

ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ที่ให้ทางปากต่อแผลเปิดในหนูแรท
ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน

นางสาว ทอแสง วีระกุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเภสัชวิทยา (สหสาขาวิชา)
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2553
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF ORALLY GIVEN STANDARDIZED EXTRACT OF *CENTELLA ASIATICA*
ECa 233 ON EXCISION WOUND IN DIABETIC RATS

Miss Thorsang Weerakul

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Pharmacology
(Interdisciplinary Program)
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic Year 2010
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ที่ให้ทางปากต่อแผล
เปิดในหนูแรทที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน

โดย

นางสาวทอแสง วีระกุล

สาขาวิชา

เภสัชวิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

รองศาสตราจารย์ ดร.มยุรี ตันตีสิริระ

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

รองศาสตราจารย์ ดร.บุญยงค์ ตันตีสิริระ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยเป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร. พรพจน์ เปี่ยมสมบุญ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วชิรี ลิ้มปณสิทธิกุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร.มยุรี ตันตีสิริระ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร.บุญยงค์ ตันตีสิริระ)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรีย์ เจียรณ์มงคล)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ (พิเศษ) แพทย์หญิง สมบูรณ์ เกียรตินันท์)

ทอแสง วีระกุล : ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ที่ให้ทางปากต่อแผลเปิด ในหนู
 แรทที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน (EFFECTS OF ORALLY GIVEN STANDARDIZED
 EXTRACT OF *CENTELLA ASIATICA* ECa 233 ON EXCISION WOUND IN DIABETIC
 RATS) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รศ.ดร. มยุรี ตันตีสิริระ, อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม :
 รศ.ดร.บุญยงค์ ตันตีสิริระ, 72 หน้า.

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 (อีซีเอ 233) ที่ให้ทางปาก ต่อการหายของ
 แผลเปิดในหนูแรทที่เป็นเบาหวาน โดยใช้หนูแรทพันธุ์ Wistar เพศผู้ น้ำหนัก 250-300 กรัม เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานโดยใช้
 streptozotocin (STZ) ในขนาด 50 มก/กก น้ำหนักตัว ฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำที่หางหนูแรท ภายหลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ
 เบาหวานเป็นเวลา 7 วันแล้ว ฆ่าตัดสัตว์ทดลองเพื่อให้เกิดแผลเปิดบริเวณหลังขนาด 2.0x2.0 ซม แล้วให้อีซีเอ 233 ขนาด 5, 10,
 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว/วัน โคนละลายอีซีเอ 233 ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มล และให้หนูดื่มสารละลายดังกล่าวภายในเวลา
 8 ชม ประเมินผลของสารทดสอบในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 หลังการเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด จากลักษณะภายนอกของแผล อัตรา
 การหายของแผล วัดการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนัง ปริมาณ collagen และปริมาณ malondialdehyde (MDA) รวมทั้งวิเคราะห์พยาธิ
 จุลกายวิภาคศาสตร์ของแผล นอกจากนี้ยังวัดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของหนูเบาหวาน ในทุกวันที่ประเมินการหายของแผล

ผลการวิจัยพบว่า อีซีเอ 233 ในขนาดต่างๆ ที่ให้ทางปากนั้น ไม่มีผลเร่งการหดตัวของแผลเปิดในหนูแรทที่เป็นเบาหวาน
 อย่างชัดเจน โดยในวันที่ 21 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายในการประเมินการหายของแผล พบว่าบริเวณบาดแผลของทุกกลุ่มการทดลองจะ
 ปรากฏผิวหนังชั้นมาดแทนจนเกือบสมบูรณ์ คงเหลือเพียงรอยแผลสีเหลืองขนาดเล็กๆแต่เมื่อวิเคราะห์ถึงพยาธิจุลกายวิภาค
 ศาสตร์พบว่ากลุ่มที่ได้รับ อีซีเอ 233 ขนาดต่างๆ นั้น จะมีลักษณะโครงสร้างและองค์ประกอบของผิวหนังที่ถูกสร้างขึ้นมาทดแทน
 ดีกว่าในกลุ่มควบคุม โดยในชั้น dermis จะพบขุมขนและ collagenous fibers เป็นจำนวนมาก ซึ่ง อีซีเอ 233 ขนาด 30 มก/กก
 น้ำหนักตัว จะช่วยให้ผิวหนังที่ถูกสร้างขึ้นใหม่นั้นมีโครงสร้างที่ดีกว่าผิวหนังในกลุ่มควบคุมและกลุ่มเบาหวานที่ไม่ถูกทำให้เกิด แผล
 เมื่อศึกษาผลของ อีซีเอ 233 ต่อปัจจัยต่างๆ ที่มีผลช่วยในการหายของแผล เช่น การไหลเวียนเลือด ที่ผิวหนัง ปริมาณ collagen
 และปริมาณ MDA พบว่า อีซีเอ 233 สามารถลดปริมาณ MDA (วันที่ 3หลังจากผ่าตัดให้เกิดแผลเปิด) เพิ่มค่าเฉลี่ยร้อยละของ
 ปริมาณการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนังและเพิ่มปริมาณ collagen ที่บริเวณแผล (วันที่ 14 หลังจากผ่าตัดให้เกิดแผลเปิด) ได้แตกต่าง
 จากกลุ่มที่ไม่ได้รับอีซีเอ 233 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่า อีซีเอ 233 ขนาด 5, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว มี
 ฤทธิ์ช่วยชะลอการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของหนูเบาหวานได้อีกด้วย

โดยสรุปงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า อีซีเอ 233 ที่ให้ทางปากแก่หนูเบาหวานไม่ช่วยเร่งการหดตัวของแผลเปิด แต่ช่วยให้
 โครงสร้างของผิวหนังที่สร้างขึ้นใหม่นั้นมีความสมบูรณ์และมีความแข็งแรงมากขึ้น นอกจากนี้สารสกัดดังกล่าวยังมีผลชะลอการ
 เพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในกระแสเลือดในหนูเบาหวาน อีกด้วย

สาขาวิชาเภสัชวิทยา ลายมือชื่อนิสิต

ปีการศึกษา2553..... ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

5187168720: MAJOR PHARMACOLOGY

KEY WORDS: STANDARDIZED EXTRACT OF *CENTELLA ASIATICA* ECa 233 / EXCISION WOUND / WOUND HEALING / DIABETICS RATS

THORSANG WEERAKUL: EFFECT OF ORALLY GIVEN STANDARDIZED EXTRACT OF *CENTELLA ASIATICA* ECa 233 ON EXCISION WOUND IN DIABETIC RATS
 ADVISOR : ASSOC. PROF. MAYUREE H. TANTISIRA, Ph.D., CO-ADVISOR :
 ASSOC. PROF. BOONYONG TANTISIRA, Ph.D., 72 pp.

The present study aimed to investigate effects of orally given standardized *Centella asiatica* extract ECa 233 (ECa 233) on excision wound in diabetic rats. Diabetes was induced in male albino Wistar rats weighing between 250-300 g by an intravenous injection of streptozotocin (50 mg/kg body weight). Excision wound (2.0 x 2.0 cm) was made on the back of animals at 7th days after the induction. ECa 233, at the dose of 5, 10, 30 and 60 mg/kg body weight/day, dissolved in 100 ml distilled water were given to animals as drinking water for their consumption within 8 hours. Assessment of effect of the test compounds in terms of general appearance of the wound, wound healing rate, cutaneous blood flow, collagen content, malondialdehyde (MDA) content was made on day 3, 7, 14 and 21 after wound induction. In addition their respective blood sugar level was also determined.

The results demonstrated that orally given ECa 233 did not affect wound contraction as almost complete wound healing was observed in all treatment groups. However significant changes was observed in histopathological evaluation in which abundant hair follicles, higher density of collagen tissue and some other skin structure were more prominent in rats receiving ECa 233 than those without treatment indicating positive effects of ECa 233 in regenerating skin structure. Furthermore, lower MDA content was observed at day 3 and cutaneous blood flow and collagen content at the wound site were found to be significantly increased at day 14 were observed in some but not all ECa 233 treated groups. These findings may in part account for or related to positive effects on skin structure. In addition, it was found that orally given ECa 233 at the doses of 5, 30 and 60 mg/kg body weight could attenuate elevation of blood sugar in streptozotocin-induced diabetic rats.

In conclusion, the present study demonstrated positive effects of orally given ECa 233 on improving skin structure of wound in terms of increased density of hair follicle and collagen content of excision wound, though, no significant effect on wound contraction rate was noted. Additionally, ECa 233 was found to be able to attenuate the rising of blood sugar level in streptozotocin-induced diabetic rats.

Field of Study:.....Pharmacology.....

Student's Signature

Academic Year: 2010.....

Advisor's Signature

Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รศ.ดร.มยุรี ตันติลีระ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ รศ.ดร.บุญยงค์ ตันติลีระ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ให้ความรู้ ชี้แนะแนวทาง ตลอดจนความช่วยเหลือในทุกๆ ด้านเพื่อให้วิทยานิพนธ์สำเร็จ ลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.วัชรวิ ลิมปณสี ทธิกุล ประธานหลักสูตรวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย สาขาเภสัชวิทยา (สหสาขาวิชา) ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ให้ความรู้ ชี้แนะแนวทางตลอดระยะเวลาในการศึกษา

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.พ.ต.ท.(หญิง) สมทรง ลาวัณย์ประเสริฐ หัวหน้าภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาอำนวยความสะดวกในเรื่องการใช้สถานที่ เครื่องมือ และอุปกรณ์ต่างๆในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณ รศ. แพทย์หญิงจุไรพร สมบุญวงศ์ ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ ประธานหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขา สรีรวิทยา (สหสาขาวิชา) ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ในการวิเคราะห์พยาธิจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อบริเวณแผล

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. สุรีย์ เจียรณมิ่งคล และ ศาสตราจารย์ (พิเศษ) แพทย์หญิง สมบูรณ์ เกียรตินันท์ ที่กรุณามาเป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ได้ให้ความรู้ตลอดการศึกษาในระดับมหาบัณฑิต

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดาและมารดาของข้าพเจ้าที่ท่านได้ให้การสนับสนุน ในด้านการศึกษาและให้กำลังใจทั้งให้สิ่งที่ดีแก่ข้าพเจ้าเสมอมา และขอขอบคุณทุกท่านที่ได้มีส่วนช่วยเหลือในความสำเร็จของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

สารบัญ

บทที่	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญภาพ.....	ญ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
สมมติฐานงานวิจัย.....	3
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
แผนงานวิจัย.....	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
ผิวหนัง.....	5
แผล.....	7
โรคเบาหวาน.....	12
บัวบก.....	13
สารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233.....	18
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	21
สัตว์ทดลอง.....	21
เครื่องมืออุปกรณ์.....	21
สารเคมี.....	22
วิธีดำเนินการวิจัย.....	22
วิธีการทดลอง.....	25

บทที่	หน้า
การวิเคราะห์ผลทางสถิติ.....	28
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	29
4.1. ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีไอ 233 ต่อระดับน้ำตาลในกระแสเลือดและ น้ำตาลในน้ำหนักร่างกาย.....	29
4. 2.ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีไอ 233 ต่อการหายของแผลเปิดด้วยการ ประเมินอัตราการสมานแผล (Rate of wound healing).....	32
4.3.ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีไอ 233 ต่อการหายของแผลเปิดด้วยการวัด ปริมาณการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนัง (Cutaneous blood flow).....	38
4.4.ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีไอ 233 ต่อการสมานแผลด้วยการวัดปริมาณ คอลลาเจน (Collagen assay).....	40
4.5.ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีไอ 233 ต่อการสมานแผลด้วยการศึกษา Lipid peroxidation assay.....	41
4.6.ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีไอ 233 ต่อการสมานแผลเปิดด้วยการ วิเคราะห์ทางพยาธิจุลวิภาคศาสตร์ (Histopathology study) ของเนื้อเยื่อผิวหนัง.....	43
บทที่ 5 อภิปรายผลการทดลอง	50
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง.....	55
รายการอ้างอิง	56
ภาคผนวก	64
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	72

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	ผลของสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 5, 10, 30 และ 60 mg/kg BW ที่ให้ทางปาก ต่อระดับน้ำตาลในกระแสเลือด ในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด.....	31

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1	โครงสร้างของผิวหนัง..... 6
2.2	กระบวนการหายของบาดแผล..... 10
2.3	การบาดเจ็บของเนื้อเยื่อ partial thickness injury และ full thickness injury..... 11
2.4	บัวบก..... 13
2.5	โครงสร้างของสารสำคัญที่พบในสารสกัดบัวบก..... 15
2.6	สารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีไอ 233..... 19
3.1	ลักษณะของแผลเปิด..... 23
3.2	แผนผังแสดงวิธีการทดลอง..... 25
3.3	การวัด cutaneous blood flow ที่บริเวณบาดแผล..... 26
4.1	ผลของสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว ต่อระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของหนูเบาหวาน ในวันที่ 3, 7, 14 และ 21..... 29
4.2	อัตราการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของหนูเบาหวานในกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีไอ 233 ในขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว..... 30
4.3	ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีไอ 233 ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว ต่อน้ำหนักตัวของสัตว์ทดลองกลุ่มต่างๆ ในวันที่ 0, 3, 7, 14 และ 21.... 32
4.4	ลักษณะภายนอกของแผลในกลุ่มการทดลองต่างๆ ในวันที่ 3 หลังจากเกิดแผล เปิด..... 34
4.5	ลักษณะภายนอกของแผลในกลุ่มการทดลองต่างๆ ในวันที่ 7 หลังจากเกิดแผล เปิด..... 35
4.6	ลักษณะภายนอกของแผลในกลุ่มการทดลองต่างๆ ในวันที่ 14 หลังจากเกิดแผล เปิด..... 36
4.7	ลักษณะภายนอกของแผลในกลุ่มการทดลองต่างๆ ในวันที่ 21 หลังจากเกิดแผล เปิด..... 37
4.8	ผลของสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว ต่อระดับอัตราการหายของบาดแผลในหนูเบาหวาน ในวันที่ 3, 7, 14

	และ 21 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด.....	38
4.9	ผลของสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว ต่อการไหลเวียนของเลือดที่ผิวหนังในหนูเบาหวาน ในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด.....	39
4.10	ผลของสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว ต่อปริมาณ collagen ที่ขึ้นเนื้อ บริเวณแผลของหนูเบาหวาน ในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด.....	41
4.11	ผลของสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว ต่อ ปริมาณ malondialdehyde (MDA) ที่ขึ้นเนื้อ บริเวณแผลของหนูเบาหวาน ในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด.....	42
4.12	พยาธิสภาพของขึ้นเนื้อบริเวณแผลของกลุ่มการทดลองในวันที่ 3 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด.....	44
4.13	พยาธิสภาพของขึ้นเนื้อบริเวณแผลของกลุ่มการทดลองในวันที่ 7 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด.....	45
4.14	พยาธิสภาพของขึ้นเนื้อบริเวณแผลของกลุ่มการทดลองในวันที่ 14 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด.....	47
4.15	พยาธิสภาพของขึ้นเนื้อบริเวณแผลของกลุ่มการทดลองในวันที่ 21 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด.....	48

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ก	กรัม
กก	กิโลกรัม
ซม	เซนติเมตร
ดล	เดซิลิตร
นก	นาโนกรัม
พ.ศ.	พุทธศักราช
พก	พิโคกรัม
มก	มิลลิกรัม
มม	มิลลิเมตร
มล	มิลลิลิตร
CAT	catalase
COX	cyclooxygenase
DDW	di-distilled water
dL	desilitre
DM	diabetes mellitus
ECa 233	Standardized extract of <i>Centella asiatica</i>
GSH-Px	glutathione peroxidase
IL	interleukin
i.p.	intraperitoneal
LD ₅₀	median lethal dose
kg	kilogram
MCP-1	monocyte chemoattractant protein-1
MDA	malondialdehyde
mg	milligram
No	number
pH	potential of Hydrogen ion
PGE	prostaglandin E2
p.o.	per os (oral administration)
PTZ	pentylentetrazole

S.E.M.	standard error of the means
SOD	superoxide dismutase
STZ	streptozotocin
TNF	Tumor necrosis factor
VEGF	vascular endothelial growth factor
μm	micrometer

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การเกิดบาดแผลที่ผิวหนังบริเวณต่างๆ ของร่างกายคนส่วนใหญ่อาจเป็นเพียงอาการเจ็บป่วยเล็กน้อยที่ไม่เป็นอันตรายถึงชีวิต แต่สำหรับผู้ป่วยเบาหวานนั้น แผลที่เกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยอาจลุกลามกลายเป็นแผลเรื้อรัง ซึ่งหากมีการติดเชื้อแทรกซ้อนร่วมด้วยอาจเป็นเหตุให้ต้องเข้า รับการรักษาในโรงพยาบาล ก่อให้เกิดการสูญเสียค่าใช้จ่ายและทรัพยากรบุคคลของสังคม ลดคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย และในบางรายหากเกิดบาดแผลที่อวัยวะ เช่น ขาหรือเท้า อาจจะต้องถูกตัดขา นำมาสู่ความพิการของผู้ป่วย (สิรินุช พลະภิญโญ และ กิตติยศ ยศสมบัติ, 2553)

ผู้ป่วยเบาหวานเป็นผู้ที่มีภาวะผิดปกติในระบบเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต โปรตีนและไขมัน ทำให้มีระดับน้ำตาลในเลือดสูง เป็นผลมาจากความบกพร่องของการหลั่งอินซูลินหรือการออกฤทธิ์ของอินซูลิน หรือทั้งสองอย่าง (วิทยา ศรีดามา, 2543 ; LeRoith และคณะ, 2004) การที่ผู้ป่วยมีระดับน้ำตาลในเลือดสูง จะส่งผลให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับเรื่องผิวหนัง ไม่ว่าจะเป็นการมีผิวหนังแห้ง คัน แดง นอกจากนี้ยังพบว่าหากผู้ป่วยเบาหวานมีระดับน้ำตาลในเลือดสูงมากขึ้นเท่าไร ก็จะมีโอกาสเสี่ยงต่อการต่อการติดเชื้อได้ง่ายขึ้น (Hill, Hagan และ Rallison, 1982) เบาหวานทำให้ภูมิคุ้มกันร่างกายของผู้ป่วยลดลง เกิดกระบวนการ phagocytosis ของเม็ดเลือดขาวลดลง (Hill, Hagan และ Rallison, 1982) ทำให้เมื่อเกิดบาดแผลจะหายช้าและอาจกลายเป็นแผลเรื้อรังได้ เนื่องจากผิวหนังมีปริมาณคอลลาเจนลดลง รวมทั้งมีการทำลายหรือเกิดการอุดตันของหลอดเลือด ทำให้เลือดไหลเวียนไม่สะดวก เป็นผลให้บริเวณที่ถูกทำ ลายนี้ได้รับออกซิเจนและอาหารไม่เพียงพอที่จะใช้ในการรักษาแผลให้กลับสู่สภาพปกติได้ (Cohen, 1993) ซึ่งหลักในการดูแลรักษาบาดแผลจะมุ่งเน้นไปที่การดูแลทำความสะอาด ป้องกันการติดเชื้อและส่งเสริมการหายของแผล โดยอาจมีการใช้ยาปฏิชีวนะหรือยาฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เช่น Povidone iodine เป็นต้น ปัจจุบันสมุนไพรมักเป็นที่นิยมในการใช้รักษาแผลจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าบัวบกเป็นสมุนไพรมีฤทธิ์ในการสมานแผล โดยไปกระตุ้น growth factor เพื่อช่วยในการสร้างหลอดเลือดขึ้นใหม่ รวมทั้งกระตุ้นให้มีการสร้างคอลลาเจนและเพิ่มความแข็งแรงให้แก่เนื้อเยื่อแผล (Shetty และคณะ, 2006) สารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 เป็นสารสกัดที่คณะนักวิจัยคณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยเตรียมขึ้น เพื่อแก้ปัญหาในเรื่องของความแปรปรวนของสารออกฤทธิ์จากสารสกัดสมุนไพรมะเขือเทศ ซึ่งส่งผลทำให้การออกฤทธิ์ไม่แน่นอน โดย สารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ที่ให้โดยการทานบริเวณแผล มีฤทธิ์ ช่วยเร่งกระบวนการสมานแผลใหม่

ระดับที่สองและแผลกรีดทั้งในหนูแรทปกติและหนูแรทที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน จากการศึกษาฤทธิ์สมานแผลโดยกรณีศ วรณรัตน์ (2552) พบว่าสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 มีฤทธิ์ช่วยเร่งกระบวนการสมานแผลใหม่ระดับที่สองทั้งในหนูแรทปกติและหนูแรทที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน ซึ่งขนาดของแผลในหนูแรทที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบกอีซีเอ 233 จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบกอีซีเอ 233 นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 มีฤทธิ์เพิ่มการไหลเวียนของเลือดที่ผิวหนัง เมื่อศึกษาถึงลักษณะของแผลและการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยา พบว่าในหนูแรทกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 มีจำนวนเซลล์อักเสบลดลง และมีจำนวน ขุมขน (hair follicle) เพิ่มขึ้น และจากการศึกษาในแผลกรีดพบว่าเจลสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 0.05% เมื่อให้โดยการทาบนแผลกรีดในหนูแรทปกติและหนูแรทที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน จะช่วยเร่งการสมานแผลกรีดที่เกิดขึ้นในหนูทั้งสองกลุ่มได้ โดยมีผลไปกระตุ้นการสร้างผิวหนังใหม่ เพิ่มความหนาของชั้นผิวหนังกำพำ (epidermal thickness) และมีผลเพิ่มแรงดึงสูงสุดที่ทำให้ผิวหนังแยกจากกัน (tensile strength) (หทัยชนก พันอินทรอาจ, 2552) นอกจากนี้ในการศึกษานำร่องเพื่อดูผลของสารสกัดมาตรฐาน บัวบก อีซีเอ 233 ในรูปของยาป้ายปากต่อแผลร้อนในชนิดไม่รุนแรง พบว่าในกลุ่มอาสาสมัครที่ได้รับยาป้ายปากที่มี อีซีเอ 233 ในความเข้มข้น 0.05, 0.1 และ 0.2% สามารถลดขนาดแผลได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ชลันดากร เรืองประเสริฐกิจ, 2553) อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาถึงผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ในแผลเปิดและยังไม่มีการศึกษาว่าสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 นั้น มีผลต่อระดับน้ำตาลในเลือดของหนูที่เป็นเบาหวานหรือไม่

ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ต่อการสมานแผลเปิดในหนูแรทที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน รวมทั้งทำการศึกษาผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ต่อระดับน้ำตาลในกระแสเลือด ซึ่งคาดว่าสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 อาจช่วยเร่งการสมานแผลเปิดในหนูเบาหวาน รวมทั้งช่วยลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของหนูเบาหวานได้

สมมติฐานการวิจัย

สารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ที่ให้ทางปากมีผลเร่งการสมานแผลเปิดในหนูแรทที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน

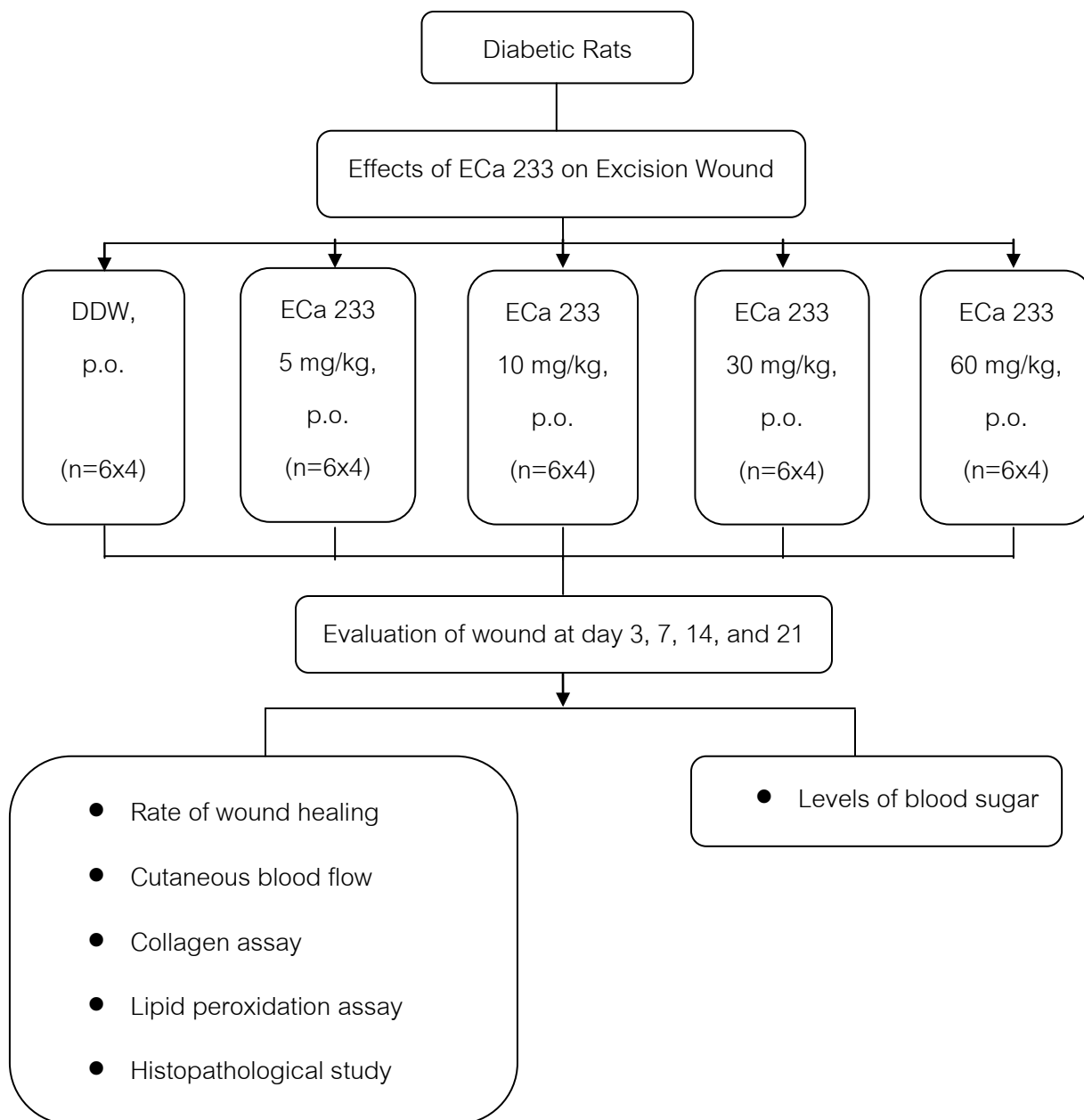
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อศึกษาผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีอี 233 ที่ให้ทางปากต่อการสมานแผลเปิดในหนูแรทที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน ตลอดจนผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีอี 233 ต่อระดับน้ำตาลในกระแสเลือด

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบถึงผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีอี 233 ในการให้ทางปากต่อการสมานแผลที่เกิดจากแผลเปิดในภาวะที่มีโรคเบาหวาน รวมทั้งผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด อันจะเป็นข้อมูลที่สามารถนำไปสนับสนุนการนำเอาบัวบกซึ่งเป็นสมุนไพรพื้นบ้านไปใช้ในการสมานแผลและใช้ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ที่เป็นโรคเบาหวานต่อไปในอนาคต

แผนงานวิจัย



บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ผิวหนัง (The Skin)

ผิวหนังเป็นอวัยวะที่มีขนาดใหญ่ที่สุดของร่างกาย คิดเป็นน้ำหนักประมาณ 15% ของน้ำหนักตัว มีลักษณะแตกต่างกันตามแต่ละส่วนของร่างกาย ทั้งในโครงสร้าง ความหนาและสีผิว (Lai-Cheong และ McGrath, 2009)

2.1.1 โครงสร้างของผิวหนัง (Structure of the skin) (Quinn, 2004; Lai-Cheong และ McGrath, 2009)

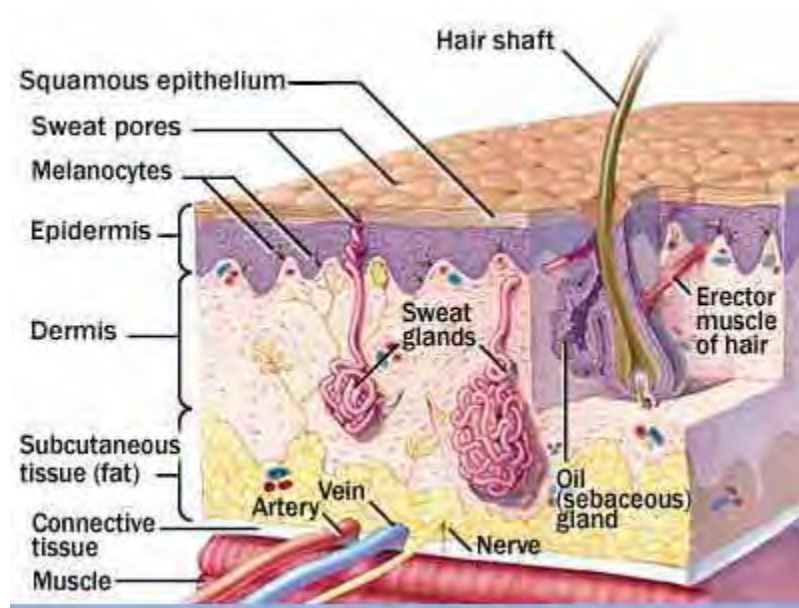
ผิวหนังของคนเราแบ่งออกเป็น 3 ชั้น คือ

1. หนังกำพร้า (Epidermis) เป็นผิวหนังที่อยู่ชั้นบนสุด มีลักษณะบาง ประกอบด้วยเซลล์ที่เรียงซ้อนกันเป็นชั้นๆ ซึ่งชั้นความหนาของชั้นหนังกำพร้าขึ้นกับบริเวณของร่างกาย เช่น หนังกำพร้าบริเวณฝ่ามือ ฝ่าเท้า มีจำนวนชั้นของเซลล์ มากและมีความหนามากกว่าร่างกายบริเวณอื่น โดยเริ่มต้นจากเซลล์ชั้นในสุดติดกับหนังแท้ ซึ่งจะแบ่งตัวเติบโตขึ้นแล้วค่อยๆ เลื่อนมาแทนเซลล์ที่อยู่ชั้นบนจนถึงชั้นบนสุด จากนั้นจะ ตายและหลุดออกไป โดยในชั้นหนังกำพร้าจะมีเซลล์ที่เรียกว่า เมลาโนไซต์ (melanocyte) ปะปนอยู่ด้วย เมลาโนไซต์เป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่ในการสร้างเม็ดสี ที่เรียกว่า เมลานิน ซึ่งเม็ดสีนี้จะทำให้สีผิวของคนแตกต่างกัน ในชั้นของหนังกำพร้าไม่มีหลอดเลือดเส้นประสาท และต่อมต่างๆจะเป็นทางผ่านของรูเหงื่อเส้นขนและไขมันเท่านั้น

2. หนังแท้ (Dermis) เป็นผิวหนังที่อยู่ชั้นล่างถัดจากชั้นหนังกำพร้าและหนากว่าหนังกำพร้ามาก ซึ่งความหนาของหนังแท้ขึ้นกับบริเวณต่างๆของร่างกาย ผิวหนังชั้นนี้ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ชนิด dense irregular arranged โดยมีเส้นใยชนิดคอลลาเจน (collagenous fiber) และอีลาสติก (elastic fiber) อยู่ นอกจากนี้ยังพบเซลล์ fibroblast ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของชั้นหนังแท้ เซลล์ชนิดอื่นๆ หลอดเลือดฝอย เส้นประสาท กล้ามเนื้อ เกาะเส้นขน ต่อมไขมัน ต่อมเหงื่อ และขุมขนกระจายอยู่ทั่วไป

3. ชั้นใต้ผิวหนัง (Subcutaneous tissue) หรือ ชั้นไขมัน (Adipose tissue) ประกอบด้วยเซลล์ไขมัน (Adipose cell) เป็นหลัก ความหนาขึ้นกับปริมาณไขมันของแต่ละบุคคล ชั้นนี้มีหน้าที่ให้ความอบอุ่นแก่ร่างกายคล้ายฉนวนกันความร้อน ช่วยลดแรงกระทบกระแทกจากภายนอก ชั้นไขมันที่มีมากโดยเฉพาะบริเวณสะโพก เอว ต้นขา ที่เรียกว่า cellulite คือ ไขมันที่มีเนื้อเยื่อคล้ายพังผืดแทรกอยู่

ทำให้เกิดการดั่งรังผิวหนัง เห็นเป็นลอนๆ จากภายนอก การ เกิด cellulite ไม่ขึ้นกับปริมาณของไขมัน ในร่างกายคนผอมก็สามารถมี cellulite ได้



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของผิวหนัง (Marieb, 2009)

2.1.2 หน้าที่ของผิวหนัง (Function of the skin) (Lai-Cheong และ McGrath, 2009)

2.1.2.1 ป้องกันและปกปิดอวัยวะภายในไม่ให้ได้รับอันตราย

2.1.2.2 ป้องกันเชื้อโรคไม่ให้เข้าสู่ร่างกายโดยง่าย

2.1.2.3 ขับของเสียออกจากร่างกาย โดยต่อมเหงื่อจะขับเหงื่อออกมา

2.1.2.4 ช่วยรักษาอุณหภูมิของร่างกายให้คงที่ โดยระบบหลอดเลือดฝอยและการระเหยของเหงื่อ

2.1.2.5 รับความรู้สึกสัมผัส เช่น ร้อนหนาว เจ็บ เป็นต้น โดยอาศัยปลายประสาทรับความรู้สึกชนิดต่างๆ

2.1.2.6 ช่วยสร้างวิตามินดีให้แก่ร่างกาย โดยแสงแดดจะเปลี่ยนไขมันที่ผิวหนังให้เป็นวิตามินดี

2.1.2.7 ขับไขมันออกมาหล่อเลี้ยงเส้นผม และขน ให้เป็นเงางามอยู่เสมอและไม่แห้ง

2.2 แผล (The wound)

2.2.1 นิยามของแผล (Definition of the wound)

แผล (wound) หมายถึง ภาวะที่เยื่อบุผิวหนังหรือเนื้อเยื่อที่อยู่ใต้ผิวหนังได้รับอันตราย เกิดการฉีกขาด มีการทำลายของโครงสร้างและหน้าที่ของผิวหนัง (Enoch และ Leaper, 2005) โดยเกิดจากสาเหตุหลายประการ เช่น ความร้อน การตัดหรือกรีด การถลอก สารเคมี เป็นต้น โดยจะแบ่งแผลออกเป็น 2 ชนิด คือ (Aukhil, 2000)

2.2.1.1 แผลชนิดเฉียบพลัน (acute wounds) มีสาเหตุมาจากสิ่งแวดล้อมภายนอกที่ทำให้เกิดแผล และแผลสามารถหายได้ในระยะเวลารวดเร็วหากไม่มีภาวะแทรกซ้อน ตัวอย่างของแผลชนิดนี้ได้แก่ (Strodtbeck, 2001; Leaper และ Harding 2006)

2.2.1.1.1 แผลกรีด (Incision wound) ลักษณะของบาดแผลจะมีขอบแผลเรียบซึ่งเกิดจากการที่ของมีคมผ่านผิวหนังเข้าไป เช่น ถูกมีดบาด บาดแผลถูกแทง (puncture wound) จะมีลักษณะของบาดแผลเป็นปากแผลแคบลึก ซึ่งเกิดจากวัตถุมีคมปลายแหลมทะลุผ่านผิวหนังเข้าไป เช่น แผลตะปูตำ ถูกมีดแทง แผลลักษณะนี้จะเสี่ยงต่อการติดเชื้อโรค ที่ไม่ใช่ออกซิเจน เช่น เชื้อบาดทะยัก

2.2.1.1.2 แผลฉีกขาด (laceration wound) ผิวหนังบริเวณขอบแผลฉีกขาด และมีการทำลายของเนื้อเยื่อแผลมาก แผลอาจลึก เสี่ยงต่อการติดเชื้อ สาเหตุเกิดจาก อุบัติเหตุ เช่น รถล้ม หกล้ม ถูกของมีคมเกี่ยว ถูกสะเก็ดระเบิด (explosive wound) แผลถูกบดขยี้ (cursh wound) เช่น จากเครื่องจักรบด เป็นต้น

2.2.1.1.3 แผลถลอก (abrasion) ลักษณะของแผลตื้น มีรอยเปิดเพียงชั้นนอกของผิวหนังหรือเยื่อ มีเลือดซึมเล็กน้อย สาเหตุเกิดจากอุบัติเหตุ ถูกขีด ข่วน หรือลื่นไถลบนพื้นหยาบ ขรุขระ

2.2.1.1.4 แผลทะลุทะลวง (penetration wound) ลักษณะของแผลจะเกิดการฉีกขาดและการบดทำลายของเนื้อเยื่อ ซึ่งเกิดจากวัตถุแทงทะลุผ่านผิวหนังเข้าไปถึงเนื้อเยื่อที่อยู่ลึก ๆ หรืออวัยวะภายใน ทำให้มีการตกเลือด เช่น แผลถูกยิง (gun shot wound) กระสุนวิ่งผ่านเยื่อบุผิวหนังและเนื้อเยื่อที่อยู่ใต้ผิวหนัง ทำให้เกิดการฉีกขาด (laceration) การบดทำลาย (crushing) เกิดคลื่น (shock wave) และเกิดช่องว่างชั่วคราว (temporary cavitation) ตามที่แนวกระสุนผ่านไป ซึ่งเกิดมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับความเร็วของกระสุน

2.2.1.2 แผลเรื้อรัง (chronic wounds) มีการหายของบาดแผลช้าและมักจะเกิดภาวะแทรกซ้อนได้ ตัวอย่างของแผลชนิดนี้ได้แก่ แผลกดทับ (bed sore) เป็นต้น (Aukhil, 2000)

2.2.2 การหายของแผล (Wound healing)

เมื่อร่างกายเกิดบาดแผลขึ้น จะมี กลไกในการซ่อมแซมและรักษาแผลตามมา ซึ่งเป็นกระบวนการตอบสนองตามธรรมชาติ โดยระยะเวลาการหายของแผลนั้นจะขึ้นกับขนาดและความลึกของแผลที่เกิดขึ้น (Rao และคณะ, 2007 ; Umachigi และคณะ, 2007)

2.2.2.1 กระบวนการหายของแผล (Process of wound healing)

กระบวนการหายของแผล (Process of wound healing) เกิดขึ้นจากการผสมผสานการทำงานของเซลล์และการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี โดยจะเกิดขึ้นทันทีเมื่อเนื้อเยื่อได้รับ บาดเจ็บ กระบวนการที่เกิดขึ้นจะเกิดอย่างมีลำดับ และดำเนินไปอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน กว่าจะสมบูรณ์ ดังแสดงในรูปที่ 2.2 (Harding, Morris และ Patel, 2002)

กระบวนการหายของแผล แบ่งได้เป็น 4 ระยะ คือ (Kerstein, 1997; Robert และ Melissa, 2004)

2.2.2.1.1 ระยะห้ามเลือด (Hemostasis phase)

เกิดขึ้นทันทีที่เกิดบาดแผล โดยจะมีการ กระตุ้นให้เกิดเกล็ดเลือดรวมตัวและเกล็ดเลือดจะกระตุ้นให้มีการหลั่งสารที่ทำให้หลอดเลือดเกิดการหดตัวเพื่อป้องกันการเสียเลือด มีการสร้างเส้นใยโปรตีนไฟบรินจากไฟบริโนเจนสานต่อกันเพื่อเป็นโครงจับกับเกล็ดเลือด รวมทั้งโปรตีนและอนุภาคอื่นๆ เพื่ออุดห้ามเลือด มีการหลั่งไซโตไคน์ และ growth factor ต่างๆ (เช่น platelet-derived growth factor, PDGF) จาก inflammatory cells เพื่อเข้าสู่กระบวนการฟื้นฟูเนื้อเยื่อบริเวณบาดแผล (Williamson และ Harding, 2004)

2.2.2.1.2. ระยะอักเสบ (Inflammatory phase)

ระยะนี้จะเกิดขึ้นภายใน 24-48 ชั่วโมง เป็นระยะที่มีการขยายตัวของหลอดเลือดและเกิดการอักเสบ ใน 24 ชั่วโมงแรก หลังจากเกิดแผล neutrophils จะเข้ามายังบริเวณบาดแผลเพื่อกำจัดสิ่งแปลกปลอม เชื้อโรค แบคทีเรียและเนื้อเยื่อที่ตายแล้วด้วยกระบวนการ phagocytosis ในขณะที่ mast cell จะหลั่ง enzyme histamine และ active amine มีผลทำให้บริเวณบาดแผลเกิดการอักเสบขึ้น โดย active amine ที่หลั่งออกมานั้น จะส่งผลให้หลอดเลือดบริเวณแผลเกิดรอยรั่ว ทำให้ mononuclear cells ในหลอดเลือดผ่านเข้ามายังบริเวณแผลได้รวดเร็วขึ้น หลังจาก เกิดแผล 48 ชั่วโมง macrophage จะเริ่มมีบทบาทสำคัญ เพื่อให้กระบวนการหาย ของแผลเป็นไปตามปกติ โดย macrophage จะกระตุ้นการหลั่ง growth factor ที่จำเป็น คือ PDGF (platelet-derived growth factor) and TGF- β (transforming growth factor- β) ซึ่ง macrophage เป็น marker cells ที่แสดง

ให้ทราบว่าขณะนั้นอยู่ในระยะใกล้สิ้นสุดของระยะอักเสบ และกำลังเริ่มเข้าสู่ระยะแบ่งเซลล์ (Robert และ Melissa, 2004)

2.2.2.1.3. ระยะแบ่งเซลล์ (Proliferative phase)

ระยะนี้จะใช้เวลาประมาณ 2-3 สัปดาห์ จะมีการสร้างเนื้อเยื่อใหม่บริเวณแผล ซึ่ง growth factors จะมีบทบาทมากในระยะนี้ มีกระบวนการที่เกี่ยวข้องเกิดขึ้นในระยะแบ่งเซลล์นี้หลายกระบวนการด้วยกัน ไม่ว่าจะเป็น การเกิด angiogenesis, collagen deposition, granulation tissue formation, re-epithelialization และ wound contraction ซึ่งระยะแบ่งเซลล์นี้จะเกิดขึ้นก่อนที่ระยะอักเสบจะสิ้นสุดลง

ในระยะแบ่งเซลล์นี้จะพบ growth factor ที่สร้างจาก platelet, neutrophil และ macrophage ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (fibrocyte และ capillary endothelium) ให้เกิดการแบ่งตัวและเจริญเข้าไปภายในบาดแผลและก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ fibrocyte ไปเป็น fibroblast ซึ่งจะทำหน้าที่สร้าง collagenous fiber, elastic fiber และ ground substance

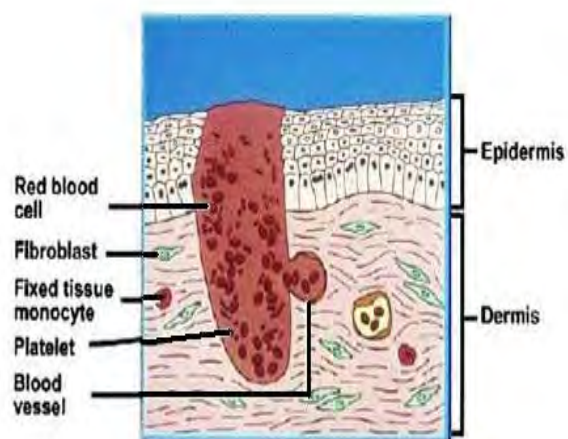
ตั้งแต่วันที่ 3 - 4 หลังจากเกิดบาดแผล สารที่เป็น ground substance อันประกอบไปด้วย mucopolysaccharide หลายชนิด จะช่วยยึดเส้นใย collagen ให้อยู่ด้วยกัน ซึ่งในช่วงสองสัปดาห์แรกหลังเกิดบาดแผลพบว่าจะมีการสร้าง collagen ในปริมาณที่มากและรวดเร็ว หลังจากนั้นอัตราการสร้างจะช้าลง และมีปริมาณคงที่หลังจาก 40 วันไปแล้ว collagen ที่ถูกสร้างขึ้นมานี้จะทำให้บาดแผลแข็งแรงและหายเร็ว

เยื่อบุผิวที่ขอบบาดแผลเริ่มงอกเข้าไปคลุมบาดแผล โดยเคลื่อนตัวไปบนผิวของ granulation tissue จนขอบของเยื่อบุผิวมาชนกันแล้วจึงหยุดการเคลื่อนตัว ระยะการสร้างเนื้อเยื่อเส้นใยหรือระยะแบ่งเซลล์นี้จะเริ่มเกิดขึ้นตั้งแต่วันที่ 5 จนถึงวันที่ 20 หลังจากเกิดบาดแผล (Clark, 1995 ; Garrett, 1997 ; Kumar และคณะ, 2008)

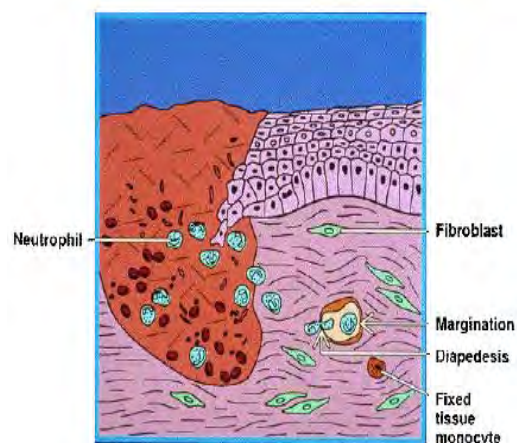
2.2.2.1.4. ระยะเสริมสร้างความแข็งแรง (Remodeling phase)

เป็นระยะสุดท้ายของกระบวนการหายของบาดแผล โดยในระยะนี้จะมีการปรับรูปร่างและเพิ่มความแข็งแรงแก่แผล โดยเซลล์ macrophage และ fibroblasts จะมีบทบาทสำคัญมากในระยะนี้ โดย extracellular matrix (ECM) จะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง เมื่อเกิดการไขว่กันของเส้นใยคอลลาเจน (cross-linking collagens) เกิด cell maturation และเกิดการตายของเซลล์ด้วยกลไก apoptosis ซึ่งระยะนี้อาจใช้เวลานานเป็นเดือนหรือปี (Waldrop และ Daughy, 1991 ; Cooper, 1999)

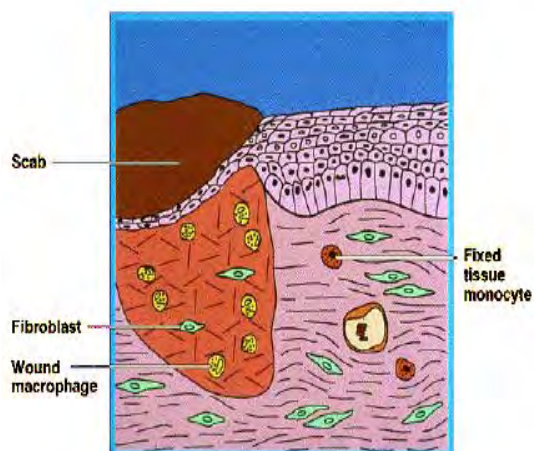
A.



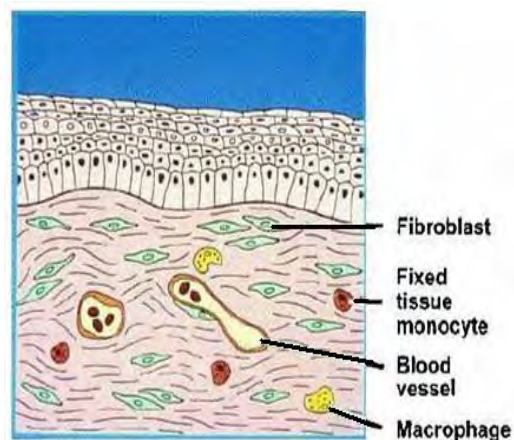
B.



C.



D.



รูปที่ 2.2 กระบวนการหายของบาดแผลในระยะต่างๆ A : Hemostasis phase (platelet aggregation) B : Inflammatory phase C : Proliferative phase D : Remodeling phase (Li และคณะ, 2007)

ที่กล่าวมาข้างต้นนั้น เป็นกระบวนการหายของแผลปกติ แต่ในแผลเรื้อรังนั้นจะพบว่า ในระยะอักเสบ (inflammatory phase) มีระยะเวลายาวกว่าในบาดแผลปกติ โดยปัจจัยที่ส่งผลให้บาดแผลปกติ กลายเป็นแผลเรื้อรังนั้น (Halloran และ Slavin, 2002) ได้แก่

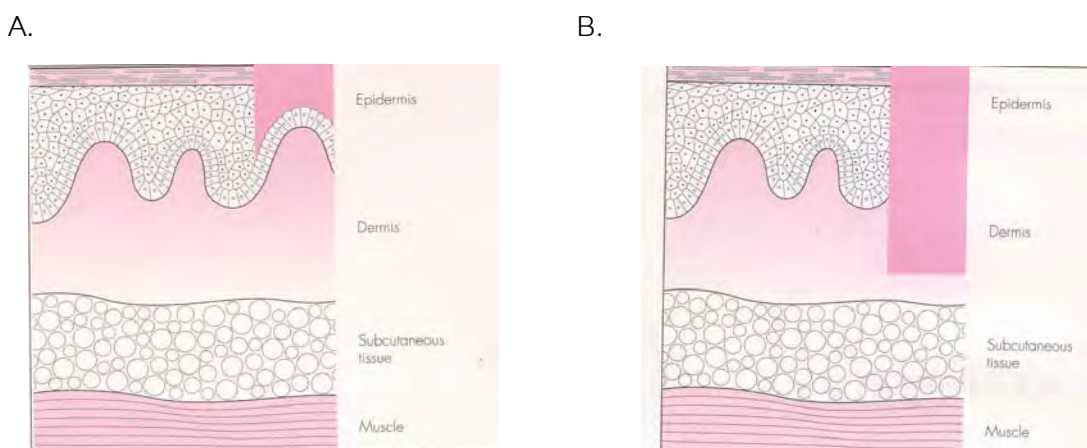
- ภาวะของโรค เช่น โรคเบาหวาน โรคไต โรคดีซ่าน เป็นต้น
- อายุของผู้ป่วย โดยพบว่าผู้ป่วยที่มีอายุมาก บาดแผลจะหายช้ากว่าผู้ป่วยอายุน้อย

- การรับประทานอาหารมีผลต่อการหายของบาดแผล เช่น วิตามินซี (ascorbic acid) ที่มีส่วนสำคัญ ต่อการสังเคราะห์ collagen

2.2.3 แผลเปิดและการรักษาแผลเปิด (Excision wound and management of excision wound)

Excision wound หรือแผลเปิด เป็นแผลที่มีการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อและมีการทำลายชั้นผิวหนังเป็นบริเวณกว้าง เกิดจากสิ่งแฉะล้อมกายนอก เช่น ของมีคม การถลอก ไฟไหม้ เป็นต้น (Rao และคณะ, 2007) ซึ่งจะส่งผลให้ความรุนแรงของบาดแผลนั้นแตกต่างกัน

ความเสียหายของชั้นผิวหนังที่เกิดขึ้นจากบาดแผลนั้น สามารถนำมาใช้จำแนกลักษณะบาดแผลได้ หากบาดแผลที่เกิดขึ้นนั้นมีการทำลายเนื้อเยื่อในชั้นหนังกำพร้า (epidermis) และอาจจะรวมส่วนบนของชั้นหนังแท้ (superficial dermis) แต่ไม่มีการทำลายระบบหลอดเลือดในชั้นหนังแท้ เรียกรบาดเจ็บที่เกิดขึ้นนี้ว่า partial thickness injury แต่หากบาดแผลที่เกิดขึ้นนั้นมีการทำลายเนื้อเยื่อตั้งแต่ชั้นหนังกำพร้าจนถึงระบบหลอดเลือดในชั้นหนังแท้ จะเรียกว่า full thickness injury (Hess และ Salcido, 2000) ดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 พื้นที่ที่เกิดการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อ A. partial thickness injury และ B. full thickness injury

การดูแลและการรักษาแผลเปิดนั้น จะต้องคำนึงถึงสาเหตุที่ทำให้เกิดแผล ขนาดของแผล รวมทั้งความลึกของเนื้อเยื่อหรือชั้นผิวหนังที่ได้รับบาดเจ็บ โดยเป้าหมายของการรักษาแผลเปิดนั้น คือ

การลดขนาดของแผล ซึ่งหากบาดแผลมีขนาดเล็กและมีความลึกของเนื้อเยื่อที่บาดเจ็ บน้อย อาจจะสามารถรักษาความสะอาดของบาดแผลและป้องกันการติดเชื้อที่แผล แต่เพียงอย่างเดียว แต่หากบาดแผลนั้นมีขนาดใหญ่ และมีความรุนแรงของเนื้อเยื่อที่บาดเจ็บมากอาจจะต้องใช้เทคนิค skin graft ซึ่งเป็นการปิดบาดแผลโดยการปลูกถ่ายผิวหนังเพื่อให้การหายของบาดแผลนั้น เกิดขึ้นได้เร็วขึ้น (Quinby และคณะ, 1981)

2.3 โรคเบาหวาน (Diabetes Mellitus)

เป็นความผิดปกติของกระบวนการเมตาบอลิซึม ซึ่งเป็นผลจากความบกพร่องในการผลิตฮอร์โมนอินซูลินหรือการออกฤทธิ์ของอินซูลิน หรือทั้งสองอย่าง ทำให้ระดับน้ำตาลในกระแสเลือดสูง ตรวจพบน้ำตาลในปัสสาวะ (glycosuria) และมีอาการปัสสาวะบ่อย (polyuria) ในปัจจุบันได้แบ่งชนิดของโรคเบาหวานตามสาเหตุของการเกิดโรคเป็น 2 ชนิดใหญ่ๆ คือ (Atalay และ Laaksonen, 2002)

2.3.1. เบาหวานชนิดที่ 1 (Type 1 diabetes)

เกิดจากภูมิคุ้มกันของร่างกายไปทำลาย β -cell ในตับอ่อน ซึ่งเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่ผลิตอินซูลิน ทำให้ร่างกายไม่สามารถสร้างอินซูลินได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องฉีดอินซูลินเพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในกระแสเลือด

2.3.2. เบาหวานชนิดที่ 2 (Type 2 diabetes)

เกิดจากมีการหลังอินซูลินที่ผิดปกติ โดยตับอ่อนยังสามารถหลังอินซูลินได้ ตามปกติ แต่ไม่เพียงพอในการควบคุมระดับน้ำตาล มีภาวะดื้อ ต่ออินซูลิน สามารถรักษาด้วยการรับประทานยาเพื่อควบคุมระดับน้ำตาล หรือฉีดยาในกรณีการรักษาด้วยการรับประทานยาไม่ได้ผล

โรคเบาหวานทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนหลายประการ โดยเฉพาะเรื่องผิวหนังและการดูแลรักษาผิวหนัง (Spravchikov และคณะ, 2001) ผู้ป่วยเบาหวานจะมีปริมาณคอแลลาเจนในผิวหนังที่เกิดแผลลดลง เป็นผลมาจากการสร้างลดลง หรือมีการทำลายคอแลลาเจนที่สร้างขึ้นใหม่เพิ่มขึ้น รวมทั้งมีการทำลายของหลอดเลือด และ เกิดการอุดตันของหลอดเลือด ทำให้หลอดเลือดตีบแคบ เลือดไหลเวียนไม่สะดวก ส่งผลทำให้ผู้ป่วยเบาหวานเมื่อเกิดบาดแผลขึ้น จะหายช้ากว่าปกติ (Lorenzi, 1992 ; Cohen, 1993) นอกจากนี้ผู้ป่วยเบาหวานจะมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ เนื่องจากภูมิคุ้มกันของร่างกายลดลง ขบวนการ phagocytosis ของเม็ดเลือดขาวลดลง มีแนวโน้มที่จะติดเชื้อได้ง่ายขึ้น เชื้อแพร่กระจายเร็ว รักษายาก และแผลหายช้า (Hill และคณะ, 1982)

จากรายงานการวิจัยพบว่าภาวะ oxidative stress เป็นกลไกที่เชื่อว่าทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนในผู้ป่วย ภาวะ oxidative stress เป็นภาวะที่เกิดขึ้นจากความไม่สมดุลของอนุมูลอิสระภายในร่างกาย โดยภาวะ oxidative stress ที่เกิดในโรคเบาหวานนั้น ไม่ได้มาจาก oxygen free-radical เพียงอย่างเดียว แต่สามารถเกิดขึ้นจากกระบวนการ auto-oxidation ของกลูโคส และการเกิด protein glycosylation ซึ่งการมี reactive oxygen species (ROS) ที่มากเกินไป จะส่งผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของกลูตาไธโอน (glutathione) ระดับของกรด ascorbic ลดลง การเกิดกระบวนการ lipid peroxidation และการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ต่อต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ catalase (CAT) glutathione peroxidase (GSH-Px) และ superoxide dismutase (SOD) (Moussa, 2008) นอกจากนี้ยังพบว่าหากมีกระบวนการเกิด lipid peroxidation ที่มากเกินไปจะทำให้มีการทำลาย β -cell ในตับอ่อน หรือทำลายเอนไซม์อินซูลิน เพิ่มมากขึ้น รวมทั้งมีการทำลายหน้าที่ของเมมเบรน ลดการเกิด membrane fluidity และจะเปลี่ยนแปลงการทำงานของเอนไซม์ membrane-bound และตัวรับ (Goycheva และคณะ, 2006)

2.4 บัวบก (*Centella asiatica*)



รูปที่ 2.4 บัวบก (*Centella asiatica* (Linn.) Urban)

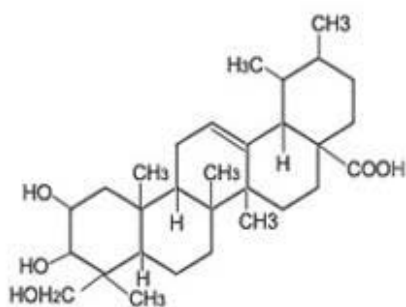
บัวบกมีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Centella asiatica* (Linn.) Urban. จัดอยู่ในวงศ์ Umbelliferae บัวบกอาจเรียกตามชื่อท้องถิ่นเป็น ผักแว่น ผักหนอก ปะหนะ หรือ เอชาเด้าะ เป็นพืชสมุนไพรที่ขึ้นในพื้นที่เขตร้อนชื้น โดยเฉพาะในทวีปเอเชีย ที่สามารถพบได้หลายประเทศ เช่น พม่า อินโดนีเซีย มาเลเซีย อินเดีย ศรีลังกา ไทย เป็นต้น

2.4.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (Morphological description)

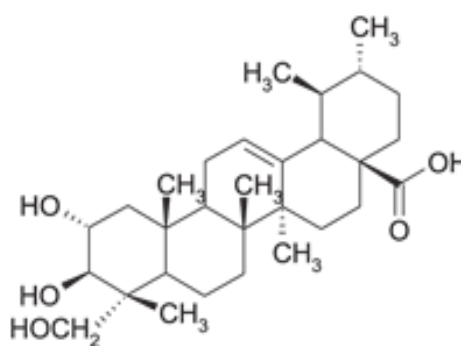
บัวบกมีลักษณะเป็นไม้ล้มลุก เลื้อยแผ่ไปตามพื้นดิน ชอบที่ชื้นแฉะ แตกรากฝอยตามข้อ โหนดที่แผ่ไปจะงอกใบจากข้อชูขึ้น 3-5 ใบ ใบมีลักษณะเป็นใบเดี่ยว เรียงสลับ รูปไตเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-5 เซนติเมตร (ซม) ขอบใบหยัก ก้านใบยาว จะออกดอกเป็นช่อสีม่วง ออกที่ซอกใบ ขนาดเล็ก 2-3 ดอก ผลมีสีเขียวหรือขาว ขนาดเล็ก เป็นผลแห้ง แตกได้ (นันทวัน บุญยะประภัศร, 2541)

2.4.2 สารสำคัญ (Major chemical constituents)

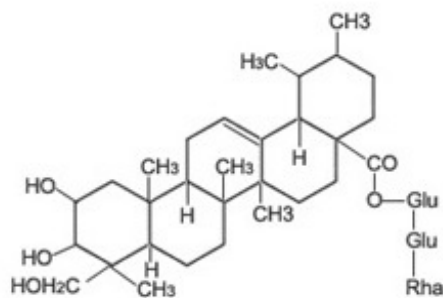
สารสำคัญที่พบได้ในสารสกัดจากบัวบกนั้น เป็นสารในกลุ่ม triterpenes คือ asiatic acid และ madecassic acid นอกจากนี้ยังพบอนุพันธ์ของสารกลุ่ม triterpenes ดังกล่าว คือ asiaticoside และ madecassoside ซึ่งเป็นสาร triterpene ester glycoside (ถนอมศรี วงศ์รัตนาสถิตย์, 2538)



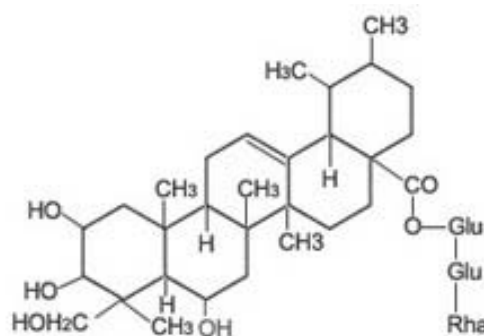
Asiatic acid



Madecassic acid



Asiaticoside



Madecassoside

รูปที่ 2.5 โครงสร้างของสารสำคัญที่พบในสารสกัดบัวบก

2.4.3 ประโยชน์ในการรักษา

บัวบกเป็นสมุนไพรที่นิยมใช้ในการแพทย์ด้านอายุรเวท ส่วนที่ใช้เป็นยานั้น จะใช้ทั้งต้นสด ใบ และเมล็ด โดยบัวบกถูกนำมาใช้ในการรักษาอาการต่างๆ เช่น เจ็บคอ ร้อนใน กระหายน้ำ ลดไข้ ขับปัสสาวะ แก้ท้องเสีย (Gnanapragasam และคณะ, 2004) โดยเฉพาะการนำมาใช้สมานแผลและเร่งการสร้างเนื้อเยื่อ รวมถึงการใช้เป็นยากระตุ้นระบบความจำและระบบประสาท (Hussin และคณะ, 2007 ; Husain และคณะ, 2008)

2.4.4 การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (Pharmacological study)

2.4.4.1. ฤทธิ์ลดการอักเสบ (Antiinflammatory activity)

Dunstan และคณะ (1997) พบว่าสารสกัดเอทานอลจากใบบัวบกนั้น สามารถลดการอักเสบในหนูแรทได้

การศึกษาของ Yun และคณะ (2008) ในเซลล์ RAW 264.7 macrophages ที่ถูกกระตุ้นด้วย lipopolysaccharide (LPS) พบว่าสาร asiatic acid และ asiaticoside ที่สกัดได้จากใบบัวบก ในขนาด 30, 60 และ 120 ไมโครโมลาร์ จะมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ โดยจะลดปริมาณของ inducible nitric oxide synthase (iNOS), COX-2, TNF- α , IL-1 β และ IL-6 ทำให้การสร้าง nitric oxide (NO) และ PGE₂ ลดลง

2.4.4.2. ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Antibacterial activity)

Oyediji และ Afolayan (2005) ได้ศึกษาถึงฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยจากบัวบก โดยพบว่าน้ำมันหอมระเหยบัวบกนี้มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียทั้ง Gram-positive (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*.) และ Gram-negative (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*.)

Minija และ Thoppil (2003) พบว่าสารสกัดเอทานอลจากต้นบัวบกนั้นมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa*

2.4.4.3. ฤทธิ์ต้านการแบ่งตัวของเซลล์ (Antiproliferant effects)

Sampson และคณะ (2001) ได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดบัวบกต่อโรคสะเก็ดเงิน ซึ่งเป็นอาการที่เซลล์ผิวหนังมีการแบ่งตัวผิดปกติ พบว่าสารสกัดบัวบกช่วยต้านการแบ่งตัวของเซลล์ผิวหนังชั้น keratin ได้

2.4.4.4. ฤทธิ์รักษาแผลในกระเพาะอาหาร (Antiulcer activity)

Cheng และ Koo (2000) พบว่าเมื่อป้อนสารสกัดบัวบกขนาด 0.05, 0.25 และ 0.5 กรัม/กิโลกรัม (ก/กก) น้ำหนักตัว ทางปากแก่หนูแรทที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหารด้วย 50% เอทานอล ขนาด 10 มิลลิลิตร/กิโลกรัม (มล/กก) น้ำหนักตัว พบว่ามีฤทธิ์รักษาแผลในกระเพาะอาหาร โดยจะลดขนาดของแผล และลดการทำงานของเอนไซม์ myeloperoxidase (MPO)

2.4.4.5. ฤทธิ์ต่อระบบประสาท (Neurological effects)

สารสกัดบัวบกช่วยให้กระบวนการเรียนรู้และความจำดีขึ้นในหนูแรทที่ได้รับสารสกัด บัวบก ขนาด 200 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (มก/กก) น้ำหนักตัว ทางปาก เป็นเวลา 14 วัน และพบว่าช่วยลดระดับของ malondialdehyde (MDA) ในสมองของหนูแรทอีกด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าหนูแรทที่ได้รับสาร pentylenetetrazole (PTZ) ซึ่งเป็นสารที่ทำให้การเรียนรู้บกพร่อง จะมีอาการชักลดลงและมีการเรียนรู้ที่ดีขึ้น เมื่อหนูแรทได้รับสารสกัดบัวบกขนาด 300 มก/กก น้ำหนักตัว ทางปาก (Kumar และ Gupta, 2002; Gupta และคณะ, 2003)

2.4.4.6. ฤทธิ์สมานแผล (Wound healing effects)

สารกลุ่ม triterpene ที่พบในสารสกัดบัวบก ได้แก่ asiaticoside, asiatic acid และ madecassic acid มีฤทธิ์กระตุ้นการสร้าง human collagen I ซึ่งเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการหายของแผล (World Health Organization, 1999)

Sunilkumar และ Shivakumar (1998) พบว่าการใช้สารสกัดน้ำจากบัวบก ที่เตรียมในรูปครีม เจล และ ointment ทาที่แผลเปิด (open wounds) วันละ 3 ครั้ง เป็นเวลา 24 วัน ทำให้เพิ่มปริมาณ

ของคอลลาเจนและเพิ่มความแข็งแรงของเนื้อเยื่อ (tensile strength) ได้ นอกจากนั้น ยังช่วยให้การเกิดของผิวหนังชั้นคลุมบริเวณบาดแผลเร็วขึ้น

จากการศึกษาของ Shukla และคณะ (1999) พบว่าสาร asisticoside 1 มก/กก น้ำหนักตัว ที่ได้จากการสกัดบวบก้นมีฤทธิ์สมานแผล โดยเมื่อให้สาร asisticoside ทางปากแก่หนูตะเภาปกติและหนูแรทที่เป็นเบาหวาน พบว่าช่วยเพิ่มความแข็งแรงของเนื้อเยื่อ (tensile strength) และเพิ่มปริมาณคอลลาเจนที่ผิวหนังบริเวณแผล

การศึกษาของ Shetty และคณะ (2006) พบว่าเมื่อให้สารสกัดบวบก้นขนาด 800 มก/กก น้ำหนักตัว ทางปากในหนูแรท เป็นระยะเวลา 10 วัน จะสามารถเร่งอัตราการหายของแผลและเกิดกระบวนการ epithelization อย่างรวดเร็ว เพิ่มปริมาณคอลลาเจนและเพิ่มค่าความแข็งแรงของเนื้อเยื่อบริเวณแผล

Kimura และคณะ (2008) พบว่าเมื่อทาเจลที่มีสาร asiaticoside ปริมาณ 10 พิโคกรัม (พก), 1 นาโนกรัม (นก) และ 100 นก/พื้นที่แผล จะช่วยเพิ่ม monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), vascular endothelial growth factor (VEGF) และ interleukin (IL)-1 β แก่หนู Balb/c ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดแผลไฟไหม้บริเวณหลัง ส่งผลให้เกิดกระบวนการสร้างหลอดเลือดขึ้นใหม่ (angiogenesis) และเมื่อทำการศึกษาในเซลล์ HaCaT พบว่า สาร asiaticoside ขนาด 10 พก ถึง 100 นก/มล ช่วยเพิ่มการสร้าง MCP-1 แต่ไม่มีผลใดๆ ต่อการสร้าง VEGF

2.4.5 ความเป็นพิษ (Toxicity)

2.4.5.1. การทดสอบความเป็นพิษ

เมื่อฉีดสารสกัดบวบก้นด้วย 50% เอทานอล เข้าทางช่องท้องของหนูเมาส์ ขนาด 250 มล/กก น้ำหนักตัว และเมื่อฉีดสารสกัดบวบก้นด้วย 70% เอทานอลเข้าใต้ผิวหนังหรือให้ทางปากแก่หนูขาว ขนาด 10 ก/กก น้ำหนักตัว ไม่พบความเป็นพิษ (Dhar และคณะ, 1968; Mokkhasmit และคณะ, 1971)

2.4.5.2. พิษต่อเซลล์

ไม่พบความเป็นพิษของสารสกัดบวบก้นด้วยเมทานอลและสารสกัดบวบก้นด้วยอะซีโตนต่อเซลล์ human lymphocyte (Babu และคณะ, 1995)

2.4.5.3. ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์

สารสกัดแอลกอฮอล์มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในแบบที่ต้องการเอนไซม์จากตับกระตุ้นการออกฤทธิ์ต่อเชื้อ *Salmonella typhimurium* TA98, TA100 (แก้ว กังสดาลอำไพและคณะ, 2553) โดยมีฤทธิ์ก่อ

กลายพันธุ์แบบ frameshift เท่านั้น ไม่พบแบบ base-pair substitution สารสกัดน้ำจากส่วนเหนือดิน ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อเชื้อ *S. typhimurium* TA98, TA100 แต่อย่างใด (Yen และคณะ, 2001)

2.4.5.4. พิษต่อระบบสืบพันธุ์

สารสกัดจากบับกขนาด 0.2 มล เมื่อฉีดเข้าใต้ผิวหนังของหนูเม้าส์ พบว่าไม่มีผลต่อการฝังตัวของตัวอ่อน (Matsui และคณะ, 1971) และสาร saponin จากทั้งต้น ขนาด 2% ไม่มีผลฆ่าเชื้ออสุจิของคน (Setty และคณะ, 1976)

2.4.5.5. การทำให้เกิดอาการแพ้

พบว่าสารสกัดบับกด้วย 30% อีเทอร์ ทำให้เกิดการระคายเคืองอย่างอ่อนต่อผิวหนังหนูตะเภา (Hausen, 1993) ในขณะที่สารสกัด glycoside 2% (Izu และคณะ, 1992) สารสกัดบับกด้วยน้ำ (Bilbao และคณะ, 1995) สารสกัดจากทั้งต้น 2% (ไม่ระบุชนิดสารสกัด) และสารสกัด Madecassol ที่ประกอบด้วย asiatic acid, madecassic acid และ asiaticoside (Eun และ Lee, 1985) ที่มีบับกเป็นส่วนประกอบ 1% ทำให้เกิด acute erythematobullous (Morante และคณะ, 1998) อย่างไรก็ตามอาการระคายเคืองต่อผิวหนังของบับกที่พบมีผลค่อนข้างต่ำ (Gruenwald, 2000)

2.5 สารสกัดมาตรฐานบับก อีซีเอ 233 (The standardized extract of *Centella asiatica* ECa 233)

จากปัญหาในเรื่องของความแปรปรวนของสารออกฤทธิ์ในสมุนไพร ซึ่งมีผลทำให้การออกฤทธิ์ไม่แน่นอน เพื่อขจัดปัญหาดังกล่าวคณะผู้วิจัยในคณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จึงได้เตรียมสารสกัดมาตรฐานบับก อีซีเอ 233 ซึ่งมีลักษณะเป็นผงละเอียดสีขาวนวล และสามารถควบคุมให้มีปริมาณสารสำคัญ คือ มี triterpenoid glycosides ไม่น้อยกว่า 80% และมีอัตราส่วนของสารสำคัญ madecassoside ต่อ asiaticoside เป็น $1.5 \pm 0.5 : 1.0$ (เอกรินทร์ สายฟ้า และคณะ, 2549)



รูปที่ 2.6 สารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233

สารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 มีความเป็นพิษต่ำ โดยเมื่อป้อนสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 10 ก/กก น้ำหนักตัว ให้หนูเมาส์เพียงครั้งเดียวในการศึกษาถึงความเป็นพิษแบบเฉียบพลันและการป้อนสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ในขนาด 10-1000 มก/กก น้ำหนักตัว แก่หนูแรทเป็นเวลา 90 วัน ติดต่อกันในการศึกษาถึงความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง พบว่าจะไม่ทำให้สัตว์ทดลองตาย (มยุรี ตันตีสิริระ และคณะ, 2551)

จากการศึกษาเมื่อไม่นานมานี้ โดยกรณิศ วรรณรัตน์ (2552) พบว่าสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 มีฤทธิ์ช่วยเร่งกระบวนการสมานแผลใหม่ระดับที่สองทั้งในหนูแรทปกติและหนูแรทที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน ขนาดของแผล ในหนูแรทที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบกอีซีเอ 233 จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบกอีซีเอ 233 นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 มีฤทธิ์เพิ่มการไหลเวียนของเลือดที่ผิวหนังและเมื่อศึกษาถึงลักษณะของแผลและการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคศาสตร์ พบว่าในหนูแรทกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 มีระดับเซลล์อักเสบลดลง และมีจำนวนต่อมขนเพิ่มขึ้น และจากการศึกษาในแผลกรีด พบว่าเจลสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาดความเข้มข้น 0.05% เมื่อให้โดยการทาบนแผลกรีดในหนูแรทปกติและหนูแรทที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน จะช่วยเร่งการสมานแผลกรีดที่เกิดขึ้นในหนูทั้งสองกลุ่มได้ โดยมีผลไปกระตุ้นการสร้างผิวหนังใหม่ เพิ่มความหนาของชั้นผิวหนังกำพวด (epidermal thickness) และมีผลเพิ่มแรงดึงสูงสุดที่ทำให้ผิวหนังแยกจากกัน (tensile strength) (หทัยชนก ทันอินทรอาจ, 2552) ในการศึกษาในาร่องเพื่อดูผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ในรูปของยาป้ายปากต่อแผลร้อนในชนิดไม่รุนแรง พบว่าในกลุ่ม

อาสาสมัครที่ได้รับยาป้ายปากที่มี อีซีเอ 233 ขนาดความเข้มข้น 0.05, 0.1 และ 0.2% สามารถลดขนาดแผลได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ชลดากร เรื่องประเสริฐกิจ, 2553)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สัตว์ทดลอง

หนูแรท สายพันธุ์ Wistar เพศผู้ น้ำหนักระหว่าง 250-300 กรัม จำนวน 120 ตัว จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา จังหวัดนครปฐม โดยสัตว์ทดลองทุกตัวจะถูกนำมาเลี้ยงในกรงพลาสติกที่มีวัสดุรองนอนเป็นขี้เลื่อยสะอาด ภายในห้องเลี้ยงสัตว์ทดลอง คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งมีการควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง 25 ± 1 องศาเซลเซียส ช่วงเวลาของแสงสว่างและมีด 12:12 ชั่วโมงต่อวัน มีระบบระบายอากาศ ก่อนนำมาทดลองเป็นเวลา 1 สัปดาห์ เพื่อให้สัตว์ทดลองได้ปรับสภาพร่างกาย โดยเลี้ยงดูสัตว์ทดลองด้วยอาหารสำเร็จรูป และน้ำสะอาดอย่างเพียงพอตามความต้องการของสัตว์ทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ปฏิบัติตามจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลองของสภาวิจัยแห่งชาติ พ.ศ.2549 และผ่านการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในสัตว์และมนุษย์ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (Approval No. 11-33-003)

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.2.1 เครื่องมือ

- Battalian
- Digital camera
- Spectrophotometer (Shimadzu UV-160A)
- Glucometer (Accu-CHEK advantage, USA)
- Glucose oxidase reagent strips (Accu-CHEK advantage, USA)
- Syringes
- Needles
- Sterile Gauze
- Beaker
- Image Tool V.3.0
- Microcentrifuge tube

- Absorbent paper.
- Tubes to prepare standard or sample dilutions.
- กรรไกรผ่าตัด

3.2.2 สารเคมี

- Alcohol (SIRIBUNCHA,Thailand)
- Normal saline solution (Klean & Kare, Thailand)
- Glybenclamide (Sigma, USA)
- Streptozotocin (Sigma, USA)
- Citrate buffer (Sigma, USA)
- Trichloroacetic acid (Sigma, USA)
- Sodium dodecyl sulfate (Sigma, USA)
- Ethylene diamine tetraacetic-Na salt (Sigma, USA)
- Buthylated hydroxytoluene (Sigma, USA)
- Thiobarbituric acid (Sigma, USA)
- Tetraethoxypropane (Sigma, USA)
- Methanol (Lab-scan Asia, Thailand)
- Carboxymethylcellulose (Sigma, USA)
- Pentobarbital sodium (NEMBUTAL[®], Sanofi, France)
- ครีมกำจัดขน

3.3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.3.1 การเหนี่ยวนำให้หนูเป็นเบาหวาน

งดอาหารสัตว์ทดลองเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ก่อนทำการเหนี่ยวนำให้หนูเป็นเบาหวาน โดยการฉีด Streptozotocin (STZ) ในขนาด 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (มก/กก) ที่ละลายใน citrate buffer 0.1 M pH 4.0 เข้าทางหลอดเลือดดำบริเวณหางหนู (Akbarzadeh และคณะ, 2007) หลังจากฉีด STZ ครบ 72 ชั่วโมง ตรวจระดับน้ำตาลในกระแสเลือดจากหลอดเลือดดำที่หางหนูด้วยเครื่อง Glucometer โดยจะงดอาหารหนูก่อนตรวจน้ำตาลเป็นเวลา 6 ชั่วโมง หนูที่มีระดับน้ำตาลในเลือดเท่ากับหรือสูงกว่า 200 มิลลิกรัม/เดซิลิตร (มก/ดล) จะถูกคัดเลือกเข้าสู่การทดลอง ภายหลังเหนี่ยวนำให้หนูเป็นเบาหวานแล้ว 7 วัน จะผ่าตัดให้หนูเกิดแผลเปิดที่บริเวณหลัง (Chitha, Sajithlal และ Chandrakasan, 1998)

3.3.2 การเตรียมและวิธีการให้สารทดสอบ

สารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ในงานวิจัยนี้มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีขาวนวล ประกอบด้วยสาร madecassoside 42.9% และ asiaticoside 38.8% โดยได้รับความอนุเคราะห์จากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชำนาญ ภัทรพานิช และคณะ นำสารทดสอบมาละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มล เพื่อให้แก่สัตว์ทดลองทางปาก โดยเตรียมสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ที่ขนาดต่างๆ ดังนี้ 5 มก/กก น้ำหนักตัว/วัน, 10 มก/กก น้ำหนักตัว/วัน, 30 มก/กก น้ำหนักตัว/วัน และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว/วัน

3.3.3 การผ่าตัดสัตว์ทดลองให้เกิดแผลเปิด (Excision wound model)

การผ่าตัดเปิดในการศึกษานี้เป็นวิธีที่มีการดัดแปลงมาจาก model ของ Morton และ Malone (1972) โดยสลบหนูด้วยการฉีด Pentobarbital sodium ในขนาด 60 มก/กก น้ำหนักตัว เข้าทางช่องท้อง (i.p.) เมื่อสัตว์ทดลองสลบแล้วจะโกนขนบริเวณหลังด้วย battalion แล้วทาครีมกำจัดขนทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที จึงเช็ดออกให้สะอาด ทำความสะอาดผิวหนังให้ปราศจากเชื้อด้วย 70% alcohol เมื่อผิวแห้งแล้วใช้กรรไกรผ่าตัดบริเวณหลังของหนูระหว่างกระดูกสะบัก (Intra-scapula region) โดยผ่าตัดเอาผิวหนังชั้น epidermis, dermis และ subcutaneous ออกทั้งหมด (รูปที่ 3.1) เพื่อให้เกิดแผลเปิดที่มีขนาด 2.0 x 2.0 ซม โดยทุกขั้นตอนใช้ sterile technique และเครื่องมือผ่าตัดทุกชิ้นถูกทำให้ปราศจากเชื้อด้วย 70% alcohol หลังจากนั้นสัตว์ทดลองจะถูกแยกไว้กรงละหนึ่งตัว โดยได้รับอาหารและน้ำตามปกติ



รูปที่ 3.1 ลักษณะของแผลเปิด (excision wound) ขนาด 2.0 x 2.0 ซม

การแบ่งกลุ่มสัตว์ทดลอง

สัตว์ทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานเมื่อทำการผ่าตัดให้เกิดแผลเปิด แล้วจะถูกแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ตัว เพื่อศึกษาผลการสมานแผลในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 หลังการผ่าตัดให้เกิดแผลเปิด ดังนี้

กลุ่มที่ 1 : หนูเบาหวานที่ทำให้เกิดแผลเปิดและไม่ได้รับการรักษา (กลุ่มควบคุม)

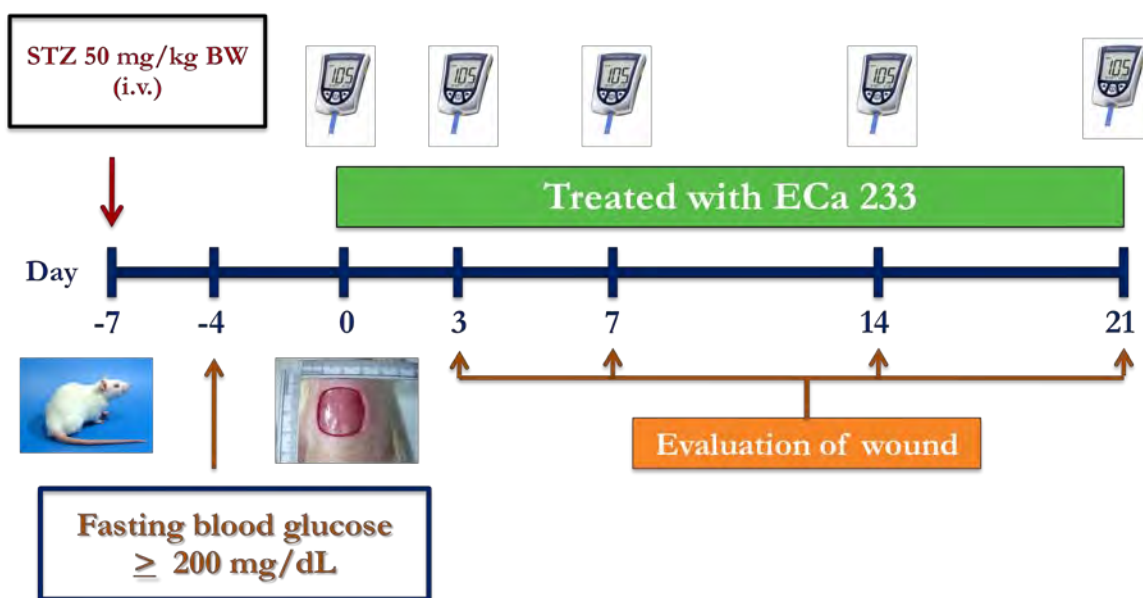
กลุ่มที่ 2 : หนูเบาหวานที่ทำให้เกิดแผลเปิดและได้รับสารละลายที่มีสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 5 มก/กก/วัน ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มล ทางปาก

กลุ่มที่ 3 : หนูเบาหวานที่ทำให้เกิดแผลเปิดและได้รับสารละลายที่มีสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 10 มก/กก/วัน ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มล ทางปาก

กลุ่มที่ 4: หนูเบาหวานที่ทำให้เกิดแผลเปิดและได้รับสารละลายที่มีสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 30 มก/กก/วัน ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มล ทางปาก

กลุ่มที่ 5: หนูเบาหวานที่ทำให้เกิดแผลเปิดและได้รับสารละลายที่มีสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 60 มก/กก/วัน ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มล ทางปาก

ให้สารทดสอบแก่สัตว์ทดลอง วันละครั้ง เป็นเวลา 3, 7, 14 และ 21 วัน สังเกตการเปลี่ยนแปลงของแผลและบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น โดยสังเกตจากลักษณะภายนอกของแผลและขนาดของแผล หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิดในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 วัน ใช้กล้องดิจิทัลถ่ายภาพบาดแผล เพื่อนำมาคำนวณ wound area โดยใช้โปรแกรม Image Tool V.3.0 คำนวณอัตราการสมานแผล (Liu และคณะ, 2008) วัดปริมาณการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนัง (Lindblom และคณะ, 2000) รวมทั้งนำเนื้อเยื่อบริเวณบาดแผลมาหาปริมาณคอเลสเตอรอล ศึกษาปฏิกิริยา lipid peroxidation และศึกษาพยาธิจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อ (histopathology) (Kumar และคณะ, 2008) โดยในทุกวันที่ประเมินการหายของแผลจะศึกษาผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ต่อระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของหนูเบาหวานด้วย (Padee และคณะ, 2010) (รูปที่ 3.2)



รูปที่ 3.2 แผนผังแสดงวิธีการทดลอง

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1. ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ต่อการลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดและน้ำหนักตัว

การศึกษาผลของสารทดสอบต่อการลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือด จะทำ โดยวัดระดับน้ำตาลในวันที่ผ่าตัดแผลเปิด (วันที่ 0) และในวันที่ประเมินการหายของแผล (วันที่ 3, 7, 14 และ 21 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด) โดยจะอดอาหารหนูเป็นเวลา 6 ชั่วโมงก่อนเจาะเลือด นำเลือดที่เจาะจากหลอดเลือดดำบริเวณหางของหนูมาหยดลงบน Glucose oxidase reagent strips จากนั้นอ่านค่าระดับน้ำตาลในกระแสเลือดโดยใช้เครื่อง Glucometer (Padee และคณะ, 2010) นำระดับน้ำตาลที่ได้ในวันที่ประเมินมาเปรียบเทียบกับค่าในวันเริ่มต้น นอกจากนี้บันทึกน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลงไปของสัตว์ทดลองในทุกวันที่ประเมินการหายของแผล เพื่อดูผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ต่อน้ำหนักตัวของสัตว์ทดลอง

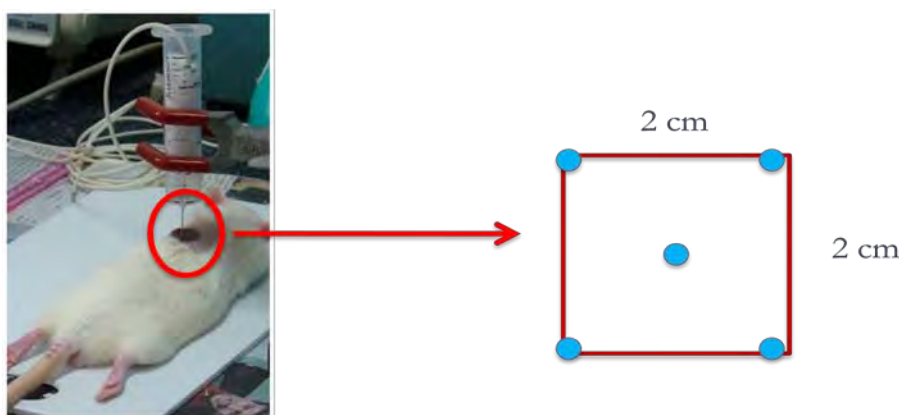
3.4.2. การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ต่อการสมานแผล ด้วยการประเมินอัตราการสมานแผล (Rate of wound healing)

สังเกตการเปลี่ยนแปลงภายนอกของบาดแผลในหนูแต่ละตัว บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในแต่ละวัน ถ่ายภาพแผลเปิดโดยใช้กล้องดิจิทัล เพื่อวัดขนาดของแผลในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 หลังจากทำให้หนูเป็นแผลเปิด โดยใช้โปรแกรม Image Tool V.3.0 แล้วคำนวณอัตราการสมานแผลเพื่อเปรียบเทียบกับแผลในวันที่ 0 (วันที่ผ่าตัดให้เกิดแผลเปิด) โดยใช้สูตร (Liu และคณะ, 2008)

$$\text{Wound healing rate (\%)} = \left[\frac{(\text{wound area on day 0} - \text{wound area on day N})}{\text{wound area on day 0}} \right] \times 100\%$$

3.4.3. ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ต่อการสมานแผลด้วยการวัดปริมาณการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนัง (Cutaneous blood flow)

วัดปริมาณการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนังโดยใช้ Laser Doppler Flowmeter (Perimed AB SE-175 26, PeriFlux System 5000) (Lindblom และคณะ, 2000) นำ needle probe วางบนผิวหนัง วัดการไหลเวียนของเลือดที่บาดแผล 5 ตำแหน่ง คือ ตรงกลางของบาดแผล และ ที่ตำแหน่งมุมของแผล 4 จุด (รูปที่ 3.3) ใช้เวลาวัดตำแหน่งละ 1 นาที และนำค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย จากนั้นนำมาคำนวณเป็นค่าเฉลี่ยร้อยละของการไหลเวียนเลือด



รูปที่ 3.3 การวัด cutaneous blood flow ที่บริเวณบาดแผล

3.4.4. ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ต่อการสमानแผลด้วยการวัดปริมาณคอลลาเจน (Collagen assay)

การตรวจหาปริมาณคอลลาเจนที่ผิวหนังบริเวณบาดแผล โดยใช้ punch biopsies ขนาด 5 มม เจาะผิวหนังตรงบริเวณที่มีแผล เก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ - 80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการวิเคราะห์ ซึ่งการตรวจหาปริมาณคอลลาเจนจะใช้ Sircol Collagen Assay kit โดยนำผิวหนังส่วนดังกล่าวมา homogenize ด้วย pepsin (โดยใช้ pepsin 100 มก/ก ของน้ำหนักผิวหนัง) ใน 0.5 M acetic acid ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติม Sircol dye reagent ปริมาณ 1 มล นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที นำส่วนที่ตกตะกอนมาเติมด้วย Alkali reagent แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer (Jimenez และ Rampy, 1999)

3.4.5. ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ต่อการสमानแผลโดย Lipid peroxidation assay

ศึกษาปฏิกิริยา lipid peroxidation โดยตรวจวัดระดับของ malondialdehyde (MDA) นำชิ้นเนื้อบริเวณแผลน้ำหนักประมาณ 0.17 - 0.25 ก มา homogenize ด้วย 10% trichloroacetic acid ปริมาตร 1.8 มล และ butylated hydroxy toluene in methanol (0.5 ก/ล) ปริมาตร 0.2 มล ที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที นำส่วนบน (supernatant) มาผสมกับ 0.67% 2-thiobarbituric acid ในอัตราส่วนที่เท่ากัน จากนั้นนำไป incubated ที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เมื่อส่วนผสมแยกชั้น นำส่วนบน (supernatant) มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตรด้วยเครื่อง spectrophotometer (Wei และคณะ, 2002)

3.4.6. ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ต่อการสमानแผลด้วยการวิเคราะห์ทางพยาธิจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อ (Histopathological study)

นำชิ้นเนื้อเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะวิเคราะห์ จากนั้นนำชิ้นเนื้อมาตัดเป็นแผ่นบาง ความหนาแผ่นละ 20 μm ด้วยเครื่อง freezing microtome ที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส นำไปย้อมสีโดยวิธี Hematoxylin และ Eosin เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ re-epithelialization โดยวิเคราะห์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ธรรมดา ใช้กำลังขยายสี่สิบเท่าและกำลังขยายร้อยเท่า (Liu และคณะ, 2008)

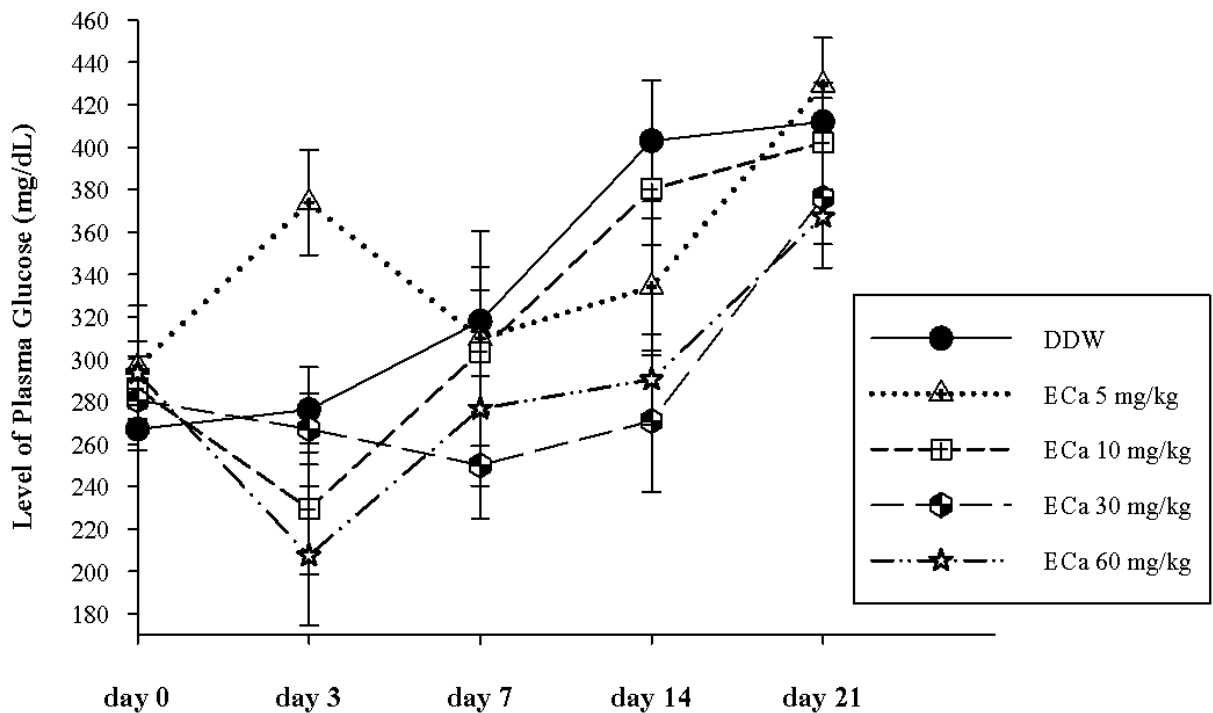
3.5 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ผลการทดลองรายงานเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (mean \pm standard error of the means, S.E.M.) วิเคราะห์ความแตกต่างภายในกลุ่มทดลองด้วย Pair-T test วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองโดยใช้ one - way analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วย Least Significant Difference test (LSD) พิจารณาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ $P < 0.05$

บทที่ 4 ผลการทดลอง

4.1. ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ต่อระดับน้ำตาลในกระแสเลือดและน้ำหนักตัว

ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว ต่อระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของหนูที่เป็นเบาหวานด้วย streptozotocin (STZ) ในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด แสดงในรูปที่ 4.1, 4.2, 4.3 และตารางที่ 4.1

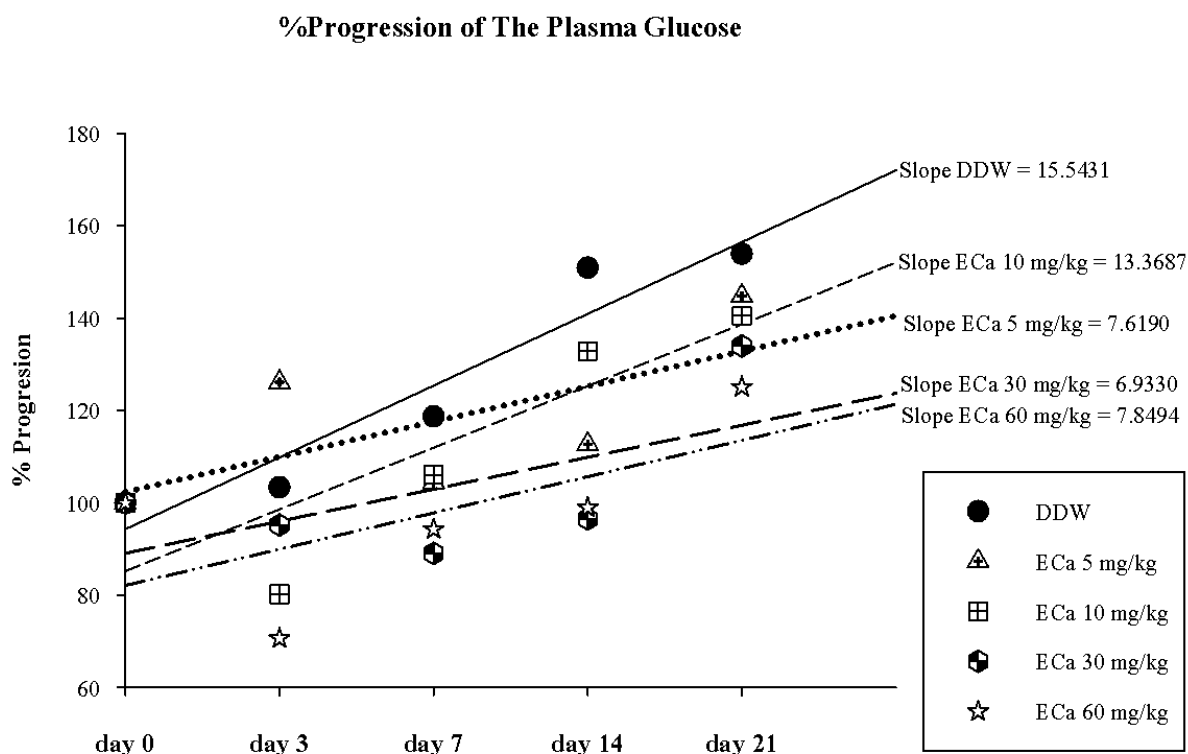


รูปที่ 4.1 ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว ต่อระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของหนูเบาหวานในวันที่ 0, 3, 7, 14 และ 21

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย \pm ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

จากรูปที่ 4.1 และตารางที่ 4.1 พบว่าระดับน้ำตาลในกลุ่มควบคุมนั้นจะมีค่าเพิ่มขึ้นตลอดการทดลอง โดยวัดระดับน้ำตาลในวันที่ 0 ได้เท่ากับ 267.00 ± 9.73 mg/dL และเพิ่มขึ้นเป็น 411.80 ± 11.25 mg/dL ในวันที่ 21

ขณะที่กลุ่มการทดลองที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว จะมีระดับน้ำตาลในวันที่ 3 ลดลงจากค่าเริ่มต้น จากนั้นจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นตลอดการทดลอง อย่างไรก็ตามพบว่าสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ไม่สามารถลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดในวันที่ 21 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายของการทดลอง ให้ลดลงมา มีระดับที่ต่ำกว่าค่าเริ่มต้นได้ แต่เมื่อนำระดับน้ำตาลที่วัดได้ในวันต่างๆ มาคำนวณหาอัตราการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในแต่ละกลุ่มการทดลอง ผลที่ได้ดังแสดงในรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 อัตราการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของหนูเบาหวานในกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ในขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว

รูปที่ 4.2 แสดงให้ทราบว่าสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 5, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว มีผลช่วยชะลอการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในกระแสเลือดให้เกิดได้ช้าลง โดยสารสกัด

มาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 30 มก/กก น้ำหนักตัว สามารถช่วยชะลอการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในกระแสเลือดได้ดีกว่าสารสกัดมาตรฐานบัวบก ขนาดอื่นๆ

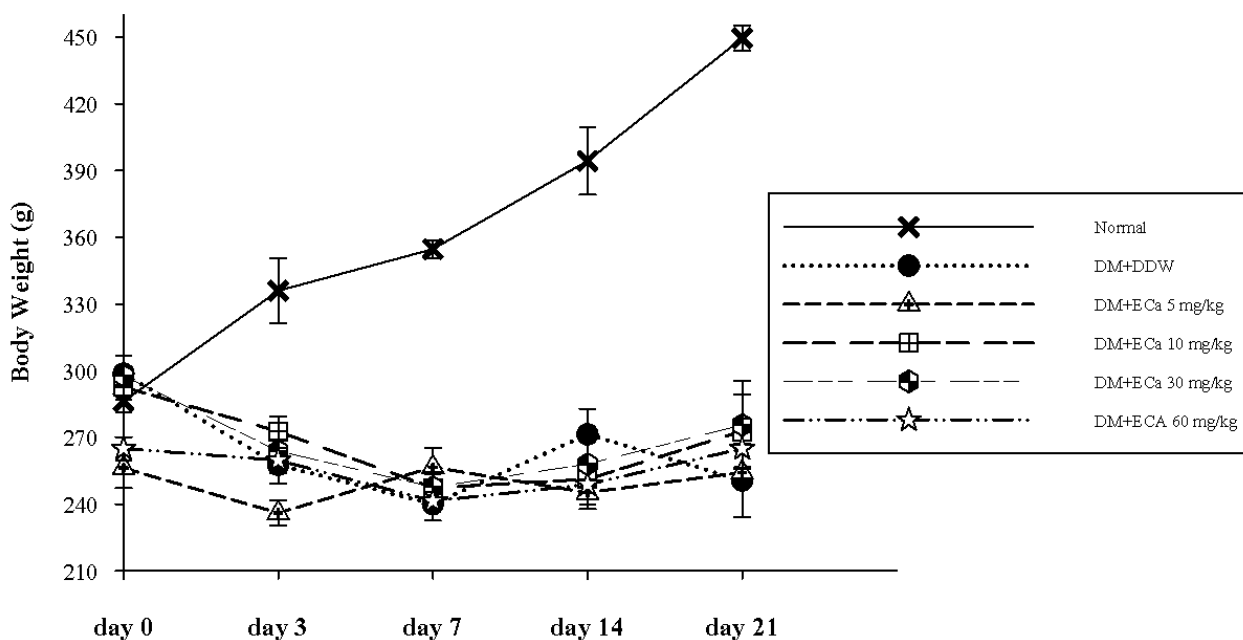
ตารางที่ 4.1 ผลของสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว ที่ให้ทางปาก ต่อระดับน้ำตาลในกระแสเลือด ในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 หลังจากเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วยการฉีด streptozotocin 50 มก/กก น้ำหนักตัว

Groups	Level of blood sugar (mg/dL)				
	Day 0	Day 3	Day 7	Day 10	Day 21
DDW	267.00± 9.73	276.17± 20.01	317.83± 25.65	403.00± 28.7 *	411.80± 11.25*
ECa 5 mg/kg	296.5± 28.66	373.83± 24.74	309.75± 50.64	334.07± 32.31	429.33± 22.08 *
ECa 10 mg/kg	286.11± 15.04	229.43± 30.86	303.44± 29.27	380.14± 26.51 *	402.00± 28.30 *
ECa 30 mg/kg	280.71± 9.03	267.14± 16.84	250.00± 25.23	270.86± 33.22	376.17± 33.18
ECa 60 mg/kg	293.50± 14.98	207.33± 32.89 *	276.71± 36.35	290.43± 21.52	367.15± 12.96 *

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=6)

* แสดงความแตกต่างของค่าระดับน้ำตาลในกระแสเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ด้วยความเชื่อมั่น 95 %) ระหว่างค่าระดับน้ำตาลในกระแสเลือดในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 กับค่าระดับน้ำตาลในวันเริ่มต้น (วันที่ 0)

นอกจากนี้พบว่าสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ไม่มีผลช่วยเพิ่มน้ำหนักตัวแก่หนู เบาทหวาน โดยจากรูปที่ 4.3 พบว่าทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ทุกขนาดนั้น มีน้ำหนักตัวลดลงตลอดการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบกับกับหนูปกติ



รูปที่ 4.3 ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว ต่อ น้ำหนักตัวของสัตว์ทดลองกลุ่มต่างๆ ในวันที่ 0, 3, 7, 14 และ 21 ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย \pm ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

4.2. ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ต่อการหายของแผลเปิดด้วยการประเมินอัตราการสมานแผล (Rate of wound healing)

ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ในขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว ต่อ การหายของแผลเปิด เมื่อพิจารณาความแตกต่างของแผลจากลักษณะแผลภายนอก ในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 แสดงในรูปที่ 4.4, 4.5, 4.6 และ 4.7 ตามลำดับ

รูปที่ 4.4 แสดงลักษณะแผลภายนอกของกลุ่มการทดลองต่างๆ ในวันที่ 3 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด โดยพบว่าขนาดของแผลในทุกกลุ่มการทดลองนั้นไม่มีความแตกต่างกัน แต่กลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 5 มก/กก น้ำหนักตัว นั้น จะมีบาดแผลที่แห้งกว่าในกลุ่มการทดลองอื่นๆ เมื่อถึงวันที่ 7 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด (รูปที่ 4.5) พบว่าลักษณะ

บาดแผลในทุกกลุ่มการทดลองนั้น มีสะเก็ดแผลที่หนาและแข็งคลุมบริเวณบาดแผล และขนาดของแผลไม่มีความแตกต่างกัน ในวันที่ 14 หลังจากเหนียวน้ำให้เกิดแผลเปิด ขนาดของบาดแผลในทุกกลุ่มการทดลองจะมีขนาดเล็กลงอย่างเห็นได้ชัด มีชั้นผิวหนัง ถูกสร้างขึ้นมาทดแทนบริเวณบาดแผลเดิม โดยกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว จะมีขนาดของบาดแผลที่เล็กลงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างชัดเจน (รูปที่ 4.6) และในวันที่ 21 ทุกกลุ่มการทดลองจะปรากฏชั้นผิวหนังขึ้นมาทดแทนบริเวณที่เคยเป็นแผลเกือบสมบูรณ์ โดยจะพบร่องรอยของแผลเป็นรอยสีเหลือง ขนาดเล็กๆ ซึ่งขนาดของแผล ที่พบในทุกกลุ่มการทดลองนั้น ไม่มีความแตกต่างกัน (รูปที่ 4.7) รูปที่ 4.8 แสดงอัตราการหายของแผลในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 พบว่า สารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ในขนาดต่างๆ นั้นไม่มีผลเร่งต่อการหายของแผลเปิดอย่างชัดเจน โดยกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ในทุกกลุ่มการทดลองจะมีอัตราการหายของแผลใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม มีเพียงวันที่ 14 ที่อัตราการหายของแผลในหมู่อีกกลุ่มที่ได้รับสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 30 มก/กก น้ำหนักตัว เกิดได้เร็วกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

วันที่ 3

A.



B.



C.



D.



E.



รูปที่ 4.4 ลักษณะภายนอกของแผลในกลุ่มการทดลองต่างๆ ในวันที่ 3 หลังจากเกิดแผลเปิด

- A กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับน้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม)
- B กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 5 มก/กก น้ำหนักตัว
- C กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 10 มก/กก น้ำหนักตัว
- D กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 30 มก/กก น้ำหนักตัว
- E กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 60 มก/กก น้ำหนักตัว

วันที่ 7

A.



B.



C.



D.



E.



รูปที่ 4.5 ลักษณะภายนอกของแผลในกลุ่มการทดลองต่างๆ ในวันที่ 7 หลังจากเกิดแผลเปิด

- A กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับน้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม)
- B กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 5 มก/กก น้ำหนักตัว
- C กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 10 มก/กก น้ำหนักตัว
- D กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 30 มก/กก น้ำหนักตัว
- E กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 60 มก/กก น้ำหนักตัว

วันที่ 14

A.



B.



C.



D.



E.



รูปที่ 4.6 ลักษณะภายนอกของแผลในกลุ่มการทดลองต่างๆ ในวันที่ 14 หลังจากเกิดแผลเปิด

- A กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับน้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม)
- B กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 5 มก/กก น้ำหนักตัว
- C กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 10 มก/กก น้ำหนักตัว
- D กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 30 มก/กก น้ำหนักตัว
- E กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 60 มก/กก น้ำหนักตัว

วันที่ 21

A.



B.



C.



D.



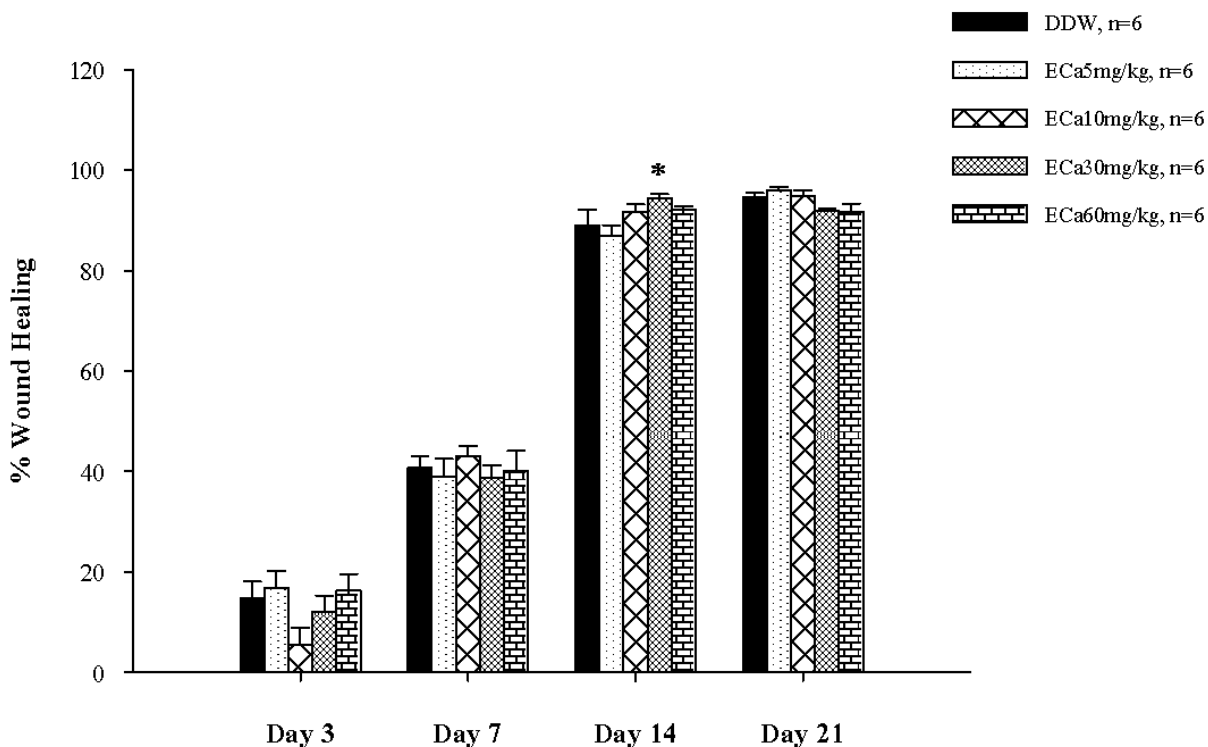
E.



รูปที่ 4.7 ลักษณะภายนอกของแผลในกลุ่มการทดลองต่างๆ ในวันที่ 21 หลังจากเกิดแผลเปิด

- A กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับน้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม) และกลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับ
- B กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 5 มก/ก น้ำหนักตัว
- C กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 10 มก/ก น้ำหนักตัว
- D กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 30 มก/ก น้ำหนักตัว
- E กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 60 มก/ก น้ำหนักตัว

Rate of Wound Healing



รูปที่ 4.8 ผลของสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว ต่อ อัตราการหายของบาดแผลในหนูเบาหวาน ในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย \pm ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P > 0.05$)

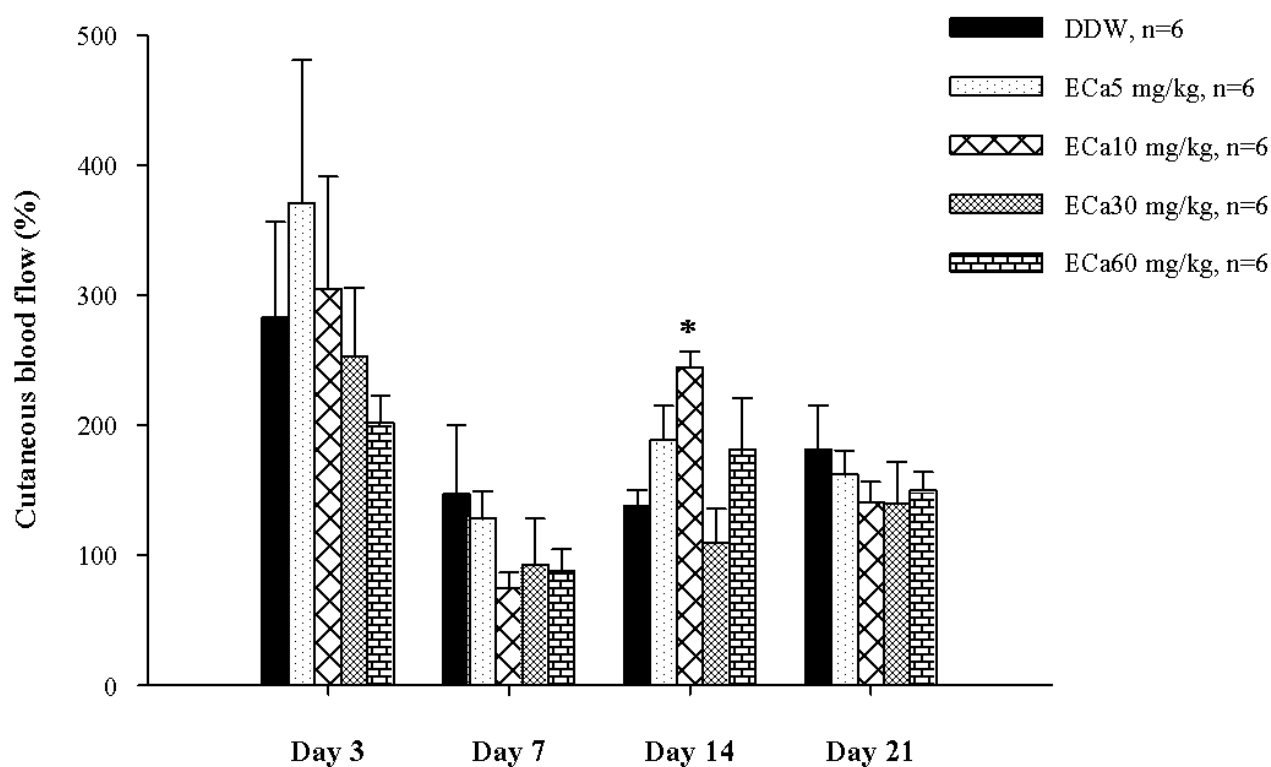
4.3. ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ต่อการหายของแผลเปิดด้วยการวัดปริมาณการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนัง (Cutaneous blood flow)

ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว ที่ให้ทางปาก ต่อปริมาณการไหลเวียนของเลือดที่ผิวหนังของหนูเบาหวานที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด ในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 แสดงในรูปที่ 4.9

รูป 4.9 แสดงให้เห็นว่าทุกกลุ่มการทดลองจะมีค่าเฉลี่ยร้อยละของปริมาณการไหลเวียนเลือดในวันที่ 3 เพิ่มขึ้นสูงสุด หลังจากนั้นค่าเฉลี่ยร้อยละของปริมาณการไหลเวียนเลือดจะลดลงในวันที่ 7 และเพิ่มขึ้นอีกครั้งในวันที่ 14 โดยกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 10 มก/กก

น้ำหนักตัว มีค่าเฉลี่ยร้อยละของปริมาณการไหลเวียนเลือด เท่ากับ $244.09 \pm 12.84\%$ ซึ่งเพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุม ($137.21 \pm 10.6\%$) ได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

วันที่ 21 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด ค่าเฉลี่ยร้อยละของปริมาณการไหลเวียนเลือดจะลดลงจากวันที่ 14 เล็กน้อยและไม่พบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยร้อยละของปริมาณการไหลเวียนเลือดระหว่างกลุ่มการทดลอง



รูปที่ 4.9 ผลของสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว ต่อการไหลเวียนของเลือดที่ผิวหนังในหนูเบาหวาน ในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย \pm ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

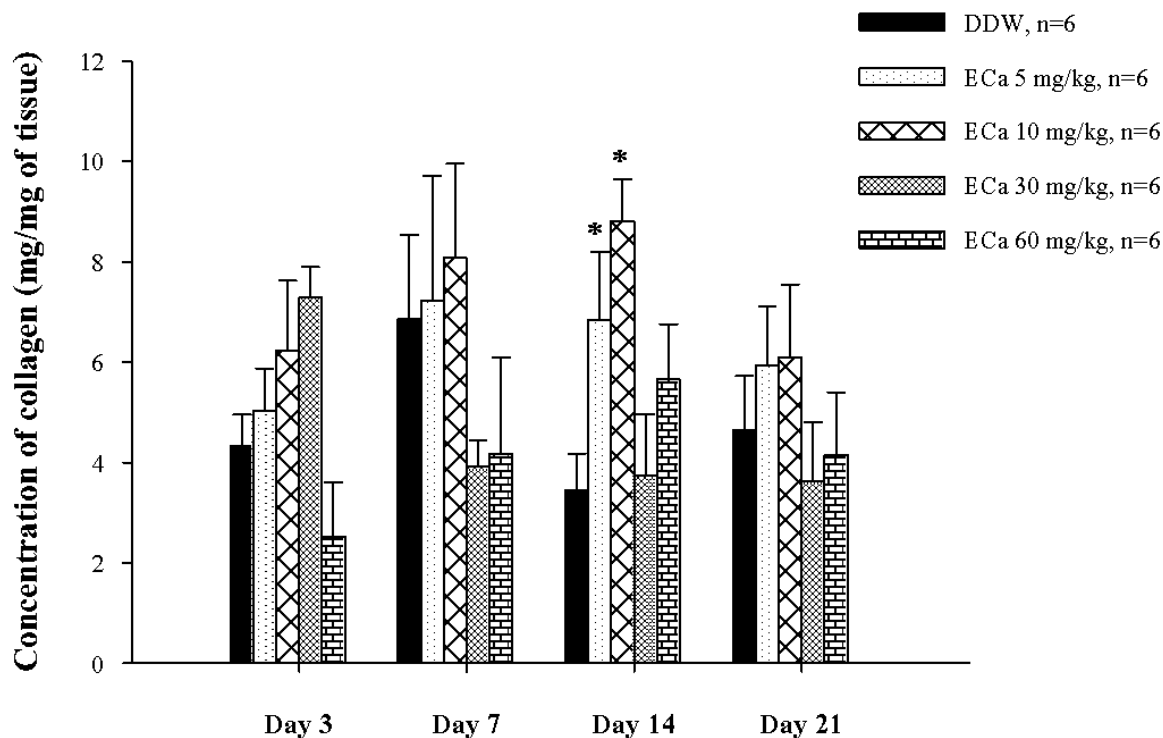
* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P > 0.05$)

4.4. ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ต่อการสมานแผลด้วยการวัดปริมาณคอลลาเจน (Collagen assay)

ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ในขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว ที่ให้ทางปาก ต่อปริมาณของ collagen ที่บริเวณแผล แสดงในรูปที่ 4.10 โดยการวิจัยนี้ใช้ Sircol Collagen Assay kit ในการหาปริมาณ collagen

จากรูปที่ 4.10 พบว่ากลุ่มควบคุมจะมีปริมาณ collagen เพิ่มขึ้นในช่วงแรก (ในวันที่ 3 และวันที่ 7) จากนั้นจะลดลงในวันที่ 14 และวันที่ 21 ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 5 และ 10 มก/กก น้ำหนักตัว จะมีปริมาณ collagen เพิ่มสูงขึ้นจนถึงวันที่ 14 โดยปริมาณ collagen ที่วัดได้ในวันที่ 14 นั้นเท่ากับ 6.84 ± 1.35 และ 8.81 ± 0.84 mg/mg of tissue ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากนั้นปริมาณ collagen จะลดลงในวันที่ 21

กลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 30 มก/กก น้ำหนักตัว จะมีปริมาณ collagen เพิ่มขึ้นในวันที่ 3 โดยมีค่าเท่ากับ 7.29 ± 0.61 mg/mg of tissue จากนั้นปริมาณ collagen ที่วัดได้นั้นจะลดลงตลอดการทดลอง ขณะที่กลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 60 มก/กก น้ำหนักตัว จะมีปริมาณ collagen เพิ่มสูงขึ้นในช่วงแรกและจะลดลงในวันที่ 21 เช่นเดียวกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 5 และ 10 มก/กก น้ำหนักตัว



รูปที่ 4.10 ผลของสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว ต่อปริมาณ collagen ที่ขึ้นเนื้อ บริเวณแผลของหนูเบาหวาน ในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด

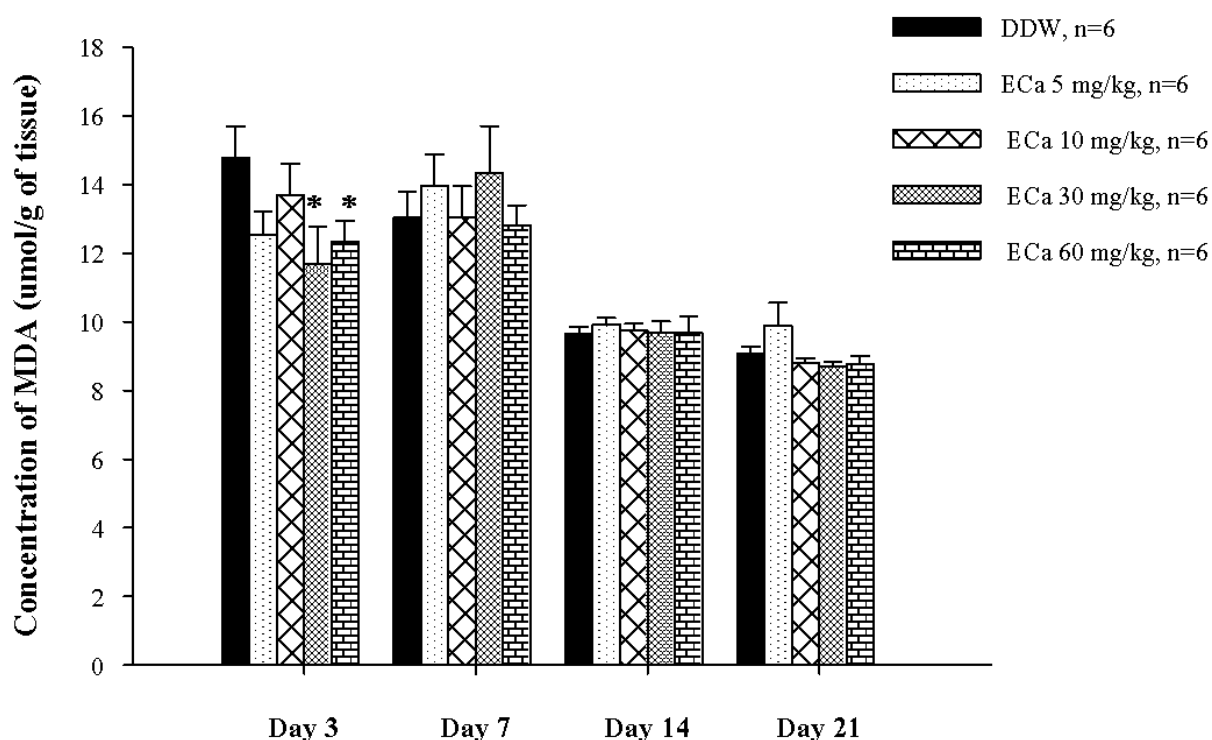
ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย \pm ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P > 0.05$)

4.5. ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ต่อการสมานแผลโดย Lipid peroxidation assay

ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ในขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว ที่ให้ทางปาก ต่อภาวะ oxidative stress ในหนูเบาหวาน โดยการวัดปริมาณสาร malondialdehyde (MDA) ซึ่งเป็น end product ของปฏิกิริยา lipid peroxidation แสดงในรูปที่ 4.11 โดยวันที่ 3 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด พบว่าสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ทุกขนาด สามารถลดปริมาณ MDA ได้ โดยกลุ่มที่ได้รับ สารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว จะลดปริมาณ MDA ในหนูเบาหวานได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม

ควบคุม ซึ่งปริมาณ MDA ที่วัดได้ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว เท่ากับ 11.68 ± 1.07 และ 12.34 ± 0.61 $\mu\text{mol/g}$ of tissue ตามลำดับ ในขณะที่ระดับ MDA ในหนูกลุ่มควบคุม เท่ากับ 14.77 ± 0.91 $\mu\text{mol/g}$ of tissue สำหรับวันที่ 7, 14 และ 21 พบว่าปริมาณ MDA ที่วัดได้จากกลุ่มที่ได้รับสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ทุกขนาด ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมแต่อย่างใด



รูปที่ 4.11 ผลของสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว ต่อปริมาณ malondialdehyde (MDA) ที่ขึ้นเนื้อ บริเวณแผลของหนูเบาหวาน ในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด

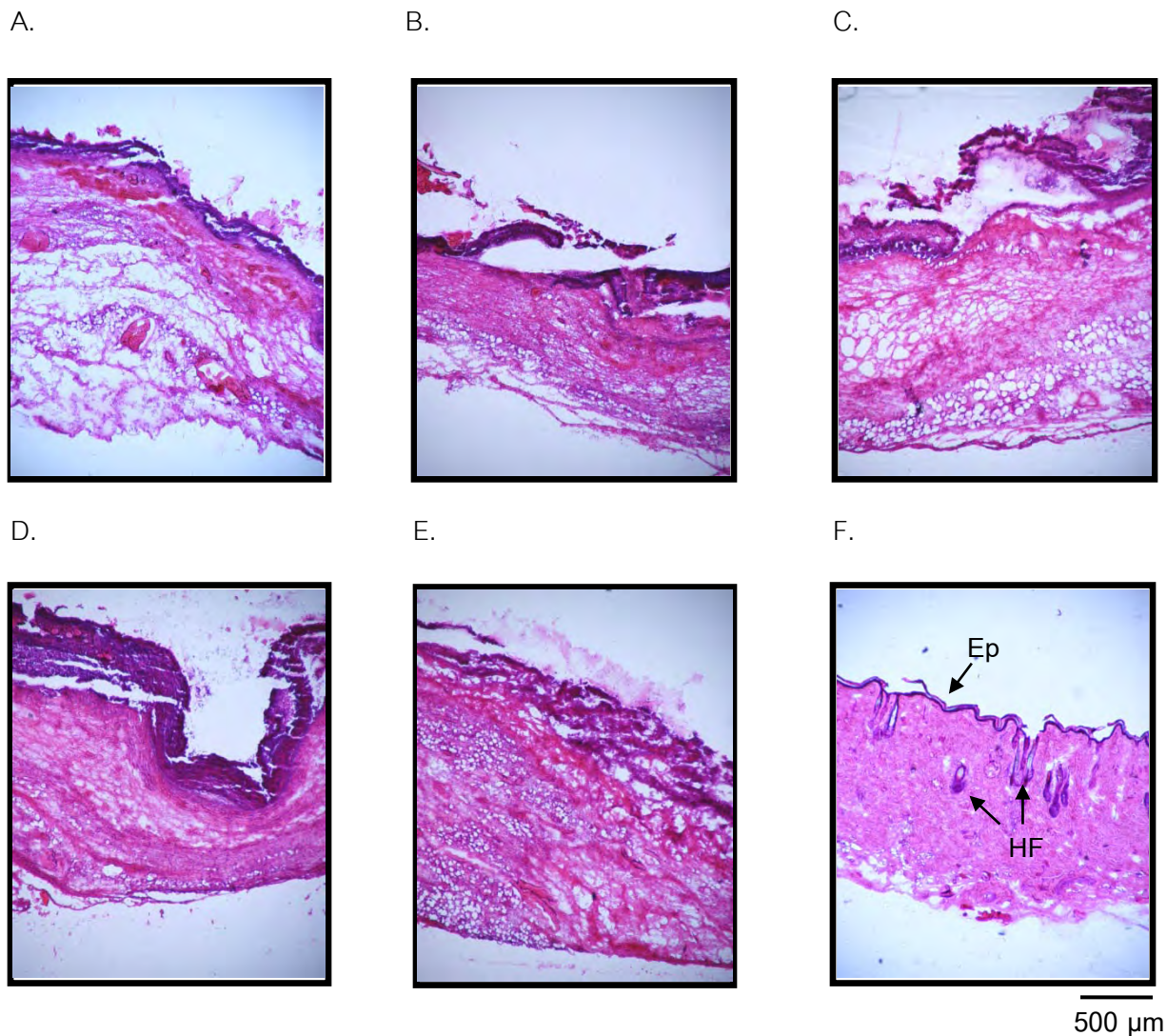
ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย \pm ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย

* แสดงความแตกต่างของปริมาณ malondialdehyde (MDA) ที่ขึ้นเนื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม, $P < 0.05$

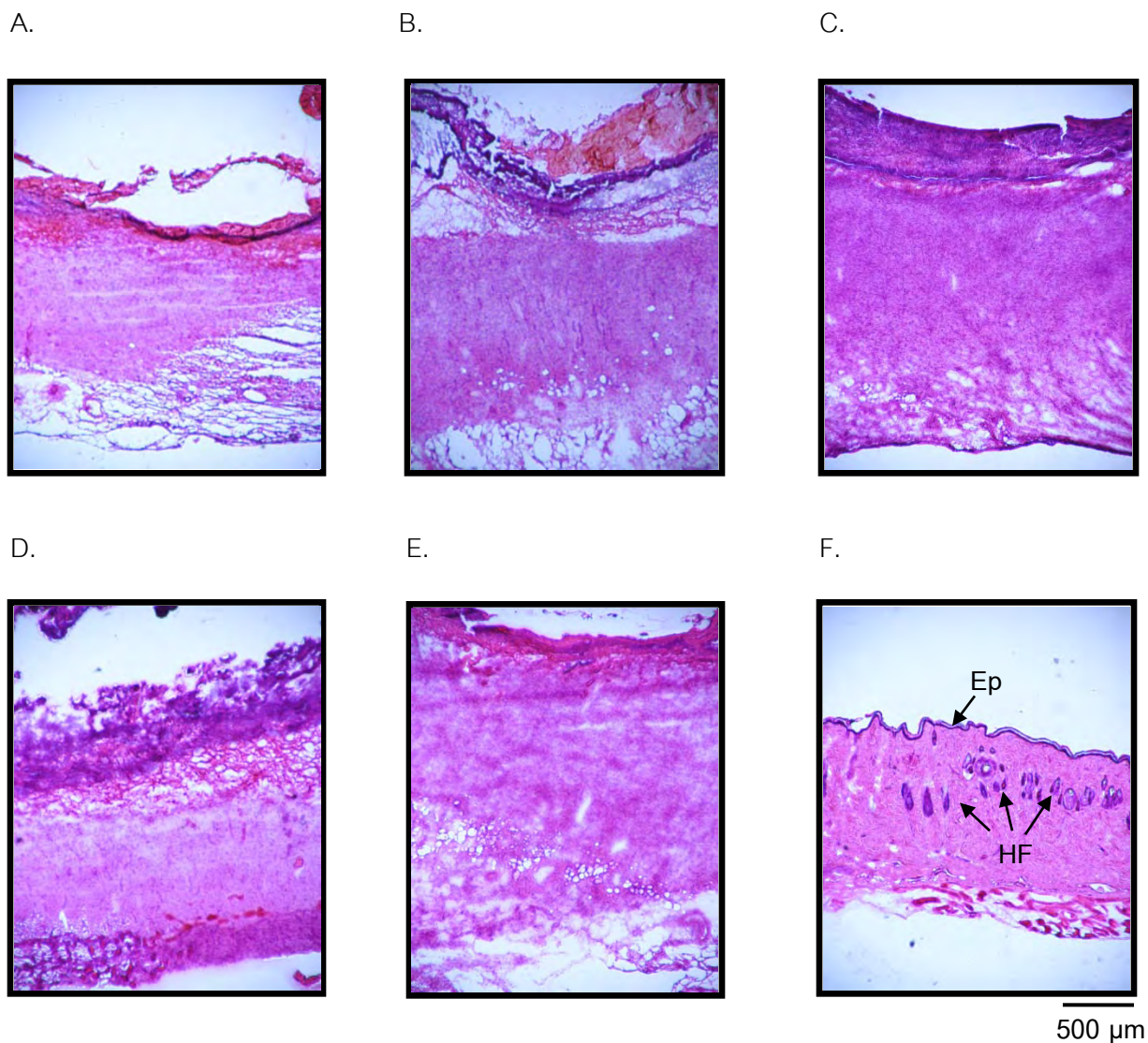
4.6 ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ต่อการสมานแผลเปิดด้วยการวิเคราะห์ทางพยาธิจุลกายวิภาคศาสตร์ (Histopathology study) ของเนื้อเยื่อผิวหนัง

การศึกษาฤทธิ์สมานแผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ในหนูแรทกลุ่มต่างๆ ดำเนินการในวันที่ 3 ,7 ,14 และ 21 หลังการทำให้เกิดแผลเปิด โดยการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิจุลกายวิภาคศาสตร์ของชิ้นเนื้อที่ถูกตัดเป็นแผ่นบาง 20 ไมโครเมตร ย้อมด้วยสีย้อม hematoxylin และ eosin แล้วศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่ผิวหนังบริเวณจุดศูนย์กลางของแผลเปิดด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40 เท่า ผลการศึกษาแสดงไว้ในรูป 4.12 ถึง 4.15

รูปที่ 4.12 แสดงพยาธิสภาพของผิวหนังบริเวณแผลเปิดของหนูเบาหวานกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น (A) กลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก./กก น้ำหนักตัว (B, C, D, และ E ตามลำดับ) และหนูกลุ่มเบาหวานที่ไม่ถูกทำให้เกิดแผล (F) ในวันที่ 3 หลังการทำให้เกิดแผลเปิด ผลการศึกษาพบว่า ผิวหนังบริเวณที่เกิดแผลทุกกลุ่มยังไม่พบการสร้าง ชั้น epidermis และ dermis อย่างชัดเจน ทำให้ไม่สามารถระบุขอบเขตของชั้น epidermis และ dermis ที่บริเวณผิวหนังบนสุด จะพบเพียงเศษเลือดที่แข็งตัวและเซลล์ที่ตายที่บริเวณพื้นผิวเท่านั้น อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบลักษณะของแผลในหนูกลุ่มควบคุม (A) กับกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ทั้ง 4 ขนาด (B - E) จะพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ทุกขนาดจะเริ่มเห็นการฟื้นตัวจากบาดแผลชัดกว่าหนูกลุ่มควบคุม โดยจะพบว่าเริ่มมีการสร้างเนื้อเยื่อผูกพันซึ่งมีเส้นใย collagen ขนาดเล็กบางๆ มากกว่าในหนูกลุ่มควบคุม ในขณะที่บริเวณแผลเปิดส่วนใหญ่ยังคงเป็นช่องว่างที่ยังไม่มีทั้งเซลล์ และเส้นใย collagen เข้าไปแทรก นอกจากนั้นจากศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยายเพิ่มมากขึ้นพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 จะพบหลอดเลือดฝอยแทรกอยู่ในบริเวณดังกล่าวมากกว่าหนูกลุ่มควบคุม



รูปที่ 4.12 พยาธิสภาพของชั้นเนื้อบริเวณแผล ของกลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับน้ำกลั่น (A) กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีไอ 233 ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว (B, C, D และ E ตามลำดับ) และกลุ่มหนูเบาหวานที่ไม่ได้ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด (F) ในวันที่ 3 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด
 Ep = epidermis, HF = hair follicle



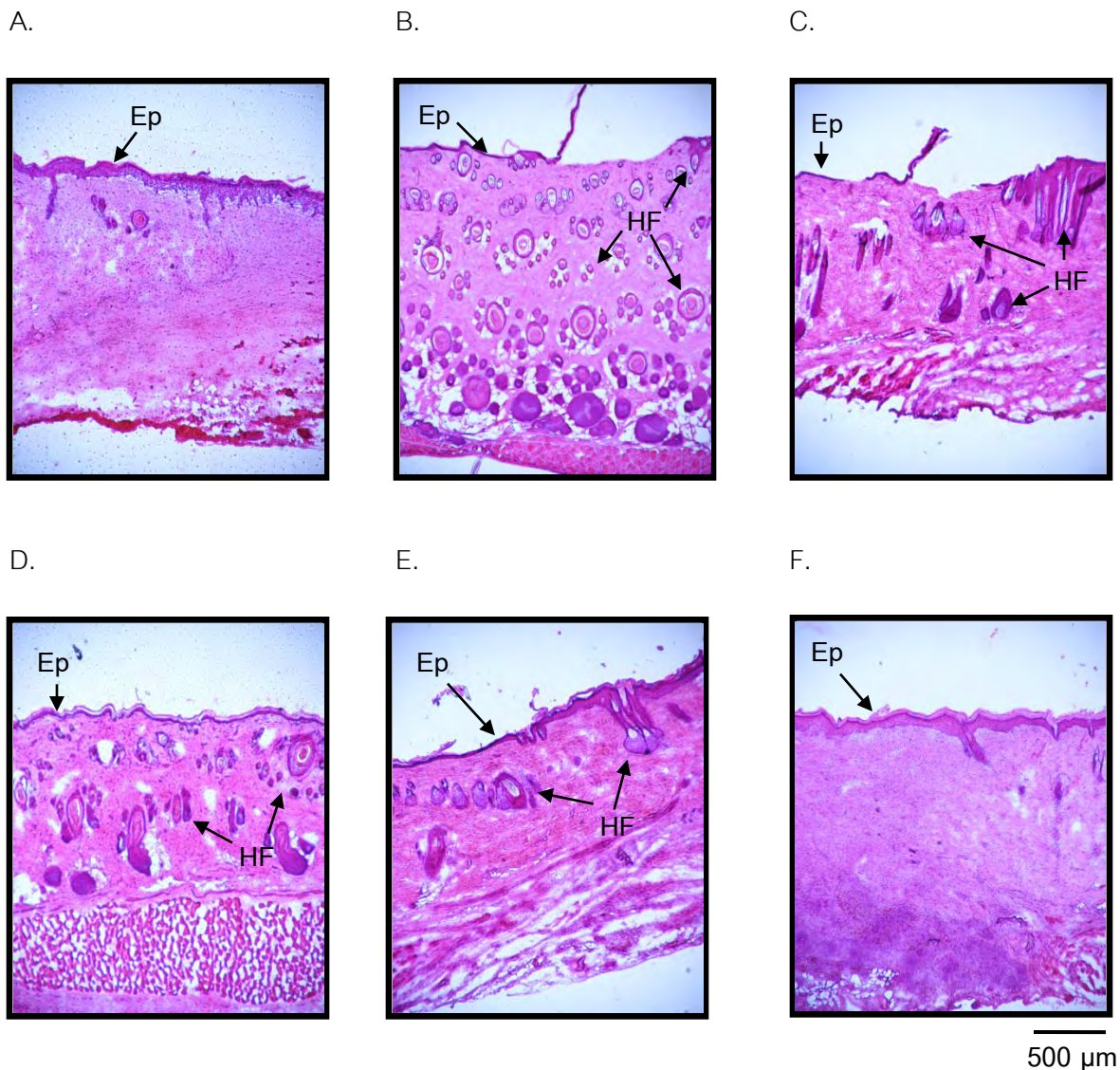
รูปที่ 4.13 พยาธิสภาพของชั้นเนื้อบริเวณแผล ของกลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับน้ำกลั่น (A) กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว (B, C, D และ E ตามลำดับ) และกลุ่มหนูเบาหวานที่ไม่ได้ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด (F) ในวันที่ 7 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด

Ep = epidermis, HF = hair follicle

ในวันที่ 7 ภายหลังจากการทำให้เกิดแผลเปิดที่ผิวหนัง (รูปที่ 4.13) พบว่ายังคงไม่สามารถแยกชั้นผิวหนังบริเวณ epidermis กับ dermis ได้ พื้นผิวหนังด้านบนยังไม่พบว่ามี epidermis บริเวณอื่น เคลื่อนเข้ามาปกคลุมบาดแผล จะพบเพียงเลือดจากบริเวณแผลที่แข็งตัว และเศษเซลล์ที่ตายแล้ว

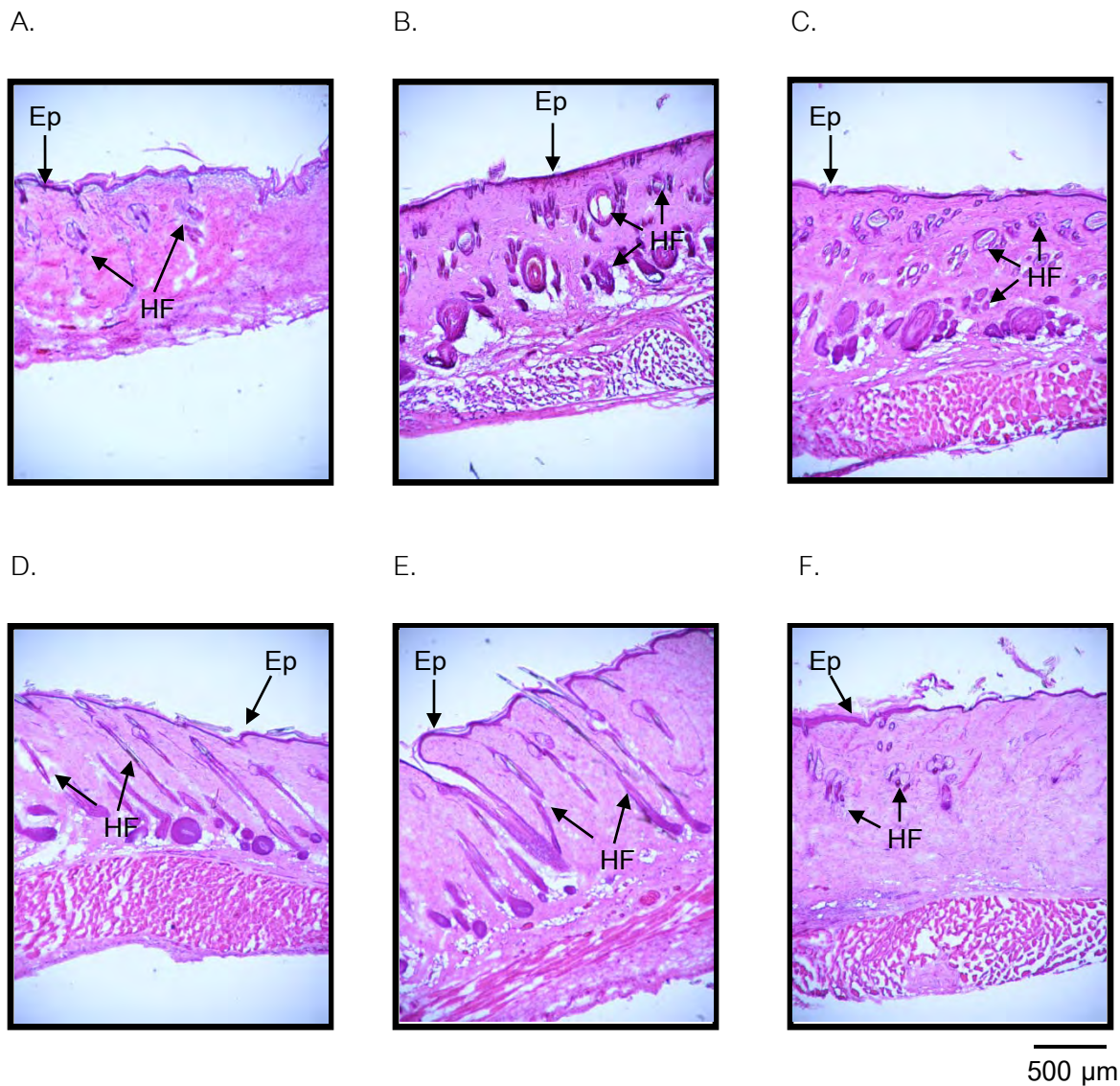
ตกค้างอยู่ อย่างไรก็ตามก็ดีจะพบว่ามีการ สร้าง dermis เติบโตขึ้นขึ้น dermis หนามากขึ้น เส้นใย collagen เพิ่มมากขึ้น โดยหนูกุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 (รูปที่ 4.13 B – E) มีความหนาของชั้น dermis, เส้นใย collagen มากกว่า และมีช่องว่างภายใน dermis น้อยกว่าหนูกุ่มควบคุม (รูปที่ 4.13 A)

วันที่ 14 หลังการทำให้เกิดแผลเปิด จะพบ epidermis มาคลุมบริเวณแผลเปิดอย่างสมบูรณ์ โดยชั้น epidermis ที่คลุมบาดแผลในหนูกุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 30 มก/กก น้ำหนักตัว (รูปที่ 4.14 D) เกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์มากกว่าหนูกุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 5, 10 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว (รูปที่ 4.14 B, C และ E) และหนูกุ่มควบคุม (รูปที่ 4.14 A) ชั้น dermis ของหนูกุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ทุกขนาด พบว่ามีเส้นใย collagen สมบูรณ์มากกว่าในหนูกุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังพบเส้นขนและ ขุมขน (hair and hair follicle) ที่บริเวณแผลในหนูกุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 อย่างชัดเจนทุกขนาด ความเข้มข้น ในขณะที่หนูกุ่มควบคุมจะพบจำนวนน้อยมาก ในวันที่ 14 หลังหลังการเหนี่ยวนำให้หนูเป็นเบาหวานนี้ หนูกุ่มที่ไม่ถูกทำให้เกิดแผลเปิด (รูปที่ 4.14 F) จะพบว่าผลจากเบาหวานทำให้เส้นขนและขุมขนหลุดร่วงออกจนเกือบสมบูรณ์



รูปที่ 4.14 พยาธิสภาพของชั้นเนื้อบริเวณแผล ของกลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับน้ำกลั่น (A) กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีไอ 233 ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว (B, C, D และ E ตามลำดับ) และกลุ่มหนูเบาหวานที่ไม่ได้ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด (F) ในวันที่ 14 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด

Ep = epidermis, HF = hair follicle



รูปที่ 4.15 พยาธิสภาพของชั้นเนื้อบริเวณแผล ของกลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับน้ำกลั่น (A) กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีไอ 233 ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว (B, C, D และ E ตามลำดับ) และกลุ่มหนูเบาหวานที่ไม่ได้ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด (F) ในวันที่ 21 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด

Ep = epidermis, HF = hair follicle

รูปที่ 4.15 A-F แสดงลักษณะของแผลเปิดในหนูกลุ่มต่างๆ ในวันที่ 21 หลังการทำให้เกิดแผลเปิดที่ผิวหนัง พบว่า epidermis ของแผลเปิดที่ผิวหนังหนูทุกกลุ่ม ตั้งแต่หนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีไอ 233 ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว (รูปที่ 4.15 A-E

ตามลำดับ) ปกคลุมผิวหนังอย่างสมบูรณ์ พบขนและขุมขนในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ทุกขนาดอย่างสมบูรณ์ชัดเจน อย่างไรก็ตามก็ดียังพบขนและขุมขนจำนวนน้อยและมีขนาดเล็กในหนูกลุ่มควบคุม (รูปที่ 4.15 A) และกลุ่มที่ไม่ได้ทำให้เกิดแผลเปิด (รูปที่ 4.15 F) ซึ่งเป็นผลจากเบาหวาน การสร้างเนื้อเยื่อในชั้น dermis ของหนูกุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ทุกขนาดก็ยังไม่เสร็จสมบูรณ์

บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ที่ให้ทางปากต่อการหายของแผลเปิด รวมทั้ง ผลต่อระดับน้ำตาลในเลือดของหนูแรทที่เป็นเบาหวาน โดยดัดแปลงวิธีการศึกษามาจากวิธีของ Hwang และคณะ (2005) ซึ่งใช้ streptozotocin (STZ) ในการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเบาหวานในหนูแรท สาร STZ จะทำให้เกิดภาวะเบาหวานแบบเฉียบพลันโดยอาศัย glucose transporters (GLUT) 2 เข้าสู่ β - cells ของ islets of Langerhans (Szkudelski, 2001) ซึ่งสาร STZ ที่เข้าสู่เซลล์นั้นจะทำความเสียหายต่อ DNA ด้วยการเติมหมู่ alkyl แก่สาย DNA (DNA alkylation) ทำให้ β - cells ภายในตับอ่อนตาย จึงไม่สามารถผลิตสารอินซูลินหรือผลิตได้ลดลง ไม่เพียงพอต่อการควบคุมระดับน้ำตาลในกระแสเลือด ระดับน้ำตาลในกระแสเลือดจึงสูงขึ้น ดังนั้นสารที่สามารถออกฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของสัตว์ทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเบาหวานด้วย STZ ได้ นั้น จึงอาจจะเกิด จากการที่สารดังกล่าวสามารถ β - cells ให้หลังสารอินซูลินเพิ่มขึ้นหรือมีผลทำให้เซลล์ต่างๆ สามารถตอบสนองต่ออินซูลินได้มากขึ้น นอกจากนี้ STZ ยังมีคุณสมบัติเป็น nitric oxide (NO) donor สามารถทำให้เกิด superoxide anion ซึ่งมีฤทธิ์ทำลาย DNA ภายในเซลล์ (Szkudelski, 2001) ดังนั้นสารที่มีคุณสมบัติในการเป็น antioxidant และสามารถลดระดับ superoxide anion จึง อาจจะมีผลช่วยลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดจากการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเบาหวานด้วย STZ ได้ (Szkudelski, 2001 ; Lenzen, 2008)

ในการศึกษานี้ พบว่า STZ ที่ให้แก่หนูแรทเป็นระยะเวลา 7 วัน จะทำให้หนูเกิดภาวะเบาหวาน ส่งผลให้น้ำหนักตัวของสัตว์ทดลองลดลงและมีระดับน้ำตาลในกระแสเลือดสูงกว่า 130 มก/ดล (ค่าระดับน้ำตาลในเลือดที่วัดหลังจากอดอาหารสัตว์ทดลอง) และจะมีค่าเพิ่มขึ้นตลอดการทดลอง ในขณะที่สารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ที่ให้ทางปาก จะช่วยชะลอการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของหนูเบาหวาน โดยทุกกลุ่มการทดลองที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 จะมีการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในกระแสเลือดที่ช้ากว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งขนาดของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ที่มีผลช่วยชะลอการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาล คือ ขนาด 5, 30 และ 60 มก/ก น้ำหนักตัว อย่างไรก็ตาม ไม่พบว่าสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 มีผลต่อน้ำหนักตัวของหนูที่ได้รับ STZ แต่อย่างใด

Chauhan และคณะ (2010) ได้ศึกษาผลของสารสกัดบัวบก ต่อดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของหนูเบาหวานด้วยวิธี glucose tolerance test พบว่าการป้องกันสารสกัดบัวบกด้วยเอทานอลและ

เมทานอล ในขนาด 250 มก/กก น้ำหนักตัว มีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของหนูแรทที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วย alloxan ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สาร alloxan เป็นสารอีกชนิดหนึ่ง ที่นิยมนำมาใช้เหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเบาหวานในโมเดลสัตว์ทดลอง โดย alloxan จะทำให้มีการสร้าง ROS เป็นจำนวนมาก ซึ่ง ROS เหล่านี้จะไปทำลาย β - cells ภายในตับอ่อน จากการศึกษาดังกล่าว ทำให้ทราบว่าสมุนไพรบัวบกช่วยกระตุ้นตับอ่อนให้หลั่งอินซูลินเพิ่มขึ้น (Chauhan และคณะ, 2010)

จากผลการศึกษาที่พบว่าสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ที่ให้ทางปากแก่สัตว์ทดลองในรูปแบบของน้ำดื่ม ไม่สามารถลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วย STZ ในวันที่ทำการประเมินให้มีค่าต่ำกว่าค่าเริ่มต้น แต่มีผลช่วยชะลอการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของหนูเบาหวานได้ จึงอาจเป็นไปได้ว่าสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ที่ให้ทางปาก อาจมีผลไปกระตุ้นให้ตับอ่อนสามารถผลิตอินซูลินได้เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ในขนาดที่สูงขึ้น เพื่อที่จะได้ทราบว่าสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 นั้นสามารถลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของหนูเบาหวานให้เข้าสู่ระดับปกติได้หรือไม่ รวมทั้งควรศึกษา ถึงกลไกในการควบคุมระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 เพื่อนำเอาสารสกัดดังกล่าวไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของผู้ป่วยเบาหวาน

ภาวะเบาหวานเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้แผลหายช้า เนื่องจากมีการตีบแคบของหลอดเลือด ทำให้การไหลเวียนของเลือดไม่สะดวก รวมทั้งมีปริมาณ collagen ในผิวหนังลดลง (Lorenzi,1992 ; Cohen,1993) Heather และคณะ (2002) พบว่าการให้อินซูลินเพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของหนูเบาหวาน จะมีผลช่วย เพิ่มการเกิด cellular proliferation ซึ่งเป็นกระบวนการสำคัญขั้นตอนหนึ่งในการบวนการหายของแผลในหนูเบาหวาน ดังนั้นผลในการช่วยลดระดับน้ำตาลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 จึงอาจเป็นกลไกหนึ่งที่จะช่วยส่งเสริมการหายของแผลได้ อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ เมื่อประเมินการหายของแผลด้วยการวัดขนาดของแผลซึ่งก็คือ การหดตัวของแผล ไม่พบว่ามี ความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองทั้งหมดแต่อย่างใด แต่กลับพบว่ามีความแตกต่างอย่างชัดเจนในด้านพยาธิจุลกายวิภาคของแผลระหว่างหนูกุ่มที่ได้รับและไม่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233

ลักษณะภายนอกของแผลในวันที่ 3 จะไม่พบความแตกต่างของขนาดแผลในแต่ละกลุ่มการทดลอง แต่กลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 5 มก/กก น้ำหนักตัว จะมีบาดแผลที่แห้งกว่ากลุ่มอื่นๆ โดยเมื่อวิเคราะห์พยาธิจุลกายวิภาคของบาดแผลในวันที่ 3 พบว่าผิวหนังบริเวณที่เกิดแผลในแต่ละกลุ่มการทดลองยังไม่พบการสร้างชั้น epidermis และ dermis อย่างชัดเจน แต่ใน

กลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 จะมีเส้นใย collagen ขนาดเล็กบางๆ มากกว่าในกลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณ collagen ที่วัดได้จากผิวหนังบริเวณแผล จึงอาจกล่าวได้ว่าในวันที่ 3 การหายของแผลเปิดกำลังดำเนินอยู่ในระยะอักเสบ (inflammation phase) เนื่องจากยังไม่เห็นการสร้างของชั้นผิวหนังและหลอดเลือด ดังนั้นจากการทดลองที่พบว่าปริมาณการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนังในวันที่ 3 นั้นมีค่าสูงสุดก่อนที่จะลดลงในวันที่ 7 จึงน่าจะเป็นผลมาจากการไหลเวียนเลือดของหลอดเลือดในชั้นกล้ามเนื้อมากกว่า

ในวันที่ 7 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด การหายของแผลอาจจะเริ่มเข้าสู่ในระบะการแบ่งตัวของเซลล์ (proliferation phase) เนื่องจากขนาดของแผลในแต่ละกลุ่มการทดลองยังไม่มีมีความแตกต่างกัน แต่ที่บริเวณแผลจะปรากฏสะเก็ดแผลแข็งขึ้นปกคลุมเป็นผลให้ปริมาณการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนังที่วัดได้นั้นมีค่าลดลงจากวันที่ 3 เมื่อวิเคราะห์พยาธิสรีรวิทยาของบาดแผลพบว่าการสร้างชั้น dermis เริ่มเด่นชัดขึ้น และยังไม่พบการสร้างชั้น epidermis แต่กลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 จะมีความหนาของชั้น dermis และมีปริมาณของเส้นใย collagen มากกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณ collagen ที่วัดได้จากผิวหนัง โดยพบว่าปริมาณ collagen ในวันที่ 7 เพิ่มขึ้นจากวันที่ 3

ในวันที่ 14 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด การหายของแผลอยู่ในระบะการแบ่งตัวของเซลล์ (proliferation phase) ซึ่งสังเกตได้จากขนาดของแผลในกลุ่มการทดลองต่างๆ นั้นเริ่มมีขนาดเล็กลง มีการสร้างผิวหนังขึ้นมาทดแทนบริเวณที่เคยเป็นแผลเดิม ซึ่งกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว จะมีขนาดของแผลเล็กกว่ากลุ่มควบคุม เมื่อวิเคราะห์พยาธิสรีรวิทยาของบาดแผลพบว่าปรากฏชั้น epidermis มาคลุมบริเวณแผลเปิดอย่างสมบูรณ์ รวมทั้งโครงสร้างของผิวหนังจะมีความสมบูรณ์แตกต่างจากในวันที่ 7 อย่างชัดเจน โดยกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 จะมีปริมาณของเส้นขนและไขมัน มีหลอดเลือด เส้นใย collagen ที่สมบูรณ์มากกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มเบาหวานที่ไม่ถูกทำให้เกิดแผล เมื่อวัด collagen ที่ผิวหนังพบว่ามีปริมาณ collagen ในวันที่ 14 เพิ่มขึ้นจากวันที่ 7 และวันที่ 3 ในขณะที่การวัดปริมาณการไหลเวียนเลือดที่ผิวหนังพบว่าสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาด 10 มก/กก น้ำหนักตัว ช่วยเพิ่มปริมาณการไหลเวียนเลือดได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งปริมาณการไหลเวียนเลือดที่วัดได้ในวันที่ 14 นี้ น่าจะถือได้ว่าเป็นการไหลเวียนของเลือดในชั้น dermis ซึ่งพบการสร้างหลอดเลือดขึ้นมาใหม่อย่างชัดเจน

เมื่อถึงวันที่ 21 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายในการประเมินการหายของแผลพบว่า ไม่มีความแตกต่างของขนาดของแผลในทุกกลุ่มการทดลอง โดยพบว่าบริเวณที่เคยเป็น แผลนั้นเริ่มชั้นผิวหนังถูกสร้างขึ้นมา

จนเกือบสมบูรณ์ หลงเหลือเพียงรอยแผลขนาดเล็กๆ เมื่อวิเคราะห์พยาธิจุลกายวิภาคศาสตร์ของบาดแผล พบว่ามีความใกล้เคียงกับ ลักษณะที่พบในวันที่ 14 โดยมีชั้น epidermis ปกคลุมผิวหนังอย่างสมบูรณ์ กลุ่มที่ได้รับสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 มีปริมาณของขนและชุมชนมากกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เป็นเบาหวานแต่ไม่ถูกทำให้เกิดแผลอย่างชัดเจน เมื่อวัดปริมาณของ collagen พบว่ามีปริมาณลดลงจากวันที่ 14 ทั้งนี้อาจเนื่องจากการหายของแผลเปิดในวันที่ 21 นี้ได้ดำเนินมาสู่ระยะการเสริมสร้างความแข็งแรงของเนื้อเยื่อ (remodeling phase) ซึ่งเป็นระยะที่เริ่มเกิดการสลายของเส้นใย collagen (Waldrop และ Daughy, 1991 ; Cooper, 1999) เป็นผลให้ปริมาณ collagen ที่วัดได้นั้นลดลงจากวันที่ 14

จากการศึกษาผลของสารสกัดบัวบกต่อการสมานแผลที่ผ่านมา พบว่าสารสกัดบัวบกที่ให้ทางปากมีผลเร่งการหายของแผลได้ โดยจากงานวิจัยของ Shukla และคณะ (1999) พบว่าการป้อนสารสกัดบัวบก ขนาด 1 มก/กก น้ำหนักตัว แก่หนูตะเภาปกติ วันละ 2 ครั้ง จะช่วยเร่งการหายของแผลเปิดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มม ได้ ขณะที่ Paocharoen (2010) พบว่าสารสกัดบัวบก ขนาด 100 มก ที่ให้แก่ผู้ป่วยเบาหวานที่เป็น foot ulcer วันละ 3 ครั้งนั้น ช่วยเร่งการหดตัวของแผลในผู้ป่วยเบาหวานได้ ขณะที่ในงานวิจัยนี้พบว่าสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ที่ให้ทางปากนั้น ไม่แสดงผลเร่งการหายของแผลเปิดในหนูเบาหวานอย่างชัดเจน แต่เมื่อวิเคราะห์จากพยาธิจุลกายวิภาคศาสตร์จะพบว่าสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ช่วยให้ผิวหนังที่สร้างขึ้นมาทดแทนบริเวณแผลนั้นมีโครงสร้างและองค์ประกอบที่ดีกว่ากลุ่มควบคุม และมีความใกล้เคียงกับผิวหนังปกติ ในขณะที่อัตราการหายของแผลซึ่งประเมินจากการหดตัวของแผลในแต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากพฤติกรรมของสัตว์ทดลองที่กัด แกะ บริเวณแผล ส่งผลให้เกิดบาดแผลใหม่ขึ้นตลอดเวลา กระบวนการหายของแผลไม่สามารถดำเนินไปข้างหน้าได้ จึงทำให้สารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 เห็นผลในการเร่งการหายของแผลเปิดในงานวิจัยนี้ได้ไม่ชัดเจน นอกจากนี้ในงานวิจัย นี้ให้สารทดสอบวันละครั้งเท่านั้น จึงอาจส่งผลให้ปริมาณสารที่ไปยังบริเวณแผลมีขนาดต่ำกว่า therapeutic dose ซึ่ง WHO ได้แนะนำถึงขนาดที่เหมาะสมของสารสกัดบัวบกที่ให้ทางปากว่า ควรให้ในขนาด 0.33-0.68 ก วันละ 3 ครั้ง

ในการศึกษาฤทธิ์เร่งการสมานแผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ต่อแผลกรีด (หทัยชนก ทันอินทรอาจ, 2552) และแผลไหม้ระดับที่สอง (กรณิศ วรรณรัตน์ (2552) ในหนูซึ่งถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานโดย STZ พบว่าการทาเจลสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ขนาดความเข้มข้น 0.05% มีผลเร่งการหายของทั้งแผลกรีดและแผลไฟไหม้ โดยมีผลเพิ่ม tensile strength และลดปริมาณ MDA เช่นเดียวกันกับที่พบในการศึกษาครั้งนี้ แต่จะให้ผลที่มีนัยสำคัญทางสถิติและชัดเจนกว่า

สิ่งที่พบในการศึกษานี้ สำหรับฤทธิ์สมานแผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ซึ่งสัตว์ทดลองได้รับจากน้ำดื่ม ในการศึกษาแม้จะเห็นผลที่ชัดเจนเฉพาะจากการประเมินทางพยาธิจุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อ แต่ก็อาจกล่าวได้ว่า สารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 น่าจะมีฤทธิ์เร่งการสมานแผลในหนูเบาหวานได้ ไม่ว่าจะให้โดยการรับประทานหรือทา

อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาที่พบว่าการให้สารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ในขนาด 5, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว มีผลในการชะลอการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในเลือด ดังนั้นหากจะนำสมุนไพรบัวบกมารับประทานเพื่อเร่งการหายของแผลในผู้ป่วยเบาหวานนั้น นอกจากจะต้องคำนึงถึงโอกาสที่จะเกิดอันตรกิริยากับยาอื่นที่ผู้ป่วยใช้อยู่ ดังเช่น การเกิดอันตรกิริยากับยาหลายชนิดจากสมุนไพร St John's Wort ซึ่งมีรายงานอยู่เสมอแล้ว (Rodda และคณะ, 2010) การติดตามระดับน้ำตาลของผู้ป่วยก็เป็นสิ่งสำคัญ เนื่องจาก ผลต่อระดับน้ำตาลในเลือดของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ดังที่สังเกตพบในการศึกษานี้อาจเสริมฤทธิ์กับยาลดระดับน้ำตาลในเลือดที่ผู้ป่วยใช้อยู่แต่เดิม ทำให้น้ำตาลในเลือดลดต่ำกว่าปกติ เกิดอันตรายต่อผู้ป่วยได้ ในขณะที่การให้ยาสารสกัดบัวบกเพื่อเร่งการสมานแผลของผู้ป่วยเบาหวาน ในรูปของยาสำหรับทาภายนอกนั้นจะสามารถหลีกเลี่ยงปัญหาดังกล่าวนี้ได้

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

สารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ที่ให้ทางปากมีผลชะลอการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในเลือดของหนูเบาหวาน ถึงแม้จะพบว่าสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ในบางขนาดจะสามารถลดปริมาณ MDA เพิ่มการไหลเวียนของโลหิต หรือเพิ่มปริมาณคอลลาเจน แต่สารสกัดดังกล่าวไม่มีผลเร่งการหดตัวของแผลเปิดในหนูเบาหวานได้อย่างมีนัยสำคัญ แตกต่างไปจากฤทธิ์สแมนแผลกรีดหรือแผลไหม้ในหนูเบาหวานที่มีรายงานมาก่อนหน้านี้ อย่างไรก็ตาม ผลจากการศึกษาในครั้งนี้ก็เป็นข้อมูลส่วนหนึ่งที่สนับสนุนให้มีการพัฒนาสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 มาใช้เพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยเบาหวาน ในขณะที่การใช้เพื่อรักษาแผลนั้น ควรใช้ในรูปแบบของยาทาภายนอก เพื่อเลี่ยงการเสริมฤทธิ์กับยาลดน้ำตาลในเลือดที่ผู้ป่วยใช้อยู่

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กรณิศ วรณรัตน์. ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ต่อการสมานแผลใหม่ระดับที่สองในหนูแรทปกติและหนูแรทที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน, วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2552.

แก้ว กังสดาลอำไพ , วรณณี ไรจน์โพธิ์ และ ชนิพรธน บุตรยี่ . การประเมินฤทธิ์ก่อกลายพันธุของสมุนไพรไทยในรูปของยาตำรับสามัญประจำบ้านแผนโบราณตามประกาศกระทรวง

สาธารณสุขและสมุนไพรบางชนิดโดยวิธีเอ็มเอสเทสต์. การประชุมวิชาการ

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ครั้งที่ 3 (3-4 สิงหาคม 2533) : 47-49.

ชลันดากร เรืองประเสริฐกิจ . การศึกษาเบื้องต้นของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ต่อโรคแผลร้อนในชนิดไม่รุนแรง. วารสารทันตแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 33

2 (พฤษภาคม- สิงหาคม 2553) : 141-142.

ถนอมศรี วงศ์รัตนสถิตย์ . เอกลักษณ์สมุนไพร. ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2538.

นันทวัน บุญยะประภัสร์ . สมุนไพรไม้พื้นบ้าน. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : บริษัทประชาชน จำกัด, 2541.

มยุรี ตันตสิระ, บุญยงค์ ตันตสิระ และ ทรงพล ชีวะพัฒน์. รายงานการศึกษาความเป็นพิษ

เฉียบพลันและความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของสารสกัดมาตรฐานบัวบก. ใน รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์เรื่องความเป็นพิษเฉียบพลันและความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของสารสกัดมาตรฐานบัวบก, คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยและสถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2551.

วิทยา ศรีดามา . การดูแลผู้ป่วยรักษาเบาหวาน. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: ยูนิตี้ พับลิเคชั่น, 2543.

สิรินุช พลระภิญโญ และ กิตติยศ ยศสมบัติ . แผลติดเชื้อที่เท้าของผู้ป่วยเบาหวาน. Fronteir in Wound Care (ธันวาคม 2553): 39-65.

หทัยชนก ทันอินทรอาจ. ผลของสารสกัดมาตรฐานบัวบก อีซีเอ 233 ต่อการสมานแผลที่เกิดจากการ
กรีดในหนูแรพปกติและหนูแรพที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน. วิทยานิพนธ์ ปริญญา

มหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2552.

เอกรินทร์ สายฟ้า, สุวรรณา เหลืองชลธาร, ชำนาญ ภัทรพานิช และ รุท สุทธิศรี. การวิจัยและ

พัฒนาผลิตภัณฑ์ยาและเครื่องสำอางที่มีมาตรฐานจากสมุนไพรบัวบกสู่การผลิตระดับ

อุตสาหกรรม. ใน รายงานการวิจัยโครงการเรื่อง การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ยาและ

เครื่องสำอางที่มีมาตรฐานจากสมุนไพรบัวบกสู่การผลิตระดับอุตสาหกรรม, คณะเภสัชศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2549.

ภาษาอังกฤษ

Akbarzadeh, A., et al. Treatment of streptozotocin induced diabetes in male rats by

immunoisolated transplantation of islet cell. Indian J Clin Biochem 22 (2007): 71-76.

Atalay, M., and Laaksonen D.E. Diabetes, oxidative stress and physical exercise.

J Sports Sci Med 1 (2002): 1-14.

Aukhil, I. Biology of wound healing. J Periodontol 22 (2000): 44-50.

Babu, T.D., Kuttan, G., and Padikkala, J. Cytotoxic and anti-tumour properties of certain

taxa of Umbelliferae with special reference to *Centella asiatica* (L.) Urban. J
Ethnopharmacol 48(1995) : 53-57.

Bilbao, I., Aguirre, A., Zabala, R., Gonzalez, R., Raton, J., and Perez, J.L.D. Allergic contact

dermatitis from butoxyethyl nicotinic acid and *Centella asiatica* extract. Contact
Dermatitis 33 (1995) : 435-436.

Chauhan, P.K., Pandey, I.P., and Dhatwalia, V.K. Evaluation of the Anti-diabetic Effect of

Ethanol and Methanolic Extracts of *Centella asiatica* Leaves Extract on Alloxan
Induced Diabetic Rats. Advances in Biological Research 4 (2010): 27-30.

Cheng, C.L., and Koo, M.W. Effect of *Centella asiatica* on ethanol induced gastric mucosal

lesion in rats. Life Sciences 67 (2000): 2647-2653.

Chitha, P., Sajithlal, G. B., and Chandrakasan, G. Influence of *aloe vera* on the healing of

dermal wounds in diabetic rats. J Ethnopharmacol 59 (1998): 195-201.

- Clark, R.A.F. Wound repair : Overview and general consideration. In Clark, R.A.F. (eds.), The molecular and cellular biology of wound repair, pp. 3-50. New York: Plenum Press, 1995.
- Cohen, R.A. Dysfunction of vascular endothelium in diabetes mellitus. Circulation 87 (1993): 67-78.
- Cooper, D.M. Wound healing : New understandings. Nurse Practitioner Forum 10(1999):74-86.
- Dhar, M.L., et al. Screening of Indian plants for biological activity: Part I. Indian J Exp Biol 6 (1968) : 232-247.
- Dunstan, C.A., et al. Evaluation of some Samoan and Peruvian medicinal plants by prostaglandin biosynthesis and rat ear oedema assays. J Ethnopharmacol 57 (1997):35-56.
- Enoch, S., and Leaper, D.J. Basic science of wound healing. Surgery. n.p.: Medicine Publishing (2005): 37-42.
- Eun, H.C., and Lee, A.Y. Contact dermatitis due to medecassol. Contact Dermatitis 13 (1985) : 310-313.
- Garrett, B. Cellular communication and the action of growth factors during wound healing. Journal of Wound Care 6 (1997): 277-280.
- Gnanapragasam, A., Ebenezar, K.K., Sathish, V., Govindaraju, P., and Devaki, T. Protective effect of *Centella asiatica* on antioxidant tissue defense system against adriamycin induced cardiomyopathy in rats. Life Sciences 76 (2004): 585-597.
- Goycheva, P., Gadjeva, V., and Popov, B. Oxidative stress and its complications in diabetes mellitus. TJS 4 (2006): 1-8.
- Gruenwald, J., et al. PDR for herbal medicines (2nd Edition). New Jersey : Medical Economic Company (2000) : 858 pp.
- Gupta, Y.K., Kumar, M.H.K., and Srivastava, A.K. Effect of *Centella asiatica* on pentylenetetrazole-induced kindling, cognition and oxidative stress in rats. Pharmacol Biochem Behav 74 (2003): 579-585.

- Halloran, C.M., and Slavin, J.P. Pathophysiology of Wound Healing. The Medicine Publishing Company (2002) : i-v.
- Harding, K.G., Morris, H.L., and Patel, G.K. Science, medicine and the future: Healing chronic wounds. BMJ 324 (2002): 160-163.
- Hausen, B.M. *Centella asiatica* (Indian pennywort), an effective therapeutic but a weak sensitizer. Contact Dermatitis 29 (1993) : 175-179.
- Heather A.B., Russell, J.P., Sheldon, S.L. The effects of blood glucose control upon fracture healing in the BB Wistar rat with diabetes mellitus. Journal of Orthopaedic Research 20 (2002) : 1210-1216.
- Hess, C.T., and Salcido, R. Wound Care, 3rd ed. Springhouse, PA: Springhouse Pub Co., 2000.
- Hill, H.R., Hagan, N.A., and Rallison, M.L. Functional and metabolic abnormalities of diabetic monocytes. Adv Exp Med Biol 141 (1982): 621-628.
- Husain, M.M., Kenneth, T., Haroon, S., and McClintock, S.M. Present and prospective clinical therapeutic regimens for Alzheimer's disease. Neuropsychiatric Disease and Treatment 4 (2008): 765-777.
- Hussin, M., Abdul-Hamid, A., Mohamad, S., Saari, N., Ismail, M., and Bejo, M.H. Protective effect of *Centella asiatica* extract and powder on oxidative stress in rats. Food Chem 100 (2007): 535-541.
- Hwang, H.J., et al. Hypoglycemic effect of crude exopolysaccharides produced by a medicinal mushroom *Phellinus baumii* in streptozotocin-induced diabetic rats. Life Sciences 76 (2005) : 3069-3080.
- Izu, R., Aguirre, A., Gil, N., and Diaz-Perez J.L. Allergic contact dermatitis from a cream containing *Centella asiatica* extract. Contact Dermatitis 26 (1992) : 192-3.
- Jimenez, P.A., and Rampy, M.A. Keratinocyte Growth Factor-2 Accelerates Wound Healing in Incisional Wounds. J Surg Res 81 (1999): 238-242.
- Kerstein, M. D. The scientific basis of healing. Adv Wound Care 10 (1997): 30-36.
- Kimura, Y., Sumiyoshi, M., Samukawa, K., Satake, N., and Sakanaka, M. Facilitating action of asiaticoside at low doses on burn wound repair and its

- mechanism. Eur J Pharmacol 584 (2008): 415-423.
- Kumar, M.H.V., and Gupta Y.K. Effect of different extracts of *Centella asiatica* on cognition and markers of oxidative stress in rats. J. Ethnopharmacol. 2 (2002), 253-260.
- Kumar, V., Abbas, A.K., and Fausto, N. Robbins Basic Pathology. 8th ed. Philadelphia: PA, 2008.
- Lai-Cheong, J.E. and McGrath, J.A. Structure and function of skin, hair and nails. Basic Science Medicine 37 (2009) : 223-226.
- Leeper, D.J., and Harding, K.G. ABC of wound healing traumatic and surgical wounds. British Medical Journal 332 (2006): 532-535.
- Lenzen, S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. Diabetologia 51(2008):216-226.
- LeRoith, D., Simeon, I.T., and Jerrold, M.O. Diabetes mellitus a fundamental and clinical text. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004: 457-463.
- Li, J., Chen, J., and Kirsner, R. Pathophysiology of acute wound healing. Clinics in Dermatology 25(1) (2007): 9-18.
- Lindblom, L., Cassusto, J., Yregard, L., Tarnow, P., Rantfors, J., and Henden, P.L. Importance of vasoactive intestinal polypeptide in the regulation of burn perfusion. Burns 26 (2000): 435-442.
- Liu, M., et al. Madecassoside isolated from *Centella asiatica* herbs facilitates burn wound healing in mice. Planta Medica 74 (2008): 809-815.
- Lorenzi, M. Glucose toxicity in the vascular complication of diabetes: The cellular perspective. Diabetes Metabol Rev 8 (1992): 85-103.
- Marieb, E. Essentials of Human Anatomy and Physiology. 9th ed. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings, 2009.
- Matsui, A.D.S., et al. A survey of natural products from Hawaii and other areas of the Pacific for an antifertility effect in mice. Int Z Klin Pharmakol Ther Toxikol 5 (1971) : 65-69.
- Minija, J., and Thoppil, J.E. Antimicrobial activity of *Centella asiatica* (L.) Urb. Essential oil. Indian Perfumer 472 (2003): 179-181.

- Mokkhasmit, M., Ngarmwathana, W., Sawasdimongkol, K., and Permiphath, U. Pharmacological evaluation of Thai medicinal plants. (continued). J Med Assoc Thailand 54 (1971) : 490-504.
- Morante, J.M.O., Bujan, J.J.G., Guemes, M.G., Bayona, I.Y., and Arechavala, R.S. Contact dermatitis allergy due to the extract of *Centella asiatica*: report of a new case. Acta Dermosifiliogr 89(1998) : 341-343.
- Morton, J.P.P., and Malone, M.H. Evaluation of vulnary activity by an open wound procedure in rats. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther 196 (1972): 117-126.
- Moussa, S.A. Oxidative Stress in Diabetic Mellitus. Ronamian J. Biophys 18 (2008) : 225-236.
- Oyedepi, O.A., and Afolayan, A.J. Comparative study of the essential oil composition and antimicrobial activity of *Leonotis leonurus* and *L-ocymifolia* in the Eastern Cape, South Africa. J S Afr Bot 71 (2005): 114-116.
- Padee, P., Nualkaew, S., Talubmook, C., and Sakuljaitrong, S. Hypoglycemic effect of a leaf extract of *Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk. in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology 132 (2010) : 491-496
- Paocharoen, V. The Efficacy and Side Effects of Oral *Centella asiatica* extract for Wound Healing Promotion in Diabetic Wound Patients. Journal of The Medical Association of Thailand 93 (2010) : s166-s170.
- Quinby, W.C., Burke, J.F., Bondoc, C.C. Primary Excision and Immediate Wound Closure. Intensive Care Medicine 7 (1981) : 71-76.
- Quinn, A.G. Biology of the skin and dermatological disease. The Medicine Publishing Company (2004) : 1-3.
- Rao, K. S., Patil, P. A., and Malur, P. R. Promotion of cutaneous wound healing by famotidine in Wistar rats. Indian J Med Res 125 (2007): 149-154.
- Robert, F.D., and Melissa, C.E. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. Front Biosci 9 (2004): 283-289.

- Rodda, H.C., Molmoori, R.K., Samala, S., Banala, N., and Ciddi, V. An Insight into Herb - Drug Interactions. International J of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology 2 (2010) : 689-706.
- Sampson, J.H., Raman, A., Karlsen, G., Navsaria, H., and Leigh, I.M. In vitro keratinocyte antiproliferant effect of *Centella asiatica* extract and triterpenoid saponins. Phytomedicine 8 (3) : 230–235.
- Setty, B.S., Kamboj, V.P., Garg, H.S., and Khanna, N.M. Spermicidal potential of saponins isolated from Indian medicinal plants. Contraception 14 (1976) : 571-578.
- Shetty, B.S., Udupa, S.L., Udupa, A.L., and Somayaji, S.N. Effect of *Centella asiatica* L (Umbelliferae) on normal and dexamethasone-suppressed wound healing in wistar albino rats. IJLEW 3 (2006): 137-143.
- Shukla, A., Rasik, A.M., Jain, G.K., Shankar, R., Kulshrestha, D.K., and Dhawan, B.N. In vitro and in vivo wound healing activity of asiaticoside isolated from *Centella asiatica*. Journal of Ethnopharmacology 65 (1999): 1-11.
- Spravchikov, N., Sizyakov, G., and Gartbein, M. Glucose effect on skin keratinocytes: implication for diabetes skin complication. Diabetes 50 (2001): 1627-35.
- Strodtbeck, F. Physiology of wound healing. Newborn and Infant Nursing Reviews 1(1)(2001): 43-52.
- Sunilkumar, P.S., and Shivakumar, H.G. Evaluation of topical formulations of aqueous extract of *Centella asiatica* on open wounds in rats. Indian J Exp Biol 36 (1998): 569-72.
- Szkudelski, T. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. Physiological Research 50 (2001): 536-546.
- Umachigi, S.P., Jayaveera, K.N., Ashok, C.K., and Kumar, G.S. Antimicrobial, Wound Healing and Antioxidant potential of *Couroupita guianensis* in rats. Pharmacologyonline 3 (2007): 269-281.
- Waldrop, J., and Daughy, D. Wound-healing physiology. In Bryant, R.A. (eds.), Acute and chronic wounds. Nursing Management, pp. 17-39. St. Louis, MO,

Mosby, 1991.

- Wei, H., Zhang, X., Wang, Y., and Lebwohl, M. Inhibition of ultraviolet light-induced oxidative events in the skin and internal organs of hairless mice by isoflavone genistein. Cancer Letters 185 (2002): 21-29.
- Williamson, D., and Harding, K. Wound healing. Basic Science 12 (2004): 4-7.
- World Health Organization. Herba Centellae. In: WHO monographs of selected medicinal plants 1 (1999): 77-85.
- Yen, G.C., Chen, H.Y., and Peng, H.H. Evaluation of the cytotoxicity, mutagenicity and antimutagenicity of emerging edible plants. Food Chem Toxicol 39 (2001):1045-1053.
- Yun, K.J., et al. Inhibition of LPS- induced NO and PGE₂ production by asiatic acid via NF- κ B inactivation in RAW 264.7 macrophages: Possible involvement of the IKK and MAPK pathways. Int J Immunopharm 8 (2008): 431-441.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ผลของสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว
 ต่อน้ำหนักตัวของหนูปกติและหนูเบาหวานใน วันที่ 3, 7, 14 และ 21 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผล
 เป็ด

Groups	Body Weight (g)				
	Day 0	Day 3	Day 7	Day 14	Day 21
Normal	286.33±5.17	336.00±14.59	354.67±4.09	394.33±15.21	449.50±5.72
DM+DDW	298.67±8.05	257.67±8.05	240.00±7.39	271.33±11.61	250.60±16.47
DM+ECa 5 mg/kg	256.29±9.15	236.00±5.59	256.57±8.64	245.14±7.37	254.29±2.31
DM+ECa10mg/kg	292.67±5.80	272.67±6.71	247.33±6.39	251.14±8.92	271.83±16.53
DM+ECa30mg/kg	297.75±4.09	263.86±5.11	247.63±6.71	258.00±10.05	275.67±19.63
DM+ECa60mg/kg	293.33±5.23	259.71±5.63	241.33±4.16	248.86±9.02	265.00±13.32

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=6)

ตารางที่ 2 ผลของสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว ต่ออัตราการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของหนูเบาหวานในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด

Groups	% Progression of The Plasma Glucose				
	Day 0	Day 3	Day 7	Day 14	Day 21
DM+DDW	100.00	103.3708	118.7266	150.9363	153.9326
DM+ECa 5 mg/kg	100.00	126.0820	104.4688	112.6716	144.8004
DM+ECa10mg/kg	100.00	80.1886	106.0582	132.8655	140.5049
DM+ECa30mg/kg	100.00	95.1654	89.0585	96.4885	134.0034
DM+ECa60mg/kg	100.00	70.6417	94.2809	98.9535	125.0913

ตารางที่ 3 ผลของสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว ที่ให้ทางปากต่อระดับอัตราการหายของบาดแผลในหนูเบาหวาน ในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด

Groups	Rate of Wound Healing (%)			
	Day 3	Day 7	Day 14	Day 21
DDW	14.80±3.27	40.71±2.34	89.01±3.12	94.57±0.82
ECa 5 mg/kg	16.76±3.41	38.89±3.61	86.88±2.15	96.01±0.68
ECa 10 mg/kg	5.47±3.34	43.11±1.97	91.71±1.47	94.84±1.08
ECa 30 mg/kg	12.14±3.17	38.70±2.47	94.43±0.74 *	91.89±0.47
ECa 60 mg/kg	16.37±3.21	40.04±4.01	92.07±0.80	91.73±1.55

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=6)

* แสดงถึงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 4 ผลของสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว ที่ให้ทางปาก ต่อการไหลเวียนของเลือดที่ผิวหนังในหนูเบาหวาน ในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด

Gr. Days	Cutaneous blood flow (%)				
	DDW	ECa 5 mg/kg	ECa 10 mg/kg	ECa 30 mg/kg	ECa 60 mg/kg
3	283.36±	371.03±	304.58±	252.59±	201.90±
	72.92	109.60	86.67	52.91	20.66
7	147.16±	128.88±	74.61±	93.11±	88.25±
	52.70	20.81	12.00	35.04	16.41
14	137.54±	188.82±	244.09±	109.82±	180.79±
	12.54	26.36	12.84	26.07 *	39.80
21	181.56±	162.71±	141.22±	140.07±	149.76±
	33.67	17.87	15.24	31.74	14.25

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=6)

* แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม (DDW),

P < 0.05

ตารางที่ 5 ผลของสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว ต่อปริมาณ collagen ที่ขึ้นเนื้อ บริเวณแผลของหนูเบาหวาน ในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด

Gr. Days	Collagen content (mg/mg of tissue)				
	DDW	ECa 5 mg/kg	ECa 10 mg/kg	ECa 30 mg/kg	ECa 60 mg/kg
3	4.33±	5.02±	6.22±	7.29±	2.53±
	0.62	0.85	1.4	0.61	1.08
7	6.85±	7.23±	8.08±	3.93±	4.17±
	1.69	2.49	1.88	0.51	1.93
14	3.44±	6.84±	8.81±	3.74±	5.66±
	0.74	1.35 *	0.84 *	1.21	1.10
21	4.65±	5.93±	6.09±	3.63±	4.16±
	1.07	1.17	1.45	1.17	1.24

ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=6)

* แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม (DDW),

P < 0.05

ตารางที่ 6 ผลของสารละลายสารสกัดมาตรฐานบัวบก ขนาด 5, 10, 30 และ 60 มก/กก น้ำหนักตัว ต่อปริมาณ malondialdehyde (MDA) ที่ขึ้นเนื้อ บริเวณแผลของหนูเบาหวาน ในวันที่ 3, 7, 14 และ 21 หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดแผลเปิด

Gr. Days	Concentration of malondialdehyde ($\mu\text{mol/g}$ of tissue)				
	DDW	ECa 5 mg/kg	ECa 10 mg/kg	ECa 30 mg/kg	ECa 60 mg/kg
3	14.77 \pm	12.54 \pm	13.67 \pm	11.68 \pm	12.34 \pm
	0.91	0.68	30.93	1.07 *	0.61*
7	13.03 \pm	13.97 \pm	13.04 \pm	14.33 \pm	12.81 \pm
	0.74	0.9	0.91	1.37	0.58
14	9.66 \pm	9.90 \pm	9.76 \pm	9.69 \pm	9.68 \pm
	0.20	0.21	0.19	0.32	0.47
21	9.09 \pm	9.88 \pm	8.79 \pm	8.69 \pm	8.76 \pm
	0.19	0.68	0.15	0.15	0.24



ข้อมูลข้างต้นนำเสนอในรูปแบบค่าเฉลี่ย \pm ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (n=6)

* แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม (DDW),

P < 0.05



Chulalongkorn University Animal Care and Use Committee

Certificate of Project Approval	<input type="checkbox"/> Original <input type="checkbox"/> Renew
Animal Use Protocol No. 11-33-003	Approval No. 11-33-003
Protocol Title Healing effects of the standardized extract of <i>Centella asiatica</i> Eca 233 on excision wound in diabetic rats	
Principal Investigator Mayuree Tantisira, Ph.D.	
Certification of Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) This project has been reviewed and approved by the IACUC in accordance with university regulations and policies governing the care and use of laboratory animals. The review has followed guidelines documented in Ethical Principles and Guidelines for the Use of Animals for Scientific Purposes edited by the National Research Council of Thailand.	
Date of Approval March 11, 2011	Date of Expiration March 11, 2012
Applicant Faculty/Institution Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Phyathai Rd., Pathumwan BKK-THAILAND. 10330	
Signature of Chairperson 	Signature of Authorized Official 
Name and Title THONGCHAI SOOKSAWATE, Ph.D. Chairman	Name and Title PARKPOOM TENGAMNUAY, Ph.D. Associate Dean (Research and Academic Service)
<p><i>The official signing above certifies that the information provided on this form is correct. The institution assumes that investigators will take responsibility, and follow university regulations and policies for the care and use of animals.</i></p> <p><i>This approval is subjected to assurance given in the animal use protocol and may be required for future investigations and reviews.</i></p>	

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวทอแสง วีระกุล เกิดเมื่อวันที่ 25 ธันวาคม พ.ศ. 2528 ที่จังหวัดชลบุรี สำเร็จการศึกษา ระดับปริญญาตรีหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมี) จากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เมื่อปีการศึกษา 2550 และได้ศึกษาต่อในระดับปริญญาโทหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเภสัชวิทยา (สหสาขา) ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2551

นำเสนอผลงาน เรื่อง “Hypoglycemic effect of standardized *Centella asiatica* extract ECa 233 in streptozotocin-induced diabetic rats” ในวารสารเภสัชวิทยา (*Thai Journal of Pharmacology*, Vol 33) และร่วมงานประชุมวิชาการประจำปี ครั้งที่ 33 สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย ระหว่างวันที่ 17-19 มีนาคม พ.ศ. 2554 ณ โรงแรมโดมอนด์พลาซ่า อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา