บทที่ 5
อภิปรายผล

1. อภิปรายผล

การรักษาโรคปริทันต์อักเสบด้วยการใช้ยาปฏิชีวนะร่วมกับการขูดหินปูนและเกลารากฟันอาจเกิดผลข้างเคียงจากการใช้ยา นอกจากนี้ยังมีการต้านต่อยาปฏิชีวนะของเชื้อจุลินทรีย์ในการรักษาโรคปริทันต์อักเสบ[103] การรักษาด้วยวิธีโฟโตไดนามิกส์เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษาโรคปริทันต์ร่วมกับการขูดหินปูนและเกลารากฟัน โดยการสร้างรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์ เป็นบทบาทสำคัญในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์เป้าหมาย รูปแบบการศึกษาในครั้งนี้อาศัยการกระตุ้นสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารไวแสง โดยการฉายแสง จากนั้นทำการตรวจวัดการเกิดรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์ที่เวลาจริง (real time) ด้วยเครื่องมือ electron paramagnatic resonance (EPR) spectroscopy

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่ากลุ่มทดลองที่ประกอบด้วยอีริโทรซินที่ความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการฉายแสง สามารถสร้างซิงเกลทออกซิเจนและลิปิด ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ในขณะที่กลุ่มทดลองที่ใช้อีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ โคโปรพอร์ไฟรินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการฉายแสง สามารถสร้างซิงเกลทออกซิเจนและซุปเปอร์ออกไซด์ แอนไอออนตลอดทำการทดลอง 15 นาที การทดลองทั้งสองกลุ่มนี้พบว่ามีปริมาณเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส ไม่แตกต่างกับกลุ่มทดลองที่ใช้คลอเฮกซิดีนความเข้มข้นร้อยละ 12 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการใช้อีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ หรือใช้ร่วมกับโคโปรพอร์ไฟรินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ร่วมกับการฉายแสง สามารถฆ่าเชื้อพอร์ไฟโรโมแนสจิงจิวาลิสได้

กลุ่มทดลองที่ใช้โคโปรพอร์ไฟรินความเข้มข้น 22 และ 220 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการฉายแสง สามารถสร้างลิปิด ไฮโดรเปอร์ออกไซด์หรือไฮดรอกซิลเรดิเคิล เพียงอย่างเดียวจากการตรวจวัดด้วยเทคนิค EPR แต่ในทดลองฆ่าเชื้อพบว่ามีปริมาณเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กลุ่มการทดลองที่ใช้โคโปรพอร์ไฟรินความเข้มข้น 88 ไมโครโมลาร์ และการฉายแสงสร้างซิงเกลทออกซิเจนปริมาณน้อยและลิปิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ พบว่ามีปริมาณเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิสไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษาของ Izzo และ Walsh [104] พบว่าเมื่อฉายแสงด้วยไดโอดเลเซอร์ ความยาวคลื่น 455 หรือ 625 นาโนเมตรไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส แต่ในการศึกษาของ Soukos และคณะ [18] พบว่าเมื่อฉายแสงความยาวคลื่น

380-520 นาโนเมตร สามารถฆ่าเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส ได้ร้อยละ 99 จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้โคโปพอร์ไฟรินเพียงอย่างเดียวร่วมกับการฉายแสงไม่สามารถฆ่าเชื้อได้ถึงแม้ว่ามีการสร้างลิปิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์และซิงเกลทออกซิเจนเกิดขึ้น

กลุ่มการทดลองที่ใช้แอนโทไซยานินความเข้มข้น 101, 202, 303 ไมโครโมลาร์ ในการทดลองนี้ไม่ได้ทำการฉายแสงเนื่องจากไม่พบการสร้างอนุมูลอิสระ ในการศึกษาของ Labrecque และคณะ [105] พบว่า แอนโทไซยานินไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส แต่จะยับยั้งการสร้างแผ่นฟิล์มชีวภาพฟันที่เกิดจากเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส และการศึกษาของ La และคณะ [106] และการศึกษาของ Santos และคณะ [107] พบว่าแอนโทไซยานินสามารถยับยั้งเอ็นไซม์โปรตีนเนสของเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส และการสร้างไซโตไคน์ของเซลล์ที่ถูกกรตุ้นได้ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองนี้ พบว่ามีปริมาณเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส ไม่แตกต่างจากลุ่มทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าแอนโทไซยานินความเข้มข้น 101, 202, 303 ไมโครโมลาร์ ไม่สามารถฆ่าเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส ได้

กลุ่มทดลองที่ใช้อีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับแอนโทไซยานินความเข้มข้น 101, 202, 303 ไมโครโมลาร์ และการฉายแสง สามารถสร้างซิงเกลทออกซิเจนปริมาณไม่แตกต่างจากอีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และไม่สร้างรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์อื่น แสดงให้เห็นว่าแอนโทไซยานินมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระโดยจับกับอนุมูลอิสระด้วยการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ[108, 109] และสอดคล้องกับหลายการศึกษาที่แสดงว่าแอนโทไซยานินมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ[20, 21] การทดลองนี้พบว่ามีปริมาณเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส น้อยกว่ากลุ่มควบคุมแต่มากกว่ากลุ่มทดลองที่ใช้อีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ และการฉายแสง กลุ่มทดลองที่ใช้อีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับโคโปรพอร์ไฟรินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ และการฉายแสงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแสดงให้เห็นว่าการใช้อีริโทรซินร่วมกับแอนโทไซยานินร่วมกับการฉายแสงสามารถฆ่าเชื้อได้โดยการสร้างซิงเกลทออกซิเจนเพียงอย่างเดียวแต่มีปริมาณมาก

กลุ่มทดลองที่ใช้อีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ร่วมกับโคโปรพอร์ไฟรินความเข้มข้น 22 ไมโครโมลาร์ และการฉายแสงสร้างลิปิด ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ในระยะเวลา 3 นาที และซิงเกลทออกซิเจน พบว่ามีปริมาณเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส น้อยกว่ากลุ่มควบคุม แต่มากกว่ากลุ่มทดลองที่ใช้อีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ และการฉายแสง กลุ่มทดลองที่ใช้อีริโทรซิน ความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ โคโปรพอร์ไฟรินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าอีริโทรซินร่วมกับโคโปพอร์ไฟริน

ความเข้มข้น 22 ไมโครโมลาร์ สามารถฆ่าเชื้อได้ โดยสร้างลิปิด ไฮโดรเปอร์ออกไซด์และซิงเกลทออกซิเจน

กลุ่มทดลองที่ใช้อีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ โคโปรพอร์ไฟรินความเข้มข้น 88 ไมโครโมลาร์ และการฉายแสงสร้างซิงเกลทออกซิเจนพบว่ามีปริมาณเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส น้อยกว่ากลุ่มควบคุม แต่มากกว่ากลุ่มทดลองที่ใช้อีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ และการฉายแสง กลุ่มทดลองที่ใช้อีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับโคโปรพอร์ไฟรินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแสดงให้เห็นว่าอีริโทรซินร่วมกับโคโปพอร์ไฟรินความเข้มข้น 88 ไมโครโมลาร์ สามารถฆ่าเชื้อได้ โดยสร้างซิงเกลทออกซิเจนปริมาณที่เพียงพอ

กลุ่มการทดลองที่ใช้อีริโทรซินร่วมกับโคโปรพอร์ไฟริน พบว่ามีการสร้างชนิดและปริมาณอนุมูลอิสระลดน้อยลงนั้นกลไกยังไม่ทราบแน่ชัด กลไกที่เป็นไปได้อาจเกิดจากปรากฏการณ์ quenching ของสารทดสอบ และอีริโทรซินอาจทำปฏิกิริยากับโคโปรพอร์ไฟริน

การทำลายเชื้อแบคทีเรียแกรมลบของอนุมูลอิสระในกระบวนการโฟโตไดนามิกส์จะอาศัยปฏิกิริยาทั้งสองขั้นตอน[76, 77] คือ ปฏิกิริยาที่ 1 (primary reaction) ซิงเกลทออกซิเจนทำปฏิกิริยากับส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก และปฏิกิริยาที่ 2 (secondary reaction) อนุมูลอิสระคล้ายเปอร์ออกซิเรดิคัล (peroxy radical) ทำปฏิกิริยากับเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นใน โดยอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นมีผลต่อส่วนประกอบต่างๆ ของเชื้อแบคทีเรียได้แก่ เกิดปฏิกิริยาลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น (lipid peroxidation) ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์สูญเสียการทำงาน(function) ทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนทำให้รูปร่าง(structure) และการทำงาน(function) ของโปรตีนเสียไป ทำปฏิกิริยากับโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharides) เกิดกระบวนการ ดีโพลีเมอร์ไรเซชั่น (depolymerization) เกิดการทำลายดีเอ็นเอ เป็นต้น[110, 111] ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองคือในกลุ่มการทดลองที่ใช้อีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการฉายแสง สามารถสร้างซิงเกลทออกซิเจนและลิปิด ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ กลุ่มทดลองที่ใช้อีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ โคโปรพอร์ไฟรินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับการฉายแสง สามารถสร้างซิงเกลทออกซิเจนและซุปเปอร์ออกไซด์ แอนไอออนซึ่งพบจำนวนเชื้อพอร์ไฟโรโมแนสน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนในกลุ่มการทดลองที่สร้างอนุมูลอิสระเพียงชนิดเดียวพบว่ามีเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิสมากกว่า ส่วนกลุ่มทดลองที่ใช้อีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ โคโปรพอร์ไฟรินความเข้มข้น 22 ไมโครโมลาร์ และการฉายแสงสร้างอนุมูลอิสระได้สองชนิดแต่พบว่าสร้างลิปิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์เพียง 3 นาที กลุ่มการทดลองที่ใช้โคโปรพอร์ไฟรินความเข้มข้น 88 ไมโครโมลาร์ และการฉายแสงสร้างซิงเกลทออกซิเจนได้ในปริมาณน้อยนอกจากนี้เชื้อพอร์ไฟโรโมแนส

จิงจิวาลิส สามารถผลิตเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเทส เปอร์ออกซิเดส และคาตาเลส ต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นได้[55, 56]

จากการทบทวนวรรณกรรม ในการศึกษาของ Wood และคณะ[17] ได้ทำการเปรียบเทียบการฆ่าเชื้อ *S. mutans* ในแผ่นชีวภาพฟันโดยใช้อีริโทรซิน โฟโตฟริน และเมธีลีน บลู พบว่า อีริโทรซินมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *S. mutans* มากที่สุด การศึกษาของ Metcalf และคณะ[112] พบว่าการใช้อีริโทรซินเป็นสารไวต่อแสงในกระบวนการโฟโตไดนามิกส์สามารถฆ่าเชื้อ *S. mutans* ในแผ่นฟิล์มชีวภาพฟันได้ถึง 2-3.7 $\log_{10}$ (cfu/ml) การศึกษาของ Suwannakul และคณะ[113] พบว่าอีริโทรซินสามารถฆ่าเชื้อพอร์ไฟโรโมแนสจิงจิวาลิสได้ การศึกษาของ Goulart และคณะ [114] พบว่าการใช้อีริโทรซินเป็นสารไวต่อแสงสามารถฆ่าเชื้อ *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ได้ดีกว่าเมธีลีน บลู ในการทดลองนี้พบว่าอิริโทรซินสารมารถฆ่าเชื้อ พอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส ได้มากที่สุดเช่นเดียวกัน และการนำอีริโทรซินมาเป็นสารไวต่อแสงในกระบวนการโฟโตไดนามิกส์มีข้อดีกว่าสีย้อมชนิดอื่นคือ มองเห็นคราบจุลินทรีย์ได้ง่ายและไม่เป็นพิษต่อเซลล์เมื่อไม่ฉายแสง[115]

ในการทดลองนี้ได้จำลองแผ่นฟิล์มชีวภาพฟันของผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบ มีข้อดีคือสามารถควบคุมปริมาณเชื้อพอร์ไฟโรโมแนส จิงจิวาลิส น้ำหนักแผ่นฟิล์มชีวภาพฟันให้มีปริมาณใกล้เคียงกันในแต่ละกลุ่มทดลอง สภาวะที่ทำการทดลองอยู่ในสภาวะเดียวกัน แต่ในร่องเหงือกของผู้ป่วยที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบจะมีการไหลของน้ำเหลืองเหงือก (gingival crevicular fluid) โปรตีนในซีรั่ม เลือด และน้ำลาย อาจทำให้สารไวแสงสูญเสียคุณสมบัติบางประการได้ ในการทดลองนี้ใช้หลอดทังสเตนเป็นแหล่งกำเนิดแสง ให้แสง visible light ช่วงความยาวคลื่น 400-700 นาโนเมตร ทำการวัดรีแอคทีพออกซิเจนสปีชีส์และทำการทดลองฆ่าเชื้อ ถึงแม้ว่ากำลังของหลอดไฟแตกต่างกันในทั้งสองการทดลอง แต่ได้ปรับระยะห่างให้ได้ความเข้มของแสงเท่ากันในทั้งสองการทดลอง คือ 4, 444 ลักซ์ และผลการทดลองที่ได้นั้นสอดคล้องกัน ข้อจำกัดของการทดลองนี้ ขั้นตอนการวัดรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์สารทดสอบ ได้ทำการละลายสารทดสอบแต่ละชนิดในเมธานอล ส่วนในขั้นตอนการทดสอบการทำลายเชื้อนั้นสารทดสอบละลายในน้ำและสารละลายริงเกอร์ จึงสามารถอธิบายได้เพียงการสร้างชนิดของรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์และจำนวนอนุมูลอิสระว่ามีปริมาณมากหรือน้อยเท่านั้น

ภายใต้สภาวะการทดลองนี้พบว่าอีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ และอีริโทรซินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ โคโปรพอร์ไฟรินความเข้มข้น 220 ไมโครโมลาร์ ทำลายเชื้อพอร์ไพโรโมแนส จิงจิวาลิส ในแผ่นฟิล์มชีวภาพฟันมากที่สุด และไม่แตกต่างจากคลอเฮกซิดี

นความเข้มข้นร้อยละ 0.12 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การวิจัยนี้จะเป็นพื้นฐานในการศึกษาต่อเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในทางคลินิกต่อไป

2. สรุป

ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงประสิทธิภาพของสารไวต่อแสงร่วมกับการกระตุ้นด้วยแสงในการสร้างซิงเกลทออกซิเจนและอนุมูลอิสระ และการฆ่าเชื้อพอร์ไฟโรโมแนสจิงจิวาลิส โดยการใช้อีริโทซินและอีริโทซินร่วมกับโคโปรพอร์ไฟริน เป็นสารไวต่อแสงสามารถทำลายเชื้อได้ดีที่สุดเทียบเท่าคลอเฮกซีดีน จึงมีความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาสารกลุ่มนี้เพื่อการรักษาผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบต่อไป

3. ข้อเสนอแนะ

จากผลการวิจัยนี้ มีข้อเสนอแนะเพื่อประโยชน์ในการศึกษาต่อไปในอนาคตดังนี้

1) ควรใช้เลเซอร์ที่มีความยาวคลื่นที่เหมาะสมมาทำการทดลอง
2) ควรพัฒนารูปแบบของสารไวต่อแสงเพื่อให้สามารถคงอยู่ในร่องเหงือก