

การศึกษาปฏิกิริยาเฉพาะที่หลังการฝัง Pore Skin® ในกล้ามเนื้อของสัตว์ทดลองตามมาตรฐาน  
ISO 10993-6 และ การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพ  
ตามมาตรฐาน ASTM:F 1906-98



นางสาววิกานดา ตันติรักษ์

ศูนย์วิทยพัชร์พยากร  
วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิศวกรรมชีวเวช (สหสาขาวิชา)  
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2551  
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

THE STUDY OF LOCAL EFFECT OF PORE SKIN® IN ANIMAL MUSCLE IMPLANT  
MODEL ACCORDING TO ISO 10993-6 AND IMMUNE RESPONSES IN  
BIOCOMPATIBILITY TESTING ACCORDING TO ASTM: F 1906-98



Miss Wikanda Tunterak

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science in Biomedical Engineering  
(Interdisciplinary Program)

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 2008

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การศึกษาปฏิบัติการเฉพาะที่หลังการฝัง Pore Skin® ใน  
กล้ามเนื้อของสัตว์ทดลองตามมาตรฐาน ISO 10993-6 และ  
การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในการทดสอบความเข้า  
กันได้ทางชีวภาพตามมาตรฐาน ASTM:F 1906-98

โดย

นางสาววิกานดา ตันติรักษ์

สาขาวิชา

วิศวกรรมชีวเวช

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ผู้ช่วยศาสตราจารย์.นพ.ถนอม บรรณประเสริฐ

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

ผู้ช่วยศาสตราจารย์.ดร. ไชรดา กนกพานนท์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คนบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.พรพจน์ เปี่ยมสมบูรณ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. สุทธิลักษณ์ ปทุมราช)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นพ. ถนอม บรรณประเสริฐ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ไชรดา กนกพานนท์)

..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร. ศิริพร ดำรงค์ศักดิ์กุล)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(อาจารย์ ดร. ขวัญชนก พสุวัต)

วิกานดา ตันติรักษ์ : การศึกษาปฏิกิริยาเฉพาะที่หลังการฝัง Pore Skin® ในกล้ามเนื้อของสัตว์ทดลองตามมาตรฐาน ISO 10993-6 และ การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพตามมาตรฐาน ASTM:F 1906-98. (The study of local effect of Pore Skin® in animal muscle implant model according to ISO 10993-6 AND Immune response in biocompatibility testing according to ASTM:F 1906-98) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ผศ.นพ.ถนอม บรรณประเสริฐ, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ผศ.ดร.ไศรดา กนกพานนท์, 172 หน้า.

เป้าหมายของการศึกษาค้างนี้ คือ ประเมินความเข้ากันได้ทางชีวภาพของ Pore Skin® ซึ่งเป็นผิวหนังสังเคราะห์ที่ผลิตจากชั้นหนังแท้ของมนุษย์ โดยการฝังในกล้ามเนื้อหนูวิสตาตามมาตรฐาน ISO 10993-6: Biological evaluation of medical devices ทำการฝัง Pore Skin® (n=24) และ Gel foam® (n=24) (Commercial medical product) ในกล้ามเนื้อ gluteal ของหนูวิสตาเพศเมีย อายุ 8 สัปดาห์ นำมาแบ่งเป็นกลุ่มย่อย 2 กลุ่ม กลุ่มละ 12 ตัว และเก็บผลที่ระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ เพื่อประเมินผลของเนื้อเยื่อ และการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของ Pore Skin® เปรียบเทียบกับ Gel foam® นอกจากนี้ทำการศึกษาเนื้อเยื่อบริเวณรอบวัสดุที่ฝัง (H&E) เพื่อประเมินการเกิด Neovascularisation, Fibrosis และ Fatty infiltrate และเซลล์อักเสบชนิดต่างๆ เช่น Polymorphonuclear cells, Lymphocytes, Plasma cells, Macrophage, Giant cells คะแนนที่ได้จากการตรวจดูทางพยาธิวิทยาเปรียบเทียบระหว่าง Pore Skin® กับ Gel foam® ที่ระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ พบว่าคะแนนที่ได้ คือ 1.79 และ 2.22 ตามลำดับ แสดงได้ว่า Pore Skin® ไม่ทำให้เกิดการระคายเคืองในสัตว์ทดลอง (ระดับคะแนน 0.0-2.9 ตามมาตรฐาน ISO 10993-6 คือ ไม่ระคายเคือง) ทดสอบการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันตามมาตรฐาน ASTM: F 1906-98: Evaluation of Immune Responses In Biocompatibility Testing Using ELISA Test โดยวัดระดับ Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) ซึ่งเป็น ไซโตไคน์ที่หลั่งออกมาเมื่อมีการอักเสบ พบว่าที่ระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ ระดับของ IL-1 $\beta$  ใน Pore Skin® (351 $\pm$ 24.00 pg/ml, 328 $\pm$ 2.00 pg/ml) และ Gel foam® (340 $\pm$ 6.56 pg/ml, 332 $\pm$ 12.77pg/ml) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p< 0.05) จากผลของการทดสอบปฏิกิริยาเฉพาะที่ และ การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน ยืนยันว่า Pore Skin® ให้ผลคล้ายคลึงกับการฝังผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทางการแพทย์ Gel foam® ดังนั้นจากการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่า Pore Skin® มีความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อ

สาขาวิชา วิศวกรรมชีวเวช

ปีการศึกษา 2551

ลายมือชื่อนิสิต ฤกษ์นถ ตันติรักษ์

ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

## 5087195520 : MAJOR BIOMEDICAL ENGINEERING

KEYWORDS : ISO 10993-6 / MUSCLE IMPLANTATION / PORE SKIN® / ASTM: F 1906-98 / ARTIFICIAL DERMIS

WIKANDA TUNTERAK: THE STUDY OF LOCAL EFFECT OF PORE SKIN® IN ANIMAL MUSCLE IMPLANT MODEL ACCORDING TO ISO 10993-6 AND IMMUNE RESPONSE IN BIOCOMPATIBILITY TESTING ACCORDING TO ASTM: F 1906-98. THESIS ADVISOR: ASST. PROF. TANOM BUNAPRASERT, MD, THESIS CO-ADVISOR: ASST. PROF. SORADA KANOKPANON, Ph.D., 172 pp.

This study aimed to evaluate *in vivo* biocompatibility of Pore Skin®, the artificial skin made from allogeneic dermis, in Wistar rats using muscle implantation model followed the ISO 10993-6: Biological evaluations of medical devices. Pore Skin® was implanted in gluteal muscle of 8-week-old female Wistar rats (n = 24) and using Gel foam® (a commercial medical product) as a control (n = 24). After implanted 2 and 4 weeks, the animals were sacrificed and then evaluated macroscopic-histology at the implant sites and systemic immune responses. The histological evaluation of the surrounding tissue was assessed for necrosis, neovascularisation, fibrosis, fatty infiltrate and inflammatory cell types such as polymorphonuclear cells (PMN), lymphocytes, plasma cells, macrophage, and giant cells. Irritation scoring from histological results (H&E) of the Pore Skin®- Gel foam® at 2 and 4 weeks were 1.79 and 2.22 respectively, implied that Pore Skin® was non-irritating at 2 and 4 weeks after implantation in Wistar rats (ISO 10993-6 non-irritant score is 0.0-2.9). The systemic immune response was also tested according to the ASTM: F 1906-98. Concentration of Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), a pro-inflammatory cytokine, was quantified from animal blood using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). At 2 and 4 weeks, the levels of IL-1 $\beta$  in Pore Skin® (351 $\pm$ 24.00 pg/ml, 328 $\pm$ 2.00 pg/ml) and Gel foam® (340 $\pm$ 6.56 pg/ml, 332 $\pm$ 12.77 pg/ml) after implantation were not significantly different ( $p < 0.05$ ). The results confirmed that local tissue reaction and systemic immune response of Pore Skin® were comparable to those of a commercial medical product, Gel foam®. Therefore, it could be concluded from this study that Pore Skin® is tissue compatible.

Field of Study : Biomedical Engineering....

Academic Year : 2008.....

Student's Signature Wikantha Tunterak

Advisor's Signature Tanom Bunaprasert

Co-Advisor's Signature Sorada Kanokpanon

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี โดยได้รับความช่วยเหลือจากหลายท่าน ซึ่งผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ผศ.นพ. ถนอม บรรณประเสริฐ อาจารย์ที่ปรึกษา, ผศ. ดร. ไศรดา กนกพานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม เป็นอย่างสูงสำหรับให้คำปรึกษาต่องานวิจัย การออกแบบและวางแผนการวิจัย การตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ และแนวทางในการดำเนินงานวิจัยได้อย่างถูกต้อง

ขอขอบคุณ พญ. วรนุช ธนากิจ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการให้คำปรึกษาด้านพยาธิวิทยา

ขอขอบคุณ รศ. อรวดี หาญวิวัฒน์วงศ์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการให้คำปรึกษาด้านวิทยาภูมิคุ้มกัน

ขอขอบคุณ นพ. ต่อพงษ์ พลจันทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการผ่าตัดสัตว์ทดลอง

ขอขอบคุณ ทูสนับสนุนงานวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

ขอขอบคุณ คุณรณิดา ต่วนอุดม เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ i Tissue Lab คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และ พี่ๆ เพื่อนๆ ที่ได้ให้กำลังใจ คำแนะนำ และให้ความช่วยเหลือจนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัย กราบขอบพระคุณทุกคนในครอบครัวที่เป็นกำลังใจ และให้การสนับสนุนตลอดมา จนกระทั่งงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ศูนย์วิทยุทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
บทที่	
1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	8
1.3 ขอบเขตงานวิจัย.....	8
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	8
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	9
2.1 ปฏิบัติการเฉพาะที่หลังการฝังตามมาตรฐานISO10993-6 .....	9
2.2 การทดสอบการตอบสนองต่อปฏิริยาการอักเสบของระบบภูมิคุ้มกันและความเข้า กันได้ทางชีวภาพโดยวิธี ELISA ตามมาตรฐาน ASTM: F 1906-98.....	19
2.3 การสร้างเซลล์เม็ดเลือดขาว.....	20
2.4 การอักเสบ.....	22
2.5 ระบบภูมิคุ้มกัน.....	25
2.6 ไฮโดรโคโรน.....	26
2.7 ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับ Gel foam <sup>®</sup> .....	34
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	35
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	39
3.1 แผนผังวิธีการดำเนินงานวิจัย.....	39
3.2 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย.....	40
3.3 อุปกรณ์และวัสดุวิจัยหลัก.....	48
3.4 สถานที่ทำการวิจัย.....	48
4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล.....	49
4.1 การประเมินจากลักษณะภายนอกด้วยตาเปล่า (Macroscopic assessment).....	49

4.4.1 ผลการประเมินลักษณะภายนอกของเนื้อเยื่อบริเวณที่ฝัง Pore Skin® และ Gel Foam® .....	49
4.1.2 ผลการประเมินลักษณะภายนอกของชิ้นงานเมื่อตัดชิ้นเนื้อออกมาจาก สัตว์ทดลอง.....	51
4.2 การประเมินจากลักษณะทางพยาธิวิทยา (Pathological finding).....	52
4.2.1 ลักษณะทางพยาธิวิทยาหลังการฝังนาน 2 สัปดาห์.....	52
4.2.2 ลักษณะทางพยาธิวิทยาหลังการฝังนาน 4 สัปดาห์.....	65
4.3 การวิเคราะห์และการประเมินลักษณะทางพยาธิวิทยา ตามมาตรฐาน ISO 10993-6.....	76
4.3.1 ผลการประเมินที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์.....	77
4.3.2 ผลการประเมินที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์.....	79
4.4 ผลการทดสอบ Systemic inflammatory reaction.....	80
5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	82
รายการอ้างอิง.....	86
ภาคผนวก.....	89
ภาคผนวก ก.....	90
ภาคผนวก ข.....	162
ภาคผนวก ค.....	168
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	172



## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การเลือกช่วงเวลาสำหรับการฝังระยะยาวตามชนิดของสัตว์ ตามมาตรฐาน ISO 10993-2.....	13
2	ตัวอย่างขนาดวัสดุที่ใช้ฝังในสัตว์ชนิดต่างๆ และบริเวณที่ฝัง.....	14
3	แสดงการให้คะแนนการตอบสนองของเนื้อเยื่อบริเวณรอบชิ้นงานที่ฝัง.....	16
4	แสดงการให้คะแนนการตอบสนองของเนื้อเยื่อบริเวณรอบชิ้นงานที่ฝัง.....	17
5	ตารางรวมคะแนน.....	18
6	ปริมาณที่เพิ่มมากขึ้นของเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิด.....	22
7	แสดงชนิดของไซโตไคน์แบ่งตามหน้าที่.....	33
8	แสดงการให้คะแนนการตอบสนองของเนื้อเยื่อบริเวณรอบชิ้นงานที่ฝัง.....	44
9	แสดงการให้คะแนนการตอบสนองของเนื้อเยื่อบริเวณรอบชิ้นงานที่ฝัง.....	45
10	ตารางรวมคะแนน.....	46
11	แสดงเซลล์อักเสบ, การเกิดหลอดเลือดใหม่, เนื้อเยื่อพังผืด และ การแทรกของไขมันที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์.....	61
12	แสดงเซลล์อักเสบ, การเกิดหลอดเลือดใหม่, เนื้อเยื่อพังผืด และ การแทรกของไขมันที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์.....	73
13	ผลการประเมินลักษณะทางพยาธิวิทยาตามมาตรฐาน ISO 10993-6 ที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์.....	77
14	ผลการประเมินลักษณะทางพยาธิวิทยาตามมาตรฐาน ISO 10993-6 ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์.....	79
15	ปริมาณ IL1- $\beta$ ที่ระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์.....	80

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงผิวหนังบนชั้นป้องกันของผิวหนังสังเคราะห์.....	2
2	แสดงพื้นผิวด้านล่างของชั้นหนังแท้สังเคราะห์ของผลิตภัณฑ์ Pore Skin®.....	3
3	แสดงโครงสร้างภายในของชั้นโครงเลี้ยงเซลล์ชนิดหนังแท้.....	3
4	แสดงภาพถ่ายตัดขวางผลิตภัณฑ์ Pore Skin®.....	4
5	แสดงกระบวนการเกิดการอักเสบ และเซลล์อักเสบชนิดต่างๆ.....	22
6	แสดงเซลล์อักเสบชนิดเฉียบพลัน (acute inflammation).....	23
6a	เซลล์อักเสบเฉียบพลันชนิด Neutrophil.....	23
6b	เซลล์อักเสบเฉียบพลันชนิด Basophil.....	23
7	แสดงเซลล์อักเสบชนิดเรื้อรัง (chronic inflammation).....	25
7a	เซลล์อักเสบเรื้อรังชนิด Macrophage.....	25
7b	เซลล์อักเสบเรื้อรังชนิด Giant cell.....	25
7c	เซลล์อักเสบเรื้อรังชนิด Lymphocyte.....	25
7d	เซลล์อักเสบเรื้อรังชนิด Plasma cell.....	25
7e	เซลล์อักเสบเรื้อรังชนิด Eosinophil.....	25
7f	เซลล์อักเสบเรื้อรังชนิด Fibroblast.....	25
8	แสดงลักษณะของ Gel Foam®.....	34
9	แผนผังการดำเนินการวิจัย.....	39
10	แสดงตัวอย่างวัสดุที่ทำการฝังในสัตว์ทดลอง.....	40
10a	แสดง Pore Skin®.....	40
10b	แสดง Gel foam®.....	40
11	แสดงตำแหน่งการฝังในสัตว์ทดลอง.....	40
12	แสดงขั้นตอนการผ่าตัด (a-f).....	41
13	แสดงขั้นตอนการตัดชิ้นเนื้อและการวางลงตลับพลาสติก.....	42
14	แสดงบริเวณที่ทำการประเมิน.....	43
14a	แสดงบริเวณที่ทำการประเมินเซลล์บริเวณ surrounding tissue.....	43
14b	แสดงบริเวณที่ทำการประเมินเซลล์บริเวณ surrounding tissue สุ่มตรวจบริเวณ 3 จุด.....	43

15	แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ และ 4 สัปดาห์.....	49
15a	ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบPore Skin <sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam <sup>®</sup> ที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์.....	49
15b	ภาพลักษณะภายนอกของเนื้อเยื่อบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin <sup>®</sup> เทียบกับ วัสดุควบคุม Gel foam <sup>®</sup> ที่ 2 สัปดาห์.....	49
15c	ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบPore Skin <sup>®</sup> เทียบกับวัสดุ ควบคุม Gel foam <sup>®</sup> ที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์.....	49
15d	ภาพลักษณะภายนอกของเนื้อเยื่อบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin <sup>®</sup> เทียบกับ วัสดุควบคุม Gel foam <sup>®</sup> ที่ 2 สัปดาห์.....	49
15e	ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบPore Skin <sup>®</sup> เทียบกับวัสดุ ควบคุม Gel foam <sup>®</sup> ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์.....	50
15f	ภาพลักษณะภายนอกของเนื้อเยื่อบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin <sup>®</sup> เทียบกับ วัสดุควบคุม Gel foam <sup>®</sup> ที่ 4 สัปดาห์.....	50
15g	ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบPore Skin <sup>®</sup> เทียบกับวัสดุ ควบคุม Gel foam <sup>®</sup> ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์.....	50
15h	ภาพลักษณะภายนอกของเนื้อเยื่อบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin <sup>®</sup> เทียบกับ วัสดุควบคุม Gel foam <sup>®</sup> ที่ 4 สัปดาห์.....	50
16	แสดงลักษณะภายนอกของตัวอย่างขึ้นเนื้อที่ฝัง ที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ (a-b) และ 4 สัปดาห์ (c-d) ลูกศรแสดงวัสดุทดสอบที่เหลืออยู่.....	51
16a	ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างขึ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam <sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์.....	51
16b	ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างขึ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin <sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์.....	51
16c	ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างขึ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam <sup>®</sup> นาน 4 สัปดาห์.....	51
16d	ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างขึ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin <sup>®</sup> นาน 4 สัปดาห์.....	51
17	แสดงตัวอย่างที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย x400.....	52
17a	แสดง Gel foam <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ.....	52
17b	แสดง Pore Skin <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ.....	52
18	แสดงเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Polymorphonuclear cell.....	53
18a	แสดง Gel foam <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Polymorphonuclear cell.....	53

18b	Pore Skin <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นก้ำมเนื้อ และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Polymorphonuclear cell.....	53
19	แสดงเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte.....	54
19a	แสดง Gel foam <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นก้ำมเนื้อ และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte.....	54
19b	แสดง Pore Skin <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นก้ำมเนื้อ และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte.....	54
20	แสดงเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell.....	55
20a	แสดง Gel foam <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นก้ำมเนื้อ และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell.....	55
20b	แสดง Pore Skin <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นก้ำมเนื้อ และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell.....	55
21	แสดงเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด macrophage.....	56
21a	แสดง Gel foam <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นก้ำมเนื้อ และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด macrophage.....	56
21b	แสดง Pore Skin <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นก้ำมเนื้อ และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด macrophage.....	56
22	Foreign type multinucleated giant cells.....	57
22a	แสดง Gel foam <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นก้ำมเนื้อ และ Foreign type multinucleated giant cells.....	57
22b	แสดง Pore Skin <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นก้ำมเนื้อ และ Foreign type multinucleated giant cells.....	57
23	การสร้างหลอดเลือด capillary ใหม่ (Neovascularisation).....	58
23a	แสดง Gel foam <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นก้ำมเนื้อ และ Neovascularisation.....	58
23b	แสดง Pore Skin <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นก้ำมเนื้อ และ Neovascularisation.....	58
24	แสดง Fibroblastic proliferation.....	59
24a	แสดง Gel foam <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นก้ำมเนื้อ และ Fibroblastic proliferation เป็นแถบเส้นบางขนาดเล็ก.....	59
24b	แสดง Pore Skin <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นก้ำมเนื้อ และ Fibroblastic proliferation เป็นแถบเส้นบางขนาดเล็ก.....	59
25	แสดง Fatty infiltration.....	60

25a	แสดง Gel foam <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Fatty infiltration.....	60
25b	แสดง Pore Skin <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Fatty infiltration.....	61
26	กราฟแสดงปริมาณเฉลี่ยของเซลล์อักเสบ และการเกิดหลอดเลือดใหม่ ระหว่าง Gel foam <sup>®</sup> และ Pore Skin <sup>®</sup> ที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์.....	62
27	กราฟแสดงขนาดของเนื้อเยื่อพังผืด และ ขนาดการแทรกของไขมันเฉลี่ย ระหว่าง Gel foam <sup>®</sup> และ Pore Skin <sup>®</sup> ที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์.....	62
28	แสดงตัวอย่างที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย X400.....	65
28a	แสดง Gel foam <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ.....	65
28b	แสดง Pore Skin <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ.....	65
29	แสดงเซลล์อักเสบชนิด Lymphocyte.....	66
29a	แสดง Gel foam <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และเซลล์อักเสบ ชนิด Lymphocyte.....	66
29b	แสดง Pore Skin <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และเซลล์อักเสบ ชนิด Lymphocyte.....	66
30	แสดงเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell.....	67
30a	แสดง Gel foam <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell.....	67
30b	แสดง Pore Skin <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell.....	67
31	แสดงเซลล์อักเสบชนิด Macrophage.....	68
31a	แสดง Gel foam <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และเซลล์อักเสบ ชนิด Macrophage.....	68
31b	แสดง Pore Skin <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และเซลล์อักเสบ ชนิด Macrophage.....	68
32	Foreign type multinucleated giant cells.....	69
32a	แสดง Gel foam <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Foreign type multinucleated giant cells.....	69
32b	แสดง Pore Skin <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Foreign type multinucleated giant cells.....	69
33	การสร้างหลอดเลือด capillary ใหม่.....	70

33a	แสดง Gel foam <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Neovascularisation.....	70
33b	แสดง Pore Skin <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Neovascularisation.....	70
34	แสดง Fibroblastic proliferation.....	71
34a	แสดง Gel foam <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Fibroblastic proliferation....	71
34b	แสดง Pore Skin <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Fibroblastic proliferation....	71
35	แสดง Fatty infiltration.....	72
35a	แสดง Gel foam <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Fatty infiltration.....	72
35b	แสดง Pore Skin <sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Fatty infiltration.....	72
36	กราฟแสดงปริมาณเฉลี่ยของเซลล์อักเสบ และการเกิดหลอดเลือดใหม่ ระหว่าง Gel foam <sup>®</sup> และ Pore Skin <sup>®</sup> ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์.....	74
37	กราฟแสดงขนาดของเนื้อเยื่อพังผืด และ ขนาดการแทรกของไขมันเฉลี่ย ระหว่าง Gel foam <sup>®</sup> และ Pore Skin <sup>®</sup> ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์.....	74
38	กราฟแสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณ IL-1 $\beta$ หลังจากฝัง Pore Skin <sup>®</sup> เทียบ กับ Gel foam <sup>®</sup> ที่ระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ ตามลำดับ.....	81

## บทที่ 1

### บทนำ

#### ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันการเกิดบาดแผลไฟไหม้และน้ำร้อนลวกในประเทศไทย โดยมากมักเกิดจากความประมาท เลินเล่อ รู้เท่าไม่ถึงการณ์หรือเกิดจากอุบัติเหตุต่างๆ พบว่าอุบัติเหตุจากการ สัมผัสกระแสไฟฟ้า รังสีและอุณหภูมิ (W85 - W99) การสัมผัสควัน ไฟ และเปลวไฟ (X00 - X09) และการสัมผัสความร้อน ของร้อน (X10 - X19) ตั้งแต่ ปี พ.ศ. 2543-2550 มีจำนวนผู้ป่วยต่อปีอยู่ในช่วง 39,764 - 45,907 ราย และมีผู้เสียชีวิตในช่วง 629 - 809 รายต่อปี<sup>(1)</sup> เนื่องจากการบาดเจ็บจากความ ร้อนเป็นสาเหตุที่อาจทำให้เกิดความพิการเรื้อรังตลอดชีวิต อีกทั้งปัญหาที่เกิดขึ้นทำให้บุคลากรของ ประเทศต้องสูญเสีย และพิการไปตลอดชีวิตและมีผลกระทบต่อครอบครัวของผู้ป่วย โดยวิธีการรักษา ทั่วไป คือ การปิดทับด้วยผิวหนังบริเวณอื่นของผู้ป่วยเอง (Autologous skin grafting) แต่การรักษา โดยการใช้ผิวหนังปิดทับดังกล่าว มีข้อจำกัดในกรณีที่ผู้ป่วยเกิดบาดแผลกว้าง ดังนั้น จึงจำเป็นต้องใช้ สิ่งทดแทนผิวหนัง ซึ่งในปัจจุบันมีการใช้เทคโนโลยีทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อมาใช้ในการผลิตวัสดุ ทดแทนผิวหนัง การพัฒนางานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อผิวหนัง โดยมากเกี่ยวข้องกับเซลล์และวัสดุที่จะ นำมาทำเป็นโครงเนื้อเยื่อสังเคราะห์ ผลิตภัณฑ์ที่มีการนำมาใช้ในงานด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อผิวหนัง เช่น ผลิตภัณฑ์ผิวหนังสังเคราะห์ (Artificial skin) ซึ่งมีการพัฒนามาใช้ในการรักษาบาดแผล<sup>(2)</sup>

โดยทั่วไปผลิตภัณฑ์ผิวหนังสังเคราะห์จะแบ่งออกเป็นสองกลุ่มด้วยกัน<sup>(3)</sup> คือ กลุ่มผลิตภัณฑ์ ผิวหนังสังเคราะห์ที่มีเซลล์ (Cell-containing Matrix) กลุ่มผลิตภัณฑ์นี้การนำไปใช้รักษา และการ ขนส่งเก็บรักษาที่ยุ่ยาก มีราคาแพง จึงไม่เป็นที่นิยม และกลุ่มผลิตภัณฑ์ผิวหนังสังเคราะห์ ที่ไม่มี เซลล์ (Cell-free Matrix) ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ในกลุ่มนี้ เช่น ผลิตภัณฑ์ผิวหนังสังเคราะห์ที่ได้จากคอลลา เจนหรือ extracellular matrix (ECM) ชนิดต่างๆเป็นองค์ประกอบ ผลิตภัณฑ์ผิวหนังสังเคราะห์ ดังกล่าวจะทำหน้าที่เป็นโครงร่างให้เซลล์ที่อยู่ในบาดแผลสร้างขึ้นผิวหนังขึ้นมาเอง ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ ผิวหนังสังเคราะห์ประเภทนี้ได้แก่ Integra® (Integra Life Science Corporation, USA) ซึ่งเป็นผิวหนัง เทียมที่ประกอบด้วยชั้นของคอลลาเจน และ chondroitin sulfate ที่ถูกเคลือบปิดด้วยชั้นของแผ่น ซิลิโคนซึ่งทำหน้าที่ป้องกันการติดเชื้อและการสูญเสียน้ำให้กับบาดแผล ผลิตภัณฑ์นี้เป็นที่ยอมรับจาก วงการแพทย์ แต่มีราคาที่สูง ดังนั้นจึงมีการผลิต Pore Skin® ขึ้นมา เพื่อใช้กับผู้ป่วยภายในประเทศอีก ทั้งยังช่วยลดการนำเข้าจากต่างประเทศ

### ผิวหนังสังเคราะห์ Pore Skin® (4)

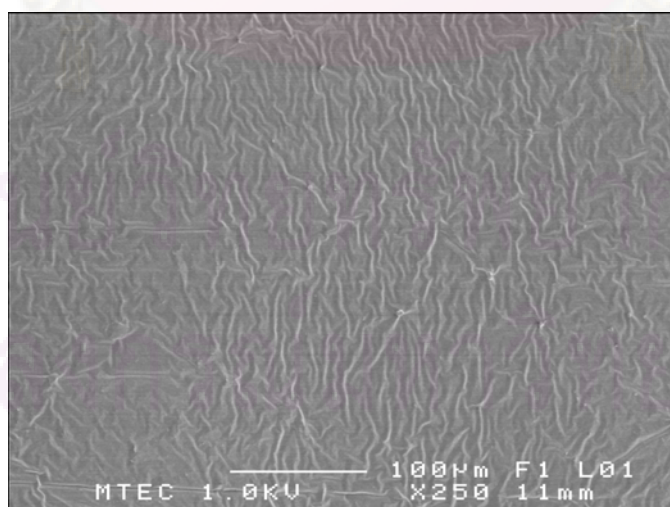
ผิวหนังสังเคราะห์ Pore Skin® ประกอบด้วย 2 ชั้น ชั้นบนทำจากซิลิโคนซึ่งเป็นชั้นป้องกัน และชั้นล่างที่เป็นชั้นหนังแท้สังเคราะห์ Pore Skin® เป็นผลิตภัณฑ์ผิวหนังสังเคราะห์ชนิดใหม่ที่เกิดจากคอลลาเจนมนุษย์โดยใช้การออกแบบและความรู้ทางเทคโนโลยีวิศวกรรมเนื้อเยื่อ

ก่อนนำ Pore Skin® ไปทดลองทางคลินิกในผู้ป่วย จะต้องผ่านการทดสอบและศึกษาคุณสมบัติต่างๆ ดังนี้ การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ การศึกษาอัตราการสลายตัวของ Pore Skin® ด้วยเอ็นไซม์ การศึกษาการตอบสนองของเซลล์โดยตรงบนพื้นผิวชั้นงาน Pore Skin® โดยวิธี Biological In Vitro Test using Direct Contact Method ด้วยเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของมนุษย์ (ISO 10993-5) การศึกษาการเจริญของเซลล์บนผิวหนังสังเคราะห์ Pore Skin® การทดสอบ การศึกษาปฏิกิริยาการอักเสบจาก Pore Skin® เทียบกับ Gel form® ด้วยการฝังในกล้ามเนื้อของสัตว์ทดลองตามมาตรฐาน ISO 10993-6: Biological evaluation of medical devices – Part 6: Tests for local effects after implantation การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ Pore Skin® ในสัตว์ทดลอง (Animal study of mechanism of device) และ การศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ผิวหนังสังเคราะห์ Pore Skin® ต่อการรักษาแผลของหนูตะเภา (Efficacy study of Pore Skin® Artificial dermis in Animal Wound Model ) ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

1. การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของ Pore Skin® (Physical study) โดยจะแบ่งการศึกษาในส่วนต่างๆ ดังนี้

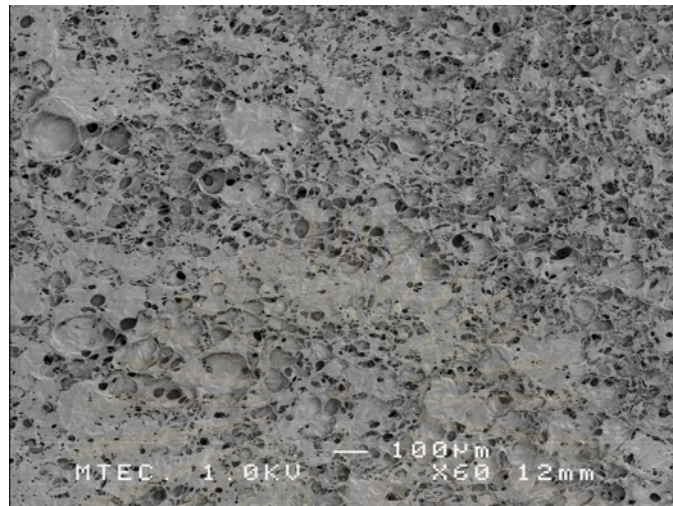
1.1 การศึกษาพื้นผิวของ Pore Skin® ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope)

การศึกษาในขั้นตอนนี้ทำการทดสอบโดยศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ (MTEC)

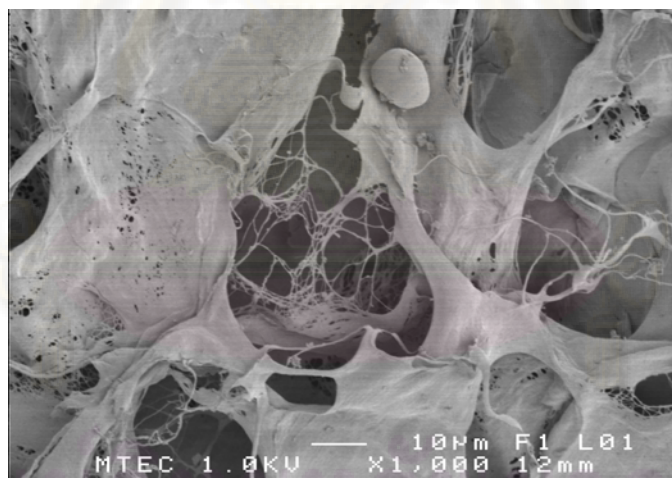


ภาพที่ 1 ผิวด้านบนชั้นป้องกันของผิวหนังสังเคราะห์ (protective membrane) แสดงลักษณะแผ่นแบบที่ป้องกันการติดเชื้อจากสภาพแวดล้อมกำลังขยาย X 250

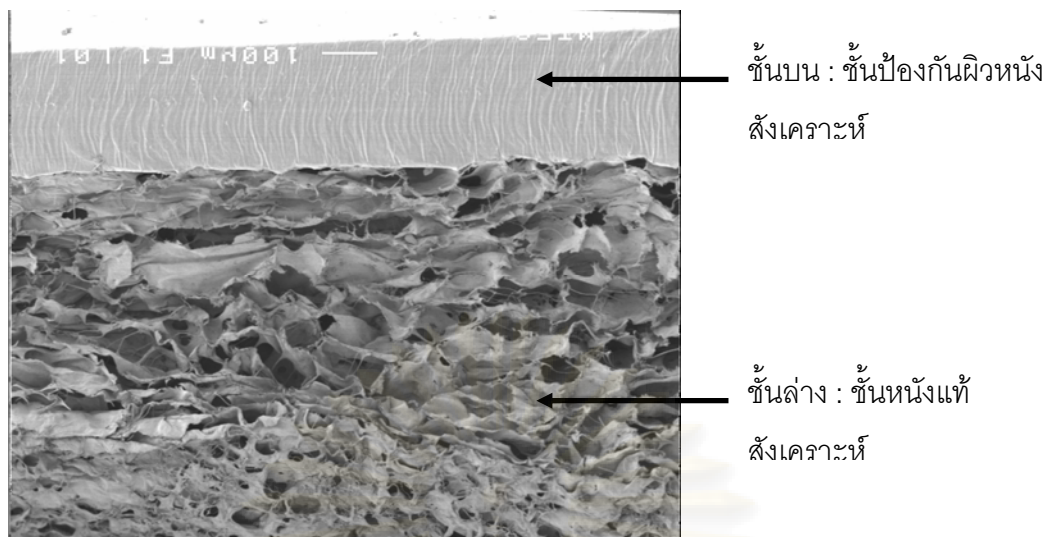




ภาพที่ 2 พื้นผิวด้านล่างของชั้นหนังแท้สังเคราะห์ของผลิตภัณฑ์ Pore Skin<sup>®</sup> แสดงการเปิดของรูพรุนบริเวณด้านล่างที่สัมผัสกับแผ่นกำลังขยาย X60



ภาพที่ 3 โครงสร้างภายในของชั้นโครงเลี้ยงเซลล์ชนิดหนังแท้ (Dermal Scaffold) ของผลิตภัณฑ์ Pore Skin<sup>®</sup> มีลักษณะเชื่อมต่อกันกำลังขยายของภาพ X 1,000



ภาพที่ 4 ภาพถ่ายตัดขวางผลิตภัณฑ์ Pore Skin<sup>®</sup> แสดงลักษณะแผ่นสองชั้น คือชั้นป้องกันผิวหนังสังเคราะห์ (Protective membrane) และชั้นล่างคือชั้นหนังแท้สังเคราะห์ (Dermal Scaffold) ที่มีลักษณะเป็นรูพรุน กำลังขยายของภาพ X 60

ผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่าภาพผิวด้านล่างผิวหนังสังเคราะห์มีรูพรุนแบบเปิดเพื่อยอมให้เซลล์เคลื่อนที่เข้ามาและผิวด้านบนที่ปิดป้องกันการติดเชื้อและการระเหยของน้ำภาพถ่ายขวางแสดงให้เห็นการเชื่อมติดแบบพอดีระหว่างซิลิโคนและโพลีคอลลาเจนเพราะไม่มีส่วนของซิลิโคนซึมเข้ามาในโพลีคอลลาเจน

1.2 การศึกษารูพรุนของ Pore Skin<sup>®</sup> (Pore analysis) วัดความเป็นรูพรุนของผิวหนังสังเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โดยการนำผิวหนังสังเคราะห์ Pore skin<sup>®</sup> ไปตรวจสอบโครงสร้างทางกายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดและวัดความเป็นรูพรุนด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์

พบว่าลักษณะโครงสร้างทางกายภาพของผิวหนังสังเคราะห์จะเป็นรูพรุนแบบเชื่อมต่อกันหมด (interconnected pores) และผลจากการวัดขนาดรูพรุนของผิวหนังสังเคราะห์ด้วยโปรแกรม Sem Afore Analysis พบว่าผิวหนังสังเคราะห์มีขนาดรูพรุนเฉลี่ย  $150 \pm 29$  ไมโครเมตร และผลการทดลองแสดงขนาดรูพรุนที่เหมาะสมคือ  $150 \pm 29$  ไมโครเมตรซึ่งเป็นขนาดรูพรุนที่ยอมรับกันทั่วไปและรูพรุนมีการเชื่อมต่อกันทำให้เซลล์สามารถเคลื่อนเข้ามาโดยสะดวกขนาดและการเชื่อมต่อของรูพรุนจึงมีคุณสมบัติที่ถูกต้อง

1.3 การศึกษาความทนของ Pore Skin<sup>®</sup> ต่อแรงดึงจากไหมเย็บแผล (Suture shearing test)

การทนแรงดึงระหว่างไหมเย็บกับแผ่นผลิตภัณฑ์ Pore Skin<sup>®</sup> ด้วยเครื่องทดสอบสมบัติเชิงกลพบว่าแผ่น Pore Skin<sup>®</sup> มีค่าโมดูลัสของการดึงเท่ากับ  $0.1 \pm 0.01$  เมกะปาสคาลและค่าความเค้นในการดึงเท่ากับ  $2.41 \pm 0.21$  เมกะปาสคาล

ผลการทดลองส่วนนี้ใช้เพื่อวัดค่าความทนทานของการฉีกขาดจากการเย็บด้วยไหม เพราะผิวหนังสังเคราะห์จะต้องถูกเย็บตรึงเข้ากับแผลและมีความแข็งแรงพอที่จะยึดติดกับแผลโดยไม่ฉีกขาดในกระบวนการทดสอบในสัตว์ได้ทดลองวิธีทดสอบกับแผลในหนูตะเภาจำนวนมากโดยการทดสอบการเชื่อมติดของ Pore Skin<sup>®</sup> กับแผลพบว่าเมื่อเย็บติดกับแผลในหนูตะเภาจำนวน 70 ตัวสามารถเย็บตรึงด้วยไหมขนาด 4-0, 5-0, 6-0 ได้ดีไม่มีการฉีกขาด ดังนั้นจึงนำมาวัดค่าทางกลเพื่อเป็นค่ามาตรฐานของผลิตภัณฑ์ซึ่งไม่ได้เปรียบเทียบกับวัสดุปิดแผลอื่น

1.4 การศึกษาค่าอัตราการแพร่ผ่านของออกซิเจนผ่านฟิล์มของผลิตภัณฑ์ Pore Skin<sup>®</sup> (Oxygen transmission rate)

การทดสอบการซึมผ่านของออกซิเจนนี้เพื่อที่จะแสดงค่ามาตรฐานของผลิตภัณฑ์ Pore Skin<sup>®</sup> ว่ามีการซึมของออกซิเจนในอัตราเฉลี่ย  $15.0728 \text{ kg m/m}^2 \text{ hr Pa}$  การทดสอบนี้แสดงให้เห็นว่าอากาศสามารถซึมผ่าน Pore Skin<sup>®</sup> ผ่านแผ่นป้องกันซิลิโคนได้แต่น้อยมาก

1.5 การศึกษาค่าอัตราการแพร่ผ่านของไอน้ำผ่านฟิล์มของผลิตภัณฑ์ Pore Skin<sup>®</sup> Water Vapor Transmission Rate (WVTR)

การทดสอบการซึมผ่านของน้ำและไอน้ำพบว่าน้ำสามารถระเหยผ่านแผ่นซิลิโคนบางของ Pore Skin<sup>®</sup> ได้ในอัตรา  $0.095 \pm 0.031 \text{ (kg/m)}$  ซึ่งน้อยมาก ถ้าหากน้ำซึมผ่านได้มากจะทำแผลแห้งเร็วและรู้สึกสบายขึ้น การทดสอบนี้จึงเป็นการทดสอบเพื่อวิเคราะห์ค่ามาตรฐานของผลิตภัณฑ์เท่านั้น เพราะในการใช้งานจริง Pore Skin<sup>®</sup> จะถูกบากด้วยเครื่องมือกลายเป็นตาข่ายซึ่งน้ำสามารถซึมทะลุผ่านรอยบากที่ขาดได้อิสระ

2. การศึกษาอัตราการสลายตัวของ Pore Skin<sup>®</sup> ด้วยเอนไซม์ (In vitro degradation)

ผลการทดสอบพบว่า Gel foam<sup>®</sup> ถูกย่อยสลายหมดภายในเวลา 30 นาที ส่วน Pore Skin<sup>®</sup> จะย่อยสลายหมดภายในเวลา 30 ชั่วโมง การทดสอบการสลายตัวได้แสดงให้เห็นว่า Pore Skin<sup>®</sup> มีความคงทนมากกว่า Gel foam<sup>®</sup> หลายเท่า โดยปกติ ดังนั้นหากใช้ Pore Skin<sup>®</sup> ปิดแผลจะสามารถอยู่ในร่างกายได้นานกว่า ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมบริเวณแผลด้วยว่ามีปฏิกิริยาอักเสบมากหรือน้อย หากมีมากก็จะสลายตัวเร็วขึ้น การทดสอบนี้เป็นการทดสอบเพื่อหาค่ามาตรฐานของผลิตภัณฑ์เช่นกัน เพราะความสำเร็จของผลิตภัณฑ์อยู่ที่ผลการทดสอบกลไกการออกฤทธิ์เท่านั้นปัจจัยอื่นเป็นองค์ประกอบเสริมความสมบูรณ์ของผลิตภัณฑ์

3. การศึกษาการตอบสนองของเซลล์โดยตรงบนพื้นผิวชิ้นงาน Pore Skin<sup>®</sup> โดยวิธี Biological In Vitro Test using Direct Contact Method ด้วยเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของมนุษย์ (ISO 10993-5)

ภายหลังจากการทดสอบโดยตรงบนพื้นผิวหนังด้านที่มีรูพรุนของตัวอย่างชิ้นงานทดสอบ CAS01 จำนวนทั้งสิ้น 2 ชุดทดสอบ เป็นระยะเวลา 6 วัน พบว่าให้ผลการทดสอบในลักษณะเดียวกัน กล่าวคือ พบเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของมนุษย์ (h-FBs) ปกคลุมทั่วทั้งผิวชิ้นงานด้านที่มีรูพรุน โดยเฉลี่ยมีลักษณะสมบูรณ์ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงไปจากลักษณะ morphology ของเซลล์ที่ปกติ และมีการยึดเกาะที่ดี เมื่อเปรียบเทียบกับผลจากชุดควบคุม reagent และ 'Thermanox' negative controls

4. การศึกษาการเจริญของเซลล์บนผิวหนังสังเคราะห์ Pore Skin<sup>®</sup> (MTT cell proliferation assay)

จากผลการทดสอบสรุปได้ว่าชิ้นงานทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> สามารถทำให้เซลล์ไลน์เนื้อเยื่อหนูชนิดไฟโบรบลาสต์รหัส L929 เพิ่มจำนวนเจริญเติบโตภายในชิ้นงานทดสอบได้จนกระทั่งเซลล์เพิ่มจำนวนในชิ้นงานหนาแน่นสูงสุด 723.26 เซลล์/ปริมาตรชิ้นงาน 1 ลบ.มม. ณ วันที่ 4 หลังจากนั้นเซลล์จึงลดจำนวนลงโดยการกระจายตัวของเซลล์ในชิ้นงานทดสอบมีความสม่ำเสมอขึ้นทั่วชิ้นงานเต็มที่เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 14 วัน การทดสอบนี้แสดงให้เห็นว่าเซลล์สามารถเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วใน Pore Skin<sup>®</sup> จนมีปริมาณสูงสุด ณ วันที่ 4 และการกระจาย ตัวของเซลล์สม่ำเสมอ ณ วันที่ 14 การทดสอบนี้ไม่ใช่ตัวชี้วัดหลักเนื่องจากความเร็วการแบ่งตัวของเซลล์จะแปรผกผันกับการสร้างเนื้อเยื่อของเซลล์การแบ่งตัวที่รวดเร็วทำให้การสร้างเป็นเนื้อเยื่อลดลงการทดสอบนี้ไม่ได้เทียบกับวัสดุปิดแผลชนิดอื่นเนื่องจากไม่มีความจำเป็นเพราะหากตัวชี้วัดหลักคือการสร้างเนื้อเยื่อที่เกิดในสัตว์ทดลองประสบความสำเร็จการวัดการแบ่งตัวนี้เป็นเพียงการวัดค่ามาตรฐานของผลิตภัณฑ์ Pore Skin<sup>®</sup>

5. การศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของ Pore Skin<sup>®</sup> ในสัตว์ทดลอง (Animal study of mechanism of device)

จากการศึกษาลักษณะภายนอกทั่วไปพบว่า สัปดาห์ที่ 1 ผิวหนังสังเคราะห์ Pore Skin<sup>®</sup> มีสีเหลืองเข้มที่ขอบมีสีแดงเนื่องจากซบเลือดเข้ามา สัปดาห์ที่ 2 ผิวหนังสังเคราะห์ Pore Skin<sup>®</sup> มีสีซีดขาวเนื่องจากสีแดงจากเลือดหายไป ไม่มีลักษณะของหนองให้เห็น ยังไม่มีลักษณะของเนื้อเยื่อ สัปดาห์ที่ 3-4 ผิวหนังสังเคราะห์ Pore Skin<sup>®</sup> เปลี่ยนเป็นเนื้อเยื่อสีแดงสด พร้อมกับการสร้าง หลอดเลือดเข้ามาเลี้ยงภายใน สัปดาห์ที่ 12 ผิวหนังสังเคราะห์ Pore Skin<sup>®</sup> มีลักษณะเหมือนเนื้อเยื่อที่มีชีวิตแต่มีขนาดความหนาลดลง และจากลักษณะทางพยาธิวิทยาพบว่า สัปดาห์ที่ 1 ผิวหนังสังเคราะห์ Pore Skin<sup>®</sup> มีเซลล์เม็ดเลือดขาวเคลื่อนที่เข้ามาที่ขอบชัดเจนเป็นปฏิกิริยาอักเสบเฉียบพลัน สัปดาห์ที่ 2 ผิวหนังสังเคราะห์ Pore Skin<sup>®</sup> ปฏิกิริยาอักเสบเฉียบพลันลดลงมาก เซลล์เม็ดเลือดขาว ไม่มีลักษณะของหนองให้เห็น เริ่มมีการสร้างเนื้อเยื่อที่บริเวณขอบ สัปดาห์ที่ 3-4 ผิวหนังสังเคราะห์ Pore Skin<sup>®</sup> มีการสร้างเนื้อเยื่อภายในช่องเล็กของรูพรุนและมี หลอดเลือดเข้ามาเลี้ยงภายใน สัปดาห์ที่ 12 ผิวหนังสังเคราะห์ Pore Skin<sup>®</sup> มีลักษณะเหมือนเนื้อเยื่อที่มีชีวิตแต่มีขนาดความหนาลดลง

6. การศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ผิวหนังสังเคราะห์ Pore Skin® ต่อการรักษาแผลของหนูตะเภา (Efficacy study of Pore Skin® Artificial dermis in Animal Wound Model) จากเกณฑ์ในการตัดสินประสิทธิภาพการยับยั้งการหดตัวของแผล (Wound Contraction Inhibition Endpoint) พบว่า Pore Skin® มีการหดตัวน้อยกว่าแผลควบคุม จากเกณฑ์ในการตัดสินประสิทธิภาพการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างคอลลาเจนใหม่ภายในรูพรุนของ Pore Skin® เนื้อเยื่อใหม่ (Porous New Collagen Formation Endpoints) พบว่ามีการสร้างเนื้อเยื่อคอลลาเจนใหม่เกิดขึ้นภายใน Pore Skin® ที่มีลักษณะการเรียงตัวแบบอิสระที่เรียกว่า Porous new collagen formation ในสัปดาห์ที่ 3 ในหนูตะเภาทั้งหมด 8 ตัวที่ผ่านเกณฑ์การคัดเลือกซึ่งคิดเป็น 100%

งานวิจัยนี้เป็นส่วนของการทดสอบ การศึกษาปฏิบัติการการอักเสบจาก Pore Skin® เทียบกับ Gel foam® ด้วยการฝังในกล้ามเนื้อของสัตว์ทดลองตามมาตรฐาน ISO 10993-6: Biological evaluation of medical devices – Part 6: Tests for local effects after implantation ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบปฏิบัติการเฉพาะที่หลังการฝัง Pore Skin® ตามมาตรฐาน ISO 10993-6 Biological evaluation of medical devices: Tests for local effects after implantation เปรียบเทียบกับ Gel foam® ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ฝังในร่างกายมนุษย์ เป็นที่ยอมรับในวงการแพทย์และใช้งานแพร่หลายโดยในงานวิจัยนี้จะดูปฏิบัติการที่เกิดขึ้นบริเวณรอบ Pore Skin® ที่ฝังในกล้ามเนื้อ gluteal ของหนูistar จำนวน 24 ตัวแบ่งเป็น 2 กลุ่มๆ ละ 12 ตัว ที่ 2 และ 4 สัปดาห์ และได้ทำการศึกษาการตอบสนองต่อปฏิบัติการการอักเสบของระบบภูมิคุ้มกันและความเข้ากันได้ทางชีวภาพของ Pore Skin® เปรียบเทียบกับ Gel foam® อ้างอิงจากมาตรฐาน ASTM: F 1906-98 (Evaluation of Immune Responses in Biocompatibility Testing Using ELISA Test) โดยฝังในหนูistar จำนวน 12 ตัว แบ่งเป็น 2 กลุ่มๆ ละ 6 ตัว และในแต่ละกลุ่ม แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย โดยฝัง Pore Skin® 3 ตัว Gel foam® 3 ตัว ที่ 2 และ 4 สัปดาห์ ทำการวิเคราะห์ปริมาณ Interleukin 1 beta

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อประเมินประสิทธิภาพเฉพาะที่หลังการฝัง Pore Skin<sup>®</sup> ต่อเนื้อเยื่อภายหลังทำการฝังที่กล้ามเนื้อ gluteal ในสัตว์ทดลองโดยเปรียบเทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup>
2. เพื่อศึกษาการตอบสนองต่อปฏิกิริยาการอักเสบของระบบภูมิคุ้มกันและความเข้ากันได้ทางชีวภาพของ Pore Skin<sup>®</sup> เปรียบเทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> โดยวิเคราะห์ปริมาณ Interleukin 1 beta

### ขอบเขตงานวิจัย

1. ศึกษาลักษณะทางพยาธิวิทยา (Pathology) ของชิ้นเนื้อที่เวลา 2 และ 4 สัปดาห์ โดยการย้อม Hematoxylin & Eosin (H&E) ทำการประเมินตามมาตรฐาน ISO 10993-6: Biological evaluation of medical devices – Part 6: Tests for local effects after implantation
2. ศึกษาการตอบสนองต่อปฏิกิริยาการอักเสบของระบบภูมิคุ้มกันและความเข้ากันได้ทางชีวภาพโดยวิธี ELISA อ้างอิงจากมาตรฐาน ASTM: F 1906-98 (Evaluation of Immune Responses in Biocompatibility Testing Using ELISA Test) ทำการตรวจวิเคราะห์จากปริมาณไซโตไคน์ (cytokine) คือ Interleukin 1 beta
3. วิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ข้อมูลที่ได้จะเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ Pore Skin<sup>®</sup> สำหรับทดลองในมนุษย์ระยะที่ 1 ต่อไป
2. เพื่อพัฒนาผิวหนังสังเคราะห์สำหรับงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อผิวหนัง

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### แนวคิดและทฤษฎี

#### 2.1 การทดสอบปฏิบัติการเฉพาะที่หลังการฝังตามมาตรฐาน ISO 10993-6: Biological evaluation of medical device – Test for local effects after implantation <sup>(5)</sup>

ผลิตภัณฑ์ที่จะนำมาใช้ทางการแพทย์จะต้องผ่านการประเมินความปลอดภัยตามมาตรฐานสากลก่อนนำไปใช้ในมนุษย์ ซึ่งมาตรฐานที่นำมาใช้สำหรับการประเมินในงานวิจัยนี้ คือ มาตรฐาน ISO 10993 -6: Biological evaluation of medical device – Test for local effects after implantation เป็นการประเมินปฏิบัติการเฉพาะที่หลังจากการฝัง ซึ่งจะมีรายละเอียดดังนี้

##### ขอบเขตการทดสอบ

1. การทดสอบ การประเมินการตอบสนองของเนื้อเยื่อเฉพาะที่บริเวณรอบวัสดุที่ทดสอบแบบฝังในสัตว์ทดลอง (local effect after implantation) โดยวัสดุที่นำมาใช้ฝังในสัตว์ทดลองดังกล่าวแบ่งได้เป็น

- วัสดุที่เป็นของแข็ง และไม่ย่อยสลายตามธรรมชาติ (solid and non-biodegradable)
- วัสดุที่ย่อยสลายตามธรรมชาติ (degradable and non/or resorbable)
- วัสดุที่ไม่ใช่ของแข็ง เช่น วัสดุที่มีรูพรุน, ของเหลว, วัสดุเปื่อย และอนุภาค (non-solid, such as porous materials, liquids, pastes and particulates)

2. การนำไปใช้กับอุปกรณ์ที่ใช้ทางการแพทย์ซึ่งเป็นวัสดุที่สัมผัสกับบริเวณพื้นผิว

3. ทำการประเมินการตอบสนองของเนื้อเยื่อบริเวณรอบวัสดุที่ฝัง (local tissue response)

การประเมินปฏิบัติการเฉพาะที่นี้ทำการประเมินโดยการเปรียบเทียบการตอบสนองของเนื้อเยื่อกรณีฝัง วัสดุทดสอบกับ กรณีที่ฝังวัสดุควบคุมโดยวัสดุควบคุมที่ใช้ใน ต้องเป็นวัสดุทางการแพทย์ที่ได้รับการยอมรับสำหรับการใช้งานระดับคลินิกและมีสมบัติที่สามารถเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อ

##### วัตถุประสงค์ของการทดสอบ

เพื่อประเมินการตอบสนองของเนื้อเยื่อโดยรอบหลังจากทำการฝังวัสดุทดสอบ โดยการประเมินจะประกอบไปด้วย

1. การเชื่อมติดกันของแผลระยะสุดท้าย (final integration)
2. การดูดซึม (resorption)
3. การดูดซึมหรือการย่อยสลายของวัสดุทดสอบ (resorption/degradation)

การทดสอบนี้ไม่ได้ใช้ประเมินการประเมินความเป็นพิษของทั้งระบบ (systemic toxicity), การเกิดมะเร็ง (carcinogenicity), mutagenicity (การก่อให้เกิดการกลายพันธุ์)

### ข้อมูลที่ใช้อ้างอิง

ISO 10993-1:2003, *Biological evaluation of medical devices-Part 1: Evaluation and testing within a risk management system*

ISO 10993-2, *Biological evaluation of medical devices- Part 2: Animal welfare requirements*

ISO 10993-11, *Biological evaluation of medical devices- Part 11: Tests for systemic toxicity*

ISO 10993-12, *Biological evaluation of medical devices-Part 16: Toxicokinetic study design for degradation products and leachables*

### นิยามและคำจำกัดความ

1. degradation หมายถึง การย่อยสลายของวัสดุทดสอบ
2. degradation product หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยสลายของวัสดุทดสอบ โดยการย่อยสลายดังกล่าว อาจเกิดจากสารเคมีหรือเกิดจากการย่อยสลายของวัสดุทดสอบเอง
3. biomaterials หมายถึง วัสดุที่มีความเข้ากันได้กับระบบชีววิทยาในร่างกาย และสามารถนำไปใช้ในการรักษาหรือใช้ ทดแทนเนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆในร่างกายได้

### ข้อกำหนดทั่วไปสำหรับวิธีการฝังวัสดุทดสอบ

1. ข้อมูลทั่วไป ISO 10993-2, ISO 10993-11 และ ISO 10993-16  
สัตว์ทดลองที่ทำการศึกษจะต้อง ได้รับการดูแลจากหน่วยงานเลี้ยงสัตว์ทดลองที่ได้มาตรฐาน หรือสัตว์ทดลองจะต้องได้รับการดูแลตามมาตรฐาน ISO 10993-2

### 2. การเตรียมวัสดุทดสอบสำหรับการฝัง

- วัสดุทดสอบ (Test specimens) สำหรับการฝังนั้น มีรูปร่างและขนาดที่แตกต่างกัน
- ลักษณะทางกายภาพของวัสดุทดสอบ เช่น ความแข็ง, พื้นผิว มีอิทธิพลต่อการตอบสนองของเนื้อเยื่อ
  - แต่ละขั้นตอนในการฝัง ขบวนการผลิต, วิธีการผ่าตัด, ขั้นตอนและเทคนิคต่างๆ, วัสดุทดสอบ และ วัสดุควบคุม จะต้องผ่านฆ่าเชื้อ เทคนิคการผ่าตัดจะต้องปราศจากเชื้อโรค
  - สำหรับวัสดุทดสอบประเภทโครงเนื้อเยื่อสังเคราะห์ (scaffold) สำหรับผลิตภัณฑ์วิศวกรรมเนื้อเยื่อทางการแพทย์อาจไม่เหมาะสมที่จะทำการเลี้ยงเซลล์ที่เพิ่มจำนวนบนโครงเลี้ยงเนื้อเยื่อสังเคราะห์ก่อนนำไปฝังทดสอบเนื่องจากจะไปส่งเสริมปฏิกิริยาของระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์ทดลอง



ตลอดจนองค์ประกอบที่เกี่ยวข้องกับเซลล์ของผลิตภัณฑ์ และการเกิดปฏิกิริยาของเซลล์ของสัตว์ทดลองซึ่งอาจจะไปรบกวนผลของการตอบสนองต่อเนื้อเยื่อบริเวณที่ทำการฝังนั้น

- สำหรับวัสดุทดสอบ ชนิดวัสดุผสม เช่น bone cements, dental materials องค์ประกอบต่างๆอาจรวมกันก่อนนำมาใช้ อย่างไรก็ตาม ชนิดและวิธีการผสมควรมีข้อมูลที่ได้รับการพิสูจน์ว่าถูกต้อง

- สำหรับการฝังวัสดุที่ไม่ใช่ของแข็งรวมทั้งวัสดุที่เป็นผง วัสดุดังกล่าวอาจจะบรรจุในภาชนะทรงกระบอกปลายเปิดและฝังวัสดุในภาชนะ ในสัตว์ทดลอง สำหรับวิธีการบรรจุวัสดุทดสอบในภาชนะทรงกระบอก ให้เตรียมวัสดุทดสอบและใส่ในท่อจนกระทั่งถึงปลายท่อ เก็บไว้ไม่ให้มีการปนเปื้อน โดยเฉพาะบริเวณพื้นผิวด้านนอกของท่อ ถ้ามีการปนเปื้อนเกิดขึ้นกับวัสดุทดสอบไม่ควรนำมาฝัง และควรหลีกเลี่ยงการสัมผัสกับอากาศ และพื้นผิวของท่อบรรจุวัสดุทดสอบควรเรียบไม่ขรุขระ

- ลักษณะทางกายภาพ (physical characteristics) เช่น รูปร่าง, ลักษณะพื้นผิวของวัสดุควบคุม ควรจะมีลักษณะที่ใกล้เคียงกับวัสดุทดสอบ สำหรับวัสดุทดสอบที่จะต้องนำมาบรรจุในภาชนะ วัสดุที่ควบคุมก็ควรที่จะถูกบรรจุในภาชนะ ที่มีลักษณะเหมือนกันและทำจากวัสดุชนิดเดียวกัน มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายนอก และภายในเท่ากันกับภาชนะที่ใช้บรรจุวัสดุทดสอบ

#### วิธีการทดสอบ

##### 1. เนื้อเยื่อ และ บริเวณที่ทำการฝัง

- การฝังวัสดุทดสอบจะต้องฝังบริเวณเนื้อเยื่อที่ตรงกับเป้าหมายที่จะนำวัสดุไปใช้ทางคลินิกมากที่สุด

- จำนวนของตัวอย่างทดสอบ เนื้อเยื่อ และตำแหน่งที่ทำการฝัง จะถูกเก็บเป็นข้อมูล

- สำหรับวัสดุที่ย่อยสลายได้ (degradable/ resorbable materials) ควรทำ เครื่องหมายที่เหมาะสมไว้ตรงบริเวณตำแหน่งที่ทำการฝังสำหรับบ่งชี้ตำแหน่งที่แน่นอน เมื่อสิ้นสุดการทดสอบ

##### 2. สัตว์ทดลอง

- สัตว์ทดลองต้องได้รับการดูแล ตามมาตรฐาน ISO 10993-2, โดยทั่วไปนิยมใช้สัตว์เล็ก เช่น หนู (mice), แรต (rats), แฮมสเตอร์ (hamster) หรือ กระจ่าง สำหรับการใส่สัตว์ใหญ่อาจจะต้องมีนักวิทยาศาสตร์ผู้เชี่ยวชาญ และได้รับการพิจารณาจากผู้เชี่ยวชาญเป็นพิเศษ

- การเลือก species ตามหลักการใน ISO 10993-2 (Animal welfare) พิจารณาจากขนาดของ วัสดุทดสอบ, จำนวนวัสดุทดสอบที่จะฝังในสัตว์ทดลอง 1 ตัว, ช่วงเวลาในการทดสอบซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับอายุของสัตว์ทดลอง สัตว์ทดลองที่แตกต่างกันอาจทำให้การตอบสนองทางชีวภาพแตกต่างกัน

- โดยทั่วไปสัตว์ที่ใช้สำหรับการทดสอบระยะสั้น (short term) เช่น rodents (สัตว์กัดแทะ) หรือ กระจ่าง

- สัตว์ที่ใช้สำหรับการทดสอบระยะยาว (long term) เช่น สัตว์กัดแทะ (rodents), กระจ่าง, สุนัข, แกะ, แพะ, หมู และสัตว์อื่นที่มีช่วงชีวิตยาว และเหมาะสมกับการทดสอบ
- ก่อนที่จะเริ่มการศึกษาการย่อยสลายของวัสดุทดสอบ (degradable materials) ในสัตว์ทดลอง ควรจะศึกษาการย่อยสลายในระดับห้องปฏิบัติการ (in vitro) ก่อนเพื่อเป็นข้อมูลอ้างอิงเบื้องต้น
- สำหรับการทดสอบวัสดุที่ย่อยสลายได้ (biodegradable materials) ควรศึกษาในสัตว์กัดแทะก่อนที่จะดำเนินการในสัตว์ใหญ่กว่าต่อไป
- วัสดุทดสอบ และ วัสดุควบคุมที่จะนำมาฝังทดสอบ ควรอยู่ในสถานะที่เหมือนกัน และสัตว์ทดลองควรจะเป็นสัตว์สปีชีส์เดียวกันมีอายุ, เพศ เหมือนกัน
- จำนวนและขนาดของตัวอย่างที่นำมาทดสอบที่จะฝังในสัตว์ขึ้นอยู่กับขนาดของสัตว์แต่ละสปีชีส์และบริเวณที่ทำการฝังด้วย
- อย่างไรก็ตามวัสดุทดสอบและ วัสดุควบคุมควรฝังในสัตว์ตัวเดียวกัน

### 3. ระยะเวลาที่ทำการฝัง

- สำหรับวัสดุที่ไม่ย่อยสลาย จะประเมินการตอบสนองในระยะเวลานั้น (short-term) ทั่วไป ประเมินที่เวลา 1-4 สัปดาห์ และการตอบสนองระยะยาว (long-term) ที่เวลาตั้งแต่ 12 สัปดาห์ เป็นต้นไป
- การตอบสนองทางชีวภาพ (local biological) ของวัสดุทดสอบที่ทำการฝัง ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของวัสดุที่นำมาทดสอบและการตอบสนองที่เกี่ยวข้องกับบาดแผลระหว่างการผ่าตัด รูปร่างของเนื้อเยื่อบริเวณข้างเคียงบริเวณที่ทำการฝังทดสอบ ซึ่งจะเปลี่ยนแปลงไปเมื่อเวลาผ่านไปหลังการผ่าตัด
- ภายในสองสัปดาห์แรกหลังจากการฝังทดสอบ ปฏิกริยาการตอบสนองของเนื้อเยื่อบริเวณรอบวัสดุทดสอบที่ฝัง อาจขึ้นอยู่กับวิธีการผ่าตัดด้วย ซึ่งอาจทำให้วินิจฉัยยาก หลังจากสองสัปดาห์ ควรประเมินการย่อยสลายของวัสดุ
- สำหรับวัสดุที่ย่อยสลายได้ ช่วงเวลาในการทดสอบต้องมีความสอดคล้องกับช่วงเวลาในการย่อยสลายของวัสดุที่นำมาทดสอบ
- การตอบสนองของเนื้อเยื่อโดยรอบบริเวณที่ฝัง (Local tissue response) ควรจะประเมินการย่อยสลาย (degradation process) ของวัสดุทดสอบ ที่ช่วงเวลาต่างๆ  
หมายเหตุ: การย่อยสลายในสัตว์ทดลอง (in vivo) อาจจะต้องการช่วงเวลาที่ยาวนาน บางกรณีอาจนานถึง 1 ปี ดังนั้นการทดสอบอาจจะขยายช่วงเวลาออกไปจนกว่าวัสดุทดสอบจะเกิดการย่อยสลายที่สมบูรณ์
- สำหรับช่วงเวลาในการศึกษาการฝังระยะยาว (long term) ดังจะแสดงในตารางที่ 1 เป็น

ช่วงเวลาที่ทำกร sacrifice สัตว์

ตารางที่ 1 การเลือกช่วงเวลาสำหรับการฝังระยะยาวตามชนิดของสัตว์ ตามมาตรฐาน ISO 10993-2

species	Implantation period in weeks				
	12	26	52	78	(104) <sup>a</sup>
Rats	X	X	X		
Guinea pigs	X	X	X		
Rabbits	X	X	X	X	X
Dogs	X	X	X	X	X
Sheep	X	X	X	X	X
Goats	X	X	X	X	X
Pigs	X	X	X	X	X

<sup>a</sup> Depending on the intended use of the test materials, not all implantation periods may be necessary (see ISO 10993-12). An observation period of 104 weeks may be of interest in selected instances.

#### 4. สภาวะในการผ่าตัดและการทดสอบ

- การผ่าตัดควรทำในสภาวะที่สัตว์ทดลองสงบ ชนิดของการสลบที่ใช้ วิธีการสลบที่ใช้ควรได้รับการยอมรับ ตาม ISO 10993-2

- จำนวนของวัสดุที่นำมาฝัง (implants) ต่อสัตว์ทดลอง 1 ตัว และจำนวนของสัตว์ทดลองต่อช่วงเวลาเก็บผล

- เทคนิคการผ่าตัด อาจมีอิทธิพลต่อผลของการฝังการผ่าตัดต้องทำภายใต้สภาวะที่ปลอดภัย และในขั้นตอนการผ่าตัดควรทำให้เกิดบาดแผลตรงบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบให้น้อยที่สุด

- ขนาดของวัสดุที่นำไปฝังขึ้นอยู่กับขนาดของสัตว์ทดลอง ตัวอย่างขนาดวัสดุที่ฝังในแต่ละตำแหน่ง และชนิดของสัตว์ที่ใช้ฝัง แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ตัวอย่างขนาดวัสดุที่ใช้ฝังในสัตว์ชนิดต่างๆ และบริเวณที่ฝัง

บริเวณที่ฝังวัสดุ	ขนาดของวัสดุที่ฝัง
ใต้ชั้นผิวหนัง (subcutaneous)	- วัสดุที่มีรูปร่างเป็นแผ่น เส้นผ่าศูนย์กลาง 10-12 มม. หนา 0.3-1 มม. - วัสดุที่มีรูปร่างเป็นแท่ง เส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 มม. ยาว 5 มม. - วัสดุที่ไม่ใช่ของแข็งรวมถึงวัสดุที่เป็นผง ให้เตรียมใส่ในหลอดที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 มม. ยาว 4.2 มม.
กล้ามเนื้อ (muscle)	- กล้ามเนื้อ paravertebral ของกระดูก กว้าง 1-3 มม. ยาว 10 มม. หรือถ้าตัวอย่างมีขนาดใหญ่ เส้นผ่าศูนย์กลางไม่เกิน 10 มม. หนา 3 มม.
กระดูก (bone)	- วัสดุรูปร่างทรงกระบอกฝังในกระดูก เส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มม. ยาว 6 มม. - วัสดุรูปร่างทรงกระบอกฝังในสุนัข, แกะ และแพะ เส้นผ่าศูนย์กลาง 4 มม. ยาว 12 มม. - วัสดุที่รูปร่างเป็นสกรูสำหรับฝังในกระดูกที่ฝังใน กระต่าย, สุนัข, แพะ, แกะ และ หมู ควรจะมีขนาด 2-4.5 มม.

## 5. การประเมิน

### 5.1 ลักษณะทั่วไป

เป็นการประเมินการตอบสนองทางชีวภาพโดยการเก็บข้อมูลจากการดูด้วยตาเปล่า (macroscopic) และ การตอบสนองทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ (histopathological response) โดยการเปรียบเทียบการตอบสนองของเนื้อเยื่อต่อวัสดุทดสอบกับวัสดุควบคุมตรงบริเวณที่ทำการฝัง

### 5.2 การประเมินด้วยตา (Macroscopic assessment)

- แต่ละบริเวณที่ทำการฝังตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้าง รวมถึงการประเมิน lymph nodes โดยใช้ เลนส์กำลังขยายต่ำ

- การเก็บผล และสังเกตปฏิกิริยาของเนื้อเยื่อบริเวณรอบๆ เช่น haematoma, oedema, encapsulation, gross finding

- บันทึกผลที่ปรากฏ, ลักษณะ รวมถึงส่วนที่เหลืออยู่ของวัสดุ (degradable materials) บันทึกผลโดยการถ่ายรูปเก็บเป็นข้อมูล

- การประเมินควรตรวจสอบอย่างละเอียดหลังจากฝังวัสดุ (implant) อย่างไรก็ตาม สัตว์ทดลองที่แสดงอาการเจ็บป่วย ไม่สบาย หรือ ปฏิกิริยาที่เกิดจากการ ฝังวัสดุทดสอบ ทำการตัดชิ้นเนื้อออกมาดู

### 5.3 การฟื้นคืนสภาพเดิมและการเก็บเนื้อเยื่อตัวอย่าง (Implant retrieval and tissue sample collection)

- สำหรับวัสดุทดสอบที่ไม่ย่อยสลาย (non degradable materials implant) ควรจะเก็บผล draining lymph node โดยการแสดงผล gross pathology
- สำหรับวัสดุที่ย่อยสลาย (degradable materials implant) ควรจะเก็บผล draining lymph node ซึ่งจะมีความเกี่ยวข้องกับการแสดงการเคลื่อนตัวของวัสดุที่ย่อยสลาย
- วิธีการตัดชิ้นเนื้อตัวอย่างควร ทำตามความเหมาะสม ตามวิธีการที่ต้องการ การประเมินทางเนื้อเยื่อวิทยา (histological) รวมถึงการ fix ชิ้นเนื้อเยื่อ, ตัด, วาง ย้อม และบันทึกผล

### 5.4 การประเมินด้วยการใช้กล้องจุลทรรศน์ (Microscopic assessment)

- ระบบการให้คะแนนใช้สำหรับการประเมินเนื้อเยื่อวิทยา (histological evaluation) ควรจะประเมินผลบริเวณรอบๆของพื้นที่บริเวณที่ฝัง ประเมินลักษณะเชิงปริมาณ หรือ ประเมินกึ่งปริมาณ
- บันทึกผลบริเวณที่ทำการฝัง (implant) โดยการบันทึกข้อมูลจากภาคตัดขวาง (section) ที่ได้ Parameters ที่ใช้วัดการตอบสนองทางชีวภาพ ซึ่งควรจะประเมินและบันทึกผลดังนี้:

- 1) บริเวณของการเกิด fibrosis/fibrous capsule (layer in micrometres) และ inflammation
- 2) การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อประเมินโดยดูจากการเปลี่ยนแปลงในรูปร่างของเนื้อเยื่อ
- 3) จำนวนและการกระจายของเซลล์ที่แสดงถึงการอักเสบ (inflammatory cell type) เช่น polymorph nuclear neutrophilic leucocytes, lymphocyte, plasma cells, eosinophils, macrophages and multinucleated cells โดยนับจากบริเวณรอยต่อระหว่างวัสดุทดสอบกับเนื้อเยื่อโดยรอบ
- 4) การเกิด necrosis
- 5) การเปลี่ยนแปลงอื่นๆ ของเนื้อเยื่อ เช่น การเกิดเส้นเลือดใหม่ (neovascularization), fatty infiltration, granuloma formation และ bone formation (การสร้างกระดูก)
- 6) การดู material จะใช้พารามิเตอร์ที่วัดดูจาก การแตกเป็นชิ้นเล็กๆ (fragmentation) เศษที่เหลืออยู่ (debris presence) จาก บริเวณของส่วนที่เหลือของวัสดุที่ย่อยสลาย (degraded material)
- 7) คุณภาพ, ลักษณะ และจำนวน ของเนื้อเยื่อที่เข้ามา (The quality and quantity of tissue ingrowth) สำหรับวัสดุที่เป็นรูพรุนและมีการย่อยสลาย (porous and degradable implant materials)
- 8) ผลของ histological response ควรจะบันทึกผลโดยใช้ photomicrograph

การประเมินการตอบสนองของบริเวณเนื้อเยื่อโดยรอบหลังจากทำการฝัง

เป็นการประเมินเนื้อเยื่อ โดยดูการเกิด capsule (capsule formation), การอักเสบ, การปรากฏของ polymorphonuclear cells, giant cells, plasma cell และการย่อยสลายของวัสดุ

ตารางที่ 3 แสดงการให้คะแนนการตอบสนองของเนื้อเยื่อบริเวณรอบชิ้นงานที่ฝัง

Cell type/response	Score				
	0	1	2	3	4
Polymorphonuclear cells	0	Rare, 1-5/phf <sup>a</sup>	5-10/phf	Heavy infiltrate	Packed
Lymphocytes	0	Rare, 1-5/phf <sup>a</sup>	5-10/phf	Heavy infiltrate	Packed
Plasma cells	0	Rare, 1-5/phf <sup>a</sup>	5-10/phf	Heavy infiltrate	Packed
Macrophages	0	Rare, 1-5/phf <sup>a</sup>	5-10/phf	Heavy infiltrate	Packed
Giant cells	0	Rare, 1-5/phf <sup>a</sup>	5-10/phf	Heavy infiltrate	Packed
Necrosis	0	Rare, 1-5/phf <sup>a</sup>	5-10/phf	Heavy infiltrate	Packed

<sup>a</sup> phf = per high powered (400 x) field.

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 แสดงการให้คะแนนการตอบสนองของเนื้อเยื่อบริเวณรอบชิ้นงานที่ฝัง

Response	Score				
	0	1	2	3	4
Neovascularisation	0	Minimal capillary proliferation, focal, 1-3 buds	Groups of 4-7 capillaries with supporting fibroblastic structures	Broad band of capillaries with supporting structures	Extensive band of capillaries with supporting fibroblastic structures
Fibrosis	0	Narrow band	Moderately thick band	Thick band	Extensive band
Fatty infiltrate	0	Minimal amount of fat associated with fibrosis	Several layers of fat and fibrosis	Elongated and broad accumulation of fat cells about the implant site	Extensive fat completely surrounding the implant

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 ตารางรวมคะแนน

Test sample:	Implantation interval:					
Animal number:	Test sample			Control sample		
<b>Inflammation</b>						
Polymorphonuclear						
Lymphocytes						
Plasma cells						
Macrophages						
Giant cells						
Necrosis						
SUB-TOTAL (x 2)						
<b>Neovascularisation</b>						
<b>Fibrosis</b>						
<b>Fatty infiltrate</b>						
SUB-TOTAL						
TOTAL						
GROUP TOTAL						
AVERAGE <sup>a</sup>	TEST - CONTROL =					
Traumatic necrosis						
Foreign debris						
No. site examined						
<sup>a</sup> Used to determine irritant ranking shown below as the conclusion. A negative difference is recorded as zero.						

ศูนย์เวชศาสตร์พิษวิทยา  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



หากทดสอบตามเงื่อนไขที่กำหนดสามารถแปลผลวัสดุที่ทดสอบได้ดังนี้

คะแนนที่ได้ = คะแนนของวัสดุทดสอบ Pore Skin® – คะแนนของวัสดุควบคุม Gel foam®

พิจารณาจากคะแนนที่ได้ ดังนี้

คะแนน 0.0 - 2.9 คือไม่ระคายเคือง (non-irritant)

คะแนน 3.0 - 8.9 คือระคายเคืองเล็กน้อย (slight irritant)

คะแนน 9.0 – 15.0 คือระคายเคืองปานกลาง (moderate irritant)

คะแนนมากกว่า 15 คือระคายเคืองมาก (severe irritant)

## หมายเหตุ

คะแนนที่ได้หมายถึงปฏิกิริยาระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อของวัสดุทดสอบเมื่อเทียบกับวัสดุควบคุมที่ได้รับการยอมรับว่าไม่ระคายเคือง

## 2.2 การทดสอบการตอบสนองต่อปฏิกิริยาการอักเสบของระบบภูมิคุ้มกันและความเข้ากันได้ทางชีวภาพโดยวิธี ELISA ตามมาตรฐาน ASTM: F 1906-98 (Evaluation of Immune Responses in Biocompatibility Testing Using ELISA Test)<sup>(6)</sup>

วิธีการทดสอบครอบคลุมการเกิดสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกายที่เหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างของการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันอาจจะทำให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่อ วิธีการมาตรฐานสำหรับการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพ มีการศึกษาหลายวิธีในสัตว์ทดลอง โดยใช้การตรวจผลจากเลือด หรือ เนื้อเยื่อ ของสัตว์ทดลอง โดยเทคนิคที่ใช้ทดสอบต้องมีคุณสมบัติ ดังนี้ สามารถนำมาใช้ได้ง่าย, น่าเชื่อถือ และ วัตถุประสงค์แปลกปลอมที่มากกระตุ้น

วิธีการนี้ใช้ในการประเมินความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุ ที่ใช้ในด้านอุปกรณ์ทางการแพทย์ในส่วนของการตอบสนองของภูมิคุ้มกัน การทดสอบจะทดสอบโดยใช้เลือด ซีรัม หรือ พลาสมา โดยใช้วิธี enzyme linked immunoassays (ELISA)

วิธีการทดสอบโดยวิธี ELISA มีขั้นตอนพื้นฐานดังต่อไปนี้

1. เคลือบผิวของไมโครเพลทด้วยแอนติบอดีที่จำเพาะต่อแอนติเจนที่ต้องการตรวจหาในสารตัวอย่างหลุม
2. เติมแอนติเจนที่ไม่ทราบความเข้มข้น พร้อมกับแอนติเจนอีกชนิดที่ติดฉลากเอนไซม์คอนจูเกต (enzyme conjugate) ลงไป ซึ่งทั้งคู่จะแย่งกันลงไปจับกับแอนติบอดีที่เคลือบผิวไมโครเพลทเอาไว้ ซึ่งส่วนไหนมีจำนวนมากกว่าก็จะเข้าจับได้มากกว่า
3. ล้างเพลท เพื่อให้แอนติเจนที่ไม่เกิดพันธะถูกล้างออกไปให้หมด
4. ใส่ substrate ซึ่งสามารถเปลี่ยนสภาพโดยเอนไซม์คอนจูเกตได้ลงไป ซึ่งเอนไซม์จะกระตุ้นให้เกิดสีเป็นสัญญาณแบบchromogenic หรือ fluorescent ได้

5. ตรวจจับสัญญาณที่เกิดขึ้นโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง นำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

### 2.3 การสร้างเซลล์เม็ดเลือดขาว (Leukopoiesis) <sup>(7)</sup>

เม็ดเลือดขาวในร่างกายแบ่งออกเป็นสองกลุ่มใหญ่ คือ Phagocytes และ Immunocytes โดย Phagocytes ประกอบด้วย Granulocytes (Neutrophil, Eosinophil, Basophil) และ Monocyte ส่วน Immunocytes ประกอบด้วย T และ B-lymphocytes การสร้างเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ เป็นไปตามแผนผังการสร้างเซลล์เม็ดเลือดชนิดต่างๆ ยกเว้น Immunocytes จะพัฒนามาจาก Pluripotent stem cell → Lymphoid stem cell → B&T lymphocytes

#### The phagocytic leukocytes

##### Granulocytes

ประกอบด้วย Neutrophil ซึ่งพบว่ามีจำนวนมากที่สุดในกระแสเลือด มีหน้าที่ทำลายเชื้อแบคทีเรีย และ เชื้อรา Eosinophil มีหน้าที่ทำลายพยาธิและเกี่ยวข้องกับกระบวนการภูมิแพ้ และ Basophil มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดภูมิแพ้

#### Formation & kinetics of granulocytes

การสร้าง Granulocytes ชนิดต่างๆ ในไขกระดูก มีลำดับขั้นตอนคล้ายกัน เพราะฉะนั้นในที่นี้จะขอกล่าวเฉพาะการสร้าง Neutrophil เท่านั้น โดยการสร้าง Neutrophil นั้นเริ่มจาก Stem cell ในไขกระดูกแบ่งตัวกำเนิดเป็น Myeloblast ซึ่งเซลล์นี้จะใช้เวลาอีก ประมาณ 5-6 วันในไขกระดูก แบ่งตัวและปรับเปลี่ยนตัวเองเพื่อไปทำหน้าที่ต่อไป ลำดับขั้นตอนในการเจริญของ Neutrophil มีดังต่อไปนี้

Stem cell → Myeloblast → Promyelocyte → Myelocyte → Metamyelocyte → Band neutrophil → Segmented neutrophil

ซึ่ง Segmented neutrophil นี้จะสะสมกันอยู่ในไขกระดูกเป็น Bone marrow pool รอเวลาออกจากไขกระดูกไปอยู่ในกระแสเลือดเป็น Blood pool ในภาวะปกติระยะที่อยู่ในกระแสเลือดนี้จะมีการกระจายตัวของ Neutrophil เป็นสองส่วนเท่าๆกัน โดยส่วนหนึ่งไหลเวียนในระบบเลือดเป็น Circulating pool และอีกส่วนหนึ่งยึดเกาะอยู่กับผนังหลอดเลือดเป็น Marginating pool รวมเวลาที่อยู่ในกระแสเลือดนานประมาณ 6-10 ชั่วโมง ก่อนเดินทางออกไปสู่เนื้อเยื่อต่างๆ ต่อไป

##### Monocytes

เป็นเซลล์เม็ดเลือดที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในกระแสเลือด มีหน้าที่เป็น antigen presenting cells (APC) ซึ่งจะจับกินสิ่งแปลกปลอมต่างๆ แล้วส่งต่อให้กับ Lymphocyte แล้วกระตุ้นร่างกายให้เกิดการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมโดย Lymphocytes นอกจากนี้ยังสามารถผลิต Monokines ซึ่งใช้กระตุ้นเซลล์ชนิดอื่นๆ ให้เติบโตและพัฒนาต่อไป

### Formation & kinetics of monocytes

การสร้าง Monocytes นั้นมีจุดเริ่มในไขกระดูก โดยมีขั้นตอนการเจริญดังต่อไปนี้ Stem cell → Monoblast → Promonocyte → Monocyte พบว่า มีการใช้ Cytokine ต่อไปนี้ ได้แก่ IL-3, GM-CSF, M-CSF (monocyte colony-stimulating factor) ในการสร้าง Monocytes ซึ่งใช้เวลาประมาณ 5-6 วัน จากนั้นก็จะออกไปอยู่ในกระแสเลือดประมาณ 2-3 วัน ก่อนจะเข้าไปอยู่ในเนื้อเยื่อต่างๆ กลายเป็น Tissue macrophage (histiocyte) ต่อไป จากการศึกษาพบว่า Tissue macrophage นี้มีอายุขัยได้ยาวนานตั้งแต่หลายๆ เดือนถึงหลายๆ ปีทีเดียว

### The immune leukocytes

#### Lymphocytes

เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีขนาดเล็กที่สุดในกระแสเลือด มีหน้าที่สำคัญในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายที่เกิดขึ้นภายหลัง (Acquired immune system) โดย T-cells จะทำลายสิ่งแปลกปลอมด้วยการหลั่ง Lymphokines ส่วน B-cells จะทำลายสิ่งแปลกปลอมด้วย Antibodies ที่สร้างขึ้น

#### Formation & kinetics of lymphocytes

การสร้าง T&B Lymphocytes ในร่างกายจะมีลำดับขั้นตอนทั้งส่วนที่คล้ายและแตกต่างกัน ในที่นี้จะขอกล่าวพอสังเขป โดยการสร้าง T-cells นั้นเริ่มมาจาก Stem cell ในไขกระดูกแบ่งตัวกำเนิดเป็น Pre-T cell ซึ่งเซลล์นี้จะเดินทางไปยังต่อมธัยมัส แบ่งตัวและปรับเปลี่ยนตัวเองเพื่อไปทำหน้าที่ต่อไป ลำดับขั้นตอนในการเจริญของ T lymphocyte มีดังต่อไปนี้ Stem cell (bone marrow) → Pre-T cell → Thymocyte (thymus gland) → T lymphocyte จากนั้น T-cell เหล่านี้จะถูกกระตุ้นด้วย Antigen ที่เหมาะสมแล้วเกิดกระบวนการที่ตามมา คือ activated T lymphocyte → Lymphoblast → Polymphocyte → Effector T-cell (memory T-cell & mature active T-cell) ส่วนการสร้าง B-cells นั้นเกิดในไขกระดูก โดยเริ่มตามขั้นตอนต่อไปนี้ Stem cell → Pre pre-B → Pre -B → Early B (virgin B) lymphocytes จากนั้น Virgin B-cell เหล่านี้จะถูกกระตุ้นด้วย Antigen ที่เหมาะสมแล้วเกิดกระบวนการที่ตามมา คือ activated B lymphocyte → lymphoblast (plasmablast) → Polymphocyte (proplasmacyte) → Effector B-cell (memory B-cell & plasma cell)

จากการศึกษาพบว่า Lymphocyte ทั้งหมดใช้เวลาไหลเวียนในร่างกายแต่ละรอบ รอบละประมาณ 10 ชั่วโมง และเป็น T-cell ถึงร้อยละ 80 ซึ่งจะหมุนเวียนกลับมาที่ paracortical area of lymph node & periarterial lymphatic sheath of spleen ส่วน B-cell นั้นจะเวียนกลับมาที่ germinal follicles of lymph nodes and spleen & outer cortex of lymph nodes

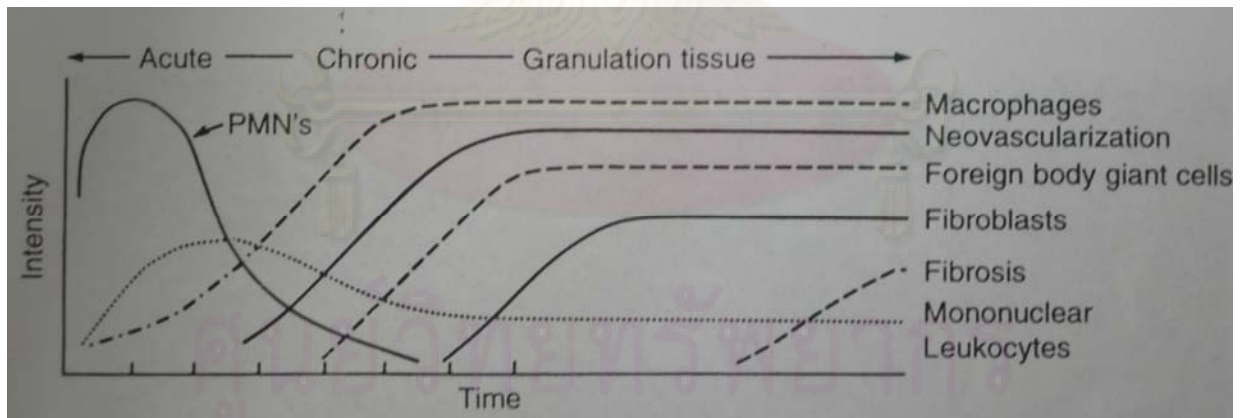
ตารางที่ 6 ปริมาณที่เพิ่มมากขึ้นของเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิด (Quantitative abnormality)

Cell type	Term	Cell count ( $\times 10^9/L$ )
Neutrophils	Neutrophilia	> 8.0
Eosinophils	Eosinophilia	> 0.7
Basophils	Basophilia	> 0.3
Monocyte	Monocytosis	> 1.0
Lymphocytes	Lymphocytosis	> 4.5

## 2.4 การอักเสบ <sup>(8, 9, 10)</sup>

การอักเสบ (inflammation) เป็นกระบวนการที่ร่างกายตอบสนองต่อสิ่งที่ทำให้เนื้อเยื่อของร่างกายได้รับบาดเจ็บ เช่น เชื้อโรค การตายของเซลล์จากการขาดเลือดหรือขาดออกซิเจน โดยตอบสนองโดยกระบวนการอักเสบประกอบด้วย การเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือด การเข้ามาของเซลล์เม็ดเลือดขาว และผลกระทบทที่เกิดขึ้นกับร่างกายทั้งระบบ (systemic effect)

กระบวนการอักเสบประกอบด้วยปฏิกิริยาของเนื้อเยื่อหลักๆ 2 ชนิด นั่นคือ การเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือด และการตอบสนองของเซลล์ชนิดต่างๆ ได้แก่ เซลล์อักเสบ และเซลล์ fibroblasts ซึ่งพบในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน การเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือด



ภาพที่ 5 แสดงกระบวนการเกิดการอักเสบ และเซลล์อักเสบชนิดต่างๆ <sup>(11)</sup>

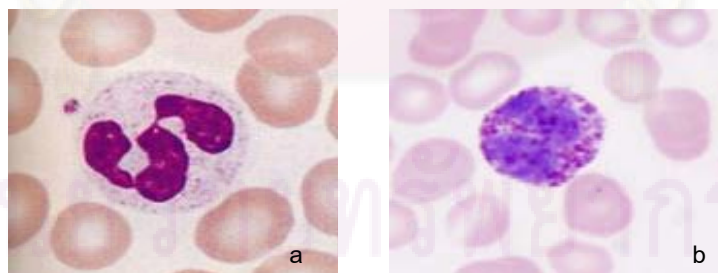
กระบวนการอักเสบ สามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ การอักเสบเฉียบพลัน (acute inflammation) และการอักเสบเรื้อรัง (chronic inflammation)

1. การอักเสบเฉียบพลัน (acute inflammation) การอักเสบแบบเฉียบพลันจะเกิดขึ้นรวดเร็ว ภายในระยะเวลาเป็นวินาทีหรือเป็นนาทีหลังจากได้รับสิ่งกระตุ้นและคงอยู่ประมาณ 2 ถึง 3 วัน แต่มักไม่เกิน 1 สัปดาห์ ลักษณะสำคัญของการอักเสบเฉียบพลัน คือ การบวมของเนื้อเยื่อ (edema) และพบเซลล์อักเสบชนิด neutrophils ลักษณะทางคลินิกของการอักเสบ โดยเฉพาะการอักเสบเฉียบพลันจะประกอบด้วยอาการหลัก 4 อาการ คือ ปวด (pain, dolor), บวม (swelling, tumor), แดง (redness, rubor) และร้อน (heat, calor)

เซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบเฉียบพลันได้แก่ neutrophil, basophil

Neutrophil (ภาพที่6a): เป็นเซลล์สำคัญที่สุดในการอักเสบเฉียบพลันเกือบทุกชนิด มีการเคลื่อนที่และเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ตลอดเวลา มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 10-15 ไมครอน ภายในไซโทพลาสซึมมี granule ขนาดต่างกันอยู่ประมาณ 50-200 เม็ด นิวเคลียสของ neutrophil เป็น lobe ประมาณ 3-4 lobe neutrophil สร้างไนไซกระดุก และถูกปล่อยเข้ากระแสเลือดเมื่อโตเต็มที่ จากนั้นจะเข้าไปอยู่ในเนื้อเยื่อ ประมาณ 1-2 วันก็ตาย หรือถูกใช้เก็บกินสิ่งแปลกปลอม หน้าที่หลักของ neutrophil คือ เก็บกินจุลินทรีย์ หรือสิ่งแปลกปลอมเข้ามาในร่างกาย

Basophil (ภาพที่6b): พบในเลือดประมาณร้อยละ 1 ของเม็ดเลือดขาว ขนาดของเซลล์พอกับ neutrophil ในไซโทพลาสซึมมี granule ขนาดใหญ่ บรรจุ histamine และ heparin เมื่อ basophil ไปอยู่ในเนื้อเยื่อเรียกว่า mast cell เซลล์ชนิดนี้มีความสำคัญในปฏิกิริยา hypersensitivity เมื่อแอนติบอดีชนิด IgE จับกับ basophil จะกระตุ้นให้ปล่อยสาร histamine ออกมา ทำให้หลอดเลือดขยายตัวและเกิดการอักเสบขึ้น



ภาพที่ 6 แสดงเซลล์อักเสบชนิดเฉียบพลัน (acute inflammation)

6a เซลล์อักเสบเฉียบพลันชนิด Neutrophil <sup>(12)</sup>

6b เซลล์อักเสบเฉียบพลันชนิด Basophil <sup>(13)</sup>

2. กระบวนการอักเสบเรื้อรัง (chronic inflammation) หมายถึงการอักเสบที่เกิดขึ้นเป็นเวลานาน เป็นสัปดาห์หรือเป็นเดือนลักษณะการเปลี่ยนแปลงในเนื้อเยื่อจะพบเซลล์อักเสบหลายๆ ชนิด มีการทำลายเนื้อเยื่อบางส่วนและจะเกิดกระบวนการซ่อมแซมเนื้อเยื่อควบคู่กันไป การอักเสบเรื้อรังจะพบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ คือ พบเซลล์อักเสบหลายๆ ชนิด เกิดการทำลายเนื้อเยื่อบางส่วน และเกิดกระบวนการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ ซึ่งแตกต่างจากการอักเสบชนิดเฉียบพลัน ซึ่งจะพบการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือด การบวมของเนื้อเยื่อ

โดยทั่วไปถือเอาระยะเวลาของการอักเสบเป็นหลัก กล่าวคือถ้าการอักเสบนานหลายสัปดาห์หรือเป็นเดือนจะถือเป็นการอักเสบแบบเรื้อรัง การแยกที่ดีที่สุดคือการดูจากปฏิกิริยาและเซลล์ที่ตอบสนองต่อการอักเสบ

ลักษณะของการอักเสบเรื้อรัง ประกอบด้วย

1. พบการแทรกซึมของเซลล์อักเสบชนิด mononuclear cells ได้แก่ macrophages, lymphocytes และ plasma cells
2. พบการทำลายเนื้อเยื่อ เนื่องจากมีการหลั่งสารกระตุ้นจากเซลล์อักเสบชนิดต่างๆ
3. พบกระบวนการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ มีการสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเข้ามาแทนที่

เซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบเรื้อรังได้แก่ Macrophage, Giant cell (multinucleated giant cell), Lymphocyte, Eosinophil และ Fibroblast

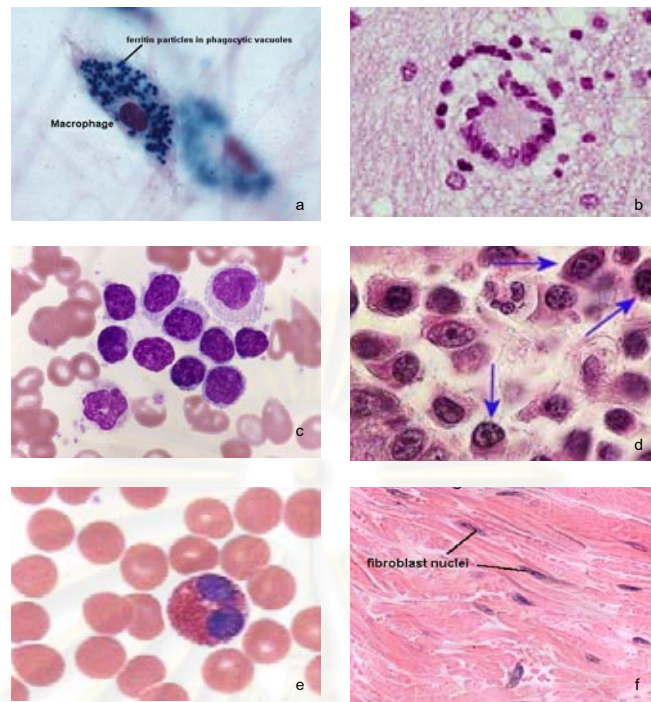
Macrophage (ภาพที่ 7a): มีบทบาทในการเก็บกินจุลินทรีย์หรือสิ่งแปลกปลอมและมีหน้าที่เกี่ยวกับการอักเสบและระบบภูมิคุ้มกัน

Giant cell (multinucleated giant cell) (ภาพที่ 7b) เกิดจากการรวมตัวกันของ macrophage ได้เป็นเซลล์ขนาดใหญ่ที่มีหลายนิวเคลียส

Lymphocyte (ภาพที่ 7c), Plasma cell; plasma cell (ภาพที่ 7d) เป็นตัวสร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจน ส่วน lymphocyte มีความสำคัญในระบบภูมิคุ้มกัน โดยทำงานสัมพันธ์กับ macrophage

Eosinophil (ภาพที่ 7e): พบบ่อยในการอักเสบเรื้อรัง

Fibroblast (ภาพที่ 7f): ทำหน้าที่สร้าง collagen พบในบริเวณที่มีการอักเสบเรื้อรังที่เริ่มมีการซ่อมแซมเนื้อเยื่อสำหรับ neutrophil ยังคงพบได้ในการอักเสบเรื้อรังบางอย่าง เช่น การอักเสบเรื้อรังของกระดูก (osteomyelitis)



ภาพที่ 7 แสดงเซลล์อักเสบชนิดเรื้อรัง (chronic inflammation)

7a เซลล์อักเสบเรื้อรังชนิด Macrophage <sup>(14)</sup>

7b เซลล์อักเสบเรื้อรังชนิด Giant cell <sup>(15)</sup>

7c เซลล์อักเสบเรื้อรังชนิด Lymphocyte <sup>(16)</sup>

7d เซลล์อักเสบเรื้อรังชนิด Plasma cell <sup>(17)</sup>

7e เซลล์อักเสบเรื้อรังชนิด Eosinophil <sup>(18)</sup>

7f เซลล์อักเสบเรื้อรังชนิด Fibroblast <sup>(19)</sup>

## 2.5 ระบบภูมิคุ้มกัน (Immune System) <sup>(20, 21, 22)</sup>

ระบบภูมิคุ้มกัน คือ ระบบที่ทำหน้าที่ตอบโต้ หรือตอบสนองต่อเชื้อโรคหรือสิ่งแปลกปลอมที่เรียกกันว่าแอนติเจน เพื่อให้ร่างกายสามารถกำจัดสิ่งแปลกปลอม หรือสามารถต้านทานโรคได้ โดยอาศัยการทำงานร่วมกันของอวัยวะ เซลล์เม็ดเลือดขาว และสารน้ำต่างๆ อย่างมีประสิทธิภาพ และเหมาะสม

### การตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน (Immune Response)

การตอบสนองของภูมิคุ้มกันสามารถแบ่งออกเป็น 2 แบบคือ การตอบสนองแบบที่ไม่จำเพาะต่อชนิดของสิ่งแปลกปลอม (non-specific immune response) และการตอบสนองอย่างจำเพาะต่อชนิดของสิ่งแปลกปลอม (specific immune response)

### 1. การตอบสนองของภูมิคุ้มกันที่ไม่จำเพาะ (Non-Specific Immune Response)

หมายถึงการตอบสนองของภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะต่อสิ่งกระตุ้น เป็นการตอบสนองของภูมิคุ้มกันที่มีมาแต่กำเนิด (innate immunity) หรือเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (nature immunity)

### 2. กลไกการป้องกันตนเองที่จำเพาะ (Specific Immune Response)

หมายถึงกลไกที่ร่างกายสามารถต่อต้านจุลชีพ หรือสิ่งแปลกปลอมด้วยปฏิกิริยาที่จำเพาะต่อสิ่งแปลกปลอมนั้น ซึ่งเป็นกลไกที่เกิดขึ้นภายหลัง (acquired หรือ adaptive immunity)

### เซลล์ที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน (Cells of the Immune System)

เซลล์ที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันเป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ ที่มีเซลล์ต้นกำเนิดอยู่ในไขกระดูก เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดที่พบในกระแสเลือดได้แก่ polymorphonuclear cell; PMN (neutrophil, eosinophil, basophile), mononuclear cell (lymphocyte, monocyte) ส่วนเซลล์เม็ดเลือดขาวที่พบในเนื้อเยื่อต่างๆ ได้แก่ macrophage, plasma cell ในขบวนการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันนั้นจำเป็นต้องอาศัยการทำงานร่วมกันของเซลล์หลายๆชนิด เช่น lymphoid cells, inflammatory cells และ hematopoietic cell จึงจำเป็นต้องมีการติดต่อสื่อสารกันระหว่างเซลล์ต่างๆ ซึ่งการติดต่อสื่อสารกันระหว่างเซลล์ต่าง ๆ นั้นอาศัยไซโตไคน์

## 2.6 ไซโตไคน์ (Cytokine) <sup>(23)</sup>

ในขบวนการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันนั้นจำเป็นต้องอาศัยการทำงานร่วมกันของเซลล์หลายๆ ชนิด เช่น lymphoid cells, inflammatory cells และ hematopoietic cells จึงจำเป็นต้องมีการติดต่อสื่อสารกันระหว่างเซลล์ต่างๆ ซึ่งการติดต่อสื่อสารกันระหว่างเซลล์ต่าง ๆ นั้นอาศัยไซโตไคน์

### 1. คุณสมบัติทั่วไปของไซโตไคน์

ไซโตไคน์ เป็นสารโปรตีนหรือไกลโคโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (low-molecular-weight protein or glycoprotein) หลังออกมาจากเซลล์ต่างๆ ในระบบภูมิคุ้มกันเมื่อถูกกระตุ้น ไซโตไคน์มีชื่อเรียกต่างกันตามเซลล์ที่สร้าง เช่นสร้างจาก lymphocyte เรียกว่า lymphokine สร้างจาก monocyte และ macrophage เรียกว่า monokine และเรียกไซโตไคน์ที่สร้างจากเม็ดเลือดขาว (leukocyte) ทุกชนิดว่า interleukin ไซโตไคน์ที่มีคุณสมบัติกระตุ้นให้เกิดการเคลื่อนที่ของเซลล์ (chemotaxis) จะมีชื่อเรียกว่า chemokine นอกจากนี้ไซโตไคน์บางชนิดยังมีชื่อเรียกเฉพาะเช่น interferon หรือ tumor necrotic factor เป็นต้น สำหรับคุณสมบัติที่สำคัญของไซโตไคน์ได้แก่

1. ไซโตไคน์จับกับ cytokine receptor อย่างเหนียวแน่น (high affinity) จึงมีประสิทธิภาพสูงในระดับความเข้มข้นเพียงพิโคโมลา (picomolar concentration)

2. เมื่อมีการจับกันระหว่างไซโตไคน์และ cytokine receptor แล้วจะก่อให้เกิด signal transduction ในเซลล์นั้นเกิดการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีน ก่อให้เกิดการสร้างโปรตีนต่างๆ ตามมา



3. การทำงานของไซโตไคน์เมื่อหลั่งออกมาแล้วอาจออกฤทธิ์ต่อเซลล์ได้ 3 แบบ คือ

- เซลล์ชนิดเดียวกันกับเซลล์ที่หลั่งเรียกว่า autocrine action
- เซลล์ต่างชนิดกันกับเซลล์ที่หลั่งที่อยู่ข้างเคียงเรียกว่า paracrine action
- เซลล์ต่างชนิดกันกับเซลล์ที่หลั่งที่อยู่ไกลออกไปจากเซลล์ที่หลั่งเรียกว่า endocrine action

4. ไซโตไคน์มีอายุสั้น โดยทั่วไปจะมีฤทธิ์อยู่เพียงไม่กี่ชั่วโมงหรือไม่กี่วัน ซึ่งแตกต่างจากฮอร์โมน และ growth factor ที่มีฤทธิ์อยู่นานมากกว่า

5. ไซโตไคน์มักออกฤทธิ์กับเซลล์หลายชนิด ซึ่งต่างจากฮอร์โมนและ growth factor ที่ออกฤทธิ์กับเซลล์ที่จำเพาะบางชนิดเท่านั้น

6. ผลของไซโตไคน์ต่างๆ ที่หลั่งออกมา จะมีฤทธิ์ได้หลายรูปแบบคือ

- ไซโตไคน์ 1 ชนิดมักมีฤทธิ์ทางชีวภาพมากกว่า 1 อย่างและออกฤทธิ์ต่อเซลล์มากกว่า 1 ชนิด เรียกคุณสมบัตินี้ว่า redundancy
- ไซโตไคน์หลายชนิดเมื่อหลั่งออกมาพร้อมกันอาจจะเสริมฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งกันและกันเรียกคุณสมบัตินี้ว่า synergy
- ไซโตไคน์หลายชนิดเมื่อหลั่งออกมาพร้อมกันอาจจะต้านฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งกันและกันเรียกคุณสมบัตินี้ว่า antagonism
- ไซโตไคน์หลายชนิดเมื่อหลั่งออกมาแล้วจะสามารถกระตุ้นให้เซลล์อื่นสร้างไซโตไคน์ชนิดเดียวกันหรือชนิดอื่นๆ ต่อไปเรื่อยๆ เป็นเครือข่าย เรียกคุณสมบัตินี้ว่า cascade induction

## II. ชนิดของไซโตไคน์และหน้าที่ทางชีวภาพ

ไซโตไคน์มีหน้าที่ที่สำคัญ 3 อย่างคือ

- ก่อให้เกิดและควบคุมการเกิด innate immunity
- ก่อให้เกิดและควบคุมการเกิด adaptive immunity
- กระตุ้นให้เกิด hematopoiesis

สามารถแบ่งไซโตไคน์ตามหน้าที่ทางชีวภาพออกได้ดังนี้

1. ไซโตไคน์ที่ก่อให้เกิดและควบคุมการเกิด innate immunity

a) Tumor necrotic factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$  , cachectin) สร้างจาก monocyte, macrophage, lymphocyte และ mast cell มีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้เกิด apoptosis ของเซลล์ต่างๆ ทำให้เกิดการแสดงออกของ adhesion molecule ของ endothelial cell และกระตุ้น monocyte/macrophage ให้สร้าง TNF- $\alpha$  และ ไซโตไคน์อื่นๆ เช่น Interleukin-1 (IL-1), Interleukin-6 (IL-6) และ chemokine TNF- $\alpha$  ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง (hypothalamus) ทำให้มีไข้ เบื่ออาหาร กระตุ้น hepatocyte ให้สร้าง acute phase proteins ออกฤทธิ์ต่อระบบหัวใจและหลอดเลือดทำให้

ความดันโลหิตต่ำลงและเกิดภาวะ capillary leak syndrome และเกิดการทำลายเนื้อเยื่อต่างๆได้ พบว่า lipopolysaccharide (LPS) ซึ่งเป็น endotoxin และเป็นส่วนกระตุ้น monocyte/ macrophage ให้หลั่ง TNF- $\alpha$  ได้

b) Interleukin-1 มี 2 forms คือ IL-1 $\alpha$  และ IL-1 $\beta$  มีหน้าที่และเซลล์ต้นกำเนิดคล้ายกับ TNF ทั้ง LPS และ TNF สามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้าง IL-1 นอกจาก IL-1 $\alpha$  และ IL-1 $\beta$  แล้วยังมี soluble form ที่เรียกว่า IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) ซึ่งสามารถแย่ง IL-1 จับกับ IL-1 receptor IL-1Ra จึงมีผลในการยับยั้งการทำงานของ IL-1

c) Chemokines เป็นกลุ่มของไซโตไคน์ที่มีคุณสมบัติ chemoattractant สร้างโดยเซลล์เม็ดเลือดขาว endothelial cell, epithelial cell และ fibroblast เมื่อถูกกระตุ้นโดยเชื้อโรค, TNF, IL-1 หน้าที่สำคัญของ chemokine คือ ชักนำเซลล์เม็ดเลือดขาวต่างๆ จากกระแสเลือดมายังบริเวณที่มีการอักเสบติดเชื้อมือกฉีพวหนึ่งโดยทำงานร่วมกับ TNF, IL-1 chemokine แบ่งเป็น 4 กลุ่มตามการเรียงตัวของ conserved cysteine motif โดย X หมายถึงกรดอะมิโนที่คั่นระหว่าง cysteine ได้แก่

- CC family ซึ่งมี cysteine 2 ตัวต่อกัน chemokine กลุ่มนี้ทำหน้าที่ดึงดูดเม็ดเลือดขาวชนิด monocyte, lymphocyte, eosinophil receptor ของ chemokine กลุ่มนี้คือ CCR1-CCR11 โดย CCR5 เป็น co-receptor ของเชื้อ HIV

- CXC family ซึ่งมี cysteine 2 ตัวที่มีกรดอะมิโน 1 ตัวคั่นระหว่าง cysteine chemokine กลุ่มนี้ทำหน้าที่ดึงดูดเม็ดเลือดขาวชนิด neutrophil receptor ของ chemokine กลุ่มนี้คือ CXCR1-CXCR6 โดย CXCR6 เป็น co-receptor ของเชื้อ HIV

- C family ซึ่งมี cysteine เพียงตัวเดียว

- CX<sub>3</sub>C family ซึ่งมี cysteine 2 ตัวที่มีกรดอะมิโน 3 ตัวคั่นระหว่าง cysteine

Chemokines ส่วนใหญ่จะอยู่ใน CC หรือ CXC family ส่วน C และ CX<sub>3</sub>C family พบได้น้อย

d) Interleukin-12 (IL-12) สร้างจาก mononuclear, phagocytic cell, dendritic cell โดย lipopolysaccharide (LPS), การติดเชื้อ intracellular bacteria, virus, interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) และ แอนติเจนที่กระตุ้น T-helper cell สามารถกระตุ้นให้มีการสร้าง IL-12 ได้ IL-12 มีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้ Natural Killer cell (NK cell) และ T-cell หลั่ง IFN- $\gamma$ , IL-12 ทำให้ CD4+, T helper cell พัฒนาไปเป็น IFN- $\gamma$  producing T helper1 cell และส่งเสริม cytotoxic function ของ NK cell, cytotoxic T cell

e) Type I interferon (Type I IFN) ได้แก่ IFN- $\alpha$  และ IFN- $\beta$  โดย IFN- $\alpha$  ส่วนใหญ่สร้างจาก monocyte ส่วน IFN- $\beta$  สามารถสร้างจากเซลล์ได้หลายชนิดรวมถึง fibroblast พบว่า ds-RNA ของไวรัสสามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้าง type I IFN type I IFN มีหน้าที่ยับยั้งการแบ่งตัวของไวรัสโดยเพิ่มการสังเคราะห์เอนไซม์ 2-5 oligoadenylate synthetase จึงมีบทบาทสำคัญในการติดเชื้อ

ไวรัส type I IFN ยังยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ปกติ lymphocyte และเซลล์มะเร็งโดยยั้งระยะ G1, S, G2 และยับยั้งการเข้าสู่ระยะ S ของ cell cycle เพิ่มการแสดงออกของ MHC class I บน cytotoxic T cell

f) Interleukin-10 (IL-10) มีเซลล์ต้นกำเนิดสำคัญคือ regulatory T cells และ macrophage และ dendritic cell ยับยั้ง macrophage และ dendritic cell ยับยั้ง macrophage ไม่ให้สร้าง IL-12, nitric oxide ใน lysosome และยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งการแสดงออกของ MHC class II บนผิว antigen presenting cell นอกจากนี้ยังยับยั้ง T helper 1 CD4+ subset และสามารถกระตุ้นให้เกิด IgG4 class switching ของ B cell จึงควบคุมทั้ง innate และ adaptive immune response พบว่า Epstein-Barr virus (EBV) สามารถสร้างโปรตีนที่มีความเหมือนกับ IL-10 ซึ่งสามารถยับยั้ง antiviral immune response ได้ ปัจจุบันพบว่าไซโตไคน์นี้มีบทบาทสำคัญในพยาธิวิทยา กำเนิดของโรคหลายกลุ่มเช่น โรคภูมิแพ้ (allergic disease) โรคภูมิคุ้มกันตนเอง (autoimmune disease) และโรคติดเชื้อบางชนิด เช่น โรคเรื้อน เป็นต้น

g) Interleukin-6 (IL-6) สร้างจาก monocyte, macrophage, lymphocyte, endothelial cell และ fibroblast สามารถกระตุ้น hepatocyte ให้สร้าง acute phase proteins IL-6 ยังมีความสำคัญในขบวนการเติบโตของ B cell และการสร้าง IgG, IgM และ IgA ของ activated B cell จึงมีบทบาทสำคัญทั้ง innate และ adaptive immune response นอกจากนี้ IL-6 ยังกระตุ้นให้สร้าง neutrophil จากไขกระดูก ในภาวะติดเชื้อรุนแรงจะพบมีการเพิ่มขึ้นของ IL-6 ซึ่งเป็นผลมาจากการกระตุ้นโดย IL-1, TNF พบว่า human herpes virus type 8 (HHV8) สามารถสร้างโปรตีนที่มีความเหมือนกับ IL-6 ซึ่งมีความสำคัญต่อการติดเชื้อ HHV8 อีกด้วย

h) Interleukin-15 (IL-15) มีโครงสร้างและบทบาทคล้ายคลึงกับ IL-2 โดย LPS และการติดเชื้อไวรัสสามารถกระตุ้น monocyte ให้สร้าง IL-15 ซึ่ง IL-15 สามารถกระตุ้น NK cell, T cell ให้เติบโตและเพิ่มจำนวน ทำให้ CD8+ cell มีการจดจำที่นานขึ้น

i) Interleukin-18 (IL-18) มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับ IL-1 โดย LPS และ ส่วนประกอบอื่นของเชื้อสามารถกระตุ้น macrophage ให้สร้าง IL-18 ซึ่ง IL-18 สามารถกระตุ้น NK cell, T cell ให้สร้าง IFN- $\gamma$  ได้เหมือน IL-12 IL-18 จึงมีบทบาทสำคัญใน cell-mediated immune response

## 2. ไซโตไคน์ที่ก่อให้เกิดและควบคุมการเกิด adaptive immunity

a) Interleukin-2 (IL-2) สร้างภายหลังมีการกระตุ้นด้วยแอนติเจน โดยส่วนใหญ่สร้างจาก CD4+T cell ส่วนน้อยสร้างจาก CD8+T cell พบว่าแอนติเจนสามารถกระตุ้นให้มีทั้งการหลั่ง IL-2 และการแสดงออกของ IL-2 receptor IL-2 สามารถกระตุ้น T cell ให้สร้าง IFN- $\gamma$ , IL-4 จึงก่อให้เกิดการเพิ่มจำนวนของ T cell โดยเฉพาะ antigen specific cell ตามมาและกระตุ้น B cell ให้สร้างแอนติบอดี IL-2 ยังมีบทบาทสำคัญในการเพิ่มจำนวนและการเติบโตของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันอื่นๆ

เช่น regulatory T cell, NK cell โดยเปลี่ยน NK cell ให้เป็น lymphokine activated killer cell (LAK) ซึ่งเพิ่มฤทธิ์ในการฆ่ามากขึ้น นอกจากนี้ IL-2 ยังอาจก่อให้เกิด apoptosis ของ antigen-activated T cells ผ่านทาง FAS pathway อีกด้วย

b) Interleukin-4 (IL-4) สร้างจาก CD4+ cell, activated mast cell และ basophil IL-4 กระตุ้นให้เกิด IgE class switching ของ B cell ส่งเสริมการเติบโตของ T helper 2 cell และการพัฒนาจาก na ve cell ไปเป็น T helper 2 cell ต่อด้านฤทธิ์ของ IFN- $\gamma$  ที่มีต่อ macrophage

c) Interleukin-5 (IL-5) มีโครงสร้างและหน้าที่คล้าย IL-4 สร้างจาก T helper 2 cell, mast cell IL-5 มีบทบาทในการกระตุ้นการเจริญเติบโตและการพัฒนาของ eosinophil และกระตุ้นให้ B cell เพิ่มจำนวนและสร้าง IgA

d) Type II IFN ได้แก่ IFN- $\gamma$  สร้างจาก NK cell, lymphocyte โดย IL-12, IL-18 สามารถกระตุ้น T cell ให้สร้าง IFN- $\gamma$  ได้ IFN- $\gamma$  มีหน้าที่เพิ่มการแสดงออกของ MHC class I, class II และ co-stimulatory molecules บน antigen presenting cell กระตุ้นให้เกิดการเติบโตของ T-helper 2 lymphocyte กระตุ้น macrophage ให้สร้าง nitric oxide ใน lysosome และเพิ่ม phagocytic activity เพื่อทำลายเชื้อโรค กระตุ้น neutrophil, NK cell ให้เกิด phagocytic activity และยังก่อให้เกิด IgG subclass switching ของ B cell โดยการยับยั้ง IL-4 dependent isotype class switching การทดลองพบพบว่า IFN- $\gamma$  เพิ่ม IgG2a subclass switching และลด IgG1, IgE subclass switching และลด IgG1, IgE subclass switching

e) Transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) สร้างจาก antigen-stimulated T cell และ mononuclear phagocyte ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS เชลล์ต้นกำเนิดอื่นๆ ได้แก่ regulatory T cells, keratonocyte และ fibroblast หน้าที่หลักของไซโตไคน์นี้คือ ยับยั้งการแบ่งตัวและการเติบโตของ T cell, macrophage กระตุ้นให้เกิด IgA class switching ของ B cell TGF- $\beta$  ยังสามารถกระตุ้นการสร้าง extracellular matrix protein เช่น collagen และสร้าง cellular receptor เช่น integrin จึงกระตุ้นให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อภายหลังการอักเสบ

f) Tumor necrotic factor- $\beta$  (TNF- $\beta$ , lymphotoxin) สร้างจาก T และ B lymphocyte มีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้เกิด apoptosis ของเซลล์ต่างๆและ tumor cell ก่อให้เกิดการอักเสบเฉพาะที่

g) Interleukin-13 (IL-13) มีโครงสร้างและหน้าที่คล้าย IL-4 สร้างจากทั้ง T helper 2 cell และ epithelial cell มีหน้าที่ต่อต้าน IFN- $\gamma$  และยับยั้ง macrophage IL-13 สามารถกระตุ้นให้ lung epithelial cell หลัง mucus จึงมีบทบาทในพยาธิกำเนิดของโรคหืด

h) Interleukin-22 (IL-22) สร้างจาก T-helper 2 lymphocyte ได้ กระตุ้นให้เกิดการสร้าง ACUTE-PHASE REACTANTS จากตับและตับอ่อน และอาจมีบทบาทสำคัญในขบวนการแบ่งตัวและเติบโต (proliferation and differentiation) ของเซลล์ Keratinocyte อีกด้วย

i) Interleukin-23 (IL-23) มีโครงสร้าง receptor และหน้าที่คล้ายคลึงกับ IL-12 IL-23 สามารถกระตุ้น CD4+ T cell ให้สร้าง IFN- $\gamma$  ได้เหมือน IL-12 และสร้าง IL-17 ซึ่งสำคัญ ในพยาธิกำเนิดของโรคภูมิคุ้มกันตนเอง

j) Interleukin-24 (IL-24) มีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า melanocytic differentiation antigen 7 (MDA7) LPS สามารถกระตุ้น T-helper 2 lymphocyte ให้สร้าง IL-24 โดย IL-24 สามารถกระตุ้น mononuclear cell ให้สร้าง IL-6 และกระตุ้นให้เกิดขบวนการ apoptosis มีความสำคัญในการเกิด tumor suppression

3. Hematopoietic growth factor เป็นกลุ่มของไซโตไคน์ที่มีคุณสมบัติที่สำคัญคือเร่งให้เกิดการเพิ่มจำนวนและการเติบโตของเซลล์จากไขกระดูก ไซโตไคน์ในกลุ่มนี้จึงมักมีชื่อเรียกเป็น colony stimulating factor ไซโตไคน์ในกลุ่มนี้ได้แก่

a) Stem cell factor (SCF, c-kit ligand) สร้างจาก stromal cell ในไขกระดูก มีบทบาทสำคัญในขบวนการเจริญเติบโตของ lymphocyte ในไขกระดูก และเป็น growth factor ที่สำคัญของ mast cell ที่แทรกตัวอยู่ในเยื่อเมือกต่างๆ อีกด้วย

b) Interleukin-7 (IL-7) สร้างจาก stromal cell ในไขกระดูก และ fibroblast มีบทบาทสำคัญในขบวนการเจริญเติบโตของ T และ B lymphocyte

c) Interleukin-3 (IL-3) สร้างจาก CD4+ T cell มีบทบาทสำคัญการกระตุ้นขบวนการเจริญเติบโตของ bone marrow progenitor cell

d) GM-CSF สร้างจาก activated T cell, monocyte, endothelial cell และ fibroblast มีหน้าที่กระตุ้นให้เกิดการเจริญเติบโตของ macrophage, dendritic cell, neutrophil, eosinophil และช่วยในขบวนการ phagocytosis, antibody dependent cell mediated cytotoxicity (ADCC), การสร้าง superoxide และดึง neutrophil มายังตำแหน่งที่มีการอักเสบ

e) G-CSF สร้างจาก bone marrow stromal cell และ activated T cell, macrophage, endothelial cell บริเวณที่มีการอักเสบติดเชื้อ มีหน้าที่ดึง neutrophil มายังตำแหน่งที่มีการอักเสบ

f) Interleukin-11 (IL-11) สร้างจาก stromal cell ในไขกระดูก มีบทบาทสำคัญในขบวนการเจริญเติบโตของ megakaryocyte

### III. Cytokine receptor และ Signal transduction

ไซโตไคน์จะจับกับ receptor ที่มีความจำเพาะบนผิวเซลล์ และก่อให้เกิดสัญญาณ (signal transduction) ในเซลล์ขึ้น โดยทั่วไป cytokine receptor จะประกอบด้วย 3 ส่วนคือ

- Extracellular domain เป็นส่วนของ receptor ซึ่งอยู่บนผิวเซลล์และจับกับไซโตไคน์
- Transmembrane เป็นส่วนของ receptor ที่แทรกใน cell membrane
- Intracellular domain เป็นส่วนของ receptor ที่อยู่ภายในเซลล์ มีความสำคัญต่อการส่งสัญญาณของไซโตไคน์ (signal transduction)

ปัจจุบันสามารถแบ่ง cytokine receptor ออกได้ 5 กลุ่มคือ

1. Immunoglobulin superfamily receptors receptor กลุ่มนี้มีส่วน extracellular domain ที่มีโครงสร้างคล้ายกับ immunoglobulin

2. Class I cytokine receptor family (hematopoietin receptor family) receptor กลุ่มนี้มีส่วน extracellular domain ประกอบด้วย 4 conserved cysteine residues (CCCC) และ conserved sequence ของ tryptophan-serine-(any amino acid)- tryptophan-serine (WSXWS) โดย X หมายถึง nonconserved amino acid receptor กลุ่มนี้ทำหน้าที่เป็น receptor ของไซโตไคน์ส่วนใหญ่ที่ทำงานเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันและ hematopoietic system

3. Class II cytokine receptor family (Interferon receptor family) receptor กลุ่มนี้มีส่วน extracellular domain ประกอบด้วย 4 conserved cysteine residues (CCC) และ conserved sequence ของ tryptophan-serine-(any amino acid)- tryptophan-serine (WSXWS) ทำหน้าที่เป็น receptor ของ IFN- $\alpha$ , - $\beta$  และ - $\gamma$

4. TNF receptor family receptor กลุ่มนี้มีส่วน extracellular domain ประกอบด้วย cysteine residues ทำหน้าที่เป็น receptor ของ TNF

5. Chemokine receptor family receptor กลุ่มนี้ประกอบด้วย seven transmembrane helical structure  $\alpha$

ใน class I และ class II cytokine receptor family receptor มักจะประกอบด้วย multiple subunit โดยบาง subunit มีหน้าที่ในการส่งผ่าน signal transduction พบว่าไซโตไคน์หลายตัวใช้ signal transduction subunit

ในการจับกับ receptor ของไซโตไคน์ยังมีความแรง (affinity) ต่างกันไปตามรูปแบบของ receptor เช่น IL-2 จะจับกับ receptor ที่เป็น monomeric IL-2R $\alpha$  ด้วย low affinity แต่จะจับกับ dimeric IL-2R  $\beta\gamma$  ด้วย intermediate affinity และจับกับ trimeric IL-2R $\alpha$   $\beta\gamma$  ด้วย high affinity พบว่า activated CD4+ และ CD8+ T cells จะมีการแสดงออกของ high affinity IL-2

receptor และ low affinity IL-2 receptor ส่วน NK cell จะมีการแสดงออกของ intermediate affinity IL-2 receptor

### Signal transduction

เมื่อไซโตไคน์จับกับ receptor บนผิวเซลล์จะมีการส่งสัญญาณผ่านต่อเข้าไปในเซลล์เรียกว่า signal transduction และก่อให้เกิดผลทางชีวภาพต่างๆ ของไซโตไคน์ ซึ่ง signal transduction ที่สำคัญของ class I และ II cytokine receptor ได้แก่ JAK-STAT signaling pathway โดยเมื่อไซโตไคน์จับกับ receptor จะกระตุ้นให้ Janus kinase (JAK) เกิด tyrosine kinase activity (phosphorylation) เกิดเป็น phospholyated-JAK จากนั้น phospholyated-JAK จะทำหน้าที่ เป็นที่ยึดเกาะ (docking site) สำหรับ Signal Transducer and Activator of Transcription Factor (STAT) และก่อให้เกิด phosphorylation ของ STAT ตามมา ต่อมา phospholyated-STAT ก็จะไปจับคู่กัน (dimerization) และผ่านเข้าสู่นิวเคลียสเพื่อไปจับกับ DNA และก่อให้เกิดผลทางชีวภาพตามมา

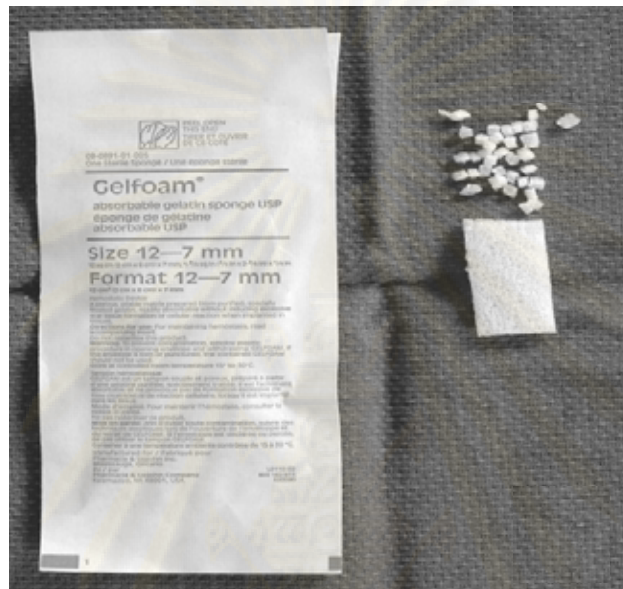
นอกจาก JAK-STAT signaling pathway แล้วยังมี signaling pathway อื่นๆ อีกหลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับไซโตไคน์และ cytokine receptor ในกลุ่มต่างๆ เช่น Mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathways, extracellular signal-retailed kinase (ERK) pathway, JUN N-terminal kinase (JNK) pathway เป็นต้น การศึกษาในปัจจุบันแสดงให้เห็นว่า signal transduction มีความสำคัญเกี่ยวกับพยาธิกำเนิดของโรคต่างๆ

ตารางที่ 7 แสดงชนิดของไซโตไคน์แบ่งตามหน้าที่

Innate immunity	Adaptive immunity	Hematopoiesis
TNF- $\alpha$	IL-2	Stem cell factor (c-Kit ligand)
IL-1	IL-4	IL-7
Type I IFN	IL-5	IL-3
Chemokines	IFN- $\gamma$	GM-CSF
IL-10	TGF- $\beta$	M-CSF, G-CSF
IL-6	Lymphotoxin (TNF- $\beta$ )	IL-9
IL-15	IL-13	IL-11
IL-18	IL-22	
	IL-23	
	IL-24	

## 2.7 ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับ Gel foam® (24)

Gel foam® มีลักษณะเป็นฟองน้ำที่ใช้สำหรับกดบาดแผลที่ใช้เป็นวัสดุทางการแพทย์ เป็นวัสดุที่ใช้สำหรับห้ามเลือด ไม่ละลายน้ำ มีลักษณะไม่ยืดหยุ่น เป็นรูปทรงแปดเหลี่ยม ผลิตจาก เจลาตินที่สกัดจาก ผิวหนังสุกร สามารถดูดซับเลือด และของเหลวไว้ภายในรูพรุน มีคุณสมบัติช่วยในปฏิบัติการการแข็งตัวของเลือด มีปฏิกิริยากับเนื้อเยื่อรอบๆเพียงเล็กน้อย จะย่อยสลายภายใน 4 – 6 สัปดาห์



ภาพที่ 8 แสดงลักษณะของ Gel Foam® (25)

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## 2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### ISO 10993-6

Geoffrey Kotzar, et. al <sup>(26)</sup>

ในปี 2002 มีการศึกษาการประเมินวัสดุในระบบกลไฟฟ้าเชิงจุลภาคสำหรับการประดิษฐ์อุปกรณ์ทางการแพทย์ที่ใช้ฝังในร่างกายสิ่งมีชีวิต โดยนำวัสดุ 7 ชนิด คือ Silicon, Thermal oxide, N-doped poly, Silicon nitride, Titanium, SU-8, Silicon carbide ที่เป็นส่วนประกอบในระบบกลไฟฟ้าเชิงจุลภาคสำหรับการประดิษฐ์อุปกรณ์ทางการแพทย์สำหรับฝัง ทำการประเมินโดยใช้มาตรฐาน ISO 10993 ทดสอบทางเคมีกายภาพ และ ทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพ ประเมินตัวอย่างวัสดุโดยการนำวัสดุไปประกอบชิ้นเล็กทรอนิกส์แบบสองกราดก่อนและหลังการฆ่าเชื้อ นำข้อมูลเกี่ยวกับวัสดุทั้ง 7 ชนิดไปคัดเลือกในการนำวัสดุไปประยุกต์ใช้ในการทำเป็นวัสดุในระบบกลไฟฟ้าเชิงจุลภาคที่ใช้ฝังในร่างกาย

Chao Yang, et. al <sup>(27)</sup>

ในปี 2003 มีการศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเซนเซอร์วัดความดันที่ทำจากเส้นใยแก้วนำแสง (fiber optic) โดยใช้การประเมินตามมาตรฐาน ISO 10993-6: Tests for local effects after implantation ทำการฝังเปรียบเทียบวัสดุทดสอบซึ่งทำจากเส้นใยแก้วนำแสง กับวัสดุควบคุมซึ่งทำจากซิลิกา ฝังในกระต่ายพันธุ์นิวซีแลนด์ 4 ตัวอย่าง บริเวณกล้ามเนื้อบริเวณกระดูกสันหลัง (paravertebral muscle) โดยทำการฝังวัสดุทดสอบกับวัสดุควบคุมอยู่ด้านตรงข้ามกัน ช่วงเวลาที่ทำ การฝังแบ่งเป็นสามช่วง คือ 1, 4 และ 12 สัปดาห์ ประเมินจากลักษณะภายนอกด้วยตาเปล่า และ ลักษณะทางพยาธิวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์ เปรียบเทียบปฏิกิริยาทางชีวภาพที่เกิดขึ้นระหว่างฝังวัสดุ ทดสอบ กับ วัสดุควบคุม มีปฏิกิริยาการอักเสบที่เวลา 1 สัปดาห์ และลดลงที่เวลา 4 สัปดาห์ และมี เนื้อเยื่อพังผืดเจริญเติบโตบริเวณที่ฝังและจะลดจำนวนลงเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น สิ่งที่สำคัญที่สุดคือ ไม่มี ความแตกต่างในการตอบสนองทางชีวภาพระหว่างวัสดุควบคุมและวัสดุทดสอบ ดังนั้นสรุปว่าเซนเซอร์ วัดความดันมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ

Kris Gellynck, et. al <sup>(28)</sup>

ในปี 2008 มีการศึกษาความเข้ากันได้ทางชีวภาพ และ การย่อยสลายของเส้นไหมที่ได้จากใยแมงมุม เทียบกับ Vicryl<sup>®</sup> และไหมจากตัวหนอน (*Bombyx mori*) วัดอัตราการย่อยสลาย และดูความเข้ากันได้ทางชีวภาพโดยทำการทดสอบโดยการฝังบริเวณใต้ชั้นผิวหนังในหนูวิสตาร์ ที่ระยะเวลา 1, 4 และ 7 สัปดาห์ ประเมินความเข้ากันได้ และดูปฏิกิริยาของระบบภูมิคุ้มกัน ตามมาตรฐาน ISO 10993-6: Tests for local effects after implantation

## การฝังในกล้ามเนื้อ

D. PELLING, et al. <sup>(29)</sup>

ในปี 1972 มีการศึกษาการทดสอบความปลอดภัยของพลาสติกที่ใช้ในทางการแพทย์ ความเป็นพิษของพลาสติกที่ใช้ในอุปกรณ์การแพทย์ และ พลาสติกพวก PVC ที่ประกอบขึ้นเป็นอุปกรณ์ที่ใช้ทางการแพทย์ ถูกประเมินโดยการทดสอบกับการเลี้ยงเซลล์ ทดสอบการฝังในกล้ามเนื้อกระต่าย และได้ชิ้นผิวหนังของหนู ตัวอย่างวัสดุ PVC ที่มีสาร organotin เป็นองค์ประกอบถูกใช้เป็นตัวควบคุมเชิงบวก ไม่มีตัวอย่างพลาสติกที่แสดงความเป็นพิษสูงเท่ากับตัวควบคุมเชิงบวก การฝังในกล้ามเนื้อ sacrospinalis ที่ระยะเวลา 7 วัน มีความไวต่อระบบการฝังมากที่สุด ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการทดสอบโดยการเลี้ยงเซลล์

BARBARA F. MATLAGA, et al. <sup>(30)</sup>

ในปี 1976 มีการศึกษาการตอบสนองต่อการฝังโพลีเมอร์ที่รูปร่างต่างกัน ออกแบบและศึกษาโพลีเมอร์ที่มีรูปร่างที่เหมาะสมสำหรับมาตรฐาน ฝังตัวอย่างและประเมินทางเนื้อเยื่อของวัสดุโพลีเมอร์ 6 ชนิด (polypropylene, polyethylene, polyurethane, silicone rubber, poly (vinyl chloride) and Teflon) ทำให้เป็นรูปร่าง วงกลม, สามเหลี่ยม และหกเหลี่ยม โดยทำการฝังในหนูบริเวณกล้ามเนื้อ gluteal 14 วัน ประเมินการตอบสนองของเนื้อเยื่อ ประเมินโดยปริมาณด้วยการวัดปริมาณเอนไซม์ lysosomal acid phosphatase โดยใช้ microspectrophotometry วัด รูปทรงสามเหลี่ยมมีปฏิกิริยาของเอนไซม์สูง และการตอบสนองของเซลล์ รูปทรงหกเหลี่ยมมีการตอบสนองของเซลล์น้อย และรูปทรงกลมมีการตอบสนองของเซลล์ต่ำที่สุด

L.R. Lindberg, et al. <sup>(31)</sup>

ในปี 1987 ได้มีการศึกษาปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นบริเวณกล้ามเนื้อ gluteal ที่ฝัง titanium วิเคราะห์ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นบริเวณเนื้อเยื่อ และตรวจดูเซลล์บริเวณนั้น พบว่าที่เวลา 50 และ 70 วันหลังทำการฝังจะพบการตอบสนองของเซลล์ macrophage และมีเยื่อบางๆมาหุ้มบริเวณที่ฝัง titanium

Wolfgang Heidemann, et al. <sup>(32)</sup>

ในปี 2001 ศึกษาการย่อยสลายของ poly(D,L)lactide ที่ไม่เติมแคลเซียมฟอสเฟสและที่เติมแคลเซียมฟอสเฟส เปรียบเทียบวัสดุทดสอบ 3 ชนิด คือ PDLLA, PDLLA เติมแคลเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟส และ TCP-enriched PDLLA เติมไตรแคลเซียมฟอสเฟส ทำการฝังในสัตว์ทดลอง โดยฝังในกล้ามเนื้อหลังของหนูวิสตาร์เพศผู้จำนวน 50 ตัว ที่ระยะเวลา 2 ถึง 72 สัปดาห์ ประเมินลักษณะทางเนื้อเยื่อบริเวณรอบวัสดุที่ฝัง พบว่ามี foreign body reaction เล็กน้อยรอบๆบริเวณที่ฝังด้วย PDLLA หลังจากฝังนาน 72 สัปดาห์ PDLLA จะย่อยสลายและมีการดูดซึมหมด PDLLA ที่เติมแคลเซียมฟอสเฟสจะย่อยสลายแต่จะยังมีแคลเซียมฟอสเฟสหลงเหลืออยู่ จะมีการอักเสบเกิดขึ้นบริเวณรอบๆ PDLLA ที่เติมไตรแคลเซียมฟอสเฟส และ แคลเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟส PDLLA จะลดลงถึง 60% ที่

เวลา 12 สัปดาห์ ข้อสรุปในการศึกษานี้คือมีการดูดซึมอย่างสมบูรณ์ และPDLL มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ

### การประเมิน

Kenneth Butler, et al. <sup>(33)</sup>

ในปี 2001 มีการศึกษาการประเมินเกี่ยวกับปฏิกิริยาของเนื้อเยื่อที่ฝังไบโอเซรามิก คือ aluminumcalcium phosphate (ALCAP) และ hydroxyapatite (HA) วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้จะดูการเกิดแคลปซูลที่เกิดจากการฝัง โดยทำการฝังบริเวณใต้ชั้นผิวหนัง และ ทางช่องท้องของหนูเพศผู้จำนวน 10 ตัว ประเมินผลที่ระยะเวลา 90 วัน หลังจากทำการฝัง ตัดชิ้นเนื้อบริเวณที่ฝังมาย้อม H&E พบว่า มีเนื้อเยื่อบางๆมาหุ้มวัสดุที่ฝัง ความหนาจะขึ้นอยู่กับขนาดของวัสดุที่ฝัง และจะพบเซลล์อักเสบชนิด macrophage, fibroblast, การเกิดหลอดเลือดใหม่ ความหนาของเนื้อเยื่อที่มาหุ้มบริเวณที่ฝัง จะแตกต่างกันจะมีความแตกต่างกันในบริเวณที่ฝังต่างกัน

Karla Lehle, et al. <sup>(34)</sup>

ในปี 2003 ได้มีการศึกษาการประเมินการตอบสนองของเนื้อเยื่อบริเวณใต้ชั้นผิวหนังที่ทำการฝังโพลีเมอร์ที่เคลือบด้วย titaniumcarboxonitride ในสัตว์ทดลอง ประเมินการตอบสนองต่อการอักเสบ และการฟื้นคืนสภาพของเนื้อเยื่อประสานระหว่างการรักษาของบาดแผล ทำการฝังบริเวณใต้ชั้นผิวหนังด้านหลังของหนูวิสตาที่ระยะเวลา 7, 14 และ 21 วัน ประเมินการเกิดพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อบริเวณที่ฝัง ดูความหนาของแคลปซูลที่มาหุ้มบริเวณรอยต่อระหว่างวัสดุที่ฝังกับเนื้อเยื่อรอบๆ พบว่าความหนาของแคลปซูลที่มาหุ้มจะลดลงที่ 2-4 สัปดาห์ หลังทำการฝัง ตรวจดูเซลล์อักเสบ การสร้างเนื้อเยื่อคอลลาเจนใหม่

Wim H. De Jong, et al. <sup>(35)</sup>

ในปี 2006 มีการศึกษาการตอบสนองของเนื้อเยื่อหนูแรทและหนูเมาส์ ต่อการย่อยสลายของ dextran hydrogel 2 ชนิดที่แตกต่างกัน คือ DS5 และ DS13 ถูกเปรียบเทียบการตอบสนองของเนื้อเยื่อ และการย่อยสลายในหนูแรทและหนูเมาส์ ในหนูแรทขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร ในหนูเมาส์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ความหนาขนาดเท่ากัน คือ 1 มิลลิเมตร ฝังบริเวณชั้นผิวหนัง ประเมินการตอบสนองของเนื้อเยื่อที่เวลา 2, 6 และ 13 สัปดาห์ ในหนูแรทหลังจากทำการฝังนาน 2 สัปดาห์ จะมีเนื้อเยื่อบางๆมาหุ้ม และมีเซลล์อักเสบชนิด macrophage และ เซลล์ fibroblast แทรกเข้ามาเล็กน้อย บริเวณรอบๆวัสดุทดสอบที่ย่อยสลายจะพบเซลล์อักเสบ ชนิด macrophage และ giant cell หลังจากทำการฝังนาน 13 DS5 จะถูกย่อยสลายหมด ขณะที่ DS 13 จะยังคงเหลืออยู่ในหนูเมาส์จะมีเนื้อเยื่อมาหุ้มหนาแน่นที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ จะพบเซลล์อักเสบชนิด macrophages และ polymorphonuclear สังเกตการถูกกระตุ้นของต่อมน้ำเหลือง อย่างไรก็ตามการย่อยสลายจะสมบูรณ์ในหนูแรทมากกว่าหนูเมาส์ ความแตกต่างทางเนื้อเยื่อวิทยาของ hydrogel ทั้ง 2 ชนิดจะไม่

ปรากฏที่เวลา 13 สัปดาห์ หลังจากทำการฝัง และมีการตอบสนองที่เท่ากัน ทั้งหนูแรท และ หนูเม้าส์ DS 5 มีอัตราการย่อยสลายที่เร็วกว่า DS 13

### ไซโตไคน์ IL1 $\beta$

Robert Robitaille, et al. <sup>(36)</sup>

ในปี 2004 ศึกษาการตอบสนองการอักเสบ ต่อการฝัง alginate-poly-L-lysine (HRM) ที่มีลักษณะเป็นแคปซูลขนาดเล็ก เทียบกับการฝังวัสดุควบคุมคือการฉีดน้ำเกลือ ดูความเข้ากันได้ทางชีวภาพ วัตถุประสงค์หลักของการศึกษาในครั้งนี้ คือ ระบุเซลล์ระบบภูมิคุ้มกันต่างๆ และ ไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบโดยการตรวจดู TNF-a, IL-1b, IL-6 และ TGF-b1 พบว่าจำนวนเซลล์อักเสบชนิด neutrophil และ IL-1b, IL-6 จะมีจำนวนเพิ่มขึ้นในช่วงแรกแต่ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างวัสดุทดสอบกับวัสดุควบคุม จำนวนเซลล์อักเสบชนิด Macrophages, lymphocytes และ TNF-a จะมีความแตกต่างกันระหว่างการฝังวัสดุทดสอบและวัสดุควบคุม โดยที่วัสดุทดสอบจะมีการหลั่ง TNF-a ออกมาในช่วงระยะเวลาที่นานกว่าการฝังวัสดุควบคุม

Zywicka B, et al. <sup>(37)</sup>

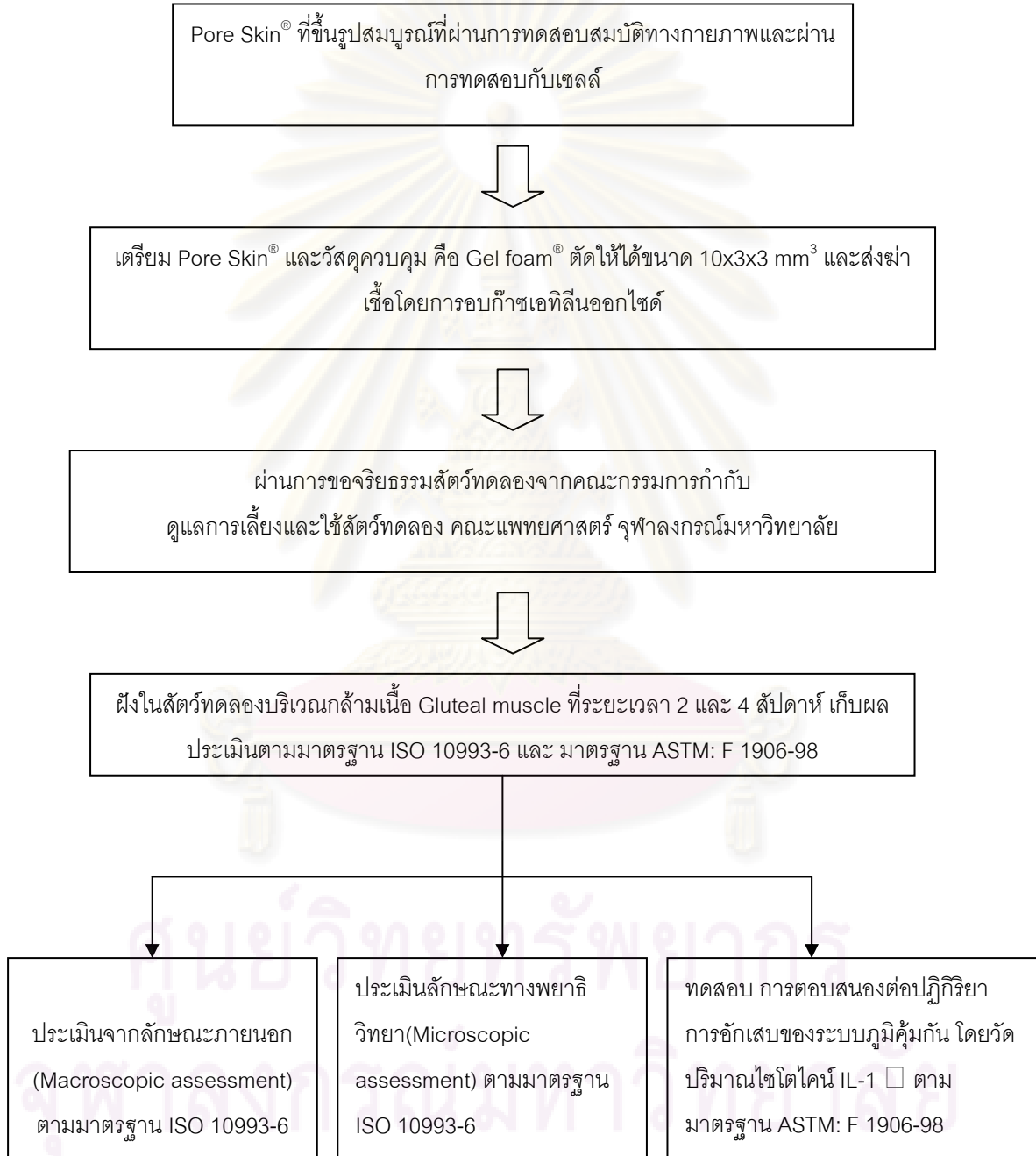
ในปี 2004 มีการศึกษาการประเมินความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเส้นใย Aramid ที่มีความทนทานแรงกลสูง ที่ใช้สำหรับงานด้านการแพทย์ งานวิจัยนี้ดูความเข้ากันได้ทางชีวภาพของเส้นใย aramid เปรียบเทียบกับเส้นใย polyester ที่ได้รับการยอมรับทางปฏิกิริยาชีวภาพ วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ยังรวมถึงสมบัติทางเคมีกายภาพ, ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์, ปฏิกิริยาของเนื้อเยื่อที่เกิดขึ้นหลังทำการฝัง, ประเมินระบบการอักเสบโดยดูไซโตไคน์ที่หลั่งเมื่อมีการอักเสบเบื้องต้น IL-1beta และ IL-6 หลังจากทำการฝัง ประเมินปฏิกิริยาของเนื้อเยื่อทำโดยการฝังตัวอย่างเส้นใย aramid เทียบกับ เส้นใย polyester บริเวณกล้ามเนื้อหลังของหนู 90 ตัว ที่ระยะเวลา 90 และ 360 วัน ประเมินปริมาณไซโตไคน์โดยการฝังเส้นใยทั้ง 2 ชนิดในหนูไมส์ ฝังเป็นระยะเวลา 3, 7, 14 และ 21 วันและเก็บจากซีรัมและตรวจจากการใช้เทคนิค ELISA จากการทดลองพบว่าปฏิกิริยาของเนื้อเยื่อหลังทำการฝังเส้นใยทั้ง 2 ชนิด แสดงปฏิกิริยาที่ไม่แตกต่างกันมีการสร้างเนื้อเยื่อบางๆมาหุ้ม และพบเซลล์ giant multinucleated เล็กน้อย และปริมาณไซโตไคน์อยู่ในระดับที่ต่ำ

ศูนย์วิจัยทรัพยากรพันธุกรรม  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

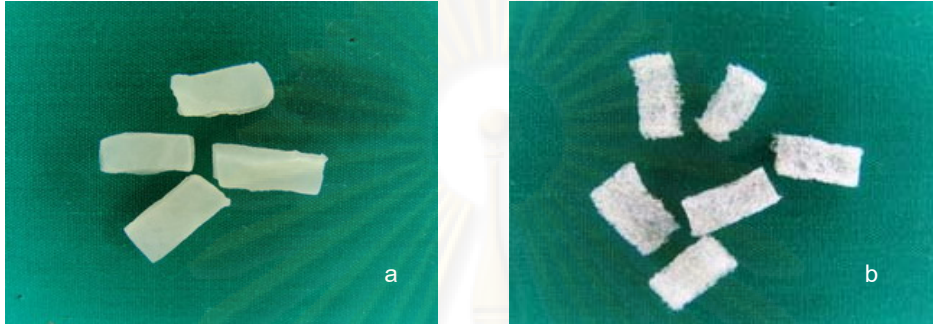
#### 3.1 แผนผังการดำเนินงานวิจัย



ภาพที่ 9 แผนผังการดำเนินการวิจัย

### 3.2 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

1. นำ Pore Skin<sup>®</sup> ที่ผ่านการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ และผ่านการทดสอบการเลี้ยงเซลล์แล้ว และนำวัสดุควบคุม คือ Gel foam<sup>®</sup> ทำมาจากเจลาติน เป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทางการแพทย์และเป็นที่ยอมรับ นำมาฆ่าเชื้อโดยการอบแก๊สเอทิลีนออกไซด์



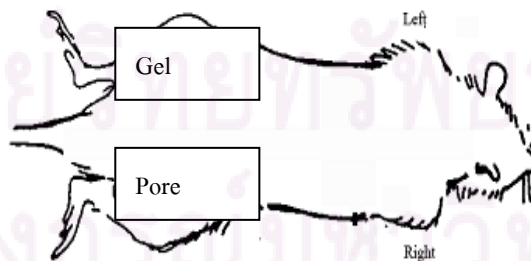
ภาพที่ 10 แสดงตัวอย่างวัสดุที่ทำการฝังในสัตว์ทดลอง

10a แสดง Pore Skin<sup>®</sup>

10b แสดง Gel foam<sup>®</sup>

2. ก่อนทำการทดลองในสัตว์ทดลอง ทำการขอจริยธรรมสัตว์ทดลอง และได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ทดลอง จากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. ทำการฝังบริเวณกล้ามเนื้อ gluteal muscle ทั้งสองข้าง (bilateral gluteal muscle) ในสัตว์ทดลอง โดยใช้หนูชนิด Wistar Rat เพศเมีย น้ำหนัก 200-300 กรัม อายุ 8 สัปดาห์ โดยใช้หนูจำนวน 24 ตัว (1 ตัวฝัง 2 ชิ้น โดยข้างขวาฝัง Pore Skin<sup>®</sup> และข้างซ้ายฝัง Gel foam<sup>®</sup>)



ภาพที่ 11 แสดงตำแหน่งการฝังในสัตว์ทดลอง

#### 4. การผ่าตัด (Surgical for implantation)

4.1 อดอาหารหนูที่จะทำการทดลองอย่างน้อย 4 ชั่วโมง

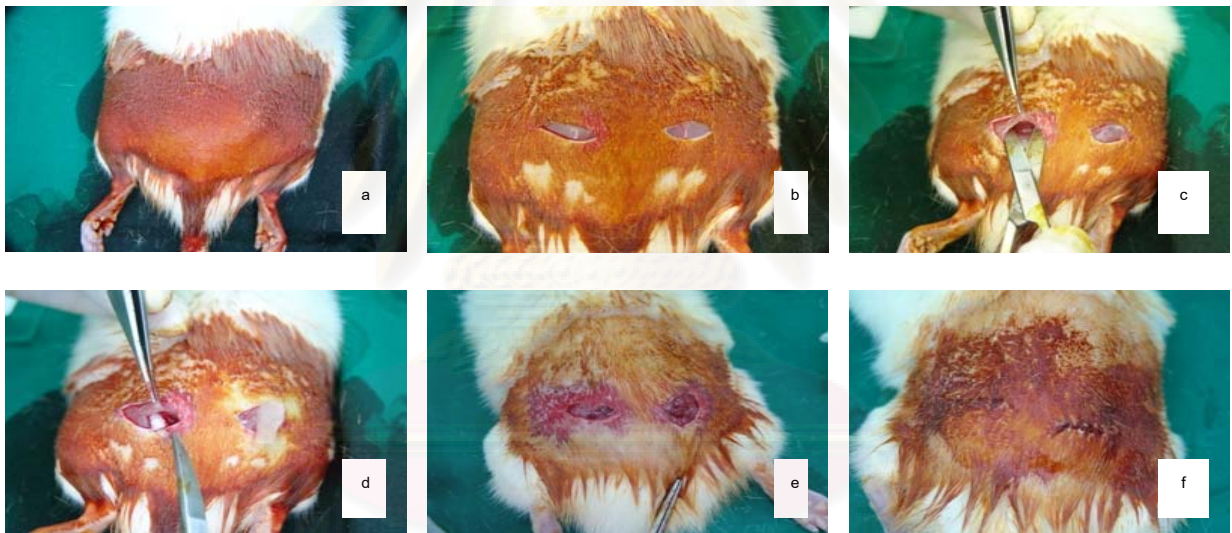
4.2 สลบหนูโดยใช้ยาสลบ Thiopental Sodium ความเข้มข้น 60 มก./มล. ในปริมาณ 10% ของน้ำหนักหนู (กรัม)

4.3 โคนขนบริเวณที่เราจะทำการฝังชิ้นงาน ใช้ povidone - iodine เช็ดทำความสะอาดบริเวณกล้ามเนื้อที่ผ่าตัด

4.4 ใช้ใบมีดเบอร์ 10 กรีดชั้นผิวหนังและแหวกออกให้เห็นชั้นกล้ามเนื้อที่ทำการฝังคือกล้ามเนื้อบริเวณ Bilateral Gluteal muscle

4.5 ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> (ด้านขวาของตัวหนู) เปรียบเทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> (ด้านซ้ายของตัวหนู) ตามเส้นใยกล้ามเนื้อ

4.6 เย็บปิด 2 ชั้นคือ ชั้นกล้ามเนื้อและชั้นผิวหนัง ทา povidone - iodine บริเวณแผลที่เย็บปิดเพื่อฆ่าเชื้อ



ภาพที่ 12 a-f แสดงขั้นตอนการผ่าตัด

12a โคนขนและใช้ povidone – iodine เช็ดทำความสะอาด

12b ใช้ใบมีดเบอร์ 10 กรีดชั้นผิวหนัง

12c แยกเยื่อออกให้เห็นชั้นกล้ามเนื้อ

12d ฝังชิ้นงานตัวอย่าง Pore Skin<sup>®</sup> (ด้านขวาของตัวหนู) และวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> (ด้านซ้ายของตัวหนู)

12e เย็บปิดชั้นกล้ามเนื้อ

12f เย็บปิดชั้นผิวหนัง

## 5. ขั้นตอนการเก็บเนื้อเยื่อ

หลังจากฝังชิ้นงานตัวอย่าง Pore Skin<sup>®</sup> และ control Gel foam<sup>®</sup> ตามระยะเวลาที่กำหนดจะทำการเก็บผล ที่เวลา 2 และ 4 สัปดาห์ โดยการนำชิ้นเนื้อตัวอย่างออกมาจากตัวสัตว์ทดลอง นำไปทำการย้อม H&E โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

5.1 ตัดชิ้นเนื้อบริเวณที่มีชิ้นงานตัวอย่าง Pore Skin<sup>®</sup> และบริเวณที่มี control Gel foam<sup>®</sup> รับประทานเนื้อใส่ลงใน Fixative fluid ทันที โดย Fixative fluid ที่ใช้ คือ 10% Neutral buffer formalin ปริมาณ 10-20 เท่าโดยปริมาตร ใช้เวลาในการแช่ 24-48 ชั่วโมง

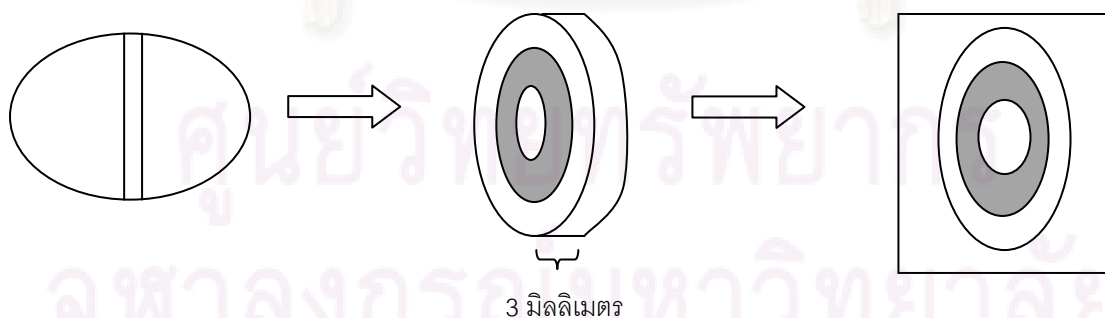
5.2 นำชิ้นเนื้อที่แช่ใน Fixative fluid มาตัดแบ่งครึ่ง เลือกชิ้นที่อยู่ตรงกลางตัดให้มีขนาดหนา 3 มิลลิเมตร

5.3 นำชิ้นเนื้อที่ตัดแล้วมาบรรจุลงตลับพลาสติกที่มีลักษณะโปร่ง โดยการวางในตลับจะหันด้านที่มีชิ้นงานตัวอย่าง Pore Skin<sup>®</sup> และ control Gel foam<sup>®</sup> คว่ำลงในตลับ นำตลับพลาสติกที่มีชิ้นเนื้อมาสู่กระบวนการ dehydration ซึ่งเป็นการดึงน้ำออกจากชิ้นเนื้อ โดยใช้แอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นต่างกัน (Gradient alcohol) และ Infiltration ซึ่งเป็นกระบวนการแทนที่น้ำด้วยพาราฟิน (paraffin)

5.4 นำชิ้นเนื้อที่ได้มา embed ในแม่พิมพ์ซึ่งมีพาราฟินอยู่ โดยเมื่อปล่อยให้พาราฟินแข็งตัวแล้วชิ้นเนื้อจะฝังอยู่ในพาราฟิน

5.5 นำparaffin block ที่ได้มาตัดด้วยเครื่องไมโครโตม (Microtome) section จะมีความหนาประมาณ 3  $\mu\text{m}$  นำสไลด์ที่ได้ไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 °C 30 นาที

5.6 นำ slide ไปทำการ deparaffin เพื่อเอาพาราฟินออกจากชิ้นเนื้อ โดยใช้ Xylene และ Gradient alcohol แล้ว หลังจากนั้นแช่น้ำประปาสักครู่แล้วนำมาย้อมสี Hematoxylin and Eosin (H&E) ด้วยวิธีของ Mayer



ภาพที่ 13 แสดงขั้นตอนการตัดชิ้นเนื้อและการวางลงตลับพลาสติก



## 6. การประเมินทางพยาธิวิทยา

### 6.1 การประเมินจากลักษณะภายนอกด้วยตาเปล่า (Macroscopic assessment)

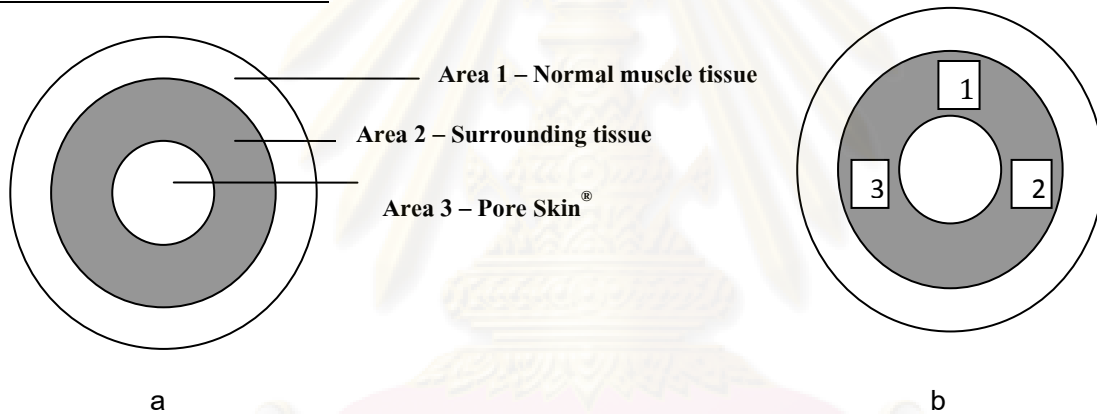
ตรวจลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบและลักษณะของชิ้นงานที่ตัดออกมาด้วยตาเปล่า บันทึกผลโดยการถ่ายรูปเก็บเป็นข้อมูล

### 6.2 การประเมินลักษณะทางพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อ (Histological evaluation)

ให้พยาธิแพทย์อ่านผลชิ้นที่ย้อมด้วยวิธี H&E ให้คะแนนลักษณะทางพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อรอบๆ ชิ้นงาน โดยพยาธิแพทย์จะเป็นคนอ่านผล จะสุ่มตรวจดู 3 บริเวณ (ภาพที่ 14b) บริเวณละ  $100 \times 100 \mu\text{m}$  และ วัดขนาดเนื้อเยื่อพังผืด (fibrosis) ขนาดการแทรกตัวของเซลล์ไขมัน (fatty infiltrate) โดยใช้โปรแกรม ImageJ version 1.41

6.3 นำไปประเมินตามตาราง 7 และ 8 นำคะแนนที่ได้ไปเติมที่ตาราง 9 และแปลผลตามข้อสรุปที่กำหนด

#### การกำหนดบริเวณการประเมิน



ภาพที่ 14 แสดงบริเวณที่ทำการประเมิน

14a แสดงบริเวณที่ทำการประเมินเซลล์บริเวณ surrounding tissue

14b แสดงบริเวณที่ทำการประเมินเซลล์บริเวณ surrounding tissue สุ่มตรวจ

บริเวณ 3 จุด

ศูนย์วิทยุทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การให้คะแนนการตอบสนองของเนื้อเยื่อ

ตารางที่ 8 แสดงการให้คะแนนการตอบสนองของเนื้อเยื่อบริเวณรอบชิ้นงานที่ฝัง

Cell type/response	Score				
	0	1	2	3	4
Polymorphonuclear cells	0	Rare, 1-5/phf <sup>a</sup>	5-10/phf	Heavy infiltrate	Packed
Lymphocytes	0	Rare, 1-5/phf <sup>a</sup>	5-10/phf	Heavy infiltrate	Packed
Plasma cells	0	Rare, 1-5/phf <sup>a</sup>	5-10/phf	Heavy infiltrate	Packed
Macrophages	0	Rare, 1-5/phf <sup>a</sup>	5-10/phf	Heavy infiltrate	Packed
Giant cells	0	Rare, 1-5/phf <sup>a</sup>	5-10/phf	Heavy infiltrate	Packed
Necrosis	0	Rare, 1-5/phf <sup>a</sup>	5-10/phf	Heavy infiltrate	Packed
<sup>a</sup> phf = per high powered (400 x) field.					

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 9 แสดงการให้คะแนนการตอบสนองของเนื้อเยื่อบริเวณรอบชิ้นงานที่ฝัง

Response	Score				
	0	1	2	3	4
Neovascularisation	0	Minimal capillary proliferation, focal, 1-3 buds	Groups of 4-7 capillaries with supporting fibroblastic structures	Broad band of capillaries with supporting structures	Extensive band of capillaries with supporting fibroblastic structures
Fibrosis	0	Narrow band	Moderately thick band	Thick band	Extensive band
Fatty infiltrate	0	Minimal amount of fat associated with fibrosis	Several layers of fat and fibrosis	Elongated and broad accumulation of fat cells about the implant site	Extensive fat completely surrounding the implant

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 10 ตารางรวมคะแนน

Test sample:	Implantation interval:					
Animal number:	Test sample			Control sample		
<b>Inflammation</b>						
Polymorphonuclear						
Lymphocytes						
Plasma cells						
Macrophages						
Giant cells						
Necrosis						
SUB-TOTAL (x 2)						
<b>Neovascularisation</b>						
<b>Fibrosis</b>						
<b>Fatty infiltrate</b>						
SUB-TOTAL						
TOTAL						
GROUP TOTAL						
AVERAGE <sup>a</sup>	TEST - CONTROL =					
Traumatic necrosis						
Foreign debris						
No. site examined						
<sup>a</sup> Used to determine irritant ranking shown below as the conclusion. A negative difference is recorded as zero.						

ศูนย์เวชศาสตร์พิษวิทยา  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### การสรุปผลคะแนนการตอบสนองทางเนื้อเยื่อ

หากทดสอบตามเงื่อนไขที่กำหนดสามารถแปลผลวัสดุที่ทดสอบได้ดังนี้

คะแนนที่ได้ = คะแนนของวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> - คะแนนของวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup>

พิจารณาจากคะแนนที่ได้ ดังนี้

คะแนน 0.0 - 2.9 คือไม่ระคายเคือง (non-irritant)

คะแนน 3.0 - 8.9 คือระคายเคืองเล็กน้อย (slight irritant)

คะแนน 9.0 - 15.0 คือระคายเคืองปานกลาง (moderate irritant)

คะแนนมากกว่า 15 คือระคายเคืองมาก (severe irritant)

หมายเหตุ: คะแนนที่ได้หมายถึงปฏิกิริยาระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อของวัสดุทดสอบเมื่อเทียบกับวัสดุควบคุมที่ได้รับการยอมรับว่าไม่ระคายเคือง

#### 7. ทดสอบ Systemic inflammatory reaction:

การทดสอบ Systemic inflammatory reaction โดยการวัดปริมาณ Interleukin 1 beta ซึ่งเป็น circulating marker ซึ่งจะหลั่งออกมาเมื่อมีการอักเสบเกิดขึ้น ด้วยวิธี ELISA (ELISA kit R&D System (McKinley Place NE Minneapolis, MN, USA) มีขั้นตอนดังนี้

7.1 ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> และ Gel foam<sup>®</sup> ในหนูวิสตาห์ โดยใช้หนูทั้งหมด 12 ตัว ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> 6 ตัว ฝัง Gel foam<sup>®</sup> 6 ตัว เก็บผลที่ระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์

7.2 ดูดเลือดออกมา นำมาแยก serum ออก โดยปั่นเหวี่ยงที่ 1000xg เป็นเวลา 20 นาที

7.3 นำ serum ที่ได้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ น้อยกว่า หรือ เท่ากับ -20 องศาเซลเซียส

7.4 วัดระดับ cytokine IL1  $\beta$  โดยใช้ ELISA kit R&D System (McKinley Place NE Minneapolis, MN, USA) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

#### 8. วิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่ม ด้วยการทดสอบแบบที (t-test) ที่มีตัวแปรเป็นอิสระต่อกัน ซึ่งคำนวณโดยใช้โปรแกรม SPSS 15.0 for Windows (version 15) ที่มีค่า  $P < 0.05$  เป็นค่าที่ใช้พิจารณาความมีนัยสำคัญ<sup>(38)</sup>

### 3.3 อุปกรณ์และวัสดุวิจัยหลัก

1. ชิ้นงานตัวอย่าง Pore Skin<sup>®</sup> และชิ้นงานกลุ่มควบคุม Gel foam<sup>®</sup>
2. อุปกรณ์ผ่าตัดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ
3. ไหมเย็บแผล
4. ยาสลบ Thiopental Sodium

### 3.4 สถานที่ทำการวิจัย

- ห้องปฏิบัติการ i-tissue ชั้น 9 ตึกอปร คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- ศูนย์สัตว์ทดลอง ชั้น3 ตึกพยาธิ ศูนย์สัตว์ทดลอง คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์

มหาวิทยาลัย



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 4

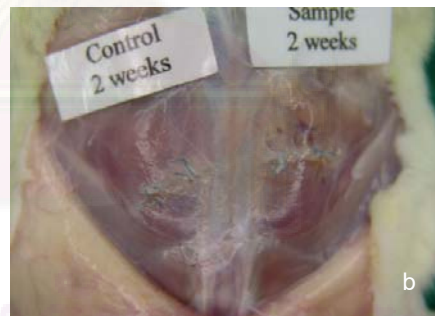
### ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

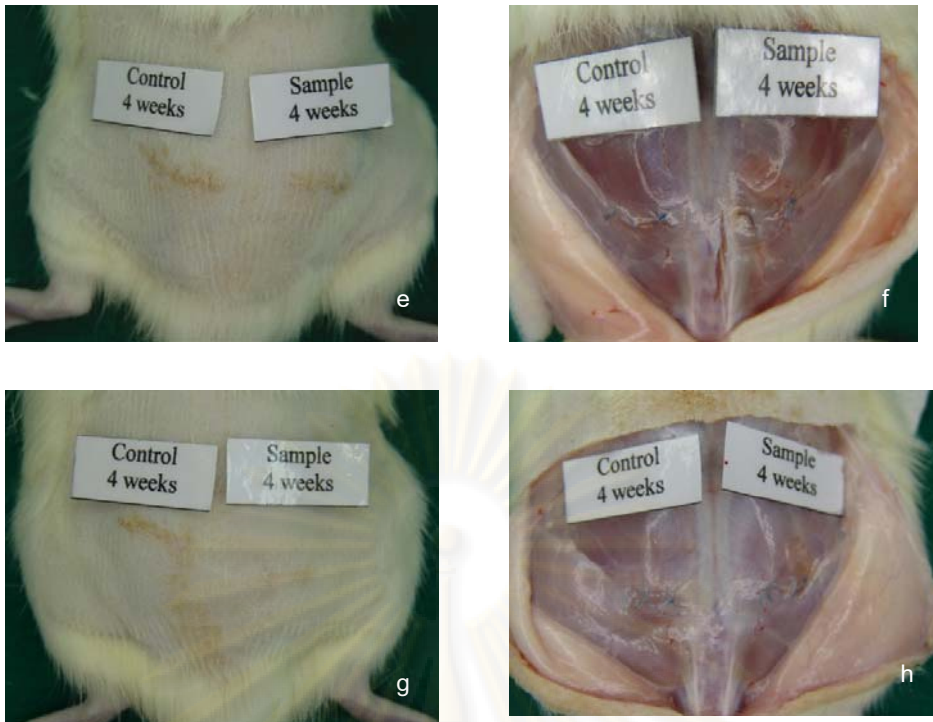
จากการทดสอบปฏิกิริยาการอักเสบจาก Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับ Gel form<sup>®</sup> ด้วยการฝังในกล้ามเนื้อของสัตว์ทดลองตามมาตรฐาน ISO 10993-6: Biological evaluation of medical devices – Part 6: Tests for local effects after implantation และ การศึกษาการตอบสนองต่อปฏิกิริยาการอักเสบของระบบภูมิคุ้มกันและความเข้ากันได้ทางชีวภาพของ Pore Skin<sup>®</sup> เปรียบเทียบกับ Gel foam<sup>®</sup> อ้างอิงจากมาตรฐาน ASTM: F 1906-98 (Evaluation of Immune Responses in Biocompatibility Testing Using ELISA Test) พบผลการศึกษาดังนี้

#### 4.1 การประเมินจากลักษณะภายนอกด้วยตาเปล่า (Macroscopic assessment)

##### 4.1.1 ผลการประเมินลักษณะภายนอกของเนื้อเยื่อบริเวณที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> และ Gel Foam<sup>®</sup>

หลังทำการฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> พบว่าลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองจากการสังเกตด้วยตาทั้ง Pore Skin<sup>®</sup> และ Gel foam<sup>®</sup> ไม่พบการอักเสบหรือบวมแดงเกิดขึ้นหลังฝังนาน 2 สัปดาห์ (ภาพที่ 15a และ ภาพที่ 15c) และหลังฝังนาน 4 สัปดาห์ (ภาพที่ 15e และ ภาพที่ 15g) หลังจากทำการเปิดชั้นผิวหนังบริเวณที่ฝัง (จุดที่มีไหมเย็บแผลในลอนเป็นบริเวณที่ฝังวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> และวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup>) พบว่าไม่พบความผิดปกติของกล้ามเนื้อหลังฝังนาน 2 สัปดาห์ (ภาพที่ 15b และ ภาพที่ 15d) และหลังฝังนาน 4 สัปดาห์ (ภาพที่ 15f และ ภาพที่ 15h)





ภาพที่ 15 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ และ 4 สัปดาห์

a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

b ภาพลักษณะภายนอกของเนื้อเยื่อบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ที่ 2 สัปดาห์

c ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

d ภาพลักษณะภายนอกของเนื้อเยื่อบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ที่ 2 สัปดาห์

e ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

f ภาพลักษณะภายนอกของเนื้อเยื่อบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ที่ 4 สัปดาห์

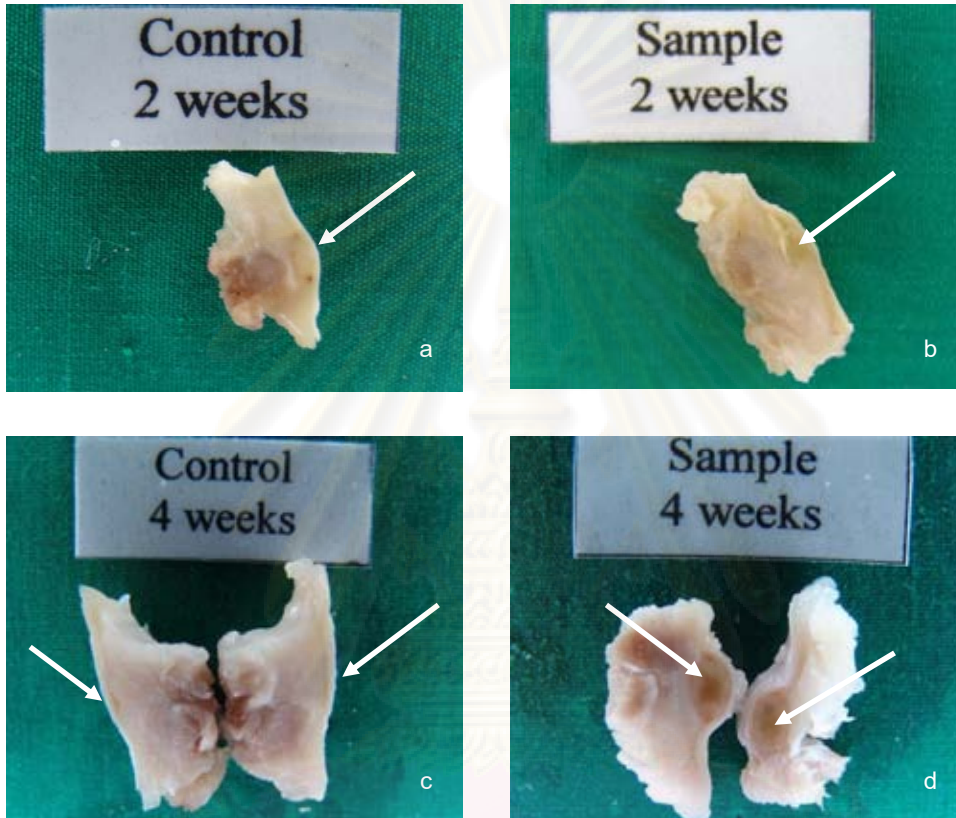
g ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

h ภาพลักษณะภายนอกของเนื้อเยื่อบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ที่ 4 สัปดาห์



#### 4.1.2 ผลการประเมินลักษณะภายนอกของชิ้นงานเมื่อตัดชิ้นเนื้อออกมาจากสัตว์ทดลอง

ชิ้นเนื้อที่นำออกมาจากสัตว์ทดลองพบว่าลักษณะภายนอกของชิ้นงานที่ระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ไม่มีการอักเสบหรือเป็นหนองขนาดของชิ้นงานวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ที่ 4 สัปดาห์ (ภาพที่ 16c) เล็กกว่า 2 สัปดาห์ (ภาพที่ 16a) มาก ในขณะที่วัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> มีขนาดใกล้เคียงกันทั้งที่ 2 (ภาพที่ 16b) และ 4 สัปดาห์ (ภาพที่ 16d)



ภาพที่ 16 แสดงลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง ที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ (a-b) และ 4 สัปดาห์ (c-d) ลูกศรแสดงวัสดุทดสอบที่เหลืออยู่

a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

c ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> นาน 4 สัปดาห์

d ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> นาน 4 สัปดาห์

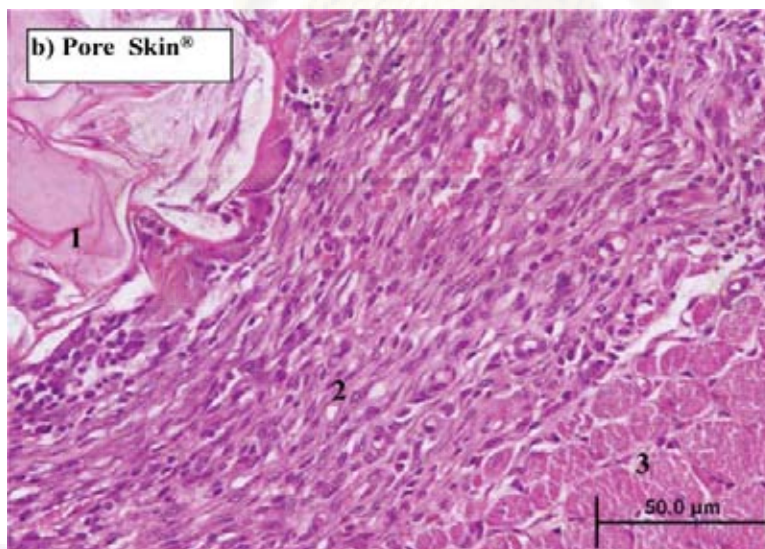
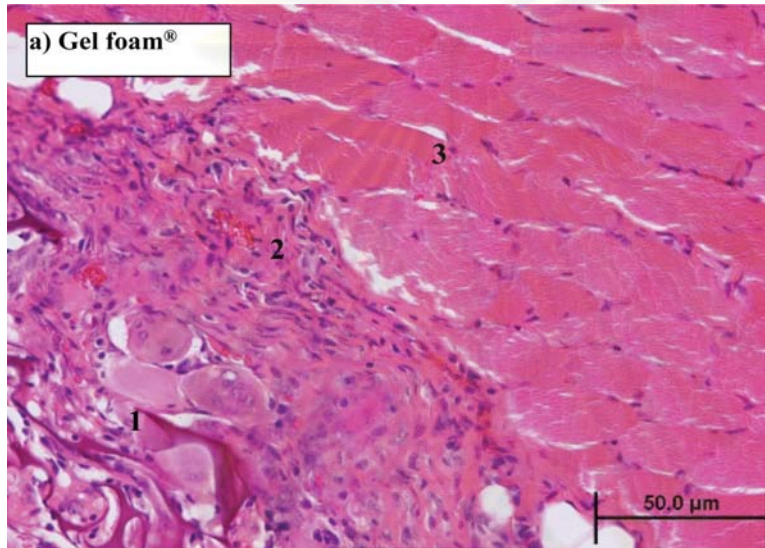
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## 4.2 การประเมินจากลักษณะทางพยาธิวิทยา (Pathological finding)

### 4.2.1 ลักษณะทางพยาธิวิทยาหลังการฝังนาน 2 สัปดาห์

#### 4.2.1.1 ลักษณะทั่วไปทางพยาธิวิทยาหลังการฝังนาน 2 สัปดาห์

หลังจากนำเนื้อเยื่อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> และ Gel foam<sup>®</sup> จากสัตว์ทดลองออกมาทำการย้อม H&E และตรวจดูลักษณะทั่วไปทางพยาธิวิทยา โดยแบ่งพื้นที่สำหรับการประเมินออกเป็น 3 บริเวณ ดังนี้ หมายเลข 1 บริเวณตัวอย่างที่ฝัง, หมายเลข 2 บริเวณ surrounding tissue และ หมายเลข 3 บริเวณ normal skeletal muscle แสดงที่กำลังขยาย x400 (ภาพที่ 17a และ ภาพที่ 17b)



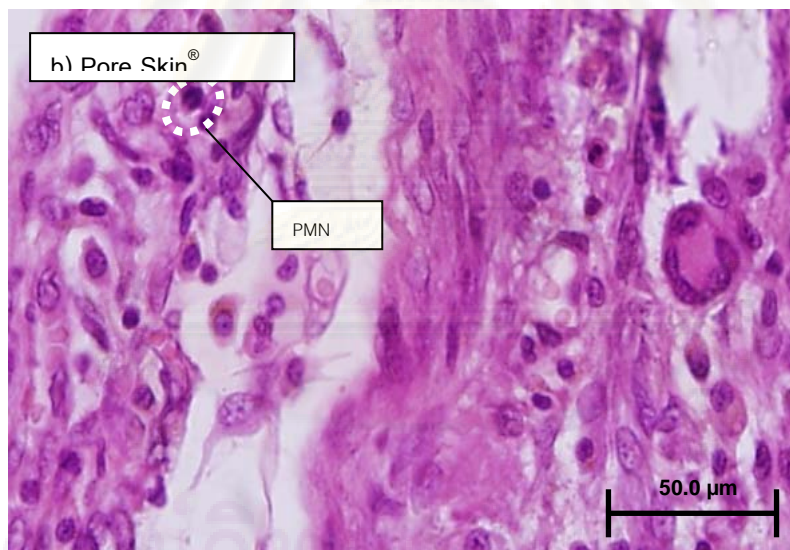
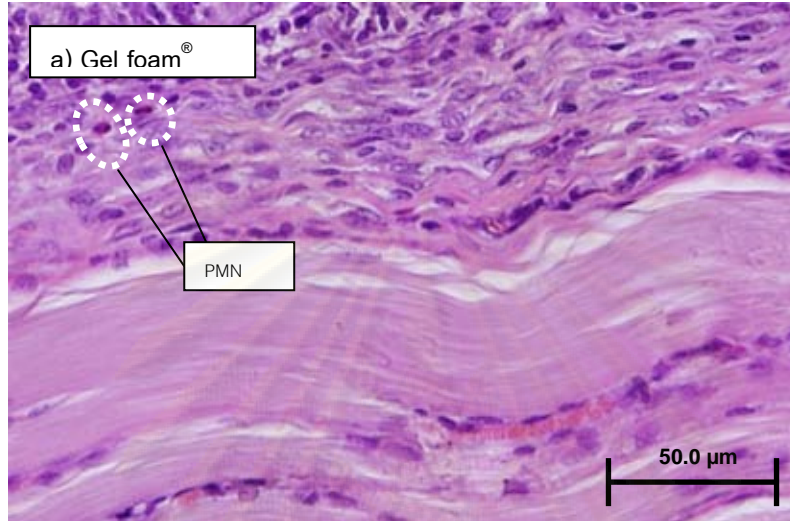
ภาพที่ 17 แสดงตัวอย่างที่ฝังตัวอย่างอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย x400; หมายเลข 1 บริเวณตัวอย่างที่ฝัง, หมายเลข 2 บริเวณ surrounding tissue (2) และ หมายเลข 3 บริเวณ normal skeletal muscles

17a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอย่างอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ

17b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอย่างอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ

4.2.1.2 การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Polymorphonuclear cell หลังการฝังนาน 2 สัปดาห์

พบว่าเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> เมื่อพิจารณาจากบริเวณหมายเลข 2 พบเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Polymorphonuclear cell ในปริมาณน้อยมากประมาณ 1-5 cells/phf (ภาพที่ 18a และ ภาพที่ 18b)



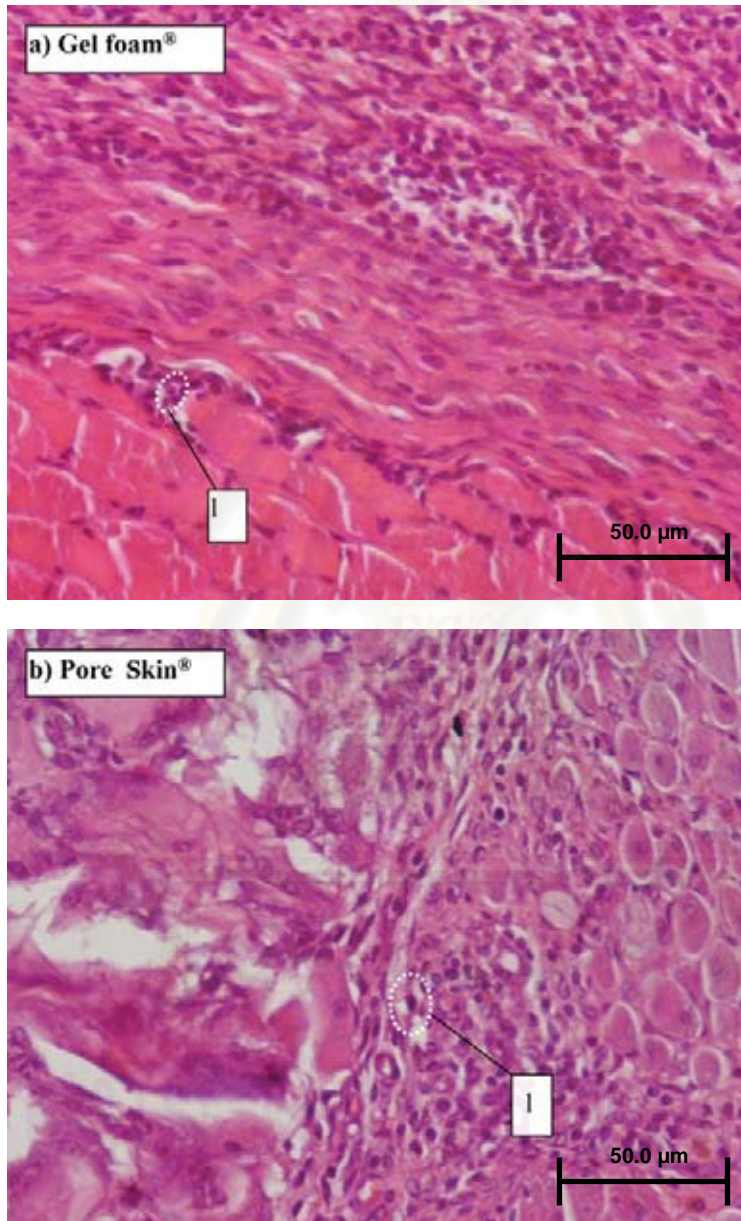
ภาพที่ 18 แสดงเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Polymorphonuclear cell (PMN)

18a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Polymorphonuclear cell

18b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Polymorphonuclear cell

4.2.1.3 การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte หลังการฝังนาน 2 สัปดาห์

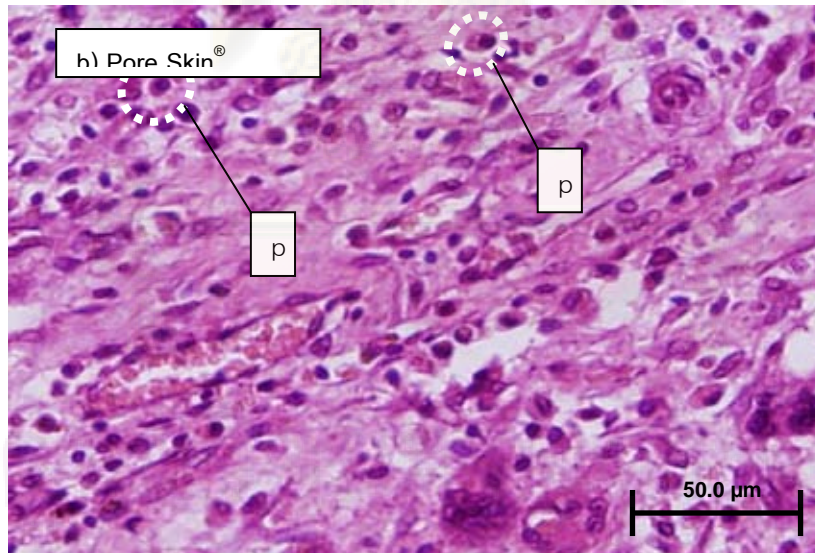
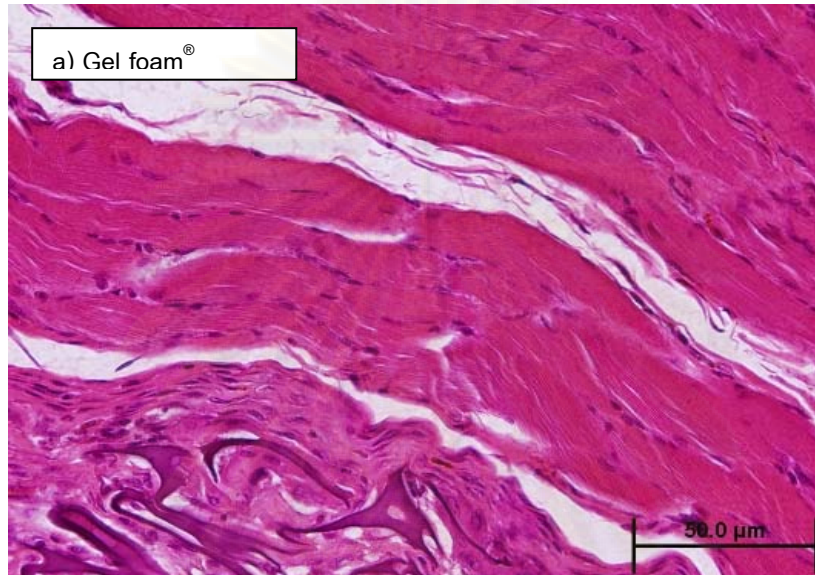
พบว่าเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> เมื่อพิจารณาจากบริเวณหมายเลข 2 พบเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte ในปริมาณน้อยมากประมาณ 1-5 cells/phf (ภาพที่ 19a และ ภาพที่ 19b)



ภาพที่ 19 แสดงเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte (I)  
 19a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte  
 19b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte

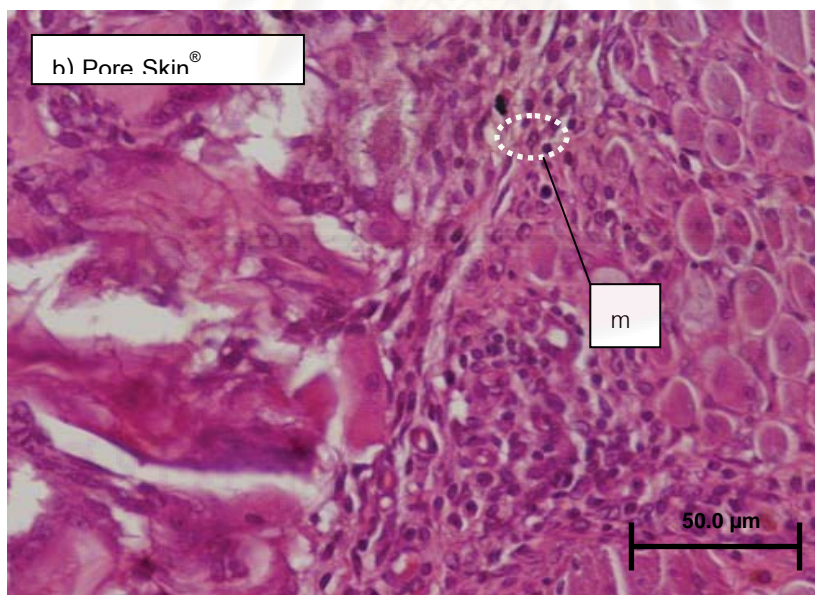
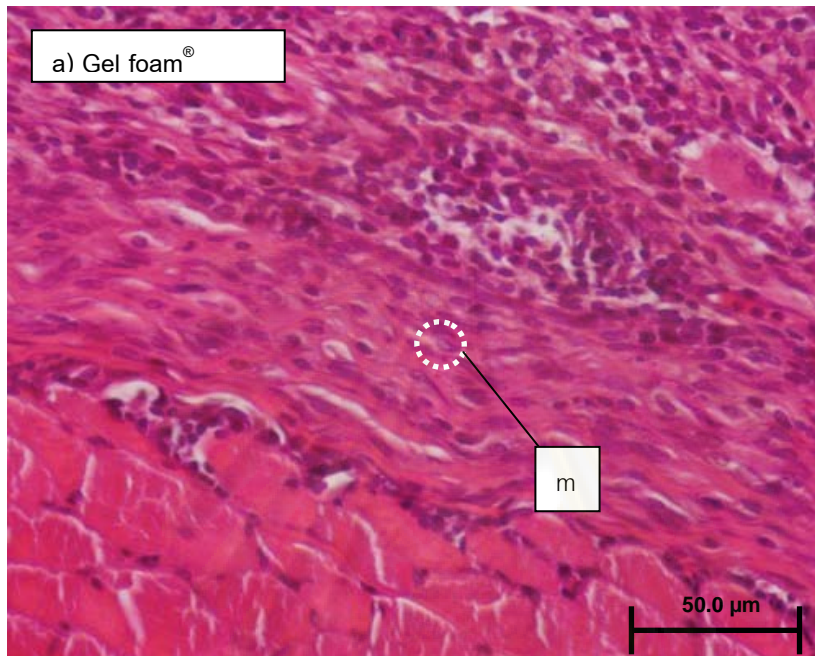
#### 4.2.1.4 การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell หลังการฝังนาน 2 สัปดาห์

พบว่าเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Pore Skin<sup>®</sup> เมื่อพิจารณาจากบริเวณหมายเลข 2 พบเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell ในปริมาณน้อยมากประมาณ 1-5 cells/phf (ภาพที่ 20b) แต่ไม่พบในเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup>



ภาพที่ 20 แสดงเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell (p)  
 20a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ ไม่พบเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell  
 20b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell

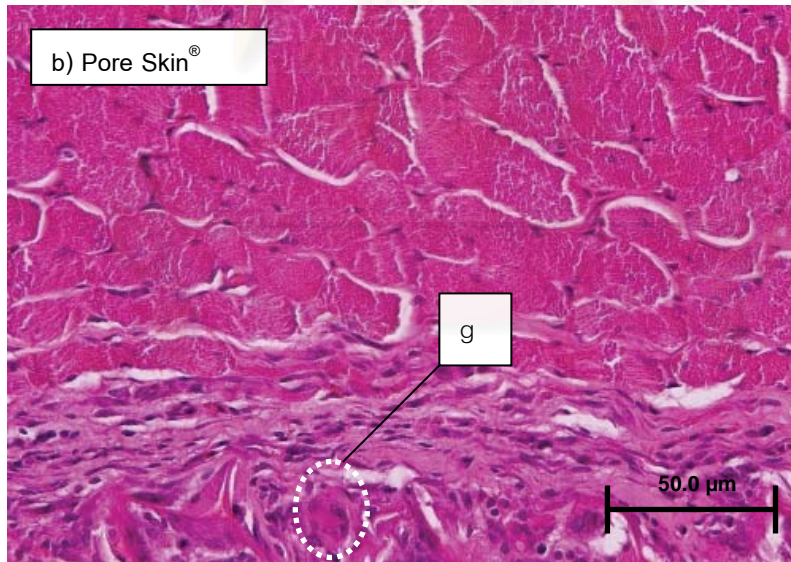
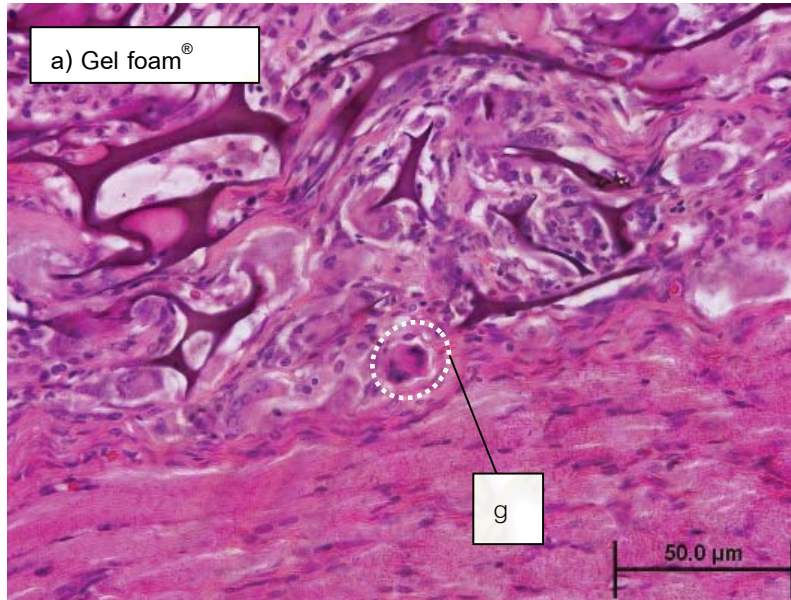
4.2.1.5 การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Macrophage หลังการฝังนาน 2 สัปดาห์ พบว่าเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> เมื่อพิจารณาจากบริเวณหมายเลข 2 พบเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Macrophage ในปริมาณน้อยมากประมาณ 1-5 cells/phf (ภาพที่ 21a และ ภาพที่ 21b)



ภาพที่ 21 แสดงเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด macrophage (m)  
 21a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด macrophage  
 21b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด macrophage

4.2.1.6 การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Foreign type multinucleated giant cells หลังการฝังนาน 2 สัปดาห์

พบเม็ดเลือดขาวชนิด Foreign type multinucleated giant cells แทรกอยู่ในบริเวณเนื้อเยื่อรอบตัวอย่างที่ฝังทั้ง Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> พบว่าทั้งคู่มีปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิด Foreign type multinucleated giant cells น้อยมากประมาณ 1-5 cells/phf (ภาพที่ 22a และภาพที่ 22b)



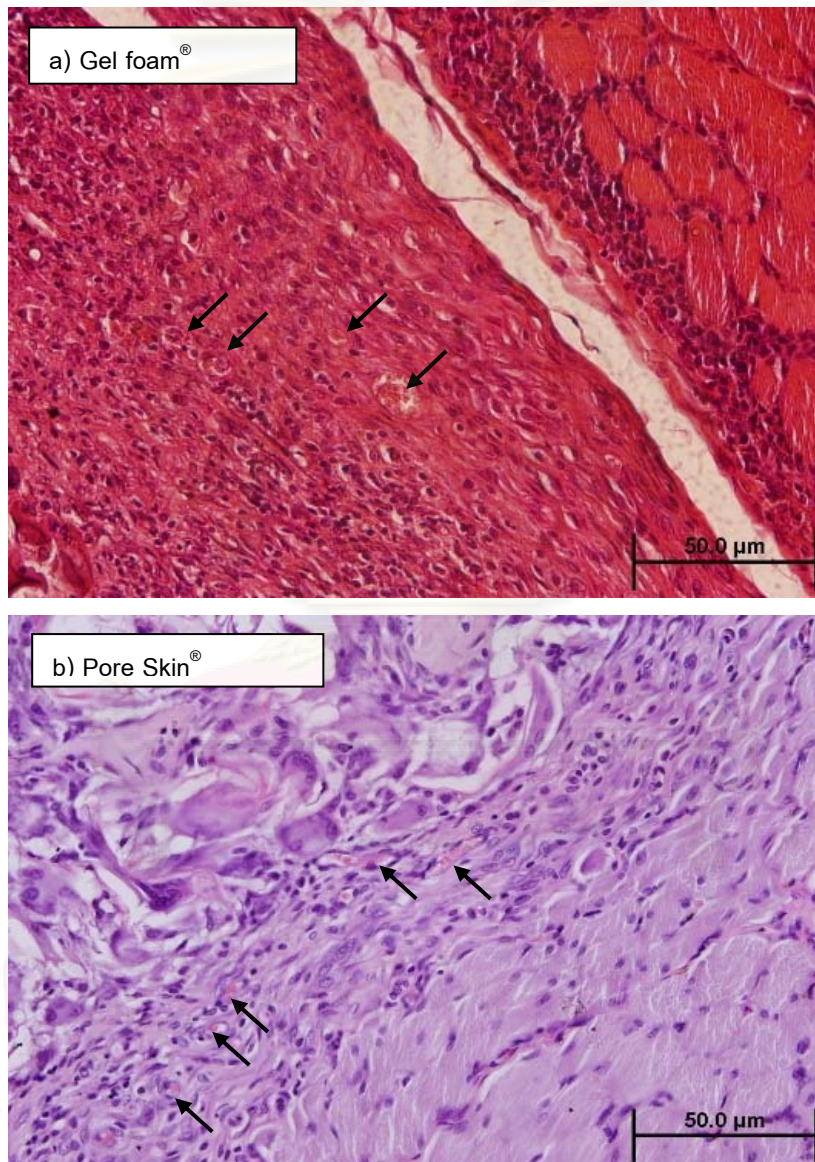
ภาพที่ 22 Foreign type multinucleated giant cells (g)  
 22a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Foreign type multinucleated giant cells  
 22b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Foreign type multinucleated giant cells

#### 4.2.1.7 การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากการสร้างหลอดเลือด capillary ใหม่

(Neovascularisation) หลังการฝังนาน 2 สัปดาห์

การสร้างหลอดเลือดใหม่เกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกิริยาการอักเสบ ถ้ามีการสร้างหลอดเลือดใหม่จำนวนมากจะพบว่าปฏิกิริยาการอักเสบสูง แต่ถ้ามีการสร้างหลอดเลือดใหม่น้อยจะมีปฏิกิริยาการอักเสบต่ำ

จากการศึกษาพบว่าการสร้างหลอดเลือดใหม่ในเนื้อเยื่อบริเวณที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> ในปริมาณที่เท่ากันประมาณ 4-7 เส้น/phf (ภาพที่ 23a และ ภาพที่ 23b)



ภาพที่ 23 การสร้างหลอดเลือด capillary ใหม่ (Neovascularisation)

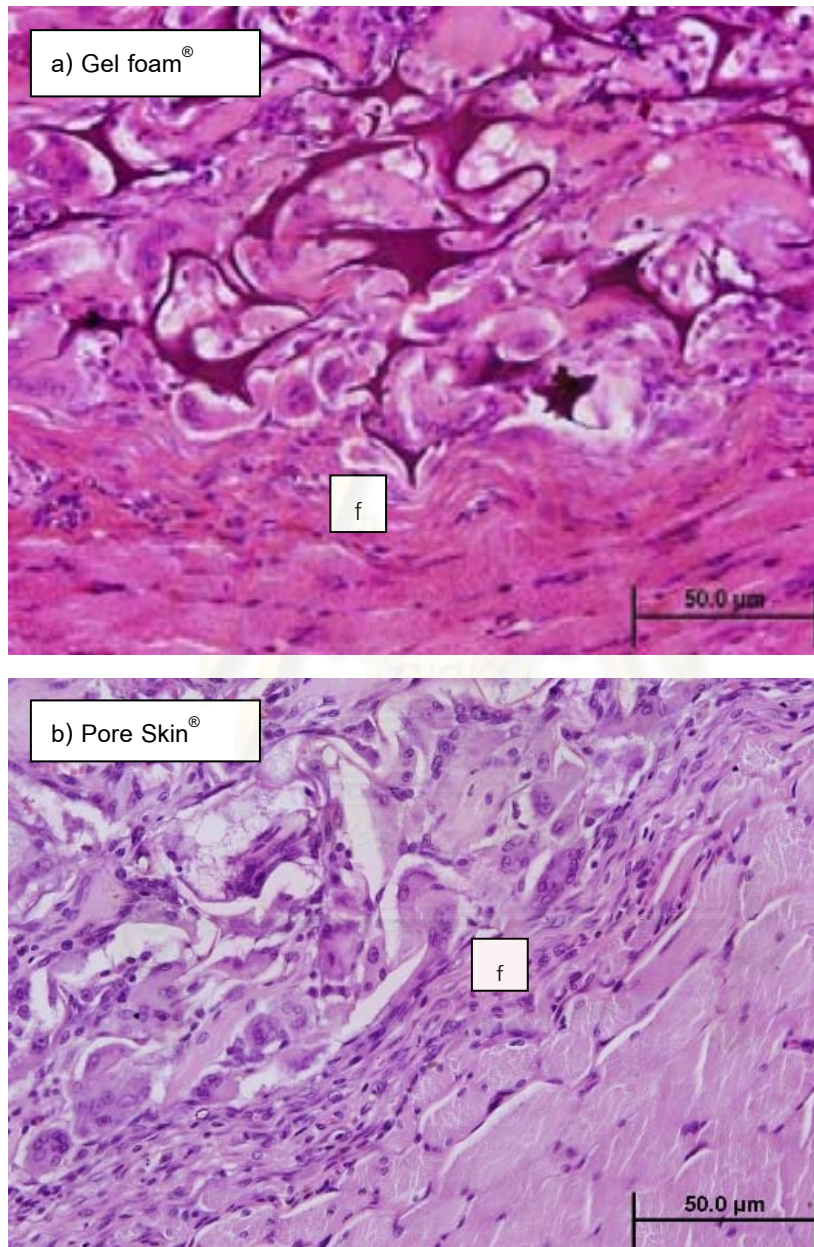
23a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Neovascularisation

23b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Neovascularisation



4.2.1.8 การศึกษาปฏิกิริยาของการตอบสนองของเซลล์พังผืด (Fibroblastic proliferation) หลังการฝังนาน 2 สัปดาห์

พบว่าเซลล์ fibroblast เข้ามาล้อมรอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีลักษณะเป็นเส้นแถบบางขนาดเล็กมีลักษณะที่เหมือนกัน (ภาพที่ 24a และ ภาพที่ 24b)



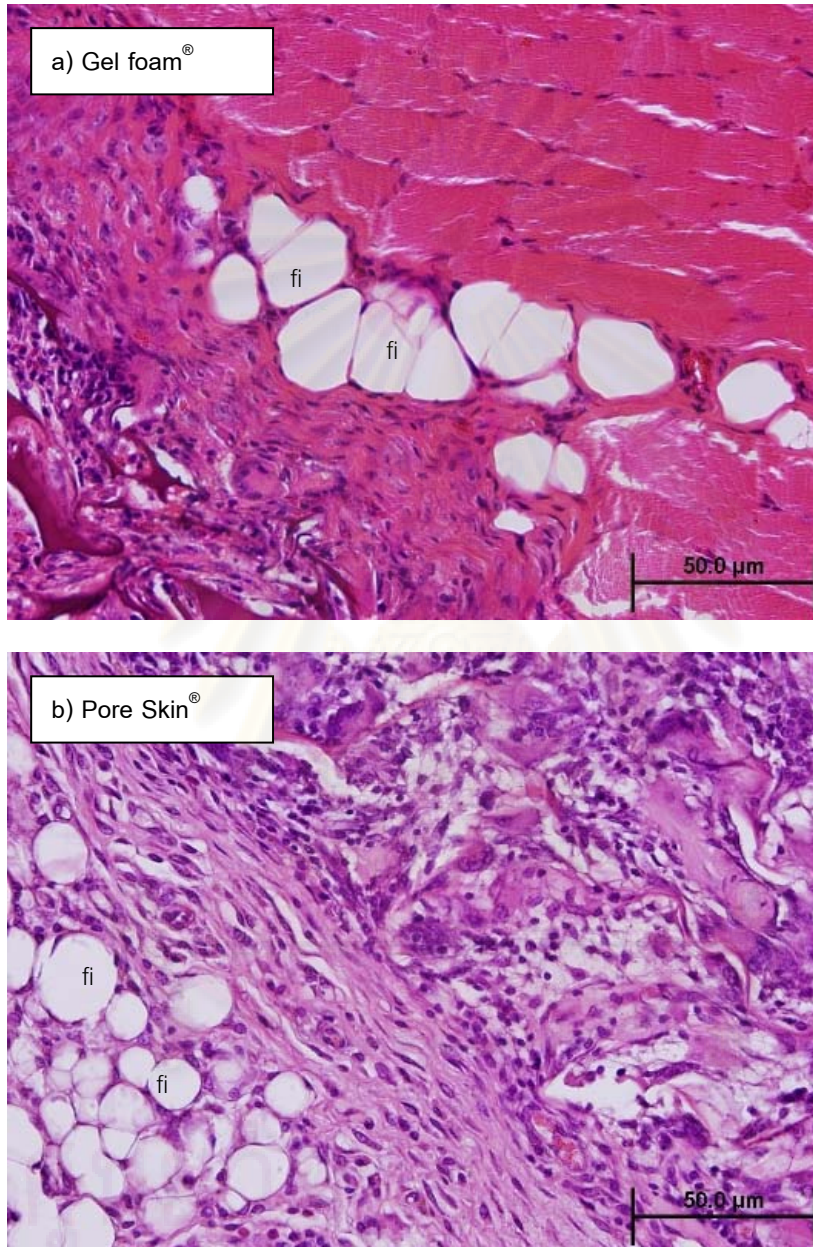
ภาพที่ 24 แสดง Fibroblastic proliferation (f)

24a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Fibroblastic proliferation เป็นแถบเส้นบางขนาดเล็ก

24b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Fibroblastic proliferation เป็นแถบเส้นบางขนาดเล็ก

#### 4.1.2.9 ลักษณะการแทรกของไขมัน (Fatty infiltration) หลังการฝังนาน 2 สัปดาห์

การศึกษาการแทรกตัวของเซลล์ไขมัน บริเวณเนื้อเยื่อรอบตัวอย่างที่ฝัง พบว่าการแทรกตัวของเซลล์ไขมันเพิ่มปริมาณขึ้นเล็กน้อย ทั้งในบริเวณรอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> (ภาพที่ 25a และ ภาพที่ 25b)



ภาพที่ 25 แสดง Fatty infiltration (fi)

25a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Fatty infiltration

25b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Fatty infiltration

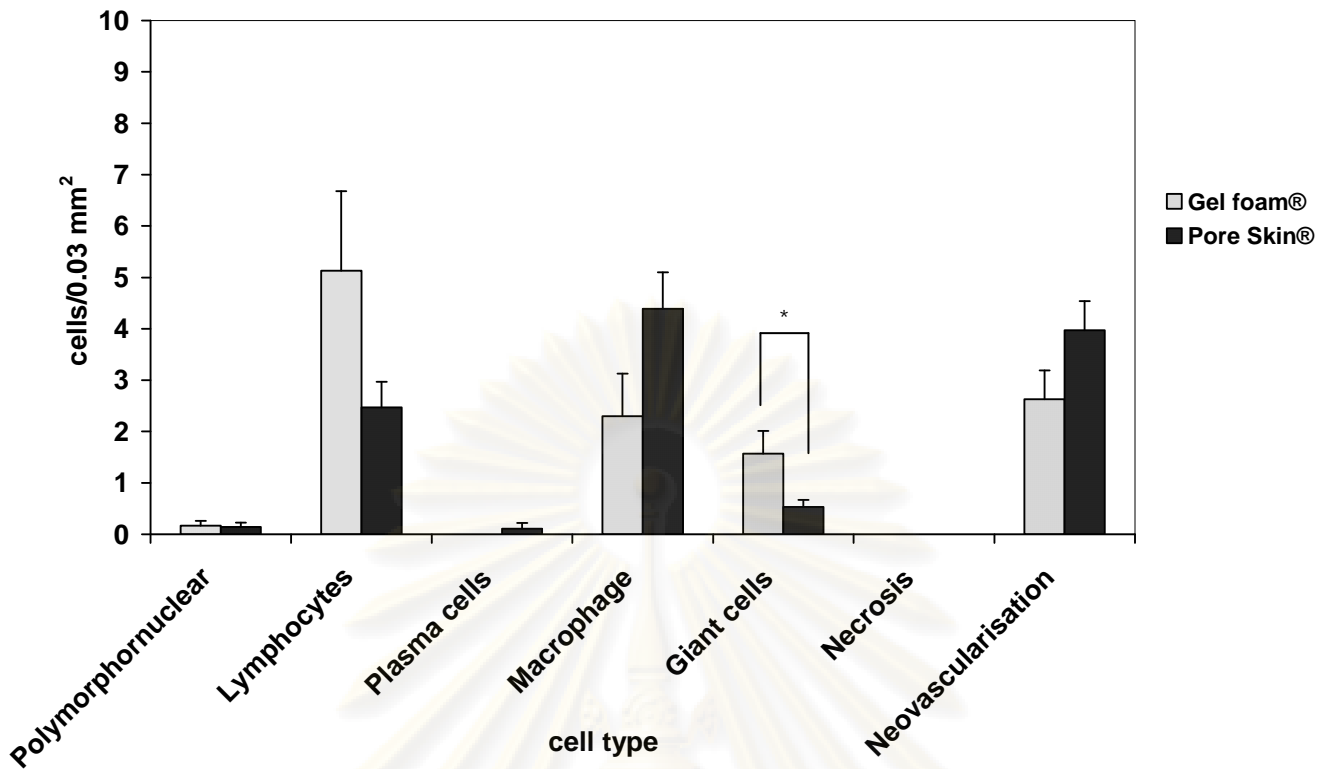
ตารางที่ 11 ตารางแสดงเซลล์อักเสบ (Inflammatory cells), การเกิดหลอดเลือดใหม่ (Neovascularisation), เนื้อเยื่อพังผืด (Fibrosis) และ การแทรกของไขมัน (Fatty infiltrate) เฉลี่ยที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

ชนิดเซลล์อักเสบ (cells)	Gel foam <sup>®</sup> (Mean±S.E.M, n=12)	Pore Skin <sup>®</sup> (Mean±S.E.M, n=12)	P value
Polymorphonuclear	0.17±0.09	0.14±0.09	0.822
Lymphocytes	5.13±1.55	2.47±0.50	0.093
Plasma cells	0	0.11±0.11	0.374
Macrophage	2.30±0.83	4.39±0.71	0.068
Giant cells	1.57±0.44	0.53±0.14	0.025
Necrosis	0	0	-
Neovascularisation	2.63±0.56	3.97±0.57	0.112
Fibrosis (µm)	16.49±3.15	19.87±3.63	0.489
Fatty infiltrate (µm)	71.15±1.81	47.86±5.04	0.033

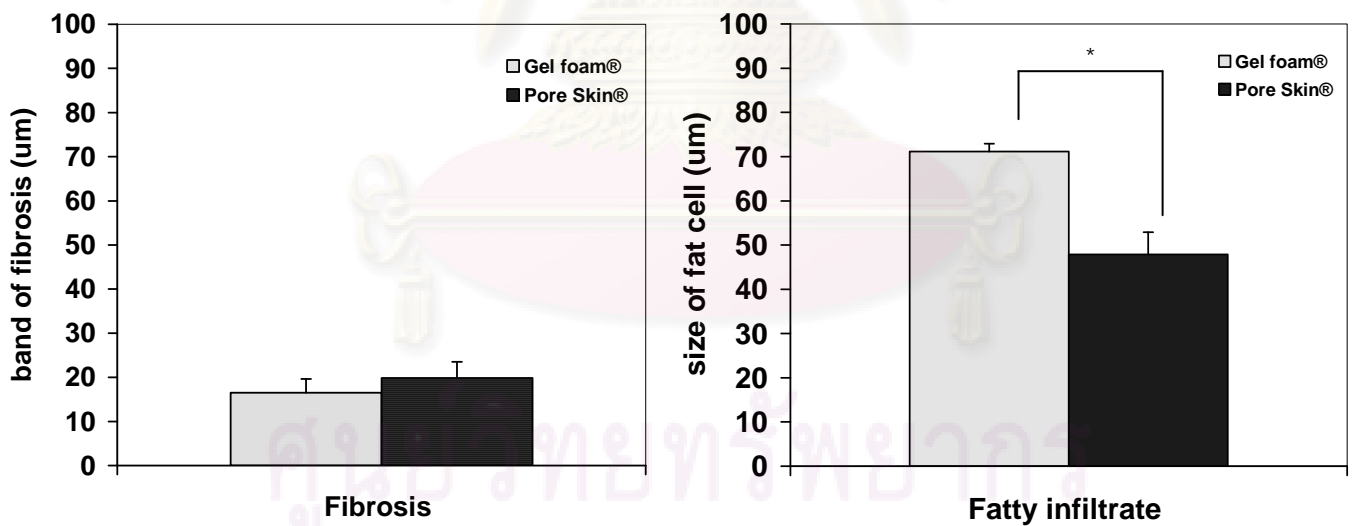
หมายเหตุ – แสดงการเปรียบเทียบปริมาณเฉลี่ยของเซลล์อักเสบ, การเกิดหลอดเลือดใหม่, เนื้อเยื่อพังผืด และ การแทรกของไขมัน ระหว่าง Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากตารางที่ 10 แสดงค่าเฉลี่ยของเซลล์อักเสบ, การเกิดหลอดเลือดใหม่, เนื้อเยื่อพังผืด และ การแทรกของไขมัน ระหว่าง Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> ที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า เซลล์อักเสบเฉลี่ยแต่ละชนิด Polymorphonuclear cells, Lymphocytes, Plasma cells, Macrophage การเกิดหลอดเลือดใหม่ ขนาดของการเกิดเนื้อเยื่อพังผืด ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แต่เซลล์อักเสบชนิด Giant cells และ ขนาดของการแทรกของเซลล์ไขมันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบเซลล์อักเสบชนิด Giant cells ในเนื้อเยื่อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> น้อยกว่าบริเวณเนื้อเยื่อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> และขนาดการแทรกของไขมันบริเวณเนื้อเยื่อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> มีขนาดน้อยกว่าขนาดการแทรกของไขมันบริเวณเนื้อเยื่อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup>

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 26 กราฟแสดงปริมาณเฉลี่ยของเซลล์อักเสบ และการเกิดหลอดเลือดใหม่ ระหว่าง Gel foam® และ Pore Skin® (mean  $\pm$  S.E.M, n=12) ที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์



ภาพที่ 27 กราฟแสดงขนาดของเนื้อเยื่อพังผืด และ ขนาดการแทรกของไขมันเฉลี่ย ระหว่าง Gel foam® และ Pore Skin® (mean  $\pm$  S.E.M, n=12) ที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

### ผลการศึกษาที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาหลังการฝัง Gel foam<sup>®</sup> เปรียบเทียบกับ Pore Skin<sup>®</sup> ในชั้นกล้ามเนื้อของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ(surrounding tissue) Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> โดยจะพิจารณาจากพื้นที่บริเวณ หมายเลข 2 (ภาพที่ 17a และ ภาพที่ 17b) ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลง ดังนี้

1. การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Polymorphonuclear cell จากตัวอย่างบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> พบว่ามีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Polymorphonuclear cell 1-5 cells/phf (ภาพที่ 18a และ ภาพที่ 18b) และปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Polymorphonuclear cell เฉลี่ยของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $0.17 \pm 0.09$  และ  $0.14 \pm 0.09$  ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

2. การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte จากตัวอย่างบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> พบว่ามีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte 1-5 cells/phf (ภาพที่ 19a และ ภาพที่ 19b) และปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte เฉลี่ยของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $5.13 \pm 1.55$  และ  $2.47 \pm 0.50$  ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3. การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell จากตัวอย่างบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Pore Skin<sup>®</sup> พบว่ามีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell 1-5 cells/phf (ภาพที่ 20b) แต่ไม่พบในเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell เฉลี่ยของ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $0.11 \pm 0.11$  โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่าง Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4. การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Macrophage จากตัวอย่างบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> พบว่ามีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Macrophage 1-5 cells/phf (ภาพที่ 21a และ ภาพที่ 21b) และปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Macrophage เฉลี่ยของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $2.30 \pm 0.83$  และ  $4.39 \pm 0.71$  ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

5. การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Foreign type multinucleated giant cells จากตัวอย่างบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> พบว่ามีปริมาณ Foreign type multinucleated giant cells 1-5 cells/phf (ภาพที่ 22a และ ภาพที่ 22b) และปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Foreign type multinucleated giant cells เฉลี่ยของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $1.57 \pm 0.44$  และ  $0.53 \pm 0.14$  ตามลำดับ โดยมีมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

6. ไม่พบเซลล์ Necrosis บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup>

7. การสร้างหลอดเลือด capillary ใหม่ จากตัวอย่างบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีการเปลี่ยนแปลงเหมือนกัน คือ มีการสร้างหลอดเลือด capillary ใหม่ จำนวน 4-7 เส้น/phf (ภาพที่ 23a และ ภาพที่ 23b) และปริมาณการสร้างหลอดเลือด capillary ใหม่เฉลี่ยของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $2.63 \pm 0.56$  และ  $3.97 \pm 0.57$  ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

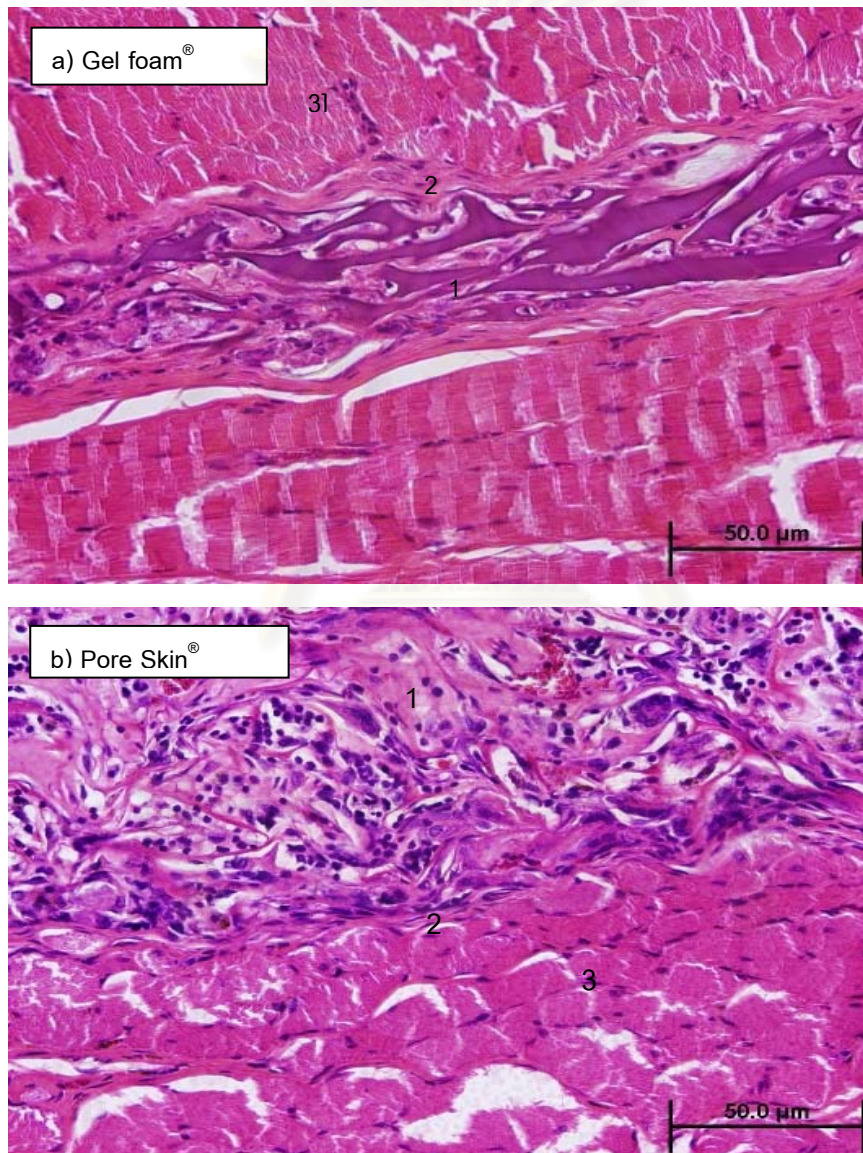
8. การศึกษาปฏิกิริยาการสร้างพังผืด (Fibroblast proliferation) ที่เข้ามาล้อมรอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> จากตัวอย่างบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> พบมีการเปลี่ยนแปลงเหมือนกัน คือมีเซลล์ fibroblasts ร่วมกับการสร้างคอลลาเจนเป็นแถบเส้นบางขนาดเล็ก (Narrow band) รอบตัวอย่างทั้งสองชนิด (ภาพที่ 24a และ ภาพที่ 24b) และขนาดการสร้างพังผืดเฉลี่ยของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $16.49 \pm 3.15 \mu\text{m}$  และ  $19.87 \pm 3.63 \mu\text{m}$  ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

9. การแทรกตัวของเซลล์ไขมัน จากตัวอย่างบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงที่เหมือนกันคือ มีการแทรกตัวของเซลล์ไขมันเพิ่มปริมาณขึ้นเล็กน้อย (ภาพที่ 25a และ ภาพที่ 25b) และขนาดการแทรกตัวของเซลล์ไขมันเฉลี่ยของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $71.15 \pm 1.81 \mu\text{m}$  และ  $47.86 \pm 5.04 \mu\text{m}$  ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

#### 4.2.2 ลักษณะทางพยาธิวิทยาหลังการฝังนาน 4 สัปดาห์

##### 4.2.2.1 ลักษณะทั่วไปทางพยาธิวิทยาหลังการฝังนาน 4 สัปดาห์

หลังจากนำเนื้อเยื่อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> และ Gel foam<sup>®</sup> จากสัตว์ทดลองออกมาทำการย้อม H&E และตรวจดูลักษณะทั่วไปทางพยาธิวิทยา โดยแบ่งพื้นที่สำหรับการประเมินออกเป็น 3 บริเวณ ดังนี้ หมายเลข 1 บริเวณตัวอย่างที่ฝัง, หมายเลข 2 บริเวณ surrounding tissue และ หมายเลข 3 บริเวณ normal skeletal muscle แสดงที่กำลังขยาย x400 (ภาพที่ 28a และ ภาพที่ 28b)



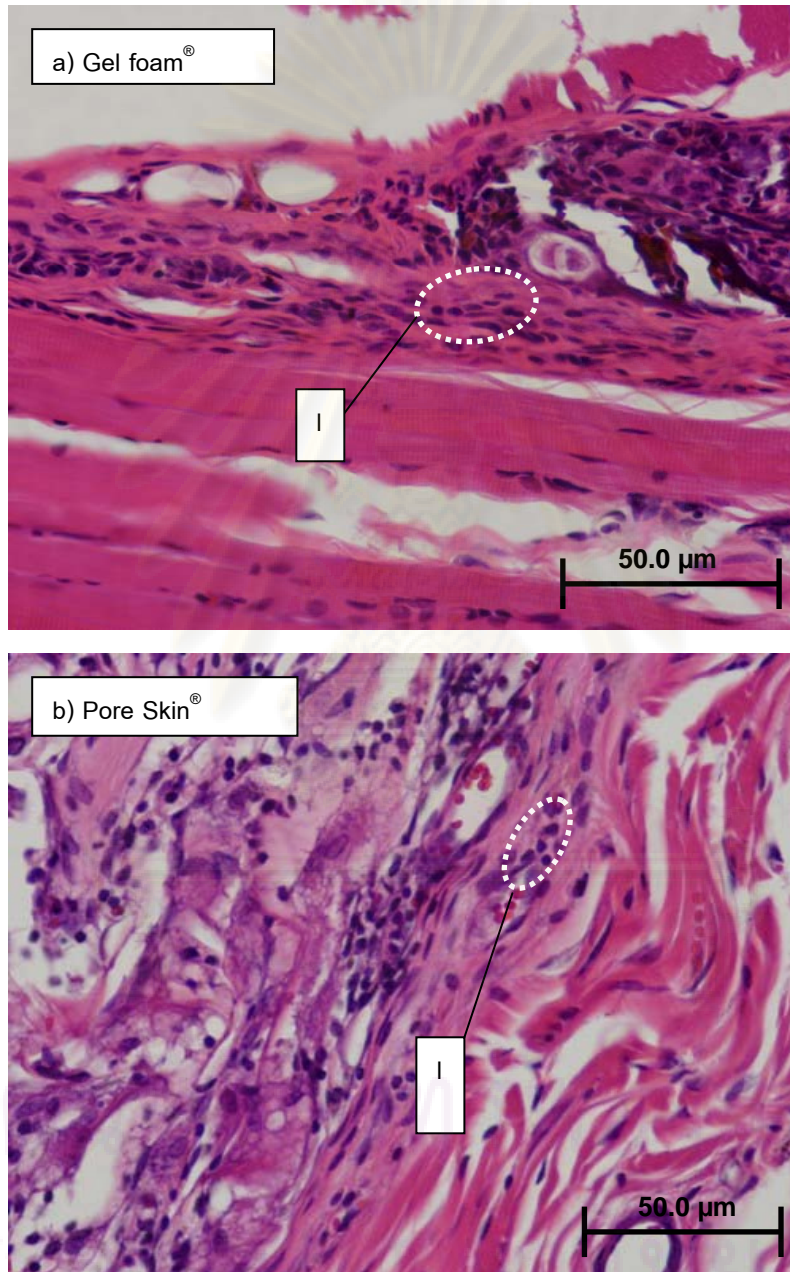
ภาพที่ 28 แสดงตัวอย่างที่ฝังตัวอย่างอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย x400; หมายเลข 1 บริเวณตัวอย่างที่ฝัง, หมายเลข 2 บริเวณ surrounding tissue (2) และ หมายเลข 3 บริเวณ normal skeletal muscle

28a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอย่างอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ

28b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอย่างอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ

4.2.2.2 การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte หลังการฝังนาน 4 สัปดาห์

พบว่าเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> เมื่อพิจารณาจากบริเวณหมายเลข 2 พบเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte ในปริมาณน้อยมากประมาณ 1-5 cells/phf (ภาพที่ 29a และ ภาพที่ 29b)



ภาพที่ 29 แสดงเซลล์อักเสบชนิด Lymphocyte (I)

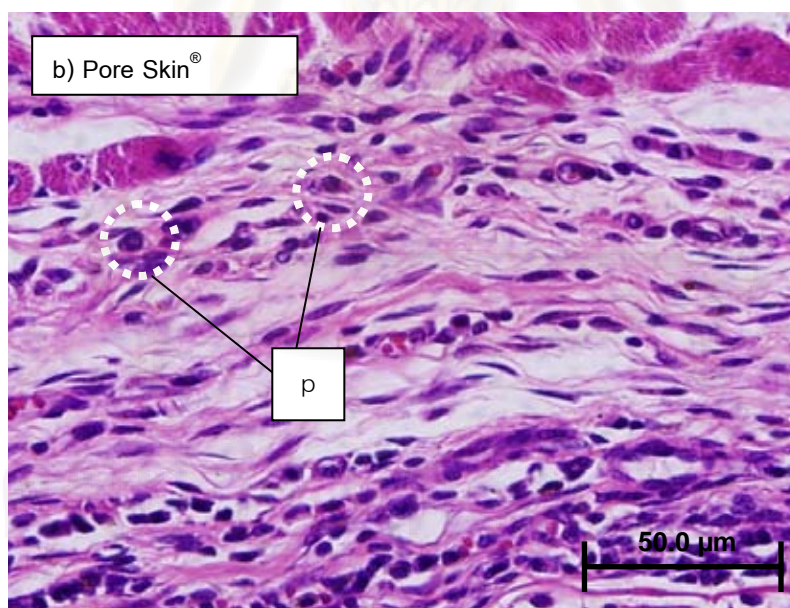
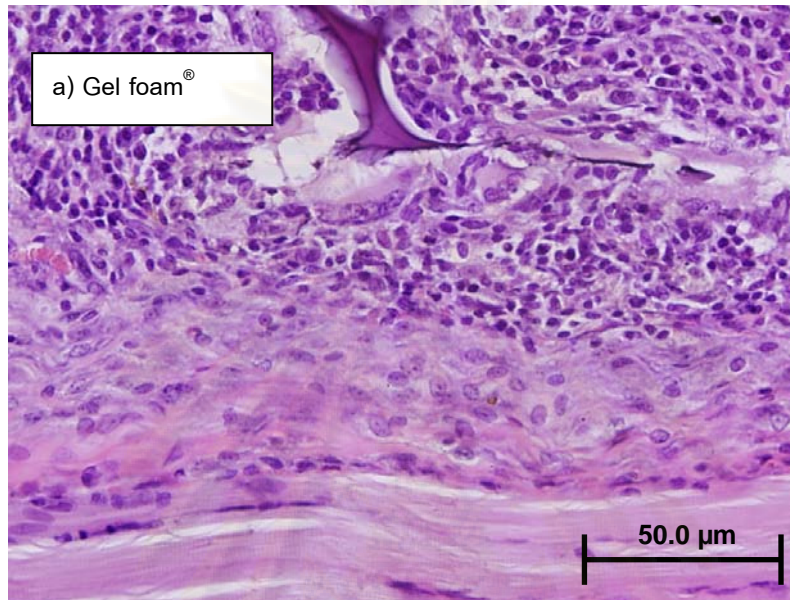
29a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และเซลล์อักเสบชนิด Lymphocyte

29b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และเซลล์อักเสบชนิด Lymphocyte



#### 4.2.2.3 การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell หลังการฝังนาน 4 สัปดาห์

พบว่าเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Pore Skin<sup>®</sup> เมื่อพิจารณาจากบริเวณหมายเลข 2 พบเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell ในปริมาณน้อยมากประมาณ 1-5 cells/phf (ภาพที่ 30b) แต่ไม่พบในเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup>



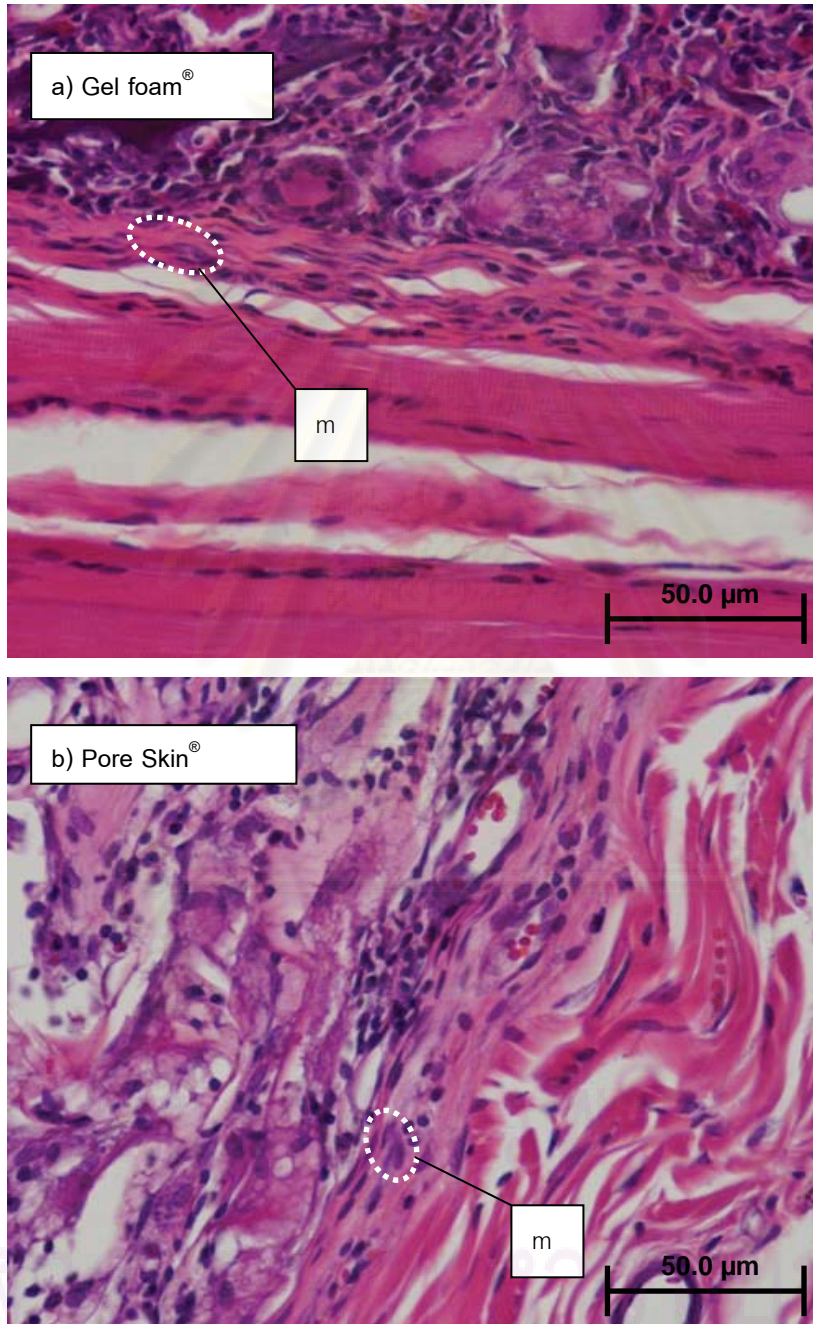
ภาพที่ 30 แสดงเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell (p)

30a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ แต่ไม่พบเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell

30b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell

4.2.2.4 การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Macrophage หลังการฝังนาน 4 สัปดาห์

พบว่าเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> เมื่อพิจารณาจากบริเวณหมายเลข 2 พบเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Macrophage ในปริมาณน้อยมากประมาณ 1-5 cells/phf (ภาพที่ 31a และ ภาพที่ 31b)



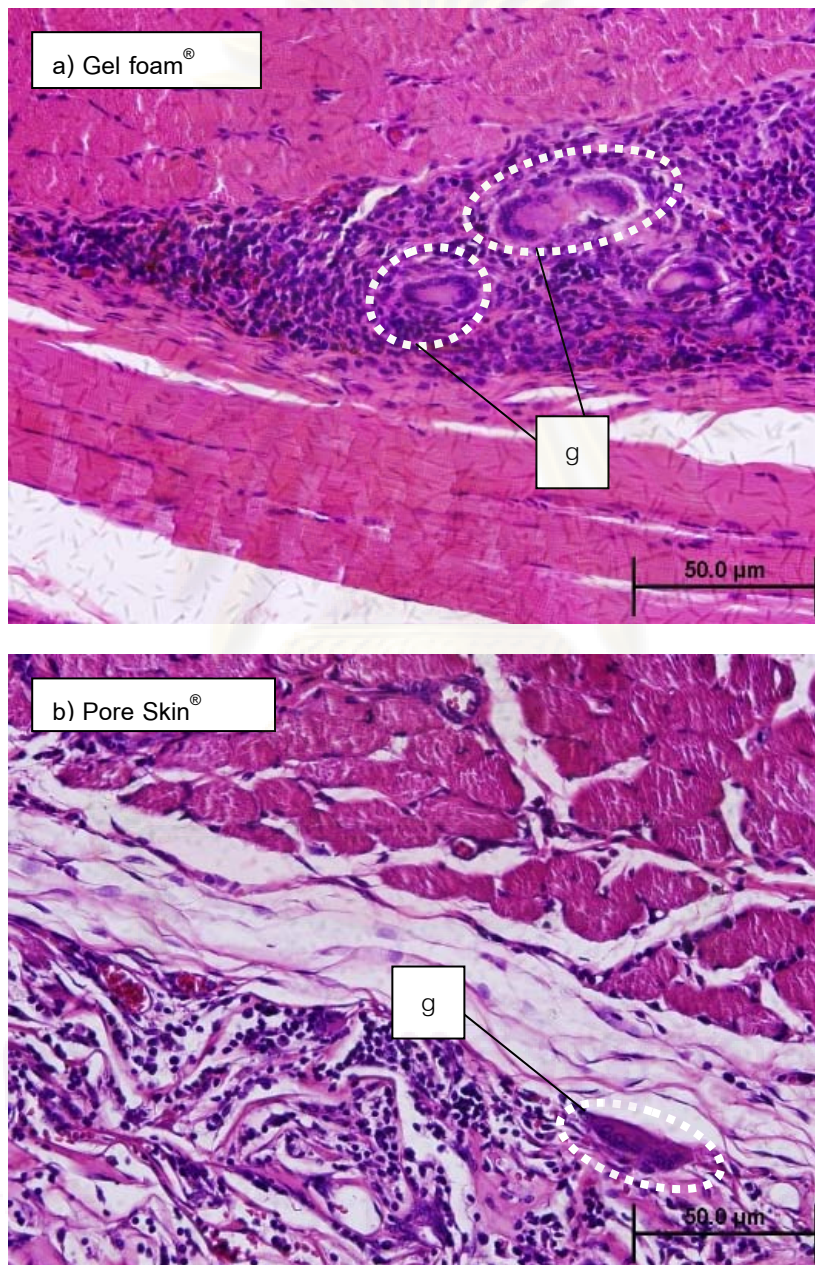
รูปที่ 31 แสดงเซลล์อักเสบชนิด Macrophage (m)

31a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และเซลล์อักเสบชนิด Macrophage

31b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และเซลล์อักเสบชนิด Macrophage

4.2.2.5 การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Foreign type multinucleated giant cells หลังการฝังนาน 4 สัปดาห์

พบเม็ดเลือดขาวชนิด Foreign type multinucleated giant cells แทรกอยู่บริเวณเนื้อเยื่อรอบตัวอย่างที่ฝังทั้ง Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> พบว่าทั้งคู่มีปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิด Foreign type multinucleated giant cells น้อยมากประมาณ 1-5 cells/phf (ภาพที่ 32a และภาพที่ 32b)



ภาพที่ 32 Foreign type multinucleated giant cells (g)

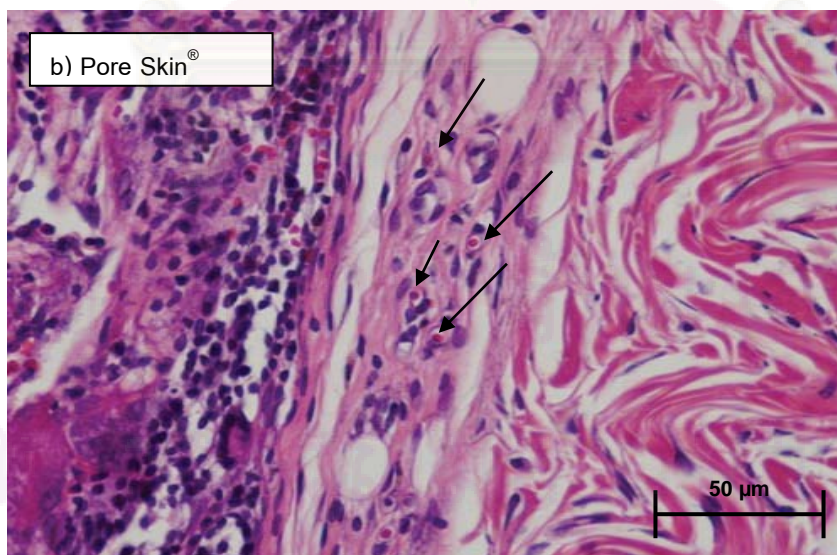
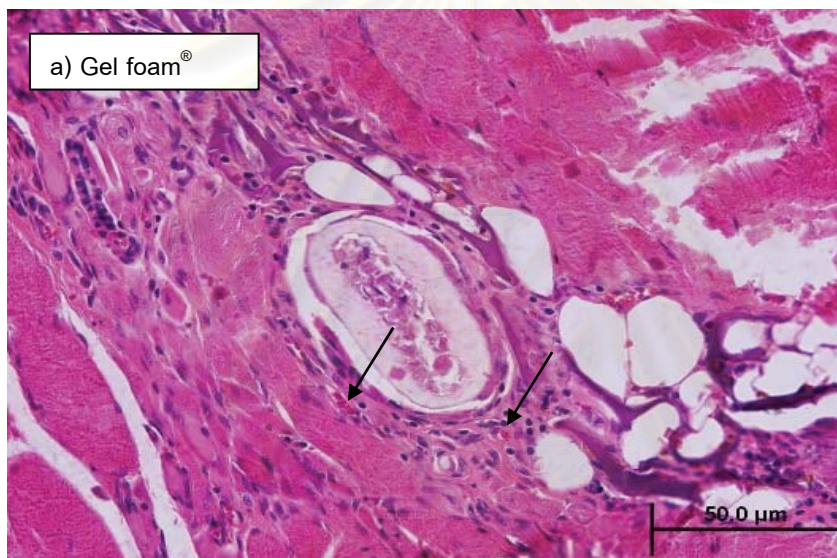
32a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Foreign type multinucleated giant cells

32b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Foreign type multinucleated giant cells

4.2.2.6 การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากการสร้างหลอดเลือด capillary ใหม่ (Neovascularisation) หลังการฝังนาน 4 สัปดาห์

การสร้างหลอดเลือดใหม่เกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกิริยาการอักเสบ ถ้ามีการสร้างหลอดเลือดใหม่จำนวนมากจะพบว่ามีการอักเสบสูง แต่ถ้ามีการสร้างหลอดเลือดใหม่น้อยจะมีการอักเสบต่ำ

จากการศึกษาพบว่าการสร้างหลอดเลือด capillary ใหม่ บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีการเปลี่ยนแปลงต่างกันเล็กน้อยดังนี้ คือ บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> (ภาพที่ 33a) มีการสร้างหลอดเลือดจำนวน 1-3 เส้น/phf และ บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Pore Skin<sup>®</sup> มีการสร้างหลอดเลือดจำนวน 4-7 เส้น/phf (ภาพที่ 33b)



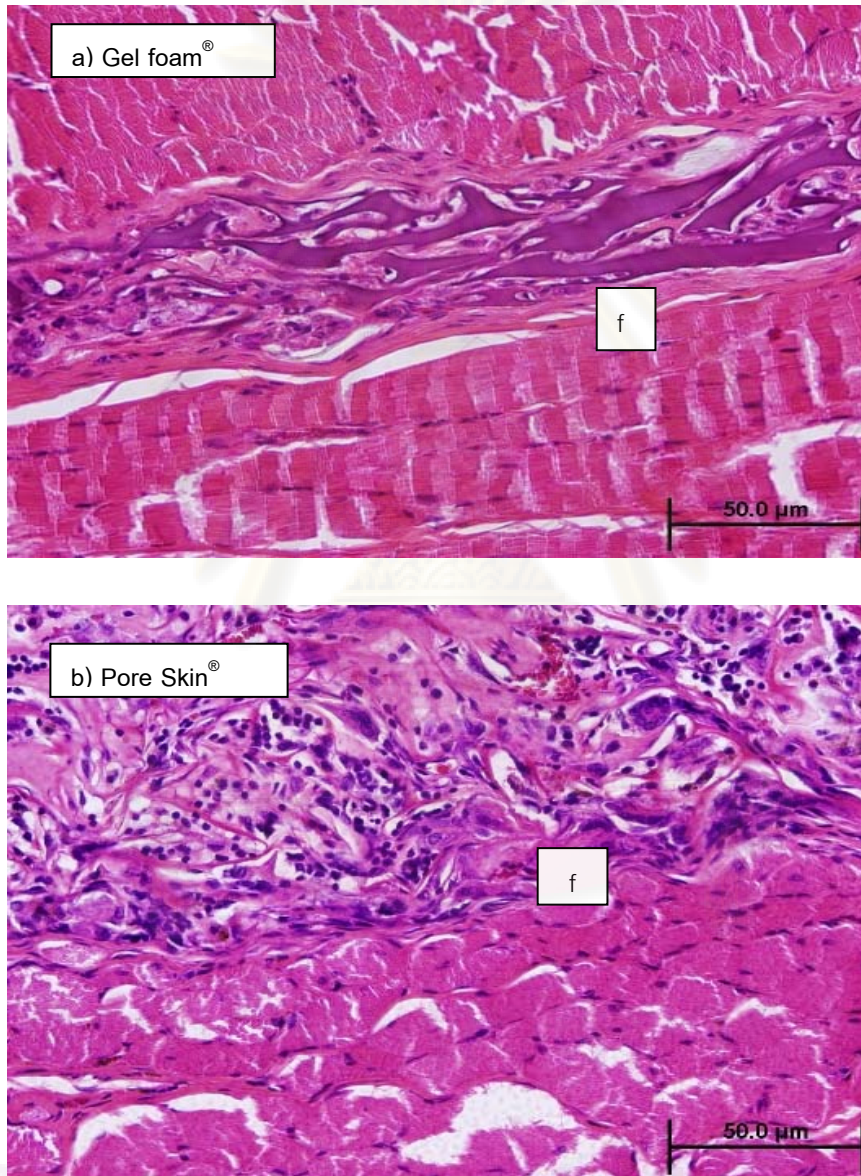
ภาพที่ 33 การสร้างหลอดเลือด capillary ใหม่ (Neovascularisation)

33a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Neovascularisation

33b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Neovascularisation

4.2.2.7 การศึกษาปฏิกิริยาของเซลล์พังผืด (Fibroblastic proliferation) หลังการฝังนาน 4 สัปดาห์

การศึกษาปฏิกิริยาการตอบสนองของเซลล์พังผืด (Fibroblast proliferation) ที่เข้ามาล้อมรอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> พบมีการเปลี่ยนแปลงเหมือนกัน คือมีเซลล์ fibroblasts ร่วมกับการสร้างคอลลาเจนเป็นแถบเส้นบางขนาดเล็ก (Narrow band) รอบตัวอย่างทั้งสองชนิดที่มีขนาดเท่ากัน (รูปที่ 34a และ รูปที่ 34b)

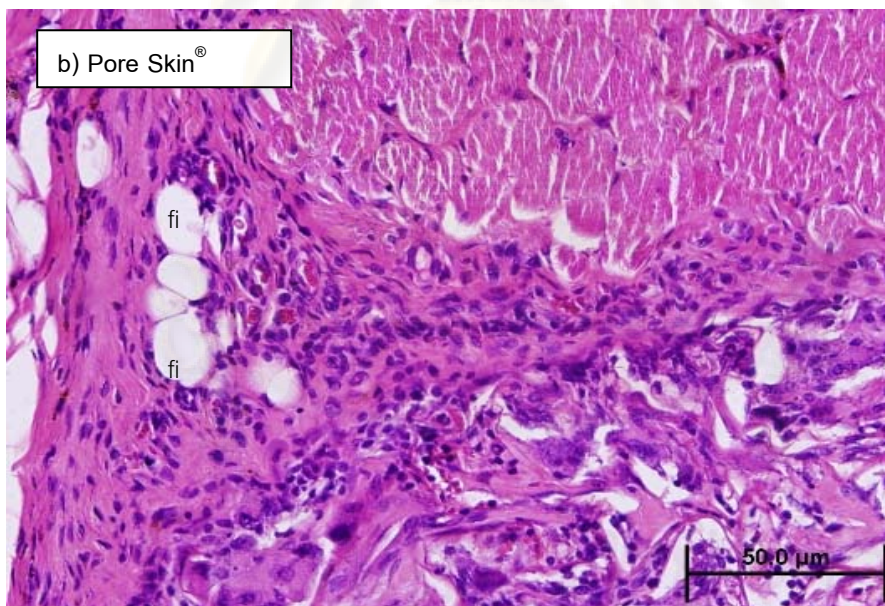
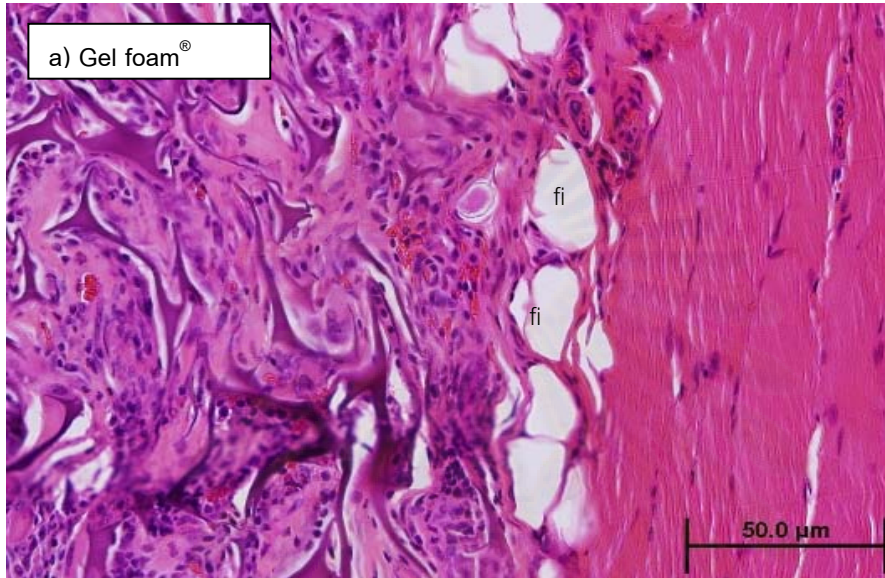


รูปที่ 29 แสดง Fibroblastic proliferation (f)

34a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Fibroblastic proliferation เป็นแถบเส้นบางขนาดเล็ก

34b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Fibroblastic proliferation เป็นแถบเส้นบางขนาดเล็ก

4.2.2.8 ลักษณะการแทรกของไขมัน (Fatty infiltration) หลังการฝังนาน 4 สัปดาห์  
 การแทรกตัวของเซลล์ไขมัน พบว่ามีการมีการแทรกตัวของเซลล์ไขมันในบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่  
 รอบ Gel foam<sup>®</sup> มากกว่าบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Pore Skin<sup>®</sup> (รูปที่ 35a และ รูปที่ 35b)



รูปที่ 35 แสดง Fatty infiltration (fi)

35a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Fatty infiltration

35b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อ และ Fatty infiltration

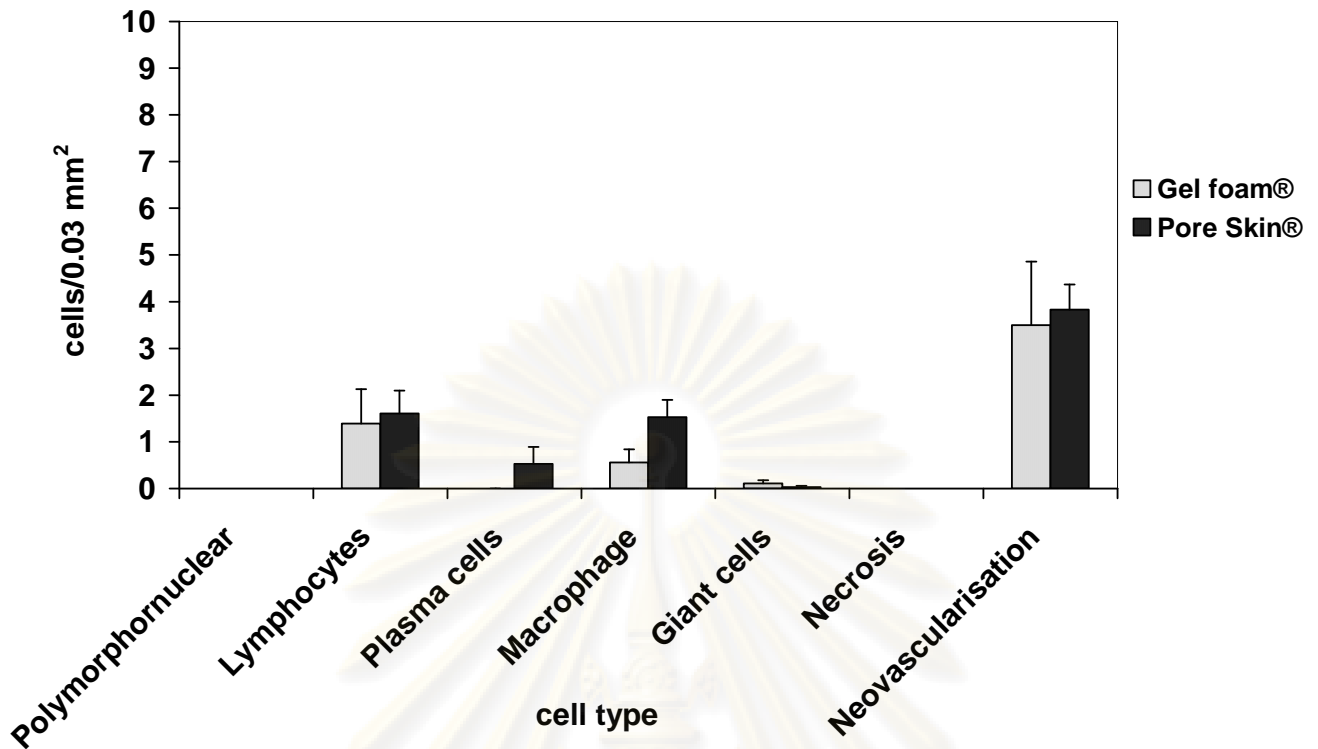
ตารางที่ 12 ตารางแสดงเซลล์อักเสบ (Inflammatory cells), การเกิดหลอดเลือดใหม่ (Neovascularisation), เนื้อเยื่อพังผืด (Fibrosis) และ การแทรกของไขมัน (Fatty infiltrate) เฉลี่ยที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

ชนิดเซลล์อักเสบ (cells)	Gel foam <sup>®</sup> (Mean±S.E.M, n=12)	Pore Skin <sup>®</sup> (Mean±S.E.M, n=12)	P value
Polymorphonuclear	0	0	-
Lymphocytes	1.39±0.74	1.61±0.49	0.800
Plasma cells	0	0.53±0.36	0.324
Macrophage	0.56±0.28	1.53±0.37	0.104
Giant cells	0.11±0.07	0.03±0.03	0.201
Necrosis	0	0	-
Neovascularisation	3.50±1.36	3.83±0.54	0.787
Fibrosis (µm)	6.67±2.28	10.72±1.46	0.150
Fatty infiltrate (µm)	44.77±24.17	45.30±15.85	0.986

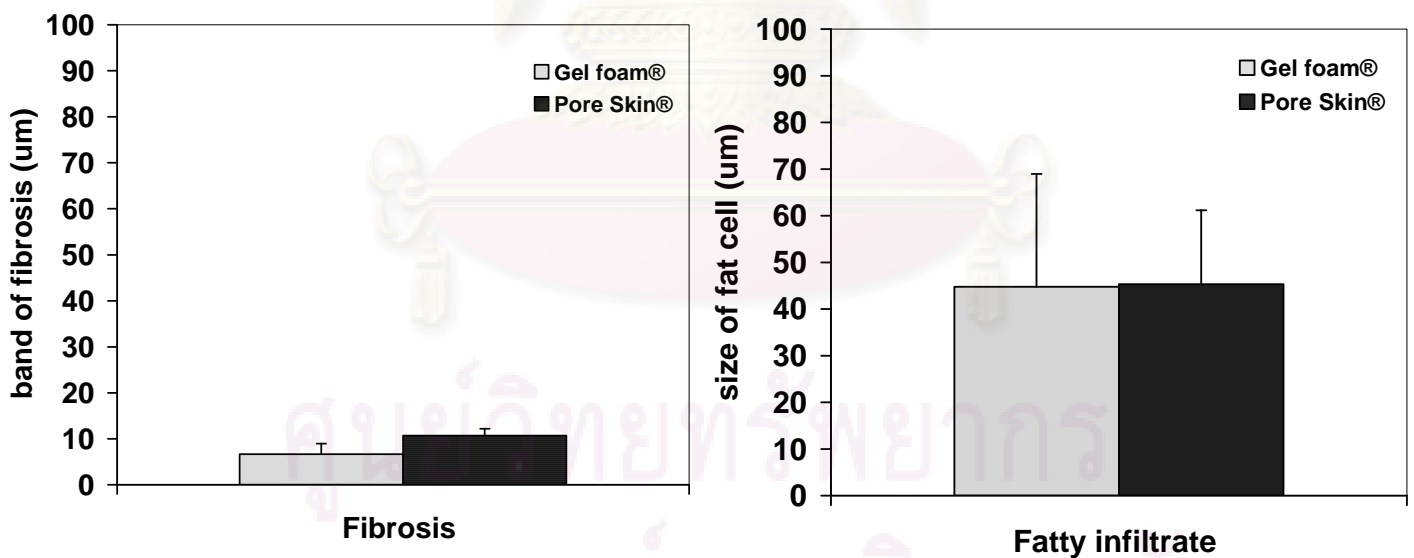
หมายเหตุ – แสดงการเปรียบเทียบปริมาณเฉลี่ยของเซลล์อักเสบ, การเกิดหลอดเลือดใหม่, เนื้อเยื่อพังผืด และ การแทรกของไขมัน ระหว่าง Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากตารางที่ 11 แสดงค่าเฉลี่ยของเซลล์อักเสบ, การเกิดหลอดเลือดใหม่, เนื้อเยื่อพังผืด และ การแทรกของไขมัน ระหว่าง Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า เซลล์อักเสบเฉลี่ยแต่ละชนิด Polymorphonuclear cells, Lymphocytes, Plasma cells, Macrophage การเกิดหลอดเลือดใหม่ ขนาดของการเกิดเนื้อเยื่อพังผืด ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 36 กราฟแสดงปริมาณเฉลี่ยของเซลล์อักเสบ และการเกิดหลอดเลือดใหม่ ระหว่าง Gel foam® และ Pore Skin® (mean  $\pm$  S.E.M, n=12) ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์



ภาพที่ 37 กราฟแสดงขนาดของเนื้อเยื่อพังผืด และ ขนาดการแทรกของไขมันเฉลี่ย ระหว่าง Gel foam® และ Pore Skin® (mean  $\pm$  S.E.M, n=12) ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์



### ผลการศึกษาที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาหลังการฝัง Gel foam<sup>®</sup> เปรียบเทียบกับ Pore Skin<sup>®</sup> ในชั้นกล้ามเนื้อของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ(surrounding tissue) Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> โดยจะพิจารณาจากพื้นที่บริเวณ หมายเลข2 (ภาพที่ 28a และ ภาพที่ 28b) ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลง ดังนี้

1. ไม่พบเซลล์อักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Polymorphonuclear cell บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup>

2. การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte จากตัวอย่างบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> พบว่ามีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte 1-5 cells/phf (ภาพที่ 29a และ ภาพที่ 29b) และปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte เฉลี่ยของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $1.39 \pm 0.74$  และ  $1.61 \pm 0.49$  ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3. การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell จากตัวอย่างบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Pore Skin<sup>®</sup> พบว่ามีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell 1-5 cells/phf (ภาพที่ 30b) แต่ไม่พบในเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell เฉลี่ยของ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $0.53 \pm 0.36$  โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่าง Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4. การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Macrophage จากตัวอย่างบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> พบว่ามีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Macrophage 1-5 cells/phf (ภาพที่ 31a และ ภาพที่ 31b) และปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Macrophage เฉลี่ยของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $0.56 \pm 0.28$  และ  $1.53 \pm 0.37$  ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

5. การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Foreign type multinucleated giant cells จากตัวอย่างบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> พบว่ามีปริมาณ Foreign type multinucleated giant cells 1-5 cells/phf (ภาพที่ 32a และ ภาพที่ 32b) และปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Foreign type multinucleated giant cells เฉลี่ยของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $0.11 \pm 0.07$  และ  $0.03 \pm 0.03$  ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

6. ไม่พบเซลล์ Necrosis บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup>

7. การสร้างหลอดเลือด capillary ใหม่ จากตัวอย่างบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีการเปลี่ยนแปลงต่างกันเล็กน้อยดังนี้ คือ บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> (ภาพที่ 33a) มีการสร้างหลอดเลือดจำนวน 1-3 เส้น/phf และ บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Pore Skin<sup>®</sup> มีการสร้างหลอดเลือดจำนวน 4-7 เส้น/phf (ภาพที่ 33b) และปริมาณการสร้างหลอดเลือด capillary ใหม่เฉลี่ยของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $3.50 \pm 1.36$  และ  $3.83 \pm 0.54$  ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

8. การศึกษาปฏิกิริยาการสร้างพังผืด (Fibroblast proliferation) ที่เข้ามาล้อมรอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> จากตัวอย่างบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> พบมีการเปลี่ยนแปลงเหมือนกัน คือมีเซลล์ fibroblasts ร่วมกับมีการสร้างคอลลาเจนเป็นแถบเส้นบางขนาดเล็ก (Narrow band) รอบตัวอย่างทั้งสองชนิด (ภาพที่ 34a และ ภาพที่ 34b) และขนาดการสร้างพังผืดเฉลี่ยของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $6.67 \pm 2.28 \mu\text{m}$  และ  $10.72 \pm 1.46 \mu\text{m}$  ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

9. การแทรกตัวของเซลล์ไขมัน จากตัวอย่างบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> พบว่ามีการเปลี่ยนแปลง คือ ในบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> มากกว่าบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Pore Skin<sup>®</sup> เล็กน้อย (ภาพที่ 35a และ ภาพที่ 35b) และขนาดการแทรกตัวของเซลล์ไขมันเฉลี่ยของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $71.15 \pm 1.81 \mu\text{m}$  และ  $47.86 \pm 5.04 \mu\text{m}$  ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

#### 4.3 การวิเคราะห์และการประเมินลักษณะทางพยาธิวิทยาตามมาตรฐาน ISO 10993-6

ทำการประเมินเซลล์ที่มีผลต่อการอักเสบชนิดต่างๆ บริเวณ surrounding tissue ตามมาตรฐาน ISO 10993-6 ตามตารางที่ 7, 8 และ 9 ตามลำดับ ทำการคำนวณและประเมินผลวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เปรียบเทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ทำการคำนวณโดย

นำคะแนนของวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> - คะแนนของวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup>  
ค่าที่ได้พิจารณาจากคะแนน ดังนี้

คะแนน 0.0 - 2.9 คือไม่ระคายเคือง (non-irritant)

คะแนน 3.0 - 8.9 คือระคายเคืองเล็กน้อย (slight irritant)

คะแนน 9.0 - 15.0 คือระคายเคืองปานกลาง (moderate irritant)

คะแนนมากกว่า 15 คือระคายเคืองมาก (severe irritant)

#### หมายเหตุ

คะแนนทุกกลุ่มเป็นปฏิกิริยาระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อของวัสดุทดสอบเมื่อเทียบกับวัสดุควบคุมที่ได้รับการยอมรับว่าไม่ระคายเคือง

### 4.3.1 ผลการประเมินที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

ตารางที่ 13 ผลการประเมินลักษณะทางพยาธิวิทยาตามมาตรฐาน ISO 10993-6 ที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

Test sample	Gel foam®												Pore Skin®											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Inflammation	0	0	0	0.67	0	**	0.33	0	**	0	0	0.67	0	0.33	0	1	0.33	0	0	0	0	0	0	0
Polymorphonuclear																								
clear																								
Lymphocyte	3	1	1.33	1.33	0.33	**	1	0	**	1	2	3	2	0.33	2	1	0.67	1	0.67	0.33	0	1	1	0.33
Plasma cells	0	0	0	0	0	**	0	0	**	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Macrophages	1.33	1	1	1	1	**	1	0	**	0.67	1	2.67	2.33	2.67	2	1.67	1.33	2	0.67	1	1	2	2.33	1.67
Giant cells	1.33	1.33	1.33	0.33	1	**	0.33	0	**	0.67	0.33	1	0.67	1	1	0.33	0.33	0.67	0	0.33	1.67	0	0.67	1
Necrosis	0	0	0	0	0	**	0	0	**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SUB-TOTAL (x2)	11.32	6.66	7.32	6.66	4.66	**	5.32	0	**	4.68	6.66	14.68	10	10.66	10	8	5.32	7.34	2.68	3.32	5.34	6	8	6
Neovascularisation	1	0.33	1	1.67	0.33	**	1.33	0.67	**	0	0.67	1	2.33	2.33	2	2	2	1.33	1	0.33	1.67	2.67	3	1
Fibrosis	1.33	0.67	1	1.33	1.67	**	1	1	**	1	0.33	1	1	1.67	1.33	1.67	1.67	1	1	1	1.33	2	1	2.33
Fatty infiltrate	0	0	0	1.33	1	**	0	0	**	0	0	0.33	0.33	1.33	1	1	0.67	0	0.33	0	0.33	1	0.33	0.67
SUB-TOTAL	2.33	1	2	4.33	3	**	2.33	1.67	**	1	1	2.33	3.66	5.33	4.33	4.67	4.34	2.33	2.33	1.33	3.33	5.67	4.33	4
TOTAL	13.65	7.66	9.32	10.99	7.66	**	7.65	1.67	**	5.68	7.66	17.01	13.66	15.99	14.33	12.67	9.66	9.67	5.01	4.65	8.67	11.67	12.33	10
GROUP TOTAL	8.9												10.69											
AVERAGE	Pore Skin® - Gel Foam® = 10.69 - 8.9 = 1.79																							
Tramatic necrosis	0	0	0	0	0	**	0	0	**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Foreign debris	0	0	0	0	0	**	0	0	**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
a Used to determine irritant ranking show below as the conclusion. A negative difference is recorded as zero.																								
** สลายตัวหมด																								

### สรุปการวิเคราะห์ประสิทธิภาพของกล้ามเนื้อรอบวัสดุที่ 2 สัปดาห์

คะแนนจากตารางประเมินลักษณะทางพยาธิวิทยาตามมาตรฐาน ISO 10993-6 (ตารางที่ 13) ที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ (ตารางที่ 13) นำผลคะแนนของวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> (10.69) – คะแนนของวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> (8.90) ค่าที่ได้ คือ 1.79 ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0.0 ถึง 2.9 สรุปผลได้ว่า วัสดุที่ฝังทดสอบไม่ทำให้เกิดการระคายเคือง และพบว่าวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> กระตุ้นการสร้างหลอดเลือดใหม่ (Neovascularisation) ได้ดีกว่า Gel foam<sup>®</sup> คุณสมบัติการกระตุ้นการสร้างหลอดเลือดใหม่เป็นสิ่งที่ดีที่ช่วยให้กระบวนการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ที่บริเวณแผลดีขึ้น



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### 4.3.2 ผลการประเมินที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

ตารางที่ 14 ผลการประเมินลักษณะทางพยาธิวิทยาตามมาตรฐาน ISO 10993-6 ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

Test sample	Gel foam®												Pore Skin®											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Inflammation	0	0	**	**	**	0	**	0	0	**	**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Polymorphonuclear	0	0	**	**	**	0	**	0	0	**	**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
clear																								
Lymphocyte	0	0.67	**	**	**	0	**	1.33	0.33	**	**	0	0	0	0	0	0	0	0.67	1	1.33	0.33	1	0.33
Plasma cells	0	0	**	**	**	0	**	0	0	**	**	0	0	0	1.33	0	0	0	0	0	1.33	0	0	0
Macrophages	0.33	0.33	**	**	**	1	**	0	0	**	**	0	1	0.67	1	0.67	1	0.33	1	0.33	0.33	1.67	1	0.67
Giant cells	0.33	0.33	**	**	**	0	**	0	0	**	**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.33	0
Necrosis	0	0	**	**	**	0	**	0	0	**	**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SUB-TOTAL (x2)	1.32	2.66	**	**	**	2	**	2.66	0.66	**	**	0	2	1.34	4.66	1.34	2	0.66	3.34	0.66	5.98	4	4.66	2
Neovascularisation	0	0.67	**	**	**	2.67	**	1.67	1	**	**	0.33	2.67	0.67	2.67	2	2.67	1.33	2.33	2	2.33	2.67	0.33	2
Fibrosis	1.33	1	**	**	**	2	**	1.67	1	**	**	1.33	1	1	1.33	1.33	2	1	1	1.67	1.67	2.33	1	2.33
Fatty infiltrate	0	0.67	**	**	**	0	**	1.67	0	**	**	0	1	0	0	0	0	0	1.33	0	1	0.33	0	1.67
SUB-TOTAL	1.33	2.34	**	**	**	4.67	**	5.01	2	**	**	1.66	4.67	1.67	4	3.33	4.67	2.33	4.66	3.67	5	5.33	1.33	6
TOTAL	2.65	5	**	**	**	6.67	**	7.67	2.66	**	**	1.66	6.67	3.01	8.66	4.67	6.67	2.99	8	4.33	10.98	9.33	5.99	8
GROUP TOTAL	4.39												6.61											
AVERAGE	Pore Skin - Gel Foam = 6.61 - 4.39 = 2.22																							
Tramatic necrosis	0	0	**	**	**	0	**	0	0	**	**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Foreign debris	0	0	**	**	**	0	**	0	0	**	**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
a Used to determine irritant ranking show below as the conclusion. A negative difference is recorded as zero.																								
** สลายตัวหมด																								

### สรุปการวิเคราะห์ปฏิกิริยาของกล้ามเนื้อรอบวัสดุที่ 4 สัปดาห์

คะแนนจากตารางประเมินลักษณะทางพยาธิวิทยาตามมาตรฐาน ISO 10993-6 (ตารางที่ 14) ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์ นำผลคะแนนของวัสดุทดสอบ Pore Skin® (6.61) – คะแนนของวัสดุควบคุม Gel foam® (4.39) ค่าที่ได้ คือ 2.22 ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0.0 ถึง 2.9 สรุปผลได้ว่า วัสดุที่ฝังทดสอบไม่ทำให้เกิดการระคายเคือง และแสดงให้เห็นว่าวัสดุทดสอบ Pore Skin® สามารถคงคุณสมบัติในการกระตุ้นการสร้างหลอดเลือดใหม่ (Neovascularisation) ได้ยาวนานกว่า Gel foam® และสามารถกระตุ้นการสร้างเนื้อเยื่อพังผืดคอลลาเจนได้ดี ในขณะที่ปฏิกิริยาจากเม็ดเลือดขาวลดลงมากทั้งสองชนิด คุณสมบัติการกระตุ้นการสร้างหลอดเลือดใหม่ (Neovascularisation) ที่เนื้อเยื่อรอบ Pore Skin® เป็นสัญญาณที่สำคัญที่ช่วยยืนยันว่ากระบวนการสร้างเนื้อเยื่อที่เกิดขึ้นภายใน Pore Skin® จะมีเลือดมาเลี้ยงพอที่จะทำให้ Pore Skin® เปลี่ยนแปลงเป็นเนื้อเยื่อผู้ป่วยที่มีระบบเลือดมาเลี้ยง

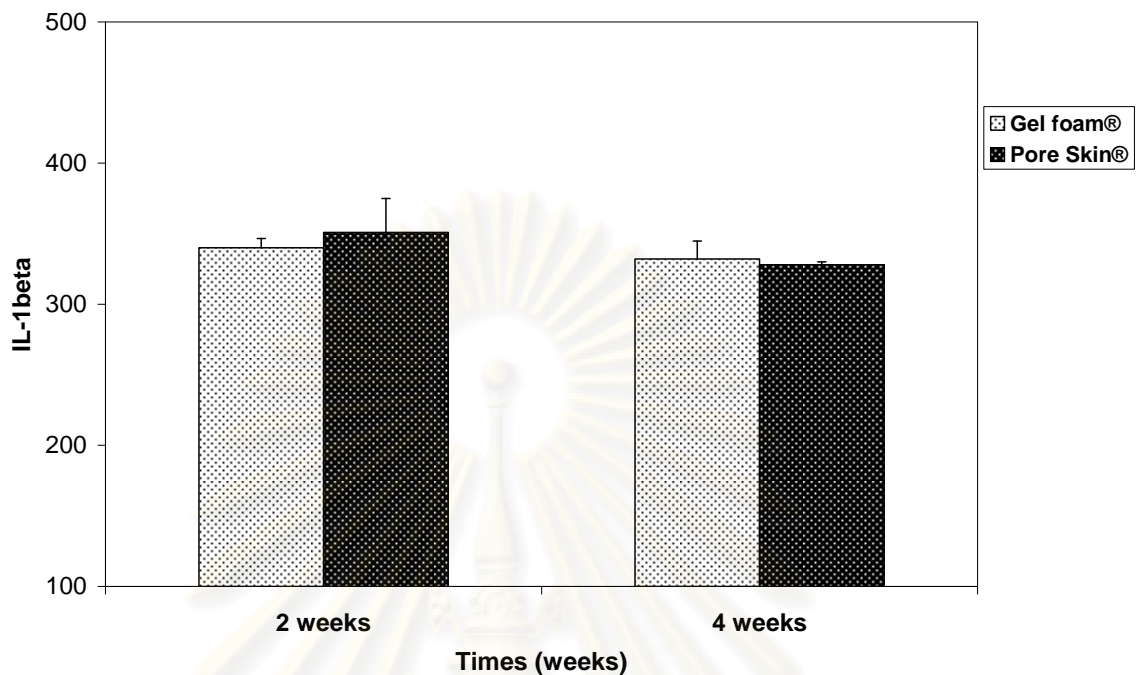
#### 4.4 ผลการทดสอบ Systemic inflammatory reaction

จากผลการทดสอบปฏิกิริยาการอักเสบโดยวัดจากปริมาณไซโตไคน์ที่เซลล์อักเสบหลั่งออกมา โดยการฝัง Gel foam® และ Pore Skin® ในกล้ามเนื้อ gluteal ของหนูวิสตาร์ พบว่าที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ มีปริมาณไซโตไคน์เฉลี่ยในหนูที่ฝัง Gel foam®  $340 \pm 6.56$  pg/ml ในหนูที่ฝัง Pore Skin® มีปริมาณ  $351 \pm 24.00$  pg/ml และที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์ มีปริมาณไซโตไคน์เฉลี่ยในหนูที่ฝัง Gel foam®  $332 \pm 12.77$  pg/ml ในหนูที่ฝัง Pore Skin® มีปริมาณ  $328 \pm 2.00$  pg/ml (ตารางที่ 15 และ ภาพที่ 38)

ตารางที่ 15 ปริมาณ IL1- $\beta$  ที่ระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์

ระยะเวลา	ปริมาณ IL1- $\beta$ (pg/ml) (Mean $\pm$ S.E.M, n=3)		P value
	Gel foam®	Pore Skin®	
2 สัปดาห์	340 $\pm$ 6.56	351 $\pm$ 24.00	0.617
4 สัปดาห์	332 $\pm$ 12.77	328 $\pm$ 2.00	0.772

หมายเหตุ – แสดงการเปรียบเทียบปริมาณเฉลี่ยของ IL1- $\beta$  ที่ระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ ระหว่าง Gel foam® และ Pore Skin® โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 38 กราฟแสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณ IL-1  $\beta$  หลังจากฝัง Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับ Gel foam<sup>®</sup> ที่ระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ ตามลำดับ

โดย ในปี 2008 L. Baldwin และคณะ ได้มีการศึกษาการตอบสนองของการอักเสบต่อการฝังวัสดุที่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ โดยวัสดุที่ใช้ฝังคือ PMMA ซึ่งเป็นวัสดุที่ใช้ในทางการแพทย์ แบ่งเป็นช่วงเวลาตั้งแต่ 7, 14, 21, 28, 30, 60 และ 90 วัน จากผลการทดลองพบว่าปริมาณไซโตไคน์ IL-1  $\beta$  ที่วัดได้จะอยู่ในช่วง 0-800 pg/ml จะมีปริมาณมากในช่วงแรก และจะลดปริมาณลงในช่วงหลัง<sup>(39)</sup> ซึ่งจากการศึกษาดังกล่าวสอดคล้องกับผลการทดลอง โดยจะมีปริมาณไซโตไคน์เฉลี่ย คือ พบว่าที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ มีปริมาณไซโตไคน์เฉลี่ยในหนูที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> 340 ± 6.56 pg/ml ในหนูที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> มีปริมาณ 351 ± 24.00 pg/ml และที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์ มีปริมาณไซโตไคน์เฉลี่ยในหนูที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> 332 ± 12.77 pg/ml ในหนูที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> มีปริมาณ 328 ± 2.00 pg/ml และจากการวิเคราะห์ทางสถิติเปรียบเทียบความเข้มข้นของ IL-1  $\beta$  ที่ฝังในหนูเปรียบเทียบระหว่าง Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> ที่ระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ พบว่าไม่มีความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

#### สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาประเมินปฏิกิริยาเฉพาะที่หลังการฝัง Pore Skin® ต่อเนื้อเยื่อ ภายหลังทำการฝังที่กล้ามเนื้อ gluteal ในสัตว์ทดลองโดยเปรียบเทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam® ตามมาตรฐาน ISO 10993-6: Biological evaluation of medical devices – Part 6: Tests for local effects after implantation และ ศึกษาการตอบสนองต่อปฏิกิริยาการอักเสบของระบบภูมิคุ้มกันและความเข้ากันได้ทางชีวภาพของ Pore Skin® เปรียบเทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam® โดยวิเคราะห์ปริมาณ Interleukin 1 beta ผลจากการศึกษาสรุปได้ว่า ลักษณะภายนอกของเนื้อเยื่อของสัตว์ทดลองบริเวณที่ฝัง Pore Skin® และ Gel Foam® ไม่พบการอักเสบหรือบวมแดงเกิดขึ้นหลังฝังนาน 2 สัปดาห์ และหลังฝังนาน 4 สัปดาห์ การประเมินลักษณะภายนอกของชิ้นงานเมื่อตัดชิ้นเนื้อออกมาจากสัตว์ทดลองพบว่าลักษณะภายนอกของชิ้นงานที่ระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ไม่มีการอักเสบหรือเป็นหนองเกิดขึ้น การตรวจดูลักษณะทางพยาธิวิทยา ที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ(surrounding tissue) Gel foam® และ Pore Skin® ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลง ดังนี้

1. การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Polymorphonuclear cell บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam® และ Pore Skin® พบว่ามีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Polymorphonuclear cell เฉลี่ยของ Gel foam® และ Pore Skin® มีค่า  $0.17 \pm 0.09$  และ  $0.14 \pm 0.09$  ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

2. การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam® และ Pore Skin® พบว่ามีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte เฉลี่ยของ Gel foam® และ Pore Skin® มีค่า  $5.13 \pm 1.55$  และ  $2.47 \pm 0.50$  ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3. การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Pore Skin® พบว่ามีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell เฉลี่ยของ Pore Skin® มีค่า  $0.11 \pm 0.11$  แต่ไม่พบในเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam® โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่าง Gel foam® และ Pore Skin® ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4. การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Macrophage บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam® และ Pore Skin® พบว่ามีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Macrophage เฉลี่ย



ของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $2.30 \pm 0.83$  และ  $4.39 \pm 0.71$  ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

5. การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Foreign type multinucleated giant cells บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> พบว่ามีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Foreign type multinucleated giant cells เฉลี่ยของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $1.57 \pm 0.44$  และ  $0.53 \pm 0.14$  ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

6. ไม่พบเซลล์ Necrosis บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup>

7. การสร้างหลอดเลือด capillary ใหม่ บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> ปริมาณการสร้างหลอดเลือด capillary ใหม่เฉลี่ยของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $2.63 \pm 0.56$  และ  $3.97 \pm 0.57$  ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

8. การศึกษาปฏิกิริยาการสร้างพังผืด (Fibroblast proliferation) ที่เข้ามาล้อมรอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> พบมีการเปลี่ยนแปลงเหมือนกัน คือมีเซลล์ fibroblasts ร่วมกับการสร้างคอลลาเจนเป็นแถบเส้นบางขนาดเล็ก (Narrow band) รอบตัวอย่างทั้งสองชนิด และขนาดการสร้างพังผืดเฉลี่ยของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $16.49 \pm 3.15 \mu\text{m}$  และ  $19.87 \pm 3.63 \mu\text{m}$  ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

9. การแทรกตัวของเซลล์ไขมัน จากตัวอย่างบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงที่เหมือนกันคือ มีการแทรกตัวของเซลล์ไขมันเพิ่มปริมาณขึ้นเล็กน้อย และขนาดการแทรกตัวของเซลล์ไขมันเฉลี่ยของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $71.15 \pm 1.81 \mu\text{m}$  และ  $47.86 \pm 5.04 \mu\text{m}$  ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ (surrounding tissue) Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลง ดังนี้

1. ไม่พบเซลล์อักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Polymorphonuclear cell บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup>

2. การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> พบว่ามีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte เฉลี่ยของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $1.39 \pm 0.74$  และ  $1.61 \pm 0.49$  ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3. การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Plasma cell บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Pore Skin<sup>®</sup> พบว่ามีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวเฉลี่ย  $0.53 \pm 0.36$  แต่ไม่พบในเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ

Gel foam<sup>®</sup> โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่าง Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4. การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Macrophage บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> พบว่ามีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Macrophage เฉลี่ยของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $0.56 \pm 0.28$  และ  $1.53 \pm 0.37$  ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

5. การศึกษาปฏิกิริยาอักเสบจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Foreign type multinucleated giant cells บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> พบว่ามีปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Foreign type multinucleated giant cells เฉลี่ยของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $0.11 \pm 0.07$  และ  $0.03 \pm 0.03$  ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

6. ไม่พบเซลล์ Necrosis บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup>

7. การสร้างหลอดเลือด capillary ใหม่ บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีปริมาณการสร้างหลอดเลือด capillary ใหม่เฉลี่ยของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $3.50 \pm 1.36$  และ  $3.83 \pm 0.54$  ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

8. การศึกษาปฏิกิริยาการสร้างพังผืด (Fibroblast proliferation) ที่เข้ามาล้อมรอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> พบมีการเปลี่ยนแปลงเหมือนกัน คือมีเซลล์ fibroblasts ร่วมกับการสร้างคอลลาเจนเป็นแถบเส้นบางขนาดเล็ก (Narrow band) รอบตัวอย่างทั้งสองชนิด และขนาดการสร้างพังผืดเฉลี่ยของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $6.67 \pm 2.28 \mu\text{m}$  และ  $10.72 \pm 1.46 \mu\text{m}$  ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

9. การแทรกตัวของเซลล์ไขมัน บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> พบมีการเปลี่ยนแปลง คือ ในบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Gel foam<sup>®</sup> มากกว่าบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ Pore Skin<sup>®</sup> เล็กน้อย และขนาดการแทรกตัวของเซลล์ไขมันเฉลี่ยของ Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> มีค่า  $71.15 \pm 1.81 \mu\text{m}$  และ  $47.86 \pm 5.04 \mu\text{m}$  ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากผลการวิเคราะห์และประเมินเซลล์ที่มีผลต่อการอักเสบชนิดต่างๆ บริเวณ surrounding tissue ตามมาตรฐาน ISO 10993-6 โดยทำการคำนวณและประเมินผลวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เปรียบเทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ ค่าที่ได้ คือ 1.79 และที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์ ค่าที่ได้ คือ 2.22 ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0.0 ถึง 2.9 สรุปผลได้ว่า วัสดุที่ฝังทดสอบไม่ทำให้เกิดการระคายเคือง

ผลการทดสอบ Systemic inflammatory reaction โดยวัดจากปริมาณความเข้มข้นของ Interleukin -1  $\beta$  ที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ ในสัตว์ทดลองที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> มีความเข้มข้นเฉลี่ยของ IL-1  $\beta$   $340 \pm 6.56$  pg/ml ในสัตว์ทดลองที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> มีความเข้มข้นเฉลี่ย  $351 \pm 24.00$  pg/ml และ ที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์ ในสัตว์ทดลองที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> มีความเข้มข้นเฉลี่ยของ IL-1  $\beta$   $332 \pm 12.77$  pg/ml ในสัตว์ทดลองที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> มีความเข้มข้นเฉลี่ย  $328 \pm 2.00$  pg/ml เมื่อเวลาเพิ่มขึ้นปริมาณไซโตไคน์ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ James M. Anderson และ คณะ<sup>(40,41)</sup> โดยได้มีการศึกษาปฏิกิริยาการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมของวัสดุชีวภาพ โดยวัดปริมาณไซโตไคน์ชนิดต่างๆ ที่ระยะเวลา 7 และ 14 วัน พบว่าที่ระยะเวลาเพิ่มขึ้นปริมาณไซโตไคน์ลดลง นำผลที่ได้จากการวัดปริมาณความเข้มข้นของ IL-1  $\beta$  มาทำการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่าง Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> โดยใช้การทดสอบทางสถิติแบบ Independent-Samples T-Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบว่าปริมาณความเข้มข้นของ IL-1  $\beta$  ที่ฝังในสัตว์ทดลองเปรียบเทียบระหว่าง Gel foam<sup>®</sup> และ Pore Skin<sup>®</sup> ที่ระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ ไม่มีความแตกต่างที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ( $p < 0.05$ )

จากผลสรุปโดยรวมสามารถบ่งชี้ได้ว่า Pore Skin<sup>®</sup> มีเข้ากันได้ทางชีวภาพ, ไม่ทำให้เกิดการอักเสบ และไม่ทำให้เกิดการระคายเคือง ในการทดสอบในสัตว์ทดลอง ซึ่งสามารถนำ Pore Skin<sup>®</sup> ไปใช้งาน และนำไปพัฒนาทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อผิวหนังต่อไป

### อภิปรายผล

จากผลการทดลองที่พบว่าทั้งลักษณะภายนอก และ ลักษณะทางพยาธิวิทยาของสัตว์ทดลองภายหลังจากที่ฝังวัสดุทดสอบ ไม่พบการเกิดการอักเสบ บวมแดง และเป็นหนองนั้น อาจเป็นผลจากวัสดุที่นำมาผลิต Pore Skin<sup>®</sup> (Human collagen) เป็นวัสดุที่ไม่มีความเป็นพิษกับเนื้อเยื่อของสัตว์ทดลอง จึงไม่ทำให้เกิดปฏิกิริยาการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมของระบบภูมิคุ้มกันในสัตว์ จึงไม่ทำให้เกิดลักษณะการอักเสบ

ส่วนผลของระดับไซโตไคน์ (ชนิด IL-1beta) ที่ลดลงที่ 4 สัปดาห์นั้น อาจเป็นผลสอดคล้องจากการที่จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ลดลง ซึ่งเซลล์เหล่านี้จะเป็นตัวผลิตไซโตไคน์เข้าสู่กระแสเลือด ดังนั้น เมื่อมีเซลล์เม็ดเลือดขาวลดลงจึงทำให้ปริมาณไซโตไคน์ลดลงตามไปด้วย

### ข้อเสนอแนะ

เพื่อให้ผลการวิจัยนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น จึงมีแนวทางปรับปรุงและศึกษาเพิ่มเติม ดังต่อไปนี้

- การทดลองในสัตว์ทดลองอุปกรณ์ วัสดุที่ใช้ ขั้นตอนการผ่าตัด ต้องปลอดภัย
- จากผลการทดลองในสัตว์ทดลองพบว่าวัสดุที่ใช้เป็นวัสดุควบคุม (Gel foam<sup>®</sup>) ย่อยสลายเร็ว ดังนั้นจึงควรตัดให้มีขนาดหนาเพิ่มขึ้น

## รายการอ้างอิง

- (1) from: <http://epid.moph.go.th>[September 29, 2008]
- (2) Anthony D. Metcalfe and Mark W.J. Ferguson. Bioengineering skin using mechanisms of regeneration and repair. *Biomaterials* 28 (Dec 2007): 5100-5113.
- (3) Sheila MacNeil. Biomaterials for tissue engineering of skin. *Materialstoday* 11 (May 2008): 26-35.
- (4) รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ การพัฒนาผิวหนังสังเคราะห์ต้นแบบชนิดใหม่ Pore Skin® - Artificial Dermis 2008, กันยายน 2551.
- (5) ISO 10993-6, *Biological evaluation of medical devices-Part 6: Tests for local effects after implantation*.
- (6) ASTM: F 1906-98, Standard Practice for Evaluation of Immune Response In Biocompatibility Testing Using ELISA Tests, Lymphocyte Proliferation, and Cell Migration
- (7) คมกฤษ ศรีสุวรรณศิริกุล. ความผิดปกติของเม็ดเลือดขาว. ในพรรณนภณท์ อูซชิน, *พยาธิวิทยาคลินิก*, 14 กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย, 2550.
- (8) Robbins and Cotran. *PATHOLOGIC BASIC OF DISEASE*. China: Elsevier,2005.
- (9) วิญญู มิตรานันท์. *พยาธิวิทยากายวิภาคพื้นฐาน คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์*. กรุงเทพฯ: โอ เอส พริ้นติ้งเฮาส์, 2540.
- (10) พีรยุทธ สิริชัยกุล. *เอกสารประกอบการสอนวิชาหลักพยาธิวิทยาและนิติเวชศาสตร์*. พิษณุโลก: คณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2551.
- (11) Buddy D. Ratner and Allan S. Hoffman. *Biomaterials Science An Introduction to materials in Medicine*. United States of America: Academic Press, 1996.
- (12) from: <http://www.oncolink.org/coping/images/neutrophil.jpg>[September 29, 2008]
- (13) from: <http://www.profelis.org/neu/ap2.jpeg> [September 29, 2008]
- (14) from: [www.sacs.ucsf.edu/.../ConnTiss/conntiss2.htm](http://www.sacs.ucsf.edu/.../ConnTiss/conntiss2.htm)[September 29, 2008]
- (15) from: <http://members.fortunecity.com>[September 29, 2008]
- (16) from: <http://www.accessmedicine.com/loadBinary.jpg>[September 29, 2008]
- (17) from: <http://www3.umdj.edu/histsweb/lab3/images/fpl>[September 29, 2008]
- (18) from: <http://images.google.co.th/imgre>[September 29, 2008]
- (19) from: <http://www.sacs.ucsf.edu/home/cooper.jpg> [September 29, 2008]

- (20) ทวีศักดิ์ ตีระวัฒนพงษ์ .ปฏิกริยาตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน (Immune Response).  
 ในใหม่ รัตนวราภักษ์, วิทยาภูมิคุ้มกันพื้นฐานและคลินิก (Basic Immunology), 8. กรุงเทพฯ:  
สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 2543.
- (21) สุทธิพันธ์ สารสมบัติ. บทนำอิมมูโนวิทยา (Introduction of Immunology). ในสุทธิพันธ์  
 สารสมบัติ, อิมมูโนวิทยา (Immunology), 143. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ประพันธ์สาส์น, 2537.
- (22) รศ. นพ. สรรพเชษฐ เบญจวงศ์กุลชัย. พยาธิวิทยาการอักเสบ. กรุงเทพฯ:  
สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย, 2543.
- (23) อรวดี หาญวิวัฒน์วงศ์. วิทยาภูมิคุ้มกันพื้นฐานและคลินิก (Basic and Chemical Immunology).  
 กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2551.
- (24) from: <http://www.pfizer.com/files/products>[September 29, 2008]
- (25) from: <http://www.ajronline.org/content/vol187/issue6>[September 29, 2008]
- (26) Geoffrey Kotzar, Mark Freas, Phillip Abel, Aaron Fleischman, Shuvo Roy, Christian  
 Zorman, James M. Moran, Jeff Melzak. Evaluation of MEMS materials of  
 construction for implantable medical devices. Biomaterials 23 (July 2002):  
 2737-2750.
- (27) Chao Yang , Chunfeng Zhao , Lester Wold , Kenton R. Kaufman. Biocompatibility of a  
 physiological pressure sensor. Biosensor & Bioelectronics 19 (Oct 2003): 51-58.
- (28) Kris Gellynck, Peter Verdonk, Ramses Forsyth, Karl Fredrik Almqvist, Els Van  
 Nimmen, Tom Gheysens, Johan Mertens, Lieva Van Langenhove, Paul  
 Kiekens, Gust Verbruggen. Biocompatibility and biodegradable of spider egg  
 sac silk. Journal of Materials Science: Materials in Medicine 19 (Aug 2008):  
 2963-2970.
- (29) D. PELLING, M. SHARRATT and JOAN HARDY. The Safety Testing of Medical  
 Plastics. I. An Assessment of Methods. Food Cosmet Toxicol 11 (Feb1973):  
 69-83.
- (30) BARBARA F. MATLAGA, LEWIS P. YASENCHAK, and THOMAS N. SALTHOUSE.  
 Tissue Response to Implanted Polymers: The Significance of Sample Shape.  
Journal of Biomedical Materials Research 10 (Sep 2004): 391-397.
- (31) L.R. Lindberg, O. Johnell and L. Linder. Reactions in rat gluteal muscle to titanium  
 implants. Biomaterials 6 (Nov 1988): 547-549.
- (32) Wolfgang Heidemann, Stephanie Jeschkeit, Kurt Ruffeux, JuK rgen Hartmut

- Fischer, Mathias Wagner, G. KruK ger, Erich Wintermantel, Klaus Louis Gerlach. Degradation of poly(D,L)lactide implants with or without addition of calciumphosphates *in vivo*. Biomaterials 22 (Sep 2001): 2371-2381.
- (33) Kenneth Butler, Hamed Benghuzzi and Aaron Puckett. Cytological Evaluation of the Tissue-Implant Reaction Associated with S/C and I/P Implantation of ALCAP and HA Bioceramics *in vivo*. Biomaterials 25 (Nov 2004): 5457-5466.
- (34) Karla Lehlea, Stefan Lohna, G.unter Reinertha, Thomas Schubertb, J .urgen G. Preunera, Dietrich E. Birnbauma. Cytological evaluation of the tissue–implant reaction associated with subcutaneous implantation of polymers coated with titaniumcarboxonitride *in vivo*. Biomaterials 25 (Nov, 2004): 29-39.
- (35) Wim H. De Jong, Jan A.M.A. Dormans, Mies J. Van Steenbergem, Henny W. Verharen, Wim E. Hennink. Tissue response in the rat and the mouse to degradable dextran hydrogels. Journal of Biomedical Materials Research Part A 83 (May 2007): 538-545.
- (36) Robert Robitaille, Julie Dusseault, Nathalie Henley, Karine Desbiens, Nathalie Labrecque, Jean-Pierre Halle. Inflammatory response to peritoneal implantation of alginate–poly-L-lysine microcapsules. Biomaterials 26 (July 2005): 4119-4127.
- (37) Zakład Chirurgii Eksperymentalnej i Badania Biomateriałów, Katedra Chirurgii Urazowej, Akademia Medyczna we Wrocławiu. Estimation of biocompatibility of fibers with large mechanical resistance. Polimery w medycynie 34 (Sep 2004): 3-48.
- (38) T.M. Macleoda, G. Williamsb, R. Sandersa, C.J. Greenb. Histological evaluation Permacole as a subcutaneous implant over a 20-week period in the rat model. British Journal of Plastic Surgery 58 (June 2005): 518–532.
- (39) L. Baldwin, J.A. Hunt. The *in vivo* cytokine release profile following implantation. Cytokine 41 (Mar 2008): 217-222.
- (40) James M. Anderson, Jacqueline A. Jones. Phenotypic dichotomies in the foreign body reaction. Biomaterials 28 (Dec 2007): 5114-5120.
- (41) James M. Anderson, Analiz Rodriguez, David T. Chang. Foreign body reaction to Biomaterials. Seminars in Immunology 20 (Apr 2008): 86-100.



ภาคผนวก

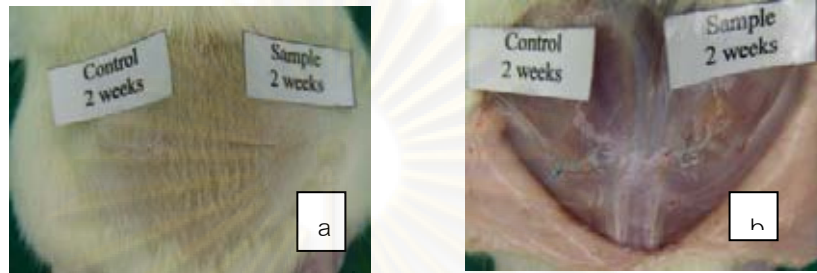
ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก แสดงผลการทดลองในสัตว์แต่ละตัว ที่ระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์  
ผลการทดลองที่ 2 สัปดาห์

1/2

น้ำหนัก 233 กรัม

Macroscopic evaluation

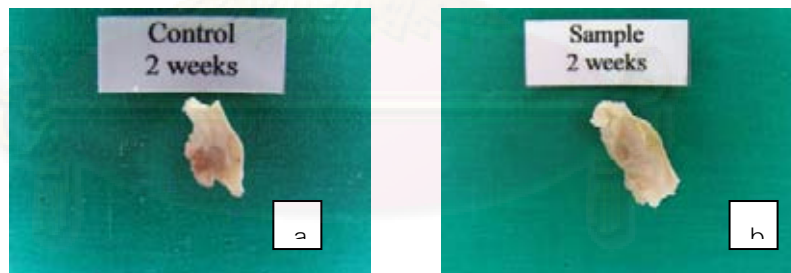


ภาพที่ 1 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

1a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

1b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

Gross evaluation



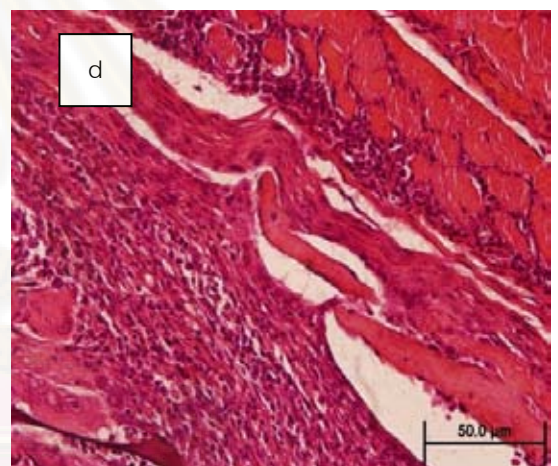
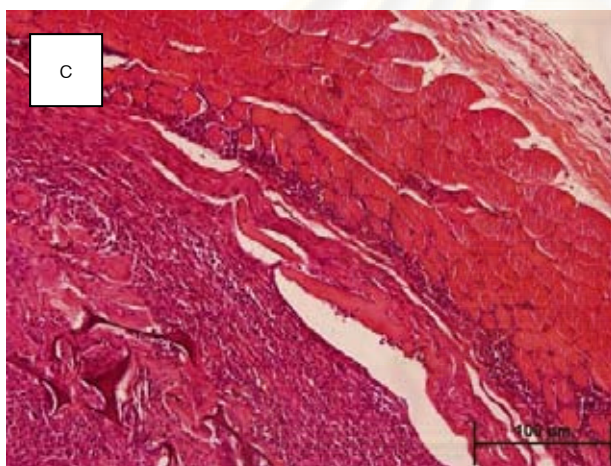
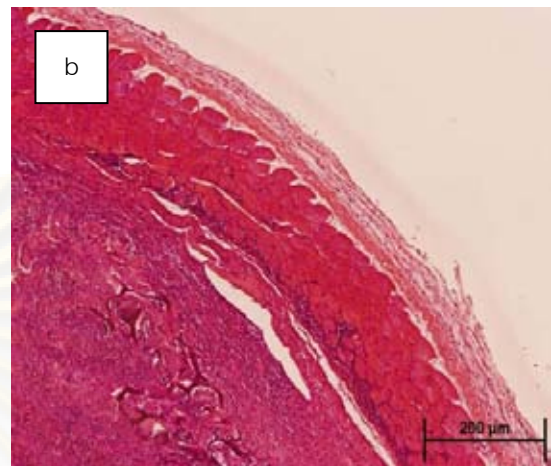
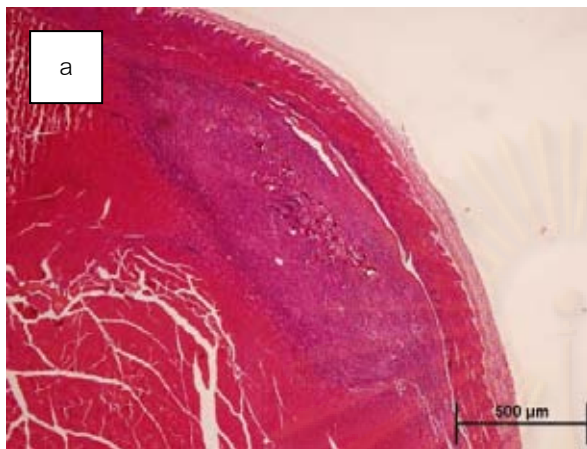
ภาพที่ 2 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

2a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

2b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์



## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

ภาพที่ 3 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
ต่างๆ

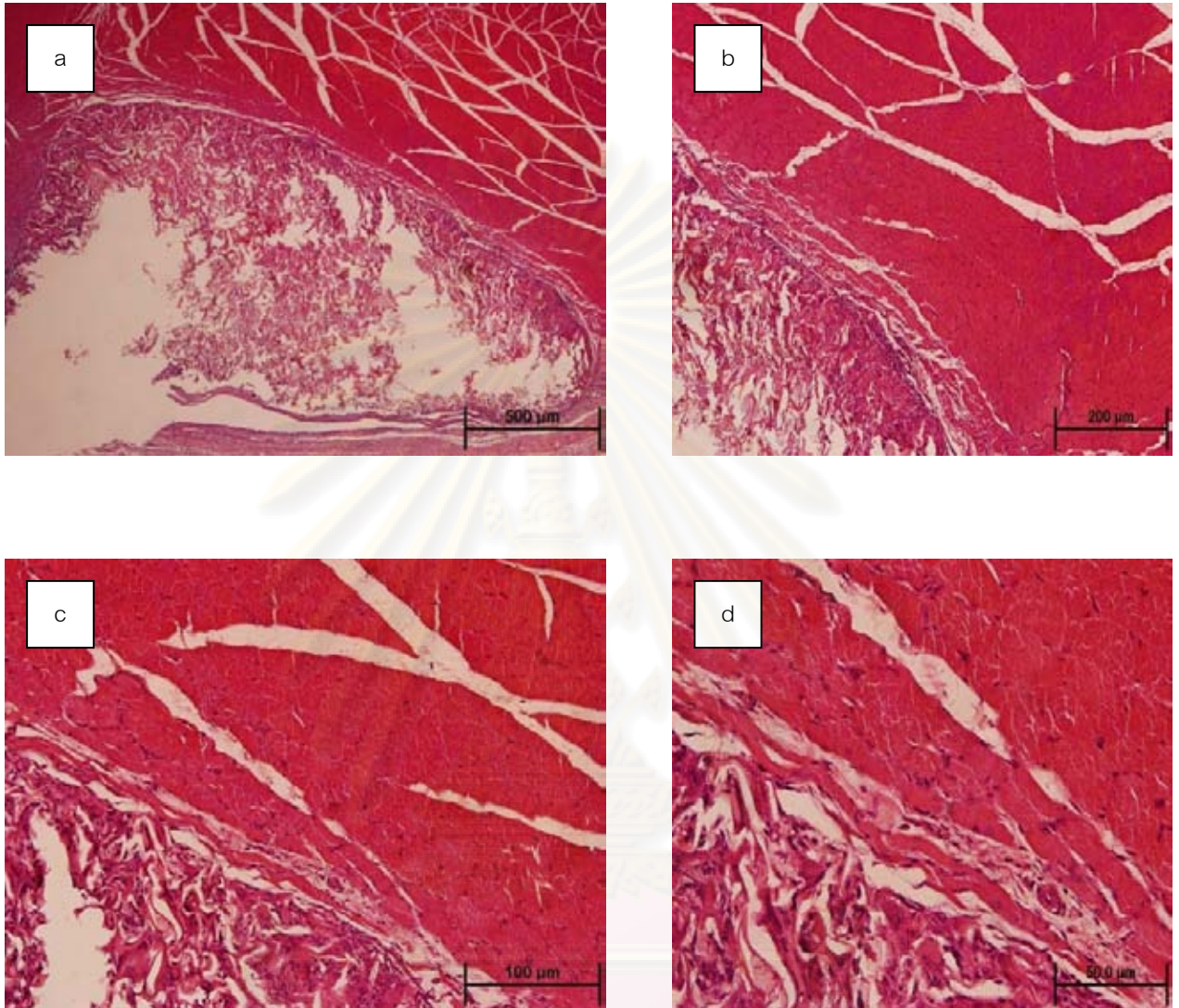
3a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย x40

3b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x100

3c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x200

3d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x400

## Pore Skin®



ภาพที่ 4 แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

4a แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย x40

4b แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย

x100

4c แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย

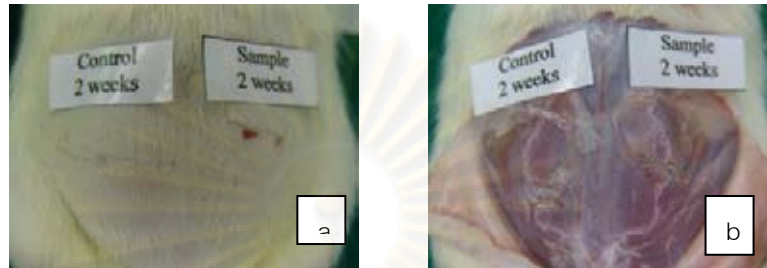
x200

4d แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย

x400

12/2

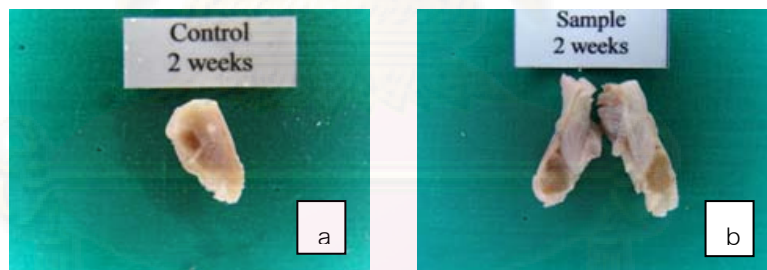
น้ำหนัก 233 กรัม

Macroscopic evaluation

ภาพที่ 5 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

5a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

5b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

Gross evaluation

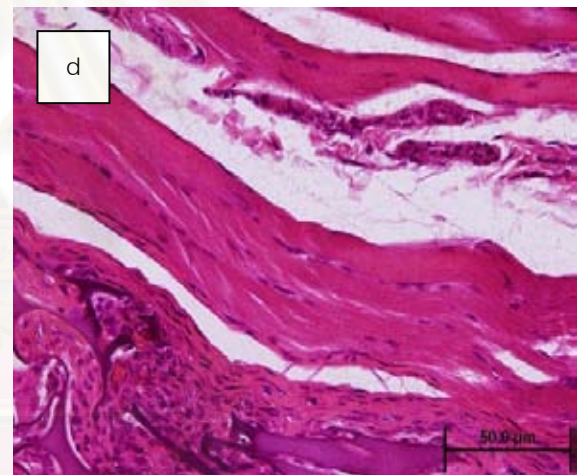
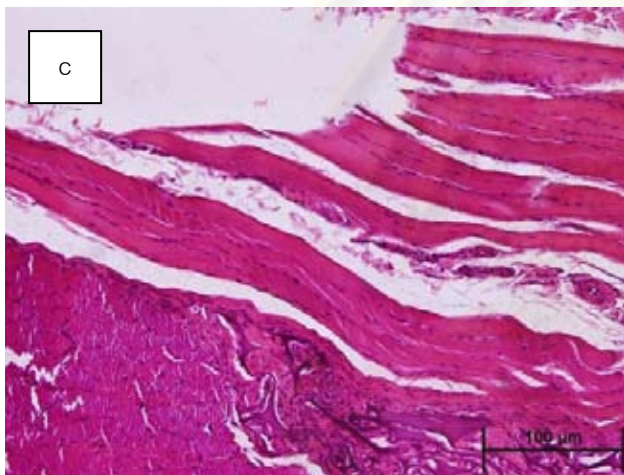
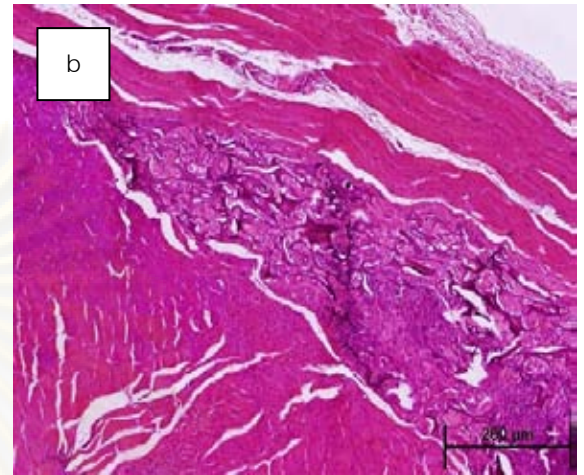
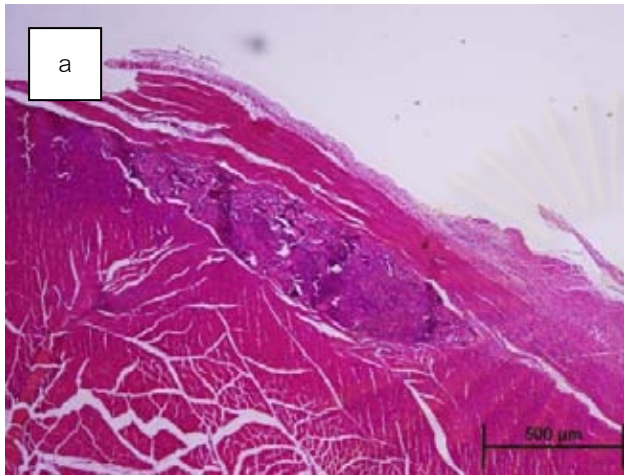
ภาพที่ 6 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

6a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

6b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

ศูนย์วิจัยทางการแพทย์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

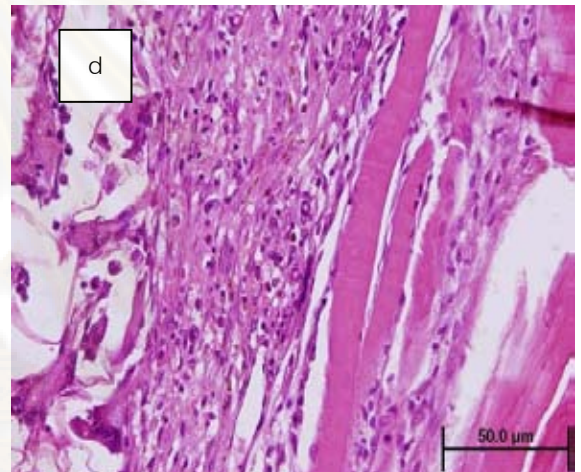
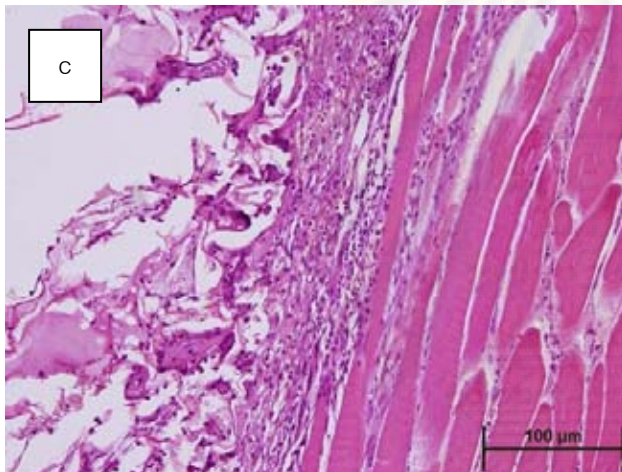
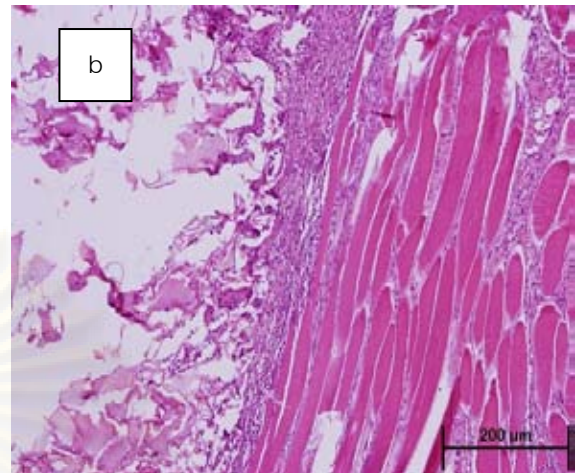
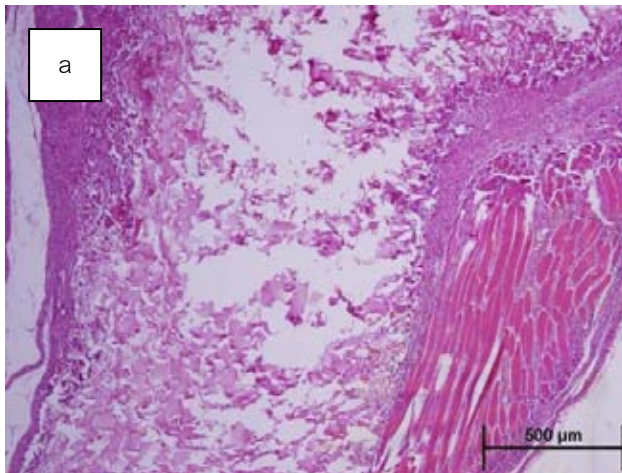
ภาพที่ 7 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

7a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย x40

7b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

7c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

7d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

Pore Skin<sup>®</sup>

ภาพที่ 8 แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

8a แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย x40

8b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย

x100

8c แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย

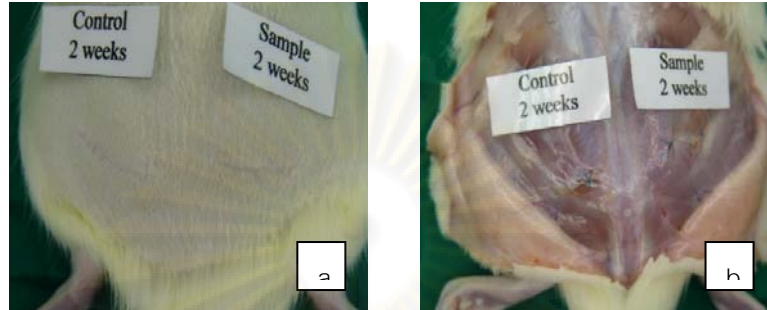
x200

8d แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย

x400

I3/2

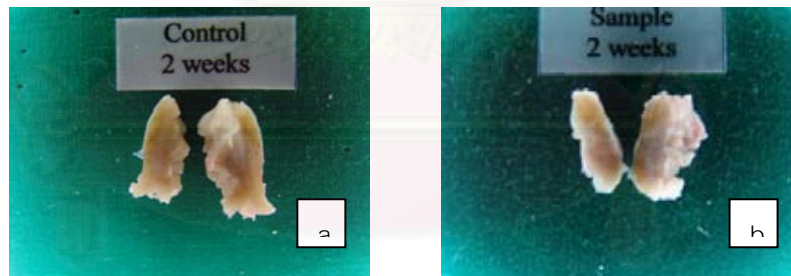
น้ำหนัก 235 กรัม

Macroscopic evaluation

ภาพที่ 9 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

9a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

9b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

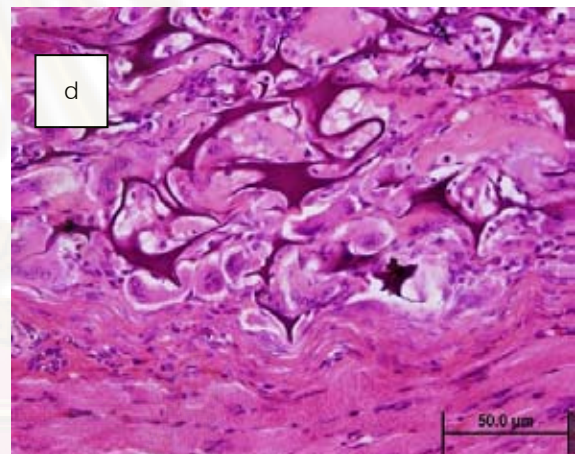
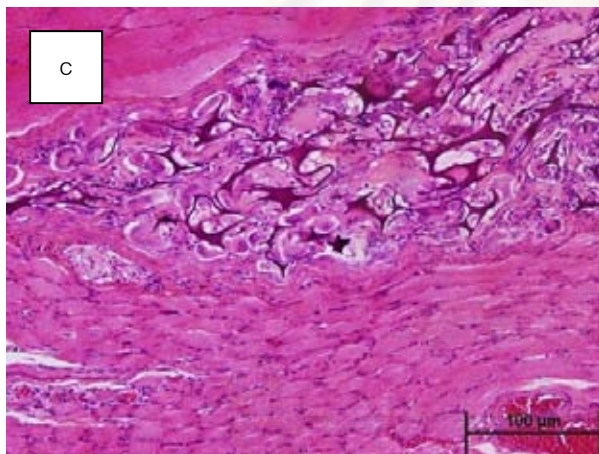
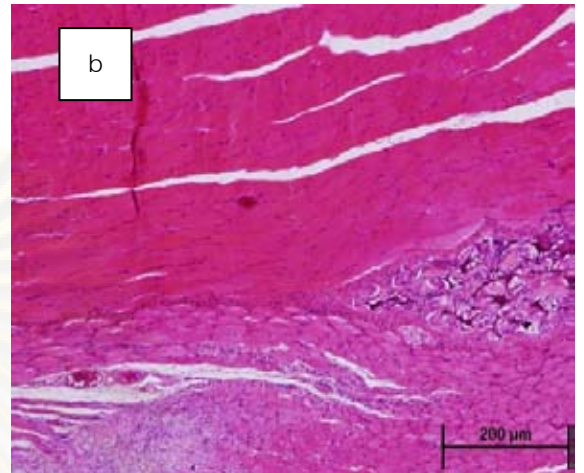
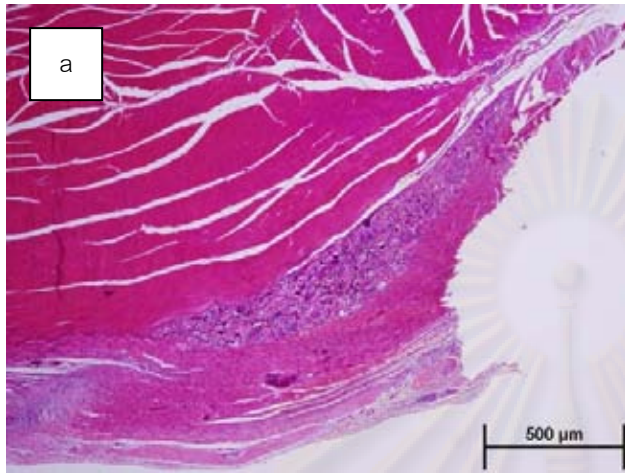
Gross evaluation

ภาพที่ 10 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

10a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

10b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

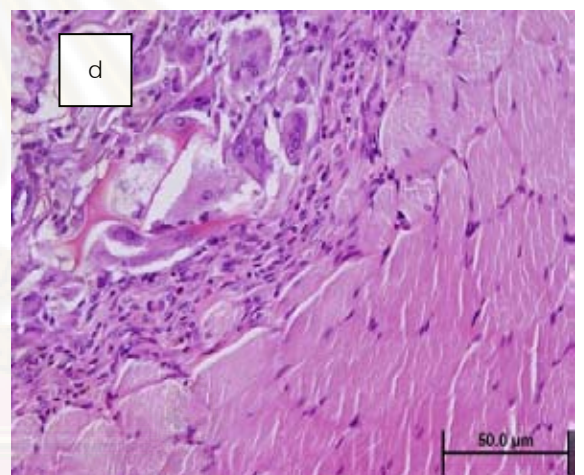
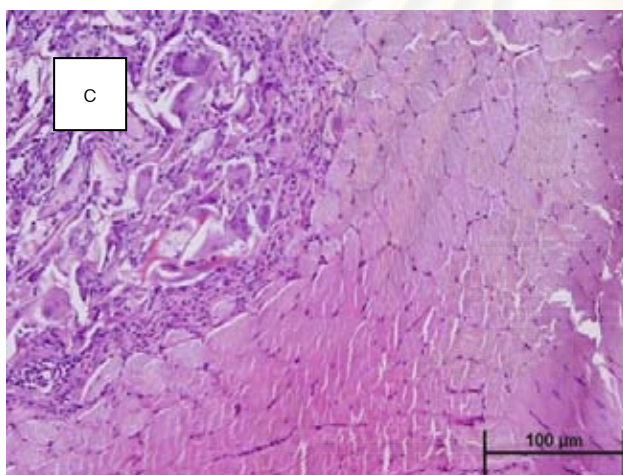
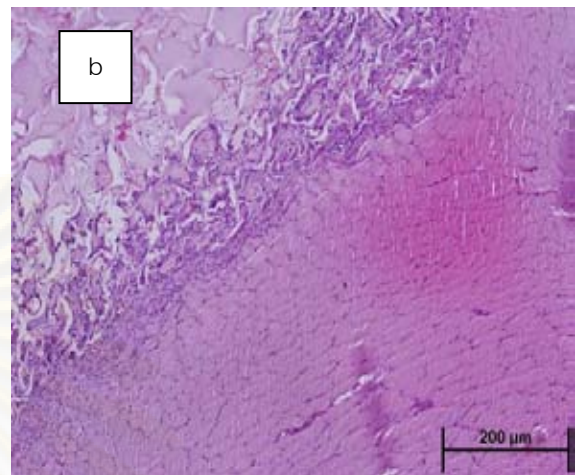
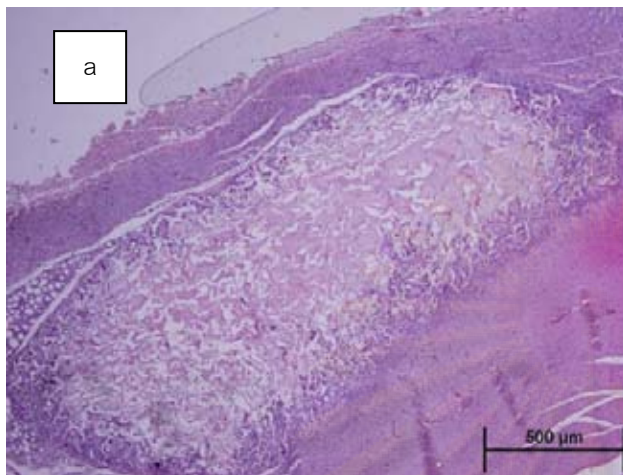
ภาพที่ 11 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยายต่างๆ

11a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x40

11b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x100

11c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x200

11d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x400

Pore Skin<sup>®</sup>

ภาพที่ 12 แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

12a แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

12b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

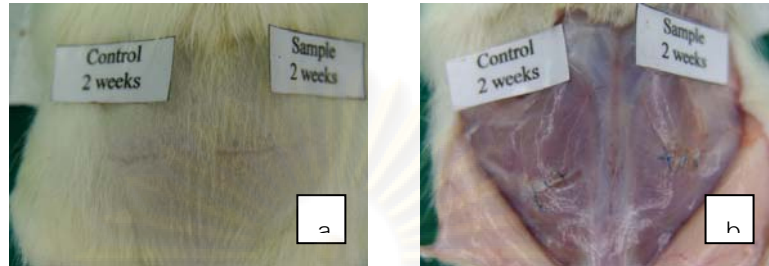
12c แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

12d แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400



14/2

น้ำหนัก 231 กรัม

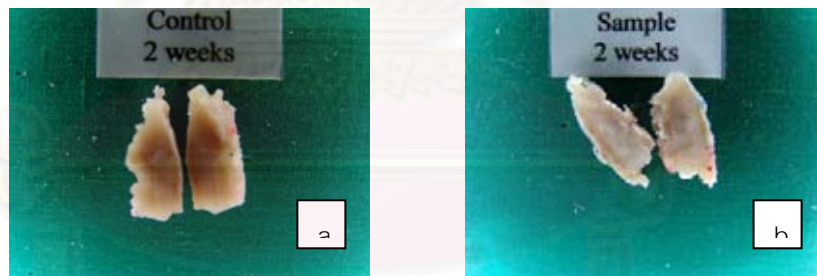
Macroscopic evaluation

ภาพที่ 13 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

13a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

13b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

ควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

Gross evaluation

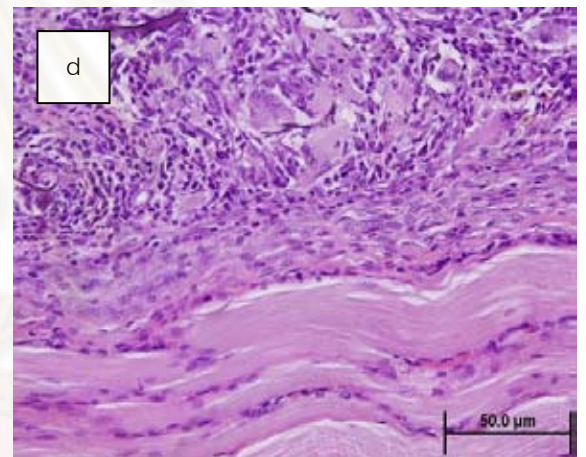
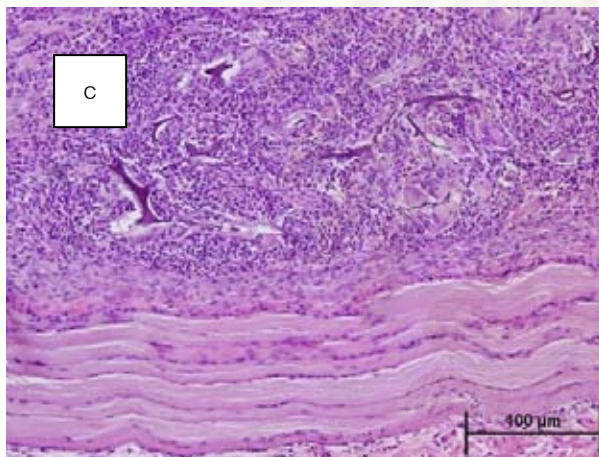
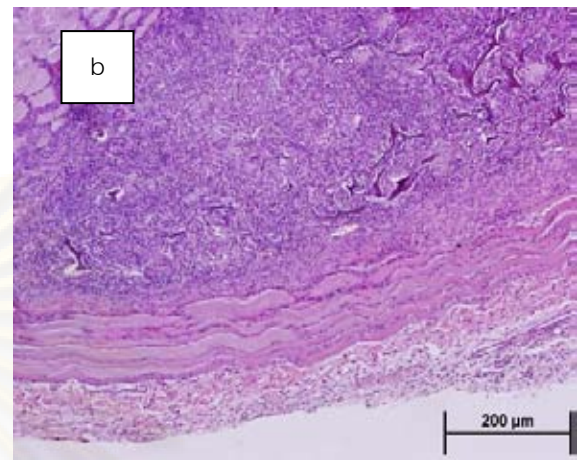
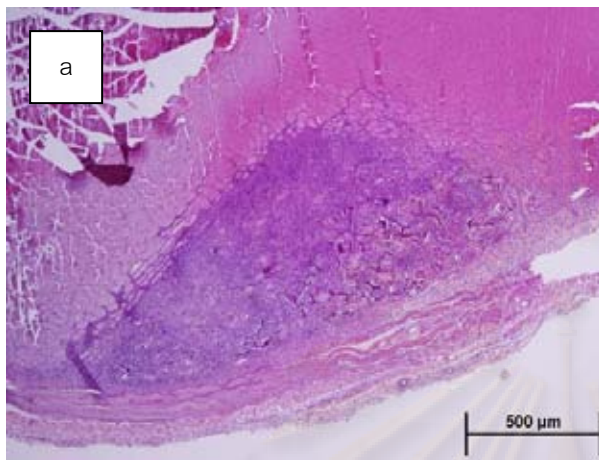
ภาพที่ 14 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

14a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

14b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

ศูนย์วิจัยทางการแพทย์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

ภาพที่ 15 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

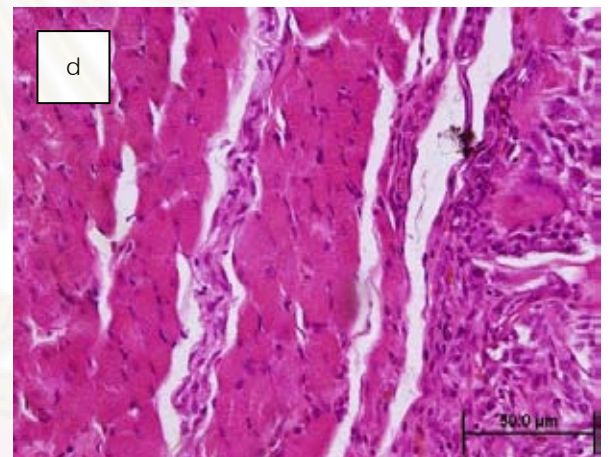
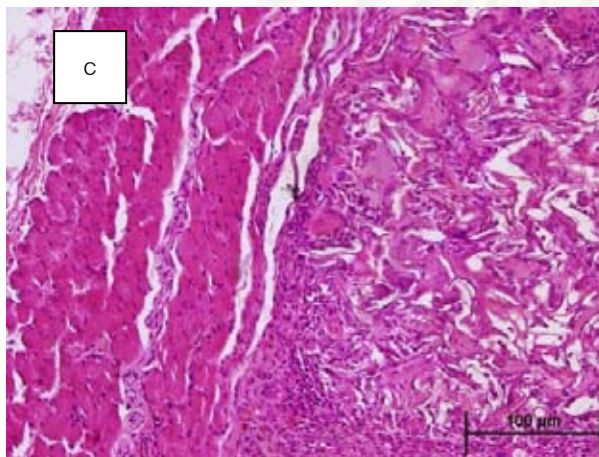
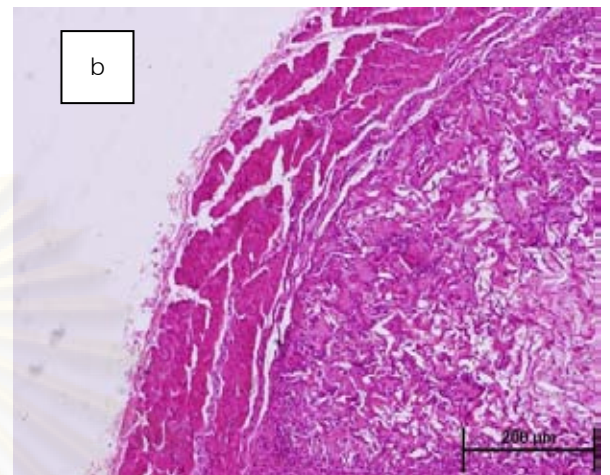
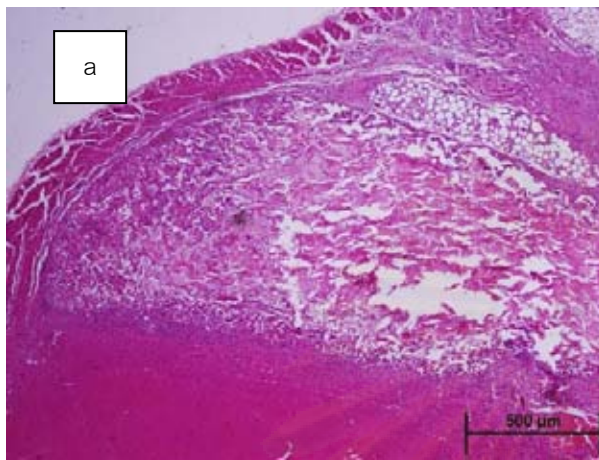
15a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

15b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

15c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

15d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

## Pore Skin®



ภาพที่ 16 แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

16a แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย x40

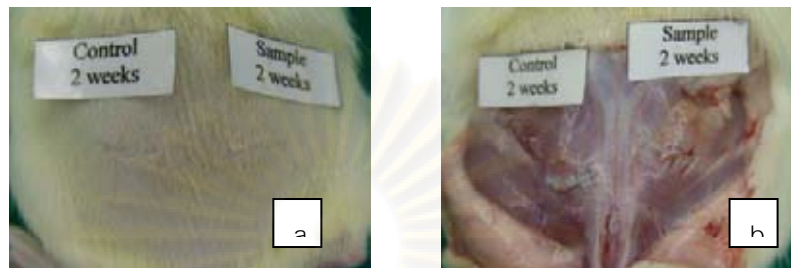
16b แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย x100

16c แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย x200

16d แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย x400

15/2

น้ำหนัก 224.5 กรัม

Macroscopic evaluation

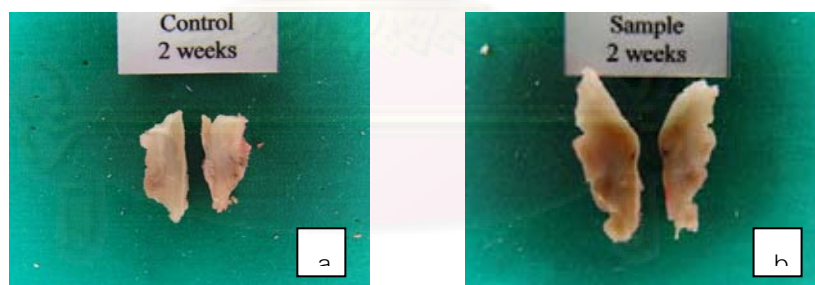
ภาพที่ 17 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

17a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

17b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับ

วัสดุ

ควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

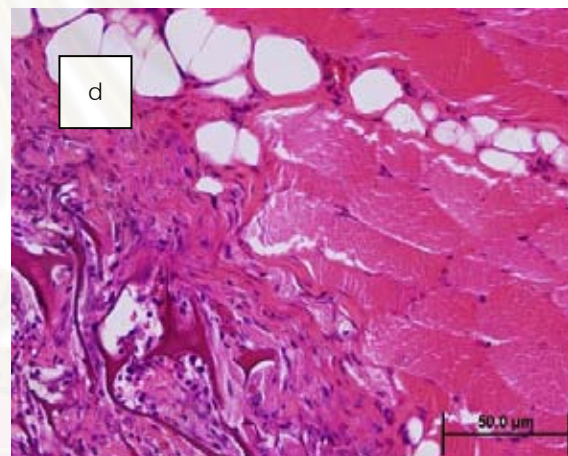
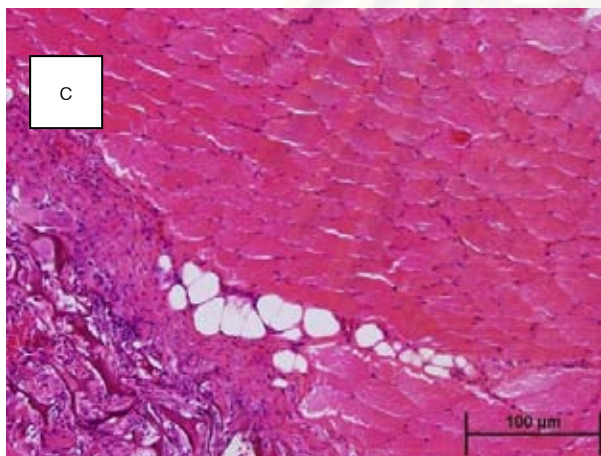
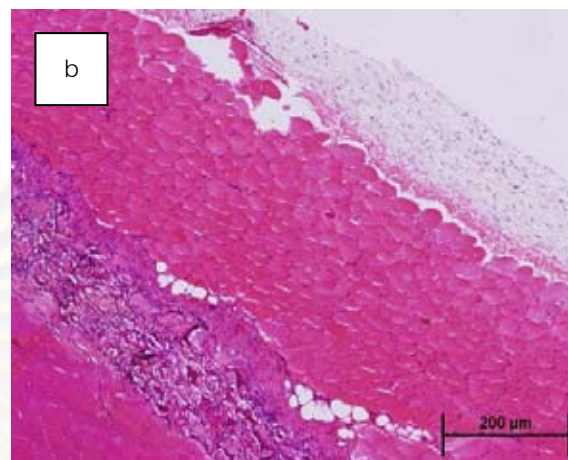
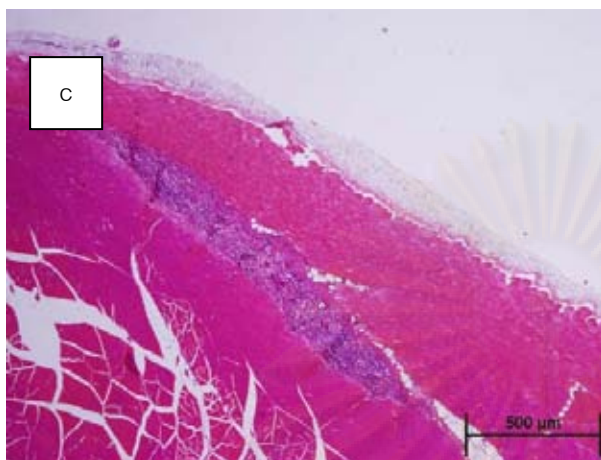
Gross Evaluation

ภาพที่ 18 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

18a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

18b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

ภาพที่ 19 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยายต่างๆ

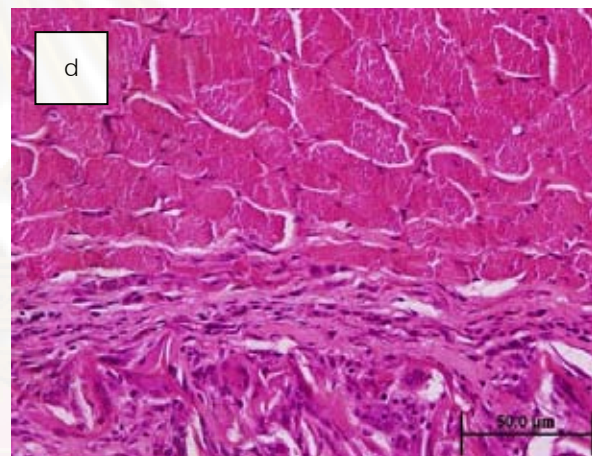
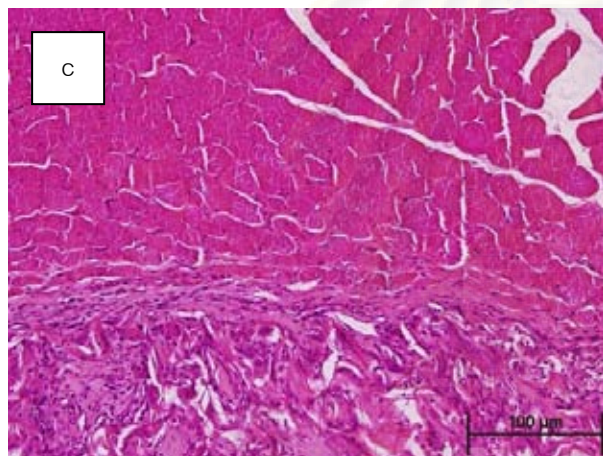
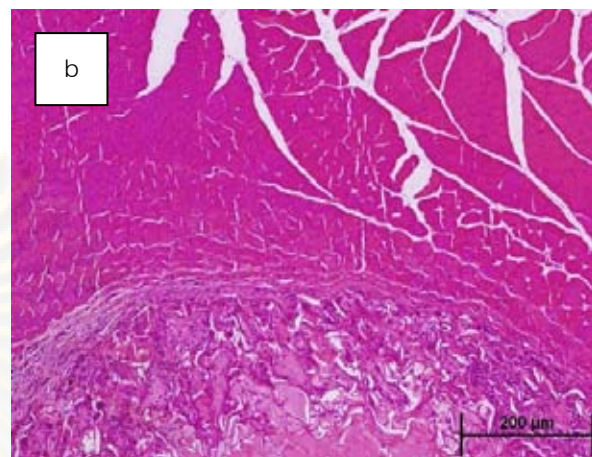
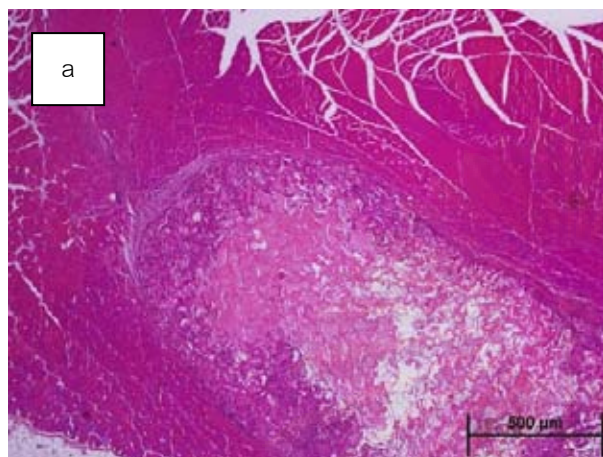
19a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x40

19b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x100

19c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x200

19d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x400

## Pore Skin®



ภาพที่ 20 แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

20a แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

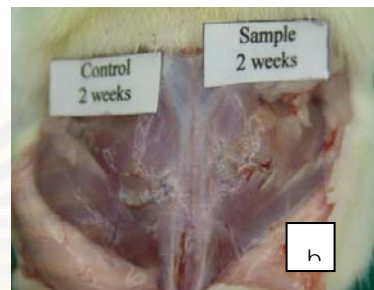
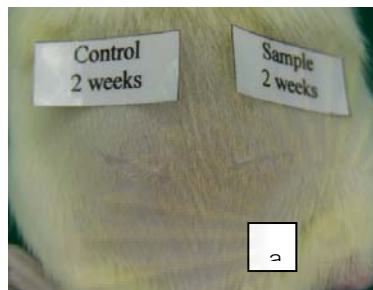
20b แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

20c แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

20d แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

I6/2

น้ำหนัก 232 กรัม

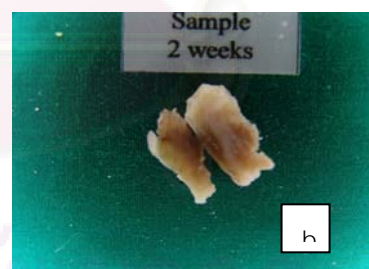
Macroscopic evaluation

ภาพที่ 21 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

21a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

21b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

วัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

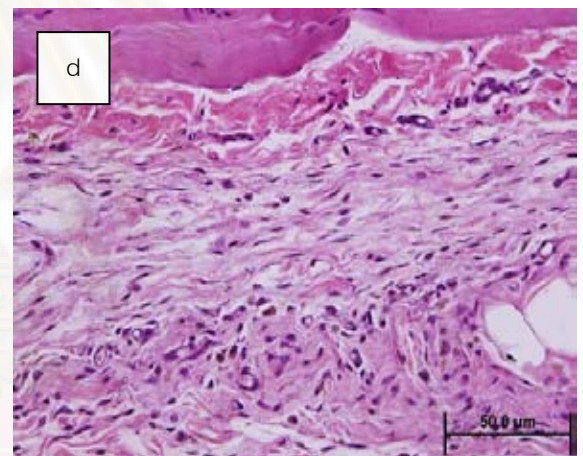
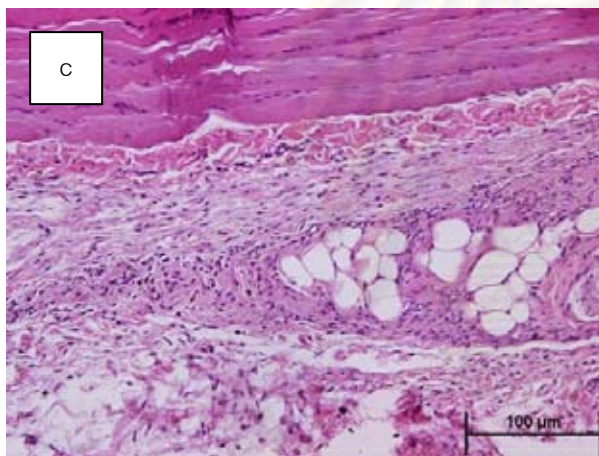
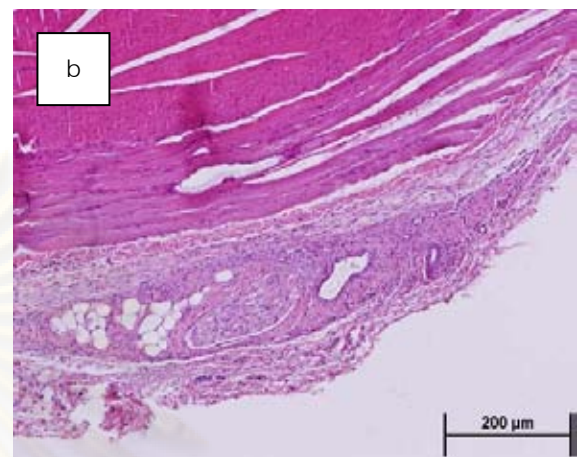
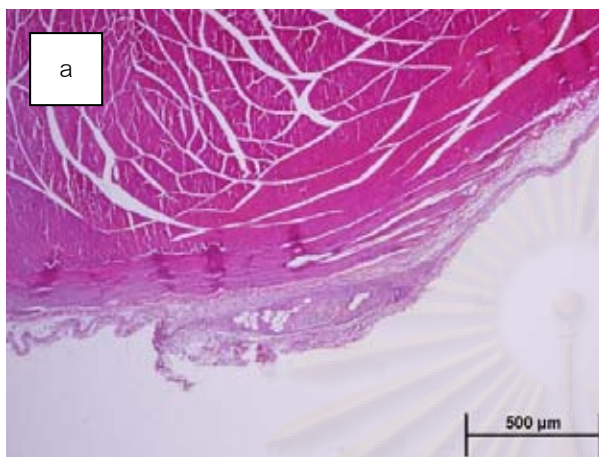
Gross evaluation

ภาพที่ 22 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

22a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

22b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

ภาพที่ 23 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

23a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย

x40

23b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย

x100

23c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย

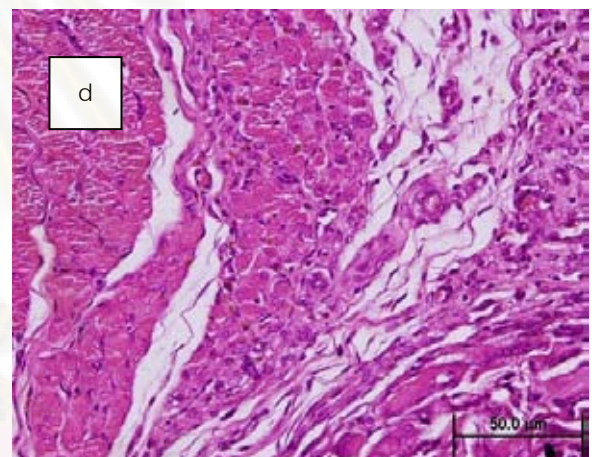
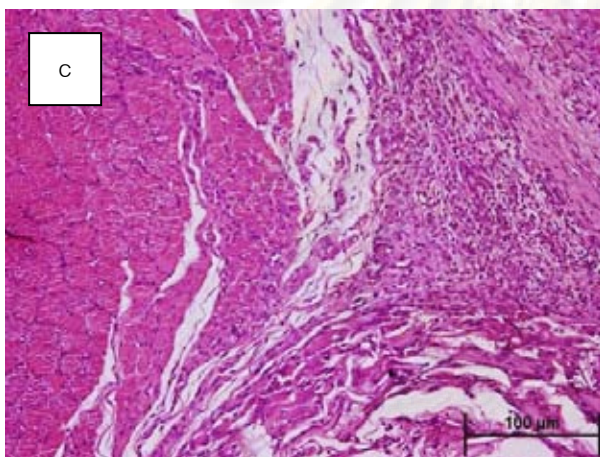
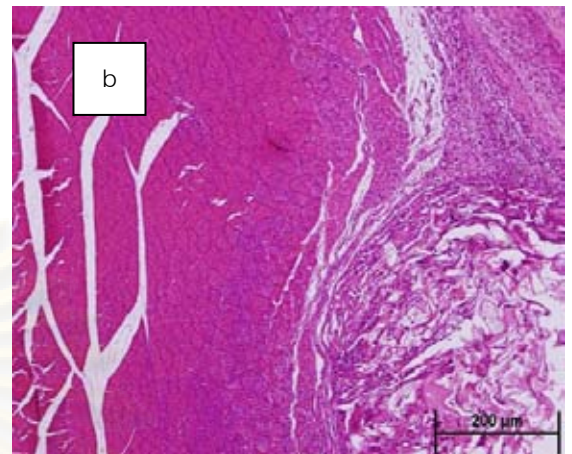
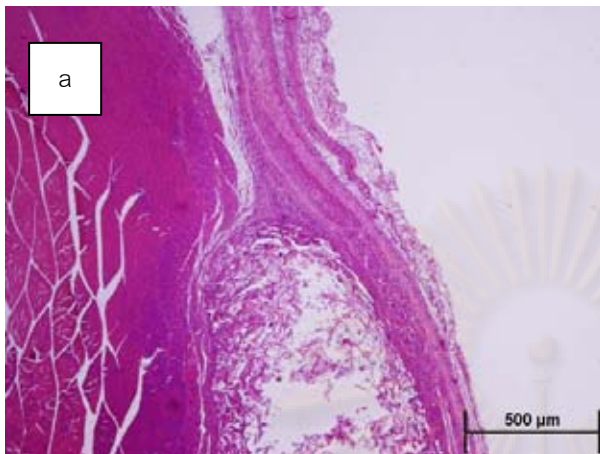
x200

23d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย

x400



## Pore Skin®



ภาพที่ 24 แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

24a แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

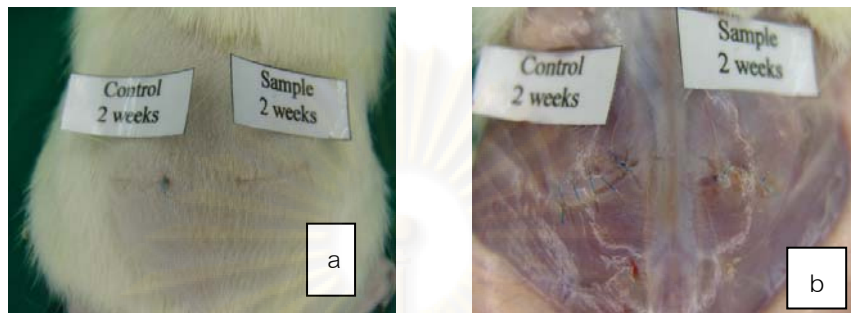
24b แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

24c แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

24d แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

17/2

น้ำหนัก 238 กรัม

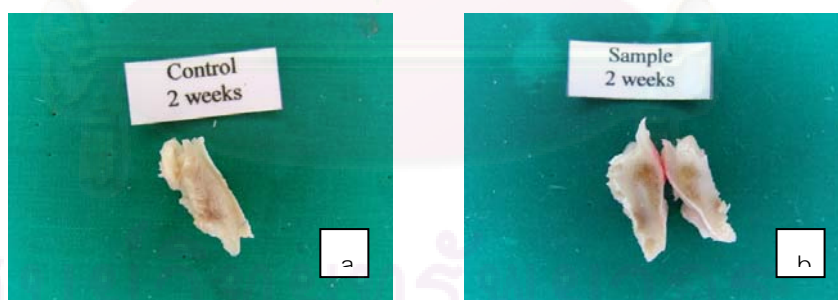
Macroscopic evaluation

ภาพที่ 25 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

25a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

25b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

ควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

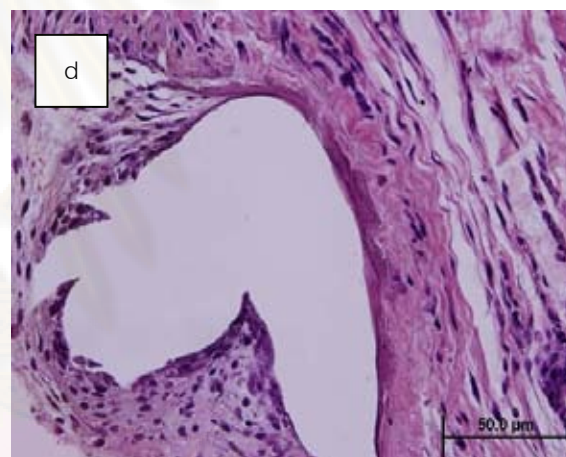
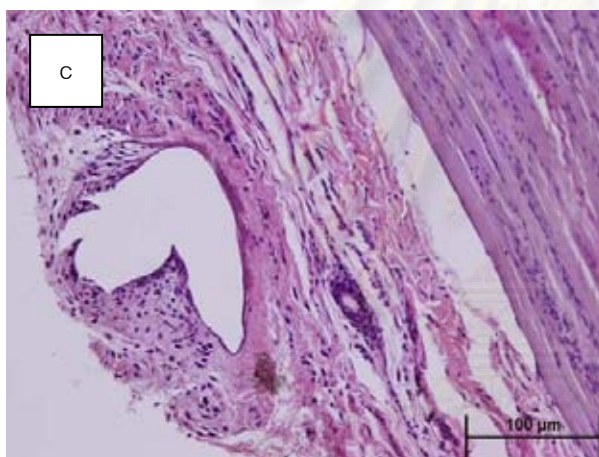
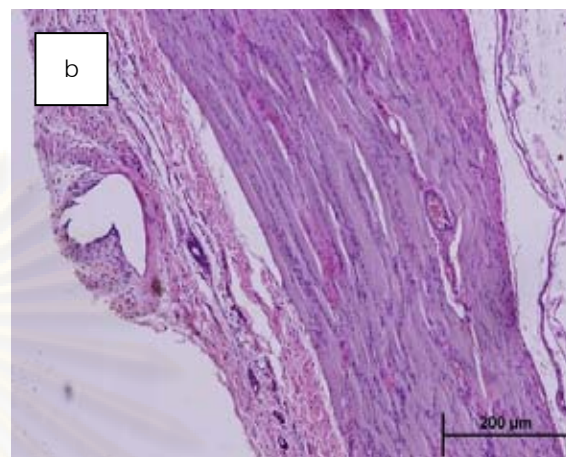
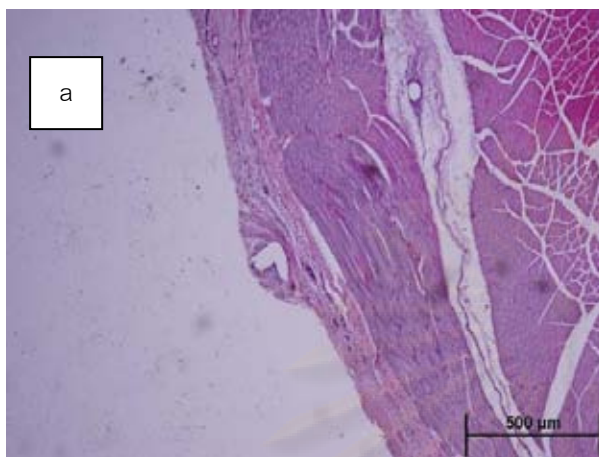
Gross evaluation

ภาพที่ 26 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

26a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

26b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

ภาพที่ 27 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

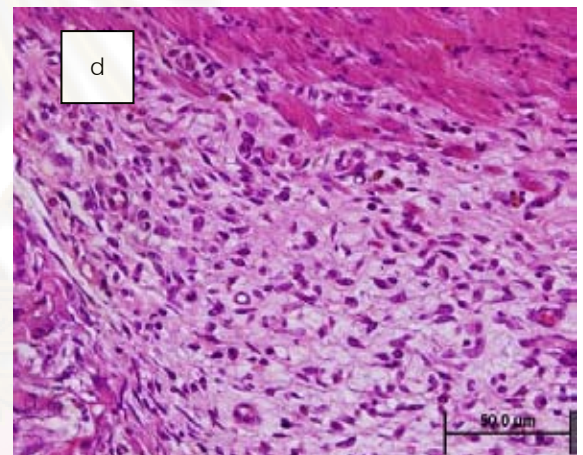
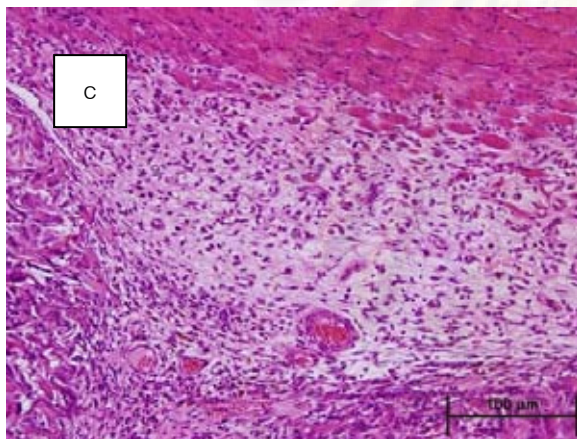
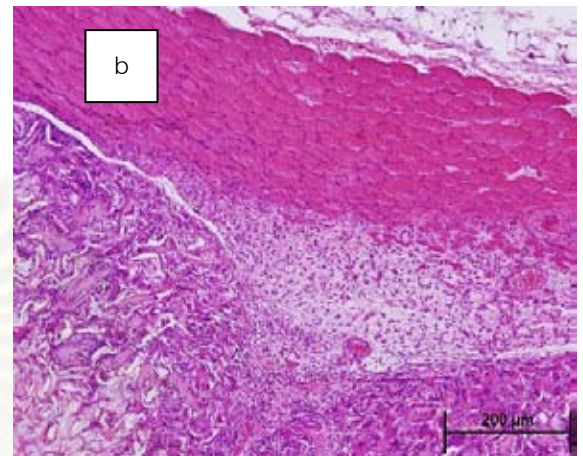
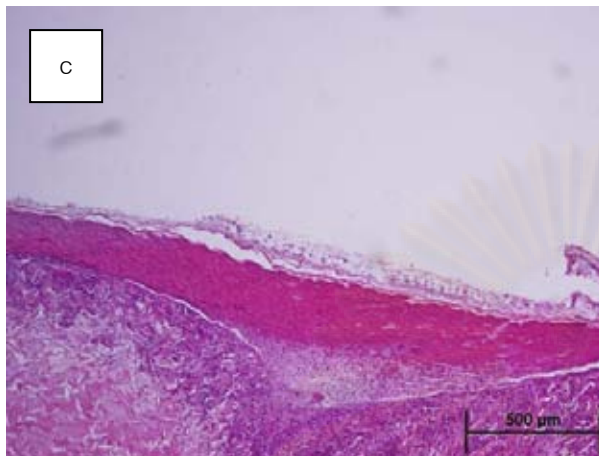
27a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

27b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

27c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

27d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

## Pore Skin®



ภาพที่ 28 แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

28a แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

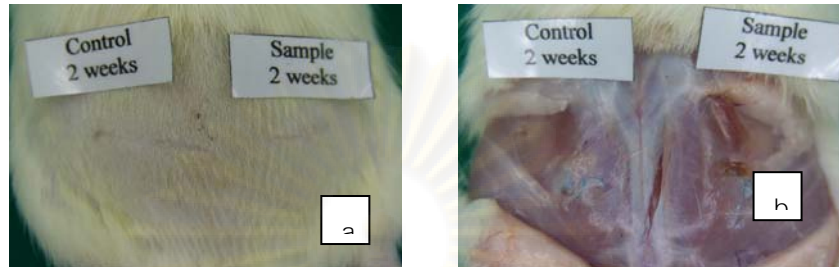
28b แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

28c แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

28d แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

18/2

น้ำหนัก 237 กรัม

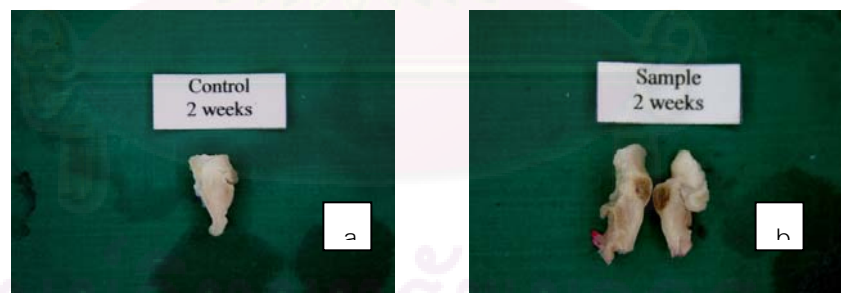
Macroscopic evaluation

ภาพที่ 29 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

29a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

29b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุ

ควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

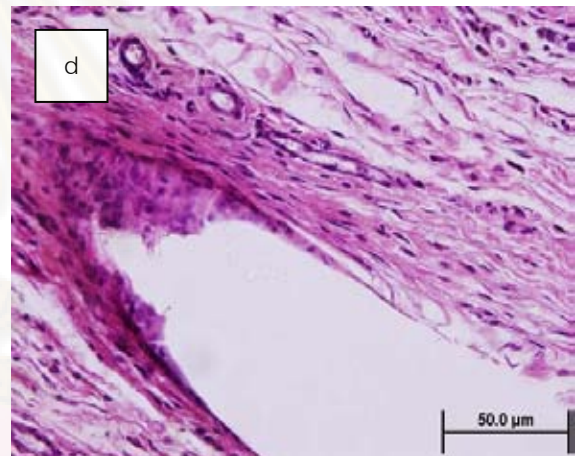
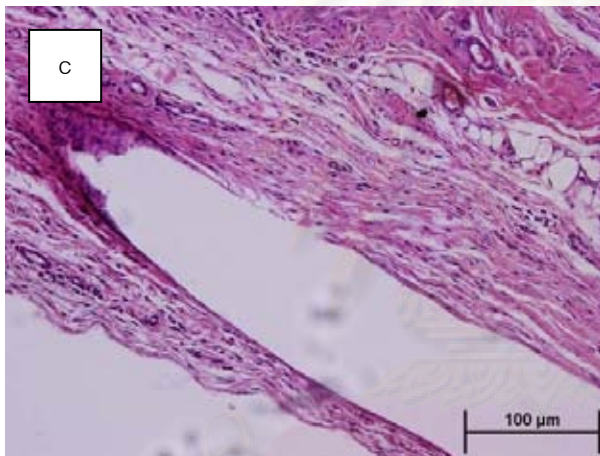
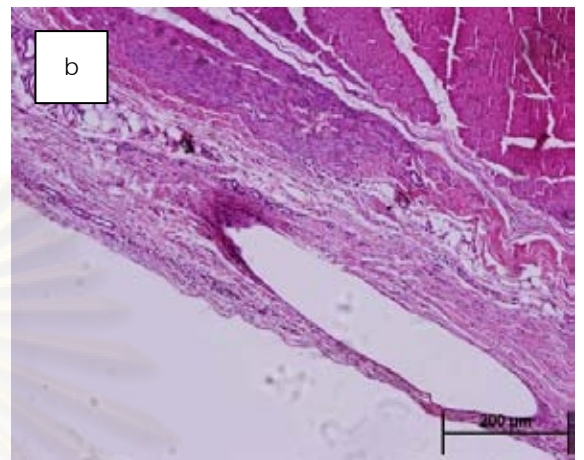
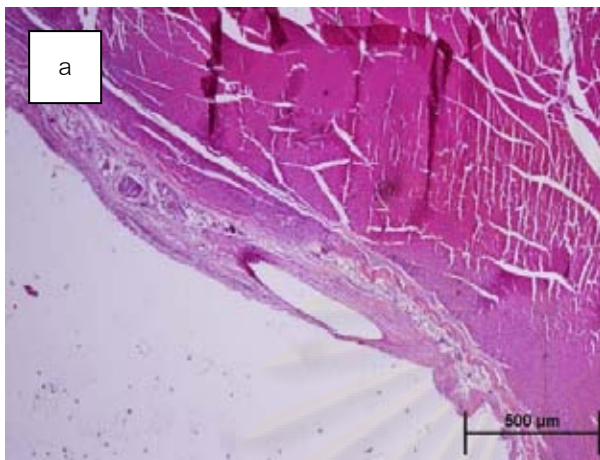
Gross evaluation

ภาพที่ 30 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

30a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

30b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

ภาพที่ 31 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยายต่างๆ

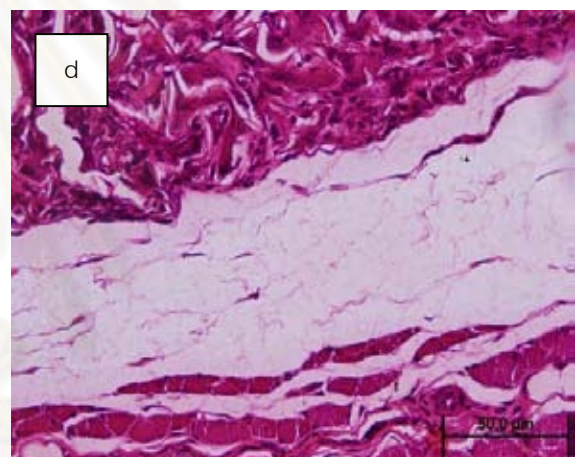
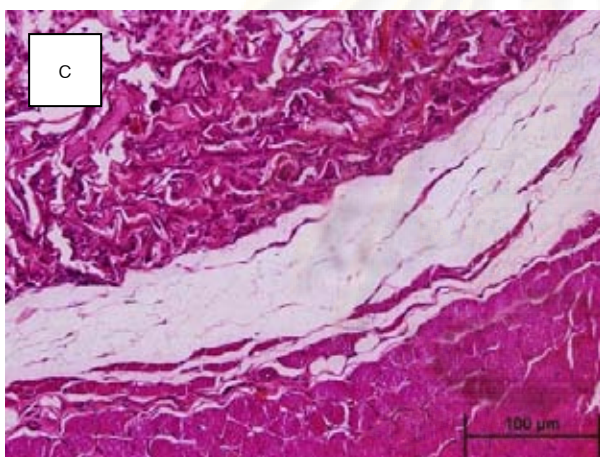
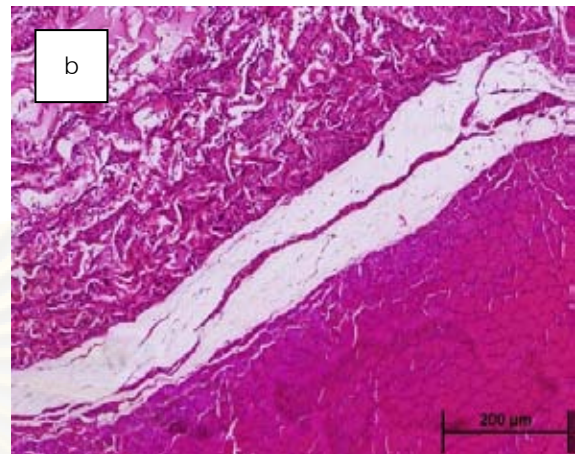
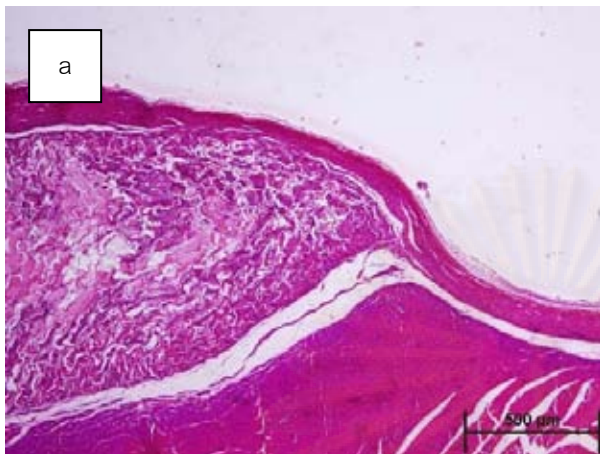
31a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x40

31b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x100

31c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x200

31d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x400

## Pore Skin®



ภาพที่ 32 แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

32a แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

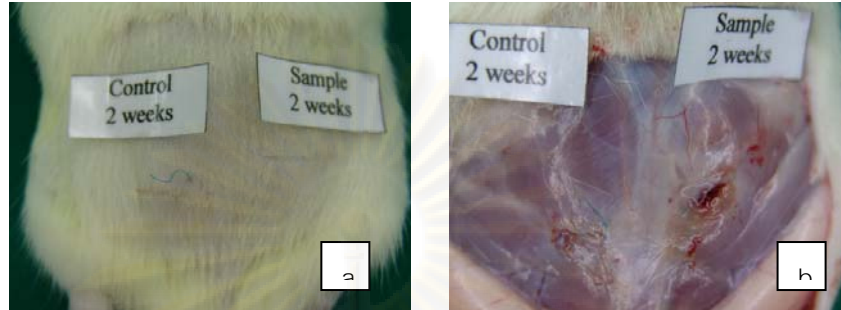
32b แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

32c แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

32d แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

I9/2

น้ำหนัก 237 กรัม

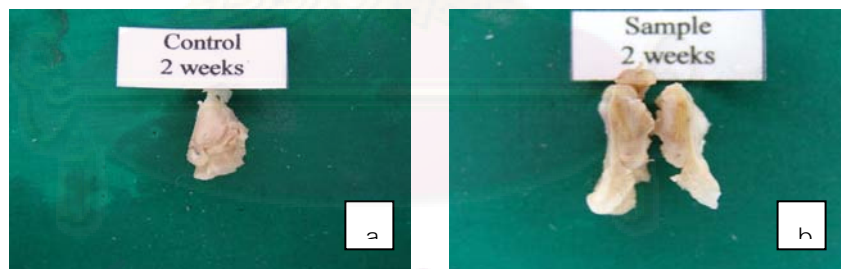
Macroscopic evaluation

ภาพที่ 33 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

33a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

33b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุ

ควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

Gross evaluation

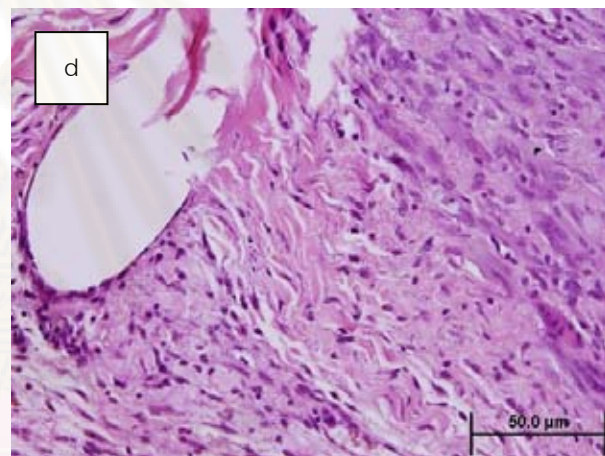
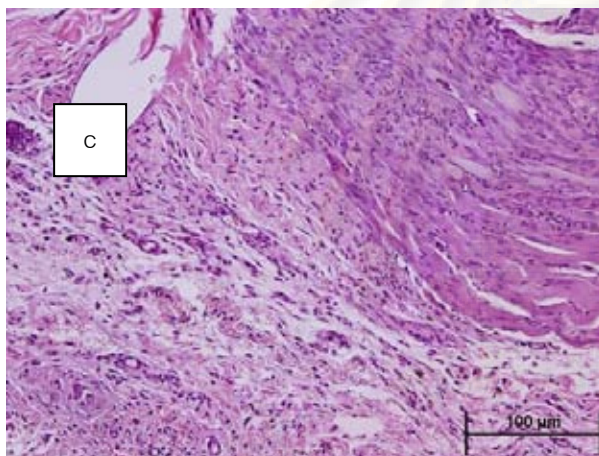
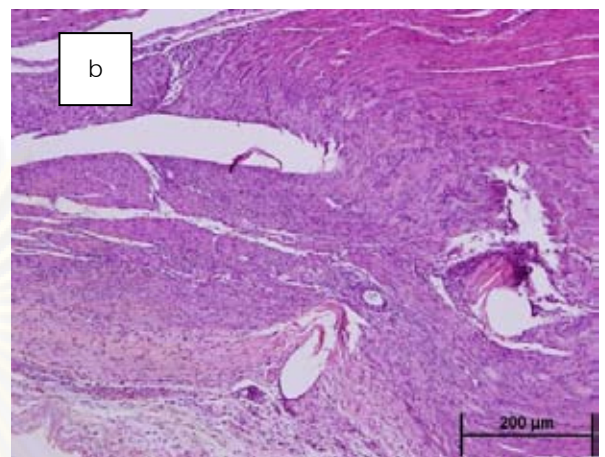
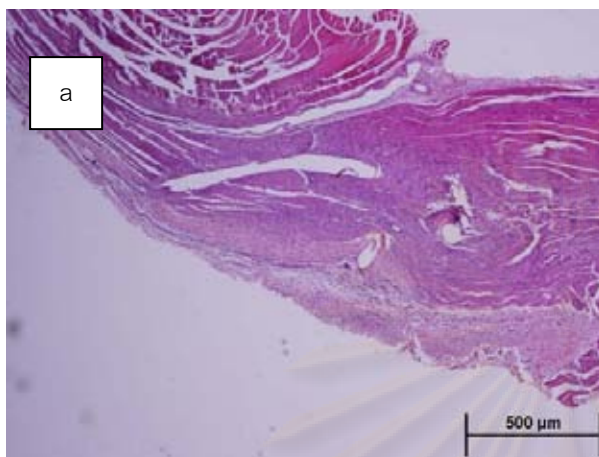
ภาพที่ 34 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

34a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

34b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์



## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

ภาพที่ 35 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยายต่างๆ

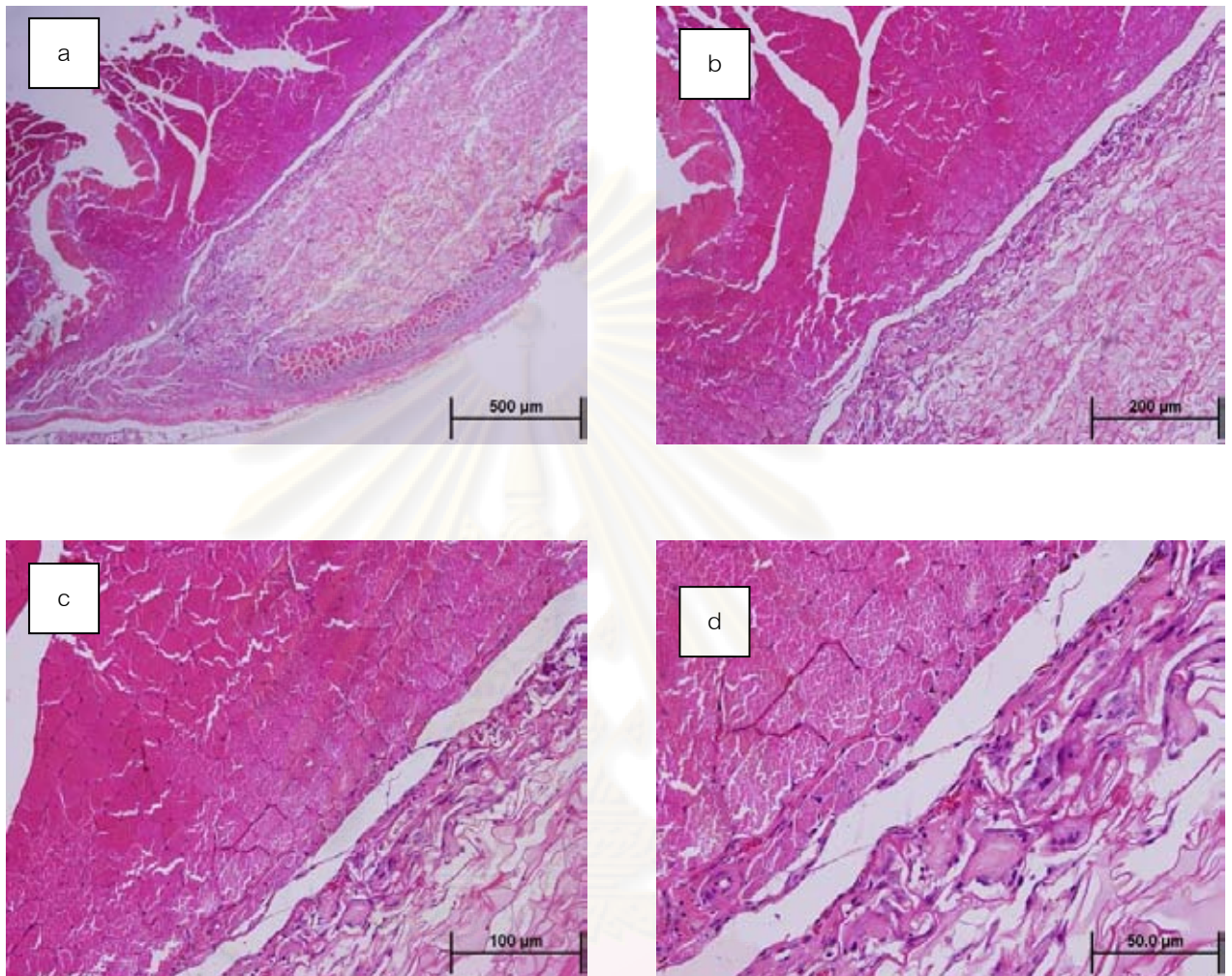
35a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x40

35b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x100

35c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x200

35d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x400

## Pore Skin®



ภาพที่ 36 แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

36a แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

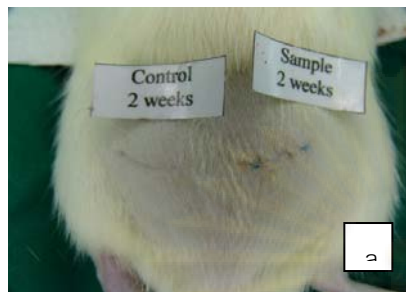
36b แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

36c แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

36d แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

I10/2

น้ำหนัก 242 กรัม

Macroscopic evaluation

ภาพที่ 37 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

37a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

37b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุ

ควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

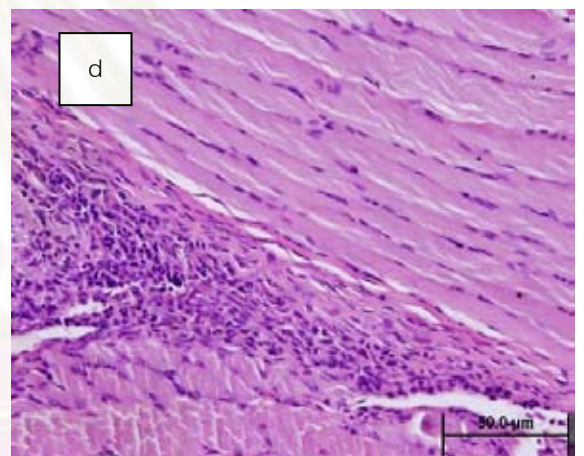
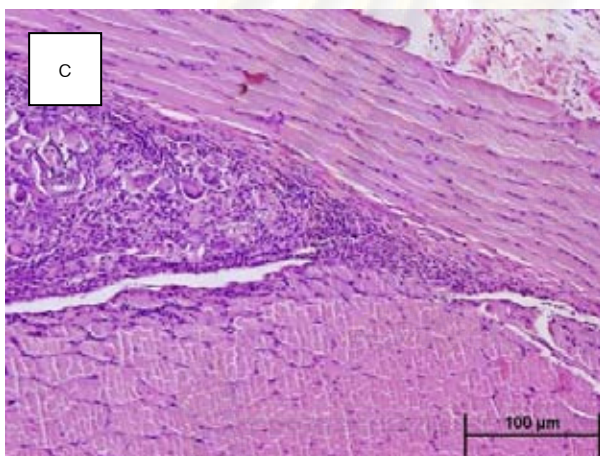
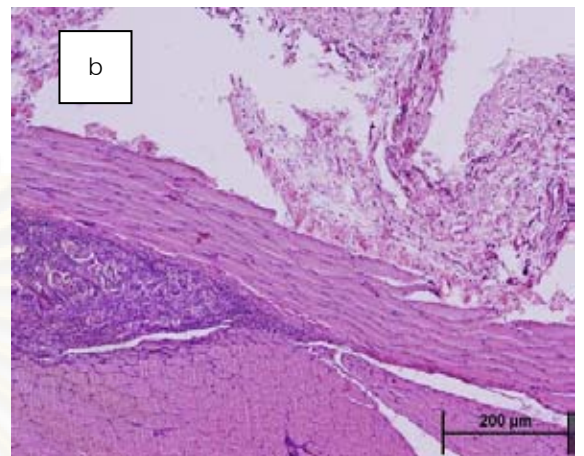
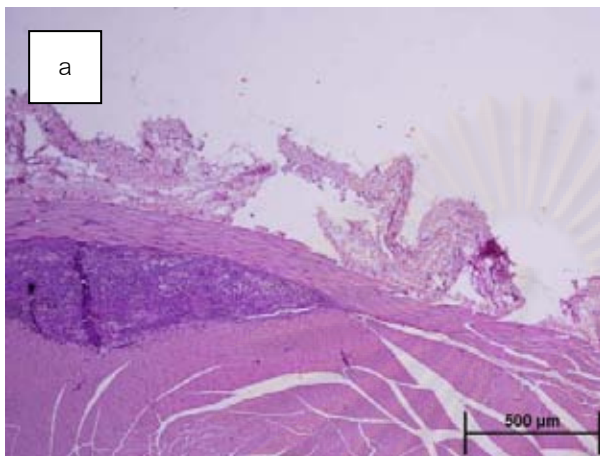
Gross evaluation

ภาพที่ 38 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

38a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

38b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

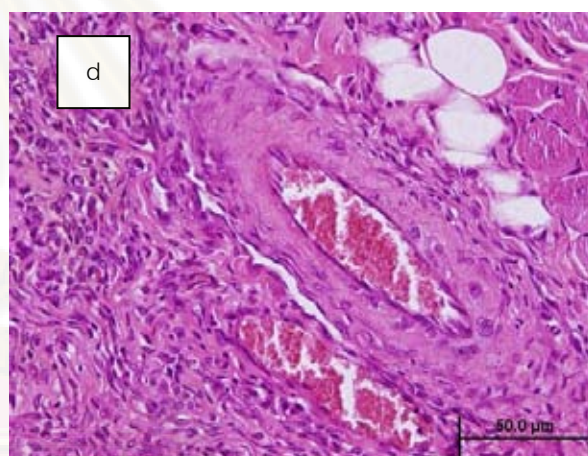
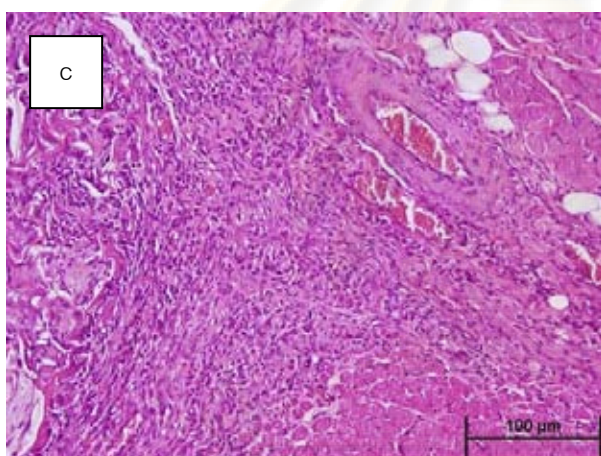
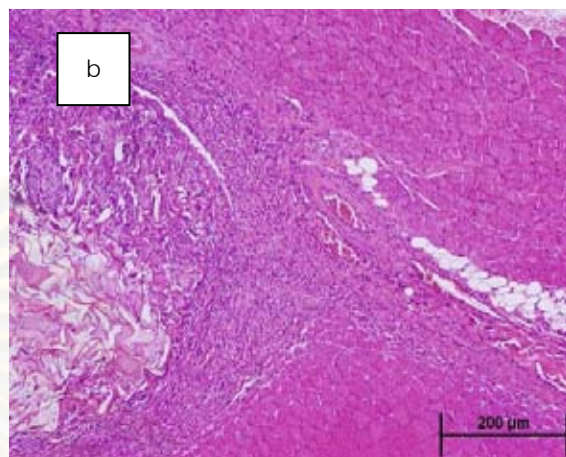
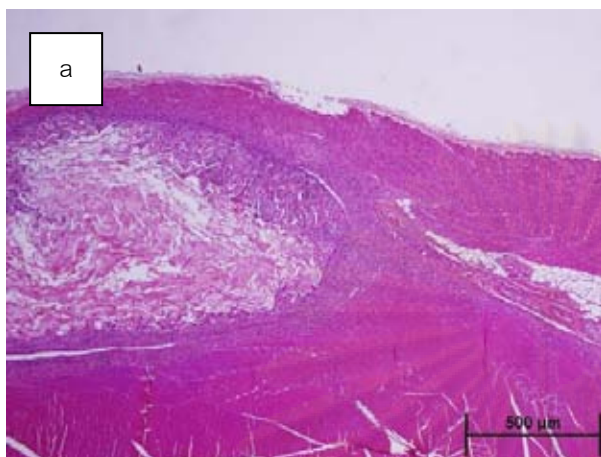
ภาพที่ 39 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

39a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

39b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

39c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

39d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

Pore Skin<sup>®</sup>

ภาพที่ 40 แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

40a แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

40b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

40c แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

40d แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

I11/2

น้ำหนัก 262 กรัม

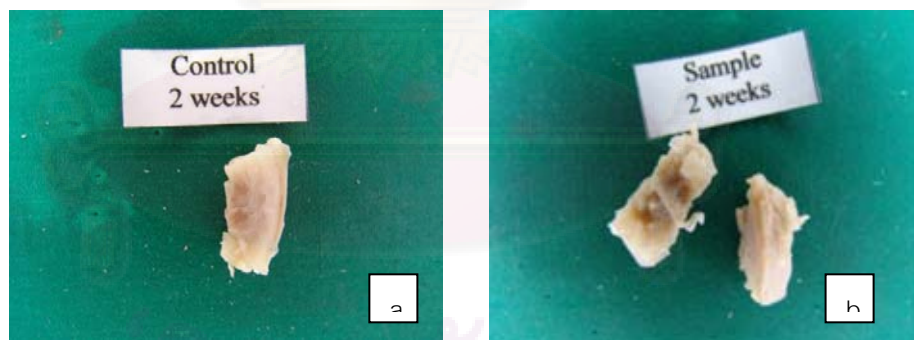
Macroscopic evaluation

ภาพที่ 41 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

41a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

41b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

Gross evaluation

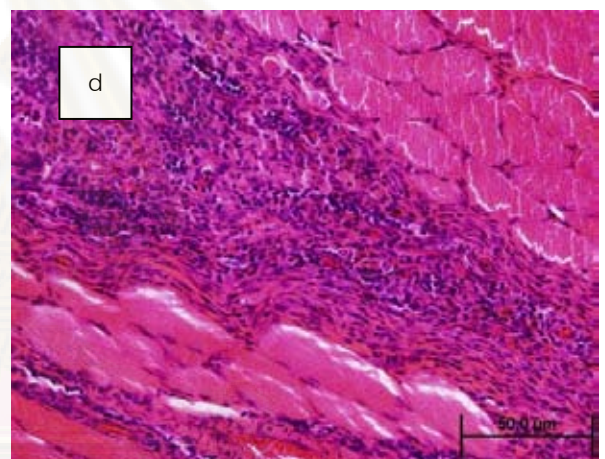
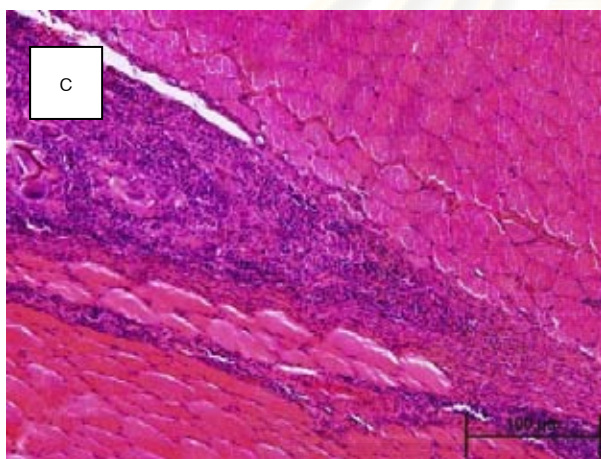
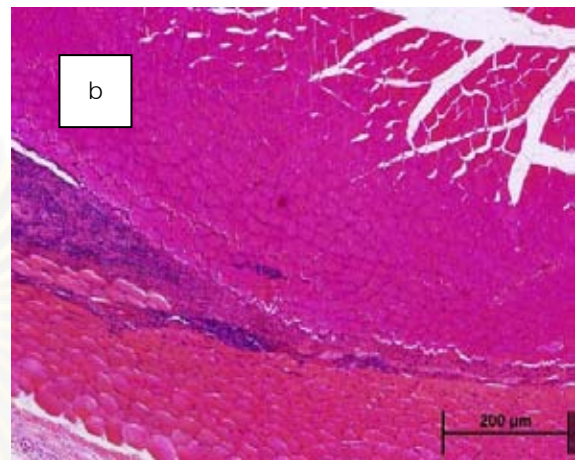
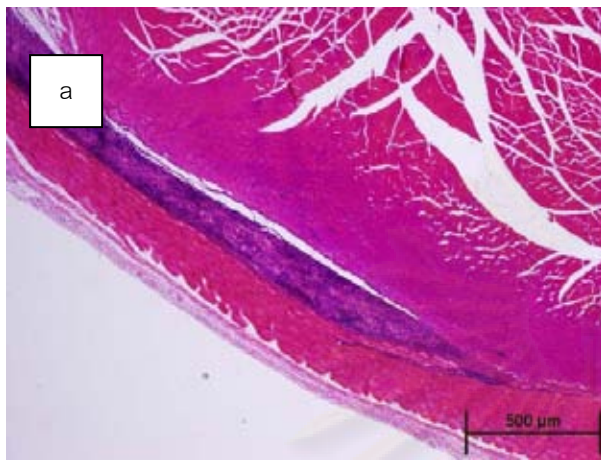


ภาพที่ 42 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

42a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

42b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

ภาพที่ 43 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหัวใจหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยายต่างๆ

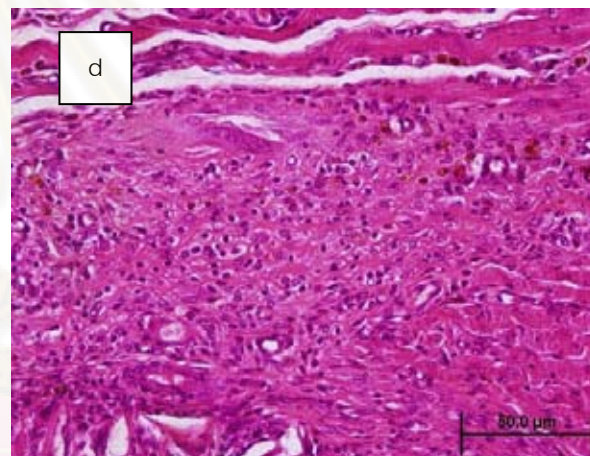
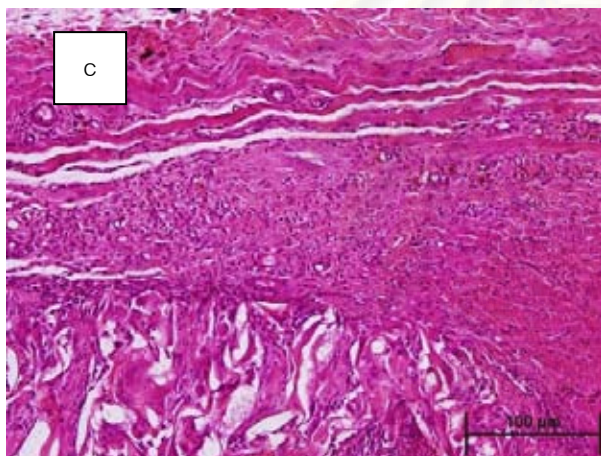
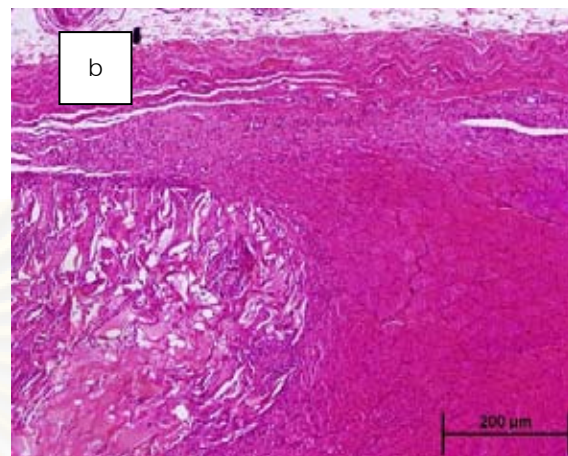
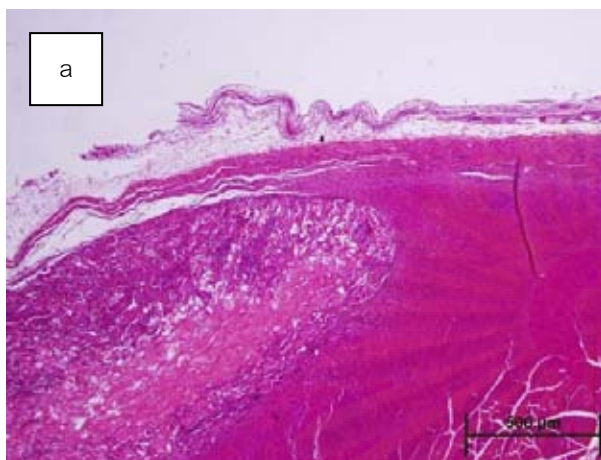
43a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหัวใจหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x40

43b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหัวใจหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x100

43c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหัวใจหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x200

43d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหัวใจหลังการฝัง 2 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x400

## Pore Skin®



ภาพที่ 44 แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

44a แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

44b แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

44c แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

44d แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400



I12/2

น้ำหนัก 248.5 กรัม

Macroscopic evaluation

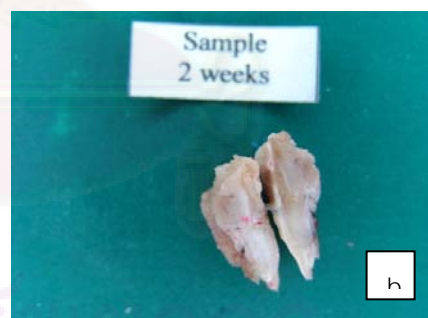
ภาพที่ 45 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

45a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

45b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับ

วัสดุ

ควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

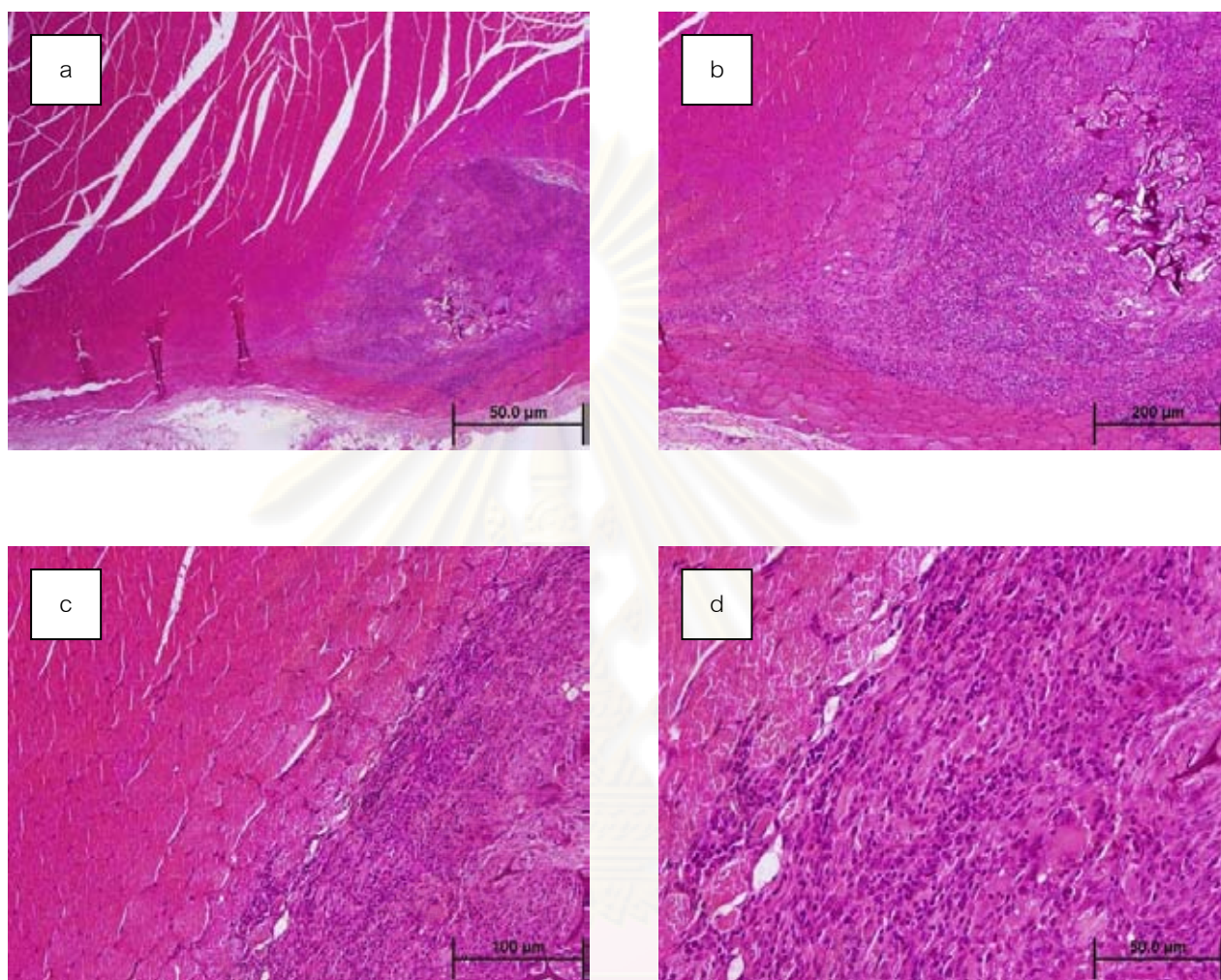
Gross evaluation

ภาพที่ 46 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์

46a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

46b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> นาน 2 สัปดาห์

## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

ภาพที่ 47 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

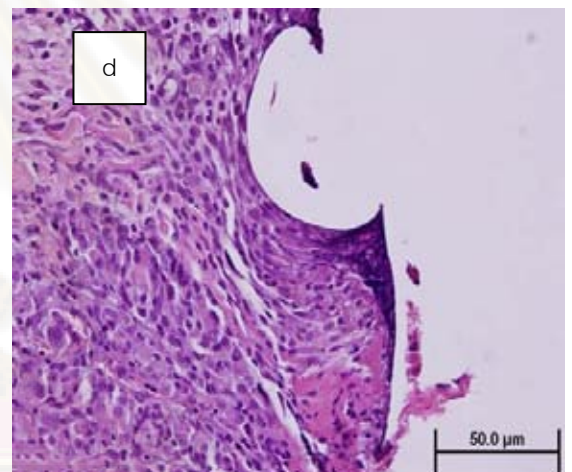
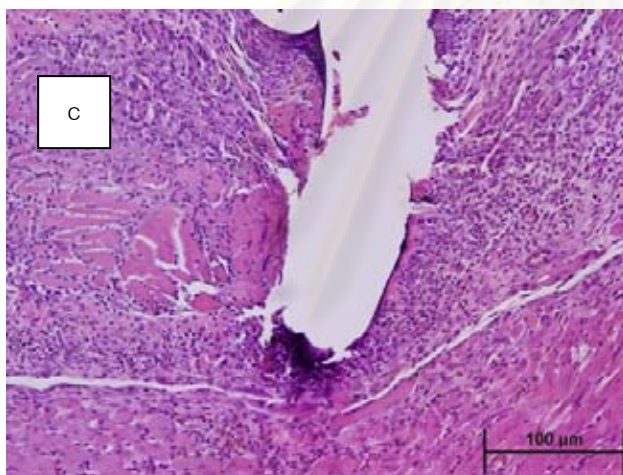
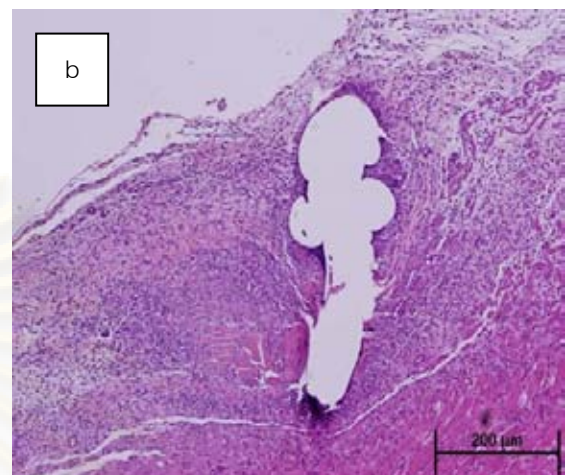
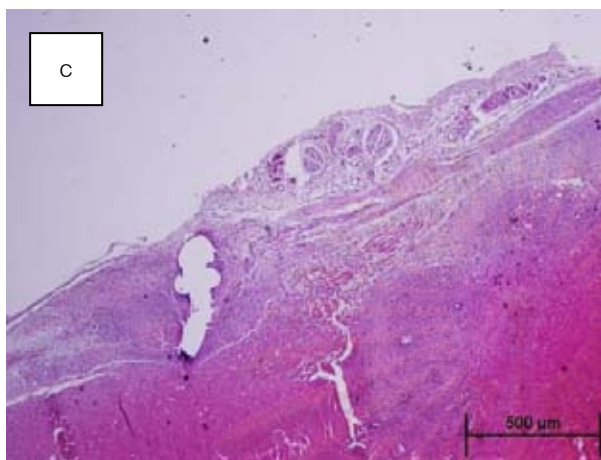
47a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

47b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

47c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

47d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

## Pore Skin®



ภาพที่ 48 แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

48a แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

48b แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

48c แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

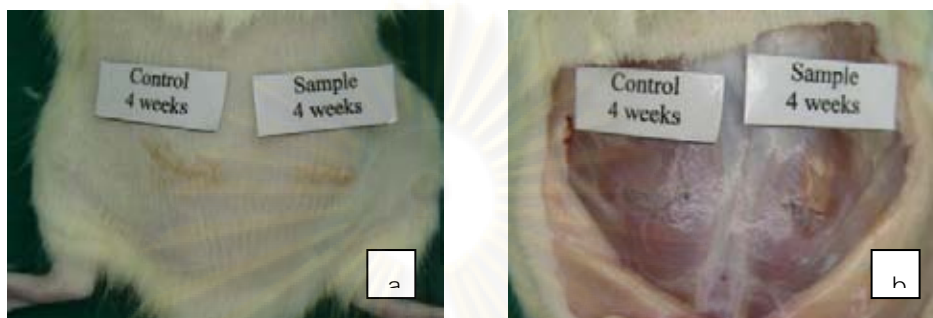
48d แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 2 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

## ผลการทดลอง 4 สัปดาห์

11/4

น้ำหนัก 241.8 กรัม

### Macroscopic evaluation



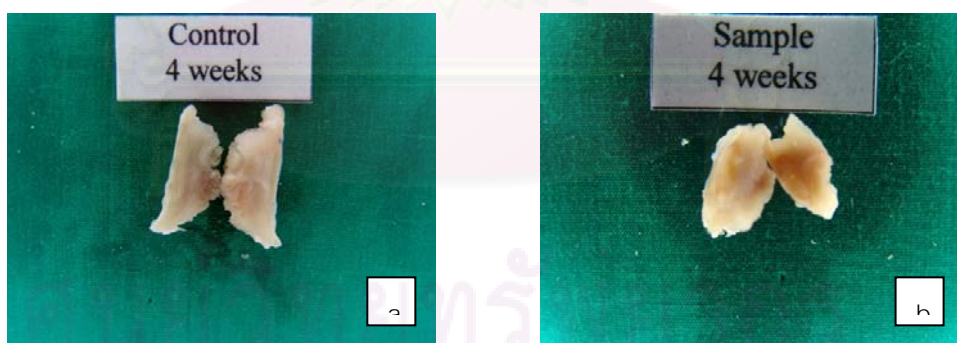
ภาพที่ 49 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

49a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin® เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam® ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

49b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin® เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam® ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

ควบคุม Gel foam® ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

### Gross evaluation

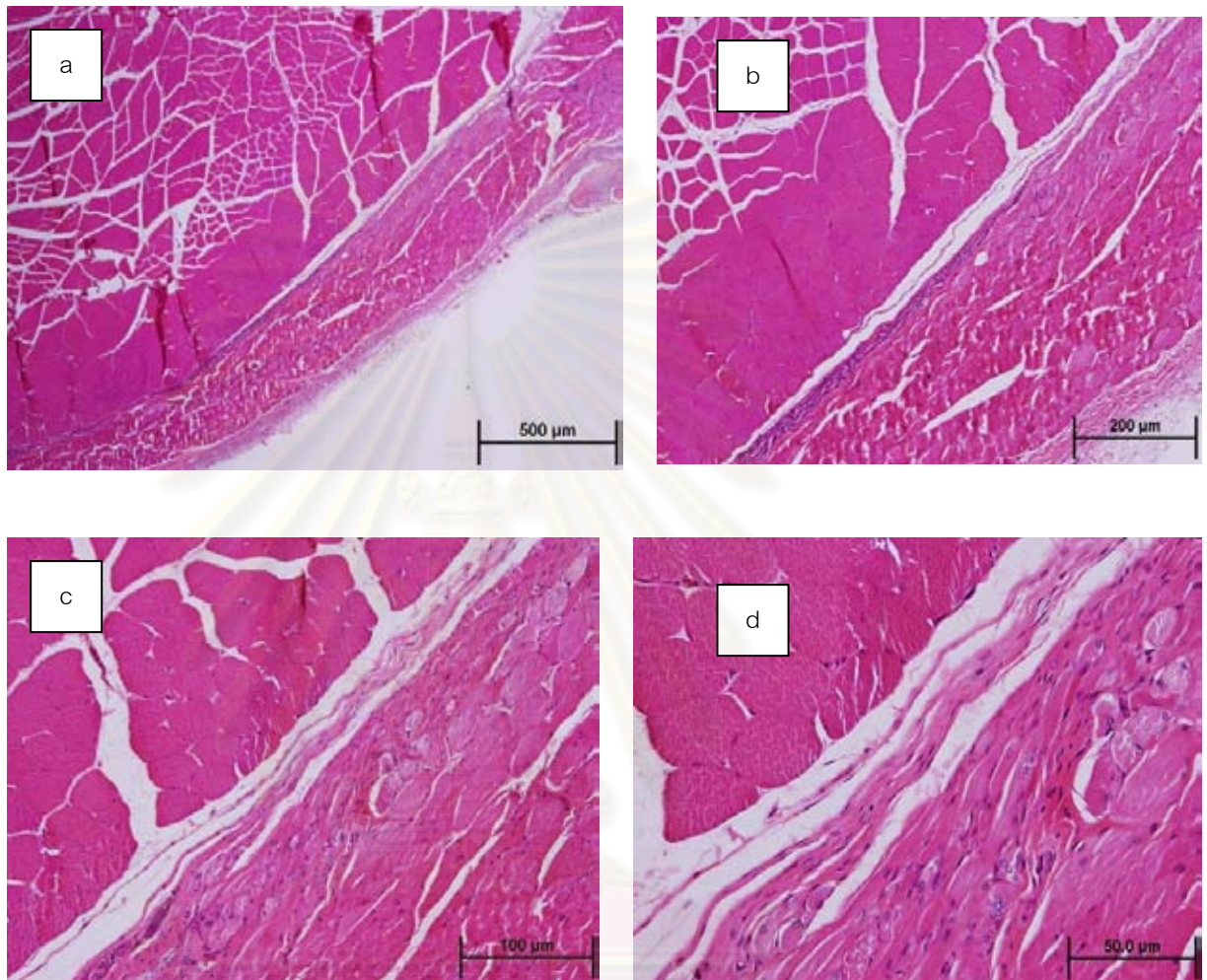


ภาพที่ 50 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

50a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam® นาน 4 สัปดาห์

50b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin® นาน 4 สัปดาห์

## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

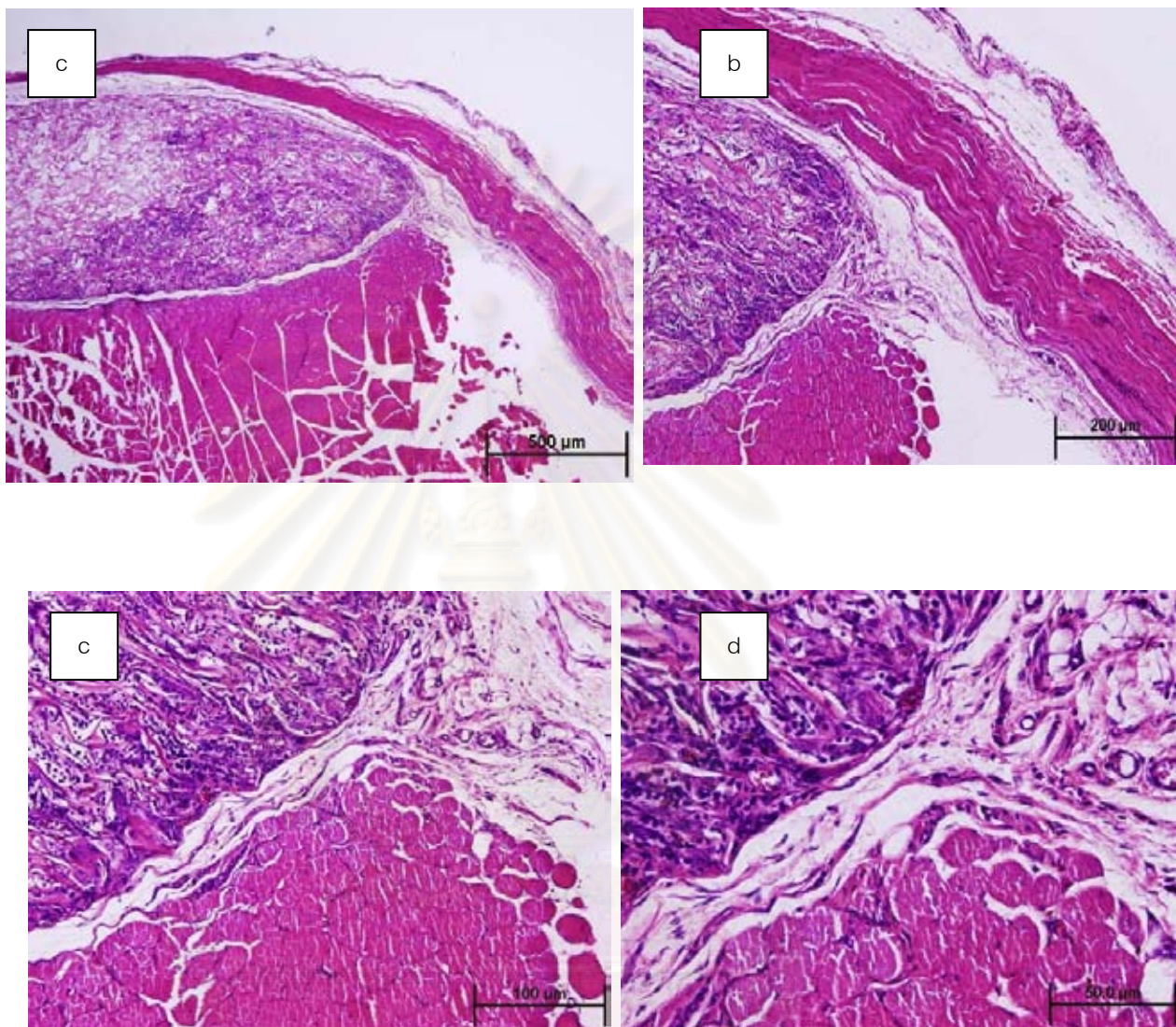
ภาพที่ 51 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยายต่างๆ

51a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x40

51b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x100

51c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x200

51d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x400

Pore Skin<sup>®</sup>

ภาพที่ 52 แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

52a แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

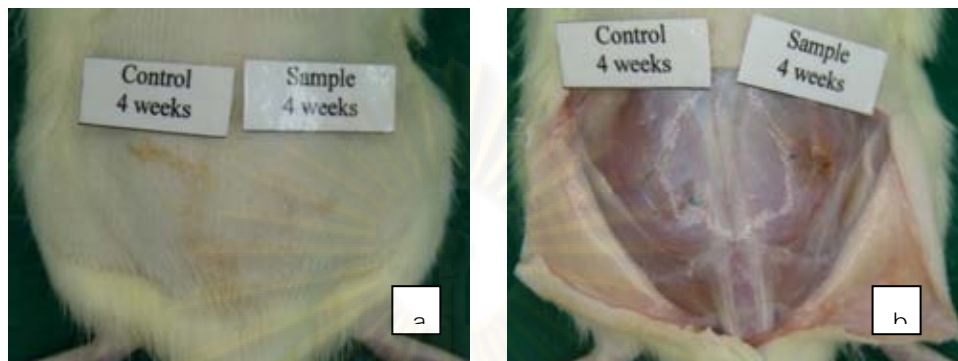
52b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

52c แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

52d แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

12/4

น้ำหนัก 254 กรัม

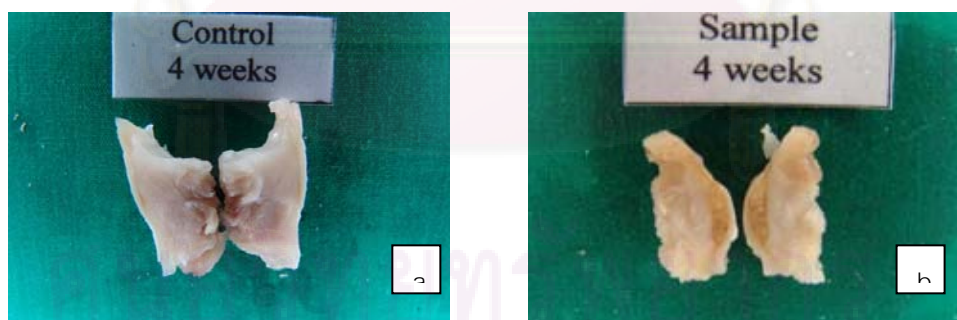
Macroscopic evaluation

ภาพที่ 53 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

53a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

53b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุ

ควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

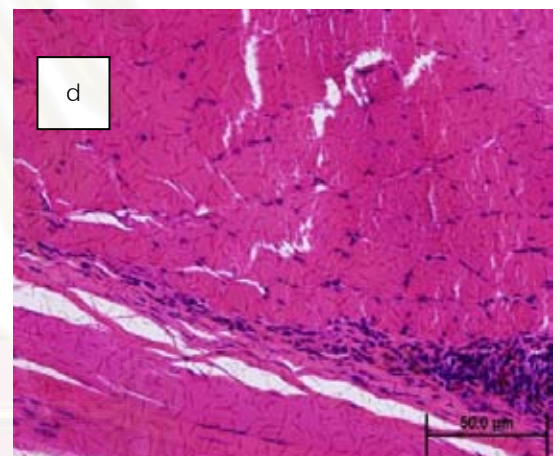
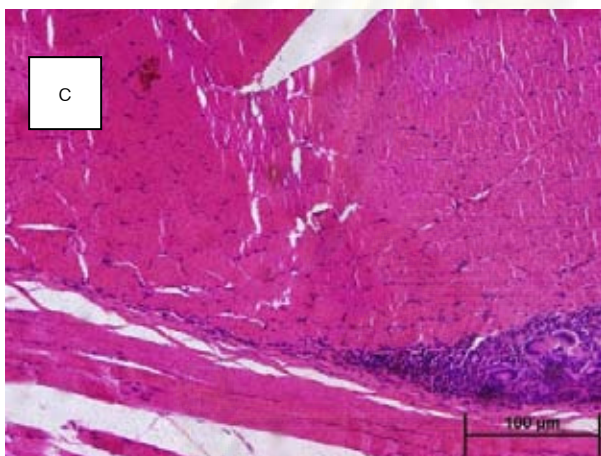
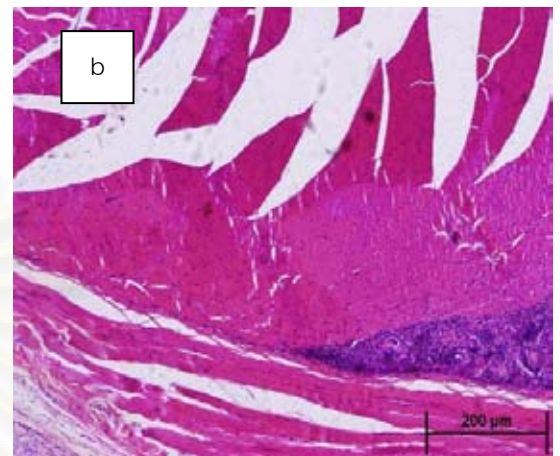
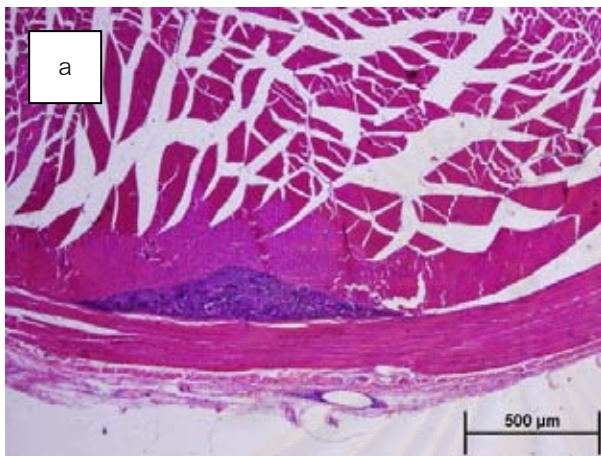
Gross evaluation

ภาพที่ 54 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

54a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> นาน 4 สัปดาห์

54b ภาพลักษณะภายนอกของเนื้อเยื่อบริเวณที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> นาน 4 สัปดาห์

## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

ภาพที่ 55 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหัวใจหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

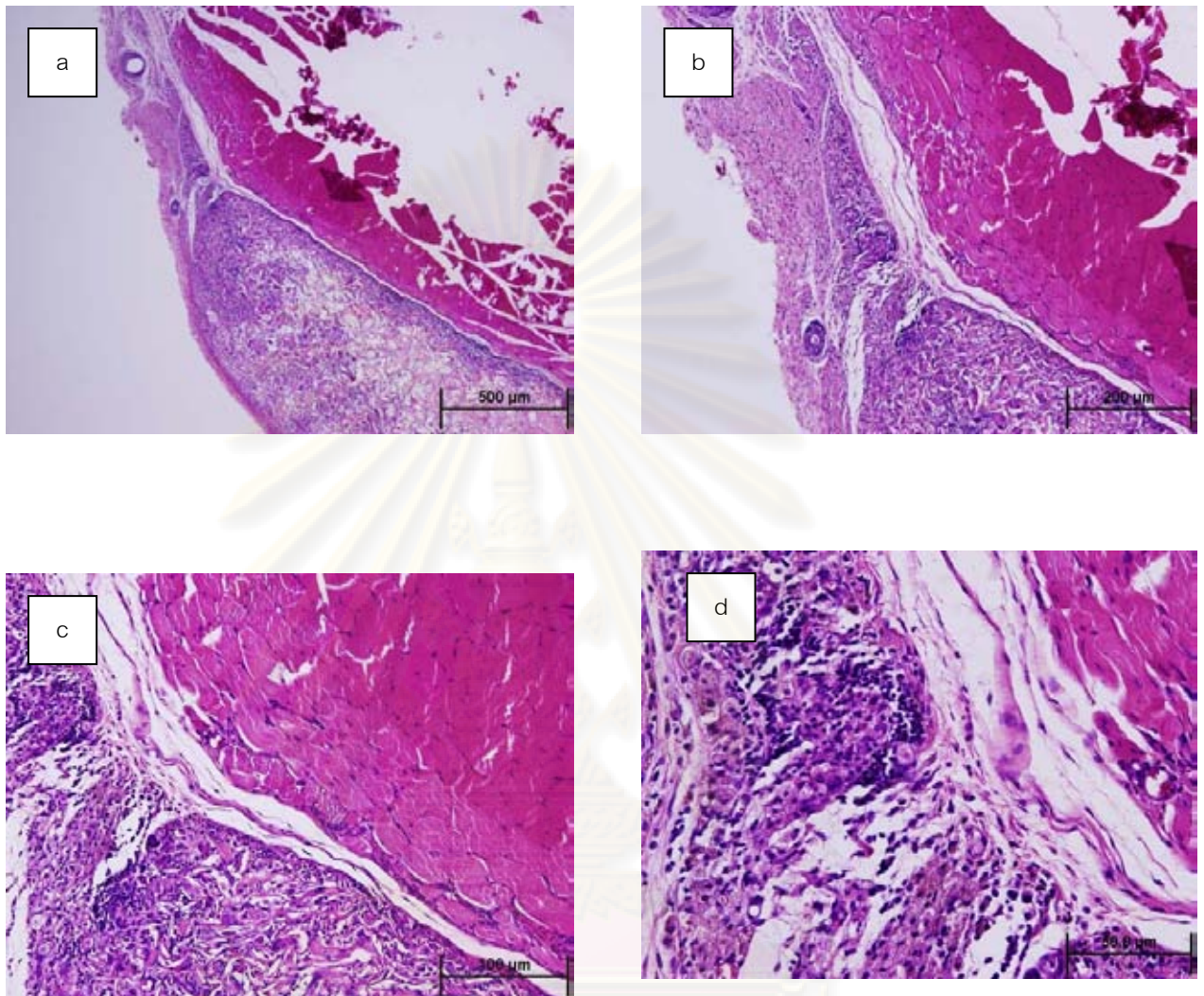
55a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหัวใจหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

55b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหัวใจหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

55c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหัวใจหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

55d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหัวใจหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400



Pore Skin<sup>®</sup>

ภาพที่ 56 แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

56a แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

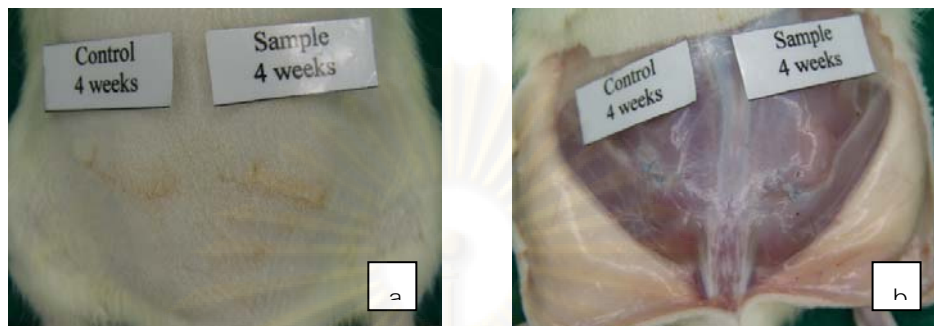
56b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

56c แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

56d แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

13/4

น้ำหนัก 239 กรัม

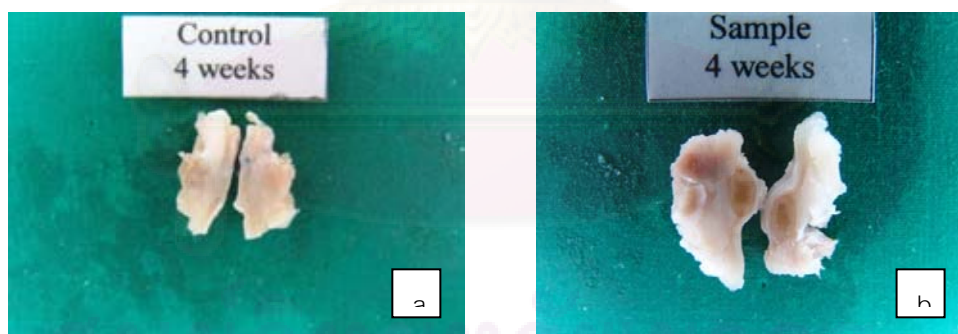
Macroscopic evaluation

ภาพที่ 57 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

57a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

57b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุ

ควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

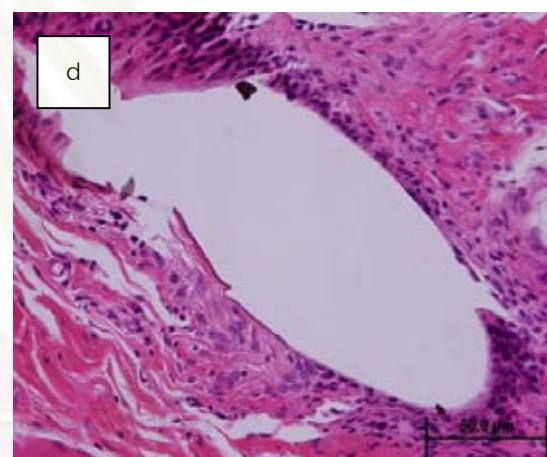
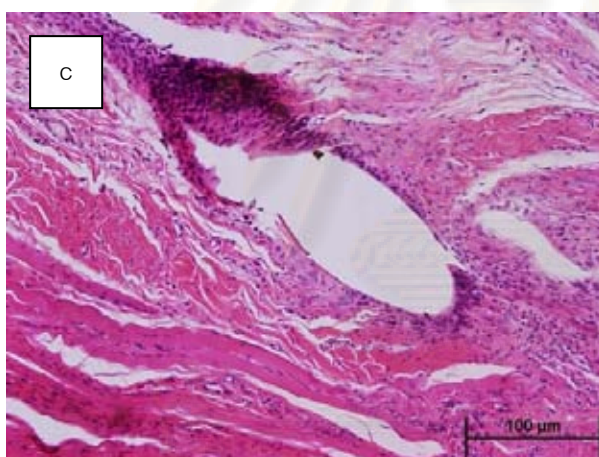
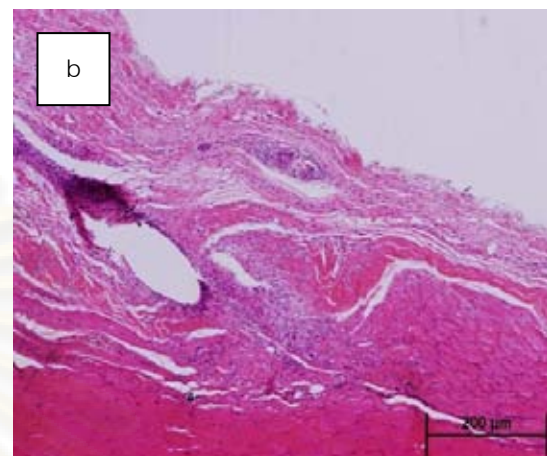
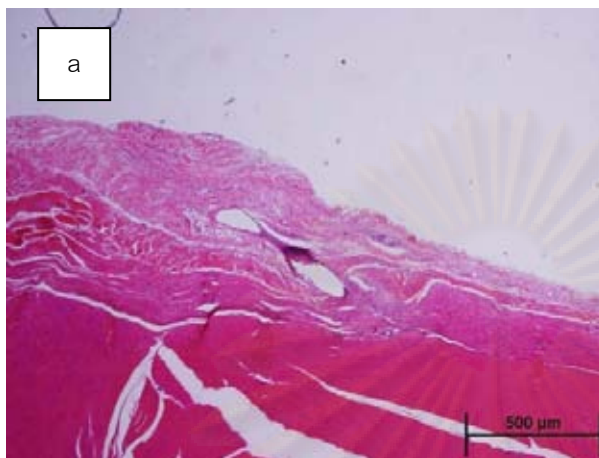
Gross evaluation

ภาพที่ 58 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

58a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> นาน 4 สัปดาห์

58b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> นาน 4 สัปดาห์

## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

ภาพที่ 59 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยายต่างๆ

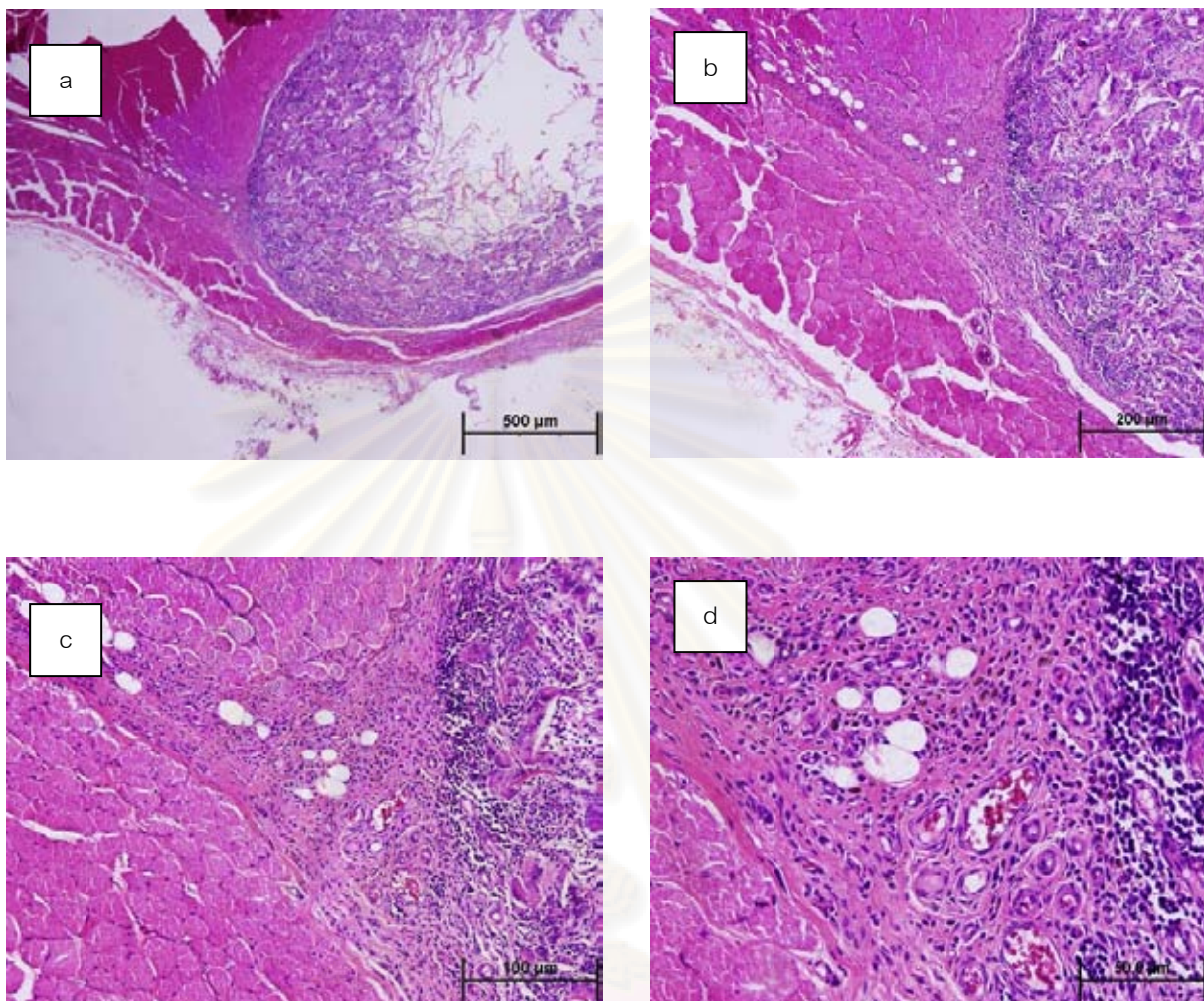
59a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x40

59b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x100

59c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x200

59d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x400

## Pore Skin®



ภาพที่ 60 แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

60a แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

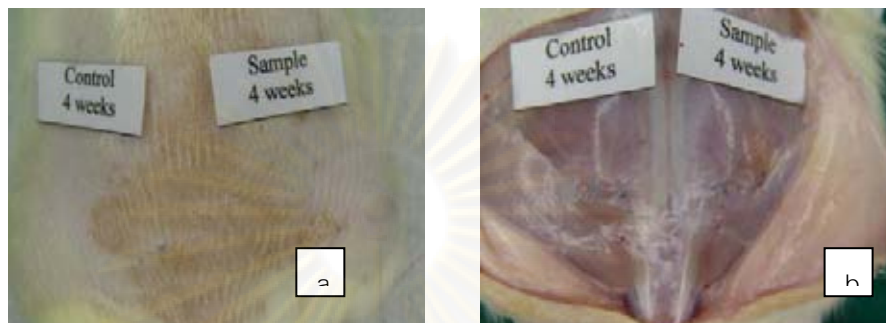
60b แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

60c แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

60d แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

I4/4

น้ำหนัก 239 กรัม

Macroscopic evaluation

ภาพที่ 61 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

61a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin® เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam® ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

61b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin® เทียบกับวัสดุ

ควบคุม Gel foam® ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

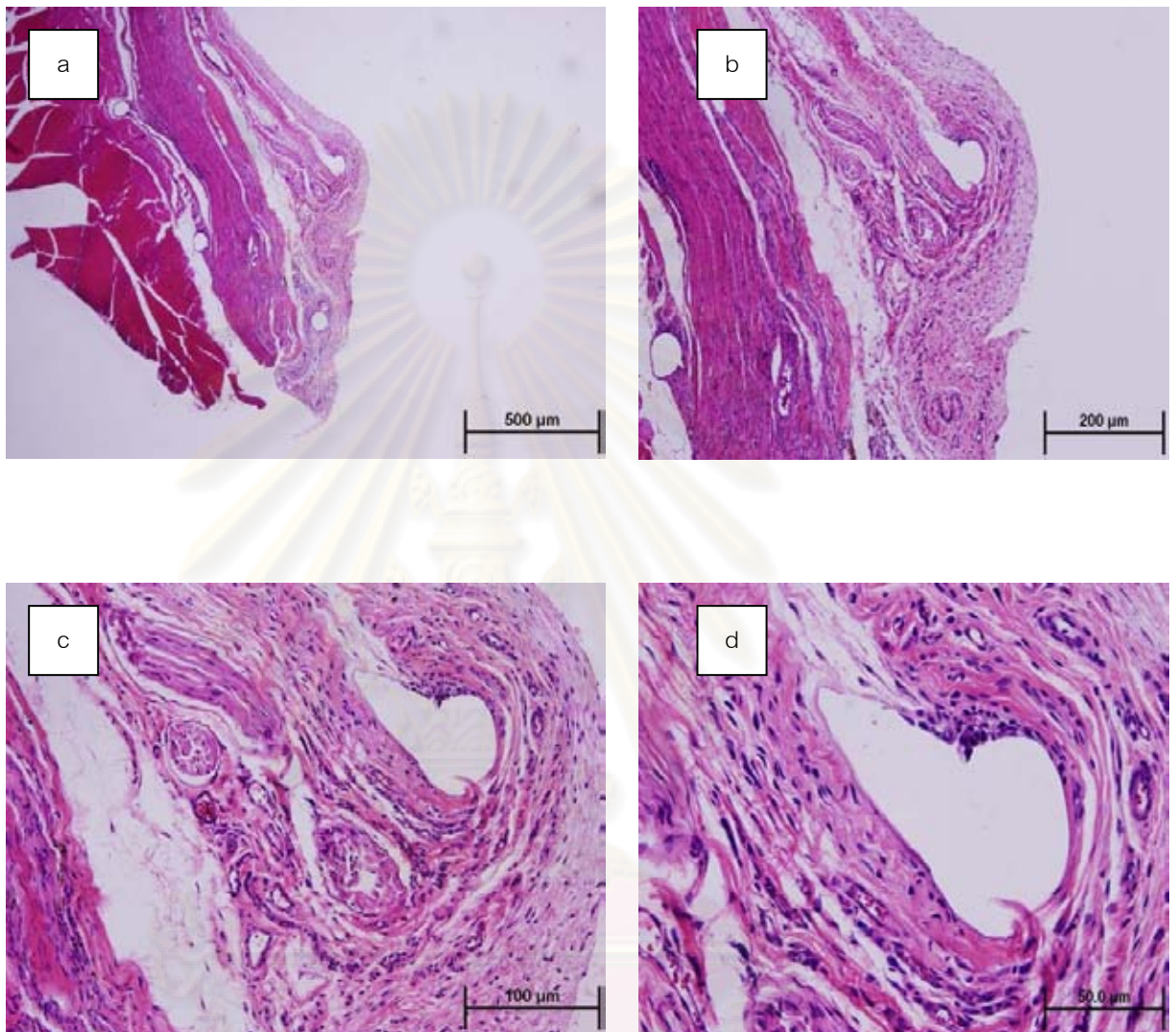
Gross evaluation

ภาพที่ 62 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

62a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam® นาน 4 สัปดาห์

62b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin® นาน 4 สัปดาห์

## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

ภาพที่ 63 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

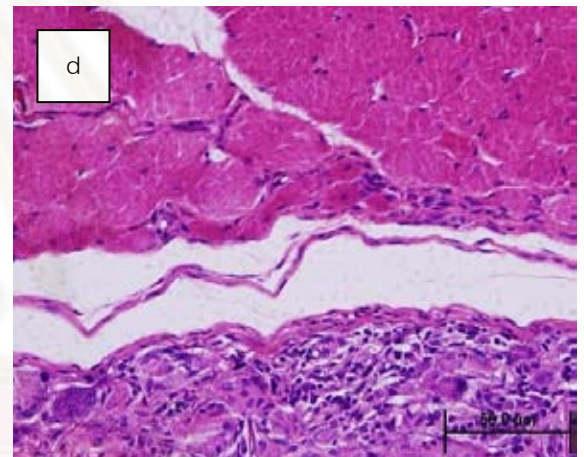
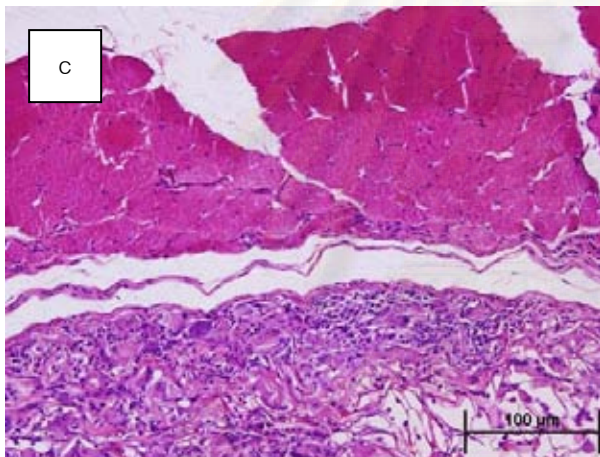
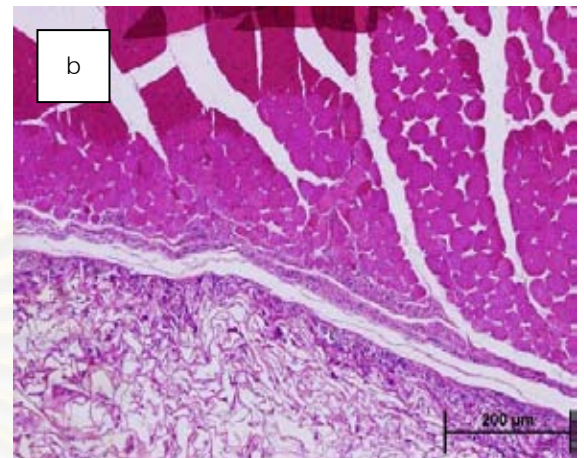
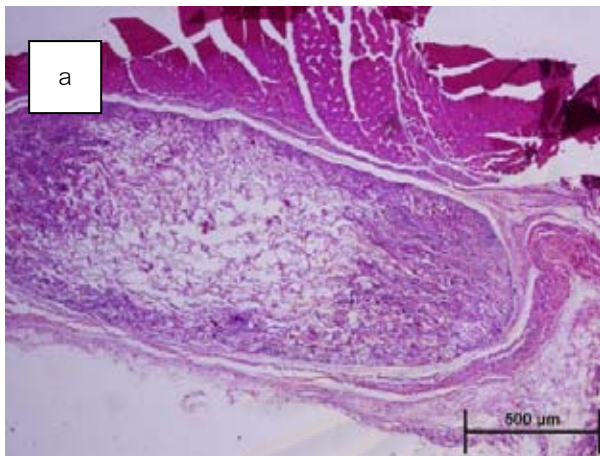
63a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

63b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

63c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

63d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

## Pore Skin®



ภาพที่ 64 แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

64a แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

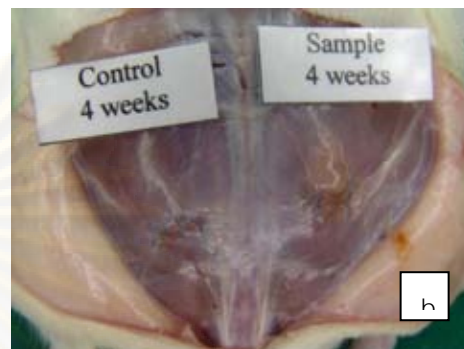
64b แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

64c แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

64d แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

15/4

น้ำหนัก 247.5 กรัม

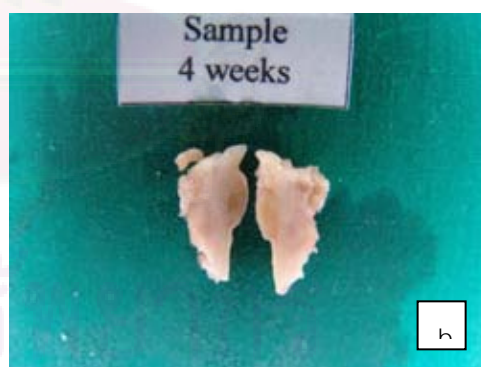
Macroscopic evaluation

ภาพที่ 65 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

65a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับ วัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

65b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับ วัสดุ

ควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

Gross evaluation

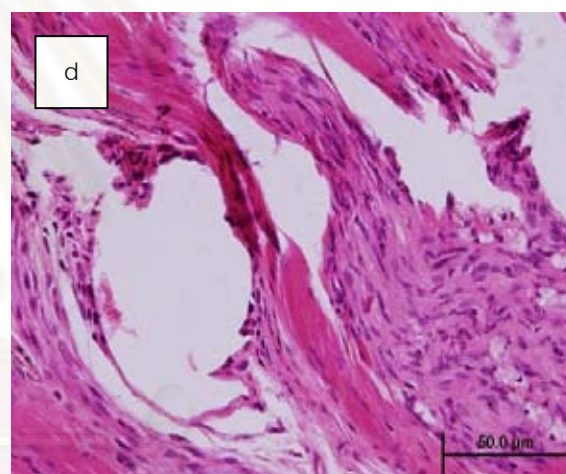
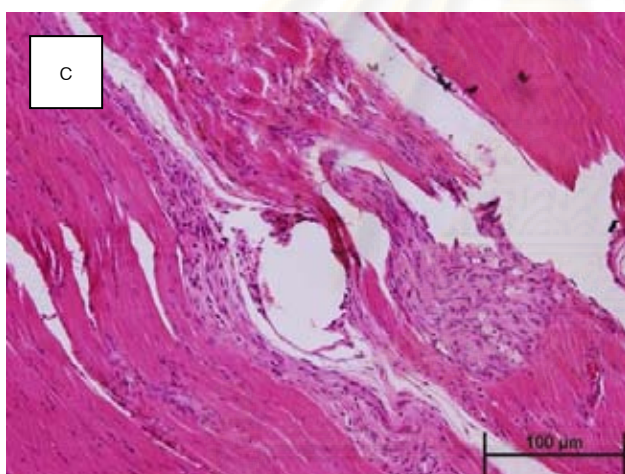
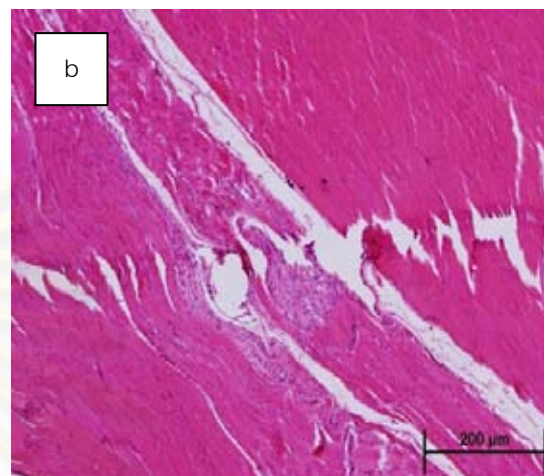
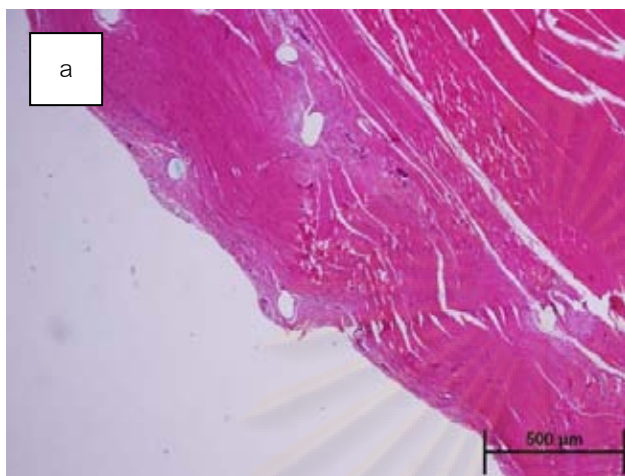
ภาพที่ 66 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

66a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> นาน 4 สัปดาห์

66b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> นาน 4 สัปดาห์



## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

ภาพที่ 67 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยายต่างๆ

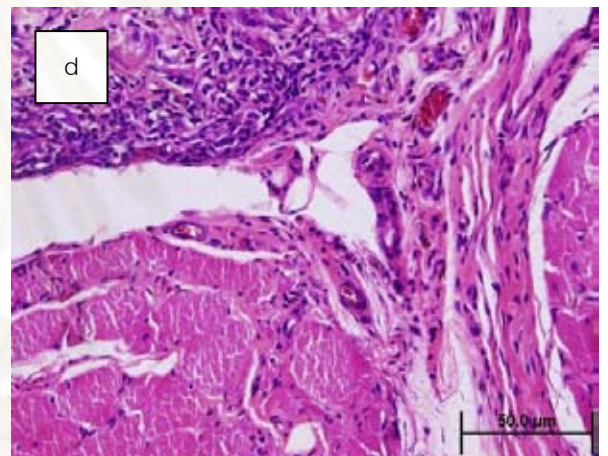
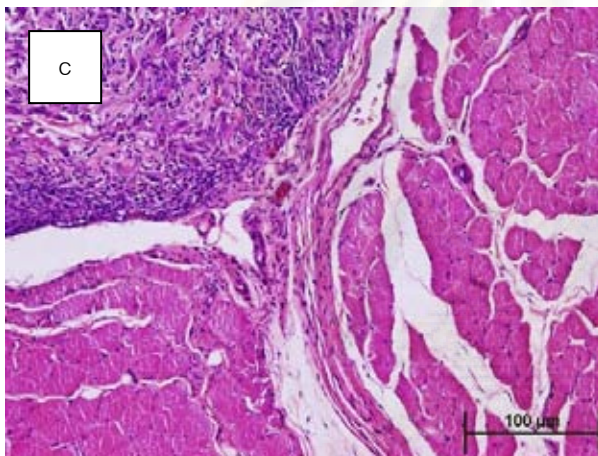
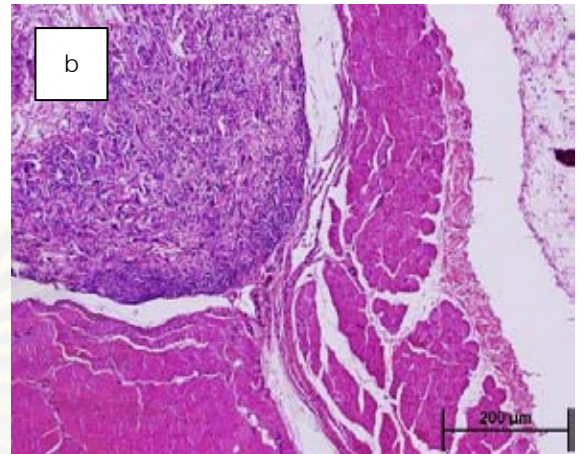
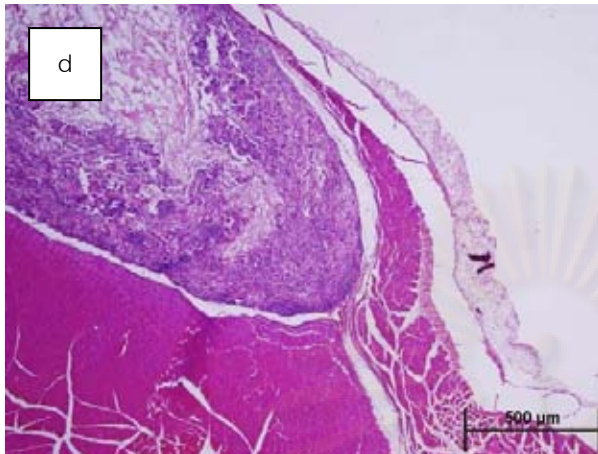
67a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x40

67b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x100

67c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x200

67d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x400

## Pore Skin®



ภาพที่ 68 แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยายต่างๆ

68a แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x40

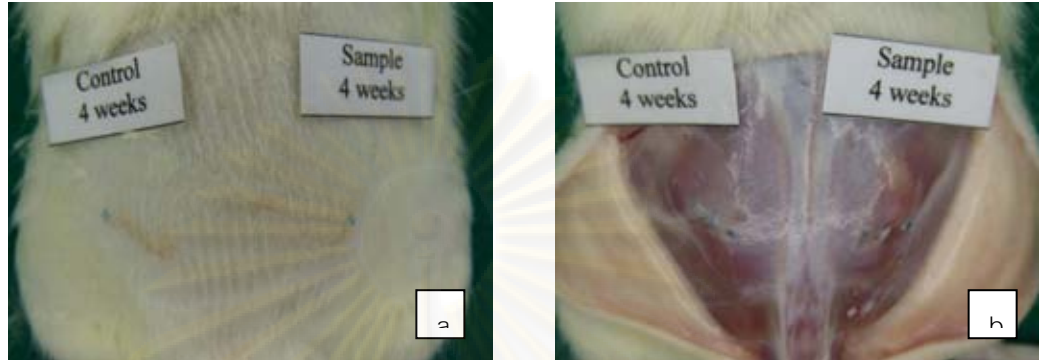
68b แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x100

68c แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x200

68d แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x400

I6/4

น้ำหนัก 247.5 กรัม

Macroscopic evaluation

ภาพที่ 69 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

69a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin® เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam® ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

69b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin® เทียบกับวัสดุ

ควบคุม Gel foam® ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

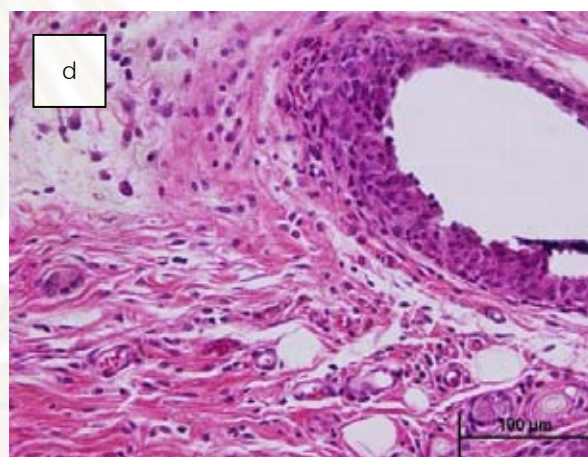
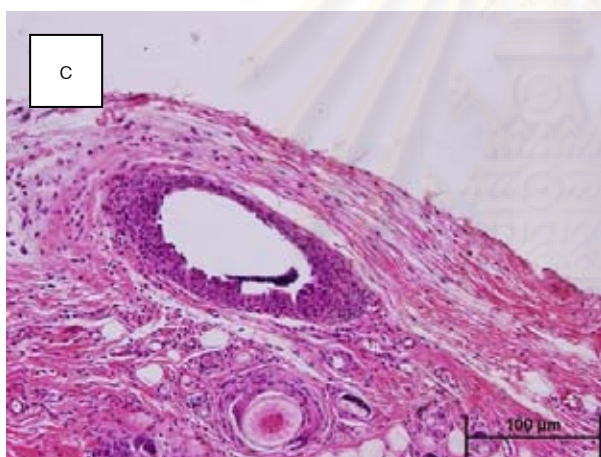
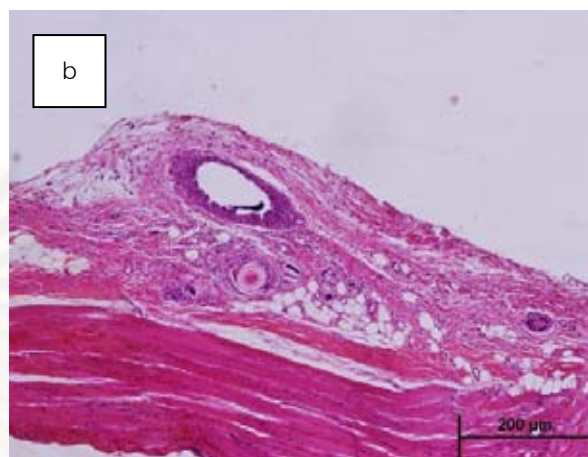
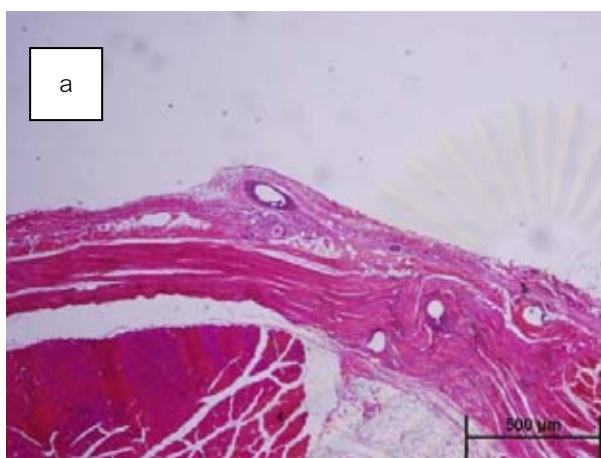
Gross evaluation

ภาพที่ 70 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

70a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam® นาน 4 สัปดาห์

70b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin® นาน 4 สัปดาห์

## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

ภาพที่ 71 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยายต่างๆ

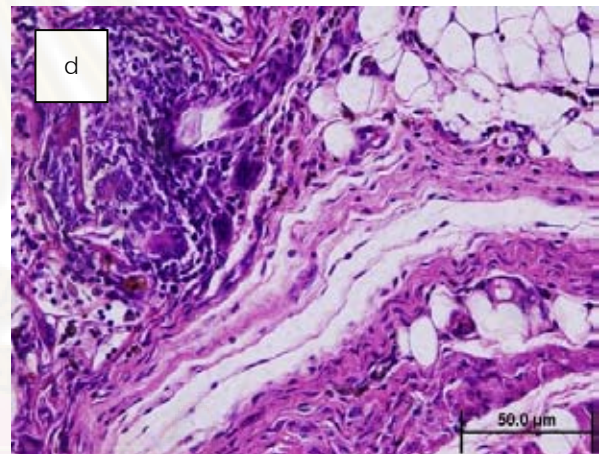
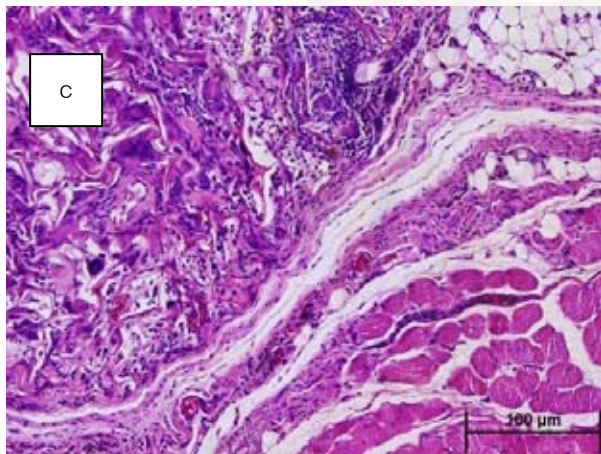
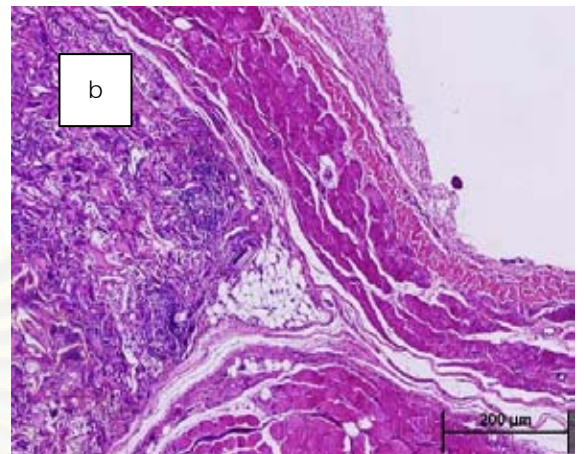
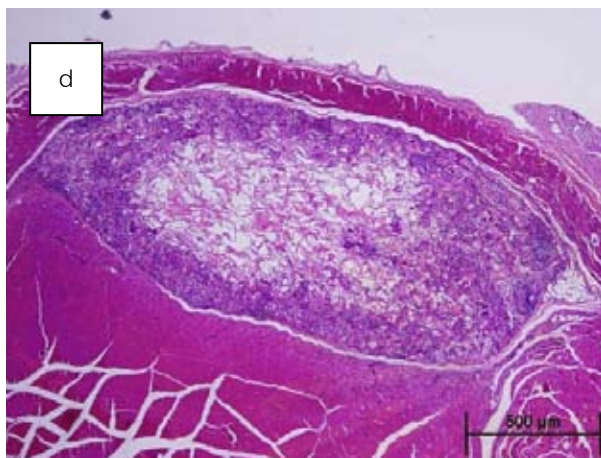
71a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x40

71b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x100

71c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x200

71d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x400

## Pore Skin®



ภาพที่ 72 แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

72a แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

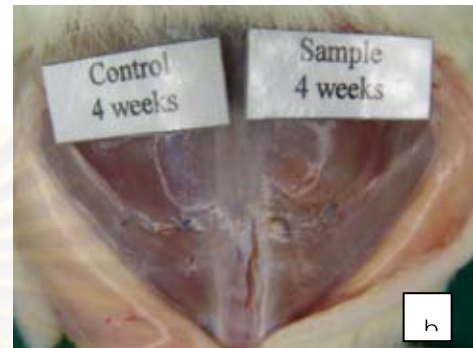
72b แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

72c แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

72d แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

17/4

น้ำหนัก 248.5 กรัม

Macroscopic evaluation

ภาพที่ 73 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

73a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

73b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุ

ควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

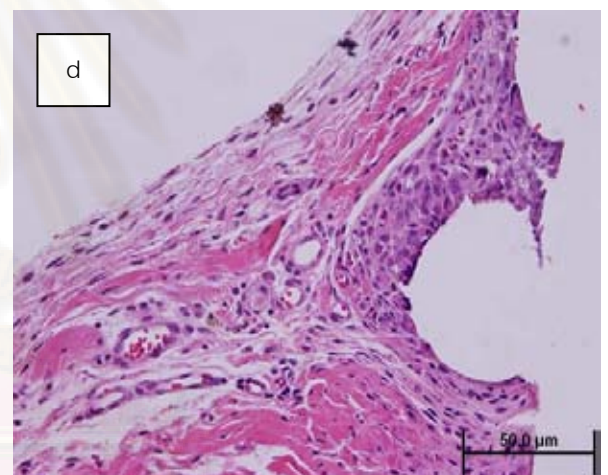
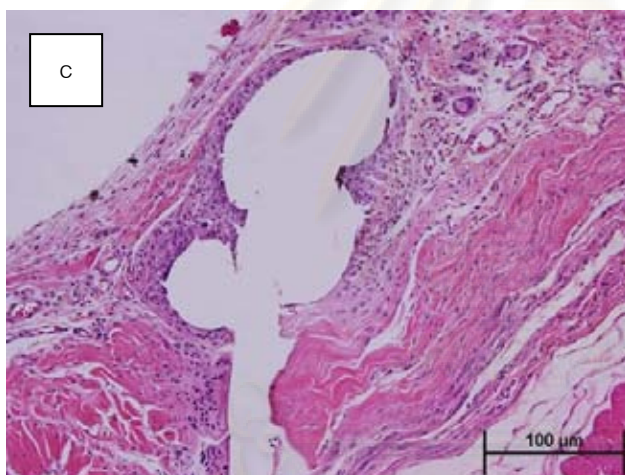
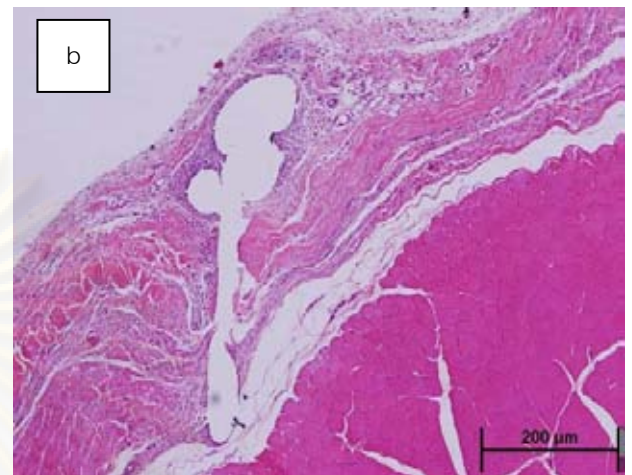
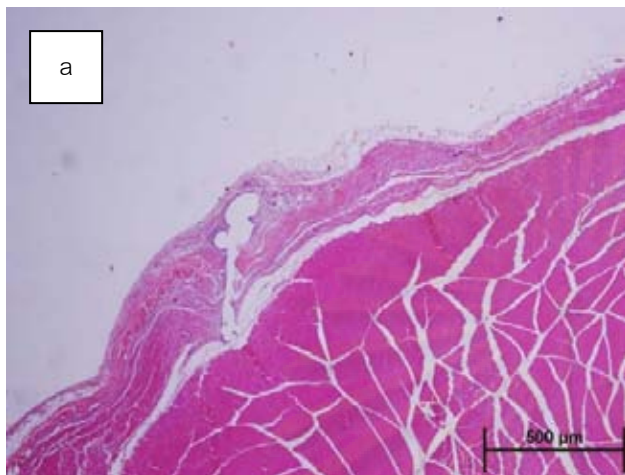
Gross evaluation

ภาพที่ 74 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

74a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> นาน 4 สัปดาห์

74b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> นาน 4 สัปดาห์

## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

ภาพที่ 75 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยายต่างๆ

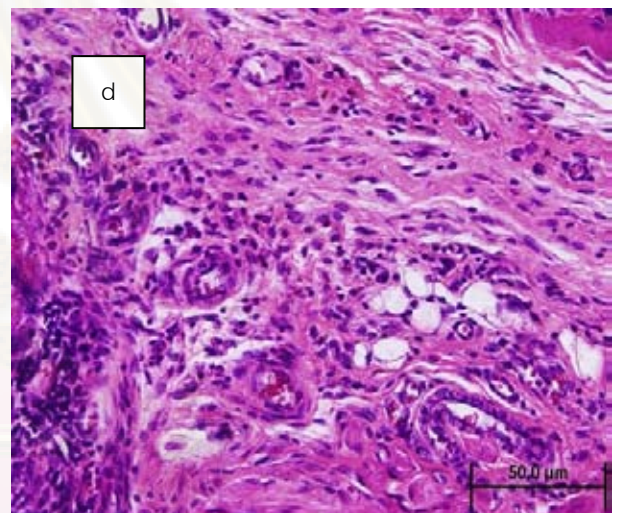
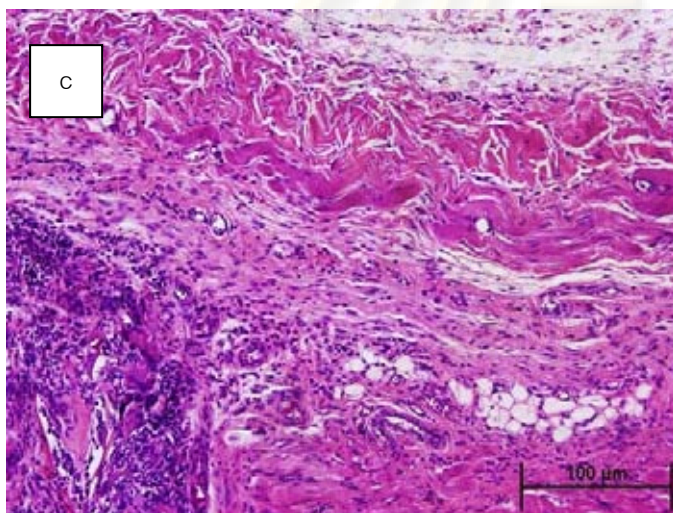
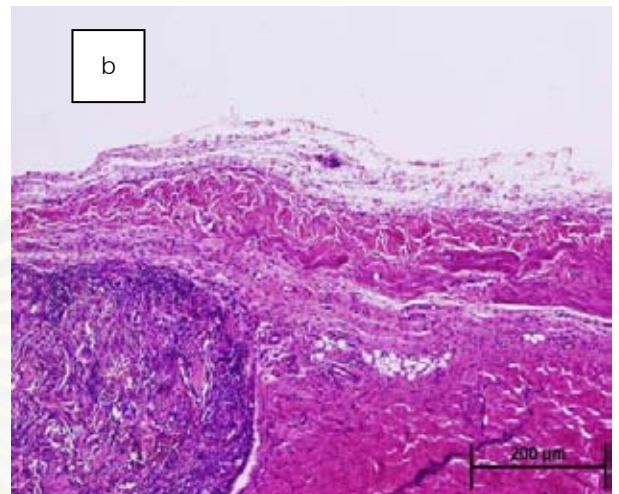
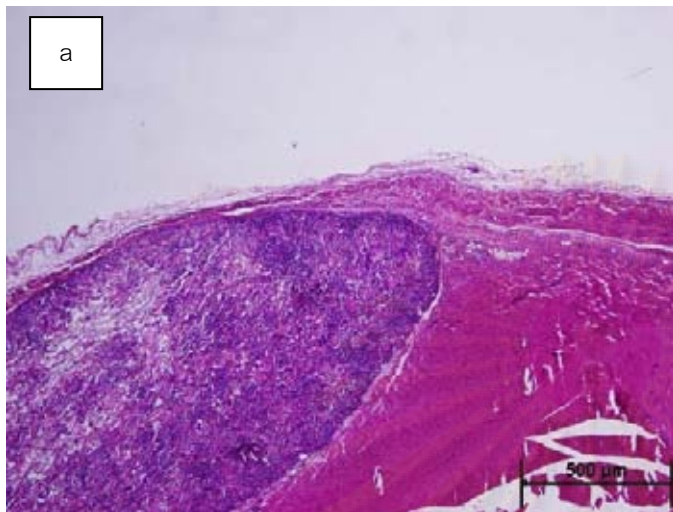
75a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x40

75b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x100

75c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x200

75d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x400

## Pore Skin®



ภาพที่ 76 แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

76a แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

76b แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

76c แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

76d แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400



18/4

น้ำหนัก 278.5 กรัม

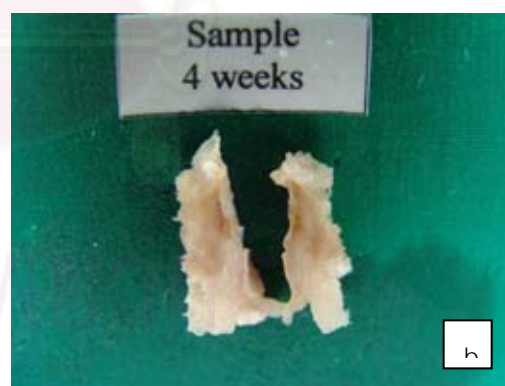
Macroscopic evaluation

ภาพที่ 77 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

77a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

77b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

ควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

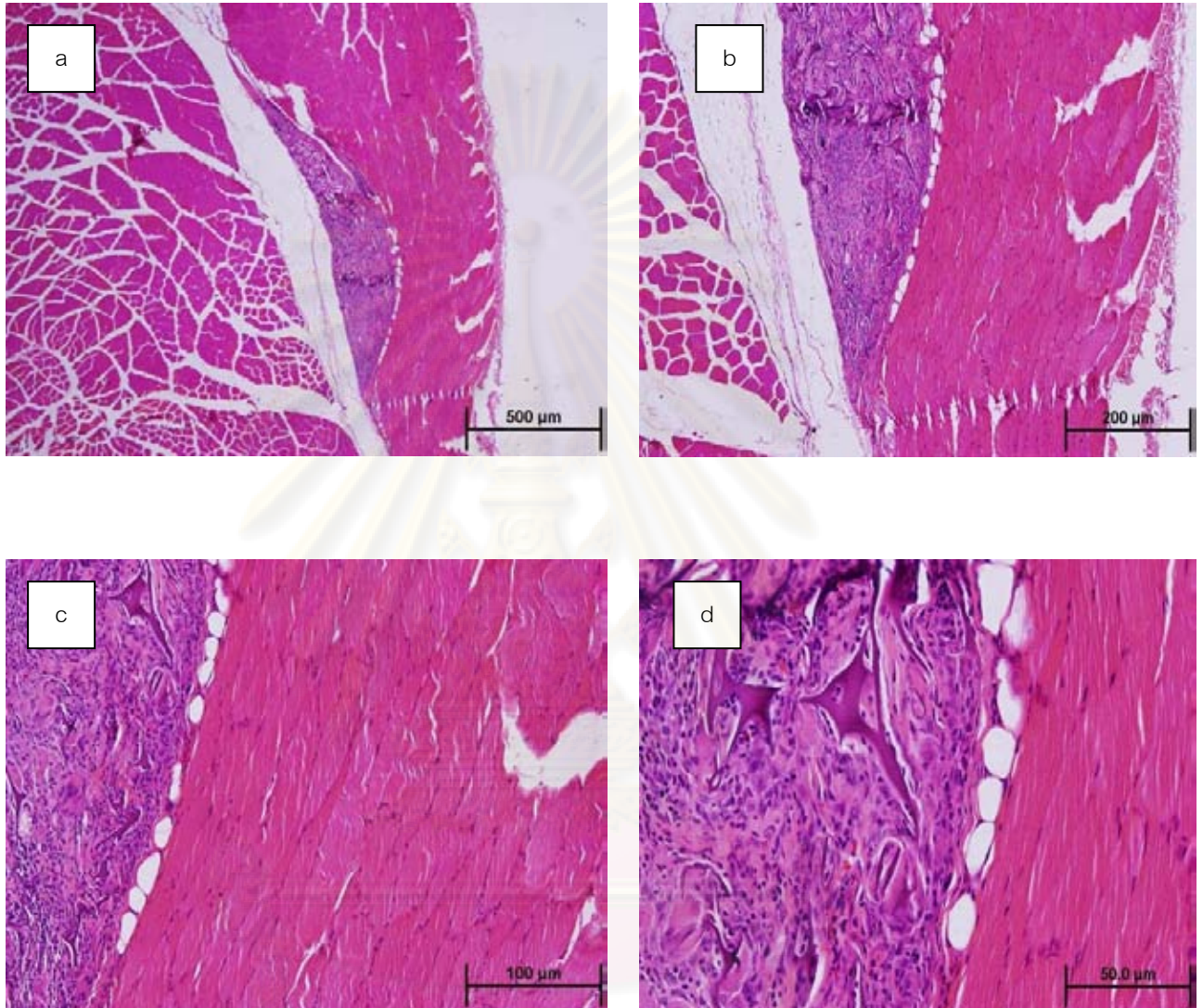
Gross evaluation

ภาพที่ 78 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

78a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> นาน 4 สัปดาห์

78b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> นาน 4 สัปดาห์

## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

ภาพที่ 79 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยายต่างๆ

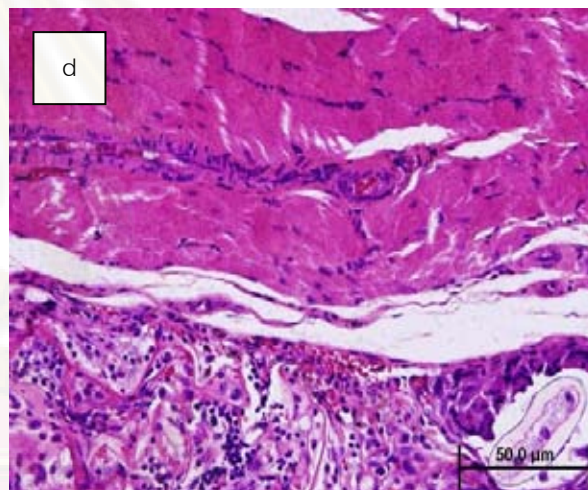
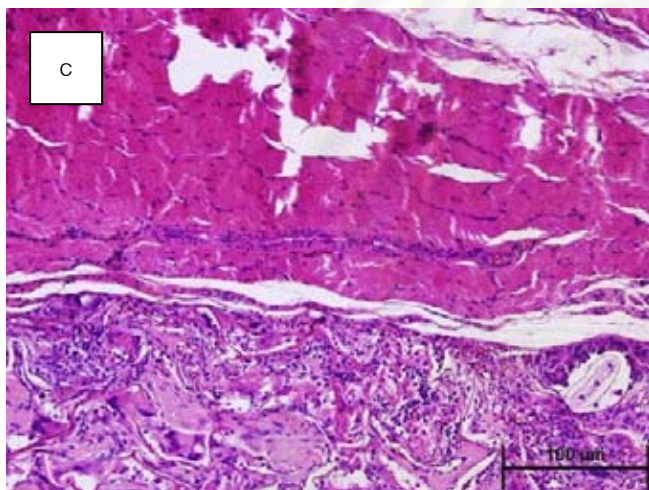
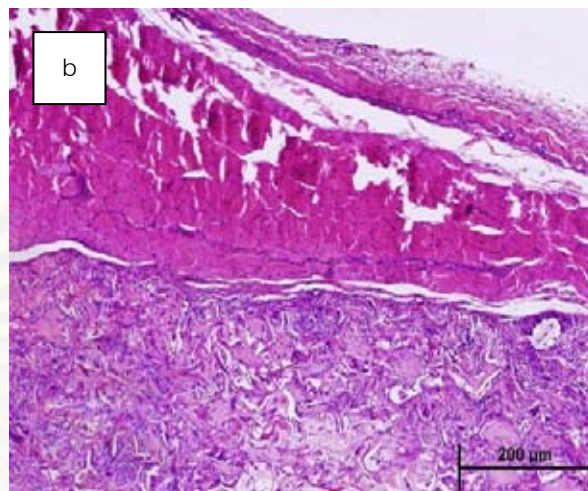
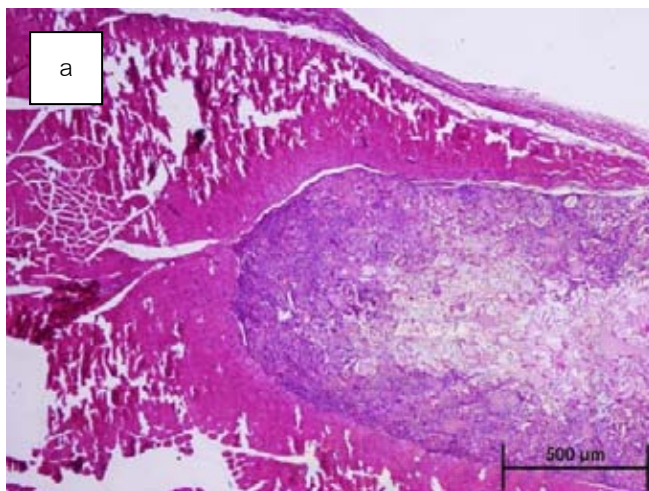
79a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x40

79b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x100

79c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x200

79d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x400

## Pore Skin®



ภาพที่ 80 แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

80a แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

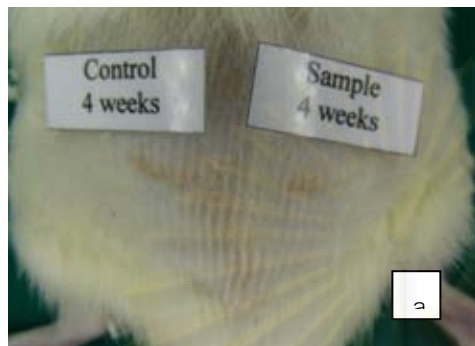
80b แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

80c แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

80d แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

I9/4

น้ำหนัก 251 กรัม

Macroscopic evaluation

ภาพที่ 81 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

81a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

81b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุ

ควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

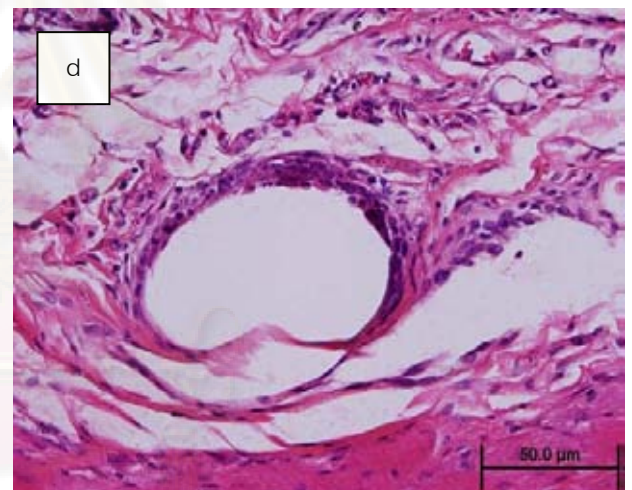
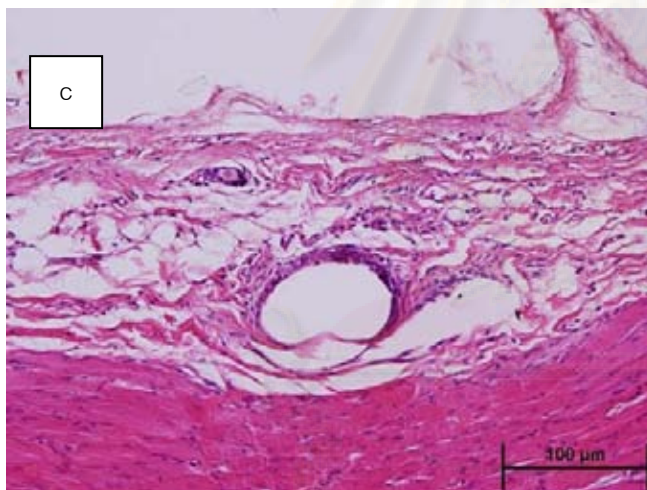
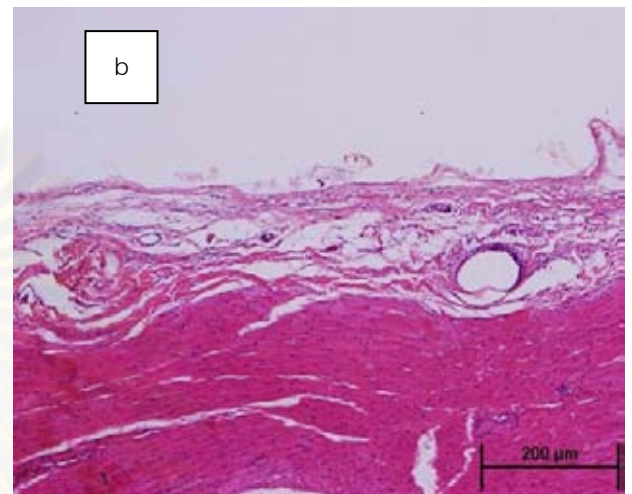
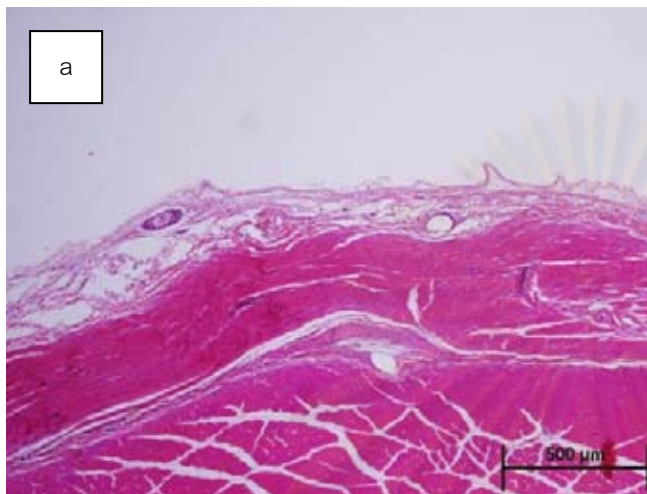
Gross evaluation

ภาพที่ 82 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

82a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> นาน 4 สัปดาห์

82b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> นาน 4 สัปดาห์

## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

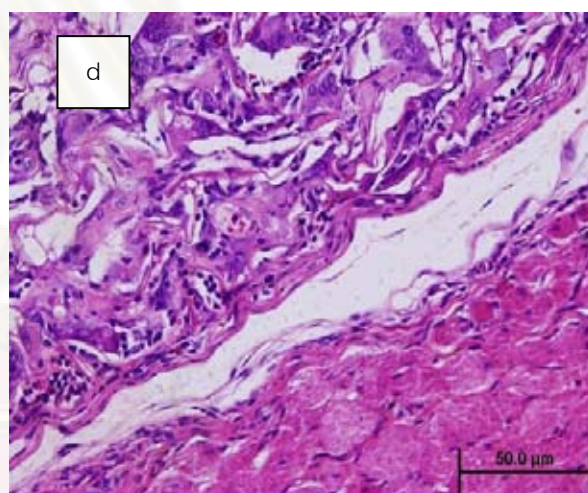
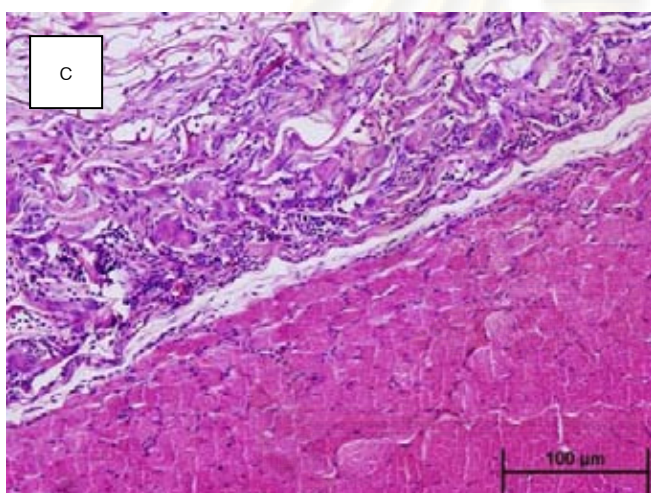
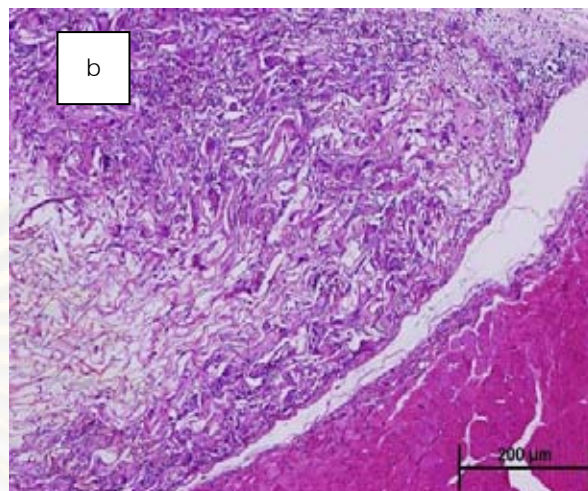
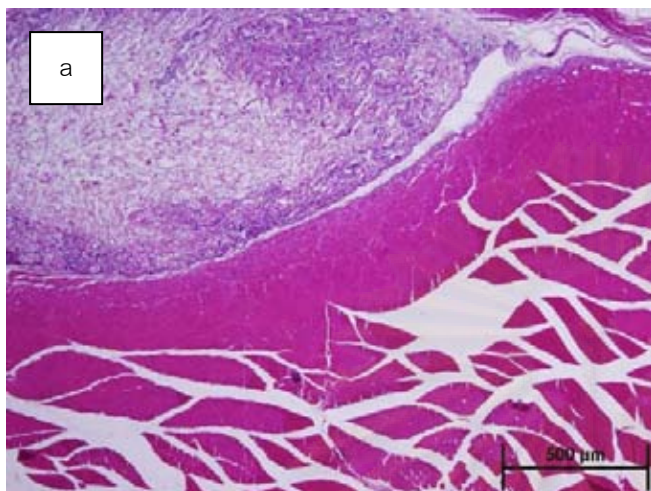
ภาพที่ 83 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

83a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

83b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

83c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

83d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

Pore Skin<sup>®</sup>

ภาพที่ 84 แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

84a แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

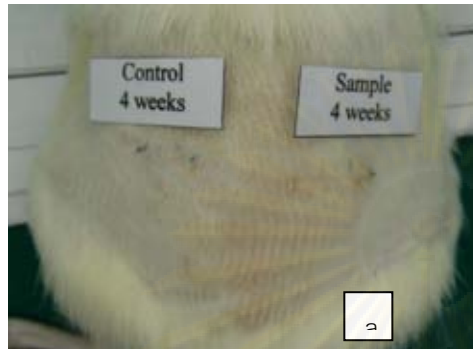
84b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

84c แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

84d แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

I10/4

น้ำหนัก 253 กรัม

Macroscopic evaluation

ภาพที่ 85 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

85a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

85b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุ

ควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

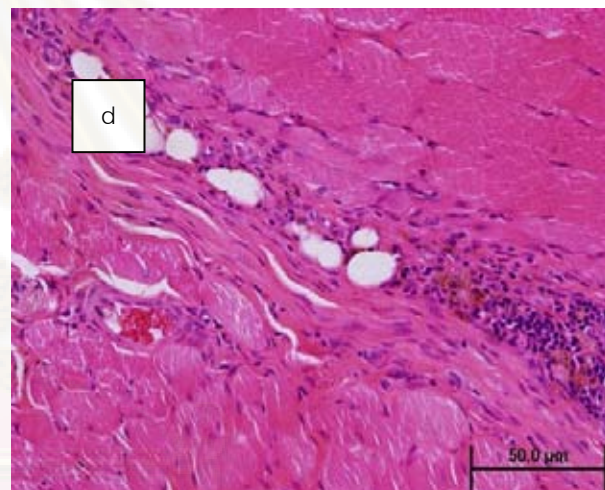
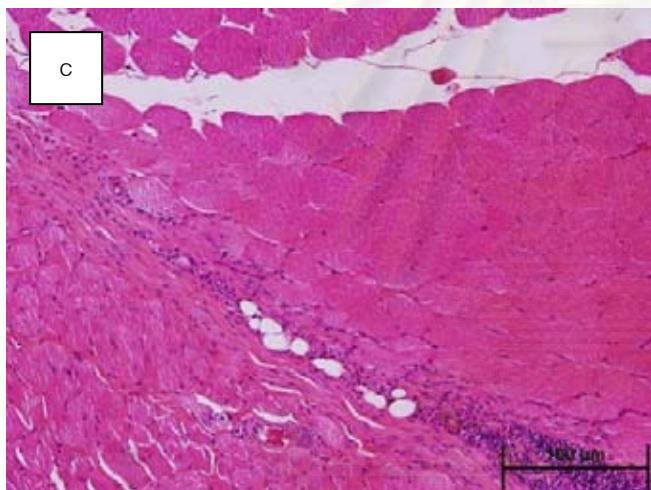
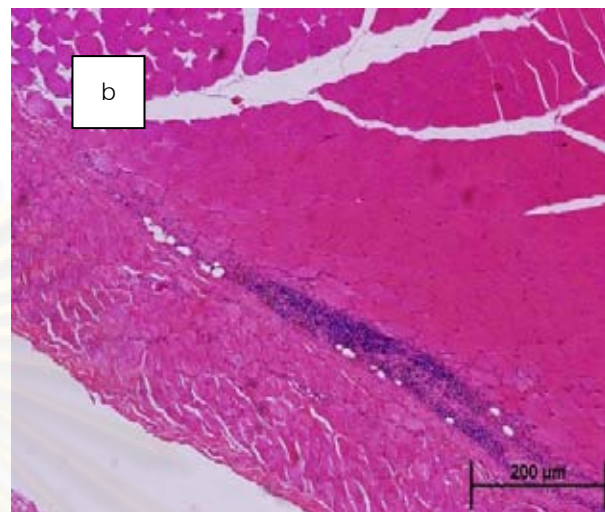
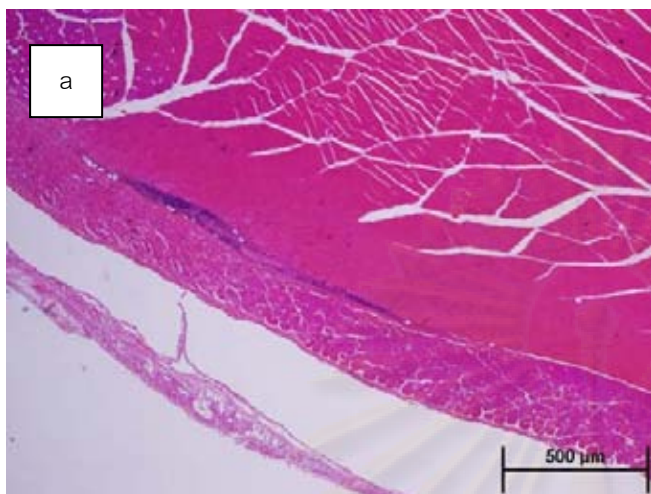
Gross evaluation

ภาพที่ 86 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

86a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> นาน 4 สัปดาห์

86b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> นาน 4 สัปดาห์

## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

ภาพที่ 87 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยายต่างๆ

87a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x40

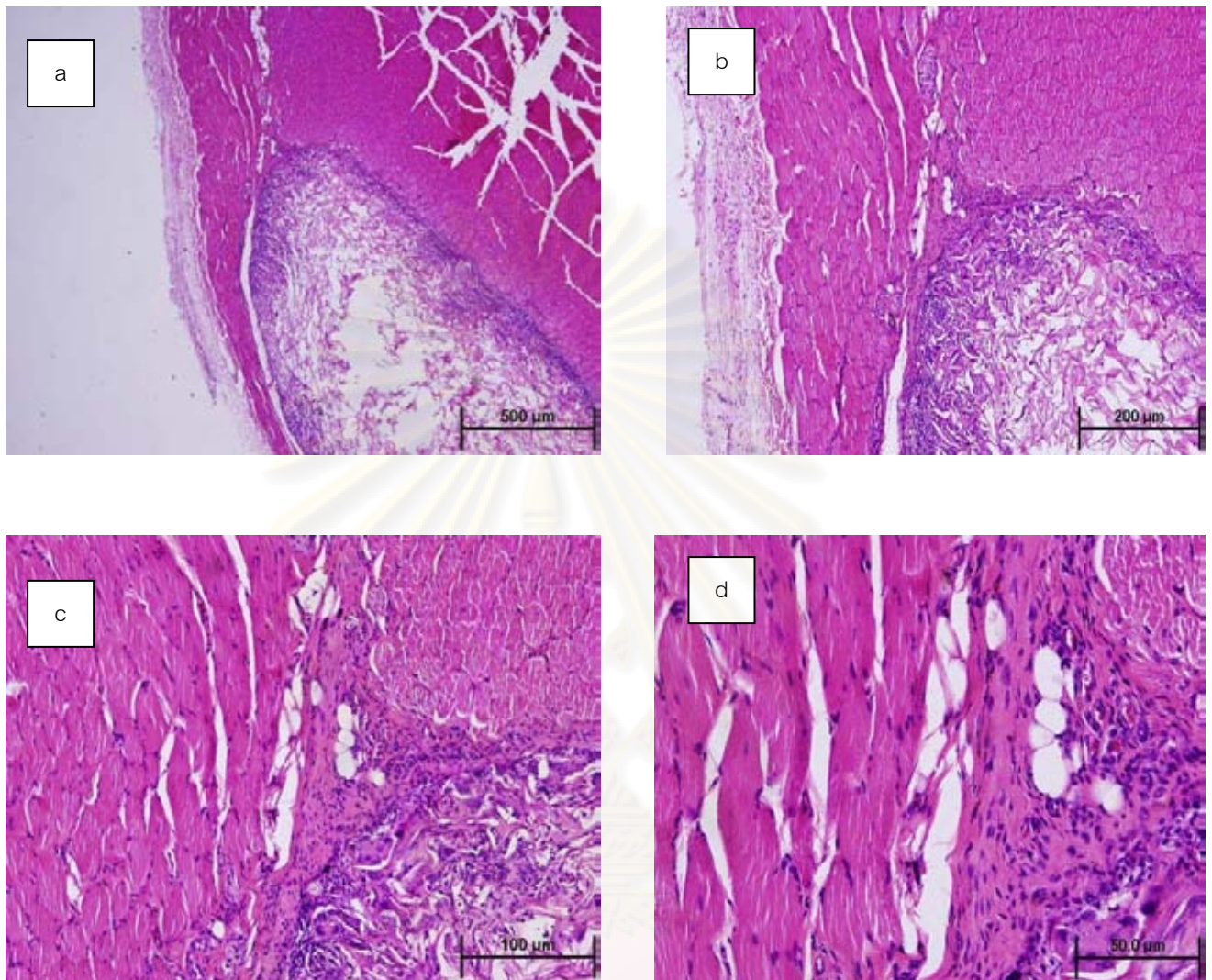
87b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x100

87c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x200

87d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x400



## Pore Skin®



ภาพที่ 88 แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

88a แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

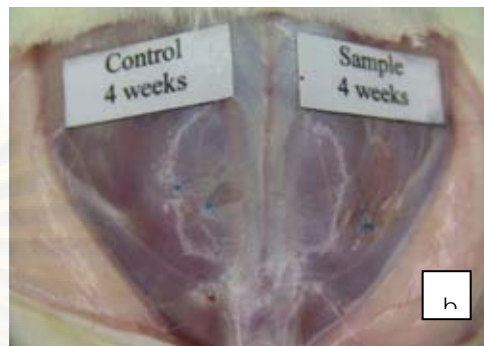
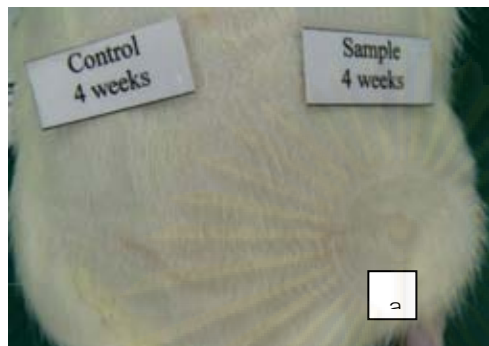
88b แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

88c แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

88d แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

I11/4

น้ำหนัก 251 กรัม

Macroscopic evaluation

ภาพที่ 89 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

89a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

89b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุ

ควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

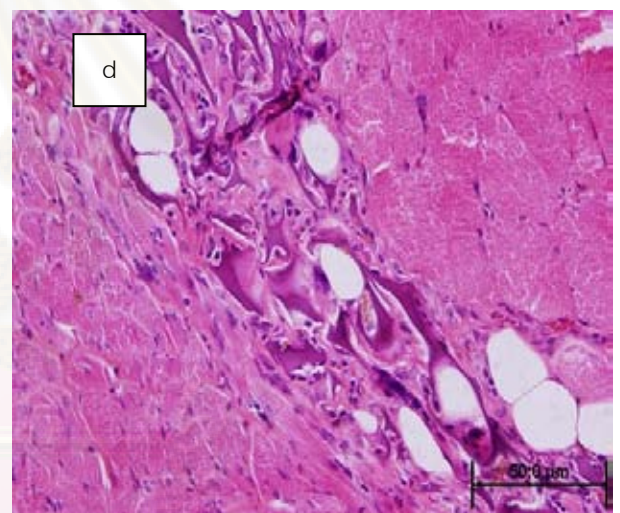
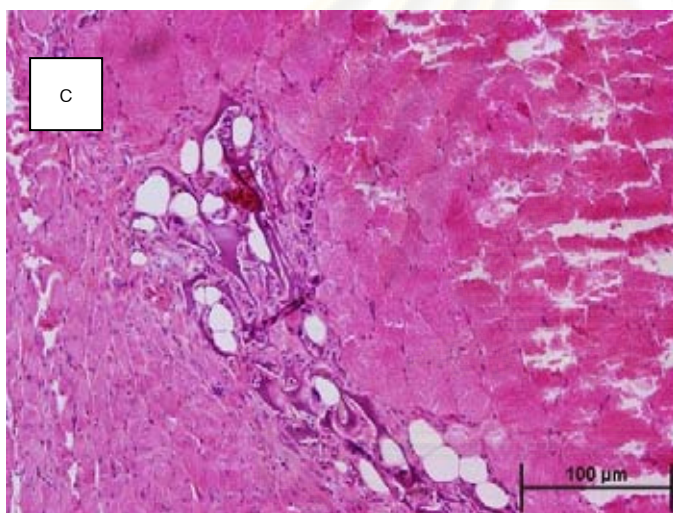
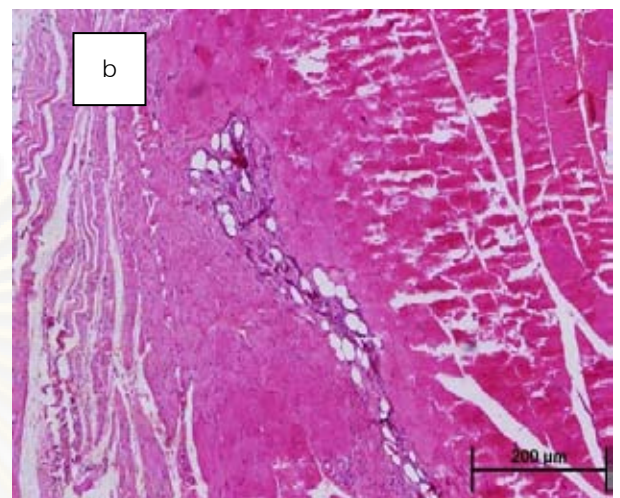
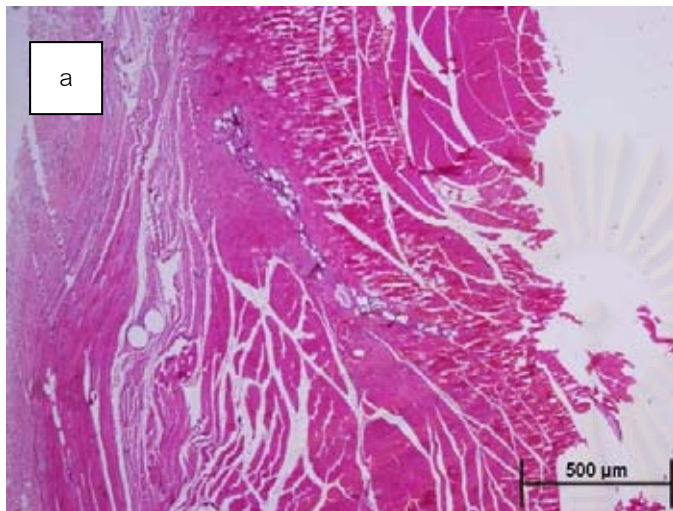
Gross evaluation

ภาพที่ 90 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

90a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> นาน 4 สัปดาห์

90b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> นาน 4 สัปดาห์

## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

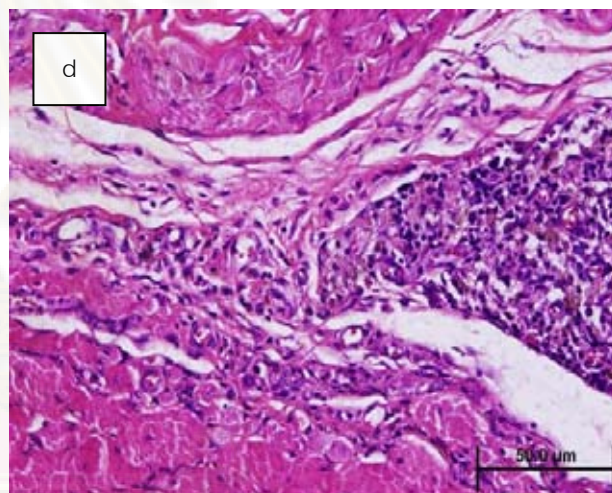
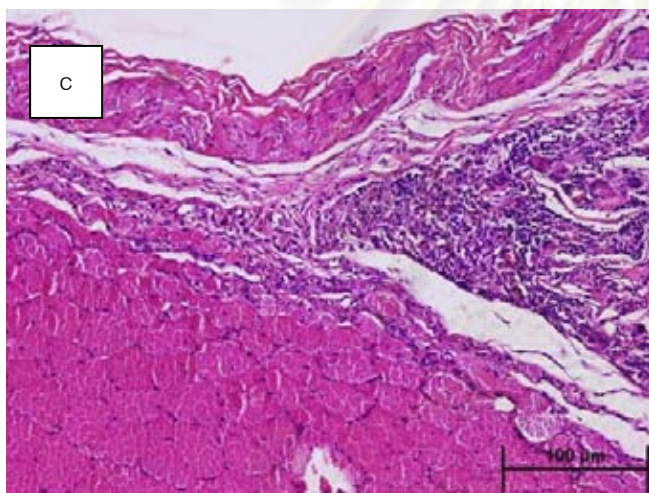
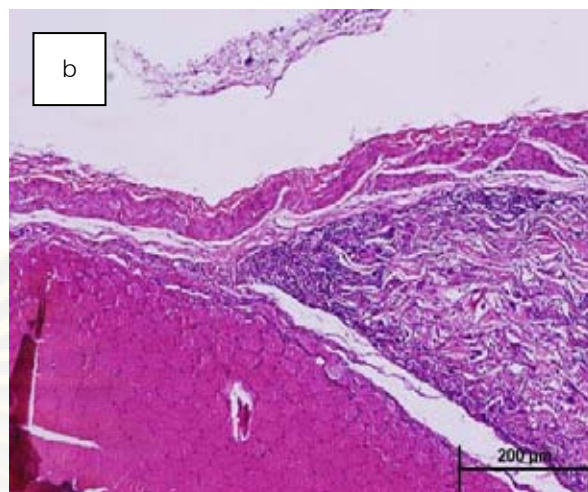
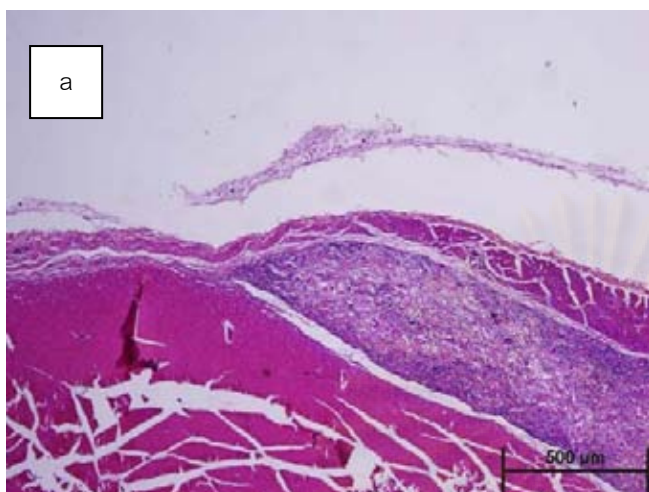
ภาพที่ 91 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

91a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

91b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

91c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

91d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

Pore Skin<sup>®</sup>

ภาพที่ 92 แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

92a แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

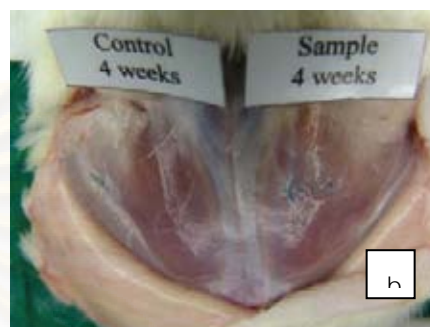
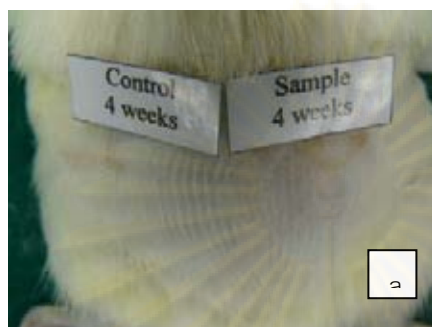
92b แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

92c แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

92d แสดง Pore Skin<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

I12/4

น้ำหนัก 305 กรัม

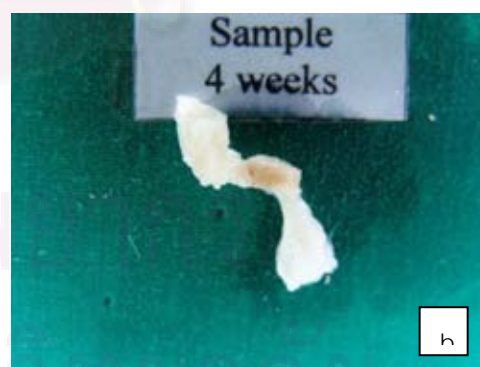
Macroscopic evaluation

ภาพที่ 93 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

93a ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

93b ภาพลักษณะภายนอกของบริเวณที่ฝังวัสดุทดสอบ Pore Skin<sup>®</sup> เทียบกับวัสดุ

ควบคุม Gel foam<sup>®</sup> ฝังที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

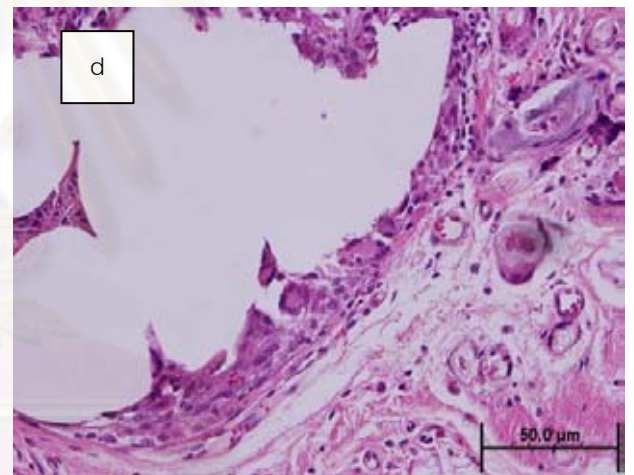
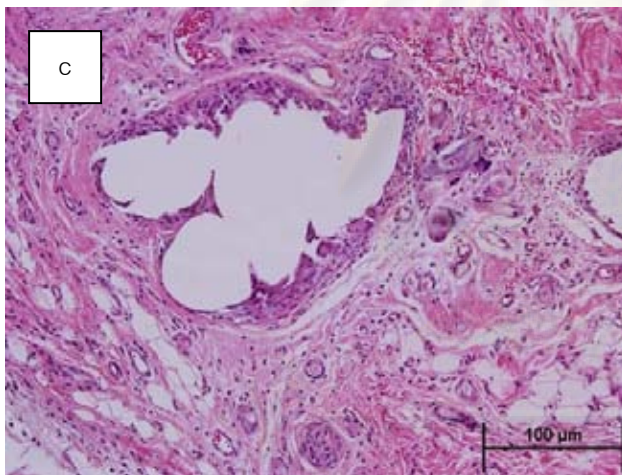
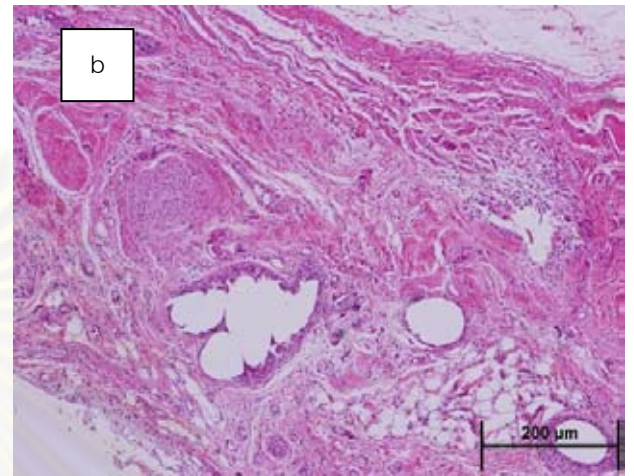
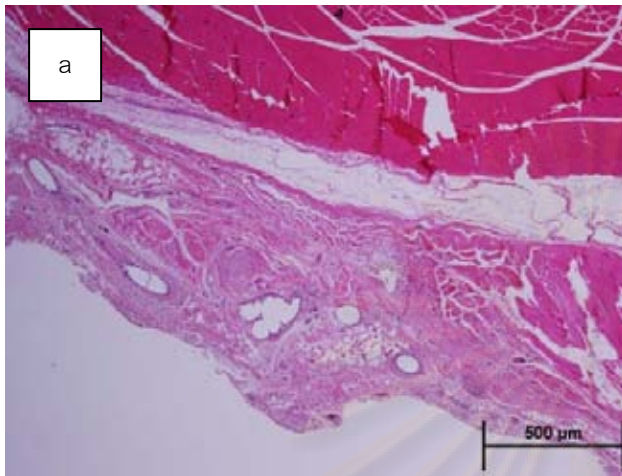
Gross evaluation

ภาพที่ 94 แสดงลักษณะภายนอกของสัตว์ทดลองที่ระยะเวลา 4 สัปดาห์

94a ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Gel foam<sup>®</sup> นาน 4 สัปดาห์

94b ภาพลักษณะภายนอกของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ฝัง Pore Skin<sup>®</sup> นาน 4 สัปดาห์

## Histology

Gel foam<sup>®</sup>

ภาพที่ 95 แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยายต่างๆ

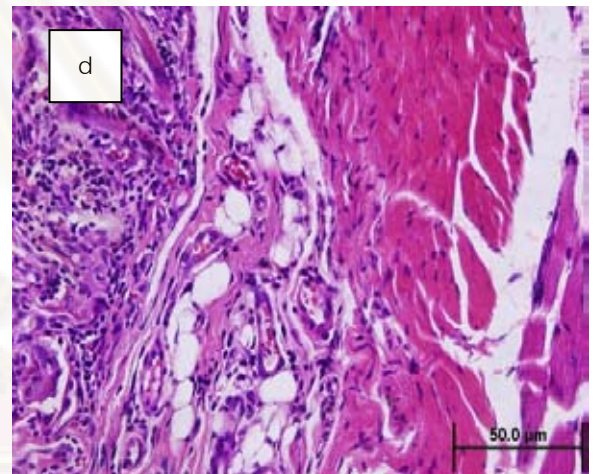
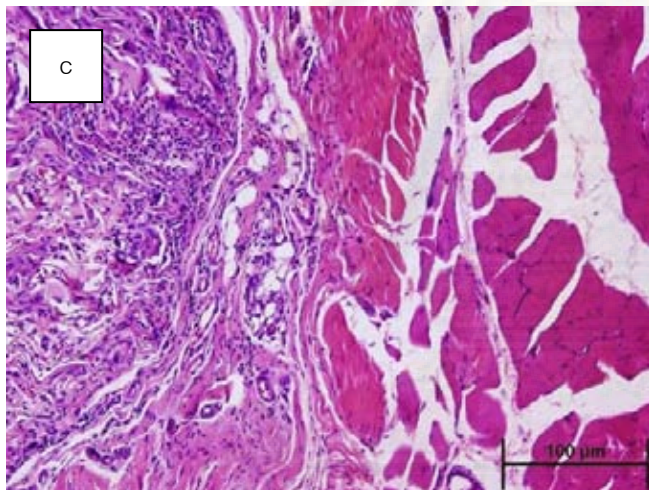
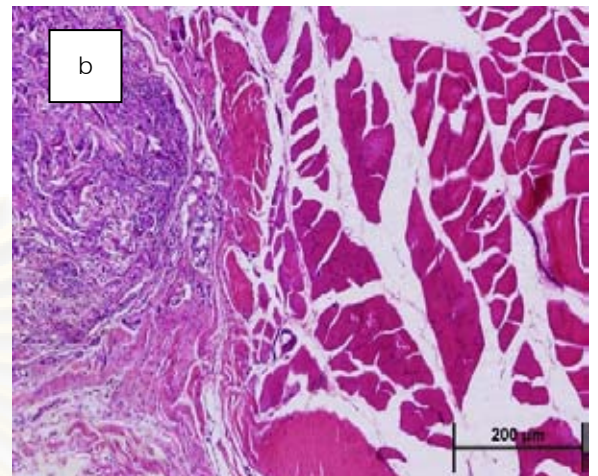
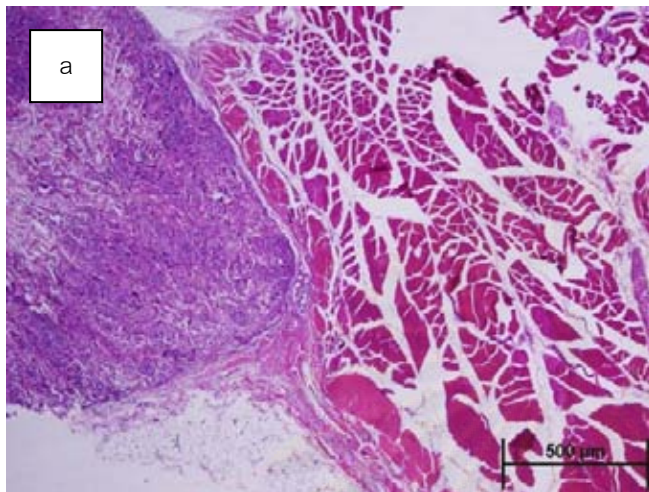
95a แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x40

95b แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x100

95c แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x200

95d แสดง Gel foam<sup>®</sup> ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ที่กำลังขยาย  
x400

## Pore Skin®



ภาพที่ 96 แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยายต่างๆ

96a แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x40

96b แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x100

96c แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x200

96d แสดง Pore Skin® ที่ฝังตัวอยู่ในชั้นกล้ามเนื้อหลังการฝัง 4 สัปดาห์ ที่กำลังขยาย  
x400

ภาคผนวก ข แสดงผล ELISA Test

สำเนาเอกสารแสดงในหน้า 163



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





G	61.257	62.055	0	0	<min	<min	0.680	0	0	<min
H	42.193	35.875	1.456	0	0	5.340	1.456	0	<min	0

## Calibrators and samples Sheet: IL-1b/IL-IF2, Assay: Assay1

Name	Meas.	Calc.	Dil. factor	Result	SD	CV-%	Comment	Comment 2
Cal_0	0.107	<min	1.0	#VALUE!				
	0.109	0	1.0	0				
	0.108			#VALUE!	#VALUE!	#VALUE!		
Cal_1	2.241	1993.011	1.0	1993.01				
	2.258	>max	1.0	#VALUE!				
	2.250			#VALUE!	#VALUE!	#VALUE!		
Cal_2	1.201	1003.136	1.0	1003.14				
	1.197	999.013	1.0	999.01				
	1.199			1001.07	2.915	0.20		
Cal_3	0.675	479.323	1.0	479.32				
	0.711	513.319	1.0	513.32				
	0.693			496.32	24.039	4.84		
Cal_4	0.431	258.650	1.0	258.65				
	0.420	249.116	1.0	249.12				
	0.426			253.88	6.741	2.66		
Cal_5	0.269	121.916	1.0	121.92				
	0.272	124.377	1.0	124.38				
	0.271			123.15	1.740	1.41		
Cal_6	0.194	61.257	1.0	61.26				
	0.195	62.055	1.0	62.05				
	0.195			61.66	0.564	0.92		
Cal_7	0.170	42.193	1.0	42.19				
	0.162	35.875	1.0	35.88				
	0.166			39.03	4.467	11.44		
CtrlP	0.512	329.968	1.0	329.97				
	0.520	337.118	1.0	337.12				
	0.516			333.54	5.056	1.52		
Un 1	0.116	0	1.0	0				
	0.124	6.117	1.0	6.12				
	0.120			3.06	4.326	141.42		
Un 2	0.124	6.117	1.0	6.12				
	0.120	3.009	1.0	3.01				
	0.122			4.56	2.198	48.17		
Un 3	0.107	<min	1.0	#VALUE!				
	0.291	140.024	1.0	140.02				
	0.199			#VALUE!	#VALUE!	#VALUE!		
Un 4	0.137	16.251	1.0	16.25				
	0.134	13.908	1.0	13.91				
	0.136			15.08	1.657	10.99		
Un 5	0.117	0.680	1.0	0.68				
	0.125	6.895	1.0	6.90				
	0.121			3.79	4.394	116.01		
Un 6	0.113	0	1.0	0				
	0.112	0	1.0	0				
	0.113			0	0	#DIV/0!		
Un 7	0.118	1.456	1.0	1.46				
	0.111	0	1.0	0				
	0.115			0.73	1.030	141.42		

Un 8	$\frac{0.108}{0.110}$ 0.109	0 0	1.0 1.0	$\frac{0}{0}$ 0	0	#DIV/0!
Un 9	$\frac{0.118}{0.113}$ 0.116	1.456 0	1.0 1.0	$\frac{1.46}{0}$ 0.73	1.030	141.42
Un 10	$\frac{0.125}{0.125}$ 0.125	6.895 6.895	1.0 1.0	$\frac{6.90}{6.90}$ 6.90	5.73E-08	8.31E-07
Un 11	$\frac{0.107}{0.110}$ 0.109	<min 0	1.0 1.0	$\frac{\#VALUE!}{0}$ #VALUE!	#VALUE!	#VALUE!
Un 12	$\frac{0.630}{0.116}$ 0.373	437.330 0	1.0 1.0	$\frac{437.33}{0}$ 218.67	309.239	141.42
Un 13	$\frac{0.108}{0.107}$ 0.108	0 <min	1.0 1.0	$\frac{0}{\#VALUE!}$ #VALUE!	#VALUE!	#VALUE!
Un 14	$\frac{0.106}{0.104}$ 0.105	<min <min	1.0 1.0	$\frac{\#VALUE!}{\#VALUE!}$ #VALUE!	#VALUE!	#VALUE!
Un 15	$\frac{0.114}{0.123}$ 0.119	0 5.340	1.0 1.0	$\frac{0}{5.34}$ 2.67	3.776	141.42
Un 16	$\frac{0.109}{0.110}$ 0.110	0 0	1.0 1.0	$\frac{0}{0}$ 0	0	#DIV/0!
Un 17	$\frac{0.110}{0.109}$ 0.110	0 0	1.0 1.0	$\frac{0}{0}$ 0	0	#DIV/0!
Un 18	$\frac{0.107}{0.109}$ 0.108	<min 0	1.0 1.0	$\frac{\#VALUE!}{0}$ #VALUE!	#VALUE!	#VALUE!
Un 19	$\frac{0.104}{0.101}$ 0.103	<min <min	1.0 1.0	$\frac{\#VALUE!}{\#VALUE!}$ #VALUE!	#VALUE!	#VALUE!
Un 20	$\frac{0.110}{0.109}$ 0.110	0 0	1.0 1.0	$\frac{0}{0}$ 0	0	#DIV/0!
Un 21	$\frac{0.102}{0.104}$ 0.103	<min <min	1.0 1.0	$\frac{\#VALUE!}{\#VALUE!}$ #VALUE!	#VALUE!	#VALUE!
Un 22	$\frac{0.117}{0.115}$ 0.116	0.680 0	1.0 1.0	$\frac{0.68}{0}$ 0.34	0.481	141.42
Un 23	$\frac{0.118}{0.115}$ 0.117	1.456 0	1.0 1.0	$\frac{1.46}{0}$ 0.73	1.030	141.42
Un 24	$\frac{0.109}{0.106}$ 0.108	0 <min	1.0 1.0	$\frac{0}{\#VALUE!}$ #VALUE!	#VALUE!	#VALUE!
Un 25	$\frac{0.108}{0.110}$ 0.109	0 0	1.0 1.0	$\frac{0}{0}$ 0	0	#DIV/0!
Un 26	$\frac{0.103}{0.100}$ 0.102	<min <min	1.0 1.0	$\frac{\#VALUE!}{\#VALUE!}$ #VALUE!	#VALUE!	#VALUE!
Un 27	$\frac{0.100}{0.100}$ 0.100	<min <min	1.0 1.0	$\frac{\#VALUE!}{\#VALUE!}$ #VALUE!	#VALUE!	#VALUE!

Un 28	0.109	0	1.0	0			
	<u>0.107</u>	<min	1.0	#VALUE!			
	0.108			#VALUE!	#VALUE!	#VALUE!	
Un 29	0.103	<min	1.0	#VALUE!			
	<u>0.104</u>	<min	1.0	#VALUE!			
	0.104			#VALUE!	#VALUE!	#VALUE!	
Un 30	0.108	0	1.0	0			
	<u>0.105</u>	<min	1.0	#VALUE!			
	0.107			#VALUE!	#VALUE!	#VALUE!	
Un 31	0.107	<min	1.0	#VALUE!			
	<u>0.109</u>	0	1.0	0			
	0.108			#VALUE!	#VALUE!	#VALUE!	

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Measurement count: 1 Filter: 570

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.036	0.036	0.037	0.041	0.036	0.038	0.037	0.038	0.038	0.035		
B	0.048	0.048	0.038	0.042	0.039	0.039	0.038	0.039	0.039	0.041		
C	0.044	0.042	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.038	0.036	0.034		
D	0.039	0.037	0.035	0.035	0.035	0.035	0.035	0.034	0.035	0.034		
E	0.047	0.045	0.044	0.043	0.048	0.041	0.041	0.041	0.042	0.040		
F	0.038	0.041	0.038	0.045	0.037	0.037	0.037	0.039	0.038	0.039		
G	0.037	0.037	0.037	0.036	0.036	0.036	0.036	0.038	0.038	0.037		
H	0.041	0.040	0.038	0.038	0.040	0.049	0.039	0.037	0.038	0.039		

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค ผลการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย

สำเนาเอกสารแสดงในหน้า 169



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เลขที่ วจ/ศท 05/2551

ศูนย์สัตว์ทดลอง

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ฯ

## แบบฟอร์มแจ้งผลการพิจารณา

## โครงการใช้สัตว์ทดลอง

วันที่ 4 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2551

เรียน ผศ.นพ.ถนอม บรรณประเสริฐ

ตามที่ท่านได้ส่งโครงการใช้สัตว์ทดลองเรื่อง “โครงการวิจัยสหสาขาด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อผิวหนัง” (Multidisciplinary Research Series in Tissue Engineering) มาเพื่อให้คณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ ของคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทำการพิจารณาจริยธรรม ซึ่งมีมติในที่ประชุมครั้งที่ 1/2551 วันที่ศุกร์ที่ 1 กุมภาพันธ์ พ.ศ.2551 คณะกรรมการฯ ได้พิจารณาโครงการท่านแล้ว และมีมติดังนี้

## ผลการพิจารณา

- ผ่านการพิจารณาโดยไม่มีข้อแก้ไข
- ผ่านการพิจารณาโดยมีข้อแก้ไขเล็กน้อย
- รอข้อมูลเพิ่มเติม
- ไม่ผ่านการพิจารณา

## ข้อเสนอแนะและข้อแก้ไข

1. ควรระบุชื่อโครงการย่อยก่อนแล้วค่อยระบุว่าเป็นส่วนหนึ่งของโครงการใหญ่ชื่ออะไร
2. ขอข้อมูล Keyword, Literature และ Database search ในข้อ 7.1
3. ไม่มีข้อมูลผู้วิจัยร่วม
4. หากเก็บชิ้นเนื้อหลัง euthanasia ไม่ต้องใส่ข้อมูลในข้อ 9

**หมายเหตุ**

1. กรุณาส่งแบบฟอร์ม AC1, AC2 และตัวโครงการที่แก้ไขแล้วมายังศูนย์สัตว์ทดลอง 1 ชุด
2. เมื่อผู้วิจัยได้ดำเนินการใช้สัตว์เสร็จสิ้นตามข้อเสนอโครงการดังกล่าวนี้แล้ว ขอให้ผู้วิจัยแจ้งให้คณะกรรมการฯ ทราบโดยเร็วที่สุด



(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงวิไล ชินชนก)

ประธานคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์

เลขที่ใบรับรอง 004/2551



เลขที่โครงการวิจัย 014/2550

คณะกรรมการกำกับดูแลการวิจัยและใช้สัตว์  
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ใบรับรองการอนุมัติให้ดำเนินการวิจัยและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์  
ณ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อข้อเสนอการวิจัย ข

(ภาษาไทย) “โครงการวิจัยสหสาขาด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อผิวหนัง”

(ภาษาอังกฤษ) “Multidisciplinary Research Series in Tissue Engineering”

ผู้เสนอโครงการใช้สัตว์ทดลอง

ศศ.นพ.ดนอม บรรณประเสริฐ

หน่วยงานที่สังกัด

ภาควิชาโสต ศอ นาสิก สรีรจวิทยา คณะแพทยศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อเสนอโครงการใช้สัตว์ทดลองนี้ได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการกำกับดูแลการวิจัยและใช้สัตว์แล้ว เห็นว่ามีความสอดคล้องกับจรรยาบรรณการ ใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ สภาวิจัยแห่งชาติ จึงเห็นสมควรให้ดำเนินการวิจัยและใช้สัตว์ตามที่ข้อเสนอโครงการใช้สัตว์ทดลองนี้ได้

ลงนาม.....

(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงวิไล ชินธนศ)

ประธานคณะกรรมการกำกับดูแลการวิจัยและใช้สัตว์

ลงนาม.....

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์อัศิศร ภัทราคูลย์)

กณบดี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วันที่รับรอง

1 กุมภาพันธ์ 2551



เลขที่ใบรับรอง 01/52

เลขที่โครงการวิจัย 14/50

คณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์  
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ใบรับรองการอนุมัติให้ดำเนินการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์  
ณ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ชื่อข้อเสนอการวิจัย

(ภาษาไทย) “การศึกษานาฏกิริยาเฉพาะที่หลังการฝัง Pore Skin<sup>®</sup> ในกล้ามเนื้อของหนูแรทตามมาตรฐาน ISO 10993-6 และ การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในการทดสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพตามมาตรฐาน ASTM:F 1906-98 เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยสหสาขาด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อผิวหนัง”

(ภาษาอังกฤษ) “The study of local effect of Pore Skin<sup>®</sup> in animal muscle implant model according to ISO 109903-6 AND Immune responses in biocompatibility testing according to ASTM:F 1906-98 In Multidisciplinary Research Series in Tissue Engineering of skin”

ผู้เสนอโครงการใช้สัตว์ทดลอง ผศ.นพ.ธนอม บรรณประเสริฐ  
หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชา โสต ศอ นาสิก ลงรังษีวิทยา  
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อเสนอโครงการ ใช้สัตว์ทดลองนี้ได้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์แล้ว เห็นว่ามีความสอดคล้องกับจรรยาบรรณการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ สภาวิจัยแห่งชาติ จึงเห็นสมควรให้ดำเนินการเลี้ยงและใช้สัตว์ตามที่ข้อเสนอโครงการใช้สัตว์ทดลองนี้ได้

ลงนาม.....

(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงวิไล ชินชนบท)

ประธานคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์

ลงนาม.....

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์อดิศร ภัทราดูอัย)

คณบดี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วันที่รับรอง : 2 กุมภาพันธ์ พ.ศ.2551

### ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาววิกานดา ตันติรักษ์ เกิดที่จังหวัดอุตรดิตถ์ วันที่ 20 พฤษภาคม 2527 จบการศึกษาระดับชั้นมัธยมปลายในปี พ.ศ. 2545 จากโรงเรียนเฉลิมขวัญสตรี จังหวัดพิษณุโลก จบการศึกษาระดับปริญญาตรี จากคณะวิทยาศาสตร์ สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในปี พ.ศ. 2548 หลังจบการศึกษาในระดับปริญญาตรีได้เข้ารับการศึกษต่อในระดับปริญญาโท สาขาวิชาชีววิศวกรรมชีวเวช บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ส่วนหนึ่งของงานวิจัยนี้ถูกนำเสนอในการประชุมผลงานทางวิชาการระดับนานาชาติ The 4<sup>th</sup> World Congress on Regenerative Medicine “Current Regenerative Medicine 2009” ในวันที่ 12-14 มีนาคม 2552 ณ Bangkok Convention Center and Centara Grand Hotel Central World Bangkok, Thailand

ผลงานที่นำเสนอ

*In vivo* study of local effect and immune responses of Pore Skin<sup>®</sup> according to ISO10993-6, ASTM F1906-98

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย