

จากผลการศึกษาในปีที่ 1 เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ไหมไทยที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้ผลิตแผ่นเนื้อเยื่อปิดแผลพบว่า ไหมสายพันธุ์จูล 1/1 เหมาะสมต่อการนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์เนื่องจากมีคุณสมบัติในการกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนได้ดี เมื่อนำมาผสมกับโพลิเมอร์ได้แก่ polyvinyl alcohol และผ่านกระบวนการ freeze-drying พบว่าแผ่นเนื้อเยื่อที่ได้มีคุณสมบัติทางกายภาพที่เหมาะสม มีความคงตัวดีแต่สามารถละลายน้ำได้ง่าย ด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นต้องผ่านกระบวนการเชื่อมโยงข้ามซึ่งอาจเป็นกระบวนการเชื่อมโยงข้ามทางกายภาพหรือทางเคมี จากการทดลองโดยแช่แผ่นเนื้อเยื่อปิดแผลจากโปรตีนกาวไหมในแอลกอฮอล์ซึ่งเป็นกระบวนการเชื่อมโยงข้ามทางกายภาพ โดยใช้แอลกอฮอล์ในความเข้มข้นร้อยละ 60 ถึง 99.6 พบว่าแอลกอฮอล์สามารถเชื่อมโยงข้ามแผ่นเนื้อเยื่อปิดแผลจากโปรตีนกาวไหมได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 70 และ 80 เหมาะสมต่อการนำมาใช้มากที่สุดเนื่องจากให้แผ่นที่เรียบเนียนสม่ำเสมอ มีความคงตัวและมีความยืดหยุ่นดี ขนาดรูพรุนพอเหมาะและในขณะเดียวกันสามารถปลดปล่อยโปรตีนกาวไหมออกมาในระดับที่สามารถกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนได้ อย่างไรก็ตาม แผ่นเนื้อเยื่อปิดแผลจากโปรตีนกาวไหมที่ผ่านกระบวนการเชื่อมโยงข้ามด้วยแอลกอฮอล์จะต้องมีลักษณะเปื่อยขึ้นตลอดเวลา หากสูญเสียความชุ่มชื้นแผ่นจะเกิดการหดตัวและไม่เรียบเนียนซึ่งอาจก่อให้เกิดความระคายเคืองแก่บาดแผลได้ เมื่อศึกษาเพิ่มเติมโดยใช้สารสกัดจากดอกพุดที่เรียกว่า genipin มาใช้เป็นสารเชื่อมโยงข้ามทางเคมีในความเข้มข้นร้อยละ 0.01-0.1 พบว่า แผ่นเนื้อเยื่อปิดแผลจากโปรตีนกาวไหมที่ผ่านกระบวนการเชื่อมโยงข้ามด้วย genipin มีคุณลักษณะที่ดีขึ้นเช่นเดียวกับแผ่นที่ผ่านกระบวนการเชื่อมโยงข้ามด้วยแอลกอฮอล์ อีกทั้งแผ่นดังกล่าวยังเป็นแผ่นที่มีลักษณะแห้ง ไม่จำเป็นต้องเปื่อยขึ้นตลอดเวลา จึงถูกเลือกนำมาใช้ทดสอบประสิทธิภาพของแผ่นเนื้อเยื่อปิดแผลจากโปรตีนกาวไหมในสัตว์ทดลอง

ผลการศึกษาในหนูทดลองพบว่า แผ่นเนื้อเยื่อปิดแผลจากโปรตีนกาวไหมสามารถเพิ่มอัตราการหายของบาดแผลได้เมื่อเปรียบเทียบกับแผ่นปิดแผลที่มีอยู่ในท้องตลาด (Tegaderm Two-in-One Maxi[®]) โดยไม่ก่อให้เกิดการแพ้หรือระคายเคือง นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มการสร้างหลอดเลือด (neovascularization) และเพิ่มปริมาณคอลลาเจนในบาดแผลได้ เมื่อเปรียบเทียบผลทาง histology พบว่าเนื้อเยื่อหนูจากบาดแผลที่ได้รับการรักษาด้วยแผ่นเนื้อเยื่อปิดแผลจากโปรตีนกาวไหมมีปริมาณเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบซึ่งได้แก่ macrophage ในปริมาณที่น้อยกว่าแผลที่ได้รับการรักษาด้วยผลิตภัณฑ์ในท้องตลาด อีกทั้งยังมีปริมาณ calcification ในเนื้อเยื่อน้อยกว่า ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าบาดแผลที่ได้รับการรักษาด้วยแผ่นเนื้อเยื่อปิดแผลจากโปรตีนกาวไหมมีโอกาสเกิดแผลเป็นได้ต่ำกว่า และเหมาะสมที่จะนำมาศึกษาประสิทธิภาพในมนุษย์ต่อไป

From previous study, we found that Thai silk strain Chul 1/1 exhibits the best property for silk scaffold application since it can activate the highest collagen production from fibroblast cells. Moreover, silk sericin can be blended well with polymers especially polyvinyl alcohol (PVA) and exhibited good physical properties scaffold after freeze-drying. Even though the scaffold obtained were stable at room temperature, it completely dissolved after immersion in water. Cross-linking process, either physical or chemical, is necessary in order to obtain more stable scaffold after water immersion. Ethyl alcohol at concentration 60-99.6% can do the physical cross-linking of silk sericin scaffold. However, 70 and 80% ethyl alcohol is the optimum concentration in order to obtain homogeneous and stable scaffold with good elastic strength. Silk sericin scaffold can also release appropriate amount of sericin which is an important factor for collagen production after water immersion while maintain its physical structure. The only disadvantage of alcohol cross-linking sericin scaffold is the shrinkage of scaffold after getting dry which can cause irritation to wounds.

Chemical cross-linking by genipin, an herbal substance, is also a good alternative for silk sericin scaffold. Genipin concentration between 0.01-0.1% can effectively cross-linking and give stable, homogeneous, good elastic strength similar to sericin scaffold cross-linked by ethyl alcohol. The amount of sericin released from scaffold is also quite similar on both cases. Moreover, silk sericin scaffold cross-linked by genipin can be stable at dry stage which is preferable and was used for animal study.

The results from animal study after applying silk sericin scaffold to full-thickness skin wound compared with commercial product (Tegaderm Two-in-One Maxi[®], control wound) showed that silk sericin scaffold can accelerate the wound healing process as shown by the length of epithelial tips and time for wound closure. Moreover, neovascularization and collagen from wounds treated with sericin scaffolds are higher compared with control wounds. Macrophage cell, which is related to inflammatory reaction, are less in wounds treated with sericin scaffold. We also believed that wounds treated with sericin scaffold would exhibit less scar formation since the amount of calcification is much lower compared with control wounds. Further investigation should be done on the benefit of silk sericin scaffold for wound care in human subjects.