การศึกษาผลและความปลอดภัยของการใช้สปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นสามเปอร์เซ็นต์ต่อผิวหนังในหนูขาว

ปริญญานิพนธ์
ของ
มนตรี วงศ์นิราศภัย

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาตจวิทยา
พฤษภาคม 2552

การศึกษาผลและความปลอดภัยของการใช้สปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นสามเปอร์เซ็นต์ต่อผิวหนังในหนูขาว

ปริญญานิพนธ์
ของ
มนตรี วงศ์นิราศภัย

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาตจวิทยา
พฤษภาคม 2552
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

การศึกษาผลและความปลอดภัยของการใช้สปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นสามเปอร์เซ็นต์ต่อผิวหนังในหนูขาว

บทคัดย่อ

ของ

มนตรี วงศ์นิราศภัย

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาตจวิทยา

พฤษภาคม 2552

มนตรี วงศ์นิราศภัย (2552). *การศึกษาผลและความปลอดภัยของการใช้สปิคูลฟองน้ำ Spongilla lacustris ร่วมกับน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นสามเปอร์เซ็นต์ต่อผิวหนังในหนูขาว*. ปริญญานิพนธ์ วท.ม.(ตจวิทยา). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. คณะกรรมการควบคุม: รองศาสตราจารย์นายแพทย์ มนตรี อุดมเพทายกุล, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัมพร จาริยะพงศ์สกุล.

ภูมิหลัง: สิวเป็นโรคผิวหนังที่พบบ่อยในเวชปฏิบัติและมีผลต่อสภาวะอารมณ์และจิตใจของผู้ป่วย ปัจจุบันมีการพัฒนายาและรูปแบบการรักษาเพื่อให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น การรักษาบางอย่างขาดหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่ชัดเจนเช่นการนำผงสกัดจากฟองน้ำ *Spongilla lacustris* มาใช้ร่วมกับน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์รักษาสิว

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาผลและความปลอดภัยของการใช้ผงสกัดจากฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่อผิวหนังในสัตว์ทดลอง

วิธีการศึกษา: เป็นการวิจัยเชิงทดลองในหนูขาวอายุแปดสัปดาห์ โดยแบ่งเป็นสองกลุ่มคือ กลุ่มที่ได้รับการทาด้วยผงสกัดจากฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เทียบกับกลุ่มที่ใช้ผงสกัดจากฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำเกลือความเข้มข้น 0.9 เปอร์เซ็นต์ สัปดาห์ละหนึ่งครั้งรวมสี่สัปดาห์ วัดปริมาณสปิคูลฟองน้ำบนชั้นผิวหนังโดยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนชนิดส่องกราด ตรวจดูการตกค้างของสปิคูลฟองน้ำในชั้นผิวหนังกำพร้าและหนังแท้โดยกล้องโพลาไรซ์และตรวจดูปฏิกิริยาของผิวหนังชั้นต่างๆ และวัดความหนาของชั้นหนังกำพร้าและหนังแท้โดยกล้องจุลทรรศน์

ผลการศึกษา: พบสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* บนพื้นผิวหนังจนถึงวันที่สี่หลังการทาและไม่พบการตกค้างหลังการทาผงสกัดแล้วสองสัปดาห์ พบการฝังของสปิคูลฟองน้ำลึกลงไปถึงชั้น Stratum basalis ไม่พบปฏิกิริยาของผิวหนังในสัตว์ทดลอง ไม่พบความแตกต่างของความหนาของผิวหนังชั้น dermis ในกลุ่มทดลองทั้งสองกลุ่ม ในกลุ่มทดลองที่ 2 มีความหนาของชั้นผิวหนัง epidermis บางกว่ากลุ่มทดลองที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญ

สรุปผล: สปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* มีความปลอดภัยต่อผิวหนังหนูในการทดลองระยะสั้น และสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ยังมีผลทำให้ผิวหนังชั้น stratum corneum บางลงโดยกลไกการขัดผิว

คำสำคัญ : *Spongilla lacustris*, น้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์, หนูขาว

The study of the effect and safety of *Spongilla lacustris* with 3% hydrogen peroxide in rat skin

AN ABSTRACT

BY

MONTRI WONGNIRASPAI

Presented in Partial Fulfillment of the Requirements for the

Master of Science Degree in Dermatology

at Srinakharinwirot University

May 2009

Montri Wongniraspai.(2008). *The study of the effect and safety of Spongilla lacustris with 3% hydrogen peroxide in rat skin*. Master thesis, M.S.(Dermatology). Bangkok: Graduate School, Srinakharinwirot University. Advisor Committee: Assoc.Prof. Montree Udompataikul, Assist. prof. Amporn Jariyapongskul

Background: Acne is the common dermatologic problems. Despite its benign nature, it has been consistent demonstrated to effect upon quality of life of affected individuals. Novel therapeutics options have been developed for the treatment of acne. One of the less investigated safety and therapeutic procedures is the combination skin rubbing with sponge made from *Spongilla lacustris* and 3% hydrogen peroxide solution.

Objective: This study aims to investigate the effect and safety profile of this procedure in normal laboratory rat.

Materials and Methods: Experiment was done in 8 weeks old rat. We devided the rat into two groups. The first group was rubbed with the sponge and 3% hydrogen peroxide solution. The second group was also rubbed with the sponge and 0.9% normal saline solution. The procedures were applied once weekly for four weeks and the number of spicules of the sponge on the epidermis were measured with scanning electron microscope. The remaining of spicules in epidermal and dermal layers were examined by polarized light microscope. The tissue reaction, epidermal and dermal thickness were evaluated by light microscope.

Results: The spicules were remained on the skin surfaces until fourth day after application and could not be identified 2 weeks after last application. The depth of the *Spongilla sp.* spicules was found in the Stratum basalis. They was not identified in dermal layers. No skin complication detected during procedure and no granulomatous reaction was observed within dermal layer. In the last week of experimental, the epidermal thickness of the first group was thinning than the second group significantly.

Conclusion: The *Spongilla sp.* spicules is safe in short term of the study. In the long term effect, the granulomatous is concerned. The *Spongilla sp.* spicules have the microdermabrasion effect to the stratum corneum.

Keywords: *Spongilla lacustris*, Hydogen peroxide, rat skin

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

การศึกษาผลและความปลอดภัยของการใช้สปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris*
ร่วมกับน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นสามเปอร์เซ็นต์ต่อผิวหนังในหนูขาว

ของ

นายแพทย์มนตรี วงศ์นิราศภัย

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาตจวิทยา
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.สมชาย สันติวัฒนกุล)
วันที่.....เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2552

คณะกรรมการควบคุมปริญญานิพนธ์

.....ประธาน
(รองศาสตราจารย์นายแพทย์มนตรี อุดมเพทายกุล)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตรจารย์ ดร.อัมพร จาริยะพงศ์สกุล)

คณะกรรมการสอบปากเปล่า

.....ประธาน
(รองศาสตราจารย์แพทย์หญิงเพ็ญพรรณ วัฒนไกร)

....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์นายแพทย์มนตรี อุดมเพทายกุล)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตรจารย์ ดร.อัมพร จาริยะพงศ์สกุล)

.....กรรมการ
(รองศาสตรจารย์ ดร.โกสุม จันทร์ศิริ)

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความช่วยเหลือคำแนะนำอย่างดียิ่งจากคณาจารย์หลายท่าน ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์นายแพทย์ มนตรี อุดมเพทายกุล ประธานควบคุมปริญญานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อัมพร จาริยะพงศ์สกุล กรรมการควบคุมปริญญานิพนธ์ที่ได้ให้คำปรึกษาแก่ผู้วิจัยตลอดการวิจัย และแนะนำแนวทางการอภิปรายและสรุปผลตลอดจนชี้แนะวิธีการศึกษาวิจัยครั้งนี้อย่างใกล้ชิดเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด รวมถึงแนะนำข้อมูลต่าง ๆที่เป็นประโยชน์ต่อการวิจัยตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์แพทย์หญิง เพ็ญพรรณ วัฒนไกร ประธานกรรมการสอบปากเปล่า ผู้ให้คำแนะนำและเสนอแนะสิ่งที่มีประโยชน์เพื่อปรับปรุงงานวิจัยให้ดียิ่งขึ้น และขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ โกสุม จันทร์ศิริ ที่กรุณาร่วมเป็นกรรมการสอบปากเปล่าวิทยานิพนธ์ตลอดจนให้คำแนะนำแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ อุดมศรี โชว์พิทธพรชัย หัวหน้าภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ให้ความอนุเคราะห์ควบคุมการศึกษาชิ้นเนื้อจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนชนิดส่องกราดและจากกล้องโพลาไรซ์

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์นายแพทย์สุธีร์ รัตนะมงคลกุล อาจารย์ประจำภาควิชาเวชศาสตร์ป้องกันและสังคม คณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒที่ให้คำแนะนำเรื่องการวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติ

ขอขอบคุณ คุณศิลป์ชัย จันทร์เพชร นักวิทยาศาสตร์ และคุณสุมล จึงอุดมเจริญ นักวิชาการระดับ 6 ประจำภาควิชากายวิภาค ศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เจ้าหน้าที่ในศูนย์ผิวหนัง และเพื่อน ๆ แพทย์ทุกท่านที่ให้คำปรึกษาและช่วยเหลือผู้วิจัยโดยตลอด ท้ายนี้ผู้วิจัยใคร่ขอกราบขอบพระคุณมารดาและขอขอบคุณภรรยาที่คอยให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยโดยตลอดจนสำเร็จการศึกษา

นายแพทย์ มนตรี วงศ์นิราศภัย

สารบัญ

บทที่ **หน้า**

1 บทนำ

ภูมิหลัง..... 1

ความสำคัญของการวิจัย..... 3

วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 3

ขอบเขตของการวิจัย..... 3

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย..... 3

กรอบแนวคิดของแผนงานวิจัย..... 4

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

พยาธิกำเนิดและอาการแสดงของสิว..... 5

แนวทางการรักษาสิว..... 8

สปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* และน้ำยา hydrogen peroxide..... 16

การผลัดผิวเซลใบหน้า (facial resurfacing)..... 19

3 วิธีดำเนินงานวิจัย

การกำหนดประชากรและกลุ่มตัวอย่าง..... 22

อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย..... 23

ขั้นตอนการวิจัย..... 23

การประเมินการทดลองวิจัย..... 27

การวิเคราะห์ข้อมูล (data analysis)..... 28

การบริหารงานวิจัยและตารางปฏิบัติงาน..... 29

งบประมาณการวิจัย..... 29

4 ผลการวิจัย

ลักษณะโดยทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง 30

ผลการทดลอง..... 31

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ **หน้า**

5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผลการทดลอง..... 54

สรุป..... 59

ข้อเสนอแนะ..... 60

บรรณานุกรม..... 62

ภาคผนวก..... 70

ประวัติย่อผู้วิจัย..... 75

บัญชีตาราง

ตาราง **หน้า**

1 การจำแนกความรุนแรงของสิว..... 9

2 ยาปฏิชีวนะชนิดรับประทานที่ใช้ในการรักษาสิว..... 11

3 แสดงแนวทางการรักษาสิวชนิดยาทาและยารับประทานในปัจจุบัน..... 14

4 ยาฮอร์โมนที่ใช้ในการรักษาสิว..... 15

5 สรุปขั้นตอนการทาผงสกัดฟองน้ำและการตัดชิ้นเนื้อในแต่ละสัปดาห์..... 25

6 สรุปขั้นตอนการวิจัย..... 27

7 แสดงระยะเวลาในการปฏิบัติงาน..... 29

8 เปรียบเทียบน้ำหนักของกลุ่มตัวอย่างในแต่ละสัปดาห์ของการศึกษา..... 40

9 แสดงความหนาของผิวหนังกำพร้า..... 42

10 แสดงความหนาของชั้นหนังแท้..... 45

11 แสดงจำนวนสปิคูลฟองน้ำบนผิวหนังชั้นบนต่อพื้นที่หนึ่งตารางเซนติเมตรในแต่ละสัปดาห์..... 48

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ **หน้า**

1 แสดงพยาธิกำเนิดของสิว..... 6

2 แสดงลักษณะสิวอุดตันชนิดหัวเปิด (opened comedones) และสิวหัวปิด (closed comedones)..... 7

3 แสดงสิวอักเสบมีหนอง..... 7

4 แสดงลักษณะชนิดสิวอักเสบและถุงสิว..... 8

5 แสดงรูปฟองน้ำ *Spongilla lacustris*..... 17

6 แสดงลักษณะสปิคูล (spicules) ของฟองน้ำ *Spongilla sp*..... 17

7 แสดงเทคนิคการผลัดเซลผิวหนัง..... 20

8 แสดงลักษณะผงสกัดจากฟองน้ำ *Spongilla lacustris*..... 30

9A แสดงลักษณะผิวหนังหนูทดลองก่อนทาด้วยสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์..... 31

9B แสดงลักษณะผิวหนังหนูทดลองระหว่างทาด้วยสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์..... 31

9C แสดงลักษณะผิวหนังหนูทดลอง หลังจากเช็ดออกด้วย normal saline..... 31

10A แสดงพื้นผิวหนังชั้นบนสุดของผิวหนังปกติจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนชนิดส่องกราด ภาพกำลังขยาย 50 เท่า..... 32

10B แสดงพื้นผิวหนังชั้นบนสุดของผิวหนังปกติจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนชนิดส่องกราด ภาพกำลังขยาย 100 เท่า..... 32

10C แสดงพื้นผิวหนังชั้นบนสุดของผิวหนังปกติจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนชนิดส่องกราด ภาพกำลังขยาย 150 เท่า..... 32

10D แสดงพื้นผิวหนังชั้นบนสุดของผิวหนังปกติจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนชนิดส่องกราด ภาพกำลังขยาย 200 เท่า..... 32

11A แสดงลักษณะสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* บนพื้นผิวกระดาษ ภาพกำลังขยาย 150 เท่า..... 33

11B แสดงลักษณะสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* บนพื้นผิวกระดาษ ภาพกำลังขยาย 750 เท่า..... 33

12A แสดงลักษณะสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* บนพื้นผิวหนังของหนูทดลองจากการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ภาพกำลังขยาย 50 เท่า..... 34

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ **หน้า**

12B แสดงลักษณะสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* บนพื้นผิวหนังของหนูทดลอง จากการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ภาพกำลังขยาย 100 เท่า……. 34

12C แสดงลักษณะสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* บนพื้นผิวหนังของหนูทดลอง จากการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ภาพกำลังขยาย 200 เท่า……. 34

12D แสดงลักษณะสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* บนพื้นผิวหนังของหนูทดลอง จากการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ภาพกำลังขยาย 500 เท่า.....……... 34

13A แสดงลักษณะสปิคูลฟองน้ำว *Spongilla lacustris* วางแทรกบนพื้นผิวหนังหนู ภาพกำลังขยาย 350 เท่า…..…….. 35

13B แสดงลักษณะสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ที่ปักลงบนพื้นผิวหนัง ภาพกำลังขยาย 350 เท่า……... 35

14A แสดงลักษณะชั้นผิวหนังของหนูทดลองจากการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ภาพกำลังขยาย 10 เท่า……. 36

14B แสดงภาพขยายจากภาพประกอบ 14A ภาพกำลังขยาย 40 เท่า……..... 37

15A แสดงลักษณะผิวหนังของหนูทดลองจากการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์โพลาไลซ์ ภาพกำลังขยาย 10 เท่า……. 38

15B แสดงลักษณะสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* บนพื้นผิวหนังของหนูทดลอง จากการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์โพลาไลซ์ ภาพกำลังขยาย 40 เท่า……..... 39

16 กราฟแสดงน้ำหนักของหนูในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม……..……... 41

17 กราฟแสดงความหนาของผิวหนังกำพร้า (Epidermal layer)…….. 43

18A แสดงลักษณะผิวหนังชั้น epidemis ที่ได้จากกลุ่มควบคุม……. 44

18B แสดงลักษณะผิวหนังชั้น epidermis ที่ได้จากกลุ่มทดลองที่ 1……..…….. 44

19 กราฟแสดงความหนาของชั้นหนังแท้ (Dermal layer)…….. 46

20 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักตัวกับความหนาของผิวหนังชั้น dermis…. 47

21 แผนภูมิแท่งแสดงจำนวนสปิคูลฟองน้ำบนผิวหนังชั้นบนต่อพื้นที่หนึ่งตารางเซนติเมตร……..…… 49

บทที่ 1
บทนำ

ภูมิหลัง

สิว (acne vulgaris) เป็นโรคผิวหนังที่พบบ่อยในเวชปฏิบัติ จากสถิติผู้ป่วยที่มาตรวจในแผนกผู้ป่วยนอกที่สถาบันโรคผิวหนัง ตั้งแต่ปีพ.ศ.2547-2550 พบว่ามีจำนวนผู้ป่วยมาตรวจด้วยเรื่องสิวมากเป็นอันดับสองคิดเป็นร้อยละ 25 รองจากอาการผื่นผิวหนังอักเสบ (dermatitis หรือ eczema) คิดเป็นร้อยละ 31 สิวสามารถเกิดได้ในทุกกลุ่มประชากรและทุกเชื้อชาติ พบความชุกของประชากรได้มากกว่าร้อยละ 85 ของประชากรในช่วงอายุ 12 ถึง 24 ปี[1] ช่วงอายุที่พบมากที่สุดคือระหว่างอายุ 15 ถึง 19 ปี และยังพบว่าสิวเกิดขึ้นได้ร้อยละ 10 ในช่วงอายุระหว่าง 35 ถึง 44 ปี[2]

สิวเป็นโรคผิวหนังที่พบบ่อยแม้จะไม่ได้มีอันตรายต่อชีวิตแต่กลับมีผลต่อสภาวะอารมณ์และจิตใจอย่างมาก เช่นทำให้ลดความมั่นใจในตนเอง ความกังวลต่อภาพลักษณ์ ปัญหาการปรับตัวเมื่อเข้าสังคม การหลบเลี่ยงการเข้าสังคม ภาวะซึมเศร้า รวมถึงแสดงพฤติกรรมก้าวร้าว การประเมินความรุนแรงของสิวไม่สามารถที่จะบอกผลกระทบที่มีต่อผู้ป่วยในภาวะนี้ได้ครบถ้วน แม้การประเมินจากแพทย์ผิวหนังแล้วว่าเป็นสิวชนิดที่รุนแรงน้อยแต่ก็ไม่สามรถบอกได้ว่าผู้ป่วยมีสภาวะอารมณ์และจิตใจดังกล่าวมากน้อยเพียงไร[6, 7] ดังนั้นการรักษาที่มีประสิทธิภาพ การหายจากโรคอย่างรวดเร็ว และเกิดผลข้างเคียงต่ำน่าจะเป็นวิธีที่ดีที่สุด

สิวเกิดจากความผิดปกติของต่อมไขมันและรูขุน เกิดสิวอุดตัน การเกิดการอักเสบบริเวณสิวอุดตัน และการติดเชื้อ *Propionibacterium acnes* โดยปัจจัยที่เกี่ยวข้องมีดังต่อไปนี้เช่นภาวะฮอร์โมนเพศโดยเฉพาะฮอร์โมนเพศชาย กรรมพันธุ์ การดูแลความสะอาด ยาบางชนิดที่กระตุ้นให้เกิดสิว โรคเนื้องอกรังไข่ (polycystic ovarian syndrome) เนื้องอกต่อมหมวกไต ภาวะอารมณ์เครียด การพักผ่อนไม่เพียงพอ มลภาวะแวดล้อมจากการทำงานล้วนเป็นปัจจัยช่วยเสริมให้เกิดสิวเช่นกัน

การรักษาในปัจจุบันมีหลายวิธีเช่นการทายาเฉพาะที่ ยารับประทานชนิดยาปฏิชีวนะชนิดกรดอนุพันธ์วิตามินเอหรือเรตินอยด์ (retinoids) ยากลุ่มยับยั้งการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนเพศชาย และยาคุมกำเนิด เป็นต้น ยาทาแบ่งได้เป็นสองกลุ่มหลักคือยาทากลุ่มเรตินอยด์ (topical retinoids) และยาปฏิชีวนะการทายามีวัตถุประสงค์หลักคือการป้องกันการเกิดรอยโรคใหม่และป้องกันการเกิดเป็นซ้ำ ผลข้างเคียงที่พบบ่อยคืออาการระคายเคือง ยาทาสามารถหาซื้อได้ตามร้านขายยาทั่วไป และยาแต่ละชนิดก็มีความเข้มข้นและรูปแบบแตกต่างกันไป ในปัจจุบันพบอาการดื้อยาต่อยาทาเฉพาะที่ในกลุ่มยาปฏิชีวนะมากขึ้นทำให้ต้องใช้ยาทามากกว่าหนึ่งชนิดขึ้นไปเพื่อป้องกันการดื้อยา จึงอาจทำให้มีผลข้างเคียงของยามากขึ้นตามไปด้วย

สำหรับยารับประทานเช่นกลุ่มยาปฏิชีวนะออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อ ต้านการอักเสบและลดการอุดตันของรูขุมขน แต่มีผลข้างเคียงเช่นระคายเคืองในกระเพาะอาหารและลำไส้ ทำให้เกิดภาวะผิวหนังไวต่อแสง สีฟันและช่องบุเนื้อเยื่อคล้ำดำขึ้นได้ หรือแม้กระทั่งการเกิดการแพ้ยาอย่างรุนแรง เช่น toxic epidermal necrolysis ยากลุ่มฮอร์โมนอาจมีผลทำให้รอบประจำเดือนผิดปกติ เจ็บตึงเต้านม ยากลุ่มเรตินอยด์มีผลข้างเคียงรุนแรงคือการเจริญเติบโตของทารกในครรภ์ผิดปกติ ตับอักเสบ ภาวะไตรกรีเซอไรด์สูง ปากแห้ง ตาแห้ง ปวดศีรษะ ปวดข้อ เป็นต้น[2]

การรักษาอื่นๆที่มักจะใช้ร่วมในการรักษาคือ การกดสิวอุดตัน (extraction) การฉีดยาสเตียรอยด์บริเวณสิวอักเสบ วิธีดังกล่าวทำให้สิวหายได้เร็วอย่างชัดเจน การใช้เลเซอร์ชนิดต่างๆมีวัตถุประสงค์เพื่อใช้เป็นการรักษาเสริมเนื่องจากการรักษาด้วยวิธีอื่นๆอาจจะมีผลข้างเคียงจากการใช้ยา ทั้งยาทาและยารับประทาน ความไม่สม่ำเสมอของการใช้ยา และปัญหาเชื้อดื้อยาจากการรักษาตามปกติ การใช้เลเซอร์ยังมีผลการรักษาที่แตกต่างกันออกไปตามแต่ละการศึกษา

อย่างไรก็ตามในปัจจุบันมีผู้พยายามคิดค้นการรักษาสิวด้วยวิธีใหม่เพื่อรักษาสิวให้หายเร็วขึ้นและสะดวกสบายต่อผู้ป่วยเช่นการผลัดเซลผิวด้วยกรด glycolic acid หรือ salicylic acidบริเวณใบหน้าเพื่อลดการอุดตันของสิว การใช้เลเซอร์เพื่อลดการเกิดการอักเสบและรอยแดงจากสิว การรับประทาน zinc ลดความมันบนในหน้าเพื่อให้ลดการเกิดสิวอุดตัน และการใช้เลเซอร์ที่มีความยาวคลื่นจำเพาะต่อสิวอักเสบและรอยแดง วิธีดังกล่าวที่ได้กล่าวมามีการวิจัยที่ได้รับการยอมรับว่าได้ผลบ้างและไม่ได้ผลบ้างและการรักษาด้วยบางวิธีอาจจะไม่ได้ผลดีแต่มีความปลอดภัยก็ยังพบได้ในท้องตลาด

การรักษาสิวโดยใช้สปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำยา hydrogen peroxide ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้รักษาสิวในประเทศไทยมาประมาณ 2 ปี เชื่อว่าสามารถทำให้สิวอักเสบและสิวอุดตันลดจำนวนลงได้เร็วกว่าการใช้ยารักษาในปัจจุบันมีการนำมาใช้กับผู้ป่วยตามสถานพยาบาลและคลินิกต่างๆ โดยตัวแทนนำเข้าผลิตภัณฑ์ไม่มีข้อมูลศึกษาทางการแพทย์ที่เป็นหลักฐานยืนยันถึงประสิทธิภาพและความปลอดภัย อันอาจจะส่งผลเสียต่อผู้ป่วยที่มารับการรักษาโดยตรง และหากเกิดภาวะแทรกซ้อนแพทย์ผู้ให้การรักษาอาจถูกฟ้องร้องดำเนินคดีทางกฎหมายได้ จึงเป็นที่มาของการศึกษาในการศึกษาวิจัยนี้ โดยเป็นการศึกษาเบื้องต้นถึงความปลอดภัยของการนำสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* โดยจะทำการศึกษาในสัตว์ทดลองก่อนที่จะนำมาใช้ในมนุษย์

ความสำคัญของการวิจัย

1. ทำให้ทราบถึงความปลอดภัยของการนำสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ก่อนนำมาประยุกต์ใช้จริงกับผิวหนังในมนุษย์

2. ทำให้ทราบถึงผลของสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ต่อผิวหนัง

3. ทำให้ได้ข้อมูลเพื่อประกอบการตัดสินใจของแพทย์ในการเลือกใช้วิธีการรักษาสิวโดยใช้สปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำยา hydrogen peroxide ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้ตั้งความมุ่งหมายไว้ดังนี้

1. เพื่อประเมินความปลอดภัยของการนำสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ก่อนมาประยุกต์ใช้ในมนุษย์

2. เพื่อศึกษาผลของสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ต่อผิวหนังในสัตว์ทดลอง

ขอบเขตของการวิจัย

เป็นการศึกษาทางด้านวิทยาศาสตร์พื้นฐานประยุกต์ โดยทำการศึกษาในสัตว์ทดลอง

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย

หนู (rat) จากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล

ตัวแปรที่ศึกษา

ตัวแปรอิสระได้แก่ การทาผิวด้วยสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris*

ตัวแปรตาม ได้แก่ การตกค้างของสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris*

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญแก่แพทย์และบุคคลากรทางการแพทย์ในการตัดสินใจเพื่อเลือกใช้สปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำยา hydrogen peroxide ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์มาประยุกต์ใช้ในการรักษาสิว

2. เพื่อเน้นย้ำถึงความสำคัญต่อการศึกษาข้อมูลพื้นฐานด้านความปลอดภัยของยาหรือผลิตภัณฑ์เวชสำอางค์ก่อนนำมาใช้กับผู้ป่วยจริง

กรอบแนวคิดในการวิจัย (Conceptual framework)

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

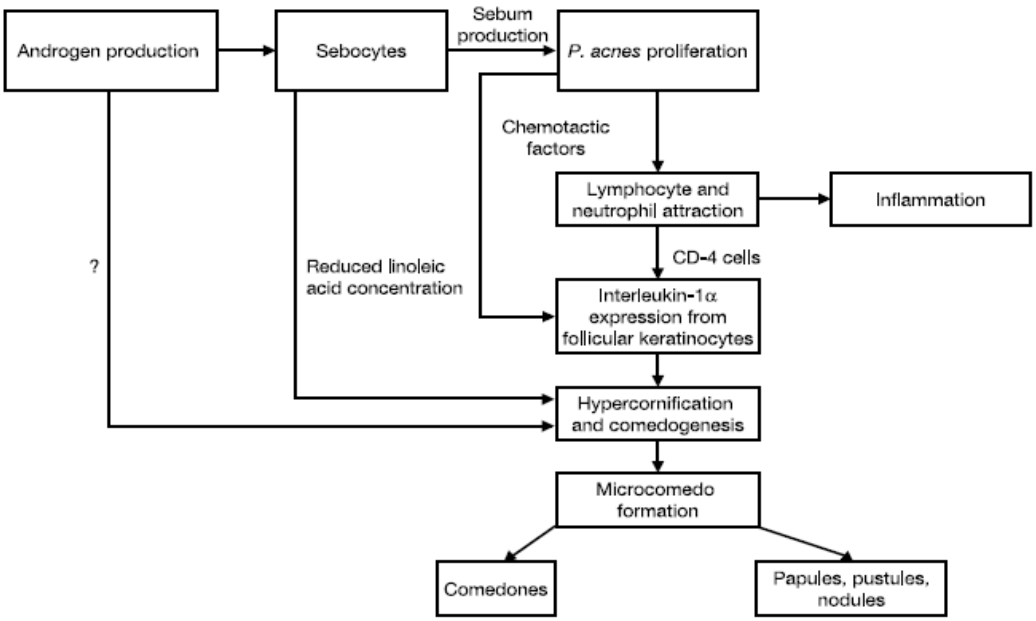
ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องและได้เสนอตามหัวข้อต่อไปนี้

1. พยาธิกำเนิดและอาการแสดงของสิว
2. แนวทางการรักษาสิว
3. สปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* และน้ำยา hydrogen peroxide
4. การผลัดผิวเซลใบหน้า (facial resurfacing)

1. พยาธิกำเนิดของสิว

สิวเกิดจากความผิดปกติของต่อมไขมันและรูขุมขนที่เรียกว่า pilosebaceous unit[3, 9] สิวเกิดจากหลายปัจจัย ก่อให้เกิดพยาธิสภาพดังต่อไปนี้คือ การหนาตัวของผิวหนังบริเวณรูขุมขน (altered follicular growth and differentiation หรือ follicular epithelial hyperproliferation) ทำให้เกิดการอุดตันของรูขุมขนตามมาเรียกว่า follicular plugging การเจริญของต่อมไขมันและการหลั่งไขมันจากต่อมไขมันที่มากขึ้น (sebaceous gland hyperplasia with seborrhea) การเกิดการอักเสบและการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน (inflammation and immune response) และแบคทีเรีย *Propionibacterium acnes*[4] ในบริเวณรูขุมขน

พบว่าการสร้าง interleukin-1α (IL-1α) ของ *P.acnes* และอิทธิพลจากฮอร์โมน androgen ทำให้เกิดการหลั่งไขมันจากต่อมไขมันเพิ่มขึ้นมีผลให้ระดับความเข้มข้นของกรด linoleic acid ในรูขุมขนลดลง จากหลักฐานทั้งสองข้อนี้ทำให้เกิดทำให้เกิดกระบวนการ follicular epithelial hyperproliferation และพบอีกว่ามีความผิดปกติของการหลุดลอกของเซลผิวชั้น stratum corneum (corneocyte) อัดแน่นรวมกับสารคัดหลั่งจากต่อมไขมัน (sebum) ทำให้เกิดการอุดตันในบริเวณรูขุมขนและเกิด microcomedone ขึ้น[3, 4] ในปัจจุบันมีการค้นพบบทบาทของ toll-like receptor 2 (TLR-2) บนผนังเซลของ *P.acnes* เมื่อเม็ดเลือดขาวชนิด monocytes มากำจัด *P.acnes* TLR-2 บนผนังเซลจะกระตุ้น monocytes ให้หลั่ง proinflammatory cytokine ที่สำคัญคือ interleukin-12 และ interleukin-8 ทำให้เกิดการรวมตัวของเซลเม็ดเลือดขาวมากขึ้นจนก่อให้เกิดการอักเสบ[4]



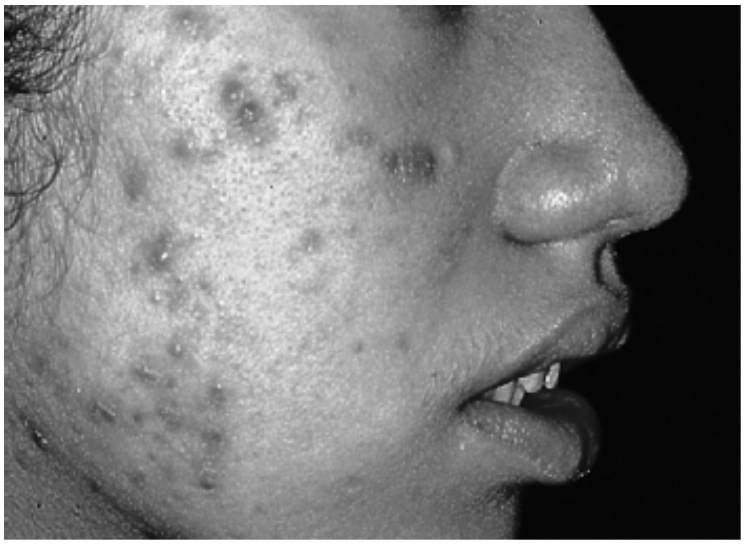
ภาพประกอบ 1 แสดงพยาธิกำเนิดของสิว[3]

ที่มา: Leyden JJ. A review of the use of combination therapies for the treatment of acne vulgaris. Journal of the American Academy of Dermatology. 2003 Sep;49(3 Suppl):S200-10.

ลักษณะการแสดงออกของสิวสามารถแบ่งได้เป็นการเกิดสิวอุดตัน สิวอักเสบและถุงสิว สิวอุดตันมีทั้งชนิดสิวหัวปิด (closed comedones หรือ whiteheads) สิวอุดตันชนิดนี้มีลักษณะเป็นเม็ดสีขาวและเงา และชนิดสิวหัวเปิด (open comedones หรือ blackheads) ซึ่งมีลักษณะเป็นเม็ดมีจุดตรงกลางสีดำซึ่งเกิดจากปฏิกิริยา oxidation ของเม็ดสีเมลานิน (melanin pigment) ดังภาพประกอบ 2 การเกิดสิวอักเสบมีลักษณะเป็นเม็ดสีแดงขนาดต่างๆกัน (papules หรือ nodules) เม็ดหนอง (pustules) ดังภาพประกอบ 3 และลักษณะถุงสิว (cysts) ดังภาพประกอบ 4 และอาจเป็นหนอง (deep-seated abscess) ในกรณีที่มีอาการรุนแรงมาก[5]

ภาพประกอบ 2 แสดงลักษณะสิวอุดตันชนิดหัวเปิด (opened comedones) และสิวหัวปิด (closed comedones)[2]

ที่มา: James WD. Clinical practice. Acne. The New England journal of medicine. 2005 Apr 7;352(14):1463-72.



ภาพประกอบ 3 แสดงสิวอักเสบมีหนอง[5]

ที่มา: Brown SK, Shalita AR. Acne vulgaris. Lancet. 1998 Jun 20;351(9119):1871-1876.

ภาพประกอบ 4 แสดงลักษณะชนิดสิวอักเสบและถุงสิว[2]

ที่มา: James WD. Clinical practice. Acne. The New England journal of medicine. 2005 Apr 7;352(14):1463-72.

2. แนวทางการรักษาสิว

การรักษาสิวในปัจจุบันมักจะแบ่งระดับความรุนแรงของสิวเพื่อการประเมินของแพทย์ และการทำความเข้าใจได้ตรงกัน มักจะใช้วิธีการประเมินแบบง่าย (simplified classification) ดังแสดงในตาราง 1 เป็นระดับความรุนแรงน้อย ปานกลางถึงรุนแรงมาก การเลือกใช้ยาขึ้นกับระดับความรุนแรงของโรค

ยารักษาสิวในปัจจุบันสามารถแบ่งได้ดังต่อไปนี้

1. การรักษาด้วยยาทา

ยาทาในปัจจุบันแบ่งออกได้เป็นสองกลุ่มหลักคือยาทากลุ่มเรตินอยด์ (topical retinoids) และยาทากลุ่มยาปฏิชีวนะ (topical antimicrobials)

1.1 ยาทากลุ่มเรตินอยด์ (topical retinoids)[2, 3] ยาทากลุ่มนี้ช่วยในการรักษาและป้องกันการเกิดสิวทั้งชนิดสิวอุดตันและสิวอักเสบ โดยออกฤทธิ์ในการแก้ไขความผิดปกติของการหนาตัวของผิวหนังบริเวณรูขุมขน (follicular epithelial hyperproliferation) ช่วยลดการเกิดการอักเสบโดยการแย่งจับกับ TLR-2 บนผนังเซลของ *P.acnes* ช่วยให้ยาทากลุ่มอื่นสามารถซึมผ่านผิวหนังได้ดีขึ้นและลดการเกิดรอยดำจากแผลด้วย การทายาในกลุ่มนี้สามารถใช้เป็นยาตัวเดียวในการรักษาสิวชนิดรุนแรงน้อย หากผู้ป่วยมีอาการรุนแรงขึ้นสามารถที่จะใช้ร่วมกับยากลุ่มอื่นๆได้ การรักษาโดยกลุ่มยาทาเรตินอยด์นี้เห็นผลเต็มที่ประมาณ 8 ถึง 12 สัปดาห์

ตาราง 1 การจำแนกความรุนแรงของสิว (The Leeds Revised Acne Grading System)[8]

Leeds Revised Acne Grading System	FDA Global Grade	FDA Description	Simplified Classification
Grade 1 (A) Grade 2 (B) Grade 3 (C)	I	Comedones are the mainlesions, Papules and pustules may be present but are small and few in number (generally<10)	Mild
Grade 4 (D) Grade 5 (E) Grade 6 (F) Grade 7 (G)	II	Moderate numbers (10-40) of papules and pustules. Moderate numbers (10-40) of comedones are also present. Sometimes mild truncal disease.	Moderate
Grade 8 (H) Grade 9 (I) Grade 10 (J)	III	Numerous papules and pustules (40-100) usually with many comedones (40-100) and the occasional (up to 5) larger, deeper nodular inflamed lesions. Widespread affected areas usually involving face, chest, and back	Moderately severe
Grade 11 (K) Grade 12 (L) Nodulocystic (M)	IV	Nodulocystic acne and acne conglobata with severe lesions; many large, painful nodular/pustular lesions along with many smaller papules, pustules, and comedones.	Very severe

ที่มา: Cunliffe WJ, Meynadier J, Alirezai M, George SA, Coutts I, Roseeuw DI, et al. Is combined oral and topical therapy better than oral therapy alone in patients with moderate to moderately severe acne vulgaris? A comparison of the efficacy and safety of lymecycline plus adapalene gel 0.1%, versus lymecycline plus gel vehicle. Journal of the American Academy of Dermatology. 2003 Sep;49(3 Suppl):S218-26.

1.2 ยาทากลุ่มยาปฏิชีวนะ (topical antimicrobials) ยากลุ่มนี้มีประสิทธิภาพในการรักษาสิวชนิดอักเสบประกอบด้วยยา benzoyl peroxide และยาปฏิชีวนะ

1.2.1 Benzoyl peroxide ออกฤทธิ์โดยทำปฏิกิริยาต่อออกซิเจน (oxidation) ทำให้ออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *P.acnes* โดยตรง (bactericidal effect) และพบว่าทำให้ลดการหลั่ง IL-1 จาก *P.acnes* และลดการหลั่งสาร chemotaxis ต่างๆจากเม็ดเลือดขาวบริเวณนั้นทำให้ลดการอักเสบลงได้[10] การใช้ยา benzoyl peroxide นี้มักใช้เป็นยาลำดับแรกเนื่องจากมีประสิทธิภาพที่ดีโดยสามารถลดการอักเสบได้

ดีภายในห้าวันหลังจากเริ่มใช้ยา ยังไม่พบการดื้อยาต่อเชื้อ *P.acnes* แต่ผลข้างเคียงที่พบบ่อยคือ อาการระคายเคือง ขนาดความเข้มข้นที่เหมาะสมคือร้อยละ 2.5 ถึงร้อยละ 5

1.2.2 ยาปฏิชีวนะ มีข้อบ่งชี้ในการใช้รักษาสิวชนิดรุนแรงน้อย ออกฤทธิ์โดยการฆ่าเชื้อ *P.acnes* โดยตรง สามารถยับยั้งการอักเสบโดยการยับยั้งการหลั่งสาร chemotaxis จากเม็ดเลือดขาวด้วย และยังพบว่ามีฤทธิ์ต้านการเกิดสิวอุดตัน (anticomedogenic effect) อีกด้วย[11] ปัจจุบันยาที่นิยมใช้คือ clindamycin และ erythromycin อย่างไรก็ตามมีอุบัติการณ์พบเชื้อดื้อต่อยาสองชนิดนี้มากขึ้น โดย Ross J.I. และคณะ[12] ได้รายงานการตรวจพบเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะในผู้ป่วยสิวใน 6 ประเทศทวีปยุโรป พบว่ามีผู้ป่วยสิวถึงร้อยละ 50 ที่ตรวจพบเชื้อดื้อต่อยา clindamycin และ erythromycin และร้อยละ 20 ดื้อต่อยา tetracycline ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดเชื้อดื้อยาเช่น การใช้ยาปฏิชีวนะในความเข้มข้นต่ำ การใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาสิวเป็นจำนวนมากและเป็นระยะเวลานานโดยพบว่าการก่อให้เกิดเชื้อดื้อยาจะเกิดขึ้นภายหลังใช้ยาไปแล้วเป็นเวลา 12-24 สัปดาห์ และเกิดจากการที่ผู้ป่วยใช้ยาไม่สม่ำเสมอ[13, 14]

การศึกษาของ Hurwitz S. และคณะ[15] ศึกษาการใช้ยาทากลุ่มเรตินอยด์คู่กับการใช้ยา benzoyl peroxide ในผู้ป่วยสิวชนิดรุนแรงปานกลางถึงมาก พบว่าทำให้สิวอุดตันและสิวอักเสบลดลงถึงร้อยละ 80 ถึง 90 ในระยะเวลา 8 สัปดาห์

1.3 ยาทากลุ่มอื่นๆในปัจจุบันไม่มีหลักฐานว่ามีประสิทธิภาพดีกว่ายาทาสองกลุ่มที่ได้กล่าวมา มักใช้เป็นยาช่วยเสริมการรักษา ทั้งนี้การเลือกใช้ขึ้นกับการพิจารณาตามความเหมาะสมและผลข้าง เคียงเป็นสำคัญ ยาในกลุ่มนี้ได้แก่

1.3.1 Azelaic acids เป็นกรดธรรมชาติที่สกัดได้จาก dicarboylic acid ที่ออกฤทธิ์โดยการยับยั้งการสังเคราะห์ดีเอ็นเอของเซลชั้นผิวหนังกำพร้า (keratinocytes) มีฤทธิ์ในการละลายสิวอุดตัน (comedolytic activity) ออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้งชนิด *Staphylococcus epidermidis* และ *P.acnes*[16, 17] และมีฤทธิ์ในการยับยั้งการสร้างเม็ดสีโดยการแย่งจับกับเอนไซม์ tyrosinase เหมาะกับในรายที่มีรอยดำจากสิว (post inflammatory hyperpigmentation)[18]

1.3.2 Salicylic acids ออกฤทธิ์โดยการละลายผิวหนังกำพร้าส่วนบน ลดการอุดตันบริเวณรูขุมขน (follicular plugs) และลดการหลุดลอกของเซลผิวหนังในบริเวณรูขุมขน ทำให้ลดการเกิดสิวอุดตัน[3]

1.3.3 Alpha-hydroxyl acids มีรายงานการใช้รักษาสิว พบว่าดีขึ้นในบางรายเท่านั้นมักใช้เป็นยาเสริมการรักษา[3]

1.3.4 ยาทาชนิดต้านการออกฤทธิ์ฮอร์โมนเพศชาย (antiandrogens) ยา inocoterone acetate จากการศึกษาโดย Lookingbill DP. และคณะ[19] ใช้ 10% inocoterone ในรูปแบบน้ำทาบริเวณที่เป็นสิวสองเวลา ติดตามการรักษาพบว่าสัปดาห์ที่12 และ 16 ลดการเกิดสิวอักเสบได้ร้อยละ

24 และร้อยละ 26 ตามลำดับ เปรียบเทียบกับยาหลอก ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของสิวอุดตันและความมันบนใบหน้า ในปัจจุบันไม่ได้รับความนิยม

2. การรักษาด้วยยารับประทาน

2.1 ยารับประทานชนิดยาปฏิชีวนะ การรับประทานยามีข้อบ่งชี้เมื่อผู้ป่วยเป็นสิวชนิดรุนแรงปานกลางถึงรุนแรงมาก ผู้ป่วยที่รักษาโดยวิธีทายาแล้วไม่ดีขึ้น และผู้ป่วยที่เกิดสิวบริเวณผิวหนังส่วนอื่นเป็นบริเวณกว้าง[5, 20] ยาในกลุ่มนี้ออกฤทธิ์โดยการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *P.acnes* และลดการหลั่ง IL-1 จาก *P.acnes* และยังมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งการหลั่ง chemotaxis factors และลดจำนวนเม็ดเลือดขาวชนิด neutrophil ลงด้วย โดยเฉพาะยา tetracycline และ erythromycin[21] การศึกษาของ Jeremy AHT และคณะ[22] พบว่ายาปฏิชีวนะยังสามารถลดจำนวนชนิดสิวอุดตันโดยการลดเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte บริเวณรอบรูขุมขนอีกด้วย การออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับความสามารถในการซึมผ่านเข้าไปภายใน pilosebaceous follicles ซึ่งเป็นบริเวณที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบอยู่ (lipid-rich environment) และบริเวณดังกล่าวเป็นตำแหน่งที่พบ *P.acnes* อยู่มาก

ยาปฏิชีวนะเพื่อรักษาสิวที่มีใช้อยู่ในปัจจุบันเช่น tetracycline, doxycycline, minocycline, erythromycin, trimethoprim และ azithromycin ส่วนยาปฏิชีวนะกลุ่ม quinolone เช่น levofloxacin พบว่าสามารถฆ่าเชื้อ *P.acnes* ได้ผลดีแต่ในทางปฏิบัติแล้วจะไม่ใช้ในการรักษาสิวเนื่องจากจะเก็บไว้ใช้ในกรณีผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อตำแหน่งอื่นที่รุนแรง[23] การใช้ยาปฏิชีวนะต้องคำนึงถึงขนาดยา ระยะเวลาการใช้และผลข้างเคียงของยาร่วมด้วย ดังในตาราง 2

ตาราง 2 ยาปฏิชีวนะชนิดรับประทานที่ใช้ในการรักษาสิว[20]

Antibiotics	Name	Dose	Duration	Drawbacks
Tetracyclines	Tetracycline Oxytetracycline	250-500 mg twice daily	4-6 months	• Gastrointestinal upset • Vaginal candidiasis • Need to take on empty stomach can decrease compliance
	Doxycycline	50-100 mg twice daily	4-6 months	• Gastrointestinal upset • Photosensitivity
	Minocycline	• 50-100 mg twice daily • 100 mg once daily (slow-release)	4-6 months	• Vertigo • hyperpigmentation of skin and oral mucosa • Expensive

ตาราง 2 (ต่อ)

Antibiotics	Name	Dose	Duration	Drawbacks
				• Uncommonly significant systemic adverse effects
	Erythromycin	500 mg twice daily		• Gastrointestinal upset • Vaginal candidiasis • Emergence of resistance of *P. acnes* is common
New antibiotics				
Tetracyclines	Lymecycline	150-300 mf daily	4-6 months	
Macrolides	Azithromycin	250 mg three times a week	4-6 months	• Gastrointestinal upset

ที่มา: Katsambas A, Papakonstantinou A. Acne: systemic treatment. Clinics in Dermatology. 2004 Sep-Oct;22(5):412-8.

2.2 ยารับประทานชนิดกรดเรตินอยด์ เช่นยา isotretinoin หรือ 13-cis-retinoic acid ใช้ในการรักษาสิวมาเป็นระยะเวลา 20 ปี เป็นยาชนิดเดียวที่ออกฤทธิ์ในการรักษาทุกพยาธิกำเนิดของสิว กล่าวคือลดการสร้างและหลั่งไขมันจากต่อมไขมันบริเวณผิวหนัง ลดการเกิดสิวอุดตัน ลดการสะสมของเชื้อ *P.acnes* และต้านกระบวนการเกิดการอักเสบ[24-27] มีการศึกษาที่รายงานการใช้ยา isotretinoin เป็นระยะเวลานาน พบว่าสามารถทำให้อัตราการหายของสิวได้ (remission rate) ถึงร้อยละ 70-89[28-30] ข้อบ่งชี้ของการใช้คือผู้ป่วยที่เป็นสิวชนิดรุนแรง หรือในกรณีสิวอักเสบชนิดรุนแรงปานกลางและรุนแรงน้อยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา แผลเป็นรุนแรงจากการเป็นสิว สิวที่เกิดบริเวณหน้าและลำตัว การเกิดสิวที่มีผลกระทบต่อภาวะจิตใจอย่างมากในผู้ป่วยบางรายและสิวบางชนิดเช่น acne fulminans โรค pyoderma faciale และการติดเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (gram-negative folliculitis) ขนาดของยาที่ใช้คือ 0.5 ถึง 1 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัม ระยะเวลาในการ รักษา 16 ถึง 30 สัปดาห์จนครบขนาดยา 120-150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัม การรับประทานขนาดยาน้อยกว่า 120 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัมมีโอกาสการเกิดเป็นซ้ำได้หลังจากหยุดมากกว่า ส่วนการใช้ขนาดยามากกว่า 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัมไม่ พบว่าได้ประโยชน์เพิ่มขึ้นแต่อย่างใด การรับประทานยาในช่วง 2 เดือนแรกสามารถที่จะทำให้มีอาการสิวเห่อขึ้นได้ในผู้ป่วยร้อยละ 6[30, 31] หากมีอาการมากสามารถควบคุมได้โดยการเพิ่มยา prednisolone ในขนาด 0.5 ถึง 1 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัมต่อวันเป็นเวลา 2 ถึง 3 สัปดาห์ การเกิดการกลับเป็นซ้ำ

(relapse) พบได้ถึงร้อยละ15-45 [30, 31] โดยเฉพาะผู้ป่วยในกลุ่มผู้ป่วยอายุน้อย ผู้ป่วยที่พบสิวบริเวณลำตัวและผู้ป่วยที่มีภาวะ polycystic ovary syndrome[32, 33]

ผลข้างเคียงที่พบบ่อยคือริมฝีปากแห้ง ผิวแห้ง เยื่อบุตาอักเสบ การมองเห็นภาพช่วงเวลากลางคืนลดลง การเกิดการกระตุ้นเนื้อเยื่อชนิด granuloma บริเวณหน้าได้ง่าย จึงควรหลีกเลี่ยงการทำหัตถการหรือการผ่าตัดในระหว่างการรับประทานยาและควรหยุดยาอย่างน้อย 6 เดือนก่อนทำหัตถการบริเวณหน้า[34] อาการที่พบบ่อยอีกคืออาการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ ปวดข้อ ปวดศีรษะซึ่งรักษาได้โดยการรับประทานยาแก้ปวดพาราเซตามอนหรือยากลุ่ม NSAIDs (Nonsteroidal anti-inflammatory drugs) ในรายที่มีอาการปวดศีรษะมากและมีความผิดปกติด้านการมองเห็นควรจะนึกถึงภาวะความดันในโพรงสมองสูงขึ้น (benign intracranial hypertension) โดยพบการเกิดภาวะดังกล่าวได้มากเมื่อใช้ยา isotretinoin ร่วมกับยา tetracycline การเกิดภาวะกระดูกสันหลังหนาตัวเรียกว่า diffuse idiopathic skeletal hyperostosis syndrome (DISH) [35, 36]

ผลข้างเคียงของยาที่สำคัญได้แก่การเกิดการเจริญเติบโตของทารกในครรภ์ผิดปกติ และมีผลต่อจิตประสาท การเกิดการเจริญเติบโตของทารกในครรภ์ผิดปกติส่งผลให้ต้องทำแท้งถึงร้อยละ 50 ร้อยละ 25 พบว่าทารกมีความผิดปกติของระบบหัวใจและหลอดเลือด และการเจริญเติบโตของระบบกล้ามเนื้อและกระดูกผิดปกติ[37] พบว่าระดับยาในร่างกายจะกลับคืนสู่ค่าปกติภายหลังจากหยุดยาไปเป็นเวลา 10 วันและสามารถตั้งครรภ์ได้หลังจากหยุดยาไปนานประมาณ 1 เดือนขึ้นไป การเริ่มรับประทานยาควรได้รับการตรวจการตั้งครรภ์ก่อนเสมอ[28, 38] ส่วนผลต่อจิตประสาทเช่นอาการซึมเศร้า หงุดหงิด อาการประสาท และความคิดอยากฆ่าตัวตาย การเกิดภาวะดังกล่าวนี้ยังเป็นที่ถกเถียงกันว่าเป็นผลจากการใช้ยา isotretinoin จริงหรือไม่ แต่อย่างไรก็ตามพึงประเมินภาวะเหล่านี้ก่อนการรักษาด้วยยาด้วยทุกครั้ง[34, 39, 40] ระหว่างการรับประทานยาผู้ป่วยควรได้รับการตรวจเลือดเพื่อดูการทำงานของตับ ระดับโคเลสเตอรอล (cholesterol) ระดับไตรกรีเซอไรด์ (triglycerides) ระดับ LDL (low-density lipoproteins) และ HDL (high-density lipoproteins) หลังจากรับประทานยาไปแล้ว 1 และ 2 เดือน[41, 42] มีรายงานพบการเพิ่มขึ้นของระดับ triglycerides และ cholesterol ในเลือดของผู้ป่วยที่รับประทานยาถึงร้อยละ25 และจะต่ำลงหากหยุดยา มีการเพิ่มขึ้นของค่าเอนไซม์ตับเล็กน้อย พบได้ประมาณร้อยละ15 ของผู้ป่วยที่รับประทานยาและมักจะกลับสู่ในระดับปกติภายในระยะเวลา 2 ถึง 4 สัปดาห์ความผิดปกตินี้มักไม่รุนแรงและไม่จำเป็นต้องหยุดยา[34, 41]

2.3 ยารับประทานชนิดฮอร์โมน ยากลุ่มนี้ใช้เป็นยารักษาทางเลือกสำหรับสิวทุกชนิดเฉพาะผู้ป่วยสิวที่เป็นผู้หญิง ออกฤทธิ์โดยการลดการตอบสนองต่อมไขมันจากฮอร์โมนเพศชาย (androgen) ทำให้การหลั่งไขมันลดลง ข้อบ่งชี้สำหรับผู้ป่วยหญิงที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาโดยใช้ยาปฏิชีวนะ ผู้ป่วยที่แสดงลักษณะอาการของฮอร์โมนเพศชายเช่น ขนดก ศีรษะล้าน ประจำ เดือนผิดปกติ เช่นในโรค polycystic ovarian syndrome และในภาวะที่ต่อมหมวกไตทำงานผิดปกติ (adrenal

hyperandrogenism)[43] ภาวะดังกล่าวควรได้รับการตรวจวินิจฉัยก่อนโดยการส่งตรวจวัดระดับ free testosterone ระดับ dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S) และสัดส่วนระดับ leutenizing hormone ต่อ follicle stimulating hormone (LH/FSH) การเพิ่มระดับ free testosterone บ่งชี้ว่ามีระดับฮอร์โมน androgen สูงจากความผิดปกติของต่อมหมวกไตหรือรังไข่ การเพิ่มระดับของสัดส่วน LH/FSH บ่งชี้ว่ามีภาวะ polycystic ovarian syndrome[44, 45]

ตาราง 3 แสดงแนวทางการรักษาสิวชนิดยาทาและยารับประทานในปัจจุบัน[11]

Acne severity	Mild		Moderate		Severe
Acne type	Comedonal	Papulopustular	Papulopustular	Nodular	Nodular/conglobata
First type	Topical retinoid	Topical retinoid + BPO or topical antibiotic or AZA	Oral antibiotic + topical retinoid +/- BPO	Oral antibiotic + Topical retinoid + BPO	Oral isotretinoin
Alternative	Alternate topical retinoid or AZA or salicylic acid	Alternate topicalretinoid + alternate topical antibiotic or BPO/AZA	Alternate oral antibiotic + alternate topical retinoid +/- BPO/AZA	Oral isotretinoin or oral antibiotic + Topical retinoid +/- BPO/AZA	High-dose oral antibiotic + topical retinoid + BPO/AZA
maintenance	Topical retinoid	Topical retinoid +/- BPO			

ที่มา: Krauthem A, Gollnick HPM. Acne: Topical treatment. Clinics in Dermatology. 2004;22:398-407.

ยาที่ใช้ในปัจจุบันได้แก่

2.3.1 ยา spironolactone เป็นยากลุ่มสเตียรอยด์สังเคราะห์ออกฤทธิ์โดยการยับยั้งการจับของฮอร์โมน androgen กับตัวรับ (receptor) ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 5α-reductase และลดการสังเคราะห์ฮอร์โมน androgen ขนาดยาที่ใช้รักษาคือ 100 ถึง 200 มิลลิกรัมต่อวัน ใช้ระยะเวลาการรักษาอย่างน้อย 12 สัปดาห์ขึ้นไป การตอบสนองของยาขึ้นกับขนาดยาเป็นสำคัญ ผลข้างเคียงที่สำคัญคือการเกิดภาวะเกลือแร่โปแตสเซียมในเลือดสูง (hyperkalemia) จำเป็นต้องได้รับการตรวจเลือดอย่างสม่ำเสมอ การปวดคัดตึงบริเวณเต้านม และประจำเดือนผิดปกติได้ ซึ่งภาวะดังกล่าวสามารถแก้ไขได้โดยการลดขนาดยาหรือหยุดยาก็จะเป็นปกติ[6, 46, 47]

2.3.2 ยา cyproterone acetate ออกฤทธิ์โดยการยับยั้งการทำงานของฮอร์โมน androgen ใช้ร่วมกับยา ethinyl estradiol ในผู้ป่วยหญิงที่มีภาวะระดับฮอร์โมน androgen ในเลือดสูง Carmina และคณะ[48] ศึกษาการใช้ยา cyproterone ในขนาด 2 มิลลิกรัมต่อวัน และขนาดสูงคือ 50 มิลลิกรัมต่อ

วันร่วมกับการใช้ยา ethinyl estradiol ในผู้ป่วยหญิงที่เป็นสิวชนิดรุนแรงปานกลางถึงมากและมีระดับฮอร์โมน androgen สูงพบว่ามีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับการใช้ยา flutamide 250 มิลลิกรัมต่อวัน

2.3.3 ยา flutamide เป็นยากลุ่มไม่ใช่สเตียรอยด์ออกฤทธิ์โดยการต้านฮอร์โมน androgens ในระดับเนื้อเยื่อโดยตรงใช้รักษาผู้ป่วยที่เป็นสิวที่มีระดับฮอร์โมน androgen สูงระดับรุนแรงปานกลางถึงรุนแรงมาก ดังในการศึกษาของ Carmina และคณะ[48] พบว่าการให้ยาขนาด 250 มิลลิกรัมต่อวันสามรถลดปริมาณสิวลงได้ร้อยละ 60 ในผู้ป่วยร้อยละ 75 แต่ผลข้างเคียงที่สำคัญของยานี้คือภาวะเป็นพิษต่อตับอาจทำให้เกิดภาวะตับวายได้[49]

2.3.4 ยาคุมกำเนิดที่องค์การและยาของประเทศสหรัฐอเมริการับรองการใช้ในการรักษาสิว พบว่ามีประสิทธิภาพในการลดสิวอักเสบถึงร้อยละ 40 ถึงมากกว่าร้อยละ 60 ส่วนผสมของยาสามสูตรที่ได้รับการรองรับคือสูตร ethinyl estradiol/triphasic 25 ไมโครกรัมร่วมกับ norgestimate 180 ถึง 250 ไมโครกรัม สูตร ethinyl estradiol/triphasic 20-30-35 ไมโครกรัมร่วมกับ norethindrone 1 มิลลิกรัม และสูตร ethinyl estradiol 30 ไมโครกรัมร่วมกับ norgestimate 180 ถึง 250 ไมโครกรัม[50-52]

ผลข้างเคียงของยาที่พบบ่อยคืออาการคลื่นไส้ อาเจียน เลือดออกทางช่องคลอดผิดปกติ น้ำหนักขึ้นและเจ็บเต้านม ข้อห้ามในการใช้ยาคุมกำเนิดนี้คือผู้ป่วยที่มีประวัติเลือดแข็งตัวง่าย (thrombo-embolism) โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน และมะเร็งเต้านม[53]

ตาราง 4 ยาฮอร์โมนที่ใช้ในการรักษาสิว[20]

Agent	Dose	Duration	Drawbacks
Spironolactone	25-100 mg twice daily	> 6 months	• Menstrual irregularities • Contraindicated in pregnancy
Prenisone	2.5-5 mg daily	Indefinitely	Adrenal suppression
Dexamethasone	.125-5 mg daily	indefinitely	Adrenal suppression
Oral contraceptives			
Cyproterone acetate/ethinyl estradiol	2 mg/35-50 µg	> 6 months	• Vascular thrombosis • Melasma • Weight gain
Norgestimate/ethinyl estradiol (tricyclic)	(.18/.125/.25)/.35 µg	> 6 months	• Vascular thrombosis • Melasma • weight gain
Levonorgestrel/ethinyl estradiol	100 µg/20 µg	> 6 months	• Vascular thrombosis • Melasma • Weight gain

ที่มา: Katsambas A, Papakonstantinou A. Acne: systemic treatment. Clinics in Dermatology. 2004 Sep-Oct;22(5):412-8.

3. **การรักษาด้วยวิธีอื่น ๆ** เช่น การกดสิวอุดตัน (comedones extraction) การฉีดยาจำพวก สเตียรอยด์เข้าบริเวณรอยโรคสิวอักเสบหรือถุงสิว พบว่าช่วยให้รอยโรคหายเร็วขึ้น วิธีการอื่นเช่นการใช้เลเซอร์ชนิดต่างๆมีวัตถุประสงค์เพื่อใช้เป็นการรักษาเสริมเนื่องจากการรักษาด้วยวิธีอื่นๆ อาจจะมีผล ข้างเคียงจากการใช้ยาทั้งยาทาและยารับประทาน ความไม่สม่ำเสมอของการใช้ยาและปัญหาเชื้อดื้อ ยา[53] เครื่องเลเซอร์ที่มีในปัจจุบันเช่น Pulsed dye laser (ความยาวคลื่น 585 และ 595 นาโนเมตร) เครื่อง diode laser (ความยาวคลื่น 1450 นาโนเมตร) เครื่อง erbium glass laser (ความยาวคลื่น 1540 นาโนเมตร) เป็นต้น พบว่าจากหลายการศึกษายังมีผลลัพธ์การศึกษาที่แตกต่างกันออกไป[54] การใช้เลเซอร์ร่วมกับสารที่ไวต่อการกระตุ้นจากแสง (photosensitizer) เช่นสาร 5-aminolevulinic acid จะถูกเปลี่ยนไปเป็น protoporphyrin IX เมื่อถูกกระตุ้นโดยแสงจะทำให้เกิดกระบวนการสร้าง reactive oxygen species (ROS) ทำให้มีผลทำลายต่อมไขมัน ลดจำนวนเชื้อ *P.acnes* ลดปริมาณสิวอุดตันและสิวอักเสบด้วย อย่างไรก็ตามยังมีผลการศึกษาที่ได้ผลแตกต่างกันออกไป[55]

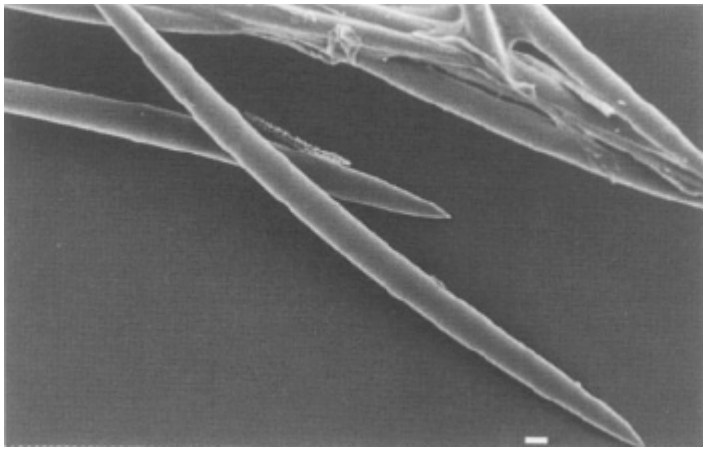
3. ฟองน้ำ *Spongilla lacustris* และน้ำยา hydrogen peroxide

1. ฟองน้ำ *Spongilla lacustris*

ฟองน้ำ *Spongilla lacustris* เป็นสัตว์น้ำชนิดหนึ่งใน kingdom animalia, family spongillidae พบในแหล่งน้ำสะอาดและที่มีการไหลเวียนของน้ำในแถบประเทศยุโรปรัสเซียแคนาดา[56] การศึกษาของ คมสัน หงภัทรคีรี และคณะ[57] ได้รายงานในการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 46 ประจำปี 2551 พบฟองน้ำ *Spongilla lacustris* บริเวณอ่าวไทย ฟองน้ำ *Spongilla lacustris* พบอาศัยร่วมกับสัตว์เซลเดียวชื่อ chlorellae แบบพึ่งพาอาศัย (symbiosis) ส่วนประกอบหลักของฟองน้ำ*Spongilla lacustris* มีสารประกอบหลักคือ ซิลิกา (silica) หรือซิลิคอนไดออกไซด์ (silicon dioxide) จึงได้ชื่อว่าฟองน้ำซิลิกา (siliceous sponges)[58, 59] ซิลิคอนไดออกไซด์เป็นสารประกอบที่พบในธรรมชาติ เช่นในทราย หิน นำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆเช่นงานก่อสร้างผสมเข้ากับซีเมนต์ให้เกิดการแข็งตัว ทำแก้ว และนำมาทำฉนวนไฟฟ้าด้วย มีรายงานการเกิดสารซิลิกาตกค้างในชั้นผิวหนังโดยพบในผู้ที่เกิดอุบัติเหตุถูกแก้วบาด ประสบอุบัติเหตุกระจกรถแตก หรือการตกค้างของเม็ดทรายในแผล ซึ่งทำให้เกิดการฝังตัวของสารซิลิกาได้นานจึงจะเกิดปฏิกิริยาแกรนูโลมา (foreign body granuloma)[60]

ภาพประกอบ 5 แสดงภาพฟองน้ำ *Spongilla lacustris*

ที่มา: Hugh Clifford (2002). *Spongilla lacustris* (Linnaeus) - a freshwater sponge from Alberta (Online).



ภาพประกอบ 6 แสดงลักษณะสปิคูล (spicules) ของฟองน้ำ *Spongilla sp.*[56]

ที่มา: Williamson CE, Williamson GL. Life-cycles of lotic populations of *Spongilla lacustris* and *Eunapius fragilis* (Porifera: Spongillidae). Freshwater Biology. 2006;9(9):543-53.

2. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide)

Hydrogen peroxide เป็นสารเคมีในรูปของเหลวมีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน มีคุณสมบัติในการทำปฏิกิริยาออกซิไดซ์สูง (strong oxidizing agent) จึงมีคุณสมบัติในการฟอกสีได้ดีในความเข้มข้นสูง (15 เปอร์เซ็นต์) การนำมาใช้ในทางการแพทย์ใช้ความเข้มข้น 2 ถึง 3 เปอร์เซ็นต์ในการทำความสะอาดแผลตามร่างกาย สามารถห้ามเลือดจากแผลที่มีเลือดออกได้[61] การสลายตัวของ hydrogen peroxide (decomposition) จะได้เป็นสารประกอบน้ำและก๊าซออกซิเจนดังสมการ ต่อไปนี้

$$2\ H_2O_2 \longrightarrow 2\ H_2O + O_2$$

ปัจจุบันมีการนำ hydrogen peroxide ความเข้มข้นต่ำไม่เกิน 3 เปอร์เซ็นต์มาใช้ผสมในสารทำความสะอาดต่างๆเช่น โฟมล้างหน้า น้ำยาล้างคอนแทคเลนส์ เป็นต้น

ความปลอดภัยของการใช้ hydrogen peroxide ถึงแม้จะเป็นการใช้ในความเข้มข้นต่ำ 2-3 เปอร์เซ็นต์แต่สามารถทำให้เกิดการระคายเคืองโดยเฉพาะที่มีแผลเปิด การแพ้จากการระคายเคือง (irritant contact dermatitis) และหากรับประทานเข้าไปในปริมาณมากจะมีผลทำให้เกิดการระคายเคืองแผลพุพองในปากและหลอดอาหารได้

มีรายงานการใช้ hydrogen peroxide ในการรักษาสิวการศึกษาของ Milani M.และคณะ[62] ใช้ hydrogen peroxide ในรูปแบบเนื้อครีมความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ในการรักษาสิวชนิดรุนแรงน้อยถึงปานกลาง ทายาวันละ 1 ครั้งนาน 8 สัปดาห์พบว่าจำนวนสิวอุดตันและสิวอักเสบลดลงร้อยละ 57 และ 55 ตามลำดับ (เฉลี่ยร้อยละ 56) การศึกษาของ Capizzi R. และคณะ[63]ศึกษาการใช้ครีม hydrogen peroxide ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับ adapalene gel พบว่าลดการสิวอุดตันและสิวอักเสบได้อย่างมีนัยสำคัญและพบผลข้างเคียงเช่นการเกิดผิวแห้งน้อยกว่าการใช้ยาทา benzoyl peroxide ร่วมกับ adapalene gel

การใช้สปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำยา hydrogen peroxide ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ สปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ที่นำมาทำการวิจัยนี้เป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปบรรจุขวด อยู่ในรูปของผง ฟองน้ำ *Spongilla lacustris* นี้มีส่วนประกอบหลักของแท่ง สปิคูล (spicules) ขนาดเล็กซึ่งเป็นผลึกซิลิคอนไดออกไซด์จำนวนมากความยาว 200 ถึง 250 ไมครอน เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 10 ถึง 20 ไมครอน การใช้จะต้องผสมกับน้ำยา hydrogen peroxide ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์เพื่อให้อยู่ในรูปของสารเหลวและทาบนใบหน้า

เนื่องจากยังไม่มีข้อมูลอธิบายการใช้สปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำยา hydrogen peroxide ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ผู้วิจัยสันนิษฐานว่าการออกฤทธิ์อาจจะใช้เทคนิคเดียวกับการผลัดผิวเซลด้วยสารเคมี (superficial chemical peels) หรือใช้เทคนิคการขัดผิวชั้นบน (microdermabrasion) ด้วยสารซิลิคอนไดออกไซด์ของฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับการออก

ฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านการอักเสบของน้ำยา hydrogen peroxide ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะได้กล่าวถึงสองเทคนิคนี้ต่อไป

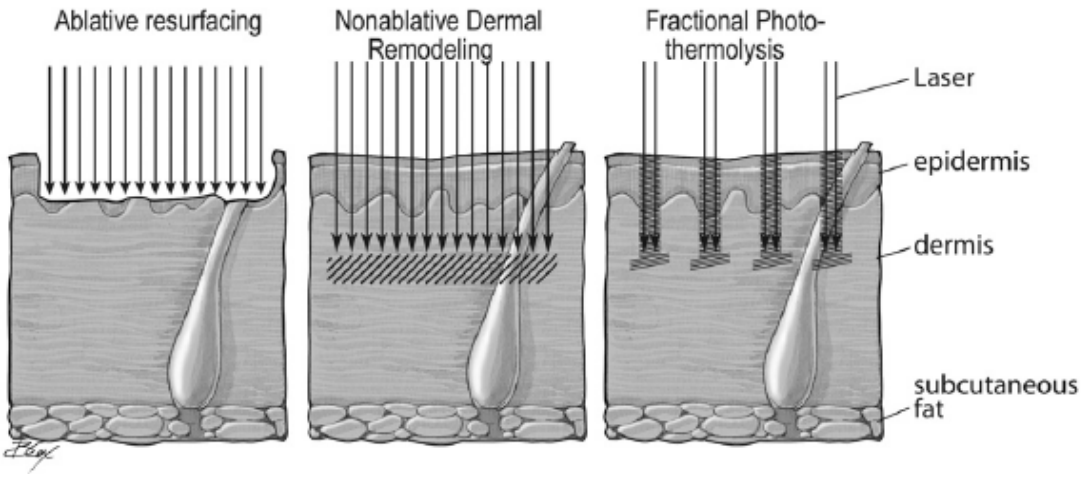
4. การผลัดผิวเซลใบหน้า (facial resurfacing)

ในปัจจุบันมีการรักษาผิวหน้าโดยการเทคนิคการผลัดผิวเซลบนใบหน้า (facial resurfacing)[64] มีวัตถุประสงค์หลักของการทำคือการรักษาริ้วรอยบริเวณใบหน้าที่เกิดจากแสงแดด (photoaging) เช่นริ้วรอยย่นบนใบหน้า กระ ปัญหาหลุมสิว รวมถึงสิวอุดตัน การทำการผลัดเซลผิวนี้มีหลายวิธีซึ่งสามารถแบ่งได้เป็นสามวิธีคือ

1. การผลัดเซลผิวชนิดไม่มีผลต่อเซลผิวหนังโดยตรง (non-ablative technique) วิธีนี้มีผลต่อเนื้อเยื่อชั้นหนังแท้ส่วนบน (superficial reticular dermis) ไม่ส่งผลกระทบต่อเซลชั้นผิวหนังโดยตรง เช่นการใช้เครื่องความถี่วิทยุ (radiofrequency)

2. การผลัดเซลผิวชนิดมีผลต่อเซลผิวหนังโดยตรง (ablative technique) [64] วิธีนี้มีการทำได้หลายวิธีเช่นการใช้สารเคมีในการผลัดผิว (chemical peeling) ที่นิยมในปัจจุบันเช่นการใช้ กรด Alpha-hydroxy acids (หรือกรด glycolic acid) กรด Salicylic กรด trichloroacetic น้ำยา Jessner's solution กรด lactic แม้กระทั่งยาทารักษาสิวกลุ่มกรดเรตินอยด์ก็จัดเป็นกลุ่มยาที่มีผลต่อการผลัดเซลผิวด้วย การผลัดผิวโดยใช้วิธี mechanical peeling หรือ dermabrasion และการผลัดเซลผิวโดยใช้ความร้อน (Thermal mechanism) เช่นการใช้เลเซอร์คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 laser) เลเซอร์เออร์เบียม (Erbium:YAG) เป็นต้น

3. การผลัดเซลผิวโดยใช้เทคนิค Fractional photothermolysis เป็นการใช้เลเซอร์ที่มีการพัฒนาใหม่โดยจะทำให้มีผลต่อเซลผิวหนังน้อยกว่าชนิดแรกแต่ก็จะส่งผลต่อเซลหนังแท้ที่ลึกขึ้นด้วย ในปัจจุบันเครื่องเลเซอร์ที่ใช้คือ Fractional photothermolysis โดยใช้เลเซอร์ erbium ความยาวคลื่น 1,550 นาโนเมตรส่งผ่านความร้อนเป็นรูขนาดเล็กประมาณ 70 ถึง100 ไมครอน ลึกประมาณ 250 ถึง 800 ไมครอนหลายๆรู ความร้อนนี้จะแพร่ไปรอบๆทำให้เกิดเม็ดสีที่ไม่ต้องการเกิดการหลุดลอกออกมาและเกิดการกระตุ้นการเกิดการเรียงตัวและการเกิดใหม่ของคอลาเจนในชั้นหนังแท้อีกด้วย



ภาพประกอบ 7 แสดงเทคนิคการผลัดเซลผิวหนัง[64]

ที่มา: Meduri N. Facial resurfacing: An overview. Operative techniques in Otolaryngology 2007;18:172-80.

การผลัดเซลผิวโดยใช้สารเคมี (chemical peels)

การผลัดเซลผิวชนิดนี้มีผลต่อเซลผิวหนังโดยตรง (ablative technique) โดยใช้กรดอ่อนดังที่ได้กล่าวมาข้างต้นในการลอกเซลผิวชั้นบนออกไป ข้อบ่งชี้คือการรักษาสิวอุดตัน (comedonal acne) รอยแดงจากการอักเสบ (postinflammatory erythema)[66] ริ้วรอยจากการถูกแสงแดดทำลาย (Glogau group 1 photoaging) และรอยสีคล้ำบริเวณผิวหนังชั้นบน (superficial dyschromia)[64, 65] ความลึกขึ้นกับชนิดและความเข้มข้นของกรด แบ่งความลึกเป็นสามระดับคือ ระดับตื้น ปานกลางและลึกมาก ซึ่งการลอกผิวระดับตื้นนี้ลึกเพียงชั้นหนังกำพร้าเท่านั้น ความลึกระดับปานกลางจะลงลึกถึงชั้นหนังแท้ส่วนบนที่เรียกว่าชั้น papillary dermis และความลึกระดับลึกมากลึกถึงชั้นหนังแท้ส่วนกลางที่เรียกว่า mid reticular dermis[65] ข้อห้ามใช้ของวิธีผลัดเซลผิวคือ ห้ามรับ ประทานยากรดเรตินอยด์ระหว่างทำการรักษาเนื่องจากอาจจะทำให้เกิดอาการระคายเคืองมากกว่าปกติและทำให้เกิดปฏิกิริยาต่อผิวหนังชนิดแกรนูโลมาได้ รวมถึงห้ามใช้ในผู้ป่วยที่มีสิวอักเสบซึ่งอาจทำให้เกิดการติดเชื้อลุกลามไปยังบริเวณอื่นอีกด้วย[66]

การผลัดเซลผิวโดยวิธีกรอผิวหน้า (dermabrasion)

การผลัดเซลผิวด้วยวิธีนี้เป็นการใช้เทคนิคการลอกเซลผิวหน้าโดยใช้เม็ดทรายละเอียด เม็ดกากเพชร หรือใช้คริสตัลอลูมิเนียมออกไซด์[64] เนื่องจากการทำ dermabrasion นี้จะมีความลึกลงไป

หมดชั้นผิวหนังกำพร้าจึงมีข้อบ่งชี้คือการรักษารอยแผลเป็นจากสิว (ชนิด boxcar และ rolling scar) แต่ในปัจจุบันนิยมทำให้เกิดการลอกผิวที่ตื้นกว่าเรียกเทคนิคนี้ว่า microdermabrasion เนื่องจากเป็นวิธีที่ไม่ยาก เกิดผลข้างเคียงน้อยกว่า จึงสามารถนำไปใช้ได้อย่างแพร่หลาย ข้อบ่งชี้การของการทำเช่นเดียวกับการทำการผลัดเซลผิวด้วยสารเคมี ผลข้าง เคียงที่อาจเกิดขึ้นบ่อยคือการระคายเคืองเยื่อบุตา จากเม็ดคริสตัลเข้าตา อาจทำให้เกิดเยื่อบุตาอักเสบ (keratitis) ไม่มีรายงานการพบพังผืดในปอด (pulmonary fibrosis) ปอดอักเสบ และการเกิดติ่งเนื้อในบริเวณหลอดลมและกล่องเสียง (papillomas) จากการสูดดมเม็ดคริสตัลเหล่านี้[66]

Karimipour D.J. และคณะ[67] ทำการกรอผิวโดยเทคนิค microdermabrasion จำนวนหนึ่งครั้งในผู้ป่วย 49 คนพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของระดับ transcription factors AP-1 และ NF-κB ซึ่งมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเกิดการอักเสบและการสมานแผล การเพิ่มขึ้นของ cytokines เช่น IL-1β และการแสดงออกของ TNF-α gene และการเพิ่มขึ้นของระดับ matrix metalloproteinases (MMP 1, 3 และ 9) ทำให้เกิดการสลายตัวและสร้างใหม่ของเส้นใยคอลลาเจนในชั้นหนังแท้ (dermis) ถึงแม้ในการศึกษานี้จะพบว่าการทำการกรอผิวเพียงหนึ่งครั้งมีผลทำให้เซลผิวหนังชั้น epidermis หลุดลอกไปเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

ผู้วิจัยสันนิษฐานว่าการใช้สปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำยา hydrogen peroxide ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์มาทาและลูบบริเวณบนใบหน้าเป็นเสมือนการทำผลัดผิวเซล เมื่อลูบไปบนใบหน้า สปิคูลของฟองน้ำจะเกิดการเสียดสีบนผิวเซลชั้นนอก ทำให้เกิดการหลุดลอกของเซชั้น ดังกล่าว อาจทำให้ลดการอุดตันของสิว (follicular plugging) และเกิดการหลุดลอกของสิวอุดตันได้ และผลของน้ำยา hydrogen peroxide ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ฆ่าเชื้อแบคทีเรียบนใบหน้าโดยเฉพาะ *P. acnes* และลดการอักเสบ ซึ่งเป็นไปตามพยาธิสภาพการเกิดสิว แต่ไม่มีผลต่อการลดการผลิตของไขมันจากต่อมไขมัน แต่ทั้งนี้ตัวแทนนำเข้าของผลิตภัณฑ์นี้ในประเทศไทยไม่มีข้อมูลสนับสนุนด้านประสิทธิภาพ ข้อบ่งชี้การนำมาใช้และความปลอดภัยจากประเทศผู้ผลิต และได้มีการนำมาใช้กับผู้ป่วยที่เป็นสิวในสถานพยาบาลบางแห่งเช่นโรงพยาบาล และโดยเฉพาะคลินิกตรวจโรคผิวหนังโดยไม่ทราบข้อมูลดังกล่าว อันจะส่งผลเสียต่อผู้ป่วยที่มารับการรักษาโดยตรง และหากเกิดภาวะแทรกซ้อนแพทย์ผู้ให้การรักษาอาจถูกฟ้องร้องดำเนินคดีทางกฎหมายได้

บทที่ 3
วิธีดำเนินงานวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้

1. การกำหนดประชากรและกลุ่มตัวอย่าง
2. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย
3. ขั้นตอนการวิจัย
4. การประเมินการทดลองวิจัย
5. การวิเคราะห์ข้อมูล (data analysis)
6. การบริหารงานวิจัยและตารางปฏิบัติงาน
7. งบประมาณการวิจัย

การกำหนดประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

หนูขาวเพศผู้ (Wistar furth rat) จากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ ตำบลศาลายา มหาวิทยาลัยมหิดล

การคำนวณขนาดตัวอย่าง (Sample size determination)

เนื่องจากการทดลองอยู่ในขั้นก่อนนำมาวิจัยในมนุษย์ (pre-clinical studies) จึงแบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 3 กลุ่มดังนี้

กลุ่มทดลองกลุ่มที่ 1 ได้รับการทดลองโดยใช้สปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำยา hydrogen peroxide ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 15 ตัว

กลุ่มทดลองกลุ่มที่ 2 ได้รับการทดลองโดยใช้สปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำเกลือความเข้มข้น 0.9 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 15 ตัว

กลุ่มควบคุม ได้รับการทดลองโดยใช้ด้วยยาน้ำเกลือความเข้มข้น 0.9 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 3 ตัว

การเลือกกลุ่มตัวอย่าง

เกณฑ์ในการคัดเข้ามาศึกษา (Inclusion criteria)

1. หนูขาว (Wistar furth rat) เพศผู้
2. อายุ 8 สัปดาห์
3. น้ำหนักเฉลี่ย 200 ถึง 250 กรัม

เกณฑ์ในการคัดออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

1. หนูที่เสียชีวิตระหว่างการทดลอง
2. เกิดโรคผิวหนังอักเสบติดเชื้อระหว่างการทดลอง

อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. ผงสกัดจากสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris*
2. น้ำยา hydrogen peroxide ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์
3. กล้องจุลทรรศน์ชนิด scanning electron microscope
4. กล้องจุลทรรศน์ชนิด light microscope
5. เลนส์โพลาไรซ์ (polarized lens)
6. สารเคมีสำหรับเตรียมชิ้นเนื้อเพื่อศึกษาทาง electron microscope
   7.1 น้ำยา glutaraldehyde ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์
   7.2 Ethanol ความเข้มข้น 70, 80, 90, 95 และ 100 เปอร์เซ็นต์
   7.3 น้ำยา Osmium
7. สารเคมีย้อมชิ้นเนื้อ (hematoxylin และ eosin)
   7.1 น้ำยา Xylene
   7.2 น้ำยา Formalin ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์
8. แบบบันทึกข้อมูลวิจัย
9. แบบบันทึกผลข้างเคียง

ขั้นตอนการวิจัย

1. การวิจัยครั้งนี้ใช้หนูขาว (Wistar Furth) เพศผู้ น้ำหนักประมาณ 200-250 กรัม จากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ ตำบลศาลายา มหาวิทยาลัยมหิดล โดยนำมาเลี้ยงรวมกัน 4 ตัวต่อกรง ในอุณหภูมิห้อง 20±2 องศาเซลเซียส และแสงสว่าง 12 ชั่วโมงต่อวัน ให้อาหารสำเร็จรูปจากบริษัทเจริญโภคภัณฑ์ โดยแบ่งหนูเป็น 3 กลุ่มใหญ่คือ

A) กลุ่มควบคุม ได้แก่หนูที่ได้รับการทาผิวหนังด้วยน้ำเกลือความเข้มข้น 0.9 เปอร์เซ็นต์ (0.9% Saline solution) บริเวณหลังของหนู และทำการตัดชิ้นเนื้อในวันแรกเพื่อส่งตรวจด้าน histology และ scanning electron microscope

B) กลุ่มทดลองที่ 1 ได้แก่หนูที่ได้รับการทาผิวหนังด้วยสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำยา hydrogen peroxide ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์บริเวณหลังของหนูจำนวน 15 ตัว โดยทาสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ในสัปดาห์ที่ 1, 2, 3 และ 4 จากนั้นทำการตัดชิ้นเนื้อเพื่อส่งตรวจด้าน histology และ scanning electron microscope ใน วันที่ 1, 2, 3, 4 ของสัปดาห์ที่ 1 และสัปดาห์ละครั้งในสัปดาห์ที่ 2, 3, 4, 6 และ 8 หลังทา

C) กลุ่มทดลองที่ 2 ได้แก่หนูที่ได้รับการทาด้วยสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำเกลือความเข้มข้น 0.9 เปอร์เซ็นต์ (0.9% Saline solution) บริเวณหลังของหนู จำนวน 15 ตัว โดยทาสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ในสัปดาห์ที่ 1, 2, 3 และ 4 จากนั้นทำการตัดชิ้นเนื้อเพื่อส่งตรวจด้าน histology และ scanning electron microscope ใน วันที่ 1, 2, 3, 4 ของสัปดาห์ที่ 1 และสัปดาห์ละครั้งในสัปดาห์ที่ 2, 3, 4, 6 และ 8 หลังทา

2. ทำเครื่องหมายกำกับสัตว์แต่ละตัว

3. ในวันที่ทำการทดลองสลบหนูโดยการดมอีเทอร์ภายใต้ Hood เพื่อให้หนูอยู่ในภาวะสลบ

4. โกนขนโดยใช้เครื่องโกนขนและใบมีดโกนบริเวณหลังของหนู โดยมีเนื้อที่ทำการทดลอง 10 ตารางเซนติเมตร

5. นำหนูทั้งหมดมาทาสารแยกตามกลุ่มโดยการทาสารทั้งหมดจะใช้วิธีเดียวกันคือทายาวนเป็นวงกลมบนผิวที่ตัดขนออกประมาณ 10 นาที หลังทายาปล่อยทิ้งไว้ 30 นาทีแล้วเช็ดออกด้วยน้ำเปล่า

6. บันทึกและถ่ายรูปปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นต่อผิวหนัง (แบบบันทึกปฏิกิริยาต่อผิวหนังในภาคผนวก ค)

7. การทำให้หนูเสียชีวิตก่อนการตัดชิ้นเนื้อโดยการฉีดยา Sodium pentobarbital เข้าทางช่องท้อง ขนาดยาที่ใช้ 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัม

8. ทำการตัดหนังเฉพาะส่วนที่เป็นหนังกำพร้าและหนังแท้ขนาดกว้าง 1 เซนติเมตร และยาว 1 เซนติเมตร จำนวน 2 ชิ้นต่อหนู 1 ตัว

9. นำชิ้นส่วนผิวหนังที่ได้ชิ้นที่ 1 แช่ในน้ำยา2.5%glutaraldehyde เป็นเวลาอย่างน้อย 4 ชั่วโมง จากนั้นไปย้อมและทำการตรวจทางกายภาพโดยเครื่อง scanning electron microscope ต่อไป (วิธีการเตรียมชิ้นเนื้อในภาคผนวก ก)

10. นำชิ้นส่วนผิวหนังที่ได้ชิ้นที่ 2 แช่ในน้ำยา 10% Formalin เพื่อนำไปย้อมและตรวจ

โครงสร้างทางผิวหนังโดยย้อมสี hematoxylin และ eosin ต่อไป (วิธีการเตรียมชิ้นเนื้อในภาคผนวก ข)

11. อ่านและบันทึกผลชิ้นเนื้อโดยเครื่อง scanning electron microscope ร่วมกับนักวิทยาศาสตร์ประจำภาควิชากายวิภาคศาสตร์

12. อ่านและบันทึกผลชิ้นเนื้อผ่านทางกล้องจุลทรรศน์โดยแพทย์ผิวหนังสองท่านโดยนับจำนวนสปิคูลที่ปักลงบนผิวหนังต่อพื้นที่ 0.5 ตารางเซนติเมตร

13. ในกลุ่มทดลองที่ 1 และ 2 ทำการทดลองทุกสัปดาห์เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นเว้นระยะทุก 2 สัปดาห์เพื่อตัดชิ้นเนื้อในสัปดาห์ที่ 6 และ 8 เพื่อดูผลของการตกค้างของสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris*

14. ในกลุ่มทดลองที่ 1 จะทำการตัดชิ้นเนื้อหลังจากการทาด้วยสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำยา hydrogen peroxide ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 1, 2, 3 และ 4 ร่วมด้วย เพื่อประเมินดูการผลัดเซลผิวในช่วง 4 วันแรก

15. ประเมินผลการศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูลตามวิธีทางสถิติ

16. อภิปรายและสรุปผลการศึกษา

ตาราง 5 สรุปขั้นตอนการทาผงสกัดฟองน้ำและการตัดชิ้นเนื้อในแต่ละสัปดาห์

กลุ่มทดลองที่ 1	**กลุ่มทดลองที่ 2**	**กลุ่มควบคุม**
ทาสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำยา hydrogen peroxide ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที	ทาด้วยสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำเกลือความเข้มข้น 0.9 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที	ทาน้ำเกลือความเข้มข้น 0.9 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที
ทิ้งไว้ 30 นาทีแล้วเช็ดออกด้วยน้ำเปล่า	ทิ้งไว้ 30 นาทีแล้วเช็ดออกด้วยน้ำเปล่า	ทิ้งไว้ 30 นาทีแล้วเช็ดออกด้วยน้ำเปล่า
ตัดชิ้นเนื้อเพื่อศึกษาทาง 1. Histology เพื่อศึกษาความหนาของผิวหนังชั้นหนังกำพร้าและระดับความลึกของการตกค้างของสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* 2. Scanning electron	ตัดชิ้นเนื้อเพื่อศึกษาทาง 1. Histology เพื่อศึกษาความหนาของผิวหนังชั้นหนังกำพร้าและระดับความลึกของการตกค้างของสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* 2. Scanning electron	ตัดชิ้นเนื้อเพื่อนำมาเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพและความหนาของชั้นหนังกำพร้า

กลุ่มทดลองที่ 1	กลุ่มทดลองที่ 2	กลุ่มควบคุม
microscope เพื่อศึกษาปริมาณการตกค้างบริเวณผิวหนังหลังการทาด้วยสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ในวันที่ 1, 2, 3 และ 4 หลังทาด้วยสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* จากนั้นตัดชิ้นเนื้อสัปดาห์ละครั้งในสัปดาห์ที่ 2, 3, 4, 6 และ 8 หลังทาด้วยสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris*	microscope เพื่อศึกษาปริมาณการตกค้างบริเวณผิวหนังหลังการทาด้วยสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ในวันที่ 1, 2, 3 และ 4 หลังทาด้วยสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* จากนั้นตัดชิ้นเนื้อสัปดาห์ละครั้งในสัปดาห์ที่ 2, 3, 4, 6 และ 8 หลังทาด้วยสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris*	
จำนวนหนูที่ต้องใช้ในสัปดาห์ที่ 1 ทั้งสิ้น 5 ตัว โดยใช้หนูในวันแรก 2 ตัว วันที่ 2, 3 และ 4 วันละ 1 ตัว จำนวนชิ้นเนื้อศึกษาทาง histology 5 ชิ้น และศึกษาทาง EM 5 ชิ้น	จำนวนหนูที่ต้องใช้ในสัปดาห์ที่ 1 ทั้งสิ้น 5 ตัว โดยใช้หนูในวันแรก 2 ตัว วันที่ 2, 3 และ 4 วันละ 1 ตัว จำนวนชิ้นเนื้อศึกษาทาง histology 5 ชิ้น และศึกษาทาง EM 5 ชิ้น	จำนวนหนูที่ใช้ 1 ตัว จำนวนชิ้นเนื้อศึกษาทาง histology 1 ชิ้น และศึกษาทาง EM 1 ชิ้น
จำนวนหนูที่ต้องใช้ในสัปดาห์ที่ 2, 3, 4,6 และ 8 ทั้งสิ้นสัปดาห์ละ 3 ตัว จำนวนชิ้นเนื้อศึกษาทาง histology 3 ชิ้นต่อสัปดาห์และศึกษาทาง EM 3 ชิ้นต่อสัปดาห์	จำนวนหนูที่ต้องใช้ในสัปดาห์ที่ 2, 3, 4,6 และ 8 ทั้งสิ้นสัปดาห์ละ 3 ตัว จำนวนชิ้นเนื้อศึกษาทาง histology 3 ชิ้นต่อสัปดาห์และศึกษาทาง EM 3 ชิ้นต่อสัปดาห์	
รวมจำนวนหนูทดลองที่ใช้ทั้งสิ้น 15 ตัว	รวมจำนวนหนูทดลองที่ใช้ทั้งสิ้น 15 ตัว	

ตาราง 6 สรุปขั้นตอนการวิจัย

	กลุ่มทดลองที่ 1	กลุ่มทดลองที่ 2	กลุ่มควบคุม
สัปดาห์ที่ 1	ตัดชิ้นเนื้อส่งตรวจ SEM นับจำนวนสปิคูลต่อพื้นที่หนึ่งตารางเซนติเมตร Polarized ความลึกของสปิคูล LM วัดความหนาของชั้น stratum corneum และชั้น dermis ในวันแรก วันที่ 2, 3 และ 4	ตัดชิ้นเนื้อส่งตรวจ SEM นับจำนวนสปิคูลต่อพื้นที่หนึ่งตารางเซนติเมตร Polarized ความลึกของสปิคูล LM วัดความหนาของชั้น stratum corneum และชั้น dermis ในวันแรก วันที่ 2, 3 และ 4	ตัดชิ้นเนื้อส่งตรวจ SEM LM และ Polarized
สัปดาห์ที่ 2	ตัดชิ้นเนื้อส่งตรวจ SEM, LM และ Polarized	ตัดชิ้นเนื้อส่งตรวจ SEM, LM และ Polarized	
สัปดาห์ที่ 3	ตัดชิ้นเนื้อส่งตรวจ SEM, LM และ Polarized	ตัดชิ้นเนื้อส่งตรวจ SEM, LM และ Polarized	
สัปดาห์ที่ 4	ตัดชิ้นเนื้อส่งตรวจ SEM, LM และ Polarized	ตัดชิ้นเนื้อส่งตรวจ SEM, LM และ Polarized	
สัปดาห์ที่ 6	ตัดชิ้นเนื้อส่งตรวจ SEM, LM **และ** Polarized	ตัดชิ้นเนื้อส่งตรวจ SEM, LM **และ** Polarized	
สัปดาห์ที่ 8	ตัดชิ้นเนื้อส่งตรวจ SEM, LM **และ** Polarized	ตัดชิ้นเนื้อส่งตรวจ SEM, LM **และ** Polarized	

การประเมินการทดลองวิจัย

1. ประเมินการตกค้างของสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ภายในชั้นผิวหนังโดยย้อมสี hematoxylin และ eosin ดูผ่านกล้องจุลทรรศน์ light microscope และเลนส์โพลาไรซ์ (polarized lens)

2. ประเมินการตกค้างของสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* บนชั้นผิวหนังด้านนอกโดยเครื่อง scanning electron microscope

3. ประเมินความหนาของผิวหนังชั้น epidermis และชั้น dermis โดยเปรียบเทียบทั้ง 3 กลุ่ม

การวิเคราะห์ข้อมูล (data analysis)

การสรุปข้อมูล

ข้อมูลเชิงคุณภาพ

1. ระดับความลึกของสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris*

1.1 รายงานระดับความลึกของสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ที่อาจจะพบจากการศึกษาในเชิงพรรณา

1.2 เปรียบเทียบระดับความลึกของสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ระหว่างกลุ่มทดลองในเชิงพรรณา

2. จำนวนของสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ที่หลงเหลือบนผิวหนัง

2.1 รายงานการพบสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* เป็นจำนวนสปิคูลต่อพื้นที่หนึ่งตารางเซนติเมตร

2.2 เปรียบเทียบการพบสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris*ระหว่างกลุ่มทดลองในรูปแบบความถี่ร้อยละ

3. ความหนาของผิวหนังชั้น stratum corneum และชั้น dermis

3.1 รายงานความหนาของชั้น stratum corneum และชั้น dermis โดยหาค่าเฉลี่ย

3.2 เปรียบเทียบความหนาของชั้น stratum corneum และชั้น dermis ระหว่างกลุ่มทดลอง

4. ปฏิกิริยาต่อผิวหนัง

ใช้สถิติเชิงพรรณนา สรุปข้อมูลในรูปแบบของความถี่ร้อยละ

5. มีการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มโดยใช้สถิติ unpaired t-test

6. การนำเสนอข้อมูลเป็นแผนภูมิแท่ง กราฟเส้นและตาราง

การบริหารงานวิจัยและตารางปฏิบัติงาน

ตาราง 7 แสดงระยะเวลาในการปฏิบัติงาน

การดำเนินการ	กค 2551	สค 2551	กย 2551	ตค 2551	พย 2551	ธค 2551	มค 2552	กพ 2552	มีค 2552	เมย 2552	พค 2552
1. การเตรียมงาน		*	*								
2. ดำเนินการวิจัยและรวบรวมข้อมูล				*	*	*					
3. วิเคราะห์ข้อมูล						*	*	*			
4. รายงานผลการวิจัย									*	*	*

งบประมาณการวิจัย

1. ค่าสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* และน้ำยา hydrogen peroxide ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์	5,000	บาท
2. ค่าหนูทดลอง	10,000	บาท
3. ค่าอุปกรณ์ ผ้ากอซ ถุงมือปราศจากเชื้อ น้ำเกลือ แอลกอฮอล์ เข็มฉีดยา หลอดฉีดยา	10,000	บาท
4. ค่ายา pentobarbital	1,000	บาท
5. ค่าวัสดุสำนักงาน	5,000	บาท
6. ค่าถ่ายภาพกล้องจุลทรรศน์ scanning electron microscope (ค่าฟิล์มและค่าล้างฟิล์ม)	5,000	บาท
7. ค่าน้ำยาเตรียมชิ้นเนื้อ electron microscope	5,000	บาท
8. ค่าน้ำยาย้อมชิ้นเนื้อ (hematoxylin และ eosin)	5,000	บาท
9. ค่าถ่ายเอกสาร	1,000	บาท
10. ค่าพิมพ์งาน	1,000	บาท
11. ค่าตอบแทนบุคคลากร	10,000	บาท
รวมทั้งสิ้น	58,000	บาท

บทที่ 4
ผลการวิจัย

ลักษณะโดยทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง

หนูขาวเพศผู้สายพันธุ์ Wistar furth อายุ 8 สัปดาห์ จากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ ตำบลศาลายา มหาวิทยาลัยมหิดล โดยแบ่งกลุ่มที่ต้องการศึกษาออกเป็น 3 กลุ่มคือ

กลุ่มที่ 1 ศึกษาจากหนูขาวที่ได้รับการทาด้วยผงสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นสามเปอร์เซ็นต์จำนวน 15 ตัว

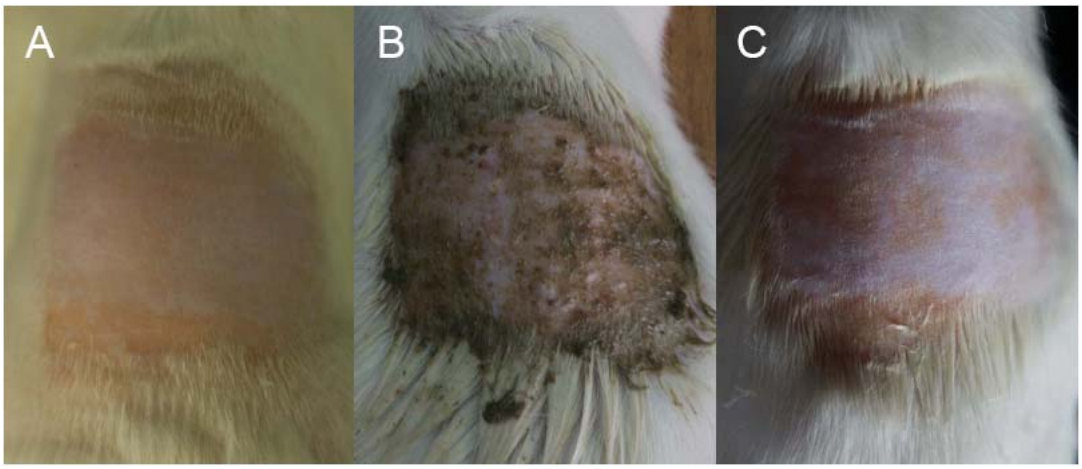
กลุ่มที่ 2 ศึกษาจากหนูขาวที่ได้รับการทาด้วยผงสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำเกลือความเข้มข้น 0.9 เปอร์เซ็นต์จำนวน 15 ตัว

กลุ่มที่ 3 ศึกษาจากหนูขาวที่ได้รับการทาเฉพาะน้ำเกลือความเข้มข้น 0.9 เปอร์เซ็นจำนวน 3 ตัว

ภาพประกอบ 8 แสดงลักษณะผงสกัดจากฟองน้ำ *Spongilla lacustris*

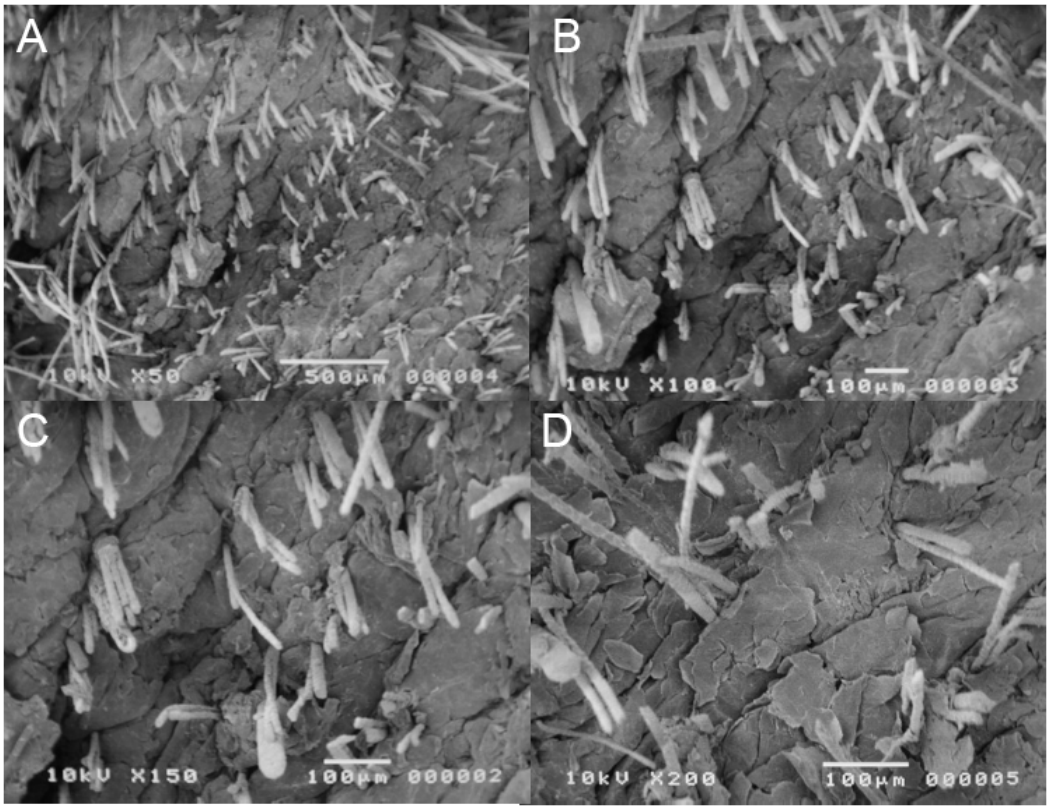
ผงสกัดจากฟองน้ำมีลักษณะเป็นผงละเอียดสีเทาปนสีน้ำตาลอ่อน

ผลการทดลอง



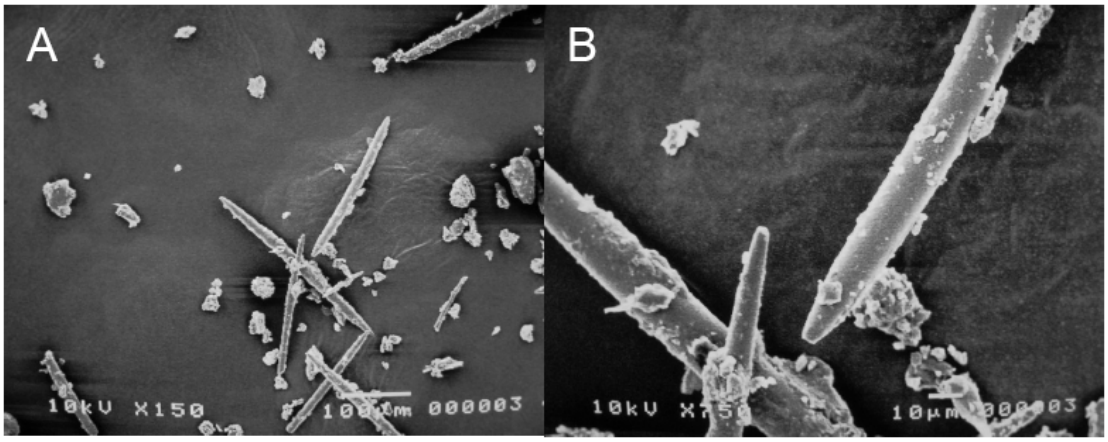
ภาพประกอบ 9 แสดงลักษณะผิวหนังหนูทดลองก่อนทา (ภาพประกอบ 9A) ระหว่างทา (ภาพประกอบ 9B) ด้วยสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และภาพประกอบ 9C หลังจากเช็ดออกด้วย normal saline solution

จากการสังเกตไม่พบปฏิกิริยาต่อผิวหนังเช่นการเกิดตุ่มน้ำใส บวม แดง หลังจากทาด้วยสปิคูลฟองน้ำ และเมื่อติดตามในช่วงระหว่างสัปดาห์การทดลองไม่เกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆ เช่น การติดเชื้อ เป็นแผลอักเสบบนผิวหนัง



ภาพประกอบ 10 แสดงพื้นผิวหนังชั้นบนสุดของผิวหนังปกติจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนชนิดส่องกราด ภาพประกอบ 10A กำลังขยาย 50 เท่า ภาพประกอบ 10B กำลังขยาย 100 เท่า ภาพประกอบ 10C กำลังขยาย 150 เท่า และภาพประกอบ 10D กำลังขยาย 200 เท่า

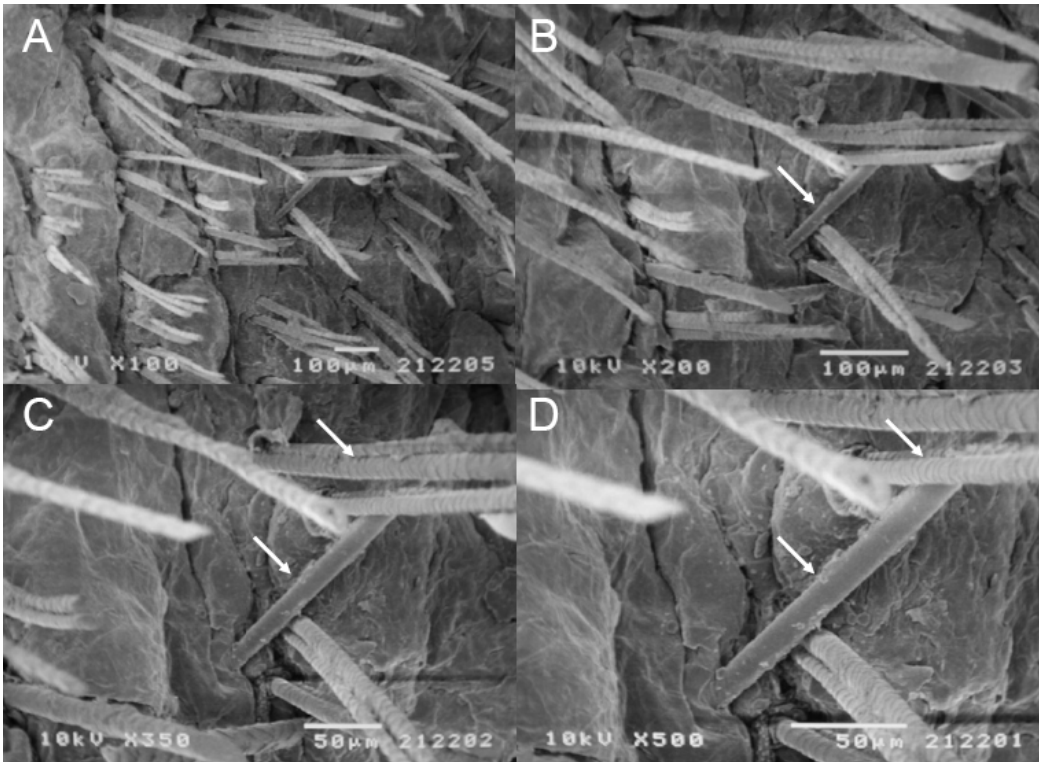
ภาพประกอบ 10 แสดงลักษณะของพื้นผิวหนังบริเวณหลังของหนูในกลุ่มควบคุมที่ได้รับการตัดขนและทำความสะอาดด้วยน้ำเกลือความเข้มข้น 0.9 เปอร์เซ็นต์ ในภาพประกอบ 10A กำลังขยาย 50 เท่า แสดงลักษณะเส้นขนที่ตัดแล้ว บางส่วนยังมีลักษณะเส้นขนที่ตัดไม่สม่ำเสมอ ภาพประกอบ 10D กำลังขยาย 200 เท่า แสดงลักษณะพื้นผิวหนังชั้น stratum corneum และแสดงลักษณะเส้นขนที่เป็นชั้น keratin ซ้อนกันเป็นชั้นๆ โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 10 ถึง 20 ไมโครเมตร



ภาพประกอบ 11 แสดงลักษณะสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* บนพื้นผิวกระดาษ
ภาพประกอบ 11A กำลังขยาย 150 เท่า และภาพประกอบ 11B กำลังขยาย 750 เท่า

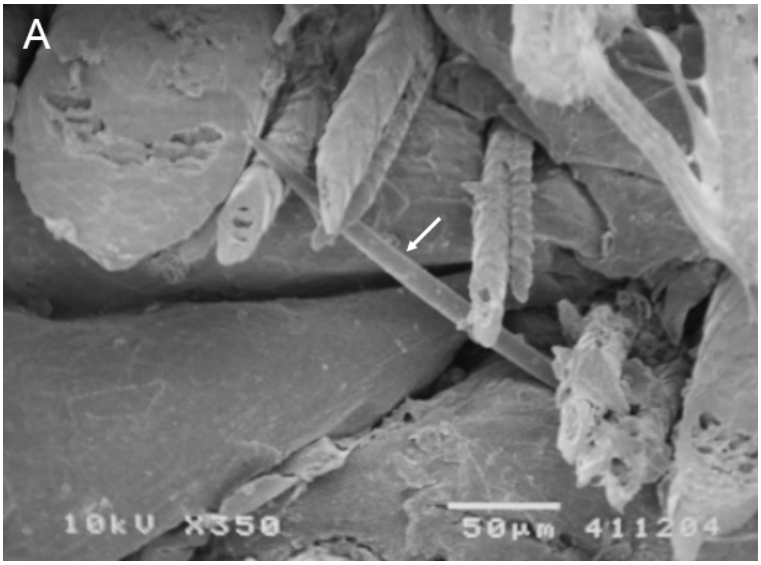
ภาพประกอบ 11A แสดงลักษณะสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* บนแผ่นพื้นกระดาษ เพื่อเป็นตัวควบคุมกำลังขยาย 150 เท่า ลักษณะสปิคูลฟองน้ำเป็นลักษณะแท่งยาวปลายแหลมสองข้าง ความยาวประมาณ 150 ถึง 300 ไมโครเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 10 ถึง 20 ไมโครเมตร

ภาพประกอบ 11B กำลังขยาย 750 เท่า แสดงลักษณะส่วนปลายของสปิคูลฟองน้ำลักษณะแหลมและมน พื้นผิวบริเวณขอบเรียบ ซึ่งแยกความแตกต่างได้จากพื้นผิวของเส้นผมได้ชัดเจนบริเวณรอบๆมีเศษผงอื่นๆที่ไม่ได้ทดสอบคุณสมบัติ

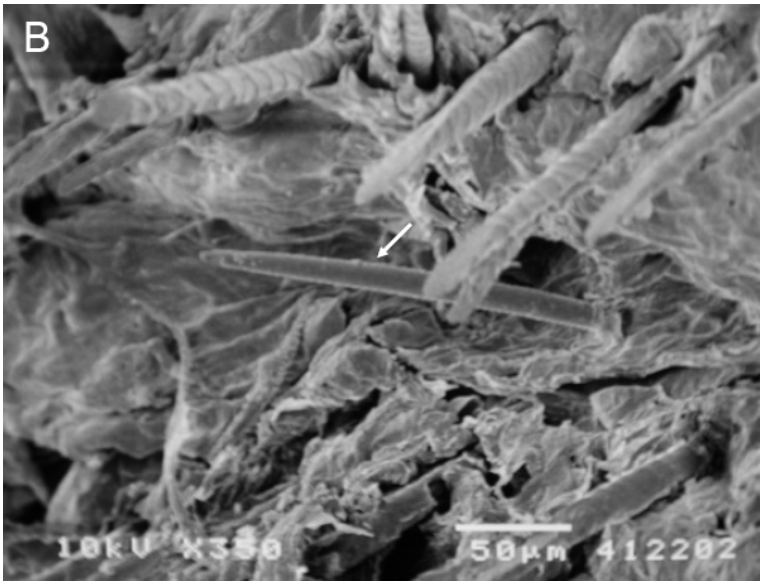


ภาพประกอบ 12 แสดงลักษณะสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* บนพื้นผิวหนังของหนูทดลองจากการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ภาพประกอบ 12A กำลังขยาย50 เท่า ภาพประกอบ 12B กำลังขยาย 100 เท่า ภาพประกอบ 12C กำลัง ขยาย 200 เท่า ภาพประกอบ 12D กำลังขยาย 500 เท่า

ภาพประกอบ 12 แสดงลักษณะสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* บนพื้นผิวหนังของหนูซึ่งมีลักษณะเป็นแท่งพื้นผิวเรียบ ในภาพประกอบ 12A เรายังไม่สามรถแยกความแตกต่างระหว่างสปิคูลฟองน้ำและเส้นขนได้ ในภาพประกอบ 12B จะเห็นได้ว่าเริ่มสังเกตุเห็นความแตกต่างระหว่างสปิคูลฟองน้ำและเส้นขน และในภาพประกอบ 12C และ 12D สามารถที่จะแยกความแตกต่างได้อย่างชัดเจน โดยเส้นขนจะมีลักษณะเป็นเส้นที่มีชั้น keratin เรียงโอบรอบเป็นชั้นๆ (laminated pattern)

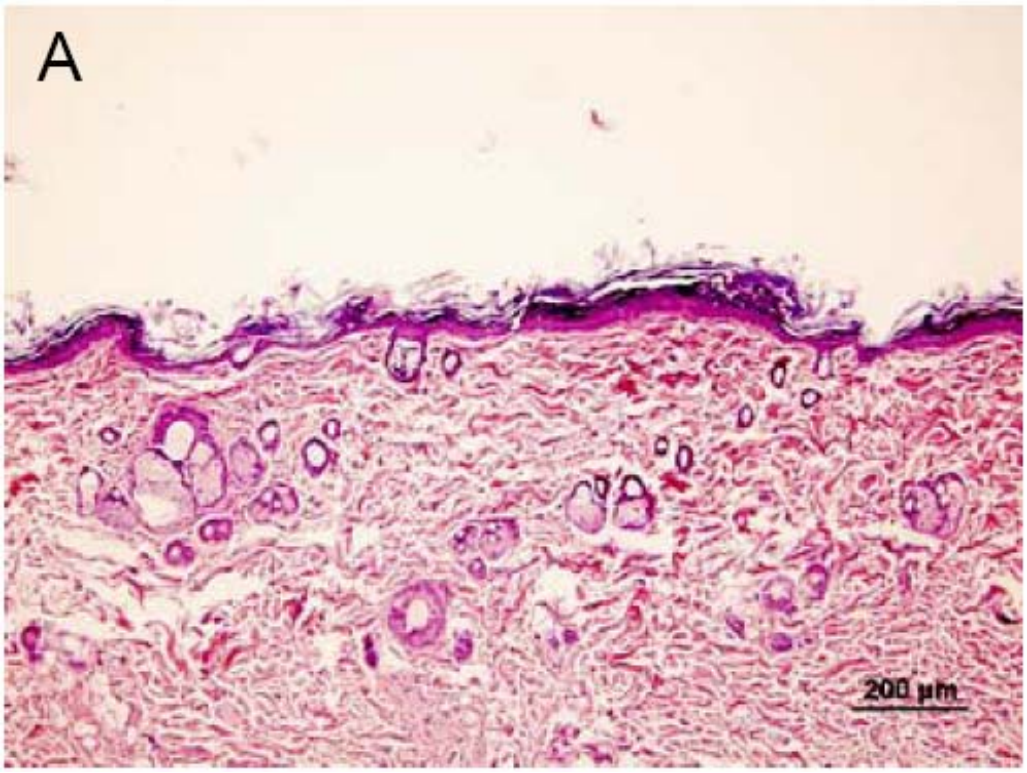


ภาพประกอบ 13A แสดงลักษณะสปิคูลฟองน้ำว *Spongilla lacustris* วางแทรกบนพื้นผิวหนังหนู ภาพกำลังขยาย 350 เท่า



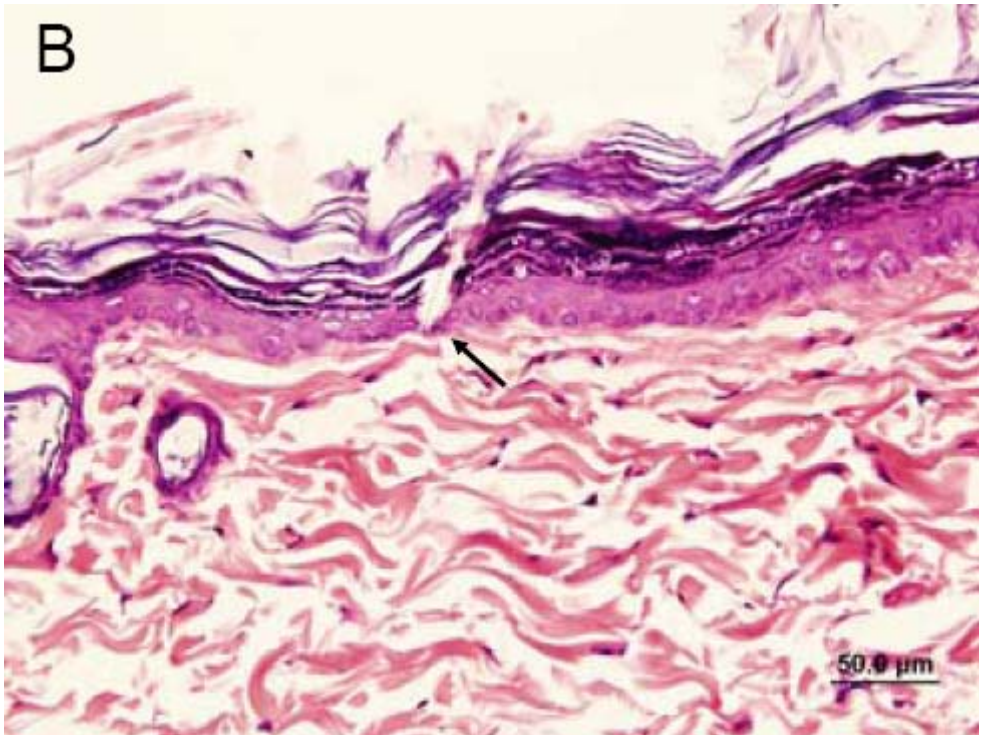
ภาพประกอบ 13B แสดงลักษณะสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ที่ปักลงบนพื้นผิวหนัง ภาพกำลังขยาย 350 เท่า

ภาพประกอบ 13A และ 13B แสดงลักษณะสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ที่ตรวจพบบนชั้นผิวหนังในลักษณะต่างๆกัน ดังในภาพประกอบ 13A จะเห็นว่าสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* วางอยู่บนพื้นผิวหนังของหนูทดลอง ส่วนภาพประกอบ 13B มีการปักลงบนชั้นผิวหนังส่วนบน



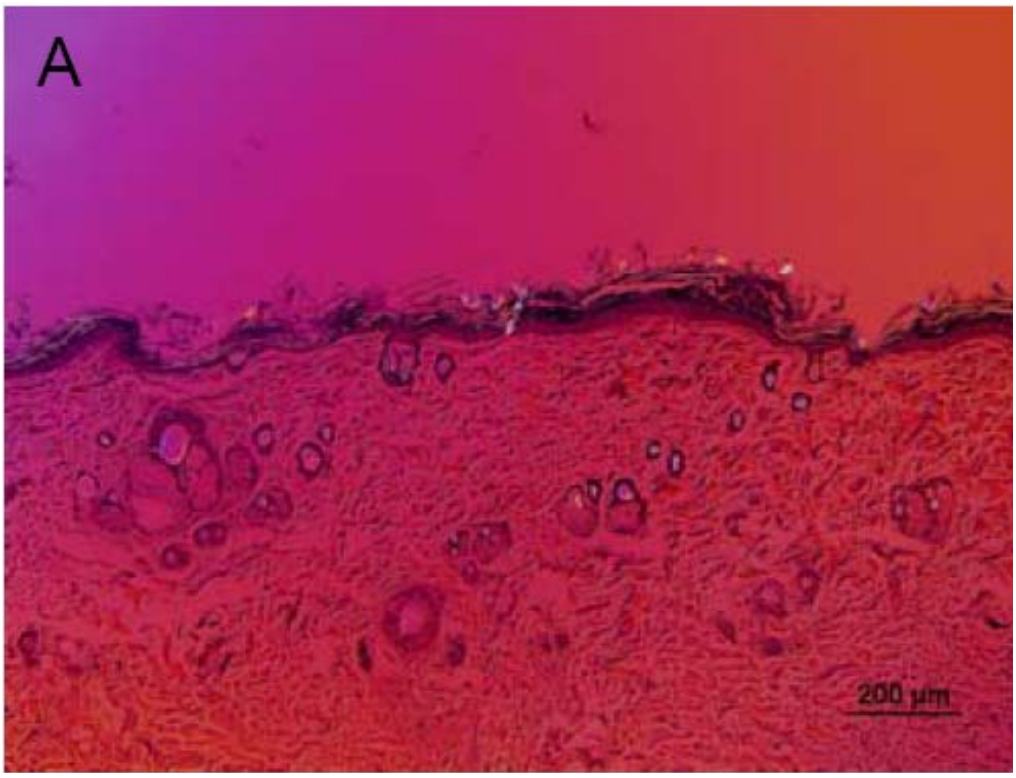
ภาพประกอบ 14A แสดงลักษณะชั้นผิวหนังของหนูทดลองจากการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ภาพกำลังขยาย 10 เท่า

จากการย้อมสี hematoxylin และ eosin (H&E) เพื่อใช้ตรวจหาปฏิกิริยาการอักเสบ (Inflammatory reaction) โดยสังเกตเซลเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆเช่น monocyte และ neutrophil ภายในชั้นผิวหนังโดยเฉพาะชั้นหนังแท้ที่อาจแสดงให้เห็นการอักเสบจากการเกิดปฏิกิริยากับสปิคูล ฟองน้ำ *Spongilla lacustris* และสังเกต vascular formation ที่เพิ่มขึ้นภายในชั้น dermis แต่จากการตรวจสอบผู้วิจัยไม่พบปฏิกิริยาการอักเสบของชั้นผิวหนังใดๆ เช่น allergic dermatitis, spongiotic dermatitis หรือการเกิด granulomatous reaction



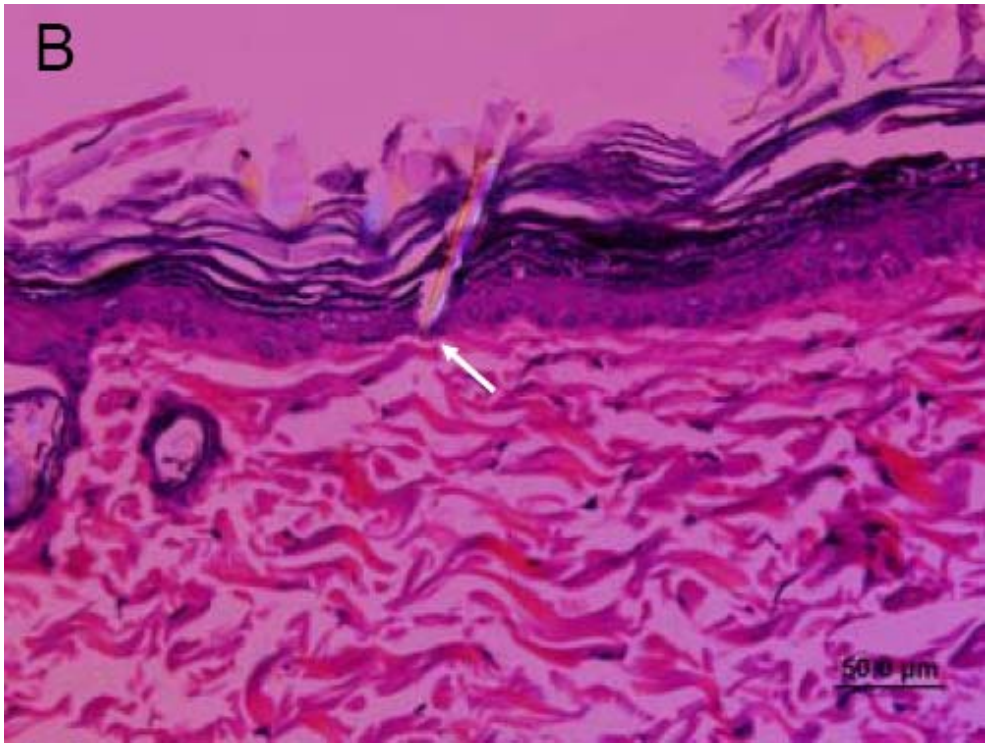
ภาพประกอบ 14B แสดงรูปขยายจากภาพประกอบ 14A โดยภาพกำลังขยาย 40 เท่า

ภาพประกอบ 14B เป็นรูปที่ได้จากกลุ่มทดลองที่ 2 คือกลุ่มที่ทาด้วยผงสกัดจากฟองน้ำ และ normal saline solution เป็นการทาในสัปดาห์แรกของการทดลองและทำการตัดชิ้นเนื้อหลังจากทาด้วยสารนี้ประมาณ 10 นาที จากนั้นจึงรอประมาณ 30 นาทีแล้วเช็ดออกด้วย normal saline solution แสดงลักษณะสปิคูลฟองน้ำปักลงในชั้นผิวหนังที่ลึกที่สุดที่ตรวจพบโดยมีลักษณะการปักลงในแนวเฉียงจนถึงชั้น Stratum basalis ของชั้นผิวหนัง epidermis วัดความยาวของสปิคูลฟองน้ำได้ประมาณ 70 ไมโครเมตร และจากรูปบริเวณปลายของสปิคูลฟองน้ำไม่พบเซลเม็ดเลือดขาวที่บ่งชี้ถึงการเกิดปฏิกิริยาการอักเสบของชั้น dermis



ภาพประกอบ 15A แสดงลักษณะผิวหนังของหนูทดลองจากการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์โพลาไลซ์ โดยภาพกำลังขยาย 10 เท่า

ภาพประกอบ 15A นี้ยังคงเป็นรูปที่ได้จากกลุ่มทดลองที่ 2 คือกลุ่มที่ทาด้วยผงสกัดจากฟองน้ำและน้ำเกลือ normal saline solution เป็นการทาในสัปดาห์แรกของการทดลองแสดงลักษณะภาพที่ได้จากการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์โพลาไลซ์โดยเมื่อผู้วิจัยได้ปรับมุมองศาของตัว Polarizer ไปในทิศทางทวนเข็มนาฬิกาประมาณ 90 องศา จะทำให้ได้ภาพพื้นหลังมีสีม่วงอมแดง



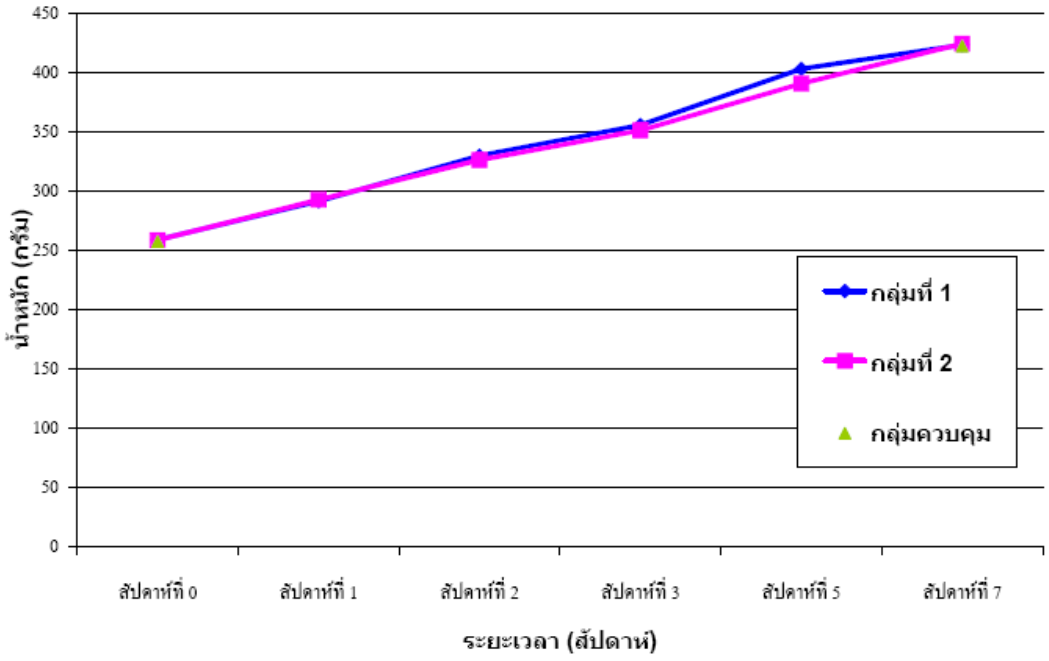
ภาพประกอบ 15B แสดงลักษณะสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* บนพื้นผิวหนังของหนูทดลองจากการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์โพลาไลซ์ โดยภาพกำลังขยาย 40 เท่า

ภาพประกอบ 15B นี้เป็นภาพกำลังขยายจากภาพประกอบ 15A โดยมีกำลังขยาย 40 เท่า หลังจากปรับมุมองศาของ polarizer แล้ว พบว่าสปิคูลฟองน้ำให้สีเหลืองอมฟ้า จากหลักฐานดังกล่าว ผู้วิจัยได้นำไปค้นหาสปิคูลฟองน้ำที่อาจตกค้างในชั้นต่างๆ ของผิวหนังโดยเฉพาะชั้นผิวหนัง dermis แต่จากการตรวจสอบชิ้นเนื้อพบสปิคูลฟองน้ำในชั้น ผิวหนังส่วนบน epidermis เท่านั้นไม่พบสปิคูลฟองน้ำภายในนชั้น dermis เลย

ตาราง 8 เปรียบเทียบน้ำหนักของกลุ่มตัวอย่างในแต่ละสัปดาห์ของการศึกษา

สัปดาห์	**กลุ่มทดลอง**	**น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม) (mean ± SE)**	p-value
0 (เริ่มต้นการทดลอง)	กลุ่มที่ 1	258.69 ± 1.52	0.854
	กลุ่มที่2	258.31 ± 1.39	
	กลุ่มควบคุม	257.00 ± 0.00	0.693
1	กลุ่มที่ 1	291.10 ± 3.80	0.775
	กลุ่มที่2	292.44 ± 2.42	
2	กลุ่มที่ 1	329.50 ± 4.25	0.487
	กลุ่มที่2	325.86 ± 2.41	
3	กลุ่มที่ 1	355.33 ± 6.99	0.596
	กลุ่มที่2	350.80 ± 3.13	
5	กลุ่มที่ 1	402.75 ± 6.95	0.217
	กลุ่มที่2	390.33 ± 3.71	
7	กลุ่มที่ 1	423.00 ± 20.00	0.982
	กลุ่มที่2	424.00 ± 0.00	
	กลุ่มควบคุม	422.00 ± 2.00	0.935

จากตาราง 8 สามารถสรุปข้อมูลทั่วไปดังนี้ ในสัปดาห์เริ่มต้นการทดลอง (สัปดาห์ที่ 0) ไม่มีความแตกต่างกันของน้ำหนักหนูขาวในกลุ่มทดลองทั้งสองกลุ่มและกลุ่มควบคุมเมื่อเปรียบเทียบน้ำหนัก ของกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 โดยกลุ่มที่ 1 มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 258.69 กรัม กลุ่มที่ 2 น้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 258.31 กรัมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และในกลุ่มควบคุมมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 257 กรัมเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักรวมเฉลี่ยของกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ



ภาพประกอบ 16 กราฟแสดงน้ำหนักของหนูในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม

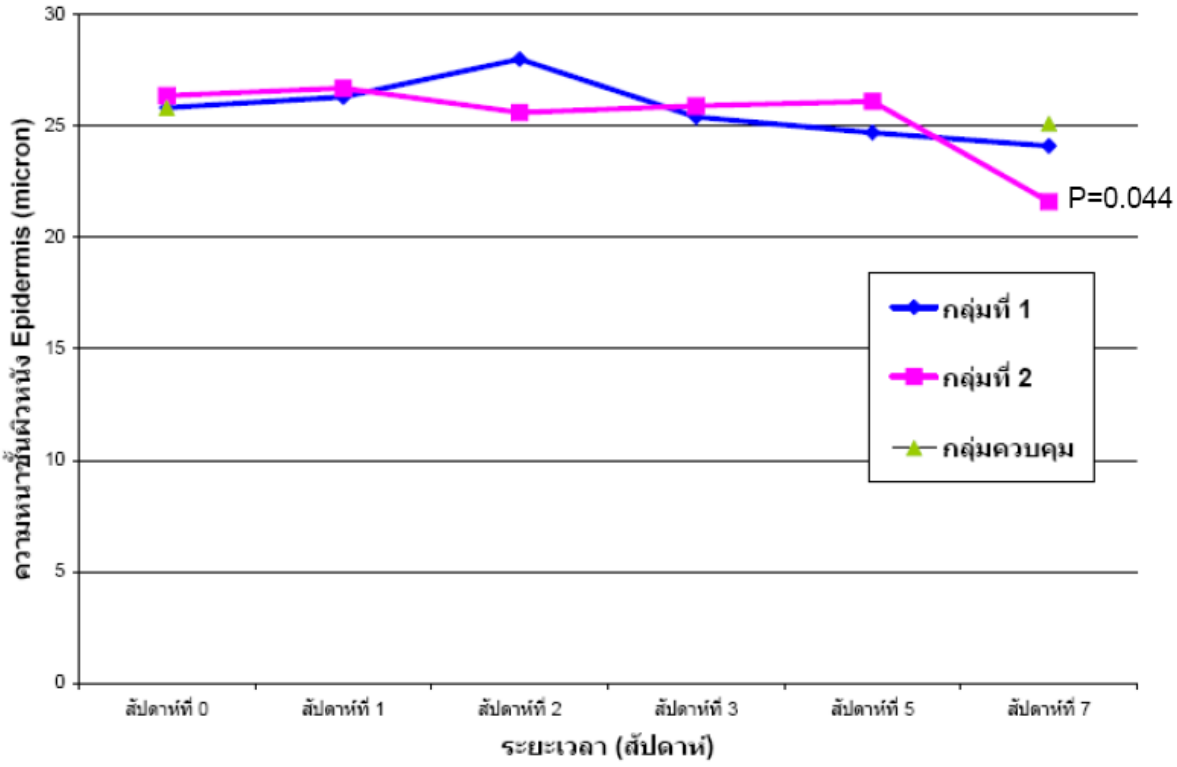
จากกราฟในภาพประกอบ 16 เปรียบเทียบน้ำหนักในแต่ละสัปดาห์จนสิ้นสุดการทดลองในกลุ่มทดลองทั้งสองกลุ่มมีแนวโน้มน้ำหนักเพิ่มขึ้นทุกสัปดาห์ พบว่าในสัปดาห์ที่ 1 น้ำหนักเฉลี่ยในกลุ่มทดลองที่ 2 มากกว่ากลุ่มน้ำหนักเฉลี่ยในกลุ่มทดลองที่ 1 แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่ในสัปดาห์การทดลองที่ 2, 3 และ 5 กลุ่มทดลองที่ 1 มีแนวโน้มน้ำหนักเฉลี่ยมากกว่ากลุ่มทดลองที่ 2 แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในสัปดาห์สุดท้าย (สัปดาห์ที่ 7) ของการทดลอง น้ำหนักหนูในกลุ่มที่ 2 มีแนวโน้มมากกว่ากลุ่มที่ 1 แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและไม่แตกต่างจากน้ำหนักหนูในกลุ่มควบคุม

จากกราฟพบว่าน้ำหนักของหนูจะเพิ่มขึ้นตามอายุของหนูที่เพิ่มขึ้น ลักษณะการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวจะเหมือนกันในทุกกลุ่มแสดงว่าการทาด้วยสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์หรือร่วมกับ normal saline solution ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว

ตาราง 9 แสดงความหนาของผิวหนังกำพร้า (Epidermal layer)

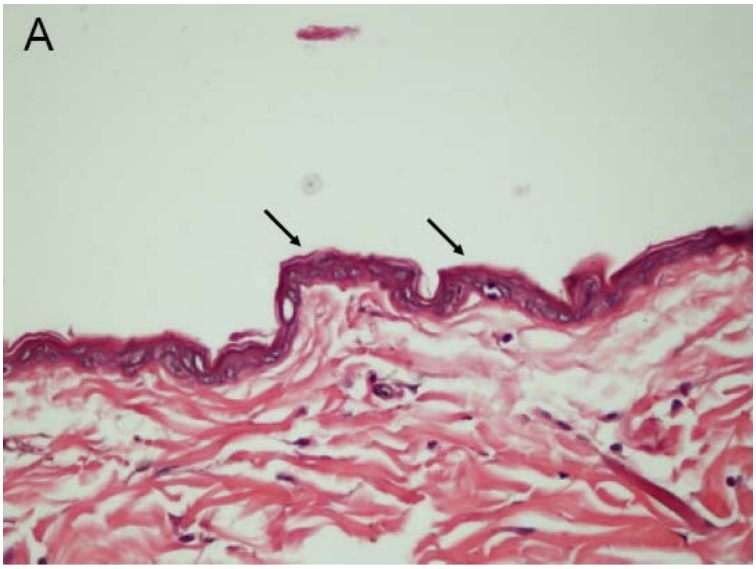
สัปดาห์	**กลุ่มทดลอง**	**ความหนาของชั้น** Epidermis (μm) (mean ± SE)	p-value
0 (เริ่มต้นการทดลอง)	กลุ่มที่ 1	25.82 ± 0.93	0.750
	กลุ่มที่2	26.36 ± 1.34	
	กลุ่มควบคุม	25.00 ± 0.00	0.682
1	กลุ่มที่ 1	26.30 ± 0.50	0.688
	กลุ่มที่2	26.70 ± 0.70	
2	กลุ่มที่ 1	28.00 ± 1.80	0.383
	กลุ่มที่2	25.60 ± 1.20	
3	กลุ่มที่ 1	25.40 ± 0.60	0.534
	กลุ่มที่2	25.90 ± 0.30	
5	กลุ่มที่ 1	24.70 ± 0.90	0.386
	กลุ่มที่2	26.10 ± 0.90	
7	กลุ่มที่ 1	24.10 ± 1.00	0.044
	กลุ่มที่2	21.60 ± 0.00	
	กลุ่มควบคุม	25.10 ± 0.30	0.195

จากตาราง 9 แสดงความหนาของผิวหนังชั้น epidermis เปรียบเทียบกันแต่ละสัปดาห์ พบว่าในสัปดาห์เริ่มต้นการศึกษา (สัปดาห์ที่ 0) ความหนาของผิวหนังชั้น epidermis ในกลุ่มที่ 1 มีความหนาเท่ากับ 25.82 ไมโครเมตร กลุ่มที่ 2 เท่ากับ 26.36 ไมโครเมตร ซึ่งทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และกลุ่มควบคุมมีความหนาของผิวหนังชั้น epidermis เท่ากับ 25 ไมโครเมตร เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มทดลองทั้งสองกลุ่มกับกลุ่มควบคุมแล้วพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

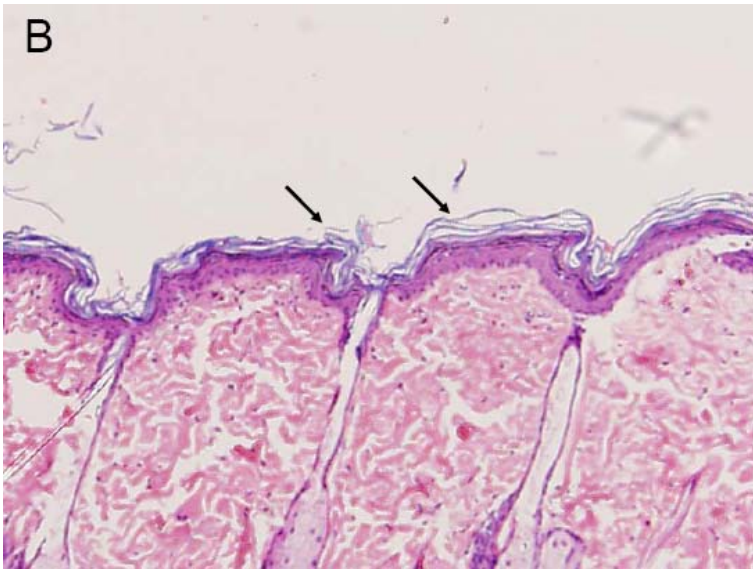


ภาพประกอบ 17 กราฟแสดงความหนาของผิวหนังกำพร้า (Epidermal layer)

จากกราฟในภาพประกอบ 17 จะเห็นได้ว่าความหนาของผิวหนังชั้น epidermis ในกลุ่มทดลองที่ 1 และ 2 ไม่แตกต่างกันในสัปดาห์ที่ 0 ถึง 5 แต่ในสัปดาห์ที่ 7 กลุ่มทดลองที่ 2 กลับมีความหนาของผิวหนังชั้น epidermis น้อยกว่าในกลุ่มที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญ (p=0.044) จะสังเกตุได้ว่ากลุ่มทดลองที่ 1 มีแนวโน้มมีความหนาของผิวหนังชั้น epidermis บางกว่ากลุ่มที่ 2 ในสัปดาห์ที่ 0, 1, 3 และ 5



ภาพประกอบ 18A แสดงลักษณะผิวหนังชั้น epidermis ที่ได้จากกลุ่มควบคุม



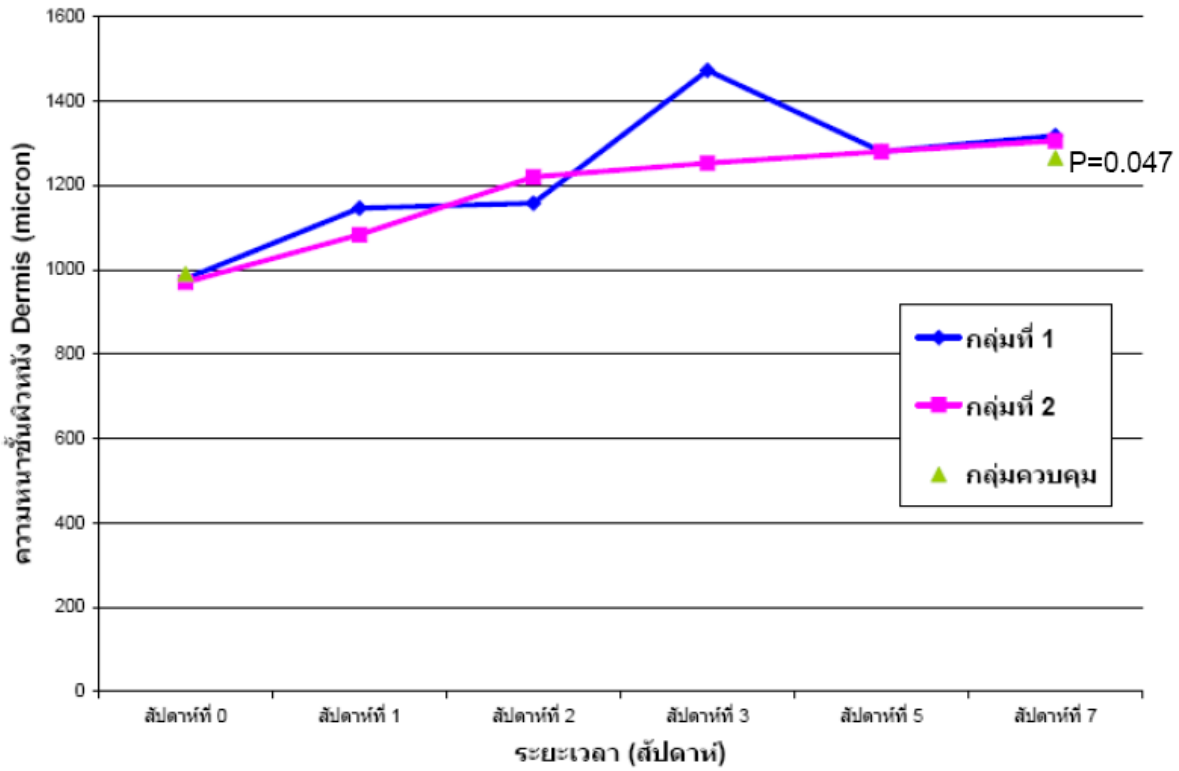
ภาพประกอบ 18B แสดงลักษณะผิวหนังชั้น epidermis ที่ได้จากกลุ่มทดลองที่ 1

จากภาพประกอบ 18A และ 18B เปรียบเทียบลักษณะชั้นผิวหนัง Stratum corneum พบว่าในกลุ่มควบคุม (ภาพประกอบ 18A) ที่ทาด้วย normal saline solution ยังมีการจัดเรียงตัวของชั้น stratum corneum เป็นปกติ และภาพประกอบ 18B ได้จากชิ้นเนื้อในกลุ่มทดลองที่ 1 ในสัปดาห์ที่ 2 หลังการทาด้วยผงสกัดจากฟองน้ำและน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แสดงลักษณะการหลุดลอกของชั้น stratum corneum มากกว่ากลุ่มควบคุม

ตาราง 10 แสดงความหนาของชั้นหนังแท้ (Dermal layer)

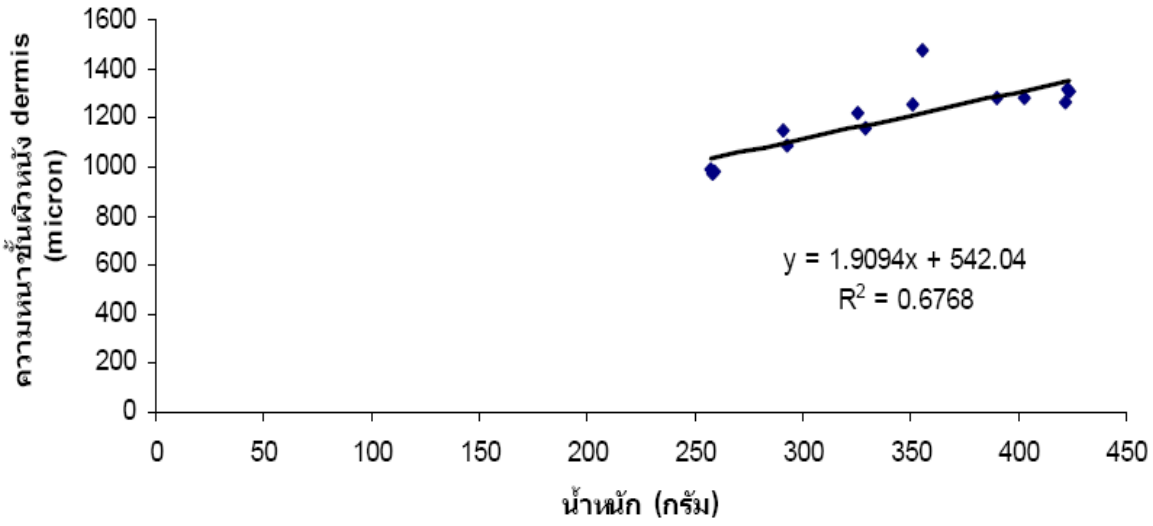
สัปดาห์	**กลุ่มทดลอง**	**ความหนาของชั้น** Dermis (μm) (mean ± SE)	p-value
0 (เริ่มต้นการทดลอง)	กลุ่มที่ 1	978.40 ± 36.55	0.850
	กลุ่มที่ 2	969.80 ± 24.28	
	กลุ่มควบคุม	990.00 ± 00.00	0.833
1	กลุ่มที่ 1	1,146.00 ± 66.00	0.441
	กลุ่มที่2	1,083.00 ± 00.00	
2	กลุ่มที่ 1	1,157.50 ± 57.50	0.403
	กลุ่มที่2	1,220.00 ± 15.00	
3	กลุ่มที่ 1	1,472.50 ± 57.50	0.085
	กลุ่มที่2	1,252.50 ± 37.50	
5	กลุ่มที่ 1	1,280.00 ± 5.00	1.00
	กลุ่มที่2	1,280.00 ± 45.00	
7	กลุ่มที่ 1	1,317.50 ± 32.50	0.861
	กลุ่มที่2	1,305.00 ± 00.00	
	กลุ่มควบคุม	1,265.00 ± 60.00	0.047

จากตาราง 10 แสดงความหนาของผิวหนังชั้น dermis พบว่าในสัปดาห์เริ่มต้นการศึกษา (สัปดาห์ที่ 0) ความหนาของผิวหนังชั้น dermis ในกลุ่มที่ 1 เท่ากับ 978.40 ไมโครเมตร และในกลุ่มที่ 2 เท่ากับ 969.80 ไมโครเมตร พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p=0.850) และเมื่อเปรียบเทียบกลุ่มทดลองทั้งสองกลุ่มกับกลุ่มควบคุมพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p=0.833)



ภาพประกอบ 19 กราฟแสดงความหนาของชั้นหนังแท้ (Dermal layer)

จากกราฟในภาพประกอบ 19 พบว่าความหนาของผิวหนังชั้น dermis เพิ่มขึ้นทุกสัปดาห์ของการศึกษา ในสัปดาห์ที่ 1 ถึงสัปดาห์ที่ 7 ความหนาของผิวหนังชั้น dermis ในกลุ่มที่ 1 และ 2 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ในสัปดาห์สิ้นสุดการศึกษา (สัปดาห์ที่ 7) พบว่าความหนาของผิวหนังชั้น dermis ในกลุ่มควบคุมน้อยกว่ากลุ่มทดลองทั้งสองกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญ ($p=0.047$)

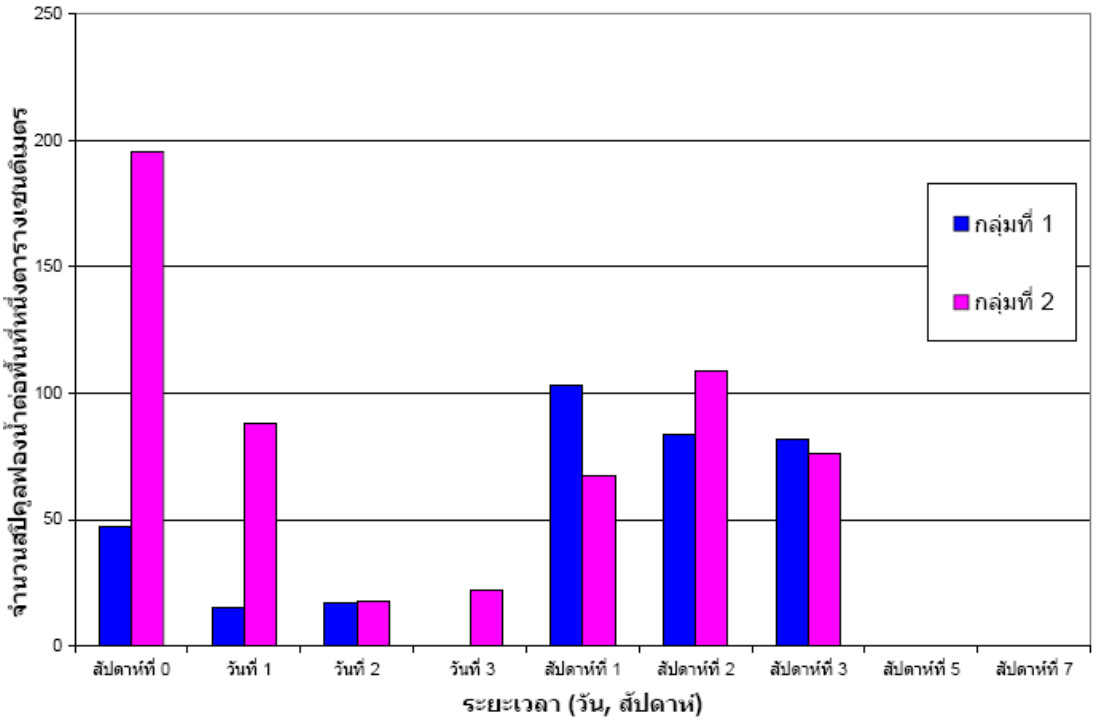


ภาพประกอบ 20 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักตัวกับความหนาของผิหนังชั้น dermis

จากกราฟในภาพประกอบ 20 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักตัวของหนูกลุ่มทดลองทั้งสองกลุ่มและกลุ่มควบคุมกับความหนาของชั้นผิวหนัง dermis พบว่าความหนาของชั้นผิวหนัง dermis ที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับน้ำหนักตัวของหนูที่เพิ่มขึ้นในแต่ละสัปดาห์ โดยมีค่าความสัมพันธ์ (correlation) สอดคล้องกันทางด้านสถิติโดยมีค่า R^2 = 0.6768 ซึ่งนำมาอธิบายผลการทดลองได้ว่าความหนาของชั้นผิวหนัง dermis ที่เพิ่มขึ้นเป็นผลจากการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวที่มากขึ้นตามอายุของหนูในระหว่างการศึกษา

ตาราง 11 แสดงจำนวนสปิคูลฟองน้ำบนผิวหนังชั้นบนต่อพื้นที่หนึ่งตารางเซนติเมตรในแต่ละสัปดาห์

สัปดาห์	**จำนวนสปิคูลต่อพื้นที่หนึ่งตารางเซนติเมตร**	
	กลุ่มที่ 1	**กลุ่มที่ 2**
สัปดาห์ที่ 0 (วันที่ 0)	47.5	195.5
สัปดาห์ที่ 0 (วันที่ 1)	15	88
สัปดาห์ที่ 0 (วันที่ 2)	17	18
สัปดาห์ที่ 0 (วันที่ 3)	0	22
สัปดาห์ที่ 1	103.5	67.5
สัปดาห์ที่ 2	84	109
สัปดาห์ที่ 3	82	76.5
สัปดาห์ที่ 5	0	0
สัปดาห์ที่ 7	0	0



ภาพประกอบ 21 แผนภูมิแท่งแสดงจำนวนสปิคูลฟองน้ำบนผิวหนังชั้นบนต่อพื้นที่หนึ่งตารางเซนติเมตร

จากตาราง 11 และภาพประกอบ 21 สามารถสรุปข้อมูลได้ดังนี้ การศึกษานี้เพื่อดูการตกค้างและการสะสมของสปิคูลฟองน้ำหลังการทาด้วยผงสปิคูลฟองน้ำร่วมกับน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์ในกลุ่มที่ 1 และการทาด้วยผงสปิคูลฟองน้ำร่วมกับสารละลายน้ำเกลือความเข้มข้น 0.9 เปอร์เซนต์ในกลุ่มที่ 2 การศึกษาการตกค้างของสปิคูลฟองน้ำในระยะแรกโดยติดตามนับจำนวนของสปิคูลบนผิวหนังทุกวันหลังจากทาเป็นเวลา 3 วัน พบว่าการทาวันแรกในสัปดาห์ที่ 0 กลุ่มที่ 2 มีการตกค้างของสปิคูลฟองน้ำมากกว่ากลุ่มที่ 1 อย่างชัดเจน (195.5 และ 47.5 ตามลำดับ) และยังพบว่าเมื่อติดตามดูในวันที่ 1 และ 2 ในกลุ่มที่ 2 ยังคงมีสปิคูลฟองน้ำตกค้างมากกว่ากลุ่มที่ 1 และในวันที่ 3 พบว่าในกลุ่มที่ 1 ไม่มีสปิคูลฟองน้ำตกค้างแล้วแต่ยังคงพบการตกค้างในกลุ่มทดลองที่ 2

เมื่อติดตามต่อไปในทุกสัปดาห์หลังการทาสปิคูลฟองน้ำในทั้งสองกลุ่มในแต่ละสัปดาห์ พบว่าในสัปดาห์ที่ 1, 2 และ 3 เมื่อเปรียบเทียบกับวันแรกในสัปดาห์ที่ 0 ในกลุ่มที่ 1 พบว่ามีปริมาณสปิคูลฟองน้ำที่มากกว่า แต่ในกลุ่มที่ 2 พบน้อยกว่า ในสัปดาห์ที่ 1, 2 และ 3 พบสปิคูลฟองน้ำบนชั้นผิวหนัง ในปริมาณไม่แตกต่างกันและไม่มีแนวโน้มที่มากขึ้นในทุกสัปดาห์

หลังจากการทาผงสปิคูลฟองน้ำในสัปดาห์ที่ 3 (ทาครั้งที่สี่และเป็นการทาครั้งสุดท้าย) แล้วติดตามการตกค้างของสปิคูลฟองน้ำในสัปดาห์ที่ 5 และ 7 โดยไม่มีการทาซ้ำก่อนตัดชิ้นเนื้อ พบว่าไม่มีการตกค้างของสปิคูลฟองน้ำหลังจากทาผงสปิคูลฟองน้ำไปแล้วภายในสองสัปดาห์

บทที่ 5
สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผล

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาเชิงพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ประยุกต์ เพื่อศึกษาถึงผลและความปลอดภัยของการใช้สปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ก่อนนำมาประยุกต์ใช้ในการรักษาสิวในมนุษย์ จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าสิวเกิดจากความผิดปกติของต่อมไขมันและรูขุมขนที่เรียกว่า pilosebaceous unit[3, 9] พบว่าการสร้าง interleukin-1α (IL-1α) ของ *P.acnes* และอิทธิพลจากฮอร์โมน androgen ทำให้เกิดการหลั่งไขมันจากต่อมไขมันเพิ่มขึ้นมีผลให้ระดับความเข้มข้นของกรด linoleic acid ในรูขุมขนลดลง[3, 4] ก่อให้เกิดการหนาตัวของผิวหนังบริเวณรูขุมขน (altered follicular growth and differentiation หรือ follicular epithelial hyperproliferation) และพบอีกว่ามีความผิดปกติของการหลุดลอกของเซลผิวชั้น stratum corneum (corneocyte) อัดแน่นรวมกับสารคัดหลั่งจากต่อมไขมัน (sebum) ทำให้เกิดการอุดตันของรูขุมขนตามมาเรียกว่า follicular plugging และเกิดจากการเจริญของต่อมไขมันและการหลั่งไขมันจากต่อมไขมันที่มากขึ้น (sebaceous gland hyperplasia with seborrhea) การเกิดการอักเสบและการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน (inflammation and immune response) และแบคทีเรีย *Propionibacterium acnes*[4] ในบริเวณ รูขุมขน ในปัจจุบันมีการค้นพบบทบาทสำคัญของ toll-like receptor 2 (TLR-2) บนผนังเซลของ *P.acnes* โดยเมื่อเม็ดเลือดขาวชนิด monocytes มากำจัด *P.acnes* TLR-2 บนผนังเซลจะกระตุ้น monocytes ให้หลั่ง proinflammatory cytokine ที่สำคัญคือ interleukin-12 และ interleukin-8 ทำให้เกิดการรวมตัวของเซลเม็ดเลือดขาวมากขึ้นจนก่อให้เกิดการอักเสบ[4]

การรักษาสิวในปัจจุบันมักจะแบ่งระดับความรุนแรงของสิวเพื่อการประเมินของแพทย์และการทำความเข้าใจได้ตรงกัน มักจะใช้วิธีการประเมินแบบง่าย (simplified classification)[8] แบ่งเป็นเป็นระดับความรุนแรง ตั้งแต่น้อย ปานกลางถึงรุนแรงมาก การเลือกใช้ยาขึ้นกับระดับความรุนแรงของโรค ปัจจุบันมีการรักษาด้วยวิธีต่างๆ แต่ที่ใช้เป็นมาตรฐานสามาถแบ่งออกได้เป็นประเภทการรักษาดังเช่นการใช้ยาทาเฉพาะที่ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็นกลุ่มยาทาประเภทกลุ่มเรตินอยด์ (topical retinoids) โดยออกฤทธิ์ในการแก้ไขความผิดปกติของการหนาตัวของผิวหนังบริเวณรูขุมขน (follicular epithelial hyperproliferation) ช่วยลดการเกิดการอักเสบโดยการแย่งจับกับ TLR-2 บนผนังเซลของ *P.acnes*[2, 3] ประเภทยาทากลุ่มยาปฏิชีวนะ (topical antimicrobials) และ Benzoyl peroxide ออกฤทธิ์โดยการฆ่าเชื้อ *P.acnes* โดยตรง สามารถยับยั้งการอักเสบโดยการยับยั้งการหลั่งสาร chemotaxis จากเม็ดเลือดขาวด้วย การรักษาโดยใช้ยารับประทานซึ่งแบ่งได้เป็นยารับประทานชนิด

ยาปฏิชีวนะออกฤทธิ์โดยการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *P.acnes* และลดการหลั่ง IL-1 จาก *P.acnes* และยังมีฤทธิ์ต้านการอักเสบโดยยับยั้งการหลั่ง chemotaxis factors และลดจำนวนเม็ดเลือดขาวชนิด neutrophil ลงด้วย[5, 20] ยารับประทานชนิดกรดเรตินอยด์ ยา isotretinoin หรือ 13-cis-retinoic acid ออกฤทธิ์โดยการลดการสร้างและหลั่งไขมันจากต่อมไขมันบริเวณผิวหนัง ลดการเกิดสิวอุดตัน ลดการสะสมของเชื้อ *P.acnes* และต้านกระบวนการเกิดการอักเสบ[24-27] ยารับประทานชนิดฮอร์โมนออกฤทธิ์โดยการลดการตอบสนองต่อมไขมันจากฮอร์โมนเพศชาย (androgen)[43]

การรักษาด้วยวิธีอื่นๆเช่น การกดสิวอุดตัน (comedones extraction) การฉีดยาสเตียรอยด์เข้าบริเวณรอยโรคสิวอักเสบหรือถุงสิว พบว่าช่วยให้รอยโรคหายเร็วขึ้น การใช้เลเซอร์ที่มีในปัจจุบัน เช่น Pulsed dye laser (ความยาวคลื่น 585 และ 595 นาโนเมตร) เครื่อง diode laser (ความยาวคลื่น 1450 นาโนเมตร) เครื่อง erbium glass laser (ความยาวคลื่น 1540 นาโนเมตร) เป็นต้น พบว่าจากหลายการศึกษายังมีผลลัพธ์การศึกษาที่แตกต่างกันออกไป[54] การใช้เลเซอร์ร่วมกับสารที่ไวต่อการกระตุ้นจากแสง (photosensitizer) เช่น สาร 5-aminolevulinic acid จะถูกเปลี่ยนไปเป็น protoporphyrin IX เมื่อถูกกระตุ้นโดยแสงจะทำให้เกิดกระบวนการสร้าง reactive oxygen species (ROS) ทำให้มีผลทำลายต่อมไขมัน ลดจำนวนเชื้อ *P.acnes* ลดปริมาณสิวอุดตันและสิวอักเสบด้วย[54]

ปัจจุบันมีการรักษาผิวหน้าโดยใช้เทคนิคการผลัดผิวเซลบนใบหน้า (facial resurfacing)[64] มีวัตถุประสงค์หลักของการทำคือการรักษาริ้วรอยบริเวณใบหน้าที่เกิดจากแสงแดด (photoaging) เช่น ริ้วรอยย่นบนใบหน้า กระ ปัญหาหลุมสิว รวมถึงการนำมาประยุกต์ใช้กับการรักษาสิวอุดตันด้วยการใช้กรดอ่อนเช่น salicylic acids, alpha-hydroxyl acids หรือกรด glycolic acid ออกฤทธิ์โดยการละลายผิวหนังกำพร้าส่วนบน ลดการอุดตันบริเวณรูขุมขน (follicular plugs) พบว่าอาการดีขึ้นในบางรายเท่านั้นและใช้เป็นเพียงการรักษาเสริม มีรายงานการใช้ hydrogen peroxide ในการรักษาสิว การศึกษาของ Milani M.และคณะ[62] ใช้ hydrogen peroxide ในรูปแบบเนื้อครีมความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ในการรักษาสิวชนิดรุนแรงน้อยถึงปานกลาง ทายาวันละ 1 ครั้งนาน 8 สัปดาห์พบว่าจำนวนสิวอุดตันและสิวอักเสบลดลงร้อยละ 57 และ 55 ตามลำดับ (เฉลี่ยร้อยละ 56) การศึกษาของ Capizzi R. และคณะ[63] ศึกษาการใช้ครีม hydrogen peroxide ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับ adapalene gel พบว่าลดการสิวอุดตันและสิวอักเสบได้อย่างมีนัยสำคัญและพบผลข้างเคียงเช่นการเกิดผิวแห้งน้อยกว่าการใช้ยาทา benzoyl peroxide ร่วมกับ adapalene gel

ปัจจุบันมีการนำผงสกัดจากฟองน้ำ *Spongilla lacustris* มาใช้ร่วมกับน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในการรักษาสิวตั้งแต่ปี พ.ศ.2549 ซึ่งกระจายตามคลินิคเวชกรรมและบางโรงพยาบาลเอกชนในเขตกรุงเทพมหานคร จากการสืบค้นข้อมูลการนำมาใช้ในการรักษาสิวในต่างประเทศพบว่ามิได้มีงานวิจัยในด้านการทดสอบความปลอดภัยและประสิทธิภาพ ทั้งในการศึกษาในสัตว์ทดลองและการศึกษาในมนุษย์ อีกทั้งมิได้มีกระบวนการขั้นตอนการรับรองใดๆจากแหล่งผลิต ข้อมูลที่ได้มีเพียงการ

จดสิทธิบัตรในประเทศสหรัฐอเมริกาในปี ค.ศ.2006 ผู้วิจัยเห็นว่าในภาวะปัจจุบันโลกเข้าสู่ยุคการสื่อสารไร้พรมแดน และสิวเป็นโรคที่มีผลกระทบต่อภาวะจิตใจอันประเมินความรุนแรงมิได้ทำให้ผู้คนแสวงหาวิธีการรักษาที่ดีเพื่อให้หายจากสิวโดยเร็ว อันเป็นช่องทางที่ทำให้กลุ่มคนที่ทำธุรกิจเวชสำอางค์ได้เห็นช่องทางในการแสวงหากำไรจากโรคดังกล่าว ทำให้ผู้บริโภคจึงต้องตกเป็นเหมือนหนูทดลองที่ไม่ทราบว่าการรักษาโดยวิธีดังกล่าวจะมีประโยชน์หรือไม่ หรือจะส่งผลในภายภาคหน้าอย่างไรจากภาวะแทรกซ้อนที่ไม่ทราบมาก่อน จากปัญหาดังกล่าวจึงได้เริ่มต้นจากการศึกษาในขั้นพื้นฐานโดยเริ่มจากสัตว์ทดลองเพื่อให้ได้ข้อมูลของผลและความปลอดภัยเบื้องต้นที่จะนำมาศึกษาในขั้นตอนต่อไป

อภิปรายข้อมูลทั่วไป

จากผลการวิจัยนี้ได้ใช้สัตว์ทดลองคือหนูขาวพันธุ์ Wistar furth เพศผู้จากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ ตำบลศาลายา มหาวิทยาลัยมหิดล จำนวน 33 ตัว อายุที่เริ่มนำมาศึกษา 8 สัปดาห์ซึ่งเป็นหนูตัวเต็มวัย โดยมีน้ำหนักเฉลี่ย 258 กรัม โดยกลุ่มทดลองที่ 1 มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 258.69 กรัม กลุ่มทดลองที่ 2 น้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 258.31 กรัมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และในกลุ่มควบคุมมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 257 กรัมเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักรวมเฉลี่ย ของกลุ่ม ที่ 1 และกลุ่มที่ 2 พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ หนูขาวได้รับการเลี้ยงในกรงเฉลี่ย 3-4 ตัวต่อกรง ในห้องควบคุมอุณหภูมิเฉลี่ย 20±2 องศาเซลเซียส และแสงสว่าง 12 ชั่วโมงต่อวัน ให้อาหารสำเร็จรูปจากบริษัทเจริญโภคภัณฑ์ ทำการล้างทำความสะอาดกรงทุก 2 วันเพื่อป้องกันการเกิดโรค ผู้วิจัยทำการชั่งน้ำหนักตั้งแต่สัปดาห์เริ่มต้นการศึกษาสัปดาห์ที่ 1, 2, 3, 5 และสัปดาห์ที่ 7 พบว่าน้ำหนักหนูเพิ่มขึ้นทุกสัปดาห์ก่อนทำการศึกษาในแต่ละสัปดาห์ หนูทุกตัวจะได้รับการโกนขนโดยเครื่องโกนขนและใบมีดโกนไม่ให้เกิดแผล

อภิปรายผลการทดลอง

ผลของสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* และน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ต่อชั้นผิวหนัง epidermis

ผลการทดลอง

จากการศึกษาพบว่าในช่วง 3 สัปดาห์แรก (สัปดาห์ที่ 0, 1 และ 2) ในกลุ่มทดลองที่ 1 มีความหนาของชั้นผิวหนัง epidermis เพิ่มขึ้นแต่มีแนวโน้มลดลงในสัปดาห์ที่ 3, 5 และ 7 ในกลุ่มทดลองที่ 2 มีความหนาของชั้นผิวหนัง epidermis เพิ่มขึ้นในช่วงสองสัปดาห์แรก (สัปดาห์ที่ 0 และ 1) หลังจากนั้นไม่มีความแตกต่างกันในสัปดาห์ที่ 2, 3 และ 5 แต่พบว่าความหนาลดลงอย่างมากในสัปดาห์สุดท้าย (สัปดาห์ที่ 7) แต่ในกลุ่มควบคุมซึ่งวัดความหนาของผิวหนังชั้น epidermis ในสัปดาห์แรกและสัปดาห์สุดท้ายไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบความหนาของชั้นผิวหนัง epidermis ระหว่างกลุ่มทดลองที่ 1 และ 2 พบว่ากลุ่มทดลองที่ 1 มีแนวโน้มความหนาน้อยกว่ากลุ่มทดลองที่ 2 ในสัปดาห์การทดลองที่ 0, 1, 3 และ 5 แต่มากกว่าในสัปดาห์ที่ 2 และ 7

จากหลักการของการผลัดเซลผิวโดยวิธีกรอผิว (dermabrasion) หรือวิธีใช้สารเคมี (chemical peels)[64, 67] อาจนำมาอธิบายการเปลี่ยนแปลงความหนาตัวของชั้นผิวหนัง epidermis ได้ โดยเฉพาะในกลุ่มทดลองที่ 1 ที่มีแนวโน้มความหนาตัวของชั้นผิวหนัง epidermis น้อยกว่าในกลุ่มที่ 2 ในสัปดาห์ที่ 0, 1, 3 และ 5 แต่ความหนาตัวของชั้นผิวหนัง epidermis ในกลุ่มที่ 1 มากกว่ากลุ่มที่ 2 โดยในสัปดาห์ที่ 7 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่าในกลุ่มควบคุมมีความหนาไม่แตกต่างกันในสัปดาห์แรกและสัปดาห์สุดท้ายของการศึกษา และจากภาพประกอบ 18 B พบว่ามีการหลุดลอกของชั้น stratum corneum ในกลุ่มทดลองอย่างชัดเจน อธิบายได้ว่าการทาด้วยสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* น่าจะมีผลต่อความหนาของชั้นผิวหนัง epidermis โดยระหว่างที่ทาอาจทำให้เกิดการกรอผิวหนังบริเวณส่วนบน คือชั้น stratum corneum ออกไปได้โดยหลักการผลัดเซลผิวหนังแบบ mechanical peeling[64]

ผู้วิจัยไม่สามารถอภิปรายผลของน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ว่ามีผลต่อผิวหนังชั้น stratum corneum หรือไม่เนื่องจากการทดลองไม่ได้ทดสอบคุณสมบัติของสารที่ผสมแล้วระหว่างผงสกัดฟองน้ำและน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ว่ายังมีคุณสมบัติเป็นกรดอีกหรือไม่ถึงแม้ว่าจากข้อสังเกตุว่าชั้น ผิวหนัง epidermis ในกลุ่มทดลองที่ 1 มีแนวโน้มบางกว่าในกลุ่มทดลองที่ 2 ในสัปดาห์ที่ 0, 1, 3 และสัปดาห์ที่ 5 แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเป็นไปได้ว่าการศึกษาใช้จำนวนชิ้นเนื้อในการศึกษาน้อยเกินไป จำเป็นต้องเพิ่มจำนวนสัตว์ทดลองให้มากขึ้นเพื่อแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างที่ชัดเจนขึ้น และเพื่อศึกษาเปรียบเทียบความหนาของผิวหนังชั้น epidermis หนูในกลุ่มควบคุมได้ชัดเจนขึ้นด้วย

เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Sevinc Inan และคณะ[71] โดยศึกษาการทากรด glycolic acid ในความเข้มข้นต่างๆกัน (ความเข้มข้น 8%, 50% และ 70%) บนผิวหนังหนูพบว่า การทา glycolic acid ในขนาดความเข้มข้นต่างๆกันมีผลทำให้ผิวหนังชั้น epidermis เกิดการหนาตัวขึ้นเช่นเดียวกัน มีการหลุดลอกของชั้น stratum corneum ส่วนบน (intercellular disjunction) และการเกิดการเปลี่ยนแปลงภายในเซล keratinocytes (intracytoplasmic vacuolization) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Hussein MRA และคณะ[72] ที่ได้ศึกษาการทำ chemical peel ด้วย Jessner's solution เปรียบเทียบกับการทำ microdermabrasion บนผิวหนังของมนุษย์ พบว่ามีการเพิ่มความหนาของชั้น epidermis เช่นกัน ในการศึกษานี้พบว่าผิวหนังชั้น stratum corneum ว่ามีการหลุดลอกออกไปเช่นเดียวกันแต่ไม่มีการเพิ่มความหนาของชั้น epidermis อาจเป็นไปได้ว่าผงสกัดฟองน้ำ *Spongilla lacustris* และน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไม่มีผลต่อการกระตุ้นให้เซล keratinocyte มีการแบ่งตัวเพิ่มขึ้น

ผลของสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* และน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ต่อชั้นผิวหนัง dermis

ผลการทดลอง

จากการศึกษาพบว่าความหนาของชั้น dermis เพิ่มขึ้นในแต่ละสัปดาห์โดยในกลุ่มทดลองที่ 1 มีแนวโน้มหนากว่ากลุ่มทดลองที่ 2 ในสัปดาห์ที่ 1, 3 และ 7 และในกลุ่มควบคุมมีความหนาของชั้น dermis เพิ่มขึ้นด้วย ในสัปดาห์สุดท้ายของการศึกษากลุ่มทดลองทั้งสองกลุ่มมีความหนาของชั้น dermis มากกว่ากลุ่มควบคุมแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

การศึกษาของ Sevinc Inan และคณะ[71] ศึกษาการทากรด glycolic acid บนหนังของหนู พบว่าเมื่อทากรด glycolic acid ที่ความเข้มข้นสูงมีผลต่อการกระตุ้นการแบ่งตัวของเซล fibroblast และกระตุ้นการสร้าง collagen เพิ่มขึ้น และการศึกษาของ Hussein MRA และคณะ[72] พบว่าการทาด้วย Jessner's solution นอกจากมีผลทำให้เพิ่มความหนาของชั้น epidermis แล้วยังพบว่ามีการเพิ่มปริมาณของ fibroblast, collagen fiber และหลอดเลือดภายในผิวหนังชั้น dermis มากกว่าการทำ microdermabrasion

การศึกษานี้ได้แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างความหนาของชั้นผิวหนัง dermis ที่เพิ่มตามน้ำหนัก ตัวที่เพิ่มขึ้นทั้งในกลุ่มทดลองทั้งสองกลุ่มและกลุ่มควบคุม (รูปที่ 19) ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าความหนาของชั้น dermis ในกลุ่มทดลองทั้งสองกลุ่มที่เพิ่มขึ้นนั้นไม่สามารถอธิบายจากผลของการทาด้วยสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* และน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แต่น่าจะเป็นผลจากการที่หนูมีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นตามอายุที่มากขึ้น

การตกค้างของสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* บนชั้นผิวหนัง

ผลการทดลอง

จากการศึกษาลักษณะทางกายภาพโดยการตรวจทางกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนชนิดส่องกราดแสดงให้เห็นลักษณะของสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* เป็นลักษณะแท่งยาวปลายแหลมสองข้างและลักษณะการวางตัวเมื่ออยู่บนพื้นผิวหนังเช่นการปักลงบนพื้นผิวหนังความลึกประมาณ 50 ถึง 70 ไมโครเมตร ลักษณะการวางบนพื้นผิวหนัง และการแทรกตัวระหว่างกลุ่มของเส้นขน

การนับจำนวนการตกค้างของสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* เมื่อติดตามจำนวนสปิคูลฟองน้ำใน 3 วันแรก พบว่าในกลุ่มทดลองที่ 1 มีจำนวนสปิคูลตกค้างบนชั้นผิวหนังลดลงมากกว่ากลุ่มทดลองที่ 2 และเมื่อติดตามไปจนสิ้นสุดวันที่ 3 พบว่าไม่สามารถตรวจพบสปิคูลฟองน้ำในกลุ่มทดลอง ที่ 1 แต่ยังตรวจพบสปิคูลฟองน้ำในกลุ่มทดลองที่ 2

การติดตามนับจำนวนสปิคูลฟองน้ำในสัปดาห์ที่ 1, 2 และ 3 เป็นการนับจำนวสปิคูลหลังจากทาด้วยผงสกัดฟองน้ำแล้ว ไม่พบความแตกต่างระหว่างจำนวนสปิคูลทั้งสองกลุ่มทดลองไม่มีการสะสมเพิ่มขึ้นในแต่ละสัปดาห์ และหลังจากทาผงสกัดฟองน้ำครั้งสุดท้ายในสัปดาห์ที่ 3 ได้ติดตามนับจำนวนสปิคูลฟองน้ำในอีก 2 และ 4 สัปดาห์คือสัปดาห์ที่ 5 และ 7 ไม่สามารถตรวจพบการตกค้างของสปิคูลฟองน้ำ

หากพิจารณาทางด้านการหลุดลอกของเซลชั้น epidermis ในสภาวะปกติผิวหนังคนเราจะมีการสร้างเซลจากชั้นผิวหนัง stratum basalis จนถึงชั้น stratum corneum ใช้เวลาประมาณสองสัปดาห์ และจากนั้นจะเกิดการหลุดลอกของชั้น stratum corneum ซึ่งใช้เวลาอีกประมาณสองสัปดาห์ ส่วนในหนูนั้นใช้เวลาน้อยกว่านั้น[69] ซึ่งในการศึกษานี้เราไม่สามารถตรวจพบการตกค้างของสปิคูลฟองน้ำ ภายในสองสัปดาห์หลังการทาด้วยผงสกัดจากฟองน้ำอาจเป็นผลมาจากการที่ผิวหนังหนูมีการหลุด ลอกของผิวหนังชั้น stratum corneum ได้เร็วจึงทำให้สปิคูลฟองน้ำหลุดลอกออกไปได้ง่ายขึ้นด้วย หากนำมาอธิบายในการใช้ในคน ผู้วิจัยสันนิษฐานว่าสปิคูลฟองน้ำนี้อาจมีการตกค้างอยู่ที่ชั้น epidermis ได้นานกว่าในการศึกษานี้ก็เป็นได้

การตกค้างของสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ภายในผิวหนังชั้น epidermis และ dermis

ผลการทดลอง

การตรวจการตกค้างของสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* จากการใช้วิธีการย้อมชิ้นเนื้อด้วยสี hematoxillin และ eosin (H&E) และนำมาส่องดูด้วยกล้อง polarized light microscope โดยอาศัยหลักการกรองแสงผ่าน polarizer ให้ได้แสงออกมาในแนวระนาบเดียวและนำแสงนั้นมาส่องดูผ่านวัตถุ ซึ่งในที่นี้คือสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* พบว่าเมื่อหมุน polarizer ในทิศทวนเข็มนาฬิกา 90 องศาจะทำให้พบสปิคูลฟองน้ำมีสีเหลืองอมฟ้า จึงนำมาใช้ในการตรวจสอบว่ามีสปิคูลฟองน้ำตกค้างอยู่ภายในชั้น epidermis และ dermis หรือไม่ จากการตรวจสอบชิ้นเนื้อทุกสัปดาห์ของการทดลอง ผู้วิจัยสามารถตรวจพบชิ้นส่วนของสปิคูลฟองน้ำปักอยู่ภายในนผิวหนังชั้น epidermis โดยมีส่วนลึกที่สุดที่ชั้น stratum basalis และไม่สามารถตรวจพบไม่พบสปิคูลฟองน้ำ ภายในชั้นผิวหนัง dermis ตั้งแต่สัปดาห์แรกของการทดลองจนจบการทดลอง แต่อย่างไรก็ตามด้วยข้อจำกัดของการศึกษาในครั้งนี้การตัดชิ้นเนื้อเป็นการสุ่มชิ้นเนื้อที่ตัดมาศึกษา มิได้ศึกษาชิ้นเนื้อทั้งชิ้นที่ตัดมาจากสัตว์ทดลอง ดังนั้นผู้วิจัยไม่สามารถสรุปได้ชัดเจนว่าไม่มีชิ้นส่วนของสปิคูลฟองน้ำภายในชั้นผิวหนัง dermis เลย และจากการพบส่วนปลายของสปิคูลฟองน้ำที่ทิ่มลงถึงชั้น stratum basalis นั้นทำให้ผู้วิจัยสันนิษฐานว่ามีความเป็นไปได้มากที่อาจจะมีชิ้นส่วนของสปิคูลฟองน้ำทิ่มลงลึกไปถึงชั้น dermis ได้โดยมีปัจจัยจากการถูหรือกดน้ำหนักการทาที่มากขึ้น อาจมีผลทำให้สปิคูลฟองน้ำฝังลงไปได้ลึกขึ้น

เมื่อพิจารณาความหนาของชั้นผิวหนัง epidermis ในมนุษย์ พบว่าผิวหนังบริเวณหน้ามีความหนาประมาณ 0.4 ถึง 1.5 มิลลิเมตร (หรือ 400-1,500 ไมโครเมตร)[68] เปรียบเทียบกับการศึกษานี้ผิวหนัง epidermis ของหนูขาวนี้มีความหนาเฉลี่ยเพียง 26 ไมโครเมตรเท่านั้น อาจอธิบายได้ว่าหากนำสปิคูลฟองน้ำนี้นำมาประยุกต์ใช้กับผิวหน้าของคน น่าจะมีโอกาสน้อยที่สปิคูลฟองน้ำจะทิ่มลงลึกสู่ผิวหนังชั้น dermis แต่ทั้งนี้ทั้งนั้นยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นเช่น การออกแรงของผู้ให้การรักษาโดยการถูหรือการทาที่หน้าของผู้ป่วย และรูปร่างของสปิคูลฟองน้ำที่มีลักษณะเป็นแท่งปลายแหลมทั้งสองข้างน่าจะมีโอกาสทำให้เกิดการฝังตัวได้ลึกขึ้นและจะทำให้เกิดปฏิกิริยาต่อผิวหนังในมนุษย์ต่อไปในอนาคต

ปฏิกิริยาตอบสนองของผิวหนังต่อสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* และน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ผลการทดลอง

ไม่พบภาวะแทรกซ้อนต่อผิวหนังในระหว่างและหลังการทาด้วยผงสกัดจากสปิคูลฟอง *Spongilla lacustris* และในระหว่างการติดตามการศึกษาเช่นอาการแดงบวมการเกิดการอักเสบติดเชื้อและจากการตรวจชิ้นเนื้อไม่พบปฏิกิริยาการอักเสบของผิวหนัง (inflammatory response) เช่น allergic dermatitis, spongiotic dermatitis หรือการเกิด granulomatous rection ภายในผิวหนังชั้น dermis

ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าการทาด้วยผงสกัดฟองน้ำ *Spongilla lacustris* และน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไม่มีผลทำให้เกิดปฏิกิริยาใดๆต่อผิวหนังในระหว่างการศึกษา ในรายงานของ Kenmochi A. และคณะ[70] พบว่ามีการเกิด granulomatous reaction จาก silica ที่เป็นส่วนประกอบในปลอกเข็มพลาสติกหลังจากถอนเข็มสายให้ยาทางสายน้ำเกลือไปแล้ว 3 วัน มีรายงานการเกิด granulomatous reaction หลังจากถูกเศษกระจกรถหรือเศษแก้วบาดและฝังอยู่ในชั้นผิวหนังไปแล้ว 10 ปี[60] ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาถึงผลของสปิคูลฟองน้ำต่อผิวหนังในระยะยาวต่อไป

สรุป

สิวเป็นโรคผิวหนังที่พบบ่อยในทางเวชปฏิบัติ มีผลกระทบต่อจิตใจของผู้ป่วยอย่างประเมินค่ามิได้ และอาจส่งผลกระทบต่อพฤติกรรม อาชีพ และการทำงาน การให้ความรู้ความเข้าใจแก่ผู้ป่วยเป็นสิ่งสำคัญต่อการเข้าใจและยอมรับกระบวนการรักษาที่อาจต้องใช้เวลาจึงจะเห็นผล การป้องกันการเห่อของสิว และการป้องกันภาวะแทรกซ้อนจากการเป็นสิว การรักษาในปัจจุบันเป็นการรักษาโดยมีพื้นฐานจากความเข้าใจด้านพยาธิกำเนิดของสิว การเลือกใช้ยาให้เหมาะสมกับสภาวะความรุนแรงของผู้ป่วยซึ่งมีหลากหลายวิธีอาทิ การทายา การรับประทาน การฉีดสิวด้วยยาเสตียรอยด์ การใช้เลเซอร์ และแสงสีฟ้า (Blue light) เป็นต้น ซึ่งวิธีการเหล่านี้ได้ถูกทดสอบและการทำวิจัยถึงด้านความปลอดภัยและประสิทธิภาพมามากแล้ว จึงถูกนำมาใช้ในการรักษากับผู้ป่วยจริง แต่การนำผงสกัดฟองน้ำ *Spongilla lacustris* และน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มาใช้ ในการรักษาสิวนี้ยังไม่พบว่ามีงานวิจัยชิ้นใดที่แสดงถึงผลและความปลอดภัยของสารเหล่านี้ที่จะกระทำต่อผิวหนัง การนำมาใช้อย่างไม่มีข้อมูลทางด้านการวิจัยมาก่อนถือว่าเป็นสิ่งที่ขัดต่อจริยธรรมทางการแพทย์และอาจเป็นอันตรายต่อผู้ป่วย

การศึกษานี้พบว่าสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* อาจมีผลต่อผิวหนังชั้น stratum corneum โดยทำให้เกิดการขัดเซลผิว (microdermabrasion) มีผลทำให้เซลชั้น stratum corneum หลุดลอกออกไปได้แต่ไม่สามารถสรุปได้ว่าน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีผลต่อชั้นผิวหนัง epidermis หรือไม่ โดยต้องมีการทดสอบคุณสมบัติความเป็นกรดหลังจากผสมผงสกัดฟองน้ำกับน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และต้องทำการศึกษาในกลุ่มที่มีการทาผิวหนังด้วยน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพียงอย่างเดียวด้วย ส่วนผลการศึกษาทางด้านความปลอดภัยนั้นผู้วิจัยสามารถสรุปได้ว่าสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* มีความปลอดภัยต่อผิวหนังในหนูทดลองที่มีการศึกษาในระยะสั้นเท่านั้น ไม่สามารถสรุปได้ว่ามีความปลอดภัยเพียงพอต่อการนำมาประยุกต์ใช้กับผิวหนังในมนุษย์

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษานี้มีจำนวนชิ้นเนื้อน้อยเกินไป การศึกษาควรเพิ่มจำนวนชิ้นเนื้อหรือจำนวนหนูทดลองให้มากขึ้นทั้งในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมเพื่อที่จะสามารถนำมาคำนวนและเปรียบเทียบค่าทางสถิติให้ชัดเจนขึ้น

2. ด้วยข้อจำกัดของการศึกษาทางด้าน histology ในการศึกษานี้เป็นการสุ่มตัวอย่างแผ่นชิ้นเนื้อนำมาศึกษาอาจทำให้ตรวจไม่พบสิปคูลฟองน้ำในบริเวณอื่นได้ไม่ครบถ้วน การศึกษาในครั้งต่อไปจึงควรจะต้องศึกษาชิ้นเนื้อทั้งชิ้นที่ตัดมาได้

3. การศึกษาในครั้งต่อไปจำเป็นต้องเพิ่มกลุ่มควบคุมที่มีการตัดชิ้นเนื้อเพื่อเปรียเทียบน้ำหนักความหนาของผิวหนังชั้น epidermis และ dermis ในทุกสัปดาห์

4. ควรมีการทดสอบคุณสมบัติความเป็นกรดของการผสมผงสกัดฟองน้ำ *Spongilla lacustris* และน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

5. การศึกษาต่อไปควรจะมีการศึกษาชิ้นเนื้อโดยการตรวจวัดปริมาณเซล fibroblast โดยการย้อมสี Masson's trichrome และการตรวจวัดปริมาณเส้นใย collagen โดยใช้ anti-collagen type-I โดยใช้วิธี Indirect immunoperoxidase เช่นเดียวกับการศึกษาของ Sevinc Inan และคณะ[71]

6. การศึกษาต่อไปควรมีการวัดระดับ transcription factors AP-1 และ NF-κB ซึ่งมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเกิดการอักเสบและการสมานแผล การเพิ่มขึ้นของระดับ cytokines เช่น IL-1β และการแสดงออกของ TNF-α gene และการเพิ่มขึ้นของระดับ matrix metalloproteinases (MMP 1, 3 และ 9) ทำให้เกิดการสลายตัวและสร้างใหม่ของเส้นใยคอลลเจน ในชั้นหนังแท้ (dermis) ดังในการศึกษาของ Karimipour D.J. และคณะ[67]

7. การศึกษาไม่ได้ศึกษาส่วนประกอบทั้งหมดของผลิตภัณฑ์ที่บรรจุสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ซึ่งอาจมีสารหรือโปรตีนอื่นๆปนมาด้วย

8. การศึกษานี้ไม่ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพการรักษาสิวในมนุษย์ซึ่งหากจะมีการนำไปใช้จริงควรจะได้ศึกษาในขั้นตอนต่อไปคือการศึกษาใน Clinical trial phase 0 เป็นการศึกษาว่าสปิคูลฟองน้ำชนิดนี้ และน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีผลต่อผิวหนังปกติในมนุษย์อย่างไรในปริมาณที่ใช้น้อยกว่าปกติที่ใช้จริง หากได้ผลอย่างไรจึงนำมาศึกษากับผิวหนังปกติในมนุษย์ในขนาดยาปกติเรียกว่า Clinical trial phase I เพื่อศึกษาความปลอดภัย (safety) ความทนต่อยา (tolerability) และทางด้านเภสัชจลศาสตร์ (pharmacokinetics and pharmacodynamics) ต่อไป

9. การศึกษาต่อไปอาจต้องมีการให้เกิดการฝังของสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ลงไป

ในผิวหนังชั้น dermis และเฝ้าติดตามการเกิดปฏิกิริยาต่อผิวหนังเป็นระยะโดยมีระยะเวลาขึ้นกับวงจรชีวิตของหนู เนื่องจากรายงานการเกิดปฏิกิริยาแกรนูโลมาในคนได้ตั้งแต่เกิดการฝังตัวของผลึกซิลิกาภายในชั้น dermis ตั้งแต่ 3 วันแรกจนถึง 10 ปี[60, 70]

10. ทดสอบค่าความเป็นกรด (pH) ของน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทั้งก่อนและหลังจากผสมด้วยผงสกัดจากสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris*

11. การศึกษาในเรื่องประสิทธิภาพการรักษาสิว อาจจะต้องจำลองรูปแบบการเกิดสิวในสัตว์ทดลอง และทำการทดลองโดยการทาสปิคูลฟองน้ำ *Spongilla lacustris* ร่วมกับน้ำยาไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่อไป

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

1. Haider A, Mamdani M, Shaw JC, Alter D, Shear N. Socioeconomic status influences care of patients with acne in Ontario, Canada. The American Academy of Dermatology. 2006;54:331-5.
2. James WD. Clinical practice. Acne. The New England journal of medicine. 2005 Apr 7;352(14):1463-72.
3. Leyden JJ. A review of the use of combination therapies for the treatment of acne vulgaris. Journal of the American Academy of Dermatology. 2003 Sep;49(3 Suppl):S200-10.
4. Harper JC. An update on the pathogenesis and management of acne vulgaris. Journal of the American Academy of Dermatology. 2004 Jul;51(1 Suppl):S36-8.
5. Brown SK, Shalita AR. Acne vulgaris. Lancet. 1998 Jun 20;351(9119):1871-6.
6. Bowe WP, Leyden JJ, Crerand CE, Sarwer DB, Margolis DJ. Body dysmorphic disorder symptoms among patients with acne vulgaris. Journal of the American Academy of Dermatology. 2007 Aug;57(2):222-30.
7. Koo J. The psychosocial impact of acne: patients' perceptions. Journal of the American Academy of Dermatology. 1995 May;32(5 Pt 3):S26-30.
8. Cunliffe WJ, Meynadier J, Alirezai M, George SA, Coutts I, Roseeuw DI, et al. Is combined oral and topical therapy better than oral therapy alone in patients with moderate to moderately severe acne vulgaris? A comparison of the efficacy and safety of lymecycline plus adapalene gel 0.1%, versus lymecycline plus gel vehicle. Journal of the American Academy of Dermatology. 2003 Sep;49(3 Suppl):S218-26.
9. Olutunmbi Y, Paley K, English JC, 3rd. Adolescent female acne: etiology and management. Journal of pediatric and adolescent gynecology. 2008 Aug;21(4):171-6.
10. Toyoda M, Morohashi M. An overview of topical antibiotics for acne treatment. Dermatology (Basel, Switzerland). 1998;196(1):130-4.
11. Krauthem A, Gollnick HPM. Acne: Topical treatment. Clinics in Dermatology. 2004;22:398-407.

12. Ross JI, Snelling AM, Carnegie E, Coates P, Cunliffe WJ, Bettoli V, et al. Antibiotic-resistant acne: lessons from Europe. The British journal of dermatology. 2003 Mar;148(3):467-78.
13. Eady EA. Bacterial resistance in acne. Dermatology (Basel, Switzerland). 1998;196(1):59-66.
14. Eady AE, Cove JH, Layton AM. Is antibiotic resistance in cutaneous propionibacteria clinically relevant? : implications of resistance for acne patients and prescribers. American journal of clinical dermatology. 2003;4(12):813-31.
15. Hurwitz S. The combined effect of vitamin A and benzoyl peroxide in the treatment of acne. Cutis; cutaneous medicine for the practitioner. 1976;17:585-90.
16. Graupe K, Cunliffe WJ, Gollnick HP, Zaumseil RP. Efficacy and safety of topical azelaic acid (20 percent cream): an overview of results from European clinical trials and experimental reports. Cutis; cutaneous medicine for the practitioner. 1996 Jan;57(1 Suppl):20-35.
17. Cavicchini S, Caputo R. Long-term treatment of acne with 20% azelaic acid cream. Acta dermato-venereologica. 1989;143:40-4.
18. Gollnick H, Schramm M. Topical drug treatment in acne. Dermatology (Basel, Switzerland). 1998;196(1):119-25.
19. Lookingbill DP, Abrams BB, Ellis CN, Jegasothy BV, Lucky AW, Ortiz-Ferrer LC, et al. Inocoterone and acne. The effect of a topical antiandrogen: results of a multicenter clinical trial. Archives of dermatology. 1992 Sep;128(9):1197-200.
20. Katsambas A, Papakonstantinou A. Acne: systemic treatment. Clinics in Dermatology. 2004 Sep-Oct;22(5):412-8.
21. Esterly NB, Koransky JS, Furey NL, Trevisan M. Neutrophil chemotaxis in patients with acne receiving oral tetracycline therapy. Archives of dermatology. 1984 Oct;120(10):1308-13.
22. Jeremy AH, Holland DB, Roberts SG, Thomson KF, Cunliffe WJ. Inflammatory events are involved in acne lesion initiation. The Journal of investigative dermatology. 2003 Jul;121(1):20-7.

23. Kawada A, Aragane Y, Tezuka T. Levofloxacin is effective for inflammatory acne and achieves high levels in the lesions: an open study. Dermatology (Basel, Switzerland). 2002;204(4):301-2.
24. King K, Jones DH, Daltrey DC, Cunliffe WJ. A double-blind study of the effects of 13-cis-retinoic acid on acne, sebum excretion rate and microbial population. The British journal of dermatology. 1982 Nov;107(5):583-90.
25. Dalziel K, Barton S, Marks R. The effects of isotretinoin on follicular and sebaceous gland differentiation. The British journal of dermatology. 1987 Sep;117(3):317-23.
26. Leyden JJ, McGinley KJ. Effect of 13-cis-retinoic acid on sebum production and Propionibacterium acnes in severe nodulocystic acne. Archives of dermatological research. 1982;272(3-4):331-7.
27. Falcon RH, Lee WL, Shalita AR, Suntharalingam K, Fikrig SM. In vitro effect of isotretinoin on monocyte chemotaxis. The Journal of investigative dermatology. 1986 May;86(5):550-2.
28. Cunliffe WJ, van de Kerkhof PC, Caputo R, Cavicchini S, Cooper A, Fyrand OL, et al. Roaccutane treatment guidelines: results of an international survey. Dermatology (Basel, Switzerland). 1997;194(4):351-7.
29. Layton AM, Knaggs H, Taylor J, Cunliffe WJ. Isotretinoin for acne vulgaris--10 years later: a safe and successful treatment. The British journal of dermatology. 1993 Sep;129(3):292-6.
30. Wessels F, Anderson AN, Kropman K. The cost-effectiveness of isotretinoin in the treatment of acne. Part 1. A meta-analysis of effectiveness literature. South African medical journal = Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde. 1999 Jul;89(7 Pt 2):780-4.
31. Shalita A. The integral role of topical and oral retinoids in the early treatment of acne. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2001;15 Suppl 3:43-9.
32. Harms M, Masouye I, Radeff B. The relapses of cystic acne after isotretinoin treatment are age-related: a long-term follow-up study. Dermatologica. 1986;172(3):148-53.
33. White GM, Chen W, Yao J, Wolde-Tsadik G. Recurrence rates after the first course of isotretinoin. Archives of dermatology. 1998 Mar;134(3):376-8.

34. Ellis CN, Krach KJ. Uses and complications of isotretinoin therapy. Journal of the American Academy of Dermatology. 2001 Nov;45(5):S150-7.
35. Gerber LH, Helfgott RK, Gross EG, Hicks JE, Ellenberg SS, Peck GL. Vertebral abnormalities associated with synthetic retinoid use. Journal of the American Academy of Dermatology. 1984 May;10(5 Pt 1):817-23.
36. Kilcoyne RF, Cope R, Cunningham W, Nardella FA, Denman S, Franz TJ, et al. Minimal spinal hyperostosis with low-dose isotretinoin therapy. Investigative radiology. 1986 Jan;21(1):41-4.
37. Mitchell AA, Van Bennekom CM, Louik C. A pregnancy-prevention program in women of childbearing age receiving isotretinoin. The New England journal of medicine. 1995 Jul 13;333(2):101-6.
38. Dai WS, Hsu MA, Itri LM. Safety of pregnancy after discontinuation of isotretinoin. Archives of dermatology. 1989 Mar;125(3):362-5.
39. Jick SS, Kremers HM, Vasilakis-Scaramozza C. Isotretinoin use and risk of depression, psychotic symptoms, suicide, and attempted suicide. Archives of dermatology. 2000 Oct;136(10):1231-6.
40. Rubinow DR, Peck GL, Squillace KM, Gantt GG. Reduced anxiety and depression in cystic acne patients after successful treatment with oral isotretinoin. Journal of the American Academy of Dermatology. 1987 Jul;17(1):25-32.
41. Altman RS, Altman LJ, Altman JS. A proposed set of new guidelines for routine blood tests during isotretinoin therapy for acne vulgaris. Dermatology (Basel, Switzerland). 2002;204(3):232-5.
42. Barth JH, Macdonald-Hull SP, Mark J, Jones RG, Cunliffe WJ. Isotretinoin therapy for acne vulgaris: a re-evaluation of the need for measurements of plasma lipids and liver function tests. The British journal of dermatology. 1993 Dec;129(6):704-7.
43. Goulden V, Clark SM, Cunliffe WJ. Post-adolescent acne: a review of clinical features. The British journal of dermatology. 1997 Jan;136(1):66-70.
44. Thiboutot DM. Endocrinological evaluation and hormonal therapy for women with difficult acne. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2001;15 Suppl 3:57-61.

45. Redmond GP, Olson WH, Lippman JS, Kafrissen ME, Jones TM, Jorizzo JL. Norgestimate and ethinyl estradiol in the treatment of acne vulgaris: a randomized, placebo-controlled trial. Obstetrics and gynecology. 1997 Apr;89(4):615-22.
46. Goodfellow A, Alaghband-Zadeh J, Carter G, Cream JJ, Holland S, Scully J, et al. Oral spironolactone improves acne vulgaris and reduces sebum excretion. The British journal of dermatology. 1984 Aug;111(2):209-14.
47. Muhlemann MF, Carter GD, Cream JJ, Wise P. Oral spironolactone: an effective treatment for acne vulgaris in women. The British journal of dermatology. 1986 Aug;115(2):227-32.
48. Carmina E, Lobo RA. A comparison of the relative efficacy of antiandrogens for the treatment of acne in hyperandrogenic women. Clinical endocrinology. 2002 Aug;57(2):231-4.
49. Strauss JS, Krowchuk DP, Leyden JJ, Lucky AW, Shalita AR, Siegfried EC, et al. Guidelines of care for acne vulgaris management. Journal of the American Academy of Dermatology. 2007 Apr;56(4):651-63.
50. Redmond GP, Olson WH, Lippman JS, Kafrissen ME, Jones TM, Jorizzo JL. Norgestimate and ethinyl estradiol in the treatment of acne vulgaris: a randomized, placebo-controlled trial. Obstetrics and gynecology. 1997 Apr;89(4):615-22.
51. Lucky AW, Henderson TA, Olson WH, Robisch DM, Lebwohl M, Swinyer LJ. Effectiveness of norgestimate and ethinyl estradiol in treating moderate acne vulgaris. Journal of the American Academy of Dermatology. 1997 Nov;37(5 Pt 1):746-54.
52. Huber J, Walch K. Treating acne with oral contraceptives: use of lower doses. Contraception. 2006 Jan;73(1):23-9.
53. Sherif K. Benefits and risks of oral contraceptives. American journal of obstetrics and gynecology. 1999 Jun;180(6 Pt 2):S343-8.
54. Nouri K, Ballard CJ. Laser therapy for acne. Clin Dermatol. 2006 Jan-Feb;24(1):26-32.
55. Calzavara-Pinton PG, Venturini M, Capezzera R, Sala R, Zane C. Photodynamic therapy of interdigital mycoses of the feet with topical application of 5-aminolevulinic acid. Photodermatology, photoimmunology & photomedicine. 2004 Jun;20(3):144-7.

56. Williamson CE, Williamson GL. Life-cycles of lotic populations of *Spongilla lacustris* and *Eunapius fragilis* (Porifera: Spongillidae). Freshwater Biology. 2006;9(9):543-53.
57. หงภัทรคีรี ค, สีหบุตร ว, ปุจฉาการ ส, ธรรมกีรติวงศ์ พ. การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับควาหลากหลายทางชนิดของฟองน้ำในแนวปะการังบริเวณเกาะกา จังหวัดชุมพร. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46 เล่ม 3 สาขาประมง; 2551; มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2551. p284-95.
58. Saller U. Microscopical aspects on symbiosis of *Spongilla lacustris* (Porifera, Spongillidae) and green algae. Zoomorphology. 1989;108:291-6.
59. Gernert C, Glockner F, Krohne G, Hentschel U. Microbial diversity of the freshwater sponge *Spongilla lacustris*. Microbial ecology. 2005;50(2):206-12.
60. Hannon SM, Pickett AB, Frost JM. Foreign-body (silica) granuloma of the lip. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. 1983;41(7):470-2.
61. Levinson W. Sterilization & Disinfection. Review of Medical Microbiology and Immunology, 10th Edition. 2008.
62. Milani M, Bigardi A. Efficacy and safety of hydrogen peroxide cream alone or in combination with salicylic foam in the treatment of mild-moderate acne. Journal of the American Academy of Dermatology. 2004:P16.
63. Capizzi R, Milani M. Efficacy and safety of combination therapy of hydrogen peroxide cream and adapalene gel in comparison with benzoyl peroxide cream and adapalene in common acne. Journal of the American Academy of Dermatology. 2004:P18.
64. Meduri N. Facial resurfacing: An overview. Operative techniques in Otolaryngology 2007;18:172-80.
65. Landau M. Chemical peels. Clinics in dermatology. 2008 Mar-Apr;26(2):200-8.
66. Kempiak SJ, Uebelhoer N. Superficial chemical peels and microdermabrasion for acne vulgaris. Semin Cutan Med Surg. 2008 Sep;27(3):212-20.
67. Karimipour DJ, Kang S, Johnson TM, Orringer JS, Hamilton T, Hammerberg C, et al. Microdermabrasion: a molecular analysis following a single treatment. Journal of the American Academy of Dermatology. 2005 Feb;52(2):215-23.
68. H Chu D. Development and Structure of Skin. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. 7 ed 2008:57.

69. Furukawa F, Kanehara S, Harano F, Shinohara S, Kamimura J, Kawabata S, et al. Effect of adenosine 5'-monophosphate on epidermal turnover. Arch Dermatol Res. 2008;300:485-93.
70. Kenmochi A, Satoh T, Igawa K, Yokozeki H. Silica granuloma induced by indwelling catheter. Journal of the American Academy of Dermatology. 2007;57(2):S54-S5.
71. Inan S, Oztukcan S, Vatansever S, TurelErmertcan A, Zeybek D, Oksal A, et al. Histological and ultrastructural effects of glycolic acid on rat skin. Acta histochemica. 2006;108:37-47.
72. Hussein MRA. Chemical peeling and microdermabrasion of the skin: Comparative immunohistological and ultrastrucral studies. Journal of Dermatological Science. 2008;52:205-22.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อตรวจโดยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

1. ตัดชิ้นเนื้อที่ต้องการศึกษาขนาดหนึ่งตารางเซนติเมตร
2. แช่น้ำยา glutaraldehyde ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์เพื่อป้องกันการเสื่อมสลายของเนื้อเยื่อเป็นเวลา 4 ชั่วโมง
3. นำเนื้อเยื่อมาทำการไล่น้ำออกจากเซลโดยการแช่ในน้ำยา ethyl alcohol ความเข้มข้น 70, 90, 95 และ 100 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ
4. แช่ในน้ำยา osmium
5. นำชิ้นเนื้อที่ได้มาทำให้แห้งโดยการนำเข้าเครื่อง critical point drier
6. นำชิ้นเนื้อที่แห้งแล้วมาวางบนแท่นทองเหลือง (mounting)
7. จากนั้นจึงนำไปเคลือบด้วยทอง (coating)
8. นำชิ้นเนื้อที่ได้ไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนต่อไป

ภาคผนวก ข

การเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อย้อมสี hematoxylin และ eosin

1. ตัดเนื้อเยื่อที่ต้องการศึกษา
2. แช่ลงในน้ำยา Formalin ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์เพื่อรักษาชิ้นเนื้อไม่ให้เกิดการสลายตัวของเนื้อเยื่อนาน 24 ชั่วโมง
3. ขั้นตอนการทำ paraffin embedding โดยต้องทำให้น้ำออกจากเซลก่อนโดย
   3.1 แช่ชิ้นเนื้อลงในสารละลายแอลกอร์ฮอลความเข้มข้น 70, 90 และ 100 เปอร์เซ็นต์นาน ครั้งละ 2 ชั่วโมง ตามลำดับ
   3.2 นำชิ้นเนื้อแช่ลงในน้ำยา xylene ทิ้งไว้นาน 24 ชั่วโมง
   3.3 นำชิ้นเนื้อแช่ใน paraffin และรอให้แห้ง
4. นำชิ้นเนื้อที่ฝังใน paraffin แล้วมาตัดโดยเครื่องตัด (microtome) หนา 5 มิลลิเมตร
5. นำชิ้นเนื้อที่ตัดแล้วมาย้อมสี hematoxylin และ eosin ต่อไป

ภาคผนวก ค

แบบบันทึกปฏิกิริยาต่อผิวหนัง

		สัปดาห์ที่ 0 วันที่ 1		สัปดาห์ที่ 0 วันที่ 2		สัปดาห์ที่ 0 วันที่ 3		สัปดาห์ที่ 0 วันที่ 4	
กลุ่มทดลองที่		**1**	**2**	**1**	**2**	**1**	**2**	**1**	**2**
แดง	ตัวที่ 1								
	ตัวที่ 2			-	-	-	-	-	-
บวม	ตัวที่ 1								
	ตัวที่ 2			-	-	-	-	-	-
ตุ่มน้ำ	ตัวที่ 1								
	ตัวที่ 2			-	-	-	-	-	-
ลอกเป็นขุย	ตัวที่ 1								
	ตัวที่ 2			-	-	-	-	-	-
ภาวะติดเชื้อ	ตัวที่ 1								
	ตัวที่ 2			-	-	-	-	-	-

แบบบันทึกปฏิกิริยาต่อผิวหนัง (ต่อ)

		สัปดาห์ที่ 1		สัปดาห์ที่ 2		สัปดาห์ที่ 3		สัปดาห์ที่ 5		สัปดาห์ที่ 7	
กลุ่มทดลองที่		**1**	**2**	**1**	**2**	**1**	**2**	**1**	**2**	**1**	**2**
แดง	ตัวที่ 1										
	ตัวที่ 2										
	ตัวที่ 3										
บวม	ตัวที่ 1										
	ตัวที่ 2										
	ตัวที่ 3										
ตุ่มน้ำ	ตัวที่ 1										
	ตัวที่ 2										
	ตัวที่ 3										
ลอกเป็นขุย	ตัวที่ 1										
	ตัวที่ 2										
	ตัวที่ 3										
ภาวะติดเชื้อ	ตัวที่ 1										
	ตัวที่ 2										
	ตัวที่ 3										

ประวัติย่อผู้วิจัย

ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ ชื่อสกุล	นายแพทย์ มนตรี วงศ์นิราศภัย
วันเดือนปีเกิด	16 พฤษภาคม พ.ศ. 2518
สถานที่เกิด	จังหวัดกรุงเทพมหานคร
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	26/240 หมู่ที่ 6 หมู่บ้านธนากร ถนนเทอดพระเกียรติ ตำบลวัดชลอ อำเภอบางกรวย จังหวัดนนทบุรี 11130
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	ศูนย์ผิวหนัง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2532-2536	มัธยมศึกษา จากโรงเรียนสุรศักดิ์มนตรี
พ.ศ. 2536-2542	แพทยศาสตร์บัณฑิต จากคณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2545-2548	อายุรศาสตร์ จากคณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2550-ปัจจุบัน	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาตจวิทยา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ