เคียงกับสารลดอาการเสียวฟันอื่นๆ[46] รวมถึงมีบทบาทในกระบวนการซ่อมแซมโพรงประสาทฟัน[40, 45, 46] พรอพอลิสยังส่งผลดีต่อโรคทางปริทันต์ โดยสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคปริทันต์[46, 48] การต้านการอักเสบของเหงือก ลดการเกิดคราบจุลินทรีย์ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญของการเกิดโรคปริทันต์[46-48] ลดภาวะมีเลือดออกจากเหงือก[47, 48] และลดร่องลึกปริทันต์[47, 48] นอกจากนี้พรอพอลิสยังสามารถลดการเกิด recurrent aphthous ulcers ได้ดี[46, 47] และพบว่าน้ำยาบ้วนปากจากพรอพอลิสสามารถการลดการเกิดภาวะเยื่อบุช่องปากอักเสบ (oral mucositis) ในผู้ป่วยที่ได้รับรังสีรักษา และเคมีบำบัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ[47, 50]

การศึกษานี้จึงมีเป้าหมายในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากกัญชา และน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกที่มีส่วนผสมของพรอพอลิส รวมถึงน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกที่มีส่วนผสมของทั้งสารสกัดจากกัญชาและพรอพอลิส ว่าจะให้ผลที่ดีแตกต่างกันอย่างไรในการต้านการอักเสบ ส่วนผสมเพิ่มเติมทั้งสองชนิดจะสามารถเสริมฤทธิ์ของโพรไบโอติก หรือเสริมฤทธิ์กันเองได้หรือไม่ และสามารถนำไปต่อยอดศึกษาผลด้านอื่นๆ จากส่วนผสมต่างๆเพิ่มเติม หากการวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการพัฒนาสูตร จะมีประโยชน์ต่อทั้งงานสาขาศัลยกรรมที่ต้องการการหายของแผลที่ดี หรืออาจนำไปใช้ร่วมกับโรคทางช่องปากที่เกิดจากการอักเสบของเนื้อเยื่อได้อีกด้วย

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 ที่ผสมร่วมกับสารสกัดกัญชาในการศึกษาก่อนหน้า กับสูตรโพรไบโอติกผสมกับสารสกัดพรอพอลิส และสูตรโพรไบโอติกผสมกับสารสกัดกัญชาร่วมกับสารสกัดพรอพอลิส ในการลดสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α

ขอบเขตของการวิจัย

เป็นการวิจัยในห้องทดลอง ในการพัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 ผสมกับสารสกัดพรอพอลิส และสูตรที่ผสมสารสกัดกัญชาร่วมกับสารสกัดพรอพอลิส เพื่อศึกษาผลในการลดปริมาณสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α เปรียบเทียบกับผลของสูตรที่ผสมสารสกัดกัญชา โดยทำการทดสอบกับเซลล์ human monocytic cell line (ATCC, TIB202) ชนิด THP-1 วัดผลโดยการวัดระดับ TNF-α ด้วย ELISA Bioassay

ตัวแปร

ตัวแปรอิสระ :

- น้ำยาบ้วนปากสูตรโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 ผสมกับสารสกัดพรอพอลิส

- น้ำยาบ้วนปากสูตรโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 ผสมกับสารสกัดพรอพอลิสและสารสกัดกัญชา

- สารสกัดพรอพอลิส

ตัวแปรตาม :

-ปริมาณสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α

ตัวแปรควบคุมบวก :

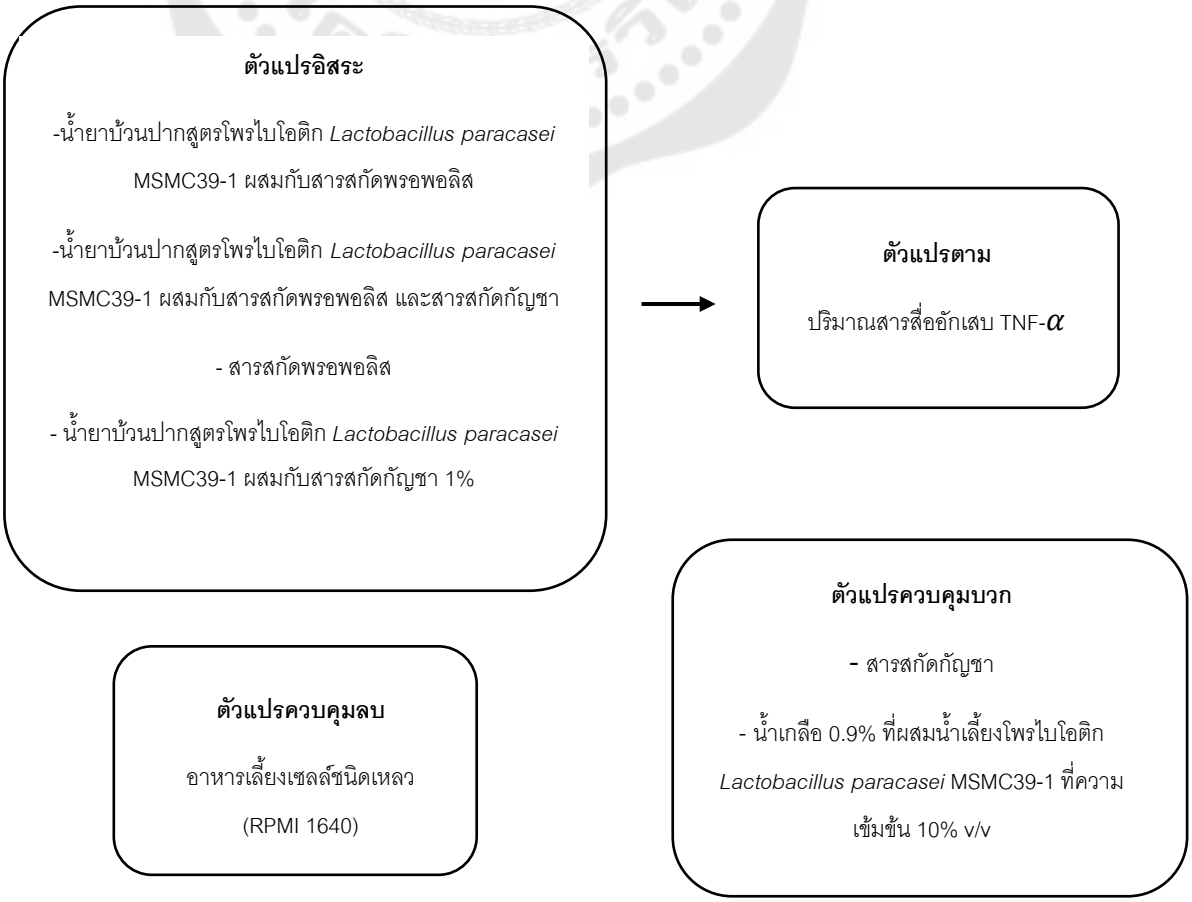
- สารสกัดกัญชา

- น้ำเกลือ 0.9% ที่ผสมน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 ที่ความเข้มข้น 10% v/v

ตัวแปรควบคุมลบ :

- อาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว (RPMI 1640)

กรอบแนวคิดในการวิจัย



ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ทราบผลของน้ำยาบ้วนปากสูตรโพรไบโอติกที่มีส่วนผสมของสารสกัดพรอพอลิสในการลดสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α และเปรียบเทียบผลกับสูตรที่ผสมกับสารสกัดกัญชา รวมถึงสูตรผสมสารสกัดกัญชาและสารสกัดพรอพอลิส และได้สูตรที่ออกฤทธิ์ได้ดีที่สุด

2. สามารถนำสูตรน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกที่ให้ผลลดสื่ออักเสบชนิด TNF-α ได้ดีที่สุดไปประยุกต์ใช้ร่วมกับการรักษาผู้ป่วย ในการลดการอักเสบหลังผ่าตัด เพื่อเพิ่มผลการรักษาทางทันตกรรมให้ดียิ่งขึ้น หรือนำไปใช้ร่วมกับรักษาโรคทางช่องปากอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบของเนื้อเยื่อได้

สมมติฐานของการวิจัย

H_0: ผลในการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ของน้ำยาบ้วนปากสูตรโพรไบโอติกผสมกับสารสกัดพรอพอลิส สูตรโพรไบโอติกผสมกับสารสกัดกัญชา และ สูตรโพรไบโอติกผสมกับสารสกัดกัญชาและสารสกัดพรอพอลิสไม่มีความแตกต่างกัน

H_1: -น้ำยาบ้วนปากสูตรโพรไบโอติกผสมกับสารสกัดพรอพอลิสลดปริมาณสารสื่ออักเสบชนิดTNF-α ได้มากกว่าสูตรโพรไบโอติกผสมกับสารสกัดกัญชา

-น้ำยาบ้วนปากสูตรโพรไบโอติกผสมกับสารสกัดกัญชาและสารสกัดพรอพอลิสลดปริมาณสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ได้มากกว่าสูตรโพรไบโอติกผสมกับสารสกัดกัญชา และสูตรโพรไบโอติกผสมกับสารสกัดพรอพอลิส

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โพรไบโอติก (Probiotics)

โพรไบโอติก เป็นคำในภาษากรีก หมายความว่า “เพื่อชีวิต”[3] คำว่า โพรไบโอติก ถูกใช้ครั้งแรกเพื่อสื่อถึง สารที่ถูกหลั่งจากจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่ส่งผลกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ[5] ในปี พ.ศ.2555 สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ได้ออกประกาศกระทรวงสาธารณสุข ให้ความหมายของคำว่า จุลินทรีย์โพรไบโอติก ตามนิยามของ The international scientific association for probiotics and prebiotics (ISAPP), FAO และ WHO ว่าหมายถึง จุลินทรีย์ที่มีชีวิต ซึ่งเมื่อร่างกายได้รับในปริมาณที่เพียงพอจะทำให้เกิดผลที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ[1, 2]

ปัจจุบันมีการใช้โพรไบโอติกเป็นส่วนประกอบหรือผลิตออกมาในรูปแบบต่างๆ ทั้งอาหารและอาหารเสริม ซึ่งในแต่ละรูปแบบ อาจประกอบไปด้วยโพรไบโอติกหนึ่งหรือหลายชนิด และเป็นจุลินทรีย์ที่ต่างกัน โดยจุลินทรีย์ที่จัดเป็นโพรไบโอติก อาจเป็นแบคทีเรีย หรือ ยีสต์ก็ได้ ส่วนใหญ่นิยมใช้แบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตกรดแลคติก ได้แก่ แบคทีเรียกลุ่มแลคโตบาซิลลัส และ ไบไฟโดแบคทีเรียม ในขณะที่ยีสต์ที่ส่งผลดีต่อร่างกาย และมักพบว่าถูกใช้เป็นโพรไบโอติก คือ *Saccharomyces boulardii* ซึ่งโพรไบโอติกจากเชื้อแต่ละชนิด รวมถึงเชื้อชนิดเดียวกันแต่คนละสายพันธุ์ จะส่งผลต่อร่างกายด้วยกลไกที่ต่างกันด้วย[3]

ผลของโพรไบโอติกต่อร่างกายได้ถูกอธิบายไว้หลายประเด็น กล่าวคือ ช่วยคงสมดุลของเชื้อที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายและเชื้อก่อโรค[3] โดยโพรไบโอติกมีความสามารถในการขัดขวางการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคในร่างกาย[4, 5] และขัดขวางการเกาะตัวของเชื้อก่อโรคกับเยื่อบุลำไส้[5] กระตุ้นการสร้างเยื่อเมือกบริเวณทางเดินอาหาร ส่งเสริมเกาะป้องกันต่อการติดเชื้อก่อโรค[3-5] ยับยั้งการออกฤทธิ์ของสารที่เป็นพิษต่อร่างกายโดยเชื้อก่อโรค[4, 5] โพรไบโอติกยังส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆที่ส่งผลดีต่อร่างกาย[4] และสามารถผลิตสาร เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และกรดต่างๆ ที่เป็นพิษต่อเชื้อก่อโรคได้อีกด้วย[3] นอกจากการส่งผลต่อสมดุลของเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆข้างต้นแล้ว ยังมีการอธิบายถึงผลของโพรไบโอติกต่อระบบภูมิคุ้มกันว่า สามารถส่งเสริมการสร้างอิมมูโนโกลบูลิน ส่งผลต่อการปล่อยไซโตไคน์ต่างๆ[3, 5] และยังช่วยกระตุ้นความสามารถในการกำจัดเชื้อก่อโรคของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายได้อีกด้วย[3]

โพรไบโอติกกับการแพทย์

โพรไบโอติกได้ถูกศึกษา และนำมาใช้ประกอบการรักษาทางการแพทย์ต่างๆมากมาย โดยส่วนใหญ่จะเป็นการรักษาเกี่ยวกับความผิดปกติของโรคทางระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ ภาวะลำไส้เน่าอักเสบ (Necrotizing Enterocolitis) ในทารกที่เกิดจากการขาดจุลินทรีย์แลคโตบาซิลลัสในตอนแรกเกิด ทารกจะมีอาการท้องเสีย ถ่ายเป็นเลือด อาเจียน และมีหัวใจเต้นช้า โดยพบว่าการได้รับจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถลดโอกาสการเกิดภาวะนี้ได้[5] และยังมีการใช้โพรไบโอติกในการป้องกัน และรักษา ภาวะท้องเสียจากสาเหตุต่างๆ เช่น ภาวะท้องเสียจากไวรัสโรตาในเด็ก และภาวะท้องเสียที่เกี่ยวข้องกับการได้รับยาปฏิชีวนะ[3, 5, 7] โดยเฉพาะยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์กว้าง ส่งผลให้สมดุลของจุลินทรีย์เสียไป โพรไบโอติกจึงสามารถป้องกัน และรักษาภาวะนี้ได้เช่นกัน[5]

มีการศึกษา พบว่าโพรไบโอติกสามารถลดการเกิดแก๊ส ลดภาวะท้องอืด ในผู้ป่วยโรคลำไส้แปรปรวน (Irritable bowel syndrome)[3, 7] ซึ่งจะมีอาการปวดท้อง ท้องอืด ลมเยอะ โดยคาดว่าเกิดจากการที่เชื้อจุลินทรีย์เจริญเติบโตมากกว่าปกติจึงมีการเกิดแก๊สที่มาก ทั้งนี้ยังต้องการการศึกษาเพิ่มเติมถึงปริมาณที่เหมาะสมที่ควรใช้ในการรักษาโรคดังกล่าว[3] โพรไบโอติกยังถูกศึกษาในการนำมารักษาโรคลำไส้อักเสบเรื้อรัง (Inflammatory bowel disease)[7, 8] เช่น โรคลำไส้ใหญ่อักเสบเรื้อรัง (Ulcerative colitis) และ โรคโครห์น (Crohn's disease) ซึ่งเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันและการขาดสมดุลของเชื้อแบคทีเรีย โดยพบว่าโพรไบโอติกมีความสามารถในการต้านการอักเสบ ผ่านขั้นตอนการหลั่งของไซโตไคน์ที่ต่างกันในจุลินทรีย์แต่ละชนิด[3, 5, 6] และยังพบว่ามีการใช้โพรไบโอติกในการรักษาโรคกระเพาะอาหารที่มีสาเหตุจากเชื้อ *H. Pylori*[5, 7] ที่มักได้รับยาปฏิชีวนะในการรักษา โดยพบว่าการใช้โพรไบโอติกนั้นมีผลยับยั้ง และลดการอักเสบของกระเพาะอาหารที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียข้างต้นได้ และยังช่วยลดอาการข้างเคียงที่อาจเกิดจากการรักษาโรคจากเชื้อนี้ได้อีกด้วย[5] ในขณะเดียวกันก็มีการศึกษาในการใช้โพรไบโอติกร่วมในการรักษามะเร็ง พบว่าโพรไบโอติกสามารถจับกับสารที่ส่งเสริมการก่อมะเร็ง และขัดขวางการเจริญเติบโตของเชื้อที่มีความสามารถในการเปลี่ยน procarcinogens ไปเป็น carcinogens[5] ในส่วนของการใช้โพรไบโอติกรักษาภูมิแพ้ พบว่าสามารถรักษาภาวะการเกิดโรคผื่นภูมิแพ้ผิวหนังได้[3, 5] รวมไปถึงการนำมารักษาและป้องกันภาวะติดเชื้อของแผลผ่าตัดบริเวณช่องคลอด และทางเดินปัสสาวะได้ด้วย[5]

นอกจากการใช้เพื่อรักษาหรือป้องกันโรคทางระบบทางเดินอาหารแล้ว ยังมีการนำโพรไบโอติกมาใช้ร่วมในการรักษาภาวะเมแทบอลิกซินโดรมหรือภาวะอ้วนลงพุง ซึ่งเป็นภาวะที่มักเกิดตามมาหลังจากภาวะอ้วน ผู้ป่วยจะมีปริมาณไตรกลีเซอไรด์ คลอเรสเตอรอล รวมถึงความดัน

โลหิตไม่ปกติ มีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจ[9] และพบว่ามีความเกี่ยวข้องกับการขาดสมดุลของเชื้อจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของผู้ป่วย[10] หลายการศึกษาพบว่าโพรไบโอติกสามารถช่วยลดปัญหาเหล่านี้ได้ รวมถึงยังลดการหลั่งสารก่อการอักเสบในร่างกายที่เกี่ยวข้องกับภาวะนี้ได้[9, 10]

โรคตับแข็ง (Liver cirrhosis) จัดเป็นโรคตับชนิดเรื้อรังชนิดหนึ่ง ซึ่งพบว่าเกี่ยวข้องกับความสัมพันธ์ระหว่างทางเดินอาหารและตับ (gut-liver axis) เมื่อมีภาวะการอักเสบของร่างกายจะทำให้ความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้น การเปลี่ยนแปลงของผนังทางเดินอาหารที่อ่อนแอลง การขาดสมดุลของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร รวมถึงการหลั่งสารพิษจากจุลินทรีย์เหล่านี้ ก็เป็นอีกปัจจัยสำคัญต่อการดำเนินของโรค[11, 12] ในการรักษามักมีการใช้ยาปฏิชีวนะและพบว่าเกิดผลข้างเคียงจากยามากมาย[11] เมื่อศึกษาผลของโพรไบโอติกพบว่า โพรไบโอติกสามารถป้องกันการติดเชื้อได้ และส่งผลดีต่อการทำงานของตับ รวมถึงปรับสมดุลของเชื้อจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร[12] ลดสารพิษจากเชื้อก่อโรค และยังพบว่าเอนไซม์ รวมถึงสารอักเสบมีการหลั่งลดลง[11] อย่างไรก็ตามยังคงต้องการการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลิตภัณฑ์และชนิดของโพรไบโอติกที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ต่อไป[12]

นอกจากทางการแพทย์แล้วยังพบว่ามีการศึกษาในการนำโพรไบโอติกมาใช้ในทางปศุสัตว์ด้วย โดยมีการศึกษาถึงชนิด ปริมาณ ระยะเวลา และวิธีที่จะให้โพรไบโอติกในการเลี้ยงสัตว์น้ำ เช่น ปลานิล และ กุ้ง เป็นต้น โดยการให้อาจทำการผสมลงในน้ำหรือในอาหาร[51] อาจทำเป็นอาหารเม็ด เป็นผง เป็นแผ่น หรือเคลือบบนอาหารสำเร็จรูป[52] พบว่าโพรไบโอติกสามารถเพิ่มคุณภาพของน้ำ เพิ่มภูมิคุ้มกันและลดโอกาสการติดโรคของสัตว์น้ำ รวมถึงยังเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดชีวิตของสัตว์น้ำเหล่านี้ได้อีกด้วย[51] นอกจากนี้ยังมีการนำไปใช้กับสัตว์ปีกอย่างเช่น ไก่ ส่งผลเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต เพิ่มคุณภาพของเนื้อไก่ ลดโอกาสการติดเชื้อ เพิ่มอัตราการผลิตและคุณภาพของไข่ ใช้ร่วมในการเลี้ยงสุกรส่งผลลดอัตราการเจ็บป่วย ลดอัตราการตาย นอกจากนี้ยังสามารถใช้ในการเลี้ยงแพะ และวัวนมเพื่อเพิ่มผลผลิตน้ำนมได้อีกด้วย[53]

โพรไบโอติกกับทันตกรรม

เป็นที่รู้กันดีว่าจุลินทรีย์ในช่องปากนั้นมีมากมายหลายชนิด และมีปฏิสัมพันธ์ต่อกันอย่างเป็นระบบ มีทั้งที่อยู่อย่างอิสระ และเกาะตัวกันเป็นคราบจุลินทรีย์บนผิวฟัน[13] การนำโพรไบโอติกมาใช้ร่วมกับการรักษาทางทันตกรรมในสาขาต่างๆได้ถูกศึกษาอย่างกว้างขวาง โดยผลของโพรไบโอติกมีทั้งที่ส่งผลโดยตรงต่อเชื้อก่อโรคในคราบจุลินทรีย์ ได้แก่ การส่งผลให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นๆไปจับตัวกับโปรตีน, ไปแข่งขันแย่งจับกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นในช่องปาก, หลั่งสารที่ยับยั้ง

การเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค รวมถึงยังส่งผลทางอ้อมต่อร่างกายในการส่งเสริมกระบวนการทำลายเชื้อของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย, ควบคุม mucosal permeability, สร้างสารต้านอนุมูลอิสระ และยังสามารถขัดขวางการสร้างคราบจุลินทรีย์ได้อีกด้วย[14] โดยพบการนำโพรไบโอติกมาใช้ศึกษาในทางทันตกรรมในด้านต่างๆ ดังนี้

ฟันผุ มีสาเหตุจากหลายปัจจัยร่วมกัน ประกอบไปด้วย เชื้อจุลินทรีย์, ลักษณะเฉพาะของแต่ละบุคคล และอาหารที่ได้รับ โดยปัจจัยหลักที่ส่งผลก่อฟันผุก็คือเชื้อจุลินทรีย์[15] ที่มีความสามารถในการเกาะติดกับผิวฟันและเนื้อเยื่อช่องปาก[13] โดยเชื้อที่เป็นสาเหตุของฟันผุ ได้แก่ *Streptococcus mutans* และ *Lactobacillus* spp.[13, 15] โดย *S. mutans* เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างกรดจากการย่อยสลายน้ำตาล และเป็นสาเหตุหลักของการเกิดฟันผุ[13] จากการศึกษาพบว่าโพรไบโอติกสามารถลดปริมาณเชื้อ *S. mutans* ในน้ำลาย และอาจส่งผลป้องกันฟันผุได้[15] นอกจากนี้ผลของโพรไบโอติกที่ส่งผลต่อการป้องกันฟันผุ ยังถูกอธิบายไว้เพิ่มเติมว่า สามารถยับยั้งการก่อตัวของคราบจุลินทรีย์โดยการแย่งพื้นที่การเกาะติดของเชื้อก่อโรคบนผิวฟัน และก่อตัวเป็นชั้นคราบจุลินทรีย์ของตัวเองและป้องกันการเกาะตัวของเชื้อก่อโรคบนเนื้อเยื่อช่องปาก ส่งผลต่อความคงสภาพของคราบจุลินทรีย์เดิมที่เกิดขึ้นก่อนหน้า รวมถึงสามารถแย่งสารอาหาร ส่งผลให้เชื้อก่อโรคมีโอกาสการเจริญเติบโตลดลง สร้างสารต้านเชื้อจุลินทรีย์อื่น เช่น ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ แบคเทอริโอซิน ส่งเสริมความสามารถในการต้านเชื้อของน้ำลาย[13] ชนิดของจุลินทรีย์ที่นิยมนำมาศึกษาผลของโพรไบโอติกต่อการป้องกันฟันผุ เช่น *Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus reuteri,* และ*Lactobacillus paracasei* เป็นต้น [13]

โรคปริทันต์เกิดขึ้นจากจุลินทรีย์ก่อโรคบริเวณขอบเหงือกหรือร่องเหงือก ร่วมกับผู้รับเชื้อที่ไวต่อการเกิดโรค เกิดการอักเสบของอวัยวะปริทันต์และเกิดการทำลายเนื้อเยื่อและกระดูกตามมา การรักษาโดยปกติ จะมุ่งเน้นที่การกำจัดหินปูน คราบจุลินทรีย์ และเกลารากฟันเพื่อกำจัดเชื้อ อาจมีการทำศัลย์ปริทันต์ร่วมด้วยในบางกรณี และบางครั้งอาจให้การรักษาด้วยยาปฏิชีวนะร่วมด้วยเช่นกัน[15] โพรไบโอติกเป็นทางเลือกหนึ่งในการใช้เป็นส่วนเสริมในการรักษาเพื่อผลการรักษาที่ดียิ่งขึ้น โดยพบว่าโพรไบโอติกสามารถต้านการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคปริทันต์ได้ เมื่อใส่เพิ่มในผลิตภัณฑ์ปิดแผลทางปริทันต์[14] และยังสามารถเกาะติดกับเนื้อเยื่อช่องปากได้ดีกว่าเชื้อก่อโรคปริทันต์ ทำให้เกิดไบโอฟิล์มที่ไม่ส่งผลเสียต่ออวัยวะปริทันต์ นอกจากนี้ยังส่งผลต่อการหลั่งสารก่อการอักเสบ และเอนไซม์ที่ทำลายเนื้อเยื่อปริทันต์ ที่เป็นปัจจัยสำคัญต่อการดำเนินของโรคปริทันต์อีกด้วย[15] อย่างไรก็ตามในการศึกษาการใช้โพรไบโอติกกับผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการรักษาโรคปริทันต์เบื้องต้นนั้น พบว่าไม่ได้ให้ผลแตกต่างจากการไม่ได้รับโพรไบโอติก ดังนั้นการ

รักษาความสะอาด และสุขภาพช่องปากที่ดีในผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงเกิดโรคปริทันต์ได้สูงยังคงเป็นสิ่งที่สำคัญที่สุดในการป้องกันการเกิดโรคปริทันต์ โพรไบโอติกไม่สามารถทดแทนการแปรงฟันด้วยวิธีที่ถูกต้องได้ ควรเป็นเพียงตัวเลือกเพิ่มเติมในการรักษาเท่านั้น[15]

กลิ่นปาก (Halitosis) เกิดจากการผลิตสารระเหยที่มีส่วนประกอบของซัลเฟอร์โดยเชื้อ *Fusobacterium nucleatum* พบว่าโพรไบโอติกสามารถยับยั้งการปล่อยสารดังกล่าว และยังสามารถปล่อยไฮโดรเจนเพอออกไซด์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อดังกล่าวได้อีกด้วย อย่างไรก็ตามยังคงต้องการการศึกษาเพิ่มเติมถึงประสิทธิภาพในการนำมาใช้ต่อไป[14]

การติดเชื้อราในช่องปาก (Candidiasis) ส่วนใหญ่เกิดจากการติดเชื้อรากลุ่ม *Candida* spp. เป็นการติดเชื้อแบบฉวยโอกาส (Opportunistic) ในภาวะปกติ จะพบเชื้อราชนิดนี้ได้ในช่องปากอยู่แล้ว แต่เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของภาวะต่างๆ เช่น การถูกกดภูมิคุ้มกันในการติดเชื้อ HIV, การได้รับการฉายรังสี หรือได้รับยาสเตียร์รอยด์ ยาปฏิชีวนะ เป็นระยะเวลานาน รวมถึงการมีภาวะปากแห้งจากการฉายรังสี หรือจากภาวะของกลุ่มอาการโจเกรน รวมไปถึงขนาดที่ไม่พอดีของฟันปลอม ล้วนเป็นการส่งเสริมให้เกิดการติดเชื้อราในช่องปาก ซึ่งสปีชีส์ที่พบว่าก่อให้เกิดโรคได้บ่อยที่สุดคือ *Candida albicans* โดยปกติแล้วในการรักษาเชื้อรามักจะให้ยาต้านเชื้อรา แต่ผลข้างเคียงของยาชนิดนี้ค่อนข้างจะกระทบต่อผู้ป่วยมาก เช่น การคลื่นไส้ อาเจียน และท้องเสีย ในปัจจุบันได้มีการศึกษาทั้งในห้องทดลอง และทางคลินิกถึงผลของโพรไบโอติกต่อเชื้อรา พบว่าโพรไบโอติกสามารถช่วยปรับสมดุลของเชื้อให้เข้าสู่ภาวะปกติ มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ รวมไปถึงยังลดการเกิดไฮฟี (hyphae) และการจับตัวกันเป็นไบโอฟิล์มของเชื้อรา ซึ่งเป็นกระบวนการสำคัญของเชื้อราในการก่อโรคดังกล่าว โดยโพรไบโอติกที่มีการศึกษาได้แก่ *Streptococcus salivarius, Lactobacillus rhamnosus* และ *Lactobacillus reuteri* พบว่าเมื่อให้โพรไบโอติกส์ควบคู่กับการให้ยาต้านเชื้อราในการรักษา จะเกิดการเสริมฤทธิ์กันได้ดี จึงสามารถพิจารณาโพรไบโอติกเป็นทางเลือกในการรักษาการติดเชื้อราในช่องปาก รวมถึงทางเลือกในการป้องกันการเกิดการติดเชื้อราในช่องปาก ในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องได้[16]

การใช้โพรไบโอติกร่วมกับรักษารากฟัน ฟันที่ต้องรักษารากฟันเกิดจากการที่เชื้อแบคทีเรียลุกลามจากรอยผุในตัวฟันเข้าสู่โพรงประสาทฟัน และเกิดการอักเสบรอบๆรากฟัน จากการศึกษาทางคลินิกพบว่าโพรไบโอติกมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อ *Enterococcus faecalis* ที่มักพบเมื่อมีการอักเสบรอบปลายยรากฟันเกิดขึ้น และเมื่อนำโพรไบโอติกมาใช้เป็นยาใส่ในคลองรากฟันระหว่างการรักษารากฟัน ก็พบว่ามีปริมาณเชื้อดังกล่าวลดลงอย่างมีนัยสำคัญ[17] รวมไปถึง

การศึกษาทางห้องทดลองยังพบว่า โพรไบโอติกสามารถลดการอักเสบบริเวณปลายรากฟันได้ โดยพบว่าทำให้ปริมาณสารก่อการอักเสบลดลง และมีสารต้านการอักเสบที่มากขึ้นในฟันที่มีรากฟันอักเสบของสัตว์ทดลองที่ได้รับโพรไบโอติก[18]

ส่วนในงานศัลยกรรมในช่องปาก พบว่าไม่ค่อยมีการศึกษาถึงประโยชน์ในแง่มุมต่างๆของโพรไบโอติกที่ส่งผลต่องานทางศัลยกรรมเท่าใดนัก โดยมีการศึกษาที่ศึกษาเกี่ยวกับผลของโพรไบโอติก *Lactobacillus reuteri* ต่อการหายของแผลหลังผ่าตัดฟันกรามล่างซี่ที่สาม พบว่าไม่มีความแตกต่างของการหายของแผล หรือปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ส่งผลเสียต่อการหายของแผลระหว่างการใช้หรือไม่ใช้โพรไบโอติก แต่พบว่าผู้ป่วยมีอาการบวมและอัตราลางานน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับโพรไบโอติก ซึ่งการศึกษานี้เองก็ยังมีข้อจำกัดหลายอย่าง[54]

จากการทบทวนวรรณกรรมข้างต้น พบว่าผลของโพรไบโอติกสามารถอธิบายได้ 2 กระบวนการ คือ (1) การส่งผลต่อเชื้อก่อโรคต่างๆ ในแง่การยับยั้งการเจริญเติบโต ขัดขวางการยึดเกาะของเชื้อเหล่านี้ ปรับสมดุลส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย และ (2) การส่งผลโดยตรงต่อร่างกาย ในการส่งเสริมภาวะภูมิคุ้มกัน ต้านการอักเสบโดยลดการหลั่งสารก่อการอักเสบต่างๆ ซึ่งในงานทางศัลยกรรมช่องปาก เป็นหัตถการที่มักจะทำให้เกิดแผล และการอักเสบของเนื้อเยื่อ อย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ และต้องการการส่งเสริมการหายของแผลที่ดีเพื่อผลการรักษาที่ดีตามมา ซึ่งเป็นแง่มุมที่ยังควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลของโพรไบโอติกต่อกระบวนการอักเสบและการหายของแผล ว่าจะมีผลส่งเสริมการหายของแผลได้ผ่านกระบวนการข้างต้นอย่างไรได้บ้าง เพื่อนำมาพัฒนาผลการรักษาทางศัลยกรรมช่องปากต่อไป

กระบวนการอักเสบและการหายของแผล

กระบวนการหายของแผลเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องและคาบเกี่ยวกันของขั้นตอนต่างๆอย่างเป็นลำดับ ได้แก่ การเกิดลิ่มเลือด การแข็งตัวของเลือด การอักเสบ การสร้างเนื้อเยื่อทั่วไปและเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน การสร้างสารเคลือบเซลล์ (Extracellular matrix) หลังจากนั้นจึงเกิดการปรับโครงสร้างของแผล (Remodeling) จนแผลหายสมบูรณ์และเกิดกระบวนการเพิ่มความแข็งแรงของแผลจนกลายเป็นเนื้อเยื่อปกติ[19-22] โดยกระบวนการเหล่านี้จะสามารถแบ่งออกเป็นขั้นตอนใหญ่ๆได้ทั้งหมด 4 ขั้นตอน ดังนี้

1.ระยะการเกิดลิ่มเลือด และการแข็งตัวของเลือด (Coagulation and homeostasis phase) เป็นขั้นตอนแรกที่เกิดขึ้นทันทีหลังการเกิดแผล หลอดเลือดจะเกิดการหดตัวเพื่อส่งเสริมการหยุดไหลของเลือด หลังจากนั้นจะเกิดกระบวนการการแข็งตัวของเลือดผ่านแฟคเตอร์ต่างๆ ทั้ง

ทาง Intrinsic pathway และ Extrinsic pathway นำไปสู่การเกาะตัวกันของเกล็ดเลือด และมีการปล่อยสารเหนี่ยวนำการเกิดลิ่มเลือดตามมา[19, 20] ลิ่มเลือดนี้นอกจากจะมีบทบาทในการห้ามเลือดแล้ว ยังมีบทบาทในการเป็นพื้นที่สำหรับเซลล์ต่างๆที่จะเข้ามามีบทบาทในกระบวนการหายของแผลในบริเวณนั้นๆต่อไป หลังจากนั้นเกล็ดเลือดจะหลั่งโกรทแฟคเตอร์และไซโตไคน์ เช่น platelet derived growth factor (PDGF), transforming growth factor-β (TGF-β) ซึ่งจะทำหน้าที่ดึงดูดเซลล์ที่ส่งเสริมการหายของแผลเช่น เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลล์, แมคโครฟาจ, เซลล์เยื่อบุชั้นในของหลอดเลือด (Endothelial cells) และ ไฟโบรบลาสต์ มาที่บริเวณบาดแผล[19, 21] นอกจากนี้เกล็ดเลือดยังมีสารที่ทำให้เกิดการขยายตัวของหลอดเลือดและเพิ่มการซึมผ่านผนังหลอเลือด (Vascular permeability) เป็นสาเหตุของการบวมของแผลซึ่งส่งผลสู่ขั้นตอนการอักเสบต่อไป[19]

2.ระยะการอักเสบ (Inflammatory phase) เป็นขั้นตอนที่ระบบภูมิคุ้มกันจะมีบทบาทสำคัญในการกำจัดเชื้อบริเวณบาดแผล โดยขั้นตอนนี้จะแบ่งออกเป็น 2 ระยะ ได้แก่

2.1.<u>การอักเสบระยะต้น (Early inflammatory phase)</u> เริ่มตั้งแต่ช่วงท้ายของขั้นตอนการหยุดของเลือด จะมีการเหนี่ยวนำนิวโทรฟิลล์มาที่บริเวณบาดแผล ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการกำจัดเชื้อแบคทีเรีย สิ่งแปลกปลอมต่างๆ และเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย[19-21] โดยการฟาโกไซโทซิสและทำลายด้วยเอนไซม์ต่างๆ ในกระบวนการเหนี่ยวนำนิวโทรฟิลล์นี้ สารที่มีบทบาทสำคัญ ได้แก่ TGF-β, Complement รวมถึงสารอื่นๆ ที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียและเกล็ดเลือด โดยจะเกิดขึ้นในช่วง 24-36 ชั่วโมงแรกหลังเกิดแผล[19] นิวโทรฟิลล์เองก็สามารถหลั่งสารกระตุ้นการอักเสบได้เช่นกัน ซึ่งเป็นการส่งเสริมให้เกิดการตอบสนองของร่างกายได้มากขึ้น[23] เมื่อเชื้อแบคทีเรียถูกกำจัดจนหมดนิวโทรฟิลล์จะค่อยๆลดบทบาทลง เกิดการตายของเซลล์ และถูกกำจัดในระยะต่อไป[19]

2.2.<u>การอักเสบระยะหลัง (Late inflammatory phase)</u> ระยะนี้จะเกิดช่วง 48-72 ชั่วโมงหลังเกิดบาดแผล เซลล์ที่มีบทบาทสำคัญคือแมคโครฟาจ เป็นเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงมาจากเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซท์ เมื่อมาถึงบริเวณบาดแผล จะถูกดึงดูดมาที่บริเวณแผลโดยสารต่างๆ เช่น Clotting factor, Complement, PDGF และ TGF-β เป็นต้น แมคโครฟาจจะมาทำหน้าที่ฟาโกไซโทซิสต่อจากนิวโทรฟิลล์ และจะมีอายุยาวกว่า เป็นเซลล์ที่มีความสำคัญอย่างมากต่อกระบวนการอักเสบ เป็นแหล่งของโกรทแฟคเตอร์ต่างๆ รวมถึง ยังมีบทบาทในการกระตุ้น เซลล์เคราติโนไซท์, ไฟโบรบลาสต์ และ เซลล์เยื่อบุชั้นในหลอดเลือด ซึ่งมีความจำเป็นต่อกระบวนการหายของแผลในขั้นตอนต่อๆไป การขาดเซลล์โมโนไซท์และแมคโครฟาจ จะส่งผลให้เกิดการผิดปกติของกระบวนการหายของแผล จากการขาดกระบวนการกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เพียงพอ ความผิดปกติในการแบ่งตัวและเจริญเติบโตของไฟโบรบลาสต์ และการสร้างหลอดเลือดใหม่ที่

ล่าช้าลง ส่งผลให้เกิดการหายของแผลที่อ่อนแอกว่าปกติ และเซลล์สุดท้ายที่จะถูกเหนี่ยวนำมาที่บริเวณบาดแผลในระยะนี้คือ เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซท์ ซึ่งจะพบได้ในช่วงหลังจาก 72 ชั่วโมงหลังการเกิดแผล[19]

3.ระยะการสร้างเนื้อเยื่อทดแทน (Proliferative phase) หลังจากที่สิ่งแปลกปลอมและเชื้อแบคทีเรียถูกกำจัดจนหมดแล้ว ก็จะเข้าสู่กระบวนการซ่อมแซมของเนื้อเยื่อ โดยจะเริ่มในวันที่ 3 และเกิดต่อเนื่องจนถึงช่วงสัปดาห์ที่ 2 หลังเกิดการบาดเจ็บ จะเกิดการเคลื่อนย้ายของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ เข้าสู่บริเวณบาดแผล มีการสร้างสารเคลือบเซลล์ นับเป็นช่วงของการเกิดเนื้อเยื่อแกรนูเลชัน (Granulation tissue) ที่บาดแผล[19] โดยกระบวนการย่อยๆ ที่เกิดขึ้นจะมี ดังนี้

3.1.<u>การเคลื่อนตัวมาของไฟโบรบลาสต์ (Fibroblast migration)</u> เกิดขึ้นในวันที่ 3 ของการเกิดแผล เซลล์ไฟโบรบลาสต์จะถูกเหนี่ยวนำโดยโกรทแฟคเตอร์ที่หลั่งจากเซลล์อักเสบและเกล็ดเลือด เมื่อไฟโบรบลาสต์มาถึงบริเวณบาดแผลจะสร้างโปรตีนต่างๆ เช่น Hyaluronan, Fibronectin, Proteoglycan, Type1 และ Type3 procollagen[19, 20] ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของสารเคลือบเซลล์[21] หลังจากนั้นจะเกิดการหดตัวของแผล ส่งเสริมให้เกิดขอบแผลที่ชัดเจน [19]

3.2.<u>การสังเคราะห์คอลลาเจน (Collagen synthesis)</u> เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นโดยเซลล์ไฟโบรบลาสต์ คอลลาเจนจัดเป็นองค์ประกอบสำคัญในทุกขั้นตอนของการหายของแผล และมีบทบาทสำคัญในช่วงการสร้างเนื้อเยื่อทดแทนและช่วงการปรับสมดุลโครงสร้างของแผล ซึ่งส่วนใหญ่ในเนื้อเยื่อปกติมักจะพบคอลลาเจนชนิดที่ 1 และชนิดที่ 3[19]

3.3.<u>การสร้างหลอดเลือดใหม่และการสร้างเนื้อเยื่อแกรนูเลชัน (Angiogenesis and granulation tissue formation)</u> การสร้างหลอดเลือดใหม่เริ่มจากการดึงดูดเซลล์เยื่อบุชั้นในของหลอดเลือด โดยสารกระตุ้นการสร้างหลอดเลือดต่างๆ สารที่มีบทบาทสำคัญ ได้แก่ Fibroblast growth factor (FGF), vascular endothelial growth factor (VEGF) การสร้างหลอดเลือดใหม่จะเกิดจากบริเวณหลอดเลือดเดิมรอบๆบาดแผล สร้างเข้าสู่บริเวณแผล และเกิดเป็นร่างแหของหลอดเลือดใหม่ในบริเวณบาดแผลต่อไป[19]

3.4.<u>การสร้างเยื่อบุผิว (Epithelialization)</u> หลังจากการสร้างหลอดเลือดเสร็จสิ้นจะมีเซลล์เยื่อบุ (epithelial cells) เคลื่อนที่มาจากบริเวณขอบแผล เกิดเป็นชั้นของเซลล์ และหลังจากนั้นจึงมีการสร้าง Basement membrane ขึ้นต่อไป[19]

4.ระยะการปรับสมดุลโครงสร้างของแผล (Remodeling phase) ขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการหายของแผล เป็นขั้นตอนสำคัญในการเกิดชั้นเนื้อเยื่อบุผิวใหม่ และการเกิดแผลเป็น โดยจะเกิดการทำลายและการสร้างองค์ประกอบต่างๆของการหายของแผลอย่างมีสมดุล ในระยะ

นี้ กลุ่มของคอลลาเจน จะมีขนาดใหญ่ขึ้น ส่งผลให้ความแข็งแรงของแผลดีขึ้น นอกจากนี้จะมีการทำลายคอลลาเจนเดิมที่มีการเรียงตัวไม่ดี โดยเอนไซม์ Matrix metalloproteinase (MMP) ที่หลั่งจากนิวโทรฟิลล์, แมคโครฟาจ และไฟโบรบลาสต์ หลังจากนั้นจึงสร้างคอลลาเจนใหม่ที่เป็นระเบียบมากขึ้น[19]

หลังจากกระบวนหายของแผลสิ้นสุดลงไฟโบรบลาสต์ และแมคโครฟาจ จะลดจำนวนลงโดยเกิดกระบวนการตายของเซลล์ การสร้างหลอดเลือดใหม่จะหยุดลง ปริมาณเลือดที่ไปเลี้ยงที่บาดแผลจะลดลง และเกิดการหายของแผลที่สมบูรณ์ซึ่งมีจำนวนเซลล์และหลอดเลือดที่ลดลง มีความแข็งแรงที่มากขึ้น[19]

ในภาวะปกติการหายของแผลจะเกิดเป็นระยะตามลำดับ ในช่วงเวลาที่ถูกต้องและเหมาะสม หากกระบวนการหายของแผลไม่เป็นไปตามลำดับ ช่วงเวลา และระยะเวลาตามปกติ หากระยะใดระยะหนึ่งถูกขัดขวาง หรือมีระยะเวลานานกว่าปกติ จะส่งผลให้เกิดการหายของแผลที่ช้า หรือเป็นแผลเรื้อรัง[21] โดยแผลเรื้อรังส่วนใหญ่มักจะพบความผิดปกติในระยะของการอักเสบ ที่ใช้เวลานานหรือไม่สมบูรณ์ ทำให้ไม่สามารถเข้าสู่ระยะต่อไปได้[21, 22]

ปัจจัยอื่นๆที่ส่งผลต่อการหายของแผล ได้แก่ ออกซิเจน โดยปริมาณออกซิเจนที่เหมาะสมนั้นมีความสำคัญในการหายของแผล ภาวะขาดออกซิเจนจะกระตุ้นการหลั่งสารที่ส่งเสริมการหายของแผล รวมถึงการสร้างหลอดเลือด ในขณะที่ออกซิเจนเองก็มีความสำคัญในการหายของแผลเช่นกัน การติดเชื้อบริเวณบาดแผลเป็นอีกปัจจัยสำคัญที่จะส่งผลเสียต่อการหายของแผล กล่าวคือ เชื้อแบคทีเรีย และสารพิษที่เชื้อผลิต จะทำให้การหลั่งสารอักเสบมีมากขึ้นและนานขึ้น เช่น interleukin-1 (IL-1), Tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) และส่งผลให้ระยะอักเสบมีเวลานานเกินควร ส่งผลสู่การเป็นแผลเรื้อรัง นอกจากนี้ อายุของผู้ป่วยก็เป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ทำให้กระบวนการหายของแผลเกิดช้าลง เนื่องจากการตอบสนองของเซลล์ และการหลั่งสารต่างๆจะเกิดขึ้นช้าลง ผู้ป่วยเบาหวาน ผู้ป่วยที่ได้รับยาสเตียรอยด์ ยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่เสตียรอยด์ (NSAIDs) ผู้ได้รับเคมีบำบัด พฤติกรรมการดื่มแอลกอฮอล์ สูบบุหรี่ รวมไปถึงภาวะทางโภชนาการ ล้วนส่งผลต่อกระบวนการหายของบาดแผลทั้งสิ้น[21]

แมคโครฟาจ (Macrophages)

ในระยะของกระบวนการอักเสบมีเซลล์ที่มีบทบาทสำคัญ และสารสำคัญต่างๆที่หลั่งจากเซลล์เหล่านี้มากมายที่จะส่งผลต่อการหายของแผล โดยแมคโครฟาจจัดเป็นเซลล์หนึ่งที่มีบทบาทเด่นในกระบวนการหายของแผล[21, 23, 24] ในช่วงแรกของกระบวนการ แมคโครฟาจจะปล่อย

ไซโตไคน์ที่ส่งเสริมกระบวนการอักเสบ พร้อมทั้งดึงดูดลิมโฟไซท์มาที่บริเวณบาดแผล และยังทำหน้าที่กำจัดเซลล์ตายในบริเวณนั้นๆ เช่น นิวโทรฟิลล์ เพื่อจัดการสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมต่อกระบวนการต่อๆไป หลังจากนั้นแมคโครฟาจจะมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะจากเดิม ซึ่งจะสามารถกระตุ้นเคราติโนไซท์, ไฟโบรบลาสต์ และกระบวนการสร้างหลอดเลือดเพื่อเข้าสู่ระยะต่อไป[21] จะเห็นได้ว่า แมคโครฟาจมีความสำคัญต่อการเปลี่ยนผ่านจากระยะอักเสบสู่ระยะการสร้างเนื้อเยื่อ[21, 23] หากขาดเซลล์นี้ไปจะทำให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อที่ลดลงหรือเกิดการคั่งของเลือด รวมไปถึงระยะต่างๆของการหายของแผลจะไม่สามารถเกิดต่อเนื่องกันได้อย่างเหมาะสม[23]

แมคโครฟาจที่พบบริเวณแผลมาจาก 2 แหล่งด้วยกัน ได้แก่ แมคโครฟาจเดิมที่อยู่บริเวณผิวหนังตั้งแต่แรกเกิด และ แมคโครฟาจที่เปลี่ยนมาจากโมโนไซท์ ที่ถูกเหนี่ยวนำมาที่แผลและถูกกระตุ้นในช่วงแรกของการเกิดบาดแผล[24] เมื่อแมคโครฟาจเคลื่อนที่มาที่แผลแล้วจะเปลี่ยนแปลงไปเป็นลักษณะต่างๆ และจะมีบทบาทต่างกันในระยะต่างๆ ตั้งแต่กระตุ้นการอักเสบ ยับยั้งการอักเสบ และส่งเสริมการสร้างเนื้อเยื่อ จะเห็นว่าเป็นการเกิดขึ้นอย่างมีลำดับเพื่อเข้าสู่ระยะต่อไปของการหายของแผล

เริ่มต้นจากในระยะแรกที่เข้ามาบริเวณบาดแผล จะเปลี่ยนลักษณะไปเป็นแมคโครฟาจ ชนิด M1 ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการอักเสบ เกี่ยวข้องกับกระบวนการฟาโกไซโทซิส และการผลิตสารกระตุ้นการอักเสบต่างๆ[23, 24] ได้แก่ Nitric oxide, Reactive oxygen species (ROS), IL-1, IL-6 และ TNF-α และยังผลิต MMP ที่จะทำลายสารเคลือบเซลล์ เพื่อเพิ่มพื้นที่ให้กับเซลล์อักเสบอื่นๆที่จะถูกเหนี่ยวนำมาในภายหลัง[24] หลังจากนั้นจะเปลี่ยนชนิดต่อเป็นชนิด M2 ที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการผลิตสารต้านการอักเสบ[23, 24] มีการสร้างสารที่กระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์ เช่น PDGF, Insulin-like growth factor, VEDF [24] เป็นการเริ่มกระบวนการแบ่งตัวของไฟโบรบลาสต์ การเกิดเนื้อเยื่อแกรนูเลชัน การสร้างหลอดเลือด[23, 24] และสร้างสารที่ส่งเสริมการสร้างสารเคลือบเซลล์ นำไปสู่การปิดของแผลและเกิดแผลเป็น[24] ในการส่งเสริมการสร้างหลอดเลือดแมคโครฟาจ จะเคลื่อนที่ไปยังหลอดเลือดที่สร้างขึ้นใหม่ และส่งเสริมการเชื่อมต่อกัน รวมทั้งส่งเสริมการคงสภาพของหลอดเลือด[24] กระบวนการเปลี่ยนแปลงของแมคโครฟาจจาก M1 เป็น M2 มีความสำคัญอย่างมากต่อหายของแผล หากกระบวนการนี้ไม่เกิดขึ้น การหายของแผลจะคงอยู่ในระยะอักเสบ และทำให้แผลไม่หาย หรือเกิดเป็นแผลเรื้อรัง เช่น ในผู้ป่วยเบาหวาน เป็นต้น[23, 24]

โกรทแฟคเตอร์และไซโตไคน์

มีโกรทแฟคเตอร์หลายชนิดที่ถูกผลิตจากเซลล์ชนิดต่างๆ และมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการหายของแผล ในที่นี้จะยกตัวอย่างบางชนิด ที่มีความสำคัญและโดดเด่น ดังนี้

- Platelet-derived growth factor family (PDGFs) เป็นโกรทแฟคเตอร์ตัวแรกที่ถูกหลั่งออกมาหลังจากเกิดบาดแผล มีความสามารถในการเหนี่ยวนำเซลล์ชนิดต่างๆให้เคลื่อนตัวมายังบริเวณบาดแผล เช่น นิวโทรฟิลล์, โมโนไซท์, ไฟโบรบลาสต์ และยังส่งเสริมการแบ่งตัวของไฟโบรบลาสต์ รวมถึงการสร้างสารเคลือเซลล์อีกด้วย โดย PDGFs จะถูกหลั่งจากเกล็ดเลือดในระยะแรกของการหายของแผล[55]

- Fibroblast growth factor family (FGFs) มีบทบาทในการกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์หลายชนิด เช่น เซลล์เยื่อบุผิว, ไฟโบรบลาสต์ , เคราติโนไซท์ และยังถูกพบว่าสามารถส่งเสริมการอยู่รอดของเซลล์ในภาวะเครียด รวมถึงพบว่า FGF1 และ FGF2 มีบทบาทในการกระตุ้นการสร้างหลอดเลือดใหม่[55]

- Vascular endothelial growth factor family (VEGF) มีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งในกระบวนการสร้างหลอดเลือดใหม่ในกระบวนการหายของแผล จะถูกหลั่งหลังเกิดบาดแผลโดยเคราติโนไซท์ และ แมคโครฟาจ[55]

- Transforming growth factor-β (TGF-β) ถูกหลั่งจากเกล็ดเลือดเป็นส่วนใหญ่ พบได้ทันทีหลังเกิดแผล และมีบทบาทสำคัญในการดึงดูดเซลล์อื่นๆ เช่น นิวโทรฟิลล์, แมคโครฟาจ และ ไฟโบรบลาสต์ มาที่แผล หลังจากนั้นเซลล์เหล่านี้ยังเพิ่มปริมาณของ TGF-β ในเวลาต่อมาด้วย ซึ่งTGF-β มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของไฟโบรบลาสต์ และยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ชนิดอื่นๆ เช่น เคราติโนไซท์[55]

Proinflammatory cytokine มีหลายชนิด และมีบทบาทแตกต่างกันในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการหายของเซลล์ เช่น กระตุ้นการแบ่งตัวของเคราติโนไซท์ และ ไฟโบรบลาสต์, สร้างและทำลายสารเคลือบเซลล์, ควบคุมการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน เซลล์ที่เป็นแหล่งสำคัญของไซโตไคน์เหล่านี้คือ แมคโครฟาจ ซึ่งไซโตไคน์เหล่านี้มีความสำคัญอย่างมากต่อกระบวนการหายของแผล โดยหลังจากที่แผลหายดีแล้วจะพบว่าปริมาณของสารเหล่านี้จะลดลงอย่างมาก[55] ตัวอย่างของ Proinflammatory cytokine ที่สำคัญ เช่น Interleukin-6 จากการศึกษาพบว่าหนูที่ขาด IL-6 จะเกิดกระบวนการหายของแผลช้ากว่าหนูปกติถึง 3 เท่าและมีการสร้างเนื่อเยื่อแกรนูเลชันที่ผิดปกติ แต่ในทางตรงข้ามหากมีปริมาณ IL-6 มากเกินไปก็จะทำให้เกิดแผลเป็นที่

มากขึ้นเช่นกัน[55] และ proinflammatory cytokine อีกชนิดที่มีความสำคัญอย่างมากต่อกระบวนการหายของแผล คือ tumor necrosis factor-alpha (TNF-α)

Process	Growth Factors/Cytokines Involved
Neutrophil infiltration	TGF-β, MCP-1, MIP2/GRO-α, IL-8, IL-6, IL-10(−)
Macrophage infiltration	TGF-β, MCP-1, MIP-1α, IL-10(−)
Angiogenesis	VEGF-A, PLGF, FGF2, Angiopoietins, HGF, Cyr61, MCP-1, IL-8, GRO-α, GM-CSF, IP-10(−)
Fibroplasia	PDGF, TGF-β, CTGF, GM-CSF, IGFs
Matrix deposition	FGF2, IGF-1, NGF, TGF-β, Activin, MCP-1, CTGF, Cyr61
Scarring	IGF-I, TGF-β, Activin, CTGF, IL-6, IL-10(−)
Reepithelialization	FGF2, FGF7, FGF10, EGF, TGF-α, HB-EGF, NDF, IGFs, NGF, Activin, MCP-1, IL-6, GM-CSF, Leptin, TGF-β(−), BMP-6(−), IP-10(−)

Note that a functional proof for these activities has only been obtained in very few cases. Furthermore, it is unclear whether the observed effects are direct or indirect. (−), Negative regulation. See text for definitions.

ภาพประกอบ 1 Growth factor , cytokine ต่างๆ และผลต่อกระบวนการหายของแผล

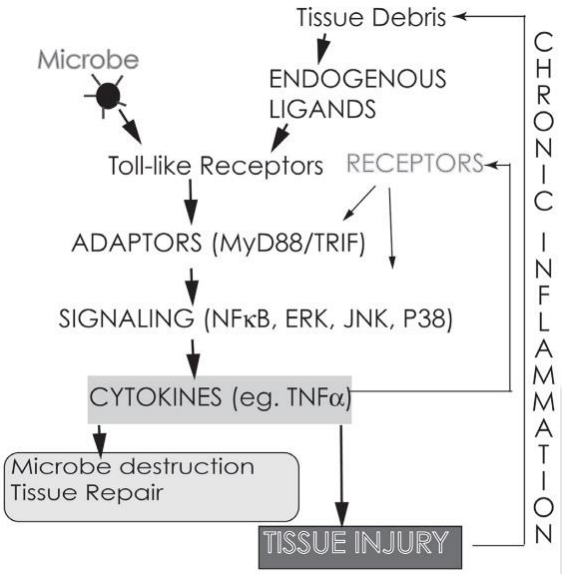
ที่มา : Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. Physiol Rev. 2003;83(3):835-70. eng. 2003/07/05.

Tumor necrosis factor-alpha (TNF-α)

TNF-α เป็นหนึ่งใน Proinflammatory cytokine ที่ถูกหลั่งหลังเกิดการบาดเจ็บ การติดเชื้อ หรือจากการกระตุ้นของ Lipopolysaccharide (LPS) จากแบคทีเรีย และถูกพบว่าเป็นสารตัวแรกๆที่ถูกหลั่งออกมามากที่สุดในเนื้อเยื่อที่มีการอักเสบ[25] TNF-α จึงถือว่าเป็นตัวควบคุมหลักในบรรดา Proinflammatory cytokine ทั้งหมด และยังสามารถเพิ่มปริมาณของสารอื่นได้ เช่น Prostaglandin และ Platelet activating factor โดยเซลล์ที่สามารถสร้าง TNF-α ได้จะเป็นเซลล์กลุ่มโมโนไซท์ เช่น แมคโครฟาจ, ไมโครเกลีย, เซลล์ลังเกอร์ฮันส์ เป็นต้น พบว่าการแสดงออกของยีนส์ของ TNF-α จะถูกควบคุมในระดับของ Transcription ด้วยตัวแปร ได้แก่ Nuclear factor kappa b (NF**K**B) และ Nuclear factor T cells (NF-AT)[25] TNF-α ถือว่ามีความสำคัญต่อกระบวนการอักเสบ ที่จำเป็นต้องเกิดในกระบวนการหายของแผล โดยพบว่า TNF-α มีส่วนเกี่ยวข้องในกระบวนการกำจัดเซลล์ที่ตายแล้วของแมคโครฟาจ ซึ่งเป็นกระบวนการที่สำคัญต่อกระบวนการหายของแผล[25] และ TNF-α ยังส่งเสริมกระบวนการหายของแผล ผ่านโดยกระตุ้น Bone morphogenetic protein (BMP) และการเคลื่อนที่ของเซลล์เยื่อบุผิวอีกด้วย[22]

ในขณะเดียวกัน TNF-α ก็ถูกพบว่ามีความเกี่ยวข้องกับการเกิดแผลเรื้อรัง จากการที่มีความสำคัญในการกระตุ้นและการเหนี่ยวนำเซลล์อักเสบอื่นๆ รวมถึงยังมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบเรื้อรังของอวัยวะต่างๆอีกด้วย[25] โดยเมื่อเกิดแผลเรื้อรังมักจะพบ

ระดับ TNF-α ที่สูงขึ้นทั้งปริมาณในบริเวณนั้นๆ และปริมาณทั่วร่างกาย และพบว่าการยับยั้ง TNF-α เป็นกระบวนการสำคัญในการรักษากระบวนการหายของแผลที่ผิดปกติ[22] จึงมีการศึกษามากมายเกี่ยวกับการรักษาโรคที่เกิดจากความผิดปกติของกระบวนการอักเสบของร่างกาย โดยมุ่งเน้นไปที่การจัดการกับ TNF-α [25]



ภาพประกอบ 2 บทบาทของ TNF-α ต่อการเกิดแผลเรื้อรัง

ที่มา : Parameswaran N, Patial S. Tumor necrosis factor-α signaling in macrophages. Crit Rev Eukaryot Gene Expr. 2010;20(2):87-103. eng.

จากการวิจัยที่ผ่านมาของกลุ่มวิจัย ในการศึกษาผลของโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 ต่อการส่งเสริมการหายของแผลหลังผ่าตัดฟันกรามซี่ที่ 3 ผ่านการควบคุมปริมาณ TNF-α พบว่าเมื่อใช้น้ำเลี้ยงโพรไบโอติกล้างบริเวณแผลผ่าตัด และชุบผ้าก๊อซให้ผู้ป่วยกัดหลังผ่าตัด ตรวจพบปริมาณ TNF-α จากน้ำเหลืองเหงือกบริเวณผ่าตัดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ บ่งบอกได้ว่าโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 นี้สามารถยับยั้งการสร้าง TNF-α ได้ และถึงแม้ว่าจะไม่พบความแตกต่างทางสถิติ แต่พบว่าผู้ป่วยในกลุ่มทดลองมีอาการปวด บวม และอ้าปากไม่ขึ้น น้อยกว่าในกลุ่มควบคุม จึงกล่าวได้ว่าโพรไบโอติกยังส่งผลดีต่อภาวะข้างเคียงต่างๆหลังผ่าตัดฟันกรามซี่ที่ 3 ด้วย[26] และกลุ่มวิจัยยังได้ต่อยอดการศึกษาในการนำโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 มาพัฒนาเป็นน้ำยาบ้วนปาก เพื่อส่งเสริม

กระบวนการหายของแผลหลังผ่าตัด โดยทำการพัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก และสารสกัดกัญชา พบว่า สูตรที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกความเข้มข้น 10% และสารสกัดกัญชา 1% ให้ผลดีที่สุดในการยับยั้งการหลั่ง TNF-α โดยพบว่ามีปริมาณต่ำกว่ากลุ่มควบคุมลบถึงกว่า 70% จึงสามารถสรุปได้ว่า สารสกัดกัญชา มีคุณสมบัติเสริมฤทธิ์ต้านการอักเสบ ในการยับยั้งการหลั่ง TNF-α ของโพรไบโอติกได้ดี[27]

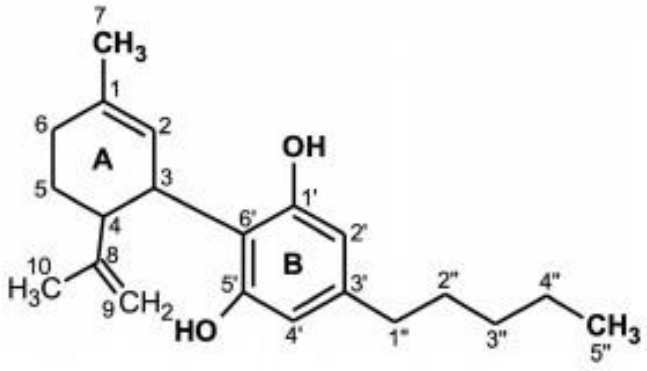
กัญชา (Cannabis)

กัญชา ในภาษาอังกฤษเรียกว่า Marijuana หรือ cannabis มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Cannabis sativa* L. จัดอยู่ใน Family Cannabaceae[29, 33] Genus Cannabis[56] กัญชาเป็นพืชที่มีที่มาจากเอเชียตอนกลาง[29, 33] ลำต้นสามารถโตได้สูงถึง 3 เมตร หรือน้อยกว่านั้น ขึ้นกับสภาพแวดล้อม ลักษณะใบเป็นใบประกอบแบบนิ้วมือ มี 5-7 ใบในแต่ละก้าน ลักษณะดอก จะมีดอกเพศผู้และดอกเพศเมียแยกกัน[33] โดยดอกเพศเมียจะมีลักษณะของ Trichome structure ซึ่งเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์สำคัญของกัญชา[30, 33, 35, 57] พืชอีกชนิดที่มีลักษณะคล้ายกัญชาและเป็นสายพันธ์ใกล้ชิด คือ กัญชง (Hemp) สามารถแยกออกจากกันได้ด้วยลักษณะใบที่จะมีขนาดบางสีอ่อนกว่า ลักษณะของก้าน การแตกกิ่ง และดอก รวมถึงสัดส่วนสารออกฤทธิ์จะต่างกัน[29, 33]

ภาพประกอบ 3 ลักษณะใบและดอกของต้นกัญชา

ที่ ม า : Sommano SR, Chittasupho C, Ruksiriwanich W, Jantrawut P. The cannabis terpenes. Molecules. 2020;25(24). eng. 2020/12/12.

ปัจจุบันพบว่ามีการนำกัญชามาใช้ได้หลายวัตถุประสงค์รวมถึงทางการแพทย์ แต่ในขณะเดียวกันก็เป็นพืชที่ถูกห้ามปลูกในหลายประเทศเนื่องจากมีสารออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท[33] พบสารเหล่านี้ในกัญชามากถึง 500 ชนิด สารที่ได้รับการศึกษาถึงมากที่สุดคือ Cannabinoids ซึ่งก็มีมากถึง 104 ชนิด และ 2 ชนิดที่ได้รับการศึกษาคุณสมบัติทางเภสัชวิทยามากที่สุด ได้แก่ Tetrahydrocannabinol (THC) และ Cannabidiol (CBD)[28] จากการศึกษาพบว่าฤทธิ์ของกัญชาที่ส่งผลต่อจิตประสาทมีความเกี่ยวข้องกับปริมาณสาร THC ในขณะที่ CBD มีแนวโน้มจะส่งผลตรงกันข้าม[28, 30] CBD เป็นสารประกอบ Terpenophenol ชนิดหนึ่ง ประกอบไปด้วยคาร์บอน 21 อะตอม วงแหวนไซโคลเฮกซีน วงแหวนฟีโนลิก และเพนทิลไซด์เชน[32, 34, 35] โดยคุณสมบัติทางเคมีของ CBD จะขึ้นกับตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิลรอบๆวงแหวนฟีโนลิก[32] ดังภาพที่ 4 โดย A คือวงแหวนไซโคลเฮกซีน, B คือวงแหวนฟีโนลิก

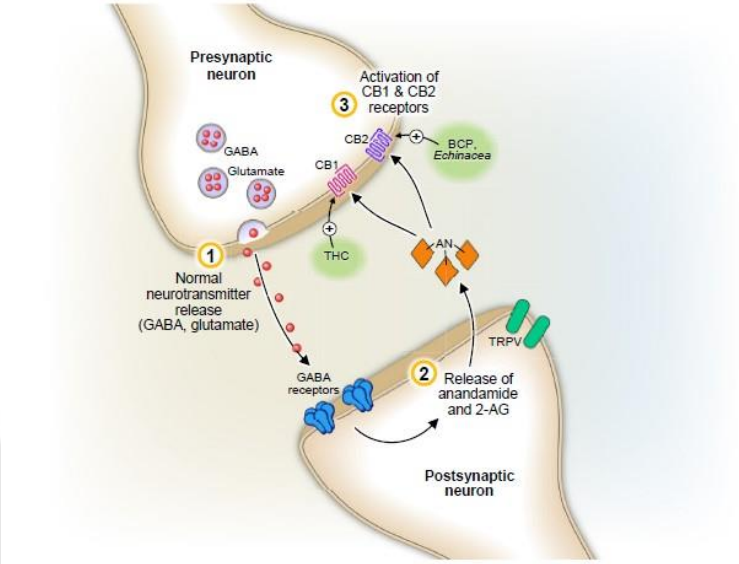


ภาพประกอบ 4 โครงสร้างทางโมเลกุลของ CBD

ที่มา: Atalay S, Jarocka-Karpowicz I, Skrzydlewska E. Antioxidative and anti-inflammatory properties of cannabidiol. Antioxidants (Basel). 2019;9(1). eng. 2019/12/29.

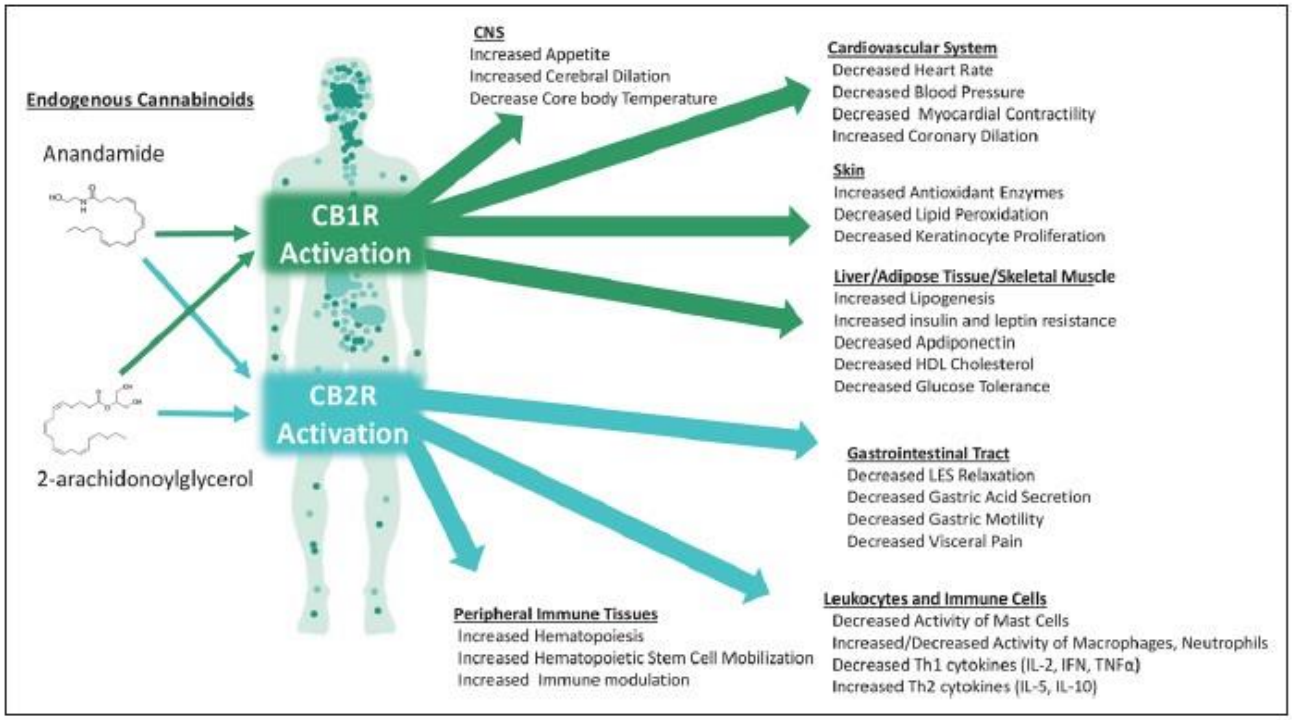
ร่างกายของเราเองก็มีสาร Endogenous cannabinoids[30, 56] ในระบบ Endocannabinoid system (ECS) ที่เกี่ยวข้องและมีความสำคัญกับการควบคุมสมดุลของร่างกายในระบบอื่นๆหลายระบบ[30, 32, 56] สารดังกล่าวที่มักมีการกล่าวถึง ได้แก่ Anadamide และ 2-arachidonylglycerol [30, 56] และในระบบนี้ประกอบด้วย Cannabinoid receptor ที่สำคัญอีก 2 ชนิด ได้แก่ CB1 และ CB2 receptors ซึ่งเป็น G-protein coupled receptor ซึ่งจะพบปริมาณ

ของแต่ละชนิดในแต่ละบริเวณต่างกัน กล่าวคือ CB1 receptors มักจะพบมากบริเวณระบบประสาทส่วนกลางที่เซลล์ประสาทก่อนไซแนปส์ (Presynaptic neuron) เช่น ในสมอง และไขสันหลัง ส่วน CB2 receptors พบปริมาณมากในเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกัน และเนื้อเยื่อต่างๆ [56]



ภาพประกอบ 5 กลไกและโมเลกุลที่เกี่ยวข้องในระบบ Endocannabinoid system (ECS)

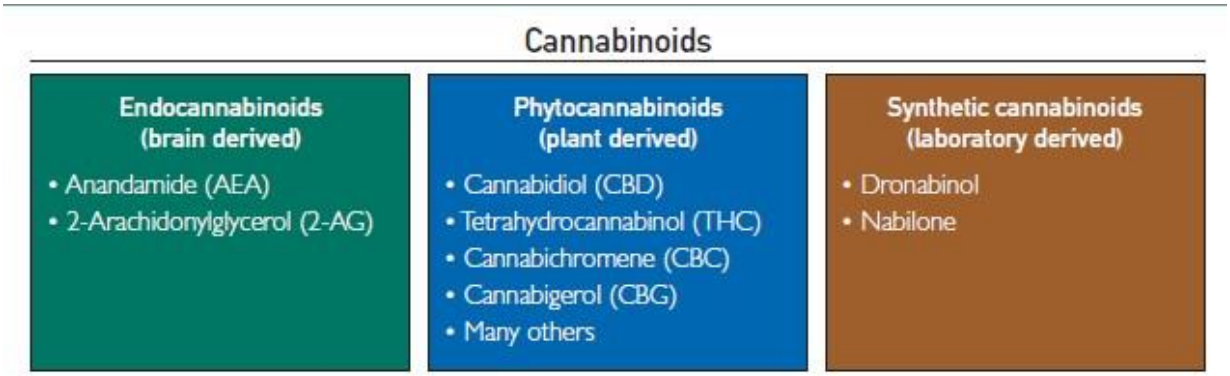
ที่มา: VanDolah HJ, Bauer BA, Mauck KF. Clinicians' guide to cannabidiol and hemp oils. Mayo Clin Proc. 2019;94(9):1840-51. eng. 2019/08/27.



ภาพประกอบ 6 ผลของสาร Endocannabinoid ต่อระบบต่างๆของร่างกาย ผ่าน Endocannabinoid system (ECS)

ที่มา: Page RL, 2nd, Allen LA, Kloner RA, Carriker CR, Martel C, Morris AA, et al. Medical marijuana, recreational cannabis, and cardiovascular health: A scientific statement from the american heart association. Circulation. 2020;142(10):e131-e52. eng. 2020/08/06.

สาร Cannabinoids ที่ได้จากพืช หรือ Phytocannabinoids สามารถมีบทบาทในระบบ ECS ได้เช่นเดียวกัน[30] นอกจากนี้ยังมีสารที่ได้จากการสังเคราะห์ เรียกว่า Synthetic cannabinoids[30, 56] สารเหล่านี้จะมีโครงสร้างและคุณสมบัติทางชีวภาพคล้ายกับ Endogenous cannabinoids[32] ซึ่งในกัญชาพบว่ามีสาร Phytocannabinoids มากกว่า 80 ชนิด ซึ่งรวมถึง THC และ CBD ดังที่กล่าวแล้วข้างต้น[30] สาร THC จะจับได้ทั้งกับ CB1 และ CB2 receptor ของระบบ ECS[30, 56] จึงส่งผลต่อระบบประสาททำให้มีอาการมึนเมา ส่วน CBD จะไม่ได้จับ receptors โดยตรง[56] แต่จะส่งผลได้หลากหลายทาง เช่น การยับยั้งการนำกลับไปใช้ใหม่ (Reuptake) หรือการสลาย[30] และเพิ่มประสิทธิภาพของสาร Endocannabinoids ของร่างกาย[56] กระตุ้นและส่งเสริมการทำงานของ Receptor ต่างๆ[30] รวมถึงส่งผลต่อการทำงานของ CB1 receptors[56]



ภาพประกอบ 7 สาร cannabinoids ที่พบในร่างกาย ที่ได้จากพืช และที่ได้จากการสังเคราะห์

ที่มา: VanDolah HJ, Bauer BA, Mauck KF. Clinicians' guide to cannabidiol and hemp oils. Mayo Clin Proc. 2019;94(9):1840-51. eng. 2019/08/27.

กัญชากับการแพทย์

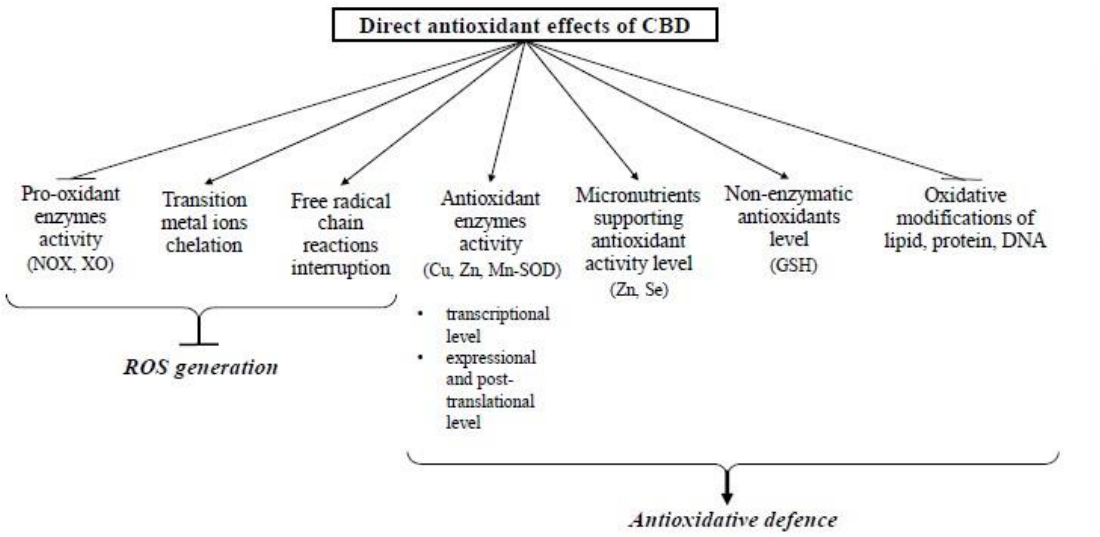
กัญชาได้ถูกนำมาใช้ทางการแพทย์ร่วมในการรักษาในหลายๆด้าน เช่น ใช้บรรเทาอาการเจ็บปวด ลมชัก[28-31] รักษากล้ามเนื้อหดเกร็ง ลดการอักเสบ อาการนอนไม่หลับ และต้อหิน เนื่องจากมีฤทธิ์ผ่อนคลายและช่วยให้สงบ[28, 29, 32-34] ส่วนใหญ่เป็นฤทธิ์จาก CBD โดยพบว่าเมื่อได้รับในขนาดต่ำ จะออกฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาท แต่หากให้ในขนาดปานกลางถึงมากจะออกฤทธิ์ผ่อนคลายได้[28] และกัญชายังสามารถใช้รักษาการติดเชื้อจากแบคทีเรียและเชื้อราได้ด้วย[33] ส่วนกัญชงเองก็สามารถรักษาภาวะซึมเศร้า ปวดหัว คลื่นไส้ และภาวะไม่อยากอาหารได้เช่นกัน[29] สาร Synthetic cannabinoids หลายตัวยังได้รับการรับรองจาก US Food and Drug Administration (FDA) ในการใช้ร่วมกับการรักษาโรคหลายๆโรคอีกด้วย[28] นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาพบว่า สาร CBD จากกัญชาอาจใช้ในการรักษาภาวะผิดปกติที่เกิดจากการใช้สารโอปิออยด์, โคเคน และสารกระตุ้นจิตประสาทอื่นได้[28, 33] รวมถึงใช้ร่วมในการรักษาโรคทางระบบหลอดเลือดและหัวใจ โรคทางระบบประสาท มะเร็ง และโรคทางระบบเมแทบอลิก และยังพบว่าสาร Phytocannabinoid ในพืชนี้ยังช่วยส่งเสริมการหายของแผลจากการศึกษาในหนู โดยพบว่าสารดังกล่าวจะส่งเสริมการทำงานของ Endothelial growth factor (VEGF)ได้[32]

มีการศึกษาและสรุปเป็นหลักฐานประกอบการยืนยันผลทางการรักษาของกัญชาในหลายๆโรคในระดับต่างๆ การรักษาที่มีหลักฐานประกอบในระดับปานกลางถึงสูง ได้แก่ การใช้กัญชารักษาและบรรเทาภาวะปวดเรื้อรัง หรือภาวะปวดจากระบบประสาท พบว่ามีการควบคุมภาวะดังกล่าวผ่านระบบ ECS และพบว่าสาร THC ในกัญชาออกฤทธิ์ระงับปวดและต้านอาการปวดผิดปกติต่างๆ[31] การใช้รักษาภาวะกล้ามเนื้อหดเกร็งที่เกี่ยวข้องกับ โรคปลอกประสาทเสื่อมแข็ง (Multiple sclerosis) และ โรคลมชัก ส่วนในหลักฐานประกอบระดับปานกลาง ได้แก่ การรักษาโรคระบบทางเดินอาหาร, การติดเชื้อ HIV ในขณะที่การนำมาใช้รักษาต้อหิน ภาวะเครียดหลังประสบอุบัติเหตุ และโรคพากินสันพบว่ามีหลักฐานประกอบในระดับต่ำ[31]

ในขณะที่มีการนำกัญชามาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง ก็มีรายงานถึงผลข้างเคียงและอาการไม่พึงประสงค์ที่เกิดจากกัญชาเช่นกัน จึงมีคำแนะนำในการเลือกใช้กัญชาในผู้ป่วยว่าควรคำนึงถึงโรคประจำตัว ภาวะต่างๆ และยาที่ผู้ป่วยได้รับ[58] โดยห้ามใช้ในผู้ป่วยตั้งครรภ์ หรือให้นมบุตร[58, 59] และระมัดระวังในผู้ป่วยที่บกพร่องทางภูมิคุ้มกันจากการปนเปื้อนของเชื้อในสารสกัดกัญชา, ผู้ป่วยสูงอายุซึ่งมีความสามารถในการทำลายสารออกฤทธิ์ในกัญชาได้ช้า รวมถึงผู้ป่วยโรคตับ เนื่องจากสารออกฤทธิ์ของกัญชาจะถูกทำลายที่ตับก่อนขับออกจากร่างกาย ผู้ป่วยโรคตับมักมีการทำงานของตับที่ไม่สมบูรณ์ทำให้ลดความสามารถในการทำลายสารเหล่านั้นด้วย ในขณะที่ผู้ป่วยโรคไต พบว่าสามารถใช้กัญชาในการรักษาได้ แต่ควรให้ในปริมาณที่ต่ำ[58] นอกจากนี้ยังต้องคำนึงถึงยาที่ผู้ป่วยได้รับ เนื่องจากพบวากัญชาและยาบางชนิดอาจส่งผลต่อกันได้ โดยจะเป็นยากลุ่มที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ไซโตโครมในตับ เช่น ยาในกลุ่มกันชัก, ยาฆ่าเชื้อรา และยาปฏิชีวนะบางชนิด[58, 59] ผลข้างเคียงต่างๆของกัญชาที่น่าเป็นกังวล มักมาจากสาร THC ซึ่งออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท เช่น อาการวิงเวียน คลื่นไส้ ปากแห้ง สับสน และ มึนงง ในขณะที่สาร CBD จะเกิดผลข้างเคียงน้อยกว่า และไม่เป็นที่น่ากังวลมากนัก จึงแนะนำให้ใช้สารสกัดกัญชาที่มีสัดส่วนของ CBD เป็นส่วนใหญ่ในการรักษาผู้ป่วย และเริ่มใช้ในปริมาณน้อยๆก่อน จึงค่อยๆเพิ่มความเข้มข้นร่วมกับการติดตามอาการ และผลการรักษาอย่างใกล้ชิด จะช่วยลดอันตรายที่อาจเกิดจากกัญชาได้[58, 59] ฤทธิ์ต่างๆของกัญชาที่มีการศึกษาว่ามีประโยชน์ต่อการนำมาประกอบการรักษา สามารถอธิบายได้ ดังนี้

ฤทธิ์ต้านการอักเสบและต้านอนุมูลอิสระ

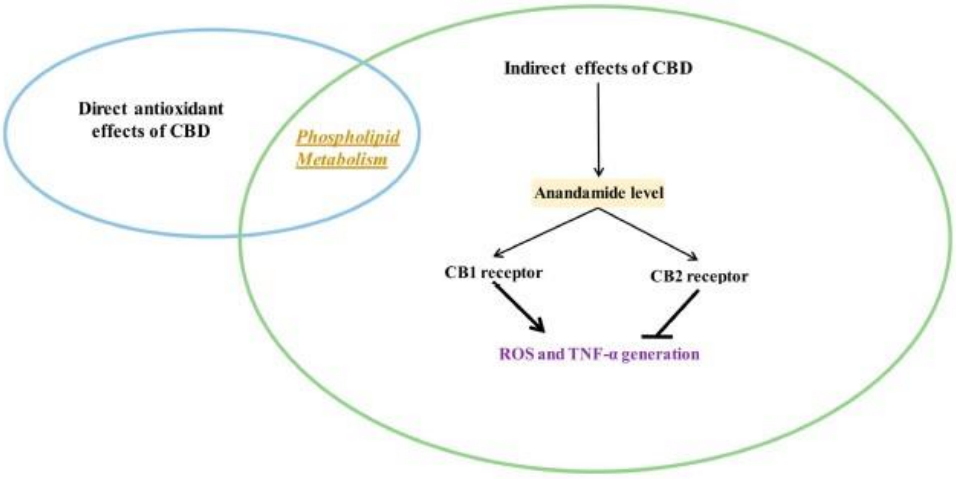
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกัญชาพบว่าเกิดจาก Cannabidiol (CBD) พบว่า CBD ส่งผลต่อปฏิกิริยารีดอกซ์ของร่างกาย ผ่านการเปลี่ยนแปลงระดับและการทำงานของทั้งสารออกซิแดนท์ และสารต้านอนุมูลอิสระ โดย CBD จะส่งผลเหมือนสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆในการรบกวนกระบวนการการเกิดอนุมูลอิสระ (Free radical chain reactions) การเข้าจับกับอนุมูลอิสระ (Free radical) หรือเปลี่ยนอนุมูลอิสระเหล่านั้นให้อยู่ในรูปแบบที่ไม่ออกฤทธิ์ หรือออกฤทธิ์น้อยลง และยังส่งผลลดการเกิด Reactive oxygen species (ROS) ด้วย ผลการต้านอนุมูลอิสระของ CBD นี้จะส่งผลผ่านการควบคุมที่ระดับ Transcription ของโปรตีน ซึ่งเกี่ยวข้องกับ Antioxidant gene พบว่าผลในการต้านอนุมูลอิสระที่โดดเด่นที่สุดของ CBD คือ การลดการเกิดการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน และไขมันโดย ROS ส่งผลให้ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงอื่นๆทั้งการส่งสัญญาณ และการเกิดเมแทบอลิซึมของเซลล์[32]



ภาพประกอบ 8 ผลการต้านอนุมูลอิสระของ CBD

ที่มา: Atalay S, Jarocka-Karpowicz I, Skrzydlewska E. Antioxidative and anti-inflammatory properties of cannabidiol. Antioxidants (Basel). 2019;9(1). eng. 2019/12/29.

ในทางอ้อม Endocannabinoid system สามารถควบคุมเมแทบอลิซึมของเซลล์โดยควบคุมผ่านสมดุลการเกิดรีดอกซ์ ซึ่ง CBD ในกัญชาสามารถช่วยส่งเสริมกระบวนการนี้ได้ โดยพบว่า CBD จะช่วยเพิ่มปริมาณของ Anandamide (AEA) และส่งผลต่อการกระตุ้นหรือยับยั้งการส่งสัญญาณผ่าน Cannabinoid receptors (CB1,CB2)[32, 34] เมื่อ CB1 receptor ถูกกระตุ้นจะทำให้มีการเพิ่มการสร้าง ROS และการหลั่ง pro-inflammatory เช่น tumor necrosis factor α (TNF-α) โดยพบว่า CBD มีผลควบคุมยับยั้ง CB1 receptor ได้ ในขณะเดียวกัน การกระตุ้น CB2 receptor จะทำให้ลดระดับของ ROS และ TNF-α ซึ่ง CBD เองก็เป็นสารที่สามารถเข้าจับและกระตุ้น Receptor ดังกล่าวได้อย่างอ่อนๆเช่นกัน[32, 35]



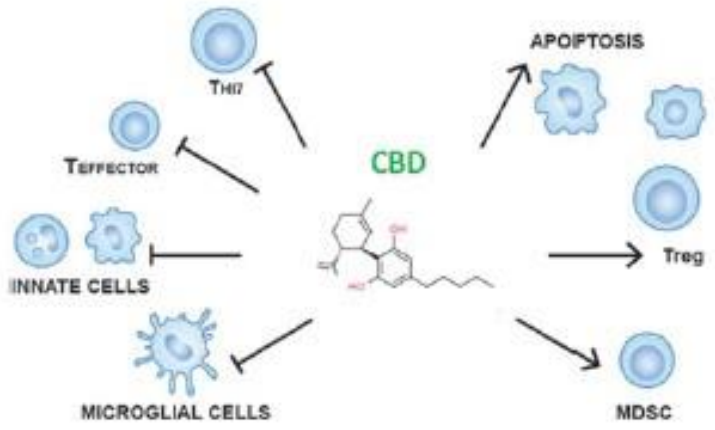
ภาพประกอบ 9 ผลการต้านอนุมูลอิสระทางอ้อมของ CBD ผ่าน Endocannabinoid system

ที่ ม า : Atalay S, Jarocka-Karpowicz I, Skrzydlewska E. Antioxidative and anti-inflammatory properties of cannabidiol. Antioxidants (Basel). 2019;9(1). eng. 2019/12/29.

จากกระบวนการดังกล่าว จึงสามารถกล่าวได้ว่า CBD เองก็มีผลต้านการอักเสบได้ด้วย มีการศึกษายืนยันผลว่า CBD สามารถลดระดับ Proinflammatory cytokine[32, 34] ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ที, กระตุ้นการอะพอพโทซิสของเซลล์ที, ลดการเคลื่อนตัวและเกาะตัวของเซลล์ระบบภูมิคุ้มกัน ผ่านความสามารถในการยับยั้ง CB2 receptor และความสามารถในการเพิ่มปริมาณ AEA รวมถึงการกระตุ้นผ่าน MAPK pathway ที่มีบทบาทในการควบคุมการมีชีวิต การแบ่งตัว และการตายของเซลล์[32] นอกจากจะส่งผลต่อ Cannabinoid receptor แล้ว CBD ยังส่งผล

ต่อ receptor อื่นๆอีกหลายชนิดในการส่งผลต้านการอักเสบโดยส่งผลผ่านระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย[32] มีการศึกษาหลายการศึกษาพบว่า CBD สามารถลดการสร้าง TNF-α ที่ถูกกระตุ้นจาก LPS ผ่าน adenosine A_{2A} receptors โดยเฉพาะในเซลล์ไมโครเกลีย[34]

Endocannabinoid system ถูกพบว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยการควบคุมผ่านการเคลื่อนที่ของเซลล์ต้นแบบต่างๆ การกำหนดหน้าที่และการเคลื่อนย้ายของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันแต่กำเนิด (Innate immune cell) และยังควบคุมระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (Adaptive immunity) ด้วย[35] ในทิศทางเดียวกันนี้เอง CBD ก็ส่งผลถึงระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายในหลายกระบวนการ เช่น ในกระบวนการของระบบภูมิคุ้มกันแต่กำเนิด พบว่า CBD เหนี่ยวนำการเกิดอะพอพโทซิสของโมโนไซท์ และยังส่งผลต่อแมคโครฟาจ โดยเจาะจงที่การลดปริมาณ Nitric oxide ผ่านการลดปริมาณ Inducible nitric oxide synthase (iNOS) และการยับยั้ง Nuclear factor-**K**B (NF-**K**B) ซึ่งส่งผลต่อการหลั่ง TNF-α และ IL-6 รวมไปถึงยังพบว่า CBD ส่งผลเปลี่ยนแปลงการทำงานของนิวโทรฟิลล์อีกด้วย โดยสรุปจึงสามารถกล่าวได้ว่า CBD มีผลในการต้านการอักเสบ และกดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ผ่านการขัดขวางการหลั่งไซโตไคน์, คีโมไคน์, ยับยั้งการทำงานของเซลล์ระบบภูมิคุ้มกันโดยตรงผ่านการควบคุม Transcription factors และส่งผลต่อการเกิดอะพอพโทซิสของเซลล์ระบบภูมิคุ้มกันบางชนิด[34]



ภาพประกอบ 10 ผลของ CBD ในการกดการทำงานของภูมิคุ้มกันโดยสรุป

ที่มา: Nichols JM, Kaplan BLF. Immune responses regulated by cannabidiol. Cannabis Cannabinoid Res. 2020;5(1):12-31. eng. 2020/04/24.

ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

นอกจากการนำมาร่วมกับการรักษาต่างๆจาก ฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระและต้านอักเสบแล้ว ยังมีการศึกษาอย่างแพร่หลายถึงฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ทั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราของสาร CBD ในกัญชา ทั้งจากสารสกัดจากใบ ก้าน และเมล็ด พบว่ามีความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรียดื้อยา และเชื้อราหลายชนิด ในส่วนของการศึกษาจากสาร Cannabinoid พบว่ามีฤทธิ์ทั้งยับยั้งการเจริญเติบโตและฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Bacteriostatic and bactericidal) โดยพบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในระดับมาก และฤทธิ์ต้านเชื้อราแบบอ่อนๆ โดยความสามารถในการต้านเชื้อจะขึ้นกับโครงสร้างทางเคมีของสาร Cannabinoid นั้น เช่นเดียวกันกับสาร Endocannabinoid ในร่างกายอย่าง Anandamide (AEA) ก็พบว่าสามารถยับยั้งการเกิดไบโอฟิล์มได้[35] นอกจากนี้ยังพบความสามารถในการเสริมฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของ Cannabinoid อีกด้วย[35, 36]

มีการศึกษามากมายถึงผลของ CBD ต่อเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ พบว่า CBD มีฤทธิ์ต้านเชื้อทั้ง เชื้อแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae, Clostridioides difficile* รวมถึง Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) เชื้อแบคทีเรียแกรมลบ และเชื้อ Anaerobe [36, 60] โดยกลไกพบว่าเกิดโดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง Lipopolysaccharide ของแบคทีเรียและซึมเข้าผ่านเข้าไปภายในเซลล์ ยับยั้งการสร้างโปรตีน DNA RNA และ Peptidoglycan ของเชื้อแบคทีเรีย[36]

กัญชากับทันตกรรม

ในทางทันตกรรมเองก็มีการศึกษาเกี่ยวกับการนำกัญชามาใช้ร่วมกับการรักษาเช่นกัน จากคุณสมบัติบรรเทาปวด ต้านการอักเสบและยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของกัญชา จึงมีการนำกัญชามาศึกษา ในการรักษาอาการปวดจากฟันและเหงือก รักษาและป้องกันฟันผุ รวมถึงลดอาการเหงือกอักเสบด้วย โดยกัญชาสามารถใช้เป็นยาต้านเชื้อจุลินทรีย์ ยาฆ่าเชื้อเพื่อส่งเสริมสุขภาพช่องปากของผู้ป่วย[37] จากการที่ Cannabinoid สามารถจับกับ CB2 receptor ดังที่ได้อธิบายไว้นั้น พบว่ามี Receptor เหล่านี้สามารถถูกพบได้ที่ต่อมน้ำลาย จึงอาจเป็นปัจจัยสำคัญในการนำมาศึกษาการรักษาโรคในช่องปากต่างๆได้ โดยพบว่า กลไกนี้ทำให้เกิดการขัดขวางการยับยั้งผลของ AEA ต่อการหลั่งน้ำลาย ทำให้ส่งผลเพิ่มการหลั่งของน้ำลายได้[37]

ในปัจจุบันมีการนำ Cannabinoids มาใช้ในทางทันตกรรมในหลายสาขาวิชา โดยทั้ง THC และ CBD เองมีฤทธิ์บรรเทาอาการปวดได้ จึงอาจสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมอาการเจ็บปวดในการถอนฟันทั้งระหว่างและหลังการรักษาได้[37] มีการศึกษาหลายการศึกษาพบว่า

การเกิด Burning mouth syndrome (BMS) มีการเพิ่มขึ้นของ CB2 และการลดลงของ CB1 receptor จึงกล่าวได้ว่า ECS อาจเป็นเป้าหมายที่ดีในการรักษา BMS รวมถึง Cannabinoids ก็เป็นสารที่มีประสิทธิผลและมีความปลอดภัยในการลดอาการของ BMS ได้[37] CBD ยังนำมาใช้ในการรักษาและป้องกันการเกิดฟันผุได้ จากฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียดังที่ได้กล่าวแล้ว และใช้ในการรักษาหรือบรรเทาความวิตกกังวลระหว่างทำฟันในผู้ป่วยได้ด้วย มีการศึกษาหนึ่งแนะนำการให้ CBD ทางใต้ลิ้น 15-30 มิลลิกรัม ก่อนเริ่มทำหัตถการเพื่อช่วยลดความวิตกกังวลและลดอาการเจ็บจากการทำหัตถการ[37] ส่วนการรักษาโรคทางปริทันต์เองก็พบว่า ECS ส่งผลควบคุมหรือยับยั้งการอักเสบของเซลล์ยึดปริทันต์รอบฟันได้ดี จึงสามารถกล่าวได้ว่า Cannabinoids มีคุณสมบัติที่เหมาะต่อการรักษาโรคปริทันต์ ทั้งลดเชื้อแบคทีเรีย, ต้านการอักเสบ, ต้านอนุมูลอิสระ และออกฤทธิ์ลดปวด[37] ยิ่งไปกว่านั้นยังอาจมีประโยชน์ในการรักษามะเร็งช่องปาก เนื่องจากพบว่าในมะเร็งบางชนิดจะพบปริมาณ CB1 และ CB2 เพิ่มขึ้น รวมถึง Cannabinoids เองยังมีคุณสมบัติ ต้านอนุมูลอิสระ, ต้านการแพร่กระจายของมะเร็ง, ต้านการเกิดมะเร็ง, ต้านการเกิดหลอดเลือดใหม่ และกระตุ้นการตายของมะเร็งบางชนิดได้ด้วย นอกจากนี้แล้วคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของ CBD ยังอาจใช้รักษาภาวะช่องปากอักเสบ (oral mucositis) หลังฉายรังสีรักษาได้อีกด้วย[37]

มีการศึกษาพบว่า Cannabinoid มีประสิทธิภาพในการลดโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียในคราบพลัคได้ดีกว่ายาสีฟันในท้องตลาด[60] จากคุณสมบัติการยับยั้งความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อแบคทีเรีย ลดกิจกรรมต่างๆของเชื้อในไบโอฟิล์ม และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะของผิวเซลล์แบคทีเรีย[60] อีกการศึกษาทำการเปรียบเทียบการนำ CBD มาทำน้ำยาบ้วนปาก พบว่าให้ผลฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้เทียบเท่า คลอเฮกซิดีน 0.2%[61] จึงอาจกล่าวได้ว่าสารจากกัญชาอาจเป็นอีกทางเลือกที่มีประสิทธิภาพในการใช้เติมในผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปาก[37] และในการศึกษาการผสม CBD ลงในผงขัดฟัน เปรียบเทียบกับการขัดด้วยผงขัดปกติ พบว่าสามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียหลังขัดฟันได้อย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากผงขัดปกติไม่สามารถยับยั้งการเกิดคราบพลัคของเชื้อแบคทีเรียได้ เมื่อเติม CBD เพิ่มในผงขัดแล้วทำให้เกิดการยับยั้ง และลดความสามารถในการยึดเกาะกันของเชื้อ ทำให้ความสามารถในการสร้างคราบพลัคลดลง[62] จากที่กล่าวมา จะเห็นได้ว่าคุณสมบัติต่างๆของกัญชาสามารถนำมาประยุกต์ส่งเสริมการรักษาทางทันตกรรมได้หลายทาง และยังคงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

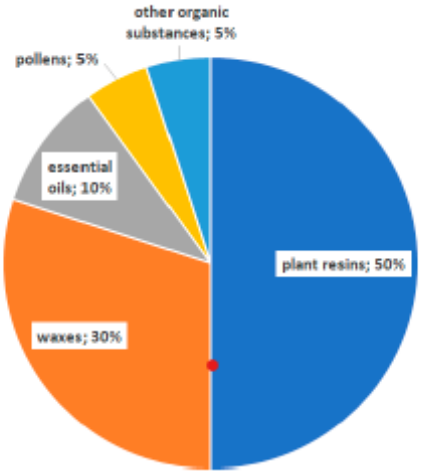
จากความรู้ของผู้วิจัย ยังมีสารออกฤทธิ์อื่นๆอีกหลายชนิดที่ส่งผล ต้านการอักเสบและส่งเสริมการหายของแผลได้ จึงเป็นที่น่าสนใจว่าจะสามารถเพิ่มเติมสารชนิดอื่นๆเพื่อเพิ่มผลของการต้านการอักเสบในน้ำยาบ้วนปากสูตรใหม่ได้ดียิ่งขึ้น

พรอพอลิส (Propolis)

คำว่า Propolis เป็นคำจากภาษากรีก โดยเกิดจากคำสองคำ ได้แก่ Pro หมายถึง ด้านหน้า หรือ ทางเข้าสู่ และคำว่า Prolis หมายถึง ชุมชน หรือ เมือง เมื่อรวมกันจึงสื่อถึงสารที่ใช้เพื่อปกป้องรังของผึ้ง[38, 40, 45] โดยทั่วไปพรอพอลิสจะเป็นที่รู้จักในอีกชื่อว่า กาวผึ้ง (Bee glue) เป็นสารเหนียวสีน้ำตาลที่ถูกเก็บสะสมโดยผึ้งงาน จากใบและเปลือกของต้นไม้หลากหลายชนิด เมื่อสารเหนียวจากต้นไม้ถูกเก็บมาจะถูกผสมกับเอนไซม์ของผึ้งกลายเป็น พรอพอลิส นำมาใช้เป็นวัสดุช่วยสร้างรังผึ้ง ปกป้องรังผึ้งจากเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา รวมถึงสัตว์และสิ่งแปลกปลอมอื่นๆ [38-42] และยังเป็นสารยึดรังผึ้งเข้ากับสิ่งที่รังผึ้งเกาะอยู่ ทำให้พื้นผิวด้านในรังเรียบเนียน และควบคุมอุณหภูมิภายในรังผึ้งให้อยู่ที่ประมาณ 35 องศาเซลเซียส ช่วยควบคุมระดับความชื้น และการไหลเวียนของอากาศอย่างเหมาะสม[40, 45]

คุณสมบัติและสารประกอบทางเคมีของพรอพอลิสจะแตกต่างกันไปตามแหล่งพื้นที่ต่างๆ ขึ้นกับชนิดพันธ์ไม้และลักษณะภูมิประเทศของแถบนั้น[38, 40-43] โดยพรอพอลิสจากแต่ละที่จะมีสีและเนื้อสัมผัสต่างกันไป[39, 40] เนื่องจากภูมิประเทศและภูมิอากาศที่ต่างกัน พรอพอลิสจากที่ต่างๆถูกนำมาเรียกเป็นชื่อชนิดของพรอพอลิส และชนิดที่เป็นที่รู้จักกันดี ได้แก่ พรอพอลิสบราซิล, ไต้หวัน, จีน, โอกินาวา, อินเดีย, ตุรกี, โปแลนด์, กรีซ, คิวบา และ อัฟริกา[39] ในอดีต การวัดคุณภาพของพรอพอลิสจะพิจารณาจากปัจจัยจากแหล่งกำเนิดต่างๆ เช่น ชนิดของผึ้ง ชนิดของพันธุ์ไม้ สภาพภูมิอากาศ ดังกล่าวข้างต้น แต่ในปัจจุบันมีการใช้เทคโนโลยีต่างๆในการช่วยวัดและประเมินคุณสมบัติของพรอพอลิสชนิดต่างๆ ตามลักษณะ ชนิด และปริมาณของสารเคมีที่ตรวจพบ[38, 63] โดยทั่วไปพรอพอลิสจะมีสีเขียว แดง หรือสีน้ำตาล[41] มีลักษณะแข็งในอุณหภูมิต่ำ อ่อนนุ่มในอุณหภูมิสูง และละลายได้ในอุณหภูมิ 60 ถึง 70 องศาเซลเซียส เมื่อจะนำมาใช้มักต้องนำมาสกัดเป็นสารสกัดด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมก่อน เช่น เอทานอล เมทานอล คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ และอะซิโตน เป็นต้น ซึ่งการสกัดพรอพอลิสในสารละลายต่างชนิดกันก็จะทำให้ได้องค์ประกอบของสารภายในพรอพอลิสที่ต่างกัน[41, 43] ตัวทำละลายที่มีคุณสมบัติดีและเป็นที่นิยมนำมาสกัดพรอพอลิส คือ เอทานอล[38, 40]

องค์ประกอบหลักของพรอพอลิส ประกอบไปด้วยเรซิ่น (Resin) (40%-50%), ขี้ผึ้ง (25%-30%), องค์ประกอบอื่นๆที่พบในพรอพอลิสได้แก่ น้ำมันหอมระเหย และ Aromatic acids (8%-10%), เศษเกสรต่างๆ(3%-5%), Organic acid และ Amino acid (1%-3%) และยังมีวิตามินและแร่ธาตุต่างๆเป็นองค์ประกอบอีกประมาณ 1% เช่น แมกนีเซียม, แคลเซียม, เหล็ก, โพแทสเซียม, ฟอสฟอรัส, ซิงค์ และ วิตามินซี, เอ, บีรวม เป็นต้น[38-40, 44, 45]



ภาพประกอบ 11 สัดส่วนองค์ประกอบของพรอพอลิส

ที่มา: Przybyłek I, Karpiński TM. Antibacterial properties of propolis. Molecules. 2019;24(11). eng. 2019/05/31.

สารต่างๆที่พบในพรอพอลิสมีมากกว่า 300 ชนิด[39, 42, 44] ปริมาณและชนิดสารที่พบจะต่างกันไปในพรอพอลิสแต่ละชนิด ตามภูมิอากาศ[40] โดยส่วนใหญ่จะพบสารชนิดโพลีฟีนอล, เอสเทอร์, ฟีโนลิก, อัลดีไฮด์ และคีโตน[38-40] สารโพลีฟีนอลสามารถแบ่งออกเป็น ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) และ สารที่ไม่ใช่ฟลาโวนอยด์ (Nonflavonoids) คือ กรดฟีโนลิก ได้แก่ อนุพันธ์ของกรดเบนโซอิก เช่น กรดแกลลิก และอนุพันธ์ของกรดซินนามิก เช่น กรดคาเฟอิก[43] ในขณะที่สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่มักพบในพรอพอลิสมี 12 ชนิด ได้แก่ Pinocembrin, Acacetin, Chrysin, Rutin, Luteolin, Kaempferol, Apigenin, Myricetin, Catechin, Naringenin, Galangin, และ Quercetin[38, 45] สารดังกล่าวเหล่านี้ถือเป็นสารออกฤทธิ์หลัก (Active components) นอกจากนี้ยังมีอีกหลายสารที่พบในพรอพอลิส เช่น Caffeic acid phenethyl ester (CAPE), Nemorosone, Tannins, Terpenes เป็นต้น[39]

จะเห็นได้ว่าพรอพอลิสอุดมไปด้วย แร่ธาตุ วิตามิน และสารประกอบทางชีวภาพต่างๆมากมาย รวมถึงสารออกฤทธิ์จากโพลีฟีนอลต่างๆ จึงทำให้พรอพอลิสมีคุณสมบัติที่เหมาะในการนำมาใช้เป็นทางเลือกในการใช้ร่วมกับการรักษาต่างๆเพื่อส่งเสริมผลการรักษา หรือเป็นทางเลือกในการรักษาได้[38, 39, 41]

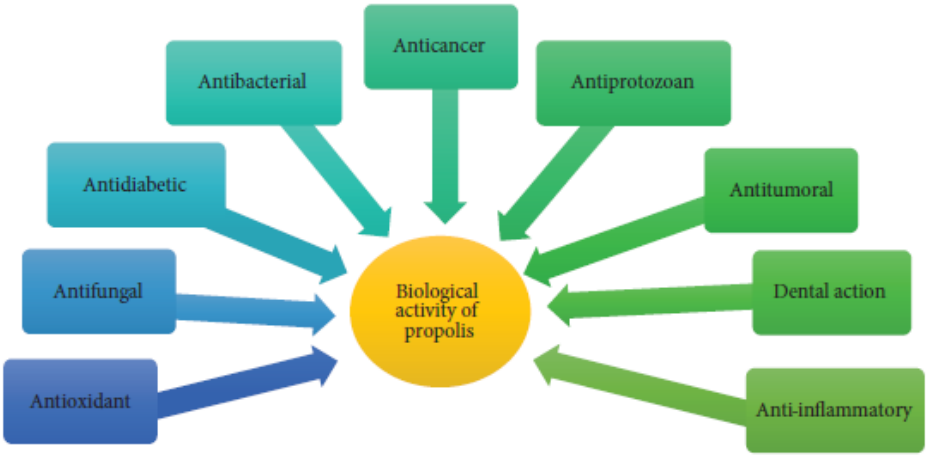
พรอพอลิสกับการแพทย์

มีประวัติการนำพรอพอลิสมาใช้ในทางการแพทย์ยาวนานกว่า 3000 ปี โดยพบว่าชาวอียิปต์โบราณใช้พรอพอลิสร่วมในการกักเก็บศพมัมมี่เพื่อคงสภาพ ชาวกรีกและเยอรมันนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของน้ำยาบ้วนปากเพื่อฆ่าเชื้อ และเป็นยาช่วยส่งเสริมการหายของแผล[38, 40] นิยมนำมาใช้ในการรักษาอาการต่างๆ เช่น อาการเจ็บคอ, เนื้อเยื่อช่องปากอักเสบ (Mucositis), แผลในกระเพาะอาหาร, ผื่นคัน, การติดเชื้อแบคทีเรีย, เชื้อไวรัส และเชื้อรา รวมถึงใช้ร่วมในการรักษามะเร็ง[39] ปัจจุบันเองก็มีการนำพรอพอลิสมาใช้เป็นส่วนประกอบของยาและผลิตภัณฑ์ต่างๆหลายชนิด ได้แก่ ยาสีฟัน, ยาอม, น้ำยาบ้วนปาก, ครีม, ยาแก้ไอ, สบู่, หมากฝรั่ง, แชมพู ไปจนถึงลูกอม และเค้ก[38, 40] โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ทางผิวหนังก็นิยมนำพรอพอลิสมาเป็นส่วนประกอบ ทั้งครีม, ยาขี้ผึ้ง และยังพบว่าพรอพอลิสมีประสิทธิผลที่ดีต่อการรักษาสิวอีกด้วย[45]

มีการศึกษามากมายพบว่า สารออกฤทธิ์ในพรอพอลิสมีคุณสมบัติช่วยป้องกันการบาดเจ็บของตับจากสารออกซิแดนท์ต่างๆ รวมถึงจากการบริโภคแอลกอฮอล์ที่มาก โดยส่งเสริมการฟื้นตัวของเซลล์[38] ช่วยเพิ่มระดับกลูตาไธโอน และลดการเกิด Lipid peroxidation และยังลดโอกาสการเกิดพิษของสารปรอทต่อตับ จึงกล่าวได้ว่าพรอพอลิสมีคุณสมบัติในการปกป้องตับ (Hepatoprotective)[40]

พรอพอลิสยังสามารถนำไปใช้ร่วมกับการรักษาภาวะเมแทบอลิกซินโดรมหรือภาวะอ้วนลงพุง และโรคเรื้อรังอื่นๆได้ด้วย และพรอพอลิสยังถูกรายงานว่าสามารถป้องกันการบาดเจ็บของระบบประสาทได้ คุณสมบัติดังกล่าวของพรอพอลิสจะช่วยป้องกันการเสื่อมของระบบความจำตามอายุ และการเกิดพยาธิสภาพต่างๆของสมอง เช่นโรคอัลไซเมอร์ พบว่าเมื่อได้รับในปริมาณต่ำพรอพอลิสจะสามารถลดอาการวิตกกังวล และลดอาการซึมเศร้าได้ โดยกลไกต่างๆนี้จะเกิดผ่านฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ, ต้านการอักเสบ และการควบคุมผ่านระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย อีกทั้งยังพบว่าสารฟลาโวนอยด์ชนิด Pinocembrin ในพรอพอลิส สามารถส่งเสริมการรักษาโรคทางระบบหัวใจและหลอดเลือด โดยให้ผลลดไขมันในเส้นเลือดดีเมื่อใช้ร่วมกับยา Simvastatin ส่วนสาร CAPE ในพรอพอลิสก็สามารถยับยั้งการเกิดการเกาะตัวกันของเกล็ดเลือดซึ่งนำไปสู่การเกิดลิ่มเลือด พรอพอลิสยังมีฤทธิ์ปกป้องเนื้อเยื่อของหัวใจได้อีกด้วย[38] โดยเชื่อว่าผลต่างๆเหล่านี้เกิดจากคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของพรอพอลิส[41]

จากที่ได้กล่าวข้างต้นแล้ว การที่พรอพอลิสมีองค์ประกอบทางเคมีที่หลากหลาย และคุณสมบัติที่แตกต่างกัน ทำให้พรอพอลิสมีฤทธิ์มากมาย ที่ส่งเสริมการรักษาโรคต่างๆได้ โดยสามารถช่วยยับยั้งการเกิดแผล ส่งเสริมการหายของแผล ต้านการเกิดอาการแพ้ ป้องกันการบาดเจ็บของระบบหลอดเลือดและหัวใจ, ไต และตับ อีกทั้งยังมีฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย, เชื้อรา, เชื้อไวรัส, ฤทธิ์ต้านการเกิดมะเร็ง, ต้านอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบอีกด้วย[38-41, 43, 45] โดยจะอธิบายต่อไป ดังนี้



ภาพประกอบ 12 คุณสมบัติต่างๆของพรอพอลิส

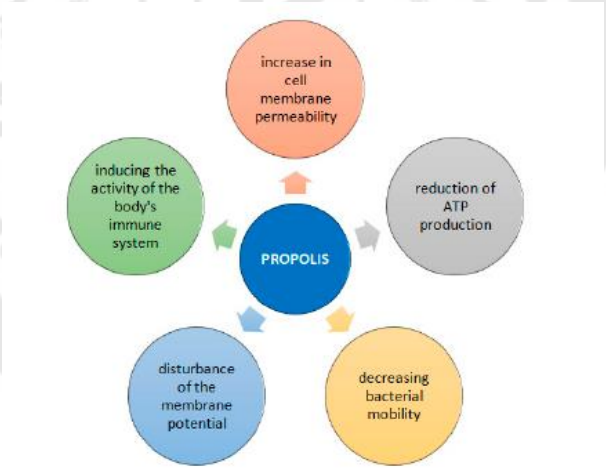
ที่มา : Pasupuleti VR, Sammugam L, Ramesh N, Gan SH. Honey, propolis, and royal jelly: A comprehensive review of their biological actions and health benefits. Oxid Med Cell Longev. 2017;2017:1259510. eng. 2017/08/18.

ฤทธิ์ต้านเชื้อ

ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

พรอพอลิสมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียจากการมีองค์ประกอบทางเคมีของสารหลายชนิดร่วมกัน โดยสารแต่ละชนิดให้ฤทธิ์ในกลไกที่ต่างกัน ชนิดของสารที่หลากหลายและสัดส่วนที่แตกต่างกันนี้ส่งผลดีต่อการต้านเชื้อแบคทีเรียรวมถึงลดโอกาสการเกิดการดื้อยาของเชื้อต่อพรอพอลิส[44, 64]

กลไกการต้านเชื้อแบคทีเรียของพรอพอลิสแบ่งออกได้เป็น 2 ระดับ คือ 1).การส่งผลโดยตรงต่อเชื้อ และ 2).ผ่านการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย[38, 44] การส่งผลต่อเชื้อเกิดจากคุณสมบัติในการเพิ่ม Cell membrane permeability, การขัดขวางการสร้างพลังงาน, ลดการเคลื่อนที่ของเชื้อ[38, 41, 42, 44, 64], ยับยั้งกระบวนการถอดรหัสพันธุกรรมของเชื้อแบคทีเรีย[41, 42, 64], ยังยับยั้งการสังเคราะห์ Nucleic acid และการเกิดไบโอฟิล์มของเชื้อ[41, 64] โดยสารที่ทำให้เกิดคุณสมบัติดังกล่าวคือฟลาโวนอยด์ ได้แก่ Galangin, Pinocembrin, Rutin, Quercetin, Naringenin และ CAPE นอกจากนี้ สาร Galangin, Pinocembrin และ CAPE ยังสามารถยับยั้งกระบวนการ RNA polymerase ของเชื้อแบคทีเรียได้ด้วย[42] กล่าวคือพรอพอลิสจะมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Bactericidal) ผ่านการยับยั้งการแบ่งเซลล์, ทำลายผนังเซลล์, ไซโตพลาสซึมของเซลล์ และยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน[40, 41, 63] ในส่วนของการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันจะเกิดร่วมกับการต้านการอักเสบ ในการต้านการเกิด Prostaglandin และ Nitric oxide ผ่านการควบคุม NF-**K**B[44]



ภาพประกอบ 13 กลไกการออกฤทธิ์โดยตรงต่อเชื้อในการต้านเชื้อแบคทีเรียของพรอพอลิส

ที่มา: Przybyłek I, Karpiński TM. Antibacterial properties of propolis. Molecules. 2019;24(11). eng. 2019/05/31.

พรอพอลิสมีผลต่อเชื้อแบคทีเรียมากกว่า 600 ชนิด ทั้งในกลุ่ม Aerobe และ Anaerobe[64] แกรมบวกและแกรมลบ เช่น เชื้อกลุ่ม MRSA, VRE, Streptococcus และรวมถึงเชื้อ *H. pylori* [38, 41, 42] โดยพบว่าส่งผลต่อเชื้อแกรมบวกมากกว่าแกรมลบ[38, 40, 44, 64] เนื่องจากลักษณะ

ของเยื่อหุ้มเซลล์ภายนอกของเชื้อแกรมลบที่มี Bacterial hydrolytic enzyme ซึ่งสามารถทำลายและลดประสิทธิผลของสารประกอบบางชนิดในพรอพอลิสได้[38, 44, 64] ในส่วนของเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก พบว่าสาร Pinocembrin และ Apigenin ส่งผลยับยั้งเชื้อ *Streptococcus mutans* ได้ดี โดยพบว่าให้ผลดีกว่าคลอเฮกซิดีน มีหลายการศึกษาพบว่า Pinocembrin มีผลต่อเชื้อหลายชนิด ได้แก่ S. *mutans,* S. *sobrinus,* S. *aureus,* E. *faecalis,* L. *monocytogenes,* P. *aeruginosa และ* K. *pneumoniae* และ Apigenin ส่งผลต่อเชื้อแกรมลบได้ดี โดยทั้งสองสารนี้ยังเสริมฤทธิ์กันในการยับยั้งเชื้อกลุ่ม MRSA ด้วย[44]

ฤทธิ์ต้านเชื้อรา

พรอพอลิสสามารถต้านเชื้อราได้ โดยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา และส่งผลฆ่าเชื้อรา ผ่านการกระตุ้นการเกิดอะพอพโทซิส ผ่านกระบวนการการส่งสัญญาณต่างๆ และยังขัดขวางการแสดงออกของยีนส์ต่างๆของเชื้อรา ส่งผลสู่ความผิดปกติในการยึดเกาะของเชื้อ, การเกิดไบโอฟิล์ม และ การเปลี่ยนแปลงรูปร่างจาก Yeast-like ไปเป็นแบบไฮฟี (Hyphae)[64] โดยพบว่าสามารถยับยั้งเชื้อรากลุ่ม Aflatoxin, สามารถลดการเจริญเติบโตของ *Aspergillus flavus*[40] และยังมีผลต่อเชื้อรา *Candida* spp. หลายชนิด[40, 42, 64] องค์ประกอบสำคัญของพรอพอลิสที่ส่งผลดังกล่าว คือ Pinocembrin ซึ่งส่งผลต่อการเจิญเติบโต การหายใจ และสมดุลพลังงานของเชื้อ, ทำลายโครงสร้างของไฮฟี นำไปสู่การแตกของเยื่อหุ้มเซลล์และเกิดความผิดปกติทางเมแทบอลิซึม[40, 64] พบว่าพรอพอลิสจากออสเตรเลียมีผลยับยั้ง C. *albicans* ได้ดีเนื่องจากมีปริมาณ Pinocembrin มาก[40] ในขณะเดียวกัน CAPE ก็มีฤทธิ์ต้านเชื้อ C. *albicans*, C. *krusei*, C. *tropicalis* ได้เช่นกัน[42] และ ฟลาโวนอยด์เองก็มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อรา (Fungiicidal) ต่อเชื้อหลายๆชนิดอีกด้วย[40]

ฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัส

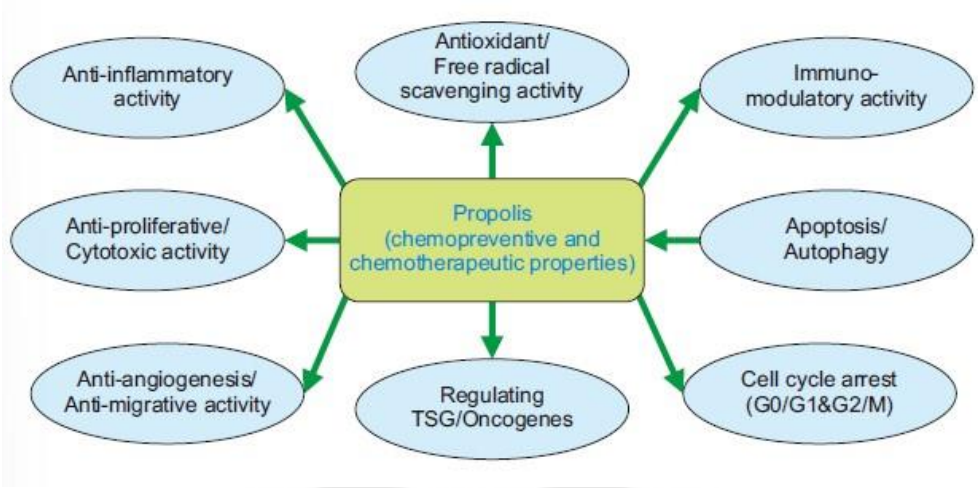
พรอพอลิสมีความสามารถในการต้านเชื้อไวรัส โดยสามารถยับยั้งการเข้าสู่เซลล์ของไวรัส และขัดขวางการแบ่งตัวของไวรัสโดยการทำลายสาย RNA ของเชื้อไวรัส[40, 64] ฤทธิ์การต้านเชื้อไวรัสดังกล่าวมีแนวโน้มจะขึ้นกับการมีสาร CAPE ซึ่งพบว่าส่งผลยับยั้งกระบวนการข้างต้นของไวรัส[41, 42] ร่วมกับความสามารถของพรอพอลิสในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย เช่น การกระตุ้นการหลั่ง IFN- γ ซึ่งส่งผลต่อการเคลื่อนตัวของลิมโฟไซท์ มาที่บริเวณที่ติดเชื้อ และการควบคุมระดับของคะตะเลส (Catalase) ที่มีความสำคัญในกระบวนการต้าน

อนุมูลอิสระของเซลล์ที่ติดเชื้อ ล้วนส่งผลต่อการต้านเชื้อไวรัสของพรอพอลิสทั้งสิ้น[64] โดยพบว่าพรอพอลิสสามารถต้านเชื้อ Herpes simplex virus-2 ได้ดี และสามารถต้านเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่[40], ไวรัสอะดีโน, ไวรัสโรตา, ไวรัสเดงกี, ไวรัสโปลิโอ, ไวรัสรูเบลล่า, ไวรัสหัด และไวรัสอื่นๆ รวมถึงไวรัสโคโรน่าได้ดีเช่นกัน[40, 64] มีการศึกษาพบว่าผลของยาทาที่มีส่วนผสมของพรอพอลิสจากแคนาดา ให้ผลต้านเชื้อไวรัสได้ดีกว่ายา Acyclovir และ ยาหลอก ในการรักษา HSV-2[42] โดยสารที่พบว่าสามารถต้านเชื้อ Herpes virus ได้ คือ Galangin, Kaempferol และ Quercetin[64] นอกจากนี้ยังพบว่าพรอพอลิสสามารถต้านเชื้อ HIV ได้ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อฤทธิ์ของยาต้านอย่าง Zidovudine หรือ Indinavir[64]

ฤทธิ์ต้านการเกิดมะเร็ง

จากการศึกษาพบว่าพรอพอลิสมีความสามารถในการต้านมะเร็งหลายชนิด ทั้งมะเร็งบริเวณศรีษะและลำคอ มะเร็งที่ปอด, ตับ, สมอง, ตับอ่อน, ไต, ต่อมลูกหมาก, ผิวหนัง, เต้านม, ช่องปาก, ทางเดินอาหาร, กระเพาะ และ ลำไส้ เป็นต้น[39, 40] โดยการควบคุมผ่านทางโมเลกุลที่ทำหน้าที่ส่งสัญญาณต่างๆ เช่น COX, Lipoxygenase, NOS, NF-**K**B, p53, p21, MAOKs, MMPs เป็นต้น[39]

พรอพอลิสมีฤทธิ์ต้านมะเร็งที่มีกลไกคล้ายคลึงสารเคมีบำบัด จากการเป็น Phytonutrient ที่มีคุณสมบัติการต้านมะเร็งที่ส่งผลต่อเป้าหมายได้หลายตำแหน่ง หลายกลไก เช่น Pro-apoptotic, Autophagy, Cytotoxicity, ต้านการแบ่งตัวของเซลล์ในการหยุดการเกิด Cell cycle, ต้านการเคลื่อนที่ของเซลล์, ส่งผลยับยั้งการเกิด Metastatic และการรุกรานของเซลล์มะเร็ง[39, 40, 42, 50] และยังส่งผลต้านการสร้างหลอดเลือด, ต้านการกลายพันธ์ของเซลล์ หรือกระบวนการผิดปกติของยีนส์ ผ่านการควบคุม Tumor suppressor genes และ Oncogenes นอกจากนี้ยังสามารถควบคุมระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยการควบคุมการทำงานของเซลล์บี, เซลล์ที และ Natural killers cells ได้อีกด้วย[39, 40] โดยผลเหล่านี้จะเกิดเฉพาะกับเซลล์เนื้องอกหรือเซลล์มะเร็งเท่านั้น ไม่ส่งผลต่อเซลล์ปกติ[45] ด้วยคุณสมบัติเหล่านี้ ร่วมกับคุณสมบัติในการต้านการอักเสบ ต้านสารอนุมูลอิสระ จึงส่งเสริมฤทธิ์การต้านมะเร็งของพรอพอลิสได้อย่างดี[39, 40]



ภาพประกอบ 14 ฤทธิ์ต้านมะเร็งที่มีกลไกคล้ายคลึงสารเคมีบำบัดของพรอพอลิส

ที่มา: Chiu H-F, Han Y-C, Shen Y-C, Golovinskaia O, Venkatakrishnan K, Wang C-K. Chemopreventive and chemotherapeutic effect of propolis and its constituents: A mini-review. J Cancer Prev. 2020;25(2):70-8. eng.

ส่วนประกอบในพรอพอลิสที่ส่งผลยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็ง ได้แก่ Galangin, Cardanol, Nemorosone, Chrysin [40] โดยพรอพอลิสส่งผลต่อการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งผ่านหลายกลไก เช่น การยับยั้งที่กระบวนการต่างๆใน Cell cycle, ลดการสร้างไซคลิน, เพิ่มปริมาณ p21 และ p53, ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนที่จำเป็นต่อการแบ่งเซลล์ และลดการทำงานของทิวบูลินในไมโครทิวบูล เป็นต้น [50]

ในส่วนของการส่งเสริมการเกิดอะพอพโทซิสของเซลล์มะเร็งจากพรอพอลิส เกิดจากทั้ง 2 กลไกในการเกิดอะพอพโทซิส ได้แก่ 1).การกระตุ้นภายในเซลล์ (Intrinsic pathway) จากไมโตคอนเดรีย ผ่านการตรวจพบการทำลายของ DNA, การขาดไซโตไคน์ และ2).การกระตุ้นจากภายนอก (Extrinsic pathway) คือการกระตุ้นผ่านตัวรับสัญญาณบนผิวเซลล์ โดยพบว่าสาร Artepillin C สามารถกระตุ้นการเกิดอะพอพโทซิส ผ่านการทำให้เกิดการทำลาย DNA เป็นชิ้น, CAPE จะส่งผลต่อ Caspase3/7 ทั้งสองสารจึงส่งผลต่อ Intrinsic pathway เช่นเดียวกันกับสาร Chrysin ในขณะที่สาร Galangin ถูกพบว่าส่งผลต่อ Extrinsic pathway ผ่านการส่งเสริมการรับสัญญาณบนผิวเซลล์[50]

กลไกอื่นๆที่ส่งผลต้านการเกิดมะเร็งของพรอพอลิส คือการต้านการเกิดหลอดเลือดใหม่ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการนำสารอาหารไปเลี้ยงเซลล์มะเร็งให้เจริญเติบโตไว โดย CAPE จะ

ส่งผลยับยั้งการสร้าง VEGF ส่งผลต่อการยับยั้งการเกิดเส้นเลือดใหม่ ส่วนการต้านการ Metastasis ของเซลล์มะเร็งเกิดจากสาร CA, CAPE, Artepillin C และ Nemorosone ผ่านการควบคุมการสร้างโปรตีน Wnt2 และ FAK ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการเกิดการแบ่งเซลล์และการเคลื่อนที่ของเซลล์ โดยควบคุมผ่าน MAPK, PI3K/AKT pathways[50]

นอกจากความสามารถในการต้านการเกิดมะเร็งแล้ว พรอพอลิสยังถูกพบว่าสามารถปกป้องเซลล์ปกติจากการรักษาด้วยรังสีหรือเคมีบำบัด ลดผลข้างเคียงจากการรักษาได้ จากความสามารถในการต้านการอักเสบและต้านอนุมูลอิสระ จึงสามารถกล่าวได้ว่านอกจากจะต้านการเกิด และการลุกลามของมะเร็งแล้ว พรอพอลิสยังมีฤทธิ์เป็น Radio-protective อีกด้วย[50]

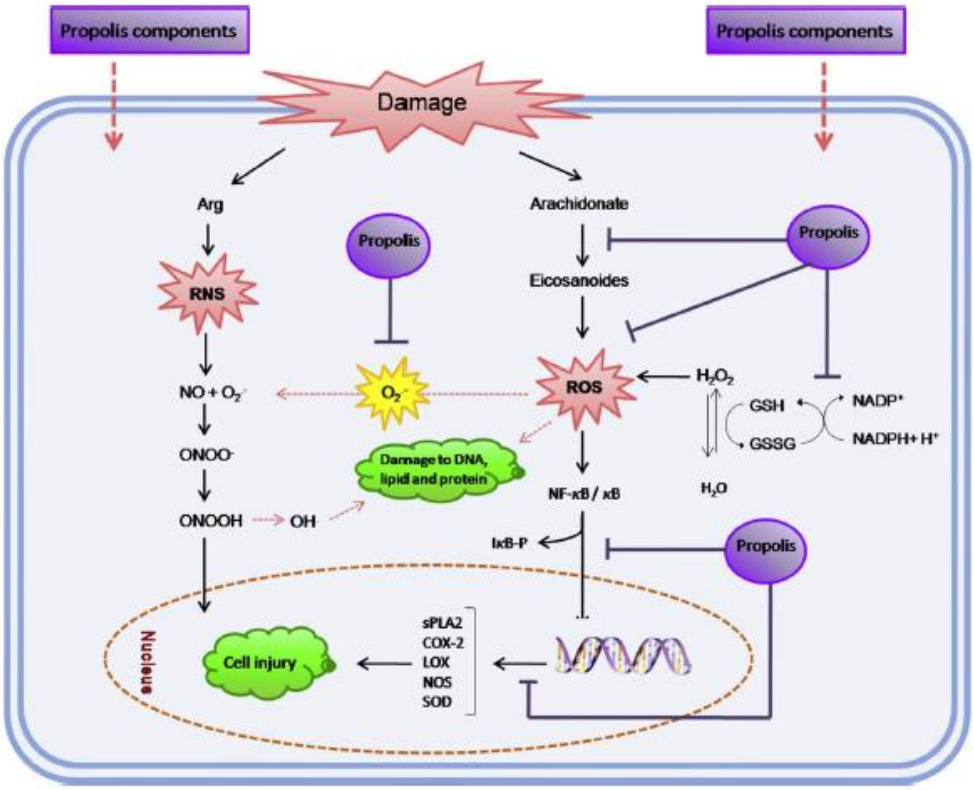
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ

จากการที่พรอพอลิสมีสารฟีโนลิกในปริมาณมาก ซึ่งถือเป็นสารต้านอนุมูลอิสระทางธรรมชาติ ที่มีกลไกในการยับยั้งปฏิกิริยาต่างๆของเอนไซม์หลายชนิด, ยับยั้งการเกิด ROS และร่วมในกระบวนการต่างๆกับสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ[63] ด้วยเหตุนี้ พรอพอลิสจึงมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และกำจัดอนุมูลอิสระ (Free radical)ได้ดี[40-42] โดยสารเหล่านั้น ได้แก่ Pinocembrin, Chrysin และ Pinobanksin[42] มีการศึกษาพบว่า Galangin และ Pinocembrin คือสารสำคัญในพรอพอลิสที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดพรอพอลิสในน้ำจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดในเอทานอล เนื่องจากมีปริมาณโพลีฟีนอลมากกว่า และพบว่า Galangin จะมีฤทธิ์มากกว่า Pinocembrin ในทั้งสองสารสกัด กระบวนการต้านอนุมูลอิสระของพรอพอลิสจะเกิดผ่านการทำลายอนุมูลอิสระ, ป้องกันการสลายตัว และการเกิดออกซิเดชั่นของวิตามินซี, ไขมัน, Nucleic acid, โปรตีน และสารประกอบอื่นๆ โดยการเติมไฮโดรเจนให้กับอนุมูลอิสระ[40, 65] นอกจากนี้ Vanillin และ Phenolic acids ในพรอพอลิส สามารถผ่านเข้าสู่ชั้น ผิวชั้นหนังกำพร้า (Epidermis) และ ชั้นหนังแท้ (Dermis) และช่วยปกป้องเซลล์จากอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นสาเหตุของกระบวนการแก่ และการเสื่อมสภาพของเซลล์ และยังเป็นสาเหตุของโรคต่างๆ เช่น โรคพากินสัน, อัลไซเมอร์, ข้ออักเสบ, มะเร็ง, เบาหวาน, โรคทางระบบหัวใจและหลอดเลือด และโรคเกี่ยวกับตับ ดังได้กล่าวแล้วข้างต้น[40, 66]

จากการที่ ROS เป็นหนึ่งในปัจจัยที่กระตุ้น NF-**K**B และนำไปสู่การเกิดการหลั่ง Phospholipase A2, COX-2, NOS และ ไซโตไคน์ ต่างๆ เช่น TNF-α, IL-1ß ซึ่งนำไปสู่การทำลายเนื้อเยื่อ และการอักเสบ[65] จึงกล่าวได้ว่า จากความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของพรอพอลิส ส่งผลให้เกิดฤทธิ์การต้านการอักเสบไปพร้อมๆกัน[65, 67] ซึ่งฤทธิ์ต่างๆเหล่านี้เกิดขึ้นจาก

กรดฟีโนลิกและฟลาโวนอยด์ เช่น Galangin และ Quercetin ที่ส่งผลยับยั้ง Cyclooxygenase และยับยั้งการเกิด Prostaglandin, กำจัดอนุมูลอิสระ, ยับยั้งการสังเคราะห์ Nitric oxide, ลดปริมาณสาร Proinflammatory cytokines และมีคุณสมบัติในการกดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน[41, 65]

จากการศึกษา พบว่าผลการต้านอักเสบของพรอพอลิสมีความใกล้เคียงกับยาต้านการอักเสบที่ไม่ใช่เสตียรอยด์ (NSAIDs)[63] สารฟลาโวนอยด์ ในพรอพอลิสสามารถยับยั้งการสร้าง Leukotrienes และ Prostaglandins ของเซลล์เม็ดเลือดขาว รวมถึงยับยั้งกระบวนการ Myeloperoxidase และ NADPH-oxidase ได้ นอกจากนี้ CAPE เองก็มีส่วนในกระบวนการต้านการอักเสบเช่นเดียวกัน[40] โดยพบว่า CAPE มีฤทธิ์ต้านการอักเสบที่ดี ส่งผลต่อการส่งสัญญาณใน NF-**K**B pathway รวมถึง Pathway อื่นๆ และส่งผลถึงการยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ต่างๆที่เกิดจากการส่งสัญญาณข้างต้น เช่น Cyclooxygenase, MMP, Inducible nitric oxide synthase[42, 65, 67] ในขณะเดียวกันยังมีการศึกษาชี้ว่า Pinocembrin ในพรอพอลิสสามารถลดระดับคีโมไคน์ และ Proinflammatory cytokines ได้หลายชนิด เช่น TNF-α, Interleukin-1beta (IL-1ß), Inducible nitric oxide synthase (iNOS) ผ่านการควบคุมที่ NF-**K**B เช่นเดียวกัน[41] จากการศึกษาผลของพรอพอลิสต่อปริมาณ TNF-α และ iNOS พบว่า พรอพอลิสจะส่งผลลดปริมาณของสารทั้งสองแปรผันตามความเข้มข้น[68] ผลการต้านการอักเสบของพรอพอลิสมักถูกนำมาใช้ในรูปแบบของน้ำยาบ้วนปาก พบว่าสารฟีโนลิก เช่น CAPE สามารถต้านการอักเสบของเหงือกได้ และพบว่าน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของพรอพอลิสจากบราซิลให้ผลต้านเหงือกอักเสบได้เท่ากับคลอเฮกซิดีน[42]



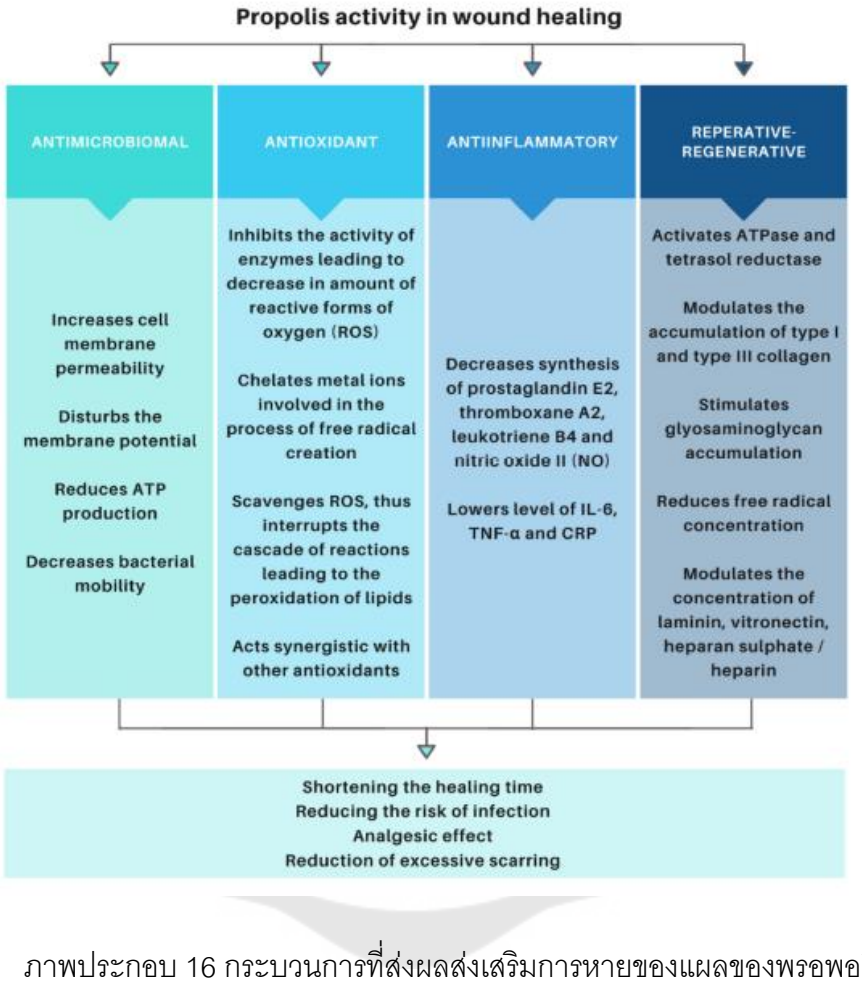
ภาพประกอบ 15 กลไกการต้านอนุมูลอิสระ และการต้านการอักเสบของพรอพอลิส

ที่ ม า : Oryan A, Alemzadeh E, Moshiri A. Potential role of propolis in wound healing: Biological properties and therapeutic activities. Biomed Pharmacother. 2018;98:469-83. eng. 2017/12/30.

พรอพอลิสกับการหายของแผล

สารประกอบในพรอพอลิสยังถูกพบว่าส่งผลที่ดีต่อการหายของแผล โดยจะช่วยส่งเสริมการซ่อมแซมและการสร้างใหม่ของเนื้อเยื่อที่ได้รับการบาดเจ็บได้ดี เป็นผลจากฤทธิ์การควบคุมระบบภูมิคุ้มกัน การต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ต้านเชื้อแบคทีเรีย และส่งเสริมการสร้างคอลลาเจน[40-42, 45, 63, 65] รวมถึงยังช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ, กระตุ้นกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ และกระตุ้นการไหลเวียนของเลือด ซึ่งเป็นผลจากสาร Bioflavonoids, Arginine, วิตามินและแร่ธาตุต่างๆในพรอพอลิส[40] ผลการต้านอนุมูลอิสระของพรอพอลิสดังที่อธิบายไว้ก่อนหน้า มีส่วนช่วยในการหายของแผลได้ดี รวมถึงการต้านการอักเสบซึ่งเป็นหนึ่งในกระบวนการการหายของแผล, การต้านเชื้อแบคทีเรียทำให้ลดโอกาสการติดเชื้อซึ่ง

ส่งผลดีต่อการหายของแผล, การส่งเสริมการกระตุ้นการสร้างคอลลาเจน ชนิดที่ 1 และ 3, การส่งเสริมการสร้าง Glycosaminoglycans (GAGs) และการส่งเสริมการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ ทั้งหมดนี้ประกอบกันล้วนทำให้พรอพอลิสมีคุณสมบัติที่ดีต่อการหายของแผลทั้งสิ้น[63]



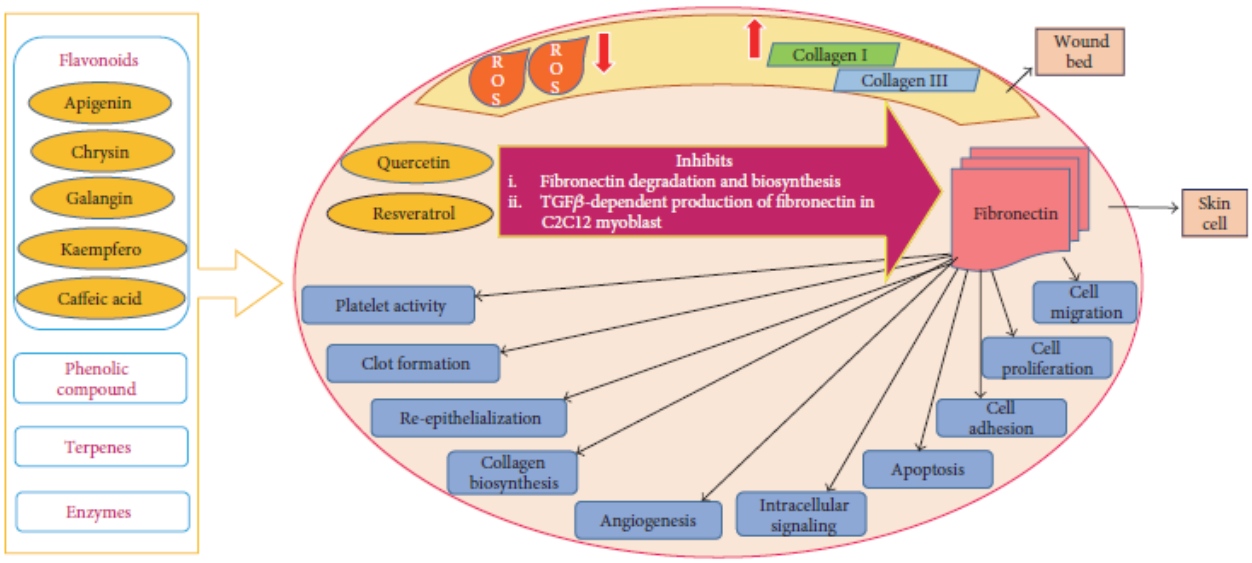
ภาพประกอบ 16 กระบวนการที่ส่งผลส่งเสริมการหายของแผลของพรอพอลิส

ที่ ม า : Stojko M, Wolny D, Włodarczyk J. Nonwoven releasing propolis as a potential new wound healing method-a review. Molecules. 2021;26(18). eng. 2021/09/29.

นอกจากคุณสมบัติข้างต้นแล้ว พรอพอลิสยังส่งผลดีต่อการหายของแผลจากการส่งผลต่อปริมาณ Fibronectin ซึ่งเป็น ไกลโคโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญต่อกระบวนการต่างๆ ของเซลล์ เช่น การเคลื่อนที่, การแบ่งตัว, การส่งสัญญาณ, การตาย, การยึดเกาะ, การพัฒนาของเซลล์ รวมถึงการสร้างหลอดเลือด, การสร้างคอลลาเจน, การเกิดลิ่มเลือด และการทำงานของ

เกล็ดเลือด และยังมีบทบาทต่อกระบวนการหายของแผล ในการเกิดเนื้อเยื่อแกรนูเลชันที่ดี[45] สารต่างๆในพรอพอลิส เช่น ฟลาโวนอยด์, สารประกอบฟีโนลิก, terpenes และเอนไซม์ต่างๆ สามารถส่งเสริมการสร้าง Fibronectin ทั้งสิ้น ส่วน Quercetin และ Resveratrol จะมีบทบาทในการยับยั้งกระบวนการสลายของ Fibronectin [45, 63]

นอกจากนี้ยังพบว่าคุณสมบัติที่มีบทบาทสำคัญในการส่งเสริมการหายของแผลของพรอพอลิส ได้แก่การต้านการอักเสบ และการต้านอนุมูลอิสระ โดยพบว่าพรอพอลิสช่วยลด Oxidative stress บริเวณบาดแผล ผ่านการส่งเสริมการแสดงออกของยีนส์สร้างสารต้านอนุมูลอิสระต่างๆ ผ่านการเพิ่มการสร้างคอลลาเจน และเพิ่มการมีชีวิตรอดของเซลล์[41]



ภาพประกอบ 17 ผลของพรอพอลิสต่อกระบวนการหายของแผลผ่านการควบคุมปริมาณ fibronectin

ที่มา: Pasupuleti VR, Sammugam L, Ramesh N, Gan SH. Honey, propolis, and royal jelly: A comprehensive review of their biological actions and health benefits. Oxid Med Cell Longev. 2017;2017:1259510. eng. 2017/08/1

พรอพอลิสกับทันตกรรม

จากคุณสมบัติต่างๆของพรอพอลิสข้างต้นทำให้มีการศึกษามากมายในการนำพรอพอลิสมาใช้ร่วมกับการรักษาทางทันตกรรม จากฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียต่างๆ ทั้ง Aerobic และ Anaerobic ในการมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้แบบต่ำๆ คุณสมบัตินี้ครอบคลุมถึงการต้านเชื้อก่อโรคในช่องปากได้หลายชนิด เช่น *Streptococcus mutans, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus rhamnosus, Actinomyces naeslundii, Prevotella oralis, Prevotella melaninogenica, Prevotella intermedia, Porphyromonas gingivalis, Fusobacterium nucleatum* รวมถึง *Candida albicans* [46-48] และยังสามารถเสริมฤทธิ์ยาปฏิชีวนะได้ด้วย โดยคุณสมบัติที่ได้ส่วนใหญ่มาจากสารฟลาโวนอยด์ และกรดคาเฟอิก[46, 69] พบว่าพรอพอลิสสามารถปรับสมดุลเชื้อแบคทีเรียในช่องปากได้ดีในการเพิ่มเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่น ลดเชื้อก่อโรคในช่องปาก[47]

มีการศึกษาพบว่า พรอพอลิสมีความสามารถในการส่งเสริมการหายของแผลภายในช่องปาก โดยผลจากการบ้วนน้ำยาบ้วนปากพรอพอลิสหลังถอนฟันทำให้แผลหายไวขึ้น[46, 49] จากความสามารถในการกระตุ้นการสร้างคอลลาเจน และยังส่งเสริมการต้านการอักเสบและลดอาการปวดของแผล[46] การศึกษาใช้พรอพอลิสเป็นตัวกลางในการเก็บฟันที่หลุดจากเบ้าเนื่องจากอุบัติเหตุ พบว่าเซลล์ยึดปริทันต์รอบฟันสามารถคงความมีชีวิตได้ดีกว่าการแช่ในน้ำเกลือ และนม[46] ในส่วนของการรักษารากฟัน ก็พบว่าพรอพอลิสสามารถยับยั้งการเจริญเติบโต, การแบ่งตัว และต้านเชื้อ E. *faecalis* ได้ดี สามารถนำมาใช้เป็นน้ำยาล้างคลองรากฟันที่ให้ผลดีใกล้เคียงกับ Sodium hypochlorite และยังสามารถนำมาทำเป็นยาสำหรับใส่คลองรากฟันระหว่างการรักษา โดยนำมาผสมกับ Calcium hydroxide จะให้ผลที่ดีขึ้น[46] นอกจากเชื้อในคลองรากฟัน ยังพบว่าพรอพอลิสสามารถป้องกันการเกิดฟันผุได้ โดยการส่งผลยับยั้งเอนไซม์ Glucosyltransferase ของเชื้อ *Streptococcus mutans* ได้[46, 70] รวมถึงลดอัตราการเกิดคราบจุลินทรีย์ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของฟันผุ[47] ยิ่งไปกว่านั้นยังพบว่าพรอพอลิสสามารถลดการปนเปื้อนเชื้อ Streptococcus บนขนแปรงสีฟันได้[47]

คุณสมบัติอีกอย่างที่ถูกพบว่ามีประโยชน์ทางทันตกรรมคือ สามารถอุดรูพรุนของ Dentinal tubules ได้ และพบว่าพรอพอลิสสามารถใช้ในการรักษาอาการเสียวฟันได้ดีใกล้เคียงกับสารลดอาการเสียวฟันอื่นๆ[46] พรอพอลิสยังถูกพบว่ามีบทบาทในกระบวนการซ่อมแซมโพรงประสาทฟัน[40, 45, 46] ซึ่งให้ผลดีใกล้เคียงกับสารอื่นๆ เช่น MTA, Calcium hydroxide เนื่องจากมีคุณสมบัติในการยึดเกาะจากการที่เป็นสารเหนียว มีการศึกษาในหนู พบว่าการใช้พรอพอลิสทำ

Dental pulp capping สามารถชะลอการเกิดการอักเสบของโพรงประสาทฟัน และกระตุ้นการสร้างเนื้อฟันใหม่ได้ดี[46]

ผลของพรอพอลิสต่อการรักษาโรคทางปริทันต์เองก็มีการศึกษาเช่นกัน จากผลการต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคปริทันต์[46, 48], การต้านการอักเสบของเหงือก, ลดการเกิดคราบจุลินทรีย์ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญของการเกิดโรคปริทันต์[46-48], ลดการอักเสบและมีเลือดออกจากเหงือก[47, 48], ลดร่องลึกปริทันต์[47, 48], และพบว่ายังส่งผลป้องกันการก่อตัวของคราบหินปูน รวมไปถึงกระตุ้นการสร้างโปรตีน และคอลลาเจน ส่งผลดีต่อโครงสร้างของเหงือกอีกด้วย[46] อีกปัจจัยที่นำไปสู่โรคปริทันต์คือการเกิด Oxidative stress ที่เนื้อเยื่อปริทันต์ พบว่าพรอพอลิสส่งผลดีต่อภาวะดังกล่าว จากคุณสมบัติการต้านสารอนุมูลอิสระ และยังส่งผลดีต่อภาวะการเป็นโรคปริทันต์ที่เกี่ยวข้องกับโรคเบาหวาน โดยพบว่าส่งผลดีต่อค่าการวัดภาวะปริทันต์ต่างๆ จะเห็นว่าผลดีของพรอพอลิสต่อโรคทางปริทันต์เกิดจากคุณสมบัติที่หลากหลายของพรอพอลิส ได้แก่ การต้านเชื้อ, การลดการอักเสบ และต้านอนุมูลอิสระร่วมกัน[48] โดยเฉพาะคุณสมบัติการต้านการอักเสบของพรอพอลิสทำให้มีฤทธิ์ที่เหนือกว่าคลอเฮกซิดีน[69]

มากไปกว่านั้น ยังมีการศึกษาการใช้พรอพอลิสในการรักษารอยโรคในช่องปาก โดยพบว่าน้ำยาบ้วนปากจากพรอพอลิสสามารถลดการเกิดภาวะเยื่อบุช่องปากอักเสบ (oral mucositis) ในผู้ป่วยที่ได้รับรังสีรักษา และเคมีบำบัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ[47, 50] จากการศึกษาพบว่าเมื่อใช้น้ำยาบ้วนปากจากพรอพอลิสในผู้ป่วยมีผลลดการเกิดภาวะเยื่อบุช่องปากอักเสบ ลงได้ในอาทิตย์ที่ 3 และ 4 หลังการฉายแสงต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยังลดภาวะกลืนลำบาก (dysphagia) ในอาทิตย์ที่ 4 หลังการฉายแสงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน[71] มีการวิเคราะห์สรุปจากหลายการศึกษาว่าน้ำยาบ้วนปากจากพรอพอลิสมีประสิทธิภาพเพียงพอ และปลอดภัยต่อการใช้รักษาการเกิดภาวะเยื่อบุช่องปากอักเสบ จากการทำรังสีรักษาและเคมีบำบัด[47, 50, 71] พรอพอลิสยังถูกพบว่ามารถลดการเกิดแผลร้อนในที่เป็นซ้ำๆ (Recurrent aphthous ulcers) ได้ดี โดยเกิดเป็นสารเหนียวปกป้องบนแผล ลดการระคายเคือง ร่วมกับผลลดอาการปวด, การต้านการอักเสบ และกระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกาย ล้วนส่งผลลดการเกิดซ้ำของรอยโรคได้[46, 47]

ในการศึกษาผลของพรอพอลิสทางทันตกรรม นิยมใช้พรอพอลิสเป็นส่วนผสมของน้ำยาบ้วนปาก โดยส่วนใหญ่จะศึกษาผลในการต้านเชื้อแบคทีเรีย และต้านการอักเสบ โดยพบว่าให้ผลต้านเชื้อแบคทีเรียได้เทียบเท่าคลอเฮกซิดีน และยังมีผลข้างเคียงน้อยกว่า ส่งผลเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์เหงือกน้อยกว่า[45, 46] และยังพบว่าเมื่อนำพรอพอลิสและคลอเฮกซิดีนมาผสม

กันจะส่งผลเสริมฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดียิ่งขึ้น[49] พรอพอลิสในน้ำยาบ้วนปากยังมีประสิทธิภาพในการรักษาการอักเสบของเหงือก จากการศึกษาพบว่าน้ำยาบ้วนปากพรอพอลิสสามารถลดการเกิดคราบจุลินทรีย์ และลดการอักเสบของเนื้อเยื่อปริทันต์ได้ดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ให้ผลเทียบเท่าและไม่เกิดผลข้างเคียงต่างๆแบบคลอเฮกซิดีน[69, 72] น้ำยาบ้วนปากพรอพอลิสยังส่งเสริมการหายของแผลผ่าตัดได้ดี และสามารถช่วยลดภาวะมีกลิ่นปากได้อีกด้วย[40, 45] และที่แตกต่างจากน้ำยาบ้วนปากอื่นๆคือสามารถกลืนได้ ไม่เพียงไม่เกิดอันตราย แต่ยังได้ผลดีจากพรอพอลิสต่อร่างกายได้ด้วย[46] มีหลายการศึกษายืนยันว่า พรอพอลิสนั้นไม่เป็นพิษต่อร่างกาย ทั้งนี้ปริมาณที่จะส่งผลเสียต่อร่างกายได้คือ 1.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หรือ 70 มิลลิกรัมต่อวัน อาการไม่พึงประสงค์ที่อาจเกิดได้ มีเพียงอาการแพ้ที่เกิดในบางคน จะมีอาการแดงของผิว มีผื่น บวม หรือคันได้ โดยพบว่าคนที่แพ้ละอองเกสร มักจะแพ้พรอพอลิสด้วย ในหลายการศึกษาต่างกล่าวว่าพรอพอลิสเป็นสารที่เหมาะจะนำมาทำเป็นน้ำยาบ้วนปาก เนื่องจากสามารถส่งผลดีได้หลากหลายต่อช่องปาก[46]

จากการศึกษาก่อนหน้าในกลุ่มวิจัยเดียวกัน พบว่าในการทดสอบส่วนผสมระหว่างโพรไบโอติก 10% สารสกัดกัญชา 1% เป็นสูตรที่ให้ผลลดสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ได้ดีที่สุด และไม่พบว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์ เมื่อทำการทดสอบโดยการใส่การกระตุ้นโดย lipopolysaccharide (LPS) พร้อมกับส่วนผสมดังกล่าว ลงในเซลล์ Human monocytic cell line และทดสอบปริมาณสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α พบว่ามีปริมาณที่ลดลงมากที่สุดเมื่อเวลาผ่านไปเป็นเวลา 3 ชั่วโมง 30 นาที ซึ่งสามารถกล่าวได้ว่ากระบวนการการยับยั้ง TNF-α ของโพรไบโอติกและสารสกัดกัญชานี้ เกิดขึ้นในระดับ transcription[27] ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Nichols และคณะ ที่พบว่ากัญชาจะยับยั้งผ่าน Transcription factor คือ Nuclear factor-**K**B (NF-**K**B) ของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันส่งผลยับยั้งการอักเสบได้[34]

ในการศึกษานี้มุ่งหวังจะพัฒนาสูตรเพิ่มเติมเพื่อศึกษาผลหลังเพิ่มสารออกฤทธิ์จากพรอพอลิสลงในสูตรน้ำยาบ้วนปากเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ จากคุณสมบัติในการต้านการอักเสบและต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งคล้ายคลึงกับกัญชาและโพรไบโอติก รวมถึงคุณสมบัติการต้านจุลินทรีย์ลดการเกิดคราบจุลินทรีย์ ที่ช่วยส่งผลลดการเกิดการอักเสบทางอ้อม ในขณะเดียวกันยังหวังผลเพิ่มประโยชน์ด้านอื่น จากคุณสมบัติในการส่งเสริมการหายของแผลของพรอพอลิส เพื่อให้ได้สูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีคุณสมบัติที่หลากหลายในการส่งเสริมที่ระยะต่างๆของการหายของแผล ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว

ถึงแม้จะมีการศึกษามากมายในการทดสอบผลในด้านต่างๆของน้ำยาบ้วนปากจากพรอพอลิส แต่มีการศึกษาเพียงไม่มาก ที่ทำการระบุ และทดสอบระหว่างความเข้มข้นของพรอพอลิสที่ต่างกัน โดยการศึกษาของ Ozan และคณะ ในปี ค.ศ. 2007 ได้เปรียบเทียบน้ำยาบ้วนปากจากพรอพอลิสที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 1%, 2.5%, 5% และ 10% พบว่า ให้ผลต้านเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก ได้แก่ *Streptococcus* spp. และ *Candida* spp. ได้ดีในทุกความเข้มข้น ในขณะที่ความเป็นพิษต่อเซลล์พบเพียงระดับต่ำในความเข้มข้น 10% ในขณะที่คลอเฮกซิดีนพบความเป็นพิษต่อเซลล์ระดับปานกลาง[73]

การศึกษานี้จึงจะศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการลดสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ระหว่างสูตรน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกที่ผสมกัญชา กับสูตรผสมพรอพอลิส และสูตรผสมกัญชาและพรอพอลิส โดยใช้ความเข้มข้นของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% และสารสกัดกัญชาเข้มข้น 1% ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ให้ผลลดสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ได้ดีที่สุดจากการศึกษาในกลุ่มวิจัยก่อนหน้า[27] และใช้สารสกัดพรอพอลิส ความเข้มข้น 1% และ 5% ซึ่งเป็นความเข้มข้นต่ำที่สุด และสูงที่สุดที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์[73] ว่าแต่ละสูตรจะให้ผลที่ดีแตกต่างกันอย่างไร ส่วนผสมเพิ่มเติมทั้งสองชนิดจะสามารถเสริมฤทธิ์ของโพรไบโอติก หรือเสริมฤทธิ์กันเองได้หรือไม่ และคาดหวังว่าหากการวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการพัฒนาสูตร จะได้น้ำยาบ้วนปากที่มีประโยชน์ต่อทั้งงานสาขาศัลยกรรมที่ต้องการการหายของแผลที่ดี หรืออาจนำไปใช้ร่วมกับโรคทางช่องปากที่เกิดจากการอักเสบของเนื้อเยื่อได้อีกด้วย

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุและอุปกรณ์

1. Propolis extracts
2. Cannabidol (CBD)
3. Sodium saccharine (commercial grade)
4. MRS broth (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, UK)
5. Lipopolysaccharide from *E.coli* (Sigma, USA)
6. Cell lines: THP-1 monocytic cells (ATCC, TIB 202)
7. Fetal bovine serum (Gibco-Invitrogen, USA)
8. Bovine serum album (BSA: Sigma, USA)
9. RPMI 1640 (Gibco-Invitrogen, USA)
10. Hemocytometer (Hausser Scientific, USA)
11. ELISA plate: 96-well plate : High binding (Corning, USA)
12. ELISA kit (R&D Systems, USA)
13. Recombinant human TNF-α (R&D Systems, USA)
14. BioTek®Synergy™ HT (Multi-Detection Microplate Reader, USA)

วิธีการ

วิธีการทดลองจะแบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 เตรียมน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก (Probiotic supernatant) ***Lactobacillus paracasei*** MSMC39-1

- เพาะเลี้ยง *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 ในอาหารเหลว (MRS broth (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, UK)) ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

- นำโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 ที่เพาะเลี้ยงไว้ มาเจือจางในอาหารเหลว ให้ได้ปริมาณ 10^8 เซลล์/มิลลิลิตร และเลี้ยงในภาวะไม่มีออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลาอีก 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงแยกเอาส่วนน้ำเลี้ยง (Supernatant) โดยนำไปกรองด้วยกระดาษกรองปลอดเชื้อขนาด 0.22 μm (Sigma,USA) และเก็บรักษาไว้ที่อุณภูมิ -20°C จนกว่าจะนำมาใช้

ขั้นตอนที่ 2

2.1 **เตรียมน้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก** ***Lactobacillus paracasei*** MSMC39-1 **และส่วนผสมจากสารสกัดพรอพอลิส ปริมาณ 10 มิลลิลิตร (ชุดที่** 1)

- นำน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกที่เก็บไว้มาละลายน้ำแข็งในอุณหภูมิห้อง

- ปรับความเข้มข้นของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก โดยนำมาเจือจางกับน้ำเกลือ 0.9% ให้ได้ความเข้มข้น 10% v/v

- เตรียมพรอพอลิสที่ความเข้มข้น 1% และ 5% v/v

- เตรียมโซเดียม แซคคารินความเข้มข้น 0.9% v/v

- ตวงส่วนผสมข้างต้นเข้าด้วยกัน และเติมน้ำเกลือ ให้ได้ปริมาณ 10 ml จะได้น้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกและสารสกัดพรอพอลิส 2 สูตร ที่มีความเข้มข้นของพรอพอลิสต่างกัน

ตาราง 1 ส่วนผสมของน้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 และสารสกัดพรอพอลิสทั้ง 2 สูตร

ส่วนประกอบ	**ปริมาณ**		**หน้าที่ของสาร**
	สูตร 1 (พรอพอลิส 1%)	สูตร 2 (พรอพอลิส 5%)	
พรอพอลิส (ml)	0.1	0.5	สารออกฤทธิ์
น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% (ml)	1	1	สารออกฤทธิ์
โซเดียม แซคคาริน 0.9% (ml)	0.33	0.33	สารแต่งรส
น้ำเกลือ ปรับปริมาณให้ได้ (ml)	10	10	ตัวทำละลาย

2.2 เตรียมน้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 และส่วนผสมจากสารสกัดพรอพอลิสร่วมกับสารสกัดกัญชา ปริมาณ 10 มิลลิลิตร (ชุดที่ 2)

ใช้วิธีการเช่นเดียวกับชุดที่ 1 และเพิ่ม Cannabidiol (CBD) จากสูตรที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดจากการศึกษาก่อนหน้า คือ 1%

ตาราง 2 ส่วนผสมของน้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 สารสกัดพรอพอลิส และสารสกัดกัญชา ทั้ง 2 สูตร

ส่วนประกอบ	**ปริมาณ**		**หน้าที่ของสาร**
	สูตร 1 (พรอพอลิส 1%)	สูตร 2 (พรอพอลิส 5%)	
พรอพอลิส (ml)	0.1	0.5	สารออกฤทธิ์
CBD (ml)	0.1	0.1	สารออกฤทธิ์
น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% (ml)	1	1	สารออกฤทธิ์
โซเดียม แซคคาริน 0.9% (ml)	0.33	0.33	สารแต่งรส
น้ำเกลือ ปรับปริมาณให้ได้ (ml)	10	10	ตัวทำละลาย

หลังจากเตรียมน้ำยาบ้วนปากจะได้สูตรน้ำยาบ้วนปากทั้งหมด 4 สูตร ได้แก่

สูตรที่ 1 น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, พรอพอลิส 1%

สูตรที่ 2 น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, พรอพอลิส 5%

สูตรที่ 3 น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, สารสกัดกัญชา 1% และพรอพอลิส 1%

สูตรที่ 4 น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, สารสกัดกัญชา 1% และพรอพอลิส 5%

จากนั้นจัดแบ่งสารที่เตรียมไว้ทั้งหมดออกเป็น 3 กลุ่ม เพื่อทดลองกับ Human monocytic cell line (ATCC, TIB202) ชนิด THP-1 ได้แก่ กลุ่มทดลอง, กลุ่มควบคุมลบ และกลุ่มควบคุมบวก ดังนี้

กลุ่มทดลอง

ชุดที่ 1 น้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 และส่วนผสมจากสารสกัดพรอพอลิส ทั้ง 2 สูตร ได้แก่

ชุดที่ 2 น้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 และส่วนผสมจากสารสกัดพรอพอลิสร่วมกับสารสกัดกัญชา ทั้ง 2 สูตร

สารสกัดพรอพอลิส ความเข้มข้น 1% และ 5%

น้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 และส่วนผสมจากสารสกัดกัญชา 1%

กลุ่มควบคุมลบ

อาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว (RPMI 1640)

กลุ่มควบคุมบวก

สารสกัดกัญชา ความเข้มข้น 1%

น้ำเกลือ 0.9% ที่ผสมน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 ที่ความเข้มข้น 10% v/v

ขั้นตอนที่ 3 เพาะเลี้ยง Human monocytic cell line ชนิด THP-1

เพาะเลี้ยง Human monocytic cell line (ATCC, TIB202) ชนิด THP-1

เลี้ยง Human monocytic cell line (ATCC, TIB202) ชนิด THP-1 ด้วย RPMI 1640 (Gibco-Invitrogen, USA) เสริมด้วย 10% Heat-inactive fetal bovine serum (FBS; Gibco-Invitrogen, USA) และบ่มที่อุณหภูมิ 37°C, 5% CO_2 จากนั้น เจือจางให้ได้ 5 x 10^5 เซลล์/มิลลิเมตร แล้วเพาะลงในถาดเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม ก้นแบน (Corning, USA) โดยทำการนับเซลล์ด้วยฮีโมไซโตมิเตอร์ (Hemocytometer) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์หัวกลับ (Inverted microscope (Nikon TMS No.300679: Nikon, Japan))

ขั้นตอนที่ 4 ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของน้ำยาบ้วนปาก ชุดที่1 และชุดที่2 ด้วย MTT assay

เติมน้ำยาบ้วนปากแต่ละสูตร รวมถึงกลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มควบคุมลบ ปริมาณ 100 μl ลงใน ถาดเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม ก้นแบน (Corning, USA) ที่มีเซลล์ Human monocytic cell line (ATCC, TIB202) ชนิด THP-1 หลุมละ 50,000 เซลล์ ในน้ำเลี้ยงเซลล์ 100 μl สูตรละ 3 หลุม จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C, 5%CO_2 เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 30 นาที เมื่อครบเวลานำไปปั่นเหวี่ยงที่ 4,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ดูดสารออก และเติม MTT ความเข้มข้น 0.5 mg/ml หลุมละ 100 μl และบ่มที่อุณหภูมิ 37°C, 5%CO_2 เป็นเวลาอีก 2-4 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ 4,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ดูดสารออกและเติม DMSO หลุมละ 100 μl แล้วจำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 nm นำค่าที่ได้ของแต่ละสูตรมาแปรผลความมีชีวิตของเซลล์ ตามสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเซลล์} = (100 \times OD_t) \div OD_n$$

เมื่อ OD_t คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง

และ OD_n คือ ค่าดูดกลืนแสงของตัวแปรควบคุมลบ

ขั้นตอนที่ 5 ทดสอบน้ำยาบ้วนปากชุดที่1 และชุดที่2 พร้อมกับการกระตุ้นการหลั่ง TNF-α และวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α

ทดสอบน้ำยาบ้วนปากบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 และส่วนผสมจากสารสกัดพรอพอลิส (ชุดที่ 1) และน้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 และส่วนผสมจากสารสกัดพรอพอลิสร่วม กับสารสกัดกัญชา (ชุดที่ 2)

เติม LPS (Lipopolysaccharide) บริสุทธิ์ ที่ได้จาก *Escherichia coli* ชนิด O127:B8 (Sigma, USA) ปริมาณ 5μl (ความเข้มข้นสุดท้าย 100 ng/ml) และน้ำยาบ้วนปากแต่ละสูตร รวมถึงกลุ่มควบคุมบวก และกลุ่มควบคุมลบ ใส่ลงใน Human monocytic cell line (ATCC, TIB202) ชนิด THP-1 สูตรละ 3 หลุม จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37^{o}C, 5%CO_2 เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 30 นาที จากนั้นเก็บน้ำเลี้ยงไปตรวจระดับของ TNF-α โดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที และนำไปวัดปริมาณ TNF-α ด้วย ELISA ต่อไป

วัดความสามารถในการยับยั้งการหลั่ง TNF-α

ในการวัดระดับของ TNF-α ที่อยู่ในน้ำเลี้ยงที่เตรียมไว้ข้างต้น ด้วย ELISA จะทำตามคู่มือของบริษัท (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 pH7.4 ข้ามคืน จากนั้นล้าง Antibodies ส่วนเกินออกด้วย PBS ผสมกับ 0.05% Tween 20 (PBST) แล้วเติม 1% (w/v) Bovine serum album (BSA: Sigma, USA) ที่เจือจางใน PBS (Reagent diluent) ปริมาณหลุมละ 300 μl ทิ้งไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วจึงล้างออกด้วย PBST อีก 3 รอบ

ใช้ Recombinant human TNF-α เป็นสารละลายมาตรฐาน (Standard diluted) โดยการเจือจางด้วย PBS (Reagent diluent) ให้ได้ความเข้มข้น ดังนี้ 1.953, 3.906, 7.812, 15.625, 31.5, 62.5, 125, 250 และ 500 pg/ml หลังจากนั้นทำการใส่สารละลายมาตรฐาน หรือสารตัวอย่างลงไปในหลุม ปริมาณหลุมละ 100 μl ทิ้งไว้ในตู้บ่มข้ามคืน จากนั้นนำออกมาล้างด้วย PBST อีก 3 รอบ แล้วเติม Streptavidin-horseradish peroxidase หลุมละ 100 μl ทิ้งไว้ 20 นาที ล้างออกด้วย PBST 3 รอบ เติม TMB (Tetramethyl benzidine) ปริมาณหลุมละ 100 μl เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนสี ทิ้งไว้ 20 นาที จากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วย H_2SO_4 หลุมละ 50 μl แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง BioTek®Synergy™ HT (Multi-Detection

Microplate Reader, USA) ที่ความยาวคลื่น 450 nm นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟค่ามาตรฐาน (S tandard curve) และคำนวณหาปริมาณสารตัวอย่างต่อไป โดยกระบวนการทั้งหมดทำภายใต้อุณหภูมิห้อง

จากนั้นทำการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง โดยทำการเตรียมการและทดสอบใหม่ตามขั้นตอนที่ 1-3 และ 5

การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α

คำนวณจากสูตร

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

เมื่อสารละลายตัวอย่าง คือ ปริมาณ TNF-α จากน้ำเลี้ยงที่ใส่น้ำยาบ้วนปากแต่ละสูตร (pg/ml)

และตัวควบคุมลบ คือ ปริมาณ TNF-α จากน้ำเลี้ยงที่ได้จากกลุ่มควบคุมลบ (pg/ml)

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

นำผลการศึกษาที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม GraphPad Prism เวอร์ชัน 10.0.2 โดย

1. หาค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2. นำผลการลดปริมาณ TNF-α ของแต่ละกลุ่มตัวแปร มาวิเคราะห์ทางสถิติเปรียบเทียบกันด้วย Kruskal-Wallis test

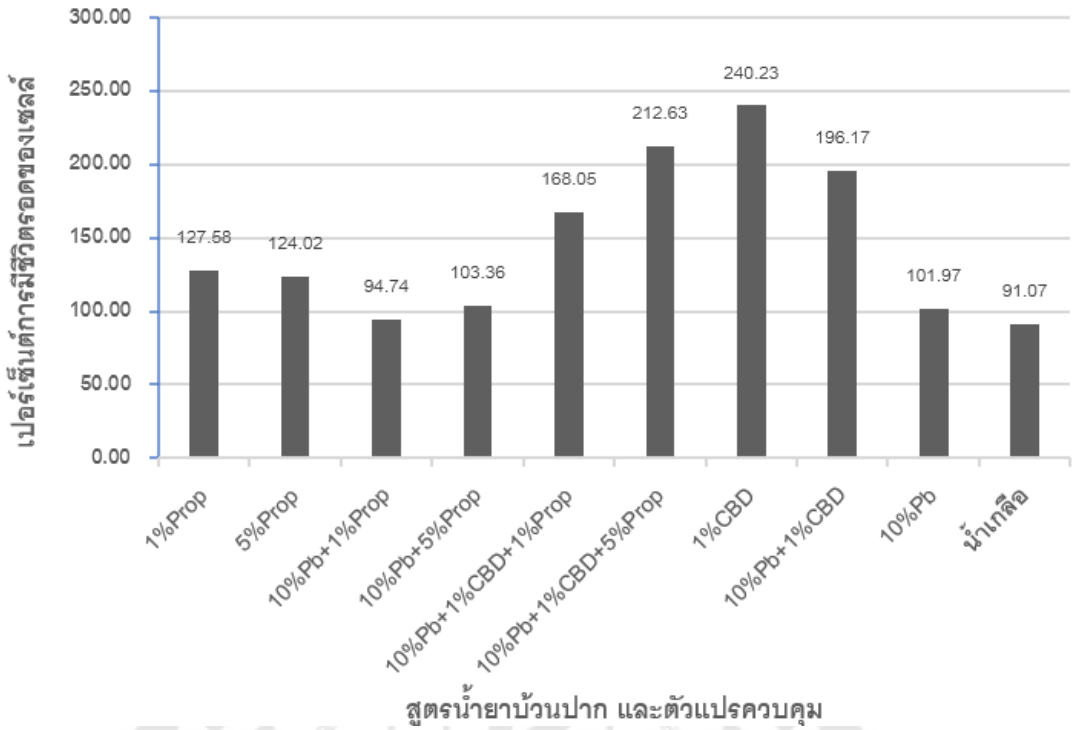
การทดสอบข้อมูลทั้งหมดจะตั้งค่าระดับนัยสำคัญ (significant level) ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$)

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกที่มีส่วนผสมของกัญชา กับน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกที่มีส่วนผสมของกัญชา และพรอพอลิส ในการลดสารสื่ออักเสบทูเมอร์เนคโครซิสแฟคเตอร์อัลฟ่า โดยศึกษาในหลอดทดลอง ทดสอบกับเซลล์ Human monocytic cell line (ATCC, TIB202) ชนิด THP-1 และวัดผลด้วยวิธี ELISA โดยทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารที่จะใช้ทดลองก่อน ด้วยวิธี MTT assay ได้ผลดังนี้

ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 สารสกัดพรอพอลิส และสารสกัดจากกัญชาด้วย MTT assay

จากการทดสอบการมีชีวิตของเซลล์หลังทดสอบด้วยน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 30 นาที ซึ่งเป็นระยะเวลาเท่ากับการทดสอบผลการยับยั้งการหลั่งสารสื่ออักเสบชนิด TNF-α ในขั้นตอนต่อไป เมื่อเติมสาร MTT และนำผลค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ พบว่า น้ำยาบ้วนปากทั้ง 4 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, พรอพอลิส 1%), สูตรที่ 2 (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, พรอพอลิส 5%), สูตรที่ 3 (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, สารสกัดกัญชา 1% และพรอพอลิส 1%) และสูตรที่ 4 (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, สารสกัดกัญชา 1% และพรอพอลิส 5%) มีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ เท่ากับ 94.74%, 103.36%, 168.05%, 212.63% ตามลำดับ ส่วนน้ำยาบ้วนปากสูตรจากการศึกษาก่อนหน้า (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, สารสกัดกัญชา 1%) ได้ผล 196.17% ในขณะเดียวกัน สารสกัดพรอพอลิส 1% และ 5% ได้ผลเท่ากับ 127.58%, 124.02% ตามลำดับ และสารอื่นๆที่ทำการทดสอบได้แก่ สารสกัดกัญชา 1% น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% และน้ำเกลือ 0.9% พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ เท่ากับ 240.23%, 101.97% และ 91.07% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับเทียบกับเซลล์ในน้ำเลี้ยงเซลล์ (ภาพประกอบ 18)



ภาพประกอบ 18 เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ เมื่อทำการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ และตัวแปรควบคุม เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 30 นาที

ผลการทดสอบการยับยั้งการหลั่งสารอักเสบชนิด TNF-α ของน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 สารสกัดพรอพอลิส และสารสกัดจากกัญชา

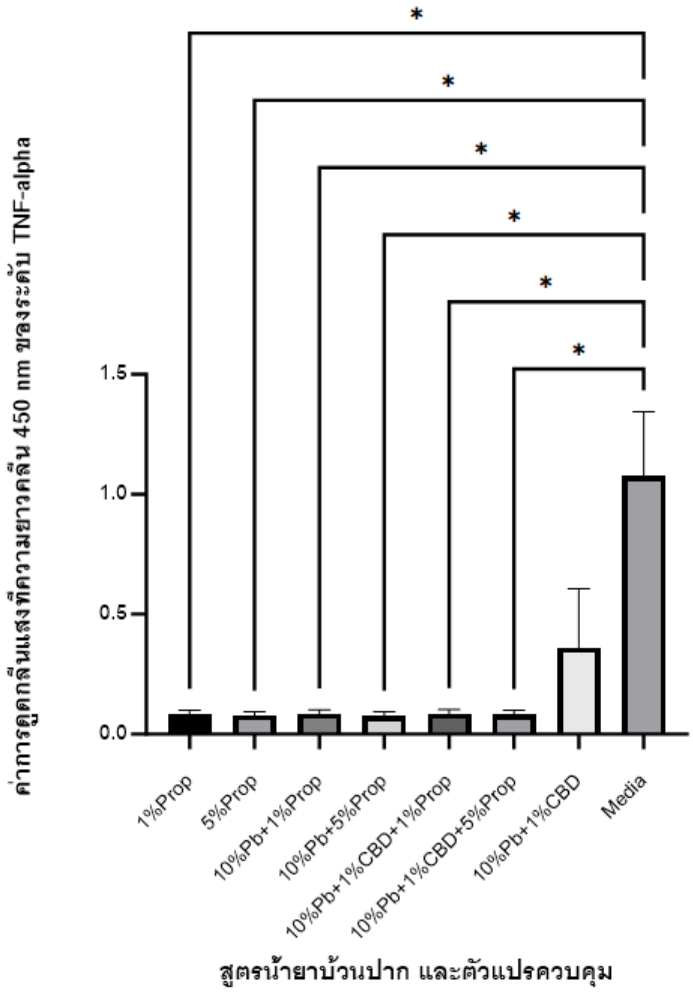
จากการทดสอบโดยการเติมน้ำยาบ้วนปาก และตัวแปรต่างๆ ลงในเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 30 นาที และวัดผลด้วยวิธี ELISA เนื่องจากพบว่าค่า TNF-α มีระดับที่ต่ำมาก ไม่สามารถเทียบเคียงกราฟมาตรฐานและคำนวณเป็นหน่วยพิโคกรัมได้ จึงนำเสนอเป็นผลค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้จากการทดลองแทน จากการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 การทดลอง ผลค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารสกัดพรอพอลิส 1% และ 5% เท่ากับ 0.0835 และ 0.0783 ตามลำดับ ในขณะที่ค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยของน้ำยาบ้วนปาก สูตรที่ 1 (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, พรอพอลิส 1%), สูตรที่ 2 (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, พรอพอลิส 5%), สูตรที่ 3 (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, สารสกัดกัญชา 1% และพรอพอลิส 1%) และสูตรที่ 4 (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, สารสกัดกัญชา 1% และพรอพอลิส 5%) เท่ากับ 0.0856, 0.0758, 0.0841 และ 0.0823 ตามลำดับ พบว่าได้ค่าน้อยกว่าสูตรน้ำยาบ้วนปากจากการศึกษาก่อนหน้า (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, สารสกัดกัญชา 1%) ที่มี

ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.3602 และ น้อยกว่าตัวแปรควบคุมบวก คือ สารสกัดกัญชา 1%, น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% และตัวแปรควบคุมลบ คือ อาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว ที่ได้ค่าดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.5337, 0.9338 และ 1.0765 ตามลำดับ (ตาราง 3)

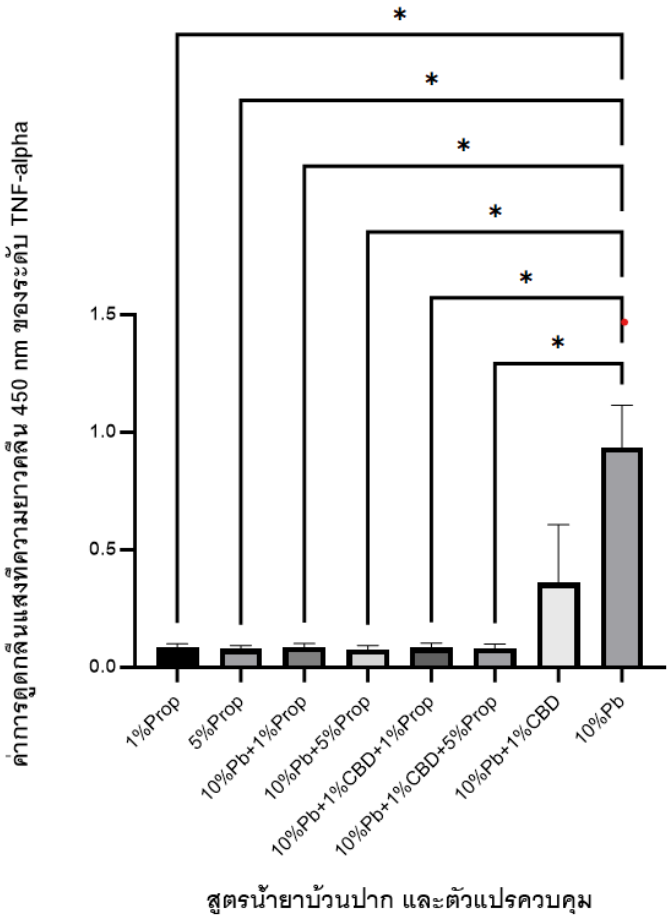
ตาราง 3 ค่าการดูดกลืนแสง และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α เทียบกับอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว ของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ และตัวแปรควบคุม

สูตร	ส่วนผสม	ค่าการดูดกลืนแสง	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α เทียบกับอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว
1	น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, พรอพอลิส 1%	0.0856	92.05%
2	น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, พรอพอลิส 5%	0.0758	92.96%
3	น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, สารสกัดกัญชา 1% และพรอพอลิส 1%	0.0841	92.18%
4	น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, สารสกัดกัญชา 1% และพรอพอลิส 5%	0.0823	92.35%
	สารสกัดพรอพอลิส 1%	0.0835	92.24%
	สารสกัดพรอพอลิส 5%	0.0783	92.73%
	เลี้ยงโพรไบโอติก 10%, สารสกัดกัญชา 1%	0.3602	66.54%
	สารสกัดกัญชา 1%	0.5337	50.42%
	น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%	0.9338	13.25%
	อาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว	1.0765	

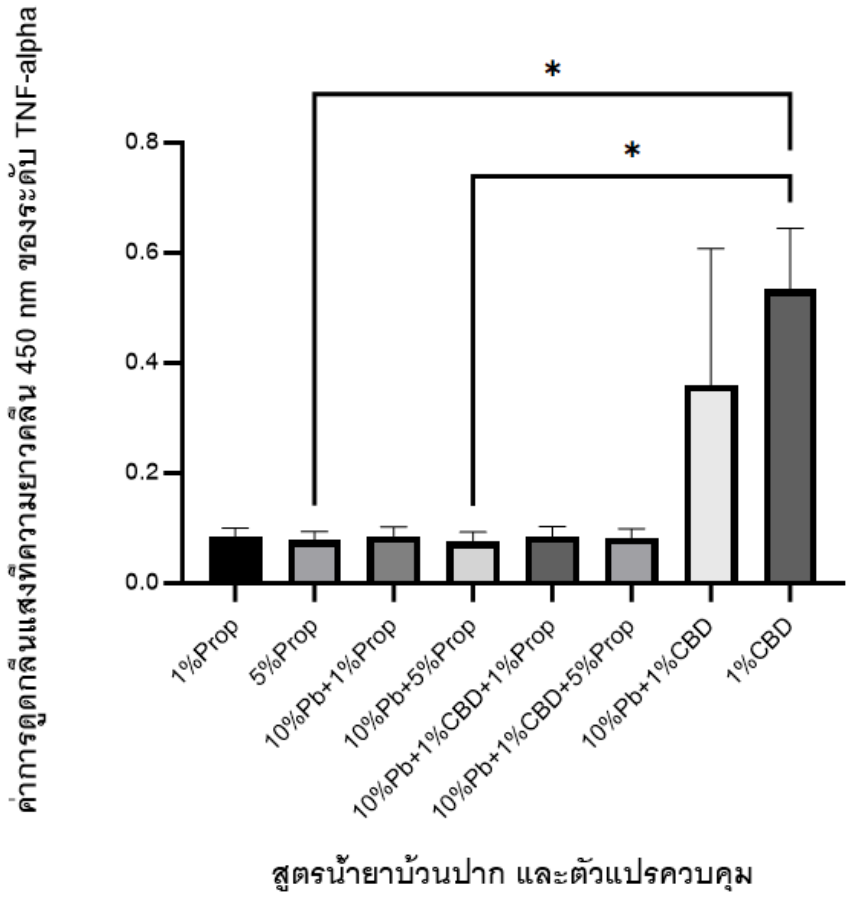
เมื่อทดสอบทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่า ผลค่าดูดกลืนแสง หรือปริมาณสารสื่ออักเสบ TNF-α ที่วัดได้จากการทดสอบสารสกัดพรอพอลิส และสูตรน้ำยาบ้วนปากที่ทำการทดลองทั้ง 4 สูตร มีปริมาณน้อยกว่าตัวแปรควบคุมลบ คือ อาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว และตัวแปรควบคุมบวก คือ น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพประกอบ 19 และ 20) ในขณะที่การทดสอบสารสกัดพรอพอลิส 5% และน้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 2 (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, พรอพอลิส 5%) พบว่ามีปริมาณสารสื่ออักเสบ TNF-α ต่ำกว่าสารสกัดกัญชา 1% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน (ภาพประกอบ 21)



ภาพประกอบ 19 แผนภูมิแสดงค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm ของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ เทียบกับอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลวเป็นตัวแปรควบคุมลบ



ภาพประกอบ 20 แผนภูมิแสดงค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm ของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ เทียบกับน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% เป็นตัวแปรควบคุมบวก



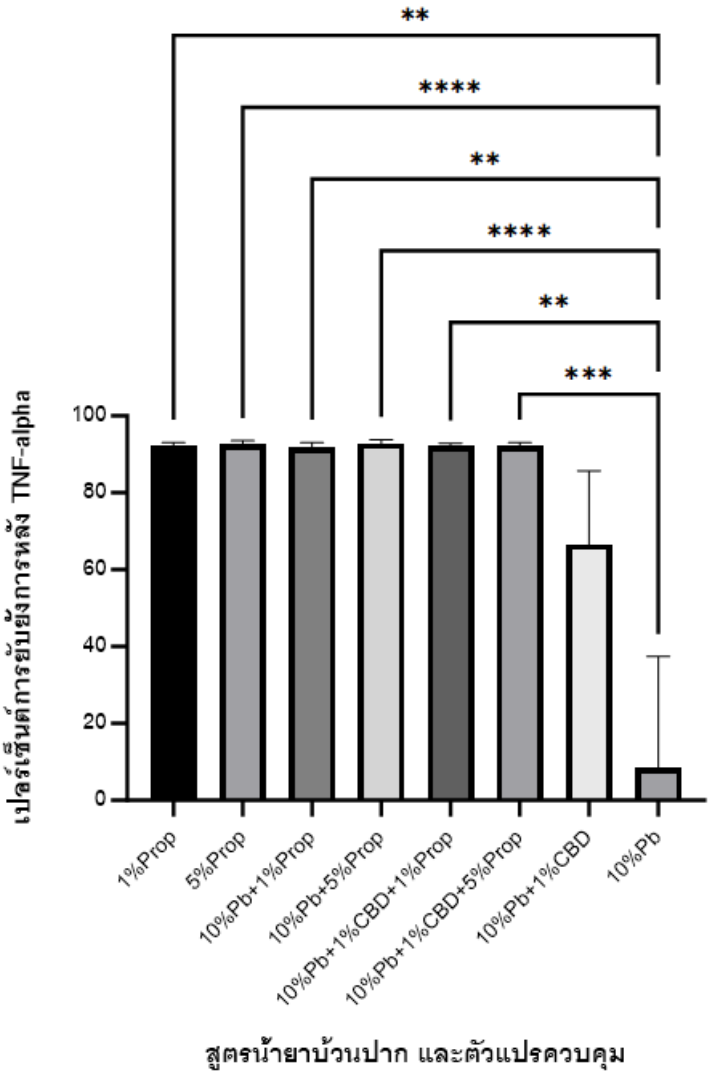
ภาพประกอบ 21 แผนภูมิแสดงค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 nm ของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ เทียบกับสารสกัดกัญชา 1% เป็นตัวแปรควบคุมบวก

ผลการคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α ของน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 สารสกัดพรอพอลิส และสารสกัดจากกัญชา

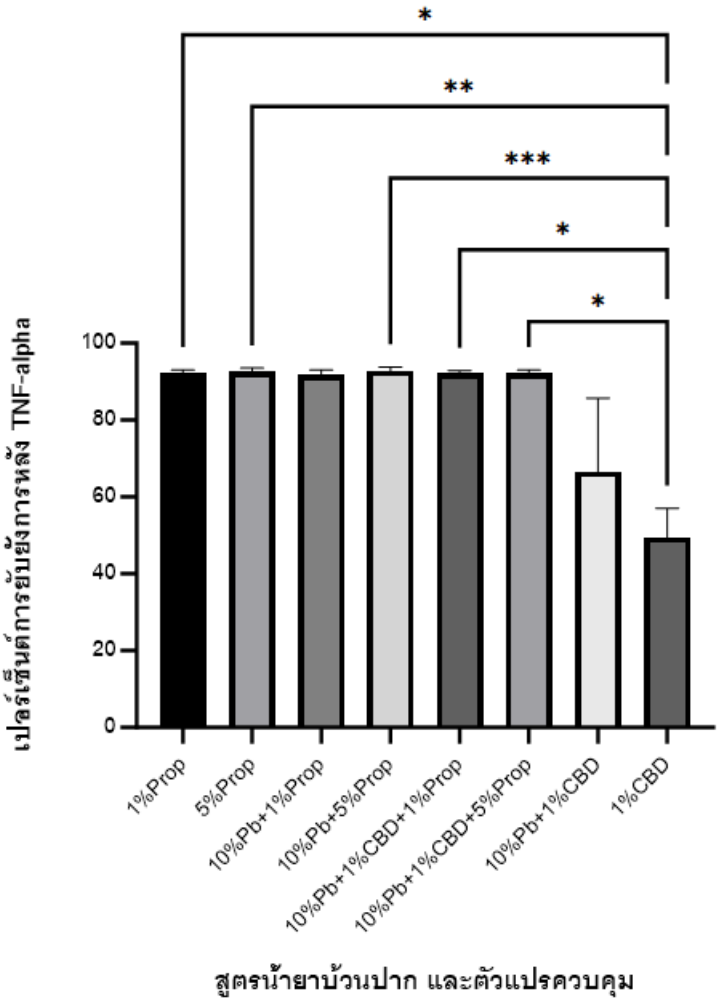
หลังจากนำค่าเฉลี่ยค่าดูดกลืนแสงที่ทดสอบได้จากตัวแปรแต่ละชนิดข้างต้นมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α เทียบกับอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว พบว่า สูตรน้ำยาบ้วนปากที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α ที่ดีที่สุด คือ สูตรที่ 2 (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, พรอพอลิส 5%) เท่ากับ 92.96% ในขณะที่น้ำยาบ้วนปากสูตรอื่นๆ ได้แก่ สูตรที่ 1 (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, พรอพอลิส 1%), สูตรที่ 3 (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, สารสกัดกัญชา 1% และพรอพอลิส 1%) และสูตรที่ 4 (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, สารสกัดกัญชา 1% และพรอพอลิส 5%)

พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α เท่ากับ 92.05%, 92.18% และ 92.35% ตามลำดับ ส่วนเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α ของสารสกัดพรอพอลิส 1% และ 5% เท่ากับ 92.24% และ 92.73% ตามลำดับ ตัวแปรทั้งหมดนี้พบว่ามีความสามารถในการยับยั้งการหลั่ง TNF-α ได้ดีกว่า สูตรน้ำยาบ้วนปากจากการศึกษาก่อนหน้า (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, สารสกัดกัญชา 1%) และตัวแปรควบคุมบวก คือ สารสกัดกัญชา 1% และน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α เท่ากับ 66.54%, 50.42% และ 13.25% ตามลำดับ (ตาราง 3)

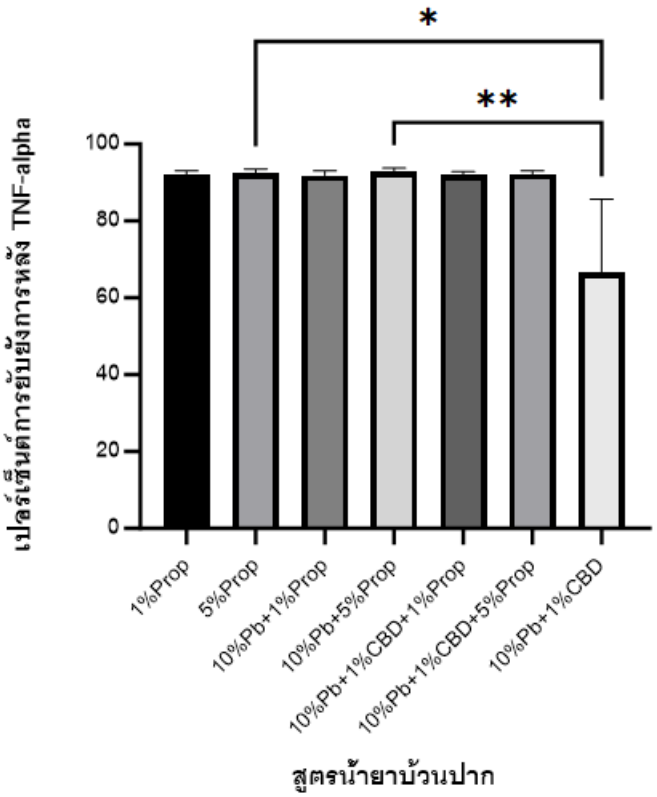
เมื่อทดสอบทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่า สารสกัดพรอพอลิส 1% และ 5% รวมถึง น้ำยาบ้วนปากทั้ง 4 สูตร มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α สูงกว่า น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพประกอบ 22) ในขณะเดียวกัน พบว่า สารสกัดพรอพอลิส 1% และ 5% น้ำยาบ้วนปาก สูตรที่ 2 (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, พรอพอลิส 5%), สูตรที่ 3 (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, สารสกัดกัญชา 1% และพรอพอลิส 1%) และสูตรที่ 4 (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, สารสกัดกัญชา 1% และพรอพอลิส 5%) มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α สูงกว่าสารสกัดกัญชา 1% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพประกอบ 23) และเมื่อเทียบกับน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกผสมสารสกัดกัญชา สูตรจากการศึกษาก่อนหน้า พบว่า สารสกัดพรอพอลิส 5% และน้ำยาบ้วนปาก สูตรที่ 2 (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, พรอพอลิส 5%) มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α ที่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพประกอบ 24)



ภาพประกอบ 22 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α เทียบกับอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว ของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ และน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%



ภาพประกอบ 23 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α เทียบกับอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว ของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ และ สารสกัดกัญชา 1%



ภาพประกอบ 24 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α เทียบกับอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว ของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ และน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกผสมสารสกัดกัญชา 1% จากการศึกษาก่อนหน้า

บทที่ 5
อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผลการวิจัย

ปัจจุบันการศึกษาเกี่ยวกับประโยชน์ของโพรไบโอติกกำลังได้รับความสนใจอย่างมาก รวมถึงในทางทันตกรรม โดยพบว่าสามารถใช้ประโยชน์ของโพรไบโอติกให้เกิดผลดีต่อการรักษาในหลายด้าน[13, 14] การศึกษาประสิทธิภาพของโพรไบโอติกโดย Ladda และคณะ พบว่าโพรไบโอติกที่คัดแยกจากเด็กแรกเกิดในไทย มีความสามารถในการต้านการอักเสบได้ โพรไบโอติกที่ศึกษา คือ *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 ได้รับการยืนยันว่าน้ำเลี้ยง (supernatant) ของโพรไบโอติกชนิดนี้ มีความสามารถในการยับยั้งการหลั่งสารสื่ออักเสบ TNF-α จาก THP-1 monocytic cells ได้อย่างมีประสิทธิภาพ[74] โพรไบโอติกชนิดนี้พบว่ามีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดโรคต่างๆในตับเมื่อศึกษาในหนูทดลอง[75] และมีประสิทธิภาพในการลดอาการอักเสบของสิวในการศึกษาในผู้ป่วย[76] ต่อมา Banjonjit และคณะ ได้นำโพรไบโอติกชนิดเดียวกันมาใช้เป็นน้ำยาล้างแผลในผู้ป่วยหลังผ่าตัดฟันกรามซี่ที่ 3 พบว่า ปริมาณสารสื่ออักเสบ TNF-α ในน้ำเหลืองเหงือกของกลุ่มทดลองต่ำกว่ากลุ่มควบคุม และมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[26] จากผลการศึกษานี้ Nisapa และคณะ ได้ศึกษาต่อโดยพัฒนาเป็นสูตรน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติก เพื่อให้สะดวกต่อการใช้งาน และได้เพิ่มสารสกัดกัญชาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการลดการอักเสบของโพรไบโอติก พบว่าสูตรที่ให้ผลยับยั้ง TNF-α ได้ดีที่สุดและไม่เป็นพิษต่อเซลล์ คือสูตรที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติก 10% และสารสกัดกัญชา 1%[27]

การศึกษานี้ทำการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาบ้วนปากจากโพรไบโอติก ที่มีส่วนผสมของกัญชา และพรอพอลิส ในการลดการหลั่ง TNF-α จากเซลล์โมโนไซต์ Human monocytic cell line ชนิด THP-1 โดยการกระตุ้นการหลั่ง TNF-α ด้วย LPS พร้อมๆกับใส่น้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ และวัดปริมาณการหลั่ง TNF-α ด้วยวิธี sandwich ELISA โดยก่อนเริ่มทดสอบความสามารถในการยับยั้งการหลั่ง TNF-α ของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ จะทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของน้ำยาบ้วนปากแต่ละสูตรก่อน เพื่อยืนยันว่าน้ำยาบ้วนปากสูตรนั้นๆ ส่งผลให้ปริมาณ TNF-α เป็นผลที่เกิดจากการยับยั้งการหลั่ง TNF-α ของเซลล์ โดยไม่ได้เกิดจากน้ำยาบ้วนปากสูตรนั้นๆเป็นพิษต่อเซลล์ทำให้มีปริมาณลดลง หรือทำให้เซลล์ตาย จนไม่สามารถหลั่ง TNF-α ได้ โดยการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ในการทดลองนี้ โดยวิธี MTT assay ซึ่งเป็นวิธี

มาตรฐานในการทดสอบการมีชีวิตของเซลล์ รวมถึงใช้ในการวัด การเพิ่มจำนวนหรือการแบ่งตัวของเซลล์ ทดสอบความเป็นพิษของยา และ กระบวนการเผาผลาญหรือการทำงานของไมโทคอนเดรียของเซลล์[77]

หลักการของ MTT assay คือ กระบวนการเปลี่ยนสาร MTT เป็น ฟอร์มาซาน ซึ่งเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นได้ในเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่เท่านั้น[77, 78] โดยสาร MTT จะสามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ และเยื่อหุ้มไมโทคอนเดรียได้[77] และถูกเปลี่ยนเป็นสารฟอร์มาซานซึ่งมีสีม่วงอมฟ้า ซึ่งสามารถตรวจวัดผลได้โดยการวัดการดูดกลืนแสง[77, 79] หากจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตลดลง จะส่งผลให้กระบวนการเปลี่ยนสารดังกล่าวลดลง จึงจะแปรผันโดยตรงกับปริมาณสารฟอร์มาซานที่มีสีม่วงอมฟ้า และสามารถนำค่าความเข้มแสงที่ได้มาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์เพื่อแสดงผลได้[80]

จากผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสูตรน้ำยาบ้วนปากทั้ง 4 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, พรอพอลิส 1%), สูตรที่ 2 (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, พรอพอลิส 5%), สูตรที่ 3 (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, สารสกัดกัญชา 1% และพรอพอลิส 1%), สูตรที่ 4 (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, สารสกัดกัญชา 1% และพรอพอลิส 5%), สารสกัดพรอพอลิส 1% และ 5%, สูตรน้ำยาบ้วนปากจากการศึกษาก่อนหน้า (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, รสกัดกัญชา 1%) และ ตัวแปรควบคุมบวก คือ น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10% และสารสกัดกัญชา 1% พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ คือ 94.74%, 103.36%, 168.05%, 212.63%, 127.58%, 124.02%, 196.97%, 101.97% และ 240.23% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับ อาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว เป็นตัวแปรควบคุมลบ ทั้งนี้ ตาม ISO 10993-5 กล่าวเกี่ยวกับเครื่องมือที่ใช้ในการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ในห้องทดลอง กล่าวว่า ในการทดสอบ MTT assays หากค่าเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอดของเซลล์ต่ำกว่า 70% จึงจะถือว่าสารนั้นๆ มีความเป็นพิษต่อเซลล์[80] จึงสามารถกล่าวได้ว่า น้ำยาบ้วนปากทุกสูตร สารสกัดพรอพอลิส และตัวแปรควบคุมบวก ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ ในส่วนของสารสกัดพรอพอลิส, น้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 2,3,4 รวมถึงสูตรจากการศึกษาก่อนหน้า และตัวแปรควบคุมบวก ที่มีค่าเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์มากกว่า 100% นั้น จากการศึกษาของ Ghasemi และคณะ กล่าวว่า มีตัวแปรหลายอย่างที่ส่งผลต่อการอ่านผลการทดสอบด้วยวิธี MTT หนึ่งในนั้นคือ จำนวนเซลล์และความหนาแน่นของเซลล์ในทำการทดสอบ โดยพบว่า การเพิ่มจำนวนเซลล์ในหลุมตอนเริ่มต้นทดสอบ จะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นด้วย เมื่อทดสอบในความเข้มข้นของสาร MTT และระยะเวลาบ่ม MTT เท่ากัน[77] นอกจากนี้ การทดสอบ MTT assay ตามหลักการดังกล่าวข้างต้น คือการเปลี่ยนรูปจากสาร MTT เป็นผลึกฟอร์มาซาน โดยส่วนใหญ่

เกิดขึ้นในไมโทคอนเดรียของเซลล์ จึงเป็นการบ่งบอกโดยตรงถึงอัตราการเกิดกระบวนการดังกล่าวของเซลล์[77] สอดคล้องกันกับการศึกษาของ Buranaamnuay ซึ่งระบุว่า ระดับความเข้มของสีผลึกฟอร์มาซานที่ตรวจได้ บ่งบอกถึงจำนวนเซลล์ที่ยังมีชีวิต และยังมีกระบวนการภายในเซลล์เกิดขึ้น[81] ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่า น้ำยาบ้วนปากสูตรข้างต้น อาจส่งผลกระตุ้นให้เซลล์มีการแบ่งตัวเพิ่มขึ้น หรือกระตุ้นให้เซลล์มีอัตราการเกิดกระบวนการต่างๆภายในเซลล์เพิ่มขึ้น จึงเกิดการเปลี่ยนสาร MTT เป็นผลึกฟอร์มาซานเพิ่มขึ้น ทำให้วัดได้ค่าดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้น และมากกว่าตัวแปรควบคุมลบ ซึ่งจำเป็นต้องทำการศึกษาด้วยวิธีอื่นๆที่มีความเหมาะสม และจำเพาะต่อสิ่งที่ต้องการศึกษาต่อไป

ในการทดสอบการยับยั้งการหลั่ง TNF-α ของน้ำยาบ้วนปาก อ่านผลด้วยการวัดค่าดูดกลืนแสง และนำมาเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณเป็นปริมาณสารสื่ออักเสบ TNF-α แต่เนื่องจากปริมาณ TNF-α ของกลุ่มทดลองมีระดับต่ำกว่าค่ามาตรฐานที่นำมาเทียบ โดยอยู่ในระดับพิโคกรัม จึงจำเป็นต้องแสดงผลเป็นค่าดูดกลืนแสง โดยจากสมการของกราฟมาตรฐานจะได้ผลว่าค่าดูดกลืนแสงที่ได้จะมีค่าแปรผันตรงกับปริมาณ TNF-α นั่นคือ ค่าดูดกลืนแสงที่มากจะบ่งบอกถึงปริมาณ TNF-α ที่มากเช่นกัน และได้นำค่ามาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α เมื่อเทียบกับตัวแปรควบคุมลบ คือ อาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว

จากผลการทดสอบพบว่า น้ำยาบ้วนปากจากโพรไบโอติกความเข้มข้น 10% ที่ได้จากน้ำเลี้ยง (supernatant) โพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 ซึ่งกำหนดให้เป็นตัวแปรควบคุมบวก มีความสามารถในการต้านการอักเสบ ตามผลการศึกษาก่อนหน้าที่ได้ยืนยันผลมาแล้ว โดยคุณสมบัติการยับยั้งการหลั่ง TNF-α ของโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 คาดว่าเกิดจาก Protein Immunomodolin ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 30kDa ซึ่งพบในน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกดังกล่าว โดยเมื่อทดสอบด้วยเอนไซม์ peoteinase K ความสามารถในการต้านการอักเสบของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกนี้จะลดลง เนื่องจาก Immunomodolin จากแบคทีเรียกลุ่มนี้จะถูกทำลายโดยเอนไซม์ดังกล่าว[74]

จากการศึกษาของ Nisapa และคณะ ได้ผลการทดสอบสูตรที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการหลั่ง TNF-α คือสูตรน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกผสมสารสกัดกัญชา 1% พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α เท่ากับ 83.79% เมื่อเทียบกับอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว[27] ในขณะที่ การทดลองนี้ทดสอบสูตรดังกล่าวได้ผลเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α เมื่อเทียบกับอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว ได้ผลเท่ากับ 66.54% จากผลที่ได้พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α ของน้ำยาบ้วนปากสูตรโพรไบโอติกผสมสารสกัดกัญชา 1% มีความแตกต่างกัน

ประมาณ 17% อาจเป็นเพราะสารสกัดกัญชาไม่สามารถละลายในน้ำได้ ในสูตรน้ำยาบ้วนปากนี้สารสกัดกัญชาจึงเป็นสารละลายในรูปแบบของน้ำมันกัญชาที่มีการแบ่งชั้นกับส่วนประกอบของสารอื่นๆในสูตร เมื่อแบ่งมาทำการทดลองแต่ละครั้งในปริมาณ 100 ไมโครลิตร จึงอาจมีปริมาณของน้ำมันกัญชาในแต่ละครั้ง แต่ละการทดลองไม่เท่ากัน อย่างไรก็ตามผลเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α ของทั้ง 2 การทดลอง พบว่าเมื่อเพิ่มสารสกัดกัญชาลงในน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกจะเพิ่มความสามารถในการยับยั้ง TNF-α ได้ดีขึ้นเช่นเดียวกัน คุณสมบัติการต้านการอักเสบของกัญชาที่พบในทั้ง 2 การศึกษานี้ สอดคล้องกับที่ Gugliandolo และคณะ ได้สรุปไว้ว่า Cannabidiol (CBD) ที่พบในกัญชามีผลลดการแสดงออกผ่าน NF-**K**B ซึ่งมีส่วนสำคัญในการควบคุมการอักเสบในระดับ transcription ของสารสื่ออักเสบต่างๆ รวมถึง TNF-α ด้วย[82] ยิ่งไปกว่านั้น Wang และคณะ พบว่า CBD มีกลไกการต้านอักเสบที่คล้ายคลึงกับยา dexamethasone โดย CBD จะมีบทบาทในการควบคุมการกระตุ้น MAPK pathway ผ่าน JNK และ ERK signaling pathways ซึ่งมีผลต่อ NF-**K**B และส่งผลลดการหลั่ง TNF-α ตามมา ในขณะที่ยา dexamethasone จะส่งผลผ่านเพียงแค่ ERK เท่านั้น[83] Peyravian และคณะ พบว่า CBD ส่งผลลดปริมาณ mRNA ของ TNF-α รวมถึงสารสื่ออักเสบชนิดอื่นๆด้วยเช่นกัน[84] ในขณะเดียวกัน Kongkadee และคณะ ได้ศึกษาเจาะจงถึงกระบวนการต้านการอักเสบและผลต่อการหายของแผลในช่องปากของ CBD ได้ผลไปในทางเดียวกันว่า CBD มีความสามารถในการยับยั้งการสร้าง TNF-α ได้ดี และยังมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการหายของแผลเมื่อทดสอบกับเซลล์ไฟโบบลาสต์เหงือกได้ดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[85]

จากผลในการศึกษานี้ยังพบด้วยว่าเมื่อเพิ่มพรอพอลิสในสูตรน้ำยาบ้วนปาก ทำให้ได้ผลการยับยั้งการหลั่ง TNF-α ที่สูงถึงมากกว่า 90% ในทุกสูตร เมื่อเทียบกับน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก และน้ำยาบ้วนปากน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกผสมสารกัดกัญชา ที่มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการหลั่ง TNF-α เท่ากับ 13.25% และ 66.54% ตามลำดับเท่านั้น แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบของพรอพอลิสที่ชัดเจน สอดคล้องกับการศึกษาของ Farukawa และคณะ ที่พบว่า พรอพอลิสสามารถลดปริมาณ TNF-α และ IL-1ß และยังส่งเสริมการหายของแผลในการเพิ่มปริมาณ keratin1 และ keratin5 ได้อีกด้วย[86] นอกจากนี้ Jajali และคณะ ได้อธิบายไว้ว่า คุณสมบัติในการควบคุมระบบภูมิคุ้มกันของพรอพอลิส มีบทบาทในการควบคุมหลายส่วนในระบบภูมิคุ้มกัน ในส่วนของการควบคุมการเกิดการอักเสบ พบว่าพรอพอลิสส่งผลของต่อระบบภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด (Innate immunity) และส่งผลลดการแสดงออกของยีนส์ควบคุมการอักเสบหลายชนิด รวมถึงสารสื่ออักเสบต่างๆ เช่น TNF-α และ IL-6 นอกจากนี้ยังพบคุณสมบัติในการลดสารสื่ออักเสบดังกล่าวใน

พรอพอลิสจากหลากหลายพื้นที่แตกต่างกัน[87] มีการศึกษาถึงสารออกฤทธิ์ในพรอพอลิสซึ่งมีหลากหลายชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ terpenes และสารประกอบฟีโนลิกส์ต่างๆ ทำให้พรอพอลิสมีคุณสมบัติต่างๆที่เป็นประโยชน์หลากหลาย Zulhendri และคณะ ทำการศึกษาทบทวนวรรณกรรมอย่างเป็นระบบ ได้สรุปว่า พรอพอลิสมีความสามารถในการลดสาระสำคัญในกระบวนการอักเสบหลายชนิด หนึ่งในสารออกฤทธิ์ที่ส่งผลดังกล่าว คือ Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) โดยส่งผลยับยั้งการกระตุ้นการส่งสัญญาณผ่าน NF-**K**B นอกจากนี้ยังเกิดจากผลการต้านอนุมูลอิสระจากฟลาโวนอยด์ และพอลีฟีนอล[67] จากผลการทดลองในการศึกษานี้พบว่า เมื่อทดสอบสารสกัดพรอพอลิสความเข้มข้น 5%, น้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกผสมพรอพอลิส 5% และน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกผสมสารสกัดกัญชาและพรอพอลิส 5% มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการหลั่ง TNF-α มากกว่าสารสกัดพรอพอลิสความเข้มข้น 1%, น้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกผสมพรอพอลิส 1% และน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกผสมสารสกัดกัญชาและพรอพอลิส 1% ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของพรอพอลิสความสามารถในการยับยั้งการหลั่ง TNF-α จะเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Sahlan และคณะ ที่พบว่าคุณสมบัติต้านการอักเสบของพรอพอลิสจะเปลี่ยนไปตามระดับความเข้มข้น โดยในความเข้มข้นต่ำ พรอพอลิสจะกระตุ้นการหลั่ง TNF-α แต่เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น พรอพอลิสจะมีความสามารถในการยับยั้งการหลั่ง TNF-α ที่มากขึ้นไปด้วย[68]

จากการศึกษานี้จึงสามารถกล่าวได้ว่าพรอพอลิสมีความสามารถในการเสริมฤทธิ์การต้านอักเสบของน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกได้ดี น้ำยาบ้วนปากจากโพรไบโอติกผสมพรอพอลิสจึงเป็นส่วนผสมที่มีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบที่น่านำไปปรับใช้เพื่อประโยชน์ทางการรักษาต่อไป

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสูตรน้ำยาบ้วนปากจากน้ำเลี้ยงโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 ผสมกับพรอพอลิส, ผสมสารสกัดกัญชา และพรอพอลิสกับ น้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกสูตรผสมสารสกัดกัญชา พบว่า น้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกที่มีส่วนผสมของพรอพอลิส และน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกที่มีส่วนผสมของสารสกัดกัญชาและพรอพอลิสทุกสูตร มีความสามารถในการยับยั้งการหลั่ง TNF-α ได้ดีกว่าน้ำเลี้ยงโพรไบโอติกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95% และมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการหลั่ง TNF-α ที่มากกว่าสูตรน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกผสมสารสกัดกัญชา 1% โดยน้ำยาบ้วนปากสูตร

ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด คือ น้ำยาบ้วนปากสูตรที่ 2 (น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, พรอพอลิส 5%) มีเปอร์เซ็นต์มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการหลั่ง TNF-α เท่ากับ 92.96% สูงกว่าสูตรน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติกผสมสารสกัดกัญชา 1% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองในห้องทดลองนี้ ผู้วิจัยเห็นว่าควรนำไปศึกษาต่อในผู้ป่วยจริง เพื่อหาสูตรที่ให้ผลดีที่สุดในผู้ป่วย และประเมินความคิดเห็นเกี่ยวกับรสชาติและความพึงพอใจในการใช้งานจริงต่อไป

บรรณานุกรม

1. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2014;11(8):506-14.
2. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร พ.ศ.2554. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 182, ตอนพิเศษ 86 ง.
3. Williams NT. Probiotics. Am J Health Syst Pharm. 2010;67(6):449-58.
4. Probiotics. Clin Gastroenterol Hepatol. 2019;17(4):A25-A.
5. Gupta V, Garg R. Probiotics. Indian J Med Microbiol. 2009;27(3):202-9.
6. Plaza-Díaz J, Ruiz-Ojeda FJ, Vilchez-Padial LM, Gil A. Evidence of the anti-inflammatory effects of probiotics and synbiotics in intestinal chronic diseases. Nutrients. 2017;9(6):555. eng.
7. Brüssow H. Probiotics and prebiotics in clinical tests: An update. F1000Res. 2019;8. eng. 2019/07/30.
8. Scaldaferri F, Gerardi V, Loris Riccardo L, Fabio Del Z, Mangiola F, Boskoski I, et al. Gut microbial flora, prebiotics, and probiotics in ibd: Their current usage and utility. Biomed Res Int. 2013;2013. English.
9. Tenorio-Jiménez C, Martínez-Ramírez MJ, Gil Á, Gómez-Llorente C. Effects of probiotics on metabolic syndrome: A systematic review of randomized clinical trials. Nutrients. 2020;12(1). eng. 2020/01/08.
10. Green M, Arora K, Prakash S. Microbial medicine: Prebiotic and probiotic functional foods to target obesity and metabolic syndrome. Int J Mol Sci. 2020;21(8). eng. 2020/04/25.
11. Lee NY, Suk KT. The role of the gut microbiome in liver cirrhosis treatment. Int J Mol Sci. 2020;22(1). eng. 2021/01/01.
12. Usami M, Miyoshi M, Yamashita H. Gut microbiota and host metabolism in liver cirrhosis. World J Gastroenterol. 2015;21(41):11597-608. eng. 2015/11/12.

13. Swarna SK, Nivedhitha MS. Probiotics in prevention of dental caries - a literature review. Biosc Biotech Res Comm. 2020;13(8):517-26. English.

14. Anusha RL, Umar D, Basheer B, Baroudi K. The magic of magic bugs in oral cavity: Probiotics. J Adv Pharm Technol Res. 2015;6(2):43-7. English.

15. Seminario-Amez M, Lopez-Lopez J, Estrugo-Devesa A, Ayuso-Montero R, Jane-Salas E. Probiotics and oral health: A systematic review. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2017;22(3):E282-E8. English.

16. Matsubara VH, Bandara HMHN, Mayer MPA, Samaranayake LP. Probiotics as antifungals in mucosal candidiasis. Clin Infect Dis. 2016;62(9):1143-53.

17. Bohora A, Kokate S. Evaluation of the role of probiotics in endodontic treatment: A preliminary study. J Int Soc Prev Community Dent. 2017;7(1):46-51. eng. 2017/02/21.

18. Cosme-Silva L, Dal-Fabbro R, Cintra LTA, Santos VR, Duque C, Ervolino E, et al. Systemic administration of probiotics reduces the severity of apical periodontitis. Int Endod J. 2019;52(12):1738-49.

19. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The wound healing process: An overview of the cellular and molecular mechanisms. J Int Med Res. 2009;37(5):1528-42. eng. 2009/11/26.

20. Wang PH, Huang BS, Horng HC, Yeh CC, Chen YJ. Wound healing. J Chin Med Assoc. 2018;81(2):94-101. eng. 2017/11/25.

21. Guo S, Dipietro LA. Factors affecting wound healing. J Dent Res. 2010;89(3):219-29. eng. 2010/02/09.

22. 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 Regen. 2012;20(1):38-49.

23. Sorg H, Tilkorn DJ, Hager S, Hauser J, Mirastschijski U. Skin wound healing: An update on the current knowledge and concepts. Eur Surg Res. 2017;58(1-2):81-94. eng. 2016/12/16.

24. Krzyszczyk P, Schloss R, Palmer A, Berthiaume F. The role of macrophages in acute and chronic wound healing and interventions to promote pro-wound healing

phenotypes. Front Physiol. 2018;9(419). English.

25. Parameswaran N, Patial S. Tumor necrosis factor-α signaling in macrophages. Crit Rev Eukaryot Gene Expr. 2010;20(2):87-103. eng.
26. 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. 2022/04/12.
27. . The effect of probiotic mouthwash with cannabis extracts on the reduction of inflammatory cytokine: Tumor necrosis factor alpha. The 13th Hatyai National and International Conference; 2022 May 12; Hat Yai, Thailand; 2022.
28. Lafaye G, Karila L, Blecha L, Benyamina A. Cannabis, cannabinoids, and health. Dialogues Clin Neurosci. 2017;19(3):309-16. eng. 2018/01/06.
29. McPartland JM. Cannabis systematics at the levels of family, genus, and species. Cannabis Cannabinoid Res. 2018;3(1):203-12. eng. 2018/11/15.
30. VanDolah HJ, Bauer BA, Mauck KF. Clinicians' guide to cannabidiol and hemp oils. Mayo Clin Proc. 2019;94(9):1840-51. eng. 2019/08/27.
31. Hill KP, Palastro MD. Medical cannabis for the treatment of chronic pain and other disorders: Misconceptions and facts. Pol Arch Intern Med. 2017;127(11):785-9. eng. 2017/10/27.
32. Atalay S, Jarocka-Karpowicz I, Skrzydlewska E. Antioxidative and anti-inflammatory properties of cannabidiol. Antioxidants (Basel). 2019;9(1). eng. 2019/12/29.
33. Sommano SR, Chittasupho C, Ruksiriwanich W, Jantrawut P. The cannabis terpenes. Molecules. 2020;25(24). eng. 2020/12/12.
34. Nichols JM, Kaplan BLF. Immune responses regulated by cannabidiol. Cannabis Cannabinoid Res. 2020;5(1):12-31. eng. 2020/04/24.
35. Schofs L, Sparo MD, Sánchez Bruni SF. The antimicrobial effect behind cannabis sativa. Pharmacol Res Perspect. 2021;9(2):e00761. eng. 2021/04/07.
36. Blaskovich MAT, Kavanagh AM, Elliott AG, Zhang B, Ramu S, Amado M, et al. The antimicrobial potential of cannabidiol. Commun Biol. 2021;4(1):7. eng. 2021/01/21.

37. Lowe H, Toyang N, Steele B, Bryant J, Ngwa W, Nedamat K. The current and potential application of medicinal cannabis products in dentistry. Dent J (Basel). 2021;9(9). eng. 2021/09/26.

38. Bhargava P, Mahanta D, Kaul A, Ishida Y, Terao K, Wadhwa R, et al. Experimental evidence for therapeutic potentials of propolis. Nutrients. 2021;13(8):2528. eng.

39. Chiu H-F, Han Y-C, Shen Y-C, Golovinskaia O, Venkatakrishnan K, Wang C-K. Chemopreventive and chemotherapeutic effect of propolis and its constituents: A mini-review. J Cancer Prev. 2020;25(2):70-8. eng.

40. Anjum SI, Ullah A, Khan KA, Attaullah M, Khan H, Ali H, et al. Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. Saudi J Biol Sci. 2019;26(7):1695-703. eng. 2019/11/26.

41. Braakhuis A. Evidence on the health benefits of supplemental propolis. Nutrients. 2019;11(11). eng. 2019/11/14.

42. Cornara L, Biagi M, Xiao J, Burlando B. Therapeutic properties of bioactive compounds from different honeybee products. Front Pharmacol. 2017;8:412. eng. 2017/07/14.

43. Šuran J, Cepanec I, Mašek T, Radić B, Radić S, Tlak Gajger I, et al. Propolis extract and its bioactive compounds-from traditional to modern extraction technologies. Molecules. 2021;26(10). eng. 2021/06/03.

44. Przybyłek I, Karpiński TM. Antibacterial properties of propolis. Molecules. 2019;24(11). eng. 2019/05/31.

45. Pasupuleti VR, Sammugam L, Ramesh N, Gan SH. Honey, propolis, and royal jelly: A comprehensive review of their biological actions and health benefits. Oxid Med Cell Longev. 2017;2017:1259510. eng. 2017/08/18.

46. Abbasi AJ, Mohammadi F, Bayat M, Gema SM, Ghadirian H, Seifi H, et al. Applications of propolis in dentistry: A review. Ethiop J Health Sci. 2018;28(4):505-12. eng. 2019/01/05.

47. Saeed MA, Khabeer A, Faridi MA, Makhdoom G. Effectiveness of propolis in maintaining oral health: A scoping review. Can J Dent Hyg. 2021;55(3):167-76.

eng. 2021/12/21.

48. López-Valverde N, Pardal-Peláez B, López-Valverde A, Flores-Fraile J, Herrero-Hernández S, Macedo-de-Sousa B, et al. Effectiveness of propolis in the treatment of periodontal disease: Updated systematic review with meta-analysis. Antioxidants (Basel). 2021;10(2). eng. 2021/02/14.
49. Lisbona-González MJ, Muñoz-Soto E, Lisbona-González C, Vallecillo-Rivas M, Diaz-Castro J, Moreno-Fernandez J. Effect of propolis paste and mouthwash formulation on healing after teeth extraction in periodontal disease. Plants (Basel). 2021;10(8). eng. 2021/08/29.
50. Forma E, Bryś M. Anticancer activity of propolis and its compounds. Nutrients. 2021;13(8). eng. 2021/08/28.
51. Hai NV. The use of probiotics in aquaculture. J Appl Microbiol. 2015;119(4):917-35. eng. 2015/06/30.
52. ชาญวิทย์ สุวรรณ์ ชจ. การประยุกต์ใช้โพรไบโอติกในการเลี้ยงปลานิล. เชียงใหม่สัตวแพทยสาร. 2560;15(1):15-24.
53. ศิลาลาย ค. โพรไบโอติกที่ใช้ประโยชน์ในปศุสัตว์probiotics: The advantage in livestock. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 2561; 36 (1) 152-60.
54. Wälivaara D, Sjögren I, Gerasimcik N, Yucel-Lindberg T, Twetman S, Abrahamsson P. Effects of lactobacillus reuteri-containing lozenges on healing after surgical removal of mandibular third molars: A randomised controlled trial. Benef Microbes. 2019;10(6):653-9. eng. 2019/06/04.
55. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. Physiol Rev. 2003;83(3):835-70. eng. 2003/07/05.
56. Page RL, 2nd, Allen LA, Kloner RA, Carriker CR, Martel C, Morris AA, et al. Medical marijuana, recreational cannabis, and cardiovascular health: A scientific statement from the american heart association. Circulation. 2020;142(10):e131-e52. eng. 2020/08/06.
57. Grof CPL. Cannabis, from plant to pill. Br J Clin Pharmacol. 2018;84(11):2463-7. eng. 2018/04/28.

58. MacCallum CA, Lo LA, Boivin M. "Is medical cannabis safe for my patients?" A practical review of cannabis safety considerations. Eur J Intern Med. 2021;89:10-8. eng. 2021/06/05.

59. Gottschling S, Ayonrinde O, Bhaskar A, Blockman M, D'Agnone O, Schecter D, et al. Safety considerations in cannabinoid-based medicine. Int J Gen Med. 2020;13:1317-33. eng. 2020/12/11.

60. Stahl V, Vasudevan K. Comparison of efficacy of cannabinoids versus commercial oral care products in reducing bacterial content from dental plaque: A preliminary observation. Cureus. 2020;12(1):e6809. eng. 2020/02/11.

61. Vasudevan K, Stahl V. Cannabinoids infused mouthwash products are as effective as chlorhexidine on inhibition of total-culturable bacterial content in dental plaque samples. J Cannabis Res. 2020;2(1):20. eng. 2021/02/03.

62. 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. 2021/01/14.

63. Stojko M, Wolny D, Włodarczyk J. Nonwoven releasing propolis as a potential new wound healing method-a review. Molecules. 2021;26(18). eng. 2021/09/29.

64. Zulhendri F, Chandrasekaran K, Kowacz M, Ravalia M, Kripal K, Fearnley J, et al. Antiviral, antibacterial, antifungal, and antiparasitic properties of propolis: A review. Foods. 2021;10(6). eng. 2021/07/03.

65. Oryan A, Alemzadeh E, Moshiri A. Potential role of propolis in wound healing: Biological properties and therapeutic activities. Biomed Pharmacother. 2018;98:469-83. eng. 2017/12/30.

66. Kocot J, Kiełczykowska M, Luchowska-Kocot D, Kurzepa J, Musik I. Antioxidant potential of propolis, bee pollen, and royal jelly: Possible medical application. Oxid Med Cell Longev. 2018;2018:7074209. eng. 2018/06/02.

67. Jalali M, Ranjbar T, Mosallanezhad Z, Mahmoodi M, Moosavian SP, Ferns GA, et al. Effect of propolis intake on serum c-reactive protein (crp) and tumor necrosis factor-alpha (tnf-α) levels in adults: A systematic review and meta-analysis of

clinical trials. Complement Ther Med. 2020;50:102380. eng. 2020/05/24.

68. Sahlan M, Mahira KF, Pratami DK, Rizal R, Ansari MJ, Al-Anazi KM, et al. The cytotoxic and anti-inflammatory potential of tetragonula sapiens propolis from sulawesi on raw 264.7 cell lines. Journal of King Saud University - Science. 2021;33(2):101314.
69. Halboub E, Al-Maweri SA, Al-Wesabi M, Al-Kamel A, Shamala A, Al-Sharani A, et al. Efficacy of propolis-based mouthwashes on dental plaque and gingival inflammation: A systematic review. BMC Oral Health. 2020;20(1):198. eng. 2020/07/12.
70. Tambur Z, Miljkovi**ć**-Selimovi**ć** B, Opa**č**i**ć** D, Vukovi**ć** B, Maleševi**ć** A, Ivan**č**aji**ć** L, et al. Inhibitory effects of propolis and essential oils on oral bacteria. J Infect Dev Ctries. 2021;15(7):1027-31. eng. 2021/08/04.
71. Dastan F, Ameri A, Dodge S, Hamidi Shishvan H, Pirsalehi A, Abbasinazari M. Efficacy and safety of propolis mouthwash in management of radiotherapy induced oral mucositis; a randomized, double blind clinical trial. Rep Pract Oncol Radiother. 2020;25(6):969-73. eng. 2020/10/27.
72. Dehghani M, Abtahi M, Hasanzadeh N, Farahzad Z, Noori M, Noori M. Effect of propolis mouthwash on plaque and gingival indices over fixed orthodontic patients. J Clin Exp Dent. 2019;11(3):e244-e9. eng. 2019/04/20.
73. Ozan F, Sümer Z, Polat ZA, Er K, Ozan U, Deger O. Effect of mouthrinse containing propolis on oral microorganisms and human gingival fibroblasts. Eur J Dent. 2007;1(4):195-201. eng. 2007/10/01.
74. Ladda B, Theparee T, Chimchang J, Tanasupawat S, Taweechotipatr M. In vitro modulation of tumor necrosis factor **α** production in thp-1 cells by lactic acid bacteria isolated from healthy human infants. Anaerobe. 2015;33:109-16. eng. 2015/03/12.
75. 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. 2020/05/30.

76. 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;21(10):5092-7. eng. 2022/04/07.

77. Ghasemi M, Turnbull T, Sebastian S, Kempson I. The mtt assay: Utility, limitations, pitfalls, and interpretation in bulk and single-cell analysis. Int J Mol Sci. 2021;22(23). eng. 2021/12/11.

78. Shekhany B, SÜZergÖZ F, Boyraz MÜ. Cellular imaging analysis of mtt assay based on tetrazolium reduction. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2021;18(1):95-99.

79. Sazonova EV, Chesnokov MS, Zhivotovsky B, Kopeina GS. Drug toxicity assessment: Cell proliferation versus cell death. Cell Death Discov. 2022;8(1):417.

80. 10993-5:2009 I. Biological evaluation of medical devices. Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. Standardization IOf, editor. Geneva, Switzerland2009.

81. Buranaamnuay K. The mtt assay application to measure the viability of spermatozoa: A variety of the assay protocols. Open Vet J. 2021;11(2):251-69. eng. 2021/07/27.

82. Gugliandolo E, Licata P, Peritore AF, Siracusa R, D'Amico R, Cordaro M, et al. Effect of cannabidiol (cbd) on canine inflammatory response: An ex vivo study on lps stimulated whole blood. Vet Sci. 2021;8(9). eng. 2021/09/27.

83. Wang Y, Wang X, Yang Y, Quan Q, Huo T, Yang S, et al. Comparison of the in vitro anti-inflammatory effect of cannabidiol to dexamethasone. Clin Cosmet Investig Dermatol. 2022;15:1959-67. eng. 2022/09/27.

84. Peyravian N, Deo S, Daunert S, Jimenez JJ. The anti-inflammatory effects of cannabidiol (cbd) on acne. J Inflamm Res. 2022;15:2795-801. eng. 2022/05/11.

85. Kongkadee K, Wisuitiprot W, Ingkaninan K, Waranuch N. Anti-inflammation and gingival wound healing activities of cannabis sativa l. Subsp. Sativa (hemp) extract and cannabidiol: An in vitro study. Arch Oral Biol. 2022;140:105464. eng. 2022/05/28.

86. Furukawa M, Wang J, Kurosawa M, Ogiso N, Shikama Y, Kanekura T, et al. Effect of green propolis extracts on experimental aged gingival irritation in vivo and in vitro.

J Oral Biosci. 2021;63(1):58-65. eng. 2021/01/24.

87. Zulhendri F, Lesmana R, Tandean S, Christoper A, Chandrasekaran K, Irsyam I, et al. Recent update on the anti-inflammatory activities of propolis. Molecules. 2022;27(23). eng. 2022/12/12.

ภาคผนวก

แผนการดำเนินงานวิจัย

ปี (งบประมาณ)	กิจกรรม	เดือนที่												ร้อยละของกิจกรรมในปีงบประมาณ
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
ปีที่ 1	รวบรวมเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	x	x	x	x	x	x							50
	จัดเตรียมเอกสารเพื่อขออนุญาตคณะกรรมการจริยธรรมเพื่อการวิจัยในมนุษย์					x	x	x						10
	จัดเตรียมน้ำยาบ้วนปากโพรไบโอติก							x	X					10
	เก็บรวบรวมข้อมูบตามขั้นตอนวิจัย									x	x	x	x	30
	รวม													100
ปีที่ 2	วิเคราะห์ข้อมูลที่เก็บจากการทดลอง	x	x	x	x									30
	ประมวลผลและสรุปผลการวิจัย				x	x	x	x						30
	นำเสนอต่อคณะกรรมการพิจารณาทุนวิจัย								x	x				10
	ผลวิจัยนำเสนอในงานประชุมและ/หรือตีพิมพ์ผลงานวิจัย										x	x	x	30
	รวม													100

ตารางแสดงผลค่าดูดกลืนแสง และปริมาณ TNF-α ของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่างๆ และตัวแปรควบคุม

สูตร	ส่วนผสม	ค่าการดูดกลืนแสง	ปริมาณ TNF-α (picogram)
1	น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, พรอพอลิส 1%	0.0856	-1.44
2	น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, พรอพอลิส 5%	0.0758	-3.29
3	น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, สารสกัดกัญชา 1% และพรอพอลิส 1%	0.0841	-0.68
4	น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%, สารสกัดกัญชา 1% และพรอพอลิส 5%	0.0823	-4.28
	สารสกัดพรอพอลิส 1%	0.0835	-1.29
	สารสกัดพรอพอลิส 5%	0.0783	-1.74
	เลี้ยงโพรไบโอติก 10%, สารสกัดกัญชา 1%	0.3602	93.56
	สารสกัดกัญชา 1%	0.5337	161.42
	น้ำเลี้ยงโพรไบโอติก 10%	0.9338	308.64
	อาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดเหลว	1.0765	353.99

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล ณัฐญาณ์ ซื่อตรงตระกูล

ผลงานตีพิมพ์ -

รางวัลที่ได้รับ -