บทที่ 5
อภิปรายผล

อาสาสมัครในการศึกษานี้ถูกแบ่งออกเป็นสองกลุ่ม โดยได้รับการควบคุมตัวแปรต่างๆ ให้มีความแตกต่างกันน้อยที่สุด ได้แก่ เพศ อายุ ชนิดของฟันที่ศึกษา ระดับความลึกร่องลึกปริทันต์ ณ จุดเริ่มต้นศึกษา เพื่อศึกษาผลที่เกิดจากการใช้เจลผสมสารสกัดจากใบข่อยใส่ลงในร่องลึกปริทันต์ ส่วนการออกแบบการศึกษาครั้งนี้เป็นชนิด parallel design คือ แยกอาสาสมัครออกเป็น 2 กลุ่มโดยอิสระต่อกัน และปิดบังข้อมูล 2 ระดับ (double-blinded) โดยอาสาสมัครไม่ทราบว่าตนเองได้รับหรือไม่ได้รับการใส่เจลผสมสารสกัดจากใบข่อยลงในร่องลึกปริทันต์ และผู้วัดผลทางคลินิกไม่ทราบว่าอาสาสมัครอยู่ในกลุ่มใด การออกแบบการศึกษานี้มีข้อดีกว่าการศึกษาแบบแยกส่วนในช่องปาก (split-mouth design) คือ ไม่มีการปนเปื้อนของสารที่ใช้ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบ แต่มีข้อเสียคือใช้จำนวนตัวอย่างศึกษาจำนวนมากกว่า

การศึกษาแบ่งออกเป็นสามส่วนได้แก่ การศึกษาความปลอดภัยทางคลินิก การศึกษาผลทางคลินิก และการศึกษาผลทางจุลชีววิทยาซึ่งทำการศึกษาเชื้อ *P.gingivalis* ปัจจัยที่ผู้วิจัยเลือกศึกษาเชื้อชนิดนี้เนื่องจากอยู่ในกลุ่มเชื้อก่อโรคปริทันต์ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญในการเกิดพยาธิสภาพของโรคปริทันต์อักเสบหลายชนิด [21] เป็นเชื้อที่มีความสัมพันธ์กับอาการเลือดออกและการมีร่องลึกปริทันต์ [42] อีกทั้งมีหลายการศึกษายืนยันว่าความชุกของเชื้อ *P.gingivalis* ในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบนั้นค่อนข้างสูง [1,43-47] และจากการศึกษาของลม จันทร์ชัยมงคล ในปี ค.ศ. 2006[48] ศึกษาพบว่าผู้ป่วยชาวไทยที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบเรื้อรังระดับรุนแรงน้อยและระดับรุนแรงปานกลางถึงมาก จำนวน 40 คน สามารถตรวจพบเชื้อ *P.gingivalis* ได้ถึงร้อยละ 85 และ 95 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากข่อยนั้นมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายเชื้อ *P.gingivalis* ได้ [13] แต่ในการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดข่อยในการศึกษานี้ได้ทำการทดสอบกับเชื้อ *A.actinomycetemcomitans* เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *P.gingivalis* ค่อนข้างมีความยุ่งยากและต้องใช้เทคนิคที่ค่อนข้างแม่นยำในการเพาะเลี้ยง อีกทั้งสารสกัดจากข่อยยังมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายเชื้อ *A.actinomycetemcomitans* ได้เช่นกัน โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P.gingivalis* และ *A.actinomycetemcomitans* ที่ 0.488 และ 3.9 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อมีค่าเท่ากับ 1.95 และ 15.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ค่าทั้งสองค่านี้ของเชื้อ *P.gingivalis* มีค่าต่ำกว่าเชื้อ *A.actinomycetemcomitans* สรุปได้ว่าการตอบสนองของเชื้อ *P.gingivalis* ต่อสารสกัดข่อยมีความไวมากกว่า จึงสามารถใช้เชื้อ *A.actinomycetemcomitans* ทดสอบประสิทธิภาพได้เช่นกัน โดยในการศึกษานี้ทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญและทำลายเชื้อ *A.actinomycetemcomitans* ได้เท่ากับ 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใกล้เคียงกับการศึกษาของอัญชนา ลุนพรม [18]

1. อภิปรายผลงานวิจัย

1.1 ความปลอดภัยทางคลินิกของการใช้เจลผสมสารสกัดจากใบข่อยใส่ลงไปในร่องลึกปริทันต์ร่วมกับการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟัน

การศึกษานี้ได้มีการทดสอบความปลอดภัยทางคลินิกในอาสาสมัครทั้งหมด ทั้งในอาสาสมัครกลุ่มทดสอบและกลุ่มควบคุม ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าการใช้เจลผสมสารสกัดจากใบข่อยใส่ลงไปในร่องลึกปริทันต์หลังการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟันนั้นมีความปลอดภัยทางคลินิก เนื่องจากไม่พบผลข้างเคียงใดๆ ในอาสาสมัครกลุ่มทดสอบ โดยเป็นไปในทางเดียวกันกับการศึกษาของอัญชนา สุนพรม [18] ซึ่งพบว่าเจลผสมสารสกัดจากใบข่อยมีความปลอดภัยทางคลินิก โดยทดสอบการเกิดปฏิกิริยาของเจลผสมสารสกัดจากใบข่อยต่อผิวหนังและการใส่ในร่องเหงือกในกลุ่มทดสอบที่ไม่เป็นโรคปริทันต์อักเสบ

ในการศึกษาครั้งนี้มีอาสาสมัครหนึ่งคนที่มีอาการขมลิ้นในสัปดาห์ที่ 2 และ 3 จึงได้ยุติการเข้าร่วมการศึกษา โดยจากการสอบถามพบว่าอาสาสมัครอยู่ในช่วงวัยหมดประจำเดือน จึงมีความเป็นไปได้ที่ผู้ป่วยอาจมีอาการเริ่มต้นของ Burning mouth syndrome[49] ซึ่งมีผลทำให้การรับรสเปลี่ยนแปลงไป [50] ในส่วนของอาการเสียวฟันจากการใช้เครื่องมือลากบนผิวฟันและการเป่าลมเบาๆ ซึ่งทำการวัดโดยใช้ Visual analog scale (VAS) พบว่าในสัปดาห์ที่ 1 อาสาสมัครทั้งสองกลุ่มมีค่าเฉลี่ยของอาการเสียวฟันเพิ่มขึ้นจากจุดเริ่มต้นการศึกษา และหลังจากสัปดาห์ที่ 1 อาการเสียวฟันจึงเริ่มลดน้อยลงตามลำดับ จนสิ้นสุดการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยอาการเสียวฟันมีค่าใกล้เคียงกับจุดเริ่มต้นการศึกษา และพบว่าอาการเสียวฟันของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่มมีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ซึ่งอาการเสียวฟันจากสิ่งกระตุ้นเป็นอาการที่พบได้หลังจากการรักษาโดยการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟัน เนื่องจากหลังการเกลารากฟันแล้ว ท่อเนื้อฟัน (dentinal tubules) บริเวณรากฟันบางส่วนอาจเกิดการเผยต่อสิ่งแวดล้อมและเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก ทำให้มีเกิดอาการเสียวฟันเมื่อมีสิ่งกระตุ้นได้[4] แต่ผู้ทำการศึกษาได้ให้คำแนะนำการดูแลช่องปากด้วยการแปรงฟันโดยใช้ยาสีฟันผสมฟลูออไรด์อย่างถูกวิธี ภายหลังที่ได้รับการรักษาอาจจะทำให้ระดับอาการเสียวฟันลดลงเนื่องจากผลของฟลูออไรด์ที่ผสมในยาสีฟันที่อาสาสมัครใช้สามารถปิดผิวฟันที่มีการเผยของท่อเนื้อฟันได้ [51]

1.2 ผลทางคลินิกของการใช้เจลผสมสารสกัดจากใบข่อยใส่ลงไปในร่องลึกปริทันต์ร่วมกับการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟัน

ในการศึกษานี้ได้เลือกใช้ตำแหน่งศึกษาในฟันที่มีร่องลึกปริทันต์ 5-8 มม. เนื่องจากเมื่อร่องลึกปริทันต์มีระดับความลึกมากกว่า 5 มม.นั้น การเกลารากฟันสามารถกำจัดหินน้ำลายและคราบจุลินทรีย์ได้อย่างสมบูรณ์เพียงร้อยละ 32 เท่านั้น[52] ซึ่งเป็นสาเหตุให้ยังคงมีร่องลึกปริทันต์หลงเหลืออยู่ภายหลังการรักษา ซึ่งมักได้รับการทำศัลย์ปริทันต์ในเวลาต่อมา การนำเจลผสมสารสกัดจากใบข่อยซึ่งมีฤทธิ์ทำลายเชื้อจุลชีพที่ก่อโรคปริทันต์มาใช้ในการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อกำจัดเชื้อจุลชีพที่ยังคงหลงเหลือในร่องลึกปริทันต์ และติดตามผลทางคลินิกในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบ ซึ่งหากสัมฤทธิ์ผลทางคลินิก สามารถนำเจลข่อยนี้ไปพัฒนาเพื่อใช้ในคลินิกทั่วไปได้ เพื่อลดการรักษาโดยวิธีศัลย์ปริทันต์ เนื่องจากวิธีการใส่เจลนี้สามารถทำได้ง่าย ไม่ซับซ้อน สามารถทำได้โดยทันตแพทย์ทั่วไป ไม่เพียงแต่ทันตแพทย์เฉพาะทางปริทันตวิทยาเท่านั้น

ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าค่าเฉลี่ยดัชนีทางคลินิกทุกค่าในอาสาสมัครกลุ่มทดสอบให้ผลที่น่าพอใจมากกว่ากลุ่มควบคุม ถึงแม้ว่าจะมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม (ดังแสดงในตารางที่ 13

บทที่ 4) เมื่อสรุปค่าเฉลี่ยร่องลึกปริทันต์และค่าเฉลี่ยระดับการยึดเกาะอวัยวะปริทันต์ ณ จุดเริ่มต้นและจุดสิ้นสุดการศึกษาในอาสาสมัครทั้งสองกลุ่มพบว่าให้ผลใกล้เคียงกับหลายการศึกษาก่อนหน้านี้ซึ่งรักษาโรคปริทันต์อักเสบโดยการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟันเพียงอย่างเดียว [53-55] โดยหากแบ่งกลุ่มระดับความลึกของร่องลึกปริทันต์เริ่มต้นตามการศึกษาที่กล่าวมา จะแบ่งออกเป็นสามระดับ ได้แก่ ร่องลึกปริทันต์ระดับตื้น (1-3 มม.) ร่องลึกปริทันต์ระดับลึกปานกลาง (4-6 มม.) และร่องลึกปริทันต์ระดับลึกมาก (ตั้งแต่ 7 มม.ขึ้นไป) ฟันที่เป็นตำแหน่งศึกษาในการศึกษาครั้งนี้ซึ่งมีร่องลึกปริทันต์ ณ จุดเริ่มต้นศึกษาอยู่ในช่วง 5-8 มม. ซึ่งจัดว่าเป็นความลึกของร่องลึกปริทันต์ระดับลึกปานกลาง และระดับลึกมาก

เมื่อนำค่าเฉลี่ยจากตารางที่ 16 และ 18 ในบทที่ 4 ซึ่งเป็นการแบ่งระดับร่องลึกปริทันต์ตามการศึกษาที่กล่าวไว้ มาเปรียบเทียบกับการศึกษาก่อนหน้านี้ โดยจากการศึกษาแบบ Meta-analysis ของ Hung & Douglass ในปี 2002[56] ได้สรุปผลของการรักษาโรคปริทันต์อักเสบโดยการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟันไว้ว่า เมื่อร่องลึกปริทันต์ ณ จุดเริ่มต้นศึกษาอยู่ในช่วงระดับลึกปานกลาง หลังการศึกษาพบว่าร่องลึกปริทันต์จะลดลงโดยเฉลี่ยตั้งแต่ 1 มม.ขึ้นไป และมีระดับการยึดเกาะอวัยวะปริทันต์เพิ่มขึ้นประมาณ 0.5 มม. และหากร่องลึกปริทันต์ ณ จุดเริ่มต้นศึกษา อยู่ในช่วงระดับลึกมาก การขูดหินน้ำลายและเกลารากฟันจะสามารถลดร่องลึกปริทันต์ได้ตั้งแต่ 2 มม. ขึ้นไป และมีระดับการยึดเกาะอวัยวะปริทันต์เพิ่มขึ้นประมาณ 1 มม. ซึ่งค่าร่องลึกปริทันต์ที่ลดลงของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่มในการศึกษานี้มีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาดังกล่าว ส่วนค่าระดับการยึดเกาะอวัยวะปริทันต์ที่เพิ่มขึ้นของการศึกษานี้ ได้ผลที่น่าพอใจกว่าการศึกษาดังกล่าว และถึงแม้ว่าอาสาสมัครในกลุ่มทดสอบซึ่งเป็นกลุ่มที่ได้รับเจลผสมสารสกัดจากใบข่อยจะมีการเปลี่ยนแปลงที่ดีกว่ากลุ่มควบคุมเล็กน้อย แต่ค่าการเปลี่ยนแปลงของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่มนี้ก็ยังคงใกล้เคียงกับค่าการเปลี่ยนแปลงของผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบที่ได้รับการรักษาโดยการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟันเพียงอย่างเดียวจากหลายๆการศึกษา ซึ่งต่างจากการใช้ยาปฏิชีวนะแบบเฉพาะที่ในการรักษาโรคปริทันต์อักเสบ โดยพบว่าหากใช้ร่วมกับการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟัน สามารถช่วยให้ร่องลึกปริทันต์ลดลง เพิ่มระดับการยึดเกาะอวัยวะปริทันต์ [57-60] และการมีเลือดออกของเหงือก [24] ได้ดีกว่าการรักษาโดยการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟันเพียงอย่างเดียว

สาเหตุที่ผลทางคลินิกในอาสาสมัครกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิตินั้น อาจเกิดได้จาก ระดับของร่องลึกปริทันต์ที่ใช้เป็นตำแหน่งศึกษาในงานวิจัยครั้งนี้ มีความลึกตั้งแต่ 5-8 มม. ซึ่งเป็นระดับความลึกที่การเกลารากฟันเพียงอย่างเดียวก็สามารถลดร่องลึกปริทันต์ได้ประมาณ 1-2 มม. และเพิ่มระดับการยึดเกาะอวัยวะปริทันต์ได้ประมาณ 0.5-1 มม. ดังที่ได้กล่าวไว้ และเมื่อพิจารณาถึงตำแหน่งศึกษาในการศึกษานี้ ซึ่งมิได้จำกัดบริเวณตำแหน่งศึกษา โดยพบว่าตำแหน่งศึกษาส่วนใหญ่เป็นด้านประชิดของฟัน (proximal) และใช้ตำแหน่งศึกษาบริเวณฟันหน้าและฟันกรามน้อยจำนวนเท่าๆกันกับฟันกราม ซึ่งการรักษาโดยการเกลารากฟันในตำแหน่งฟันหน้าและฟันกรามน้อยนั้นสามารถทำความสะอาดได้ดีกว่าตำแหน่งที่เป็นฟันกราม ดังนั้นการรักษาโดยการเกลารากฟันเพียงอย่างเดียวจึงสามารถลดร่องลึกปริทันต์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งทำให้เห็นผลของเจลผสมสารสกัดจากใบข่อยได้ไม่ชัดเจนนัก นอกจากนี้ประสิทธิภาพของเจลผสมสารสกัดจากใบข่อยซึ่งได้รับการทดสอบในห้องปฏิบัติการว่ามีอัตราการปลดปล่อยตัวยาคงที่เป็นอันดับศูนย์ (zero order release kinetics) และการทดสอบโดยวิธี multiple inoculation ยืนยันว่าเจลผสมสารสกัดจากใบข่อยสามารถคงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลชีพ 7 วัน แต่เมื่อนำมาใช้ทางคลินิกนั้นคุณสมบัติเหล่านี้อาจแตกต่างจากผลทาง

ห้องปฏิบัติการเนื่องจากหลายสาเหตุ อันได้แก่ การทดสอบในห้องปฏิบัติการนั้นเป็นการทดสอบกับเชื้อจุลชีพที่อาศัยอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งจัดว่าเป็นรูปแบบ planktonic แต่เชื้อจุลชีพที่อาศัยอยู่ในร่องลึกปริทันต์นั้นอาศัยอยู่ในรูปแบบ biofilm คืออยู่เป็นกลุ่มและเกาะบนผิวฟัน ซึ่งลักษณะเชื้อจุลชีพที่อาศัยอยู่แบบ biofilm นี้ มีความต้านทานต่อสารหรือยาต้านจุลชีพมากกว่าเชื้อจุลชีพที่อาศัยอยู่ในรูปแบบ planktonic [61-65] นอกจากนี้ สภาพแวดล้อมในช่องปากนั้นมีความแตกต่างจากในห้องปฏิบัติการ เช่น การไหลของน้ำเหลืองเหงือก(gingival crevicular fluid) จากบริเวณร่องลึกปริทันต์ ถึงแม้ว่าจากการศึกษาของอัญชนา ลุนพรม ได้มีการคำนวณว่าหากใส่สารสกัดจากใบข่อยปริมาณ 100 ไมโครลิตรลงในร่องลึกปริทันต์ที่มีความลึก 4-5 มม. สารละลายข่อยจะสามารถคงอยู่ในเหงือกได้ประมาณ 5 ชั่วโมง แต่อย่างไรก็ตาม บริเวณร่องลึกปริทันต์นั้นจะบรรจุด้วยน้ำเหลืองเหงือกที่มีการไหลเวียนอยู่ตลอดเวลา [66,67] และอัตราการไหลเวียนของน้ำเหลืองเหงือกนี้ อาจมีความแตกต่างกันไปในอาสาสมัครแต่ละคน ทำให้เจลผสมสารสกัดจากใบข่อยไม่สามารถคงอยู่ในร่องเหงือกดังที่ได้มีการคำนวณไว้ จึงควรมีการศึกษาต่อไปเกี่ยวกับระยะเวลาและความถี่ที่เหมาะสมในการใส่เจลลงไปในร่องลึกปริทันต์ในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบเรื้อรัง

การนำสารสกัดจากใบข่อยมาทำเป็นรูปแบบเจลนี้เพื่อหวังผลให้สารสกัดมีความสามารถในการคงอยู่ในร่องลึกปริทันต์ได้นานขึ้น แต่อย่างไรก็ตามเชื้อ *A.actinomycetemcomitans* นั้นมีความสามารถในการรุกรานเนื้อเยื่อปริทันต์การรักษา โดยการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟันเพียงอย่างเดียวไม่สามารถกำจัดเชื้อชนิดนี้ได้ [2,68,69] ถึงแม้ว่าการทดสอบทางห้องปฏิบัติการจะพบว่าเจลผสมสารสกัดจากใบข่อยสามารถทำลายเชื้อได้ แต่การใส่เจลลงในร่องลึกปริทันต์ของผู้ป่วยในคลินิกนั้น มีข้อจำกัดที่ทำให้แตกต่างจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการดังที่ได้กล่าวไว้ ทำให้ฤทธิ์ของเจลผสมสารสกัดจากใบข่อยลดลง มีผลให้เชื้อจุลชีพชนิดนี้ไม่ถูกทำลายและให้ผลการรักษาทางคลินิกได้ไม่ชัดเจนนัก

1.3 ผลทางจุลชีววิทยาของการใช้เจลผสมสารสกัดจากใบข่อยใส่ลงไปในร่องลึกปริทันต์ร่วมกับการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟัน

ในการศึกษานี้ได้ศึกษาผลทางจุลชีววิทยาโดยการตรวจวัดเชื้อ *P.gingivalis* ด้วยวิธี PCR และวิธี Real-time PCR โดยวิธี PCR สามารถตรวจสอบได้ว่ามีเชื้อแบคทีเรียชนิดใด แต่ไม่สามารถบอกถึงปริมาณของเชื้อแบคทีเรียได้ ข้อดีของการตรวจเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธี PCR นี้ เป็นที่ยอมรับอย่างกว้างขวางว่าเป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะสูงในการวิเคราะห์ชนิดของเชื้อแบคทีเรีย [70] สามารถตรวจพบเชื้อได้แม้มีปริมาณต่ำคือ 25-100 เซลล์ ทำให้มีความแม่นยำสูงและใช้เวลาไม่นาน[71] การเก็บตัวอย่างเชื้อ *P.gingivalis* จากร่องลึกปริทันต์ในการศึกษานี้ใช้วิธีการนำแท่งกระดาษซับใส่ลงไปในร่องลึกปริทันต์บริเวณตำแหน่งศึกษาที่ได้คัดเลือกไว้ ซึ่งทำการเก็บเชื้อก่อนการวัดค่าทางคลินิกทุกครั้ง ทำให้สามารถเชื่อถือได้ว่าเชื้อที่เก็บในการศึกษานี้ได้มาจากร่องลึกปริทันต์ที่เป็นตำแหน่งศึกษา ไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อจากร่องลึกปริทันต์บริเวณอื่นโดยเครื่องมือโพรบ

จากตารางที่ 19 ใน บทที่ 4 ได้แสดงให้เห็นว่าผลทางจุลชีววิทยาในการใช้เจลผสมสารสกัดจากใบข่อยใส่ลงไปในร่องลึกปริทันต์ร่วมกับการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟันในอาสาสมัครที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบนั้นให้ผลลดเชื้อ *P.gingivalis* ได้มากกว่าอาสาสมัครที่ได้รับการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟันเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในอาสาสมัครกลุ่มทดสอบพบเชื้อเพียงร้อยละ 33.0 ในสัปดาห์ที่ 6 และร้อยละ 24.0 ในสัปดาห์ที่ 12 ส่วนอาสาสมัครกลุ่มควบคุมพบเชื้อร้อยละ 55.4 ในสัปดาห์ที่ 6 และร้อยละ 41.9 ในสัปดาห์

ที่ 12 แสดงให้เห็นว่าการศึกษานี้ให้ผลไปในทางเดียวกันกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่ยืนยันว่าการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟันเพียงอย่างเดียวนั้น สามารถลดเชื้อ *P.gingivalis* ได้ภายหลังการรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [41,72,73] การศึกษาของ Takamatsu และคณะ [72] ซึ่งทำการศึกษาเปรียบเทียบการพบเชื้อก่อโรคปริทันต์ก่อนและหลังการรักษาโดยการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟัน 1 เดือน ในอาสาสมัครที่เป็นโรคปริทันต์อักเสบระดับรุนแรงปานกลางถึงรุนแรงมาก จำนวน 26 คน ตรวจเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี DNA probe และ PCR พบว่าเชื้อ *P.gingivalis* นั้นลดลง จากเริ่มต้นพบเชื้อได้ร้อยละ 65.4 ของตำแหน่งที่ตรวจ เหลือเพียงร้อยละ 22.1 หลังการศึกษา และในตำแหน่งที่สามารถกำจัดเชื้อ *P.gingivalis* ได้นั้นมีร่องลึกปริทันต์ลดลงและระดับการยึดเกาะอวัยวะปริทันต์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับตำแหน่งที่ยังคงตรวจพบเชื้อ ($p < 0.05$) ส่วนการศึกษาของ Fujise และคณะ [41] ศึกษาถึงการใช้เชื้อจุลินทรีย์เป็นตัวชี้วัดผลการรักษาโดยการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟัน โดยใช้วิธี colorimetric PCR ในการตรวจเชื้อจุลินทรีย์พบเชื้อ *T.forsythensis* และเชื้อ *P.gingivalis* ในร่องเหงือกทั้งที่เป็นโรคและไม่เป็นโรคร้อยละ 75 ของตำแหน่งที่ตรวจ ภายหลังการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟัน 3 เดือน ตรวจพบเชื้อแบคทีเรียทั้งสองตัวนี้เพียงร้อยละ 42

ข้อสังเกตุของการศึกษาครั้งนี้คือ ถึงแม้ว่าอาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับเจลผสมสารสกัดจากใบข่อยนั้นตรวจพบเชื้อ *P.gingivalis* ได้น้อยลงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับ (นับตามจำนวนตำแหน่งศึกษา) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม แต่ผลทางคลินิกของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่มกลับมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสาเหตุที่เป็นเช่นนั้น อาจเกิดจากความซับซ้อนของโรคปริทันต์อักเสบ ถึงแม้ว่าหลายการศึกษายืนยันว่ามีเชื้อแบคทีเรียบางชนิดเป็นปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดการทำลายอวัยวะปริทันต์ โดยการศึกษาคุณสมบัติของสมุนไพรข่อยได้ยืนยันว่าสามารถทำลายเชื้อที่เป็นสาเหตุสำคัญของโรคได้ [13] แต่อย่างไรก็ตามโรคปริทันต์อักเสบนั้นมีความสัมพันธ์กับเชื้อจุลชีพหลายชนิดในร่องลึกปริทันต์ [71,74] นอกจากเชื้อ *P.gingivalis* และ *A.actinomycetemcomitans* แล้ว ยังมีเชื้อชนิดอื่น เช่น เชื้อ *T.denticola*, เชื้อ *T.forsythensis* ซึ่งมีบทสำคัญในการก่อโรคปริทันต์อักเสบและมีความชุกสูงเช่นกัน [44,48,75,76] ซึ่งยังไม่มีการรายงานการทดสอบผลของสมุนไพรข่อยต่อเชื้อสองชนิดนี้

การทดสอบผลทางจุลชีววิทยาอีกวิธีที่เลือกใช้ในการศึกษานี้คือวิธี real-time PCR เพื่อเปรียบเทียบปริมาณของเชื้อ *P.gingivalis* ในแต่ละช่วงเวลา เชื้อชนิดนี้เป็นชนิดไม่อาศัยออกซิเจนในการเจริญเติบโต (strict anaerobic species) ซึ่งการตรวจหาปริมาณโดยการเพาะเชื้อ (culture) สามารถทำได้ แต่ข้อเสียคือ ใช้เวลานานและมีข้อกำหนดที่ค่อนข้างยุ่งยากเกี่ยวกับสภาพแวดล้อมในการเจริญเติบโตของเชื้อ ที่สำคัญคือมีความไวและความจำเพาะต่ำ วิธี real-time PCR จัดเป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่ช่วยให้การหาปริมาณ DNA และ RNA ของเชื้อ มีความสะดวกรวดเร็ว และมีความถูกต้องแม่นยำกว่าวิธีการเพาะเชื้อ [77,78] การศึกษานี้เลือกใช้วิธี GeneAmp Sequence Detection System โดยใช้ระบบสารเรืองแสง SYBR Green I ที่มีคุณสมบัติจับกับ DNA สายคู่ตรงบริเวณ minor groove ข้อดีในการใช้ SYBR Green I คือ สามารถตรวจวัดผลิตภัณฑ์ PCR ที่เกิดขึ้น โดยไม่ต้องเสียเวลาในการออกแบบ Oligonucleotide probes ที่จำเพาะกับผลิตภัณฑ์ PCR ทำให้เสียค่าใช้จ่ายน้อยกว่า [79] แต่ข้อด้อยของการใช้ SYBR Green I คือ การขาดความจำเพาะเนื่องมาจากคุณสมบัติของสีที่สามารถจับกับสาย DNA สายคู่ได้โดยไม่มีความจำเพาะ ไม่ว่าเป็น DNA สายคู่ของ DNA เป้าหมายชนิดใด นอกจากนี้ หากในปฏิกิริยาเกิด Primer-Dimer หรือ non-specific amplified products ขึ้น ค่าความเข้มแสงของฟลูออเรสเซนส์ที่วัดได้ก็อาจไม่ใช่สัดส่วนที่แท้จริงกับปริมาณผลิตภัณฑ์ PCR แต่ในการศึกษานี้ได้ทำการแยกสัญญาณที่เกิดขึ้นโดยการ

เปรียบเทียบค่า Melting Temperature (T_m) ของ DNA ตัวอย่างกับ DNA ของเชื้อ *P.gingivalis* ที่เป็น positive control ซึ่งค่า T_m เป็นสมบัติเฉพาะตัวของ DNA สายคู่แต่ละชนิด ช่วยยืนยันได้ว่าค่าของปริมาณของเชื้อที่อ่านได้นั้นเป็นเชื้อ *P.gingivalis* ที่ต้องการทดสอบ

ณ จุดเริ่มต้นการศึกษา การตรวจเชื้อจุลชีพโดยวิธี PCR นั้นมีการตรวจพบเชื้อ *P.gingivalis* ทุกตำแหน่งศึกษาตรงตามข้อกำหนดในการคัดเลือกประชากรศึกษา แต่การตรวจเชื้อจุลชีพโดย real-time PCR กลับตรวจไม่พบเชื้อในบางบริเวณ จึงต้องทำการตัดข้อมูลในส่วนนี้ออก โดยคิดเป็นฟันที่ศึกษาในอาสาสมัครกลุ่มควบคุม 5 ซี่ และกลุ่มทดสอบ 9 ซี่ คิดเป็นจำนวนร้อยละ 9.1 ของฟันที่ศึกษาทั้งหมด ซึ่งจากการศึกษาของ Sakamoto และคณะ [78] พบผลของ PCR และ real-time PCR (TaqMan probe) ที่ไม่ตรงกันจำนวน 1 ตำแหน่งจากจำนวนศึกษาทั้งหมด 50 ตำแหน่ง คิดเป็นจำนวนร้อยละ 2 โดยพบเชื้อในการตรวจ PCR แต่ไม่พบในการตรวจโดย real-time PCR จะเห็นได้ว่าการศึกษาของ Sakamoto และคณะมีความแม่นยำสูงกว่าการศึกษานี้ ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าระบบของ Probe นั้นใช้ชนิดต่างกัน การใช้ TaqMan probe มีความไวและความจำเพาะกว่า SYBR Green I อันเนื่องจากการออกแบบ probe สามารถออกแบบมีความจำเพาะกับ DNA เป้าหมายที่ต้องการตรวจได้มากกว่า จึงได้ผลข้อมูลที่สอดคล้องกันของ PCR และ real-time PCR มากกว่าการศึกษานี้

การตรวจหาปริมาณเชื้อ *P.gingivalis* โดย real-time PCRของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่มในการศึกษานี้ ได้ผลค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อที่มีพิสัยกว้างมาก และมีการแจกแจงไม่ปกติ ผู้วิจัยจึงทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการเปรียบเทียบค่ามัธยฐาน ดังแสดงในตารางที่ 21 และเมื่อเปรียบเทียบค่ามัธยฐานระหว่างอาสาสมัครกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบ ณ สัปดาห์ต่างๆ พบว่า มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value > 0.05) นอกจากนี้เมื่อนำข้อมูลมาจัดกลุ่มเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อดังแสดงในตารางที่ 22 พบว่า อาสาสมัครกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบมีร้อยละการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ณ สัปดาห์ที่ 6 และ 12 โดยส่วนใหญ่มีการลดลงของเชื้อเท่ากับและมากกว่าร้อยละ 50 เมื่อเปรียบเทียบกับสัปดาห์ที่ 0

จะเห็นได้ว่าจากการศึกษานี้ การใช้เจลผสมสารสกัดจากใบข่อยร่วมกับการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟันให้ผลทางคลินิกและทางจุลชีววิทยาซึ่งวัดโดยวิธี real-time PCR ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ อาจเกิดจากการใช้จำนวนประชากรที่ศึกษาน้อยเกินไป การศึกษานี้ได้ทำการคำนวณตัวอย่างโดยใช้ type II error ให้มีขนาดไม่เกิน 0.30 หรือกำลังของการทดสอบ (power of the test) เท่ากับ 0.70 ซึ่งหากใช้จำนวนตัวอย่างที่มากขึ้นเพื่อให้การศึกษามีกำลังของการทดสอบที่สูงขึ้น จะทำให้มีโอกาสความน่าจะเป็นมากขึ้นที่จะพบความแตกต่างระหว่างการใช้เจลผสมสารสกัดจากใบข่อยกับการไม่ใช้เจล

2. สรุปผลการศึกษา

การใช้เจลผสมสารสกัดจากใบข่อยใส่ลงไปในร่องลึกปริทันต์ร่วมกับการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟันเพื่อรักษาผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบเรื้อรังนั้นมีความปลอดภัยทางคลินิก กลุ่มควบคุมที่ได้รับการรักษาโดยการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟันเพียงอย่างเดียวและกลุ่มทดสอบที่ได้รับการรักษาร่วมกับใส่เจลผสมสารสกัดจากใบข่อยลงในร่องลึกปริทันต์นั้น สามารถส่งเสริมผลการรักษาให้ดีขึ้นทั้งทางคลินิกและทางจุลชีววิทยาในสัปดาห์ที่ 6 และ 12 แตกต่างจากจุดเริ่มต้นศึกษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าค่าทางคลินิกของกลุ่มทดสอบให้ผลดีกว่า

กลุ่มควบคุมโดยมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนผลทางจุลชีววิทยาซึ่งทดสอบเชื้อ *P.gingivalis* โดยวิธี PCR พบว่าในอาสาสมัครกลุ่มทดสอบที่ได้รับเจลผสมสารสกัดจากใบข่อยสามารถกำจัดเชื้อ *P.gingivalis* ในสัปดาห์ที่ 6 และ 12 ได้ดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3. ข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษานี้ ผู้ทำการศึกษามีข้อเสนอแนะเพิ่มเติมเพื่อประโยชน์ในการศึกษาต่อในอนาคต ในการพิจารณานำเจลผสมสารสกัดจากใบข่อยมาพัฒนาเพื่อใช้ในการรักษาผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบดังนี้

3.1 ควรมีการศึกษาในห้องปฏิบัติการเพิ่มเติมเกี่ยวกับผลของสารสกัดจากใบข่อยต่อเชื้อจุลชีพก่อโรคปริทันต์ชนิดอื่นๆ ที่มีบทบาทสำคัญในการก่อโรคปริทันต์

3.2 ควรพัฒนาตำรับเจลผสมสารสกัดจากใบข่อยโดยการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจากใบข่อยให้สูงขึ้นเพื่อให้มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อก่อโรคปริทันต์ที่อยู่ในสภาวะช่องปากได้มากขึ้น โดยทำการศึกษาผลทางคลินิกร่วมด้วย

3.3 การศึกษาผลทางคลินิกในอาสาสมัครควรเพิ่มระยะเวลาในการศึกษาและจำนวนของอาสาสมัคร

3.4 ควรศึกษาในตำแหน่งที่มีร่องลึกปริทันต์ในระดับลึกมากขึ้น ไม่จำกัดเฉพาะความลึก 5-8 มม.

3.5 ควรศึกษาเพิ่มเติมในตำแหน่งที่การเกลารากฟันนั้นทำความสะอาดได้ไม่เพียงพอ เช่น บริเวณฟันกราม และตำแหน่งของง่ามรากฟัน (furcation)

3.6 ควรศึกษาเพิ่มเติมในขั้นตอนการรักษาที่เป็นระยะคงสภาพ โดยศึกษาในผู้ป่วยที่ได้รับการขูดหินน้ำลายและเกลารากฟันไปแล้วแต่ยังคงมีร่องลึกปริทันต์หลงเหลืออยู่ และผู้ป่วยไม่ต้องการรักษาโดยวิธีศัลย์ปริทันต์

3.7 ควรศึกษาเพิ่มเติมทางคลินิกถึงระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้และจำนวนครั้งที่ใส่เจลผสมสารสกัดจากใบข่อยในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบ