แบบสรุปย่อการวิจัย

1. รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัย/แผนงานวิจัย

1.1 ชื่อเรื่อง

(ภาษาไทย) การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและชีวภาพของแผ่นเนื้อเยื่อปิดแผลจากโปรตีนกาวไหมสำหรับการปลูกถ่ายผิวหนัง

(ภาษาอังกฤษ) Physical and biological properties of silk sericin scaffolds for skin grafting

1.2 ชื่อคณะผู้วิจัย

<u>หัวหน้าโครงการ</u>

รองศาสตราจารย์ ดร. พรอนงค์ อร่ามวิทย์
ภาควิชาเภสัชกรรมปฏิบัติ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ถนนพญาไท กทม. 10330
โทรศัพท์ 02-218-8409
โทรสาร 02-218-8403

<u>ผู้ร่วมงานวิจัย</u>

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โศรดา กนกพานนท์
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ถนนพญาไท กทม. 10330
โทรศัพท์ 02-218-6867
โทรสาร 02-218-6867

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นิมิตร วรกุล
ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
ต. คอหงส์ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา
โทรศัพท์ 074-428-148
โทรสาร 074-428-148

<u>ที่ปรึกษาโครงการวิจัย</u>

รองศาสตราจารย์ ดร. ธีระพล ศรีชนะ
ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ต. คอหงส์ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา
โทรศัพท์ 074-428-148
โทรสาร 074-428-148

1.3 งบประมาณและระยะเวลาทำวิจัย

ได้รับงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2551 งบประมาณที่ได้รับ 1,166,000.00 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ กันยายน 2551 ถึง สิงหาคม 2552

2. ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

เนื่องจากการสร้างเนื้อเยื่อของผิวหนังในผู้ป่วยที่ได้รับอุบัติเหตุจากสารเคมี ไฟไหม้ ความร้อน ที่ทำให้เกิดการหลุดลอกของผิวหนังมักจะเกิดขึ้นอย่างไม่สมบูรณ์ ก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ การเกิดแผลเป็น หรืออาจทำให้เกิดความผิดปกติต่อการทำงานของอวัยวะนั้น ๆ ได้ ด้วยเหตุนี้ศัลยแพทย์จึงจำเป็นต้องนำผิวหนังส่วนดีของผู้ป่วยมาติดบาดแผลดังกล่าวเพื่อช่วยให้การซ่อมแซมเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น ซึ่งในกระบวนการดังกล่าวนอกจากจะทำให้ผู้ป่วยต้องสูญเสียเนื้อเยื่อจากอวัยวะดีบางส่วนและก่อให้เกิดความเจ็บปวดแล้ว ยังอาจเป็นการเพิ่มความเสี่ยงต่อการติดเชื้อของผู้ป่วยได้อีกด้วย

โปรตีนไหมเป็นโปรตีนจากธรรมชาติ โดยเฉพาะโปรตีนจากกาวไหมที่เรียกว่า เซริซิน (sericin) เป็นส่วนที่ยังไม่มีการนำไปใช้ประโยชน์อย่างจริงจัง ในกระบวนการสาวไหมก่อนทำการสาวเป็นเส้นใย ผู้ผลิตจะต้องนำรังไหมไปต้มในน้ำร้อนเสียก่อนเพื่อกำจัดกาวไหม หลังจากนั้นกาวไหมจะถูกทิ้งไปในธรรมชาติซึ่งนอกจากจะเป็นการสูญเสียโปรตีนที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ทางเศรษฐกิจแล้ว การเสื่อมสลายของกาวไหมในธรรมชาติอาจก่อให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อมได้ โปรตีนที่ได้จากกาวไหมมีส่วนประกอบของกรดอะมิโนที่สำคัญต่อร่างกายเช่น serine เป็นปริมาณสูง (ประมาณร้อยละ 30) สามารถแข็งตัวเป็นเจลที่มีความแข็งแรงและยืดหยุ่นต่าง ๆ กันได้ตามอุณหภูมิในการผลิต และสารประกอบร่วมอื่น ๆ นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ และสามารถป้องกันการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้อีกด้วย เนื่องจากเซริซินเป็นสารที่สามารถดูดซึมน้ำได้ดีจึงสามารถทำให้ผิวหนังชุ่มชื้นอันเป็นคุณสมบัติที่ดีในการนำใช้กับบาดแผลเนื่องจากจะทำให้ผู้ป่วยเกิดความเจ็บปวดน้อยลง ได้มีงานวิจัยพบว่าเซริซินสามารถกระตุ้นการสร้างและเพิ่มการยึดเกาะกันของเซลล์สร้างเส้นใยผิวหนังของมนุษย์ได้ (human skin fibroblasts) ผลการวิจัยเบื้องต้นยังพบอีกว่าเซริซินสามารถเพิ่มการสร้างคอลลาเจนทำให้บาดแผลในหนูทดลองหายได้รวดเร็วขึ้น ด้วยเหตุนี้ผู้วิจัยจึงเห็นความเป็นไปได้ในการพัฒนาแผ่นเนื้อเยื่อปิดแผลจากโปรตีนกาวไหมสำหรับการปลูกถ่ายผิวหนังซึ่งนอกจากจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการแพทย์แล้ว ยังสามารถก่อให้เกิดรายได้แก่เกษตรกรอย่างยั่งยืนจากการนำวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรมาก่อให้เกิดประโยชน์และเพิ่มมูลค่าของไหมได้

จากการทดสอบฤทธิ์ของเซริซินในหนูทดลองพบว่า โปรตีนกาวไหมเซริซินสามารถนำมาใช้รักษาบาดแผลสดในหนูทดลองได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพิ่มอัตราการหายของบาดแผล อีกทั้งกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญต่อการหายของบาดแผลได้อย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากเซริซินมีฤทธิ์ในการสมานแผลได้ดี จึงมีแนวคิดว่าในการนำมาใช้สร้างเป็นแผ่นเนื้อเยื่อปิดแผลสำหรับการปลูกถ่ายผิวหนัง ซึ่งแนวคิดนี้ยังไม่มีการศึกษาทั้งในและต่างประเทศ อย่างไรก็ตามแม้ว่าจะมีงานวิจัยตีพิมพ์ออกมาเป็นจำนวนมากเกี่ยวกับโปรตีนเซริซิน แต่การทดลองส่วนใหญ่เป็นผลมาจากเซริซินของไหมพันธุ์ต่างประเทศ ซึ่งมีลักษณะรังไหม โปรตีนไหมทั้งในด้านปริมาณและการเรียงตัวแตกต่างจากไหมพันธุ์ไทย ดังนั้นการนำเซริซินจากไหมพันธุ์ไทยซึ่งนับว่าเป็นหนึ่งในพันธุ์ไหมที่ดีที่สุดของโลกมาศึกษา จะเป็นการเพิ่มศักยภาพของผลิตผลทางการเกษตรในประเทศไทย อีกทั้งยังมีมูลค่าเพิ่มอย่างมากหากนำมาใช้ในทางการแพทย์ นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยที่มีแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวกซึ่งไม่จำเป็นต้องตัดผิวหนังส่วนดีมาเพื่อปะติดบริเวณที่เป็นแผลอีกต่อไป ด้วยแนวคิดนี้ ทำให้นักวิจัยเล็งเห็นถึงประโยชน์และความสำคัญของโครงการนี้ทั้งในด้านเศรษฐกิจ สังคม และทางการแพทย์

3. วัตถุประสงค์การวิจัย

โครงการนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ

1. การคัดเลือกโปรตีนกาวไหมจากสายพันธุ์ไหมไทยที่มีคุณสมบัติเหมาะสม และคัดเลือกวิธีการสกัดที่มีประสิทธิภาพ
2. คัดเลือกสารประกอบร่วมอื่น ๆ (โพลิเมอร์) ที่จะนำมาใช้สร้างแผ่นเนื้อเยื่อ
3. ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของแผ่นเนื้อเยื่อปิดแผล
4. ศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของแผ่นเนื้อเยื่อปิดแผล

4. ระเบียบวิธีการวิจัย

<u>การคัดเลือกสายพันธุ์ไหมไทยและการสกัดโปรตีนกาวไหม</u>

1. คัดเลือกสายพันธุ์ไหมที่มีความเหมาะสม โดยดูจากลักษณะทางกายภาพของรังไหม เส้นใย แหล่งผลิตที่ได้มาตรฐาน โดยดูจากกระบวนการควบคุมระหว่างการผลิต แหล่งอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงไหม
2. ทำการสกัดโปรตีนกาวไหมจากรังไหมด้วยวิธีต่าง ๆ อันได้แก่ การใช้ความร้อน การใช้กรด/ด่าง และการใช้สารละลายยูเรีย ทำการหาประสิทธิภาพในการผลิตและคุณภาพของโปรตีนกาวไหมที่ได้รับ เนื่องจากกรรมวิธีการสกัดที่แตกต่างกันจะให้โปรตีนกาวไหมที่มีคุณสมบัติ คุณภาพ ปริมาณของกรดอะมิโนที่แตกต่างกัน ซึ่งอาจมีผลต่อคุณสมบัติในการสมานแผลได้

การคัดเลือกโพลิเมอร์ที่นำมาใช้สร้างแผ่นเนื้อเยื่อ

ทำการคัดเลือกโพลิเมอร์ที่เหมาะสม เข้ากับเซลล์เนื้อเยื่อมนุษย์ได้ดี และได้รับการรับรองให้ใช้ในมนุษย์ได้

การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ เคมีและชีวภาพของโปรตีนกาวไหม

ศึกษาลักษณะสมบัติของผงโปรตีนกาวไหมในด้านการละลาย เคมี (ปริมาณกรดอะมิโน) และชีวภาพ (ความเข้ากันได้กับเซลล์ผิวหนังแท้ ความสามารถในการกระตุ้นการสร้างคอลลาเจน การกระตุ้นการสร้างสารก่อการอักเสบ)

5. ผลการวิจัย

จากลักษณะทางกายภาพและความเสถียรของสายพันธุ์ ผู้วิจัยได้ทำการคัดเลือกสายพันธุ์ไหมเพื่อนำมาใช้ทดสอบต่อไปทั้งสิ้นจำนวน 4 สายพันธุ์อันได้แก่ จุล 1/1 (รังไหมสีขาว), จุล 3/2 (รังไหมสีเขียวเหลือง), จุล 4/2 (รังไหมสีเหลืองเข้ม) และพันธุ์นางน้อยศรีสะเกษ 1 (รังไหมสีเหลืองเข้ม) เพื่อใช้ในการสกัดโปรตีนกาวไหม เมื่อนำมาสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ กัน อันได้แก่การสกัดด้วยความร้อนภายใต้ความดันสูง การสกัดด้วยสารละลายกรด สารละลายด่างและสารละลายยูเรีย พบว่า ปริมาณผลผลิต (yield) ที่ได้ในแต่ละวิธีมีความแตกต่างกัน โดยวิธีการสกัดด้วยสารละลายด่างจะให้ปริมาณผลผลิตต่ำที่สุด ส่วนวิธีการสกัดด้วยความร้อนและสารละลายยูเรียจะให้ผลผลิตค่อนข้างสูง แต่ปริมาณของสารสกัดที่ได้และลักษณะทางภายนอกเช่น สี ความหนืดของการสกัดในแต่ละรุ่นไม่แตกต่างกันมากนัก

เมื่อนำโปรตีนกาวไหมมาศึกษาค่าการละลายพบว่า โปรตีนกาวไหมสามารถละลายได้ดีขึ้นในอุณหภูมิสูง ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยที่รายงานว่า โปรตีนกาวไหมเป็นโปรตีนที่ประกอบไปด้วยเปปไทด์ประมาณ 18 ชนิดที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่าง ๆ กัน โดยเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะสามารถละลายได้ดีในอุณหภูมิต่ำ ส่วนเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะสามารถละลายได้เมื่อเพิ่มอุณหภูมิ อย่างไรก็ตามหากมีการเพิ่มอุณหภูมิสูงกว่า 37 องศาเซลเซียสเช่น 50 องศาเซลเซียส พบว่าค่าการละลายของโปรตีนกาวไหมลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับที่ 37 องศาเซลเซียส ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเกิด polymerization ของโปรตีนที่อุณหภูมิสูง ดังนั้นควรใช้อุณหภูมิเพียง 37 องศาเซลเซียสในการละลายโปรตีนกาวไหมเพื่อให้ได้ค่าการละลายสูงสุด นอกจากนี้โปรตีนกาวไหมจากสายพันธุ์ไหมที่แตกต่างกันยังมีค่าการละลายแตกต่างกันอีกด้วย

ผลของ pH ที่มีต่อค่าการละลายของโปรตีนกาวไหมพบว่า โปรตีนกาวไหมที่สกัดด้วยสารละลายด่างละลายได้ดีที่สุดใน pH ที่เป็นด่าง (pH 9.0) และมีค่าการละลายสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดต่าง ๆ และที่ pH อื่น ๆ ในส่วนของวิธีการสกัดอื่น ๆ ไม่สามารถสรุปได้ว่าค่าการละลายของโปรตีนกาวไหมจะละลายได้ดีในภาวะที่เป็นกรดหรือด่าง ทั้งนี้ความแตกต่างของค่าการละลายใน pH ต่างกันอาจ

เนื่องมาจากความแตกต่างของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนกาวไหมหลังจากการสกัด ส่งผลให้ประจุรวมของโปรตีนกาวไหมที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันด้วย

นอกจากนี้ยังพบว่าวิธีการสกัดก็มีผลต่อค่าการละลายของโปรตีนกาวไหม โดยวิธีการสกัดด้วยสารละลายด่างจะให้โปรตีนกาวไหมที่มีค่าการละลายสูงสุด รองลงมาคือโปรตีนกาวไหมที่ได้จากการสกัดด้วยความร้อน ด้วยสารละลายกรดและสารละลายยูเรียตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกันในทุกสายพันธุ์

ในส่วนของการสกัดสีจะพบว่า ส่วนใหญ่การสกัดสีออกจากรังไหมก่อนที่จะนำมาสกัดโปรตีนกาวไหมเซริซินมักจะส่งผลให้ค่าการละลายของโปรตีนกาวไหมเพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการจับตัวกันระหว่างโปรตีนกาวไหมกับสาร carotenoid หรือ flavonoid ซึ่งเป็นสารประกอบหลักที่ก่อให้เกิดสีในรังไหม ส่งผลให้เกิดเป็นสารประกอบโมเลกุลใหญ่ที่มีการละลายลดลง

จากค่าการละลายสามารถสรุปได้ว่าการนำโปรตีนกาวไหมมาผสมรวมกับโพลิเมอร์เพื่อขึ้นรูปเป็นแผ่นเนื้อเยื่อควรหลีกเลี่ยงการใช้โปรตีนกาวไหมที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลายยูเรียและสารละลายกรด แต่ควรใช้โปรตีนกาวไหมที่สกัดด้วยด่างหรือความร้อนแทนเนื่องจากมีค่าการละลายที่สูงกว่า ทำให้สามารถใช้โปรตีนกาวไหมในความเข้มข้นสูงได้

เมื่อนำโปรตีนกาวไหมมาศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์พบว่า โปรตีนกาวไหมที่ได้จากวิธีการสกัดที่แตกต่างกันมีผลต่อการเจริญเติบโตของไฟโบรบลาสต์แตกต่างกัน โดยโปรตีนกาวไหมที่ได้จากการสกัดด้วยความร้อนไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ (ปริมาณเซลล์หลังจากการเลี้ยงนาน 24 ชั่วโมงมีจำนวนมากกว่าร้อยละ 80 เมื่อเปรียบเทียบกับ negative control) นอกจากนี้ในความเข้มข้นของโปรตีนกาวไหมในระดับต่ำ ๆ คือ 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรยังสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์ได้ด้วย โดยปริมาณของเซลล์สูงกว่าร้อยละ 100 เมื่อเปรียบเทียบกับ negative control ส่วนโปรตีนกาวไหมที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลายยูเรียมีความเป็นพิษต่อเซลล์สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดทั้ง 4 วิธี โดยปริมาณของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่เหลือหลังจากการเลี้ยงนาน 24 ชั่วโมงมีต่ำกว่าร้อยละ 70 ของทุกสายพันธุ์ในทุก ๆ ความเข้มข้น

ในส่วนของสารก่อสีในรังไหมพบว่า สารก่อสีมีผลต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของไฟโบร-บลาสต์ได้ โดยเมื่อเปรียบเทียบปริมาณเซลล์หลังการเลี้ยงนาน 24 ชั่วโมงในไหมสายพันธุ์ จุล 3/2 และ 4/2 รวมถึงพันธุ์นางน้อยศรีสะเกษพบว่า โปรตีนกาวไหมที่ได้จากการสกัดโดยไม่แยกสารก่อสีออก จะสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของไฟโบรบลาสต์ได้มากกว่าโปรตีนกาวไหมที่ได้จากรังไหมสายพันธุ์เดียวกันแต่มีการสกัดสารก่อสีออก ซึ่งอาจกล่าวได้ว่า flavonoid และ carotenoid ในรังไหมมีประโยชน์ในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์นอกเหนือไปจากคุณสมบัติในการป้องกันรังไหมอีกด้วย

จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่าโปรตีนกาวไหมที่ได้จากการสกัดด้วยความร้อนจะมีความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำที่สุด ดังนั้นจึงควรใช้โปรตีนกาวไหมที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีนี้ในการสร้างแผ่นเนื้อเยื่อต่อไป นอกจากนี้ความเข้มข้นของโปรตีนกาวไหมในระดับต่ำ ๆ คือ 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จะเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการนำมาใช้สร้างแผ่นเนื้อเยื่อด้วย และเมื่อศึกษาคุณสมบัติของโปรตีนกาวไหมในการกระตุ้น

การสร้างคอลลาเจนชนิดที่ 1 จากเซลล์ไฟโบรบลาสต์พบว่า โปรตีนกาวไหมสามารถกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนได้ โดยความเข้มข้นของโปรตีนกาวไหมที่เพิ่มขึ้นจะสามารถกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนได้เพิ่มมากขึ้นเช่นกัน และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณคอลลาเจนที่ถูกสร้างขึ้นจากโปรตีนกาวไหมที่สกัดด้วยวิธีต่าง ๆ กันพบว่า โปรตีนกาวไหมที่สกัดด้วยความร้อนสามารถกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนได้สูงสุด ในขณะที่โปรตีนกาวไหมที่สกัดด้วยสารละลายยูเรียสามารถกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนได้ต่ำสุด นอกจากนี้โปรตีนกาวไหมที่สกัดจากสายพันธุ์ไหมที่มีสียังสามารถกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนได้สูงกว่าหากไม่ผ่านการสกัดสี ในขณะที่โปรตีนกาวไหมที่ผ่านการสกัดสีก่อนจะมีคุณสมบัติในการกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนได้ลดลง

จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนกาวไหมพบว่า รังไหมสายพันธุ์เดียวกันเมื่อนำมาสกัดด้วยวิธีต่างกันก็ให้ปริมาณกรดอะมิโนแต่ละชนิดแตกต่างกันด้วย อย่างไรก็ตามโปรตีนกาวไหมจากทุกสายพันธุ์และวิธีการสกัดมีส่วนประกอบของกรดอะมิโน serine สูงที่สุด รองลงมากคือ aspartic acid ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่รายงานโดยนักวิจัยอื่น โดยความแตกต่างของกรดอะมิโนที่เป็นส่วนประกอบในโปรตีนกาวไหมอาจส่งผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพและชีวภาพ

เนื่องจากมีรายงานกล่าวถึงการแพ้หรือระคายเคืองที่เกิดจากการใช้โปรตีนกาวไหมทางการแพทย์ ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การประยุกต์ใช้โปรตีนกาวไหมทางการแพทย์อยู่ในวงจำกัด ผู้วิจัยจึงได้ศึกษาคุณสมบัติในการกระตุ้นการสร้างสารก่อการอักเสบ (proinflammatory cytokines) อันได้แก่ interleukin-1β และ tumor necrosis factor-α ของโปรตีนกาวไหม ผลจากการศึกษาพบว่าโปรตีนกาวไหมแต่ละสายพันธุ์มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการสร้าง interleukin-1β ได้แตกต่างกัน โดยโปรตีนกาวไหมสายพันธุ์นางน้อยศรีสะเกษมีคุณสมบัติในการกระตุ้นการสร้าง interleukin-1β ได้สูงสุด ในขณะที่โปรตีนกาวไหมจากไหมสายพันธุ์จุล 1/1 และ 3/2 มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการสร้าง interleukin-1β ต่ำและมีค่าไม่แตกต่างกันมากนักเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโปรตีนกาวไหมเข้าไปในอาหารเลี้ยงเซลล์ ในขณะที่โปรตีนกาวไหมจากไหมสายพันธุ์จุล 4/2 สามารถกระตุ้นการสร้าง interleukin-1β ได้สูงกว่าเมื่อเทียบกับสายพันธุ์จุลอื่น ๆ อีกทั้งความเข้มข้นของโปรตีนกาวไหมสายพันธุ์จุล 4/2 ที่เพิ่มขึ้นสามารถกระตุ้นการสร้าง interleukin-1β ได้สูงขึ้นเช่นเดียวกับที่พบในโปรตีนกาวไหมที่สกัดจากไหมสายพันธุ์นางน้อยศรีสะเกษ ในส่วนของ tumor necrosis factor-α พบว่าโปรตีนกาวไหมแต่ละสายพันธุ์มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการสร้าง tumor necrosis factor-α ได้แตกต่างกันเช่นเดียวกับในกรณีของ interleukin-1β โดยโปรตีนกาวไหมสายพันธุ์นางน้อยศรีสะเกษมีคุณสมบัติในการกระตุ้นการสร้าง tumor necrosis factor-α ได้สูงสุด ในขณะที่โปรตีนกาวไหมจากไหมสายพันธุ์จุล 1/1 มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการสร้าง tumor necrosis factor-α ต่ำที่สุด นอกจากนี้โปรตีนกาวไหมจากไหมสายพันธุ์จุล 3/2 และ 4/2 มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการสร้าง tumor necrosis factor-α ได้สูงกว่าโปรตีนกาวไหมจากสายพันธุ์จุล 1/1 แต่ไม่แตกต่างกันมากนักโดยเฉพาะที่ความเข้มข้นสูงกว่า 0.4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

จากผลการศึกษาดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่าโปรตีนกาวไหมจากไหมสายพันธุ์จุล 1/1 น่าจะก่อให้เกิดการแพ้หรือการระคายเคืองได้น้อยกว่าโปรตีนกาวไหมจากไหมสายพันธุ์จุล 3/2 , จุล 4/2 และสายพันธุ์นางน้อยศรีสะเกษ

อย่างไรก็ตาม ความเข้มข้นของ proinflammatory cytokines อันได้แก่ interleukin-1β และ tumor necrosis factor-α ที่น้อยกว่า 100 ng/mL มักจะไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษหรือระคายเคืองต่อเซลล์ ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าโปรตีนกาวไหมจากไหมสายพันธุ์จุล 1/1 ที่สกัดด้วยความร้อนที่เป็นส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงเซลล์ในปริมาณที่สูงถึง 0.6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรไม่น่าจะก่อให้เกิดความเป็นพิษหรือระคายเคือง

เมื่อนำโปรตีนกาวไหมที่สกัดด้วยความร้อนจากไหมสายพันธุ์จุล 1/1 มาผสมร่วมกับโพลิเมอร์ชนิดต่าง ๆ พบว่า polyvinyl alcohol เป็นโพลิเมอร์ที่สามารถผลิตเป็นแผ่นเนื้อเยื่อร่วมกับโปรตีนกาวไหมได้อย่างมีประสิทธิภาพ จากการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมพบว่า โปรตีนกาวไหมในความเข้มข้นร้อยละ 3 ร่วมกับ polyvinyl alcohol ในความเข้มข้นร้อยละ 2 จะให้แผ่นเนื้อเยื่อที่คงตัว มีรูพรุนที่สม่ำเสมอ แต่ละช่องของรูพรุนมีการเชื่อมต่อกัน ซึ่งลักษณะดังกล่าวจะเป็นลักษณะที่เหมาะสมต่อการเคลื่อนตัวของเซลล์เนื้อเยื่อเพื่อการสมานแผล ดังนั้น แผ่นเนื้อเยื่อที่ขึ้นรูปจาก 3% sericin + 2% polyvinyl alcohol มีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้พัฒนาเป็นแผ่นปิดแผล

6. ข้อเสนอแนะที่ได้จากการวิจัย

จากผลการวิจัยจะเห็นได้ว่าโปรตีนกาวไหมจากไหมสายพันธุ์ไทยสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ได้โดยไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ ซึ่งโปรตีนกาวไหมที่ได้จากไหมต่างสายพันธุ์กันจะมีคุณสมบัติทางกายภาพและชีวภาพที่แตกต่างกัน อีกทั้งวิธีการสกัดโปรตีนกาวไหมยังมีผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพและชีวภาพอีกด้วย เมื่อนำโปรตีนกาวไหมมาผสมร่วมกับโพลิเมอร์ที่เหมาะสมจะสามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นเนื้อเยื่อที่มีคุณลักษณะเหมาะสมที่จะนำไปพัฒนาเป็นแผ่นเนื้อเยื่อปิดแผลได้

ผลการศึกษาในเบื้องต้นได้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของโปรตีนกาวไหมในการนำมาประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ อย่างไรก็ตามผลการศึกษาดังกล่าวเป็นเพียงการศึกษา *in vitro* ซึ่งหากจะนำมาใช้ ประโยชน์และเพิ่มคุณค่าในเชิงพาณิชย์ จำเป็นต้องมีการศึกษาคุณสมบัติของแผ่นเนื้อเยื่อดังกล่าวในสัตว์ทดลองต่อไป

7. การนำไปใช้ประโยชน์

จากผลการศึกษาคุณสมบัติของโปรตีนกาวไหมจะเห็นได้ว่า โปรตีนกาวไหมมีประโยชน์ในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์ โดยไม่ก่อให้เกิดการแพ้หรือระคายเคือง นอกจากนี้ยังสามารถนำมาผสมร่วมกับโพลิเมอร์เพื่อขึ้นรูปเป็นแผ่นเนื้อเยื่อที่มีคุณลักษณะเหมาะสม สามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ และอันเนื่องมาจากคุณสมบัติในการกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนของโปรตีนกาวไหมจึงทำให้สามารถนำมาเป็นส่วนประกอบของเครื่องสำอางได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ผลจากงานวิจัยนี้ นอกจากจะเป็นประโยชน์ทางการแพทย์และเภสัชภัณฑ์แล้ว ยังเพิ่มมูลค่าให้กับสินค้าเหลือใช้ทางการเกษตรอย่างมาก เป็นการยกระดับความเป็นอยู่ของเกษตรกรอย่างยั่งยืน นอกจากนี้ยังเป็นประโยชน์กับสังคมไทยโดยรวมทั้งในด้านสาธารณสุขและคุณภาพชีวิตของประชากร