



การประเมินการระคายเคืองและประสิทธิภาพการรักษาแผลของไฮโดรเจล
ผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสปอนดินในหนูทดลอง
Evaluation of Irritation and Efficacy of Hydrogel Containing Phagocytosis
Activating Protein and Thrombospondin in Rats

ปภัสร่า ช้างกลาง
Papassara Changklang

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชวิทยา
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of Requirements for the
Degree of Master of Science in Pharmacology
Prince of Songkla University

2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



การประเมินการระคายเคืองและประสิทธิภาพการรักษาแผลของไฮโดรเจล
ผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสปอนดินในหนูทดลอง
Evaluation of Irritation and Efficacy of Hydrogel Containing Phagocytosis
Activating Protein and Thrombospondin in Rats

ปภัสร่า ช้างกลาง
Papassara Changklang

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชวิทยา
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of Requirements for the
Degree of Master of Science in Pharmacology
Prince of Songkla University

2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การประเมินการระคายเคืองและประสิทธิภาพการรักษาแผลของไฮโดรเจล
 ผสมพลาโกลินไฮดรอกซีแอคทีฟเวตติ้งโปรตีนและทรอมโบสโปนตินในหนูทดลอง

ผู้เขียน นางสาวปัทมา ช่างกลาง

สาขาวิชา เกษัตริศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

..... ประธานกรรมการ
 (ดร. ภก. ชันวี สุวรรณเดชา) (ศาสตราจารย์ ดร. อธิวัฒน์ ศรีชนะ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

..... กรรมการ
 (ดร. ภก. ชันวี สุวรรณเดชา)

..... กรรมการ
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมชาย ศรีวิริยะจันทร์) (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมชาย ศรีวิริยะจันทร์)

..... กรรมการ
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมชาย สวัสดิ์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยนี้เป็น
 ส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชวิทยา

.....
 (ศาสตราจารย์ ดร. ดำรงค์ดี ฟ้ารุ่งแสง)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....

(ดร. ภก. ธีรวิ สุวรรณเดชา)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ.....

(นางสาวปภัสรา ช้างกลาง)

นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน
และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวปัทสรา ช้างกลาง)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์	การประเมินการระคายเคืองและประสิทธิภาพการรักษาแผลของไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและ thrombospondin ในหนูทดลอง
ผู้เขียน	นางสาวปัทสรา ช้างกลาง
สาขาวิชา	เภสัชวิทยา
ปีการศึกษา	2561

บทคัดย่อ

กระบวนการหายของแผลเป็นกระบวนการที่ซับซ้อนและหากถูกขัดขวางจะส่งผลให้แผลหายช้าและเกิดเป็นแผลเรื้อรังได้มากที่สุด ไฮโดรเจลเป็นพอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติในการช่วยคงความชุ่มชื้นให้แก่แผล ฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีน (phagocytosis activating protein; PAP) เป็นโปรตีนที่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นกระบวนการฟาโกไซโตซิส (phagocytosis) ในเม็ดเลือดขาว และ thrombospondin (thrombospondin; TSP) เป็นโปรตีนที่มีอพิเดอมัลโกรทแฟคเตอร์ไลค์โดเมน (epidermal growth factor (EGF) like domain) ซึ่งสามารถกระตุ้นตัวรับ EGF (EGF receptor) นำไปสู่การกระตุ้นกระบวนการหายของแผลได้ จากคุณสมบัติข้างต้น จึงได้ทำการศึกษาถึงการระคายเคืองและประสิทธิภาพการรักษาแผลในหนูขาวใหญ่โดยใช้ไฮโดรเจลที่มีการเติมโปรตีนดังกล่าวในชนิดและขนาดที่แตกต่างกัน ซึ่งได้แก่ ไฮโดรเจลพีวีเอและพอลลอกซาเมอร์ ไฮโดรเจลผสม PAP หรือ TSP ในขนาดต่ำและขนาดสูง (1 µg/ml, 10 µg/ml ตามลำดับ) และไฮโดรเจลผสมทั้ง PAP และ TSP ในขนาดต่ำ (0.5 µg ของ PAP/ml, 1 µg ของ TSP/ml) และขนาดสูง (5 µg ของ PAP/ml, 10 µg ของ TSP/ml) ผลการศึกษาการระคายเคืองพบว่าสารทดสอบทั้ง 7 สูตรตำรับไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังของหนูทดลองโดยมีระดับคะแนนรวมของการระคายเคืองทางขึ้นเนื้อวิทยาไม่เกิน 2 คะแนน และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < .001$) ผลการศึกษาประสิทธิภาพการรักษาแผล พบว่า ในวันที่ 3 และวันที่ 6 แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสม PAP ในขนาดต่ำ มีพื้นที่แผลน้อยกว่าแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลพีวีเอและพอลลอกซาเมอร์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และมีพื้นที่แผลน้อยที่สุดตลอดระยะเวลาการศึกษา (3.76% ในวันที่ 21) รองลงมาคือแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสม TSP ในขนาดต่ำ (4.13%) ลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของขึ้นเนื้อ พบว่า ขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสม PAP ในขนาดต่ำ และขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสม TSP ในขนาดต่ำ มีการเชื่อมติดกันของอพิทีเลียลเซลล์และมีความหนาเป็นปกติที่รวดเร็วกว่าขึ้นเนื้อบริเวณแผลในกลุ่มอื่น ๆ และยังพบอีกว่าขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสม PAP ในขนาดต่ำมีระดับของ TGF-β1 สูงที่สุดทั้งในวันที่ 10 และ 14 (14.9 ± 0.8 , 17.7 ± 1.0 ตามลำดับ)

รองลงมาคือชิ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสม TSP ในขนาดต่ำ (13.4 ± 0.7 , 15.1 ± 1.1 ตามลำดับ) และชิ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลพีวีเอและพอลลอกซาเมอร์ (12.3 ± 0.2 , 14.6 ± 0.8 ตามลำดับ) ในวันที่ 21 พบว่าชิ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสม PAP ในขนาดต่ำมีระดับของ TGF- β 1 ต่ำที่สุด รองลงมาคือชิ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสม TSP ในขนาดต่ำ และชิ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลพีวีเอและพอลลอกซาเมอร์ (7.1 ± 0.9 , 7.8 ± 1.0 , 9.7 ± 0.9 ตามลำดับ) ดังนั้นไฮโดรเจลผสม PAP ในขนาดต่ำและไฮโดรเจลผสม TSP ในขนาดต่ำ จึงเป็นสูตรตำรับที่น่าสนใจในการนำไปพัฒนาเป็นวัสดุทำแผลชนิดใหม่ต่อไป

Thesis Title	Evaluation of Irritation and Efficacy of Hydrogel Containing Phagocytosis Activating Protein and Thrombospondin in Rats
Author	Miss Papassara Changklang
Major Program	Pharmacology
Academic Year	2018

ABSTRACT

Wound healing is a complex physiological process. If it is interfered, it will result in the wound healed slowly and eventually become chronic wound. Hydrogel is a polymer that has properties to serve the skin moist. Phagocytosis activating protein (PAP) has the ability to stimulate the process of phagocytosis in white blood cells. Thrombospondin (TSP), a protein that contains epidermal growth factor (EGF) like domain, which stimulates the EGF receptor (EGFR) induces wound healing. Therefore, the purpose of this study was to investigate the irritation and the efficacy of wound healing in rats using hydrogel contain protein in different types and dosage include polyvinyl alcohol and poloxamer (PVA-Poloxamer) hydrogel, hydrogel containing low dose and high dose of PAP or TSP (1 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ respectively), hydrogel containing low dose of PAP and TSP (0.5 μg PAP/ml, 1 μg TSP/ml) and high dose (0.5 μg PAP/ml, 10 μg TSP/ml). The results of the irritation study showed that all 7 formulas did not cause skin irritation in experimental animals with a total score of no more than 2 points and no statistical difference ($p < .001$). The results of the efficacy of wound healing showed that on day 3rd and 6th, the wounds were treated with hydrogel containing low dose of PAP had less wound area than those were treated with PVA-poloxamer hydrogel ($p < 0.05$), with minimal wound area throughout the study period (3.76% day 21st). Subsequently, the wounds were treated with hydrogel containing low dose of TSP (4.13%). The results of the histopathology showed that the epithelial cells adhesion and the normal epithelial cells thickness of the wounds were treated with hydrogel containing low dose of PAP and the wounds were treated with hydrogel containing low dose of TSP were faster than other wounds. It was also found that the wounds were treated with hydrogel

containing low dose of PAP had the highest levels of TGF- β 1 on day 10th and 14th (14.9 ± 0.8 , 17.7 ± 1.0 respectively). Subsequently, the wounds were treated with hydrogel containing low dose of TSP (13.4 ± 0.7 , 15.1 ± 1.1 respectively), and the wounds were treated with PVA-poloxamer hydrogel (12.3 ± 0.2 , 14.6 ± 0.8 , respectively). On day 21st, the wounds were treated with hydrogel containing low dose of PAP had the lowest level of TGF- β 1, followed by the wounds were treated with hydrogel containing low dose of TSP and the wounds were treated with PVA-poloxamer hydrogel (7.1 ± 0.9 , 7.8 ± 1.0 , 9.7 ± 0.9 respectively). Therefore, hydrogel containing low dose of PAP and hydrogel containing low dose of TSP are promising formulas for the development of new wound dressing materials further.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลักและร่วม คือ ดร. ภก. ธันว์ สุวรรณเดชา และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมชาย ศรีวิริยะจันทร์ ที่กรุณาสละเวลาให้คำปรึกษา ข้อเสนอแนะ รวมถึงข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ ตลอดจนตรวจสอบและแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่มาโดยตลอด รวมทั้งให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา ขอขอบพระคุณ ดร. จงดี นพรัตน์ ที่ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำในการศึกษาวิจัย ผู้วิจัยรู้สึกประทับใจและซาบซึ้งในความกรุณาเป็นอย่างยิ่ง จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง ไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ คณะกรรมการสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์ คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่านที่ได้เสียสละเวลาในการตรวจสอบความถูกต้องของเนื้อหา พร้อมทั้งให้ข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง ทำให้วิทยานิพนธ์มีความถูกต้องสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วันดี อุดมอักษร หัวหน้าภาควิชาเภสัชวิทยาและประธานคณะกรรมการบริหารหลักสูตร และอาจารย์ประจำภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ทุกท่าน รวมถึงคุณนิรชา ยันเยี่ยม นักวิทยาศาสตร์ประจำภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์และคุณฉัตรฤดี ฤกษ์งาม ที่คอยช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการปฏิบัติการทดลอง ขอขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนทุนผลการเรียนดีเด่นเข้าศึกษาในระดับบัณฑิตศึกษาและทุนผู้ช่วยวิจัยให้แก่ผู้วิจัย และขอขอบพระคุณ โครงการวิจัย Super cluster ที่สนับสนุนค่าใช้จ่ายเพื่อใช้ในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ ขอขอบคุณสถานเลี้ยงสัตว์ทดลองภาคใต้ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านสถานที่ อุปกรณ์และเครื่องมือที่จำเป็น

ท้ายที่สุดนี้ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ คุณแม่ และพี่สาว ที่เป็นแรงใจและดูแลเอาใจใส่ ขอขอบคุณพี่ ๆ น้อง ๆ และเพื่อน นักศึกษาระดับปริญญาโท วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิตทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจตลอดมาจนผู้วิจัยประสบผลสำเร็จในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ปภัศรา ช่างกลาง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ.....	(5)
ABSTRACT.....	(7)
กิตติกรรมประกาศ.....	(9)
สารบัญ.....	(10)
รายการตาราง.....	(12)
รายการภาพประกอบ.....	(13)
รายการแผนภูมิ.....	(14)
บทที่ 1 บทนำ.....	1
บทนำต้นเรื่อง.....	1
การตรวจเอกสาร.....	3
การหายของแผล.....	4
ไฮโดรเจลกับการหายของแผล.....	28
โปรตีนกับการหายของแผล.....	28
สรุปการทบทวนวรรณคดีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	34
วัตถุประสงค์.....	34
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย.....	35
วิธีดำเนินการวิจัย.....	35
ไฮโดรเจลผสมพลาโกลิไทซินแอกติเวติงโปรตีนและทอรัมโบสปอนติน.....	35
การศึกษาการระคายเคืองของไฮโดรเจลผสมพลาโกลิไทซินแอกติเวติง โปรตีนและทอรัมโบสปอนติน.....	37
การศึกษาประสิทธิภาพการรักษาแผลของไฮโดรเจลผสมพลาโกลิไทซิน แอกติเวติงโปรตีนและทอรัมโบสปอนติน.....	43
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	47
วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี.....	48
บทที่ 3 ผลการวิจัย.....	50
ผลการศึกษาการระคายเคืองของไฮโดรเจลผสมพลาโกลิไทซินแอกติเวติงโปรตีนและ ทอรัมโบสปอนติน.....	50

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ผลการศึกษาประสิทธิภาพการรักษาแผลของไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิส แอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสปอนติน.....	52
บทที่ 4 บทวิจารณ์.....	68
อภิปรายผลการศึกษา.....	68
การระคายเคืองของไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและ ทรอมโบสปอนติน.....	69
ประสิทธิภาพการรักษาแผลของไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีน และทรอมโบสปอนติน.....	70
บทที่ 5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ.....	80
บทสรุป.....	80
ข้อเสนอแนะ.....	82
เอกสารอ้างอิง.....	83
ภาคผนวก.....	90
ก สำเนาหนังสือรับรองจากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ของ สถาบันมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.....	91
ประวัติผู้เขียน.....	92

รายการตาราง

ตาราง		หน้า
1	หน้าที่ของไซโตไคน์ในกระบวนการหายของแผล.....	15
2	คุณลักษณะที่พึงประสงค์ของการดูแลแผลต่อความสำคัญของการหายของแผล.....	23
3	ความเข้มข้นของฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสปอนดินที่เติมในไฮโดรเจลของพีวีเอและพอลอกซาเมอรีในแต่ละสูตรตำรับ.....	36
4	ระดับคะแนนการระคายเคืองทางขึ้นเนื้อวิทยาของขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยสารทดสอบทั้ง 7 สูตรตำรับ (n=5).....	51
5	ระดับคะแนนของลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยสารทดสอบทั้ง 7 สูตรตำรับ (n=5).....	55

รายการภาพประกอบ

ภาพ		หน้า
1	กระบวนการห้ามเลือด.....	8
2	เซลล์และโมเลกุลต่าง ๆ ที่ถูกกระตุ้นในกระบวนการหายของแผล.....	11
3	การงอกขยายของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผล.....	12
4	กระบวนการหายของแผลตามปกติ.....	13
5	เซลล์และไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผลในระยะต่าง ๆ.....	14
6	ผลกระทบจากความเครียดต่อการหายของแผล.....	19
7	การควบคุมปริมาณของ p53 โดย RPL26.....	30
8	โครงสร้างของ thrombospondin.....	32
9	วิถีสัญญาณของEGF receptor.....	33
10	ขนาดแผลในหนูทดลองกลุ่มที่ 1.....	54
11	ขนาดแผลในหนูทดลองกลุ่มที่ 2.....	54
12	ลักษณะทางจุลกายวิภาคของชิ้นเนื้อในวันที่ 0.....	58
13	ลักษณะทางจุลกายวิภาคของชิ้นเนื้อในวันที่ 10 ถ่ายที่กำลังขยายเลนส์วัตถุ 4 เท่า scale bar เท่ากับ 200 ไมโครเมตร.....	59
14	ลักษณะอิมมูโนฟลูออเรสเซนส์ที่ยังไม่เชื่อมติดกันของชิ้นเนื้อในวันที่ 10 ถ่ายที่กำลังขยาย เลนส์วัตถุ 10 เท่า scale bar เท่ากับ 100 ไมโครเมตร.....	61
15	ลักษณะทางจุลกายวิภาคของชิ้นเนื้อในวันที่ 14 ถ่ายที่กำลังขยายเลนส์วัตถุ 4 เท่า scale bar เท่ากับ 200 ไมโครเมตร.....	62
16	ลักษณะของอิมมูโนฟลูออเรสเซนส์ที่มีการเชื่อมต่อกันแต่มีความหนาผิดปกติของชิ้นเนื้อ ในวันที่ 14 ถ่ายที่กำลังขยายเลนส์วัตถุ 10 เท่า scale bar เท่ากับ 100 ไมโครเมตร.....	63
17	ลักษณะทางจุลกายวิภาคของชิ้นเนื้อในวันที่ 21 ถ่ายที่กำลังขยายเลนส์วัตถุ 4 เท่า scale bar เท่ากับ 200 ไมโครเมตร.....	64
18	ลักษณะทางจุลกายวิภาคของชิ้นเนื้อในวันที่ 21 ถ่ายที่กำลังขยายเลนส์วัตถุ 10 เท่า scale bar เท่ากับ 100 ไมโครเมตร.....	65

รายการแผนภูมิ

แผนภูมิ		หน้า
1	ค่ามัธยฐานของร้อยละของขนาดแผลที่ลดลงเมื่อเทียบกับวันที่ 1.....	54
2	ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับดัชนีชี้วัดทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับ การหายของแผล (TGF- β 1) (n=15).....	67

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

กระบวนการหายของแผลเป็นกระบวนการที่สำคัญของร่างกายช่วยคงไว้ซึ่งความสมบูรณ์ของผิวหนัง หลังการได้รับบาดเจ็บซึ่งส่งผลให้สูญเสียโครงสร้างหรือสูญเสียหน้าที่ไป (Boateng, Matthews, Stevens, & Eccleston, 2008) กระบวนการหายของแผลเป็นกระบวนการที่ซับซ้อนและมีความเกี่ยวข้องกับการทำงานของชีวโมเลกุลหลากหลายชนิดเพื่อให้สามารถฟื้นฟูเนื้อเยื่อให้หายเป็นปกติได้ ซึ่งกระบวนการหายของแผลประกอบด้วยกระบวนการหลัก 4 กระบวนการด้วยกัน คือ กระบวนการห้ามเลือด กระบวนการอักเสบ กระบวนการงอกขยาย และกระบวนการปรับโครงสร้างเนื้อเยื่อ (Guo & Dipietro, 2010) ซึ่งหากกระบวนการหายของแผลไม่สามารถดำเนินไปตามปกติได้ (ใช้เวลามากกว่า 12 สัปดาห์) จะส่งผลให้เกิดเป็นแผลเรื้อรังและมีผลเสียต่าง ๆ ตามมา เช่น การสูญเสียผิวหนัง ขน ต่อมต่าง ๆ มีการติดเชื้อบริเวณผิวหนังและอาจรุนแรงจนกลายเป็นการติดเชื้อภายในกระแสเลือดได้ (Gurtner, Werner, Barrandon, & Longaker, 2008) ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องส่งเสริมให้กระบวนการหายของแผลสามารถดำเนินไปตามปกติ

การเลือกใช้วัสดุในการดูแลแผลที่เหมาะสมจะช่วยให้กระบวนการหายของแผลสามารถเกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งปัจจุบันมีวัสดุที่นำมาใช้ในการทำแผลหลากหลายประเภท เช่น ก๊อช โพลีโอดีนไอโอดีน (povidone iodine) นอร์มัลเซลิ้น (normal saline) ซึ่งเป็นวัสดุทำแผลแบบดั้งเดิม หรือวัสดุทำแผลแบบใหม่ เช่น ไฮโดรเจล (hydrogel) ไฮโดรคอลลอยด์ (hydrocolloid) อัลจินेट (alginate) (Boateng et al., 2008) โดยในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยมีความสนใจวัสดุทำแผลชนิดไฮโดรเจลซึ่งเป็นวัสดุในการทำแผลสมัยใหม่ที่เตรียมจากพอลิเมอร์ที่มีลักษณะชอบน้ำ (hydrophilic polymer) จึงสามารถดูดซับน้ำได้ในปริมาณมากและดูดซับสารคัดหลั่งจากแผลได้ดีสามารถนำไปใช้ได้ทั้งในแผลแห้ง แผลตกสะเก็ด หรือแผลที่มีเนื้อตาย (Boateng & Catanzano, 2015) ไม่ก่อให้เกิดการตกค้างในแผล ไม่เป็นพิษ ไม่ติดแผล ช่วยให้เนื้อเยื่อที่ขาดน้ำรอบ ๆ แผลมีความชุ่มชื้น (Ahmed, 2015) และความเย็นจากไฮโดรเจลยังสามารถช่วยลดอาการปวดแผลได้ (Junker, Kamel, Caterson, & Eriksson, 2013) โดยไฮโดรเจลที่นำมาศึกษาครั้งนี้เป็นไฮโดรเจลของพีวีเอและพอลอกลูซามเมอร์ที่ได้รับการพัฒนาสูตรตำรับจากสถานวิจัยความเป็นเลิศระบบนำส่งยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ซึ่งนอกจากไฮโดรเจลจะมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการหายของแผลภายในตัวแล้ว การเติมโปรตีนที่ส่งเสริมการหายของแผลลงไปไฮโดรเจลจะยังสามารถทำให้การหายของแผลเป็นไปได้ดียิ่งขึ้น

ฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีน (phagocytosis activating protein: PAP) เป็นโปรตีนที่ได้จากยีนฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีน (phagocytosis activating protein gene) (Deachamag, Intaraphad, Phongdara, & Chotigeat., 2006) หรือสามารถเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า 60 เอสไรโบโซมอลโปรตีนแอล 26 (60s ribosomal protein L26; RPL26) (Lindquist, Marzluff, & Stefanovic, 2000) ฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนเป็นโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของไรโบโซม (ribosome) และมีบทบาทสำคัญคือสามารถกระตุ้นกระบวนการฟาโกไซโตซิส (phagocytosis) ในเม็ดเลือดขาวได้ จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าเมื่อมีการกระตุ้นเซลล์เม็ดเลือดขาวโดยการบ่มเซลล์กับ Glutathione-S-transferase-PAP หรือ GST-PAP ส่งผลให้เซลล์เม็ดเลือดขาวเกิดกระบวนการฟาโกไซโตซิสที่สูงขึ้น (Deachamag et al., 2006) ซึ่งกระบวนการฟาโกไซโตซิสเป็นกระบวนการที่ช่วยในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมออกจากแผล ช่วยให้แผลสะอาด ส่งผลให้แผลหายเร็วขึ้นและลดความเสี่ยงในการเกิดแผลติดเชื้อได้ (Enoch & Leaper, 2006)

ทรอมโบสปอนดิน (thrombospondin) เป็นไกลโคโปรตีนชนิดหนึ่งซึ่งทำหน้าที่ในการควบคุมการทำงานของเซลล์อยู่บริเวณผิวเซลล์และในโปรตีนเมทริกซ์นอกเซลล์ มีทั้งหมด 5 ชนิดซึ่งสามารถจำแนกออกได้เป็น 2 กลุ่มตามลักษณะของโมเลกุล โดยพบว่าภายในโครงสร้างของทรอมโบสปอนดินมี epidermal growth factor (EGF) like domains ซึ่งเป็นโดเมนที่มีความสามารถในการกระตุ้นการทำงานของ EGF receptor ได้ (Adams & Lawler, 2011) จากการศึกษาของสถานวิจัยจีโนมและชีวสารสนเทศ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพโมเลกุลและชีวสารสนเทศ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์พบว่าภายในกุ้งขาว (*Litopenaeus Vannamei*) มีโปรตีนทรอมโบสปอนดิน 3 ซึ่งมีความสามารถในการกระตุ้น EGF receptor ได้ ส่งผลให้เกิดการแบ่งตัวเพื่อเพิ่มจำนวนและเคลื่อนที่ของไฟโบรบลาสต์ (fibroblast) อีกทั้งสามารถกระตุ้นการผลิตคอลลาเจนจากเซลล์ไฟโบรบลาสต์ได้ และผลอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผลที่เกิดขึ้นหลังจาก EGF receptor ถูกกระตุ้นคือ เซลล์สามารถเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะ (differentiation) (Chen, Zhang, & Wu, 2010) และมีการสร้างหลอดเลือดและยับยั้งการตายของเซลล์ (Huang & Fu, 2015) ได้มากขึ้น

ด้วยคุณสมบัติของไฮโดรเจลซึ่งเป็นวัสดุทำแผลสมัยใหม่ที่มีความสามารถในการส่งเสริมการหายของแผลได้เป็นอย่างดี อีกทั้งไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้ใช้จึงมีความเหมาะสมอย่างยิ่งที่จะนำมาใช้ในการดูแลบาดแผล อีกทั้งคุณสมบัติของฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสปอนดินดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะนำเอาไฮโดรเจลที่ได้รับการพัฒนาสูตรตำรับจากสถานวิจัยความเป็นเลิศระบบนำส่งยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ได้รับการเติมโปรตีนฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสปอนดินจากสถานวิจัยจีโนมและชีวสารสนเทศ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพโมเลกุลและชีวสารสนเทศ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ มาใช้ในการศึกษาคั้งนี้

การตรวจเอกสาร

การศึกษาครั้งนี้เป็นการประเมินการระคายเคืองและประสิทธิภาพการรักษาแผลของไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทอรัมโบสปอนดินในหนูทดลอง ผู้วิจัยได้ศึกษาค้นคว้าเอกสาร ตำรา และงานวิจัยที่เกี่ยวข้องซึ่งครอบคลุมเนื้อหาในการศึกษา ดังนี้

การหายของแผล

แผล

ลักษณะการหายของแผล

กระบวนการหายของแผล

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผล

การดูแลแผล

วัสดุที่ใช้ในการทำแผล

ไฮโดรเจลกับการหายของแผล

โปรตีนกับการหายของแผล

ฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีน

ทอรัมโบสปอนดิน

สรุปการทบทวนวรรณคดีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การหายของแผล

แผล

แผล (wound) หมายถึง ความเสียหายหรือการถูกทำลายของผิวหนังซึ่งมีสาเหตุมาจากกายภาพ หรืออุณหภูมิจึงเป็นผลจากการถูกรบกวนการทำหน้าที่หรือถูกทำลายโครงสร้างทางกายวิภาคปกติ (Boateng et al., 2008) แผลมีหลายชนิดสามารถแบ่งแยกตามกลไกการหายตามธรรมชาติได้ 2 ลักษณะ ดังนี้

1. แผลสดหรือแผลใหม่ (acute wound) มักเกิดจากการได้รับบาดเจ็บเฉียบพลัน (อาทิ, 2011) แผลลักษณะนี้สามารถหายได้โดยสมบูรณ์ภายในเวลา 8-12 สัปดาห์ (Boateng et al., 2008) มีชื่อเรียกต่างกันไปตามสาเหตุ เช่น บาดแผลถูกยิง (gunshot wound) บาดแผลถูกแทง (stabbed wound) บาดแผลถูกกัด (bite wound) บาดแผลจากของร้อน เช่น บาดแผลไหม้จากการอาบแดด (sunburn) ไฟไหม้ (flame burn) น้ำร้อนลวก (scald burn) แผลไหม้จากสารเคมี (chemical burn) แผลผ่าตัด (surgical wound) เป็นต้น หรืออาจเรียกตามลักษณะที่เห็น เช่น แผลฟกช้ำ (contusion, bruising) คือผิวหนังไม่มีบาดแผลฉีกขาดแต่มีการแตกของหลอดเลือดฝอยทำให้มีเลือดออกใต้ผิวหนัง มองเห็นเป็นรอยเขียวช้ำห่อเลือด (ecchymosis) แผลสะอาดขอบเรียบ (tidy wound) แผลสกปรกขอบไม่เรียบ และอาจจะมีเนื้อตาย (untidy wound) แผลขอบเรียบ (cut wound) แผลขอบกระรุ่งกระริ่ง (lacerated wound) แผลถูกบดขยี้ (crush wound) แผลไฟไหม้ (flame burn, flash burn) แผลน้ำร้อนลวก (scald burn) แผลไฟฟ้าช็อต (electrical injury) เป็นต้น (อาทิ, 2011)

2. แผลเรื้อรัง (chronic wound) เป็นแผลที่หายยากหรือหายช้าเพราะกระบวนการหายของแผลถูกขัดขวาง จึงไม่สามารถดำเนินไปตามขั้นตอนปกติที่บาดแผลธรรมดาควรจะหายได้ (อาทิ, 2011) สาเหตุของแผลเรื้อรังอาจเนื่องมาจากโรคประจำตัวที่ส่งผลให้การไหลเวียนเลือดลดลง เช่น โรคเบาหวาน โรคไขมันในเลือดสูง เป็นต้น การติดเชื้อ การเข้ารับการรักษาล่าช้า (Boateng et al., 2008) การบาดเจ็บซ้ำ การมีเนื้อตาย กลไกการห้ามเลือดบกพร่อง เม็ดเลือดขาวทำงานลดลง การสลายตัวของปัจจัยการเจริญเติบโต เป็นต้น (จอมจักร, 2547) และไม่สามารถกำหนดเวลาการหายของแผลได้แน่นอน (อาทิ, 2011) หรือใช้เวลาในการหายเกินกว่า 12 สัปดาห์ (Boateng et al., 2008) ซึ่งมักพบในผู้สูงอายุหรือวัยกลางคน เช่น แผลหลอดเลือดดำขอด (varicose ulcer, venous leg ulcer) แผลเบาหวานที่นิ้วเท้า ฝ่าเท้า (diabetic foot ulcer) แผลกดทับ (pressure sore) มักเกิดในผู้ป่วยอัมพาต หรือผู้ป่วยหมดสติไม่เคลื่อนไหว แผลจากการขาดเลือดแดง (ischemic ulcer) ที่ปลายนิ้วเท้า ปลายนิ้วมือ เป็นต้น (อาทิ, 2011)

การแบ่งแยกลักษณะของแผลนอกจากจะสามารถแบ่งตามกลไกการหายตามธรรมชาติแล้ว ยังสามารถแบ่งตามชั้นของผิวหนังที่ถูกทำลายได้ ดังนี้

1. แผลตื้น (superficial wound) คือบาดแผลที่มีการถูกทำลายเฉพาะชั้นหนังกำพวด (epidermal) เพียงอย่างเดียว
2. partial thickness wound คือบาดแผลที่มีการถูกทำลายของชั้นหนังกำพวด ชั้นผิวหนังที่ลึกลงไป รวมไปถึงหลอดเลือด ต่อมเหงื่อ และรูขุมขน
3. แผลลึก (full thickness) คือบาดแผลที่มีการถูกทำลายลึกไปถึงชั้นไขมันใต้ผิวหนัง (subcutaneous fat) หรือการถูกทำลายของเนื้อเยื่อที่ลึกกว่าชั้นผิวหนัง (Boateng et al., 2008)

ลักษณะการหายของแผล

แผลแต่ละชนิดจะมีลักษณะการหายของแผลที่แตกต่างกัน ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 3 แบบ ดังนี้

1. การหายของแผลแบบปฐมภูมิ (primary healing) เป็นการหายของแผลที่สะอาด ไม่มีการสูญเสียเนื้อเยื่อ ปากแผลสามารถปิดเองได้ กระบวนการหายของแผลสามารถดำเนินไปตามขั้นตอนได้โดยไม่มีภาวะแทรกซ้อน
2. การหายของแผลแบบทุติยภูมิ (secondary healing) เป็นการหายของแผลที่ไม่สะอาด มีการสูญเสียเนื้อเยื่อ เช่น แผลไฟไหม้ แผลติดเชื้อ เป็นต้น แผลจะลึก การทำความสะอาดแผลสะอาดจะช่วยส่งเสริมให้มีเนื้อเยื่อขึ้นมาใหม่ มีการสร้างเนื้อเยื่อผิวหนังมาปกคลุมแผล เกิดการดึงของขอบแผลให้ชิดกัน และทำให้แผลปิดในที่สุด การหายของแผลแบบนี้มักทำให้เกิดแผลเป็น ส่วนแผลที่มีขนาดใหญ่และลึกมากต้องมีการสร้างเนื้อเยื่อจนกระทั่งเต็มแผลก่อนถึงจะมีการสร้างเนื้อเยื่อผิวหนังมาคลุมแผล (Franz, 2010)
3. การหายของแผลแบบตติยภูมิ (tertiary healing) เป็นการหายของแผลที่มีความสกปรกอย่างมากหรือมีการปนเปื้อนแบคทีเรียมาก จำเป็นต้องเปิดแผลให้มีการหายแบบทุติยภูมิ ก่อน เมื่อการติดเชื้อลดลงหรือแผลสะอาดดีแล้วจึงทำการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อหรือเมื่อมีเนื้อเยื่อสร้างขึ้นเต็มแผลแล้วจึงนำไปปลูกผิวหนังต่อไป (Enoch, & Leaper, 2006)

กระบวนการหายของแผล

กระบวนการหายของแผลเป็นกระบวนการทางชีววิทยาที่เฉพาะเจาะจงที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตและสร้างเนื้อเยื่อ การหายของแผลจะดำเนินไปตามกระบวนการต่าง ๆ ซึ่งแต่ละกระบวนการจะมีความเหลื่อมล้ำกัน มีการอาศัยการทำงานร่วมกันของเซลล์และโมเลกุลต่าง ๆ มากมาย ซึ่งรายละเอียดของกระบวนการหายของแผลประกอบด้วย 4 กระบวนการหลักด้วยกัน (Boateng et al., 2008) ดังนี้

1. กระบวนการห้ามเลือด (hemostasis)

กระบวนการห้ามเลือดจะเกิดขึ้นทันทีเมื่อร่างกายมีบาดแผล ซึ่งเมื่อเกิดบาดแผลขึ้น จะมีการฉีกขาดของเส้นเลือด ทำให้มีเลือดออก ร่างกายจะมีปฏิกิริยาการหดของหลอดเลือดเพื่อป้องกันไม่ให้อวัยวะได้รับอันตรายจากการสูญเสียเลือด โดยมีการรวมกลุ่มของเซลล์ต่าง ๆ มากมายเพื่อเข้ามาช่วยในการห้ามเลือด อีกทั้งยังทำหน้าที่ในการส่งสัญญาณเพื่อฟื้นฟูเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายอีกด้วย ซึ่งเซลล์ต่าง ๆ เหล่านี้ได้แก่ coagulation product fibrin, fibrinopeptides, thrombin split products และส่วนประกอบอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดกระบวนการอักเสบ (Franz, 2010) การห้ามเลือดจะเกิดขึ้นได้เมื่อมีการรวมกลุ่มของเกล็ดเลือด (platelets aggregation) ซึ่งกระบวนการห้ามเลือดประกอบด้วย 4 กระบวนการ ได้แก่ กระบวนการหดตัวของหลอดเลือด กระบวนการห้ามเลือดระยะปฐมภูมิ (primary hemostasis) กระบวนการห้ามเลือดระยะทุติยภูมิ (secondary hemostasis) และกระบวนการสร้างและสลายลิ่มเลือด (thrombus and antithrombotic events) ซึ่งมีรายละเอียด ดังนี้ (Cito, Mazzeo, & Badimon, 2013)

1.1 กระบวนการหดตัวของหลอดเลือด

กระบวนการหดตัวของหลอดเลือด จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและทันทีที่มีการบาดเจ็บและเกิดขึ้นเฉพาะบริเวณที่มีแผล การหดตัวของหลอดเลือดยังมีผลในการส่งเสริมให้เม็ดเลือดแดงและเกล็ดเลือดสามารถเข้ามาอยู่ใกล้ ๆ กับผนังของหลอดเลือดเพื่อเป็นการอำนวยความสะดวกในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างเกล็ดเลือดกับเยื่อภายในหลอดเลือด กระบวนการหดตัวของหลอดเลือดมีการปรับสมดุลโดยเยื่อภายในหลอดเลือดหลังสารที่มีผลในการหดตัวของหลอดเลือดออกมา เช่น อีดีเอชเอฟ (endothelium-derived hyperpolarizing factor; EDHF) ซึ่งมีฤทธิ์ในการทำให้หลอดเลือดหดตัว (Michell, Ali, Moreno, & Harrington, 2007) และมีการหลั่งไนตริกออกไซด์ (NO) พรอสตาไซคลิน (prostacyclin) ซึ่งมีฤทธิ์ในการทำให้หลอดเลือดคลายตัว (Cito et al., 2013) ส่งผลให้หลอดเลือดมีการหดตัวอย่างเหมาะสมไม่เกิดการหดตัวที่มากเกินไป

1.2 กระบวนการห้ามเลือดระยะปฐมภูมิ

ในกระบวนการห้ามเลือดระยะปฐมภูมิ เกล็ดเลือดจะมีบทบาทสำคัญในการตอบสนองในระยะแรกเพื่อนำไปสู่การสร้างลิ่มเลือด ซึ่งกระบวนการตอบสนองของเกล็ดเลือดในระยะแรกคือ การที่เกล็ดเลือดเคลื่อนที่ไปแนบชิดติดกับเยื่อภายในหลอดเลือด (adhesion) เกิดการเปลี่ยนรูปร่าง (platelet shape change) และหลั่งสารที่มีผลในการกระตุ้นการเกิดลิ่มเลือดออกมา ได้แก่ ทروมบอกแซนเอทู (thromboxane A₂; TXA₂) และพรอสตาไซคลิน (degranulation) ซึ่งมีความเกี่ยวข้องในการทำให้เกิดการรวมกลุ่มของเกล็ดเลือด และเกิดเป็นลิ่มเลือดในขั้นตอนถัดไป ในขณะที่กระบวนการห้ามเลือดกำลังเกิดขึ้นนั้นก็จะมีกระบวนการกระตุ้นและเริ่มสร้างลิ่มเลือดไปพร้อม ๆ กัน

1.3 กระบวนการห้ามเลือดระยะทุติยภูมิ

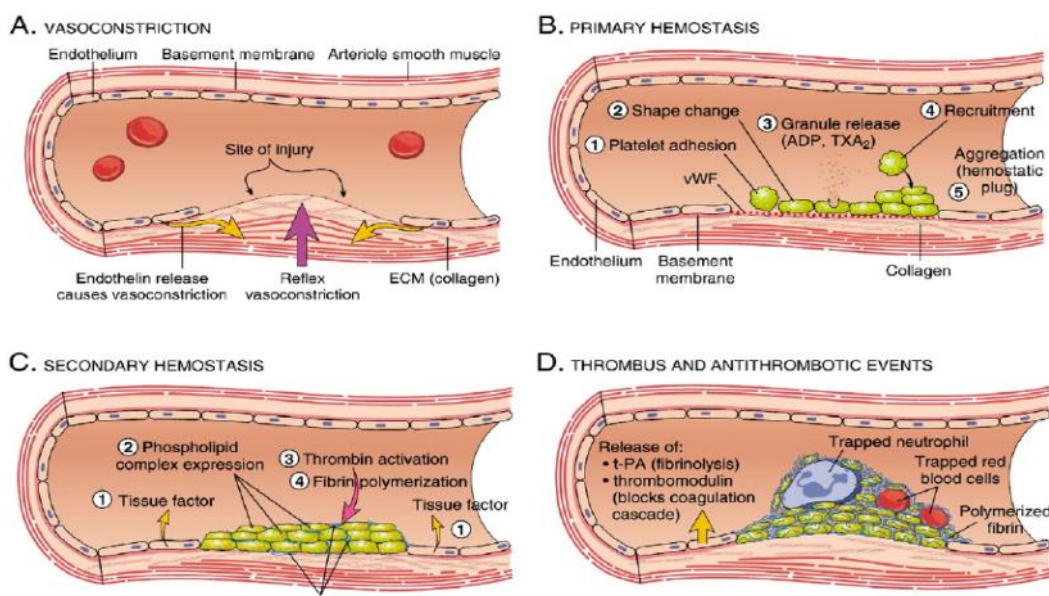
กระบวนการห้ามเลือดระยะทุติยภูมิเกิดผ่านการกระตุ้นโคแอกกูเลชัน คาดเคต (coagulation cascade) ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 ระบบ (pathway) ได้แก่ extrinsic pathways, intrinsic pathways และ common pathways โดย extrinsic pathway ประกอบด้วย ทิชซูแฟคเตอร์ (tissue factor) และแฟคเตอร์ 7 (factor VII) ทำงานร่วมกันในการกระตุ้นแฟคเตอร์ 10 (factor X) ส่วน intrinsic pathway ถูกควบคุมโดยคิโนเจน (kininogen) พรืคาลลิเครอิน (prekallikrein) แฟคเตอร์ 8, 9, 11, และ 12 (factors VIII, IX, XI, and XII) ซึ่งทั้ง extrinsic pathways และ intrinsic pathways ต่างทำหน้าที่ในการกระตุ้นแฟคเตอร์ 10 ส่วน common pathway ทำหน้าที่ชักนำแฟคเตอร์ 10 ให้สร้างทรอมบิน (thrombin) จากโปรทรอมบิน (prothrombin) โดยมีแฟคเตอร์ 5 (factor V) แคลเซียม และเพลทเลทฟอสโฟลิปิด (platelet phospholipid) ร่วมด้วย เพื่อนำไปสู่การเปลี่ยนไฟบริโนเจน (fibrinogen) ไปเป็นไฟบริน (fibrin) (Cito et al., 2013)

1.4 กระบวนการสร้างและสลายลิ่มเลือด

การสร้างลิ่มเลือดเกิดขึ้นเมื่อเกล็ดเลือดมาเกาะที่บริเวณหลอดเลือดที่ได้รับบาดเจ็บทำให้เกิดเป็นกลุ่มเกล็ดเลือดซึ่งยังไม่มี ความแข็งแรง หลังจากนั้นเกล็ดเลือดจะหลั่งสารเคมีออกมากระตุ้นให้กลุ่มเกล็ดเลือดที่ไม่แข็งแรงกลายเป็นกลุ่มเกล็ดเลือดที่แข็งแรงมากขึ้นซึ่งเรียกว่าลิ่มเลือด โดยการเปลี่ยนไฟบริโนเจนไปเป็นไฟบริน (Cito et al., 2013) ดังที่กล่าวไปแล้วข้างต้น ซึ่งไฟบรินจะมีการวางตัวอยู่ในรูปของตาข่าย (meshwork) รัตรอบกลุ่มเกล็ดเลือดและทำหน้าที่เป็นโครงร่าง (framework) ให้เซลล์ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหายของแผล เช่น นิวโทรฟิลล์ และเม็ดเลือดแดง สามารถเข้ามาเกาะปกคลุมบาดแผลเกิดเป็นลิ่มเลือดและทำให้เลือดหยุด ถ้าโครงร่างของไฟบรินไม่สมบูรณ์ ก็จะมีผลต่อการหายของแผลได้ (Boateng et al., 2008)

การสลายลิ่มเลือด เป็นกระบวนการจำกัดและทำลายลิ่มเลือดส่วนเกินซึ่งเปรียบเสมือนการคงไว้ซึ่งสมดุลเพื่อไม่ให้เกิดการสร้างลิ่มเลือดที่มากเกินไป โดยสารเคมีที่ทำให้เกิด

การสลายของลิ่มเลือดคือพลาสมิน (plasmin) ซึ่งจะทำหน้าที่ในการสลายไฟบรินและสร้างสารอื่น ๆ ที่มีผลต่อการสลายลิ่มเลือด ได้แก่ t-PA (สลายลิ่มเลือด) และ ทรอมโบโมดูลิน (thrombomodulin) (กระตุ้นโปรตีนซี (active protein C) ให้ไปยับยั้ง coagulation cascade) (ภาพ 1) ซึ่งเมื่อมีลิ่มเลือดเกิดขึ้นหลอดเลือดก็จะเริ่มกระบวนการที่ก่อให้เกิดการหายของแผลซึ่งหมายความว่าจะมีการเคลื่อนย้ายของเซลล์ขึ้นไปอยู่เหนือลิ่มเลือด ดังนั้น การสลายลิ่มเลือดจะค่อย ๆ เกิดขึ้นร่วมกันกับการสร้างเนื้อเยื่อขึ้นมาใหม่ (Gabriela & Hajjar, 2005)



ภาพ 1. กระบวนการห้ามเลือด (Cito et al., 2013)

2. กระบวนการอักเสบ

กระบวนการอักเสบมักเกิดขึ้นพร้อม ๆ กันกับกระบวนการห้ามเลือดซึ่งอาจใช้เวลาเพียงไม่กี่นาทีถึง 24 ชั่วโมงหลังได้รับบาดเจ็บหรืออาจนานถึง 3 วัน (Boateng et al., 2008) ซึ่งกระบวนการอักเสบเกิดขึ้นเมื่อเซลล์ที่ถูกทำลายเกิดการตอบสนองต่อสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผล เช่น สัญญาณจาก complement products C5a, tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin-1 (IL-1), interleukin-8 (IL-8) ซึ่งหลั่งออกมาจากแมคโครฟาจ (macrophage) ส่งผลให้เกิดการเพิ่มจำนวนของเซลล์เม็ดเลือดขาว (leukocyte) และเกิดการแสดงออกของตัวรับ (receptor) สำหรับสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผลบริเวณผิวเซลล์มากขึ้น (Franz, 2010) เม็ดเลือดขาวที่อยู่ในระบบไหลเวียนเลือดดังกล่าวก็จะเกิดการเคลื่อนที่มายังบริเวณที่บาดเจ็บ

กลไกการเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาวมายังบริเวณที่บาดเจ็บ ประกอบด้วย rolling adhesion คือการเคลื่อนที่มาแนบติดกับเยื่อหลอดเลือดโดยเกิดการจับกันของ Sialyl-Lewis X-

modified glycoprotein (s-Le^x) บนผิวเซลล์เม็ดเลือดขาวกับโปรตีน E-selectin บนผิวเซลล์เยื่อภายในหลอดเลือด tight binding คือการยึดติดแน่นกับผนังเซลล์ภายในหลอดเลือดผ่านการจับด้วยโปรตีนไอแคม-1 (intercellular adhesion molecule-1; ICAM-1) diapedesis คือการแทรกตัวของเม็ดเลือดขาวผ่านผนังหลอดเลือดโดยอาศัยโปรตีน PECAM-1 (platelet/endothelial cell adhesion molecule-1) (CD31) และ migration คือการเคลื่อนตัวไปยังบริเวณที่บาดเจ็บ หลังจากนั้นก็เกิดกระบวนการฟาโกไซโตซิส (phagocytosis) จับกินเชื้อโรคและเนื้อเยื่อที่ตายแล้ว เมื่อเม็ดเลือดขาวเกิดกระบวนการฟาโกไซโตซิสแล้วจะเกิดการหลั่งไซโตไคน์ เช่น TNF- α , IL-1 เพื่อชักนำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวอื่น ๆ ระดมเข้ามายังบริเวณที่บาดเจ็บเพิ่มขึ้น (Muller, 2002)

นิวโทรฟิล (neutrophils) เป็นเม็ดเลือดขาวชนิดที่ทำหน้าที่ในการจับกินในการอักเสบระยะแรก (early inflammatory phase) (วันที่ 1-2) ซึ่งนิวโทรฟิลถูกชักนำให้มายังบริเวณที่บาดเจ็บด้วยสารเคมีต่าง ๆ เช่น โปรตีนในเมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix protein) TGF- β (transforming growth factor- β) คอมพลีเมนต์อื่นๆ เช่น C3a C5a เป็นต้น รวมถึงผลิตภัณฑ์โปรตีนจากแบคทีเรีย (formyl-methionyl peptide products) นิวโทรฟิลจะจับกินเชื้อโรค สิ่งแปลกปลอมและฆ่าหรือทำลายสิ่งที่มีมันจับกินโดยการหลั่งเอนไซม์และอนุมูลอิสระ (free radical) ออกมาย่อยทำลาย โดยบางส่วนของเชื้อโรคที่ตายแล้วและไม่ถูกจับกินจะขับออกมาอยู่บนผิวแผลในรูปของหนอง (slough) หน้าที่ของนิวโทรฟิลเป็นเพียงการป้องกันการติดเชื้อจากแผลได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ดังนั้นการป้องกันการติดเชื้ออย่างมีประสิทธิภาพจะต้องอาศัยขั้นตอนถัดไปร่วมด้วย คือการอักเสบระยะหลัง (late inflammatory phase) (วันที่ 2-3) โดยแมคโครฟาจซึ่งถูกชักนำจาก สารเคมีต่าง ๆ เช่น คอมพลีเมนต์ ส่วนประกอบในการแข็งตัวของเลือด (clotting component) อิมมูโนโกลบูลินจี (immunoglobulin G) ชิ้นส่วนของคอลลาเจน อีลาสตินที่ถูกทำลาย และไซโตไคน์ต่าง ๆ เช่น leukotrine B4, platelet factor IV, platelet-derived growth factor, transforming growth factor- β เป็นต้น แมคโครฟาจเปรียบเสมือนกุญแจสำคัญในกระบวนการหายของแผล ซึ่งนอกจากจะทำหน้าที่ในการจับกินสิ่งแปลกปลอมแล้วยังทำหน้าที่ในการสร้างโกรทแฟคเตอร์ (growth factors) เพื่อนำไปสู่การเกิดกระบวนการงอกขยาย (proliferation) อีกทั้งยังหลั่งเอนไซม์สลายโปรตีน (proteolytic enzymes) เช่น คอลลาจีเนส (collagenase) ออกมาเพื่อช่วยทำความสะอาดแผลอีกด้วย (Enoch & Leaper, 2006)

นอกจากนี้ interleukins และส่วนประกอบอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดกระบวนการอักเสบ เช่น ฮิสตามีน (histamine) ซีโรโทนิน (serotonin) พรอสตาแกลนดิน (prostaglandins) และบราดิกินิน (bradykinin) เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการขยายตัวของหลอดเลือดส่งผลให้มีเลือดปริมาณมากไหลมายังบริเวณที่บาดเจ็บ ซึ่งเป็นการเพิ่มปริมาณออกซิเจนและสารอาหารให้แก่บริเวณที่บาดเจ็บด้วย บริเวณนั้นจึงมีอาการร้อนและแดง ซึ่งอาการร้อนนั้นเกิด

จากการเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระซึ่งเป็นการส่งเสริมให้เซลล์เกิดการเมทาบอลิซึมได้ดีขึ้น และนอกจากนี้ การขยายตัวของหลอดเลือดส่งผลให้หลอดเลือดเกิดเป็นรูพรุนทำให้พลาสมา (plasma) โปรตีนต่าง ๆ และเม็ดเลือดขาวสามารถเคลื่อนที่ออกมายังบริเวณแผลได้ บริเวณนั้นจึงมีอาการปวดและบวมขึ้น ซึ่งอาการแดง ร้อน ปวด บวม เป็นอาการเฉพาะที่บ่งบอกว่ามีการอักเสบเกิดขึ้นนั่นเอง (Franz, 2010)

3. กระบวนการงอกขยาย (proliferation)

กระบวนการงอกขยายเกิดขึ้นในวันที่ 3 ถึง สัปดาห์ที่ 2 หลังเกิดบาดแผล ซึ่งในกระบวนการนี้แผลจะเกิดกระบวนการสร้างสิ่งต่าง ๆ หลายขั้นตอน ซึ่งสามารถอธิบายได้ดังนี้

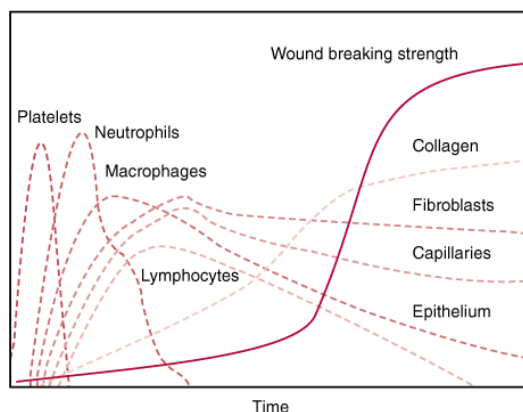
3.1 กระบวนการสร้างเนื้อเยื่อแกรนูโล (granulation tissue)

กระบวนการสร้างเนื้อเยื่อแกรนูโลจะเกิดขึ้นเต็มที่ในวันที่ 5 ซึ่งเป็นการงอกขยายของหลอดเลือดฝอย (capillary) และท่อน้ำเหลือง (lymphatic vessel) เข้าไปในแผล (Boateng et al., 2008) ลักษณะของเนื้อเยื่อแกรนูโลที่ดีจะต้องมีสีชมพูแดง (pinkish red color) ส่วนแกรนูเลชันที่มีสีคล้ำอาจบ่งบอกถึงภาวะขาดเลือด (ischaemic) หรือมีการติดเชื้อ (Franz, 2010) ซึ่งกระบวนการสร้างเนื้อเยื่อแกรนูโลทำให้ได้เมทริกซ์ภายนอกเซลล์เกิดขึ้นใหม่ ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็นองค์ประกอบหลัก ๆ ได้ 2 องค์ประกอบคือ ไฟโบรพลาเซีย (fibroplasia) และเมทริกซ์ (matrix) โดยฟรานซ์ (Franz, 2010) ได้อธิบายถึงรายละเอียดของขั้นตอนการสังเคราะห์ ดังนี้

ไฟโบรพลาเซียคือกระบวนการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของไฟโบรบลาสต์ซึ่งถูกกระตุ้นจากหลาย ๆ กระบวนการ เริ่มจาก PDGF, IGF-1, และ IGF- β ที่ถูกหลั่งออกมาจากเกล็ดเลือด หลังจากนั้นเกิดการหลั่งของโปรตีนที่เป็นโกรทแฟคเตอร์ (peptide growth factor) จากแมคโครฟาจ ส่งผลให้มีไฟโบรบลาสต์เกิดขึ้นภายในแผล ซึ่งโกรทแฟคเตอร์และไซโตไคน์ที่ช่วยให้เกิดกระบวนการสร้างไฟโบรพลาเซียและการหายของแผลประกอบด้วย fibroblast growth factor (FGF), IGF-1, vascular endothelial growth factor (VEGF), IL-1, IL-2, IL-8, PDGF, TGF- α , TGF- β และ TNF- α ไฟโบรบลาสต์จะมีการวางตัวอยู่บริเวณขอบแผล

กระบวนการสังเคราะห์เมทริกซ์เกิดจากไฟโบรบลาสต์มีการหลั่งคอลลาเจนและโปรทีโอไกลแคน (proteoglycan) เพื่อสร้างเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ซึ่งเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ถูกสร้างขึ้นจะทำหน้าที่ในการดึงขอบแผลเข้าหากันและช่วยให้เซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผลสามารถฝังตัวอยู่ได้ หลังจากนั้นโมเลกุลเหล่านี้จะเกิดการรวมตัวกันโดยมีลักษณะคล้ายพอลิเมอร์เพื่อทำหน้าที่ในการคงความแข็งแรงขึ้นพื้นฐานให้กับแผล ซึ่งมีเซลล์และโมเลกุลต่าง ๆ หลายชนิดที่ถูกกระตุ้นในกระบวนการหายของแผลและแต่ละเซลล์/โมเลกุลแต่ละชนิดก็จะมี ความแข็งแรงที่แตกต่างกัน (ภาพ 2) การสังเคราะห์คอลลาเจนถูกใช้เป็นสัญญาณในการหายของแผล โดยในกลไกการกระตุ้นและสร้างคอลลาเจนต้องอาศัยโกรทแฟคเตอร์และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการเมทาบอลิซึมอย่างแลคเตท (lactate) การสะสมของแลคเตทบริเวณภายนอกเซลล์เป็นการกระตุ้นให้

เกิดแสดงออกของยีนที่สร้างคอลลาเจนได้โดยตรงตลอดจนมีส่วนช่วยในกระบวนการดัดแปลงโมเลกุลของสายโปรตีนคอลลาเจนด้วย



ภาพ 2. เซลล์และโมเลกุลต่าง ๆ ที่ถูกกระตุ้นในกระบวนการหายของแผล (Franz, 2010)

3.2 กระบวนการสร้างหลอดเลือด (angiogenesis)

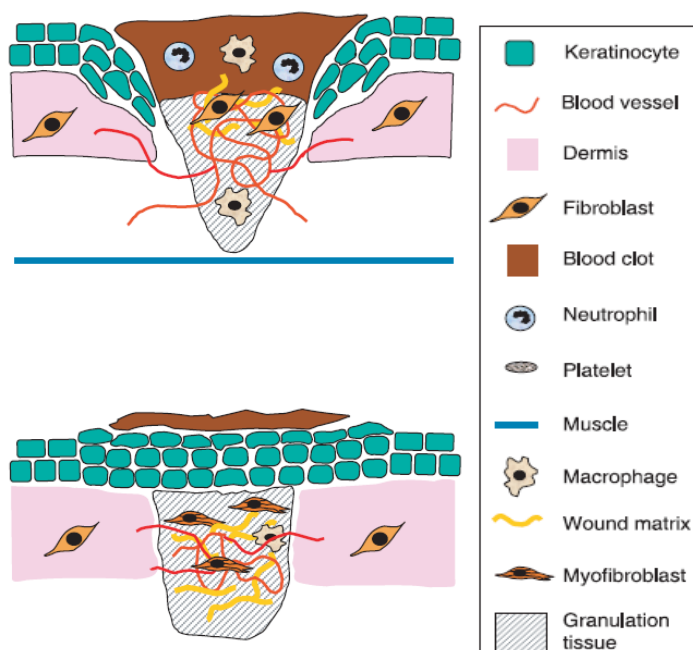
กระบวนการสร้างหลอดเลือด เกิดขึ้นหลังการได้รับบาดเจ็บประมาณ 4 วัน เกิดขึ้นโดยการถูกกระตุ้นจากการทำงานของแมคโครฟาจและเนื้อเยื่อที่มีภาวะขาดออกซิเจนจากการถูกรบกวนระบบไหลเวียนเลือดจากการได้รับบาดเจ็บ แมคโครฟาจจะหลั่ง transforming growth factor (TGF) เพื่อกระตุ้นการสร้างเส้นเลือดใหม่ และหลั่ง tumour necrosis factor (TNF) เพื่อช่วยในการทำลายเนื้อเยื่อที่ตายแล้วและกระตุ้นให้เกิดการงอกขยายของเซลล์ใหม่ เมื่อแผลปิดจะพบว่ามีกรงอกของหลอดเลือดร่วมกับการเคลื่อนจากฝั่งหนึ่งไปยังอีกฝั่งหนึ่งของแผลส่งผลให้เกิดการไหลเวียนของเลือดผ่านแผลได้ แต่ในแผลเปิดหลอดเลือดที่สร้างใหม่จะเกิดการเชื่อมต่อกับเส้นเลือดที่อยู่ฝั่งเดียวกันก่อนและตามด้วยการสร้างขึ้นของเนื้อเยื่อแกรนูล (Franz, 2010)

3.3 กระบวนการหดตัวของแผล (wound contraction)

กระบวนการหดตัวของแผลเป็นการทำหน้าที่ของไฟโบรบลาส ในการเป็นตัวดึงขอบแผลเข้าหากันโดยการเคลื่อนไปยังขอบแผลและเปลี่ยนเป็นไมโอไฟโบรบลาส (myofibroblast) ซึ่งจะมีความสามารถในการดึงขอบแผลเข้าหากัน (Schwartz et al., 1998) การหดตัวของแผลเป็นกระบวนการที่จำเป็นอย่างยิ่งต่อการหายของแผลเปิดหรือแผลที่มีขนาดใหญ่ (Franz, 2010) ในแผลที่ปล่อยให้หายเอง (การหายแบบทุติยภูมิ) จะมีการหดตัวของแผลมากกว่าในแผลที่เย็บปิด (primary closure)

3.4 กระบวนการสร้างเยื่อบุผิว (epithelialization)

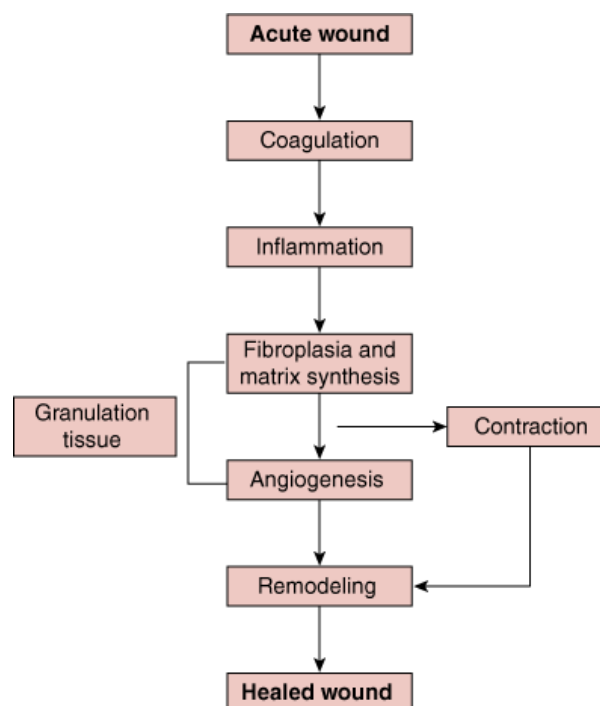
กระบวนการสร้างเยื่อบุผิว เกิดขึ้นจากการที่เซลล์เยื่อบุผิว (epithelial cell) ตอบสนองต่อตัวกระตุ้น เช่น โกรทแฟคเตอร์ต่าง ๆ ที่หลังจากแมคโครฟาจ เช่น fibroblast growth factor, insulin-like growth factor, epidermal growth factor (Schwartz et al., 1998) ไฟโบรบลาสต์และเซลล์บุผนังหลอดเลือด (endothelial cell) ที่อยู่ในบริเวณแผล โดยเซลล์เยื่อบุผิวจะเริ่มมีการเจริญและแบ่งตัวจากบริเวณขอบแผล (Franz, 2010) และในส่วนของ skin appendage (รูขุมขน, ต่อมไขมัน, ต่อมเหงื่อ) ที่ยังหลงเหลืออยู่ในบาดแผล เข้ามาภายในแผลและเกิดการฝังตัว ซึ่งบริเวณที่เซลล์เยื่อบุผิวมีการฝังตัวมักเป็นบริเวณที่มีความเข้มข้นของออกซิเจนต่ำ ซึ่งในภาวะที่มีความเข้มข้นของออกซิเจนต่ำนี้จะกระตุ้นให้เซลล์เยื่อบุผิวหลัง TGF- β ซึ่งจะทำหน้าที่ในการยับยั้งไม่ให้เซลล์เยื่อบุผิวเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะ ส่งผลให้เซลล์เยื่อบุผิวมีระยะเวลาในการแบ่งตัวนานขึ้นและสามารถเพิ่มจำนวนได้มากยิ่งขึ้น (Franz, 2010) กระบวนการสร้างเยื่อบุผิวสามารถเกิดได้ดีในแผลที่มีความชุ่มชื้นที่พอเหมาะและเกิดได้ช้าถ้ามีเนื้อเยื่อตายหรือสะเก็ดแผลขวางอยู่ (Schwartz et al., 1998) ดังนั้นจึงไม่ควรปล่อยให้แผลแห้ง ซึ่งกระบวนการหายของแผลตามปกติ แผลจะมีการสร้างสารคัดหลั่งออกมาจากแผลในระยะแรกซึ่งสารคัดหลั่งนั้นจะยังไม่มีการติดเชื่อและเต็มไปด้วยโกรทแฟคเตอร์และแลคเตทซึ่งช่วยเสริมกระบวนการสร้างเยื่อบุผิวได้อีกทางหนึ่ง (Franz, 2010) เซลล์เยื่อบุผิวจะแบ่งตัวและเคลื่อนที่มาปกคลุมเนื้อเยื่อแกรนูโลชันหมด ถึงจะหยุดกระบวนการซึ่งเรียกระบวนการหยุดการแบ่งตัวนี้ว่า contract inhibition (Schwartz et al., 1998)



ภาพ 3. การงอกขยายของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผล (Werner & Grose, 2003)

4. กระบวนการปรับโครงสร้างเนื้อเยื่อ (maturation หรือ remodeling)

กระบวนการปรับโครงสร้างเนื้อเยื่อเป็นกระบวนการสุดท้ายของกระบวนการหายของแผล ซึ่งจะเริ่มประมาณ 20 วัน (Franz, 2010; Schwartz et al., 1998) หลังการเกิดบาดแผลและดำเนินต่อไปตั้งแต่หลายเดือนไปจนถึงหลายปีขึ้นอยู่กับบาดแผลนั้น ๆ เช่น ตำแหน่ง ระยะเวลาการหายของแผล ความรุนแรงของแผล (Schwartz et al., 1998) ในกรณีที่เป็นแผลเป็น (scar) ในระยะแรก ๆ แผลเป็นจะมีลักษณะนูนแดง และมีความแข็งแรงขึ้น จากการเกี่ยวพันของคอลลาเจนเกิดขึ้น หลังจากนั้นแผลเป็นจะมีเลือดมาเลี้ยงลดลง มีการสังเคราะห์คอลลาเจนลดลง และมีการทำลายของคอลลาเจนมากขึ้น จนถึงภาวะสมดุลทำให้แผลเป็นนูนและแบนลง เรียบ และมีสีจางลง (Franz, 2010) ซึ่งกระบวนการเหล่านี้ถูกควบคุมโดยแมคโครฟาจ สำหรับแผลเป็นที่สร้างเสร็จสมบูรณ์แล้วจะมีความแข็งแรงก็ไม่เกินร้อยละ 80 ของผิวหนังปกติ และเป็นส่วนที่ไม่มีต่อมไขมัน ต่อมเหงื่อ และรูขุมขน จึงทำให้มีการแห้งและแตกง่ายกว่าผิวหนังปกติ (Franz, 2010; Schwartz et al., 1998)

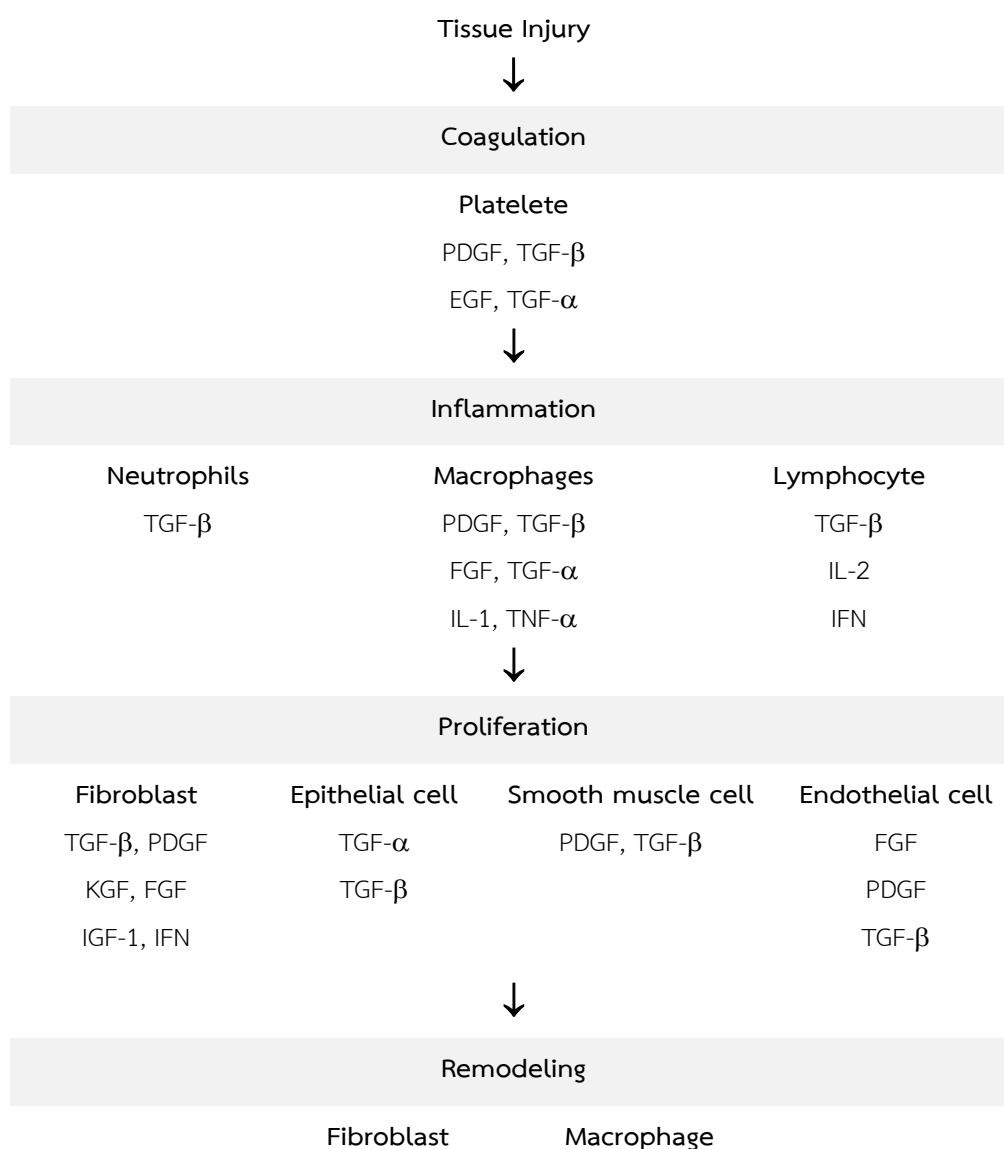


Source: Gerard M. Doherty: *CURRENT Diagnosis & Treatment: Surgery, 13th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

ภาพ 4. กระบวนการหายของแผลตามปกติ (Franz, 2010)

กระบวนการหายของแผลเป็นกระบวนการทางชีววิทยาที่ซับซ้อนซึ่งประกอบด้วยกระบวนการห้ามเลือด กระบวนการอักเสบ กระบวนการงอกขยาย และกระบวนการปรับโครงสร้างเนื้อเยื่อ มีเซลล์จำนวนมากและหลากหลายชนิดที่เกี่ยวข้อง เช่น นิวโทรฟิล แมคโครฟาจ ลิมโฟไซต์ เคอราติโนไซต์ ไฟโบรบลาสต์ และเซลล์เยื่อบุผิว โดยแต่ละเซลล์จะมีการหลั่งไซโตไคน์ชนิดต่าง ๆ เพื่อให้เกิดการหายของแผลอย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งแสดงรายละเอียดดังภาพ 5 และหน้าที่ของไซโตไคน์ชนิดต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการหายของแผลแสดงรายละเอียดดังตาราง 1



ภาพ 5. เซลล์และไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผลในระยะต่าง ๆ (Cohen, Diegelmann, & Crossland, 1994 อ้างตาม การหายของแผล, 2014)

ตาราง 1

หน้าที่ของไซโตไคน์ในกระบวนการหายของแผล (Cohen, Diegelmann, & Crossland, 1994
อ้างตาม การหายของแผล, 2014)

สัญลักษณ์	ไซโตไคน์	หน้าที่
EGF	Epidermal growth factor	กระตุ้นการสร้างเนื้อเยื่อและไฟโบรบลาสต์ การงอกขยาย และกระตุ้นการสร้างแกรนูโลเซลล์ ติซซู
FGF	Fibroblast growth factors	กระตุ้นการสร้างเนื้อเยื่อและไฟโบรบลาสต์ กระตุ้น การสะสมของเมทริก ช่วยในการหดตัวของแผลและ สร้างหลอดเลือดใหม่
IFN	Interferons	ยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของไฟโบรบลาสต์และ การสร้างคอลลาเจน
IGF-1	Insulinlike growth factor - 1	กระตุ้นการสังเคราะห์โปรตีนโกลเคน คอลลาเจน และเพิ่มการแบ่งตัวของไฟโบรบลาสต์
IL-1	Interleukins-1	เพิ่มการแบ่งตัวของไฟโบรบลาสต์ คอลลาจีเนส และชักนำนิวโทรฟิลล์
IL-2	Interleukins-2	เพิ่มการแบ่งตัวของไฟโบรบลาสต์ คอลลาจีเนส และชักนำนิวโทรฟิลล์
KGF	Keratinocyte growth factors	กระตุ้นการงอกขยายของเนื้อเยื่อ
PDGF	Platelet-derived growth factor	กระตุ้นการแบ่งตัวของไฟโบรบลาสต์ ชักนำ เม็ดเลือดขาวและกระตุ้นการทำงานของ นิวโทรฟิลล์ กระตุ้นการสร้างหลอดเลือดใหม่
TGF- α	Transforming growth factor- α	กระตุ้นการสร้างเนื้อเยื่อและไฟโบรบลาสต์ การงอกขยาย และกระตุ้นการสร้างแกรนูโลเซลล์ ติซซู
TGF- β	Transforming growth factor- β	กระตุ้นการแบ่งตัวของไฟโบรบลาสต์ ชักนำ เม็ดเลือดขาว กระตุ้นการสร้างหลอดเลือดใหม่
TNF- α	Tumor necrosis factor- α	กระตุ้นการแบ่งตัวของไฟโบรบลาสต์

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผล

ในกระบวนการหายของแผลมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องมากมาย ซึ่งสามารถแบ่งปัจจัยต่าง ๆ ออกเป็น 2 ประเภท ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

1. ปัจจัยเฉพาะที่ (local factor)

ปัจจัยเฉพาะที่เป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับคุณสมบัติ และลักษณะการหายของแผล โดยตรง ซึ่งประกอบด้วย

1.1 ออกซิเจน

ออกซิเจนเป็นสิ่งจำเป็นในกระบวนการเมทาบอลิซึมของเซลล์ โดยเฉพาะในกระบวนการสังเคราะห์พลังงานเอทีพี (ATP) และมีความเกี่ยวข้องเกือบจะทุกกระบวนการในการหายของแผล ออกซิเจนช่วยป้องกันแผลจากการติดเชื้อ ชักนำให้เกิดการสร้างหลอดเลือดใหม่ เพิ่มอัตราการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะ (differentiation) และการเคลื่อนที่ของเคอราติโนไซต์ (keratinocyte) และช่วยในกระบวนการสร้างเยื่อผิวหนังใหม่ รวมถึงส่งเสริมการหดตัวของแผลอีกด้วย (Rodriguez, Felix, Woodley, & Shim, 2008) นอกจากนี้ระดับของซูเปอร์ออกไซด์ (superoxide) ซึ่งมีบทบาทหลักในการฆ่าเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวก็ขึ้นอยู่กับระดับของออกซิเจนด้วย (Guo & Dipietro, 2010)

การได้รับบาดเจ็บส่งผลให้เส้นเลือดถูกทำลายและเซลล์มีความต้องการใช้ออกซิเจนมากขึ้นส่งผลให้บริเวณรอบ ๆ แผลมีการลดลงของออกซิเจนและอาจทำให้นเนื้อเยื่อบริเวณแผลเกิดภาวะขาดออกซิเจนได้ อีกทั้งปัจจัยอื่น ๆ เช่น ความชื้น โรคเบาหวานก็ยังส่งผลให้การไหลเวียนลดลงด้วยจึงอาจส่งผลให้เนื้อเยื่อบริเวณแผลเกิดภาวะขาดออกซิเจนที่รุนแรงขึ้นได้ โดยเฉพาะในแผลเรื้อรังจะพบภาวะนี้ได้มาก (Tandara & Mustoe, 2004) แผลที่ไม่มีออกซิเจนมักจะไม่สามารถมีกระบวนการหายของแผลได้ ถึงแม้ว่าภาวะขาดออกซิเจนที่เกิดขึ้นในระยะแรก ๆ จะกระตุ้นให้เกิดกระบวนการหายของแผลแต่เมื่อผ่านไประยะหนึ่งภาวะขาดออกซิเจนนั้นจะเป็นตัวทำให้กระบวนการหายของแผลช้าลง ในแผลสดหรือแผลใหม่ภาวะขาดออกซิเจนจะเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดกระบวนการหายของแผล โดยการกระตุ้นการทำงานของเคอราติโนไซต์และไฟโบรบลาสต์ ชักนำให้แมคโครฟาจหลั่งไซโตไคน์และโกรทแฟคเตอร์ ซึ่งไซโตไคน์และโกรทแฟคเตอร์ที่หลั่งออกมาได้แก่ PDGF, TGF- β , VEGF, TNF- α และ endothelin-1 ซึ่งเป็นตัวสำคัญในกระบวนการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะ การเคลื่อนที่ของเซลล์ การเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาว (chemotaxis) รวมถึงกระบวนการสร้างหลอดเลือดใหม่ด้วย และหากมีปริมาณออกซิเจนที่มากจะทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species; ROS) ที่มากขึ้น เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide; H_2O_2) และซูเปอร์ออกไซด์ (superoxide; O_2) ซึ่งเป็นตัวกระตุ้นกระบวนการหายของแผล การตาย

ของเซลล์ การทำงานของไซโตไคน์ (รวมถึงการส่งสัญญาณของ PDGF) และการสร้างหลอดเลือดใหม่ ซึ่งทั้งภาวะขาดออกซิเจนและภาวะมีออกซิเจนมากจะก่อให้เกิดการเพิ่มของอนุมูลอิสระขึ้น แต่บทบาทหลักของอนุมูลอิสระจะมีประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์ได้มากกว่าการกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์ (Rodriguez et al., 2008)

1.2 การติดเชื้อ

เมื่อผิวหนังได้รับบาดเจ็บส่งผลให้เชื้อโรคสามารถเข้ามาภายในเนื้อเยื่อได้ ก่อให้เกิดการติดเชื้อของแผลขึ้น ซึ่งสามารถแบ่งการติดเชื้อของแผลออกเป็นชนิดต่าง ๆ เช่น แผลมีการปนเปื้อน (contamination) หมายถึงมีเชื้ออยู่แต่ไม่มีการเพิ่มจำนวนของเชื้อในแผล แผลมีการเพิ่มจำนวนของเชื้อ (colonization) หมายถึงมีการเพิ่มจำนวนของเชื้อในแผลแต่ยังไม่มีการทำลายเนื้อเยื่อ แผลมีการติดเชื้อเฉพาะที่ (local infection) หมายถึงมีการเพิ่มจำนวนของเชื้อในแผลและเนื้อเยื่อเริ่มมีการตอบสนองต่อเชื่อนั้น และ/หรือแผลมีการกระจายของการติดเชื้อ หมายถึงมีการเพิ่มของเชื้อในแผลและส่งผลต่อคน (host) ทำให้ได้รับบาดเจ็บ

การอักเสบเป็นกระบวนการปกติในกระบวนการตายของแผลและมีความสำคัญในการช่วยนำเชื้อโรคออกจากแผล อย่างไรก็ตามการอักเสบมักใช้เวลานานกว่าที่จะนำเชื้อโรคออกจากแผลได้หมด ซึ่งทั้งแบคทีเรียและสารพิษต่างเป็นสาเหตุให้มีการเพิ่มขึ้นของไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ เช่น IL-1 และ TNF- α ส่งผลให้เกิดกระบวนการอักเสบที่ยาวนานขึ้นและหากกระบวนการอักเสบยังมีการดำเนินต่อไปเรื่อย ๆ ก็จะทำให้เกิดเป็นแผลเรื้อรังและกระบวนการตายของแผลมีความล้มเหลวได้ ซึ่งกระบวนการอักเสบที่เกิดขึ้นอย่างยาวนานนี้จะนำไปสู่การเพิ่มขึ้นของเมทริกซ์เมทาโลโปรติเอส (matrix metalloproteases; MMPs) ซึ่งเป็นเอนไซม์สลายโปรตีน (protease) ตัวหนึ่ง ซึ่ง MMPs สามารถทำลายเมทริกซ์นอกเซลล์ควบคู่ไปกับการทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์สลายโปรตีนตัวอื่น ๆ มากขึ้นเรื่อย ๆ จนทำให้เกิดการเสียมดูลส่งผลให้โกรทแฟคเตอร์ที่อยู่ในแผลเรื้อรังถูกทำลายอย่างรวดเร็ว เช่นเดียวกันกับกระบวนการติดเชื้อแบคทีเรียในแผลจะมีการสร้างไบโอฟิล์ม (biofilm) ซึ่งก่อให้เกิดการรวมตัวของแบคทีเรียและฝังอยู่ในโพลีแซคคาไรด์บริเวณเมทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular polysaccharide matrix; EPS) ไบโอฟิล์มที่ถูกสร้างขึ้นมาอย่างสมบูรณ์จะช่วยป้องกันเชื้อโรคจากการทำลายจากสิ่งแวดล้อมและสามารถทนต่อการรักษาด้วยยาฆ่าเชื้อได้ ซึ่งเชื้อที่พบได้บ่อยทั้งในแผลติดเชื้อและแผลไม่ติดเชื้อ ได้แก่ เชื้อสแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*) สูโดโมแนส เออร์จินินา (*Pseudomonas aeruginosa*) และ บีต้า ฮีโมไลติก สเตรปโตคอคคัส (β -hemolytic streptococci) (Edwards & Harding, 2004) โดยเฉพาะแผลที่มีการติดเชื้อสูโดโมแนส เออร์จินินา มักไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้เนื่องจากสูโดโมแนส เออร์จินินาสามารถสร้างไบโอฟิล์มหุ้มตัวมันได้ ดังนั้นมันจึงสามารถ

ป้องกันตัวเองจากการถูกจับกินจากเม็ดเลือดขาว (PMN) ด้วยกลไกดังกล่าวจึงสามารถใช้อธิบายกลไกการดี้อย่างของเชื้อในแผลเรื้อรังได้ (Bjarnsholt et al., 2008)

2. ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับระบบร่างกาย (systemic factor)

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับระบบร่างกายจะเกี่ยวข้องกับสุขภาพร่างกายทั้งหมดหรือภาวะโรคที่เป็นอยู่ในแต่ละบุคคลซึ่งสามารถส่งผลกระทบต่อกระบวนการหายของแผลได้ ซึ่งประกอบด้วย

2.1 อายุ

อายุที่เพิ่มขึ้นเป็นปัจจัยเสี่ยงหลักที่จะส่งผลให้กระบวนการหายของแผลล้มเหลวได้ ในผู้สูงอายุกระบวนการหายของแผลจะเกิดช้าลงซึ่งมักเกี่ยวข้องกับการตอบสนองในส่วนของกระบวนการอักเสบ เช่น มีการเคลื่อนที่ของทีเซลล์ (T-cell) มายังบริเวณแผลช้าลงเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงของการผลิตสารเคมีร่วมกับการลดลงของแมคโครฟาจและลิมโฟไซต์ อีกทั้งการทำหน้าที่ของแมคโครฟาจมีความบกพร่องไป มีการหลั่งโกรทแฟคเตอร์ได้น้อยลง ทำให้การสร้างเยื่อบุผิวสังเคราะห์คอลลาเจน และสร้างหลอดเลือดใหม่ได้ช้า (Swift, Burns, Gray, & Dipietro, 2001)

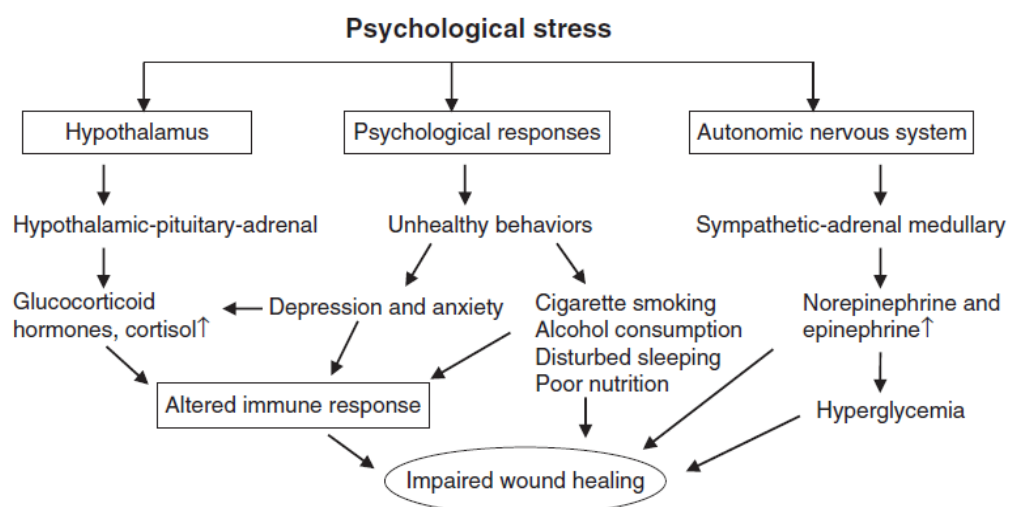
2.2 ฮอโมนเพศ

ฮอโมนเพศมีบทบาทเกี่ยวข้องกับการล้มเหลวของกระบวนการหายของแผลที่สัมพันธ์กับอายุ เมื่อเปรียบเทียบกระบวนการหายของแผลในผู้สูงอายุเพศหญิงและชายพบว่ากระบวนการหายของแผลชนิดแผลสดหรือแผลใหม่ช้าลง ซึ่งพบว่าฮอโมนเอสโตรเจน (estrogen) ในเพศหญิง ฮอโมนแอนโดรเจน (androgen) ในเพศชายและดีไฮโดรอีพิแอนโดรสเตอโรน (dehydroepiandrosterone) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฮอโมน มีผลต่อกระบวนการหายของแผลอย่างชัดเจน (Gilliver, Ashworth, & Ashcroft, 2007) ซึ่งพบว่าฮอโมนและสารตั้งต้นดังกล่าวมีผลต่อการแสดงออกของยีนที่แตกต่างกันโดยเฉพาะเอสโตรเจน โดยเอสโตรเจนจะควบคุมยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างใหม่ (regeneration) การผลิตเมทริกซ์ การยับยั้งเอนไซม์สลายโปรตีน การทำหน้าที่ของเยื่อบุผิว และการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบในกระบวนการหายของแผล (Hardman & Ashcroft, 2008) ในขณะที่แอนโดรเจนมีความสามารถควบคุมการหายของแผลที่ผิวหนังได้ประสิทธิภาพที่ไม่ค่อยดีนัก (Gilliver et al., 2007)

2.3 ความเครียด

ความเครียดส่งผลกระทบต่อสุขภาพและพฤติกรรมของมนุษย์ ชักนำไปให้เกิดการทำลายความสมดุลของระบบภูมิคุ้มกันที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาทและต่อมไร้ท่อ (neuroendocrine immune) (Vileikyte, 2007) ในทางสรีระวิทยาได้อธิบายเกี่ยวกับผลของความเครียดที่ทำให้ไม่สามารถควบคุมระบบภูมิคุ้มกันได้ว่ามีความเกี่ยวข้องกับไฮโปทาลามิก พิทูอิทารี อะดรีนัล (hypothalamic-pituitary-adrenal; HPA) และระบบซิมพาเทติกของอะดรีนัลเมดัลลารี (sympathetic-adrenal medullary axes) หรือระบบประสาทซิมพาเทติก (sympathetic

nervous system) (Boyapati & Wang, 2007) ไฮโปทาลามิก พิทูอิทารี อะดรีนัล และระบบซิมพาเทติกของอะดรีนัลเมดัลลารีมีบทบาทในการควบคุมการหลั่งฮอร์โมนจากต่อมพิทูอิทารีและต่อมหมวกไต ซึ่งประกอบด้วยอะดรีโนคอร์ติโคโทรฟิกฮอร์โมน (adrenocorticotrophic hormone) คอร์ติซอล (cortisol) โพรแลคติน (prolactin) และแคทีโคลามีน (catecholamines) ความเครียดส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของกลูโคคอร์ติคอยด์ (glucocorticoids; GCs) และเกิดการลดลงของไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบบริเวณแผล เช่น IL-1 β , IL-6 และ TNF- α อีกทั้งยังลดการแสดงออกของ IL-1 α และ IL-8 บริเวณแผล ซึ่งมีความจำเป็นสำหรับกระบวนการอักเสบในระยะเริ่มต้นของการหายของแผล (Boyapati & Wang, 2007) และยิ่งไปกว่านั้นกลูโคคอร์ติคอยด์ยังมีบทบาทสำคัญในการยับยั้งการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะของเซลล์และยังยับยั้งการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน ควบคุมการถอดรหัส (transcription) และลดการแสดงออกของโมเลกุลที่จะให้เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันมายึดเกาะอีกด้วย (Sternberg, 2006) คอร์ติซอลทำหน้าที่เสมือนสารต้านการอักเสบและปรับเปลี่ยนการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันของ Th1 ซึ่งมีความสำคัญต่อกระบวนการหายของแผลในระยะเริ่มต้น จะเห็นได้ว่าความเครียดส่งผลทำให้เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันบริเวณแผลทำงานบกพร่องลง เป็นเหตุให้กระบวนการหายของแผลดำเนินไปได้ช้าลง (Godbout & Glaser, 2006) คนที่มีความเครียดมักจะอยู่ในภาวะของอารมณ์ทางลบ เช่น วิตกกังวล (anxiety) และซึมเศร้า (depression) ซึ่งการอยู่ในภาวะอารมณ์ดังกล่าวจะส่งผลกระทบต่อกระบวนการทำงานของร่างกายและ/หรือรูปแบบพฤติกรรมต่าง ๆ ซึ่งจะส่งผลเสียต่อสุขภาพตามมา เช่น ทำให้อ่อนล้าอยาก खाดสารอาหาร เคลื่อนไหวร่างกายน้อย และมีแนวโน้มในการติดแอลกอฮอล์ บุหรี่ และยาอื่น ๆ ได้ ซึ่งพฤติกรรมดังกล่าวจะส่งผลให้กระบวนการหายของแผลเป็นไปในทางที่แย่ง ดังแสดงในภาพ 6



ภาพ 6. ผลกระทบจากความเครียดต่อการหายของแผล (Guo & Dipietro, 2010)

2.4 ภาวะพร่องโภชนาการ

สารอาหารเป็นปัจจัยที่มีความจำเป็นอย่างมากต่อการหายของแผล ซึ่งมีผลแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนถึงผลกระทบที่เกิดขึ้นต่อการหายของแผล เมื่อมีภาวะพร่องโภชนาการหรือได้รับสารอาหารบางชนิดไม่เพียงพอหลังได้รับบาดเจ็บหรือหลังได้รับการผ่าตัด ผู้ป่วยที่มีแผลเรื้อรังหรือแผลที่ยังไม่หายร่วมกับการมีภาวะพร่องโภชนาการมักจะต้องได้รับสารอาหารพิเศษเพิ่มเติม ซึ่งกระบวนการเผาผลาญพลังงาน คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน วิตามินและเกลือแร่สามารถส่งผลกระทบต่ออาการของแผลได้ทั้งสิ้น (Arnold & Barbul, 2006) ซึ่งผลกระทบที่เกิดขึ้นจากการพร่องโภชนาการจากสารอาหารชนิดต่าง ๆ มีรายละเอียด ดังนี้

2.4.1 ภาวะพร่องคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และกรดอะมิโน

คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งพลังงานของกระบวนการหายของแผล โดยกลูโคสเป็นสารอาหาร ที่ถูกนำมาใช้ในการสังเคราะห์พลังงาน ATP ซึ่งจะถูกนำไปใช้ในการสร้างหลอดเลือดและเนื้อเยื่อใหม่ (Shepherd, 2003) การนำกลูโคสมาใช้เป็นแหล่งพลังงานในการสังเคราะห์ ATP จะช่วยป้องกันการขาดกรดอะมิโนและสารตั้งต้นของโปรตีนตัวอื่น ๆ ได้ (Arnold & Barbul, 2006)

โปรตีนเป็นสารอาหารที่สำคัญมากชนิดหนึ่งต่อกระบวนการหายของแผล การขาดโปรตีนอาจส่งผลให้ความบกพร่องของการสร้างหลอดเลือดฝอย การเพิ่มจำนวนของไฟโบรบลาสต์ การสังเคราะห์โปรตีนโอไกลเคน การสังเคราะห์คอลลาเจน และการกลับเป็นปกติของแผล อีกทั้งยังส่งผลต่อระบบภูมิคุ้มกันโดยทำให้การจับกิน (phagocytosis) ของเม็ดเลือดขาวลดลง และทำให้เกิดการติดเชื้อเพิ่มขึ้น และนอกจากนี้คอลลาเจนยังเป็นโปรตีนองค์ประกอบที่สำคัญของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันซึ่งคอลลาเจนประกอบด้วยไกลซีน โพรลีน และไฮดรอกซีโพรลีน ในการสังเคราะห์คอลลาเจนต้องเกิดกระบวนการไฮดรอกซีเลชัน (hydroxylation) ของไกลซีนและโพรลีนร่วมกับโคแฟกเตอร์ เช่น ธาตุเหล็ก (ferrous iron) และวิตามินซี ซึ่งหากร่างกายขาดโคแฟกเตอร์ดังกล่าวก็จะทำให้เกิดความบกพร่องในกระบวนการหายของแผลได้

อาร์จินิน (Arginine) เป็นกรดอะมิโนที่ค่อนข้างจำเป็นซึ่งจะถูกนำมาใช้ในช่วงที่ร่างกายต้องการการเจริญเติบโตมาก ๆ ภาวะเครียดรุนแรง และเมื่อร่างกายมีการบาดเจ็บ อาร์จินินมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงในการทำหน้าที่ของระบบภูมิคุ้มกัน การหายของแผล การหลั่งฮอรโมน การยืดหดของหลอดเลือด และการทำหน้าที่ของเยื่อภายในหลอดเลือด อีกทั้งยังเป็นสารตั้งต้นของโพรลีนและด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นต้องมีอาร์จินินในร่างกายที่เพียงพอ เพื่อให้สามารถเกิดการสะสมของคอลลาเจน การสร้างหลอดเลือดใหม่ และการหดตัวของแผลได้ และนอกจากนี้เมื่อเกิดภาวะเครียดร่างกายจะมีความต้องการอาร์จินินเพื่อนำมาใช้ในการบวนการเผาผลาญเพิ่มขึ้น

เพื่อนำมาส่งเสริมกระบวนการหายของแผลให้สามารถเกิดขึ้นได้ดียิ่งขึ้น (Campos, Groth, & Branco, 2008)

กลูตามิน (glutamine) เป็นกรดอะมิโนที่มีมากที่สุดในพลาสมา และเป็นแหล่งพลังงานสำคัญที่ถูกใช้ในกระบวนการเผาผลาญเพื่อให้เซลล์ต่าง ๆ มีการเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว เช่น ไฟโบรบลาสต์ ลิมโฟไซต์ เซลล์เยื่อบุผิว และแมคโครฟาจ (Arnold & Barbul, 2006; Campos et al., 2008) ความเข้มข้นของกลูตามินในซีรัมจะลดลงหลังจากการได้รับการผ่าตัด ได้รับบาดเจ็บ และมีการติดเชื้อในกระแสเลือด (sepsis) (Campos et al., 2008) อีกทั้งกลูตามินยังมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการอักเสบให้เกิดขึ้นในระยะเริ่มต้นของการหายของแผลอีกด้วย (Arnold & Barbul, 2006)

2.4.2 กรดไขมัน

ไขมันถูกใช้เป็นสารอาหารในกระบวนการหายของแผลและการฟื้นฟูของเนื้อเยื่อ โดยเฉพาะกรดไขมันไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acids; PUFAs) ซึ่งเป็นสารอาหารที่สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมไม่สามารถสร้างขึ้นมาได้ ประกอบด้วยองค์ประกอบหลัก 2 ชนิดคือ โอเมก้า 6 (omega-6) ซึ่งพบในน้ำมันถั่วเหลือง และโอเมก้า 3 (omega-3) พบในน้ำมันตับปลา โดยน้ำมันตับปลากถูกนำมาใช้เพื่อประโยชน์ทางสุขภาพอย่างแพร่หลาย และพบว่าโอเมก้า 3 มีผลต่อการผลิตไซโตไคน์ในกระบวนการอักเสบ มีผลต่อการเผาผลาญของเซลล์ การแสดงออกของยีน และการสร้างหลอดเลือดใหม่บริเวณแผล (McDaniel, Belury, Ahijevych, & Blakely, 2008; Shingel, Faure, Azoulay, Roberge, & Deckelbaum, 2008) อีกทั้งยังมีผลในเรื่องของการส่งเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ดังนั้นจึงสามารถช่วยลดโอกาสการติดเชื้อลงได้อีกด้วย (Arnold & Barbul, 2006)

2.4.3 วิตามิน และสารอาหารรอง (micronutrients)

วิตามินซี (L-ascorbic acid) วิตามินเอ (retinol) และวิตามินอี (tocopherol) ช่วยลดความรุนแรงจากการทำลายของอนุมูลอิสระและช่วยต้านการอักเสบ วิตามินซีมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการหายของแผลในหลาย ๆ บทบาทและหากมีการขาดวิตามินซีก็จะส่งผลกระทบต่อการทำงานของเนื้อเยื่อในหลาย ๆ กระบวนการ นั่นคือ ส่งผลให้มีการลดลงของการสังเคราะห์คอลลาเจน การเพิ่มจำนวนของไฟโบรบลาสต์ การสร้างหลอดเลือดใหม่ และทำให้หลอดเลือดฝอยเปราะบางมากขึ้นและนอกจากนี้การขาดวิตามินซียังส่งผลให้การตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง และเพิ่มโอกาสการติดเชื้อของแผลมากขึ้นด้วย (Arnold & Barbul, 2006; Campos et al., 2008) เช่นเดียวกันกับการขาดวิตามินเอก็ส่งผลทำให้การหายของแผลบกพร่องเช่นกัน โดยคุณสมบัติทางชีววิทยาของวิตามินเอคือสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ ช่วยในการเพิ่มจำนวนของไฟโบรบลาสต์ ปรับเปลี่ยนการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะและการเพิ่มจำนวนของเซลล์ เพิ่มการ

สังเคราะห์คอลลาเจนและไฮยาลูโรเนต (hyaluronate) และลดการชักนำให้เกิดการทำลายเมทริกซ์นอกเซลล์ได้ (Burgess, 2008) วิตามินอีเป็นสารต้านอนุมูลอิสระช่วยคงสภาพความแข็งแรงของเยื่อหุ้มเซลล์โดยการป้องกันการทำลายจากกระบวนการออกซิเดชัน (oxidation) อีกทั้งยังมีคุณสมบัติในการต้านการอักเสบจึงมักถูกนำไปใช้ในการลดรอยแผลเป็นในแผลเรื้อรัง จากการทดลองนำวิตามินอีไปใช้รักษาแผลในหนูทดลองพบว่าวิตามินอีช่วยส่งเสริมกระบวนการหายของแผลได้เป็นอย่างดี และยังพบว่าการใช้ (topical) วิตามินอีสามารถช่วยต้านการเกิดแผลเป็นได้ (Arnold & Barbul, 2006; Burgess, 2008)

สารอาหารรองอื่น ๆ หลากหลายชนิดมีความสำคัญต่อการฟื้นฟูที่เหมาะสม แมกนีเซียม (magnesium) มีบทบาทในการเป็นโคแฟกเตอร์สำหรับเอนไซม์หลาย ๆ ชนิด รวมถึงเป็นโคแฟกเตอร์ในการสังเคราะห์คอลลาเจนและโปรตีนด้วย ในขณะที่คอปเปอร์ (copper) มีบทบาทเป็นโคแฟกเตอร์ของไซโตโครมออกซิเดส (cytochrome oxidase) ไซโตโซลิกแอนติออกซิเดนท์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (cytosolic anti-oxidant superoxide dismutase) และการเกี่ยวพันกัน (cross linking) ของคอลลาเจน สังกะสี (zinc) เป็นโคแฟกเตอร์ของทั้งอาร์เอ็นเอและดีเอ็นเอ โพลีเมอเรส (RNA and DNA polymerase) และการขาดสังกะสียังส่งผลให้การหายของแผลบกพร่องด้วย เหล็ก (iron) มีความจำเป็นในกระบวนการไฮดรอกซีเลชันของโพรลีนและไลซีน และหากขาดเหล็กอย่างรุนแรงก็จะทำให้การสังเคราะห์คอลลาเจนบกพร่องได้ (Arnold & Barbul, 2006; Campos et al., 2008; Shepherd, 2003)

การดูแลแผล

การที่จะดูแลบาดแผลให้มีประสิทธิภาพนั้น ในปัจจุบันมีหลากหลายทางเลือกและหลากหลายปัจจัยที่จะต้องนำมาพิจารณาเพื่อนำมาใช้ในการดูแลแผลให้เหมาะสม จะต้องคำนึงถึงภูมิหลังของผู้ป่วยอย่างรอบคอบ เช่น โรคประจำตัว ยาที่ใช้เป็นประจำ พฤติกรรมของผู้ป่วย เป็นต้น และนำข้อมูลที่ได้มาพิจารณาเพื่อเลือกวิธีการรักษาแผลที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพมากที่สุด สำหรับผู้ป่วยในแต่ละราย ซึ่งคุณลักษณะของการดูแลแผลมีหลายคุณลักษณะโดยแต่ละคุณลักษณะก็จะมีมีความสำคัญต่อการหายของแผลที่แตกต่างกัน จึงต้องพิจารณาอย่างรอบคอบเพื่อนำมาสู่การเลือกวิธีการดูแลแผลที่ดีที่สุด (Rothe & Falanga, 1989) ดังแสดงรายละเอียดในตาราง 2

ตาราง 2

คุณลักษณะที่พึงประสงค์ของการดูแลแผลต่อความสำคัญของการหายของแผล (Boateng et al., 2008)

คุณลักษณะที่พึงประสงค์ ของการดูแลแผล	ความสำคัญของการหายของแผล
ความสะอาดของแผล	ส่งเสริมการเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาวไปยังบริเวณแผล และส่งเสริมการสะสมของเอนไซม์
การคงความชุ่มชื้นให้แก่แผล	ช่วยป้องกันการแห้งของแผลและป้องกันการตายของเซลล์ ส่งเสริมการเคลื่อนที่ของเซลล์เยื่อ การสร้างเส้นเลือดใหม่และการสังเคราะห์เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ช่วยให้เกิดการสลายตัวของเนื้อเยื่อที่แห้ง
การดูดซับเลือดและสารคัดหลั่ง (exudates)	ในแผลเรื้อรังมักมีสารคัดหลั่งมาก ซึ่งเกิดจากการที่เอนไซม์มีการทำลายเนื้อเยื่อ ซึ่งสารคัดหลั่งจะขัดขวางการเพิ่มจำนวนและการทำหน้าที่ของเซลล์ ทำลายสารและโมเลกุลในเมทริกซ์นอกเซลล์และโกรทแฟกเตอร์ จึงส่งผลให้แผลหายช้า อีกทั้งสารคัดหลั่งยังส่งผลให้เกิดการเปื่อยของผิวหนังรอบ ๆ แผลอีกด้วย
การระเหยของน้ำและการถ่ายเทของอากาศ	ความสามารถในการระเหยของน้ำจากแผลช่วยในการจัดการสารคัดหลั่งในแผลได้ การถ่ายเทอากาศที่เหมาะสมช่วยให้เกิดการหายของแผลที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น เช่น ในภาวะออกซิเจนในเนื้อเยื่อต่ำจะช่วยกระตุ้นการสร้างหลอดเลือดใหม่ ส่วนภาวะที่มีการเพิ่มขึ้นของออกซิเจนช่วยกระตุ้นการสร้างเยื่อผิวและไฟโบรบลาสต์
การป้องกันการติดเชื้อ	การติดเชื้อส่งผลให้เกิดกระบวนการอักเสบที่ยาวนานขึ้น และเกิดการสังเคราะห์ซัลฟิวเรียม การเคลื่อนที่ของเซลล์เยื่อผิว รวมถึงชักนำให้เกิดการตายของเนื้อเยื่อ อีกทั้งแผลที่ติดเชื้อยังมีกลิ่นเหม็นอีกด้วย
การมีฉนวนป้องกันอุณหภูมิ	อุณหภูมิเนื้อเยื่อที่ปกติช่วยส่งเสริมให้เลือดมาเลี้ยงบริเวณแผลและส่งเสริมการเคลื่อนที่ของเซลล์เยื่อ
การยึดติดของวัสดุทำแผลน้อย	การยึดติดของวัสดุทำแผลกับแผลจะทำให้เกิดความปวดและนำวัสดุทำแผลออกได้ยากและเป็นสาเหตุให้เกิดการลอกของเนื้อเยื่อมากขึ้น

ตาราง 2 (ต่อ)

คุณลักษณะที่พึงประสงค์ ของการดูแลแผล	ความสำคัญของการหายของแผล
การเปลี่ยนวัสดุในการทำแผลไม่ควรบ่อยเกินไป	การเปรียบเทียบวัสดุการทำแผลต้องตั้งอยู่บนพื้นฐานของประสิทธิภาพการรักษามากกว่าราคา ถึงแม้ว่าวัสดุทำแผลบางชนิดจะมีราคาแพงกว่า แต่หากส่งผลให้แผลเกิดการตอบสนองต่อการหายที่เร็วกว่าก็ควรเลือกวัสดุนั้น

วัสดุที่ใช้ในการทำแผล

วัสดุทำแผลถูกแบ่งออกเป็นประเภทต่าง ๆ ตามหน้าที่ของวัสดุนั้นที่มีผลต่อแผล เช่น การทำความสะอาด การฆ่าเชื้อ การดูดซับ การยึดติดของแผล เป็นต้น (Purner & Babu, 2000) หรือแบ่งตามวัสดุที่ใช้ในการผลิต เช่น ไฮโดรคอลลอยด์ (hydrocolloid) อาร์จินेट (arginate) คอลลาเจน เป็นต้น (Queen, Orsted, Sanada, & Sussman, 2004) หรือแบ่งตามลักษณะทางฟิสิกส์ เช่น ขี้ผึ้ง (ointment) ฟิล์ม (film) โฟม (foam) เจล (gel) เป็นต้น (Falabella, 2006) การแบ่งประเภทของวัสดุทำแผลทำให้ง่ายต่อการเลือกนำมาใช้ในการรักษาแผล ในการศึกษาครั้งนี้ได้แบ่งวัสดุออกเป็น 2 ประเภทคือ แบบดั้งเดิมและแบบสมัยใหม่ ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

1. แบบดั้งเดิม

สารที่ใช้ทำแผลในอดีตบางอย่างอาจไม่ได้รับความนิยมอย่างกว้างขวางในปัจจุบันแต่ก็ยังคงมีประโยชน์ต่อการนำมาใช้ในการรักษาแผลได้ ซึ่งสารเหล่านั้นอยู่ในรูปของของเหลวใช้เฉพาะที่ (topical liquid) และสารกึ่งของแข็ง (semi-solid) รวมถึงวัสดุทำแผลแบบแห้งด้วย โดยมีรายละเอียดดังนี้

1.1 สูตรตำรับยาใช้เฉพาะที่

สูตรตำรับในประเภทนี้ถูกเตรียมในรูปของของเหลว เช่น ยาน้ำใส (solution) ยาน้ำแขวนตะกอน (suspension) ยาอิมัลชัน (emulsion) เป็นต้น และในรูปของสารกึ่งแข็ง เช่น ขี้ผึ้งและครีม สารที่ถูกเตรียมในรูปของสารละลาย เช่น โปวิดอนไอโอดีน (povidone-iodine) มีประสิทธิภาพต่อการหายของแผลในระยะเริ่มต้นซึ่งมีความสามารถในการลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียและเปรียบเสมือนการทำความสะอาดและเอาเนื้อตายออกเพื่อป้องกันการเปื่อยยุ่ยของเนื้อเยื่อปกติโดยการนำเอาเนื้อเยื่อที่ตายแล้วออกจากแผลใหม่ ยาฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เช่น ซิลเวอร์ (silver) โปวิดอนไอโอดีน และโพลีเฮกซามะทิลีนไบกวานิด (polyhexamethylene biguanide) ในบางครั้งสามารถนำมาใช้ร่วมกันเพื่อควบคุมหรือป้องกันการติดเชื้อของแผลได้ นอัมลเซลิโน ถูก

นำมาใช้ทำความสะอาดแผลเพื่อเอาเนื้อเยื่อที่ตายแล้วออกและยังสามารถชะล้างเอาวัสดุทำแผลที่มีลักษณะเป็นพอลิเมอร์ที่ไม่สามารถละลายน้ำออกจากแผลได้ นอกจากนี้ น้ำเกลือยังสามารถใช้ล้างแผลแห้งเมื่อต้องการทำแผลซึ่งสามารถชะล้างได้อย่างนุ่มนวลและไม่เกิดอาการเจ็บปวด ปัญหาหลักของสูตรตำรับยาเตรียมแบบน้ำ คือ สามารถคงอยู่บนแผลได้ในระยะเวลาสั้น ๆ โดยเฉพาะแผลที่มีสารคัดหลั่งมาก สูตรตำรับยาเตรียมชนิดกึ่งของแข็ง เช่น ซิลเวอร์ซัลฟาไดอะซีนครีม (silver sulphadiazine cream) และซิงค์ซิลเวอร์ไนเตรต (silver nitrate ointment) สามารถใช้รักษาการติดเชื้อซึ่งสามารถคงอยู่บนแผลได้นานเมื่อเทียบกับแบบน้ำ แต่สำหรับแผลที่มีสารคัดหลั่งมากสูตรตำรับยาเตรียมชนิดกึ่งของแข็งมักไม่สามารถคงอยู่บนแผลได้เพราะตัวมันจะคุดน้ำเข้ามาอย่างรวดเร็วและเคลื่อนออกจากแผลได้ (Farstvedt, Stashak, & Othic, 2004; Fukunaga, Naritaka, Fukaya, Tabuse, & Nakamura, 2006)

1.2 วัสดุที่ใช้ทำแผลแบบดั้งเดิม

วัสดุทำแผลแบบดั้งเดิม เช่น ก๊อช ไม้พันสำลี ผ้ายืดแบบทำจากผ้าใยแบบธรรมชาติและแบบสังเคราะห์ เป็นต้น ก๊อชมักถูกนำมาใช้เพื่อป้องกันแผลจากการติดเชื้อแบคทีเรียและบางชนิดถูกนำมาใช้ในการดูดซับสารคัดหลั่งจากแผลเปิด แต่มีข้อเสียคือจะต้องทำการเปลี่ยนค่อนข้างบ่อยเพื่อป้องกันการสะสมของเชื้อโรคและป้องกันการเปื่อยยุ่ยของเนื้อเยื่อ อีกทั้งยังก่อให้เกิดการยึดติดในแผลที่มีสารคัดหลั่งมากได้ง่ายส่งผลให้เกิดความเจ็บปวดเมื่อนำก๊อชออก ไม้พันสำลี มักถูกนำมาใช้ในการทำแผลในระดับปฐมภูมิและทุติยภูมิเพื่อป้องกันการติดเชื้อของแผลจากสิ่งแปลกปลอมต่าง ๆ และผ้ายืดแต่ละชนิดก็จะสามารถทำหน้าที่ได้แตกต่างกัน เช่น ไฮคอมเพรสชันแบนเดจ (high compression bandages) ใช้สำหรับการทำแผลที่ต้องการการกด เช่น แผลที่มีการบาดเจ็บของหลอดเลือดดำ ส่วนผ้าพันแผลแบบยืด (short stretch compression bandage) ใช้สำหรับแผลหลอดเลือดดำที่ขา (venous leg ulcers) (Boateng et al., 2008)

2. แบบสมัยใหม่

วัสดุที่ใช้ในการทำแผลแบบสมัยใหม่ได้พัฒนามาจากวัสดุทำแผลแบบดั้งเดิมดังกล่าวมาแล้วข้างต้น โดยคุณสมบัติที่สำคัญคือการสร้างและคงไว้ซึ่งความชุ่มชื้นรอบ ๆ แผลเพื่อให้แผลสามารถเกิดกระบวนการหายได้ดีขึ้น ซึ่งสามารถแบ่งวัสดุทำแผลแบบสมัยใหม่ออกตามวัสดุที่ใช้ในการผลิต ได้ดังนี้

2.1 ไฮโดรเจล (hydrogel dressing)

ไฮโดรเจลเป็นโครงสร้างสามมิติของตาข่ายพอลิเมอร์ที่ชอบน้ำ (hydrophilic polymer) (Hoare & Kohane, 2008) โดยสามารถเตรียมได้จากพอลิเมอร์ที่สามารถละลายน้ำได้ซึ่งมีคุณสมบัติทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพที่หลากหลายมาก ไฮโดรเจลสามารถดูดซึมน้ำได้ในปริมาณมากเนื่องจากประกอบด้วยโครงสร้างเป็นสายโซ่ที่มีลักษณะชอบน้ำ (hydrophilic

chain) ซึ่งสามารถขยายตัวได้โดยไม่เสียลักษณะความยืดหยุ่นตามธรรมชาติที่เป็นอยู่ ด้วยคุณสมบัติในส่วนนี้ทำให้ไฮโดรเจลสามารถทำหน้าที่ในลักษณะของการดูดซับความชุ่มชื้นจากแผลได้ดี สามารถนำไปใช้ได้ทั้งในแผลแห้ง แผลตกลสะเก็ด หรือแผลที่มีเนื้อตาย แต่มักนำมาใช้เพื่อส่งเสริมการหายของแผลในระดับทุติยภูมิเพื่อหวังผลให้ฐานของแผลมีการติดกัน (Boateng & Catanzano, 2015) และด้วยลักษณะที่ยืดหยุ่นจึงทำให้สามารถใช้ได้ดีในการนำไปปิดแผลที่มีรูปร่างไม่แน่นอน ไฮโดรเจลนั้นไม่ก่อให้เกิดการตกค้างอยู่ในแผล ไม่เป็นพิษ และไม่ติดแผล (Ahmed, 2015) ช่วยส่งเสริมให้เนื้อเยื่อที่ขาดน้ำรอบ ๆ แผลมีความชุ่มชื้นป้องกันการแห้งและช่วยดูดซับสารคัดหลั่งในแผลอีกด้วย

2.2 ไฮโดรคอลลอยด์ (hydrocolloid dressing)

ไฮโดรคอลลอยด์มีการนำมาใช้เพื่อทำแผลอย่างแพร่หลาย ซึ่งคำว่า “ไฮโดรคอลลอยด์” ใช้อธิบายวัสดุทำแผลที่ทำมาจากคอลลอยด์ผสมกับวัสดุอื่น ๆ ไฮโดรคอลลอยด์ที่ใช้ในการนำมาเป็นวัสดุทำแผลมักประกอบด้วย คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethylcellulose; CMC) เจลาติน (gelatin) และเพคติน (pectin) ซึ่งอยู่ในรูปของฟิล์มบาง ๆ หรือมีลักษณะเป็นแผ่น ไฮโดรคอลลอยด์มีประโยชน์ในทางคลินิกมากเนื่องจากสามารถติดได้ทั้งด้านที่เป็นแบบแห้งและด้านที่เป็นแบบชุ่มชื้น สามารถใช้ได้ตั้งแต่แผลที่มีสารคัดหลั่งน้อยจนถึงปานกลาง เช่น แผลกดทับ แผลไฟไหม้เล็กน้อย เป็นต้น (Heenan, 1998) สำหรับไฮโดรคอลลอยด์ที่อยู่บนแผลนั้นน้ำจากแผลจะไม่สามารถระเหยออกมาได้แต่ในเรื่องของการดูดซับสารคัดหลั่งนั้นขึ้นอยู่กับสูตรที่ผสมในไฮโดรคอลลอยด์และอาจสามารถช่วยให้น้ำและอากาศสามารถผ่านไฮโดรคอลลอยด์ได้เมื่อมีการพัฒนาสูตรตำรับที่ดี (Thomas & Loveless, 1997) แต่คุณสมบัติในเรื่องของการป้องกันการระเหยของน้ำระหว่างแผลและรอบ ๆ แผล อาจเป็นข้อเสียของการหายในแผลอักเสบซึ่งต้องการออกซิเจนเพื่อช่วยให้แผลหายเร็วขึ้นได้ (Hoekstra, Hermans, Richters, & Dutrieux, 2002)

2.3 อัลจิเนต (alginate dressing)

วัสดุทำแผลอัลจิเนตผลิตจากแคลเซียมและเกลือโซเดียมของกรดอัลจินิครวมถึงโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) ที่ประกอบด้วยกรดแมนนูโรนิกและกรดกลูคูโรนิก (mannuronic and guluronic acid) อัลจิเนตมีทั้งในรูปของแผ่นรูพรุนแห้ง (โฟม) หรือรูปของเส้นใยที่ยืดหยุ่น ซึ่งสามารถนำไปใช้ในแผลที่มีลักษณะเป็นช่องได้ การนำอัลจิเนตไปใช้มักเป็นไปในลักษณะของการนำไปใส่ในช่องของแผลให้สัมผัสกับสารคัดหลั่ง โดยอัลจิเนตมีความสามารถในการดูดซับได้ดีมากเนื่องจากประกอบด้วยเจลที่มีลักษณะชอบน้ำสูงมากซึ่งจะช่วยให้การยับยั้งการหลั่งสารคัดหลั่งจากแผลและลดการสัมผัสกับเชื้อแบคทีเรียได้ เมื่อนำอัลจิเนตไปใช้กับแผลแคลเซียมไอออนที่อยู่ภายในเส้นใยอัลจิเนตจะเกิดการแลกเปลี่ยนกับไอออนในสารคัดหลั่งและเลือดเกิดการเปลี่ยนรูปเป็นแผ่นเจล (Boateng et al., 2008) ซึ่งสามารถช่วยในการคงความชุ่มชื้นให้กับแผลและคงไว้ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสม ซึ่งมีการศึกษาถึงหน้าที่ของแคลเซียมไอออนในอัลจิเนตอย่างมากมายและพบว่า

แคลเซียมไอออนในอัลจินเตมีบทบาทในการส่งเสริมช่วยในการผลิตไฟโบริบลาสที่ในหนูได้ดีขึ้น แต่ไม่ได้ช่วยในเรื่องของการเคลื่อนที่ (Thomas, Harding, & Moore, 2000)

2.4 โฟม (foam dressing)

โฟมเป็นวัสดุทำแผลที่ประกอบด้วยโฟมโพลียูรีเทนที่มีลักษณะเป็นรูพรุน (porous polyurethane) หรือโฟมโพลียูรีเทนที่มีลักษณะเป็นแผ่นฟิล์ม และอาจมีส่วนยึดติดกับแผลบริเวณขอบด้วย โฟมช่วยคงความชุ่มชื้นบริเวณรอบ ๆ แผลและเป็นฉนวนกักอุณหภูมิแก่แผลให้เหมาะสมรวมถึงช่วยอำนวยความสะดวกในการสวมใส่เสื้อผ้า มีความสามารถในการดูดซับสูงโดยขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของโฟมนั้นๆ เช่น เนื้อสัมผัส ความหนา และขนาดของรูพรุน เป็นต้น ด้วยลักษณะการมีรูพรุนของโฟมช่วยให้มีอัตราการซึมผ่านของความชุ่มชื้น (moisture vapor transmission rate; MVTR) สูงขึ้น เหมาะต่อการนำไปใช้กับแผลที่ค่อนข้างลึกหรือแผลลึกที่มีสารคัดหลั่งเล็กน้อยถึงปานกลาง เพื่อช่วยดูดซับสารคัดหลั่งในแผล แต่ไม่เหมาะต่อการนำไปใช้กับแผลที่มีเนื้อเยื่อแห้งหรือแผลเป็นที่แห้งเพราะแผลลักษณะนี้ต้องการความชุ่มชื้นเพื่อให้เกิดการหายของแผลที่ดีที่สุด และโฟมยังไม่เหมาะสมต่อการใส่เข้าไปในช่องของแผลด้วย (Thomas et al., 2000)

2.5 เนื้อเยื่อวิศวกรรมทดแทนผิวหนัง (tissue engineered skin substitutes)

วัสดุทำแผลทั้งแบบดั้งเดิมและแบบสมัยใหม่ยังไม่สามารถทดแทนเนื้อเยื่อที่สูญเสียไปได้ โดยเฉพาะการสูญเสียผิวหนังในแผลไหม้รุนแรง ด้วยเทคโนโลยีที่ก้าวหน้าจึงทำให้มี “สมาร์ท” (smart) พอลิเมอร์เกิดขึ้น ซึ่งเกิดจากการพัฒนาพอลิเมอร์สังเคราะห์หรือพอลิเมอร์ที่มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ส่งผลให้กระบวนการหายของแผลในขั้นตอนการทดแทนเนื้อเยื่อที่สูญเสียไปทำได้ดีขึ้น โดยเฉพาะในแผลเรื้อรังซึ่งหายได้ยาก (Whitaker, Quirk, Howdle, & Shakesheff, 2001) โดยเนื้อเยื่อวิศวกรรมทดแทนผิวหนังมี 2 ส่วนประกอบหลักคือ ส่วนประกอบที่ไม่ใช่เซลล์และส่วนประกอบที่เป็นเซลล์ ส่วนประกอบที่ไม่ใช่เซลล์อาจจะเป็นคอลลาเจนสังเคราะห์และส่วนประกอบของเมทริกซ์นอกเซลล์ เช่น ไฮยาลูรอนิก แอซิด หรือผิวหนังต้นกำเนิดที่นำเอาส่วนประกอบของเซลล์ออกแต่ยังคงไว้ซึ่งโครงร่างของผิวหนังอยู่ สำหรับส่วนประกอบที่เป็นเซลล์อาจจะเป็นคอลลาเจนและไกลโคสะมิโนไกลเคนซึ่งสามารถฝังตัวในผิวหนังและเกิดการเจริญของเนื้อเยื่อใหม่ขึ้นมาได้ ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวเนื้อเยื่อวิศวกรรมทดแทนผิวหนังจึงเหมาะกับการนำไปใช้กับแผลเรื้อรังและแผลไหม้ระดับตติยภูมิ แต่ยังคงมีข้อจำกัดในเรื่องของราคาที่สูง และเสี่ยงต่อการติดเชื้อจากแอนติเจนที่อยู่ภายในเนื้อเยื่อวิศวกรรมทดแทนผิวหนังได้ (Burke, Yannas, Quinby, Bondoc, & Jung, 1981)

ไฮโดรเจลกับการหายของแผล

ดังที่กล่าวไปแล้วข้างต้นว่าไฮโดรเจลคือวัสดุที่ใช้ในการทำแผลแบบสมัยใหม่สามารถใช้ในการดูแลแผลได้ดี ไฮโดรเจลถูกผลิตขึ้นจากพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่มีคุณสมบัติชอบน้ำและสามารถขยายตัวได้ เช่น พอลิเมทาคริเลต (polymethacrylate) และโพลีไวนิลไพโรลิดีน (polyvinylpyrrolidone) ไม่สามารถละลายน้ำได้ ไฮโดรเจลมีหลากหลายรูปแบบทั้งที่เป็นเจลที่มีรูปร่างไม่แน่นอน แผ่นอีลาสติก (elastic) แผ่นแข็ง หรือ ฟิล์ม สำหรับการนำไฮโดรเจลในรูปแบบเจลไปใช้กับแผล จำเป็นต้องมีการปิดทับด้วยวัสดุอื่นอีกชั้นหนึ่ง เช่น ก๊อซ และมักใช้ในการดูแลแผลในระยะปฐมภูมิ (Boateng et al., 2008) เหมาะสมต่อการใช้กับแผลที่มีสารคัดหลั่งเล็กน้อยถึงปานกลาง (Martin et al., 2002)

ไฮโดรเจลเป็นวัสดุทำแผลที่มีคุณลักษณะที่พึงประสงค์ของการดูแลแผล (ตาราง 2) นั่นคือ สามารถช่วยคงความชุ่มชื้นให้แก่แผลซึ่งเป็นการส่งเสริมให้มีการสร้างเนื้อเยื่อแกรนูล และเยื่อผิวหนังใหม่ได้เป็นอย่างดี ช่วยป้องกันการติดเชื้อ มีการยึดติดกับแผลน้อยทำให้ไม่เกิดความเจ็บปวดและไม่เกิดการดึงเอาเนื้อเยื่อแกรนูล และเยื่อผิวหนังที่สร้างขึ้นมาใหม่ออกมาเมื่อมีการเปลี่ยนวัสดุทำแผล ด้วยคุณลักษณะดังกล่าวจะเห็นได้ว่าไฮโดรเจลสามารถส่งเสริมกระบวนการหายของแผลได้ดี เหมาะที่จะนำมาใช้ในการรักษาแผล

โปรตีนกับการหายของแผล

ในปัจจุบันมีการนำโปรตีนหลากหลายชนิดมาเติมลงในไฮโดรเจลเพื่อหวังผลให้กระบวนการหายของแผลสามารถเกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยมีความสนใจโปรตีน 2 ชนิด คือ ฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีน (phagocytosis activating protein: PAP) และ ทรอมโบสปอนดิน (thrombospondin) ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

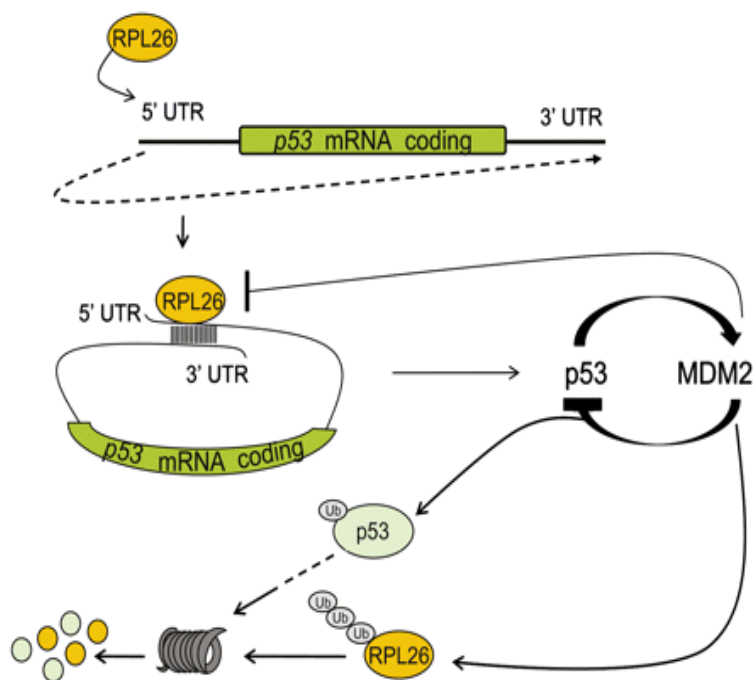
ฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีน

ฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีน เป็นโปรตีนผลผลิตที่ได้จากยีน phagocytosis activating protein โดยถูกตั้งชื่อตามบทบาทของยีนที่ทำหน้าที่กระตุ้นกระบวนการฟาโกไซโตซิส (Deachamag et al., 2006) ซึ่งเป็นกระบวนการในระบบภูมิคุ้มกันแบบอาศัยเซลล์ โดยมีเซลล์ที่เกี่ยวข้อง เช่น แมคโครฟาจ นิวโทรฟิลล์ และเซลล์อื่น ๆ ซึ่งจะทำหน้าที่ในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมด้วยการจับกินสิ่งแปลกปลอมที่มีขนาดประมาณ 1 ไมโครเมตร ที่บุกรุกเข้ามาสู่เซลล์โดยนำสิ่ง

แปลกลปอมหรือจุลชีพเหล่านี้ม่าย่อยสลายโดยไลโซโซม (lysosome) ซึ่งมีเอนไซม์ไฮโดรไลติก (hydrolytic) อยู่มาก จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า เมื่อมีการกระตุ้นเซลล์เม็ดเลือดโดยการบ่มเซลล์กับ Glutathione-S-transferase-PAP หรือ GST-PAP จะมีผลให้เซลล์เม็ดเลือดเกิดการฟาโกไซโตซิสที่สูงขึ้น และมีผลทำให้กึ่งมีภาวะต้านทานต่อสิ่งแปลกลปอมที่ก่อให้เกิดอันตรายต่อเซลล์เพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย (Deachamag et al., 2006)

ฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีน รู้จักกันในอีกชื่อหนึ่งคือ 60 เอส ไรโบโซมอลโปรตีนแอล 26 (60s ribosomal protein L26; RPL26) หรืออาร์พีแอล 26 ซึ่งกลไกการทำงานของโปรตีนตัวนี้คือจับกับเอ็มอาร์เอ็นเอของพี 53 (p53 mRNA) ที่ตำแหน่ง 5'UTR (5' untranslated region) และเกิดการทำให้ปฏิกิริยากับ 3'UTR โดยเกิดการเข้าคู่เบสกันระหว่าง 5' และ 3' UTR ของเอ็มอาร์เอ็นเอของพี 53 เกิดเป็นห่วง (loop) ขึ้น (Rosenfeld, Boggs, Michael, Kastan, & Oren, 2008.; Terzian & Lozano, 2010) ซึ่งจะช่วยให้กระบวนการแปลรหัส (translation) เกิดขึ้นได้ดียิ่งขึ้น (Lindquist et al., 2000)

Mouse double minute 2 (MDM2) ทำหน้าที่ในการควบคุมปริมาณของพี 53 ให้มีระดับต่ำ ๆ กรณีที่ร่างกายอยู่ในภาวะปกติไม่มีภาวะเครียดหรืออาจเรียกว่า เอ็มดีเอ็ม 2 เป็นตัวควบคุมสมดุลของพี 53 ภายในเซลล์ โดยกระบวนการควบคุมสมดุลของพี 53 โดยเอ็มดีเอ็ม 2 เกิดขึ้นโดยเอ็มดีเอ็ม 2 สามารถมาจับกับอาร์พีแอล 26 และพี 53 หลังจากนั้นเกิดการถอดรหัสและได้เป็นยูบิวิติน (encode ubiquitin) ชักนำอาร์พีแอล 26 และพี 53 ไปทำลายที่โปรตีเอโซม (proteasome) (ภาพ 7) (Rosenfeld et al., 2008) นอกจากจะทำให้ปริมาณของพี 53 ลดลงโดยตรงแล้วยังทำให้อาร์พีแอล 26 ลดลงส่งผลให้ไม่มีตัวมาป้องกันการถูกทำลายของพี 53 พี 53 จึงถูกทำลายได้มากขึ้น การที่มี/ได้รับอาร์พีแอล 26 เปรียบเหมือนการเพิ่มสารตั้งต้น (substrate) แก่เอ็มดีเอ็ม 2 ทำให้เอ็มดีเอ็ม 2 เข้ามาจับกับอาร์พีแอล 26 แทนที่จะจับและทำลายพี 53 ส่งผลให้มีพี 53 เพิ่มขึ้น (Terzian & Lozano, 2010)



ภาพ 7. การควบคุมปริมาณของ p53 โดย RPL26 (Terzian & Lozano, 2010)

จากการศึกษาของโลวี และมีเนเดซ (Lowe & Menendez, 2014) ที่ได้ทำการศึกษายาของพี 53 ในแมคโครฟาจของมนุษย์พบว่า พี 53 มีการทำงานร่วมกับเอ็นเอฟคัปปาบี (NF- κ B) ในการควบคุมการกระตุ้นการทำงานของแมคโครฟาจ โดยพบว่าแมคโครฟาจถูกกระตุ้นให้มีกระบวนการฟาโกไซโตซิสที่เร็วขึ้น และมีการตอบสนองต่อการกระตุ้นจากระบบภูมิคุ้มกันรวดเร็วขึ้น โดยแมคโครฟาจมีการหลั่งอินเตอลิคิน-6 เพื่อก่อให้เกิดกระบวนการอักเสบและหลั่งซีเอ็กซ์แอล 1 (CXCL1) ก่อให้เกิดการเคลื่อนที่ของนิวโทรฟิลมายังบริเวณบาดเจ็บได้มากขึ้นอีกด้วย (Lowe & Menendez, 2014)

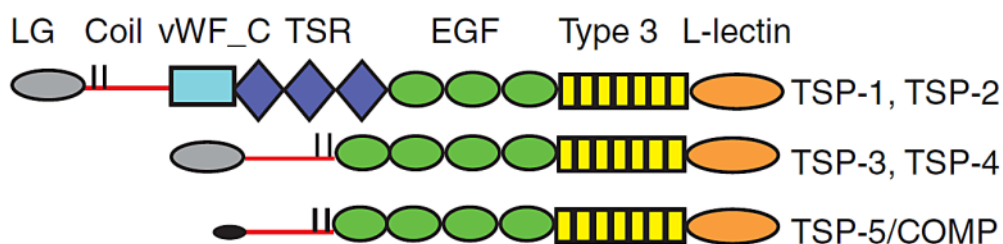
ดังนั้นเมื่ออาร์พีแอล 26 มีผลให้มีพี 53 เพิ่มขึ้นจึงส่งผลให้พี 53 สามารถทำงานร่วมกับเอ็นเอฟคัปปาบีได้มากขึ้น ทำให้แมคโครฟาจสามารถเกิดกระบวนการฟาโกไซโตซิสได้อย่างรวดเร็วและมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของชิมมากทอง เดชะมาก พงษ์ดารา และโชติเกียรติ (Khimmakthong, Deachamag, Phongdara, & Chotigeat, 2011) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของกึ่งกลูตาต้านการชักนำจากยีนโปรตีนกระตุ้นเซลล์จับกินสิ่งแปลกปลอม พบว่ากลุ่มที่ได้รับ 40 μ g PAP-phMGFP มี percentage phagocytosis และ phagocytic index สูงที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเวคเตอร์เพียงอย่างเดียว ซึ่งหมายความว่า การได้รับยีนฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนหรืออาร์พีแอล 26 สามารถกระตุ้นกระบวนการฟาโกไซโตซิสได้มากขึ้น และจากการศึกษาของเซกาด คลอดิโอ เฮอร์ลี รามอส และลาโซ

(Segade, Claudio, Hurlé, Ramos, & Lazo, 1996) พบว่า เซลล์แมคโครฟาจของหนูที่ได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยการใช้ซิลิกาและไลโปโพลีแซคคาไรด์ มีการแสดงออกของยีนอาร์พีแอล 26 ที่เพิ่มสูงขึ้นแสดงถึงการสังเคราะห์โปรตีนซึ่งเป็นองค์ประกอบของโรโบซิมที่เพิ่มขึ้นเพื่อใช้ในการกระตุ้นกระบวนการฟาโกไซโตซิสของแมคโครฟาจที่เพิ่มขึ้น

ทรอมโบสปอนติน 3 (thrombospondin 3; TSP-3)

ทรอมโบสปอนตินแฟมิลี (TSP family) เป็นไกลโคโปรตีนชนิดหนึ่งซึ่งทำหน้าที่ในการควบคุมการทำงานของเซลล์อยู่บริเวณผิวเซลล์และในโปรตีนเมทริกซ์นอกเซลล์ สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มตามลักษณะของโมเลกุล ซึ่งได้แก่ กลุ่ม A และกลุ่ม B โดยในกลุ่ม A ทรอมโบสปอนตินจะมีการจับกันเป็นไตรเมอร์ (trimer) และเชื่อมกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bond) ทรอมโบสปอนตินที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ ประกอบด้วย ทรอมโบสปอนติน 1 และ ทรอมโบสปอนติน 2 และในกลุ่ม B ทรอมโบสปอนตินจะมีการจับกันเป็นเพนตะเมอร์ (pentamer) และเชื่อมกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bonds) เช่นเดียวกัน ทรอมโบสปอนตินที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ ประกอบด้วย ทรอมโบสปอนติน 3 ทรอมโบสปอนติน 4 และ ทรอมโบสปอนติน 5 (cartilage oligomeric matrix protein; COMP) (Hankenson, Hormuzdi, Meganck, & Bornstein, 2005) ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ทรอมโบสปอนติน มีบทบาทสำคัญในการส่งเสริมการหายของแผล การสร้างหลอดเลือด การสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และเพิ่มบริเวณซินแนปส์ (synaptogenesis) โดยบทบาทดังกล่าวเกิดขึ้นบริเวณผิวเซลล์ และมีการเกิดปฏิกริยากับโกรทแฟกเตอร์ ไฮโดรคอร์น หรือส่วนประกอบต่าง ๆ บริเวณโปรตีนเมทริกซ์นอกเซลล์ (Adams & Lawler, 2011)

ทรอมโบสปอนติน 3 ซึ่งเป็นเป็นชนิดที่ถูกนำมาเติมในไฮโดรเจลที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ จัดอยู่ในกลุ่ม B โดยโครงสร้างของทรอมโบสปอนตินในกลุ่ม B ประกอบด้วย laminin G-like amino-terminal domain (LG), epidermal growth factor-like domains (EGF) 4 ตำแหน่ง thrombospondin type 3 repeats (type 3) และ L-type lectin-like domain (L-lectin) (ภาพ 8) ซึ่งแตกต่างกับกลุ่ม A ตรงที่กลุ่ม B ไม่มี von Willebrand type C domain (vWF_C) และ thrombospondin type 1 domains (TSR) อีกทั้งกลุ่ม B มี EGF 4 ตำแหน่ง ในขณะที่กลุ่ม A มีเพียง 3 ตำแหน่ง (Adams & Lawler, 2011) ด้วยโครงสร้างของทรอมโบสปอนติน 3 ที่มี EGF-like domains จึงมีความเป็นไปได้ว่าทรอมโบสปอนตินสามารถกระตุ้นการทำงานของ EGF receptor (epidermal growth factor receptor; EGFR) ได้

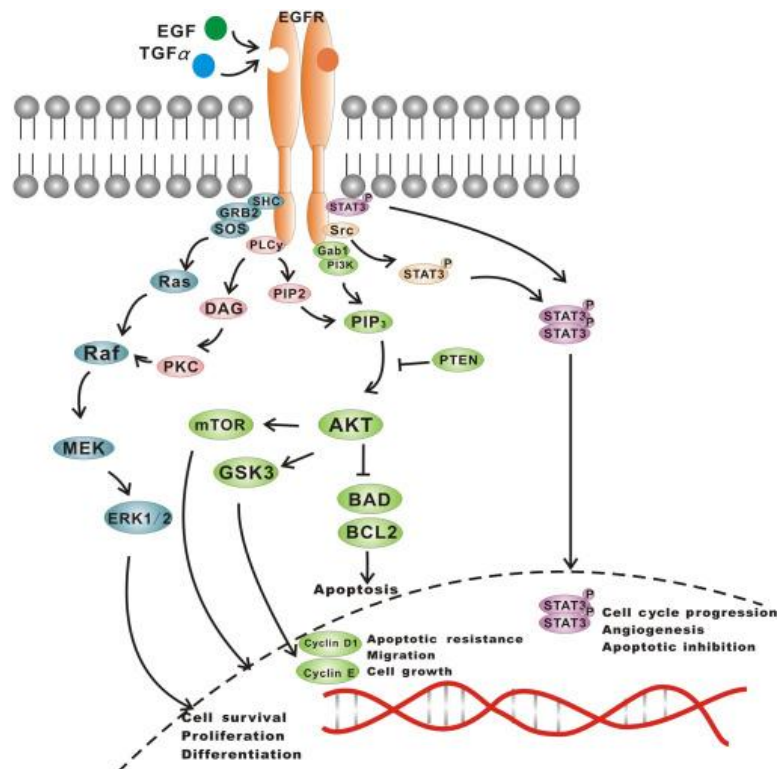


ภาพ 8. โครงสร้างของ thrombospondin (Adams & Lawler, 2011)

EGF receptor เป็นตัวรับ 1 ใน 4 ชนิดที่อยู่ใน ErbB family โดยใน ErbB family ประกอบด้วย EGF receptor หรือ ErbB1/HER1, ErbB2/Neu/HER2, ErbB3/HER3 และ ErbB4/HER4 ซึ่ง ErbB เป็นโปรตีนตัวรับประเภทของที่ 1 (subclass I) ของตัวรับประเภทไทโรซีนไคเนส (tyrosine kinases receptor) (Olayioye, Neve, Lane, & Hynes, 2000) โครงสร้างของตัวรับใน ErbB family ประกอบด้วย extracellular ligand-binding domain, a single membrane-spanning region และ a cytoplasmic protein tyrosine kinase domain โดยการทำงานของตัวรับใน ErbB family จะเกิดขึ้นก็ต่อเมื่อมีลิแกนด์มาจับบริเวณ extracellular domain หลังจากนั้นจะเกิดกระบวนการเข้าคู่กัน (dimerization) ของตัวรับ กระตุ้นให้เกิดกระบวนการออโตฟอสโฟรีเลชัน (autophosphorylation) ที่บริเวณ cytoplasmic domain ส่งผลให้เกิดเป็น docking sites ส่งผลให้โมเลกุลเป้าหมายที่เกี่ยวข้องเกิดการ ทำงานและกระตุ้นโมเลกุลเป้าหมายในลำดับต่อไป (วีรพล และ เบญจพร, 2552; Olayioye et al., 2000)

ลิแกนด์ที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อ EGF receptor ประกอบด้วย EGF, transforming growth factor α และ amphiregulin และนอกจากนี้ยังพบว่าโปรตีนที่มีลำดับของกรดอะมิโนที่เหมือนกับ EGF (EGF-like sequences) จะมีความสามารถในการกระตุ้นการทำงานของตัวรับใน ErbB family ได้เช่นเดียวกัน ซึ่งจากการศึกษาของลิวและคณะ (Liu et al., 2009) พบว่า ทรอมโบสพอนดินซึ่งเป็นโปรตีนที่มี EGF-like domain อยู่ในโครงสร้างสามารถกระตุ้นการทำงานของตัวรับอีพิเดอรัลโกรทแฟกเตอร์ได้ โดยทรอมโบสพอนดินจะไปกระตุ้นให้ EGF receptor เกิดกระบวนการฟอสโฟรีเลชัน (phosphorylation) ที่เพิ่มขึ้น จึงส่งผลให้โมเลกุลเป้าหมายที่เกี่ยวข้องทำงานมากขึ้น (Liu et al., 2009) โดยผลที่เกิดจากการกระตุ้นการทำงานของ EGF receptor ที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผลสามารถแบ่งออกเป็น 3 วิธี (pathway) คือ 1) วิธี RAS/RAF/MEK เกี่ยวข้องกับการมีชีวิตอยู่ของเซลล์ (cell survival) การงอกขยายของเซลล์ (proliferation) และการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะของเซลล์ (differentiation) 2) วิธี PI3K/AKT เกี่ยวข้องกับการต้านทานการตายของเซลล์ (apoptotic resistance) การเคลื่อนที่ของเซลล์ (migration) และการเจริญเติบโตของเซลล์ (cell growth) และ 3) วิธี STAT เกี่ยวข้องกับการดำเนิน

ไปของวัฏจักรของเซลล์ (cell cycle progression) การสร้างหลอดเลือด (angiogenesis) และการยับยั้งการตายของเซลล์ (apoptotic inhibition) (Huang & Fu, 2015) (ภาพ 9) ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการหายของแผลในระยะที่ 3 และระยะที่ 4



ภาพ 9. วิถีสัญญาณของEGF receptor (Huang & Fu, 2015)

จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นได้ว่าโปรตีนทั้ง 2 ชนิด คือฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีน และทรอมโบสปอนดิน ต่างก็มีความสำคัญต่อกระบวนการหายของแผลในหลายกระบวนการ โดยโปรตีนดังกล่าวมีความสามารถในการส่งเสริมการหายของแผลด้วยกลไกที่แตกต่างกัน จึงมีความเป็นไปได้อย่างยิ่งว่า การเติมโปรตีนทั้ง 2 ชนิดลงในไฮโดรเจลซึ่งมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการหายของแผลที่ดีอยู่แล้วจะยิ่งเป็นการช่วยส่งเสริมให้กระบวนการหายของแผลเกิดได้ดียิ่งขึ้นและมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

สรุปการทบทวนวรรณคดีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการทบทวนวรรณคดีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง สามารถสรุปได้ว่าแผลคือการที่ผิวหนังถูกทำลายซึ่งสามารถเกิดได้จากหลายสาเหตุ สามารถแบ่งออกเป็นชนิดต่าง ๆ ได้ตามกลไกการหายตามธรรมชาติหรือแบ่งตามชั้นผิวหนังที่ถูกทำลายซึ่งบาดแผลชนิดต่างชนิดกันจะมีกระบวนการหายของแผลที่แตกต่างกัน โดยกระบวนการหายของแผลประกอบด้วย 4 กระบวนการ คือ กระบวนการห้ามเลือด กระบวนการอักเสบ กระบวนการงอกขยาย และกระบวนการปรับโครงสร้างเนื้อเยื่อ ซึ่งหากกระบวนการหายของแผลไม่เป็นไปตามปกติจะส่งผลให้เกิดเป็นแผลเรื้อรังได้ วิธีการหนึ่งที่สามารถช่วยส่งเสริมให้กระบวนการหายของแผลสามารถเกิดได้ดีขึ้นคือ การเลือกใช้วัสดุทำแผลที่มีความสามารถในการกระตุ้นกระบวนการหายของแผล ซึ่งในปัจจุบันมีวัสดุที่ใช้ในการทำแผลมากมาย ไฮโดรเจลจัดเป็นวัสดุทำแผลสมัยใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการรักษาแผลที่ดีและสิ่งที่น่าสนใจคือมีความเป็นไปได้ว่า หากมีการเติมโปรตีนที่มีผลต่อการส่งเสริมการหายของแผลลงในไฮโดรเจลจะยังเป็นการส่งเสริมให้ประสิทธิภาพในการรักษาแผลของไฮโดรเจลเกิดขึ้นได้ดียิ่งขึ้น ดังนั้นผู้วิจัยคาดว่า การนำเอาไฮโดรเจลที่มีการเติมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสبونติน ซึ่งโปรตีนทั้ง 2 ชนิดเป็นโปรตีนที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการหายแผล จะสามารถช่วยส่งเสริมให้กระบวนการหายของแผลสามารถเกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์

- 1) เพื่อประเมินการระคายเคืองของไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสبونตินโดยการประเมินการระคายเคืองต่อผิวหนังในหนูทดลอง
- 2) เพื่อประเมินประสิทธิภาพการรักษาแผลของไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสبونตินโดยใช้ไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสبونตินรักษาบาดแผลในหนูทดลอง

บทที่ 2

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาทดลอง (experimental research) เพื่อประเมินการระคายเคืองและประสิทธิภาพการรักษาแผลของไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสโปนติน ซึ่งมีรายละเอียดวิธีการดำเนินการศึกษาดังนี้

วิธีดำเนินการวิจัย

ไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสโปนติน

ไฮโดรเจลที่นำมาใช้ในการศึกษาในครั้งนี้คือไฮโดรเจลของพีวีเอและพอลอกซาเมอร์ ซึ่งเตรียมสูตรตำรับโดย สถาบันวิจัยความเป็นเลิศระบบนำส่งยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยไฮโดรเจลดังกล่าวประกอบด้วยสาร 4 ชนิดคือ

- 1) พอลอกซาเมอร์ (poloxamer) เกรด 407 ปริมาณร้อยละ 13.5 โดยน้ำหนักของผลิตภัณฑ์
- 2) พีวีเอ (polyvinyl alcohol; PVA) ปริมาณร้อยละ 2 โดยน้ำหนักของผลิตภัณฑ์
- 3) กลีเซอรอล (glycerol) ปริมาณร้อยละ ปริมาณร้อยละ 2 โดยน้ำหนักของผลิตภัณฑ์
- 4) โพรเพนไดออล (propanediol) ปริมาณร้อยละ 2 โดยน้ำหนักของผลิตภัณฑ์
- 5) โซเดียมแอสคอร์เบต (sodium ascorbate) ปริมาณร้อยละ 1 โดยน้ำหนักของผลิตภัณฑ์
- 6) กรดไฮยาลูโรนิก (hyaluronic acid) ปริมาณร้อยละ 0.4 โดยน้ำหนักของผลิตภัณฑ์
- 7) สารกันเสีย ปริมาณร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักของผลิตภัณฑ์
- 8) น้ำบริสุทธิ์ ปริมาณร้อยละ 78.9 โดยน้ำหนักของผลิตภัณฑ์

หลังจากนั้นสถานวิจัยจีโนมและชีวสารสนเทศ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพโมเลกุลและชีวสารสนเทศ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ทำการเติมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสโปนตินลงในไฮโดรเจลของพีวีเอและพอลอกซาเมอร์ ได้เป็นไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสโปนตินทั้งหมด 6 สูตรตำรับ โดยในแต่ละสูตรตำรับจะมีการเติมโปรตีนดังกล่าวในชนิดและขนาดที่แตกต่างกัน ดังนี้

ตาราง 3

ความเข้มข้นของของฟอสฟอรัสไนโตรเจนและโพแทสเซียมในไฮโดรเจลของพีวีเอและพอลอกซาเมอร์ในแต่ละสูตรตำรับ

สูตรตำรับ	ความเข้มข้นของโปรตีนที่เติมในไฮโดรเจลของพีวีเอและพอลอกซาเมอร์ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	
	ฟอสฟอรัสไนโตรเจน	โพแทสเซียม
1. ไฮโดรเจลผสมฟอสฟอรัสไนโตรเจนและโพแทสเซียมโปรตีนขนาดต่ำ	1	-
2. ไฮโดรเจลผสมฟอสฟอรัสไนโตรเจนและโพแทสเซียมโปรตีนขนาดสูง	10	-
3. ไฮโดรเจลผสมโพแทสเซียมขนาดต่ำ	-	1
4. ไฮโดรเจลผสมโพแทสเซียมขนาดสูง	-	10
5. ไฮโดรเจลผสมฟอสฟอรัสไนโตรเจนและโพแทสเซียมโปรตีนและโพแทสเซียมขนาดต่ำ	0.5	1
6. ไฮโดรเจลผสมฟอสฟอรัสไนโตรเจนและโพแทสเซียมโปรตีนและโพแทสเซียมขนาดสูง	5	10

ในการศึกษาครั้งนี้จึงมีสารทั้งสองทั้งหมด 7 ชนิด ได้แก่

- 1) ไฮโดรเจลของพีวีเอและพอลอกซาเมอร์
- 2) ไฮโดรเจลผสมฟอสฟอรัสไนโตรเจนและโพแทสเซียมโปรตีนขนาดต่ำ
- 3) ไฮโดรเจลผสมฟอสฟอรัสไนโตรเจนและโพแทสเซียมโปรตีนขนาดสูง
- 4) ไฮโดรเจลผสมโพแทสเซียมขนาดต่ำ
- 5) ไฮโดรเจลผสมโพแทสเซียมขนาดสูง
- 6) ไฮโดรเจลผสมฟอสฟอรัสไนโตรเจนและโพแทสเซียมโปรตีนและโพแทสเซียมขนาดต่ำ
- 7) ไฮโดรเจลผสมฟอสฟอรัสไนโตรเจนและโพแทสเซียมโปรตีนและโพแทสเซียมขนาดสูง

ซึ่งจะทำการศึกษาเกี่ยวกับการระคายเคืองและประสิทธิภาพการรักษาแผลของสารทดสอบดังกล่าว โดยมีรายละเอียด ดังนี้

การศึกษาการระคายเคืองของไฮโดรเจลผสมพอลิไฮโดรอกซีแอคติเวติงโพรตีนและ ทรมอบอสปอนติน

1. หนูทดลอง

ทีมผู้วิจัยได้ดำเนินการส่งโครงการศึกษาเพื่อขอรับรองจากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ของสถาบันมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ (ภาคผนวก ก) ก่อนทำการทดลอง หลังผ่านการพิจารณาเห็นชอบแล้ว จึงทำการสั่งซื้อหนูทดลองคือหนูแรทสายพันธุ์ Sprague Dawley เพศผู้ ขนาดตัวเต็มวัยน้ำหนัก 200-300 กรัม อายุประมาณ 8-11 สัปดาห์ จำนวน 30 ตัว จากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตศาลายา หลังจากนั้นทำการพักหนูทดลองและทดลองในห้องปฏิบัติการสถาบันสัตว์ทดลองภาคใต้ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยพักหนูทดลองก่อนการทดลองเป็นเวลา 7 วัน เพื่อให้สัตว์ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อม สภาวะการเลี้ยงเป็นไปตามมาตรฐานของศูนย์สัตว์ทดลอง ที่อุณหภูมิ 23 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 55-60% เปิดและปิดแสงสว่างทุก ๆ 12 ชั่วโมง ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูป และให้น้ำตลอดเวลา

2. วิธีการศึกษาการระคายเคืองของไฮโดรเจลผสมพอลิไฮโดรอกซีแอคติเวติงโพรตีนและ ทรมอบอสปอนติน

การศึกษาการระคายเคืองของไฮโดรเจลผสมพอลิไฮโดรอกซีแอคติเวติงโพรตีนและทรมอบอสปอนติน ได้ทำการศึกษาโดยแบ่งหนูทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 15 ตัว หลังจากนั้นสลบหนูทดลองด้วย pentobarbital sodium salt (Nembutal[®]; Ceva Santé Animal, Libourne, France) ขนาด 40 mg/kg โดยฉีดเข้าทางช่องท้อง รอจนสัตว์สลบโดยการทดสอบ righting reflex (การจับหนูนอนหงาย หากหนูสามารถพลิกตัวกลับได้แสดงว่ายังไม่สลบ) (ณัฐพล, 2555) เมื่อสัตว์สลบแล้ว ทำการโกนขนบริเวณหลังของหนูทดลองด้วยเครื่องโกนขนไฟฟ้าโดยระวังไม่ให้สัมผัสผิวหนังของหนูทดลอง และทำความสะอาดด้วยนอ้มัลเซลิ้นและ 70% แอลกอฮอล์ หลังจากนั้นใช้กรรไกรผ่าตัดค่อย ๆ ตัดให้เกิดแผลบนแผ่นหลังของหนูทดลองจำนวน 4 แผล ด้านซ้ายและขวาแต่ละ 2 แผล บริเวณใต้สะบักของขาหน้าลงมาประมาณ 2 เซนติเมตร ขนาดแผลยาว 0.8 เซนติเมตร กว้าง 0.8 เซนติเมตร ความลึกอยู่ในระดับแผลลึก (2-3 มิลลิเมตร) ล้างแผลด้วยนอ้มัลเซลิ้นและทำการรักษาแผลด้วยสารทดสอบ ดังนี้

กลุ่มที่ 1

แผลที่ 1 รักษาโดยการทาไฮโดรเจลของพีวีเอและพอลอกซาเมอร์

แผลที่ 2 รักษาแผลโดยการทาไฮโดรเจลผสมพลาโกลิไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนในขนาดต่ำ

แผลที่ 3 รักษาแผลโดยการทาไฮโดรเจลผสมพลาโกลิไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนในขนาดสูง

แผลที่ 4 รักษาแผลโดยการทาไฮโดรเจลผสมพลาโกลิไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและ

ทรอมโบสبونดินความเข้มข้นต่ำ

กลุ่มที่ 2

แผลที่ 1 รักษาโดยการทาไฮโดรเจลของพีวีเอและพอลอกซาเมอร์

แผลที่ 2 รักษาแผลโดยการทาไฮโดรเจลผสมทรอมโบสبونดินในขนาดต่ำ

แผลที่ 3 รักษาแผลโดยการทาไฮโดรเจลผสมทรอมโบสبونดินในขนาดสูง

แผลที่ 4 รักษาแผลโดยการทาไฮโดรเจลผสมพลาโกลิไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและ

ทรอมโบสبونดินความเข้มข้นสูง

ปิดแผลด้วยพลาสติกใสปิดแผลชนิดกั้นน้ำ (transparent film dressing; Opsite[®] Flixigril, Smith-Nephew, USA) ปิดทับด้วยก๊อช และยึดด้วยทรานสปอร์ (Transpore[®], 3M, USA) ทั้ง 2 กลุ่ม และจัดให้หนูทดลองอยู่ในกรง กรงละ 2 ตัว

สำหรับวิธีการดูแลแผลตลอดการศึกษา ผู้วิจัยได้ทำความสะอาดแผลด้วยนมอัลเซลินทาสาารถสอดบดที่กล่าวข้างต้น และปิดแผลใหม่วันเว้นวัน ให้ carprofen 10% เพื่อบรรเทาปวดแก่หนูทดลองในระยะเวลา 5 วันแรกของการศึกษา บริหารยาโดยการฉีดเข้าชั้นใต้ผิวหนัง ในขนาด 5 mg/kg และไม่ใช้สารต้านจุลชีพตลอดการศึกษา

3. การประเมินการระคายเคืองของไฮโดรเจลผสมพลาโกลิไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีน และทรอมโบสبونดิน

การประเมินการระคายเคืองของไฮโดรเจลผสมพลาโกลิไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสبونดิน ทำการประเมินด้วยวิธีการทางมิถุวิทยา (Histology) ซึ่งเป็นการศึกษาเกี่ยวกับจุลกายวิภาคศาสตร์ของเซลล์และเนื้อเยื่อของสัตว์ โดยการใช้เครื่องมือตัดชิ้นเนื้อให้บางแล้วนำไปผ่านขั้นตอนต่าง ๆ จากนั้นนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อประเมินถึงลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของชิ้นเนื้อบริเวณแผล โดยมีรายละเอียดการศึกษา ดังนี้

1) เก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อ ชิ้นเนื้อที่นำมาศึกษาได้มาจากการเก็บผิวหนังของหนูทดลองจำนวน 5 ตัว ในวันที่ 0 (ใช้ชิ้นเนื้อที่ตัดออกจากการสร้างแผล), 10, 14 และ 21 โดยก่อนการเก็บชิ้นเนื้อจะต้องทำการสลบหนูทดลองด้วย pentobarbital sodium (Nembutal[®]; Ceva Santé Animal,

Libourne, France) ขนาด 40 mg/kg โดยการฉีดเข้าทางช่องท้อง (intraperitoneal injection) เมื่อหนูทดลองสลบจึงทำการเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อบริเวณแผลเป็นลักษณะสี่เหลี่ยมล้างด้วยนมอัลเซลิน

2) แช่น้ำยารักษาสภาพชิ้นเนื้อ (fixation) ทำการแช่ชิ้นเนื้อใน 10% vol neutral buffered formalin ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อรักษาสภาพชิ้นเนื้อ

3) เตรียมชิ้นเนื้อด้วยน้ำยาเคมี (tissue processing) ประกอบด้วยขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

3.1) ดึงน้ำออกจากเซลล์ (dehydration) โดยการแช่ชิ้นเนื้อในเอทานอลที่มีความเข้มข้นต่ำเรียงไปหาความเข้มข้นสูง ได้แก่ เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 70, 95 2 ครั้ง และความเข้มข้นร้อยละ 100 3 ครั้ง โดยใช้ระยะเวลาขั้นตอนละ 2 ชั่วโมง

3.2) แทนที่เอทานอลด้วยไซลีน (clearing) โดยการแช่ชิ้นเนื้อในไซลีน 2 ครั้ง ครั้งละ 2 ชั่วโมง เพื่อให้พาราพลาส (paraplast) สามารถแทรกซึมเข้าชิ้นเนื้อได้ดียิ่งขึ้น

3.3) แทนที่ไซลีนด้วยพาราพลาส (infiltration) โดยการแช่ชิ้นเนื้อในพาราพลาสเหลวที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพโครงสร้างของเซลล์

3.4) ฝังบล็อกชิ้นเนื้อ (embedding) โดยเติมพาราพลาส ลงใน embedding mold วางชิ้นเนื้อลงไปประกบด้วย embedding ring และเติมพาราพลาสให้เต็ม วางบนแท่นเย็น เพื่อให้พาราพลาสแข็งตัว

4) ตัดบล็อกชิ้นเนื้อ (sectioning) หั่นชิ้นเนื้อให้ได้ขนาด 5 ไมโครเมตร ด้วยเครื่องมือไมโครทอม (microtome) นำชิ้นเนื้อที่ตัดได้ไปลอยในอ่างน้ำอุ่น (water bath) ตักชิ้นเนื้อด้วยกระจกสไลด์ วางทิ้งไว้ให้แห้ง

5) ย้อมสีชิ้นเนื้อ (staining) ประกอบด้วยขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

5.1) ล้างพาราฟินออกจากชิ้นเนื้อ (deparafinization) ด้วยไซลีน 2 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที

5.2) การทำให้น้ำเข้าสู่เซลล์ (rehydration) ล้างไซลีนออกจากชิ้นเนื้อโดยการใช้เอทานอลที่มีความเข้มข้นสูงเรียงไปหาความเข้มข้นต่ำ ได้แก่ เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 100 2 ครั้ง และ 95 2 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที เพื่อเป็นการเตรียมให้เซลล์มีความพร้อมในการรับสีย้อม เพราะสารละลายสีใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำประปาที่ไหลผ่านสไลด์ตลอดเวลา เป็นระยะเวลา 5 นาที

5.3) ย้อมสี (staining) ย้อมด้วยสี Harris's hematoxylin โดยการจุ่มสไลด์ชิ้นเนื้อลงในสีเป็นระยะเวลา 15 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำประปาที่ไหลผ่านสไลด์ตลอดเวลา เป็นระยะเวลา 5 นาที หลังจากนั้น ย้อมด้วยสี eosin โดยการจุ่มลงในสีเป็นระยะเวลา 5 นาที ตามด้วยการดึงน้ำออกจากเซลล์โดยการจุ่มสไลด์ลงในเอทานอลที่มีความเข้มข้นต่ำเรียงไปหาความเข้มข้น

สูง ได้แก่ เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 3 ครั้ง โดยการจุ่มสไลด์ขึ้นลง 30-50 ครั้ง หลังจากนั้นแช่สไลด์ในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 100 2 ครั้ง ครั้งละ 10 นาที

5.4) การทำให้สไลด์ใส (clearing) แช่สไลด์ในไซลีน 2 ครั้ง ครั้งละ 10 นาที เพื่อให้สไลด์มีความใส สามารถมองเห็นได้ชัดเจนมากขึ้น

6) การทำสไลด์ถาวร (mounting) โดยหยด Permount[®] แล้วปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ (cover slips) วางฝั่งไว้ให้แห้ง นำสไลด์ไปดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์

หลังจากที่ได้สไลด์ขึ้นเนื้อที่ย้อมสี Hematoxylin & Eosin แล้ว ทำการอ่านผลการระคายเคืองทางขึ้นเนื้อวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Olympus CH-2[®]; Olympus, San Diego, USA) โดยใช้กำลังขยาย 400X ตามวิธีการ ISO 10993-6: Biological evaluation of medical devices ซึ่งสามารถแบ่งการประเมินผลออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ (1) ประเมินลักษณะของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ ประกอบด้วย นิวโทรฟิล (neutrophil) ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) พลาสมาเซลล์ (plasma cell) แมคโครฟาจ เซลล์ขนาดใหญ่ และการมีเนื้อตาย และ (2) ประเมินการเปลี่ยนแปลงของขึ้นเนื้อ ประกอบด้วย การสร้างหลอดเลือดใหม่ ลักษณะของพังผืด และการแทรกซึมของไขมัน (การประเมินทางชีวภาพของเครื่องมือแพทย์, 2551) จำนวน 10 fields / ตัวอย่าง แบ่งระดับการให้คะแนนตามรายละเอียด ดังนี้

1) จำนวนนิวโทรฟิลมี 5 ระดับ

ไม่พบเลย	(0)
พบจำนวน <5 เซลล์/field	(1)
พบจำนวน 5-10 เซลล์/field	(2)
พบจำนวน >10 เซลล์/field	(3)
พบการแทรกซึมอย่างหนาแน่น	(4)

2) จำนวนลิมโฟไซต์ มี 5 ระดับ

ไม่พบเลย	(0)
พบจำนวน <5 เซลล์/field	(1)
พบจำนวน 5-10 เซลล์/field	(2)
พบจำนวน >10 เซลล์/field	(3)
พบการแทรกซึมอย่างหนาแน่น	(4)

- 3) จำนวนพลาสมาเซลล์ (plasma cell) มี 5 ระดับ
- ไม่พบเลย (0)
 - พบจำนวน <5 เซลล์/field (1)
 - พบจำนวน 5-10 เซลล์/field (2)
 - พบจำนวน >10 เซลล์/field (3)
 - พบการแทรกซึมอย่างหนาแน่น (4)
- 4) จำนวนแมคโครฟาจ (macrophage) มี 5 ระดับ
- ไม่พบเลย (0)
 - พบจำนวน <5 เซลล์/field (1)
 - พบจำนวน 5-10 เซลล์/field (2)
 - พบจำนวน >10 เซลล์/field (3)
 - พบการแทรกซึมอย่างหนาแน่น (4)
- 5) จำนวนเซลล์ขนาดใหญ่ (giant cell) มี 5 ระดับ
- ไม่พบเลย (0)
 - พบจำนวน <2 เซลล์/field (1)
 - พบจำนวน 3-5 เซลล์/field (2)
 - พบจำนวน >5 เซลล์/field (3)
 - พบจำนวนมารวมกันเป็นแผ่น (sheet) (4)
- 6) ลักษณะของเนื้อตายที่ปรากฏ มี 5 ระดับ
- ไม่มี (0)
 - มีเนื้อตายน้อยมาก (1)
 - มีเนื้อตายน้อย (2)
 - มีเนื้อตายปานกลาง (3)
 - มีเนื้อตายรุนแรง (4)
- 7) การสร้างหลอดเลือดใหม่ (neovascularization) มี 5 ระดับ
- ไม่มีการสร้างหลอดเลือดใหม่ (0)
 - พบ 1-3 หลอด/field (1)
 - พบ 4-7 หลอด/field (2)
 - พบหลอดเลือดใหม่เป็นวงกว้าง (3)
 - พบหลอดเลือดใหม่อย่างหนาแน่น (4)

8) ลักษณะของพังผืด มี 5 ระดับ

ไม่มีพังผืด	(0)
พบพังผืดบาง ๆ	(1)
พบพังผืดค่อนข้างหนา	(2)
พบพังผืดหนา	(3)
พบพังผืดหนามาก	(4)

9) การแทรกซึมของไขมัน (fatty infiltrate) มี 5 ระดับ

ไม่มีการแทรกซึมของไขมัน	(0)
มีการแทรกซึมของไขมันเล็กน้อย	(1)
มีการแทรกซึมของไขมันหลายชั้น	(2)
มีการแทรกซึมของไขมันเป็นบริเวณกว้าง	(3)
มีการแทรกซึมของไขมันเต็มพื้นที่	(4)

ผลรวมคะแนนจะถูกคำนวณตามสูตร ดังนี้ (Siritientong, Angspatt, Ratanavarapom, & Aramwit, 2014)

$$\text{Final score} = [2I_t + N_t] - [2I_c + N_c]$$

เมื่อ I คือ ผลรวมคะแนนของนิวโทรฟิลล์ ลิมโฟไซต์ พลาสมาเซลล์ แมคโครฟาจ เซลล์ขนาดใหญ่ และเนื้อตาย (โดย t คือกลุ่มทดลองและ c คือกลุ่มควบคุม)

N คือ ผลรวมคะแนนของหลอดเลือดใหม่ พังผืด และการแทรกซึมของไขมัน
ผลรวมคะแนนดังกล่าวจะถูกนำมาแปลผล ดังนี้ (การประเมินทางชีวภาพของ
เครื่องมือแพทย์, 2551; Siritientong et al., 2014)

0 - 2.9	คะแนน หมายถึงไม่มีการระคายเคือง
3 - 8.9	คะแนน หมายถึง ระคายเคืองเล็กน้อย
9 - 15	คะแนน หมายถึง ระคายเคืองปานกลาง
> 15	คะแนน หมายถึง ระคายเคืองรุนแรง

การศึกษาประสิทธิภาพการรักษาแผลของไฮโดรเจลผสมพลาไกโซโตซิส แอคติเวติงโปรตีนและทรอมโบสโปนติน

การศึกษาประสิทธิภาพการรักษาแผลของไฮโดรเจลผสมพลาไกโซโตซิสแอคติเวติงโปรตีนและทรอมโบสโปนติน ใช้หนูทดลองกลุ่มเดียวกันกับการศึกษาการระคายเคืองของไฮโดรเจลผสมพลาไกโซโตซิสแอคติเวติงโปรตีนและทรอมโบสโปนติน แต่จะมีรายละเอียดในการประเมินที่แตกต่างกัน ดังนี้

1. การประเมินการหดตัวของแผล

กระบวนการหดตัวของแผลเป็นการทำหน้าที่ของไฟโบรบลาสต์ ในการเป็นตัวดึงขอบแผลเข้าหากันโดยไฟโบรบลาสต์จะเคลื่อนที่ไปยังขอบแผล และเปลี่ยนเป็น ไมโอไฟโบรบลาสต์ซึ่งจะมีพลังในการดึงขอบแผลเข้าหากัน (Schwartz et al., 1998) การหดตัวของแผลเป็นกระบวนการที่จำเป็นอย่างยิ่งต่อการหายของแผลเปิดหรือแผลที่มีขนาดใหญ่ (Franz, 2010) ดังนั้นการมีการหดตัวของบาดแผลที่ดีย่อมแสดงว่ามีกระบวนการหายของแผลที่ดีและมีประสิทธิภาพ

โดยในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการประเมินการหดตัวของแผลโดยการถ่ายภาพขนาดแผลเทียบกับไม้บรรทัดในทุกรอบของการทำแผล และนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาร้อยละของขนาดแผลที่ลดลงเมื่อเทียบกับวันที่ 1 ด้วยโปรแกรม ImageJ โดยการใช้เมาส์ลากเส้นตรงให้ได้ความยาวเท่ากับ 10 มิลลิเมตรของไม้บรรทัดในภาพถ่าย หลังจากนั้น set scale ในโปรแกรมให้เท่ากับ 10 มิลลิเมตรเช่นเดียวกัน วัดขนาดของแผลโดยใช้เมาส์ลากเส้นตรงจากตรงกลางขอบแผลด้านหนึ่งไปยังตรงกลางของขอบแผลด้านตรงข้าม ทั้งแนวตั้งและแนวนอน นำค่าที่ได้มาคูณกันเพื่อคำนวณหาขนาดของแผล และคำนวณหาร้อยละของขนาดแผลที่ลดลงเมื่อเทียบกับวันที่ 1 ด้วยสูตร ดังนี้

$$\text{ร้อยละของขนาดแผลที่ลดลงเมื่อเทียบกับวันที่ 1} = \frac{\text{ขนาดแผลในวันที่ทำแผล} \times 100}{\text{ขนาดแผลในวันที่ 1}}$$

2. การประเมินลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของชิ้นเนื้อบริเวณแผลด้วยวิธีการทางมิถุนวิทยา

การประเมินลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของชิ้นเนื้อบริเวณแผลเกี่ยวกับการหายของแผล ใช้ชิ้นเนื้อเดียวกันกับที่ใช้ในการประเมินการระคายเคืองของไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิส แอคติเวติงโปรตีนและทอรัมโบสปอนดิน แต่ในการประเมินประสิทธิภาพการรักษาแผลของไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทอรัมโบสปอนดิน ดูรายละเอียดเกี่ยวกับการหายของแผลภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Olympus IX73[®]; Olympus, San Diego, USA) โดยใช้กำลังขยาย 400X โดยแบ่งระดับการให้คะแนนตามวิธีที่ดัดแปลงจากตาคอสตา รีแกน อัลซาเดอร์ ลีดเดอร์ และบูเชอร์ (DaCosta, Regan, al Sader, Leader, & Bouchier, 1998) ซึ่งมีรายละเอียดการให้คะแนน ดังนี้

- 1) การเชื่อมกันของ epithelial cell (Ep) มี 4 ระดับ

เซลล์ไม่เชื่อมติดกัน	(0)
เซลล์ติดกันบางส่วน	(+1)
เซลล์ติดกันแต่ความหนาผิดปกติ	(+2)
เซลล์ติดกันแต่ความหนาปกติ	(+3)
- 2) ปริมาณเซลล์ไฟโบรบลาส (Fb) และไฟโบรไซท์ (Fc) มี 4 ระดับ

มีในระดับปกติ 1-19 เซลล์/field	(+1)
มีระดับใกล้เคียงปกติ 20-39 เซลล์/field	(+2)
มีระดับปานกลาง 40-60 เซลล์/field	(+3)
มีมากกว่า 60 เซลล์/field	(+4)
- 3) การเรียงตัวของคอลลาเจนไฟเบอร์ (Cf) มี 3 ระดับ

ไฟเบอร์เรียงตัวกันหลวม ๆ	(+1)
เริ่มเรียงตัวเป็นมัด	(+2)
เรียงตัวเป็นมัด	(+3)
- 4) ปริมาณหลอดเลือดฝอย (Vc) มี 4 ระดับ

พบบางบริเวณ	(+1)
พบ 1-20 หลอด/field	(+2)
พบ 20-40 หลอด/field	(+3)
พบมากกว่า 40 หลอด/field	(+4)

3. การประเมินระดับดัชนีชี้วัดทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผล

ในกระบวนการหายของแผลมีสารต่าง ๆ ที่เข้ามาเกี่ยวข้องมากมาย ซึ่งสารแต่ละชนิดมีความสำคัญที่บ่งบอกถึงกระบวนการหายของแผลที่แตกต่างกัน ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการประเมิน TGF- β 1 เพื่อเป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผล เนื่องจากสามารถพบ TGF- β 1 ได้ในทุกระยะของการหายของแผล (ภาพ 5) และมีบทบาทเด่นที่สุดในการหายของแผลบริเวณผิวหนัง (Rolfe et al., 2007) ซึ่งเมื่อมีการบาดเจ็บเกิดขึ้น TGF- β 1 จะมีการเพิ่มปริมาณมากขึ้นจากการถูกสร้างและหลั่งออกมาจากเม็ดเลือดขาว แมคโครฟาจ ไฟโบรบลาสต์ และเคอราติโนไซต์ (Werner & Grose, 2003) ทำหน้าที่ยับยั้งการสร้างไนตริกออกไซด์จากแมคโครฟาจซึ่งเป็นการป้องกันไม่ให้เนื้อเยื่อปกติรอบ ๆ แผลถูกทำลาย ช่วยเพิ่มการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างโปรตีนเมทริกนอกเซลล์ซึ่งประกอบด้วย ไฟโบรเนคติน ไฟโบรเนคตินรีเซพเตอร์ คอลลาเจน และโปรตีเอสอินฮิบิเตอร์ (Goldberg, Han, Yan, Shaw, & Garner, 2007) และนอกจากนี้ TGF- β 1 ยังมีบทบาทสำคัญในการยับยั้งการถูกทำลายของคอลลาเจน โดยที่ TGF- β 1 ไปยับยั้ง MMP-1, MMP-3 และ MMP-9 และส่งเสริมให้มีการสังเคราะห์ TIMP จึงทำให้คอลลาเจนถูกทำลายได้น้อยลง แผลสามารถหดตัวและหายได้ดีมากยิ่งขึ้น

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการประเมินระดับ TGF- β 1 โดยการใช้เทคนิคอิมมูโนฮิสโตเคมี (immunohistochemistry) ซึ่งหลักการของเทคนิคนี้คือเป็นการใช้ปฏิกิริยาจำเพาะที่เกิดขึ้นระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี (antigen-antibody interactions) โดยอาศัยเอนไซม์และโครโมเจน (chromogen) ที่เหมาะสมมาทำปฏิกิริยาให้เกิดสีขึ้น ทำให้สามารถแยกชนิดของเซลล์และเนื้อเยื่อที่ต้องการศึกษาได้ (Puchadapirom, 2013) โดยในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้ mouse anti-TGF- β 1 (R&D Systems, USA, Cat# MAB240) เป็น primary antibody และใช้ anti-mouse HRP-DAB Cell & tissue staining kit (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) ซึ่งเป็นชุดย้อมเซลล์และเนื้อเยื่อที่อาศัยการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์คือฮอร์สราดิชเปอร์ออกซิเดส (horse radish peroxidase: HRP) กับโครโมเจนคือ 3, 3 ไดอะมีโนเบนซีนเตตระไฮโดรคลอไรด์ (3, 3 diaminobenzidine tetrahydrochloride: DAB) เกิดเป็นสีน้ำตาลเข้ม ซึ่งมีรายละเอียดการศึกษา ดังนี้

1) ตัดบล็อกชิ้นเนื้อ ซึ่งเป็นบล็อกชิ้นเนื้อเดียวกันกับที่ใช้ในการศึกษาการระคายเคืองของไฮโดรเจลผสมฟากโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสปอนติน หั่นชิ้นเนื้อให้ได้ขนาด 5 ไมโครเมตร ด้วยเครื่องมือโครโตม นำชิ้นเนื้อที่ตัดได้ไปลอยในอ่างน้ำอุ่น ตักชิ้นเนื้อด้วยกระจกสไลด์ที่เคลือบด้วย 3-aminopropyltriethoxysilane เพื่อป้องกันชิ้นเนื้อหลุด รอให้ section แห้งสนิท นำเข้าตู้อบอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสทิ้งไว้ 1 คืน

2) ล้างพาราฟินออกจากชิ้นเนื้อ ด้วยไซลีน 2 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที หลังจากนั้นทำให้น้ำเข้าสู่เซลล์ ด้วยเอทานอลโดยการใช้เอทานอลที่มีความเข้มข้นสูงเรียงไปหาความเข้มข้นต่ำ ได้แก่ เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 100 และ 95 ความเข้มข้นละ 2 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที และเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 และ 50 ความเข้มข้นละ 1 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น 5 นาที และ wash buffer 10 นาที ทำการล้อมชิ้นเนื้อด้วย hydrophobic barrier

3) ยับยั้งเอนไซม์ภายในชิ้นเนื้อ (blocking endogenous enzyme) โดยมีขั้นตอนดังนี้

3.1) หยด peroxidase blocking reagent 1-3 หยด ทิ้งไว้ 15 นาที ล้างด้วย wash buffer 5 นาที

3.2) หยด serum blocking reagent 1-3 หยด ทิ้งไว้ 15 นาที ซับ serum blocking reagent ออก

3.3) หยด avidin blocking reagent 1-3 หยด ทิ้งไว้ 15 นาที ล้างด้วย wash buffer เทและซับออก

3.4) หยด biotin blocking reagent 1-3 หยด ทิ้งไว้ 15 นาที ล้างด้วย wash buffer เทและซับออก

4) ป่มด้วย TGF- β 1 antibodies (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) ความเข้มข้น 25 μ g/mL 1 คืนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ล้างด้วย wash buffer 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที

5) หยด biotinylated secondary antibody 1-3 หยด ทิ้งไว้ 60 นาที ล้างด้วย wash buffer 3 ครั้ง โดยล้าง 5 นาที 2 ครั้งและ 10 นาที 1 ครั้ง

6) ตรวจสอบปฏิกิริยาจำเพาะที่เกิดขึ้นระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี (detection system) โดยการหยด HSS-HRP (high sensitivity streptavidine-HRP conjugate) 1-3 หยด ทิ้งไว้ 30 นาที ล้างออกด้วย wash buffer 3 ครั้ง ครั้งละ 2 นาที

7) หยด DAB chromogen solution 1-5 หยด ทิ้งไว้ 5 นาที ล้างออกด้วย wash buffer 3 ครั้ง ครั้งละ 10 นาที ตามด้วยการล้างด้วยน้ำกลั่นและเทออก

8) counterstain ด้วยสี hematoxylin 30 วินาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่น 5 นาที

9) ดึงน้ำออกจากเซลล์โดยการจุ่มสไลด์ลงในเอทานอลที่มีความเข้มข้นต่ำเรียงไปหาความเข้มข้นสูง ได้แก่ เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 5 นาที 1 ครั้ง เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และ 100 ความเข้มข้นละ 2 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที

10) การทำให้สไลด์ใส โดยแช่สไลด์ในไซลีน 2 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที เพื่อให้สไลด์มีความใส สามารถมองเห็นได้ชัดเจนมากขึ้น

6) การทำสไลด์ถาวร โดยหยด PermOUNT[®] แล้วปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ วางผึ่งไว้ให้แห้ง นำสไลด์ไปดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์

หลังจากที่ได้สไลด์ชิ้นเนื้อที่ย้อมด้วยวิธี Immunohistochemistry แล้ว ทำการอ่านผลระดับ TGF-β1 โดยการถ่ายภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Olympus DP73[®]; Olympus, San Diego, USA) โดยใช้กำลังขยาย 60X เก็บภาพดังกล่าวในรูปแบบไฟล์ jpeg หลังจากนั้นเปิดภาพดังกล่าวโดยใช้โปรแกรม Microsoft Office PowerPoint 2007 จะได้ภาพที่มีขนาด 25.4 x 19.05 เซนติเมตร ทำการแทรกตาราง 5x5 ลงบนภาพจะได้ช่องสี่เหลี่ยมขนาดเท่ากันทั้งหมด 25 ช่อง ทำการสุ่มเลือกมา 5 ช่องเพื่อทำการนับจำนวนเซลล์ที่สนใจ (Prematilleke, Mohan, Roberts, Protheroe, & Gatter, 2011) ซึ่งในการศึกษารุ่นนี้เซลล์ที่สนใจคือเซลล์ที่มีการแสดงออกของโปรตีน TGF-β1 ซึ่งจะย้อมติดสีน้ำตาล (positive cell) และนำผลดังกล่าวมาคำนวณหา % positive cell ด้วยสูตร ดังนี้ (Corley, Olivier, & Meyerholz, 2013)

$$\% \text{ positive cell} = \frac{\text{positive cell (cell)}}{\text{(normal cell (cell) + positive cell (cell))}} \times 100$$

เมื่อ positive cell คือ เซลล์ที่ย้อมติดสีน้ำตาล

normal cell คือ เซลล์ที่ย้อมติดสี hematoxylin

การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษารุ่นนี้แสดงเป็นฐานนิยม (mode) มัธยฐาน (median) หรือค่าเฉลี่ย (mean) \pm ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (standard error of the mean, S.E.M) และใช้โปรแกรม Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL), version 16.0 ในการวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติ โดยเริ่มจากการวิเคราะห์การกระจายตัวของข้อมูล (distribution) หากพบว่า

1. ข้อมูลมีการกระจายตัวแบบปกติ (normal distribution) จะทำการดำเนินการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองโดยใช้สถิติ One-way ANOVA หากพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจึงดำเนินการจับคู่เปรียบเทียบภายในกลุ่มนั้น โดยหากค่าความแปรปรวนภายในกลุ่มเท่ากันจะดำเนินการจับคู่เปรียบเทียบโดยใช้สถิติ Tukey และหากค่าความแปรปรวนภายในกลุ่มแตกต่างกันจะดำเนินการจับคู่เปรียบเทียบโดยใช้สถิติ Dunnett's T3 test โดยพิจารณาค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

2. ข้อมูลมีการกระจายตัวแบบไม่ปกติ (non-normal distribution) จะทำการดำเนินการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองโดยใช้สถิติ Kruskal Wallis หากพบว่ามี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจึงดำเนินการจับคู่เปรียบเทียบโดยใช้ Mann-Whitney test โดยพิจารณาค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

วัสดุ อุปกรณ์

1. กระบอกฉีดยา เข็มฉีดยา
2. เครื่องโกลนชน
3. ชุดเครื่องมือผ่าตัด
4. พลาสเตอร์ใสปิดแผลชนิดกั้นน้ำ (transparent film dressing; Opsite[®] Flixigrid, Smith-Nephew, USA)
5. ก๊อช
6. ทรานสปอร์ (Transpore[®], 3M, USA)
7. ขวดเก็บชิ้นเนื้อ
8. embedding mould
9. embedding ring
10. เครื่องไมโครทอม
11. กระจกสไลด์ รีมฟ้า
12. กระจกปิดสไลด์
13. กล้องจุลทรรศน์ Olympus รุ่น CH-2
14. กล้องจุลทรรศน์ Olympus รุ่น IX73
15. กล้องจุลทรรศน์ Olympus รุ่น DP73

สารเคมี

1. ไฮโดรเจลของพีวีเอและพอลอกซาเมอ์
2. ไฮโดรเจลผสมพลาไกโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำ (1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
3. ไฮโดรเจลผสมพลาไกโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดสูง (10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
4. ไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินขนาดต่ำ (1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
5. ไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินขนาดสูง (10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

6. ไฮโดรเจลผสมฟาสโฟไลโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสปอนดินขนาดต่ำ (0.5 ไมโครกรัมของฟาสโฟไลโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและ 1 ไมโครกรัมของทรอมโบสปอนดิน/มิลลิลิตร)

7. ไฮโดรเจลผสมฟาสโฟไลโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสปอนดินขนาดสูง (5 ไมโครกรัมของฟาสโฟไลโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและ 10 ไมโครกรัมของทรอมโบสปอนดิน/มิลลิลิตร)

8. pentobarbital sodium salt (Nembutal[®]; Ceva Santé Animal, Libourne, France)

9. คาร์โพนเฟน 10% (carprofen 10%; Rimadyle[®], Pfizer, USA)

10. povidone-iodine 0.9%

11. นอมัลเซลิน

12. 10 vol% neutral buffered formalin

13. เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50

14. เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70

15. เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95

16. เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 100

17. ไซลีน

18. พาราฟลาส

19. สี Harris's hematoxylin

20. สี eosin

21. สารละลาย Permout[®]

22. mouse anti-TGF- β 1 (R&D Systems, USA, Cat# MAB240)

23. anti-Mouse HRP-DAB Cell & Tissue Staining Kit (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)

บทที่ 3

ผลการศึกษา

การศึกษาค้างนี้เป็นการศึกษาแบบทดลอง (experimental research) เพื่อประเมินการระคายเคืองและประสิทธิภาพการรักษาแผลของไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสพอนดิน โดยทำการศึกษาในหนูทดลองคือหนูแรทสายพันธุ์ Sprague Dawley โดยการทำให้หนูทดลองเกิดแผลบริเวณหลังและทำการรักษาด้วยสารทดสอบทั้งหมด 7 สูตรตำรับ หลังจากนั้นทำการประเมินการระคายเคืองและประสิทธิภาพการรักษาแผลของสารทดสอบข้างต้น

โดยในการประเมินการระคายเคืองได้ทำการประเมินถึงลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของชั้นเนื้อบริเวณแผลเกี่ยวกับการระคายเคืองทางชั้นเนื้อวิทยา และในการประเมินประสิทธิภาพการรักษาแผลได้ทำการประเมินถึงการหดตัวของแผล ประเมินลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของชั้นเนื้อบริเวณแผล และประเมินระดับดัชนีชี้วัดทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผลโดยมีรายละเอียดดังนี้

ผลการศึกษาการระคายเคืองของไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสพอนดิน

ผลการศึกษาการระคายเคืองของไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสพอนดิน ซึ่งได้ทำการประเมินผลโดยการอ่านผลการระคายเคืองทางชั้นเนื้อวิทยาตามวิธีการ ISO 10993-6: Biological evaluation of medical devices พบว่า หนูทดลองที่ได้รับการรักษาแผลด้วยไฮโดรเจลทั้ง 7 สูตรตำรับ มีสุขภาพดีไม่พบอาการของการอักเสบ และผลการประเมินชั้นเนื้อบริเวณแผลของหนูทดลองที่ย้อมสี Hematoxylin & Eosin พบว่า ปริมาณเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ (นิวโทรฟิลล์ ลิมโฟไซต์ พลาสมาเซลล์ แมคโครฟาจ เซลล์ขนาดใหญ่ และเนื้อตาย) และการเปลี่ยนแปลงของชั้นเนื้อ (การเกิดหลอดเลือดใหม่ การมีเนื้อเยื่อพังผืด และการแทรกของไขมัน) ในชั้นเนื้อปกติและชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลทั้ง 7 สูตรตำรับ ในวันที่ 10, 14 และ 21 มีคะแนนรวมไม่เกิน 2 คะแนน (ตาราง 4) และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < .001$)

ตาราง 4

ระดับคะแนนการระคายเคืองทางขึ้นเนื้อวิทยาของขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยสารทดสอบทั้ง 7 สูตรตำรับ (n=5)

day	treatment	ระดับคะแนน									คะแนนรวม
		นิวโทรฟิลล์	ลิมโฟไซต์	พลาสมาเซลล์	แมคโครฟาจ	เซลล์ขนาดใหญ่	เนื้อตาย	หลอดเลือดใหม่	พังผืด	ไขมัน	
0	control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	Gel base	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2
	PAP low dose	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2
	PAP high dose	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2
	PAP+TSP low dose	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	TSP low dose	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	TSP high dose	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2
	PAP+TSP high dose	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
14	Gel base	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	PAP low dose	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	PAP high dose	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	PAP+TSP low dose	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	TSP low dose	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	TSP high dose	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2
	PAP+TSP high dose	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
21	Gel base	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	PAP low dose	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	PAP high dose	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	PAP+TSP low dose	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	TSP low dose	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2
	TSP high dose	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2
	PAP+TSP high dose	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2

หมายเหตุ. control หมายถึง ผิวหนังปกติของหนูทดลอง (ชิ้นเนื้อที่ตัดออกจากการสร้างแผล)

Gel base หมายถึง แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลของพีวีเอและพอลอกซาเมอร์

PAP low dose หมายถึง แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิส แอคติเวติงโปรตีนขนาดต่ำ

PAP high dose หมายถึง แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิส แอคติเวติงโปรตีนขนาดสูง

PAP+TSP low dose หมายถึง แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิส แอคติเวติงโปรตีนและทรอมโบสปอนตินขนาดต่ำ

TSP low dose หมายถึง แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนติน ขนาดต่ำ

TSP high dose หมายถึง แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนติน ขนาดสูง

(PAP+TSP high dose) หมายถึง แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิส แอคติเวติงโปรตีนและทรอมโบสปอนตินขนาดสูง

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการรักษาแผลของไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอคติเวติงโปรตีนและทรอมโบสปอนติน

ในการประเมินประสิทธิภาพการรักษาแผลได้ทำการประเมิน 3 ลักษณะ ได้แก่ (1) การหดตัวของแผล (2) ลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของชิ้นเนื้อบริเวณแผล และ (3) ระดับดัชนีชี้วัดทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผล รายละเอียดของผลการศึกษา มีดังนี้

1. การหดตัวของแผล

ผลการหดตัวของแผลได้จากการวัดขนาดของแผลทั้งก่อนและหลังได้รับการรักษาด้วยสารทดสอบสูตรตำรับต่าง ๆ ซึ่งแผลที่มีพื้นที่น้อยหมายความว่าแผลดังกล่าวมีการหดตัวมาก ผลการศึกษาพบว่า แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอคติเวติงโปรตีนขนาดต่ำมีพื้นที่แผลน้อยที่สุดตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษา อีกทั้งในวันที่ 3 และวันที่ 6 แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลสูตรตำรับข้างต้นมีพื้นที่แผลเพียงร้อยละ 55.27 และ 29.04 ตามลำดับซึ่งน้อยกว่าแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลของพีวีเอและพอลอกซาเมอร์ที่มีพื้นที่แผลในวันที่ 3 และวันที่ 6 ถึงร้อยละ 68.37 และ 39.37 ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (แผนภูมิ 1)

เมื่อครบตามระยะเวลาการศึกษาคือ 21 วัน พบว่า ผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลของพีวีเอและพอลอกลูซามเมอร์ซึ่งจัดเป็นกลุ่มควบคุม มีพื้นที่แผลร้อยละ 4.28 และผลการประเมินพื้นที่แผลที่ได้รับการรักษาด้วยสารทดสอบสูตรตำรับต่าง ๆ สามารถแบ่งออกตามกลุ่มการทดลองได้ดังนี้

พื้นที่แผลในกลุ่มที่ 1

1) แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมพอลิไฮโดรอีทิลแอคทิลเวตติ้งโพรตีนขนาดต่ำ มีพื้นที่แผลร้อยละ 3.76

2) แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมพอลิไฮโดรอีทิลแอคทิลเวตติ้งโพรตีนขนาดสูง มีพื้นที่แผลร้อยละ 9.14

3) แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมพอลิไฮโดรอีทิลแอคทิลเวตติ้งโพรตีนและทรอมโบสبونดินขนาดต่ำมีพื้นที่แผลร้อยละ 4.29 (ภาพ 10, แผนภูมิ 1)

พื้นที่แผลในกลุ่มที่ 2

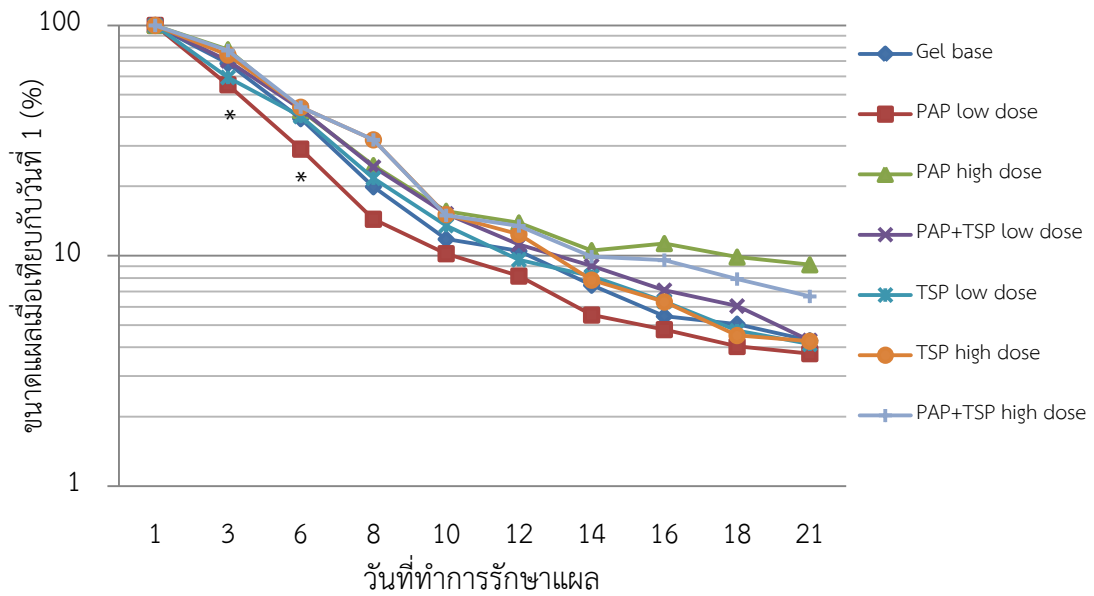
1) แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสبونดินในขนาดต่ำ มีพื้นที่แผลร้อยละ 4.13

2) แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสبونดินในขนาดสูง มีพื้นที่แผลร้อยละ 4.26

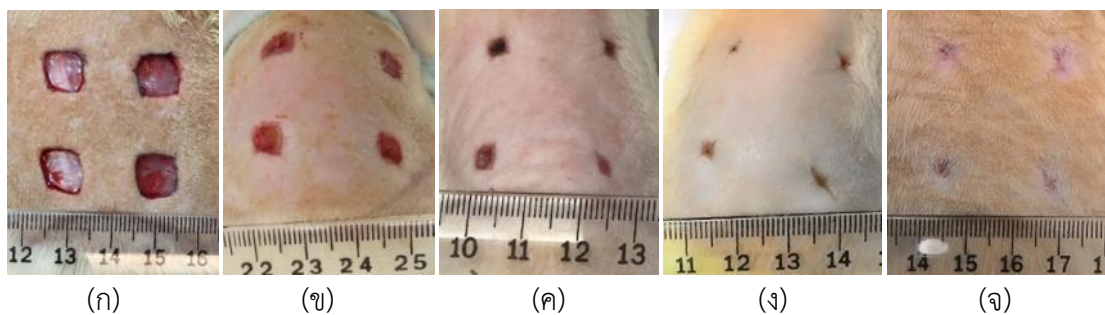
3) แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมพอลิไฮโดรอีทิลแอคทิลเวตติ้งโพรตีนและทรอมโบสبونดินขนาดสูง มีพื้นที่แผลร้อยละ 6.66 (ภาพ 11, แผนภูมิ 1)

แผนภูมิ 1

ค่ามัธยฐานของร้อยละของขนาดแผลที่ลดลงเมื่อเทียบกับวันที่ 1

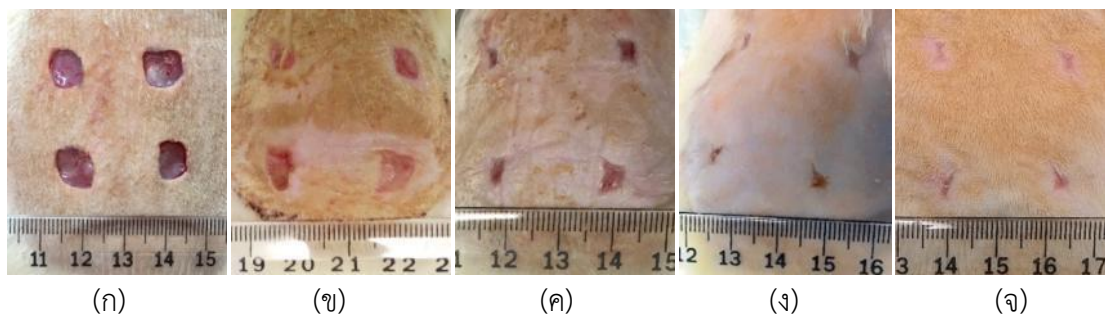


* = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม



ภาพ 10. ขนาดแผลในหนูทดลองกลุ่มที่ 1

(ก) วันที่ 1 (ข) วันที่ 6 (ค) วันที่ 10 (ง) วันที่ 14 (จ) วันที่ 21



ภาพ 11. ขนาดแผลในหนูทดลองกลุ่มที่ 2

(ก) วันที่ 1 (ข) วันที่ 6 (ค) วันที่ 10 (ง) วันที่ 14 (จ) วันที่ 21

2. ลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของชิ้นเนื้อบริเวณแผล

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการหายของแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมพลาไกโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสโปนติน ซึ่งได้ทำการประเมินรายละเอียดเกี่ยวกับการหายของแผลตามวิธีที่ดัดแปลงจากตาคอสตาและคณะ (DaCosta et al., 1998) พบว่า ในวันที่ 10 ชิ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมพลาไกโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำและชิ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสโปนตินขนาดต่ำมีคะแนนสูงที่สุด (9 คะแนน) ในวันที่ 14 ชิ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมพลาไกโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำ ชิ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสโปนตินขนาดต่ำ และชิ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสโปนตินขนาดสูงมีคะแนนสูงที่สุด (11 คะแนน) และในวันที่ 21 คะแนนในแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน (ตาราง 5)

ตาราง 5

ระดับคะแนนของลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของชิ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยสารทดสอบทั้ง 7 สูตรตำรับ (n=5)

day	treatment	ระดับคะแนน				คะแนนรวม
		Ep	Fb & Fc	Cf	Vc	
0	control	3	4	3	1	11
10	Gel base	1	4	1	2	8
	PAP low dose	2	4	1	2	9
	PAP high dose	1	4	1	2	8
	PAP+TSP low dose	1	4	1	2	8
	TSP low dose	2	4	1	2	9
	TSP high dose	1	4	1	2	8
	PAP+TSP high dose	1	4	1	1	7

ตาราง 5 (ต่อ)

day	treatment	ระดับคะแนน				คะแนนรวม
		Ep	Fb & Fc	Cf	Vc	
14	Gel base	2	4	1	2	9
	PAP low dose	3	4	2	2	11
	PAP high dose	2	4	2	2	10
	PAP+TSP low dose	1	4	1	1	7
	TSP low dose	3	4	2	2	11
	TSP high dose	3	4	2	2	11
	PAP+TSP high dose	2	4	2	2	10
21	Gel base	3	4	2	2	11
	PAP low dose	3	4	2	2	11
	PAP high dose	3	4	2	2	11
	PAP+TSP low dose	3	4	2	2	11
	TSP low dose	3	4	2	2	11
	TSP high dose	3	4	2	2	11
	PAP+TSP high dose	3	4	2	2	11

หมายเหตุ. Ep หมายถึง การเชื่อมกันของ epithelial cell

Fb & Fc หมายถึง ปริมาณเซลล์ไฟโบรบลาสต์และไฟโบรไซต์

Cf หมายถึง การเรียงตัวของคอลลาเจนไฟเบอร์

Vc หมายถึง ปริมาณหลอดเลือดฝอย

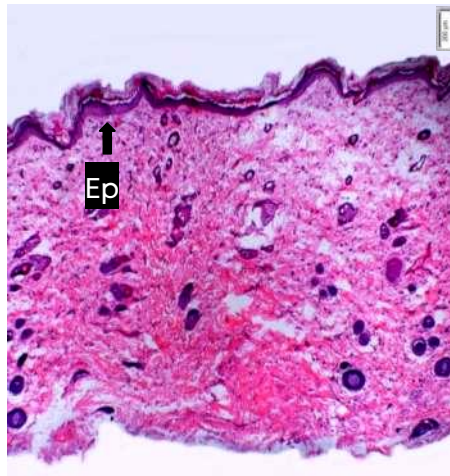
control หมายถึง ผิวหนังปกติของหนูทดลอง (ชิ้นเนื้อที่ตัดออกจากการสร้างแผล)

เมื่อพิจารณาถึงลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของชิ้นเนื้อบริเวณแผลพบว่า ลักษณะของชิ้นเนื้อบริเวณผิวหนังปกติของหนูทดลอง มีการเชื่อมกันของอิพิทีเลียลเซลล์ที่ติดกันและมีความหนาปกติ มีปริมาณของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และไฟโบรไซต์มากกว่า 60 เซลล์/field คอลลาเจนไฟเบอร์มีการเรียงตัวเป็นมัด และพบหลอดเลือดฝอยบางบริเวณ (ภาพ 12 (ก), (ข)) และเมื่อพิจารณาถึงลักษณะทางจุลกายวิภาคของชิ้นเนื้อ หลังได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลทั้ง 7 สูตรได้รับพบว่า ปริมาณเซลล์ไฟโบรบลาสต์และไฟโบรไซต์ การเรียงตัวของคอลลาเจนไฟเบอร์ และปริมาณหลอดเลือดฝอยของชิ้นเนื้อบริเวณแผลในแต่ละกลุ่มและในแต่ละวันมีลักษณะคล้ายคลึงกัน แต่ลักษณะที่สามารถสังเกตได้และค่อนข้างมีความแตกต่างคือลักษณะการเชื่อมกันของอิพิทีเลียลเซลล์ โดยพบว่า

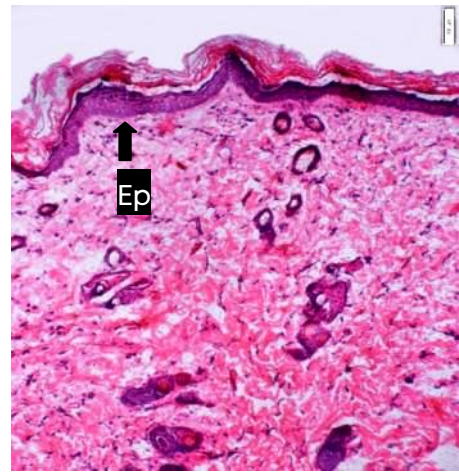
ในวันที่ 10 ลักษณะของอิมิตีเลียเซลล์ ของชิ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟากโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำ (ภาพ 14 (ข)) และชิ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินในขนาดต่ำ (ภาพ 14 (จ)) มีการเชื่อมติดกันแล้วแต่มีความหนามากกว่าปกติ ในขณะที่ชิ้นเนื้อบริเวณแผลในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลสูตรตำรับอื่น ๆ อิมิตีเลียเซลล์มีการเชื่อมติดกันเพียงบางส่วน (ภาพ 14 (ก), (ค), (ง), (ฉ), (ช))

ในวันที่ 14 ชิ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟากโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำ (ภาพ 16 (ข)) ชิ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินในขนาดต่ำ (ภาพ 16 (จ)) และชิ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินในขนาดสูง (ภาพ 16 (ฉ)) มีการเชื่อมติดกันของอิมิตีเลียเซลล์ในความหนาที่ปกติ ในขณะที่กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลสูตรตำรับอื่น ๆ มีการเชื่อมติดกันของอิมิตีเลียเซลล์ในความหนาที่ผิดปกติ (ภาพ 16 (ก), (ค), (ง), (ช))

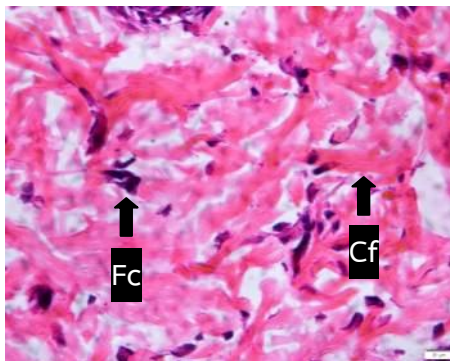
ในวันที่ 21 ลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของชิ้นเนื้อในทุกกลุ่มมีลักษณะที่คล้ายคลึงกัน (ภาพ 18)



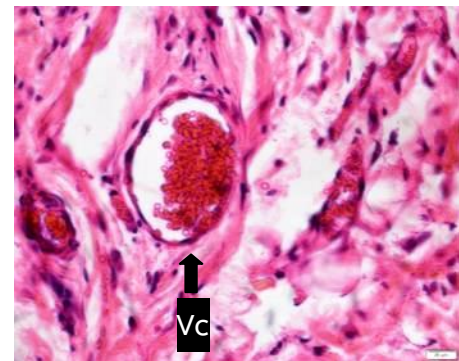
(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

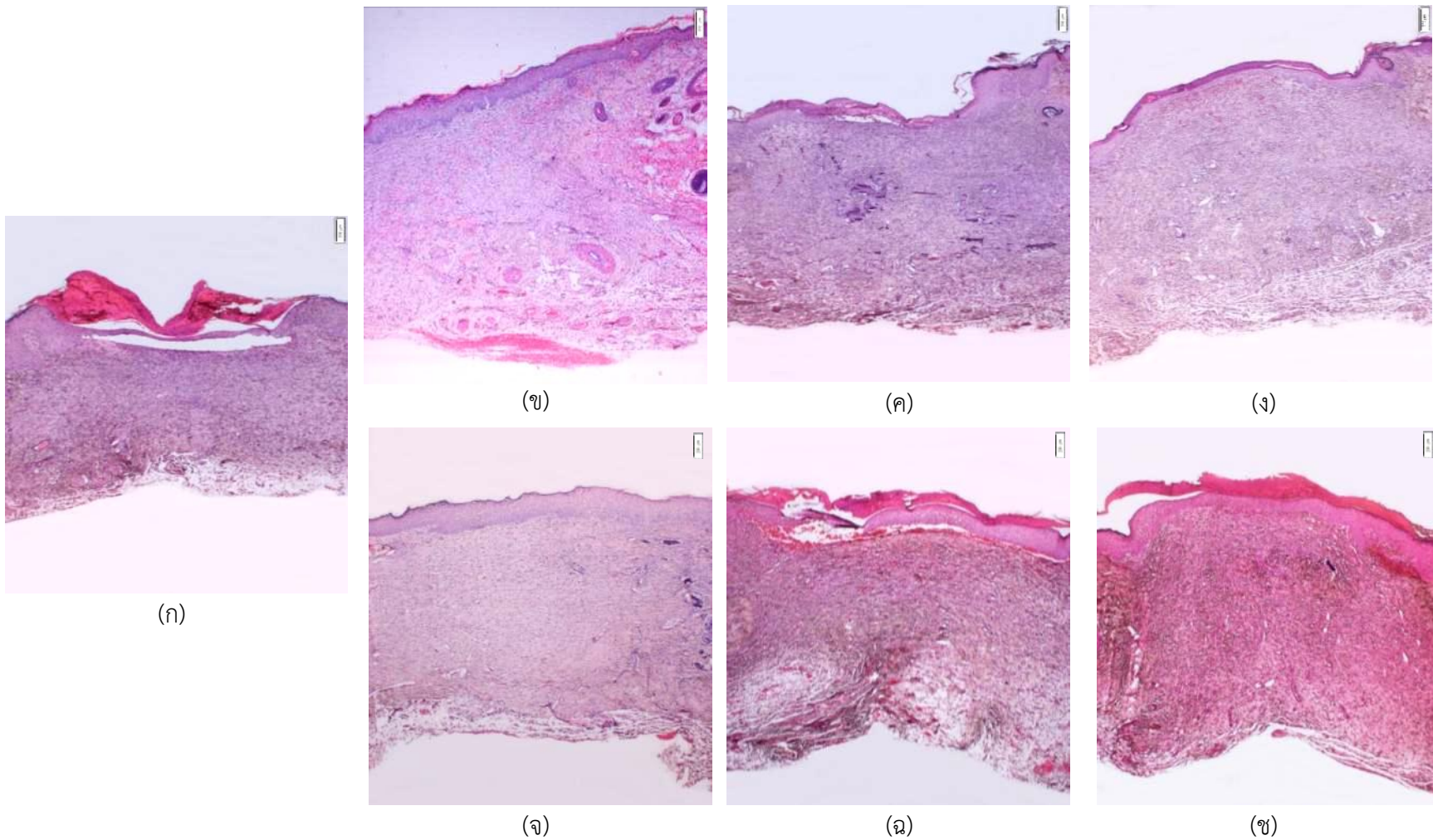
ภาพ 12. ลักษณะทางจุลกายวิภาคของชิ้นเนื้อในวันที่ 0 (ผิวหนังปกติของหนูทดลอง)

(ก) การเชื่อมกันของอิพิทีเลียลเซลล์ (Ep) ติดกันและมีความหนาปกติ ถ่ายที่กำลังขยายเลนส์วัตถุ 4 เท่า scale bar เท่ากับ 200 ไมโครเมตร

(ข) การเชื่อมกันของอิพิทีเลียลเซลล์ (Ep) ติดกันและมีความหนาปกติ ถ่ายที่กำลังขยายเลนส์วัตถุ 10 เท่า scale bar เท่ากับ 100 ไมโครเมตร

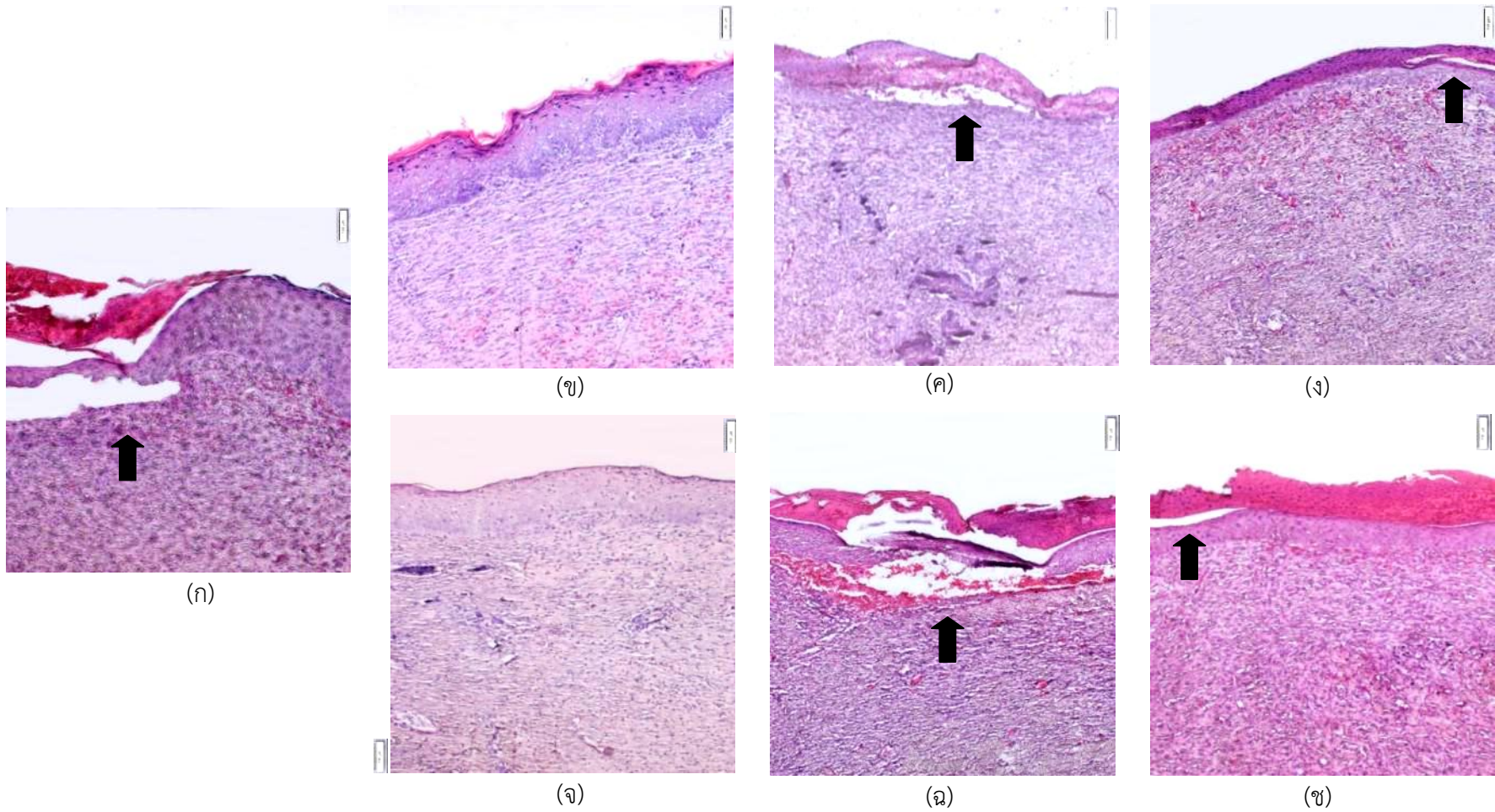
(ค) เซลล์ไฟโบรบลาสต์ (Fc) และการเรียงตัวเป็นมัดของคอลลาเจนไฟเบอร์ (Cf) ถ่ายที่กำลังขยายเลนส์วัตถุ 40 เท่า scale bar เท่ากับ 20 ไมโครเมตร

(ง) หลอดเลือดฝอย (Vc) ถ่ายที่กำลังขยายเลนส์วัตถุ 40 เท่า scale bar เท่ากับ 20 ไมโครเมตร

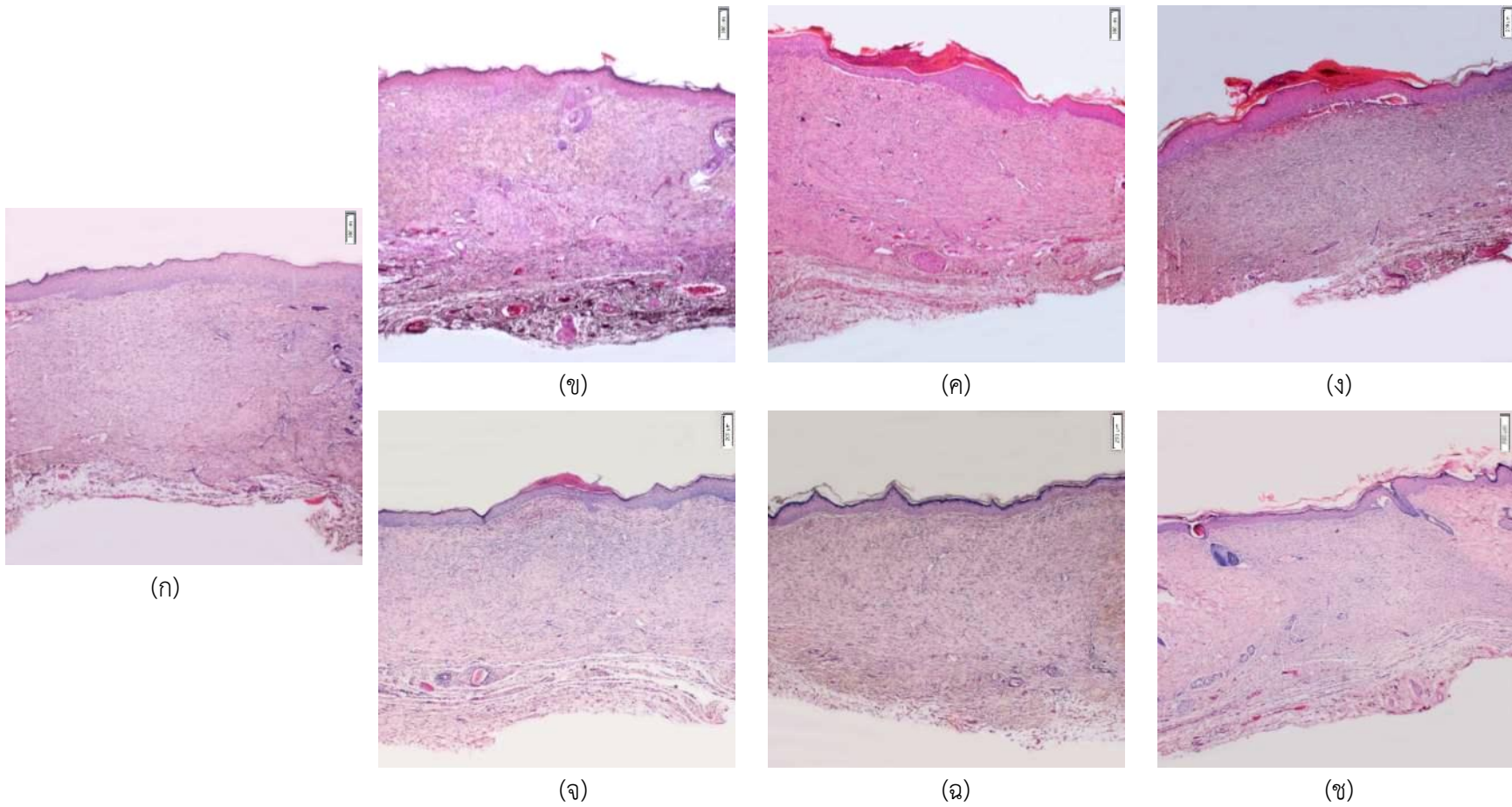


ภาพ 13. ลักษณะทางจุลกายวิภาคของชั้นเนื้อในวันที่ 10 ถ่ายที่กำลังขยายเลนส์วัตถุ 4 เท่า scale bar เท่ากับ 200 ไมโครเมตร

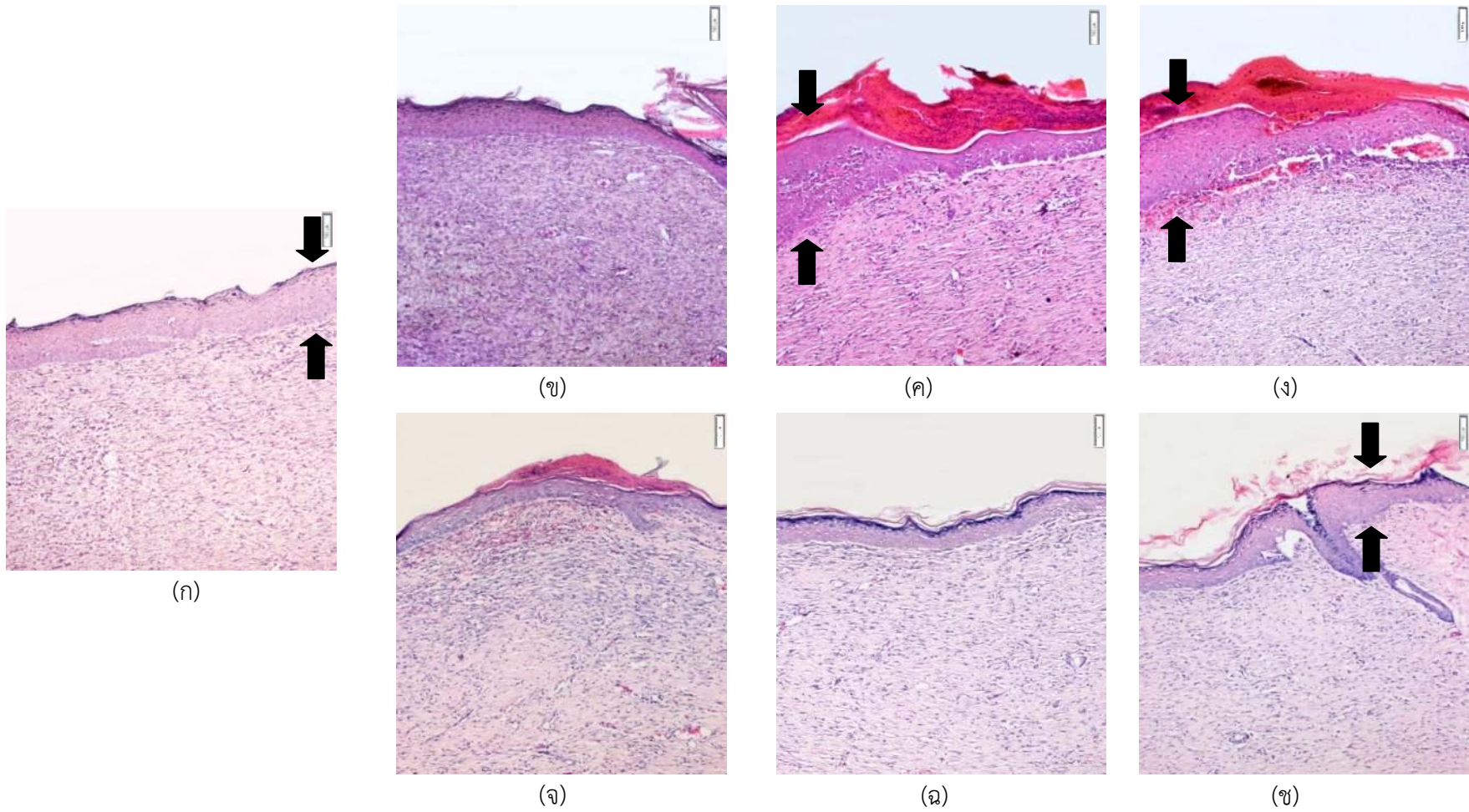
- (ก) ผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลของพีวีเอและพอลอกซาเมอร์ (กลุ่มควบคุม)
- (ข) ผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำ
- (ค) ผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดสูง
- (ง) ผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและ
ทรอมโบสปอนดินขนาดต่ำ
 - (จ) ผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินขนาดต่ำ
 - (ฉ) ผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินขนาดสูง
 - (ช) ผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและ
ทรอมโบสปอนดินขนาดสูง



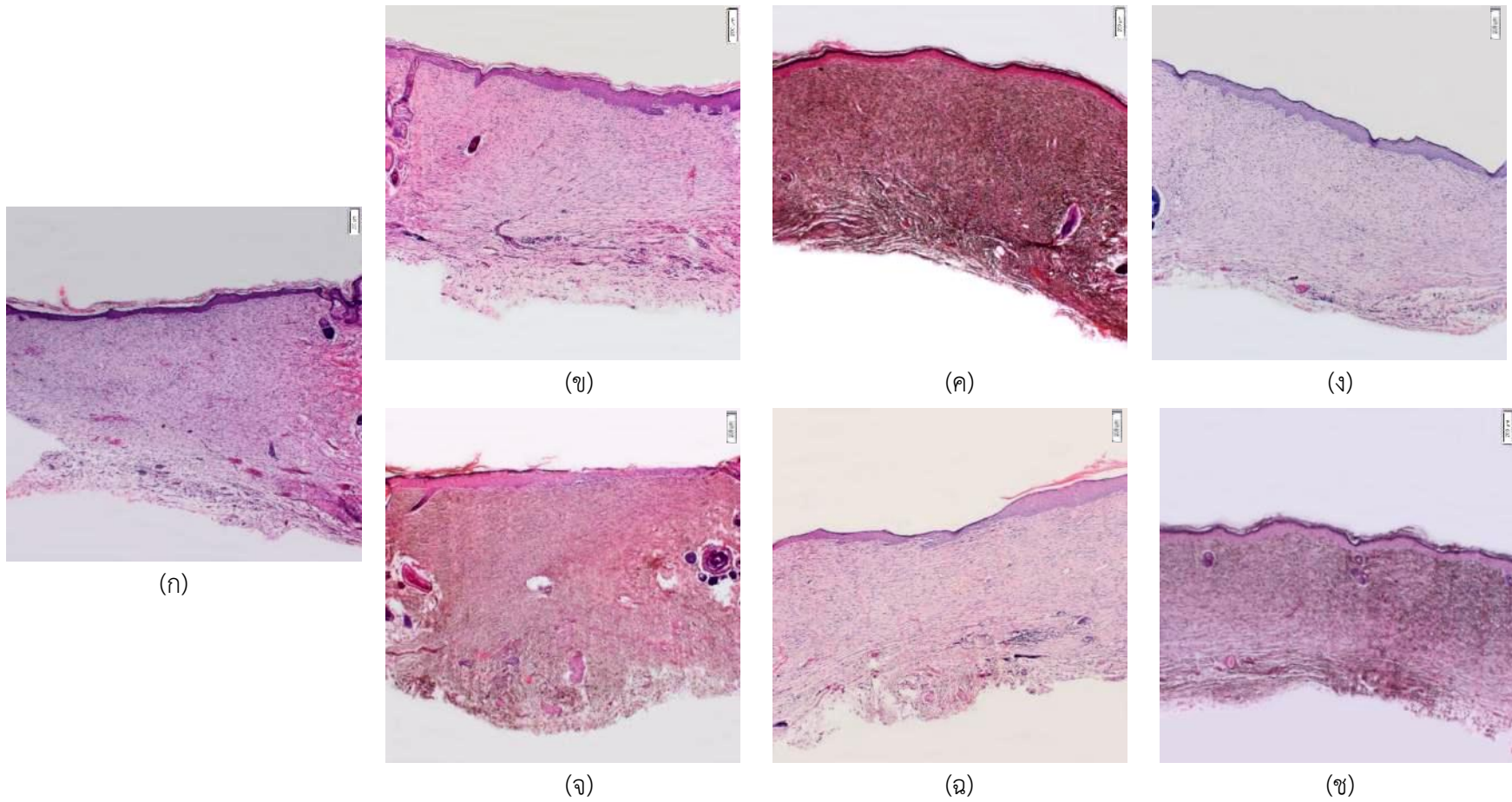
ภาพ 14. ลักษณะอีพิทีเลียลเซลล์ที่ยังไม่เชื่อมติดกันของชั้นเนื้อในวันที่ 10 ถ่ายที่กำลังขยายเลนส์วัตถุ 10 เท่า scale bar เท่ากับ 100 ไมโครเมตร (ลูกศรชี้)



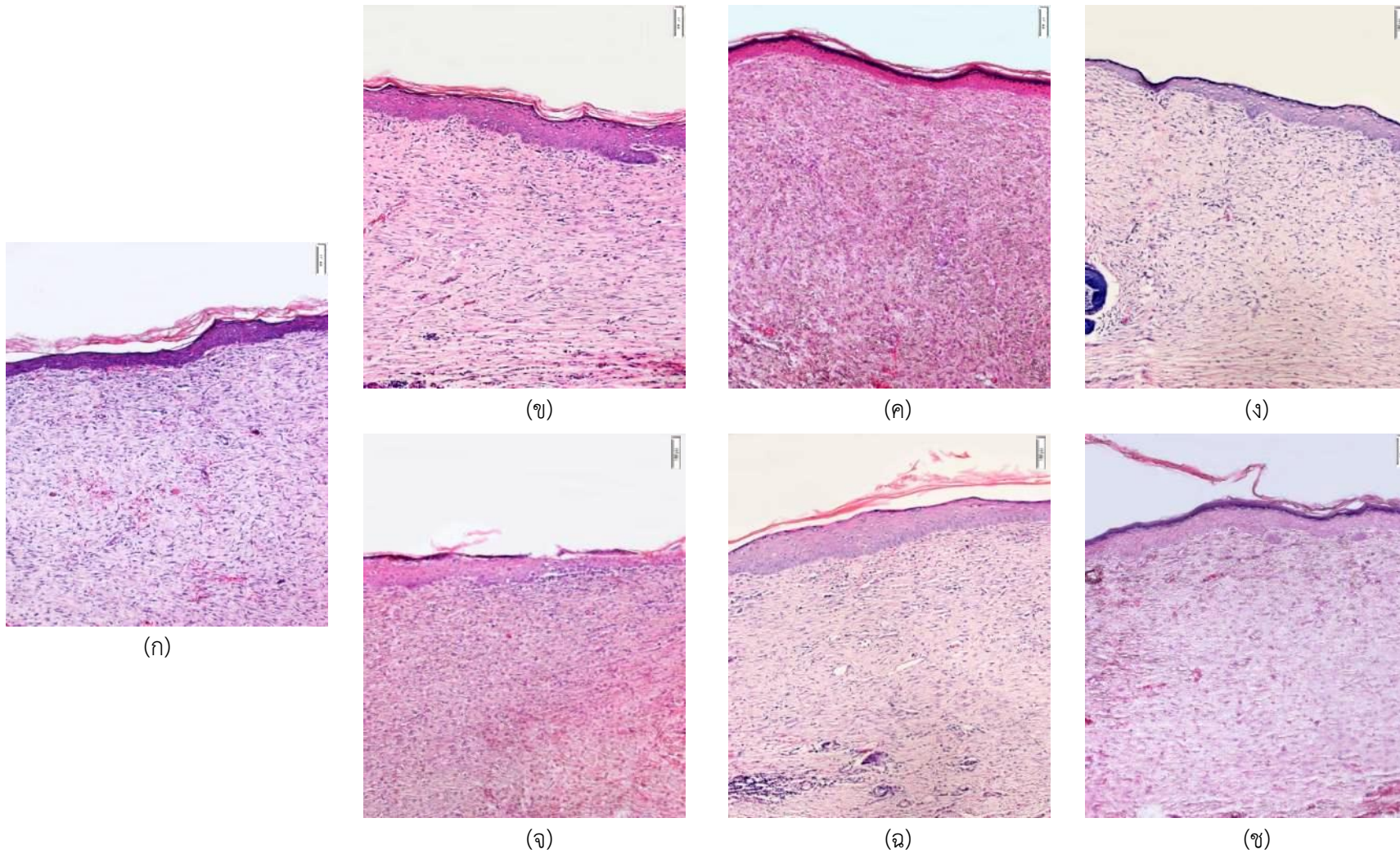
ภาพ 15. ลักษณะทางจุลกายวิภาคของชิ้นเนื้อในวันที่ 14 ถ่ายที่กำลังขยายเลนส์วัตถุ 4 เท่า scale bar เท่ากับ 200 ไมโครเมตร



ภาพ 16. ลักษณะของอิพิทีเลียลเซลล์ที่มีการเชื่อมต่อกันแต่มีความหนาผิดปกติของชั้นเนื้อในในวันที่ 14 ถ่ายที่กำลังขยายเลนส์วัตถุ 10 เท่า scale bar เท่ากับ 100 ไมโครเมตร (ลูกศรชี้)



ภาพ 17. ลักษณะทางจุลกายวิภาคของชั้นเนื้อในวันที่ 21 ถ่ายที่กำลังขยายเลนส์วัตถุ 4 เท่า scale bar เท่ากับ 200 ไมโครเมตร



ภาพ 18. ลักษณะทางจุลกายวิภาคของชั้นเนื้อในวันที่ 21 ถ่ายที่กำลังขยายเลนส์วัตถุ 10 เท่า scale bar เท่ากับ 100 ไมโครเมตร

3. ระดับดัชนีชี้วัดทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผล

ผลการศึกษาในระดับ TGF- β 1 ซึ่งเป็นโกรทแฟคเตอร์ที่มีบทบาทเด่นที่สุดในการหายของแผลบริเวณผิวหนัง (Rolfe et al., 2007) สามารถตรวจพบด้วยเทคนิคอิมมูโนฮิสโตเคมีได้ในทุกกระบวนการของการหายของแผล ซึ่งในผิวหนังปกติสามารถตรวจพบได้ในชั้นหนังแท้ (dermis) เนื่องจาก TGF- β 1 ถูกสร้างและหลั่งออกมาจากไฟโบรบลาสและแมคโครฟาจเป็นหลัก (Grellner, Vieler, & Madea, 2005) โดยในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้พบว่าระดับของ TGF- β 1 ในชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลสูตรตำรับต่าง ๆ ในวันที่ 10, 14 และ 21 เป็นดังนี้

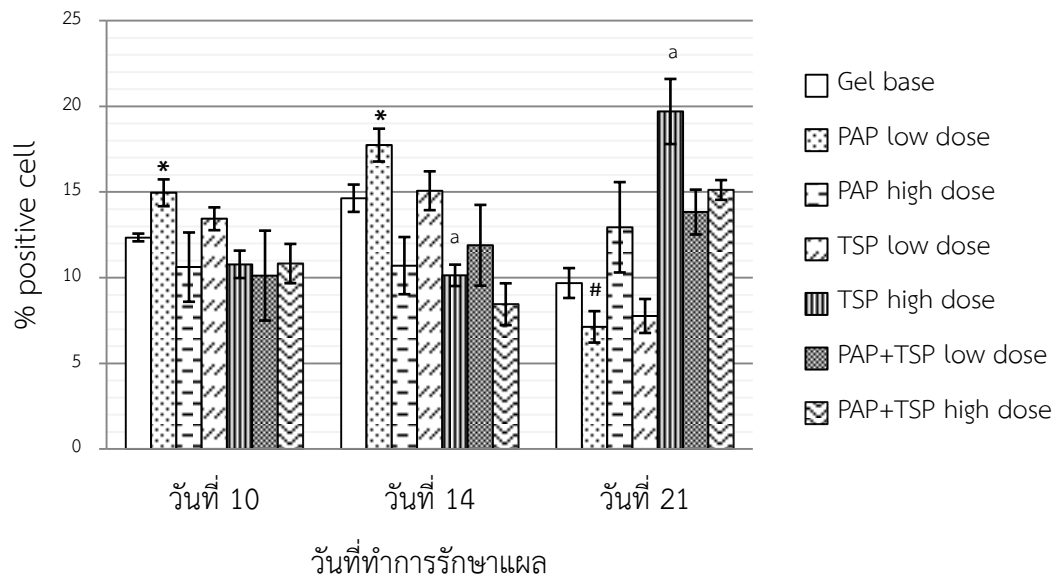
ในวันที่ 10 ชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิส แอคติเวติงโปรตีนขนาดต่ำมีระดับของ TGF- β 1 โดยเฉลี่ยสูงสุด (14.9 ± 0.8) รองลงมาคือชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสโปนตินในขนาดต่ำ (13.4 ± 0.7) และชั้นเนื้อบริเวณแผลในกลุ่มควบคุม (12.3 ± 0.2) ตามลำดับ (แผนภูมิ 2)

ในวันที่ 14 พบว่า ระดับของ TGF- β 1 โดยเฉลี่ยมีลำดับเช่นเดียวกันกับวันที่ 10 นั่นคือ ชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำมีระดับของ TGF- β 1 โดยเฉลี่ยสูงสุด (17.7 ± 1.0) รองลงมาคือชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสโปนตินในขนาดต่ำ (15.1 ± 1.1) และชั้นเนื้อบริเวณแผลในกลุ่มควบคุม (14.6 ± 0.8) ตามลำดับ (แผนภูมิ 2)

ในวันที่ 21 พบว่า ระดับของ TGF- β 1 โดยเฉลี่ยมีลำดับเช่นเดียวกันกับวันที่ 10 และ 14 แต่สำหรับระดับของ TGF- β 1 ในวันที่ 21 จะเป็นการเรียงลำดับจากค่าเฉลี่ยน้อยที่สุดไปหาค่าเฉลี่ยที่มากขึ้นถัดไป นั่นคือ ชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำมีระดับของ TGF- β 1 โดยเฉลี่ยต่ำที่สุด (7.1 ± 0.9) ลำดับถัดไปคือชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสโปนตินในขนาดต่ำ (7.8 ± 1.0) และชั้นเนื้อบริเวณแผลในกลุ่มควบคุม (9.7 ± 0.9) ตามลำดับ อีกทั้งพบว่าชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสโปนตินขนาดสูงมีระดับของ TGF- β 1 โดยเฉลี่ยสูงสุด (19.7 ± 1.9) และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) รองลงมาคือชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงและทรอมโบสโปนตินขนาดสูง (15.1 ± 0.6) (แผนภูมิ 2)

แผนภูมิ 2

ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับดัชนีชี้วัดทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผล (TGF- β 1) (n=15)



* ค่าเฉลี่ยสูงที่สุด

ค่าเฉลี่ยต่ำที่สุด

^a มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

บทที่ 4

บทวิจารณ์

อภิปรายผลการศึกษา

กระบวนการหายของแผลเป็นกระบวนการที่ช่วยคงไว้ซึ่งความสมบูรณ์ของผิวหนัง หลังการได้รับบาดเจ็บซึ่งส่งผลให้เกิดการสูญเสียโครงสร้างหรือสูญเสียหน้าที่เกิดขึ้น (Boateng et al., 2008) กระบวนการหายของแผลเป็นกระบวนการที่ซับซ้อนต้องอาศัยการทำงานอย่างสมดุลของสารชีวโมเลกุลหลากหลายชนิด โดยสามารถแบ่งกระบวนการหายของแผลออกได้เป็น 4 กระบวนการ คือ กระบวนการห้ามเลือด กระบวนการอักเสบ กระบวนการงอกขยาย และ กระบวนการปรับโครงสร้างเนื้อเยื่อ (Guo & Dipietro, 2010) ซึ่งหากกระบวนการหายของแผล กระบวนการใดกระบวนการหนึ่งถูกขัดขวางจะทำให้ไม่สามารถดำเนินไปตามกระบวนการปกติได้ ส่งผลให้แผลนั้นหายช้าหรืออาจเกิดเป็นแผลเรื้อรังได้ (Plikus et al., 2017) วิธีการหนึ่งที่จะช่วยให้ กระบวนการหายของแผลสามารถดำเนินไปได้ตามปกติคือการเลือกใช้วัสดุทำแผลที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการหายของแผล ไฮโดรเจลจัดเป็นวัสดุทำแผลแบบใหม่ที่มีลักษณะชอบน้ำทำให้มีคุณสมบัติในการดูดซับสารคัดหลั่งจากแผลได้ดี (Boateng & Catanzano, 2015) อีกทั้งยังช่วยคงความชุ่มชื้นให้แก่เนื้อเยื่อบริเวณบาดแผลช่วยในการงอกของเนื้อเยื่อใหม่ ส่งผลให้แผลสามารถหายได้ดีขึ้น (Ahmed, 2015)

ฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนเป็นโปรตีนที่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นเม็ดเลือดขาว ให้เกิดกระบวนการฟาโกไซโตซิสได้มากขึ้น (Deachamag et al., 2006) ซึ่งกระบวนการฟาโกไซโตซิสเป็นกระบวนการที่ช่วยในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมออกจากแผล ช่วยให้แผลสะอาด ส่งผลให้แผลหายเร็วขึ้นและลดความเสี่ยงในการเกิดแผลติดเชื้อได้ (Enoch & Leaper, 2006) ทรอมโบสปอนตินเป็นไกลโคโปรตีนชนิดหนึ่งซึ่งทำหน้าที่ในการควบคุมการทำงานของเซลล์อยู่บริเวณผิวเซลล์และในโปรตีนเมทริกซ์นอกเซลล์ ภายในโครงสร้างของทรอมโบสปอนตินมี EGF like domain ที่มีความสามารถในการกระตุ้นการทำงานของ EGF receptor ทำให้เซลล์ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผลเกิดการตอบสนองเช่นเดียวกันกับการกระตุ้นจาก EGF (Liu et al., 2009) ด้วยคุณสมบัติของไฮโดรเจลซึ่งเป็นวัสดุทำแผลที่มีความสามารถในการส่งเสริมการหายของแผลได้เป็นอย่างดี อีกทั้งคุณสมบัติโปรตีนทั้ง 2 ชนิด จะเห็นได้ว่าหากนำไฮโดรเจลที่มีการเติมโปรตีนทั้ง 2 ชนิดมาใช้ในการรักษาแผลก็จะสามารถส่งเสริมให้กระบวนการหายของแผลมีประสิทธิภาพที่มากยิ่งขึ้น

ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการนำเอาไฮโดรเจลที่มีการเติมโปรตีนทั้ง 2 ชนิดซึ่งมีความแตกต่างกันทั้งหมด 7 สูตรตำรับ มาใช้ในการรักษาแผลผ่าตัดในหนูทดลองคือหนูแรทสายพันธุ์ Sprague Dawley เพศผู้ ขนาดตัวเต็มวัยน้ำหนัก 200-300 กรัม อายุประมาณ 8-11 สัปดาห์ และทำการประเมินการระคายเคืองโดยการอ่านผลการระคายเคืองทางขึ้นเนื้อวิทยาจากสไลด์ขึ้นเนื้อที่ย้อมสี Hematoxylin & Eosin และประเมินประสิทธิภาพการรักษาแผลโดยการวัดขนาดของแผลเพื่อประเมินการหดตัวของแผล ศึกษาลักษณะจุลกายวิภาคที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผลจากสไลด์ขึ้นเนื้อที่ย้อมสี Hematoxylin & Eosin และประเมินระดับของ TGF- β 1 เพื่อใช้ในการศึกษาระดับดัชนีชี้วัดทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผลโดยใช้เทคนิคอิมมูโนฮิสโตเคมี

การระคายเคืองของไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและ ทรอมโบสبونดิน

จากผลการศึกษาการระคายเคืองทางขึ้นเนื้อวิทยาตามวิธีการ ISO 10993-6: Biological evaluation of medical devices เพื่อศึกษาการระคายเคืองของไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสبونดิน พบว่า หนูทดลองที่ได้รับการรักษาแผลด้วยไฮโดรเจลทั้ง 7 สูตรตำรับ มีสุขภาพดีไม่มีพฤติกรรมที่ผิดปกติ และผลการศึกษาขึ้นเนื้อบริเวณแผลของหนูทดลองที่ย้อมสี Hematoxylin & Eosin พบว่า ขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลทั้ง 7 สูตรตำรับในวันที่ 10, 14 และ 21 มีคะแนนรวมไม่เกิน 2 คะแนน (ตาราง 4) ซึ่งสามารถแปลผลได้ว่าไฮโดรเจลทั้ง 7 สูตรตำรับไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองเมื่อทดสอบในหนูทดลอง อาจเป็นผลมาจากส่วนผสมที่ใช้ในการผลิตไฮโดรเจลของพีวีเอและพอลอกซาเมอร์และโปรตีนทั้ง 2 ชนิดที่มีการเติมลงไปไฮโดรเจล ซึ่งได้แก่ฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสبونดินในขนาด 1 และ 10 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตรนั้น เป็นส่วนผสมที่ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองกับเนื้อเยื่อของหนูทดลอง จึงไม่ก่อให้เกิดการชักนำให้เกิดปฏิกิริยาตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมจากระบบภูมิคุ้มกันของหนูทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพโมเลกุลและชีวสารสนเทศ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ซึ่งได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติของฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีน ทรอมโบสبونดิน และฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนผสมกับทรอมโบสبونดินต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ความเข้มข้น 1 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเกี่ยวกับการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนและความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยเทคนิค MTT พบว่า โปรตีนในชนิดและขนาดดังกล่าวไม่มีความเป็นพิษ (toxicity) ต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ ไม่ส่งผลในการยับยั้งระยะต่าง ๆ ของวัฏจักรของเซลล์ และไม่กระตุ้นกระบวนการตายแบบอะพอพโทซิส (apoptosis) ในขณะที่ความเข้มข้นของโปรตีนที่ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรมีผลในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์

โดยปกติแล้ว หากร่างกายได้รับสารที่ก่อให้เกิดความระคายเคืองหรือเป็นพิษต่อผิวหนัง ร่างกายจะตอบสนองโดยชักนำให้เกิดการอักเสบเกิดขึ้นเพื่อกำจัดสิ่งแปลกปลอมออกหรือป้องกันตนเองจากการได้รับบาดเจ็บที่มากขึ้น (Franz, 2010) ซึ่งต้องอาศัยการทำงานจากเซลล์หลากหลายชนิดได้แก่ นิวโทรฟิล ลิมโฟไซต์ พลาสมาเซลล์ แมคโครฟาจ และหากมีการอักเสบเรื้อรังเกิดขึ้นอาจพบเซลล์ขนาดใหญ่ (giant cell) ซึ่งเกิดจากการรวมตัวกันของแมคโครฟาจได้เป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่และมีหลายนิวเคลียส และนอกจากนี้อาจก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ คือ มีเนื้อตายเกิดขึ้น มีพังผืด มีการสะสมของไขมัน หรือมีการงอกของหลอดเลือดที่มากเกินไป (วิกานดา, 2551; Siritientong et al., 2014) ซึ่งโดยปกติกระบวนการอักเสบจะใช้เวลาเพียงไม่กี่นาทีจนถึง 3 วัน หากเกินจากระยะเวลาดังกล่าวจะถือว่ามีอาการอักเสบเรื้อรังเกิดขึ้นซึ่งเป็นภาวะผิดปกติ (Boateng et al., 2008) สำหรับในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อบริเวณแผลในวันที่ 10, 14 และ 21 ซึ่งเป็นระยะเวลาหลังจากการเกิดการอักเสบตามปกติไปแล้ว ถ้าหากยังพบเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบดังกล่าวอยู่ หมายความว่าไฮโดรเจลที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังหนูทดลอง แต่จากผลการศึกษาพบว่าในวันที่ 10, 14 และ 21 เซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม และเมื่อแผลผลแล้วมีคะแนนรวมไม่เกิน 2 คะแนน จึงสามารถสรุปได้ว่าไฮโดรเจลทั้ง 7 สูตรตำรับไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังของหนูทดลอง

ประสิทธิภาพการรักษาแผลของไฮโดรผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทอมโบสπονดิน

ในการศึกษาประสิทธิภาพการรักษาแผล ได้ทำการศึกษา 3 ลักษณะ ได้แก่ (1) การหดตัวของแผล (2) ลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของชิ้นเนื้อบริเวณแผล และ (3) ระดับดัชนีชี้วัดทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผล ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

1. การหดตัวของแผล

จากผลการศึกษาการหดตัวของแผล พบว่า แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดตำมีพื้นที่แผลน้อยที่สุดตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษา ซึ่งแผลที่มีพื้นที่น้อยหมายความว่าแผลดังกล่าวมีการหดตัวมาก อีกทั้งในวันที่ 3 และวันที่ 6 แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลสูตรตำรับข้างต้นมีพื้นที่แผลเพียงร้อยละ 55.27 และ 29.04 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าแผลในกลุ่มควบคุมที่มีพื้นที่แผลในวันที่ 3 และวันที่ 6 ถึงร้อยละ 68.37 และ 39.37

ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (แผนภูมิ 1) และนอกจากนี้ยังพบอีกว่าเมื่อครบตามระยะเวลาการศึกษาคือ 21 วัน แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลสูตรตำรับดังกล่าว มีพื้นที่แผลเหลือน้อยที่สุด (3.76%) อีกด้วย รองลงมาคือแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสโปนดินในขนาดต่ำ (4.13%) ส่วนพื้นที่แผลในวันและกลุ่มอื่น ๆ พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนในขนาดต่ำ สามารถส่งเสริมให้เกิดการหดตัวของแผลได้มากที่สุด โดยจากการศึกษาของเดชะมากและคณะ (Deachamag et al., 2006) ซึ่งได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการแสดงออกของยีนฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนในระบบภูมิคุ้มกันของกิ้งกูดดำ พบว่า เซลล์เม็ดเลือดกึ่งที่ได้รับการบ่มด้วย Glutathione-S-transferase-PAP หรือ GST-PAP มีการเกิดกระบวนการฟาโกไซโตซิสที่สูงขึ้น (Deachamag et al., 2006) และจากการศึกษาของชิมมากทอง และคณะ (Khimmakthong et al., 2011) ซึ่งได้ศึกษาเกี่ยวกับการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของกิ้งกูดดำต่อการชักนำจากยีนโปรตีนกระตุ้นเซลล์จับกินสิ่งแปลกปลอม พบว่ากลุ่มที่ได้รับ 40 μg PAP-pHMGFP มี percentage phagocytosis และ phagocytic index สูงที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเวคเตอร์เพียงอย่างเดียว ซึ่งหมายความว่า การได้รับยีนฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีน สามารถกระตุ้นกระบวนการฟาโกไซโตซิสได้มากขึ้น (Khimmakthong et al., 2011) และจากการศึกษาของเซการ์ดและคณะ (Segade et al., 1996) พบว่า เซลล์แมโครฟาจของหนูที่ได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยใช้ซิลิกาและไลโปโพลีแซคคาไรด์ มีการแสดงออกของยีนอาร์พีแอล 26 ที่เพิ่มสูงขึ้นแสดงถึงการมี การสังเคราะห์โปรตีนซึ่งเป็นองค์ประกอบของโรโบโซมที่เพิ่มขึ้นเพื่อใช้ในการกระตุ้นกระบวนการฟาโกไซโตซิสของแมโครฟาจที่เพิ่มขึ้น (Segade et al., 1996) จากการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าเม็ดเลือดขาวสามารถถูกกระตุ้นจากฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนให้เกิดกระบวนการฟาโกไซโตซิสที่เพิ่มขึ้นได้ ดังนั้นเม็ดเลือดขาวภายในแผลจึงสามารถถูกกระตุ้นจากการได้รับการรักษาแผลด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนผสมอยู่ได้เช่นเดียวกัน ด้วยเหตุนี้จึงทำให้แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลตำรับดังกล่าวได้รับการกำจัดสิ่งแปลกปลอมและแผลมีความสะอาดมากขึ้นซึ่งเป็นคุณสมบัติสำคัญที่เกิดขึ้นในกระบวนการอักเสบ เป็นการย่นระยะเวลาของกระบวนการอักเสบให้สั้นลง และเข้าสู่กระบวนการงอกขยายได้เร็วขึ้น ส่งผลให้เซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผล ได้แก่ เซลล์เยื่อผิว และไฟโบรบลาสต์ สามารถแบ่งตัวและทำงานได้เร็วและดีมากยิ่งขึ้น (Bjarnsholt et al., 2008) แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสจึงมีขนาดแผลที่น้อยลง

นอกจากนี้พบว่าแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสโปนดินในขนาดต่ำ มีพื้นที่แผลที่น้อยรองจากแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนในขนาดต่ำ ซึ่งจากการศึกษาการโคลนและศึกษาสมบัติของยีนทรอมโบสโปนดินของภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพโมเลกุลและชีวสารสนเทศ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ซึ่งได้

ทำการศึกษาการเพิ่มจำนวนและการแผ่ขยายของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่บ่มกับเซรั่มที่ผสมโปรตีนทรอมโบสปอนดินในขนาด 0, 0.5, 1, 5, 7.5, 10, 15 และ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า เซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่บ่มกับเซรั่มที่ผสมโปรตีนทรอมโบสปอนดินในขนาด 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีการเพิ่มจำนวนและการแผ่ขยายของเซลล์มากที่สุดเมื่อเทียบกับขนาดอื่น ๆ ซึ่งความเข้มข้นดังกล่าวเป็นความเข้มข้นเดียวกันกับทรอมโบสปอนดินที่เติมลงในไฮโดรเจลสูตรตำรับไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินขนาดต่ำที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ จากผลการศึกษาดังกล่าวสามารถอธิบายได้ว่าเนื่องจากในโครงสร้างของทรอมโบสปอนดินมี EGF like domain ซึ่งมีคุณสมบัติเช่นเดียวกับ EGF ที่สามารถกระตุ้นให้ EGF receptor เกิดกระบวนการฟอสโฟรีเลชันที่เพิ่มขึ้น จึงส่งผลให้โมเลกุลเป้าหมายที่เกี่ยวข้องทำงานได้มากยิ่งขึ้น (Liu et al., 2009) นั่นคือส่งผลให้มีการเคลื่อนที่และการเจริญเติบโตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์เยื่อที่มากขึ้น (Huang & Fu, 2015) ทำให้ภายในแผลมีปริมาณเซลล์ไฟโบรบลาสต์เพื่อเปลี่ยนแปลงไปเป็นไมโอไฟโบรบลาสต์ทำหน้าที่ในการดึงขอบแผลเข้าหากันได้ดียิ่งขึ้น ขนาดแผลจึงลดลงได้เร็วขึ้น (Schwartz et al., 1998) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของโกะฮวาง และที (Goh, Hwang, & Tae 2016) ซึ่งได้ทำการศึกษารายของแผลที่ได้รับการรักษาด้วยเฮพารินไฮโดรเจลที่มีการเติม EGF พบว่ากลุ่มที่ได้รับการรักษาแผลด้วยเฮพารินไฮโดรเจลที่มี EGF มีการปิดของแผลเร็วขึ้นร้อยละ 90 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังนั้นจึงสามารถอธิบายได้ว่าการที่แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินในขนาดต่ำมีการหดตัวเกิดขึ้นเป็นผลมาจากการได้รับการกระตุ้นจาก EGF like domain ซึ่งเป็นโครงสร้างที่อยู่ในทรอมโบสปอนดิน

2. ลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของขึ้นเนื้อบริเวณแผล

ผลการศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของขึ้นเนื้อบริเวณแผล พบว่า ในวันที่ 10 ขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำ และขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินขนาดต่ำมีคะแนนสูงที่สุด (9 คะแนน) ในวันที่ 14 ขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำ ขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินขนาดต่ำและขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินขนาดสูงมีคะแนนสูงที่สุด (11 คะแนน) และในวันที่ 21 คะแนนในแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน (ตาราง 5) โดยพบว่าปริมาณเซลล์ไฟโบรบลาสต์และไฟโบรไซท์ การเรียงตัวของคอลลาเจนไฟเบอร์ และปริมาณหลอดเลือดฝอยของขึ้นเนื้อบริเวณแผลในแต่ละกลุ่มและในแต่ละวันมีความคล้ายคลึงกัน แต่ลักษณะที่สามารถสังเกตได้และค่อนข้างมีความแตกต่างกันคือลักษณะการเชื่อมกันของเซลล์เยื่อผิว ซึ่งพบว่า ในวันที่ 10 ลักษณะของเซลล์เยื่อผิวของขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจล

ผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำ (ภาพ 14 (ข)) และขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินในขนาดต่ำ (ภาพ 14 (จ)) มีการเชื่อมติดกันแล้วแต่มีความหนา มากกว่าปกติ ในขณะที่ขึ้นเนื้อบริเวณแผลในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลสูตรตำรับอื่น ๆ เซลล์เยื่อบุผิวมีการเชื่อมติดกันเพียงบางส่วน (ภาพ 14 (ก), (ค), (ง), (ฉ), (ช)) ซึ่งโดยปกติของการสร้างเนื้อเยื่อนั้นเกิดจากการที่เซลล์เยื่อบุผิวได้รับการกระตุ้นจากโกรทแฟคเตอร์หลากหลายชนิดเช่น TGF, PDGF (platelet-derived growth factor), FGF (fibroblast growth factor) และ TGF- β (อาทิ, 2011) เมื่อเซลล์เยื่อบุผิวได้รับการกระตุ้นจะเกิดการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนโดยเริ่มจากบริเวณขอบแผลและค่อย ๆ แผ่ขยายเข้ามาภายในแผลและเกิดการฝังตัวในที่สุด (Franz, 2010) จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำ สามารถกระตุ้นให้เซลล์เยื่อบุผิวภายในแผลมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนที่รวดเร็วจน จึงมีการเชื่อมติดกันเร็วกว่ากลุ่มอื่น ๆ ซึ่งสอดคล้องกันกับคุณสมบัติของฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนที่สามารถกระตุ้นให้เกิดการเพิ่มขึ้นของพี 53 (Terzian & Lozano, 2010) ไปทำงานร่วมกับเอ็นเอฟคัปปาบี ส่งผลให้แมโครฟาจถูกกระตุ้นมากขึ้น (Lowe & Menendez, 2014) แมโครฟาจจึงหลั่งไซโตไคน์และโกรทแฟคเตอร์ต่าง ๆ ออกมาได้มากขึ้น ส่งผลให้เกิดการแสดงออกของตัวรับและเกิดการตอบสนองต่อสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผลที่มากขึ้น เซลล์เยื่อบุผิวจึงมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้เร็วขึ้น (Franz, 2010) เยื่อบุผิวของขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำจึงมีการเชื่อมติดกันที่รวดเร็ว และดังที่กล่าวไปแล้วข้างต้นว่าขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินขนาดต่ำก็มีการเชื่อมติดกันแล้วเช่นกันซึ่งสามารถอธิบายได้ว่า การเชื่อมติดกันของเยื่อบุผิวในกลุ่มนี้เป็นผลมาจากการถูกกระตุ้นการทำงานของ EGF receptor จาก EGF like domain ภายในทรอมโบสปอนดิน จึงส่งผลให้เซลล์ไฟโบรบลาสและเซลล์เยื่อบุผิวมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนและเคลื่อนที่มายังบริเวณแผลได้มากขึ้น (Huang & Fu, 2015; Liu et al., 2009)

ในวันที่ 14 ขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำ (ภาพ 16 (ข)) ขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินในขนาดต่ำ (ภาพ 16 (จ)) และขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินในขนาดสูง (ภาพ 16 (ฉ)) มีการเชื่อมติดกันของเซลล์เยื่อบุผิวในความหนาที่ปกติ ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลสูตรตำรับอื่น ๆ มีการเชื่อมติดกันของเซลล์เยื่อบุผิวในความหนาที่ผิดปกติ (ภาพ 16 (ก), (ค), (ง), (ช)) (epidermal hyperproliferation) ซึ่งสาเหตุที่ทำให้เยื่อบุผิวมีความหนาผิดปกติอาจเกิดจากการที่ยีนซีมีค (c-myc) ยังคงถูกกระตุ้นอยู่ส่งผลให้เกิดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเติบโตเพิ่มจำนวนมีการแสดงออกที่มากขึ้น ทำให้เคอราติโนไซต์ยังคงมีความสามารถในการเติบโตเพิ่มจำนวนอยู่อย่างต่อเนื่อง อีกทั้งการที่ K1/K10 และพีแลกกริน

(filaggrin) ซึ่งเป็นโปรตีนช่วยยึดระหว่างเซลล์เคอราติโนไซต์ เอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส (transglutaminase) ซึ่งทำหน้าที่ประสานโครงสร้างของโปรตีนยังคงถูกกอดอยู่ และปีต้าแคททีนิน (β -catenin) มีการแสดงออกที่มากภายในแผล จึงเป็นเหตุให้เคอราติโนไซต์มีการเติบโตเพิ่มจำนวนที่มากขึ้นและไม่สามารถเคลื่อนที่และยึดติดกันได้ จึงทำให้ชั้นหนังกำพร้ามีความหนาที่ผิดปกติ (Pastar et al., 2014) ดังนั้นจึงสามารถอธิบายได้ว่า ชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมพลาโกลิไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำ ชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินในขนาดต่ำ และชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินในขนาดสูง ซึ่งมีความหนาของเยื่อผิวที่ปกตินั้น คาดว่ามีการกระตุ้นยีนซีมีคและมีระดับของ K1/K10 พีแลกกริน และปีต้าแคททีนินที่ปกติหมายความว่าได้ผ่านจากระบวนการอักเสบ กระบวนการงอกขยายและเข้าสู่กระบวนการปรับโครงสร้างเนื้อเยื่อแล้ว ในขณะที่ชั้นเนื้อกลุ่มอื่น ๆ ที่มีความหนาของเยื่อผิวที่ผิดปกติยังคงมีการกระตุ้นยีนซีมีคและมีระดับของ K1/K10 พีแลกกริน และปีต้าแคททีนินที่ผิดปกติ และเมื่อเข้าสู่วันที่ 21 จะเห็นได้ว่าชั้นเนื้อในทุกกลุ่มมีลักษณะที่คล้ายคลึงกัน (ภาพ 18) เนื่องจากเป็นระยะเวลาที่เข้าสู่กระบวนการปรับโครงสร้างเนื้อเยื่อซึ่งเป็นกระบวนการสุดท้ายของกระบวนการหายของแผล ซึ่งไม่ว่าแผลจะได้รับการรักษาหรือไม่ก็ตาม หากกระบวนการหายของแผลไม่ถูกขัดขวาง แผลก็จะสามารถหายได้ตามปกติ (Zomer & Trentin, 2018)

จากผลการศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ที่เกี่ยวกับการหายของแผล สามารถสรุปได้ว่า ชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมพลาโกลิไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำ และชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินขนาดต่ำมีการหายของแผลที่ดีกว่าชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลสูตรตำรับอื่น ๆ ซึ่งสามารถสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนในลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเยื่อผิว สำหรับลักษณะอื่น ๆ ได้แก่ ปริมาณเซลล์ไฟโบรบลาสและไฟโบรไซท์ การเรียงตัวของคอลลาเจนไฟเบอร์ และปริมาณหลอดเลือดฝอยของชั้นเนื้อบริเวณแผลในแต่ละกลุ่มและในแต่ละวัน มีลักษณะคล้ายคลึงกันทำให้ไม่สามารถเปรียบเทียบประสิทธิภาพการรักษาแผลจากลักษณะต่าง ๆ ดังกล่าวได้

3. ระดับดัชนีชี้วัดทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผล

ในการศึกษานี้ได้ทำการศึกษาระดับของ TGF- β 1 ในการเป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผล ซึ่ง TGF- β 1 เป็นโกรทแฟคเตอร์ที่มีบทบาทเด่นที่สุดในการหายของแผลบริเวณผิวหนัง (Rolfe et al., 2007) โดยพบว่า ชั้นเนื้อที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมพลาโกลิไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำมีระดับของ TGF- β 1 โดยเฉลี่ยสูงที่สุดในวันที่ 10 (14.9 ± 0.8) และวันที่ 14 (17.7 ± 1.0) และต่ำที่สุดในวันที่ 21 (7.1 ± 0.9) (แผนภูมิ 2) และยังพบ

อีกว่าระดับของ TGF- β 1 ในชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดิน ในขนาดต่ำและในชั้นเนื้อบริเวณแผลของกลุ่มควบคุมเป็นไปในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือในวันที่ 10 ชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินในขนาดต่ำและในชั้นเนื้อบริเวณแผลของกลุ่มควบคุมมีระดับของ TGF- β 1 โดยเฉลี่ยเท่ากับ 13.4 ± 0.7 และ 12.3 ± 0.2 ตามลำดับ ในวันที่ 14 มีระดับของ TGF- β 1 โดยเฉลี่ยเท่ากับ 15.1 ± 1.1 และ 14.6 ± 0.8 ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยสูงที่มีลำดับรองลงมาจากค่าเฉลี่ยในชั้นเนื้อที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟากโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำ และในวันที่ 21 ชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินในขนาดต่ำและชั้นเนื้อบริเวณแผลของกลุ่มควบคุมมีระดับของ TGF- β 1 โดยเฉลี่ยเท่ากับ 7.8 ± 1.0 และ 9.7 ± 0.9 ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยต่ำที่มีลำดับรองขึ้นมาจากค่าเฉลี่ยในชั้นเนื้อที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟากโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำ

โดยปกติเมื่อเนื้อเยื่อได้รับบาดเจ็บเกิดแผลขึ้นย่อมส่งผลให้หลอดเลือดบริเวณดังกล่าวได้รับการบาดเจ็บตามไปด้วย ทำให้บริเวณแผลขาดเลือดมาเลี้ยงและขาดออกซิเจน ทำให้ความดันออกซิเจน (PaO₂) ภายในแผลต่ำลง กระตุ้นให้เซลล์เยื่อบุผิวและแมคโครฟาจผลิต TGF- β 1 ออกมามากในระยะแรกของการเกิดแผล เพื่อกระตุ้นการจำลองตัวเองของเซลล์เยื่อบุผิว (epithelial cell replication) และเซลล์อื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องเช่น ไฟโบรบลาสต์ นอกจากนี้ TGF- β 1 ยังสามารถยับยั้งการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะของเซลล์ จึงช่วยให้เซลล์สามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนภายในแผลได้อย่างรวดเร็วได้เป็นเซลล์เยื่อบุผิวใหม่เข้ามาแทนที่และมีไฟโบรบลาสต์เข้ามาจำนวนมากเพื่อผลิตเส้นใยคอลลาเจนภายในแผลต่อไป ในทางกลับกันเมื่อเข้าสู่กระบวนการหายของแผลในระยะหลังเซลล์เยื่อบุผิวและแมคโครฟาจจะผลิต TGF- β 1 น้อยลงเพื่อยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อบุผิวและเซลล์อื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องภายในแผลให้น้อยลง เพื่อคงความสมดุลได้เป็นผิวหนังปกติต่อไป (Franz, 2010)

จากผลการศึกษาซึ่งพบว่าในวันที่ 10 และ 14 แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟากโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำมีระดับของ TGF- β 1 โดยเฉลี่ยสูงที่สุด สามารถอธิบายได้ว่าเป็นผลมาจากคุณสมบัติของฟากโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนที่สามารถกระตุ้นให้เกิดการเพิ่มปริมาณของพี 53 (Terzian & Lozano, 2010) ส่งผลให้มีปริมาณพี 53 ไปทำงานร่วมกับเอ็นเอฟคัปปาบี ในการควบคุมการกระตุ้นการทำงานของแมคโครฟาจซึ่งเป็นเซลล์ที่มีบทบาทสำคัญในระบบภูมิคุ้มกันและมีความเกี่ยวข้องกับการเกิดการอักเสบ ซึ่งเป็นกระบวนการหายของแผลกระบวนการที่ 2 ให้สามารถทำงานได้ดียิ่งขึ้น และเพิ่มประสิทธิภาพของแมคโครฟาจในการหลั่ง TGF- β 1 ได้อย่างรวดเร็วและดีขึ้นอีกด้วย (Lowe & Menendez, 2014) และเมื่อแมคโครฟาจสามารถทำงานได้ดีและเร็วมากยิ่งขึ้นก็จะส่งผลให้เซลล์อื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผลเกิดการแสดงออกของตัวรับสำหรับสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผลบริเวณผิวเซลล์มากขึ้น (Franz, 2010) ส่งผลให้เซลล์อื่น ๆ ที่มีความสามารถในการหลั่ง TGF- β 1 สามารถทำงานได้ดีมากยิ่งขึ้นตามไปด้วย ด้วยเหตุนี้จึงทำ

ให้ขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟากโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำพบระดับของ TGF- β 1 โดยเฉลี่ยสูงที่สุด ในระยะแรกของกระบวนการหายของแผล และต่อมาพบว่าในวันที่ 21 ขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟากโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำมีระดับของ TGF- β 1 โดยเฉลี่ยต่ำที่สุด สามารถอธิบายได้ว่า เมื่อไฟโบรบลาสต์มีการสังเคราะห์คอลลาเจนภายในบริเวณแผลในปริมาณที่เพียงพอ มีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อบุผิว และมีการสร้างหลอดเลือดที่เพียงพอแล้ว ร่างกายจะเกิดกระบวนการปรับเข้าสู่สมดุลหรือที่เรียกว่ากระบวนการปรับโครงสร้างเนื้อเยื่อ ซึ่งเป็นกระบวนการสุดท้ายของกระบวนการหายของแผล (Franz, 2010) ในระยะนี้จะมีการสร้างหลอดเลือดใหม่ลดลง (อาทิ, 2011; Franz, 2010) นั่นหมายถึงเซลล์เยื่อบุผิวและแมคโครฟาจจะมีการแบ่งตัวและทำงานน้อยลงจึงส่งผลให้ขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟากโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำมีระดับของ TGF- β 1 โดยเฉลี่ยต่ำลง และต่ำที่สุดเนื่องจากขึ้นเนื้อบริเวณแผลดังกล่าวได้รับการกระตุ้นให้เข้าสู่กระบวนการหายของแผลในระยะต่าง ๆ ได้เร็วกว่าขึ้นเนื้อกลุ่มอื่น ๆ จึงทำให้แผลเข้าสู่กระบวนการปรับโครงสร้างเนื้อเยื่อได้เร็วกว่ากลุ่มอื่น ๆ ซึ่งไม่จำเป็นต้องได้รับการกระตุ้นจาก TGF- β 1 เพื่อให้เกิดกระบวนการหายของแผลที่เพิ่มขึ้นนั่นเอง

ส่วนขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินขนาดต่ำที่ผลการศึกษาพบว่ามีระดับของ TGF- β 1 โดยเฉลี่ยสูงรองลงมาจากขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟากโซโตซิสขนาดต่ำในวันที่ 10 และ 14 และมีระดับของ TGF- β 1 โดยเฉลี่ยต่ำรองขึ้นมาจากขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟากโซโตซิสขนาดต่ำในวันที่ 21 สามารถอธิบายได้ว่าด้วยคุณสมบัติของทรอมโบสปอนดินที่มี EGF like domain สามารถกระตุ้น EGF receptor ส่งผลให้มีการกระตุ้นการทำงานของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์เยื่อบุผิวที่มากขึ้น (Huang & Fu, 2015) ส่งผลให้มีการหลั่ง TGF- β 1 จากไฟโบรบลาสต์และเซลล์เยื่อบุผิวที่เพิ่มขึ้นในระยะแรก ๆ ของกระบวนการหายของแผล (Werner & Grose, 2003) แต่ทรอมโบสปอนดินไม่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ (Huang & Fu, 2015) ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีบทบาทสำคัญในระยะที่ 2 ของกระบวนการหายของแผลเหมือนกับฟากโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีน จึงทำให้การเพิ่มขึ้นของ TGF- β 1 ในขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินขนาดต่ำไม่สูงเท่ากับขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟากโซโตซิสขนาดต่ำ และยังส่งผลให้การลดระดับของ TGF- β 1 ในวันที่ 21 ช้ากว่าขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟากโซโตซิสขนาดต่ำอีกด้วย จากการศึกษาของพาคยารี ฟาโรฆิ มาฮาร์ลูอิ และกาฮารี (Pakyari, Farrokhi, Maharlooeei, & Ghahary, 2013) ซึ่งได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับบทบาทสำคัญของ TGF- β ในระยะต่าง ๆ ของการหายของแผล ผลการศึกษาพบว่าเมื่อเข้าสู่ระยะหลังของกระบวนการหายของแผล ระดับ TGF- β 1 มีแนวโน้มลดลง กล่าวคือ เมื่อเข้าสู่กระบวนการ

หายของแผลในระยะหลังเคอราติโนไซต์จะมีการหลั่งโปรตีนสตราติฟิน (stratiferin) ออกมาเพื่อเพิ่มความสามารถในการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะของเคอราติโนไซต์ จึงมีผลต่อการยับยั้งการหลั่ง TGF- β 1 ออกมาจากเซลล์ไฟโบรบลาส ทำให้เมื่อเข้าสู่กระบวนการหายของแผลในระยะหลังระดับของ TGF- β 1 ที่ถูกหลั่งออกมาจากเซลล์ไฟโบรบลาสมีระดับลดลง (Pakyari et al., 2013) แต่มีความแตกต่างกับผลการศึกษาคั้งนี้เล็กน้อย นั่นคือ ระดับ TGF- β 1 ในการศึกษาของพาคยาริและคณะ (Pakyari et al., 2013) มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง ในขณะที่การศึกษาคั้งนี้ ระดับ TGF- β 1 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในวันที่ 14 และลดลงในวันที่ 21 อาจเป็นผลมาจากในการศึกษาคั้งนี้ได้ทำการศึกษาในหนูทดลองซึ่งในวันที่ 14 อยู่ในกระบวนการหายของแผลกระบวนการที่ 3 ซึ่งนอกจากจะเป็นกระบวนการที่มีการทำงานของไฟโบรบลาส และเคอราติโนไซต์แล้ว ยังมีการทำงานของลิมโฟไซต์และแมคโครฟาจซึ่งแมคโครฟาจเป็นเซลล์ที่มีความสามารถในการหลั่ง TGF- β 1 มากที่สุด (Mani et al., 2002) จึงทำให้ระดับ TGF- β 1 มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นซึ่งแตกต่างกับการศึกษาของพาคยาริและคณะที่ได้ทำการศึกษา ระดับ TGF- β 1 ในเซลล์ไฟโบรบลาสที่เพียงอย่างเดียว

นอกจากนี้พบว่า ชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสพอนตินในขนาดสูงมีระดับของ TGF- β 1 สูงที่สุดในวันที่ 21 อาจเป็นผลมาจาก EGF receptor ยังคงถูกกระตุ้นอยู่อย่างต่อเนื่องจาก EGF like domain ในไฮโดรเจลผสมทรอมโบสพอนตินขนาดสูงจึงทำให้เซลล์เยื่อบุผิวและเคอราติโนไซต์ยังคงมีการหลั่ง TGF- β 1 ออกมาอย่างต่อเนื่อง (Huang & Fu, 2015; Werner & Grose, 2003) แต่ด้วยเหตุดังกล่าวพบว่าระดับของ TGF- β 1 ในชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสพอนตินขนาดสูงซึ่งควรจะมีระดับของ TGF- β 1 สูงที่สุดในวันที่ 21 เนื่องจากเซลล์เยื่อบุผิวและเคอราติโนไซต์ถูกกระตุ้นทั้งจากฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสพอนตินขนาดสูง แต่จากผลการศึกษพบว่าระดับของ TGF- β 1 สูงรองลงมาจากชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสพอนตินในขนาดสูง อาจเป็นเพราะเซลล์เยื่อบุผิวและเคอราติโนไซต์ถูกกระตุ้นให้หลั่ง TGF- β 1 อย่างมาก จึงส่งผลให้มีการกระตุ้นการแสดงออกของโปรตีน Smad 3 และ 4 ซึ่งเป็น downstream signaling molecules ของ TGF- β 1 มากตามไปด้วย ซึ่งนอกจาก Smad 3 และ 4 จะช่วยให้ TGF- β 1 สามารถทำงานได้แล้วนั้นในขณะเดียวกัน Smad 3 และ 4 ยังสามารถจับบริเวณ *Smad7* promoter ได้อีกด้วย จึงส่งผลให้มีการแสดงออกของ Smad 7 ที่มากยิ่งขึ้น ซึ่ง Smad 7 จัดเป็น inhibitory Smad มีความสามารถในการยับยั้งการแสดงออกของ TGF- β 1 ได้ (Miyazono, 2000) ดังนั้นจากกลไกการชักนำให้มีการแสดงออกของ Smad 7 ที่เพิ่มขึ้นจึงอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ระดับของ TGF- β 1 ในชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสพอนตินขนาดสูงมีระดับต่ำกว่าชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสพอนตินในขนาดสูง

สำหรับชิ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลตัวรับอื่น ๆ พบว่าทั้งลำดับและแนวโน้มของค่าเฉลี่ยของระดับ TGF- β 1 ไม่เป็นไปในทิศทางเดียวกัน อาจมีสาเหตุมาจากแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลสูตรตัวรับอื่น ๆ อยู่บริเวณหลังด้านล่างของหนูทดลอง ซึ่งเป็นบริเวณที่หนูทดลองสามารถกัดผ้าพันแผลออกเองได้ จากการสังเกตพฤติกรรมและลักษณะแผลในระยะสัปดาห์แรกของการศึกษา พบว่า หนูทดลองมีการกัดผ้าพันแผลออกเหลือไว้เพียงบริเวณหลังส่วนบน ใกล้กับสะบักที่ไม่สามารถกัดออกได้ ทำให้แผลบริเวณหลังส่วนบนยังสามารถคงความชุ่มชื้นไว้ได้ ในขณะที่แผลบริเวณหลังด้านล่างของหนูทดลองที่ถูกกัดผ้าพันแผลออก มีลักษณะของผิวหนังของแผลที่แห้ง จากพฤติกรรมดังกล่าวของหนูทดลองจึงส่งผลให้การสร้างเนื้อเยื่อและกระบวนการหายของแผลกระบวนการอื่น ๆ ในแผลบริเวณหลังด้านล่างบกพร่องไป เนื่องจากกระบวนการสร้างเนื้อเยื่อใหม่และการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะของเซลล์ภายในแผลจะเกิดขึ้นได้เต็มประสิทธิภาพก็ต่อเมื่อบริเวณผิวหนังของแผลมีความชุ่มชื้น (Boateng et al., 2008) อีกทั้งสารคัดหลั่งที่ถูกหลั่งออกมาจากแผลในระยะแรก ๆ นั้นยังเต็มไปด้วยโกรทแฟคเตอร์ซึ่งช่วยกระตุ้นกระบวนการหายของแผลให้เกิดได้ดีขึ้น (Boateng et al., 2008; Franz, 2010) เมื่อหนูทดลองกัดผ้าพันแผลออกจึงทำให้ทั้งสารคัดหลั่งตามธรรมชาติและไฮโดรเจลสูตรตัวรับต่าง ๆ ที่ถูกทาเพื่อรักษาแผลได้ระเหยและหลุดหายไป ส่งผลให้แผลไม่ได้รับผลการรักษาได้อย่างเต็มที่

จากการศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพการรักษาแผลของไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิส แอคติเวติงโปรตีนและทรอมโบสโปนตินทั้ง 7 สูตรตัวรับ ซึ่งได้ทำการศึกษา 3 ลักษณะด้วยกันคือ (1) การหดตัวของแผล (2) ลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของชิ้นเนื้อบริเวณแผล และ (3) ระดับดัชนีชี้วัดทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผล พบว่า ไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอคติเวติงโปรตีนขนาดต่ำเป็นสูตรตัวรับที่มีประสิทธิภาพในการรักษาแผลที่ดีที่สุด รองลงมาคือไฮโดรเจลผสมทรอมโบสโปนตินขนาดต่ำ ซึ่งจากคุณสมบัติของทรอมโบสโปนตินที่สามารถกระตุ้นการทำงานของเซลล์ที่อยู่ในกระบวนการงอกขยายซึ่งเป็นกระบวนการที่ 3 ของกระบวนการหายของแผล (Boateng et al., 2008) ในขณะที่ฟาโกไซโตซิสแอคติเวติงโปรตีนนอกจากจะมีคุณสมบัติในการกระตุ้นการทำงานของเซลล์ที่อยู่ในกระบวนการงอกขยายซึ่งเป็นกระบวนการที่ 3 ของกระบวนการหายของแผล เช่นเดียวกับกับทรอมโบสโปนตินแล้ว ยังสามารถกระตุ้นกระบวนการฟาโกไซโตซิสของแมคโครฟาจซึ่งเป็นกระบวนการที่ 2 ของกระบวนการหายของแผล (Bjarnsholt et al., 2008; Boateng et al., 2008) จึงส่งผลให้แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสแอคติเวติงโปรตีนขนาดต่ำผ่านกระบวนการอักเสบ กระบวนการงอกขยาย และเข้าสู่กระบวนการปรับโครงสร้างได้เร็วกว่าแผลอื่น ๆ กล่าวคือเกิดกระบวนการหายของแผลที่เร็วที่สุดนั่นเอง

นอกจากนี้การที่ไฮโดรเจลผสมฟาโกไซโตซิสขนาดต่ำส่งผลให้เกิดการหายของแผลได้ดีกว่าขนาดสูง อาจมีสาเหตุมาจากการทำงานร่วมกันของเอ็นเอฟคัปปาบีและพี 53 ซึ่งนอกจากจะ

สามารถกระตุ้นการทำงานของแมโครฟาจแล้ว ยังสามารถเพิ่มการแสดงออกของ tumor necrosis factor related apoptosis-inducing ligand receptor (TRAIL-R2) หรือ death receptor 5 ได้อีกด้วย ส่งผลให้เกิดการกระตุ้นกระบวนการอะพอพโตซิสผ่านทาง caspase 8 มากยิ่งขึ้น (Shetty et al., 2005) ด้วยเหตุนี้จึงอาจเป็นผลให้ไฮโดรเจลผสมพลาโกลิไซโตซิสขนาดใหญ่สามารถไปกระตุ้นกลไกดังกล่าวมากกว่าไฮโดรเจลผสมพลาโกลิไซโตซิสขนาดเล็ก จึงทำให้ประสิทธิภาพการส่งเสริมการตายของเซลล์ของไฮโดรเจลผสมพลาโกลิไซโตซิสขนาดใหญ่ได้น้อยกว่าไฮโดรเจลผสมพลาโกลิไซโตซิสขนาดเล็ก และยังพบอีกว่าการกระตุ้น EGF receptor ส่งผลให้เอ็นเอฟคัปปาบีสามารถจับกับ binding site ของ death receptor 5 ได้ดีขึ้น ทำให้เกิดการแสดงออกของ death receptor 5 ได้มากยิ่งขึ้น จึงมีผลในการกระตุ้นกระบวนการอะพอพโตซิสผ่านทาง caspase 8 มากยิ่งขึ้นได้อีกหนึ่งกลไก (Shetty et al., 2005) ด้วยเหตุนี้จึงอาจเป็นผลให้ไฮโดรเจลผสมทรอมโบสโปนตินขนาดใหญ่ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีความสามารถในการกระตุ้น EGF receptor มีประสิทธิภาพการส่งเสริมการตายของเซลล์ได้น้อยกว่าไฮโดรเจลผสมทรอมโบสโปนตินขนาดเล็ก และนอกจากนี้พบว่า การแสดงออกของ death receptor 5 ขึ้นอยู่กับระดับของพี 53 (Takimoto & Eldeiry, 2000) ด้วยเหตุนี้จึงอาจเป็นสาเหตุทำให้ไฮโดรเจลที่ผสมทั้งพลาโกลิไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสโปนติน ซึ่งมีคุณสมบัติทั้งเพิ่มการแสดงออกของพี 53 จากพลาโกลิไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและมีคุณสมบัติในการส่งเสริมเอ็นเอฟคัปปาบีในการจับกับบายดิงไซต์ของ death receptor 5 จากทรอมโบสโปนติน จึงยิ่งเป็นการส่งเสริมให้มีการแสดงออกของ death receptor 5 ที่มากยิ่งขึ้น จึงอาจเป็นสาเหตุทำให้ไฮโดรเจลสูตรตำรับดังกล่าวมีประสิทธิภาพการรักษาเซลล์น้อยกว่าไฮโดรเจลที่ผสมพลาโกลิไซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนหรือทรอมโบสโปนตินในขนาดต่ำเพียงอย่างเดียว

บทที่ 5

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

บทสรุป

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาวิจัยแบบทดลองเพื่อประเมินการระคายเคืองและประสิทธิภาพการรักษาแผลของไฮโดรเจลผสมฟากโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสพอนติน โดยได้ศึกษาในหนูแรทสายพันธุ์ Sprague Dawley โดยการทำให้หนูทดลองเกิดแผลบริเวณหลังและทำการรักษาด้วยสารทดสอบทั้งหมด 7 สูตรตำรับ ซึ่งได้แก่ ไฮโดรเจลพีวีเอและพอลอกซาเมอร์ ไฮโดรเจลผสมฟากโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนหรือทรอมโบสพอนตินในขนาดต่ำและขนาดสูง และไฮโดรเจลผสมทั้งฟากโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทรอมโบสพอนตินขนาดต่ำและขนาดสูง หลังจากนั้นทำการประเมินการระคายเคืองต่อผิวหนังของหนูทดลอง และศึกษาประสิทธิภาพการรักษาแผลโดยการประเมิน 3 ลักษณะด้วยกันคือ การหดตัวของแผล ลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของชั้นเนื้อบริเวณแผล และระดับดัชนีชี้วัดทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผล

ผลการศึกษาพบว่า

1. ผลการศึกษาการระคายเคือง

สารทดสอบทั้ง 7 สูตรตำรับไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังของหนูทดลอง

2. ผลการศึกษาประสิทธิภาพการรักษาแผล

2.1 การหดตัวของแผล

แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟากโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำมีพื้นที่แผลน้อยที่สุดตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษา อีกทั้งในวันที่ 3 และวันที่ 6 แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลสูตรตำรับข้างต้นมีพื้นที่แผลน้อยกว่ากลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อครบตามระยะเวลาการศึกษาคือ 21 วัน พบว่า แผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟากโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำ มีพื้นที่แผลน้อยที่สุด รองลงมาคือแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสพอนตินในขนาดต่ำ

2.2 ลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของชั้นเนื้อบริเวณแผล

คะแนนของลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของชั้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมฟากโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำและไฮโดรเจลผสมทรอมโบสพอนตินขนาดต่ำมีคะแนนรวมสูงที่สุดในวันที่ 10 และ 14 และพบว่าลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของชั้นเนื้อบริเวณแผลทั้ง 2 กลุ่มข้างต้น มีการเชื่อมติดกันของอิพิทีเลียลเซลล์และมีความหนาเป็นปกติที่รวดเร็วกว่าชั้นเนื้อบริเวณแผลในกลุ่มอื่น ๆ

3. ระดับดัชนีชี้วัดทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผล

ขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมพลาโกลิไทซินแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำมีระดับของ TGF- β 1 โดยเฉลี่ยสูงที่สุดทั้งในวันที่ 10 และ 14 รองลงมาคือขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินขนาดต่ำ และขึ้นเนื้อบริเวณแผลในกลุ่มควบคุม ตามลำดับ ในวันที่ 21 พบว่าขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมพลาโกลิไทซินแอกติเวติงโปรตีนขนาดต่ำมีระดับของ TGF- β 1 โดยเฉลี่ยต่ำที่สุด ถัดมาคือขึ้นเนื้อบริเวณแผลที่ได้รับการรักษาด้วยไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินในขนาดต่ำ และขึ้นเนื้อบริเวณแผลในกลุ่มควบคุมตามลำดับ ตามลำดับ

ข้อเสนอแนะ

1. ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการนำผลการศึกษาไปใช้

ควรนำไฮโดรเจลผสมพลาโกลิไทซินขนาดต่ำ และไฮโดรเจลผสมทรอมโบสปอนดินขนาดต่ำไปศึกษาและพัฒนาต่อเพื่อให้ได้มาซึ่งวัสดุทำแผลชนิดใหม่ในอนาคต

2. ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการศึกษาครั้งต่อไป

ควรศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับดัชนีชี้วัดทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผลชนิดอื่น ๆ เพื่อให้สามารถประเมินประสิทธิภาพการรักษาแผลที่ติดยิ่งขึ้น เช่น เมทริกซ์เมทัลโลโปรตีเอส (matrix metalloproteinase) ทิชซูอินฮิบิเตอร์ออฟเมทริกซ์เมทัลโลโปรตีเอส (issue inhibitor of metalloproteinase) เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

- การประเมินทางชีวภาพของเครื่องมือแพทย์. (2551). ค้นเมื่อ 20 มิถุนายน 2561, จาก <https://www.iso.org/standard/44789.html>
- การหายของแผล. (2014). ค้นเมื่อ 18 ตุลาคม 2560, จาก <http://www.med.cmu.ac.th/dept/surgery/new%202014.pdf>
- จอมจักร จันทรสกุล. (2547). แนวคิดใหม่เกี่ยวกับการดูแลแผล. *คลินิก*, 20(2), 105-110.
- ณัฐพล สีหาวัฒน์. (2555). เอกสารถอดความบรรยายวิชาเวชศาสตร์สัตว์ทดลอง (laboratory animal medicine) เรื่อง anesthesia and analgesia. ค้นเมื่อ 17 มิถุนายน 2560, จาก <https://issuu.com/taebang/docs/686f3f688a0aa7>
- วิกานดา ตันติรักษ์. (2551). การศึกษาปฏิกิริยาเฉพาะที่หลังการฝัง pore skin ในกล้ามเนื้อ สัตว์ทดลองตามมาตรฐาน ISO 10993-6 และการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพตามมาตรฐาน ASTM: F 1906-98. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิตสาขาวิชาวิศวกรรมชีวเวช คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร.
- วีรพล คู่คงวิริยพันธุ์, และเบญจพร บุราณรัตน์. (2552). ยุทธวิธีใหม่ของยาเคมีบำบัดในการรักษา มะเร็ง. *ศรีนครินทร์เวชสาร*, 24(1), 78-90.
- อาทิ เครือวิทย์. (2011). *Wound management*. ค้นเมื่อ 1 กุมภาพันธ์ 2560, จาก http://med.mahidol.ac.th/surgery/sites/default/files/public/pdf/wound%20management.Jan_.%2031,2011.pdf
- Adams, J. C., & Lawler, J. (2011). The thrombospondins. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3(10), 1-29.
- Ahmed, E. M. (2015). hydrogel: Preparation, characterization and applications: A review. *Journal of Advanced Research*, 6(2), 105-121.
- Arnold, M., & Barbul, A. (2006). Nutrition and wound healing. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 117(7), 42S-58S.
- Bjarnsholt, T., Kirketerp, K.-M., Jensen, P., Kit, M., Krogfelt, K., Phipps, R.,... Givskov, M. (2008). Why chronic wounds won't heal: A novel hypothesis. *Wound Repair and Regeneration*, 16(1), 2-10.

- Boateng, J., & Catanzano, O. (2015). Advanced therapeutic dressings for effective wound healing-a review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 104(11), 3653-3680.
- Boateng, S. J., Matthews, H. K., Stevens, N. E. H., & Eccleston, M. G. (2008). Wound healing dressings and drug delivery system: A review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97(8), 2892-2923.
- Boyapati, L., & Wang, H. L. (2007). The role of stress in periodontal disease and wound healing. *Periodontology 2000*, 44, 195-210.
- Burgess, C. (2008). Topical vitamins. *Journal of drugs in dermatology*, 7(7), s2-s6.
- Burke, J. F., Yannas, I. V., Quinby, W. C., Bondoc, C. C., & Jung, W. K. (1981). Successful use of a physiologically acceptable artificial skin in the treatment of extensive burn injury. *Annals of Surgery*, 194(4), 413-428.
- Campos, A. C., Groth, A. K., & Branco, A. B. (2008). Assessment and nutritional aspects of wound healing. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 11(3), 281-288.
- Chen, F. M., Zhang, M., & Wu, Z. F. (2010). Toward delivery of multiple growth factors in tissue engineering. *Biomaterials*; 31(24), 6279-6308.
- Cito, S., Mazzeo, M. D., & Badimon, L. (2013). A Review of macroscopic thrombus modeling methods. *Thrombosis Research*, 131(2), 116-124.
- Corley, K. G., Olivier, A. K., Meyerholz, D. K. (2013). Principles for valid histopathologic scoring in research. *Veterinary Pathology*, 50(6), 1007-1015.
- DaCosta, M. L., Regan, M. C., al Sader, M., Leader, M., & Bouchier, H. D. (1998). Diphenylhydantoin sodium promotes early and marked angiogenesis and results in increased collagen deposition and tensile strength in healing wounds. *Surgery*, 123(3), 287-293.
- Deachamag, P., Intaraphad, U., Phongdara, A. & Chotigeat, W. (2006). Expression of phagocytosis activating protein (PAP) gene in immunized black tiger shrimp. *Aquaculture*. 255, 165-172.
- Edwards, R., & Harding, K. G. (2004). Bacteria and wound healing. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 17(2), 91-96.
- Enoch, S., & Leaper, J. D. (2006). Basic science of wound healing. *Surgery*, 23(2), 31-37.

- Falabella, A. F. (2006). Debridement and wound bed preparation. *Dermatologic Therapy*, 19(6), 317–325.
- Farstvedt, E., Stashak, T. S., & Othic, A. (2004). Update on topical wound medications. *Clinical. Techniques in Equine Practice*, 3, 164–172.
- Franz, G. M. (2010). Wound healing. In G. M. Doherty (Ed.), *Current diagnosis and treatment surgery*. New York: McGraw-Hill.
- Fukunaga, A., Naritaka, H., Fukaya, R., Tabuse, M., & Nakamura, T. (2006). Our method of povidone-iodine and gauze dressings reduced catheter-related infection in serious cases. *Dermatology*, 212(1), 47–52.
- Gabriela, C.-M., & Hajjar, A. K. (2005). Molecular mechanics of fibrinolysis. *British Journal of Haematology*, 129(3), 307–321.
- Gilliver, S. C., Ashworth, J. J., & Ashcroft, G. S. (2007). The hormonal regulation of cutaneous wound healing. *Clinics in Dermatology*, 25(1), 56-62.
- Godbout, J. P., & Glaser, R. (2006). Stress-induced immune dysregulation: Implications for wound healing, infectious disease and cancer. *Journal of Neuro Immune Pharmacology*, 1(4), 421-427.
- Goh, M., Hwang, Y., & Tae. (2016). Epidermal growth factor loaded heparin-based hydrogel sheet for skin wound healing. *Carbohydrate Polymers*, 147(2016), 251-260.
- Goldberg, M. T., Han, Y. P., Yan, C., Shaw, M. C., Garner, W.L. (2007). TNF-alpha suppresses alpha-smooth muscle actin expression in human dermal fibroblasts: An implication for abnormal wound healing. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(11), 2645-2655.
- Grellner, W., Vieler, S., & Madea, B. (2005). Transforming growth factors (TGF-alpha and TGF-beta1) in the determination of vitality and wound age: Immunohistochemical study on human skin wounds. *Forensic Science International*, 153(2-3), 174-180.
- Guo, S., & Dipietro, L. A. (2010). Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*, 89(3), 219-229.
- Gurtner, G. C., Werner, S., Barrandon, Y., & Longaker, M. T. (2008). Wound repair and regeneration. *Nature*, 453(7193), 314-321.

- Hankenson, K. D., Hormuzdi, S. G., Meganck, J. A., & Bornstein, P. (2005). Mice with a disruption of the thrombospondin 3 gene differ in geometric and biomechanical properties of bone and have accelerated development of the femoral head. *Molecular and Cellular Biology*, *25*(13), 5599-5606.
- Hardman, M. J., & Ashcroft, G. S. (2008). Estrogen, not intrinsic aging, is the major regulator of delayed human wound healing in the elderly. *Genome Biology*, *9*(5), 80.
- Heenan, A. (1998). *Frequently asked questions: Hydrocolloid dressings*. Retrieved February 14, 2017, from <http://www.worldwidewounds.com/1998/april/Hydrocolloid-FAQ/hydrocolloid-questions.html>
- Hoare, T. R., & Kohane, D. S. (2008). hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. *Polymer*, *49*(2008), 1993-2007.
- Hoekstra, M. J., Hermans, M. H., Richters, C. D., & Dutrieux, R. P. (2002). A histological comparison of acute inflammatory responses with a hydrofibre or tulle gauze dressing. *Journal of Wound Care*, *11*(3), 113–117.
- Huang, L., & Fu, L. (2015). Mechanisms of resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, *5*(5), 390-401.
- Junker, J. P., Kamel, R. A., Caterson, E. J., & Eriksson, E. (2013). Clinical impact upon wound healing and inflammation in moist, wet, and dry environments. *Advances in Wound care*, *2*(7), 348-356.
- Khimmakthong, U., Deachamag, P., Phongdara, A., & Chotigeat, W. (2011). Stimulating the immune response of *Litopenaeus vannamei* using the phagocytosis activating protein (PAP) gene. *Fish and Shellfish Immunology*, *31*(3), 415-422.
- Lindquist, J. N., Marzluff, W. F., & Stefanovic, B. (2000). Posttranscriptional regulation of type I collagen. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, *279*(3), G471-G476.
- Liu, A., Garg, P., Yang, S., Gong, P., Pallero, M. A., Annis, D. S.,... Goldblum, S. E. (2009). Epidermal growth factor-like repeats of thrombospondins activate phospholipase C and increase epithelial cell migration through indirect epidermal growth factor receptor activation. *Journal of Biological Chemistry*, *284*(10), 6389–6402.

- Lowe, J., & Menendez, D. (2014). A new inflammatory role for p53 in human macrophages. *Cell Cycle*, *13*(19), 2983-2984.
- Mani, H., Sidhu, G. S., Kumari, R., Gaddipati, J. P., Seth, P., & Maheshwari, R. K. (2002). Curcumin differentially regulates TGF- β 1, its receptors and nitric oxide synthase during impaired wound healing. *BioFactors*, *16*(1-2), 29-43.
- Martin, L., Wilson, C. G., Koosha, F., Tetley, L., Gray, A. I., Senel, S., & Uchegbu, I. F. (2002). The release of model macromolecules may be controlled by the hydrophobicity of palmitoyl glycol chitosan hydrogels. *Journal of Controlled Release*, *80*(1-3), 87-100.
- McDaniel, J. C., Belury, M., Ahijevych, K., & Blakely, W. (2008). Omega-3 fatty acids effect on wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, *16*(3), 337-345.
- Michell, J. A., Ali, F., Moreno, L., & Harrington, L. S. (2007). Role of nitric oxide and prostacyclin as vasoactive hormones released by the endothelium. *Experimental Physiology*, *93*(1), 141-147.
- Miyazono, K. (2000). Positive and negative regulation of TGF- β signaling. *Journal of Cell Science*, *113*(7), 1101-1109.
- Muller, A. W. (2002). Leukocyte-endothelial cell interactions in the inflammatory response. *Laboratory Investigation*, *82*(5), 521-533.
- Olayioye, A. A., Neve, R. M., Lane, H. A., & Hynes, N. E. (2000). The ErbB signaling network: Receptor heterodimerization in development and cancer. *The EMBO Journal*, *19*(13), 3159-3167.
- Pakyari, M., Farrokhi, A., Maharlooei, M. K., & Ghahary, A. (2013). Critical role of transforming growth factor beta in different phasas of wound healing. *Advances in Wound Care*, *2*(5), 215-224.
- Pastar, I., Stojadinovic, O., Yin, N. C., Ramirez, H., Nusbaum, A. G., Sawaya, A.,... Tomic, C. M. (2014). Epithelialization in wound healing: A comprehensive review. *Advances in Wound Care*, *3*(7), 445-464.
- Plikus, M. V., Guerrero, J. C. F., Ito, M., Li, Y. R., Dedhia, P. H., Zheng, Y.,... Cotsarelis, G. (2017). Regeneration of fat cells from myofibroblasts during wound healing. *Science*, *355*(6326), 748-752.

- Prematilleke, I., Mohan, V., Roberts, I., Protheroe, A., & Gatter, K. (2011). An easy cell counting method for immunohistochemistry that does not use an image analysis program. *Histopathology*, *59*, 786-803.
- Puchadapirom, P. (2013). The usage of immunofluorescent technique or immunohistochemistry for diagnostic histopathology. *Journal of Applied Animal Science*, *6*(3), 9-17.
- Purner, S. K., & Babu, M. (2000). Collagen based dressings-a review. *Burns*, *26*(1), 54-62.
- Queen, D., Orsted, H., Sanada, H., & Sussman, G. (2004). A dressing history. *International Wound Journal*, *1*(1), 59-77.
- Rodriguez, P.G, Felix, F. N, Woodley, D. T, & Shim, E. K. (2008). The role of oxygen in wound healing: A review of the literature. *Dermatologic Surgery*, *34*(9), 1159-1169.
- Rolfe, J. K., Richardson, J., Vigor, C., Irviner, M. L., Grobbelaar, O. A., & Linge, C. (2007). A role for TGF- β 1-induced cellular responses during wound healing of the non-scarring early human fetus? *Journal of Investigative Dermatology*, *127*(11), 2656-2667.
- Rosenfeld, O. Y., Boggs, K., Michael, D., Kastan, B. M., & Oren, M. (2008). Mdm2 regulates p53 mRNA translation through inhibitory interactions with ribosomal protein L26. *Molecular Cell*, *32*(2), 180-189.
- Rothe, M., & Falanga, V. (1989). Growth factors, their biology and promise in dermatologic disease and tissue repair. *Archives of Dermatology*, *125*(10), 1390-1398.
- Schwartz, I. S., Fischer, E. J., Daly, M. J., Galloway, C. A., Shires, T. G., & Spencer, C. F. (1998). *Principles of surgery, companion handbook* (7 th ed.). New York: McGraw-Hill.
- Segade, F., Claudio, E., Hurlé, B., Ramos, S., & Lazo, P. S. (1996). Differential regulation of the murine ribosomal protein L26 gene in macrophage activation. *Life Sciences*, *58*(4), 277-285.
- Shepherd, A. A. (2003). Nutrition for optimum wound healing. *Nursing Standard*, *18*(6), 55-58.

- Shetty, S., Graham, B. A., Brown, J. G., Hu, X., Yarema, N. V., Harding, G.,... Gibson, S. B. (2005). Transcription factor NF- κ B differentially regulates death receptor 5 expression involving histone deacetylase 1. *Molecular and Cellular Biology*, 25(13), 5404-5416.
- Shingel, K. I., Faure, M. P., Azoulay, L., Roberge, C., & Deckelbaum, R. J. (2008). Solid emulsion gel as a vehicle for delivery of polyunsaturated fatty acids: Implications for tissue repair, dermal angiogenesis and wound healing. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 2(7), 383-393.
- Siritientong, T., Angspatt, A., Ratanavaraporn, J., & Aramwit, P. (2014). Clinical potential of a silk sericin-releasing bioactive wound dressing for the treatment of split-thickness skin graft donor sites. *Pharmaceutical Research*, 31(1), 104-116.
- Sternberg, E. M. (2006). Neural regulation of innate immunity: A coordinated nonspecific host response to pathogens. *Nature Reviews Immunology*, 6(4), 318-328.
- Swift, M. E., Burns, A. L., Gray, K. L., & Dipietro, L. A. (2001). Age-related alterations in the inflammatory response to dermal injury. *Journal of Investigative Dermatology*, 117(5), 1027-1035.
- Takimoto, R., & Eldeiry, W. S. (2000). Wild-type p53 transactivates the KILLER/DR5 gene through an intronic sequence-specific DNA-binding site. *Oncogene*, 19(14), 1735-1743.
- Tandara, A. A., & Mustoe, T. A. (2004). Oxygen in wound healing-more than a nutrient. *World Journal of Surgery*, 28(3), 294-300.
- Terzian, T., & Lozano, G. (2010). Building p53. *Genes & Development*, 24, 2229-2232.
- Thomas, A., Harding, K. G., & Moore, K. (2000). Alginates from wound dressings activate human macrophages to secrete tumour necrosis factor- α . *Biomaterials*, 21(17), 1797-1802.
- Thomas, S., & Loveless, P. A. (1997). *A comparative study of the properties of twelve hydrocolloid dressings*. Retrieved February 14, 2017, from <http://www.worldwidewounds.com/1997/july/Thomas-Hydronet/hydronet.html>

- Vileikyte, L. (2007). Stress and wound healing. *Clinics in Dermatology*, 25(1), 49-55.
- Werner, S., & Grose, R. (2003). Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiological Reviews*, 83(3), 835-870.
- Whitaker, M. J., Quirk, R. A., Howdle, R. A., & Shakesheff, K. M. (2001). Growth factor release from tissue engineering scaffolds, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53(11), 1427-1437.
- Zomer, H. D., & Trentin, A. G. (2018). Skin wound healing in humans and mice: Challenges in translational research. *Journal of Dermatological Science*, 90(1), 3-12.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
 สำเนาหนังสือรับรองจากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์
 ของสถาบันมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



ที่ ศธ 0521.11/ 1318

สำนักวิจัยและพัฒนา
 เลขที่ 15 ถนนกาญจนวนิช
 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
 อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110

Ref:62/2017

หนังสือรับรอง

รหัสโครงการ 2560 - 06 - 061
 โครงการวิจัย ประเมินประสิทธิภาพการรักษาแผลและความปลอดภัยของไฮโดรเจลผสมพลาโซโตซิส
 แอคติวเวตติ้งโปรตีนและอีพีเดอมีลโกรทแฟคเตอร์
 นักวิจัย ดร.ภก.ฉันท์ สุวรรณเดชา
 สังกัด คณะวิทยาศาสตร์

ได้ผ่านการพิจารณาและเห็นชอบจาก คณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ของสถาบัน
 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยขอให้รายงานความก้าวหน้าของโครงการวิจัยทุก 6 เดือน

ให้ไว้ ณ วันที่ 18 ธันวาคม 2560

ดร.วันทนา เจริญมงคล

(รองศาสตราจารย์ ดร.วันทนา เจริญมงคล)
 รองประธานคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ของสถาบัน
 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วันที่รับรอง: 1 มกราคม 2561

วันหมดอายุ: 31 มีนาคม 2561

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล	นางสาวปภัสรา ช้างกลาง	
รหัสประจำตัวนักศึกษา	5910220042	
วุฒิการศึกษา		
วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
พยาบาลศาสตรบัณฑิต	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2558

ทุนการศึกษาที่ได้รับในระหว่างการศึกษา

ทุนผลการเรียนดีเด่นเข้าศึกษาระดับปริญญาโท ประจำปีการศึกษา 2559

ทุนผู้ช่วยสอน ประจำปีการศึกษา 2560

ทุนจากโครงการวิจัย Super cluster

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

ปภัสรา ช้างกลาง, และฉันทน์ สุวรรณเดชา. (2560). การประเมินประสิทธิภาพการรักษาแผลของไฮโดรเจลผสมฟากโซโตซิสแอกติเวติงโปรตีนและทอรัมโบสปอนดิน. ใน บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร (บรรณาธิการ), การประชุมวิชาการบัณฑิตศึกษาระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 8 เรื่อง “ประเทศไทย 4.0 นวัตกรรมสร้างสรรค์สู่การพัฒนาที่ยั่งยืน” (หน้า S131-S142). กรุงเทพมหานคร: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร.