



รายงานการวิจัย

ผลของสารอะซีแมนแนนซึ่งสกัดจากส่วนวุ้นว่านหางจระเข้ต่อแผลในช่องปาก
หนูทดลองที่เป็นเบาหวาน

Effect of acemannan, *Aloe vera* gel extract, on oral ulcer in diabetic rat

หัวหน้าโครงการวิจัย

อ.ทญ.ดร.นวกรณ์ จิตตภิรมย์ศักดิ์

ภาควิชาทันตกรรมบูรณะ คณะทันตแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยนเรศวร

ผู้ร่วมวิจัย

อ.ทญ.ดร.สุวิมล เจตนาเชี่ยวชาญกิจ

ภาควิชาชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยนเรศวร

ศ.ทพ.ดร.พสุธา ธัญญะกิจไพศาล

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

พ.ศ. 2557



รายงานการวิจัย

ผลของสารอะซีแมนแนนซึ่งสกัดจากส่วนวุ้นว่านหางจระเข้ต่อแผลในช่องปาก
หนูทดลองที่เป็นเบาหวาน

Effect of acemannan, *Aloe vera* gel extract, on oral ulcer in diabetic rat

หัวหน้าโครงการวิจัย

อ.ทญ.ดร.นวกรณ์ จิตตภิรมย์ศักดิ์

ภาควิชาทันตกรรมบูรณะ คณะทันตแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยนเรศวร

ผู้ร่วมวิจัย

อ.ทญ.ดร.สุวิมล เจตนาเชี่ยวชาญกิจ

ภาควิชาชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยนเรศวร

ศ.ทพ.ดร.พสุธา ธัญญะกิจไพศาล

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

พ.ศ. 2557

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2555 คณะผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณสำนักคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่านอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ ศ.(พิเศษ) ทย.ดร.วิสาขะ ลิ้มวงศ์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร รศ.ทย.ดอลลี เมธาธราธิป คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย รศ.ดร.พลกฤษณ์ แสงวณิช คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ผศ.ดร.วันเพ็ญ เตชะบุญเกียรติ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และรศ.สพ.ดร.วิจิตร บรรณาราศ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้คำแนะนำในการทำวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณหน่วยปฏิบัติการวิจัยและพัฒนาสมุนไพรและสารจากธรรมชาติเพื่อการประยุกต์ใช้ในทางทันตกรรม คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และศูนย์วิจัยชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร และนักวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในการดำเนินการวิจัยตลอดโครงการ

นอกจากนี้ยังขอขอบคุณศูนย์สัตว์ทดลองเพื่อการวิจัย มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่อำนวยความสะดวกและให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการดำเนินการวิจัย

คณะผู้วิจัย

ชื่อโครงการ ผลของสารอะซีแมนแนนซึ่งสกัดจากส่วนฐานรากของเหงือกในช่องปากหนูทดลองที่เป็นเบาหวาน

Effect of acemannan, *Aloe vera* gel extract, on oral ulcer in diabetic rat

ระยะเวลาทำวิจัย 1 ปี 8 เดือน ตั้งแต่ 31 สิงหาคม 2555 ถึง 30 เมษายน 2557

คณะผู้วิจัย 1. อ.ทย.ดร. นวกรณ์ จิตตภิรมย์ศักดิ์

ภาควิชาทันตกรรมบูรณะ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

ต.ท่าโพธิ์ อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000

โทรศัพท์ 055-966-066

2. อ.ทญ.ดร. สุวิมล เจตนาเชี่ยวชาญกิจ

ภาควิชาชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

ต.ท่าโพธิ์ อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000

โทรศัพท์ 055-966-066

3. ศ.ทพ.ดร. พสุธา ธีรญะกิจไพศาล

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ถนนอังรีดูนังต์ เขตปทุมวัน กทม. 10330

โทรศัพท์ 0-2218-8885

บทคัดย่อ

แผลในช่องปากเป็นรอยโรคที่พบได้บ่อย ก่อให้เกิดความเจ็บปวดและส่งผลต่อการใช้ชีวิตประจำวันของผู้ป่วย โดยเฉพาะผู้ป่วยที่มีภาวะซึ่งทำให้การหายของแผลช้าลง เช่น เบาหวาน การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลสารอะซีแมนแนนต่อการหายของแผลในช่องปากหนูทดลองในสภาวะเบาหวาน โดยหนูจะถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานโดยฉีดสารสเตريبโทโซโทซิน สร้างบาดแผลจำลองบริเวณกึ่งกลางเพดานปากด้วยการทำฟันซี่ไบออปซี่ และทดสอบต่าง ๆ (สารอะซีแมนแนนความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1 สารคาร์โบพอลเปล่า น้ำเกลือปราศจากเชื้อ และยาไตรแอมซิโนโลน อะเซโทไนด์) ทุกวันเป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นทำการวัดขนาดบาดแผล ณ วันที่ 7 และศึกษาลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาโดยการย้อมสีฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน และศึกษาการสร้างคอลลาเจนบริเวณบาดแผลด้วยการย้อมสีแมมซอส ไตรโครม นอกจากนี้ยังทำการศึกษาผลของความคงตัวของสารอะซีแมนแนนเมื่อเก็บรักษาที่สภาวะเร่งเป็นเวลา 3 และ 6 เดือนด้วยการสังเกตสเปกตรัม ^1H nuclear magnetic resonance (NMR) ผลการศึกษาพบว่า หนูทดลองกลุ่มที่ได้รับการทา

สารอะซีแมนแนนความเข้มข้นร้อยละ 0.5 มีขนาดแผลเล็กกว่ากลุ่มที่ได้รับการทาสารคาร์โบพอลเปล่าน้ำเกลือปราศจากเชื้อ และยาไตรแอมซิโนโลน อะเซโทไนด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$, $n = 5$) การศึกษาลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาพบว่า บาดแผลที่ได้รับการทาสารอะซีแมนแนนความเข้มข้นร้อยละ 0.5 มีการสร้างชั้นเยื่อผิวใหม่ปกปิดบาดแผลเร็วกว่ากลุ่มทดสอบอื่น และบาดแผลที่ได้รับสารอะซีแมนแนนทั้งสองความเข้มข้นมีปริมาณคอลลาเจนมากกว่ากลุ่มที่ได้น้ำเกลือปราศจากเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$, $n = 5$) เมื่อวิเคราะห์สารอะซีแมนแนนที่เก็บในสภาวะเร่งเป็นเวลา 3 และ 6 เดือนพบว่า ยังคงมีสเปกตรัมของอะซีแมนแนนสอดคล้องกับสารอะซีแมนแนนที่ผลิตใหม่ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า สารอะซีแมนแนนมีผลกระตุ้นการหายของแผลในช่องปากหนูทดลองที่เป็นเบาหวาน และสารอะซีแมนแนนยังคงอยู่ภายหลังจากการเก็บในสภาวะเร่งเป็นเวลา 6 เดือน

คำสำคัญ วานทางจระเข้ สารอะซีแมนแนน หนูทดลอง แผลในช่องปาก เบาหวาน ความคงตัว

Abstract

Oral ulcer is the most common lesion in the oral cavity, leading to the pain and affecting the quality of life especially in the patient with systemic disease, such as diabetes. The objective of this study was to evaluate the effect of acemannan on diabetic oral wound healing in rat. The diabetes rats were induced by streptozotocin injection. A wound was made on the midline of hard palate using a punch biopsy. The animals were treated with various agents (0.5% acemannan, 1% acemannan, plain carbopol, normal saline, and triamcinolone acetonide) once a day for 7 days. After that, the wound area was measured at day 7 and then the histopathologic study by hematoxylin and eosin staining was performed. The amount of collagen in the wound was evaluated in the slide which stained with Masson's trichrome. In addition, stability of acemannan in the accelerated storage condition was observed by ^1H nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. From this study, the wound area of animals receiving 0.5% acemannan was significantly smaller than that of the plain carbopol, normal saline and triamcinolone acetonide groups ($p < 0.05$, $n = 5$). The histopathologic study showed that the 0.5% acemannan-treated wound has more re-epithelialization than the others groups. The collagen of the acemannan-treated wound

was significantly higher than the normal saline-treated wound ($p < 0.05$, $n = 5$). After incubated in the accelerated condition for 3 and 6 months, the NMR spectrum of acemannan was consistent with the fresh one. In the conclusion, acemannan accelerated oral wound healing in diabetes condition. Acemannan was stable in the accelerated storage condition for 6 months.

Key words: *Aloe vera*, acemannan, rat, oral ulcer, diabetes, stability

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	iii
บทคัดย่อ.....	v
สารบัญเรื่อง.....	vii
สารบัญภาพ.....	viii
บทนำ.....	1
การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	2
วิธีดำเนินการวิจัย.....	4
ผลการวิจัย.....	7
การอภิปรายและวิจารณ์ผลการวิจัย.....	19
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	22
บรรณานุกรม.....	23
ประวัตินักวิจัย.....	29

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ผลจากเครื่อง High performance liquid chromatography ของสารอะซีแมนแนน	7
2 สเปกตรัมของสารอะซีแมนแนนจากการวิเคราะห์ด้วย FTIR spectroscopy.....	8
3 FTIR spectrum ของสารอะซีแมนแนนจากรายงานของ McAnalley	8
4 ตัวอย่างแผลบริเวณเพดานปากหนูทดลองที่เหนียวน้ำให้เป็นเบาหวาน และทดสอบเป็นเวลา 7 วัน.....	9
5 การวิเคราะห์ขนาดแผลที่ทำด้วยสารทดสอบเป็นเวลา 7 วัน.....	10
6 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของบาดแผลหนูทดลองกลุ่มที่ทดสอบอะซีแมนแนน ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 เป็นเวลา 7 วัน.....	11
7 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของบาดแผลหนูทดลองกลุ่มที่ทดสอบอะซีแมนแนน ความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 7 วัน.....	12
8 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของบาดแผลหนูทดลองกลุ่มที่ทดสอบคาร์โบพอลเปล่า เป็นเวลา 7 วัน.....	13
9 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของบาดแผลหนูทดลองกลุ่มที่ทานน้ำเกลือปราศจากเชื้อ เป็นเวลา 7 วัน.....	14
10 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของบาดแผลหนูทดลองกลุ่มที่ทายาไตรแอมซิโนโลน อะเซโทไนด์ เป็นเวลา 7 วัน.....	15
11 การวิเคราะห์ชิ้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของบาดแผลที่ย้อมด้วยสีแมชของส์ ไตรโครม.....	16
12 สเปกตรัม ^1H NMR ของสารอะซีแมนแนนที่เก็บไว้ในสภาวะเร่งเป็นเวลานาน 6 เดือน.....	17
13 สเปกตรัม ^1H NMR ของสารอะซีแมนแนนที่เก็บไว้ในสภาวะเร่งเป็นเวลานาน 3 เดือน.....	17
14 สเปกตรัม ^1H NMR ของสารอะซีแมนแนนที่ผลิตใหม่.....	18
15 สเปกตรัม ^1H NMR ของสารอะซีแมนแนนจากการทดลองของ Ray และ Aswatha.....	22

บทนำ

แผลในช่องปากเป็นรอยโรคที่พบได้บ่อย และก่อให้เกิดความเจ็บปวด ส่งผลกระทบต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีโรคทางระบบ ผู้ป่วยที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกันหรือมีภาวะขาดสารอาหาร เป็นต้น⁽¹⁾ โรคเบาหวานเป็นโรคทางระบบที่มีความบกพร่องของการสร้างและ/หรือการทำหน้าที่ของอินซูลิน ทำให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูง นำไปสู่โรคแทรกซ้อนหลายประการ รวมไปถึงความผิดปกติของขบวนการหายของแผล ได้แก่ การขาดออกซิเจนบริเวณบาดแผล ความผิดปกติของเม็ดเลือดขาวในการต่อต้านเชื้อโรค^(2, 3) ความบกพร่องในการสร้างเส้นใยคอลลาเจนมาทดแทนเนื้อเยื่อที่เสียหาย^(2, 4, 5) จึงทำให้บาดแผลของผู้ป่วยเบาหวานหายช้า และง่ายต่อการเกิดการติดเชื้อซ้ำ⁽²⁻⁴⁾ มีการศึกษามากมายมุ่งเน้นวิธีการเพื่อช่วยส่งเสริมการหายของแผลเบาหวาน เช่น การใช้สารโกรทแฟกเตอร์⁽⁶⁻⁹⁾ และการให้ออกซิเจนเข้มข้น^(10, 11) อย่างไรก็ตามวิธีการดังกล่าวมีค่าใช้จ่ายสูง ขั้นตอนสลับซับซ้อน โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้อคำนึงในแง่ความปลอดภัยเนื่องจากสารโกรทแฟกเตอร์ผลิตจากเทคนิคพันธุวิศวกรรม คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษาการนำวุ้นหางจระเข้ ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรที่ใช้ในการรักษาแผลบริเวณผิวหนังมาประยุกต์ใช้ในการรักษาบาดแผลในช่องปากในผู้ป่วยเบาหวาน มีรายงานในหนูทดลองที่เป็นเบาหวานพบว่า วุ้นวุ้นหางจระเข้สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือด ส่งเสริมการสร้างเส้นใยคอลลาเจนบริเวณผิวหนัง และมีการหายของแผลที่เร็วขึ้น⁽¹²⁾

สารอะซีแมนแนนเป็นสารกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้จากวุ้นวุ้นหางจระเข้ มีความสามารถในการกระตุ้นการทำงานของเม็ดเลือดขาว^(13, 14) ต้านมะเร็งในสัตว์ทดลอง⁽¹⁵⁾ จากการศึกษาเบื้องต้นนี้ของคณะผู้วิจัยพบว่า สารอะซีแมนแนนสามารถส่งเสริมการหายของแผลในช่องปากของหนูทดลอง โดยสารอะซีแมนแนนสามารถเหนี่ยวนำการเพิ่มจำนวนเซลล์ของเซลล์สร้างเส้นใยเหงือก กระตุ้นการสร้างเส้นใยคอลลาเจน และวาสคูลาเอนโดทีเลียลโกรทแฟกเตอร์ซึ่งเป็นโกรทแฟกเตอร์ที่จำเป็นต่อการสร้างหลอดเลือดใหม่ เพื่อนำออกซิเจนและสารอาหารที่จำเป็นเข้ามาสู่บาดแผล⁽¹⁶⁾ คณะผู้วิจัยจึงเล็งเห็นความเป็นไปได้ในการนำสารอะซีแมนแนนมาใช้เป็นสารออกฤทธิ์หลักในยาสมานแผลเพื่อส่งเสริมการหายของแผลในช่องปากในผู้ป่วยเบาหวาน ดังนั้นจึงมีแนวคิดจะทำการศึกษาเบื้องต้นในหนูทดลองที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน ประโยชน์ที่ได้จากการศึกษานี้จะเป็นการสร้างองค์ความรู้เกี่ยวกับสารอะซีแมนแนนต่อการหายของแผลในช่องปากในภาวะเบาหวาน และเป็นประโยชน์แก่การพัฒนานำสารอะซีแมนแนนมาใช้ในทางทันตกรรมต่อไปในอนาคต

การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

การหายของแผลในช่องปาก⁽¹⁷⁻¹⁹⁾ และแผลเบาหวาน

การหายของแผลในช่องปากมีขั้นตอนคล้ายกับการหายของบาดแผลทั่วไปของร่างกาย โดยสามารถแบ่งได้เป็น 3 ขั้นตอนที่เกี่ยวข้องต่อเนื่องกันไป ไม่สามารถแบ่งแยกได้อย่างชัดเจน ได้แก่ ระยะอักเสบ (inflammatory phase) ระยะการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ (proliferative phase) และการปรับปรุงเนื้อเยื่อที่สร้างขึ้นใหม่ (remodeling phase)

เมื่อเกิดบาดแผลและมีการฉีกขาดของหลอดเลือด เซลล์บุหลอดเลือด (endothelial cells) และเกร็ดเลือด (platelets) จะมีการสร้างลิ่มเลือด (blood clot) เพื่อหยุดการสูญเสียเลือดออกจากร่างกาย ในลิ่มเลือดที่สร้างขึ้นนี้จะมีไซโตไคน์ต่างๆ (cytokines) เช่น อินเตอร์ลิวคิน-1 (interleukin-1), ทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์-แอลฟา (tumor necrosis factor- α), ทรานฟอร์มมิงโกรทแฟกเตอร์-เบต้า (transforming growth factor- β) ซึ่งจะเหนี่ยวนำให้นิวโทรฟิล (neutrophils) และแมโครฟาจ (macrophages) เข้ามาสู่บาดแผลเพื่อทำลายสิ่งแปลกปลอม เชื้อโรคและเนื้อเยื่อที่ตาย

ระยะต่อมาบาดแผลจะเข้าสู่ระยะการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ โดยเซลล์บุผิว (epithelial cells) บริเวณขอบของบาดแผลจะเริ่มเพิ่มจำนวน (proliferation) และเคลื่อนที่ (migration) เข้าสู่บริเวณบาดแผลเพื่อป้องกันการติดเชื้อและการสูญเสียน้ำ ในขณะเดียวกันเซลล์สร้างเส้นใย (fibroblasts) ก็มีการเพิ่มจำนวน เคลื่อนที่ และสร้างโปรตีนต่างๆ เพื่อสร้างเนื้อเยื่อใหม่ โปรตีนต่างๆ เหล่านี้ เช่น เคอราติโนไซต์โกรทแฟกเตอร์-1 (keratinocyte growth factor-1; KGF-1) ซึ่งสามารถส่งเสริมการเพิ่มจำนวนของเซลล์บุผิว วาสคิวลาเอนโดทีเลียลโกรทแฟกเตอร์ (vascular endothelial growth factor; VEGF) ซึ่งเป็นโกรทแฟกเตอร์ที่มีผลเหนี่ยวนำการสร้างหลอดเลือดใหม่ (angiogenesis) เพื่อนำสารอาหารและออกซิเจนเข้าสู่บริเวณบาดแผล คอลลาเจนชนิดที่หนึ่ง (type I collagen) ซึ่งเป็นเมทริกซ์ระหว่างเซลล์ (extracellular matrix) ทำให้เนื้อเยื่อที่สร้างขึ้นใหม่มีความแข็งแรงขึ้น

เมื่อเวลาผ่านไป บาดแผลจะเข้าสู่ระยะปรับปรุงเนื้อเยื่อ เพื่อปรับปรุงเส้นใยคอลลาเจนที่สร้างขึ้นใหม่ให้มีความเป็นระเบียบ มีการเชื่อมโยงระหว่างเส้นใยมากขึ้น เพื่อเพิ่มความแข็งแรงให้กับเนื้อเยื่อที่สร้างขึ้นใหม่

บาดแผลในผู้ป่วยเบาหวานเป็นบาดแผลเรื้อรังที่มีความผิดปกติของกระบวนการหายของแผลเนื่องจากหลายสาเหตุ ได้แก่ ความผิดปกติของหลอดเลือดขนาดเล็กทำให้บาดแผลขาดออกซิเจนและสารอาหารมาเลี้ยง การทำงานของเม็ดเลือดขาวบกพร่องทั้งในแง่การเคลื่อนที่เข้าสู่บริเวณบาดแผลและการกำจัดเชื้อโรค^(2, 3) เซลล์สร้างเส้นใยมีการเพิ่มจำนวนลดลง⁽⁴⁾ การสร้างเส้นใยคอลลาเจนลดลง^(2, 5) ทำให้แผลในผู้ป่วยเบาหวานหายช้า และง่ายต่อการติดเชื้อซ้ำ ถึงแม้ว่าการรักษาแผลเรื้อรังจะอาศัยหลักการการควบคุมและกำจัดสาเหตุของการเกิดแผลนั้น⁽²⁾ แต่หากสามารถควบคุมระดับน้ำตาล ร่วมกับการส่งเสริมการหายบริเวณบาดแผลให้เร็วขึ้น จะเป็นการลดความทรมาน และส่งเสริมคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยเบาหวานให้ดียิ่งขึ้น

ว่านหางจระเข้

ว่านหางจระเข้เป็นพืชสมุนไพรที่มีการใช้แพร่หลายมาช้านาน โดยใช้ทาบริเวณผิวหนังทั้งในแง่การรักษาบาดแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก น้ำแข็งกัด และการนำมาเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางหลายชนิด^(20, 21)

ว่านหางจระเข้มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Aloe barbadensis* Miller (*Aloe vera* Linn.) เป็นพืชในวงศ์ Liliaceae มีลักษณะเป็นพืชอวบน้ำ สามารถปลูกและขยายพันธุ์ได้ง่ายแม้ในที่กึ่งหนาว⁽²²⁾ ใบมีลักษณะเรียวยาว มีหนามตาขอบใบ ใบมีเปลือกหนาสีเขียวเข้มซึ่งคิดเป็นร้อยละ 20-30 ของน้ำหนักใบทั้งหมด และเนื้อด้านในมีลักษณะเป็นวุ้นใสซึ่งเป็นส่วนที่มีการสะสมน้ำ คิดเป็นร้อยละ 70-80 ของน้ำหนักใบทั้งหมด⁽²³⁾ ส่วนวุ้นใสด้านในนี้เองเป็นส่วนที่มีการนำมาใช้ทาบริเวณผิวหนังเพื่อบรรเทาอาการต่าง ๆ วุ้นใสของว่านหางจระเข้ประกอบด้วยน้ำร้อยละ 90-99 และส่วนประกอบอื่น ๆ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต วิตามิน เกลือแร่ และเอนไซม์ต่าง ๆ^(22, 23)

มีรายงานผลทางชีววิทยา (biological activity) ของวุ้นว่านหางจระเข้มากมาย เช่น มีผลเพิ่มความชุ่มชื้นบริเวณผิวหนัง⁽²⁴⁾ ลดการเกิดผื่นอักเสบ (erythema, irritant contact dermatitis)⁽²⁵⁾ ด้านเชื้อแบคทีเรีย (antibacterial activity)^(26, 27) เชื้อรา (antifungal activity)⁽²⁷⁾ และด้านการอักเสบ (antiinflammatory activity)^(28, 29) และส่งเสริมการหายของแผลบริเวณผิวหนัง^(12, 20, 30, 31) นอกจากนี้ยังมีรายงานในหนูทดลองที่เป็นเบาหวานพบว่า การบริโภครวุ้น (oral administration) วุ้นของว่านหางจระเข้สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือด และการบริโภครวุ้นและการทาวุ้นว่านหางจระเข้สามารถส่งเสริมการหายของแผลบริเวณผิวหนังได้⁽¹²⁾

สารอะซีแมนแนน

สารอะซีแมนแนนเป็นสารพอลิแซ็กคาไรด์หลักที่สกัดได้จากวุ้นว่านหางจระเข้ มีลักษณะโครงสร้างเป็นแมนโนสต่อกันเป็นสายยาว (β -(1,4)-polymannose) การวิเคราะห์ทางเคมีพบว่า สารอะซีแมนแนนประกอบด้วยแมนโนสถึงร้อยละ 93.4 และกลูโคสและกาแลคโตสประมาณร้อยละ 3^(13, 14)

การศึกษาในหนูทดลอง และสุนัขโดยให้บริโภครวุ้นสารอะซีแมนแนนพบว่า การให้สารอะซีแมนแนนความเข้มข้น 4,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวต่อวันในหนูทดลองเป็นเวลา 14 วัน และการให้สารอะซีแมนแนนความเข้มข้น 1,500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวต่อวันในสุนัขเป็นเวลา 90 วันไม่ก่อให้เกิดภาวะเป็นพิษเกิดขึ้น⁽³²⁾

สารอะซีแมนแนนมีคุณสมบัติกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (immunostimulant activity) โดยกระตุ้นการทำงานของแมคโครฟาจ และเดนไดรติกเซลล์ (dendritic cells) กระตุ้นการสร้างไซโตไคน์หลายชนิดจากแมคโครฟาจ เช่น กรานูโลไซท์โคโลนีสติมูเลตติ้งแฟคเตอร์ (granulocyte colony-stimulating factor) สเต็มเซลล์แฟคเตอร์ (stem cell factor) อินเตอร์ลิวคิน-6 (interleukin-6) และทูเมอร์เนคโครซิสแฟคเตอร์-แอลฟา^(13, 33, 34)

การศึกษาในหนูทดลองพบว่า สารอะซีแมนแนนสามารถส่งเสริมการหายของบาดแผลในช่องปากเมื่อทาอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 7 วัน และการศึกษาในระดับเซลล์พบว่า สารอะซีแมนแนนสามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างเส้นใยเหงือก (gingival fibroblasts) อีกทั้งเหนี่ยวนำการสร้างเคอราตินไซโตไคน์โกรทแฟคเตอร์-1 วาสคูลาเอนโดทีเลียลโกรทแฟคเตอร์ และคอลลาเจนชนิดที่หนึ่งจากเซลล์สร้างเส้นใยเหงือก⁽¹⁶⁾ จึงมีความเป็นไปได้ที่สารอะซีแมนแนนจะสามารถส่งเสริมการหายของแผลในช่องปากของผู้ป่วยเบาหวานได้

เช่นเดียวกับแผลปกติ โดยผ่านกระบวนการทั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ และส่งเสริมการสร้างโกรทแฟกเตอร์และโปรตีนที่เกี่ยวข้อง

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมสารอะซีแมนแนนจากวุ้นหางจระเข้⁽¹⁶⁾

การเตรียมสารอะซีแมนแนน ทำตามวิธีที่ผู้วิจัยเคยรายงานมาก่อนหน้านี้ กล่าวโดยย่อคือ นำใบวุ้นหางจระเข้ พันธุ์ *Aloe barbadensis* MILLER ที่มีความกว้างบริเวณโคนใบ 6-10 เซนติเมตรมาล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น และลอกส่วนผิวที่เป็นสีเขียวออก เหลือแต่ส่วนวุ้นใส ล้างด้วยน้ำกลั่นเพื่อกำจัดส่วนยางที่อาจปนเปื้อนกับส่วนวุ้น จากนั้นหั่นส่วนวุ้นใสเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 2x2x2 มิลลิเมตร แล้วทำให้ละเอียดด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ (homogenizer; Wheaton, NJ, USA) จากนั้นทำการปั่นแยกกากด้วยเครื่องปั่นตกตะกอนและตกตะกอนด้วยแอลกอฮอล์ ทำให้แห้งและเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ปริมาณสารอะซีแมนแนนที่เตรียมได้คิดเป็นร้อยละ 0.2

การพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารอะซีแมนแนน⁽¹⁶⁾

สารอะซีแมนแนนจะถูกนำมาพิสูจน์เอกลักษณ์ ผ่านเครื่อง high performance liquid chromatography และวิธี fourier transformed infrared (FTIR) spectroscopy

ขั้นตอนการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเครื่อง high performance liquid chromatography โดยย่อ คือ สารอะซีแมนแนนที่เตรียมได้จะถูกวิเคราะห์ด้วยเครื่อง high performance liquid chromatography (Shimadzu, Japan) และ reflective index detector (RID-10A; Shimadzu, Japan) โดยใช้ Sugar KS-804 column (8x300 mm; Shodex, Japan) และมีน้ำเป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และ flow rate 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที

ขั้นตอนการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วย FTIR spectroscopy โดยย่อ คือ ผสมสารอะซีแมนแนนที่เตรียมได้เข้ากับผงโปแตสเซียม โบรไมด์ (potassium bromide) และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Spectrum One FTIR spectrometer (PerkinElmer, Waltham, MA, USA) โดยบันทึกค่าในช่วงความยาวคลื่น 4000-400 cm^{-1}

การทดสอบสารอะซีแมนแนนต่อการหายของแผลในช่องปากหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน

วิธีการศึกษาดัดแปลงจากการศึกษาของ Kim และคณะ⁽³⁵⁾ และ Jettanacheawchankit และคณะ⁽¹⁶⁾ โดยผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการกำกับกรเลี้ยง และการใช้สัตว์ มหาวิทยาลัยนเรศวร (เลขที่โครงการ NU-AE550101 เลขที่เอกสารรับรอง 55 04 0011) โดยหนูทดลองที่ใช้ในการศึกษานี้ คือ หนูแรทพันธุ์ Sprague-Dawley เพศผู้ อายุ 8 สัปดาห์ น้ำหนักเฉลี่ย 300-400 กรัม จำนวน 25 ตัวจากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ ซึ่งจะถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานโดยการฉีดสารสเตรปโทโซโทซิน (streptozotocin, Sigma; St Louis, MO, USA) ความเข้มข้น 65 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว ล่วงหน้าก่อนวันทำการศึกษาคือ 2 วัน ในวันทำการศึกษาคือจะวัดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูทดลองด้วยเครื่องแอคคู-เช็ค เพอร์ฟอร์มา (ACCU-CHEK® Performa, Roche diagnostics GmbH, Germany) โดยหนูทดลองที่มีระดับน้ำตาลในเลือดมากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรจะถือว่าเป็นเบาหวาน จากนั้นแบ่งหนูทดลองออกเป็น 5 กลุ่มทดลอง (treatment) กลุ่มละ

5 ตัว หนูจะถูกให้ยาสลบโซลิติล (Zoletil®; chloral hydrate tiletamine และ chloral hydrate zolazepam, Verbac Laboratory; Carros Cedex; France) ฉีดเข้าช่องท้อง ขนาด 40 มิลลิกรัมต่อกรัมของ น้ำหนักตัว เมื่อหนูสลบจึงสร้างแผลบริเวณกึ่งกลางเพดานขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตรโดยใช้ 펀ช์ ไบออปชี (punch biopsy; Stiefel®; Italy) และห้ามเลือดจนหยุดสนิทด้วยสำลีพันปลายไม้ แล้วจึงทาสาร ทดสอบตามลำดับดังนี้

กลุ่มที่ 1 ทาสารคาร์โบพอลเปลา (carbopol, Lubrizol, USA) ซึ่งเป็นเจลเบส (gel base) เพื่อให้ สารอะซีแมนแนนอยู่ในรูปที่เหมาะสมกับการทำในช่องปาก

กลุ่มที่ 2 และ 3 ทาสารอะซีแมนแนนความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1 ซึ่งเตรียมในคาร์โบพอล

กลุ่มที่ 4 ทาน้ำเกลือปราศจากเชื้อ

กลุ่มที่ 5 ทายาไตรแอมซิโนโลน อะเซโทไนด์ (triamcinolone acetonide 0.1% in dental paste; Keno oral paste, T.O. Chemicals, Thailand)

หนูแต่ละกลุ่มจะถูกทำให้สลบด้วยการดมสารไอโซฟลูเรน (isoflurane; Baxter, Guayama, Puerto Rico) และทาสารทดสอบวันละหนึ่งครั้งจนครบ 7 วัน จึงให้การการุณาต (euthanasia) โดยใช้ก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์เกินขนาด (CO₂ overdose) แล้วเก็บซากกรรไกรบน ถ่ายภาพในลักษณะตั้งฉากกับบาดแผล โดยใช้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (stereomicroscope BX50, Olympus; Japan) และวัดระยะขนาดของ บาดแผลด้วยโปรแกรมเซลล์เซนส์ ไดเมนชัน รุ่น 1.3 (CellSens Dimension, version 1.3, Olympus)

หลังจากถ่ายภาพเสร็จสิ้น ซากกรรไกรบนของหนูจะผ่านขบวนการเตรียมสไลด์ทางจุลพยาธิวิทยา โดย แห้งในสารบัฟเฟอร์ฟอร์มาลิน (buffered formalin) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ทันที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงทำการดิ่งแร่ธาตุออก (decalcification) ด้วยสารละลายอีดีทีเอ (EDTA; ethylenediaminetetraacetic acid di-sodium salt; Ajax Finechem, NSW, Australia) แล้วนำชิ้น ตัวอย่างผ่านขบวนการดึ่งน้ำออก (dehydration) โดยใช้แอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นระดับต่าง ๆ จากร้อยละ 30, 50, 70, 90 และ 100 ตามลำดับ และผ่านการทำให้เนื้อเยื่อใส (clearing) โดยใช้สารไซลีน (xylene) และ ผังขึ้นเนื้อเยื่อ (embedding) ลงในพาราฟิน (paraffin) จากนั้นตัดเนื้อเยื่อให้เป็นแผ่นบางความหนาประมาณ 5 ไมครอนด้วยเครื่องตัดชิ้นเนื้อ (ultramicrotome machine) นำเนื้อเยื่อที่ได้ไปวางบนแผ่นสไลด์ ละลาย พาราฟินออกจากแผ่นเนื้อเยื่อ (deparaffinization) โดยใช้สารไซลีน และผ่านขบวนการนำน้ำกลับเข้าเนื้อเยื่อ อย่างสมบูรณ์ (rehydration) ด้วยเอทานอล (ethanol) ย้อมสีโดยใช้ฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน (hematoxylin & eosin staining; H&E) และสีแมชซองส์ ไตรโครม (Masson's trichrome staining) แล้วทำการฉีกแผ่น เนื้อเยื่อ (mounting) ด้วยสารเปอเมท (permount) ทำการอ่านผล และถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดแสง สว่าง (light microscope, Olympus) และโปรแกรมเซลล์เซนส์ และทำการวิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจน บริเวณบาดแผลในสไลด์ที่ย้อมสีแมชซองส์ ไตรโครม โดยวิเคราะห์ในพื้นที่บริเวณขอบแผลได้ต่อเยื่อบุผิวที่ สร้างใหม่ขนาด 2,500 ตารางไมโครเมตร จำนวน 10 ตำแหน่ง ที่กำลังขยาย 20 เท่าโดยใช้โปรแกรมเซลล์เซนส์ แล้วจึงนำมาหาค่าเฉลี่ยของหนูแต่ละตัว

การทดสอบความคงตัวของสารอะซีแมนแนนหลังจากเก็บรักษาในสภาวะเร่ง

ทดสอบความคงตัวของอะซีแมนแนนโดยดัดแปลงจากวิธีของ WHO⁽³⁶⁾ เริ่มจากนำผงอะซีแมนแนนปริมาณ 5 มิลลิกรัม เก็บรักษาในภาชนะปิดและอยู่ในสภาวะแห้ง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 เป็นระยะเวลา 3 และ 6 เดือน เมื่อครบตามระยะเวลาที่กำหนด ตรวจสอบสเปกตรัม ^1H NMR โดยใช้วิธีที่ดัดแปลงจาก Bozzi และคณะ และ Ray และ Aswatha (2013)^(37, 38) เริ่มจากทำละลายผงอะซีแมนแนนด้วยดิวทีเรียมออกไซด์ (deuterium oxide) ให้เป็นความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 1 มิลลิลิตร แล้วนำใส่หลอด NMR และตรวจสอบสเปกตรัมของ ^1H NMR ที่ 400 MHz ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ Bruker ADVANCE 400 โดยใช้หัวโพรบ BBI (broadband inverse probehead) ขนาด 5 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 128 รอบ

การวิเคราะห์ผลการทดลอง

ประเมินผลของสารอะซีแมนแนนต่อการหายของแผลโดยการเปรียบเทียบขนาดของบาดแผลของกลุ่มทดลองต่าง ๆ ในรูปค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน ($\text{Mean} \pm \text{SE}$) และทำการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่มใช้โปรแกรมเอสพีเอสเอส รุ่นที่ 11.5 (Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) program version 11.5; SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) โดยใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one way analysis of variance, one way ANOVA) และการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบจับคู่พหุคูณแบบต้นแคณ (Duncan multiple comparison test) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

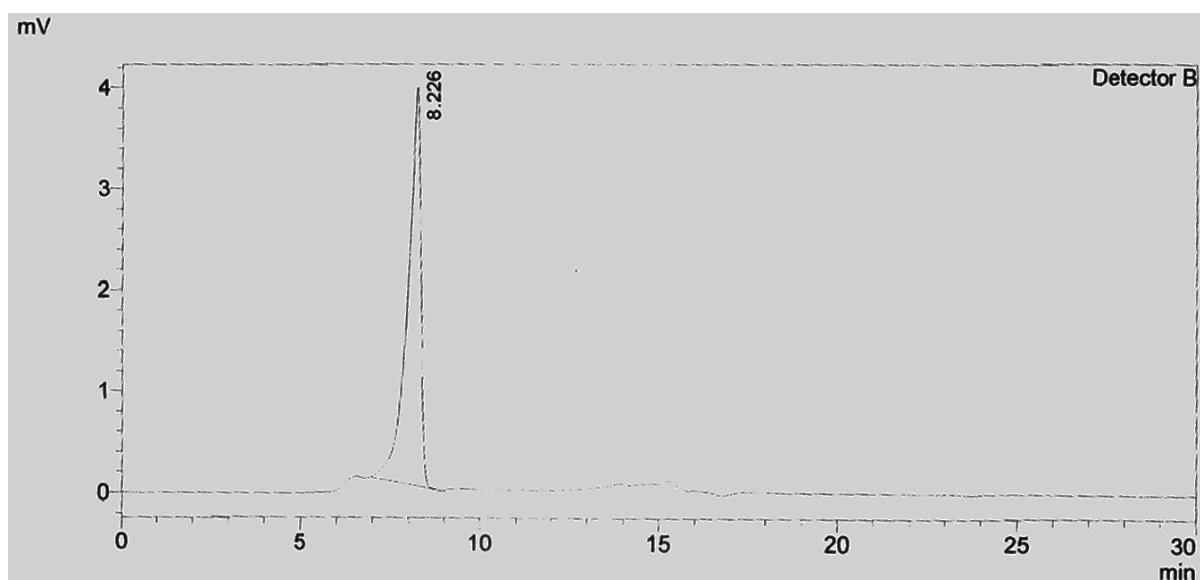
นำเสนอลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของบาดแผลของหนูทดลองในกลุ่มต่าง ๆ ในรูปแบบการบรรยายเปรียบเทียบ และแสดงปริมาณคอลลาเจนบริเวณบาดแผลในรูปค่าเฉลี่ยและความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน และทำการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่มใช้โปรแกรมเอสพีเอสเอส รุ่นที่ 11.5 โดยใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว และการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบจับคู่พหุคูณแบบต้นแคณ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ความคงตัวของสารอะซีแมนแนนนำเสนอในรูปของการเปรียบเทียบการคงอยู่ของสารอะซีแมนแนนเมื่อเก็บในสภาวะแห้งเทียบกับสารอะซีแมนแนนที่ผลิตใหม่

ผลการวิจัย

การเตรียม และพิสูจน์เอกลักษณ์สารอะซีแมนแนน

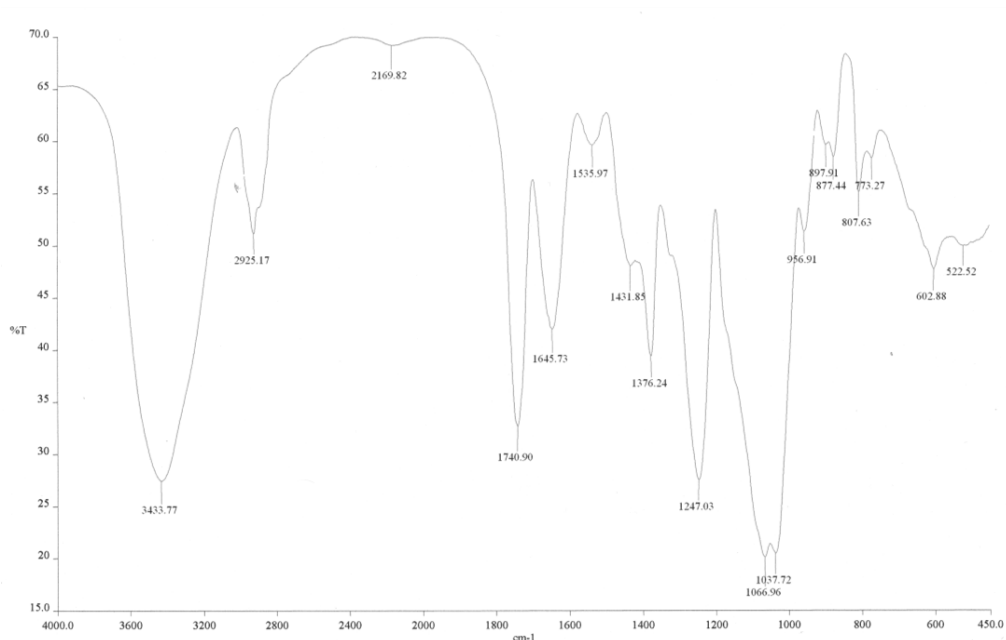
จากการวิเคราะห์ด้วย high performance liquid chromatography พบว่า สารอะซีแมนแนนที่เตรียมได้มี peak เดียว (ภาพที่ 1)



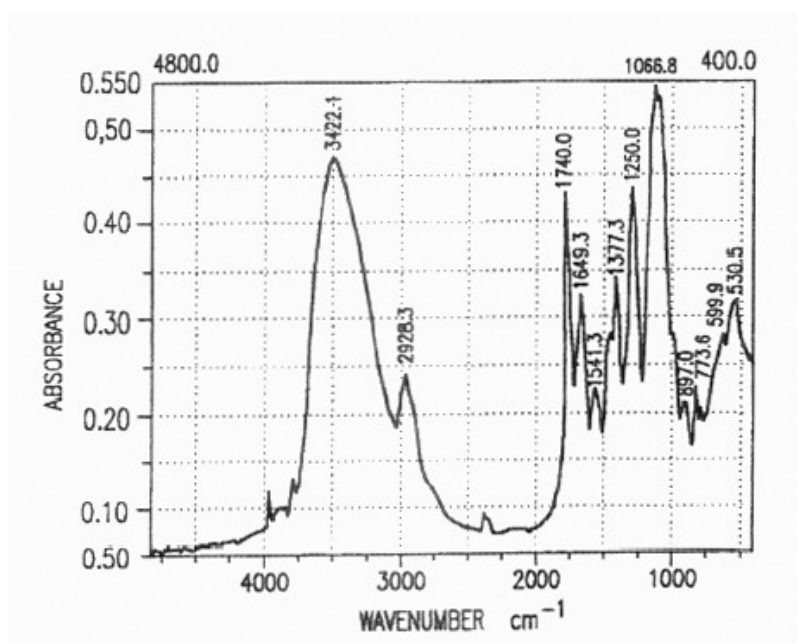
ภาพที่ 1 ผลจากเครื่อง High performance liquid chromatography ของสารอะซีแมนแนน

จากการวิเคราะห์ด้วย FTIR spectroscopy พบว่า สารอะซีแมนแนนที่เตรียมได้มี spectrum ของ functional group แสดงดังภาพที่ 2 ซึ่ง spectrum ดังกล่าวมีความสอดคล้องกับรายงานของ McAnalley⁽³⁹⁾ แสดงดังภาพที่ 3

เมื่อพิจารณาร่วมกันระหว่างการวิเคราะห์ด้วย high performance liquid chromatography และ FTIR spectroscopy จึงชี้ให้เห็นว่าสารที่เตรียมได้เป็นสารอะซีแมนแนนที่มีความบริสุทธิ์



ภาพที่ 2 สเปกตรัมของสารอะซีแมนแนจากการวิเคราะห์ด้วย FTIR spectroscopy



ภาพที่ 3 FTIR spectrum ของสารอะซีแมนแนจากรายงานของ McAnalley⁽³⁹⁾

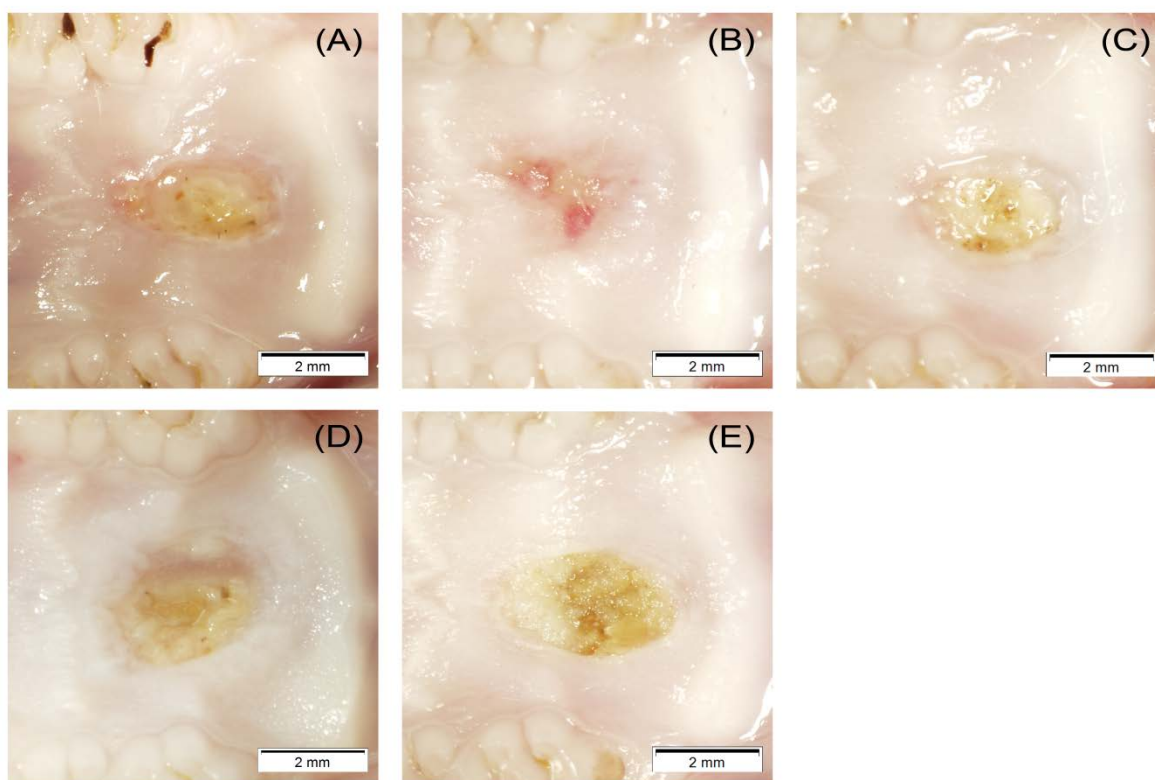
ผลของสารอะซีแมนแนต่อการหายของแผลในช่องปากหนูทดลองในสภาวะที่เป็นเบาหวาน

หนูทดลองที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วยสารสเต็ปโทโซโทซิน และทานด้วยน้ำเกลือปราศจากเชื้อ ยาไตรแอมซิโนโลน อะเซโทไนด์ สารอะซีแมนแน ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1 และสารคาร์โบพอลเปล่า มีค่าระดับน้ำตาลในเลือดเฉลี่ย ณ 7 วัน ตามลำดับดังนี้ 534.00 ± 107.38 532.60 ± 44.31 347.2 ± 83.54 404.00 ± 135.51 และ 518.60 ± 119.64 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร และมีน้ำหนักตัวเฉลี่ย ณ 7 วัน 333.00 ± 23.32 324.40 ± 48.73 346.60 ± 26.19 329.00 ± 30.36 และ 322.80 ± 29.20 กรัม ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์ขนาดแผลเมื่อทาสารทดสอบเป็นเวลา 7 วันพบว่า หนูทดลองกลุ่มที่ทานน้ำเกลือปราศจากเชื้อ กลุ่มที่ทายาไตรแอมซิโนโลน อะเซโทไนด์ กลุ่มที่ทาสารอะซีแมนแน ความเข้มข้นร้อยละ 0.5

และ 1 และกลุ่มที่ทาสารคาร์โบพอลเปล่า มีขนาดของแผลเฉลี่ย 2.96 ± 0.54 7.36 ± 1.30 0.88 ± 0.51 1.64 ± 0.73 และ 2.53 ± 0.84 ตารางมิลลิเมตรตามลำดับ โดยหนูทดลองกลุ่มที่ทาสารอะซีแมนแนนความเข้มข้นร้อยละ 0.5 มีขนาดแผลเล็กกว่ากลุ่มที่ทายาไตรแอมซิโนโลน อะเซโทไนด์ น้ำเกลือปราศจากเชื้อ และสารคาร์โบพอลเปล่า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$, $n = 5$) ในขณะที่หนูทดลองกลุ่มที่ทาสารอะซีแมนแนนความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1 มีขนาดแผลไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$, $n = 5$) แสดงดังภาพที่ 4 และภาพที่ 5

อย่างไรก็ตามเมื่อทาสารทดสอบทุกชนิดเป็นเวลา 7 วัน ไม่พบหนูทดลองกลุ่มใดที่มีแผลปิดอย่างสมบูรณ์

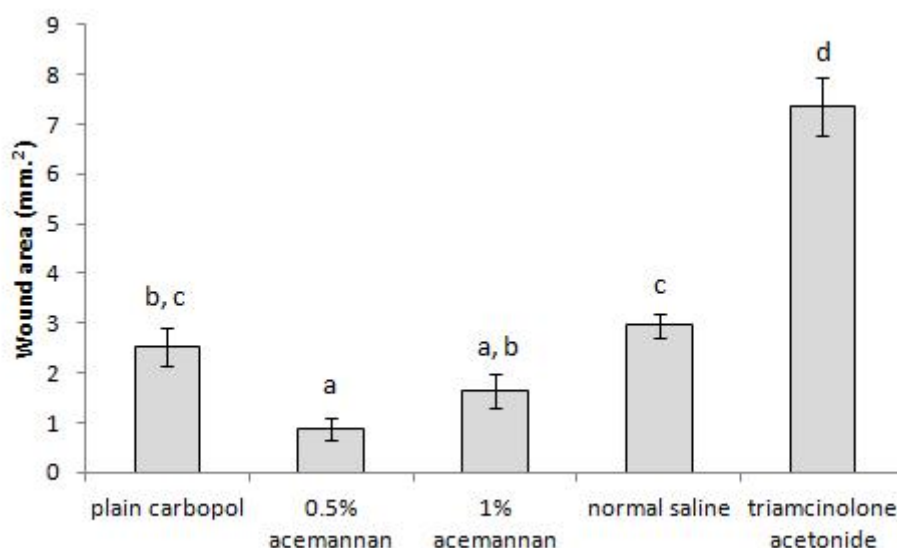


ภาพที่ 4 ตัวอย่างแผลบริเวณเพดานปากหนูทดลองที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน

และทาสารทดสอบเป็นเวลา 7 วัน (A) ทาสารคาร์โบพอลเปล่า;

(B) ทาสารอะซีแมนแนนความเข้มข้นร้อยละ 0.5; (C) ทาสารอะซีแมนแนนความเข้มข้นร้อยละ 1;

(D) ทาด้วยน้ำเกลือปราศจากเชื้อ; (E) ทายาไตรแอมซิโนโลน อะเซโทไนด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.1

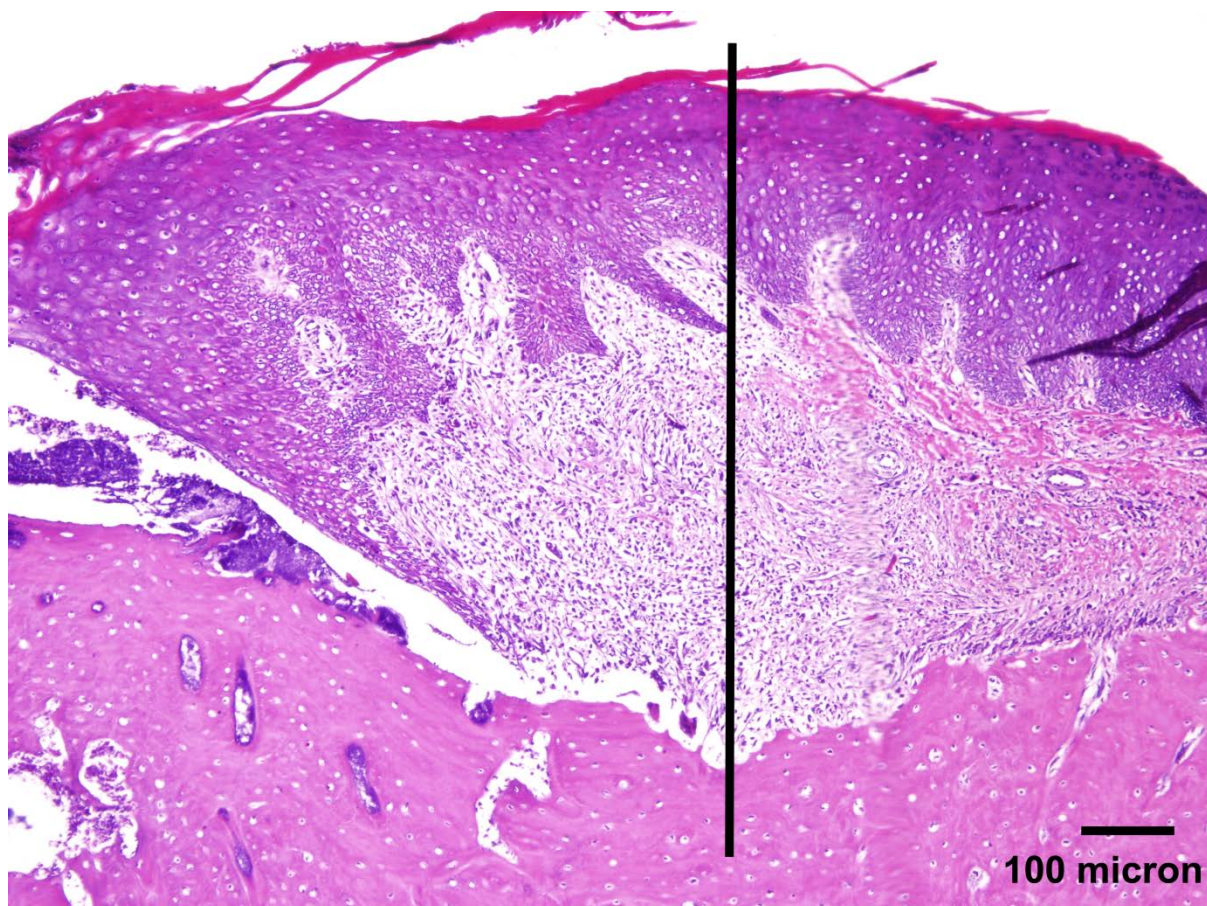


ภาพที่ 5 การวิเคราะห์ขนาดแผลที่ทาด้วยสารทดสอบเป็นเวลา 7 วันพบว่า หนูทดลองที่ทาสารอะซีแมนแนน ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 มีขนาดแผลเล็กกว่ากลุ่มที่ได้รับการทายาไตรแอมซิโนโลน อะเซโทไนด์ น้ำเกลือปราศจากเชื้อ และสารคาร์โบพอลเปล่า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$, $n = 5$; ตัวอักษร a, b, c และ d แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ)

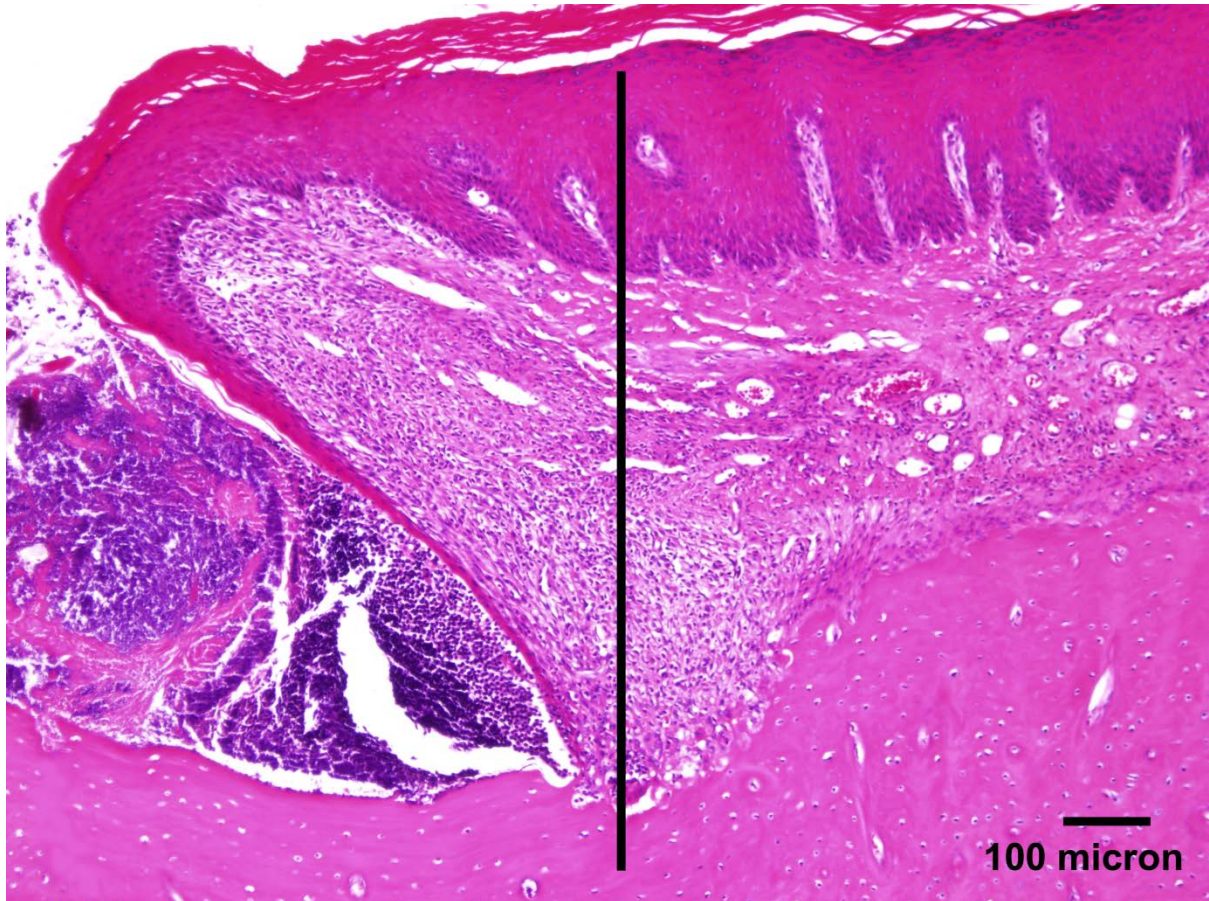
ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของแผลในช่องปากหนูทดลองในสภาวะที่เป็นเบาหวาน

เมื่อศึกษาลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของแผลในช่องปากหนูทดลองที่เป็นเบาหวาน และทาด้วยสารทดสอบต่าง ๆ เป็นเวลา 7 วัน โดยการย้อมสีอีมาทอคซิลินและอีโอซิน และสีแมซซงส์ ไตรโครม พบว่า กลุ่มที่ได้รับการทาสารอะซีแมนแนนเข้มข้นร้อยละ 0.5 มีการสร้างชั้นเยื่อผิวใหม่ปกปิดบาดแผลเร็วกว่ากลุ่มที่ทาน้ำเกลือปราศจากเชื้อ ยาไตรแอมซิโนโลน อะเซโทไนด์ และคาร์โบพอลเปล่า ทั้งนี้ในการวัดระยะการสร้างชั้นเยื่อผิวใหม่อ้างอิงจากแนวสมมติของขอบเขตที่เครื่องมือกดเพื่อสร้างบาดแผล ซึ่งสังเกตจากร่องรอยที่กระดูกบริเวณเพดานถูกกดเป็นรอยหว้า (ภาพที่ 6 7 8 และ 9)

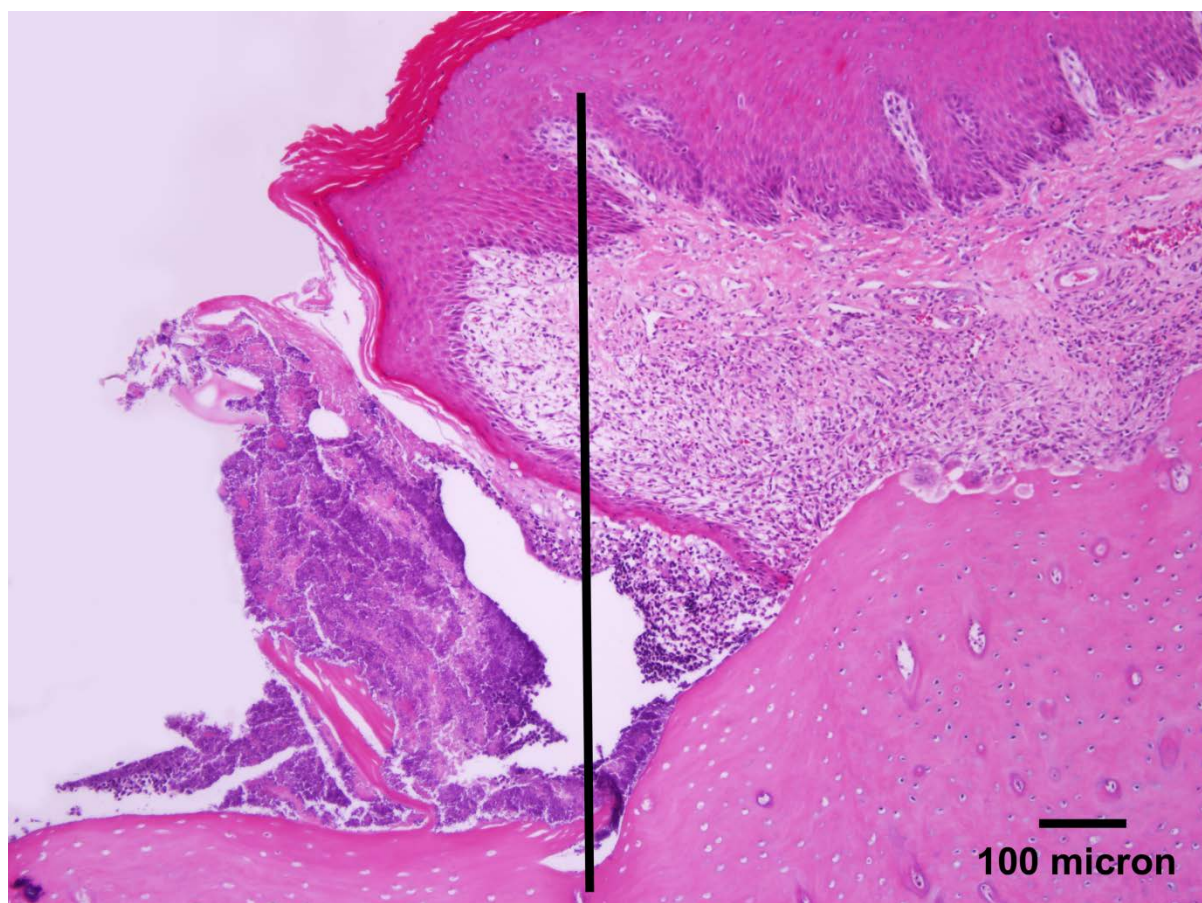
เมื่อพิจารณาในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันพบว่า แผลของกลุ่มที่ทาสารอะซีแมนแนนความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1 มีการสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพันข้างใต้ใหม่สัมพันธ์กับชั้นเยื่อผิวที่ถูกสร้างขึ้นใหม่ และมีการสร้างคอลลาเจนในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมากกว่ากลุ่มที่ได้รับการทาด้วยสารคาร์โบพอลเปล่า ยาไตรแอมซิโนโลน อะเซโทไนด์ และน้ำเกลือ โดยแผลในกลุ่มที่ทาด้วยสารอะซีแมนแนนทั้งสองความเข้มข้น สารคาร์โบพอลเปล่า และยาไตรแอมซิโนโลน อะเซโทไนด์ มีการสร้างคอลลาเจนมากกว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำเกลือปราศจากเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$, $n = 5$; ภาพที่ 11) ในขณะที่ปริมาณเม็ดเลือดขาวที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ ได้แก่ นิวโทรฟิลล์ แมคโครฟาจ และลิมโฟไซต์ ในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันใกล้เคียงกันในทุกกลุ่มทดลอง



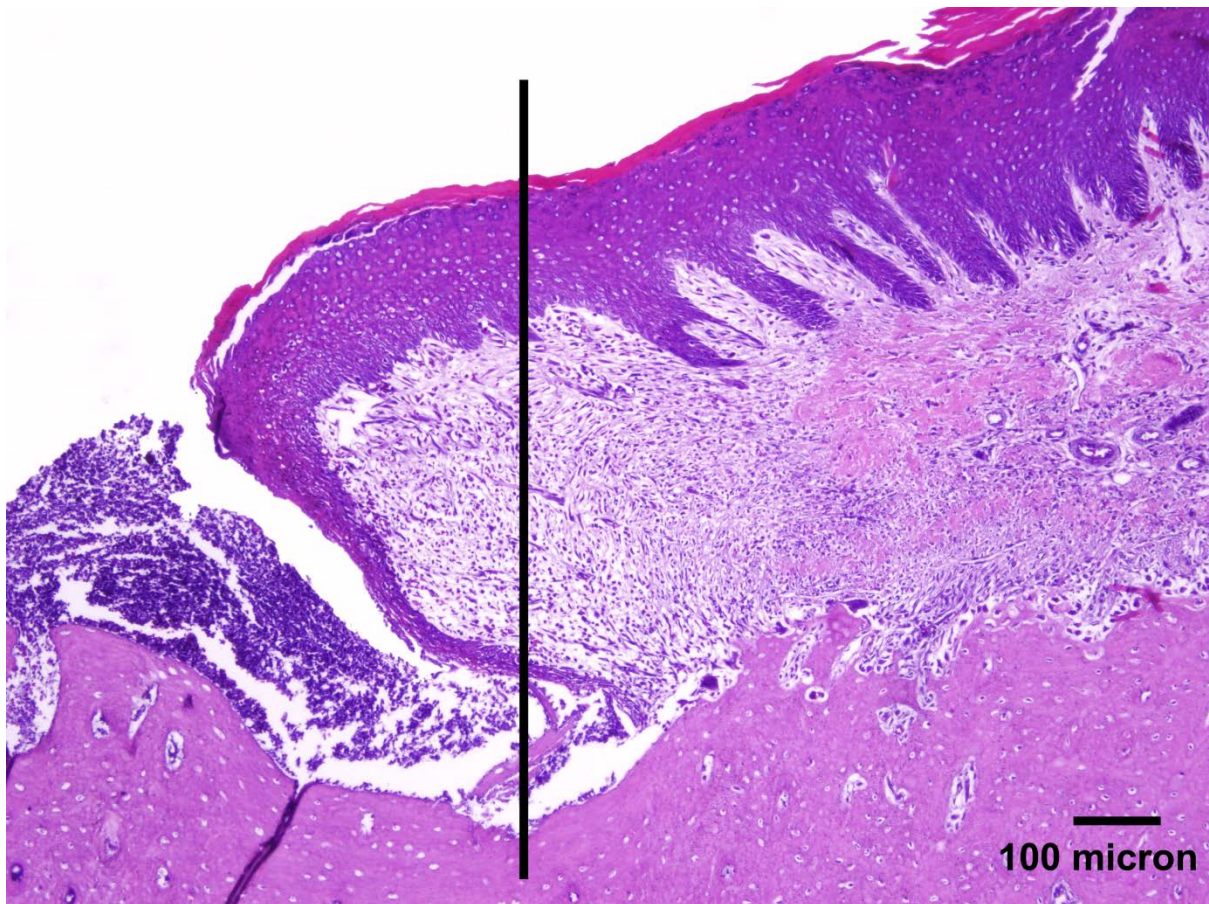
ภาพที่ 6 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของบาดแผลหนูทดลองกลุ่มที่ทาสารอะซีแมนแนนความเข้มข้นร้อยละ 0.5 เป็นเวลา 7 วัน (เส้นทึบสีดำแสดงตำแหน่งที่เครื่องมือกดเพื่อสร้างบาดแผล; ย้อมสีอีมาทอคซิลินและอีโอซิน กำลังขยาย 10 เท่า)



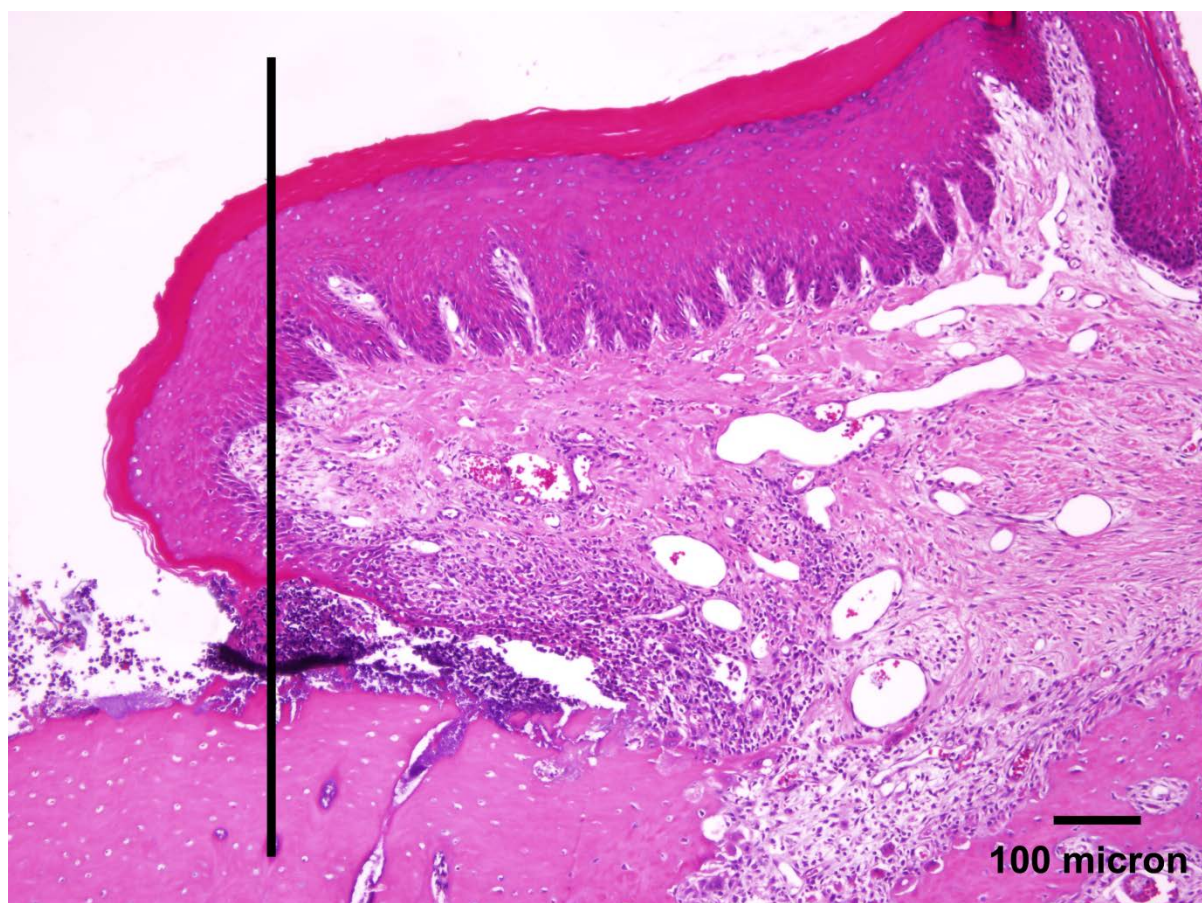
ภาพที่ 7 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของบาดแผลหนูทดลองกลุ่มที่ทาสารอะซีแมนแนมความเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นเวลา 7 วัน (เส้นทึบสีดำแสดงตำแหน่งที่เครื่องมือกดเพื่อสร้างบาดแผล; ย้อมสีอีมาทอคซิลินและอีโอซิน กำลังขยาย 10 เท่า)



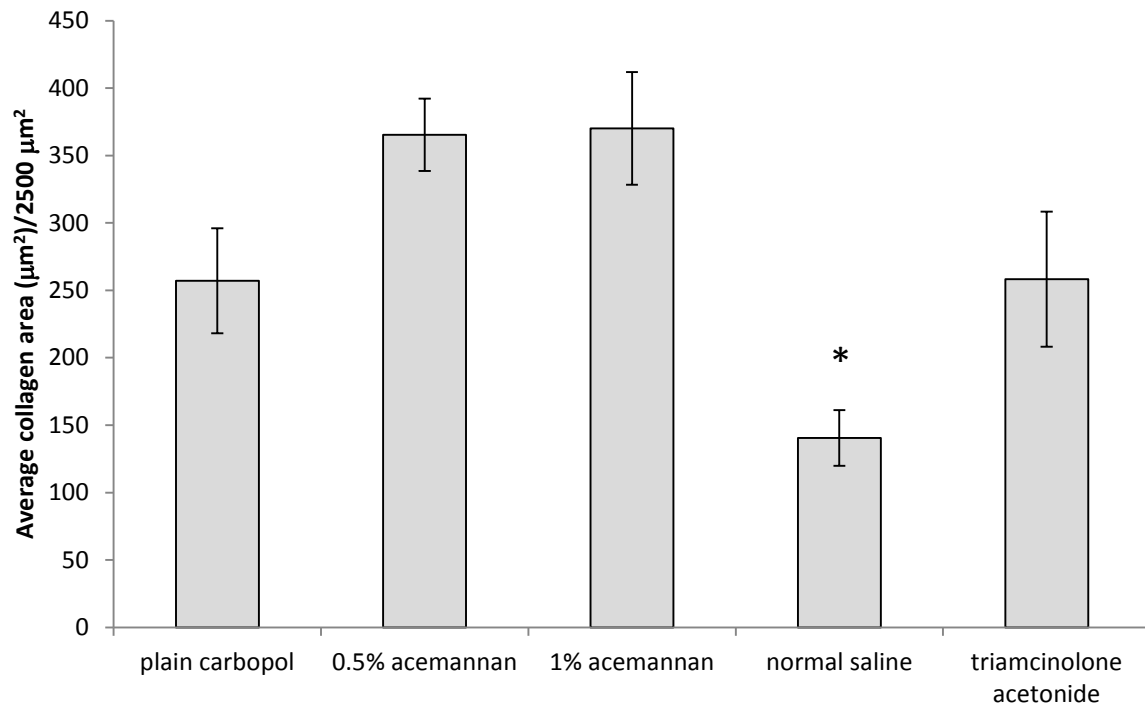
ภาพที่ 8 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของบาดแผลหนูทดลองกลุ่มที่ทาสารคาร์โบพอลเปล่าเป็นเวลา 7 วัน
(เส้นทึบสีดำแสดงตำแหน่งที่เครื่องมือกดเพื่อสร้างบาดแผล;
ย้อมสีอีมาทอคซิลินและอีโอซิน กำลังขยาย 10 เท่า)



ภาพที่ 9 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของบาดแผลหนูทดลองกลุ่มที่ทานน้ำเกลือปราศจากเชื้อเป็นเวลา 7 วัน
(เส้นทึบสีดำแสดงตำแหน่งที่เครื่องมือกดเพื่อสร้างบาดแผล;
ย้อมสีอีมาทอคซิลินและอีโอซิน กำลังขยาย 10 เท่า)



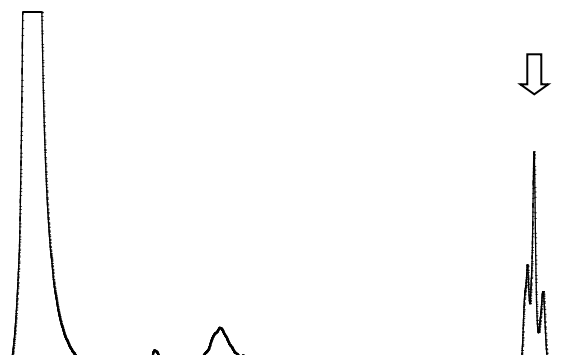
ภาพที่ 10 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของบาดแผลหนูทดลองกลุ่มที่ได้ทายาไตรแอมซิโนโลน อะเซโทไนด์ เป็นเวลา 7 วัน (เส้นทึบสีดำแสดงตำแหน่งที่เครื่องมือกดเพื่อสร้างบาดแผล; ย้อมสีอีมาทอคซิลินและอีโอซิน กำลังขยาย 10 เท่า)



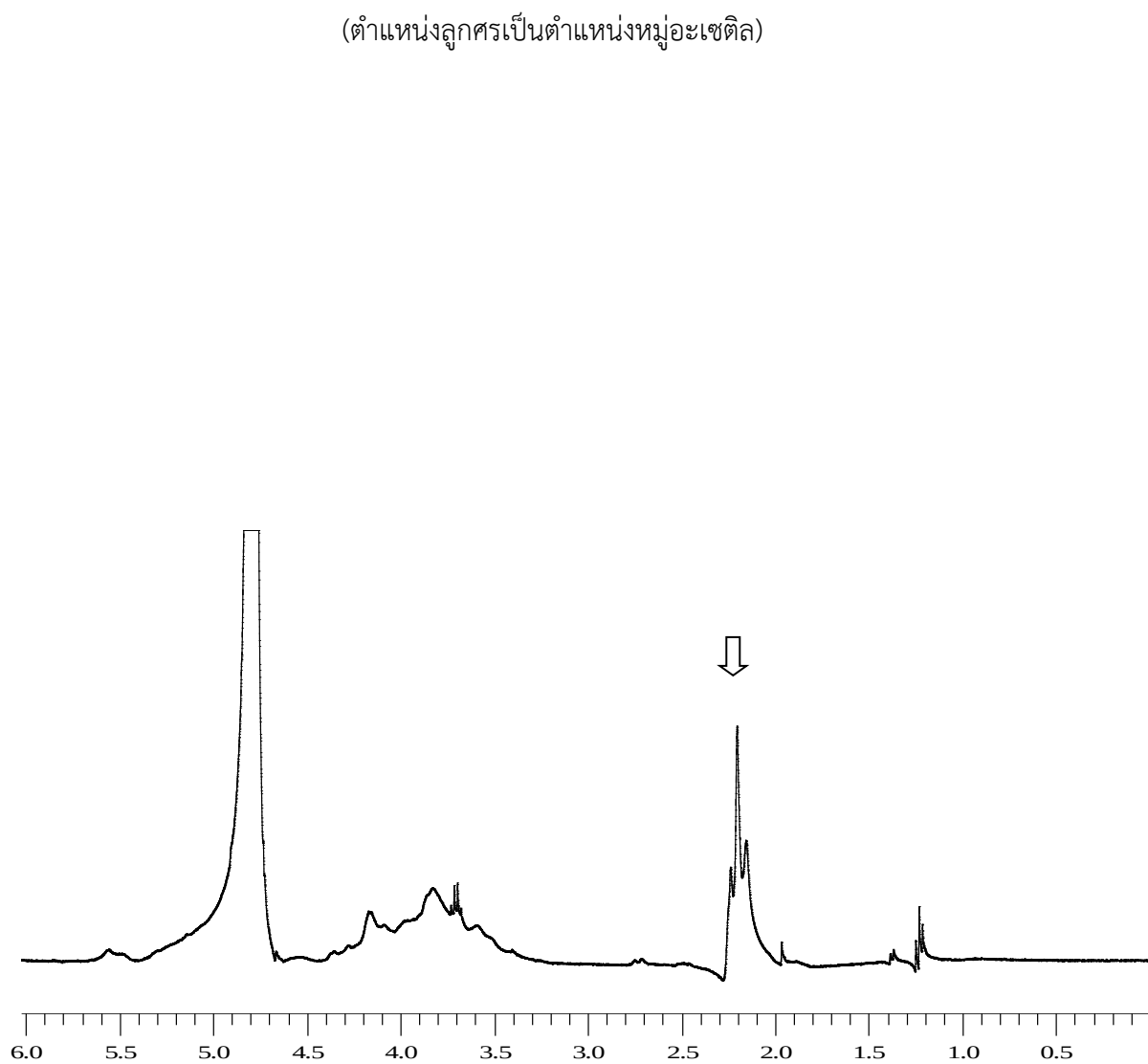
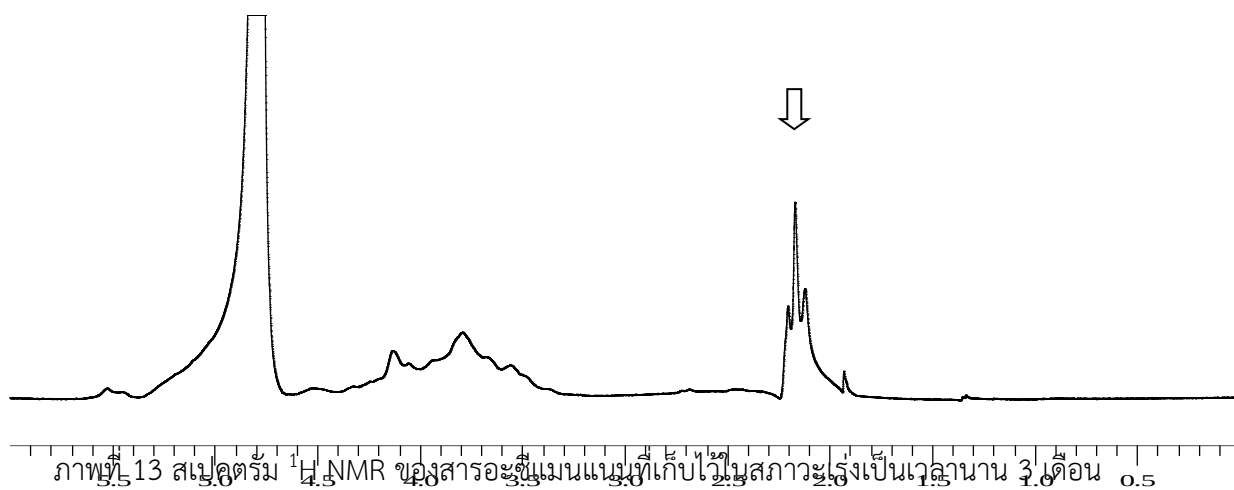
ภาพที่ 11 การวิเคราะห์ชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของบาดแผลที่ย้อมด้วยสีแมชของส์ ไตรโครม พบว่า แผลที่ทาสารอะซีแมนแนนความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1 มีปริมาณคอลลาเจนมากกว่ากลุ่มที่ ทายาไตรแอมซิโนโลน อะเซโทไนด์ สารคาร์โบพอลเปล่า และน้ำเกลือปราศจากเชื้อ (* แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มทดลองอื่นๆ; $p < 0.05$, $n = 5$)

ความคงตัวของสารอะซีแมนแนนหลังจากเก็บรักษาในสภาวะเร่ง

หลังจากเก็บสารอะซีแมนแนนในสภาวะเร่งเป็นเวลานาน 3 และ 6 เดือนพบว่า สารอะซีแมนแนน ยังคงมีลักษณะเป็นผง ไม่มีการจับตัวเป็นก้อน และยังคงละลายในน้ำกลั่นบริสุทธิ์ จากการตรวจสอบ สเปกตรัม ^1H NMR พบหมู่อะเซทิลซึ่งบ่งบอกถึงอะซีแมนแนนได้จากสเปกตรัมได้ที่ตำแหน่ง 2.119 – 2.215 ppm (ภาพที่ 12 และ 13) ในขณะเดียวกันเมื่อเปรียบเทียบกับสเปกตรัมสารอะซีแมนแนนที่ผลิตใหม่ พบ หมู่อะเซทิลที่ตำแหน่งใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 12 สเปกตรัม ^1H NMR ของสารอะซีแมนแนนที่เก็บไว้ในสภาวะเร่งเป็นเวลานาน 6 เดือน
(ตำแหน่งลูกศรเป็นตำแหน่งหมู่เอซิติล)



ภาพที่ 14 สเปกตรัม ^1H NMR ของสารอะซีแมนแนนที่ผลิตใหม่
(ตำแหน่งลูกศรเป็นตำแหน่งหมู่อะเซทิล)

การอภิปรายและวิจารณ์ผลการวิจัย

แผลในช่องปากเป็นรอยโรคที่พบได้บ่อย ทำให้เกิดความเจ็บปวดแก่ผู้ป่วย เนื่องจากเนื้อเยื่อในช่องปากมีการเคลื่อนไหวสูง และได้รับการระคายเคืองได้ง่ายจากอาหารหรือเครื่องดื่มนในชีวิตประจำวัน⁽¹⁾ แนวทางการรักษาแผลในช่องปากปัจจุบันยังคงเป็นการรักษาตามอาการ โดยแนะนำให้ผู้ป่วยใช้ยาในกลุ่มสเตียรอยด์รอยทาเฉพาะที่เพื่อลดการอักเสบ⁽⁴⁰⁾

โรคเบาหวานเป็นโรคทางระบบที่ก่อให้เกิดภาวะแทรกซ้อนหลายระบบในร่างกาย รวมทั้งผลกระทบต่อการทำงานของบาดแผล โดยพบว่าผู้ป่วยโรคเบาหวานมีความเสี่ยงต่อการเป็นแผลเรื้อรัง เนื่องจากความผิดปกติของหลอดเลือดขนาดเล็กทำให้บาดแผลขาดออกซิเจนและสารอาหารมาเลี้ยง การทำงานของเม็ดเลือดขาว

บกพร่องทั้งในแง่การเคลื่อนที่เข้าสู่บริเวณบาดแผลและการกำจัดเชื้อโรค^(2, 3) ลดอัตราการสร้างเซลล์สร้างเส้นใย⁽⁴⁾ และลดอัตราการสร้างเส้นใยคอลลาเจน^(2, 5) ดังนั้นการพัฒนาคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยโดยการค้นคว้าสารทางเลือก โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารที่สามารถกระตุ้นการหายของแผลได้โดยตรงจึงมีความสำคัญ มีการรายงานถึงผลของสมุนไพรหลายชนิดในการส่งเสริมการหายของแผลเบาหวานบริเวณผิวหนัง⁽⁴¹⁻⁴³⁾ แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานผลของสมุนไพรต่อการหายของแผลในช่องปากในสภาวะเบาหวาน

ว่านหางจระเข้ประกอบด้วยสารหลายชนิด โดยมีน้ำเป็นส่วนใหญ่ พอลิแซ็กคาไรด์ และสารอื่น ๆ ได้แก่ กรดอะมิโน เอนไซม์ต่าง ๆ วิตามินเอ วิตามินซี วิตามินอี แมกนีเซียม สังกะสี แคลเซียม ลิกนิน (lignins) ซาโปนิน (saponins) และสเตอรอล (sterols) เป็นต้น⁽²¹⁻²³⁾ ว่านหางจระเข้เป็นสมุนไพรที่ใช้ในการรักษาแผลบริเวณผิวหนังมาช้านาน โดยเฉพาะอย่างยิ่งแผลไฟไหม้⁽⁴⁴⁾ นอกจากนี้ยังมีรายงานพบว่า ว่านหางจระเข้สามารถรักษาแผลในกระเพาะอาหาร^(45, 46) และรอยโรคไลเคน พลาเนียในช่องปาก⁽⁴⁷⁾ การศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า บาดแผลบริเวณผิวหนังที่ทำว่านหางจระเข้มีการหายของแผลที่เร็วกว่าและมีการอักเสบที่น้อยกว่าแผลปกติ^(48, 49) การรับประทานว่านหางจระเข้สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดหนูทดลอง^(12, 50) และมนุษย์⁽⁵¹⁾

สารอะซีแมนแนนเป็นพอลิแซ็กคาไรด์หลักจากว่านหางจระเข้⁽²³⁾ สามารถกระตุ้นการทำงานของเม็ดเลือดขาว โดยกระตุ้นการสร้างไซโตไคน์หลายชนิดจากแมคโครฟาจ^(13, 33, 34) และสามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์สร้างเส้นใยเหงือก และส่งเสริมการสร้างโกรทแฟกเตอร์หลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผล ได้แก่ เคอราติโนไซต์ โกรทแฟกเตอร์-1 และวาสคูลาเอนโดทีเลียลโกรทแฟกเตอร์⁽¹⁶⁾ ดังนั้นสารอะซีแมนแนนจึงน่าจะมีบทบาทต่อทั้งระยะการอักเสบ และระยะการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ของการหายของแผล

การศึกษานี้ได้จำลองลักษณะแผลในช่องปากในสภาวะเป็นโรคเบาหวาน โดยการเหนี่ยวนำหนูทดลองให้เป็นเบาหวานโดยฉีดสารสเตริบโทโซโทซิน ซึ่งสารนี้จะทำลายเบต้า เซลล์ของตับอ่อนโดยตรงทำให้ไม่สามารถผลิตอินซูลินได้ ทำให้เมตาบอลิซึมของน้ำตาล โปรตีน และไขมันในร่างกายเปลี่ยนแปลงไป⁽⁵²⁾ โรคเบาหวานแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ โรคเบาหวานแบบที่ 1 ซึ่งเกิดจากการทำลายเบต้า เซลล์เนื่องจากความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกัน และโรคเบาหวานแบบที่ 2 ซึ่งเกิดจากร่างกายไม่สามารถนำอินซูลินที่ผลิตได้ไปใช้ร่วมกับมีการผลิตอินซูลินที่ลดลง ผู้ป่วยเหล่านี้ประมาณหนึ่งในสามจะมีการตายของเบต้าเซลล์เนื่องจากขบวนการอะพอพโทซิส (apoptosis) ดังนั้นจะเห็นว่าการเกิดเบาหวานทั้งสองแบบนี้จะมีการผลิตอินซูลินไม่เพียงพอ ทำให้เกิดการดำเนินของโรคเบาหวาน และภาวะแทรกซ้อนต่าง ๆ เกิดขึ้น⁽⁵³⁾ ถึงแม้ว่าภาวะจำลองเบาหวานในการศึกษานี้ไม่อาจแสดงการเกิดเบาหวานที่เกี่ยวข้องกับความอ้วน หรือการเกิดเบาหวานที่มีการพัฒนาของโรคอย่างช้า ๆ และภาวะแทรกซ้อนต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในมนุษย์ได้ครบทุกสภาวะ แต่ภาวะจำลองนี้ก็สามารถแสดงถึงลักษณะการมีน้ำตาลในเลือด หรือเนื้อเยื่อปริมาณสูงซึ่งส่งผลต่อการหายของแผลในช่องปากได้⁽⁵²⁻⁵⁵⁾

การศึกษานี้พบว่า หนูทดลองกลุ่มที่ทำสารอะซีแมนแนนความเข้มข้นร้อยละ 0.5 มีขนาดแผลเล็กกว่าหนูทดลองที่ทำสารคาร์โบพอลเปล่า น้ำเกลือ และยาไตรแอมซิโนโลน อะเซโทไนด์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ถึงแม้ว่าแผลที่ได้รับสารอะซีแมนแนนความเข้มข้นร้อยละ 0.5 จะมีขนาดเล็กกว่าแผลที่ได้รับสารอะซีแมนแนนความเข้มข้นร้อยละ 1 แต่ความแตกต่างนี้ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับผลการศึกษาก่อนหน้านี้ของคณะผู้วิจัยซึ่งพบว่า สารอะซีแมนแนนความเข้มข้นร้อยละ 0.5 สามารถกระตุ้นการหายของแผล

ในช่องปากหนูทดลองในสภาวะปกติเมื่อเปรียบเทียบกับยาไตรแอมซิโนโลน อะเซโทไนด์ น้ำเกลือ และสารคาร์โบพอลเปล่า⁽¹⁶⁾ โดยผลนี้อาจเนื่องมาจากสารอะซีแมนแนนกระตุ้นการหายของแผลทั้งระยะการอักเสบโดยการกระตุ้นหลังไซโตไคน์จากแมคโครฟาจ^(13, 33, 34) และระยะการสร้างเนื้อเยื่อใหม่กระตุ้นการเพิ่มจำนวนและการทำงานของเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกในการสร้างโครงร่างโครงกระดูก และคอลลาเจน⁽¹⁶⁾

อย่างไรก็ตามหนูทดลองกลุ่มที่ทาสารคาร์โบพอลเปล่ามีขนาดแผลที่เล็กกว่ากลุ่มที่ทายาไตรแอมซิโนโลน อะเซโทไนด์ ผลการศึกษาที่พบอาจเนื่องจากสารคาร์โบพอลเปล่ามีผลในการป้องกันบาดแผลจากการระคายเคืองจากสภาพแวดล้อมในช่องปาก ทำให้เกิดสภาวะที่เหมาะสมต่อการหายของแผล^(16, 56)

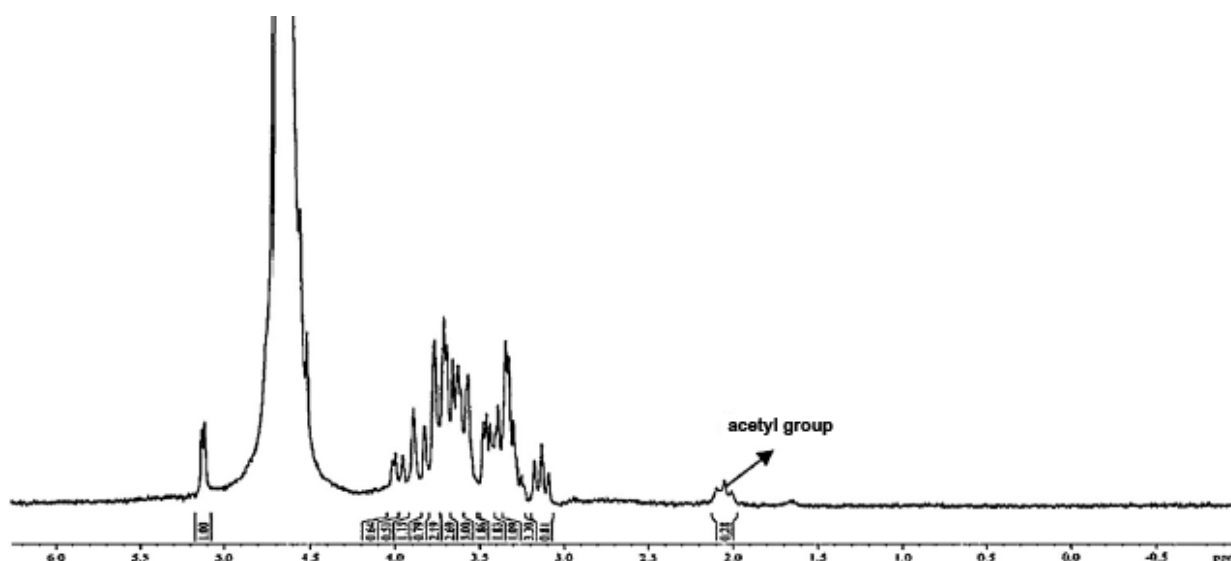
ในขณะที่หนูทดลองกลุ่มที่ทายาไตรแอมซิโนโลน อะเซโทไนด์ซึ่งเป็นยาที่แนะนำให้ใช้ทาแผลในช่องปากทั่วไป มีขนาดของแผลใหญ่ที่สุด อาจเนื่องจากยาไตรแอมซิโนโลน อะเซโทไนด์เป็นยาในกลุ่มสเตอรอยด์ ซึ่งออกฤทธิ์ในการลดการอักเสบของเนื้อเยื่อ⁽⁵⁷⁾ แต่ในสภาวะเบาหวาน เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล และโมโนไซต์จะมีการตอบสนองต่อสารเหนี่ยวนำให้เคลื่อนที่ (chemotaxis) น้อยลง มีความสามารถในการกำจัดเชื้อโรคได้น้อยลง^(3, 53, 58) และมีไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบในกระแสเลือดสูงขึ้นทำให้บริเวณเนื้อเยื่อมีการอักเสบยาวนานกว่าปกติ^(53, 55, 58) จึงอาจทำให้เซลล์และเนื้อเยื่อบริเวณบาดแผลที่ได้รับยาไม่สามารถตอบสนองได้อย่างเหมาะสม ถึงแม้จะมีการศึกษาชี้ให้เห็นว่า ยาสเตอรอยด์สามารถลดการบวม และความเจ็บปวดของแผลจากการทำศัลยกรรมในช่องปาก โดยไม่มีผลเพิ่มความเสี่ยงต่อการติดเชื้อในช่องปาก และไม่ยับยั้งการหายของแผล⁽⁵⁹⁾ แต่ในขณะเดียวกันก็มีรายงานการศึกษาพบว่า ยาในกลุ่มสเตอรอยด์ยับยั้งการหายของบาดแผลโดยมีผลต่อหลายขบวนการในการหายของแผล⁽⁶⁰⁾ ได้แก่ ยับยั้งขบวนการอักเสบโดยการลดการสร้างพรอสตาไซคลินและไซโตไคน์ต่าง ๆ^(60, 61) ลดจำนวนเม็ดเลือดขาวที่เข้ามาสู่บริเวณบาดแผล⁽⁶⁰⁾ ยับยั้งการสร้างเนื้อเยื่อใหม่โดยการยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์บุผิวและเซลล์สร้างเส้นใย⁽⁶⁰⁾ ยับยั้งการสร้างหลอดเลือดใหม่⁽⁶²⁻⁶⁴⁾ ยับยั้งการสร้างคอลลาเจน^(65, 66) ดังนั้นบทบาทของยาสเตอรอยด์ต่อการหายของแผลในช่องปาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสภาวะเบาหวานจึงควรมีการศึกษาต่อไป

การย้อมสีแมชของส์ ไตรโครมเป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในการสังเกตปริมาณคอลลาเจนในตัวอย่างทางจุลพยาธิวิทยา⁽⁶⁷⁻⁶⁹⁾ โดยเส้นใยคอลลาเจนจะติดสีฟ้าหรือน้ำเงิน ในขณะที่เคราตินของเซลล์บุผิวจะติดสีแดง ไซโตพลาซึมของเซลล์ต่างๆ จะติดสีแดงหรือชมพู และนิวเคลียสของเซลล์จะติดสีน้ำตาลเข้มหรือดำ ทำให้เห็นลักษณะของเส้นใยคอลลาเจนได้ชัดเจนกว่าการย้อมสีอีมาทอกซิลินและอีโอซิน^(68, 69) การศึกษาก่อนหน้านี้เกี่ยวกับลักษณะจุลพยาธิวิทยาของแผลเบาหวานพบว่า แผลจะมีเส้นใยคอลลาเจนที่บาง และกระจายตัว และเซลล์สร้างเส้นใยเหงือกซึ่งเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่ในการสร้างคอลลาเจนมีลักษณะแตกต่างไปจากปกติ มีการเพิ่มจำนวนและการเคลื่อนที่ลดลง⁽⁷⁰⁻⁷²⁾ โดยคาดว่าเกิดจากการส่งสัญญาณผ่านการจับกันของแอดวานซ์ กลัยเคชัน เอน โพรดักต์ (advanced glycation end-products; AGEs) ที่เกิดในสภาวะเบาหวานกับตัวรับ (receptor for advanced glycation end-products; RAGE)⁽⁷³⁾ ในการศึกษาเมื่อหนูทดลองได้รับสารอะซีแมนแนนทั้งสองความเข้มข้นพบว่า บาดแผลมีปริมาณคอลลาเจนมากกว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำเกลืออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับการศึกษาของ Chithra และคณะที่พบว่า ไขมันทางจะเข้าสู่สามารถกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนและการหายของแผลบริเวณผิวหนังหนูที่เป็นเบาหวาน⁽¹²⁾ และจากการศึกษาก่อนหน้านี้ของคณะผู้วิจัยที่พบว่า สารอะซีแมนแนนกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนจากเซลล์สร้างเส้นใยเหงือก⁽¹⁶⁾ ดังนั้นสารอะซีแมนแนนจึงเป็นสารออกฤทธิ์ในไขมันทางจะเข้าสู่ที่ส่งเสริมการสร้างคอลลาเจนในบาดแผลที่เป็นเบาหวาน อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าปริมาณคอลลาเจนในบาดแผลของกลุ่มที่ได้รับสารอะซีแมนแนนมากกว่ากลุ่มที่ได้รับสารคาร์โบพอลเปล่า และ

ยาไทรแอมซิโนโลนอะเซโทไนด์ แต่ความแตกต่างนี้ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเนื่องมาจากในสภาวะเบาหวานซึ่งมีแอดวานซ์ โกลเซชั่น เอน โพรดักต์ อาจทำให้เซลล์สร้างเส้นใยไม่สามารถตอบสนองต่อการกระตุ้นคอลลาเจนได้อย่างสมบูรณ์

เมื่อพิจารณากระดับน้ำตาลในเลือดพบว่า หนูทดลองกลุ่มที่ได้รับสารอะซีแมนแนนมีระดับน้ำตาลในเลือดในวันที่ได้รับการผ่าตัดให้เกิดแผลในช่องปาก และเมื่อได้รับสารทดสอบครบ 7 วัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่า สารอะซีแมนแนนไม่มีผลลดระดับน้ำตาลในเลือด ซึ่งแตกต่างผลของวุ้นว่านหางจระเข้ซึ่งสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้^(12, 50, 51, 74) อาจเนื่องมาจากการศึกษาผลของการลดระดับน้ำตาลของวุ้นว่านหางจระเข้เป็นการบริโภคในปริมาณสูงกว่าปริมาณสารอะซีแมนแนนที่ใช้ทาแผลในการศึกษาครั้งนี้ และอาจเป็นผลจากการออกฤทธิ์ร่วมกันของสารหลากหลายในวุ้นว่านหางจระเข้ อาจจะมีได้เป็นเพียงผลจากสารอะซีแมนแนนเพียงสารเดียว

ความคงตัวของสารออกฤทธิ์ และผลิตภัณฑ์เป็นข้อมูลสำคัญในขั้นตอนการพัฒนาสู่การนำไปใช้ประโยชน์ โดยทำให้สามารถกำหนดสถานะการเก็บรักษา และอายุการเก็บรักษา (shelf life) ที่เหมาะสม⁽⁷⁵⁾ คณะผู้วิจัยจึงศึกษาความคงตัวของสารอะซีแมนแนนในเบื้องต้น ในการบ่งชี้ถึงสารอะซีแมนแนนจากวุ้นว่านหางจระเข้ด้วยการใช้เทคนิค ^1H NMR ดัดแปลงจาก Bozzi และคณะ และ Ray และ Aswatha ผลการทดลองพบรูปแบบของสเปกตรัมมีความคล้ายคลึงกับ Ray และ Aswatha (ภาพที่ 15)⁽³⁸⁾ โดยปกติสารอะซีแมนแนนมีกลุ่มแมนแนนที่ถูกอะเซทิลเลตที่ตำแหน่ง 2 3 และ 6 ดังนั้นจึงสังเกตอะซีแมนแนนจากหมู่อะเซทิลที่ตำแหน่งของสเปกตรัมประมาณ 2.00 - 2.26 ppm⁽³⁷⁾ จากการทดลองนี้ พบหมู่อะเซทิลในตำแหน่งใกล้เคียงกัน คือ 2.119 - 2.215 ppm



ภาพที่ 15 สเปกตรัม ^1H NMR ของสารอะซีแมนแนนจากการทดลองของ Ray และ Aswatha พบหมู่อะเซทิลที่ตำแหน่งลูกศรชี้⁽³⁸⁾

ในการทดสอบความคงตัวของสารสำคัญในระยะเวลาการทดลองจำกัด มักใช้สภาวะเร่งเพื่อจำลองสถานการณ์ระยะเวลาจริง ดังนั้นตามแนวทางของ WHO⁽³⁶⁾ จึงได้เสนอให้ทดสอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 เป็นระยะเวลา 6 เดือน ซึ่งจากการทดลองนี้พบว่าหมู่อะเซทิล ซึ่งบ่งบอกถึงสารอะซีแมนแนนนั้นยังคงอยู่โดยตลอด ที่ 3 และ 6 เดือน เมื่อเปรียบเทียบกับขณะผลิตใหม่ ผลการทดลองนี้เป็นเพียงข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับความคงตัวของสารอะซีแมนแนน เพื่อการพัฒนาารูปแบบในการเตรียมสารอะซีแมนแนนให้เหมาะสมในการใช้ในช่องปากต่อไป

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

ผลการวิจัยนี้สรุปว่า สารอะซีแมนแนนสามารถกระตุ้นการหายของแผลในช่องปากในสภาวะเป็นเบาหวานในหนูทดลอง แสดงให้เห็นว่าสารอะซีแมนแนนเป็นสารทางเลือกในการรักษาในแผลในช่องปากในสภาวะเบาหวานที่ควรพัฒนาต่อไปเพื่อนำไปสู่การใช้ในผู้ป่วย ดังนั้นความคงตัว และการพัฒนารูปแบบสารอะซีแมนแนนให้เหมาะสมกับการใช้ในช่องปาก มีความจำเป็นต้องศึกษาต่อไป

การศึกษาผลของสารอะซีแมนแนนต่อการหายของแผลในสภาวะที่มีความบกพร่องอื่น ๆ หรือส่วนอื่นของร่างกาย มีความน่าสนใจในการศึกษาต่อไป เนื่องจากจะเป็นการสร้างทางเลือกให้กับผู้ป่วย และเป็นการเพิ่มมูลค่าให้วิสาหกิจทางจระเข้ และสมุนไพรต่อไป

บรรณานุกรม

1. Munoz-Corcuera M, Esparza-Gomez G, Gonzalez-Moles MA, Bascones-Martinez A. Oral ulcers: clinical aspects. A tool for dermatologists. Part I. Acute ulcers. Clin Exp Dermatol. 2009;34(3):289-94.
2. Ekmektzoglu KA, Zografos GC. A concomitant review of the effects of diabetes mellitus and hypothyroidism in wound healing. World J Gastroenterol. 2006;12(17):2721-9.
3. Falanga V. Wound healing and its impairment in the diabetic foot. Lancet. 2005;366(9498):1736-43.
4. Hehenberger K, Heilborn JD, Brismar K, Hansson A. Inhibited proliferation of fibroblasts derived from chronic diabetic wounds and normal dermal fibroblasts treated with high glucose is associated with increased formation of L-lactate. Wound Repair Regen. 1998;6(2):135-41.
5. Craig RG, Yu Z, Xu L, Barr R, Ramamurthy N, Boland J, et al. A chemically modified tetracycline inhibits streptozotocin-induced diabetic depression of skin collagen synthesis and steady-state type I procollagen mRNA. Biochim Biophys Acta. 1998;1402(3):250-60.

6. Goldman R. Growth factors and chronic wound healing: past, present, and future. *Adv Skin Wound Care*. 2004;17(1):24-35.
7. Branski LK, Pereira CT, Herndon DN, Jeschke MG. Gene therapy in wound healing: present status and future directions. *Gene Ther*. 2007;14(1):1-10.
8. Jarvis CI. Becaplermin (Regranex) for diabetic foot ulcers. *Am Fam Physician*. 2008;78(2):255.
9. Kwon MJ, An S, Choi S, Nam K, Jung HS, Yoon CS, et al. Effective healing of diabetic skin wounds by using nonviral gene therapy based on minicircle vascular endothelial growth factor DNA and a cationic dendrimer. *J Gene Med*. 2012;14(4):272-8.
10. Goldstein LJ. Hyperbaric oxygen for chronic wound. *Dermatol Ther*. 2013;26(3):207-14.
11. Aydin F, Kaya A, Karapinar L, Kumbaraci M, Imerci A, Karapinar H, et al. IGF-1 increases with hyperbaric oxygen therapy and promotes wound healing in diabetic foot ulcers. *J Diabetes Res*. 2013;2013:567834.
12. Chithra P, Sajithlal GB, Chandrakasan G. Influence of *Aloe vera* on the healing of dermal wounds in diabetic rats. *J Ethnopharmacol*. 1998;59(3):195-201.
13. Talmadge J, Chavez J, Jacobs L, Munger C, Chinnah T, Chow JT, et al. Fractionation of *Aloe vera* L. inner gel, purification and molecular profiling of activity. *Int Immunopharmacol*. 2004;4(14):1757-73.
14. Turner CE, Williamson DA, Stroud PA, Talley DJ. Evaluation and comparison of commercially available *Aloe vera* L. products using size exclusion chromatography with refractive index and multi-angle laser light scattering detection. *Int Immunopharmacol*. 2004;4(14):1727-37.
15. Kent EM. Use of an immunostimulant as an aid in treatment and management of fibrosarcoma in three cats. *Feline Practice*. 1993;21(6):13-7.
16. Jettanacheawchankit S, Sasithanasate S, Sangvanich P, Banlunara W, Thunyakitpisal P. Acemannan stimulates gingival fibroblast proliferation; expressions of keratinocyte growth factor-1, vascular endothelial growth factor, and type I collagen; and wound healing. *J Pharmacol Sci*. 2009;109(4):525-31.
17. Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med*. 1999;341(10):738-46.
18. Aukhil I. Biology of wound healing. *Periodontol 2000*. 2000;22:44-50.
19. Hakkinen L, Uitto VJ, Larjava H. Cell biology of gingival wound healing. *Periodontol 2000*. 2000;24:127-52.
20. Reynolds T, Dweck AC. *Aloe vera* leaf gel: a review update. *J Ethnopharmacol*. 1999;68(1-3):3-37.
21. Sharif Moghaddasi M. *Aloe vera* chemicals and usages. *Adv Environ Biol*. 2010;4(3):464-8.

22. Boudreau MD, Beland FA. An evaluation of the biological and toxicological properties of *Aloe barbadensis* (miller), *Aloe vera*. J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev. 2006;24(1):103-54.
23. Femenia A, Sanchez ES, Simal S, Rossello C. Compositional features of polysaccharides from *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) plant tissue. Carbohydrate Polymers. 1999;39:109-17.
24. Dal'Belo SE, Gaspar LR, Maia Campos PM. Moisturizing effect of cosmetic formulations containing Aloe vera extract in different concentrations assessed by skin bioengineering techniques. Skin Res Technol. 2006;12(4):241-6.
25. West DP, Zhu YF. Evaluation of *Aloe vera* gel gloves in the treatment of dry skin associated with occupational exposure. Am J Infect Control. 2003;31(1):40-2.
26. Fani M, Kohanteb J. Inhibitory activity of Aloe vera gel on some clinically isolated cariogenic and periodontopathic bacteria. J Oral Sci. 2012;54(1):15-21.
27. Alemdar S, Agaoglu S. Investigation of *In vitro* antimicrobial activity of *Aloe vera* juice. J Anim Vet Adv. 2009;8(1):99-102.
28. Wynn RL. *Aloe vera* gel: update for dentistry. Gen Dent. 2005;53(1):6-9.
29. Vazquez B, Avila G, Segura D, Escalante B. Antiinflammatory activity of extracts from *Aloe vera* gel. J Ethnopharmacol. 1996;55(1):69-75.
30. Chithra P, Sajithlal GB, Chandrakasan G. Influence of *Aloe vera* on collagen characteristics in healing dermal wounds in rats. Mol Cell Biochem. 1998;181(1-2):71-6.
31. Chithra P, Sajithlal GB, Chandrakasan G. Influence of *Aloe vera* on the glycosaminoglycans in the matrix of healing dermal wounds in rats. J Ethnopharmacol. 1998;59(3):179-86.
32. Fogleman RW, Shellenberger TE, Balmer MF, Carpenter RH, McAnalley BH. Subchronic oral administration of acemannan in the rat and dog. Vet Hum Toxicol. 1992;34(2):144-7.
33. Zhang L, Tizard IR. Activation of a mouse macrophage cell line by acemannan: the major carbohydrate fraction from *Aloe vera* gel. Immunopharmacology. 1996;35(2):119-28.
34. Djeraba A, Quere P. In vivo macrophage activation in chickens with Acemannan, a complex carbohydrate extracted from *Aloe vera*. Int J Immunopharmacol. 2000;22(5):365-72.
35. Kim YH, Choi MY, Kim YS, Park CH, Lee JH, Chung IY, et al. Triamcinolone acetone protects the rat retina from STZ-induced acute inflammation and early vascular leakage. Life Sci. 2007;81(14):1167-73.
36. WHO. Annex 2. Stability testing of active pharmaceutical ingredients and finished pharmaceutical products. World Health Organization. 2009.
37. Bozzi A, Perrin C, Austin S, Arce Vera F. Quality and authenticity of commercial aloe vera gel powders. Food Chem. 2007;103(1):22-30.

38. Ray A, Aswatha SM. An analysis of the influence of growth periods on physical appearance, and acemannan and elemental distribution of *Aloe vera* L. gel. Ind Crop Prod. 2013;48:36-42.
39. McAnalley BH, inventor Carrington Laboratories, Inc, assignee. Process for preparation of aloe products. United States patent 4851224. 1989 Jul 25.
40. Akintoye SO, Greenberg MS. Recurrent aphthous stomatitis. Dent Clin North Am. 2005;49(1):31-47.
41. Gupta A, Upadhyay NK, Sawhney RC, Kumar R. A poly-herbal formulation accelerates normal and impaired diabetic wound healing. Wound Repair Regen. 2008;16(6):784-90.
42. Tam JC, Lau KM, Liu CL, To MH, Kwok HF, Lai KK, et al. The in vivo and in vitro diabetic wound healing effects of a 2-herb formula and its mechanisms of action. J Ethnopharmacol. 2011;134(3):831-8.
43. Nayak SB, Pinto Pereira L, Maharaj D. Wound healing activity of *Carica papaya* L. in experimentally induced diabetic rats. Indian J Exp Biol. 2007;45(8):739-43.
44. Maethaisong R, Chaikunapruk N, Niruntraporn S, Kongkaew C. The efficacy of aloe vera used for burn wound healing: a systematic review. Burns. 2007;33(6):713-8.
45. Eamlamnam K, Patumraj S, Visedopas M, Thong-Ngam D. Effects of Aloe vera and sucralfate on gastric microcirculatory changes, cytokine levels and gastric ulcer healing in rats. World J Gastroenterol. 2006;12(13):2034-9.
46. Mahattanadul S. Antigastric ulcer properties of *Aloe vera*. Songklanakarin J Sci Technol. 1996;18(1):49-57.
47. Choonhakarn C, Busaracome P, Sripanidkulchai B, Sarakarn P. The efficacy of aloe vera gel in the treatment of oral lichen planus: a randomized controlled trial. Brit J Dermatol. 2008;158(3):573-7.
48. Oryan A, Naeini AT, Nikahval B, Gorjian E. Effect of aqueous extract of *Aloe vera* on experimental cutaneous wound healing in rat. Vet Arhiv. 2010;80(4):509-22.
49. Subramanian S, Kumar DS, Arulselvan P. Wound healing potential of *Aloe vera* leaf gel studied in experimental rabbits. Asian J Biochem. 2006;1(2):178-85.
50. Kim K, Kim H, Kwon J, Lee S, Kong H, Im S-A, et al. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of processed *Aloe vera* gel in a mouse model of non-insulin-dependent diabetes mellitus. Phytomedicine. 2009;16:856-63.
51. Huseini HF, Kianbakht S, Hajiaghaee R, Dabaghian FH. Anti-hyperglycemic and anti-hypercholesterolemic effects of Aloe vera leaf gel in hyperlipidemic type 2 diabetic patients: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. Planta Med. 2012;78(4):311-6.
52. Srinivasan K, Ramarao P. Animal models in type 2 diabetes research: an overview. Indian J Med Res. 2007;125(3):451-72.

53. Graves DT, Liu R, Alikhani M, Al-Mashat H, Trackman PC. Diabetes-enhanced inflammation and apoptosis--impact on periodontal pathology. *J Dent Res*. 2006;85(1):15-21.
54. Wei M, Ong L, Smith MT, Ross FB, Schmid K, Hoey AJ, et al. The streptozotocin-diabetic rat as a model of the chronic complications of human diabetes. *Heart Lung Circ*. 2003;12(1):44-50.
55. Silva JA, Lorencini M, Reis JR, Carvalho HF, Cagnon VH, Stach-Machado DR. The influence of type I diabetes mellitus in periodontal disease induced changes of the gingival epithelium and connective tissue. *Tissue cell*. 2008;40(4):283-92.
56. Pal K, Banthia AK, Majumdar DK. Polymeric hydrogels: Characterization and biomedical applications - A mini review. *Des Monomers Polym*. 2009;12:197-220.
57. Scully C. Clinical practice. Aphthous ulceration. *N Engl J Med*. 2006;355(2):165-72.
58. Abiko Y, Selimovic D. The mechanism of protracted wound healing on oral mucosa in diabetes. Review. *Bosn J Basic Med Sci*. 2010;10(3):186-91.
59. Dan AEB, Thygesen TH, Pinholt EM. Corticosteroid administration in oral and orthognathic surgery: a systematic review of the literature and meta-analysis. *J Oral Maxillofac Surg*. 2010;68(9):2207-20.
60. Karukonda SRK, Flynn TC, Boh EE, McBurney EI, Russo GG, Millikan LE. The effects of drugs on wound healing: part 1. *Int J Dermatol*. 2000;39(4):250-7.
61. Schäcke H, Döcke WD, Asadullah K. Mechanisms involved in the side effects of glucocorticoids. *Pharmacol Ther*. 2002;96(1):23-43.
62. Spandau UHM, Sauder G, Schubert U, Hammes H-P, Jonas JB. Effect of triamcinolone acetonide on proliferation of retinal endothelial cells in vitro and in vivo. *Br J Ophthalmol*. 2005;89(6):745-7.
63. Hartnett ME, Martiniuk DJ, Saito Y, Geisen P, Peterson LJ, McColm JR. Triamcinolone reduces neovascularization, capillary density and IGF-1 receptor phosphorylation in a model of oxygen-induced retinopathy. 2006;47(11):4975-82.
64. Gal P, Kilik R, Mokry M, Vidinsky B, Vasilenko T, Mozes S, et al. Simple method of open skin wound healing model in corticosteroid-treated and diabetic rats: standardization of semi-quantitative and quantitative histological assessments. *Vet Med-Czech*. 2008;53(12):652-9.
65. Ponc M, Kempenaar JA, Van Der Meulen-Van Harskamp GA, Bachra BN. Effects of glucocorticosteroids on cultured human skin fibroblasts - IV. Specific decrease in the synthesis of collagen but no effect on its hydroxylation. *Biochem Pharmacol*. 1979;28:2777-83.
66. Hein T, Mauch C, Hatamochi A, Krieg TH. Influence of corticosteroids on chemotactic response and collagen metabolism of human skin fibroblasts. *Biochem Pharmacol*. 1988;37(14):2723-9.
67. Braiman-Wiksman L, Solomonik I, Spira R, Tennenbaum T. Novel insights into wound healing sequence of events. *Toxicol Pathol*. 2007;35(6):767-79.

68. Ukong S, Ampawong S, Kengkoom K. Collagen measurement and staining pattern of wound healing comparison with fixations and stains. JMST. 2008;22:37-41.
69. Suvik A, Effendy AWM. The use of modified masson's trichrome staining in collagen evaluation in wound healing study. MJVR. 2012;3(1):39-47.
70. Brem H, Tomic-Canic M. Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. J Clin Invest. 2007;117(5):1219-22.
71. Desta T, Li J, Chino T, Graves DT. Altered fibroblast proliferation and apoptosis in diabetic gingival wounds. J Dent Res. 2010;89(6):609-14.
72. Devlin H, Garland H, Sloan P. Healing of tooth extraction sockets in experimental diabetes mellitus. J Oral Maxillofac Surg. 1996;54(9):1087-91.
73. Goova MT, Li J, Kislinger T, Qu W, Lu Y, Bucciarelli LG, et al. Blockade of receptor for advanced glycation end-products restores effective wound healing in diabetic mice. Am J Pathol. 2001;159(2):513-25.
74. Atiba A, Ueno H, Uzuka Y. The effect of aloe vera oral administration on cutaneous wound healing in type 2 diabetic rats. J Vet Med Sci. 2011;73(5):583-9.
75. Bajaj S, Singla D, Sakhuja N. Stability testing of pharmaceutical products. J App Pharm Sci. 2012;2(3):129-38.

ประวัติคณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการย่อย

1. ชื่อ-นามสกุล นวกรณ์ จิตตภิรมย์ศักดิ์

Last name: Jittapiromsak

Date of birth: 5 January 1976

First name: Nawaporn

Nationality: Thai

Sex: Female

Position: -

2. Degree(s) (subjects, university or school, year)

1999 D.D.S., Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Thailand

2003 M.Sc. Prosthodontics, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Thailand

2010 Ph.D. Dental Biomaterial Sciences, Graduate School, Chulalongkorn University, Thailand

3. Position held (type of position, Institution/authority, dates)

2000 Instructor, Department of Restorative Dentistry, Faculty of Dentistry, Naresuan University, Thailand

4. Recent publications:

Jittapiromsak, N. Sahawat, D., Banlunara, W., Sangvanish, P., Thunyakitpisal, P. Acemannan, an extracted product from *Aloe vera*, stimulates dental pulp cell proliferation, differentiation, mineralization, and dentin formation. Tissue Eng Part A. 2010; 16(6): 1997-2006.

Jittapiromsak, N., Larduangdee, P., Sangvanish, P., Thunyakitpisal, P. Effect of acemannan on BMP-2 expression in primary pulpal fibroblasts and periodontal fibroblasts, in vitro study. J Oral Tissue Engin. 2007; 4(3): 149-154.

Jittapiromsak, N., Benjavongkulchai, B., and Puranaveja, P. Nystatin release from tissue conditioner and its Candidicidal effects. J Dent Assoc Thai. 2006; 56 (1): 30-35.

ผู้ร่วมโครงการวิจัย 1

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาว สุวิมล เจตนาเชี่ยวชาญกิจ

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Suwimon Jettanacheawchankit

2. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ ทันตแพทย์

3. หน่วยงานและสถานที่อยู่ติดต่อได้สะดวก

ภาควิชาชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

ต.ท่าโพธิ์ อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000

โทรศัพท์ 055-966-066

โทรสาร 055-966-053

E-mail suwimon_pj@hotmail.com

4. ประวัติการศึกษา

2546 ทันตแพทยศาสตรบัณฑิต

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2552 วิทยาศาสตร์สุขภาพบัณฑิต (ชีววิทยาช่องปาก)

คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. ผลงานวิจัย

1. Jittapiromsak N, Jettanacheawchankit S, Lardungdee P, Sangvanich P, Thunyakitpisal P. Effect of acemannan on BMP-2 expression in primary pulpal fibroblasts and periodontal fibroblasts, in vitro study. J Oral Tissue Engin. 2007; 4: 149-154.
2. Jettanacheawchankit S, Sasitanasate S, Sangvanich P, Banlunara W, Thunyakitpisal P. Acemannan stimulates gingival fibroblast proliferation; expressions of keratinocyte growth factor-1, vascular endothelial growth factor, and type I collagen; and wound healing. J Pharmacol Sci. 2009; 109:525-53.

ผู้ร่วมโครงการวิจัย 2

1. ชื่อวิทยากรและหน่วยงาน

(ภาษาไทย) นายพสุธา ธิญะกิจไพศาล

ตำแหน่งทางวิชาการ ศาสตราจารย์

(ภาษาอังกฤษ) Pasutha Thunyakitpisal

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์

โทรศัพท์ 0 2218 8885

2. ประวัติการศึกษา

ปริญญา	สาขาวิชา	มหาวิทยาลัย	ปี พ.ศ. ที่ได้รับ
ท.บ.	ทันตแพทยศาสตร์	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2534

Ph.D.	Dental Science	Indiana University	2543
Postdoctoral Training	Anatomy	Indiana University	2543

3. หน้าที่และความรับผิดชอบ

- หัวหน้าหน่วยปฏิบัติการวิจัยและพัฒนาสมุนไพรและสารจากธรรมชาติ เพื่อการประยุกต์ใช้ในทางทันตกรรม

- President Elect, Southeast division, IADR 2009-2011

- ประธานหลักสูตรทันตชีวะวัสดุศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ จุฬาฯ

4. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ

ระดับนานาชาติ

1. Thunyakitpisal N, Thunyakitpisal P, Wiwatwarapan C. (2011) The effect of chemical surface treatments on the flexural strength of repaired acrylic denture base resin. J Prosthodont. 20(3):195-9.
2. Niyomploy P, Thunyakitpisal P, Karnchanatat A, Sangvanich P. (2010) Cell proliferative effect of polyxyloses extracted from the rhizomes of wild turmeric, *Curcuma aromatica*. Pharm Biol. 48:932-7.
3. Thunyakitpisal P, Saladyanant T, Hongprasong N, Pongsamart S, Apinhasmit W. (2010) Antibacterial activity of polysaccharide gel extract from fruit rinds of *Durio zibethinus* Murr. Against oral pathogenic bacteria. Journal of investigative and clinical dentistry. 1:120-125.
4. Jittapiromsak N, Sahawat D, Banlunara W, Sangvanich P, Thunyakitpisal P. (2010) Acemannan, an extracted product from Aloe vera, stimulates dental pulp cell proliferation, differentiation, mineralization, and dentin formation. Tissue Eng Part A. 16:1997-2006
5. Jettanacheawchankit S, Sasithanasate S, Sangvanich P, Banlunara W, Thunyakitpisal P. (2009) Acemannan stimulates gingival fibroblast proliferation; expressions of keratinocyte growth factor-1, vascular endothelial growth factor, and type I collagen; and wound healing. *Journal of Pharmacological Science*. 109, 525-531.
6. Jittapiromsak, N., Jettanacheawchankit, S., Lardungdee, P., Sangvanich, P., Thunyakitpisal, P.D. (2007) Effect of Acemannan on BMP-2 Expression in Primary Pulpal Fibroblasts And Periodontal Fibroblasts, in vitro Study, *Journal of Oral Tissue Engineering* 4, 149-154.
7. Thunyakitpisal P, Chaisuparat R. (2004) Simvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, reduced the expression of matrix metalloproteinase-9 (Gelatinase B) in osteoblastic cells and HT1080 fibrosarcoma cells. *Journal of Pharmacological Science*. 94, 403-9.

ระดับชาติ

1. Lardungdee P, Asvanit P, Thunyakitpisal P (2008). Effect of acemannan on the dentinosialophosphoprotein and dentin matrix protein 1 mRNA expressions in primary human pulpal cell. CU Dent J.31;407-14.
2. สุธาดา ศรีอรุณทัย ไพบุลย์ เตชะเลิศไพศาล พสุธา ธีรณัฐกิจไพศาล สุนันท์ พงษ์สามารถ (2551) ผลการยับยั้งเชื้อสเตรปโตค็อกคัสมีวแทนส์ของกลาสไอโอโนเมอร์ที่ผสมเจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือกทุเรียน ว.ทันตะ จุฬาฯ 31;193-200.
3. Serichetaphongse P, Tasachan W, Kantasuwan S, Thunyakitpisal P. Antimicrobial activity of aluminium chloride against *Streptococcus mutans* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. CU Dent J. 2008;31:399-406.
4. Saladyanant T, Hongprasong N, Pongsamart S, Apinhasmit W, Thunyakitpisal P. Polysaccharide gel from durian fruit-hull extracts: antibacterial activity against *Streptococcus mutans* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. CU Dent J. 2007;30:235-244.
5. Thunyakitpisal P. cDNA cloning and nucleotide sequencing of human connective tissue growth factor obtained from primary pulpal fibroblasts. CU Dent J. 2007;227-234.

5. การจดสิทธิบัตร/สิ่งประดิษฐ์/รางวัล

การจดสิทธิบัตร

1. สูตรน้ำยาบ้วนปากสมุนไพรที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน เพื่อการรักษาและป้องกันการเกิดโรคฟันผุ โรคปริทันต์ และแผลในช่องปาก
2. สูตรยาสีฟันสมุนไพรที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน เพื่อการรักษาและป้องกันการเกิดโรคฟันผุ โรคปริทันต์ และแผลในช่องปาก
3. สูตรยาสมานแผลในช่องปากที่มีสารอะซีแมนแนนสกัดจากส่วนวุ้นว่านหางจระเข้เป็นสารออกฤทธิ์หลัก
4. สูตรน้ำดื่มเสริมทดแทนที่มีสารสกัดส่วนวุ้นของว่านหางจระเข้ ในผู้ป่วยที่ปากแห้งเหตุน้ำลายน้อย
5. สูตรยาเร่งการสร้างกระดูกที่มีส่วนผสมของสารอะซีแมนแนนสกัดจากส่วนวุ้นว่านหางจระเข้และคอลลาเจน
6. กรรมวิธีการสกัดสารสกัดส่วนวุ้นว่านหางจระเข้ที่มีผลเร่งการเพิ่มจำนวน ของเซลล์สร้างเส้นใยของเนื้อเยื่อเหงือก เอ็นยึดปริทันต์และเนื้อเยื่อโพรงฟัน

สิ่งประดิษฐ์

1. น้ำยาบ้วนปากสมุนไพรที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน เพื่อการรักษาและป้องกันการเกิดโรคฟันผุ โรคปริทันต์ และแผลในช่องปาก
2. ยาสีฟันสมุนไพรที่มีสารโพลีแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน เพื่อการรักษาและป้องกันการเกิดโรคฟันผุ โรคปริทันต์ และแผลในช่องปาก
3. ยาสमानแผลในช่องปากที่มีสารอะซีแมนแนนสกัดจากส่วนหัวว่านหางจระเข้
4. ยาเร่งการสร้างกระดูกที่มีส่วนผสมของสารอะซีแมนแนนสกัดจากส่วนหัวว่านหางจระเข้และคอลลาเจน

6. รางวัล

1. The first winner award in the 13th Student Clinician Program, Santara Grand Hotel, Bangkok, Thailand. 15 December 2010 (Dental student, 2010)
2. The first winner award in Dental Material category, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand (Senior student project, 2009)
3. The first winner of Travel Award Competition, International Association of Dental Research – Southeast Asia Division, 21st Annual Meeting, Bali, Indonesia (Ph.D student, 2007)
4. The winner, the 2nd Hiroshima Conference, Dental school, Hiroshima University, Hiroshima, Japan (Ph.D student, 2007)
5. Charles T. Kean Memorial Award, International Association of Dental Research – Southeast Asia Division, 21st Annual Meeting, Bali, Indonesia (Ph.D student, 2007)
6. The first winner award in Dental Material category, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand (Senior student project, 2006)
7. The runner up award in the 6th Student Clinician Program, Central Convention Hotel, Bangkok, Thailand. December 2003 (Dental student, 2010)
8. The first winner award in Oral Biology category, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand (Senior student project, 2002)