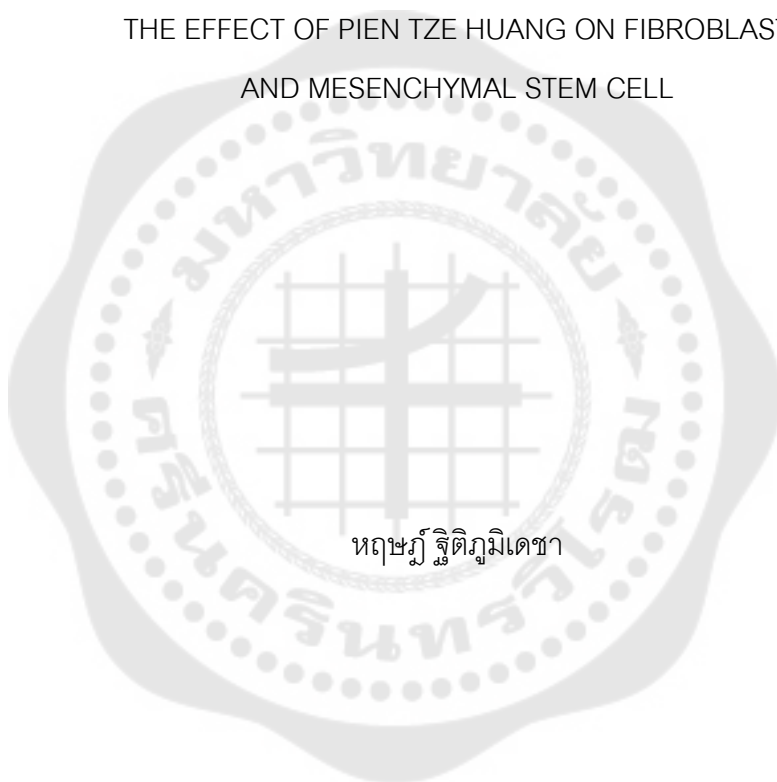




ผลของยาเพียนจื่อหวังต๋อเซลล์ไฟโบรเบลลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์

THE EFFECT OF PIEN TZE HUANG ON FIBROBLAST
AND MESENCHYMAL STEM CELL



หฤษฎีฉีตัญญูมิเตชา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2563

ผลของยาเพียโนลิจ์หวังต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล



ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาทันตกรรมคลินิก
คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ปีการศึกษา 2563
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

THE EFFECT OF PIEN TZE HUANG ON FIBROBLAST
AND MESENCHYMAL STEM CELL



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of MASTER OF SCIENCE
(Clinical Dentistry)

Faculty of Dentistry, Srinakharinwirot University

2020

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

ผลของยาเพียโนจิอหวังต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล

ของ

หฤษฎี จิตติภูมิเดชา

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาทันตกรรมคลินิก

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

ที่ปรึกษาหลัก

ประธาน

(อาจารย์ ดร.จารุมา ศักดิ์ดี)

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมลีนี พิมพ์ขาวขำ)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ชินาลย์ ปิยะชน)

ชื่อเรื่อง	ผลของยาเพนจือหวังต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล
ผู้วิจัย	หฤษฎ์ จิตภูมิเดชา
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2563
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร. จารุมา ศักดิ์ดี

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาผลของยาเพนจือหวังต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล วิธีการศึกษา : นำเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลมาเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดดีเอ็มอีเอ็ม จากนั้นนำเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลที่มีเซลล์เต็มพื้นที่มาทำการถ่ายเซลล์ลงถาดเลี้ยงเซลล์ขนาด 12 หลุม จำนวนชนิดเซลล์ละ 24 หลุม ใส่ยาเพนจือหวังที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร จำนวนชนิดเซลล์ละ 12 หลุม เซลล์ที่เหลือเป็นกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่ยาเพนจือหวัง เลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นวัดความมีชีวิตของเซลล์ด้วยการใส่สารละลายเอ็มทีที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของจำนวนเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลที่ได้รับและไม่ได้รับยาเพนจือหวัง ด้วยสถิติทีเทสต์ ที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$ ผลการศึกษา : เซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลที่ได้รับยาเพนจือหวังมีค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าเซลล์ที่ไม่ได้รับยาเพนจือหวัง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติสรุปผลการศึกษา : ยาเพนจือหวังความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตรมีผลช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล

คำสำคัญ : ยาเพนจือหวัง, เซลล์ไฟโบรบลาสต์, เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล

Title	THE EFFECT OF PIEN TZE HUANG ON FIBROBLAST AND MESENCHYMAL STEM CELL
Author	HARIT THITIPUMDACHA
Degree	MASTER OF SCIENCE
Academic Year	2020
Thesis Advisor	Jaruma Sakdee

The objective of this study is to determine the effects of Pien Tze Huang on fibroblast and mesenchymal stem cell differentiation. The methods used in this study were that fibroblast and mesenchymal stem cells were cultivated in the DMEM. The cells were seeded into a 12-well plate, and each group were seeded into 24 wells. They included 100 microgram/ml of Pien Tze Huang in a 12-well plate of experimental groups and without Pien Tze Huang in 12-well plate of control groups. After seven days of culture, cell proliferation was determined by MTT method with absorbance at 550nm. The statistical comparisons were performed using a t-test and with a statistical significance of $p < 0.05$. The results of this study revealed that the optical density of fibroblast cells and mesenchymal cell in Pien Tze Huang were significantly higher than those of cells without Pien Tze Huang. In conclusion, 100 microgram/ml of Pien Tze Huang can promote the proliferation of fibroblast and mesenchymal stem cells.

Keyword : Pien Tze Huang, Fibroblast, Mesenchymal stem cell

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ผู้สนับสนุนทุนงานวิจัย ขอขอบพระคุณอาจารย์ ทนตแพทย์หญิง ดร. จารุมา ศักดิ์ดี อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก สำหรับคำแนะนำ ข้อเสนอแนะ และแนวทางแก้ปัญหาอันเป็นประโยชน์ทำให้ปริญญานิพนธ์นี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณนายศิริพงศ์ ตั้งประเสริฐกิจ และนางสาวพัชรณัฐ ศรีพอ สำหรับคำแนะนำในการเลี้ยงเซลล์ และคำแนะนำในการใช้ห้องปฏิบัติการ

และท้ายสุดขอขอบพระคุณบิดา มารดา และเพื่อนทุกคน ที่คอยเป็นกำลังใจและให้คำแนะนำจนปริญญานิพนธ์นี้สำเร็จ

หฤษฎ์ ฐิติภูมิเดชา



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญรูปภาพ	ญ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง	1
คำถามงานวิจัย.....	2
ความมุ่งหมายของงานวิจัย.....	2
ความสำคัญของการวิจัย	2
ขอบเขตงานวิจัย	3
กรอบแนวคิดในการวิจัย	3
สมมติฐานงานวิจัย.....	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
การหายของแผล (Wound healing)	4
ความสำเร็จของการผ่าตัดปลายราก.....	8
ยาเพ็ญจือหวัง.....	8
การทดสอบการเพิ่มจำนวนของเซลล์ด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay)	11
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	13
การเพาะเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล	13

การเตรียมยาเพื่อยื่นข้อหวัง	13
การวัดการเพิ่มจำนวนของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล	13
การดูรูปร่างของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล	14
การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	14
บทที่ 4 ผลการดำเนินงานวิจัย	15
ผลของยาเพื่อยื่นข้อหวังต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ไฟโบรบลาสต์.....	15
ผลของยาเพื่อยื่นข้อหวังต่อลักษณะของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล	16
ผลของยาเพื่อยื่นข้อหวังต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล	16
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผลงานวิจัย และ ข้อเสนอแนะ	18
สรุปผลการวิจัย.....	18
อภิปรายผลงานวิจัย	18
ข้อเสนอแนะ	21
บรรณานุกรม	22
ประวัติผู้เขียน.....	26

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 สรุปการศึกษาเกี่ยวกับโสมซานซีและยาเพี้ยนจือหวัง	12
ตาราง 2 ผลการทดสอบจำนวนเซลล์ไฟโบร بلاสต์	15
ตาราง 3 ผลการทดสอบจำนวนเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล	17



สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพประกอบ 1 แผนภูมิเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงระหว่างเซลล์ไฟโบร بلاสต์ที่ไม่ได้รับยา เพนจือหวังและเซลล์ที่ได้รับยาเพนจือหวัง	15
ภาพประกอบ 2 ภาพเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลจากกล้องจุลทรรศน์.....	16
ภาพประกอบ 3 แผนภูมิเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงระหว่างเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลที่ไม่ได้ รับยาเพนจือหวังและเซลล์ที่ได้รับยาเพนจือหวัง	17



บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

การผ่าตัดปลายรากฟันเป็นการรักษาฟันที่ได้รับการรักษารากฟันแล้วเกิดการติดเชื้อซ้ำ มักทำในกรณีที่ไม่สามารถทำการรักษารากฟันซ้ำได้เช่น ฟันที่มีการทำครอบฟัน เดือยฟันและเสี่ยงต่อการรื้อเดือยหรือครอบฟันออก การผ่าตัดปลายรากฟันมีโอกาสสำเร็จสูงสุดถึงร้อยละ 93^[1] จึงถือว่าเป็นทางเลือกที่ดีในการรักษาฟันที่เคยรักษารากฟันและมีการติดเชื้อซ้ำ

กระบวนการหายของแผลภายหลังการผ่าตัดประกอบด้วย 4 ระยะคือ ระยะการห้ามเลือด ระยะการอักเสบ ระยะการเพิ่มจำนวนเซลล์ และระยะการจัดรูปแบบของเนื้อเยื่อใหม่^[2] ซึ่งขั้นตอนเหล่านี้จะถูกรับควบคุมโดยสารสื่อประสาท และโกรทแฟคเตอร์ (growth factors) หลายชนิด เช่น เพลทเลทไดรฟ์โกรทแฟคเตอร์ (platelet-derive growth factor , PDGF) ทรานส์ฟอร์มมิงโกรทแฟคเตอร์เบต้า (transforming growth factor beta, TGF-β) ไฟโบรบลาสต์โกรทแฟคเตอร์ (Fibroblast Growth Factor) เป็นต้น^[3]

เซลล์ไฟโบรบลาสต์ (fibroblast) มีบทบาทในการหายของแผลโดยเป็นเซลล์ที่กระตุ้นให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อแกรนูเลชัน รวมไปถึงสร้างองค์ประกอบของเนื้อเยื่อใหม่ นอกจากนี้การผ่าตัดปลายรากจะมีการสูญเสียของกระดูกซึ่งเซลล์สร้างกระดูกจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างมาจากเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล (mesenchymal stem cell) มีหน้าที่ สร้างเนื้อกระดูก (bone matrix) และทำให้เกิดการสะสมแร่ธาตุของเนื้อกระดูกทำให้กลายเป็นกระดูกที่สมบูรณ์^[4] เซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลจึงมีบทบาทสำคัญในการหายของแผลหลังจากผ่าตัดปลายราก

ยาเพียนจื่อหวังเป็นยาจีนแผนโบราณ มีส่วนประกอบเช่น โสมซานซี โคโรด ชะมดเขียง และตัง^[5] มีการศึกษาคุณสมบัติของโสมซานซีพบว่ามีความสมบัติในหลายด้านเช่น ป้องกันโรคสมองขาดเลือด ช่วยในการรักษาโรคหลอดเลือดและหัวใจ ช่วยในการแข็งตัวของเลือด ช่วยในการปกป้องตับและไต ทำหน้าที่เหมือนฮอร์โมนเอสโตรเจน เป็นต้น^[6] นอกจากนี้โสมซานซียังมีคุณสมบัติช่วยส่งเสริมการหายของแผล โดยมีการศึกษาพบว่าโสมซานซีช่วยทำให้เกิดการสร้างหลอดเลือดได้มากขึ้น^[7, 8] ช่วยให้เกิดการหายของเส้นเอ็นไขว้หน้าข้อเข่าโดยช่วยให้เซลล์ไฟโบรบลาสต์

เพิ่มจำนวนได้เร็วขึ้น^[9] ช่วยลดการอักเสบ^[10] และช่วยให้เกิดการสร้างกระดูกเร็วขึ้นผ่านการกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ต้นกำเนิดไปเป็นเซลล์สร้างกระดูก^[11, 12]

ยาเพนิจือหวังมีคุณสมบัติในการลดการอักเสบ ลดอาการบวม ช่วยในการหายของแผล มีการศึกษาผลการลดการอักเสบของยาเพนิจือหวัง โดยการนำยาเพนิจือหวังไปแยกส่วนประกอบด้วยวิธีลิควิดโครมาโทกราฟี พบว่าส่วนประกอบของยาเพนิจือหวังมีคุณสมบัติในการลดการอักเสบ^[5] และมีการศึกษาผลของยาเพนิจือหวังต่อการลดการอักเสบในหนูพบว่าเมื่อผลช่วยลดการอักเสบผ่านการลดการหลั่งสารสื่อประสาทอักเสบ^[13]

การศึกษานี้จึงต้องการหาผลของยาเพนิจือหวังต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีความสำคัญในกระบวนการหายของแผล โดยศึกษาผลของยาต่อการเพิ่มจำนวน และการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล โดยใช้ความเข้มข้นของยาเพนิจือหวัง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

คำถามงานวิจัย

ยาเพนิจือหวังความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลอย่างไร

ความมุ่งหมายของงานวิจัย

เพื่อศึกษาผลของยาเพนิจือหวังที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล

ความสำคัญของการวิจัย

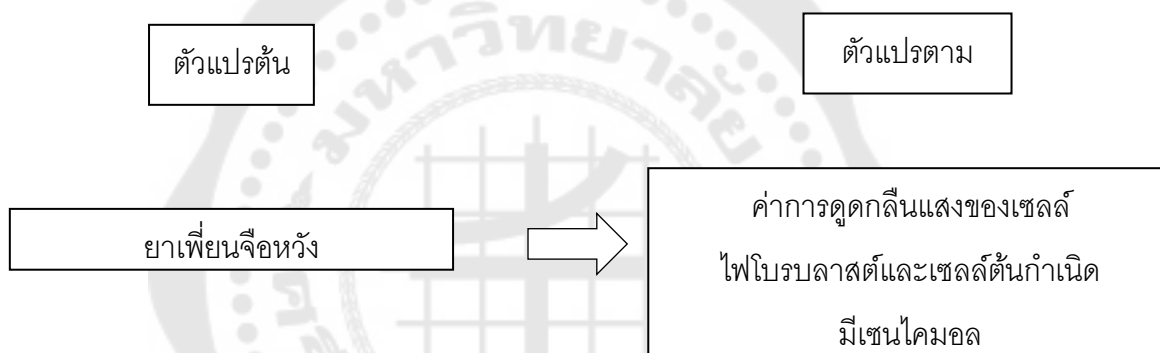
ยาเพนิจือหวังเป็นยาที่มีคุณสมบัติช่วยในการหายของแผล ลดการอักเสบ ลดอาการบวม มีการใช้ยาเพนิจือหวังในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดปลายรากเพื่อหวังผลในการลดการอักเสบ และช่วยให้แผลหายเร็วขึ้น เซลล์ไฟโบรบลาสต์เป็นเซลล์ที่มีบทบาทสำคัญในการสร้างเนื้อเยื่อในกระบวนการหายของแผล และเซลล์สร้างกระดูกที่มีบทบาทสำคัญในการซ่อมแซมกระดูกโดยมีการเปลี่ยนแปลงมาจากเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล ที่ผ่านมายังไม่มีการศึกษาผลของ

ยาเพื่อยับยั้งต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล การศึกษานี้จึงต้องการหาผลของยาเพื่อยับยั้งต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล

ขอบเขตงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาวิจัยพื้นฐาน (Basic research) โดยศึกษาผลของยาเพื่อยับยั้งที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล โดยเป็นการวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ

กรอบแนวคิดในการวิจัย



สมมติฐานงานวิจัย

เซลล์ไฟโบรบลาสต์

สมมติฐานหลัก : เซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ได้รับยาเพื่อยับยั้งความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีการเพิ่มจำนวนไม่แตกต่างกับเซลล์ไฟโบรบลาสต์ปกติ

สมมติฐานรอง : เซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ได้รับยาเพื่อยับยั้งความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีการเพิ่มจำนวนแตกต่างกับเซลล์ไฟโบรบลาสต์ปกติ

เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล

สมมติฐานหลัก : เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลที่ได้รับยาเพื่อยับยั้งความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีการเพิ่มจำนวนไม่แตกต่างกับเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลปกติ

สมมติฐานรอง : เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลที่ได้รับยาเพื่อยับยั้งความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีการเพิ่มจำนวนแตกต่างกับเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลปกติ

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การหายของแผล (Wound healing)

กระบวนการหายของแผลประกอบไปด้วย 4 ระยะได้แก่ 1.ระยะการห้ามเลือด (Hemostasis) 2.ระยะการอักเสบ (Inflammation) 3.ระยะการเพิ่มจำนวนเซลล์ (Proliferation) และ 4.ระยะการจัดรูปแบบของเนื้อเยื่อใหม่ (Tissue remodeling) ^[14]

1. ระยะการห้ามเลือด (Hemostasis)

เป็นระยะที่เกิดขึ้นทันทีที่เกิดบาดแผล เกิดเลือดเล็ดลอดจะมารวมตัวกันตรงบริเวณที่เกิดบาดแผลร่วมกับการหดตัวของหลอดเลือดเกิดเป็นลิ่มเลือด (fibrin clot) ลิ่มเลือดและเนื้อเยื่อที่ได้รับบาดเจ็บจะมีการหลั่งไซโตไคน์ (cytokine) และโกรทแฟคเตอร์ (growth factor) เพื่อเป็นสารส่งสัญญาณในกระบวนการหายของแผล ไซโตไคน์และโกรทแฟคเตอร์ที่สำคัญเช่น เพลทเลทไดรฟ์โกรทแฟคเตอร์ (platelet-derive growth factor , PDGF) และ ทรานฟอร์มมิงโกรทแฟคเตอร์เบต้า (transforming growth factor beta, TGF-β) ^[15] เมื่อกระบวนการห้ามเลือดหยุดการไหลของเลือดได้ เพลทเลทไดรฟ์โกรทแฟคเตอร์จะชักนำให้เกิดการรวมตัวของเซลล์นิวโทรฟิลล์ เซลล์แมคโครฟาจ และเซลล์ลิมโฟไซต์ ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีบทบาทสำคัญในการหายของแผลระยะต่อไป

2. ระยะการอักเสบ (Inflammation)

เป็นระยะที่เกิดขึ้นภายหลังจากเกิดบาดแผล 24 ชั่วโมง เซลล์นิวโทรฟิลล์เป็นเซลล์ที่มีบทบาทสำคัญในระยะนี้หน้าที่ของเซลล์นิวโทรฟิลล์ได้แก่ การกำจัดแบคทีเรีย วัตถุแปลกปลอม รวมถึงเซลล์ร่างกายที่ตายแล้ว โดยกระบวนการฟาโกไซโทซิส (phagocytosis) นิวโทรฟิลล์จะจับกินแบคทีเรียและสะสมรวมกันจนเกิดเป็นหนองบริเวณบาดแผล ^[16]

มาสต์เซลล์ (mast cell) เป็นเซลล์อีกชนิดที่มีบทบาทในระยะนี้ มาสต์เซลล์จะปล่อยกรานูล (granule) ที่บรรจุเอนไซม์ ฮิสตามีน และแอคทีฟเอมีน ^[17] ซึ่งสารเหล่านี้ทำให้เกิดการขยายตัวของหลอดเลือดและมีการแพร่ของสารน้ำจากหลอดเลือดเข้ามาเนื้อเยื่อมากขึ้นส่งผลให้เนื้อเยื่อเกิดอาการปวด บวม แดง ร้อน ซึ่งเป็นลักษณะที่สำคัญของกระบวนการอักเสบ

เซลล์แมคโครฟาจมีบทบาทหน้าที่ที่หลากหลายในกระบวนการอักเสบ ในช่วงแรกแมคโครฟาจจะหลั่งไซโตไคน์ที่กระตุ้นให้เกิดกระบวนการอักเสบ โดยชักนำเซลล์ต่างๆ เช่น เซลล์ลิมโฟไซต์ ให้เข้ามายังบริเวณที่เกิดบาดแผล และในช่วงท้ายของระยะการอักเสบแมคโครฟาจจะทำหน้าที่กำจัดแบคทีเรียที่ยังหลงเหลืออยู่ เศษของเซลล์แปลกปลอม นิวโทรฟิลที่กินแบคทีเรียเข้าไปแล้ว รวมถึงเซลล์ร่างกายที่ไม่สามารถทำหน้าที่ได้แล้ว เพื่อลดการเกิดการอักเสบเตรียมเนื้อเยื่อให้พร้อมสำหรับการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ นอกจากนี้แมคโครฟาจยังหลั่งเพปไทด์ดีไรฟิโกราฟแฟคเตอร์ และทรานฟอร์มมิงโกรทแฟคเตอร์เบต้า เพื่อชักนำให้เซลล์ไฟโบรบลาสต์ (fibroblast) เข้ามายังบริเวณที่เกิดบาดแผลเพื่อให้เกิดกระบวนการสร้างเนื้อเยื่อและหลอดเลือดใหม่^[18, 19]

3. ระยะการเพิ่มจำนวนเซลล์ (Proliferation)

เป็นระยะในการสร้างเนื้อเยื่อขึ้นมาใหม่โดยจะเกิดขึ้นคาบเกี่ยวกับระยะการอักเสบ ในระยะนี้เซลล์ไฟโบรบลาสต์จะมีบทบาทในการสร้างเนื้อเยื่อแกรนูเลชัน (granulation tissue) สร้างหลอดเลือดใหม่ รวมไปถึงการสร้างคอลลาเจน ไกลโคซามิโนไกลแคนส์ (glycosaminoglycans) และ โปรติโอไกลแคนส์ (proteoglycans) ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของเอกซ์ตราเซลล์ูลาร์เมทริกซ์ (extracellular matrix) โดยกระบวนการในการสร้างถูกควบคุมด้วยทรานฟอร์มมิงโกรทแฟคเตอร์เบต้า นอกจากนี้ยังเกิดกระบวนการสร้างเยื่อบุผิวใหม่ (re-epithelialization) โดยจะมีการสร้างเซลล์เยื่อบุผิวมากขึ้นและการเคลื่อนที่ของเซลล์เยื่อบุผิวบริเวณขอบของบาดแผลเข้ามาปกคลุมบริเวณปากแผล^[20]

4. ระยะการจัดรูปแบบของเนื้อเยื่อใหม่ (Tissue remodeling)

ภายหลังจากการสร้างเอกซ์ตราเซลล์ูลาร์เมทริกซ์จำนวนมาก จะเข้าสู่ระยะสุดท้ายซึ่งอาจใช้ระยะเวลาเป็นปี ในระยะนี้เส้นเลือดที่มีการสร้างมากขึ้นในระยะที่ผ่านมาจะมีการสลายไป ทำให้เนื้อเยื่อกลับเข้าสู่ลักษณะปกติ เอกซ์ตราเซลล์ูลาร์เมทริกซ์ที่สร้างขึ้นจะมีการจัดรูปแบบให้มีลักษณะเหมือนกับเนื้อเยื่อเดิม บาดแผลจะมีความแข็งแรงจากการเกิดการประสานกันของคอลลาเจน (collagen cross-linked) นอกจากนี้จะมีการดึงเข้าหากันของบาดแผลซึ่งเกิดจากการหดตัวของไมโอไฟโบรบลาสต์ (myofibroblasts)

กระบวนการหายของแผลคือกระบวนการซ่อมเนื้อเยื่อที่สูญเสียไปให้มีรูปร่างและสามารถทำงานได้เหมือนเดิม การหายของแผลที่ดีคือมีความพอดีของการสร้างเนื้อเยื่อขึ้นมาใหม่

กระบวนการหายของแผลที่เกิดขึ้นมากเกินไปส่งผลให้เกิดการสะสมที่มากเกินไปของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและการทำงานของเนื้อเยื่อ เกิดเป็นลักษณะพังผืดที่เรียกว่า ไฟโบรซิส (fibrosis) เกิดเป็นแผลเป็น (scar) ^[2] มีการศึกษาพบว่ากระบวนการหายของแผลที่มากเกินไปเกิดจากการทำงานของโกรทแฟคเตอร์ที่มากเกินไป เช่น ทรานส์ฟอร์มมิงโกรทแฟคเตอร์เบต้า เพปไทด์ที่รีพรีเกรทแฟคเตอร์ อินซูลินไลค์โกรทแฟคเตอร์ (Insulin-like growth factor, IGF) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีสารสื่อประสาทที่ช่วยลดการเกิดแผลเป็นเช่น อินเตอร์ลิวคิน 10 (interleukin 10, IL-10) เป็นต้น ^[3]

ทรานส์ฟอร์มมิงโกรทแฟคเตอร์เบต้าเป็นสารที่มีความสำคัญสำหรับกระบวนการหายของแผล ในระยะแรกของการหายของแผลทรานส์ฟอร์มมิงโกรทแฟคเตอร์เบต้าทำให้เกิดการรวมตัวของนิวโทรฟิลล์ แมคโครฟาจ ไฟโบรบลาสต์ นอกจากนี้ยังมีผลช่วยในการสร้างหลอดเลือด ไฟโบรบลาสต์ และการสร้างเมทริกซ์ โดยทรานส์ฟอร์มมิงโกรทแฟคเตอร์เบต้าจะควบคุมอัตราในการหายของแผลและสภาพการหายของแผล ^[21] ในขณะเดียวกันหากมีการหลังทรานส์ฟอร์มมิงโกรทแฟคเตอร์เบต้ามากเกินไปจะส่งผลให้เกิดแผลเป็นได้ จากการศึกษาของ Shah และคณะ ^[22] ทำการทดลองให้แอนติบอดีต่อทรานส์ฟอร์มมิงโกรทแฟคเตอร์เบต้า 1 แก่หนูเพื่อยับยั้งการทำงานของทรานส์ฟอร์มมิงโกรทแฟคเตอร์เบต้า 1 พบว่าหนูที่ได้รับแอนติบอดีเกิดแผลเป็นมากกว่าหนูในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับแอนติบอดี และจากการศึกษาเดียวกัน Shah และคณะ ^[22] ได้ทำการฉีดทรานส์ฟอร์มมิงโกรทแฟคเตอร์เบต้า 1 ให้แก่หนูพบว่าหนูที่ได้รับทรานส์ฟอร์มมิงโกรทแฟคเตอร์เบต้า 1 มีการสร้างเอกซตราเซลล์ลูลาร์เมทริกซ์ที่เพิ่มขึ้น แต่มีลักษณะของแผลเป็นเหมือนกับหนูในกลุ่มควบคุม

การหายของแผลเป็นกระบวนการที่ถูกควบคุมโดยเซลล์หลายชนิดและมีปัจจัยต่าง ๆ มาเกี่ยวข้อง ปัจจัยเฉพาะที่ (local factors) ที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผลเช่น ปริมาณออกซิเจน การติดเชื้อ การมีวัตถุแปลกปลอม (foreign bodies) เป็นต้น ^[21]

ออกซิเจนเป็นส่วนประกอบสำคัญในการใช้พลังงานของเซลล์ จึงถือว่ามีความสำคัญมากในกระบวนการหายของแผลเนื่องจากในขั้นตอนการหายของแผลจำเป็นต้องใช้พลังงาน เช่น การสร้างหลอดเลือด การเกิดการสร้างใหม่ของเนื้อเยื่อผิว การกระตุ้นให้เกิดการสร้างเซลล์ไฟโบรบลาสต์ การสังเคราะห์คอลลาเจน เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีส่วนช่วยในการป้องกันการติดเชื้อ โดยซูเปอร์ออกไซด์ซึ่งใช้ในการกำจัดเชื้อโรคโดยเซลล์ลิวโคไซด์จะถูกควบคุมการหลังโดยขึ้นอยู่กับ

ปริมาณออกซิเจนภายในเซลล์ ในช่วงแรกของกระบวนการกายของแผลจะมีการใช้ออกซิเจนเป็นจำนวนมากทำให้เซลล์อยู่ในภาวะขาดออกซิเจน (hypoxia) ภาวะขาดออกซิเจนจะกระตุ้นให้เกิดการหลั่งไซโตไคน์และโกรทแฟคเตอร์ต่างๆเช่นเพปไทด์ไทโรซีน โกรทแฟคเตอร์ ทรานส์ฟอร์มมิง โกรทแฟคเตอร์บตั้ม ทูเมอร์เนคโครซิสแฟคเตอร์แอลฟา (tumor necrosis factor alpha, TNF- α) เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์ ทำให้เซลล์เกิดการรวมตัวกัน กระตุ้นให้เกิดกระบวนการสร้างหลอดเลือดใหม่ ซึ่งการเกิดภาวะขาดออกซิเจนจะเกิดขึ้นเพียงชั่วคราว แต่ถ้าหากภาวะขาดออกซิเจนไม่หายไปจะส่งผลให้การหายของแผลช้าลง และเกิดเป็นแผลเรื้อรัง (chronic wound) ^[23]

การติดเชื้อเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้กระบวนการหายของแผลเกิดความล่าช้า โดยปกติกระบวนการหายของแผลจะเกิดกระบวนการอักเสบเพื่อกำจัดเชื้อโรค แต่อย่างไรก็ตามหากยังคงมีเชื้อโรคหลงเหลืออยู่กระบวนการอักเสบก็还会เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง เชื้อโรคและสารพิษที่มาจากเชื้อโรคจะกระตุ้นให้มีการเพิ่มขึ้นของไซโตไคน์เช่น อินเตอร์ลิวคิน-1 ทูเมอร์เนคโครซิสแฟคเตอร์แอลฟา ส่งผลให้ระยะเวลาของกระบวนการอักเสบเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้มีการหลั่งโปรตีนเมทริกซ์เมทัลโลโปรทีเอส (matrix metalloproteinase, MMP) ซึ่งมีหน้าที่ย่อยสลายเอกซ์ตราเซลล์ลูลาร์เมทริกซ์ การอักเสบที่คงอยู่ยาวนานจะทำให้เกิดเป็นแผลเรื้อรัง กระบวนการหายของแผลจะเกิดขึ้นไม่สมบูรณ์

เซลล์สร้างกระดูก (osteoblast) มีบทบาทสำคัญในการสร้างกระดูกโดยเซลล์สร้างกระดูกจะทำหน้าที่ผลิตเนื้อกระดูก (bone matrix) ซึ่งมีส่วนประกอบหลักเป็นคอลลาเจน โดยการทำงานของเซลล์สร้างกระดูกจะทำงานรวมกันเป็นกลุ่มก้อนโดยจะเรียงตัวเป็นแถวที่ผิวหน้าของกระดูกตรงบริเวณเนื้อกระดูกที่เซลล์สร้างขึ้น เซลล์สร้างกระดูกมีต้นกำเนิดมาจากเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล (mesenchymal stem cells) ผ่านหลังจากการสร้างเนื้อกระดูก เซลล์สร้างกระดูกวัยละ 15 จะติดอยู่ในเนื้อกระดูกและเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปเป็นเซลล์กระดูก (osteocyte) ^[4]

การสร้างกระดูกประกอบด้วย 3 ขั้นตอนได้แก่ การสร้างเนื้อกระดูก การเจริญของเนื้อกระดูก และการสะสมแร่ธาตุ (mineralization) ในช่วงแรกของการสร้างกระดูกเซลล์สร้างกระดูกจะสร้างเนื้อกระดูกโดยการสร้างคอลลาเจนในขณะที่เดียวกันจะเกิดการสะสมแร่ธาตุในอัตราเร็วที่เท่ากับการอัตราการสร้างคอลลาเจน ในช่วงสุดท้ายของการสร้างกระดูกอัตราการสร้างคอลลาเจน

จะลดลงในขณะที่อัตราการสะสมแร่ธาตุจะเท่าเดิมเนื่องกระดูกจะค่อยๆเกิดการสะสมแร่ธาตุจนกลายเป็นกระดูกที่สมบูรณ์ทั้งหมด^[4]

ความสำเร็จของการผ่าตัดปลายราก

จากการปริทัศน์เป็นระบบ (systematic review) ของ Chercoles-Ruiz และคณะ^[1] ทำการรวบรวมการศึกษาเกี่ยวกับผลลัพธ์ของการผ่าตัดปลายรากจำนวน 16 การศึกษา โดยมีระยะเวลาการติดตามผลเท่ากับ 1-10 ปี มีการประเมินผลลัพธ์การรักษาทั้งทางคลินิกและทางภาพถ่ายรังสี จากการรวบรวมข้อมูลพบว่าอัตราความสำเร็จของการรักษาเท่ากับร้อยละ 59.1-93 จากการศึกษาพบว่าผู้ป่วยบางคนไม่มีอาการทางคลินิกในขณะที่ภาพรังสีแสดงการหายของรอยโรคที่ยังไม่หายสมบูรณ์ แสดงว่าผลการรักษาทางคลินิกและทางภาพรังสีไม่ได้เกิดขึ้นพร้อมกัน โดยการหายของรอยโรคปลายรากอย่างสมบูรณ์ที่สามารถสังเกตได้จากภาพรังสีจะต้องใช้ระยะเวลาที่ยาวนานกว่า ดังเช่นการศึกษาของ Marti-Bowen^[24] ที่ทำการศึกษาลักษณะของการผ่าตัดปลายรากในฟัน 71 ซี่ พบว่าเมื่อประเมินความสำเร็จทางคลินิกที่ระยะเวลา 6 และ 12 เดือน มีอัตราความสำเร็จร้อยละ 92 และ 95 ตามลำดับ ในขณะที่การประเมินความสำเร็จด้วยภาพรังสีที่ระยะเวลา 6 และ 12 เดือนมีอัตราความสำเร็จร้อยละ 58 และ 80 ตามลำดับ

ยาเพี้ยนจื่อหวัง

ยาเพี้ยนจื่อหวังเป็นยาจีนแผนโบราณที่ประกอบด้วยตัวยาลหลายชนิดเช่น โสมซานซี (Panax Notoginseng) โคโรค (Bovis Calculus) ชะมดเหียง (Moschus) และดิงู (Snake Gall)^[5] ยาเพี้ยนจื่อหวังมีสรรพคุณในการลดการอักเสบ ช่วยในการหายของแผล จึงได้มีการนำไปใช้ในการรักษาแผลบาดเจ็บ (traumatic injury) หรือใช้รักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบเช่น โรคตับอักเสบ (Hepatitis) นอกจากนี้ยาเพี้ยนจื่อหวังยังมีคุณสมบัติในการกำจัดเซลล์มะเร็งเช่น มะเร็งตับ มะเร็งลำไส้^[25, 26] เป็นต้น

โสมซานซีซึ่งเป็นส่วนประกอบหนึ่งของยาเพี้ยนจื่อหวังมีคุณสมบัติในการซ่อมแซมบาดแผล โดยการช่วยกระตุ้นการสร้างหลอดเลือด ทำให้หลอดเลือดที่ได้รับบาดเจ็บเกิดการซ่อมแซมตัวเอง จากการศึกษาของ Zheng และคณะ^[8] ทำการศึกษาลักษณะของสารสกัดจากโสมซานซีต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูกของหนู โดยนำเซลล์ต้นกำเนิดมาเลี้ยงและ

สัมผัสกับสารสกัดจากโสมซานซีที่ความเข้มข้น 0.1-30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า เซลล์ต้นกำเนิดมีอัตราการเพิ่มจำนวนเพิ่มขึ้นร้อยละ 70.8 เมื่อได้รับสารสกัดจากโสมซานซีที่ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อมา Zheng และคณะนำเซลล์ต้นกำเนิดมาเลี้ยงในสารละลายที่ทำให้เซลล์เปลี่ยนไปเป็นเซลล์เอนโดทีเลียล (Endothelial cell) เซลล์เอนโดทีเลียลที่ได้รับสารสกัดจากโสมซานซี มีการแสดงออกของยีนวาสคิวลาร์เอนโดทีเลียลโกรทแฟคเตอร์ (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) ซึ่งเป็นสารที่มีส่วนในการสร้างหลอดเลือดใหม่ มากกว่าเซลล์ในกลุ่มควบคุม นอกจากนี้เซลล์ที่ได้รับสารสกัดจากโสมซานซียังมีการสร้างหลอดเลือดฝอยที่มากกว่ากลุ่มควบคุม สอดคล้องกับการศึกษาของ Shen และคณะ^[7] ซึ่งพบว่า สารสกัดจากโสมซานซีทำให้เซลล์เอนโดทีเลียลหลั่งวาสคิวลาร์เอนโดทีเลียลโกรทแฟคเตอร์เพิ่มมากขึ้น โดยกระตุ้นผ่านการส่งสัญญาณทางพีไอทีเค/เอเคที (PI3K/AKT) และ อาร์เอเอฟ/เอ็มอีเค/อีอาร์เค (Raf/MEK/ERK)

โสมซานซียังมีคุณสมบัติในการกระตุ้นการเพิ่มขึ้นของเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์ไขกระดูก และช่วยในการเปลี่ยนสภาพของเซลล์ต้นกำเนิดไปเป็นเซลล์สร้างกระดูกส่งผลให้การสร้างกระดูกขึ้นใหม่เกิดได้เร็วขึ้น จากการศึกษาของ Li และคณะ^[11] ทำการศึกษาค้นคว้าของสารสกัดจากโสมซานซีต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์ไขกระดูกพบว่าสารสกัดจากโสมซานซีมีผลช่วยเพิ่มจำนวนของเซลล์ต้นกำเนิด โดยความเข้มข้นที่แตกต่างกันจะมีผลต่อการเพิ่มจำนวนที่ต่างกัน สารสกัดจากโสมซานซีที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรจะมีส่วนช่วยในการเพิ่มจำนวนของเซลล์มากที่สุด เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจากโสมซานซีเป็น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าเมื่อระยะเวลาผ่านไป 5 วัน เซลล์มีจำนวนลดลง แสดงว่าสารสกัดจากโสมซานซีที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีความเป็นพิษต่อเซลล์ นอกจากนี้การศึกษานี้ยังพบว่า สารสกัดจากโสมทำให้เซลล์ต้นกำเนิดเปลี่ยนไปเป็นเซลล์สร้างกระดูกในมากขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมโดยวัดจากการสร้างแร่ธาตุด้วยการย้อมสีอะลิซารินเรด (Alizarin red) การศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Wang และคณะ^[12] ซึ่งทำการทดสอบผลของสารสกัดจากโสมซานซีต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ต้นกำเนิดของกระดูกและกลไกการกระตุ้นของโสมซานซี Wang และคณะ^[12] ทำการทดลองโดยใช้ไวรัสที่จะทำให้เกิดการยับยั้งการแสดงออกของยีนที่สร้างทรานส์ฟอร์มมิงโกรทแฟคเตอร์เบต้า 1 (transforming growth factor beta 1, TGF-β1) พบว่าเมื่อ ยีนถูกยับยั้ง สารสกัดจากโสมซานซีจะไม่มีผลต่อการเพิ่มการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ต้นกำเนิดไป

เป็นเซลล์สร้างกระดูก จากการศึกษาครั้งนี้สรุปว่าโสมซานซึ่งช่วยเพิ่มการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ต้นกำเนิดโดยกระตุ้นการส่งสัญญาณผ่านทางทรานส์ฟอร์มมิงโกรทแฟคเตอร์เบต้า 1

นอกจากนี้โสมซานยังมีผลช่วยในการหายของเนื้อเยื่ออ่อนด้วย จากการศึกษาของ Yu และคณะ^[9] ได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดจากโสมซานต่อการหายของเส้นเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า (anterior cruciate ligament, ACL) โดยทำการทดสอบกับเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของเอ็นไขว้หน้าข้อเข่า จากการศึกษาพบว่าสารสกัดจากโสมซานช่วยลดการหลั่งสารสื่อประสาทการอักเสบเช่น ทูเมอร์เนคโครซิสแฟคเตอร์แอลฟา อินเตอร์ลิวคิน 6 (interleukin 6, IL-6) และ อินเตอร์ลิวคิน 1 เบต้า (interleukin 1 beta, IL-1 β) สารสกัดจากโสมซานยังช่วยเพิ่มการเพิ่มจำนวนของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ เพิ่มการสร้างคอลลาเจน และไฟโบรเนคติน (fibronectin) ผ่านการส่งสัญญาณกระตุ้นให้เกิดกระบวนการฟอสโฟรีเลชัน (phosphorylation) ของ พีไอทีเค เอเคที และ อีอาร์เค ซึ่งประสิทธิภาพในการช่วยให้แผลหายจะเพิ่มขึ้นตามจำนวนความเข้มข้นของสารสกัดจากโสมซานที่ สอดคล้องกับการศึกษาของ Wang และคณะ^[10] ได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดจากโสมซานต่อการหายของหนูที่เป็นโรคกล้ามเนื้ออักเสบ จากการศึกษาพบว่าสารสกัดจากโสมซานซึ่งช่วยให้การหายของเยื่อกล้ามเนื้อ และการหายของเส้นเลือดขนาดเล็ก (microvascular) เกิดการหายที่ดีกว่ากลุ่มควบคุม โดยความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 2 กรัมต่อกิโลกรัม จะให้ผลที่ดีกว่าความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อกิโลกรัม นอกจากนี้สารสกัดจากโสมซานยังช่วยลดการหลั่งสารสื่อประสาทการอักเสบได้แก่ ทูเมอร์เนคโครซิสแฟคเตอร์แอลฟา และอินเตอร์ลิวคิน 6 ซึ่งความเข้มข้นของสารสกัดจากโสมซานที่มากกว่าจะลดปริมาณของสารสื่อประสาทได้มากกว่าเช่นกัน

ยาเพียนจือหวังมีคุณสมบัติในการลดการอักเสบ จากการศึกษาของ Qiu และคณะ^[13] ได้ทำการศึกษาผลของยาเพียนจือหวังกับหนูที่เป็นโรคสมองและไขสันหลังอักเสบจากภูมิคุ้มกันของตัวเอง (autoimmune encephalomyelitis) ซึ่งเป็นโรคที่เกิดจากการอักเสบของเส้นประสาทในระบบประสาทส่วนกลาง โดยได้ให้ยาแก่หนู 3 ขนาดได้แก่ขนาดต่ำ (0.054 กรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน) ขนาดกลาง (0.162 กรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน) และขนาดสูง (0.486 กรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน) ภายหลังจากให้ยาแก่หนูทดลอง ทำการวัดการหลั่งสารสื่อประสาทการอักเสบพบว่า หนูที่ได้รับยาเพียนจือหวังมีการหลั่งอินเตอร์ลิวคิน 23 อินเตอร์ลิวคิน 17 ลดลงโดยหนูในกลุ่มที่ได้รับยาขนาดกลางและขนาดสูงจะมีการหลั่งของสารสื่อประสาทลดลงมากกว่าหนูที่ได้รับยาขนาดต่ำ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และจากการศึกษาของ Huang และคณะ^[5] นำยาเพียนจือหวังมาแยก

ส่วนประกอบด้วยวิธีลิดีคริดโครมาโทกราฟี สามารถแยกส่วนประกอบของยาได้ 39 องค์ประกอบ จากนั้นนำไปทดสอบคุณสมบัติในการลดการอักเสบพบว่า มี 27 องค์ประกอบมีผลช่วยลดการอักเสบโดยการลดการสร้างทูเมอร์เนคโครซิสแฟคเตอร์แอลฟา

การทดสอบการเพิ่มจำนวนของเซลล์ด้วยวิธีเอ็มทีที (MTT assay)

การทดสอบเอ็มทีทีเป็นการวัดความมีชีวิตของเซลล์ โดยเซลล์ที่มีชีวิตจะเปลี่ยนกลีโคเตตระโซเลียม เอ็มทีที (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) ให้เป็นฟอร์มazan (formazan) กลีโคเตตระโซเลียมจะถูกเปลี่ยนโดยไมโทคอนเดรียที่อยู่ในเซลล์ด้วยเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส (dehydrogenase) ภายหลังจากใส่เอ็มทีทีและรอให้เซลล์เปลี่ยนเป็นฟอร์มazan จะใส่สารที่ทำให้ฟอร์มazan ละลายออกมานอกเซลล์เช่น สารละลายดีเอ็มเอสโอ (dimethyl sulfoxide, DMSO) เพื่อให้ฟอร์มazan ละลายและแสดงสีม่วงออกมา ความเข้มของสีจะแปรผันตามจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต ทำให้สามารถทราบจำนวนเซลล์ได้โดยการนำไปวัดค่าการดูดกลืนของแสง ^[27, 28] ข้อดีของการทดสอบเอ็มทีทีคือสามารถทำได้รวดเร็ว เนื่องจากสารที่ใช้ทดสอบไม่มีปฏิกิริยากับอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลล์ทำให้ไม่จำเป็นที่จะต้องล้างสารอาหารที่เลี้ยงเซลล์ออกก่อน นอกจากนี้ยังสามารถอ่านผลคร่าวๆ ได้จากการสังเกตสีที่เปลี่ยนแปลงไป การทดสอบเอ็มทีทียังให้ผลการทดสอบที่แม่นยำจึงนิยมใช้ในการวัดการเพิ่มจำนวนของเซลล์ ความเป็นพิษของสารต่อเซลล์ และวัดกิจกรรมที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ ^[27]

ตาราง 1 สรุปการศึกษาเกี่ยวกับโสมซานซีและยาเพี้ยนจื่อหวัง

สารที่ศึกษา	กลุ่มตัวอย่าง	ผลการศึกษา	ผู้ทำการศึกษา
โสมซานซี	เซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูกหนู	เซลล์ต้นกำเนิดมีการเพิ่มจำนวน มีการแสดงออกของยีนवासकुลาร์ เอนโดทีเลียลโกรทแฟคเตอร์เพิ่มขึ้น	Zheng และคณะ ^[8]
	เซลล์เอนโดทีเลียล	หลังवासकुลาร์เอนโดทีเลียลโกรทแฟคเตอร์เพิ่มขึ้น	Shen และคณะ ^[7]
	เซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูก	เซลล์มีการเพิ่มจำนวนมากขึ้นและเปลี่ยนไปเป็นเซลล์สร้างกระดูกมากขึ้น	Li และคณะ ^[11]
	เซลล์ต้นกำเนิดของกระดูก	เซลล์ต้นกำเนิดเปลี่ยนไปเป็นเซลล์สร้างกระดูกมากขึ้น	Wang และคณะ ^[12]
	เซลล์ไฟโบรบลาสต์	มีการหลั่งสารสื่อประสาทอักเสบลดลง เซลล์ไฟโบรบลาสต์เพิ่มจำนวนมากขึ้น	Yu และคณะ ^[9]
ยาเพี้ยนจื่อหวัง	เยื่อบุลำไส้ของหนู	เยื่อบุลำไส้เกิดการหายเร็วขึ้น มีการหลั่งสารสื่อประสาทอักเสบลดลง	Wang และคณะ ^[10]
	หนู	หนูมีการหลั่งอินเตอริน 17 และอินเตอริน 23 ลดลง	Qiu และคณะ ^[13]
	แยกส่วนประกอบของยา	ส่วนประกอบของยา 27 องค์ประกอบ มีผลช่วยลดการสร้างทูเมอร์เนคโครซิสแฟคเตอร์แอลฟา	Huang และคณะ ^[5]

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การเพาะเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล

นำเซลล์ไลน์ของเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากเหงือกของหนูและเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลจากไขกระดูกมนุษย์มาเลี้ยงในขวดแก้วเลี้ยงเซลล์ขนาด 25 มิลลิลิตร (T-25) ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดดีเอ็มอีเอ็ม (Dulbecco's Modified Eagle Medium : DMEM) ที่มีส่วนผสมของซีรัมจากลูกวัวอ่อนร้อยละ 10 (10% fetal calf serum) ยาปฏิชีวนะ (100U/ml penicillin) ยาต้านเชื้อรา (100 mg/ml streptomycin) เลี้ยงเซลล์ในตู้บ่มที่มีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อทุก 3 วัน เลี้ยงเซลล์จนกระทั่งเซลล์เจริญเต็มพื้นที่ของขวดแก้วเลี้ยงเซลล์ (confluence) ประเมินว่าเซลล์เจริญเต็มพื้นที่ของขวดแก้วด้วยการส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แล้วพบว่าไม่มีพื้นที่เหลือว่างให้เซลล์เจริญเติบโต ซึ่งเซลล์ไฟโบรบลาสต์ใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงเซลล์ประมาณ 7 วันจึงจะเจริญเต็มพื้นที่ของขวดแก้ว และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงเซลล์ประมาณ 14 วันจึงจะเจริญเต็มพื้นที่ของขวดแก้ว

การเตรียมยาเพื่อยับยั้ง

นำยาเพื่อยับยั้งที่บดเป็นผงมาละลายในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer saline, PBS) ผสมยาเพื่อยับยั้งกับอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดดีเอ็มอีเอ็มจนได้ความเข้มข้นของยาเพื่อยับยั้ง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

การวัดการเพิ่มจำนวนของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล

นำขวดแก้วเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลที่มีเซลล์เจริญเต็มพื้นที่ (confluence) มาทำการถ่ายเซลล์ลงถาดเลี้ยงเซลล์ขนาด 12 หลุม (12-well plate) โดยใช้ทริปซิน-อีดีทีเอ (trypsin-EDTA) ถ่ายเซลล์ลงสู่ถาดเลี้ยงเซลล์ขนาด 12 หลุมจำนวนชนิดเซลล์ละ 12 หลุม เลี้ยงเซลล์ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดดีเอ็มอีเอ็มที่ผสมยาเพื่อยับยั้งที่ความเข้มข้น 100

ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวนชนิดเซลล์ละ 6 หลุม เซลล์ที่เหลือเป็นกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ไม่ใส่ยาเพียโนซิอิวัง

เลี้ยงเซลล์ในตู้บัพที่มีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 7 วัน โดยเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุก 3 วัน เมื่อครบ 7 วัน นำขวดแก้วเลี้ยงเซลล์ออกจากตู้บัพ ใส่สารละลายเอ็มทีที (MTT) และนำขวดแก้วเลี้ยงเซลล์ใส่ในตู้บัพ 4 ชั่วโมง จากนั้นใส่สารละลายดีเอ็มเอสโอ (dimethyl sulfoxide, DMSO) จากนั้นดูดสารละลายจากถาดเลี้ยงเซลล์ขนาด 12 หลุมใส่ในถาดเลี้ยงเซลล์ขนาด 96 หลุม (96-well plate) โดยสารละลายจากถาดเลี้ยงเซลล์ 12 หลุม 1 หลุมจะถูกดูดไปใส่ในถาดเลี้ยงเซลล์ 96 หลุมจำนวน 5 หลุม จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density, OD) ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

การเตรียมของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล

นำขวดแก้วเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลที่มีเซลล์เต็มพื้นที่มาทำการถ่ายเซลล์ลงขวดแก้วเลี้ยงเซลล์ใหม่ โดยใช้ทริปซิน-อีดีทีเอ (trypsin-EDTA) โดยแบ่งเซลล์เป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มที่มีการใส่ยาเพียโนซิอิวังและกลุ่มที่ไม่ใส่ยาเพียโนซิอิวัง เลี้ยงเซลล์ในตู้บัพที่มีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุก 3 วัน เลี้ยงเซลล์เป็นระยะเวลา 7 วัน โดยนำเซลล์มาเตรียมด้วยกล้องจุลทรรศน์ในวันที่ 7

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลที่ได้รับและไม่ได้รับยาเพียโนซิอิวัง ด้วยสถิติ T-test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ด้วยโปรแกรม SPSS

บทที่ 4

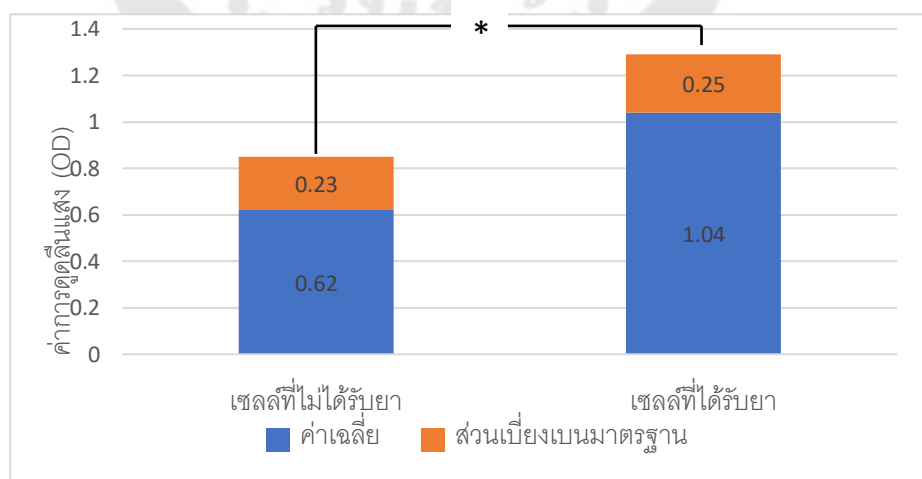
ผลการดำเนินงานวิจัย

ผลของยาเพนิจือหวังต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ไฟโบรบลาสต์

ภายหลังจากเลี้ยงเซลล์ไฟโบรบลาสต์โดยแบ่งเป็นกลุ่มที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์เพียงอย่างเดียวและกลุ่มที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มียาเพนิจือหวังความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 7 วัน นำไปวัดจำนวนเซลล์ด้วยสารละลายเอ็มทีที พบว่าเซลล์ที่เลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีการใส่ยาเพนิจือหวังมีค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 1.04 ซึ่งมากกว่าเซลล์ในกลุ่มที่มีอาหารเลี้ยงเซลล์เพียงอย่างเดียวที่มีค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.62 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$ (ตาราง 2 และ ภาพประกอบ 1) แสดงว่าเซลล์ที่ได้รับยาเพนิจือหวังมีการเพิ่มจำนวนมากกว่าเซลล์ที่ไม่ได้รับยา

ตาราง 2 ผลการทดสอบจำนวนเซลล์ไฟโบรบลาสต์

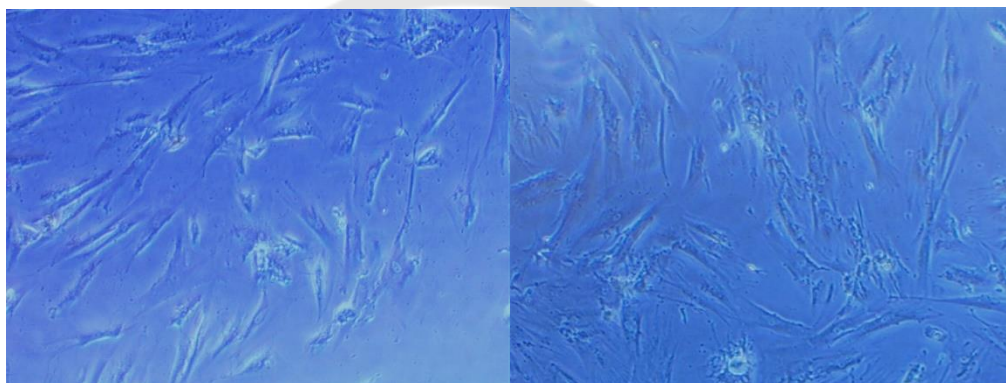
กลุ่มตัวอย่าง	ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (OD)	P-value
เซลล์ที่ไม่ได้รับยา	0.62 ± 0.23	
เซลล์ที่ได้รับยาเพนิจือหวัง	1.04 ± 0.25	0.00



ภาพประกอบ 1 แผนภูมิเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงระหว่างเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ไม่ได้รับยาเพนิจือหวังและเซลล์ที่ได้รับยาเพนิจือหวัง

ผลของยาเพนิจีอหวังต่อลักษณะของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล

ภายหลังจากเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลโดยแบ่งเป็นกลุ่มที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์เพียงอย่างเดียวและกลุ่มที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มียาเพนิจีอหวังความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 7 วัน นำไปส่องดูลักษณะของเซลล์ทั้ง 2 กลุ่มด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าเซลล์ที่มียาเพนิจีอหวังมีลักษณะของเซลล์เหมือนกับเซลล์ในกลุ่มที่ไม่ได้รับยาเพนิจีอหวังคือ มีลักษณะเป็นรูปกระสวยขนาดยาว (spindle-shaped) กระจายอยู่ในถาดเลี้ยงเซลล์ โดยเซลล์ที่ได้รับยาเพนิจีอหวังมีความหนาแน่นของเซลล์มากกว่า ขนาดของเซลล์ทั้งสองกลุ่มมีขนาดใกล้เคียงกัน (ภาพประกอบ 2)



ภาพประกอบ 2 ภาพเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลจากกล้องจุลทรรศน์

ซ้าย ภาพเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลที่ไม่ได้รับยาเพนิจีอหวัง

ขวา ภาพเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลที่ได้รับยาเพนิจีอหวัง

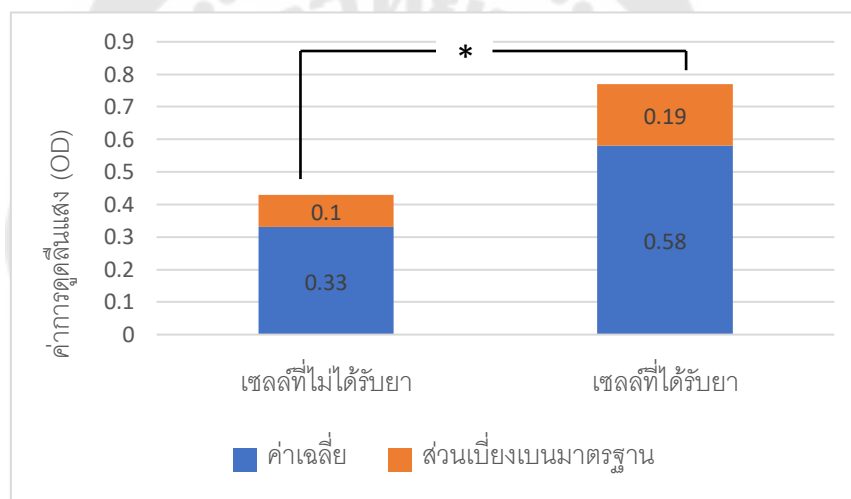
ผลของยาเพนิจีอหวังต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล

ภายหลังจากเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลโดยแบ่งเป็นกลุ่มที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์เพียงอย่างเดียวและกลุ่มที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มียาเพนิจีอหวังความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 7 วัน นำไปวัดจำนวนเซลล์ด้วยสารละลายเอ็มทีที พบว่าเซลล์ที่เลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีการใส่ยาเพนิจีอหวังมีค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.58 ซึ่งมากกว่าเซลล์ในกลุ่มที่มีอาหารเลี้ยงเซลล์เพียงอย่างเดียวที่มีค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.33 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$ (ตาราง 3 และ

ภาพประกอบ 3) แสดงว่าเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลที่ได้รับยาเพียโนจือหวังมีการเพิ่มจำนวนมากกว่าเซลล์ที่ไม่ได้รับยา

ตาราง 3 ผลการทดสอบจำนวนเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล

กลุ่มตัวอย่าง	ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (OD)	P-value
เซลล์ที่ไม่ได้รับยา	0.33 ± 0.10	0.00
เซลล์ที่ได้รับยาเพียโนจือหวัง	0.58 ± 0.19	



ภาพประกอบ 3 แผนภูมิเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงระหว่างเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลที่ไม่ได้รับยาเพียโนจือหวังและเซลล์ที่ได้รับยาเพียโนจือหวัง

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผลงานวิจัย และ ข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

ยาเพียโนจื่อหวังความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตรมีผลช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลได้มากกว่าเซลล์ที่ไม่ได้รับยาเพียโนจื่อหวังอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเปรียบเทียบจากการวัดค่าการดูดกลืนแสง

อภิปรายผลงานวิจัย

ยาเพียโนจื่อหวังเป็นยาจีนแผนโบราณที่มีส่วนประกอบที่สำคัญได้แก่ โสมซานซี โคโรคชะมดเชียง และดิงกู โดยมีสรรพคุณในการลดการอักเสบและช่วยในการหายของแผล^[5] โดยการศึกษาครั้งนี้วัดจำนวนของเซลล์ที่ได้รับยาเพียโนจื่อหวังด้วยการทดสอบเอ็มทีที โดยเซลล์ที่มีชีวิตจะเปลี่ยนสารเอ็มทีทีให้กลายเป็นสารฟอร์มาซาน ซึ่งเมื่อสกัดสารฟอร์มาซานออกมานอกเซลล์ด้วยสารละลายดีเอ็มเอสโอ สารฟอร์มาซานจะมีสีม่วงซึ่งเมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงจะทำให้สามารถเปรียบเทียบจำนวนของเซลล์ที่มีชีวิตได้ การทดสอบเอ็มทีทีถือว่าการทดสอบความมีชีวิตของเซลล์ที่มีชีวิตคือสามารถทำได้อย่างรวดเร็ว ได้ผลที่แม่นยำ ปลอดภัยจากการกัมมันตรังสี และสามารถใช้ทดสอบกับเซลล์ได้หลายชนิดเช่น ทีเซลล์ บีเซลล์ เซลล์มะเร็ง เป็นต้น^[27] การศึกษาค้นคว้าพบว่าเมื่อทดสอบเอ็มทีทีกับเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลที่ได้รับยาเพียโนจื่อหวังพบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่มากกว่าเซลล์ที่ไม่ได้รับยาเพียโนจื่อหวัง แสดงว่ายาเพียโนจื่อหวังส่งผลให้เซลล์มีการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Yu และคณะ^[9] ซึ่งทำการศึกษาคูณสมบัติของโสมซานซีต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์ พบว่าเซลล์ไฟโบรบลาสต์ที่ได้รับโสมซานซีมีการเจริญเติบโตที่มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญ และยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Li และคณะ^[11] ซึ่งทำการศึกษาคูณสมบัติของโสมซานซีต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูก พบว่าโสมซานซีที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของเซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูกได้อย่างมีนัยสำคัญ

การศึกษานี้เลือกใช้ความเข้มข้นของยาเพียโนจื่อหวัง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร เนื่องจากการศึกษาของ Li และคณะ^[11] พบว่าโสมซานซีที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร

เป็นความเข้มข้นที่สูงที่สุดที่ช่วยให้เซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูกมีการเจริญเติบโตมากขึ้น โดยเมื่อใช้โสมซานซีที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิตรพบว่าโสมซานซีจะยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูก เช่นเดียวกับการศึกษาของ Zheng และคณะ^[8] ที่ใช้โสมซานซีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตรในการทดสอบผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูกของหนู และพบว่าเมื่อ ใช้โสมซานซีที่ความเข้มข้น 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร จะส่งผลลดการเจริญเติบโตของเซลล์ต้นกำเนิด อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ให้ยาเพื่อยืนยันถึงความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตรซึ่งมีปริมาณของโสมซานซีไม่ถึง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตรในการศึกษาครั้งต่อไปจึงอาจทดลองเพิ่มความเข้มข้นของยาเพื่อยืนยันข้อเท็จจริงที่ใช้ในการทดสอบได้

เซลล์ไฟโบรบลาสต์เป็นเซลล์ที่มีบทบาทในกระบวนการหายของแผล 3 ขั้นตอนได้แก่ 1.ระยะการอักเสบ 2.ระยะการเพิ่มจำนวนเซลล์ และ 3.ระยะการจัดรูปแบบของเนื้อเยื่อใหม่ โดยไฟโบรบลาสต์จะเริ่มเข้ามาบริเวณแผลในช่วงท้ายของระยะการอักเสบ ไฟโบรบลาสต์จะเข้ามาสลายลิ่มเลือด (fibrin clot) โดยใช้เอนไซม์เมทริกซ์เมทัลโลโปรตีนเนส (matrix metalloproteinases) จากนั้นจะเกิดการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเอกซตราเซลล์ลูลาร์เมทริกซ์ (extracellular matrix, ECM) ขึ้นมาใหม่ ซึ่งเมทริกซ์นี้จะมีหน้าที่สนับสนุนและส่งสัญญาณให้เกิดการสร้างหลอดเลือดขึ้นใหม่ เกิดการสร้างเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน รวมถึงกระบวนการสร้างเนื้อเยื่อผิวหนังใหม่ และในขั้นตอนการหดตัวของบาดแผล ไฟโบรบลาสต์จะทำให้เกิดแรงหดตัวดึงขอบของบาดแผลเข้าหากัน โดยไฟโบรบลาสต์จะยึดติดกับเส้นใยคอลลาเจนและเซลล์ในเอกซตราเซลล์ลูลาร์เมทริกซ์ ทำให้เกิดแรงดึงเข้าหากัน เซลล์ไฟโบรบลาสต์จะเริ่มเปลี่ยนเป็นเซลล์ไมโอไฟโบรบลาสต์ซึ่งทำให้เกิดแรงดึงได้มากขึ้น จนทำให้บาดแผลสามารถปิดกันได้สนิท^[29-31]

เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล เป็นเซลล์ที่มีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ชนิดอื่นเช่น เซลล์เม็ดเลือด เซลล์ไขมัน เซลล์สร้างกระดูก เซลล์สร้างกระดูกอ่อน เซลล์กล้ามเนื้อ เซลล์ประสาท เป็นต้น^[32] ซึ่งเซลล์เหล่านี้ต่างมีบทบาทในการซ่อมแซมร่างกายขณะเกิดแผลเช่น การสร้างหลอดเลือดใหม่ การสร้างกระดูกทดแทนโดยเซลล์สร้างกระดูก เป็นต้น จากการศึกษาของ Wu และคณะ^[33] ได้ทำการกรีดแผลบนตัวหนู จากนั้นทำการฉีดเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลจากไขกระดูกให้กับหนู จากนั้นสังเกตการปิดของแผล พบว่าหนูที่ได้รับเซลล์ต้นกำเนิดมีการปิดของแผลที่รวดเร็วกว่า มีการจัดรูปแบบของเนื้อเยื่อใหม่ที่รวดเร็วกว่า และมีการสร้างหลอดเลือดใหม่ที่มากกว่าหนูที่ไม่ได้รับเซลล์ต้นกำเนิด นอกจากนี้ในขณะที่เกิดกระบวนการ

หายของแผล สภาวะที่เกิดขึ้นบริเวณแผลจะทำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลจากไขกระดูกมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้นและกระตุ้นให้เกิดการสร้างหลอดเลือดมากขึ้น^[34] ดังนั้นเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลจึงถือว่าเป็นบทบาทสำคัญต่อการหายของแผล ซึ่งจากการศึกษาของ Zheng และคณะ^[8] พบว่า โสมซานซีที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตรจะมีผลให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลจากไขกระดูกมีการเพิ่มจำนวนเพิ่มมากขึ้น และนอกจากนี้ยังช่วยกระตุ้นให้เกิดการสร้างหลอดเลือดเพิ่มมากขึ้น

การผ่าตัดปลายรากฟันเป็นกระบวนการรักษาที่มีการสูญเสียกระดูกร่วมด้วย การหายของแผลต้องมีการสร้างกระดูกทดแทนบริเวณที่สูญเสียกระดูกไป โดยการหายของแผลบริเวณปลายรากฟันจะเริ่มจากการมีเนื้อเยื่อกระดูกชั้นซึ่งสร้างมาจากเอ็นยึดปริทันต์และเอ็นโดสเทียม (endosteum) การสร้างกระดูกจะเริ่มจากกระดูกบริเวณข้างในและค่อยๆ ขยายไปสู่กระดูกทึบ (cortical plate) เซลล์สร้างกระดูกจึงมีบทบาทเป็นอย่างมากต่อการหายของแผล ซึ่งเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์สร้างกระดูกได้ นอกจากนี้เซลล์ต้นกำเนิดจากเอ็นยึดปริทันต์จะเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์เอ็นยึดปริทันต์และเซลล์สร้างเคลือบรากฟัน (cementoblast) เพื่อสร้างเอ็นยึดปริทันต์และเคลือบรากฟันขึ้นมาใหม่ จากการศึกษาของ Wang และคณะ^[12] พบว่า โสมซานซีมีคุณสมบัติกระตุ้นให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลของกระต่ายเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์สร้างกระดูกได้เพิ่มมากขึ้นผ่านการกระตุ้นการสร้าง ทรานส์ฟอร์มมิงโกรทแฟคเตอร์เบต้า 1 (transforming growth factor beta, TGF-β1) และจากการศึกษาของ Li และคณะ^[11] พบว่าโสมซานซีส่งเสริมให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลของหนูเปลี่ยนไปเป็นเซลล์สร้างกระดูกโดยวัดจากการสร้างเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส และการสร้างผลึกแข็งของเซลล์ ซึ่งแสดงว่าโสมซานซีมีโอกาที่จะช่วยให้เกิดการสร้างกระดูกบริเวณแผลผ่าตัดปลายรากฟันได้รวดเร็วยิ่งขึ้น

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้พบว่ายาเพียโนจิวหวังส่งผลเพิ่มการเจริญเติบโตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล ซึ่งเซลล์ทั้งสองชนิดต่างมีบทบาทในการหายของแผล ยาเพียโนจิวหวังจึงอาจมีคุณสมบัติช่วยในการหายของแผลสำหรับผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาผ่าตัดปลายรากฟัน อย่างไรก็ตามเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอลมีคุณสมบัติในการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ได้หลากหลายชนิด การศึกษานี้จึงยังไม่สามารถแสดงข้อสรุปได้ชัดเจนถึงประโยชน์ของการใช้ยาเพียโนจิวหวังในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาผ่าตัดปลายรากฟัน การศึกษาต่อไปอาจจะทำการศึกษาผล

ของยาเพียโนจิอหวัง ต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ต้นกำเนิดไปเป็นเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผลเช่น เซลล์สร้างกระดูก เป็นต้น เพื่อให้ได้ข้อสรุปที่ชัดเจนมากยิ่งขึ้นถึงผลของยาเพียโนจิอหวังต่อการหายของแผลที่เกิดจากการผ่าตัดปลายราก

ข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้ใช้ความเข้มข้นของยาเพียโนจิอหวัง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร ซึ่งอ้างอิงจากการศึกษาก่อนหน้านี้ที่ใช้ความเข้มข้นของโสมซานซีที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร อย่างไรก็ตามยาเพียโนจิอหวังประกอบด้วยส่วนประกอบหลายชนิด ดังนั้นยาเพียโนจิอหวังความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตรจึงมีความเข้มข้นของโสมซานซีไม่เท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร การศึกษาต่อไปจึงอาจทดสอบยาเพียโนจิอหวังที่ความเข้มข้นมากขึ้น

การศึกษานี้ทำการศึกษาเพียงผลของยาต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิด ซึ่งอาจไม่ได้ข้อสรุปแน่ชัดถึงผลของยาต่อการหายของแผลผ่าตัดปลายรากฟัน การศึกษาต่อไปอาจทำการศึกษาถึงผลของยาต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ต้นกำเนิดไปเป็นเซลล์สร้างกระดูกที่มีบทบาทในการหายของแผลที่ชัดเจนมากขึ้น

ยาเพียโนจิอหวังมีส่วนประกอบหลายชนิด ผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงว่ายาเพียโนจิอหวังช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล แต่ไม่ได้แสดงว่าเป็นผลมาจากองค์ประกอบใดของยาเพียโนจิอหวัง ในการศึกษาต่อไปจึงอาจจะทำการทดสอบเพื่อให้ได้ผลที่แน่ชัดมากยิ่งขึ้นว่าองค์ประกอบใดของยาเพียโนจิอหวังที่มีส่วนช่วยในการเจริญเติบโตของเซลล์ไฟโบรบลาสต์และเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคมอล

บรรณานุกรม

1. Chércoles-Ruiz A, Sanchez-Torres A, Gay-Escoda C. Endodontics, endodontic retreatment, and apical surgery versus tooth extraction and implant placement: a systematic review. *Journal of endodontics*. 2017;43(5):679-86.
2. Diegelmann RF, Evans MC. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Front Biosci*. 2004;9(1):283-9.
3. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiological reviews*. 2003;83(3):835-70.
4. Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006;1092(1):385-96.
5. Huang M, Xu W, Zhang Y, Liu J, Zhang X, Lin J, et al. Identification and quantification of the anti-inflammatory constituents in Pian-Tze-Huang by liquid chromatography combined with quadrupole time-of-flight and triple quadrupole mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*. 2016;1027:27-39.
6. Ng T. Pharmacological activity of sanchi ginseng (*Panax notoginseng*). *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2006;58(8):1007-19.
7. Shen K, Ji L, Gong C, Ma Y, Yang L, Fan Y, et al. Notoginsenoside Ft1 promotes angiogenesis via HIF-1 α mediated VEGF secretion and the regulation of PI3K/AKT and Raf/MEK/ERK signaling pathways. *Biochemical pharmacology*. 2012;84(6):784-92.
8. Zheng H, Liu C, Ou Y, Zhang Y, Fu X. Total saponins of *Panax notoginseng* enhance VEGF and relative receptors signals and promote angiogenesis derived from rat bone marrow mesenchymal stem cells. *J Ethnopharmacol*. 2013;147(3):595-602.
9. Yu L, Xie J, Xin N, Wang Z. *Panax notoginseng* saponins promote wound repair of anterior cruciate ligament through phosphorylation of PI3K, AKT and ERK. *International journal of clinical and experimental pathology*. 2015;8(1):441.
10. Wang S-Y, Tao P, Hu H-Y, Yuan J-Y, Zhao L, Sun B-Y, et al. Effects of initiating time and dosage of *Panax notoginseng* on mucosal microvascular injury in experimental colitis. *World journal of gastroenterology*. 2017;23(47):8308.

11. Li X-d, Wang J-s, Chang B, Chen B, Guo C, Hou G-q, et al. Panax notoginseng saponins promotes proliferation and osteogenic differentiation of rat bone marrow stromal cells. *Journal of ethnopharmacology*. 2011;134(2):268-74.
12. Wang Y, Huang X, Tang Y, Lin H, Zhou N. Effects of panax notoginseng saponins on the osteogenic differentiation of rabbit bone mesenchymal stem cells through TGF- β 1 signaling pathway. *BMC complementary and alternative medicine*. 2016;16(1):319.
13. Qiu X, Luo H, Liu X, Guo Q, Zheng K, Fan D, et al. Therapeutic Potential of Pien Tze Huang on Experimental Autoimmune Encephalomyelitis Rat. *Journal of immunology research*. 2018;2018.
14. Gosain A, DiPietro LA. Aging and wound healing. *World journal of surgery*. 2004;28(3):321-6.
15. Kim WJ-H, Gittes GK, Longaker MT. Signal transduction in wound pharmacology. *Archives of pharmacal research*. 1998;21(5):487-95.
16. Thurston AJ. Of blood, inflammation and gunshot wounds: the history of the control of sepsis. *Australian and New Zealand Journal of Surgery*. 2000;70(12):855-61.
17. Artuc M, Hermes B, Stckelings U, Grützkau A, Henz B. Mast cells and their mediators in cutaneous wound healing—active participants or innocent bystanders? *Experimental dermatology*. 1999;8(1):1-16.
18. Meszaros AJ, Reichner JS, Albina JE. Macrophage-induced neutrophil apoptosis. *The Journal of Immunology*. 2000;165(1):435-41.
19. Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nature reviews immunology*. 2008;8(12):958.
20. Stenn K. Epibolin: a protein of human plasma that supports epithelial cell movement. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1981;78(11):6907-11.
21. Guo Sa, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. *Journal of dental research*. 2010;89(3):219-29.
22. Shah M, Foreman DM, Ferguson M. Neutralising antibody to TGF-beta 1, 2 reduces cutaneous scarring in adult rodents. *Journal of cell science*. 1994;107(5):1137-57.
23. Rodriguez PG, Felix FN, Woodley DT, Shim EK. The role of oxygen in wound

healing: a review of the literature. *Dermatologic surgery*. 2008;34(9):1159-69.

24. Martí-Bowen E, Peñarrocha-Diago M, García-Mira B. Periapical surgery using the ultrasound technique and silver amalgam retrograde filling. A study of 71 teeth with 100 canals. *Medicina oral, patologia oral y cirugía bucal*. 2005;10:E67-73.
25. Qi F, Zhou S, Li L, Wei L, Shen A, Liu L, et al. Pien Tze Huang inhibits the growth of hepatocellular carcinoma cells by upregulating miR-16 expression. *Oncology letters*. 2017;14(6):8132-7.
26. Zhuang Q, Hong F, Shen A, Zheng L, Zeng J, Lin W, et al. Pien Tze Huang inhibits tumor cell proliferation and promotes apoptosis via suppressing the STAT3 pathway in a colorectal cancer mouse model. *International journal of oncology*. 2012;40(5):1569-74.
27. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*. 1983;65(1-2):55-63.
28. Gerlier D, Thomasset N. Use of MTT colorimetric assay to measure cell activation. *Journal of immunological methods*. 1986;94(1-2):57-63.
29. Bainbridge P. Wound healing and the role of fibroblasts. *Journal of wound care*. 2013;22(8).
30. desJardins-Park HE, Foster DS, Longaker MT. Fibroblasts and wound healing: an update. *Future Medicine*; 2018.
31. Zielins ER, Atashroo DA, Maan ZN, Duscher D, Walmsley GG, Hu M, et al. Wound healing: an update. *Regenerative medicine*. 2014;9(6):817-30.
32. Lau K, Paus R, Tiede S, Day P, Bayat A. Exploring the role of stem cells in cutaneous wound healing. *Experimental dermatology*. 2009;18(11):921-33.
33. Wu Y, Chen L, Scott PG, Tredget EE. Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis. *Stem cells*. 2007;25(10):2648-59.
34. Ko SH, Nauta A, Wong V, Glotzbach J, Gurtner GC, Longaker MT. The role of stem cells in cutaneous wound healing: what do we really know? *Plastic and reconstructive surgery*. 2011;127:10S-20S.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	หญิงรัฐติภูมิเดชา
วัน เดือน ปี เกิด	24 กันยายน 2533
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	ปริญญาตรีทันตแพทยศาสตรบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พ.ศ.2557
ที่อยู่ปัจจุบัน	5 ซ.อ่อนนุช 80 แยก 1 แขวง ประเวศ เขต ประเวศ กรุงเทพฯ 10250

