

ฤทธิ์ของบัวบกต่ออัตราการไหลเวียนเลือดและการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียม
ในแบบจำลองแผลไหม้ระดับสองของหนูขาว

ปริญญานิพนธ์
ของ
ธารินี เจริญสันติธรรม

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาตจวิทยา
พฤษภาคม 2553

ฤทธิ์ของบัวบกต่ออัตราการไหลเวียนเลือดและการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียม
ในแบบจำลองแผลไหม้ระดับสองของหนูขาว

ปริญญานิพนธ์
ของ
ธารินี เจริญสันติธรรม

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาตจวิทยา
พฤษภาคม 2553
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ฤทธิ์ของบัวบกต่ออัตราการไหลเวียนเลือดและการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียม
ในแบบจำลองแผลไหม้ระดับสองของหนูขาว

บทคัดย่อ

ของ

ธารินี เจริญสันติธรรม

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาตจวิทยา

พฤษภาคม 2553

ธารินี เจริญสันติธรรม (2553). *ฤทธิ์ของบัวบกต่ออัตราการไหลเวียนเลือดและการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมในแบบจำลองแผลไหม้ระดับสองของหนูขาว*. ปรินซ์ตันนิพนธ์ วท.ม.(ตจวิทยา).
กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. คณะกรรมการควบคุม: รองศาสตราจารย์นายแพทย์ มนต์รี อุดมเพทายกุล, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัมพร จาริยะพงศ์สกุล.

บัวบกเป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายมาตั้งแต่อดีต โดยเฉพาะคุณสมบัติต่อการสมานแผล วัตถุประสงค์ของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เพื่อศึกษาผลของบัวบกต่ออัตราการไหลเวียนเลือดและการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมในแผลไหม้ระดับสองในหนูขาวพันธุ์ Wistar furth เพศผู้ น้ำหนักระหว่าง 200-250 กรัม แบ่งเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ และกลุ่มแผลไหม้-บัวบก แผลไหม้ถูกทำให้เกิดขึ้นโดยการใช้ แผ่นร้อน อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส วางบนหลังหนู เป็นเวลา 10 วินาที ทาน้ำเกลือและสารสกัดบัวบกบริเวณแผลวันละหนึ่งครั้ง เป็นเวลา 7 วัน ประเมินผลโดยคำนวณร้อยละการหายของแผล และวัดอัตราการไหลเวียนเลือดโดยใช้ Laser Doppler Flowmetry วิเคราะห์การทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมโดยวัดการเกาะติดของเม็ดเลือดขาวบนเซลล์เอนโดทีเลียม และการรั่วซึมของสารออกนอกหลอดเลือดดำขนาดเล็ก โดยวิธี intravital fluorescence microscopic ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดบัวบกมีฤทธิ์ช่วยเร่งการหายของแผล โดยภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 3, 5 และ 7 ร้อยละการหายของแผลในหนูที่ทำสารสกัดบัวบกมากกว่าหนูที่ทำด้วยน้ำเกลืออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และบัวบกมีฤทธิ์เพิ่มอัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนัง โดยภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 7 หนูที่ทำสารสกัดบัวบกมีอัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนังเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับหนูที่ทำด้วยน้ำเกลือและหนูปกติ นอกจากนี้พบว่า บัวบกช่วยฟื้นฟูการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียม โดยลดการเกาะติดของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่เกาะติดบนเอนโดทีเลียม และ ลดการรั่วซึมของสารออกนอกหลอดเลือดดำขนาดเล็กที่ผิวหนังอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับหนูที่ทำด้วยน้ำเกลือ ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 7

การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าบัวบกมีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ และฤทธิ์กระตุ้นการเกิดใหม่ของหลอดเลือดในแผลไหม้ ทำให้ช่วยฟื้นฟูการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมและเพิ่มอัตราการไหลเวียนเลือด ทำให้เร่งกระบวนการหายของแผลไหม้ได้ ดังนั้นสารสกัดบัวบกจึงเป็นทางเลือกหนึ่งในทางการแพทย์เพื่อใช้เร่งการหายของแผล

คำสำคัญ: บัวบก, แผลไหม้ระดับสอง, อัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนัง, การเกาะติดของเม็ดเลือดขาว, การรั่วซึมของสารออกนอกหลอดเลือด, วิธี intravital fluorescence microscopic

The effects of *Centella asiatica* on skin blood flow and endothelium function
in rat second degree burn model

AN ABSTRACT
BY
TARINEE CHAROENSANTITHAM

Presented in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Master of Science Degree in Dermatology
at Srinakharinwirot University
May 2010

Tarinee Charoensantitham. (2010). *The effects of Centella asiatica on skin blood flow and endothelium function in rat second degree burn model*. Master thesis, M.S.(Dermatology). Bangkok: Graduate School, Srinakharinwirot University. Advisor Committee: Assoc.Prof. Montree Udompataikul, Assist. prof. Amporn Jariyapongskul.

Centella asiatica (CA) is widely known for its uses in folk medicine, particularly for property of wound healing. The purpose of this study was to examine the effects of *Centella asiatica* on skin blood flow and endothelium function in second degree burn wound. Burn wound was created using hot (85°C) brass plate which was placed against the shaved skin at dorsal area for 10 second. Male Wistar Furth rats weighting 200-250 g were divided randomly into three groups, normal control (Control), burn wound topical application with normal saline (BURN-NSS), and with CA cream (BURN-CA). Normal saline and CA cream were applied topically once daily for 7 days. The burn wounds were analyzed for degree of wound healing and cutaneous blood flow by Laser Doppler Flowmetry. To examine endothelial function, density leukocyte adhesion to endothelial cells and degree of vascular permeability of postcapillary venules were evaluated under intravital microscopic technique.

The results showed that rat treated with CA was significantly increased in degree of wound healing on day 3, 5 and 7 after burning as compared to burn wound treated with NSS group. On day 7 after burn wound treated with CA, cutaneous blood flow was significantly increased as compared to burn wound treated with NSS and normal control group. Moreover, the present results demonstrated that there were significantly decreased leukocytes adhesion on the endothelial cells and vascular permeability of postcapillary venules in burn wound treated with CA as compared to burn wound treated with NSS group.

In conclusion, topical application of CA cream suppressed leukocyte adhesion and thus endothelial dysfunction, associated with increasing cutaneous blood flow in burn wound. Therefore, it was suggested that *Centella asiatica* might be a great therapeutic agent for improvement of wound healing.

Keywords: *Centella asiatica*, second degree burn, cutaneous blood flow, leukocyte adhesion, vascular permeability, intravital fluorescence microscopy

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย

จาก

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความช่วยเหลือคำแนะนำอย่างดียิ่งจาก คณาจารย์หลายท่าน ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์นายแพทย์ มนต์รี อุดมเพทายกุล ประธานควบคุมปริญญานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัมพร จาริยะพงศ์สกุล กรรมการควบคุม ปริญญานิพนธ์ที่ได้ให้คำปรึกษาแก่ผู้วิจัยตลอดการวิจัย ตั้งแต่การตั้งหัวข้องานวิจัย รูปแบบวิธีวิจัย วิธีการศึกษาวิจัยกระบวนการวิเคราะห์ แนวทางการอภิปรายและสรุปผล รวมถึงแนะนำข้อมูลต่าง ๆ เป็นประโยชน์ต่อการวิจัย อย่างละเอียดและใกล้ชิดตลอดมา เพื่อให้เจตนาวิจัยที่สำเร็จ สมบูรณ์มากที่สุด

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ นายแพทย์วรพงษ์ มั่นสเกียรติ ที่กรุณาสละเวลา อันมีค่ามาเป็นประธานกรรมการสอบปากเปล่าวิทยานิพนธ์ และให้คำแนะนำเพื่อปรับปรุงงานวิจัยให้ดียิ่งขึ้น และขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.สิรินันท์ นิลวางกูร ที่กรุณาร่วมเป็นกรรมการสอบปากเปล่าวิทยานิพนธ์ตลอดจนให้คำแนะนำแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ สถาบันวิจัยและพัฒนา องค์การเภสัชกรรม และ อาจารย์ ดร.ชฎา พิศาลพงศ์ ที่กรุณาสละเวลาและให้ความอนุเคราะห์ในการเตรียมครีมนับวบก ตลอดจนให้คำปรึกษา และเสนอแนะสิ่งที่มีประโยชน์ทำให้งานวิจัยออกมาสำเร็จด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ บัณฑิตมหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่สนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณ ดาวรุ่ง ศรีจิตตพงศ์ คุณ บุญมา ศรีปิ่นเป้า และคุณ ชลธิชา อารีบำบัด นักวิทยาศาสตร์ ประจำภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เจ้าหน้าที่ในศูนย์ผิวหนัง และเพื่อน ๆ แพทย์ทุกท่านที่ให้คำปรึกษาและช่วยเหลือผู้วิจัยโดยตลอด

ท้ายนี้ผู้วิจัยใคร่ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดาและทุกคนในครอบครัว ที่ให้การสนับสนุนทางการศึกษาและให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยอย่างดีเยี่ยมโดยตลอดจนสำเร็จการศึกษา

แพทย์หญิง ธาวิณี เจริญสันติธรรม

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง.....	1
ความมุ่งหมายของการวิจัย.....	2
ความสำคัญของการวิจัย.....	2
ขอบเขตของการวิจัย.....	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย.....	2
สมมุติฐานของการวิจัย.....	4
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
แผลไหม้ (Burn wound).....	5
กระบวนการหายของแผล (Wound healing process).....	15
บัวบก(<i>Centella asiatica</i> (Linn.) Urban.).....	33
3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	39
สัตว์ทดลองและการเตรียมสัตว์ทดลอง.....	39
การเตรียมครีมบัวบกความเข้มข้น7%.....	39
ขั้นตอนการวิจัยและวิธีการเก็บข้อมูล.....	40
การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis).....	51
อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย.....	51
4 ผลการวิจัย.....	52
ลักษณะโดยทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง.....	52
ผลการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลตามวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	56

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
5 อภิปรายผล สรุป.....	70
อภิปรายผล.....	70
สรุป.....	75
บรรณานุกรม.....	76
ภาคผนวก.....	82
ประวัติย่อผู้วิจัย.....	86

บัญชีตาราง

ตาราง	หน้า
1 ค่าน้ำหนักตัวเฉลี่ยของกลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้-บัวบก ในวันเริ่มต้นการศึกษา.....	53
2 ค่าน้ำหนักตัวเฉลี่ยของกลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้-บัวบก หลังเกิดแผลไหม้วันที่ 7.....	54
3 ร้อยละของน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลงในวันที่ 7 ของกลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้- น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้-บัวบก.....	55
4 ร้อยละการหายของแผลของกลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้-บัวบก ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 3, 5 และ 7.....	59
5 อัตราเฉลี่ย การไหลเวียนเลือดที่ผิวหนังของกลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้- บัวบก ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 3, 5 และ 7.....	62
6 จำนวนเม็ดเลือดขาวที่เกาะติดบนเอนโดทีเลียมในหลอดเลือดดำ postcapillary (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20-40 μm) ของกลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและ กลุ่มแผลไหม้-บัวบก ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 7.....	65
7 แสดง vascular permeability ของกลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผล ไหม้-บัวบก ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 7.....	67
8 ข้อแตกต่างทางสรีรวิทยาระหว่างหนูขาวกับมนุษย์.....	84

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 กราฟแสดงอุบัติการณ์ของแผลไหม้โดยจำแนกตามสาเหตุ.....	6
2 แสดงแผลไหม้ชนิด Scald burn.....	7
3 แสดงแผลไหม้ชนิด Flame burn แสดงการเกิดแผลไหม้ได้ทุกระดับ.....	7
4 แสดงแผลไหม้ชนิด Contact burn จากการสัมผัสเตารีด.....	8
5 ข้อแตกต่างระหว่างแผลไหม้ชนิด True high tension burn กับ Flash burn.....	9
6 แสดงแผลไหม้ชนิด Chemical burn จากกรดซัลฟูริก.....	10
7 ลักษณะของแผลไหม้ชนิดต่างๆ.....	12
8 Jackson's burn zones.....	13
9 ระดับความลึกของแผลไหม้ระดับต่างๆ.....	15
10 การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเมื่อเกิดกระบวนการอักเสบ.....	17
11 กลไกของการรั่วซึมของหลอดเลือดที่เพิ่มขึ้น.....	19
12 การเคลื่อนย้ายของเซลล์เม็ดเลือดขาวออกนอกหลอดเลือด.....	20
13 หน้าที่ของเซลล์ต่างๆและcytokineในบาดแผล.....	23
14 ระยะเวลาอักเสบของแผล(inflammatory phase).....	24
15 ระยะเวลาซ่อมแซมบาดแผล(Proliferative phase).....	28
16 กราฟแสดงปริมาณของcollagenที่สร้างขึ้นโดยสัมพันธ์กับปริมาณของcollagen matrix.....	29
17 บัวบก(<i>Centella asiatica</i> (Linn.) Urban).....	33
18 โครงสร้างของสารประกอบหลักของบัวบก(<i>Centella asiatica</i> Linn.).....	35
19 สรุปขั้นตอนการวิจัยและวิธีการเก็บข้อมูล.....	44
20 หนูขาว (Wistar Furth rat).....	45
21 แสดงลักษณะครีบบัวบกความเข้มข้น7%.....	45
22 แผ่นนำความร้อนที่ทำด้วย stainless steel (electrical hot plate).....	46
23 การบันทึกขนาดของแผล.....	46
24 การผ่าตัดเจาะคอ และสอดท่อ polyethylene(PE10).....	47
25 การเตรียมผิวหนัง.....	47
26 เครื่อง Intravital fluorescence microscope.....	48

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
27 เครื่อง Laser Doppler flowmeter.....	48
28 แสดงการวัดอัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนัง บริเวณแผลไหม้ 5 ตำแหน่ง.....	49
29 ขั้นตอนในการศึกษาโดยวิธี Intravital fluorescence microscopy.....	49
30 แสดงการฉีดสาร Rhodamine 6-G.....	50
31 แสดงการฉีดสารfluorescein.....	50
32 กราฟแสดงค่าน้ำหนักตัวเฉลี่ยของกลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้-บัวบก ในวันเริ่มต้นการทดลอง.....	53
33 กราฟแสดงร้อยละของน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลงในวันที่ 7 ในกลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้-บัวบก.....	55
34 ลักษณะของแผลไหม้ของกลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ.....	57
35 กราฟแสดงร้อยละการหายของแผลของกลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้-บัวบก ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 3, 5 และ 7.....	60
36 กราฟแสดงอัตราเฉลี่ย การไหลเวียนเลือดที่ผิวหนังของกลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้-บัวบก ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 3, 5 และ 7.....	63
37 กราฟแสดงจำนวนเม็ดเลือดขาวที่เกาะติดบนเอนโดทีเลียมในหลอดเลือดดำ postcapillary (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20-40 μm)ของกลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้-บัวบก ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 7.....	65
38 การเกาะติดของเม็ดเลือดขาวของหลอดเลือดดำ postcapillary (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20-40 μm) ภายหลังฉีด R-6-G ในกลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้-บัวบก ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 7.....	66
39 กราฟแสดง vascular permeability ของกลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้-บัวบก ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 7.....	68
40 vascular permeabilityของหลอดเลือดดำ postcapillary (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20-40 μm) ภายหลังฉีด FITC-dextran ในกลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้-บัวบก ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 7.....	69

บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

ไฟไหม้น้ำร้อนลวกเป็นอุบัติเหตุที่นับวันจะยิ่งมากขึ้นและทวีความรุนแรงขึ้นเรื่อยๆ เป็นอุบัติเหตุที่คร่าชีวิตคนไทยลงปีละมากๆ เป็นอันตรายต่อร่างกาย อาจทำให้ทุพพลภาพ เสียชีวิตและส่งผลกระทบต่อจิตใจอันเป็นภาระแก่ครอบครัว สังคม ความรุนแรงของแผลไหม้จะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น สาเหตุของแผลไหม้ บริเวณของพื้นผิวบนร่างกายที่ถูกไหม้ ตำแหน่งของแผลที่ถูกไหม้ ความลึกของแผลไหม้ อายุและโรคประจำตัวของผู้ป่วย เป็นต้น⁽¹⁾ การรักษาที่ถูกต้องและเหมาะสมจะช่วยลดความทุพพลภาพและการสูญเสียชีวิตได้

เมื่อเกิดบาดแผลขึ้นร่างกายจะตอบสนองโดยเกิดกระบวนการหายของแผล (wound healing process) โดยถ้าระยะเวลาการหายของแผลยิ่งสั้น บาดแผลก็จะหายเร็วขึ้นจึงช่วยลดความเสี่ยงต่อภาวะทุพพลภาพและการสูญเสียชีวิตได้ ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการหายของแผล ได้แก่ การดูแลรักษาแผล อาหาร การป้องกันการติดเชื้อ การเพิ่มการไหลเวียนเลือดบริเวณแผล เป็นต้น⁽²⁾ การใช้ยาทาที่แผลไหม้ นอกจากยาต้านการอักเสบแล้ว ยาที่ช่วยในกระบวนการหายของแผลไหม้เป็นสิ่งสำคัญที่จะช่วยเร่งให้แผลหายเร็วขึ้น ในปัจจุบันได้มีการศึกษาค้นคว้าวิจัยเกี่ยวกับยาที่ได้จากสมุนไพรมากขึ้น ตัวอย่างเช่น บัวบก(*Centella asiatica* (Linn.) Urban) ว่านหางจระเข้ (*Aloe vera* (Linn.) Urban) เป็นต้น⁽³⁾ การนำยาที่ได้จากสมุนไพรมาใช้มีข้อดีคือ ผลข้างเคียงน้อย ช่วยลดค่าใช้จ่าย เมื่อเปรียบเทียบกับตัวยาที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี อีกทั้งเป็นการส่งเสริมการใช้สมุนไพรไทยให้เป็นประโยชน์อีกด้วย

ปัจจุบันคณะกรรมการแห่งชาติด้านยาได้บรรจุ ครีมบัวบก ความเข้มข้น 7 % ในข้อบ่งชี้การสมานแผล ลงในบัญชียาจากสมุนไพร พ.ศ.2549⁽⁴⁾ ซึ่งบัญชียาจากสมุนไพรนี้เป็นส่วนหนึ่งของบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ.2547 ทำให้มีการนำครีมบัวบกไปใช้อย่างแพร่หลายมากขึ้น

บัวบก (Asiatic Pennywort) เป็นสมุนไพรพื้นบ้านมีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *Centella asiatica* (Linn.) Urban จัดอยู่ในวงศ์ Umbelliferae ส่วนประกอบทางเคมีที่สำคัญ 3 ชนิดที่สกัดได้จากบัวบกเป็นสารประกอบ triterpene ได้แก่ asiaticoside madecassic acid และ asiatic acid

บัวบกเป็นสมุนไพรที่ชาวบ้านนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายโดยเฉพาะการนำมาใช้รักษาบาดแผลต่างๆ เช่นแผลไหม้ แผลฉีกขาด แผลเรื้อรัง เป็นต้น ปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับสารสกัดใบบัวบกพบว่าสามารถช่วยให้แผลไหม้หายเร็วขึ้นโดยเพิ่มการสร้างcollagen และมีฤทธิ์ด้านการอักเสบ จากการค้นคว้างานวิจัยที่ผ่านมายังไม่มีการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดบัวบกต่อการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมในหลอดเลือด ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาผลของบัวบกต่อการหายของแผลโดยศึกษาอัตราการไหลเวียนของเลือดและการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดขนาดเล็กในแผลไหม้ที่ได้รับการรักษาด้วยครีมบัวบก

ความมุ่งหมายของการวิจัย

ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ผู้วิจัยได้ตั้งความมุ่งหมายไว้ดังนี้

1. เพื่อศึกษาผลของบัวบก(*Centella asiatica* Linn.) ต่อการหายของแผลไหม้
2. เพื่อศึกษาผลของบัวบก(*Centella asiatica* Linn.) ต่ออัตราการไหลเวียนเลือดในแผลไหม้
3. เพื่อศึกษาผลของบัวบก(*Centella asiatica* Linn.) ต่อการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมในหลอดเลือดขนาดเล็กที่ผิวหนังในแผลไหม้

ความสำคัญของการวิจัย

1. ทำให้ทราบถึงผลของบัวบก(*Centella asiatica* Linn.) ต่อการหายของแผลไหม้
2. ทำให้ทราบผลของบัวบก(*Centella asiatica* Linn.) ต่ออัตราการไหลเวียนเลือดในแผลไหม้
3. ทำให้ทราบผลของบัวบก(*Centella asiatica* Linn.) ต่อการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมในหลอดเลือดขนาดเล็กที่ผิวหนังในแผลไหม้
4. ทำให้ได้ข้อมูลเพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งทางการแพทย์ในการรักษาแผลไหม้

ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ทำในหนูขาวเพศผู้ปกติและหนูขาวเพศผู้ที่ถูกทำให้เกิดแผลไหม้ที่บริเวณหลัง ซึ่งเป็นแบบจำลองแผลไหม้ระดับสอง ก่อนที่จะทำการศึกษา หนูต้องมีอายุและน้ำหนักใกล้เคียงกัน

และมาจากแหล่งเดียวกัน ช่วงเวลาที่ทำการศึกษาคือ 7 วันหลังถูกทำให้เกิดแผลไหม้และทาด้วยครีมบัวบกหรือน้ำเกลือ โดยใช้หนูกลุ่มละ 6 ตัว โดยหนูจะอยู่ในภาวะสลบจากยาในขณะที่ถูกทำให้เกิดแผลไหม้

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย

หนู(rat) จากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล

ตัวแปรที่ศึกษา

ตัวแปรอิสระ: การทาแผลไหม้ด้วยครีมบัวบก

ตัวแปรตาม: ร้อยละการหายของแผล

อัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนัง

การเกาะติดของเซลล์เม็ดเลือดขาว

vascular permeability

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

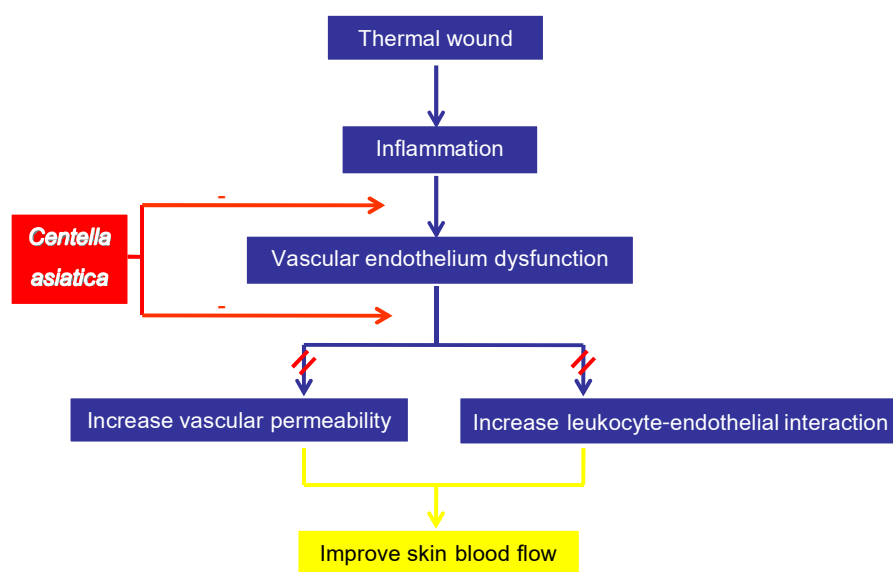
การศึกษานี้ศึกษาฤทธิ์ของบัวบกต่ออัตราการไหลเวียนเลือดและการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมในหลอดเลือดขนาดเล็กที่ผิวหนังในแบบจำลองแผลไหม้ระดับสองของหนูขาว ดังนั้นประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับในการศึกษานี้ ได้แก่

1. ก่อให้เกิดองค์ความรู้เกี่ยวกับประสิทธิภาพของบัวบกต่อการหายของแผลไหม้ในหนูขาว
2. ปัจจุบัน ครีมบัวบก ความเข้มข้น 7 % ถูกบรรจุลงในบัญชียาจากสมุนไพร พ.ศ.2549 ซึ่งบัญชียาจากสมุนไพรนี้เป็นส่วนหนึ่งของบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ.2547 ดังนั้นการวิจัยนี้จะช่วยสนับสนุนประสิทธิภาพของครีมบัวบกและพัฒนาสมุนไพรไทยที่มีราคาถูกลง นำไปสู่การพัฒนาเพื่อเป็นยาทาภายนอกที่ใช้สำหรับรักษาแผลไหม้
3. ลดค่าใช้จ่ายในการบำบัดรักษาแผลไหม้ ด้วยการใช้สมุนไพรไทย

สมมุติฐานของการวิจัย

สารบัวบกสามารถเร่งการหายของแผลไหม้โดยการเพิ่มอัตราการไหลเวียนเลือดและช่วยฟื้นฟูการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมในหลอดเลือดขนาดเล็กของผิวหนังบริเวณที่เกิดแผลไหม้

กรอบแนวคิดในการวิจัย



บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องและได้เสนอตามหัวข้อต่อไปนี้

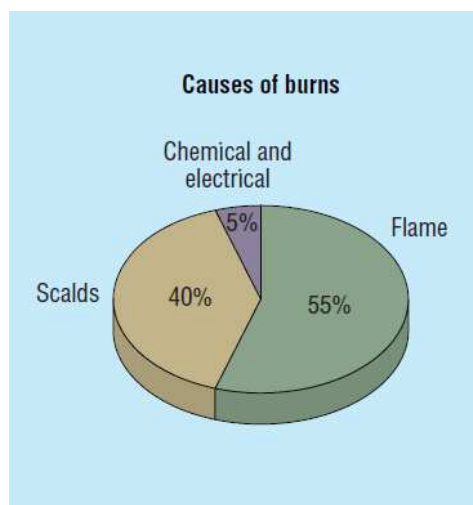
1. แผลไหม้ (Burn wound)
2. กระบวนการหายของแผล (Wound healing process)
3. บัวบก(*Centella asiatica* (Linn.) Urban.)

1. แผลไหม้ (Burn wound)

แผลไหม้ หมายถึง การที่เนื้อเยื่อถูกทำให้เสียหายโดยมีหลายสาเหตุเช่น ความร้อน ความเย็น กระแสไฟฟ้า สารเคมี แสงแดด การแผ่รังสี หรือการเสียดสี เป็นต้น บางครั้งอาจเสียหายไปถึง กล้ามเนื้อ กระดูก หลอดเลือดได้ การบาดเจ็บอาจมีเพียงเล็กน้อยจนถึงรุนแรง บางครั้งอาจเกิดโรคแทรกซ้อน เช่น การติดเชื้อ ความไม่สมดุลของเกลือแร่ในร่างกาย ภาวะทางเดินหายใจล้มเหลว จนถึงเกิดอาการช็อคได้ เป็นต้น และยังส่งผลกระทบต่อจิตใจอันเนื่องมาจากแผลเป็นและภาวะทุพพลภาพที่เกิดขึ้น^(5, 6)

1.1 สาเหตุของแผลไหม้ได้แก่⁽⁵⁻⁸⁾ (ภาพประกอบ1)

- 1.1.1 Thermal burn
 - 1.1.1.1 Scald burn
 - 1.1.1.2 Flame burn
 - 1.1.1.3 Contact burn
- 1.1.2 Electrical burn
- 1.1.3 Chemical burn
- 1.1.4 Inhalation burn
- 1.1.5 Radiation burn



ภาพประกอบ 1 กราฟแสดงอุบัติการณ์ของแผลไหม้โดยจำแนกตามสาเหตุ⁽⁹⁾

ที่มา: Hettiaratchy S, Dziewulski P. ABC of burns. Introduction. BMJ2004 Jun 5;328(7452):1366-8.

สาเหตุแต่ละชนิดทำให้เกิดการบาดเจ็บและความรุนแรงแตกต่างกันดังนี้

1.1.1 Thermal burn: แผลไหม้ที่เกิดจากการสัมผัสกับความร้อน แบ่งเป็น

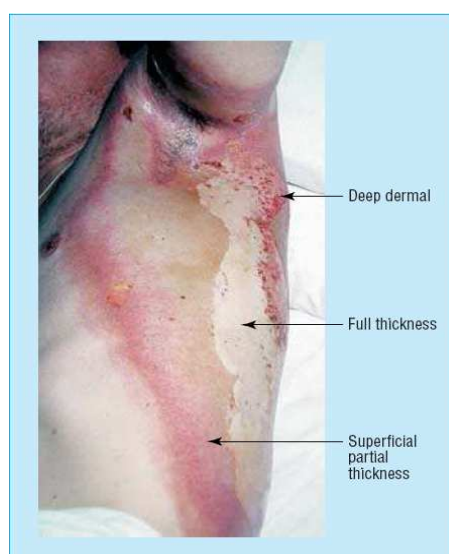
1.1.1.1 Scald burn: เป็นสาเหตุที่พบบ่อยมากที่สุดและพบได้ร้อยละ 70 ของผู้ป่วยวัยเด็กเล็ก เกิดจากโดน ของเหลวร้อน เครื่องดื่มร้อน อาบน้ำร้อน ทำให้เกิดแผลไหม้ระดับepidermis superficial partial-thickness deep partial-thickness หรือ full thickness ได้^(7, 8) (ภาพประกอบ 2)



ภาพประกอบ 2 แสดงแผลไหม้ชนิด Scald burn⁽⁸⁾

ที่มา: Hettiaratchy S, Dziewulski P. ABC of burns: pathophysiology and types of burns. BMJ2004 Jun 12;328(7453):1427-9.

1.1.1.2 Flame burn: เป็นสาเหตุที่พบได้บ่อยรองจากscald burnและพบได้ร้อยละ 50 ของผู้ป่วยวัยผู้ใหญ่ เกิดจากถูกไฟไหม้ วัตถุไวไฟ ทำให้เกิดแผลไหม้ได้ทุกระดับ มักพบร่วมกับการบาดเจ็บทางระบบทางเดินหายใจและระบบอื่นๆได้^(7, 8) (ภาพประกอบ 3)



ภาพประกอบ 3 แสดงแผลไหม้ชนิด Flame burn แสดงการเกิดแผลไหม้ได้ทุกระดับ⁽¹⁰⁾

ที่มา: Papini R. Management of burn injuries of various depths. BMJ2004 Jul 17;329(7458):158-60

1.1.1.3 Contact burn: เกิดจากสัมผัสด้วยความร้อนเช่น เหล็กร้อน พลาสติกร้อน แก้วร้อน เป็นต้น ทำให้เกิดแผลไหม้ระดับ deep partial-thickness หรือ full thickness ได้ มักพบในอุบัติเหตุในโรงงานอุตสาหกรรม^(7, 8) (ภาพประกอบ 4)



ภาพประกอบ 4 แสดงแผลไหม้ชนิด Contact burn จากการสัมผัสเตารีด⁽⁸⁾

ที่มา: Hettiaratchy S, Dziewulski P. ABC of burns: pathophysiology and types of burns. BMJ2004 Jun 12;328(7453):1427-9.

1.1.2 Electrical burn:

เป็นสาเหตุที่พบได้ร้อยละ 3-4 เป็นแผลไหม้ที่เกิดจากความร้อนที่เกิดจากแหล่งผลิตกระแสไฟฟ้าผ่านเข้าสู่ร่างกาย อิเล็กตรอนที่กระทบกับเซลล์จะเปลี่ยนพลังงานไฟฟ้าเป็นความร้อนซึ่งสามารถทำลายผิวหนังและเนื้อเยื่อภายในร่างกาย^(7, 8) โดยกระแสไฟฟ้าจะวิ่งผ่านเข้าร่างกายจากจุดหนึ่งไปยังอีกจุดหนึ่ง เกิดเป็น“จุดกระแสไฟฟ้าเข้า”และ“จุดกระแสไฟฟ้าออก” เนื้อเยื่อที่มีกระแสไฟฟ้าวิ่งผ่านจะได้รับบาดเจ็บโดยที่การบาดเจ็บจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับจำนวนvoltageและความต้านทานดังสูตร⁽⁸⁾

$$0.24 \times (\text{voltage})^2 \times \text{resistance}$$

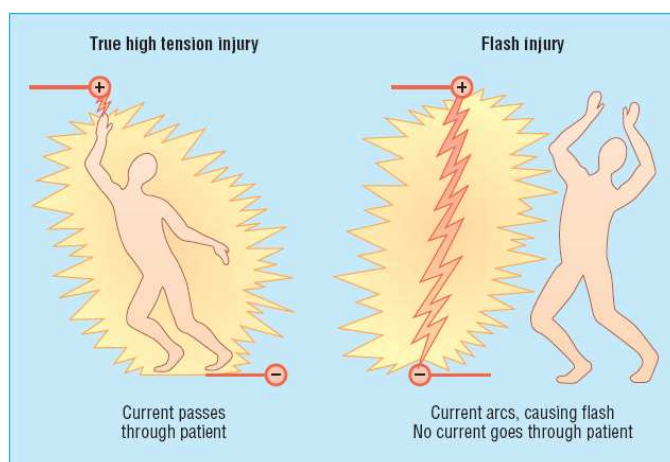
เนื้อเยื่อที่มีความต้านทานสูงจะถูกทำลายมากโดยเรียงลำดับจากมากไปหาน้อย ดังนี้ กระดูก ไขมัน เอ็น ผิวหนัง⁽⁷⁾ สามารถแบ่งสาเหตุของ electrical burn ออกเป็น

1.1.2.1 Domestic electricity: เป็นชนิด voltage ต่ำ ทำให้เกิดแผลไหม้ขนาดเล็ก และลึก ที่“จุดกระแสไฟฟ้าเข้า”และ“จุดกระแสไฟฟ้าออก” เกิดความผิดปกติของวงจรการเดินของหัวใจ เกิดภาวะหัวใจเต้นผิดจังหวะได้⁽⁸⁾

1.1.2.2 True high tension burn: พบได้ใน voltage ที่มากกว่า 1000 โวลต์ ทำให้มีเนื้อเยื่อบาดเจ็บมากและอาจทำให้สูญเสียอวัยวะได้ มักพบว่าเนื้อเยื่ออ่อนและกระดูกเกิด necrosis เป็นจำนวนมาก มีการบาดเจ็บต่อกล้ามเนื้อซึ่งอาจทำให้เกิด rhabdomyolysis และไตวาย กระแสไฟฟ้าที่มากกว่า 7000 โวลต์ทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตได้ โดยมักเกิดจากการสัมผัสกับกระแสไฟฟ้าแรงสูง ความผิดปกติขณะทำงานกับกระแสไฟฟ้าแรงสูง หรือถูกฟ้าผ่า^(7, 8)

1.1.2.3 Flash burn: เกิดจากประกายไฟจากแหล่งกำเนิดไฟฟ้า voltage สูง ความร้อนจากประกายไฟทำให้เกิดแผลไหม้ระดับ epidermis ได้^(7, 8)

ข้อแตกต่างระหว่าง True high tension burn กับ Flash burn คือ True high tension burn จะมีกระแสไฟฟ้าผ่านเข้าร่างกายแต่ Flash burn จะไม่มีกระแสไฟฟ้าผ่านเข้าร่างกาย⁽⁸⁾ (ภาพประกอบ 5)



ภาพประกอบ 5 ข้อแตกต่างระหว่างแผลไหม้ชนิด True high tension burn กับ Flash burn⁽⁸⁾

ที่มา: Hettiaratchy S, Dziewulski P. ABC of burns: pathophysiology and types of burns. BMJ2004 Jun 12;328(7453):1427-9.

อวัยวะอื่นๆอาจเกิดการบาดเจ็บร่วมด้วย⁽⁷⁾ ได้แก่

ระบบหัวใจและปอด: ทำให้เกิด ventricular fibrillation ทำให้เสียชีวิตได้ทันที

ระบบไต: ทำให้เกิดไตวายจากการอุดตันของ tubule ด้วย hemoglobin และ myoglobin

ระบบกระดูก: ทำให้กระดูกหักจากการกระตุกของกล้ามเนื้ออย่างรุนแรงโดยเฉพาะกระดูก

สันหลัง

ระบบหลอดเลือด: หลอดเลือดที่บาดเจ็บอาจเกิดการอุดตันและทำให้หลอดเลือดใหญ่แตกได้

อวัยวะภายในช่องท้อง: อาจเกิดการบาดเจ็บเช่น ลำไส้หรือกระเพาะอาหารอาจแตกทะลุ เกิด

ภาวะ ileus

ต่อกระຈก: อาจเกิดขึ้นภายหลังจากการเกิด electrical injury

1.1.3. Chemical burn: แผลไหม้ที่เกิดจากการสัมผัสกรดหรือด่างเข้มข้นหรืออินทรียวัตถุ

โดยความรุนแรงขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารเคมี ระยะเวลาที่สัมผัส และพื้นที่ผิวที่สัมผัส มักพบในอุบัติเหตุจากโรงงานอุตสาหกรรม ซีเมนต์เป็นสาเหตุที่พบได้บ่อยที่สุดของสารที่มีฤทธิ์เป็นด่าง แผลไหม้ประเภทนี้ทำให้เกิดแผลระดับdeep ได้^(7, 8) (ภาพประกอบ 6)



ภาพประกอบ 6 แสดงแผลไหม้ชนิด Chemical burn จากกรดซัลฟูริก⁽⁸⁾

ที่มา: Hettiaratchy S, Dziewulski P. ABC of burns: pathophysiology and types of burns. BMJ2004 Jun 12;328(7453):1427-9.

1.1.4. Inhalation burn: เป็นการบาดเจ็บของทางเดินหายใจจากการสูดควันและความร้อนเข้าไปมาก พบในอุบัติเหตุไฟไหม้ อาการส่วนมากเกิดจากการตีบตันของทางเดินหายใจ เช่น หายใจลำบาก ภาวะออกซิเจนในเลือดต่ำ โดยหลังเกิดเหตุ 3-4 วัน อาการจะแสดงออกชัดเจน^(7, 8)

1.1.5. Radiation burn: เป็นชนิดที่พบได้น้อยมาก มักเกิดจากการสัมผัสกับรังสี ความรุนแรงของแผลไหม้ขึ้นอยู่กับระยะเวลาการสัมผัส มักพบในผู้ที่ใช้สารรังสีในโรงงานอุตสาหกรรมหรือได้รับรังสีรักษา รวมไปถึงผิวหนังไหม้จากการสัมผัสแสงแดด(รังสีอัลตราไวโอเล็ต)เป็นระยะเวลานาน ในขณะที่ได้รับรังสี(acute injury) ผิวหนังจะแดงและมีตุ่มน้ำ เจ็บปวด ต่อมาปฏิกิริยานี้จะหายไปและถูกแทนที่โดย fibrosis telangiectasia และ hyperpigmentation ทำให้ผิวหนังด้านแข็งและสีคล้ำ ถ้าความรุนแรงจะกลายเป็นแผลเรื้อรังและอาจเปลี่ยนแปลงเป็นเนื้อร้ายได้^(7, 8)

1.2 พยาธิสรีรวิทยาของแผลไหม้ (Pathophysiology of burn)

สาเหตุของแผลไหม้ที่แตกต่างกัน ทำให้เกิดแผลไหม้ชนิดต่างๆ ซึ่งแต่ละชนิดจะมีการรักษาที่แตกต่างกันด้วย ดังนั้นการเข้าใจพยาธิสรีรวิทยาของโรค ทำให้การรักษาเป็นไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ แผลไหม้มีความรุนแรงของบาดแผลไหม้มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณความร้อนและระยะเวลาที่ผิวหนังถูกความร้อน ในปี1947 Jackson ได้แบ่งพยาธิสรีรวิทยาของผิวหนังและเนื้อเยื่อที่ได้รับบาดเจ็บเป็น 3 โซนคือ^(1, 5, 8) (ภาพประกอบ 7, 8)

1.2.1 Zone of coagulation: เป็นบริเวณที่สัมผัสความร้อนมากที่สุดจึงเป็นบริเวณที่ถูกทำลายมากที่สุด เซลล์เกิด coagulation necrosis ทำให้เซลล์ตายหมด ไม่สามารถกลับเป็นปกติได้

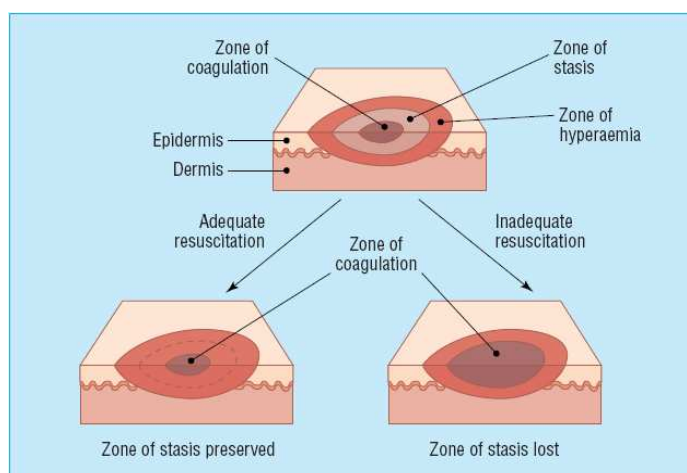
1.2.2 Zone of stasis: เป็นบริเวณที่เซลล์มีการบาดเจ็บเกิดขึ้นโดยมีการไหลเวียนของเลือดไปบริเวณนั้นลดลงเพราะมี clotting เกิดขึ้นและหลอดเลือดหดตัว อยู่ในภาวะขาดเลือด (ischemic) ถ้ารักษาไม่ถูกต้อง เซลล์จะตายภายใน 24- 48 ชั่วโมง ปัจจัยเสี่ยง ได้แก่ ภาวะความดันโลหิตต่ำ การติดเชื้อ ภาวะบวม เป็นต้น

1.2.3 Zone of hyperemia: เป็นบริเวณที่อยู่นอกสุด มีการไหลเวียนของเลือดไปบริเวณนั้นเพิ่มขึ้นเซลล์บริเวณนี้ได้รับบาดเจ็บเพียงเล็กน้อย ถ้าไม่มีภาวะแทรกซ้อน เช่น ภาวะความดันโลหิตต่ำ ภาวะติดเชื้อในกระแสโลหิต เป็นต้น สามารถหายได้เองภายใน 7-10 วัน



ภาพประกอบ 7 ลักษณะของแผลไหม้ชนิดต่างๆ จะมี zone of coagulation อยู่ตรงกลางและล้อมรอบด้วย zone of stasis และ zone of hyperemia ตามลำดับ⁽⁸⁾

ที่มา: Hettiaratchy S, Dziewulski P. ABC of burns: pathophysiology and types of burns. BMJ2004 Jun 12;328(7453):1427-9.



ภาพประกอบ 8 Jackson's burn zones แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของโซนต่างๆเมื่อได้รับการรักษาที่เพียงพอและไม่เพียงพอ⁽⁸⁾

ที่มา: Hettiaratchy S, Dziewulski P. ABC of burns: pathophysiology and types of burns. BMJ2004 Jun 12;328(7453):1427-9.

1.3 ความรุนแรงของแผลไหม้ (Severity of burn)^(1, 7)

ความรุนแรงของแผลไหม้ขึ้นอยู่กับ

1.3.1 พื้นที่ผิวหนังที่บาดเจ็บ

1.3.2 ความลึกของแผล

1.3.3 สาเหตุของการบาดเจ็บ

1.3.4 สภาพผู้ป่วย เช่น การบาดเจ็บร่วมอย่างอื่น อายุ หรือโรคประจำตัว

1.4 การแบ่งระดับความลึกของแผลไหม้ (Classification of burn depth)

ความลึกของบาดแผลเป็นปัจจัยหลักที่แสดงถึงความรุนแรงของบาดแผล โดยความลึกของบาดแผลจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของความร้อนที่ได้รับ ระยะเวลาที่สัมผัส ความหนาของผิวหนังและความสามารถในการระบายความร้อนของผิวหนัง เป็นต้น สามารถแบ่งออกได้ดังนี้^{(1,}

5, 7, 11) (ภาพประกอบ 9)

1.4.1 shallow burn

1.4.1.1 epidermal burn (first-degree): เป็นการบาดเจ็บเฉพาะชั้นหนังกำพร้า (epidermis) ผิวหนังมีลักษณะบวมเล็กน้อยและมีสีแดงจากการขยายตัวของเส้นเลือดบริเวณนั้น แผลจะไม่มีลักษณะของตุ่มน้ำ ผู้ป่วยมีอาการปวดแผลได้ ในวันที่ 2 และ 3 แผลจะแดงและปวดลดลง ประมาณวันที่ 4 จะมีการลอกของผิวหนังชั้นนอก การบาดเจ็บชนิดนี้เนื้อเยื่อมีการตายน้อย ยกเว้นถ้ามีการขาดเลือดหรือติดเชื้อ

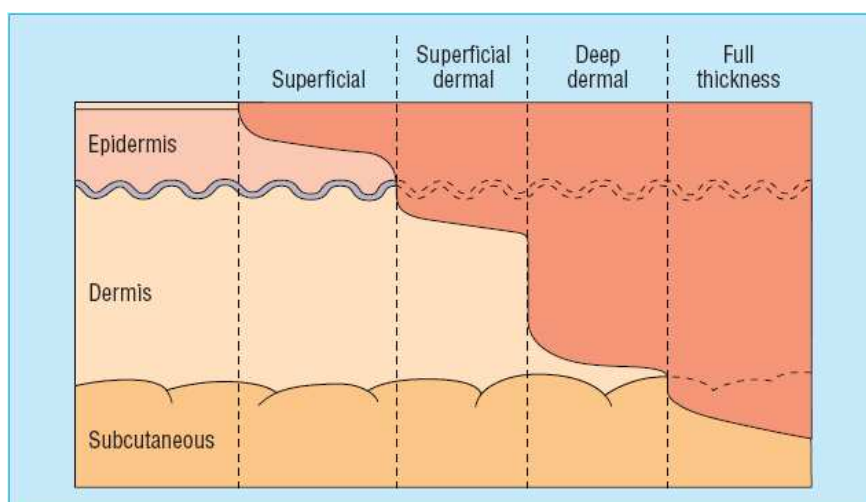
1.4.1.2 superficial partial-thickness (second-degree): เป็นการบาดเจ็บของชั้นหนังกำพร้า(epidermis) ร่วมกับส่วนบนของชั้นหนังแท้(dermis) บาดแผลมีลักษณะเป็นตุ่มน้ำที่มีของเหลวคั่งอยู่ภายใน เกิดขึ้นที่รอยต่อของชั้นepidermisและdermis การเกิดตุ่มน้ำอาจไม่ได้เกิดขึ้นทันทีหลังจากได้รับบาดเจ็บ โดยอาจจะพบหลังจากได้รับบาดเจ็บเป็นชั่วโมง ถ้าได้รับการรักษาที่ถูกต้องและไม่มีการติดเชื้อ แผลจะหายได้เองภายใน 21 วันและไม่สูญเสียความสามารถในการทำงาน การเกิดแผลเป็นนูน(hypertrophic scar)พบน้อยมาก

1.4.2 deep burn

1.4.2.1 deep partial-thickness (second-degree): เป็นการบาดเจ็บของชั้นหนังกำพร้า(epidermis) จนถึงชั้น reticular ของหนังแท้(dermis) หลังจากได้รับบาดเจ็บแผลจะมีลักษณะสีชมพู mottle และสีขาวทันที โดยขึ้นอยู่กับการไหลเวียนโลหิตของบริเวณนั้น บริเวณสีขาวแสดงถึงไม่มีการไหลเวียนโลหิต บริเวณสีชมพูแสดงถึงมีการไหลเวียนโลหิตบ้างแต่น้อย การตรวจcapillary refill พบว่าช้าลงหรือไม่มีเลย มีอาการเจ็บปวดมาก ถ้าได้รับการรักษาที่ถูกต้องและไม่มีการติดเชื้อ แผลจะหายภายใน 3-9 สัปดาห์ อาจทำให้สูญเสียความสามารถในการทำงาน มักพบว่าเกิดแผลเป็นนูน(hypertrophic scar)ได้บ่อย

1.4.2.2 full-thickness (third-degree): เป็นการบาดเจ็บของผิวหนังทุกชั้น ตั้งแต่ชั้นหนังกำพร้า(epidermis)จนถึงทุกชั้นของหนังแท้(dermis) แผลจะมีสีขาว สีแดงcherryหรือสีดำ อาจพบหรือไม่พบตุ่มน้ำก็ได้ มีลักษณะแห้ง แข็งและไม่ยืดหยุ่น บางรายแผลไหม้อาจมีสีขาวใสเพราะเนื้อเยื่อตายหมด การบาดเจ็บชนิดนี้ทำให้เกิดescharได้ แผลประเภทนี้การหายของแผลต้องอาศัย wound contracture, epithelialization หรือ skin graft

1.4.2.3 fourth-degree: เป็นการบาดเจ็บที่รุนแรง มีการบาดเจ็บของผิวหนังทุกชั้น รวมทั้งชั้นไขมันใต้ผิวหนัง(subcutaneous fat) และเนื้อเยื่อใต้ผิวหนัง เช่น กล้ามเนื้อ กระดูกและเอ็น บริเวณของบาดแผลจะไม่มีการไหลเวียนของโลหิตเลย แผลประเภทนี้พบได้ในแผลไหม้ที่มีสาเหตุจาก กระแสไฟฟ้า(electrical burn) การสัมผัสความร้อน(contact burn) และในผู้ป่วยที่ไม่รู้สึกตัว



ภาพประกอบ 9 ระดับความลึกของแผลไหม้ระดับต่างๆ⁽¹¹⁾

ที่มา: Hettiaratchy S, Papini R. Initial management of a major burn: II--assessment and resuscitation. BMJ2004 Jul 10;329(7457):101-3.

2. กระบวนการหายของแผล (Wound healing process)

เมื่อร่างกายเกิดบาดแผลขึ้นจะด้วยสาเหตุใดก็ตาม ร่างกายจะมีกลไกในการปรับเพื่อรักษาสมดุล เกิดเป็นกระบวนการหายของแผลเกิดขึ้น เริ่มด้วยระยะ inflammatory phase ซึ่งจะเกิดขึ้นทันทีจนถึงภายใน 48-96 ชั่วโมง บางครั้งอาจยาวนานถึง 5-7 วันหลังเกิดแผล จากนั้นจะมี ระยะ proliferative เกิดขึ้นซึ่งใช้เวลา 1-3 สัปดาห์หลังได้รับบาดเจ็บ ต่อด้วยระยะสุดท้ายคือ ระยะ remodeling โดยจะเริ่มที่สัปดาห์ที่ 3 และอาจใช้เวลานานหลายเดือนหรือหลายปีก็ได้⁽¹²⁻¹⁴⁾

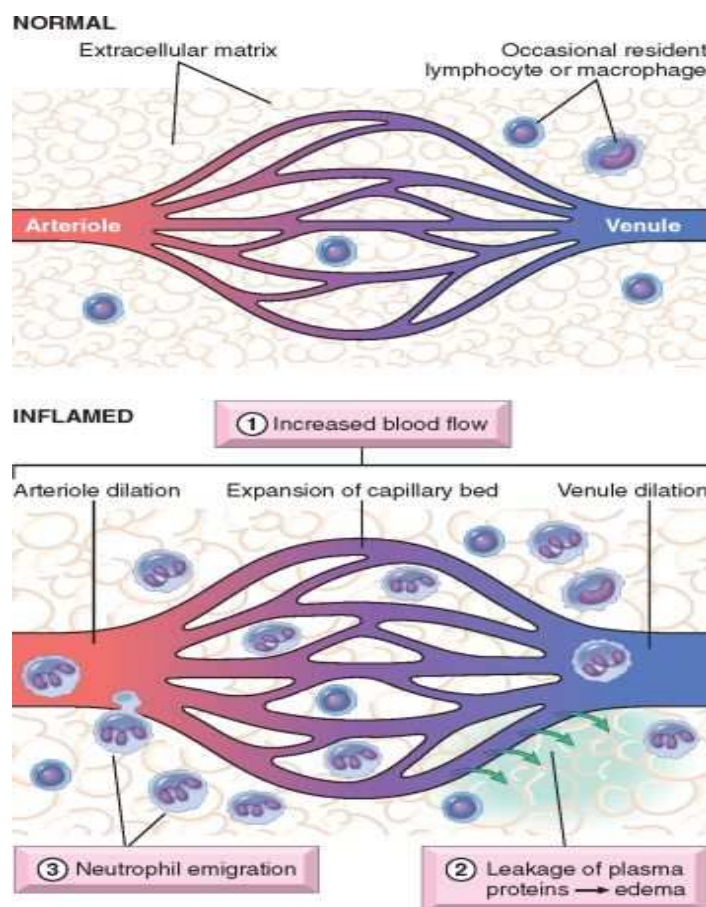
บาดแผลในที่นี้หมายถึง การบาดเจ็บที่มีการฉีกขาดหรือแตกหักของbasement membrane และเนื้อเยื่อข้างเคียง ทั้งที่เกิดจากแรงกลหรือความร้อน ตามมาด้วยภาวะเลือดออก collagen เซลล์ endothelium รวมทั้งโปรตีนที่อยู่ในและนอกหลอดเลือด(intravascular and extravascular proteins) ซึ่งอยู่ในชั้นหนังแท้ ถูกexposureออกมา^(13, 14) สิ่งเหล่านี้จะกระตุ้นให้เกิดกระบวนการหายของแผลขึ้น ซึ่งเริ่มต้นที่หลังเกิดบาดแผล แบ่งได้ 3 ระยะ ดังนี้

1. ระยะ inflammatory:

เมื่อเกิดบาดแผล หลอดเลือดได้รับบาดเจ็บ จะเกิดการตอบสนองของหลอดเลือดโดยการหดตัว เพื่อทำให้เลือดหยุดไหล จากนั้นระบบการสร้างลิ่มเลือดจะเริ่มทำงานเพื่อสร้างลิ่มเลือดมาช่วยอุดบาดแผล เพื่อทำให้เลือดหยุดไหล นอกจากนี้ ลิ่มเลือดยังช่วยทำให้เกิดการเคลื่อนย้ายของเซลล์ต่างๆ เช่น เกร็ดเลือด เซลล์เม็ดเลือดขาว fibroblast เป็นต้น มายังบริเวณที่บาดเจ็บอีกด้วย Fibrin plugที่เกิดขึ้น ประกอบด้วย เกร็ดเลือด fibrin fibronectin vitronectin thrombospondin^(13, 15) ทำหน้าที่ปิดบาดแผลชั่วคราว โดยมีการ cross-linking ของfibrinที่อยู่ภายในโดยfactor13 นอกจากเกร็ดเลือดช่วยให้เกิดclotแล้ว เกร็ดเลือดยังหลั่ง growth factorต่างๆเช่น platelet-derived growth factor (PDGF) transforming growth factor- β 1(TGF- β 1) เป็นต้น^(2, 12, 15) ภาวะขาดเลือด ภาวะความเป็นกรด และเอนไซม์proteinase เป็นสิ่งกระตุ้น growth factorต่างๆให้ทำงาน^(13, 14)

เมื่อร่างกายได้รับบาดเจ็บ ร่างกายจะตอบสนองโดยการกระตุ้นให้เซลล์เม็ดเลือดขาวและแอนติบอดีเคลื่อนย้ายไปยังบริเวณที่ได้รับบาดเจ็บ เรียกการตอบสนองนี้ว่า “Inflammation” หรือ “การอักเสบ”⁽¹⁶⁻¹⁸⁾ ซึ่งจะเกิดขึ้นทันทีที่ภายหลังได้รับการบาดเจ็บ กระบวนการอักเสบที่เกิดขึ้นมีองค์ประกอบหลัก ดังนี้⁽¹⁶⁾ (ภาพประกอบ 10)

- หลอดเลือดขยายตัวและอัตราความเร็วของเลือดเพิ่มขึ้น
- หลอดเลือดขนาดเล็กมีการเปลี่ยนแปลง ทำให้มีการรั่วซึมของเม็ดเลือดขาวและโปรตีนในเลือด
- การสะสมของเม็ดเลือดขาวในบริเวณที่ได้รับบาดเจ็บ



ภาพประกอบ 10 การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเมื่อเกิดกระบวนการอักเสบ 1. หลอดเลือดขยายตัวและอัตราความเร็วของเลือดเพิ่มขึ้น 2. การรั่วซึมของโปรตีนในเลือด 3. การรั่วซึมของเม็ดเลือดขาวและการสะสมของเม็ดเลือดขาวในบริเวณที่ได้รับบาดเจ็บ โดยเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อปกติ⁽¹⁶⁾

ที่มา: Kumar V, Fausto N. Acute and chronic inflammation. In: Kumar V, editor. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 8th ed: Saunders-Elsevier; 2008. p. 43-77.

กระบวนการอักเสบจะเริ่มทันทีเมื่อเลือดหยุดไหล เราจะพบว่าบาดแผลจะมี อาการปวด บวม แดง ร้อนเกิดขึ้น ในระดับเซลล์พบว่าการขยายตัวของหลอดเลือด(vasodilation) มีการรั่วซึมของหลอดเลือดเพิ่มขึ้น(increase vascular permeability) และมีการเคลื่อนย้ายของเม็ดเลือดขาวมายังบริเวณที่บาดเจ็บ^(2, 12, 13) (ภาพประกอบ14) กระบวนการอักเสบที่เกิดขึ้นจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดและเม็ดเลือดขาว ดังต่อไปนี้⁽¹⁶⁾

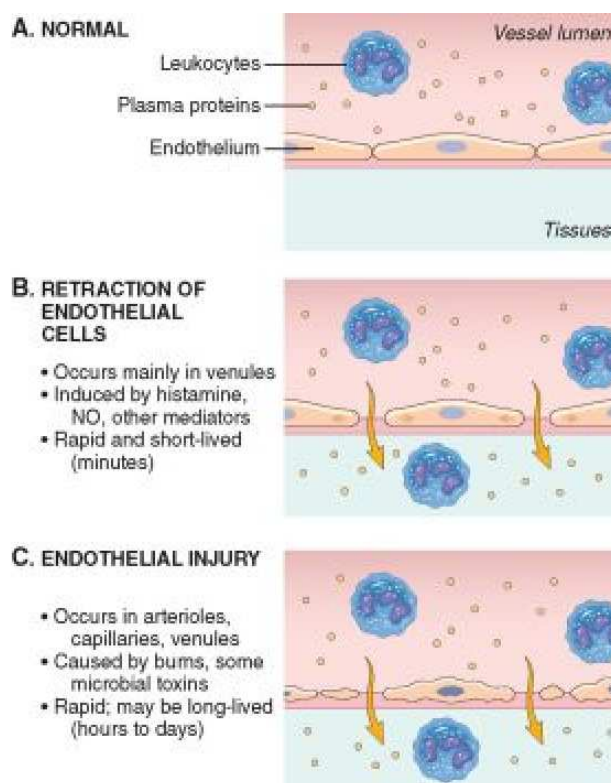
1.1 การเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือด

1.1.1 การเพิ่มขึ้นของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของหลอดเลือดและอัตราการไหลของเลือด^(16, 18)

- การขยายตัวของหลอดเลือด(vasodilation): เป็นสัญญาณแรกที่พบในกระบวนการอักเสบ โดยเริ่มแรก จะมีการขยายตัวของหลอดเลือดขนาดรอง(arteriole)ก่อน ทำให้มีการเปิดของ capillary bed ในบริเวณนั้น เป็นผลให้เกิดการเพิ่มขึ้นของอัตราการไหลของเลือดและมีอาการร้อนและแดง (warmth and erythema) เกิดขึ้นที่บริเวณบาดแผล โดยการขยายตัวของหลอดเลือดจะถูกกระตุ้นด้วย mediator หลายชนิด เช่น histamine และ nitric oxide เป็นต้น
- การรั่วซึมของหลอดเลือดเพิ่มขึ้น: ทำให้สารคัดหลั่งที่มีโปรตีนมากออกไปยังเนื้อเยื่อข้างเคียง
- เม็ดเลือดขาวที่อยู่ในหลอดเลือดโดยเฉพาะneutrophil จะมาเกาะตามแนวของเซลล์endotheliumของหลอดเลือด: ในขณะเดียวกันเซลล์endotheliumจะถูกกระตุ้นให้มีการเพิ่มจำนวนadhesion molecule ในบริเวณที่เกิดบาดแผล หลังจากนั้นเม็ดเลือดขาวจะเคลื่อนย้ายออกจากผนังของหลอดเลือดไปยังเนื้อเยื่อข้างเคียง (interstitial tissue) ต่อไป

1.1.2 การรั่วซึมของหลอดเลือดเพิ่มขึ้น(increase vascular permeability)⁽¹⁶⁻¹⁸⁾: เป็นลักษณะเด่นของกระบวนการอักเสบ ทำให้มีการรั่วซึมของสารคัดหลั่งไปยังเนื้อเยื่อภายนอกหลอดเลือด เกิดอาการบวมน้ำเกิดขึ้น โดยมีกลไกการเกิดดังนี้ (ภาพประกอบ 11)

- การหดตัวของเซลล์endothelium: ทำให้ช่องว่างระหว่างเซลล์endothelium เพิ่มขึ้น การหดตัวนี้ถูกกระตุ้นโดย histamine, bradykinin, leukotriene และsubstance P โดยเกิดขึ้นเป็นระยะเวลาประมาณ 15-30 นาที
- เซลล์endothelium บาดเจ็บ: บางครั้งอาจเกิดการตายของเซลล์และมีการหลุดลอกของเซลล์ออกมาได้ สาเหตุเกิดจากการได้รับบาดเจ็บ เช่น ไฟไหม้ สารพิษจากจุลชีพ เป็นต้น โดยเกิดขึ้นเป็นระยะเวลาหลายชั่วโมงจนถึงหลายวัน



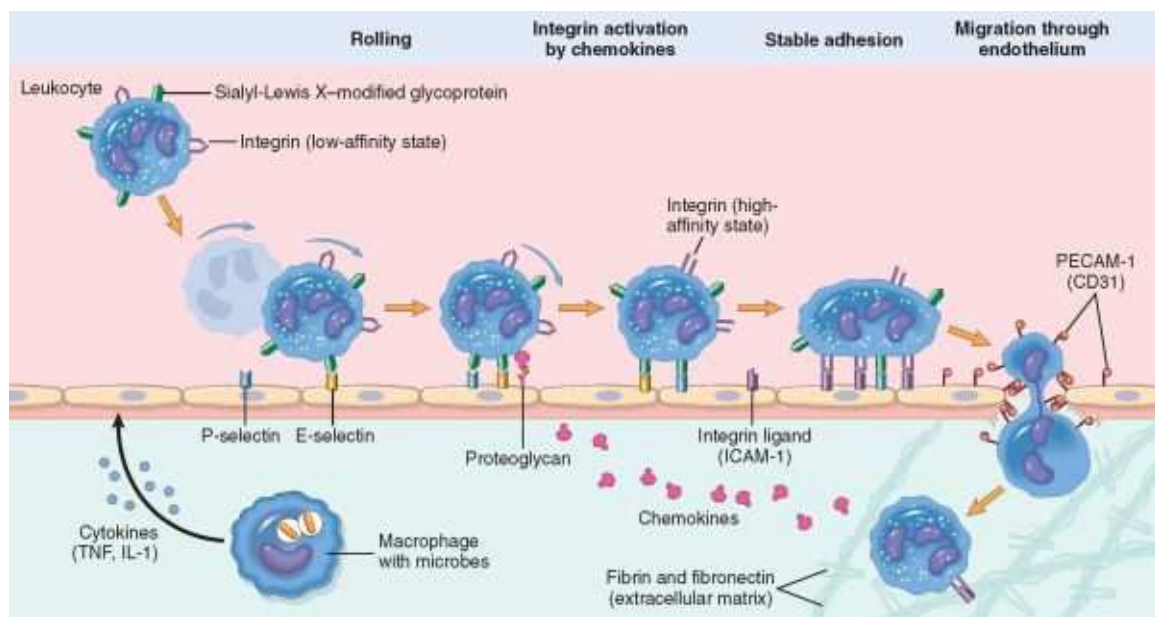
ภาพประกอบ 11 กลไกของการรั่วซึมของหลอดเลือดที่เพิ่มขึ้น (รูปBและC) เซลล์endothelium หดตัว และได้รับบาดเจ็บทำให้สารคัดหลั่งที่มีโปรตีนอยู่มากและเซลล์เม็ดเลือดขาวรั่วซึมออกนอกหลอดเลือด โดยเปรียบเทียบกับภาวะปกติ (รูปA)⁽¹⁶⁾

ที่มา: Kumar V, Fausto N. Acute and chronic inflammation. In: Kumar V, editor. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 8th ed: Saunders-Elsevier; 2008. p. 43-77.

1.2 การเปลี่ยนแปลงของเม็ดเลือดขาว⁽¹⁶⁻¹⁸⁾

เม็ดเลือดขาวเคลื่อนย้ายไปยังบริเวณที่บาดเจ็บและถูกกระตุ้นให้กำจัดสิ่งแปลกปลอม โดยเม็ดเลือดขาวที่มีบทบาทสำคัญคือ neutrophil และ macrophage ซึ่งทำหน้าที่กำจัดจุลชีพและช่วยกระตุ้น growth factor ต่างๆเพื่อการซ่อมแซมบาดแผล การเคลื่อนย้ายของเม็ดเลือดขาวจากภายในlumenของหลอดเลือดไปยังเนื้อเยื่อข้างเคียง เรียกว่า “extravasation” มีขั้นตอนดังต่อไปนี้ (ภาพประกอบ 12)

- ภายในlumenของหลอดเลือด: เม็ดเลือดขาวมีการเคลื่อนย้ายไปด้านข้าง lumenของหลอดเลือด(margination) มีการม้วนตัว(rolling) และเกาะติดกับเซลล์endothelium (adhesion to endothelium) ในภาวะปกติเซลล์endothelium จะไม่สามารถจับกับเม็ดเลือดขาวได้ แต่ในภาวะที่มีการอักเสบ เซลล์endothelium จะอยู่ในภาวะถูกกระตุ้นและสามารถจับกับเม็ดเลือดขาวได้
- เม็ดเลือดขาวเคลื่อนย้ายผ่านเซลล์endotheliumและผนังหลอดเลือด
- เม็ดเลือดขาวเคลื่อนย้ายไปยังเนื้อเยื่อข้างเคียงโดยถูกกระตุ้นจาก chemotactic factor



ภาพประกอบ 12 การเคลื่อนย้ายของเซลล์เม็ดเลือดขาวออกนอกหลอดเลือด โดยเม็ดเลือดขาวมีการเคลื่อนที่ไปด้านข้างlumenของหลอดเลือด(margination) มีการม้วนตัว(rolling) และการยึดเกาะกับเซลล์endothelium(adhesion to endothelium) ตามมาด้วยการเคลื่อนที่ผ่านเซลล์endothelium และ basement membrane ไปยังเนื้อเยื่อข้างเคียง โดยมีchemotactic factor เป็นตัวกระตุ้น⁽¹⁶⁾

ที่มา: Kumar V, Fausto N. Acute and chronic inflammation. In: Kumar V, editor. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 8th ed: Saunders-Elsevier; 2008. p. 43-77.

Leukocyte migration and chemotaxis

เม็ดเลือดขาวมีการลอดผ่านผนังหลอดเลือดไปยังเนื้อเยื่อข้างเคียง จากฤทธิ์ของ chemotactic factor ต่างๆ เช่น complement factor, histamine, prostaglandin, leukotriene, growth factor และชิ้นส่วนของแบคทีเรีย เป็นต้น ชนิดของเม็ดเลือดขาวที่พบ ได้แก่ neutrophil, macrophage และ lymphocyte ^(2, 12-14)

- Neutrophil: เป็นเม็ดเลือดขาวชนิดแรกที่พบในบาดแผล ถูกกระตุ้นโดย prostaglandin, complement, interleukin-1(IL-1), tumor necrosis factor alpha(TNF- α), transforming growth factor-beta (TGF- β), platelet factor 4(PF4) และชิ้นส่วนของแบคทีเรีย ⁽¹²⁻¹⁴⁾ หลังจากเกิดบาดแผลเป็นระยะเวลา 24-48 ชั่วโมง จะพบ neutrophil เป็นปริมาณมากที่สุดถึงร้อยละ 50 ของเซลล์ทั้งหมดในบาดแผล โดยneutrophil มีหน้าที่หลัก ดังต่อไปนี้⁽¹³⁾

1. การกำจัดเชื้อแบคทีเรียและนำเนื้อเยื่อที่ตายแล้วออกไปจากบาดแผล โดยการหลั่งเอนไซม์proteolytic เพื่อย่อยแบคทีเรียและextracellular matrix ภายในบาดแผลจะมีเอนไซม์ protease inhibitor เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อข้างเคียงอื่นๆที่ไม่ได้เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ หลังจากนั้นneutrophil จะนำชิ้นส่วนของแบคทีเรียและmatrixที่ถูกย่อยแล้วออกจากบาดแผลโดยวิธีการ phagocytosis

2. การกระตุ้นให้เกิดระยะinflammation โดยการหลั่งcytokineต่างๆ cytokineที่มีบทบาทสำคัญคือ TNF- α มีหน้าที่ช่วยเพิ่มการchemotaxis ของneutrophil และช่วยกระตุ้นการทำงานของmacrophage เซลล์keratinocyte และ fibroblastที่สำคัญต่อกระบวนการสร้างหลอดเลือดและการสังเคราะห์collagen

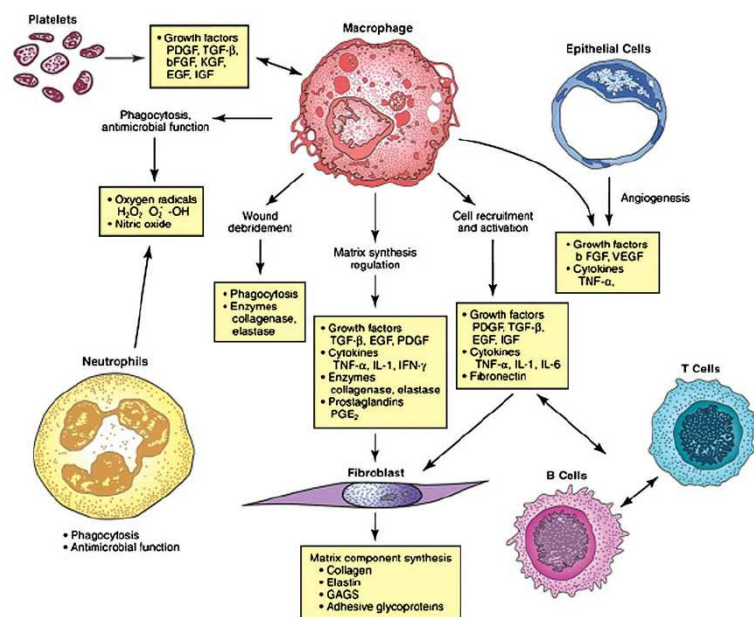
จากนั้นneutrophil จะถูกทำลายโดยเกิดการapoptosis ของตัวมันเองหรือถูกกำจัดโดยmacrophage ด้วยวิธี phagocytosis ⁽¹³⁾

- Macrophage: หลังเกิดบาดแผล 48-96 ชั่วโมง neutrophil จะถูกแทนที่ด้วย macrophage ซึ่งเป็นเม็ดเลือดขาวที่มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการหายของแผลทั้งในระยะ inflammation และระยะ proliferation หน้าที่ของ macrophage จะคล้ายกับ neutrophil ก็คือ ช่วยกำจัด แบคทีเรียและเนื้อเยื่อที่ตายแล้วโดยกระบวนการ phagocytosis และการหลั่งเอนไซม์ protease นอกจากนี้ macrophage ยังช่วยเกี่ยวกับการ recruitment ของเซลล์ การ activation ของเซลล์ การสังเคราะห์ matrix การสร้างหลอดเลือดและการซ่อมแซมบาดแผล สิ่งที่แตกต่างจาก neutrophil ก็คือ macrophage จะอยู่ภายในบาดแผลจนสิ้นสุดกระบวนการหายของแผล^(12, 13)

- T lymphocyte: ถูกกระตุ้นให้เคลื่อนย้ายเข้ามายังบาดแผลด้วยฤทธิ์ของ interleukin-2 (IL-2) และ factor ต่างๆ โดยสปีดาห์ที่ 2 จะพบจำนวนของ lymphocyte มากที่สุดในบาดแผล lymphocyte มีบทบาทสำคัญในระยะ inflammation และระยะ proliferation รวมทั้งมีหน้าที่สร้างภูมิคุ้มกันให้กับเซลล์และสร้าง antibody^(12, 13)

- Mast cell: เนื้อเยื่อที่ได้รับบาดเจ็บจะพบจำนวน mast cell เพิ่มขึ้นเป็น 4 เท่า ภายใน mast cell จะมี granule ซึ่งประกอบไปด้วยสารหลายชนิด เช่น histamine, $\text{TNF-}\alpha$, prostaglandins และ protease เป็นต้น เมื่อ granule ถูกย่อยสลาย สารเหล่านี้จะออกมา ทำให้มีการรั่วซึมของหลอดเลือดเพิ่มขึ้นและมีการ activation ของเซลล์ต่างๆ เกิดขึ้น^(12, 13)

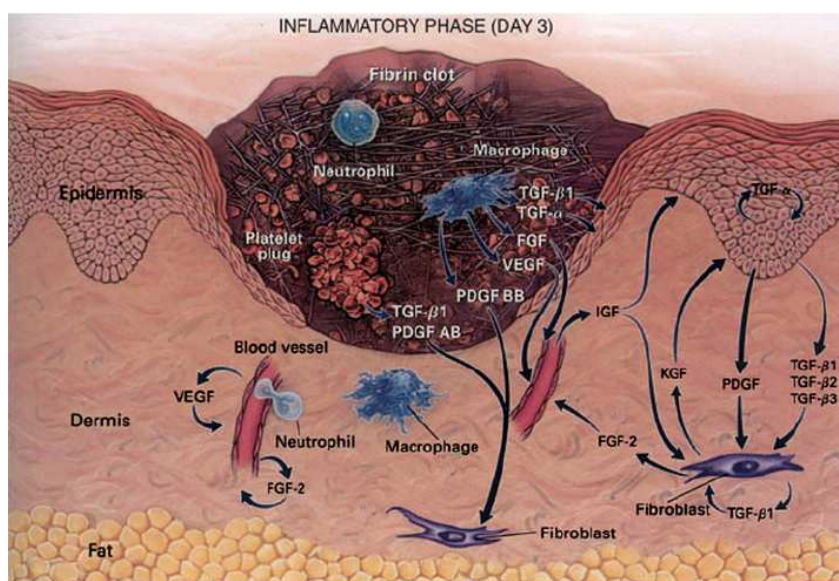
สาร cytokine เป็นสารเคมีที่หลังจากเซลล์ได้หลายชนิด สามารถกระตุ้นให้เกิดการแบ่งตัวของเซลล์ การเคลื่อนที่ของเซลล์เข้ามาในบาดแผล และการสร้าง matrix เกิดขึ้น⁽¹³⁾ (ภาพประกอบ 13)



ภาพประกอบ 13 หน้าที่ของเซลล์ต่างๆและcytokineในบาดแผล⁽¹³⁾

ที่มา: Teller P Fau - White TK, White TK. The physiology of wound healing: injury through maturation. (1558-3171 (Electronic)).

ในภาวะปกติการอักเสบของบาดแผลใช้ระยะเวลาประมาณ 4 วัน ในช่วงเวลานี้แผลจะยังไม่ติดกันและปริง่าย ดังนั้นถ้ามีการอักเสบที่รุนแรงหรือยาวนานกว่าปกติ เช่นแผลติดเชื้อหรือมีเนื้อตายมากจะทำให้การสมานแผลเกิดขึ้นช้าลง^(12, 14)



ภาพประกอบ 14 ระยะการอักเสบของแผล(inflammatory phase) แสดงถึงเซลล์ต่างๆและcytokineที่เกี่ยวข้อง⁽¹³⁾

ที่มา: Teller P Fau - White TK, White TK. The physiology of wound healing: injury through maturation. (1558-3171 (Electronic)).

2. ระยะ Proliferative:

ระยะนี้เริ่มตั้งแต่วันที่ 4 จนถึงวันที่ 12 หลังการเกิดบาดแผล พบว่า ในบาดแผลมีการสะสมของ fibroblast เซลล์ smooth muscle และเซลล์ endothelium รวมทั้งมีการสะสมของ matrix มีการสร้างหลอดเลือด และมีการ epithelialization เกิดขึ้น^(2, 12, 13) โดยมีรายละเอียด ดังต่อไปนี้

Fibroplasia และ myofibroblast

macrophage และ fibroblast จะกระตุ้นทำให้เกิดการ migration ของ fibroblast โดยการหลั่ง growth factor และ cytokine หลายชนิด เช่น platelet-derived growth factor (PDGF), fibroblast growth factor (FGF), insulin growth factor-1 (IGF-1), vascular endothelial growth factor (VEGF), IL-1, IL-2, IL-8, TGF- α , TGF- β และ TNF- α เป็นต้น PDGF จัดเป็น chemotactic

factor ที่สำคัญที่สุดต่อ fibroblast และเซลล์ progenitor smooth muscle โดย PDGF และ endothelial growth factor (EGF) จะกระตุ้นให้ fibroblast ของเนื้อเยื่อข้างเคียงเคลื่อนที่มายังขอบแผล เพื่อการสังเคราะห์และการเพิ่มจำนวน collagen รวมทั้งทำให้มีการหลั่ง matrix metalloproteinases (MMP) ออกมา นอกจากนี้ยังมี fibroblast อีกกลุ่มอยู่ในบาดแผล เรียกว่า wound fibroblast ซึ่งถูกกระตุ้นโดย TGF- β fibroblast ชนิดนี้แตกต่างจาก fibroblast ที่มาจากเนื้อเยื่อข้างเคียงคือ สามารถเพิ่มจำนวนได้น้อยกว่า สามารถสังเคราะห์ collagen ได้มากกว่า และมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปเป็น myofibroblast ซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับ matrix contraction ได้ กระบวนการที่กล่าวมาข้างต้นเรียกว่า “fibroplasia” ซึ่งจะถูควบคุมโดย interferon-inducible protein (IP-10) interferon ชนิดต่างๆ และ PF4^(2, 13)

Matrix deposition

นอกจากบทบาทเกี่ยวกับ fibroplasia แล้ว PDGF และ TGF- β ยังมีบทบาทสำคัญเกี่ยวกับ matrix deposition ด้วย โดย growth factor ทั้งสองจะกระตุ้นการสร้าง matrix ของ fibroblast เมื่อสร้าง matrix แล้ว TGF- β ยังช่วยเกี่ยวกับ structural stability ช่วยเพิ่มจำนวน tissue inhibitor ต่อ metalloproteinase และเพิ่ม cell adhesion protein อีกด้วย^(2, 13)

การสังเคราะห์ collagen และ proteoglycan

collagen ที่มีบทบาทในกระบวนการหายของแผลมี 2 ชนิด คือ collagen type 1 ซึ่งมีบทบาทใน extracellular matrix ของ intact skin และ collagen type 3 ซึ่งจะพบน้อยกว่าโดยพบบริเวณ undamaged skin การสังเคราะห์ collagen เริ่มตั้งแต่ไม่กี่ชั่วโมงหลังเกิดบาดแผล แต่การสังเคราะห์จะไม่มากนักจนกระทั่งสัปดาห์ที่ 1 หลังเกิดบาดแผล growth factor เป็นตัวกระตุ้นให้ fibroblast เกิดการสังเคราะห์ collagen ในการสร้าง collagen จำเป็นต้องอาศัย iron, copper, pyridoxine, ไนตามินซี และออกซิเจน ดังนั้นภาวะขาดอาหารและการติดเชื้อจะมีการสลายตัวของ collagen มากกว่าการสร้าง ทำให้แผลไม่แข็งแรงและปริง่าย^(12, 13)

นอกจากทำหน้าที่สร้าง collagen แล้ว fibroblast ยังทำหน้าที่สร้างและหลั่ง glycosaminoglycan โดยจับกับ protein เกิดเป็นสาย sulfate และสาย polysaccharide เรียกว่า

“proteoglycan” สาร proteoglycan จัดเป็นองค์ประกอบหลักอย่างหนึ่งของ ground substance ใน granulation tissue และช่วยในการประกอบกันของ collagen fibril⁽¹³⁾

การสร้างหลอดเลือด(Angiogenesis)

กระบวนการสร้างหลอดเลือดมีดังนี้⁽²¹⁾

- การขยายตัวของหลอดเลือด: ซึ่งเป็นผลจาก nitric oxide และมีการรั่วซึมของหลอดเลือดเดิมเพิ่มขึ้นซึ่งเป็นผลจาก VEGF
- basement membraneของหลอดเลือดเดิมถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์matrix metalloproteinase(MMP) และการยึดติดกันของเซลล์endotheliumลดลงซึ่งเป็นผลของ plasminogen activator
- การเคลื่อนย้ายของเซลล์endotheliumไปยังบริเวณที่มีการบาดเจ็บ
- การproliferationของเซลล์endothelium
- การmaturationของเซลล์endothelium และการremodelingไปเป็นcapillary tube
- การเคลื่อนย้ายของเซลล์pericyte และเซลล์vascular smooth muscle เพื่อสร้างเป็น mature vessel

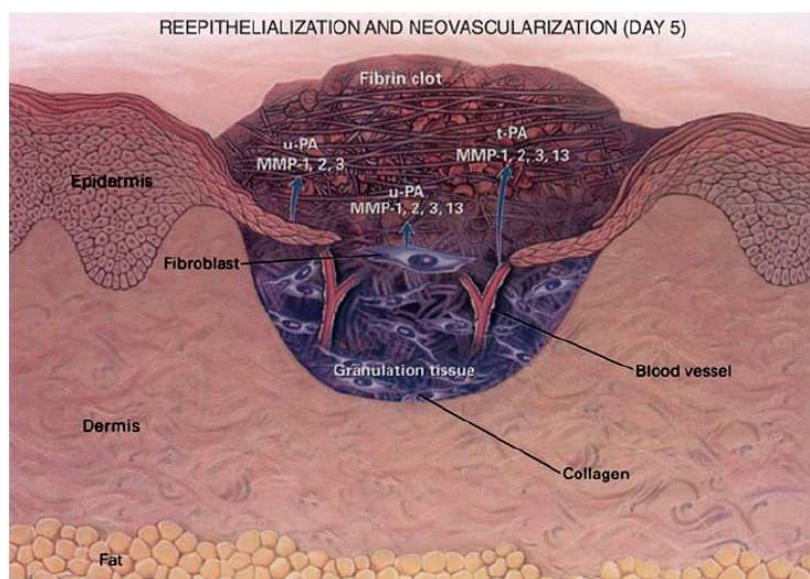
การสร้างหลอดเลือดจะเริ่มภายใน 1-2 วันหลังมีการฉีกขาดของหลอดเลือด แต่จะเห็นได้ชัดในวันที่ 4 หลังได้รับบาดเจ็บ เซลล์endothelium เคลื่อนย้ายมาที่มุมแผล มีการreplication และ การสร้าง capillary tubule เกิดขึ้น การสร้างหลอดเลือดนี้ถูกควบคุมโดย growth hormone เช่น TNF- α TGF- β VEGF FGF และ PDGF เป็นต้น โดยหลั่งออกมาจาก เกร็ดเลือด macrophage และ เซลล์ endothelium ที่บาดเจ็บ^(2, 12, 13) (ภาพประกอบ 15)

Epithelialization

การสร้างepithelium จะเริ่มตั้งแต่วะยะแรกของกระบวนการหายของแผล แต่คล้ายกับการสร้างหลอดเลือดคือยังไม่เด่นชัดจนกระทั่งวันที่ 3 ถึงวันที่ 4 หลังการเกิดบาดแผล กระบวนการนี้ช่วยปกป้องบาดแผลโดยลดการสูญเสียน้ำและช่วยป้องกันการเข้ามาของเชื้อแบคทีเรีย

กระบวนการepithelialization เริ่มขึ้นโดยพบการหนาตัวของชั้นepidermisตลอดแนวของขอบแผล หลังจากนั้นเซลล์basal ที่อยู่บริเวณขอบแผลจะมีลักษณะยาวขึ้น การยึดติดกันระหว่างhemidesmosomeของเซลล์basal กับlamininของชั้น basal lamina ลดลง ทำให้เซลล์งอกเข้าไปในบาดแผลได้ โดยการงอกเข้าไปในบาดแผลนี้ถูกควบคุมโดย integrin expression, intracellular production และการหดตัวของactinomycin นอกจากนี้เซลล์epithelium จะหลั่งสาร matrix metalloproteinase(MMP) ทำให้fibrinเกิดการแตกหัก เซลล์จึงงอกเข้าไปในแผลได้ง่ายขึ้น การเคลื่อนย้ายของเซลล์basal ที่คู่ขนานไปกับทิศทางของcollagen fiber เรียกกระบวนการนี้ว่า “contact guidance” เซลล์epithelium จะมีการเพิ่มจำนวนและงอกเข้าไปในบาดแผลอย่างต่อเนื่อง จนกระทั่งชนกับเซลล์epithelium ที่มาจากทิศทางอื่น กระบวนการนี้ถึงหยุดการเพิ่มจำนวนและหยุดการงอกเข้าไปในแผล เรียกว่า “contact inhibition signal” เกิดเป็น ชั้นmonolayer ของ epitheliumใหม่เกิดขึ้น เซลล์ในชั้นนี้จะเปลี่ยนแปลงรูปร่างให้มีลักษณะเหมือนเซลล์basal คือสั้นลงและมีรูปทรงสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ ส่วน hemidesmosomeจะมีการเชื่อมต่อกับbasement membrane อีกครั้งหนึ่ง หลังจากนั้นเซลล์จะมีการเพิ่มจำนวนเป็นmultilayer epidermisต่อไป กระบวนการepithelializationนี้ ถูกควบคุมโดย intercellular signal growth factor และmetabolic environment ที่อยู่ภายในบาดแผล โดยTGF- β จะทำให้เซลล์epithelium มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและการเคลื่อนย้ายออกเกิดขึ้น ส่วน TGF- α และkeratinocyte growth factor (KGF) จะช่วยกระตุ้นให้เกิดการเพิ่มจำนวนของเซลล์^(2, 12, 13)

(ภาพประกอบ 15)



ภาพประกอบ 15 ระยะการซ่อมแซมบาดแผล(Proliferative phase) มีการเกิด epithelialization และ angiogenesis⁽¹³⁾

ที่มา: Teller P Fau - White TK, White TK. The physiology of wound healing: injury through maturation. (1558-3171 (Electronic)).

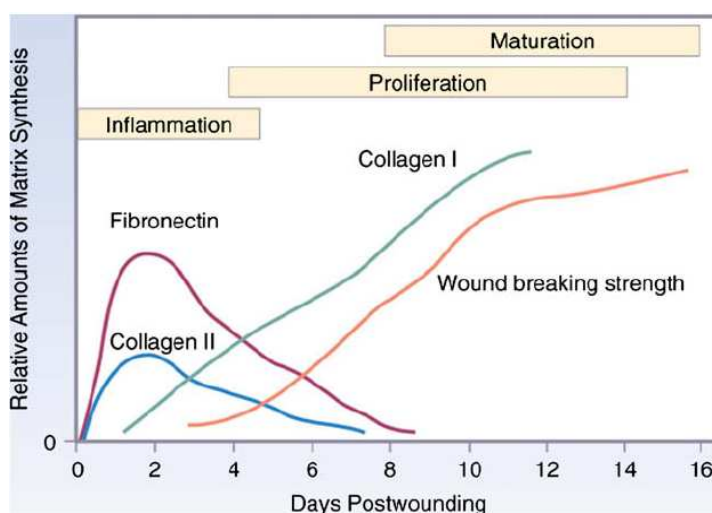
3. ระยะ maturation และ remodeling:

เป็นระยะสุดท้ายและใช้ระยะเวลายาวนานที่สุดในกระบวนการหายของแผล ระยะนี้กินเวลา 2 ปีหรือนานกว่า⁽¹³⁾ โดยมีรายละเอียด ดังต่อไปนี้

Collagen maturation

มีการปรับเปลี่ยนรูปร่างของcollagen ทำให้collagen ยึดเกาะกันแน่นมากขึ้น(cross-linking) ระยะนี้เริ่มตั้งแต่ 1 สัปดาห์หลังเกิดการบาดเจ็บและอาจต่อเนื่องไปเป็นระยะเวลา 12-18 เดือน ในระยะนี้จะมีcollagen matrix ลดลง ทำให้บาดแผลเริ่มมีขนาดเล็กลง สีซีดลงและแข็งแรงมากขึ้น โดยในระยะแรก เนื้อเยื่อจะมี collagen type1 ประมาณร้อยละ 80-90 และมีcollagen type3 ประมาณร้อยละ10-20 ส่วนใน collagen matrix มีcollagen type3 ประมาณร้อยละ 30 โดยพบว่า

การมีสัดส่วนของ collagen type3 มากจะทำให้บาดแผลไม่แข็งแรง โดยหลังการเกิดบาดแผล ประมาณ 3 สัปดาห์ tissue strength จะเพิ่มขึ้นร้อยละ 30 และหลังการเกิดบาดแผลประมาณ 3 เดือน tissue strength จะเพิ่มขึ้นร้อยละ 80^(2, 12, 13) (ภาพประกอบ 16)



ภาพประกอบ 16 กราฟแสดงปริมาณของcollagenที่สร้างขึ้นโดยสัมพันธ์กับปริมาณของcollagen matrix⁽¹³⁾

ที่มา: Teller P Fau - White TK, White TK. The physiology of wound healing: injury through maturation. (1558-3171 (Electronic)).

อย่างไรก็ตามกระบวนการหายของแผลยังขึ้นกับ ขนาดของบาดแผล ความลึกของบาดแผล ตำแหน่งของบาดแผล ชนิดของบาดแผล ภาวะโภชนาการ การดูแลรักษาแผลและโรคประจำตัวของผู้ป่วยอีกด้วย^(2, 13)

ปัจจัยที่มีผลต่อการหายของแผล

1. ปัจจัยเฉพาะที่ แบ่งเป็น^(2, 14)

1.1 การติดเชื้อ

เป็นปัจจัยที่พบได้บ่อยที่สุด ทำให้บาดแผลหายช้าลง โดยแบคทีเรียจะไปกระตุ้น alternate complement pathway ทำให้ระยะ inflammatory ใช้เวลายาวนานขึ้น แบคทีเรียจะสร้าง toxin และ protease ต่างๆ มาทำลายเซลล์ รวมทั้งแย่งสารอาหารและออกซิเจนที่อยู่ในบาดแผล

1.2 เทคนิคการผ่าตัด

การใช้เครื่องมือที่ไม่เหมาะสม บางครั้งทำให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อซึ่งไปกระตุ้นให้เกิดการอักเสบมากขึ้น เพิ่มความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ และเพิ่มโอกาสการเกิดแผลเป็นมากขึ้นอีกด้วย

การใช้วัสดุที่ไม่เหมาะสมในการปิดบาดแผล ทำให้เพิ่มความเสี่ยงของการเกิด foreign body reaction และทำให้เกิดการติดเชื้อตามมา รวมทั้งการเย็บแผลที่แน่นเกินไป อาจทำให้เนื้อเยื่อบริเวณนั้นขาดเลือดและเกิดการติดเชื้อตามมาได้

1.3 การเกิด hematoma

จากการที่มีเลือดออกจากบาดแผลมาก จึงเกิดเป็น hematoma ขึ้นได้ ทำให้เกิดการแยกของแผลและเกิดการติดเชื้อที่ตำแหน่งนี้ได้ง่าย

1.4 foreign body reaction

สิ่งแปลกปลอมที่อยู่ในบาดแผลกระตุ้น alternate complement pathway ทำให้ระยะ inflammatory ใช้ระยะเวลานานขึ้น แผลที่มีสิ่งแปลกปลอมจะพบภาวะเป็นกรดและออกซิเจนต่ำร่วมด้วย

1.5 ภาวะขาดเลือดของเนื้อเยื่อ

ทำให้บาดแผลขาดออกซิเจนไปเลี้ยง ทำให้ cellular proliferation ลดลง การสร้าง collagen ลดลง เกิดการติดเชื้อได้ง่าย ซึ่งสิ่งเหล่านี้จะเป็นผลทำให้การหายของแผลเกิดขึ้นได้ช้าลง

1.6 การทำแผลและยา

การทำแผลแบบปิดช่วยทำให้เกิด epithelialization เร็วขึ้น โดยทำให้บาดแผลมีความชุ่มชื้นมากขึ้น รวมทั้งป้องกันแบคทีเรียเข้ามาในบาดแผล ทำให้เกิดการติดเชื้อน้อยลงอีกด้วย

ยาบางชนิดเช่น triamcinolone acetonide ointment(0.1%), nitrofurazone, benzoyl peroxidase cream, silver sulfadiazine และ neosporin ointment เป็นต้น ทำให้ epithelization เกิดขึ้นได้ช้าลง

2. ปัจจัยทั่วไป^(2, 14)

2.1 ภาวะขาดสารอาหาร ไวตามินและแร่ธาตุ

การขาดสารอาหาร เช่น การขาดcarbohydrate และไขมันทำให้กระบวนการหายของแผลเกิดได้ช้า การขาดinsulin ซึ่งเป็น fibroblast growth factor อย่างหนึ่ง เป็นผลทำให้กีดการสร้างcollagen และทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้น

การขาดไวตามินต่างๆ เช่น

- ไวตามินเอ: ทำให้ epithelialization เกิดช้าลง ทำให้การสร้างcollagenลดลง และเพิ่มความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ

- ไวตามินซี: จัดเป็นcofactor ที่สำคัญในการสังเคราะห์collagen การขาดไวตามินซีทำให้เกิดภาวะที่เรียกว่า “scurvy” ทำให้collagenที่สร้างอยู่ในรูปแบบของ unhydroxylated ซึ่งเป็นรูปแบบที่ไม่คงตัวและสลายได้ง่าย

- ไวตามินเค: ทำให้เกิดการขาด vitamin K dependent clotting factor ต่างๆ เช่น factor 2,7,9 และ10 ทำให้เลือดไม่หยุดไหล เกิดเป็นhematomaได้

แร่ธาตุต่างๆ เช่น zinc, copper, iron และ manganese เป็นต้น เป็นcofactor ที่สำคัญของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการหายของแผล ดังนั้นการขาดแร่ธาตุเหล่านี้จึงมีผลต่อกระบวนการหายของแผล เช่น การขาด zinc มีผลต่อเอนไซม์collagenase, DNA polymerase และ RNA polymerase ทำให้การสังเคราะห์collagenและโปรตีนลดลง รวมทั้งการทำงานของ lysyl oxidase ลดลงอีกด้วย

2.2 aging

อายุที่มากขึ้นมีผลต่อกระบวนการหายของแผลในทุกๆระยะ ทำให้บาดแผลหายช้า และในโรคที่เกี่ยวข้องกับaccelerated aging เช่น Werner's syndrome เป็นต้น จะพบบาดแผลหายช้าลงเช่นกัน

2.3 โรคประจำตัว

โรคที่ทำให้บาดแผลหายช้า แบ่งตามสาเหตุได้แก่

- พันธุกรรม เช่น

Ehlers-Danlos syndrome

coagulation disorders: hemophilia, Von Willebrand's disease,

factor13 deficiency

Werner's syndrome

vascular disorder: congestive heart failure, atherosclerosis, vasculitis

venous stasis

- Metabolic เช่น ไตวายเรื้อรัง เบาหวาน ภาวะขาดสารอาหาร Cushing's

syndrome hyperthyroidism

- ภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง ทำให้บาดแผลติดเชื้อได้ง่าย

- อื่นๆ เช่น โรคปอดเรื้อรัง ตับแข็ง มะเร็ง และภาวะการเจ็บป่วยเรื้อรัง

2.4 ยา

ยาที่ทำให้บาดแผลหายช้า เช่น glucocorticoid, anticoagulant drug, antineoplastic drug, cyclosporin A, colchicine และ penicillamine

ยา anticoagulant drug ทำให้เลือดไม่หยุดไหล เกิดเป็นhematomaขึ้น ซึ่งทำให้การหายของแผลเกิดขึ้นได้ช้า แตกต่างจาก glucocorticoid ที่มีผลยับยั้งกระบวนการหายของแผลโดยตรง ทำให้การอักเสบ การสร้างโปรตีนและการสังเคราะห์collagenลดลง รวมทั้งเกิดepithelization ได้ช้าลงอีกด้วย

3. บัวบก (*Centella asiatica* (Linn.) Urban)

บัวบก เป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่รู้จักกันดี บัวบกเป็นพืชที่ขึ้นง่าย พบได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย เป็นพืชสมุนไพรที่มีใช้กันมานาน บัวบกสามารถปลูกและเจริญได้ดีในภูมิอากาศร้อนชื้น เช่น อินเดีย ปากีสถาน จีน อินโดนีเซีย และไทย นอกจากนี้ยังสามารถพบได้ในทวีปอื่นเช่น ออสเตรเลีย แอฟริกาใต้⁽¹⁹⁻²¹⁾ (ภาพประกอบ 17)



ภาพประกอบ 17 บัวบก(*Centella asiatica* (Linn.) Urban)⁽²²⁾

ที่มา: สำนักงานข้อมูลสมุนไพร. บัวบก. 2552 [21 ตุลาคม 2552]; Available from:

<http://www.medplant.mahidol.ac.th/pubhealth/centella.html>.

ชื่อทางวิทยาศาสตร์	<i>Centella asiatica</i> (Linn.) Urban
ชื่อวงศ์	Umbelliferae
ชื่ออังกฤษ	Asiatic Pennywort
ชื่อท้องถิ่น	ผักแว่น, ผักหนอก, ปะหนะ, เอชาเด๊าะ

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของบัวบก

บัวบกเป็นไม้ล้มลุก ลักษณะลำต้นจะเลื้อยไปตามพื้นดิน มักขึ้นตามที่ชื้นแฉะ มีการแตกรากฝอยตามข้อ ลักษณะใบ เป็นใบเดี่ยวเรียงสลับ คล้ายรูปไต กลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-5 เซนติเมตร ขอบใบหยัก ก้านใบยาว ส่วนดอกเป็นดอกช่อ มีดอกออกตามซอกของก้านใบ มีขนาดเล็ก 2-3 ดอก กลีบดอกเป็นรูปไข่ สีม่วงเข้ม ยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร ส่วนผล มีสีเขียวหรือขาว ค่อนข้างกลม ขนาดเล็ก ยาวประมาณ 2.5 มิลลิเมตร⁽²¹⁾

ส่วนประกอบทางเคมีของบัวบก

การศึกษาสารประกอบในบัวบกพบสารประกอบ 4 กลุ่ม ได้แก่⁽²³⁾

1. Flavonoid glycosides ประกอบด้วย

1.1 kaempferol-3-glycoside

1.2 quercetin-3-glycoside

2. Free amino acid ประกอบด้วย

2.1 glutamate

2.2 serine

2.3 alanine

2.4 aspartate

2.5 threonine

2.6 lysine

2.7 histidine

2.8 amino butyrate

3. Terpenoids(mono and sesquiterpene) ประกอบด้วย

3.1 α -pinene

3.2 β -pinene

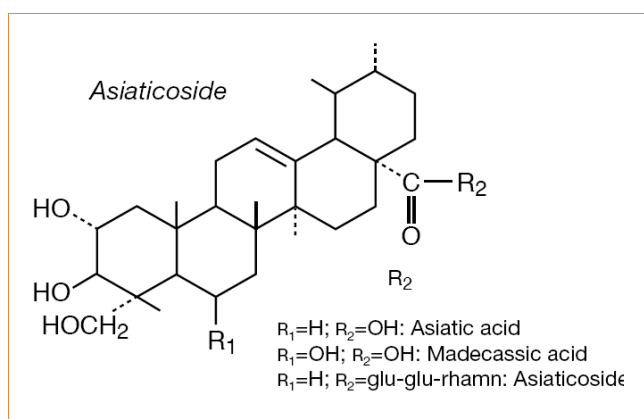
3.3 Myrcene

3.4 Bornyl acetate

4. Triterpenes ประกอบด้วย

- 4.1 asiaticoside
- 4.2 asiatic acid
- 4.3 barminoside
- 4.4 centoic acid
- 4.5 centellic acid
- 4.6 madecassic acid
- 4.7 madecassoside

สารประกอบหลักในบัวบกที่สำคัญ คือ asiaticoside madecassic acid และ asiatic acid⁽¹⁹⁾ (ภาพประกอบ 18)



ภาพประกอบ 18 โครงสร้างของสารประกอบหลักของบัวบก(*Centella asiatica* Linn.)⁽¹⁹⁾

ที่มา: Centella asiatica. Altern Med Rev2007 Mar;12(1):69-72.

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของบัวบก 'ได้แก่'^(19, 24)

1. ฤทธิ์สมานแผล
2. ฤทธิ์ลดการอักเสบ
3. ฤทธิ์ต้านฮีสตามีน
4. ฤทธิ์แก้ปวด
5. ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย
6. ทำให้เลือดหยุดเร็ว
7. รักษาแผลในกระเพาะอาหาร

ผลของบัวบกต่อกระบวนการหายของแผล

จากการศึกษาของ Suguna L. และคณะ (ปีค.ศ. 1996) โดยใช้บัวบกที่สกัดจาก 95% เอทานอล ป้อนให้ทางปากและทาที่แผลของหนูขาว พบว่าสารสกัดบัวบกมีฤทธิ์กระตุ้นการเจริญเติบโตของเยื่อผิวหนัง (epithelialization) กระตุ้น cellular proliferation และกระตุ้นการสร้าง collagen ที่แผล⁽²⁵⁾ นอกจากนี้สารสกัดบัวบก Titrated Extract from *Centella asiatica* (TECA) ซึ่งประกอบด้วย สารสำคัญได้แก่ asiatic acid, madecassic acid และ asiaticoside ช่วยในกระบวนการหายของแผล โดยเมื่อฉีด TECA ที่บริเวณแผลของหนูขาว พบว่าสามารถกระตุ้นการสร้าง collagen และการสร้าง glycosaminoglycan ทำให้เพิ่มความแข็งแรงให้กับบาดแผล⁽²⁶⁾ และช่วยกระตุ้นการแสดงออกของยีนในเซลล์ human fibroblast ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างหลอดเลือดและ extracellular matrix ในบริเวณเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย⁽²⁷⁾ และเมื่อทาสารสกัดบัวบกที่แผลชนิด incision และ excision ในหนูขาวปกติ และในหนูขาวที่ถูกยับยั้งกระบวนการหายของแผลด้วย dexamethasone พบว่าสารสกัดบัวบกมีฤทธิ์เร่งการเจริญเติบโตของเยื่อผิวหนัง (epithelialization) ของแผลทั้งสองชนิด ทำให้แผลมีขนาดเล็กลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ⁽²⁸⁾

สำหรับการศึกษาของ Sunikumar และคณะ (ปีค.ศ. 1998) โดยทาสารสกัดบัวบก 5% aqueous extract of *Centella asiatica* ในรูปแบบครีม ขี้ผึ้ง และเจลที่แผลของหนูขาว พบว่าสารสกัดบัวบกมีฤทธิ์เพิ่มการเจริญเติบโตของเยื่อผิวหนัง (epithelialization) เพิ่มอัตราของการหดตัวของแผล เพิ่มการสร้าง collagen และเพิ่ม tensile strength ซึ่งสูตรที่อยู่ในรูปเจลให้ผลดีกว่าขี้ผึ้งและครีม⁽²⁹⁾ ส่วน

การใช้ Titrated Extract from *Centella asiatica* (TECA) ในรูปแบบ hydrogel ในแผลชนิด excision ของหนูขาว พบว่าช่วยกระบวนการหายของแผล โดยลดขนาดของแผล ในวันที่ 9 ของการเกิดแผลได้⁽³⁰⁾ และเจลที่มีสารสกัดบวบกอย 0.5, 1 และ 2% พบว่ามีประสิทธิภาพในการรักษาแผลเย็บผิวในปากได้⁽³¹⁾

เมื่อให้สาร asiaticoside ความเข้มข้น 0.2% และ 0.4% ทาที่แผล punch ในหนูตะเภา ปกติและหนูขาวที่เป็นเบาหวานตามลำดับ พบว่ามีผลเพิ่มความแข็งแรงของเนื้อเยื่อ (tensile strength) เพิ่มปริมาณของ collagen และเพิ่มการเจริญเติบโตของเย็บผิว (epithelialization) และเมื่อให้สาร asiaticoside ขนาด 40 µg/disc แก่ chick chorioallantoic membrane พบว่าสามารถเพิ่มการสร้างหลอดเลือดได้ จึงสรุปได้ว่า asiaticoside เป็นสารประกอบหลักในบวบกอยที่ช่วยเรื่องกระบวนการหายของแผล⁽³²⁾ เมื่อทายาที่มีสาร asiaticoside ความเข้มข้น 0.3% ที่ความเข้มข้นของยา 0.5, 1 และ 1.5% มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ NF-κB การสร้าง IL-8 และ TNF-α ในเซลล์ human monocytes (THP-1)⁽³³⁾ และยังพบว่า asiaticoside ทำให้เกิดการ progression และ proliferation ของ cell-cycle และเพิ่มการสร้าง collagen ใน human dermal fibroblast โดยมีการแสดงออกของยีนเพิ่มขึ้น⁽²⁷⁾ นอกจากนี้ เมื่อทา asiaticoside ที่มีความเข้มข้น 10^{-8} , 10^{-10} และ 10^{-12} % ointment ในการรักษาบาดแผลใหม่ของหนูตะเภาและใน human keratinocyte cell line (HaCaT) พบว่าช่วยทำให้บาดแผลมีขนาดเล็กลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อทา asiaticoside ที่มีความเข้มข้น 10 pg, 1 ng และ 100 ng/wound area สามารถเพิ่มระดับ monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), vascular endothelial growth factor (VEGF) และ interleukin (IL)-1β ได้ จึงสรุปได้ว่า asiaticoside ช่วยในกระบวนการหายของแผลโดยทำให้มีระดับ VEGF สูงขึ้น ช่วยกระตุ้นการสร้างหลอดเลือดใหม่ (angiogenesis) ในระหว่างการซ่อมแซมแผล⁽³⁴⁾

จากการศึกษาฤทธิ์ของบวบกอยต่อกระบวนการหายของแผลที่ผิวหนังแล้ว ยังมีการศึกษาฤทธิ์ของบวบกอยในการรักษาแผลในกระเพาะอาหารโดยการศึกษาของ Cheng CL. และคณะ (ปี ค.ศ. 2000) พบว่าเมื่อให้หนูขาวที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหารด้วยเอทานอล กินสารสกัดบวบกอยขนาดความเข้มข้น 0.05, 0.25 และ 0.50 ก./กก. น้ำหนักตัว พบว่าสามารถลดขนาดของแผลในกระเพาะอาหาร และลดการทำงานของเอนไซม์ myeloperoxidase ที่บริเวณแผลได้⁽³⁵⁾ และเมื่อให้หนูขาวที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหารด้วยกรดอะซิติก กิน *Centella* extract ขนาด 0.05

0.1 และ 0.25 ก./กก และ asiaticoside ขนาด 1, 5 และ 10 มก./กก. พบว่าสามารถลดขนาดของแผล เพิ่มจำนวนของหลอดเลือด เพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อบุผิวที่แผล นอกจากนี้ยังเพิ่มการแสดงออกของ basic fibroblast growth factor ซึ่งเป็น angiogenic factor ที่สำคัญ และกุดการทำงานของเอนไซม์ myeloperoxidase ที่บริเวณแผลได้⁽³⁶⁾ นอกจากนี้เมื่อป้อนน้ำคั้นขนาด 200 และ 600 มก./กก. ให้หนูขาวที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหารด้วยเอทานอล แอสไพรีน ความเย็น ความเครียด และการผูกกระเพาะอาหาร วันละ 2 ครั้ง นาน 5 วัน พบว่าสามารถลดการเกิดแผลในกระเพาะอาหารได้ และน้ำคั้นบัวบกที่ขนาด 600 มก./กก. สามารถเพิ่มการหลั่ง gastric juice mucin และเพิ่ม mucosal cell glycoprotein ได้⁽³⁷⁾

สำหรับการศึกษาในมนุษย์มีรายงานว่า สารสกัดบัวบกความเข้มข้น 1% ในรูปแบบครีม สามารถรักษาแผลอักเสบและแผลแยกหลังผ่าตัดในผู้ป่วยจำนวน 14 ราย ภายใน 2-8 สัปดาห์ โดยพบว่าได้ผลดี 28.6% ผลปานกลาง 28.6% และผลพอใช้ 35.7% ไม่ได้ผล 1 ราย^(38, 39) และการใช้ครีมที่มีสารสกัดจากบัวบก 1% ในการรักษาแผลเรื้อรังจากสาเหตุต่างๆ จำนวน 22 คน ระยะเวลา 21 วัน พบว่าขนาดของแผลลดลง โดยผู้ป่วยมีแผลหายสนิท 17 ราย และยังไม่หายสนิท 5 ราย⁽⁴⁰⁾ นอกจากนี้ บัวบกที่อยู่ในรูปแบบ tincture ซึ่งมี asiaticoside 89.5% เมื่อใช้ฉีดที่แผลของผู้ป่วยซึ่งเป็นแผลชนิดต่างๆ จำนวน 20 ราย พบว่าสามารถรักษาแผลหายได้ 16 ราย (64%) และทำให้อาการดีขึ้น 4 ราย (16%) โดยมีอาการข้างเคียงคือ อาการไหม้ของผิวหนัง (burning sensation)⁽⁴¹⁾

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้

1. สัตว์ทดลองและการเตรียมสัตว์ทดลอง
2. การเตรียมครีมบัวบกความเข้มข้น 7%
3. ขั้นตอนการวิจัยและวิธีการเก็บข้อมูล
4. การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)
5. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. สัตว์ทดลองและการเตรียมสัตว์ทดลอง

การวิจัยครั้งนี้ใช้หนูขาว(Wistar Furth rat) เพศผู้ (ภาพประกอบ 20) อายุประมาณ 8 สัปดาห์ น้ำหนัก 200-250 กรัมจากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ ตำบลศาลายา มหาวิทยาลัยมหิดล โดยนำมาเลี้ยง 1 ตัวต่อกรง ในห้องที่มีความควบคุมอุณหภูมิ 20 ± 2 องศาเซลเซียส และแสงสว่าง 12 ชั่วโมงต่อวัน ให้อาหารสำเร็จรูปจากบริษัทเจริญโภคภัณฑ์ หนูทุกตัวที่นำมาแบ่งกลุ่มจะถูกโกนขนที่บริเวณหลัง ออกเป็นขนาด กว้าง x ยาว เท่ากับ 4×4 เซนติเมตร แบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ

1.1 กลุ่มควบคุม: ได้แก่ หนูขาวที่ถูกโกนขนบริเวณหลัง (Control; N=6 ตัว)

1.2 กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ: ได้แก่ หนูขาวที่ถูกโกนขนบริเวณหลังและถูกทำให้เกิดแผลไหม้ระดับสองที่บริเวณหลัง และทาด้วยน้ำเกลือความเข้มข้น 0.9 เปอร์เซ็นต์ โดยทาวนละ 1 ครั้ง ครั้งละ 0.5 มิลลิลิตร ทาแผลเป็นเวลา 7 วัน (BURN-NSS; N=6 ตัว)

1.3 กลุ่มแผลไหม้-บัวบก: ได้แก่ หนูขาวที่ถูกโกนขนบริเวณหลังและทาด้วยครีมบัวบกความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์ (*Centella asiatica*; CA) โดยทาวนละ 1 ครั้ง ครั้งละ 0.5 เซนติเมตร (98 มิลลิกรัม) ทาแผลเป็นเวลา 7 วัน (BURN-CA; N=6 ตัว)

2. การเตรียมครีมบัวบกความเข้มข้น 7%

ได้รับความอนุเคราะห์จาก สถาบันวิจัยและพัฒนา องค์การเภสัชกรรม กระทรวงสาธารณสุข

- นำก้าน ใบและลำต้นสดของบัวบก มาล้างให้สะอาดแล้วผึ่งให้แห้ง
- นำไปสกัด โดยบดให้ละเอียด แล้วแช่เอาไว้ใน เอทานอล 95% ในภาชนะปิด ทิ้งไว้
- กรองเอาแต่น้ำ นำไปเคี่ยวด้วยความร้อน
- นำไปผสมกับครีม จะได้ครีมบัวบก

จากนั้นนำไปทดสอบการคงตัวของยา(stability test) การตรวจสอบเชื้อโรค ผลการทดสอบพบว่าผ่านการทดสอบ และนำไปประเมินคุณภาพและวิเคราะห์หาปริมาณ asiaticoside โดยวิธี High Performance Liquid Chromatography(HPLC) ผลการวิเคราะห์พบมีปริมาณสาร asiaticoside 0.2 %w/w (ภาพประกอบ 21)

3. ขั้นตอนการวิจัยและวิธีการเก็บข้อมูล (ภาพประกอบ 19)

3.1 การทำให้เกิดแผลไหม้ระดับสอง

หนูถูกทำให้สลบ โดยการดมอีเทอร์ จากนั้นโกนขนบริเวณหลังของหนูขนาด กว้าง x ยาว เท่ากับ 4 x 4 เซนติเมตร ทำความสะอาดด้วย แอลกอฮอล์ 70% ทำให้เกิดแผลไหม้ระดับสองโดยใช้ model ของ Zawacki (1974) วิธีการได้แก่ ใช้แผ่นนำความร้อนที่ทำด้วยstainless steel (electrical hot plate) ขนาดวงกลม เส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 2 เซนติเมตร (ภาพประกอบ 22) ตั้งให้แผ่นนำความร้อนมีอุณหภูมิคงที่ที่ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปแนบบนผิวหนังของหนูที่โกนขนไว้ โดยไม่ออกแรงกด แนบไว้เป็นระยะเวลา 10 วินาที จะเกิดแผลไหม้ หลังทำให้เกิดแผลไหม้ ทำผิวหนังบริเวณที่เกิดแผลไหม้ด้วยน้ำเกลือหรือครีมบัวบกทันที โดยตามวิธีของ Zawacki แผลไหม้ที่เกิดขึ้นเป็นแผลไหม้ระดับสอง

3.2 การบันทึกขนาดของแผล

ถ่ายรูปบาดแผลทันทีที่ทำให้เกิดแผลไหม้ และในวันที่ 3, 5 และ 7 หลังจากที่ทำให้เกิดแผลไหม้ ในทุกกลุ่ม ด้วยกล้องถ่ายรูปดิจิตอลยี่ห้อCANON LUMIX ความละเอียด 8 เมกะพิกเซล โดยตั้งค่าการถ่ายรูปเดียวกัน มีระยะห่างของกล้องถ่ายรูปและบาดแผลเท่ากับ 16 เซนติเมตรทุกภาพ และมีสเกลหน่วยเซนติเมตรเป็นmarker เพื่อให้ภาพมีกำลังขยายเท่ากันทุกภาพ จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาร้อยละการหายของแผล(ภาพประกอบ 23)

3.3 การผ่าตัดเตรียมสัตว์ทดลองเพื่อวัดอัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนังและการศึกษาภายใต้กล้องfluorescence

ในวันที่หนูได้รับการรักษาทั้งน้ำเกลือและครีมบัวบกครบ 7 วัน สลบหนูด้วยโซเดียมเพนโทบาร์บิทอล(Sodium pentobarbital) ขนาด 50 มก./กก.น้ำหนักตัว โดยฉีดเข้าช่องท้อง อาจเสริมขนาดของยาสลบในขณะทำการทดลองเพื่อคงไว้ในภาวะสลบ ผ่าตัดเจาะคอ(ภาพประกอบ 24) สอดท่อเข้าทางหลอดลมเพื่อช่วยเปิดทางเดินหายใจให้โล่ง จากนั้นสอดท่อ polyethylene(PE10) เข้าหลอดเลือดดำjugular vein (ภาพประกอบ 24) เพื่อเป็นทางให้สารfluorescein หลังผ่าตัดเปิดทางเดิน

หายใจและใส่ท่อ PE เข้าหลอดเลือดดำเสร็จ รอให้หนูอยู่ในภาวะคงที่ประมาณ 20 นาที การหายใจสม่ำเสมอ จากนั้นวัดอัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนังบริเวณแผลไหม้หรือบริเวณที่โกนขน

เมื่อเสร็จสิ้นการวัดอัตราการไหลเวียนเลือด ทำการเตรียมผิวหนัง(ภาพประกอบ 25) เพื่อศึกษาการเกาะติดของเซลล์เม็ดเลือดขาวและศึกษา vascular permeability ภายใต้กล้อง fluorescence (ภาพประกอบ 26)

3.4 การวัดอัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนัง(skin blood flow(SBF); หน่วยเป็น arbitrary unit(AU))

หลังผ่าตัดเปิดทางเดินหายใจเสร็จแล้วและหนูอยู่ในสภาวะคงที่ เริ่มวัดอัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนังด้วยเครื่อง Laser doppler flowmetry (Moore Instruments, England) (ภาพประกอบ 27) วัดบริเวณแผลไหม้ 5 ตำแหน่งได้แก่ บริเวณกลางแผล และมุมทั้ง 4 ของแผลโดยห่างจากขอบแผล 0.5 เซนติเมตร ในวันที่ 3, 5 และ 7 หลังจากที่ทำให้เกิดแผลไหม้ จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ย (ภาพประกอบ 28)

3.5 การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดบวบกต่อการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียม

3.5.1 การประเมินการเกาะติดของเซลล์เม็ดเลือดขาวบนเซลล์endotheliumของผนังหลอดเลือดดำpostcapillary

หลังจากเตรียมผิวหนังเสร็จสิ้น นำหนูขึ้นวางบนแท่นของกล้องfluorescence ใช้เลนส์วัตถุขนาดกำลังขยาย 20 เท่า ต่อเข้ากับกล้องวิดีโอชนิด CCC(Hamamutsu Photonics) สัญญาณจากกล้องวิดีโอต่อเข้ากับ DVD recorder (Sony) (ภาพประกอบ 29) เพื่อบันทึกการเกาะติดของเม็ดเลือดขาวในหลอดเลือดดำ postcapillary venule (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20-40 μm) โดยการฉีดสาร Rhodamine 6-G (R-6-G; Sigma Chemicals Co.)ซึ่งเป็นสารเรืองแสงจะเข้าไปจับอยู่ภายในเซลล์เม็ดเลือดขาว ทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวเรืองแสงเมื่อดูผ่านกล้องfluorescence ถ้ามีการเกาะติดของเซลล์เม็ดเลือดขาวบนผนังหลอดเลือดจะสามารถเห็นได้อย่างชัดเจน บันทึกลงใน DVD ทั้งก่อน ฉีด และหลังฉีด R-6-G บันทึกเป็นเวลา 20 นาที (ภาพประกอบ 30)

ความเข้มข้นของR-6-G ที่ฉีด ได้แก่ 0.03% ผสมใน 0.9%NSS solution ฉีดเข้า jugular vein 0.2-0.3 ml เพียง 1 ครั้ง

3.5.2 การประเมิน vascular permeability

หลังจากเสร็จสิ้นขั้นตอนการเกาะติดของเซลล์เม็ดเลือดขาว ฉีดสารfluorescein isothiocyanate-labeled dextran ,molecular weight 150,000 (FITC-dextran; Sigma Chemicals Co.) สารนี้จะเข้าไปจับกับโปรตีนในพลาสมาในหลอดเลือด จะเห็นสารเรืองแสงเต็มหลอดเลือด เห็นหลอดเลือดชัดเจน และถ้าเซลล์เอนโดทีเลียมมีความผิดปกติ ทำให้สาร FITC-dextran สามารถลอดผ่านออกมาในเนื้อเยื่อinterstitium ได้ โดยจะเห็นสารเรืองแสงออกมาอยู่นอกหลอดเลือด ทำการบันทึกการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวบริเวณหลอดเลือดpostcapillary venule (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20-40 μm) (ภาพประกอบ 31)

3.6 วิธีการประเมินร้อยละการหายของแผล การวิเคราะห์การเกาะติดของเซลล์เม็ดเลือดขาวและการวิเคราะห์ vascular permeability

3.6.1 การประเมินร้อยละการหายของแผล

นำรูปภาพแผลที่บันทึกไว้ ณ วันที่ทำให้เกิดแผลไหม้ และในวันที่ 3, 5 และ 7 หลังจากที่ทำให้เกิดแผลไหม้ โหลดเข้าโปรแกรม (Image Pro Plus; Niton) และนำมาคำนวณหาพื้นที่ของแผลแต่ละช่วงเวลาที่บันทึกไว้ นำพื้นที่แผลที่หามาได้มาคำนวณหาร้อยละการหายของแผลโดย⁽⁴²⁾

$$\% \text{wound healing on day X} = \left[1 - \frac{\text{wound area on day X (cm}^2\text{)}}{\text{wound area on day 0 (cm}^2\text{)}} \right] \times 100$$

wound area on day 0 = พื้นที่ของแผลในวันที่ 0

wound area on day X = พื้นที่ของแผลในวันที่ X

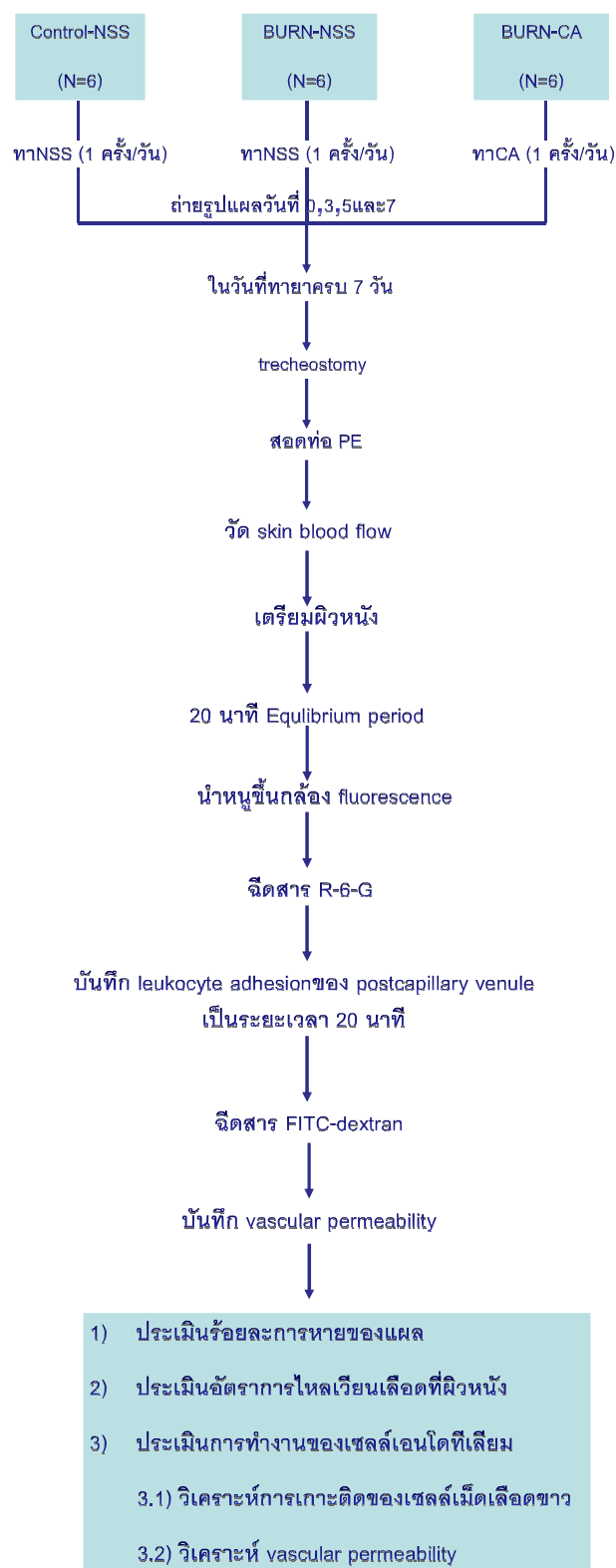
3.6.2 การวิเคราะห์การเกาะติดของเซลล์เม็ดเลือดขาว

เม็ดเลือดขาวที่เกาะติดต้องเป็นเม็ดเลือดขาวที่หยุดนิ่งไม่เคลื่อนไหวอยู่ที่ผนังหลอดเลือดเป็นเวลา ≥ 30 วินาที นับจำนวนเม็ดเลือดขาวโดยวิธี manual ตลอดความยาวของหลอดเลือดที่ทำการบันทึก แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย จำนวนเม็ดเลือดขาวที่เกาะติดต่อความยาวหลอดเลือด 100 μm (cells/100 μm length)

3.6.3 การวิเคราะห์ vascular permeability

ในภาวะปกติหลอดเลือดที่ไม่มีพยาธิสภาพ เมื่อฉีดสารเรืองแสง FITC-dextran จะไม่ปรากฏสาร FITC-dextran อยู่นอกหลอดเลือด(เนื้อเยื่อinterstitium) การวิเคราะห์ vascular

permeability โดยการหาความเข้ม(intensity)ของFITC-dextran ที่ภายใน(I_{in})และภายนอก (I_{out}) หลอดเลือด โดยการใช้โปรแกรมหาintensity(Image Pro Plus; Niton) นำ I_{in} และ I_{out} มาหา อัตราส่วนหรือ ratio I_{out}/I_{in} ณ เวลา 30 นาทีหลังฉีดFITC-dextran



ภาพประกอบ 19 สรุปขั้นตอนการวิจัยและวิธีการเก็บข้อมูล

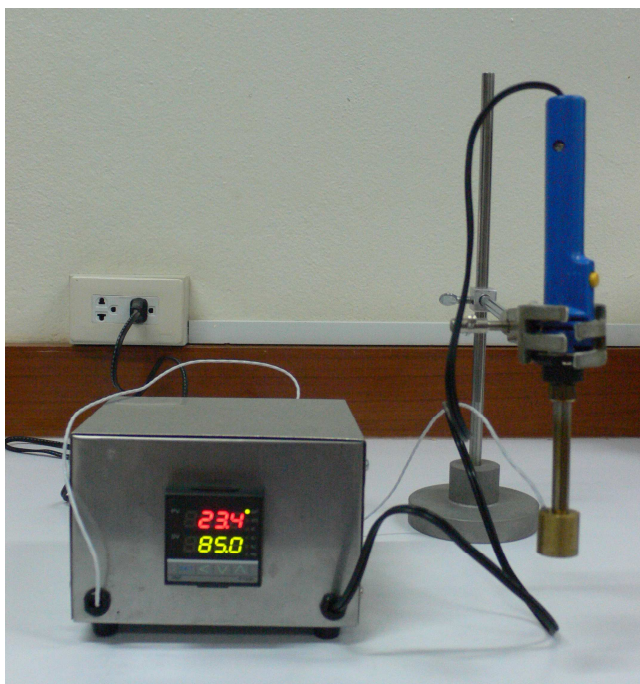


ภาพประกอบ 20 หนูขาว (Wistar Furth rat)⁽⁴³⁾

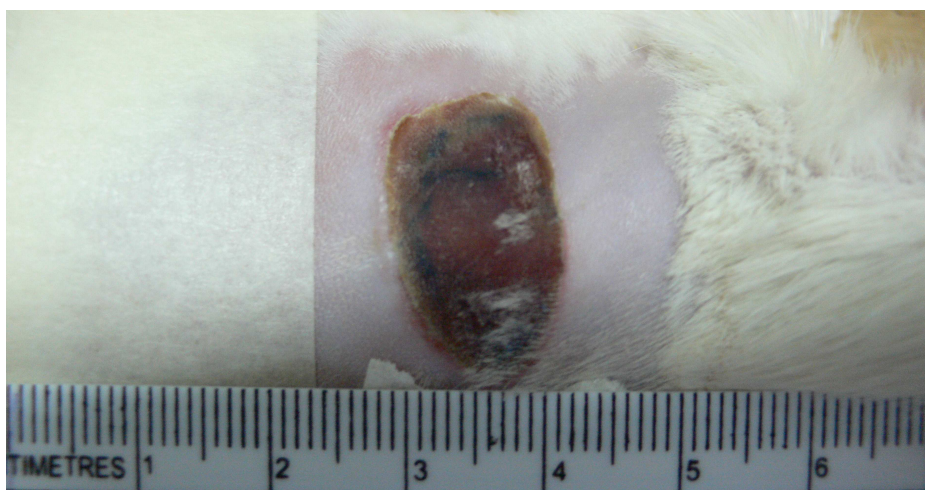
ที่มา: Charles river. (2009). research animal models. Retrieve Nov 1, 2009, from <http://www.criver.com/en-US/ProdServ/ByType/ResModOver/ResMod/Pages/WistarFurth.aspx>



ภาพประกอบ 21 แสดงลักษณะครีมบัวบกความเข้มข้น7% ลักษณะครีมสีเหลืองอ่อน



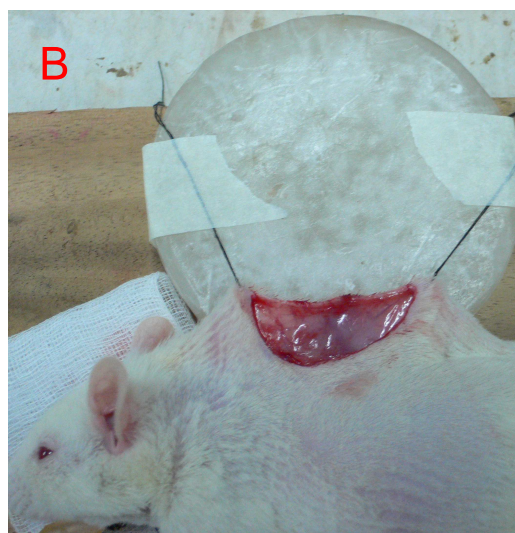
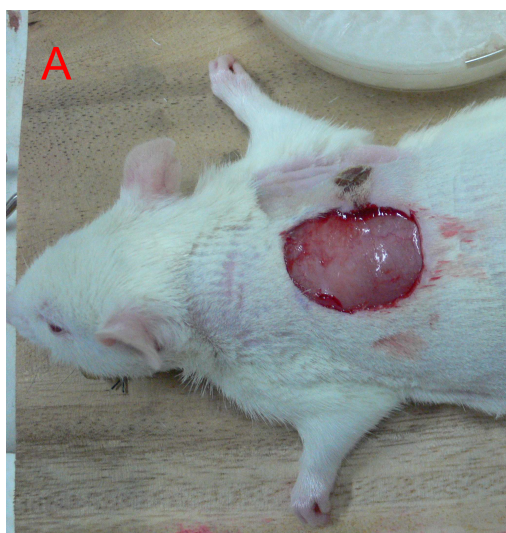
ภาพประกอบ 22 แผ่นนำความร้อนที่ทำด้วยstainless steel (electrical hot plate)



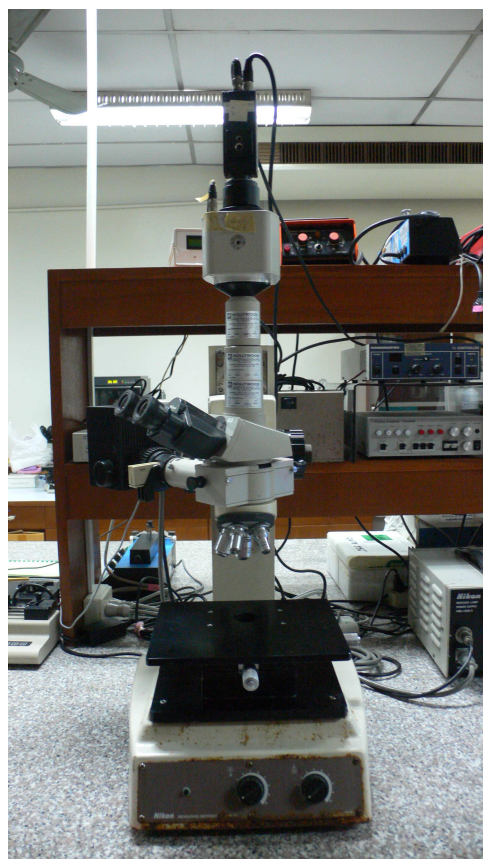
ภาพประกอบ 23 การบันทึกขนาดของแผล โดยระยะห่างของกล้องถ่ายภาพและบาดแผลเท่ากับ 16 เซนติเมตร และมีสเกลหน่วยเซนติเมตรเป็นmarker



ภาพประกอบ 24 การผ่าตัดเจาะคอโดยสอดท่อเข้าทางหลอดลมเพื่อช่วยเปิดทางเดินหายใจ และสอดท่อ polyethylene(PE10) เข้าหลอดเลือดดำjugular vein เพื่อเป็นทางให้สารfluorescein



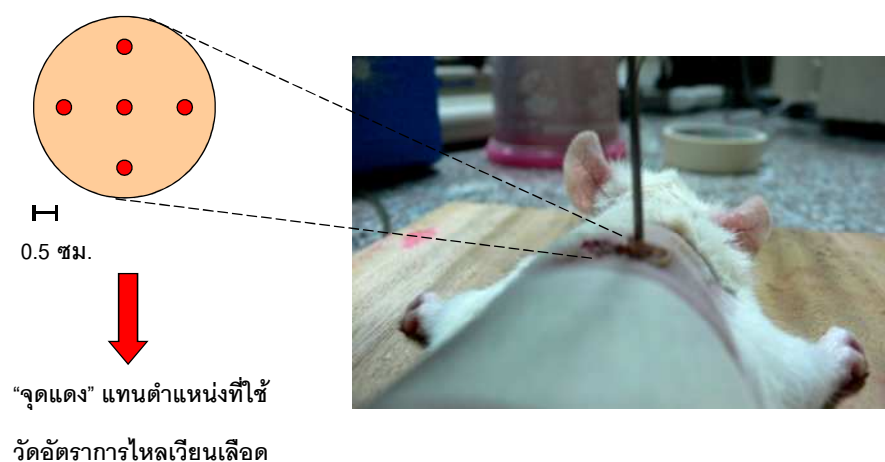
ภาพประกอบ 25 การเตรียมผิวหนัง โดยตัดผิวหนังฝั่งตรงข้ามแผลใหม่(A) และพลิกบาดแผลเพื่อศึกษาผิวหนังใต้บริเวณที่เกิดแผลใหม่(B)



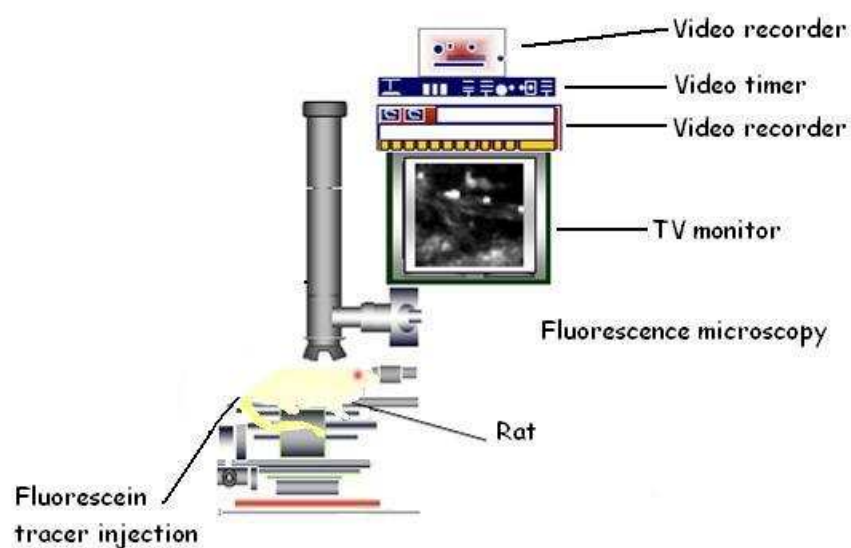
ภาพประกอบ 26 เครื่อง Intravital fluorescence microscope



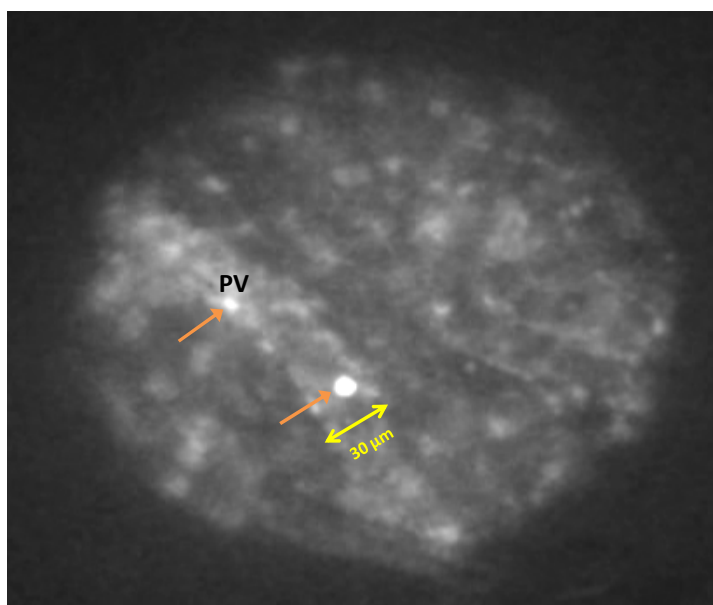
ภาพประกอบ 27 เครื่อง Laser Doppler flowmeter



ภาพประกอบ 28 แสดงการวัดอัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนัง บริเวณแผลใหม่ 5 ตำแหน่งได้แก่ บริเวณกลางแผล และมุมทั้ง 4 ของแผลโดยห่างจากขอบแผล 0.5 เซนติเมตร



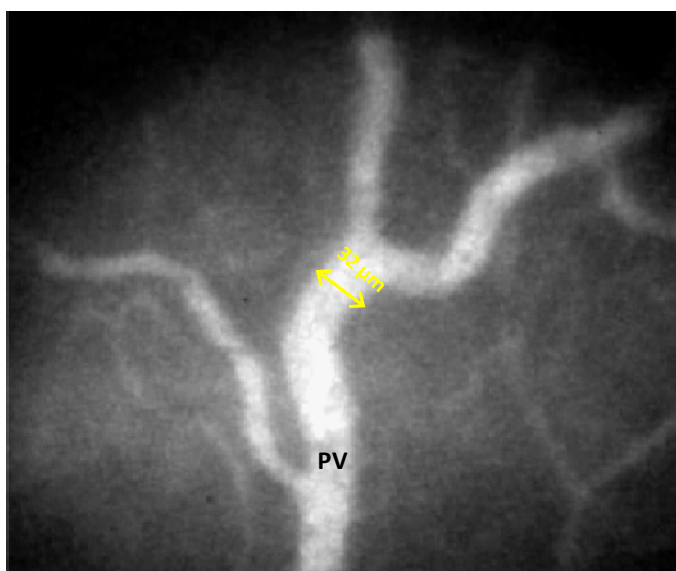
ภาพประกอบ 29 ขั้นตอนในการศึกษาโดยวิธี Intravital fluorescence microscopy



ภาพประกอบ 30 แสดงการฉีดสาร Rhodamine 6-G ทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวเรืองแสงเมื่อดูภายใต้กล้องFluorescence

PV = postcapillary venule

→ แสดงถึงเม็ดเลือดขาวที่เกาะติดบนผนังหลอดเลือดดำ



ภาพประกอบ 31 แสดงการฉีดสารfluorescein จะเห็นสารเรืองแสงเต็มหลอดเลือด ทำให้เห็นหลอดเลือดชัดเจน เมื่อดูภายใต้กล้องFluorescence

PV = postcapillary venule

4. การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)

ข้อมูลที่ได้นำเสนอเป็น mean $\pm$ standard error of mean (SEM) วิเคราะห์ข้อมูลเปรียบเทียบแต่ละกลุ่มโดยใช้ one-way ANOVA ตามด้วย Tukey's analysis และเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มใช้ unpaired student's t-test โดยกำหนดค่าความน่าจะเป็น (p value) ที่ $p \leq 0.05$

5. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

6.1 สารเคมี

- centella asiatica, extract gel, 7% (Government Pharmaceutical Organization)
- Fluorescein isothiocyanate-labeled dextran, Molecular weight 150,000 (FITC-dextran; Sigma Chemicals Co.)
- Rhodamine 6-G, 0.03% (R-6-G; Sigma Chemicals Co.)
- Ether
- Sodium pentobarbital
- 0.9% Normal saline solution
- 70% Alcohol

6.2 เครื่องมือ

- electrical hot plate
- กล้องถ่ายภาพรูปดิจิทัล
- dorsal skin chamber
- กล้องจุลทรรศน์ชนิด intravital fluorescence microscopy (Nikon Instrument Inc.)
- เครื่อง laser doppler flowmeter (Moor instruments)
- แผ่นใสปิดบาดแผลปลอดเชื้อ (tegaderm)

บทที่ 4

ผลการวิจัย

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ดังต่อไปนี้

1. เพื่อศึกษาผลของบัวบกต่อการหายของแผลไหม้
2. เพื่อศึกษาผลของบัวบกต่ออัตราการไหลเวียนเลือดในแผลไหม้
3. เพื่อศึกษาผลของบัวบกต่อการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมในหลอดเลือดขนาดเล็กที่ผิวหนังในแผลไหม้

ผิวหนังในแผลไหม้

โดยจากการศึกษาสามารถแบ่งได้เป็น 3 ตอนคือ

ตอนที่ 1 ลักษณะโดยทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง

ตอนที่ 2 ผลการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลตามวัตถุประสงค์ของการศึกษา

ตอนที่ 1 ลักษณะโดยทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง

สัตว์ทดลองที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ หนูขาว (Wistar Furth rat) เพศผู้ จากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ ตำบลศาลายา มหาวิทยาลัยมหิดล ซึ่งมีอายุและน้ำหนักเมื่อเริ่มต้นใกล้เคียงกันในทุกกลุ่ม โดยแต่ละกลุ่มมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเท่ากับ 200.17 ± 0.70 กรัม, 201.83 ± 1.60 กรัม และ 198.83 ± 0.83 กรัม ในกลุ่มควบคุม, กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ และกลุ่มแผลไหม้-บัวบกตามลำดับ ดังแสดงในตาราง 1 และภาพประกอบ 32

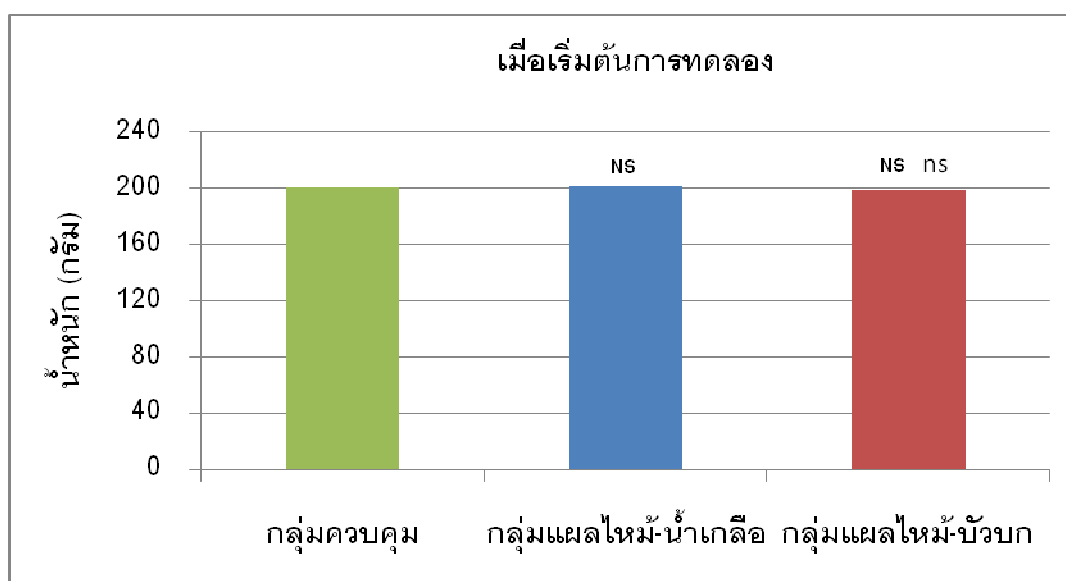
ตาราง 1 ค่าน้ำหนักตัวเฉลี่ยของกลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้-บัวบก ในวันเริ่มต้นการศึกษา

กลุ่มทดลอง	น้ำหนักเริ่มต้นการทดลอง (กรัม)
กลุ่มควบคุม	200.17 ± 0.70
กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ	201.83 ± 1.60 ^{NS}
กลุ่มแผลไหม้-บัวบก	198.83 ± 0.83 ^{NS ns}

ค่าที่แสดงเป็น mean ± SEM

^{NS} ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

^{ns} ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ



ภาพประกอบ 32 กราฟแสดงค่าน้ำหนักตัวเฉลี่ยของกลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้-บัวบก ในวันเริ่มต้นการทดลอง

^{NS} ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

^{ns} ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ

ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 7 กลุ่มควบคุมมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเท่ากับ 255.50 กรัม กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเท่ากับ 231.83 กรัม และกลุ่มแผลไหม้-บัวบกมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเท่ากับ 226.67 กรัม ดังแสดงในตาราง 2

ตาราง 2 ค่าน้ำหนักตัวเฉลี่ยของกลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้-บัวบก หลังเกิดแผลไหม้วันที่ 7

กลุ่มทดลอง	น้ำหนักตัว (กรัม)
กลุ่มควบคุม	255.50 ± 2.14
กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ	231.83 ± 5.65
กลุ่มแผลไหม้-บัวบก	226.67 ± 4.62

ค่าที่แสดงเป็น mean ± SEM

เมื่อนำน้ำหนักตัวเฉลี่ยภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 7 มาคำนวณร้อยละของน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลงไปดังสมการ

$$\text{ร้อยละของน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลงในวันที่ 7} = \left| \frac{\text{น้ำหนักเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักวันที่ 7}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}} \right| \times 100$$

พบว่าร้อยละของน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลงไปในกลุ่มแผลไหม้น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และในกลุ่มแผลไหม้ทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน โดยร้อยละของน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลงในวันที่ 7 เท่ากับ 27.64 ± 0.97 , 14.84 ± 2.45 และ 14.03 ± 2.57 ในกลุ่มควบคุม, กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ และกลุ่มแผลไหม้-บัวบกตามลำดับ ดังแสดงในตาราง 3 และภาพประกอบ 33 แสดงให้เห็นว่าการรักษาแผลไหม้ด้วยน้ำเกลือหรือบัวบก ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว

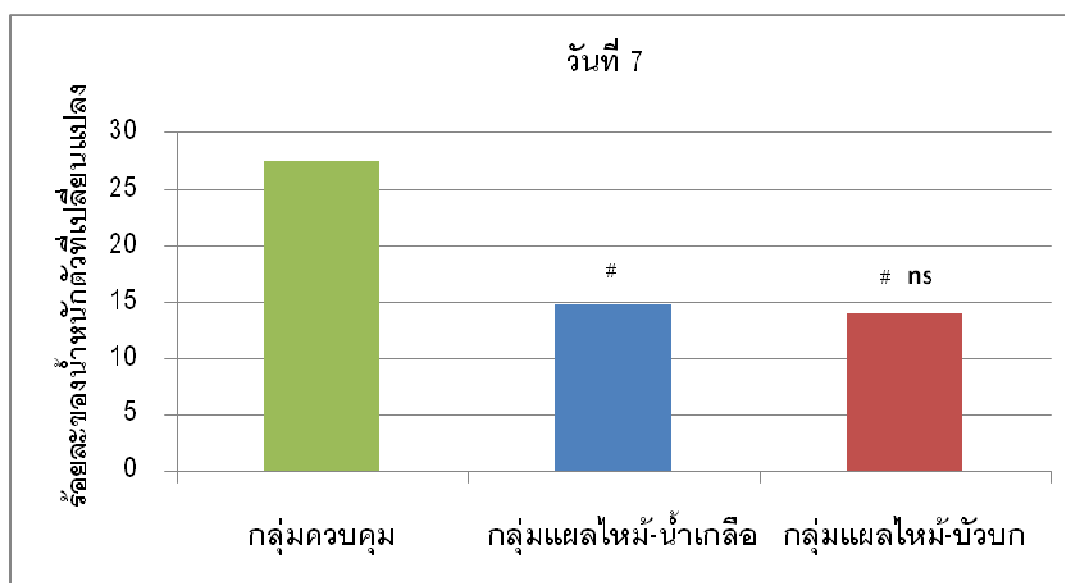
ตาราง 3 ร้อยละของน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลงในวันที่ 7 ของกลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้-บัวบก

กลุ่มทดลอง	ร้อยละของน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง ในวันที่ 7 (%)
กลุ่มควบคุม	27.64 ± 0.97
กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ	14.84 ± 2.45 [#]
กลุ่มแผลไหม้-บัวบก	14.03 ± 2.57 ^{# ns}

ค่าที่แสดงเป็นค่า mean ± SEM

[#] มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (p<0.05)

^{ns} ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ



ภาพประกอบ 33 กราฟแสดงร้อยละของน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลงในวันที่ 7 ในกลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้-บัวบก

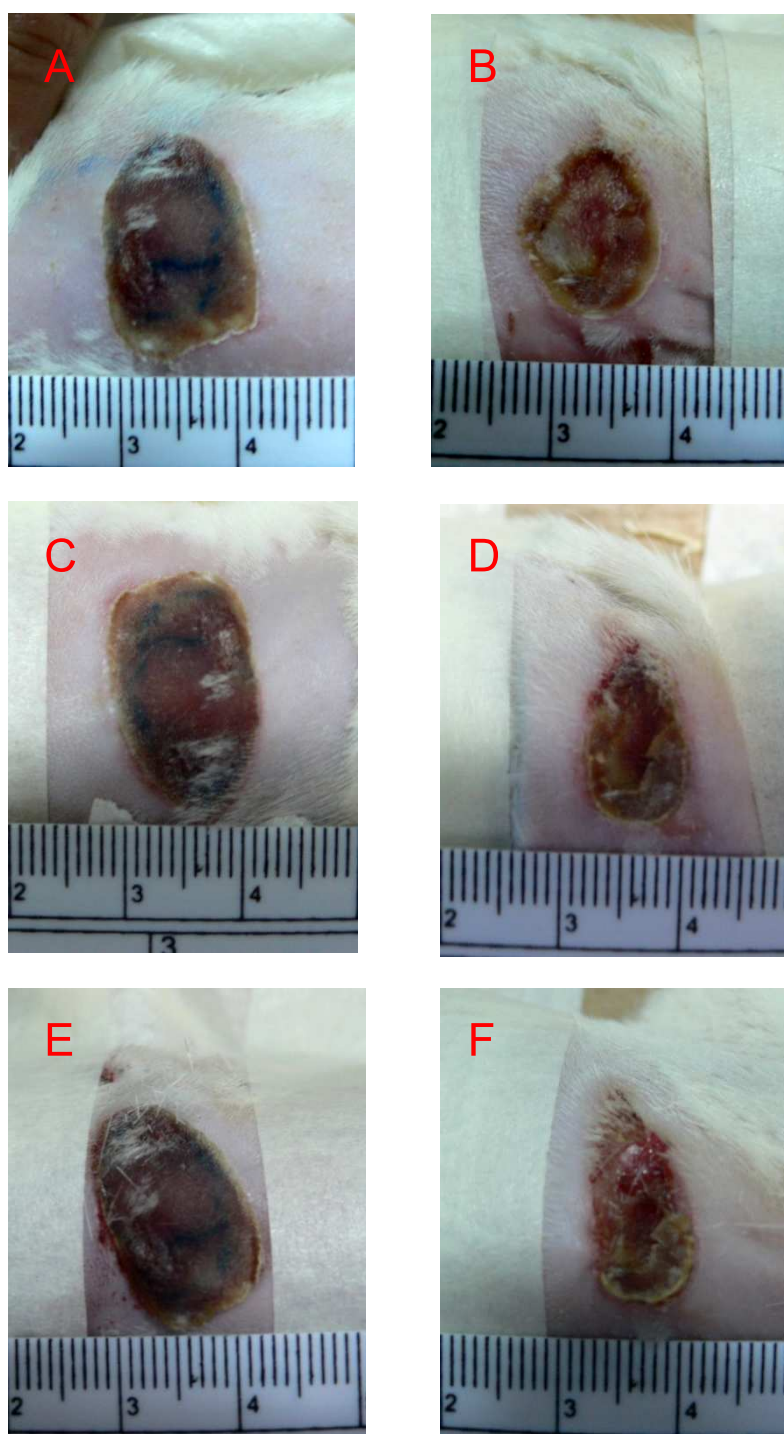
[#] มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (p<0.05)

^{ns} ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ

ตอนที่ 2 ผลการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลตามวัตถุประสงค์ของการศึกษา

4.1 การศึกษาผลของบัวบกต่อร้อยละการหายของแผล

ลักษณะทั่วไปของแผลใหม่ ทั้งสองกลุ่มลักษณะแผลไม่มีตุ่มน้ำ และไม่มีเนื้อตาย บริเวณรอบๆแผลมีบวมและแดง แต่กลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วยบัวบกเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วยน้ำเกลือ มีลักษณะแดง และมีการหดรั้งของขอบแผลมากกว่า ทำให้ขนาดบาดแผลเล็กกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับในวันเดียวกัน ดังแสดงในภาพประกอบ 34 แสดงให้เห็นว่าการรักษาแผลใหม่ด้วยบัวบกมี epithelialization เร็วกว่าการรักษาด้วยน้ำเกลือ



ภาพประกอบ 34 ลักษณะของแผลไหม้ของกลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่3(A) วันที่ 5(C) และวันที่ 7(E) กลุ่มแผลไหม้-บัวบก ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่3(B) วันที่5(D) และ วันที่ 7(F)

นำรูปภาพแผลที่บันทึก มาคำนวณหาพื้นที่ของแผลโดย โปรแกรม Image Pro Plus จากนั้น นำพื้นที่แผลมาคำนวณหาร้อยละการหายของแผลหลังเกิดแผลใหม่วันที่ 3, 5 และ 7 ดังสมการ⁽⁴²⁾

$$\% \text{wound healing on day X} = \left(\frac{1 - \text{wound area on day X (cm}^2\text{)}}{\text{wound area on day 0 (cm}^2\text{)}} \right) \times 100$$

wound area on day 0 = พื้นที่ของแผลในวันที่ 0

wound area on day X = พื้นที่ของแผลในวันที่ X

4.1.1 หลังเกิดแผลใหม่วันที่ 3

ร้อยละการหายของแผลของกลุ่มแผลใหม่-บัวบก มากกว่ากลุ่มแผลใหม่-น้ำเกลือ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกลุ่มแผลใหม่-บัวบก มีร้อยละการหายของแผลเท่ากับ 43.83 ± 4.45 กลุ่มแผลใหม่-น้ำเกลือ มีร้อยละการหายของแผลเท่ากับ 30.57 ± 3.89 ดังแสดงในตาราง 4 และภาพประกอบ 35 แสดงให้เห็นว่าหลังเกิดแผลใหม่วันที่ 3 การรักษาแผลใหม่ด้วยบัวบกทำให้แผลหายเร็วกว่าการรักษาด้วยน้ำเกลือ

4.1.2 หลังเกิดแผลใหม่วันที่ 5

ร้อยละการหายของแผลของกลุ่มแผลใหม่-บัวบก มากกว่ากลุ่มแผลใหม่-น้ำเกลือ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกลุ่มแผลใหม่-บัวบก มีร้อยละการหายของแผลเท่ากับ 49.97 ± 5.21 กลุ่มแผลใหม่-น้ำเกลือ มีร้อยละการหายของแผลเท่ากับ 35.41 ± 3.69 ดังแสดงในตาราง 4 และภาพประกอบ 35 แสดงให้เห็นว่าหลังเกิดแผลใหม่วันที่ 5 การรักษาแผลใหม่ด้วยบัวบกทำให้แผลหายเร็วกว่าการรักษาด้วยน้ำเกลือ

4.1.3 หลังเกิดแผลไหม้วันที่ 7

ร้อยละการหายของแผลของกลุ่มแผลไหม้-บับก มากกว่ากลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกลุ่มแผลไหม้-บับก มีร้อยละการหายของแผลเท่ากับ 62.44 ± 3.87 กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ มีร้อยละการหายของแผลเท่ากับ 43.10 ± 2.55 ดังแสดงในตาราง 4 และภาพประกอบ 35 แสดงให้เห็นว่าหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 5 การรักษาแผลไหม้ด้วยบับกทำให้แผลหายเร็วกว่าการรักษาด้วยน้ำเกลือ

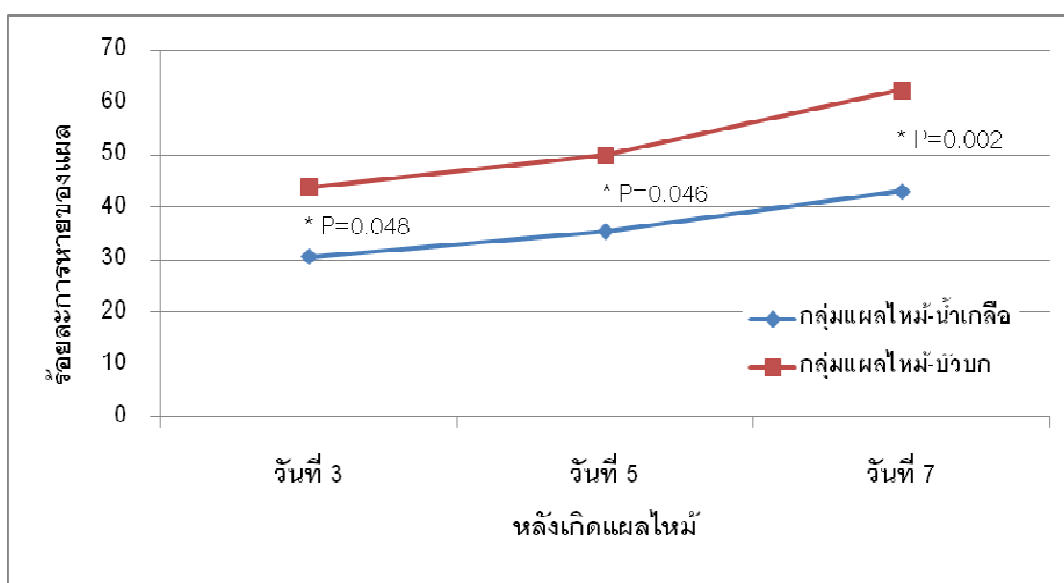
จากการศึกษาพบว่าเมื่อเกิดแผลไหม้ ร้อยละการหายของแผลจะมากขึ้นตามระยะเวลาของการเกิดแผลไหม้ ที่น่าสนใจได้แก่ กลุ่มที่ทาแผลด้วยครีมบับก7% จะทำให้การหายของแผลเกิดเร็วขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับทาแผลด้วยน้ำเกลือ จึงกล่าวได้ว่า ครีมบับก7% สามารถเร่งการหายของแผลไหม้ได้ดี

ตาราง 4 ร้อยละการหายของแผลของกลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้-บับก ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 3, 5 และ7

ระยะเวลาหลังเกิดแผลไหม้ (วัน)	กลุ่มทดลอง	ร้อยละการหายของแผล (%)
3	กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ	30.57 ± 3.89
	กลุ่มแผลไหม้-บับก	43.83 ± 4.45 *
5	กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ	35.41 ± 3.69
	กลุ่มแผลไหม้-บับก	49.97 ± 5.21 *
7	กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ	43.10 ± 2.55
	กลุ่มแผลไหม้-บับก	62.44 ± 3.87 *

ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SEM

* มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือที่ระยะเวลาเดียวกัน ($p < 0.05$)



ภาพประกอบ 35 กราฟแสดงร้อยละการหายของรกของกลุ่มรกน้ำเกลือและกลุ่มรกน้ำเกลือ-บวบก ภายหลังจากเกิดรกน้ำเกลือวันที่ 3, 5 และ 7

* มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มรกน้ำเกลือที่ระยะเวลาเดียวกัน ($p < 0.05$)

4.2 การศึกษาผลของบับกต่ออัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนัง

วัดอัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนังด้วยเครื่อง Laser doppler flowmetry (Moore Instruments, England) โดยวัดบริเวณแผลไหม้ 5 ตำแหน่งได้แก่ บริเวณกลางแผล และมุมทั้ง 4 ของแผล แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย (ภาพประกอบ 26) ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 3, 5 และ 7

4.2.1 หลังเกิดแผลไหม้วันที่ 3

อัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนังของกลุ่มแผลไหม้-บับก มากกว่ากลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยอัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนังของกลุ่มแผลไหม้-บับก เท่ากับ 168.96 ± 25.78 กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ เท่ากับ 166.79 ± 14.21 ดังแสดงในตาราง 5 และภาพประกอบ 36

4.2.2 หลังเกิดแผลไหม้วันที่ 5

อัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนังของกลุ่มแผลไหม้-บับก มากกว่ากลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยอัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนังของกลุ่มแผลไหม้-บับก เท่ากับ 166.05 ± 12.81 กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ เท่ากับ 164.78 ± 12.12 ดังแสดงในตาราง 5 และภาพประกอบ 36

4.2.3 หลังเกิดแผลไหม้วันที่ 7

อัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนังของกลุ่มแผลไหม้-บับก มากกว่ากลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และในกลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ กับกลุ่มควบคุม พบว่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยอัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนังของกลุ่มควบคุม เท่ากับ 59.68 ± 3.35 กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ เท่ากับ 58.72 ± 6.72 และกลุ่มแผลไหม้-บับก เท่ากับ 105.66 ± 4.72 ดังแสดงในตาราง 5 และภาพประกอบ 36

จากการศึกษาผลของบับกต่ออัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนังสรุปได้ว่า เมื่อเกิดแผลไหม้วันที่ 3 และ 5 อัตราการไหลเวียนเลือดเพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุม และในวันที่ 7 กลุ่มแผลไหม้ที่ได้รับการรักษาด้วยน้ำเกลือ อัตราการไหลเวียนเลือดลดลงกลับสู่ค่าปกติ ขณะที่กลุ่มแผลไหม้ที่ได้รับการรักษาด้วยบับกอัตราการไหลเวียนเลือดลดลง แต่ยังคงสูงอยู่

ตาราง 5 อัตราเฉลี่ย การไหลเวียนเลือดที่ผิวหนังของกลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้-บัวบก
ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 3, 5 และ 7

ระยะเวลาหลัง เกิดแผลไหม้ (วัน)	กลุ่มทดลอง	อัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนัง
0	กลุ่มควบคุม	56.54 ± 0.57
3	กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ	166.79 ± 14.21
	กลุ่มแผลไหม้-บัวบก	168.96 ± 25.78^{ns}
5	กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ	164.78 ± 12.12
	กลุ่มแผลไหม้-บัวบก	166.05 ± 12.81^{ns}
7	กลุ่มควบคุม	59.68 ± 3.35
	กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ	58.72 ± 6.72^{ns}
	กลุ่มแผลไหม้-บัวบก	$105.66 \pm 4.72^{* \#}$

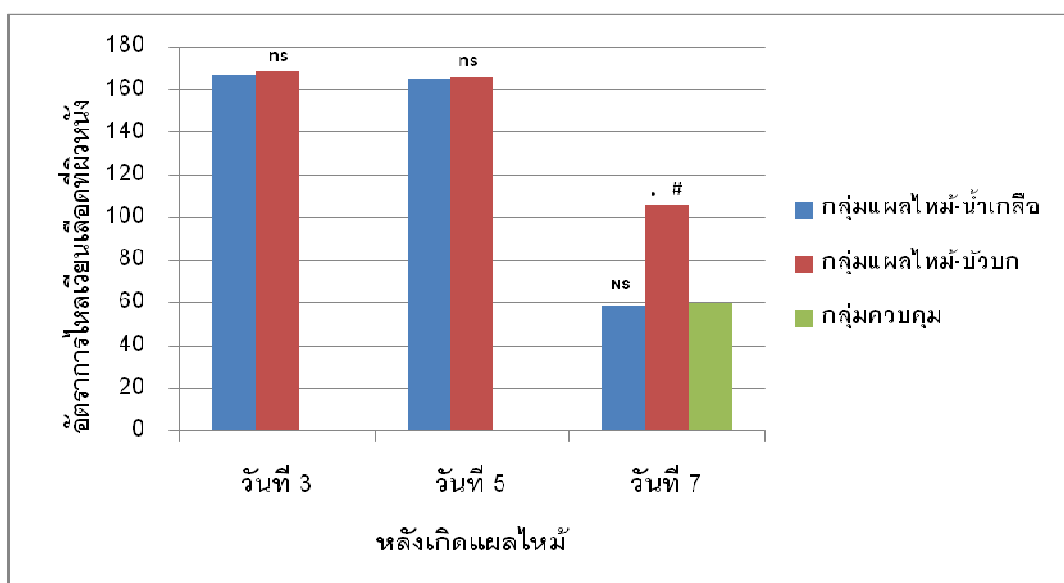
ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SEM

* มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือที่ระยะเวลาเดียวกัน ($p < 0.05$)

มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ระยะเวลาเดียวกัน ($p < 0.05$)

^{ns} ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือที่ระยะเวลาเดียวกัน

^{NS} ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ระยะเวลาเดียวกัน



ภาพประกอบ 36 กราฟแสดงอัตราเฉลี่ย การไหลเวียนเลือดที่ผิวหนังของกลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้-บัวบก ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 3, 5 และ 7

* มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือที่ระยะเวลาเดียวกัน ($p < 0.05$)

มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ระยะเวลาเดียวกัน ($p < 0.05$)

^{ns} ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือที่ระยะเวลาเดียวกัน

^{NS} ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ระยะเวลาเดียวกัน

4.3 การศึกษาผลของบัพกต์การทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมในหลอดเลือดขนาดเล็กที่ผิวหนัง

พารามิเตอร์ที่ใช้ศึกษา ได้แก่ การเกาะติดของเซลล์เม็ดเลือดขาวบนเอนโดทีเลียม และการรั่วซึมของสารออกนอกหลอดเลือด (vascular permeability)

4.3.1 ศึกษาผลของบัพกต์การเกาะติดของเซลล์เม็ดเลือดขาวบนเอนโดทีเลียม

โดยการนับการเกาะติดของเม็ดเลือดขาวที่หยุดนิ่งไม่เคลื่อนไหวอยู่ที่ผนังหลอดเลือดเป็นเวลา ≥ 30 วินาทีในหลอดเลือดดำ postcapillary (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20-40 μm) หลังฉีด R-6-G แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย จำนวนเม็ดเลือดขาวที่เกาะติดต่อความยาวหลอดเลือด 100 μm ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 7

การเกาะติดของเม็ดเลือดขาวในกลุ่มแผลไหม้มีค่าสูงกว่าในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และในกลุ่มแผลไหม้พบว่า กลุ่มที่ทาครีมบัพกต์มีการเกาะติดของเม็ดเลือดขาวต่ำกว่าในกลุ่มที่ทาน้ำเกลืออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน โดยการเกาะติดของเม็ดเลือดขาวของกลุ่มควบคุมเท่ากับ 1.24 ± 0.10 cells/100 μm , กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือเท่ากับ 10.31 ± 0.77 cells/100 μm และกลุ่มแผลไหม้-บัพกต์เท่ากับ 4.39 ± 0.16 cells/100 μm ดังแสดงในตาราง 6, ภาพประกอบ 37 และภาพประกอบ 38

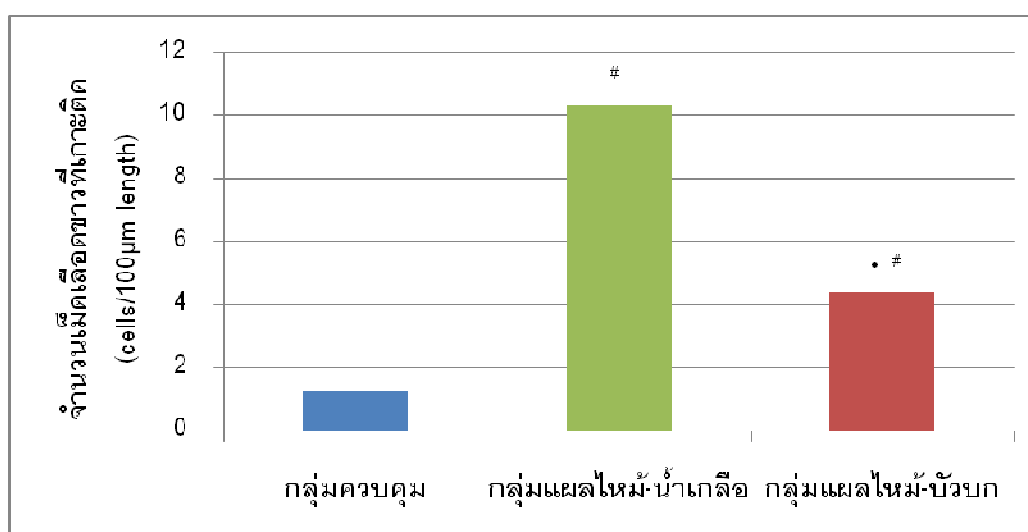
ตาราง 6 จำนวนเม็ดเลือดขาวที่เกาะติดบนเอนโดทีเลียมในหลอดเลือดดำ postcapillary (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20-40 μm) ของกลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้-บัวบก ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 7

กลุ่มทดลอง	จำนวนเม็ดเลือดขาวที่เกาะติด (cells/100 μm length)
กลุ่มควบคุม	1.24 $\pm$ 0.10
กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ	10.31 $\pm$ 0.77 [#]
กลุ่มแผลไหม้-บัวบก	4.39 $\pm$ 0.16 ^{• #}

ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SEM

[#] มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$)

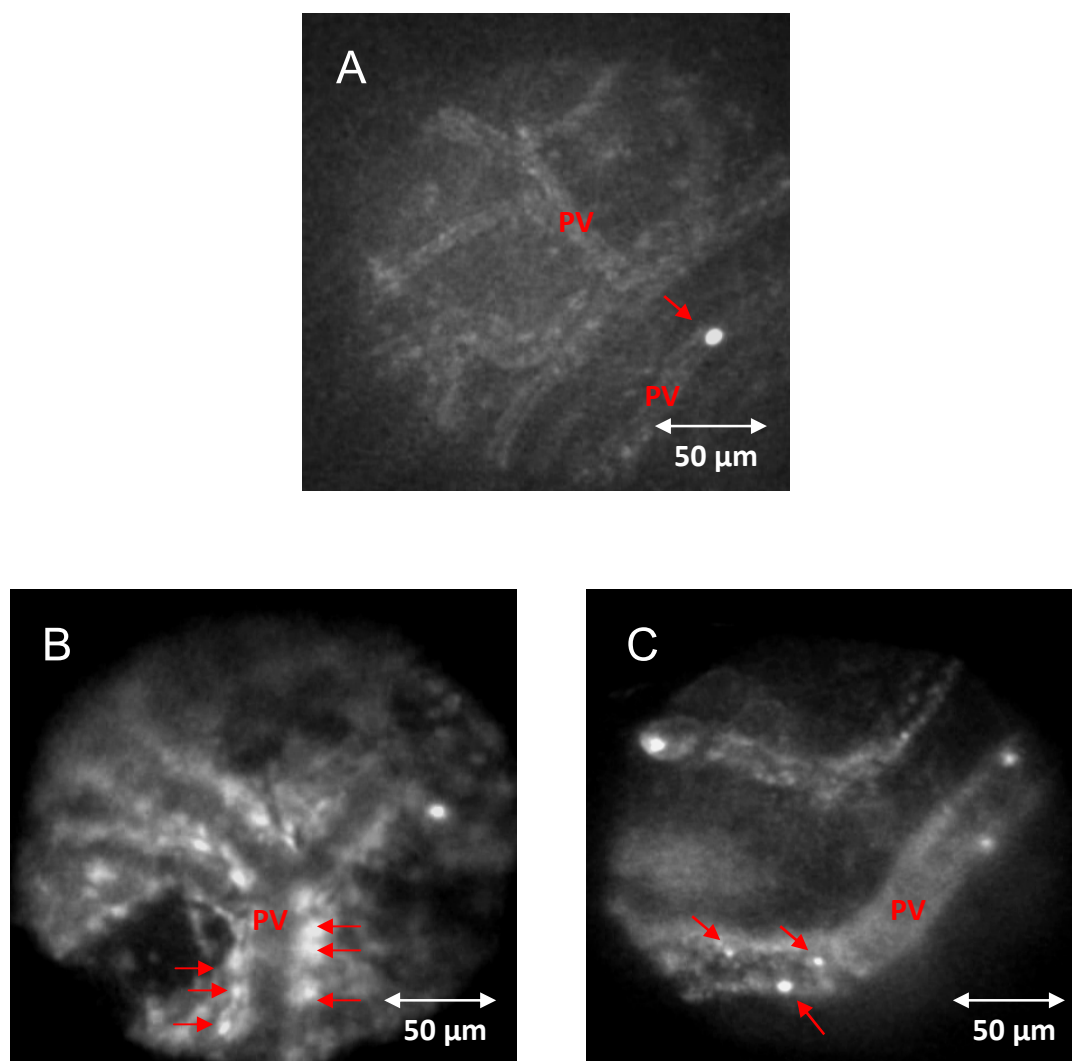
[•] มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ ($p < 0.05$)



ภาพประกอบ 37 กราฟแสดงจำนวนเม็ดเลือดขาวที่เกาะติดบนเอนโดทีเลียมในหลอดเลือดดำ postcapillary (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20-40 μm) ของกลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ และกลุ่มแผลไหม้-บัวบก ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 7

[#] มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$)

[•] มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ ($p < 0.05$)



ภาพประกอบ 38 การเกาะติดของเม็ดเลือดขาวของหลอดเลือดดำ postcapillary (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20-40 μm) ภายหลังฉีด R-6-G ในกลุ่มควบคุม(A) กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ(B) และกลุ่มแผลไหม้-บัวบก(C) ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 7

PV = postcapillary venule

→ แสดงถึงเม็ดเลือดขาวที่เกาะติดบนผนังหลอดเลือดดำ

4.3.1 ศึกษาผลของบับกต่อการรั่วซึมของสารออกนอกหลอดเลือด (vascular permeability) (I_{out}/I_{in})

โดยการหาความเข้ม(intensity)ของFITC-dextran ที่ภายใน(I_{in})และภายนอก (I_{out}) หลอดเลือดดำ postcapillary (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20-40 μm) โดยการใช้โปรแกรม Image Pro Plus นำ I_{in} และ I_{out} มาหาอัตราส่วน หรือ ratio I_{out}/I_{in} ภายหลังจากเกิดแผลไหม้วันที่ 7

vascular permeability ของกลุ่มแผลไหม้มีค่าสูงกว่าในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และในกลุ่มแผลไหม้พบว่า กลุ่มที่ทาครีมบับกมี vascular permeability ต่ำกว่าในกลุ่มที่ทาน้ำเกลืออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน โดยvascular permeability(I_{out}/I_{in}) ของกลุ่มควบคุมเท่ากับ 0.58 ± 0.02 , กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือเท่ากับ 1.20 ± 0.05 และกลุ่มแผลไหม้-บับกเท่ากับ 0.83 ± 0.03 ดังแสดงในตาราง 7, ภาพประกอบ 39 และภาพประกอบ 40

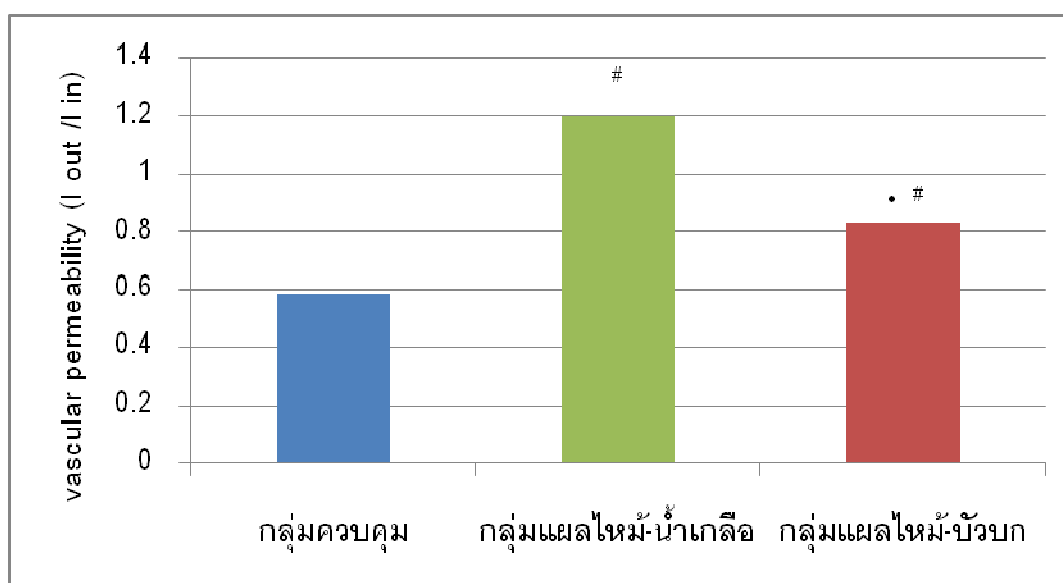
ตาราง 7 แสดง vascular permeability ของกลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้-บับก ภายหลังจากเกิดแผลไหม้วันที่ 7

กลุ่มทดลอง	vascular permeability (I_{out}/I_{in})
กลุ่มควบคุม	0.58 ± 0.02
กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ	$1.20 \pm 0.05^{\#}$
กลุ่มแผลไหม้-บับก	$0.83 \pm 0.03^{\bullet \#}$

ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SEM

[#] มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$)

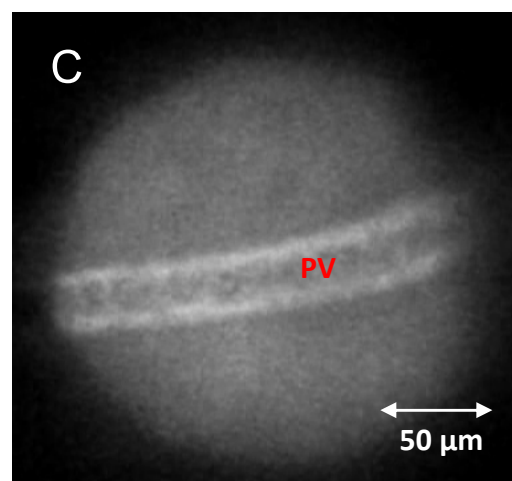
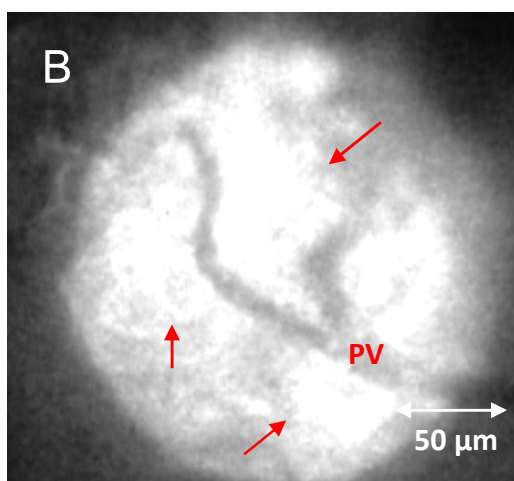
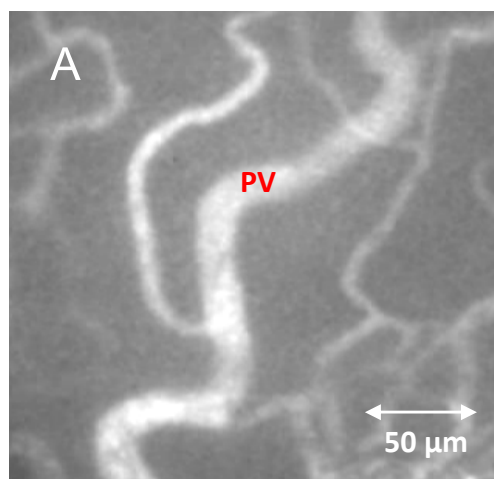
[•] มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ ($p < 0.05$)



ภาพประกอบ 39 กราฟแสดง vascular permeability ของกลุ่มควบคุม กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือและกลุ่มแผลไหม้-บัวบก ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 7

มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$)

* มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ ($p < 0.05$)



ภาพประกอบ 40 vascular permeabilityของหลอดเลือดดำ postcapillary (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20-40 μm) ภายหลังฉีด FITC-dextran ในกลุ่มควบคุม(A) กลุ่มแผลไหม้-น้ำเกลือ(B) และกลุ่มแผลไหม้-บัวบก(C) ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 7

PV = postcapillary venule

→ แสดงถึงการรั่วซึมของสารออกนอกหลอดเลือดดำ

บทที่ 5

อภิปรายผล สรุป

การวิจัยในครั้งนี้เพื่อศึกษาฤทธิ์ของครีมบัวบกโดยการทาครีมบัวบกที่แผลไหม้ระดับสองในหนูขาว เป็นระยะเวลา 7 วันอย่างต่อเนื่อง เพื่อประเมินร้อยละการหายของแผล อัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนังโดยใช้เครื่อง laser doppler flowmetry และการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือดขนาดเล็กที่ผิวหนังโดยศึกษาทาง intravital fluorescence microscopy ผลการศึกษาที่สำคัญในครั้งนี้จากการทาครีมบัวบกที่แผลไหม้ระดับสองในหนู เป็นระยะเวลา 7 วันอย่างต่อเนื่อง สามารถ

1. พื้นฟูการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียม โดยลดการเกาะติดของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่เกาะติดบนเอนโดทีเลียม และ ลด vascular permeability ได้
2. เพิ่มอัตราการไหลเวียนเลือดในแผลไหม้
3. ขนาดของแผลลดลง มีระยะเวลาการหายของแผลที่เร็วขึ้น

ครีมบัวบกที่ใช้มีความเข้มข้น 7 % ประกอบด้วยสารสำคัญ asiaticoside 0.2 %w/w (วิเคราะห์โดย HPLC)

เมื่อร่างกายเกิดบาดแผลขึ้นจะด้วยสาเหตุใดก็ตาม ร่างกายจะมีกลไกในการปรับเพื่อรักษาสมดุล เกิดเป็นกระบวนการหายของแผล(wound healing process) เกิดขึ้น เริ่มด้วยระยะ inflammatory phase ซึ่งเกิดขึ้นทันทีจนถึงภายใน 48-96 ชั่วโมง ในระยะนี้พบว่าการขยายตัวของหลอดเลือด (vasodilation) มีการรั่วซึมของหลอดเลือดเพิ่มขึ้น(increase vascular permeability) เม็ดเลือดขาวในหลอดเลือดเคลื่อนย้ายของมายังบริเวณที่บาดเจ็บและเกาะตามแนวของเซลล์endotheliumเพิ่มขึ้น(increase leukocyte adhesion) ⁽¹⁶⁻¹⁸⁾ จากนั้นจะมีระยะ proliferative เกิดขึ้นซึ่งเริ่มตั้งแต่วันที่ 4 จนถึงวันที่ 12 หลังการเกิดบาดแผล ระยะนี้พบว่า ในบาดแผลมีการสะสมของ fibroblast(fibroplasia) การสะสมของ matrix(matrix deposition) มีการสร้างหลอดเลือดใหม่(angiogenesis) และมี epithelialization เกิดขึ้น^{(2,}

^{12, 13)} ต่อด้วยระยะสุดท้ายคือระยะ remodeling เริ่มที่สัปดาห์ที่3 โดยระยะนี้เป็นระยะสุดท้ายและใช้

ระยะเวลายาวนานที่สุดในกระบวนการหายของแผล ในระยะนี้พบว่ามีกระบวนการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของcollagen ทำให้collagen ยึดเกาะกันแน่นมากขึ้น(collagen maturation)⁽¹²⁻¹⁴⁾

กระบวนการหายของแผลที่เกิดขึ้น ถ้าใช้ระยะเวลายิ่งสั้น บาดแผลก็จะหายเร็วขึ้น ยาทาแผลไหม้ นอกจากเป็นยาป้องกันการติดเชื้อและยาต้านการอักเสบแล้ว ยาที่ช่วยเร่งกระบวนการหายของแผลไหม้ เป็นสิ่งสำคัญที่จะช่วยทำให้แผลหายเร็วขึ้น ในปัจจุบันได้มีการศึกษาค้นคว้าวิจัยเกี่ยวกับยาที่สกัดจาก สมุนไพรมากขึ้น ตัวอย่างเช่น บัวบก(*Centella asiatica* (Linn.) Urban) ว่านหางจระเข้ (*Aloe vera* (Linn.) Urban) เป็นต้น⁽³⁾ การนำยาที่สกัดจากสมุนไพรมาใช้มีข้อดีคือ ผลข้างเคียงน้อย ช่วยลดค่าใช้จ่าย และเป็นการส่งเสริมการใช้สมุนไพรไทยให้เป็นประโยชน์อีกด้วย

บัวบก (Asiatic Pennywort) เป็นสมุนไพรพื้นบ้านมีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *Centella asiatica* (Linn.) Urban มีส่วนประกอบทางเคมีที่สำคัญ 3 ชนิด เป็นสารประกอบ triterpene ได้แก่ asiaticoside, madecassic acid และ asiatic acid บัวบกเป็นสมุนไพรที่ชาวบ้านรู้จักกันดี โดยเฉพาะการนำมาใช้รักษา บาดแผลต่างๆ เช่น แผลไหม้ แผลฉีกขาด แผลเรื้อรัง เป็นต้น และปัจจุบันครีมบัวบก ความเข้มข้น 7 % ได้ ถูกบรรจุในบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ.2547⁽⁴⁾ ในข้อบ่งชี้ช่วยการสมานแผล ทำให้มีการนำครีมบัวบกไปใช้ อย่างแพร่หลายมากขึ้น มีการศึกษาเกี่ยวกับสารสกัดใบบัวบกพบว่า สามารถช่วยให้แผลไหม้หายเร็วขึ้น โดยเพิ่มการเจริญเติบโตของเยื่อบุผิว(epithelialization) เพิ่มการสร้างcollagen และช่วยกระตุ้นการสร้าง หลอดเลือดใหม่(angiogenesis) ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาผลของบัวบกต่อกระบวนการ หายของแผลไหม้โดยศึกษาอัตราการไหลเวียนของเลือดและการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมของหลอดเลือด ขนาดเล็ก เพื่อก่อให้เกิดองค์ความรู้ใหม่เกี่ยวกับประสิทธิภาพของบัวบก และเพื่อพัฒนาบัวบกไปเป็น ยารักษาแผลไหม้ให้แพร่หลายมากขึ้น

อภิปรายข้อมูลทั่วไป

จากผลการวิจัยนี้ได้ใช้สัตว์ทดลองคือหนูขาวพันธุ์ Wistar furth เพศผู้ จากศูนย์สัตว์ทดลอง แห่งชาติ หนูทุกตัวได้รับการเลี้ยงในกรงเฉลี่ย 1 ตัวต่อกรง ในห้องควบคุมอุณหภูมิเฉลี่ย 20±2 องศาเซลเซียส และแสงสว่าง 12 ชั่วโมงต่อวัน ได้รับอาหารสำเร็จรูปจากบริษัทเจริญโภคภัณฑ์ ทำความสะอาด

ทรงทุกวันเพื่อป้องกันการติดเชื้อ เมื่อเริ่มต้นการทดลอง พบว่าน้ำหนักของหนูทั้งสามกลุ่มไม่แตกต่างกัน ระยะเวลาในการทดลอง 7 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลอง น้ำหนักหนูของทุกกลุ่มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆตามระยะเวลาการทดลอง โดยกลุ่มแผลไหม้มีน้ำหนักตัวน้อยกว่ากลุ่มควบคุม ทั้งที่ทุกกลุ่มได้รับน้ำและสารอาหารเท่ากัน เนื่องจากเมื่อมีการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อเกิดขึ้น ทำให้เกิดภาวะmetabolismสูง มีoxidative stressสูงขึ้น กินได้น้อยลง แต่พบว่าเมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มแผลไหม้ กลุ่มทาด้วยครีมบัวบกมีพารามิเตอร์ทุกตัว ได้แก่ ร้อยละการหายของแผล อัตราการไหลเวียนเลือด การทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียม(จำนวนเม็ดเลือดขาวที่เกาะติดบนเซลล์เอนโดทีเลียม และ vascular permeability)ดีกว่ากลุ่มทาด้วยน้ำเกลือ แสดงให้เห็นว่าครีมบัวบกช่วยเร่งการหายของแผลได้เป็นอย่างดี

ผลของบัวบกต่อการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมในหลอดเลือดขนาดเล็กที่ผิวหนังในแผลไหม้

พารามิเตอร์ที่ใช้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมได้แก่ จำนวนเม็ดเลือดขาวที่เกาะติดบนเซลล์เอนโดทีเลียมในหลอดเลือดดำ และ vascular permeability ภายหลังเกิดแผลไหม้วันที่ 7

ในการศึกษาครั้งนี้กลุ่มแผลไหม้ที่ทาด้วยครีมบัวบก พบจำนวนเม็ดเลือดขาวที่เกาะติดบนเซลล์เอนโดทีเลียมน้อยกว่าในกลุ่มที่ทาน้ำเกลืออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในกลุ่มแผลไหม้พบจำนวนเม็ดเลือดขาวที่เกาะติดบนเซลล์เอนโดทีเลียมมีค่ามากกว่าในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน

ส่วน vascular permeabilityของกลุ่มแผลไหม้ที่ทาด้วยครีมบัวบกพบ vascular permeability น้อยกว่าในกลุ่มที่ทาน้ำเกลืออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในกลุ่มแผลไหม้พบ vascular permeability สูงกว่าในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน

ในภาวะปกติเม็ดเลือดขาวที่ไหลเวียนอยู่ในกระแสโลหิตจะไหลเวียนอย่างอิสระ ไม่สามารถเกาะติดผนังหลอดเลือด และไม่มีกรรุกรซึมของหลอดเลือด เมื่อใดก็ตามที่มีบาดแผลเกิดขึ้น มีการบาดเจ็บต่อเนื้อเยื่อและระบบหลอดเลือด ทำให้มีการสูญเสียการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมในหลอดเลือดบริเวณนั้น เกิดภาวะขาดเลือด ร่างกายจะตอบสนองโดยการเกิดกระบวนการหายของแผลขึ้นทันที เกิดการ

เปลี่ยนแปลงของเม็ดเลือดขาวและหลอดเลือดขนาดเล็ก มีการเคลื่อนย้ายของเม็ดเลือดขาวมายังบริเวณที่บาดเจ็บ และมาเกาะตามแนวของเซลล์endotheliumของหลอดเลือด(increase leukocyte-endothelium interaction) โดยเซลล์endotheliumจะถูกกระตุ้นโดย cytokine ได้แก่ TNF, IL-1 ให้มีการเพิ่มจำนวน adhesion molecule ซึ่งเพิ่มความสามารถในการยึดเกาะกับเม็ดเลือดขาว ในบริเวณที่เกิดบาดแผล ทำให้สามารถจับกับเม็ดเลือดขาวได้ จากนั้นเม็ดเลือดขาวจะเคลื่อนย้ายผ่านเซลล์endotheliumและผนังหลอดเลือดออก เกิดการรั่วซึมของเม็ดเลือดขาวและโปรตีนในเลือด(increase vascular permeability)ไปยังเนื้อเยื่อข้างเคียง โดยการเปลี่ยนแปลงนี้อยู่ระยะ inflammatory จากการศึกษาค้นคว้าพบว่าบัวบกสามารถลดการเกาะติดของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่เกาะติดบนเอนโดทีเลียม และ ลด vascular permeability สันนิษฐานจากการศึกษาก่อนหน้านี้ โดย Lee J และคณะ เมื่อทายาที่มีสาร asiaticoside ความเข้มข้น 0.3% มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้าง TNF- α ได้⁽³³⁾ โดยcytokineทั้งสองมีบทบาทสำคัญ ทำให้เกิดการเกาะติดระหว่างเซลล์เอนโดทีเลียมและเม็ดเลือดขาวและการรั่วซึมของเม็ดเลือดขาวและโปรตีนไปยังเนื้อเยื่อข้างเคียง จึงบ่งชี้ได้ว่าบัวบกช่วยฟื้นฟูการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียม โดยมีฤทธิ์ anti-inflammation ทำให้ระยะ inflammatory เกิดขึ้นอย่างจำกัด ทำให้เร่งกระบวนการหายของแผลใหม่ได้

ผลของบัวบกต่ออัตราการไหลเวียนเลือดในแผลใหม่

ในการศึกษาค้นคว้านี้ ภายหลังเกิดแผลใหม่วันที่ 3 และ 5 กลุ่มแผลใหม่ทั้งสองกลุ่มมีอัตราการไหลเวียนเลือดเพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุม และกลุ่มแผลใหม่ยังไม่พบความแตกต่างของอัตราการไหลเวียนเลือดในกลุ่มที่ทำด้วยน้ำเกลือและครีมบัวบก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะอัตราการไหลเวียนเลือดที่เพิ่มขึ้นในช่วงแรกนี้ เกิดจากกระบวนการอักเสบซึ่งมีการขยายตัวของหลอดเลือดเกิดขึ้น

จากนั้น ภายหลังเกิดแผลใหม่วันที่ 7 ในการศึกษาพบว่ากลุ่มแผลใหม่ทั้งสองกลุ่มมีอัตราการไหลเวียนเลือดลดลง โดยแผลใหม่ที่ทำด้วยน้ำเกลืออัตราการไหลเวียนเลือดลดลงสู่ปกติ ในแผลใหม่ที่ทำด้วยบัวบกอัตราการไหลเวียนเลือดลดลงแต่มีอัตราสูงกว่าแผลใหม่ที่ทำด้วยน้ำเกลืออย่างมาก($p = 0.000$) และยังคงสูงกว่าในวันแรก(ก่อนทำให้เกิดแผลใหม่) โดยอัตราการไหลเวียนเลือดที่สูงไม่น่าจะเกิดจากการขยายตัวของหลอดเลือด แต่น่าจะเป็นผลมาจากฤทธิ์ในการกระตุ้นการเกิดใหม่ของหลอดเลือด

(angiogenesis) ซึ่งสนับสนุนโดยการศึกษาของ Kimura Y และคณะ เมื่อทา asiaticoside ที่มีความเข้มข้น 1 ng /wound area ที่แผลไหม้ สามารถเพิ่มระดับ vascular endothelial growth factor (VEGF) ในวันที่ 9 ได้⁽³⁴⁾ โดย VEGF เป็น growth factor ที่สำคัญในการเกิดใหม่ของหลอดเลือด(angiogenesis)

นอกจากนี้ ยังอธิบายได้จากผลของบัวบกช่วยฟื้นฟูการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียม ก็ทำให้อัตราการไหลเวียนเลือดในแผลเพิ่มขึ้นได้เช่นกัน ดังนั้นเมื่อมีการเพิ่มขึ้นของอัตราการไหลเวียนเลือดจึงส่งผลให้ การส่งผ่านออกซิเจนและสารอาหารที่จำเป็นต่อกระบวนการหายของแผลเป็นไปอย่างเพียงพอ จึงช่วยเร่งกระบวนการหายของแผลได้ จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าบัวบกสามารถเพิ่มอัตราการไหลเวียนเลือดในแผลไหม้ ทำให้ช่วยเร่งกระบวนการหายของแผลไหม้ได้

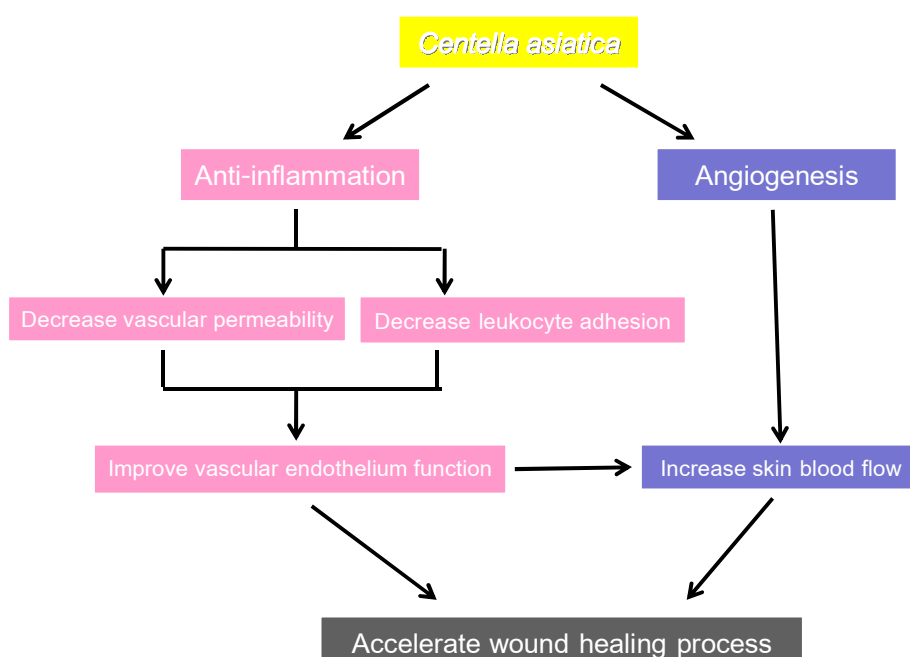
ผลของบัวบกต่อการหายของแผลไหม้

ในการศึกษาครั้งนี้ ภายหลังจากเกิดแผลไหม้วันที่ 3, 5 และ 7 กลุ่มแผลไหม้ที่รักษาด้วยครีมบัวบก พบร้อยละการหายของแผลมากกว่ากลุ่มแผลไหม้ที่รักษาด้วยน้ำเกลือ และเมื่อศึกษาลักษณะทั่วไปของแผลไหม้ กลุ่มแผลไหม้ที่รักษาด้วยครีมบัวบก มีการหดตัวของขอบแผลมากกว่ากลุ่มแผลไหม้ที่รักษาด้วยน้ำเกลือ ทำให้ขนาดบาดแผลเล็กกว่าซึ่งสนับสนุนโดยการศึกษาของ Sunilkumar และคณะ พบว่า เมื่อทา สารสกัดบัวบก 5% aqueous extract of *Centella asiatica* ในรูปแบบครีม ชีวชีงและเจลที่แผลของหนูขาว มีฤทธิ์เพิ่มการเจริญเติบโตของเยื่อบุผิว(epithelialization) เพิ่มอัตราของการหดตัวของแผลได้⁽²⁹⁾ และการศึกษาของ Shukla A และคณะ เมื่อทา สาร asiaticoside ความเข้มข้น 0.2% และ 0.4% ที่แผล punch ในหนูตะเภาปกติและหนูขาวที่เป็นเบาหวานตามลำดับ มีผลเพิ่มความแข็งแรงของเนื้อเยื่อ (tensile strength) และเพิ่มการเจริญเติบโตของเยื่อบุผิว(epithelialization) ได้⁽³²⁾ นอกจากนี้ การศึกษาของ Kimura Y และคณะ เมื่อทา asiaticoside ที่มีความเข้มข้น 10^{-8} , 10^{-10} และ 10^{-12} % ointment ในการรักษาบาดแผลไหม้ของหนูตะเภา ก็พบว่าทำให้บาดแผลมีขนาดเล็กลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติได้⁽³⁴⁾ สรุปได้ว่าฤทธิ์ของบัวบกสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเยื่อบุผิว(epithelialization) มีการเพิ่มอัตราของการหดตัวของแผล ทำให้แผลหดตัวปิดได้เร็วขึ้น จึงช่วยเร่งกระบวนการหายของแผลได้ และสามารถอธิบายได้จากผล

ของบัวบกช่วยฟื้นฟูการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมและช่วยเพิ่มอัตราการไหลเวียนเลือดในแผลทำให้แผลหายได้เร็วขึ้นอีกด้วย

สรุป

การศึกษาค้นคว้านี้แสดงให้เห็นประสิทธิภาพของบัวบกในการรักษาแผลไหม้ระดับสองด้วยการทำโดยมีฤทธิ์ anti-inflammation และฤทธิ์ในการกระตุ้นการเกิดใหม่ของหลอดเลือด(angiotogenesis) ทำให้ช่วยฟื้นฟูการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมและช่วยเพิ่มอัตราการไหลเวียนเลือด ทำให้เร่งกระบวนการหายของแผลไหม้ได้ โดยสรุปได้จาก จำนวนเม็ดเลือดขาวที่เกาะติดบนเซลล์เอนโดทีเลียมและ vascular permeability ที่ลดลง อัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนังเพิ่มขึ้น ขนาดของแผลเล็กลง มีระยะเวลาการปิดของแผลที่เร็วขึ้น ดังนั้นงานวิจัยนี้เป็นการสนับสนุนการใช้สมุนไพรตามรูปแบบของภูมิปัญญาไทยในการรักษาแผลไหม้ ซึ่งพบว่าในการรักษา ผู้ป่วยจำนวนมากต้องใช้ระยะเวลานานและเกิดภาวะแทรกซ้อนได้บ่อย ผลที่ได้จากการศึกษาค้นคว้านี้ จึงน่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งทางการแพทย์ในการรักษาแผลไหม้ต่อไป



บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

1. DeSanti L. Pathophysiology and current management of burn injury. Adv Skin Wound Care 2005 Jul-Aug;18(6):323-32; quiz 32-4.
2. Deodhar AK, Rana RE. Surgical physiology of wound healing: a review. J Postgrad Med1997 Apr-Jun;43(2):52-6.
3. MacKay D, Miller AL. Nutritional support for wound healing. Altern Med Rev2003 Nov;8(4):359-77.
4. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. บัญชียาจากสมุนไพร พ.ศ.2549. 2549, 4 กันยายน [29 ตุลาคม 2552]; Available from: <http://www.thaifda.com/ed2547/?pg=herbal>.
5. Sheridan RL. Thermal injuries. In: Wolff K. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. 7th ed. McGraw-Hill;2008. p. 852-858.
6. Lee RC, Astumian RD. The physicochemical basis for thermal and non-thermal 'burn' injuries. Burns1996 Nov;22(7):509-19.
7. Heimbach DM, Holmes JH. Burns. In: Brunicki FC. Schwartz's principles of surgery. 8th ed. McGraw-Hill;2007. p.124-139.
8. Hettiaratchy S, Dziewulski P. ABC of burns: pathophysiology and types of burns. BMJ2004 Jun 12;328(7453):1427-9.
9. Hettiaratchy S, Dziewulski P. ABC of burns. Introduction. BMJ2004 Jun 5;328(7452):1366-8.
10. Papini R. Management of burn injuries of various depths. BMJ2004 Jul 17;329(7458):158-60.
11. Hettiaratchy S, Papini R. Initial management of a major burn: II--assessment and resuscitation. BMJ2004 Jul 10;329(7457):101-3.
12. Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. Clin Dermatol2007 Jan-Feb;25(1):9-18.

13. Teller P Fau - White TK, White TK. The physiology of wound healing: injury through maturation. (1558-3171 (Electronic)).
14. Ahuja V, Efron DE. Wound healing. In: Brunicardi FC. Schwartz's principles of surgery. 8th ed. McGraw-Hill;2007. p. 139-152.
15. Falanga V, Iwamoto S. Wound Repair: Mechanisms and Practical Considerations. In: Wolff K. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. 7th ed. McGraw-Hill;2008. p. 2342-2349.
16. Kumar V, Fausto N. Acute and chronic inflammation. In: Kumar V, editor. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 8th ed: Saunders-Elsevier; 2008. p. 43-77.
17. Wilson LM. response of the body to injury: inflammation and repair. In: Price SA, Wilson LM, editors. Pathophysiology clinical concepts of disease processes. 6th ed: Mosby; 2003. p. 44-62.
18. Rote NS, Huether SE. Inflammation. In: Huether SE, editor. Understanding Pathophysiology. 3th ed: Mosby; 2004. p. 153-80.
19. Centella asiatica. Altern Med Rev2007 Mar;12(1):69-72.
20. Biswas TK, Mukherjee B. Plant medicines of Indian origin for wound healing activity: a review. Int J Low Extrem Wounds2003 Mar;2(1):25-39.
21. วันดี กฤษณพันธ์, เอมอร ไสมนะพันธุ์. บัวบก. ใน: วันดี กฤษณพันธ์, เอมอร ไสมนะพันธุ์, บรรณานิกการ. สมุนไพรในสวนครัว. กรุงเทพฯ: เมดิคัล มีเดีย; 2541. หน้า 135-137.
22. สำนักงานข้อมูลสมุนไพร. บัวบก. 2552 [21 ตุลาคม 2552]; Available from: <http://www.medplant.mahidol.ac.th/pubhealth/centella.html>.
23. Newall CA, Anderson LA, Phillipson D. Hydrocotyle. In: Newall CA. Herbal medicines a guide for health care professionals. The pharmaceutical press;1996. p.170-172
24. Brinkhaus B, Lindner M, Schuppan D, Hahn EG. Chemical, pharmacological and clinical profile of the East Asian medical plant Centella asiatica. Phytomedicine2000 Oct;7(5):427-48.

25. Suguna L, Sivakumar P, Chandrakasan G. Effects of *Centella asiatica* extract on dermal wound healing in rats. *Indian J Exp Biol* 1996 Dec;34(12):1208-11.
26. Maquart FX, Chastang F, Simeon A, Birembaut P, Gillery P, Wegrowski Y. Triterpenes from *Centella asiatica* stimulate extracellular matrix accumulation in rat experimental wounds. *Eur J Dermatol* 1999 Jun;9(4):289-96.
27. Coldren CD, Hashim P, Ali JM, Oh SK, Sinskey AJ, Rha C. Gene expression changes in the human fibroblast induced by *Centella asiatica* triterpenoids. *Planta Med* 2003 Aug;69(8):725-32.
28. Shetty BS, Udupa SL, Udupa AL, Somayaji SN. Effect of *Centella asiatica* L (Umbelliferae) on normal and dexamethasone-suppressed wound healing in Wistar Albino rats. *Int J Low Extrem Wounds* 2006 Sep;5(3):137-43.
29. Sunilkumar, Parameshwaraiah S, Shivakumar HG. Evaluation of topical formulations of aqueous extract of *Centella asiatica* on open wounds in rats. *Indian J Exp Biol* 1998 Jun;36(6):569-72.
30. Hong SS, Kim JH, Li H, Shim CK. Advanced formulation and pharmacological activity of hydrogel of the titrated extract of *C. asiatica*. *Arch Pharm Res* 2005 Apr;28(4):502-8.
31. Prasertvithyakarn S, Chaichantipyuth C, Uruwannakul B. *Centella asiatica* oral mucoadhesive gel. *Thai J Pharm Sci* 1998;22(3):S16.
32. Shukla A, Rasik AM, Jain GK, Shankar R, Kulshrestha DK, Dhawan BN. In vitro and in vivo wound healing activity of asiaticoside isolated from *Centella asiatica*. *J Ethnopharmacol* 1999 Apr;65(1):1-11.
33. Lee J, Jung E, Park B, Jung K, Park J, Kim K, et al. Evaluation of the anti-inflammatory and atopic dermatitis-mitigating effects of BSASM, a multicomponent preparation. *J Ethnopharmacol* 2005 Jan 4;96(1-2):211-9.

34. Kimura Y, Sumiyoshi M, Samukawa K, Satake N, Sakanaka M. Facilitating action of asiaticoside at low doses on burn wound repair and its mechanism. *Eur J Pharmacol* 2008 Apr 28;584(2-3):415-23.
35. Cheng CL, Koo MW. Effects of *Centella asiatica* on ethanol induced gastric mucosal lesions in rats. *Life Sci* 2000 Oct 13;67(21):2647-53.
36. Cheng CL, Guo JS, Luk J, Koo MW. The healing effects of *Centella* extract and asiaticoside on acetic acid induced gastric ulcers in rats. *Life Sci* 2004 Mar 19;74(18):2237-49.
37. Sairam K, Rao CV, Goel RK. Effect of *Centella asiatica* Linn on physical and chemical factors induced gastric ulceration and secretion in rats. *Indian J Exp Biol* 2001 Feb;39(2):137-42.
38. วีระสิงห์ เมืองมั่น. รายงานผลการวิจัยเรื่องการใช้ครีมบัวบก รักษาแผลอักเสบ. การประชุมโครงการการวิจัยเกี่ยวกับการพัฒนาตำรับยาสมุนไพรที่ใช้ในโรงพยาบาล, กรุงเทพฯ, 30 พฤษภาคม 2526.
39. วีระสิงห์ เมืองมั่น. การใช้ครีมบัวบกรักษาแผลอักเสบโดยการทาภายนอก. หนังสือรวบรวมผลงานการวิจัยโครงการพัฒนาการใช้สมุนไพรและยาไทยทางคลินิก (2525-2536)
40. ศิริรัตน์ โกศลยวัฒน์ จันทรา ชัยพานิช เกษียร ภัคนนท์. การใช้ครีมบัวบก % รักษาแผลเรื้อรัง. *สารศิริราช* 2531;40(6):455-61.
41. Morisset R, Cote NG, Panisset JC, et al. Evaluation of the healing activity of hydrocotyle tincture in the treatment of wounds. *Phytother Res* 1987;1(3):117-21.
42. Reddy JS, Rao PR, Reddy MS. Wound healing effects of *Heliotropium indicum*, *Plumbago zeylanicum* and *Acalypha indica* in rats. *J Ethnopharmacol* 2002 Feb;79(2):249-51.
43. Charles river. (2009). research animal models. Retrieve Nov 1, 2009, from <http://www.criver.com/en-US/ProdServ/ByType/ResModOver/ResMod/Pages/WistarFurth.aspx>

44. Gottrup F, Agren MS, Karlsmark T. Models for use in wound healing research: a survey focusing on in vitro and in vivo adult soft tissue. *Wound Repair Regen*2000 Mar-Apr;8(2):83-96.
45. Dorsett-Martin WA. Rat models of skin wound healing: a review. *Wound Repair Regen*2004 Nov-Dec;12(6):591-9.
46. Greenhalgh DG. Models of wound healing. *J Burn Care Rehabil*2005 Jul-Aug;26(4):293-305.
47. Goertz O, Vogelpohl J, Jettkant B, Daigeler A, Steinau HU, Steinstraesser L, et al. Burn model for in vivo investigations of microcirculatory changes. *Eplasty*2009;9:e13.
48. Rendell MS, Johnson ML, Smith D, Finney D, Capp C, Lammers R, et al. Skin blood flow response in the rat model of wound healing: expression of vasoactive factors. *J Surg Res*2002 Sep;107(1):18-26.
49. Menger MD, Lehr HA. Scope and perspectives of intravital microscopy--bridge over from in vitro to in vivo. *Immunol Today*1993 Nov;14(11):519-22.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

การหายของแผลในหนูขาว (Wound healing in rat models)

การศึกษากระบวนการหายของแผลเนื่องจากมีปัจจัยภายนอกหลายอย่างมีผลกระทบต่อกระบวนการหายของแผลและการควบคุมปัจจัยเหล่านั้นเป็นไปได้ยาก ประกอบกับการศึกษาในมนุษย์มีข้อจำกัดด้านจริยธรรม จึงมีการศึกษาในสัตว์ทดลองแทน⁽⁴⁴⁾ ข้อดีของการใช้สัตว์ทดลองคือระยะเวลาในการหายของแผลเร็วกว่ามนุษย์ และสามารถตัดและนำชิ้นเนื้อไปศึกษาต่อไปได้ การใช้หนูขาวเป็นแบบจำลองมีการนำไปใช้อย่างแพร่หลายเนื่องจาก หาได้ง่าย ราคาไม่แพง และมีขนาดเล็ก⁽⁴⁵⁾ อย่างไรก็ตามผิวหนังของหนูขาวมีข้อแตกต่างจากผิวหนังของมนุษย์ สรุปได้ดังตาราง 8

ในหนูขาวมีกล้ามเนื้อ panniculus carnosus ซึ่งมีหน้าที่เกี่ยวกับกระบวนการหายของแผลทั้งด้านการหดตัวของแผลและการสร้าง collagen และมีเอนไซม์ L-gluconolactone ซึ่งจะเปลี่ยน L-gluconogammalactone ไปเป็นวิตามินซีที่มีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์ collagen แต่ในมนุษย์ไม่มีกล้ามเนื้อชนิดนี้และเอนไซม์ชนิดนี้⁽⁴⁵⁾

ขนาดของบาดแผลก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ต้องคำนึงถึง ปีค.ศ.2005 Greenhalgh พบว่า การศึกษาเรื่องกระบวนการหายของแผล ขนาดบาดแผลไม่ควรเกิน 18 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผิวทั้งหมด ซึ่งจะทำให้ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านระบบต่างๆจากแผลใหม่⁽⁴⁶⁾

จากการศึกษาทางด้านการไหลเวียนของหลอดเลือดที่ผิวหนังพบว่า หนูขาวเป็นแบบจำลองในการศึกษาได้เป็นอย่างดีโดยเฉพาะบริเวณหลังซึ่งเป็นบริเวณ nutritive microvascular perfusion ที่มีการตอบสนองโดยการขยายตัวของหลอดเลือดในแผล^(45, 47, 48)

สำหรับลักษณะของ epidermis, basement membrane และ dermis ในหนูขาว มีลักษณะเช่นเดียวกับในมนุษย์ ดังนั้นการศึกษากลไกการหายของแผลหรือการศึกษาฤทธิ์ของสารต่างๆต่อกระบวนการหายของแผลโดยใช้โมเดลแผลในหนูขาวสามารถนำมาประยุกต์เพื่อเป็นข้อมูลในการศึกษาในมนุษย์ได้

ตาราง 8 ข้อแตกต่างทางสรีรวิทยาระหว่างหนูขาวกับมนุษย์⁽⁴⁵⁾

คุณลักษณะ (characteristic)	หนูขาว (rat)	มนุษย์ (human)
Epidermis	yes	yes
Basement membrane	yes	yes
Dermis	yes	yes
Panniculus carnosus	yes	no
Hair growth	patches	mosaic
Apocrine glands	no	yes
Eccrine glands	no	yes
Vitamin C source	endogenous	exogenous
Thermoregulation	peripheral vascular circulation especially in the tail, respiratory system, physical movement	peripheral vascular circulation, respiratory system, physical movement

ภาคผนวก ข.

Intravital microscopy

Intravital microscopy หมายถึงการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ในขณะที่สัตว์ทดลองยังมีชีวิตอยู่ การศึกษาส่วนใหญ่เพื่อศึกษาการไหลเวียนเลือด การตอบสนองต่อสารต่างๆในหลอดเลือดขนาดเล็ก(microcirculation) ของอวัยวะต่างๆเช่น ผิวหนัง สมอง หัวใจ เป็นต้น⁽⁴⁹⁾

การนำ intravital microscopy มาใช้ในการศึกษา ทำให้เกิดความก้าวหน้าในการศึกษากลไกของโรคและภาวะต่างๆอย่างมาก ได้แก่ พยาธิวิทยาของโรคหลอดเลือด กระบวนการหายของบาดแผล การเจริญเติบโตและการสร้างหลอดเลือดใหม่ของโรคมะเร็งและโรคอื่นๆ การประยุกต์ใช้อุปกรณ์เหล่านี้ในการศึกษาหลอดเลือดระดับจุลภาคจึงช่วยให้การศึกษาทางพยาธิสรีรวิทยาของหลอดเลือดที่มีความเปลี่ยนแปลงในสิ่งมีชีวิตเป็นไปได้ง่าย⁽⁴⁹⁾

ประวัติย่อผู้วิจัย

ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ ชื่อสกุล	แพทย์หญิง ธารินี เจริญสันติธรรม
วันเดือนปีเกิด	20 พฤศจิกายน 2525
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	1006/80 ถนนเจริญนคร แขวงบางลำภูล่าง เขตคลองสาน กรุงเทพมหานคร 10600
สถานที่ทำงานในปัจจุบัน	ศูนย์ผิวหนัง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2538	ประถมศึกษา โรงเรียนเซนต์โยเซฟคอนเวนต์
พ.ศ. 2541	มัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนเซนต์โยเซฟคอนเวนต์
พ.ศ. 2544	มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนเซนต์โยเซฟคอนเวนต์
พ.ศ. 2550	แพทยศาสตร์บัณฑิต คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2553	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาตจวิทยา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ