



# วิทยานิพนธ์

การศึกษาผลกระทบของตำรับสมุนไพรไทยเพื่อใช้ในการต้านการอักเสบใน  
แบบจำลองเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโปลิแซคคาร์ไรด์

**INVESTIGATION OF THE ANTI-INFLAMMATORY PROPERTIES OF THAI  
HERBAL PHARMACOPOEIA USING A LUNG CELL MODEL THAT HAS  
BEEN INDUCED BY LIPOPOLYSACCHARIDE (LPS)**

นายภูมินทร์ จำสไต

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปีการศึกษา ๒๕๖๖

# ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (พันธุวิศวกรรมและชีวสารสนเทศ)

สาขาวิชา พันธุวิศวกรรมและชีวสารสนเทศ

คณะ วิศวกรรมศาสตร์

เรื่อง การศึกษาผลกระทบของตำรับสมุนไพรรักษาโรคเพื่อใช้ในการต้านการอักเสบในแบบจำลองเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโปลิแซคคาไรด์

Investigation of the Anti-inflammatory Properties of Thai Herbal Pharmacopoeia Using a Lung Cell Model that has been Induced by Lipopolysaccharide (LPS)

นามผู้วิจัย นายภูมินทร์ น้าสดี

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์เกียรติทิพย์ ชูวงศ์โกมล, Ph.D.)

ประธานสาขาวิชา

(รองศาสตราจารย์เกียรติทิพย์ ชูวงศ์โกมล, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วิระภาส คุณรัตนศิริ, Dr.rer.nat.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การศึกษาผลกระทบของตำรับสมุนไพรไทยเพื่อใช้ในการต้านการอักเสบในแบบจำลองเซลล์ปอดที่  
ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโปโพลีแซคคาไรด์

Investigation of the Anti-inflammatory Properties of Thai Herbal Pharmacopoeia Using a Lung  
Cell Model that has been Induced by Lipopolysaccharide (LPS)

โดย

นายภูมินทร์ น้าสดีใส

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุ์วิศวกรรมและชีวสารสนเทศ)

ปีการศึกษา 2566

ภูมินทร์ นำสไต : การศึกษาผลกระทบของตำรับสมุนไพรไทยเพื่อใช้ในการต้านการอักเสบในแบบจำลองเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโพโพลีแซคคาไรด์ วิทยาลัยพยาบาลบรมราชชนนีสืบชะตา (พันธกิจวิศวกรรมและชีวสารสนเทศ) สาขาวิชาพันธกิจวิศวกรรมและชีวสารสนเทศ โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์เกียรติคุณ ชูวงศ์โกมล, Ph.D.

ปีการศึกษา 2566

การศึกษานี้ศึกษาคุณสมบัติด้านการอักเสบของตำรับยาสมุนไพรไทยโดยใช้แบบจำลองเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโพโพลีแซคคาไรด์ (LPS) การวิจัยมุ่งเน้นไปที่สมุนไพรไทย 3 สูตร ได้แก่ Kerra, KS และ Minoza วัตถุประสงค์หลักของการศึกษาคือเพื่อประเมินประสิทธิภาพของสูตรเหล่านี้ในการลดการอักเสบและความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในเซลล์ปอด วิธีการที่ใช้ ได้แก่ การทดสอบ MTT เพื่อทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์และการทดสอบเพื่อวัดการผลิตไนตริกออกไซด์ ซึ่งบ่งชี้ถึงศักยภาพในการต้านการอักเสบของสมุนไพร นอกจากนี้การวิจัยยังตรวจสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระผ่านการทดสอบ ROS และประเมินระดับการแสดงออกของโปรตีนและยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบโดยใช้เทคนิค Western blot ผลลัพธ์แสดงให้เห็นว่าสูตรสมุนไพรทั้งสามสูตรมีฤทธิ์ด้านการอักเสบและสารต้านอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะสมุนไพรมีประสิทธิภาพในการลดการผลิตไนตริกออกไซด์ในเซลล์แมคโครฟาจ และออกซิเจนที่เกิดปฏิกิริยาในเซลล์ปอด นอกจากนี้ ระดับการแสดงออกของโปรตีนการอักเสบที่สำคัญ เช่น Interleukin 6 (IL-6) และ Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF-κB) ถูกกระตุ้นอย่างเห็นได้ชัดเมื่อมีการรักษาด้วยสมุนไพรเหล่านี้ ผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่าสูตรสมุนไพรไทยเหล่านี้มีศักยภาพในการรักษาโรคปอดอักเสบได้ การศึกษานี้มีส่วนช่วยให้มีหลักฐานสนับสนุนการใช้สมุนไพรไทยในการแพทย์แผนปัจจุบันเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับโรคอักเสบ ผลลัพธ์ที่น่าหวังรับประกันการตรวจสอบเพิ่มเติมในการใช้งานทางคลินิกและกลไกการออกฤทธิ์ของสูตรสมุนไพรเหล่านี้ โดยรวมแล้ว งานวิจัยนี้เน้นย้ำคุณค่าของการบูรณาการความรู้สมุนไพรแบบดั้งเดิมเข้ากับแนวทางชีวการแพทย์ร่วมสมัยเพื่อพัฒนาวิธีการรักษาต้านการอักเสบที่มีประสิทธิภาพ

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Phumin Chamsodsai : Investigation of the Anti-inflammatory Properties of Thai Herbal Pharmacopoeia Using a Lung Cell Model that has been Induced by Lipopolysaccharide (LPS).  
 Master of Science (Genetic Engineering and Bioinformatics), Major Field: Genetic Engineering and Bioinformatics, Interdisciplinary Graduate Program.  
 Thesis Advisor: Associate Professor Kiattawee Choowongkamon, Ph.D.  
 Academic Year 2023

This study investigates the anti-inflammatory properties of Thai herbal pharmacopoeia using a lung cell model induced by lipopolysaccharide (LPS). The research focuses on three Thai herbal formulations: Kerra, KS, and Minoza. The study's primary objective is to evaluate the efficacy of these formulations in reducing inflammation and oxidative stress in lung cells. Methods employed include the MTT assay to test cytotoxicity and the NO assay to measure nitric oxide production, which indicates the anti-inflammatory potential of the herbs. Additionally, the research examines the antioxidant capabilities through the ROS assay and assesses the expression levels of proteins and genes related to inflammation using Western blot techniques. Results demonstrate that all three herbal formulations exhibit significant anti-inflammatory and antioxidant effects. Specifically, the herbs were effective in reducing nitric oxide production and reactive oxygen species in the lung cells. Moreover, the expression levels of key inflammatory proteins, such as Interleukin 6 (IL-6) and Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF-kB), were notably suppressed in the presence of these herbal treatments. The findings suggest that these Thai herbal formulations have potential therapeutic applications in treating inflammatory lung conditions. This study contributes to the growing body of evidence supporting the use of traditional Thai herbs in modern medicine, particularly for inflammatory diseases. The promising results warrant further investigation into the clinical applications and mechanisms of action of these herbal formulations.

\_\_\_\_\_  
 Student's signature

\_\_\_\_\_  
 Thesis Advisor's signature

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ บริษัท อีสเทิร์น เฮอร์บ จำกัด (EASTERN HERB CO.,TLD) ที่ให้การสนับสนุนค่ารับสมุนไพรไทยที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ และทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จไปได้ ขอขอบคุณอาจารย์และบุคลากรทุกท่านในห้องปฏิบัติการ KC lab ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้สถานที่ อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ ครุภัณฑ์และสาธารณูปโภคสำหรับการวิจัยรวมถึงคำแนะนำที่ได้แนะนำขอขอบคุณภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่อำนวยความสะดวกในด้านสถานที่ เครื่องมือวิทยาศาสตร์ และวัสดุอุปกรณ์สำหรับงานวิจัย ผู้วิจัยหวังอย่างยิ่งว่างานวิจัยที่ได้ทำขึ้นนี้จะเป็นประโยชน์ต่องานวิชาการและต่อประเทศต่อไป

ภูมินทร์ ฉ่ำสดใส

## สารบัญ

### หน้า

|                                    |    |
|------------------------------------|----|
| บทคัดย่อภาษาไทย .....              | ก  |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....           | ง  |
| กิตติกรรมประกาศ.....               | จ  |
| สารบัญ .....                       | ฉ  |
| สารบัญตาราง .....                  | ฅ  |
| สารบัญภาพ .....                    | ญ  |
| บทที่ 1 บทนำ .....                 | 1  |
| วัตถุประสงค์.....                  | 3  |
| สมมติฐาน .....                     | 3  |
| แผนภาพการทำวิจัย .....             | 3  |
| ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....     | 4  |
| บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม.....         | 5  |
| การบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลัน ..... | 5  |
| การอักเสบ .....                    | 10 |
| คำรับสมุนไพรรักษาโรค .....         | 15 |
| เคอร์ร่า (Kerra) .....             | 16 |
| เคเอส (KS) .....                   | 16 |
| ไมโนซ่า (Minoza).....              | 16 |
| บทที่ 3 ระเบียบวิธีการวิจัย.....   | 17 |
| อุปกรณ์และสารเคมี.....             | 17 |
| อุปกรณ์.....                       | 17 |

|                                                                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| สารเคมี .....                                                                                                                                  | 17 |
| สารทดสอบ.....                                                                                                                                  | 18 |
| วิธีดำเนินการวิจัย .....                                                                                                                       | 18 |
| 1. การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (MTT assay) ของตำรับสมุนไพรไทย .....                                                                            | 18 |
| 2. การทดสอบความสามารถในการต้านการอักเสบของสารทดสอบต่อเซลล์แมคโครฟาจ (RAW264.7 cells) ด้วยการวัดปริมาณของไนตริกออกไซด์ (Griess test) .....      | 18 |
| 3. การสร้างแบบจำลองเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโพโพลีแซคคาไรด์ .....                                                          | 19 |
| 4. การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระออกซิเจนของสารทดสอบต่อเซลล์ปอด (ROS Assay) ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโพโพลีแซคคาไรด์ ..... | 19 |
| 5. การแสดงออกของโปรตีน .....                                                                                                                   | 20 |
| 5.1 การสกัดโปรตีน.....                                                                                                                         | 20 |
| 5.2 SDS-PAGE .....                                                                                                                             | 20 |
| 5.3 Western blot.....                                                                                                                          | 21 |
| 6. การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ (qPCR).....                                                                                       | 21 |
| 7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....                                                                                                             | 23 |
| ตารางแผนงานวิจัย.....                                                                                                                          | 23 |
| บทที่ 4 ผลการทดลอง.....                                                                                                                        | 24 |
| สารทดสอบ.....                                                                                                                                  | 24 |
| ผลการทดลอง .....                                                                                                                               | 24 |
| 1. การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (MTT assay) ของตำรับสมุนไพรไทยต่อเซลล์แมคโครฟาจ (RAW264.7 cells) .....                                          | 24 |
| 2. การทดสอบความสามารถในการต้านการอักเสบของสารทดสอบต่อเซลล์แมคโครฟาจ (RAW264.7 cells) ด้วยการวัดปริมาณของไนตริกออกไซด์ (Griess test) .....      | 25 |



|                                                                                                                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3. การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (MTT assay) ของลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์ต่อเซลล์ปอด (A549 cells).....                                                                              | 26 |
| 4. การทดสอบความสามารถในการเพิ่มปริมาณอนุมูลอิสระออกซิเจนของเซลล์ปอด (ROS Assay) ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์ .....                                | 27 |
| 5. การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (MTT assay) ของตำรับสมุนไพรรักษาโรคต่อเซลล์ปอด (A549 cells) ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์ .....                     | 28 |
| 6. การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระออกซิเจนของสารทดสอบต่อเซลล์ปอด (ROS Assay) ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์ .....                            | 29 |
| 7. การทดสอบความสามารถในการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบของสารทดสอบต่อเซลล์ปอด (Western blot) ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์ ..... | 30 |
| 7.1 การแสดงออกของโปรตีน Interleukin 6 (IL-6).....                                                                                                                           | 30 |
| 7.2 การแสดงออกของโปรตีน Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF-kB).....                                                                         | 31 |
| 8. การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ (qPCR).....                                                                                                                    | 32 |
| บทที่ 5 วิจัยผลการทดลอง .....                                                                                                                                               | 35 |
| เอกสารและสิ่งอ้างอิง.....                                                                                                                                                   | 38 |
| ประวัติการศึกษา และการทำงาน .....                                                                                                                                           | 43 |

## สารบัญตาราง

หน้า

|                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------|----|
| ตารางที่ 1 ลำดับเบสนิวคลีโอไทด์ไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษาด้วยเทคนิค qPCR ..... | 22 |
| ตารางที่ 2 การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ (qPCR) .....            | 32 |

## สารบัญภาพ

หน้า

|          |                                                                                                                                                                                                                    |    |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ภาพที่ 1 | วิธีการส่งสัญญาณ TLRs/NOX2/ROS/NF-kB.....                                                                                                                                                                          | 8  |
| ภาพที่ 2 | ความเป็นพิษของตำรับสมุนไพรไทยเคอร์ร่า ตำรับสมุนไพรไทยไมโนซ่า และตำรับสมุนไพรไทยเคเอส ต่อเซลล์แมคโครฟาจ (RAW264.7 cells) ผลแสดงออกในรูปของค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน .....                             | 25 |
| ภาพที่ 3 | ปริมาณของไนตริกออกไซด์หลังจากผ่านการบ่มด้วย ตำรับสมุนไพรไทยเคอร์ร่า ตำรับสมุนไพรไทยไมโนซ่า และตำรับสมุนไพรไทยเคเอสทำการวัดปริมาณด้วย Griess test ผลแสดงออกในรูปของค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน .....    | 25 |
| ภาพที่ 4 | ความเป็นพิษของลิโพโพลีแซคคาไรด์ต่อเซลล์ปอด (A549 cells) ผลแสดงออกในรูปของค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน .....                                                                                             | 26 |
| ภาพที่ 5 | แสดงค่า Relative Fluorescence Units (RFU) ปริมาณอนุมูลอิสระออกซิเจนของเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโพโพลีแซคคาไรด์ ผลแสดงออกในรูปของค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน .....                  | 27 |
| ภาพที่ 6 | ความเป็นพิษของตำรับสมุนไพรไทยเคอร์ร่า ตำรับสมุนไพรไทยไมโนซ่า และตำรับสมุนไพรไทยเคเอส ต่อเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโพโพลีแซคคาไรด์ผลแสดงออกในรูปของค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ..... | 28 |
| ภาพที่ 7 | ร้อยละของอนุมูลอิสระออกซิเจน (ROS) ทำการวัดปริมาณด้วย ROS assay ผลแสดงออกในรูปของค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน .....                                                                                     | 29 |
| ภาพที่ 8 | การแสดงออกของโปรตีน IL-6 หลังจากผ่านการบ่มด้วย ตำรับสมุนไพรไทยเคอร์ร่า ตำรับสมุนไพรไทยไมโนซ่า และตำรับสมุนไพรไทยเคเอส .....                                                                                        | 30 |
| ภาพที่ 9 | การแสดงออกของโปรตีน NF-kB หลังจากผ่านการบ่มด้วย ตำรับสมุนไพรไทยเคอร์ร่า ตำรับสมุนไพรไทยไมโนซ่า และตำรับสมุนไพรไทยเคเอส .....                                                                                       | 32 |

## บทที่ 1 บทนำ

การบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลัน (Acute Lung Injury : ALI) คือ ภาวะอักเสบในปอดที่เกิดขึ้นในระยะเวลาสั้น ๆ เป็นภาวะที่เกิดขึ้นเมื่อเกิดการอักเสบรุนแรงในเนื้อเยื่อของปอด ทำให้เกิดความบวมและเสื่อมสภาพในส่วนของถุงลม (alveoli) และหลอดลม (bronchioles) ทำให้เกิดภาวะขาดออกซิเจนในเลือด นอกจากนี้ยังมีการคั่งของน้ำในปอดเพิ่มขึ้น ทำให้ปอดไม่สามารถรับลมหายใจเพียงพอเพื่อส่งออกซิเจนและระบายก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากร่างกาย ภาวะนี้อาจเกิดจากหลายสาเหตุ เช่น การติดเชื้อ, ความร้อนหรือความหนาแน่นในอากาศ, การบาดเจ็บทางเส้นเลือดในปอด และอื่น ๆ สำหรับผู้ที่เป็นการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันอาจต้องมีการให้การรักษาอย่างเร่งด่วน รวมถึงการให้ความช่วยเหลือในการหายใจ การให้ออกซิเจน และการรักษาภาวะที่เกิดขึ้นร่วม มีการตรวจพบมานานกว่า 50 ปี มีคำจำกัดความที่แตกต่างกันแต่สิ่งที่รู้จักในชื่อ การบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลัน ถูกจัดเป็นอาการที่อยู่ในประเภทของกลุ่มภาวะทางเดินหายใจล้มเหลวเฉียบพลัน (Acute respiratory distress syndrome : ARDS) โดยอาการดังกล่าวเป็นเหตุในการเจ็บป่วยและเสียชีวิตที่สำคัญในกลุ่มของผู้ป่วยวิกฤต โดยผู้ป่วยส่วนใหญ่ที่อยู่ในภาวะการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันสามารถแสดงอาการได้ในหลายระยะตั้งแต่หายใจลำบากในระยะสั้นไปจนถึงภาวะระบบหายใจล้มเหลว โดยสาเหตุของภาวะ การบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันมีการวินิจฉัยทางคลินิกแสดงให้เห็นถึงภาวะการขาดออกซิเจน หายใจลำบากและระบบการหายใจทำงานมากขึ้น ในประเทศสหรัฐอเมริกามีกรณีของผู้ป่วยที่เกิดภาวะการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันเกิดขึ้นกว่า 200,000 รายต่อปี และมีอัตราการเสียชีวิตมากกว่า 10% ของการเข้ารับการรักษาในกรณีของผู้ป่วยหนัก และคิดเป็น 4% ของการรักษาในโรงพยาบาลทั้งหมด (Mowery, Terzian, & Nelson, 2020) ในปัจจุบันแนวทางในการรักษาภาวะการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันมีหลายแนวทางขึ้นอยู่กับสาเหตุและระดับความรุนแรงของอาการ รวมไปถึงการให้ยาชนิดยาต้านการแข็งตัวของเส้นเลือด ยาขับน้ำ และยาต้านอักเสบ เป็นต้น ยาต้านอักเสบจึงเป็นสิ่งที่ได้รับความสนใจโดยมีการมุ่งเป้าหมายไปที่การต้านการเกิดการอักเสบของปอดเพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดภาวะปอดอักเสบที่นำไปสู่ภาวะการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันและภาวะทางเดินหายใจล้มเหลวเฉียบพลันต่อไป การรักษาอาจต้องดำเนินการอย่างถี่ถ้วนเพื่อควบคุมสภาพของปอดและความเสี่ยงในการพัฒนาเป็นภาวะที่รุนแรงยิ่งขึ้น ภาวะทางเดินหายใจล้มเหลวเฉียบพลันซึ่งเป็นภาวะที่รุนแรงกว่าการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันและสามารถทำให้เกิดความเสียหายรุนแรงในเนื้อเยื่อปอดและร่างกายได้



สมุนไพรไทยเป็นส่วนหนึ่งของวัฒนธรรมและการแพทย์แผนไทยที่มีประวัติศาสตร์ยาวนาน สมุนไพรไทยได้รับการบันทึกไว้ในตำราแพทย์และการบำบัดรักษาต่าง ๆ ซึ่งได้รับการส่งต่อมาจากรุ่นสู่รุ่น ทั้งนี้สมุนไพรไทยมีความหลากหลายของชนิดพืชที่ใช้ในการรักษาโรคและอาการต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นการบำรุงร่างกาย ปรับสมดุลธาตุ รักษาอาการเจ็บป่วย เช่น ไข้หวัด ปวดท้อง การอักเสบ และอื่น ๆ นอกจากนี้ สมุนไพรไทยยังเป็นส่วนสำคัญในการผลิตยาสมุนไพรที่มีสรรพคุณหลากหลาย การศึกษาและวิจัยเกี่ยวกับสมุนไพรไทยในปัจจุบันได้แสดงให้เห็นว่าสมุนไพรหลายชนิดมีสรรพคุณทางยาและประโยชน์ที่ชัดเจน เช่น การต้านการอักเสบ การต้านอนุมูลอิสระ การต้านมะเร็ง การป้องกันและรักษาโรคหลอดเลือดหัวใจ เป็นต้น ซึ่งการวิจัยเหล่านี้ช่วยส่งเสริมการใช้สมุนไพรไทยในวงการแพทย์แผนปัจจุบันและช่วยสร้างความเชื่อมั่นให้กับผู้ใช้ในเรื่องความปลอดภัยและประสิทธิภาพ นอกจากนี้ การบูรณาการความรู้เกี่ยวกับสมุนไพรไทยกับแนวทางชีวการแพทย์สมัยใหม่ยังสามารถช่วยพัฒนาวิธีการรักษาใหม่ ๆ ที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัยมากขึ้น การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรไทยจึงเป็นเรื่องสำคัญที่ไม่เพียงแต่ช่วยรักษาโรคและส่งเสริมสุขภาพของผู้คนแต่ยังเป็นการรักษามรดกทางวัฒนธรรมและภูมิปัญญาท้องถิ่นของไทยด้วย (Choowongkamon et al., 2023) สมุนไพรไทยมีบทบาทสำคัญในการรักษาโรคต่าง ๆ มาช้านาน ไม่เพียงแต่ในแง่ของการเป็นยารักษาโรคเท่านั้น แต่ยังมีบทบาทในการเสริมสร้างสุขภาพและป้องกันโรคอีกด้วย การศึกษาผลของสมุนไพรไทยต่อกระบวนการทางชีวภาพในระดับโมเลกุลเป็นสิ่งสำคัญที่จะช่วยให้เข้าใจถึงกลไกการทำงานของสมุนไพรเหล่านี้ได้ดียิ่งขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการแสดงออกของโปรตีนและยีนที่มีบทบาทในการอักเสบ เช่น Nuclear factor-kappa B (NF- $\kappa$ B) และ Interleukin 6 (IL-6) NF- $\kappa$ B เป็นปัจจัยการถอดรหัสที่มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการตอบสนองต่อการอักเสบของเซลล์ เมื่อเซลล์ได้รับสัญญาณจากภายนอกเช่น ไซโตไคน์ หรือสารก่อการอักเสบ NF- $\kappa$ B จะถูกกระตุ้นและเคลื่อนย้ายเข้าสู่นิวเคลียสเพื่อกระตุ้นการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ เช่น IL-6 ซึ่งเป็น ไซโตไคน์ที่มีบทบาทในการกระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันและการอักเสบในร่างกาย IL-6 เป็นโปรตีนที่มีบทบาทสำคัญในการตอบสนองของร่างกายต่อการอักเสบและการติดเชื้อ การศึกษาการแสดงออกของ IL-6 เมื่อเซลล์ถูกกระตุ้นด้วยสมุนไพรไทยชนิดต่าง ๆ จะช่วยให้เข้าใจถึงผลกระทบของสมุนไพรเหล่านี้ต่อกระบวนการทางชีวภาพในระดับเซลล์และโมเลกุล การศึกษาเส้นทางของ NF- $\kappa$ B และ IL-6 ในเซลล์ที่ได้รับการกระตุ้นด้วยสมุนไพรไทย จะช่วยให้เราสามารถเข้าใจถึงกลไกการทำงานของสมุนไพรในระดับโมเลกุลได้ดียิ่งขึ้น และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาการรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

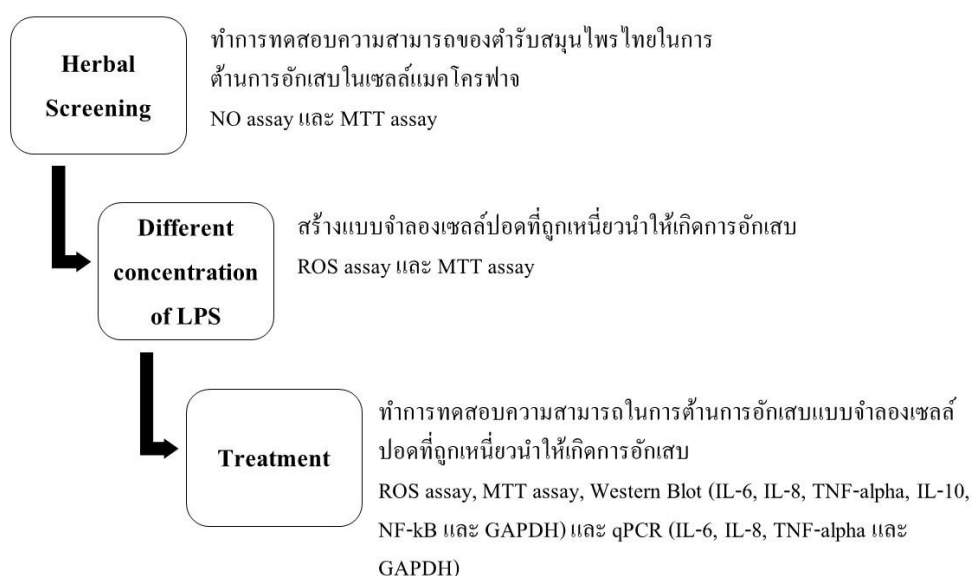
## วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาแนวทางในการสร้างแบบจำลองเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบ
2. เพื่อศึกษาปริมาณของสารที่เหมาะสมในการต้านการอักเสบต่อเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบ
3. เพื่อศึกษาผลกระทบของสารที่มีความสามารถในการต้านการอักเสบต่อเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบ

## สมมติฐาน

1. ตำรับสมุนไพรไทยมีความสามารถในการต้านการอักเสบต่อเซลล์เม็ดเลือดขาว
2. ตำรับสมุนไพรไทยมีความสามารถในการต้านการอักเสบต่อเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบ

## แผนภาพการทำวิจัย



### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อทราบถึงความสามารถของคำรับสมุนไพรรไทยในการต้านการอักเสบ
2. เพื่อเป็นข้อมูลสำคัญในการนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ต่อไปในอนาคต



2334733891

KU iThesis 6516000018 thesis / recv: 25072567 05:00:28 / seq: 46

## บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม

### การบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลัน

การบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลัน (Acute lung injury : ALI) การอักเสบและการบาดเจ็บ การบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันมักเริ่มต้นด้วยการตอบสนองการอักเสบในปอดที่เกิดจากปัจจัยต่างๆ เช่น บาดเจ็บ, การติดเชื้อ, หรือการดูดซึมสารอันตรายเข้าไปในปอด การอักเสบนี้ทำให้เกิดความเสียหายในเนื้อเยื่อปอดการทำลายเนื้อเยื่อหลอดเลือดและเยื่อหุ้มถุง การอักเสบและการบาดเจ็บมีผลต่อเซลล์ส่วนที่เป็นเส้นเลือดภายในปอดและเซลล์บุผนังที่อยู่ในถุงลม (alveoli) การทำลายนี้ทำให้การทำงานของเซลล์เสียหายและเกิดการรั่วของของเหลวเข้าไปในถุงลม การบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลัน ยังส่งผลให้เกิดความผิดปกติของสารลดแรงตึงผิว ซึ่งเป็นสารที่ช่วยลดแรงตึงผิวในถุงลมและช่วยให้เปิดไว้ การเกิดความผิดปกติของสารลดแรงตึงผิวมีส่วนทำให้ปอดยุบและการแลกเปลี่ยนออกซิเจนลดลง คนไข้ที่เป็นโรคการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลัน จะหายใจเร็วและลำบาก โดยมักต้องใช้เครื่องช่วยหายใจ นอกจากนี้ยังอาจแสดงอาการของโรคหายใจลำบาก (ARDS) ซึ่งเป็นอาการบาดเจ็บที่ปอดอย่างรุนแรง การบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันส่งผลให้ระดับออกซิเจนในเลือดต่ำ (ภาวะขาดออกซิเจน) เนื่องจากการแลกเปลี่ยนก๊าซในปอดบกพร่อง ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดอาการตัวเขียว (ผิวหนังเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน) และความผิดปกติของอวัยวะ การบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันสามารถมีผลกระทบต่อระบบนอกเหนือจากปอด รวมถึงการตอบสนองต่อการอักเสบที่ส่งผลต่ออวัยวะอื่น ๆ เช่น ไต หัวใจ และสมอง ซึ่งอาจนำไปสู่ความล้มเหลวของหลายอวัยวะในกรณีร้ายแรง (Matuschak & Lechner, 2010)

การวินิจฉัยการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลัน เกี่ยวข้องกับการประเมินทางคลินิก การศึกษาเกี่ยวกับภาพ เช่น การเอกซเรย์หน้าอกหรือการสแกน CT เพื่อประเมินความเสียหายของปอด และการทดสอบในห้องปฏิบัติการเพื่อประเมินระดับออกซิเจนและเครื่องหมายการอักเสบในเลือด การรักษาการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันมุ่งเน้นไปที่การดูแลแบบประคับประคองเพื่อรักษาระดับออกซิเจนและการระบายอากาศที่เพียงพอ ซึ่งรวมถึงการช่วยหายใจด้วยกลไกที่มีปริมาตรน้ำขึ้นน้ำลงต่ำและความดันอากาศหายใจออกเป็นบวก (PEEP) เพื่อปรับปรุงการให้ออกซิเจน ผู้ป่วยอาจได้รับยา เช่น คอร์ติโคสเตียรอยด์ เพื่อลดการอักเสบและควบคุมสมดุลของของเหลว การพยากรณ์โรคของการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสาเหตุที่แท้จริง ความรุนแรงของการบาดเจ็บที่ปอด และสุขภาพโดยรวมของผู้ป่วย การรับรู้ตั้งแต่เนิ่น ๆ



และการจัดการที่เหมาะสมสามารถปรับปรุงผลลัพธ์ได้ แต่กรณีที่รุนแรงอาจเป็นอันตรายถึงชีวิตได้ ภาวะแทรกซ้อนของการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันอาจรวมถึงโรคปอดบวมที่เกี่ยวข้องกับเครื่องช่วยหายใจ barotrauma (ความเสียหายของปอดเนื่องจากแรงดันสูงระหว่างการช่วยหายใจ) และความบกพร่องของระบบทางเดินหายใจในระยะยาวในผู้รอดชีวิต (Fanelli & Ranieri, 2015)

การบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลัน ความผิดปกติของการทำลายการป้องกันภายในของปอด ที่บริเวณเส้นเลือดและชั้นเนื้อเยื่อในปอด (Endothelium and Epithelium) ส่งผลให้เกิดการอักเสบแบบเฉียบพลันที่บริเวณภายในปอด เนื้อเยื่อที่กั้นกลางระหว่างถุงลมและหลอดเลือดฝอยประกอบไปด้วย เยื่อหุ้มหลอดลม (alveolar epithelium) และเยื่อหุ้มเส้นเลือดฝอย (capillary endothelium) ลักษณะของเซลล์ที่มีอาการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลัน ได้แก่ การสูญเสียความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มหลอดลมและเส้นเลือดฝอย มีการส่งผ่านนิวโทรฟิลในเยื่อหุ้มมากเกินไป และมีการปลดปล่อยสารในกลุ่ม Pro-inflammatory cytokines โดยตัวบ่งชี้ทางชีวภาพกลุ่มนี้จะถูกพบที่บริเวณเส้นเลือดและชั้นเนื้อเยื่อในปอดและเกี่ยวข้องกับการอักเสบ ใช้ในการทำนายการเจ็บป่วยและเสียชีวิตในภาวะการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันหลังจากเกิดการติดเชื้อหรือบาดเจ็บ

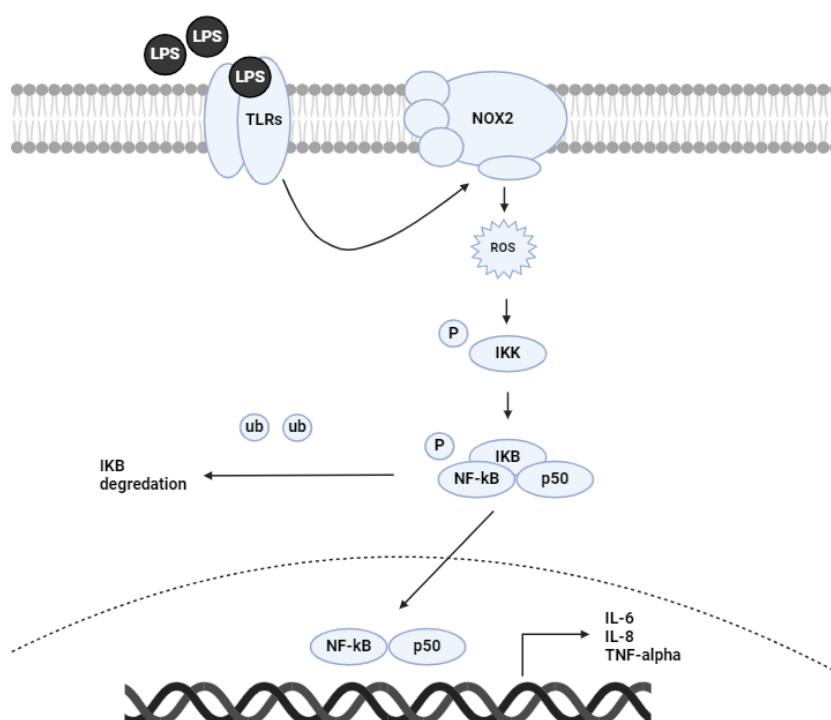
จากการศึกษาพบว่า Lipopolysaccharide (ลิโปโพลีแซคคาไรด์ : LPS) สามารถกระตุ้นให้เกิดภาวะการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันได้เนื่องจากกลไกการกระตุ้น โปรตีนตัวรับ Toll-like receptor 4 (TLR4) โดยลิโปโพลีแซคคาไรด์ เป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งสามารถจับกับโปรตีนตัวรับ TLR4 บนผิวเซลล์ (Wang et al., 2022) การกระตุ้น TLR4 โดยลิโปโพลีแซคคาไรด์จะนำไปสู่การเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ NADPH oxidase 2 (NOX2) ในเซลล์ภูมิคุ้มกัน ซึ่ง NOX2 จะผลิต Reactive oxygen species (ROS) ในปริมาณมาก (Banskota et al., 2023) ROS ที่เพิ่มขึ้นจาก NOX2 จะเป็นตัวกระตุ้นการอักเสบและทำให้เกิดความเสียหายของเนื้อเยื่อปอด ซึ่งเป็นกลไกหลักที่นำไปสู่ภาวะการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลัน โดยความเสียหายของเนื้อเยื่อปอดและการอักเสบจะรบกวนการแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ในปอดส่งผลให้เกิดภาวะขาดออกซิเจนในเลือด ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญของการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลัน ดังนั้นลิโปโพลีแซคคาไรด์สามารถกระตุ้นให้เกิดภาวะการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันได้โดยผ่านกลไกการกระตุ้น TLR4 การเพิ่มขึ้นของ NOX2, ROS, การอักเสบและความเสียหายของเนื้อปอด ซึ่งนำไปสู่การรบกวนการแลกเปลี่ยนก๊าซในปอด (Carnesecchi, Pache, & Barazzone-Argiroffo, 2012) เซลล์ A549 ถูกนำมาใช้ในการศึกษาการตอบสนองทางการอักเสบของเซลล์ปอดต่อสารตั้งแรกของแบคทีเรีย เช่น ลิโปโพลีแซคคาไรด์ โดยส่วนสำคัญของเซลล์เนื้อเยื่อบริเวณปอด

คือ TLR4 เป็นตัวชี้วัดในระบบภูมิคุ้มกันแบบที่พบได้ในเซลล์เนื้อเยื่อบริเวณปอด มีบทบาทในการรับรู้และตอบสนองต่อลิโปโพลีแซคคาไรด์โดยการกระตุ้น TLR4 จะเริ่มต้นกระบวนการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่เกี่ยวข้องกับการต้านทานเชื้อโรคในระบบทางเดินหายใจ (Sender & Stamme, 2014)

การเพิ่มขึ้นของไซโตไคน์ที่แสดงถึงการเกิดการอักเสบเป็นการตอบสนองโดยตรงและเป็นตัวบ่งชี้ว่าเซลล์มีการเกิดการบาดเจ็บอยู่ โดยพบว่าระดับของ Interleukin 6 (IL-6), Interleukin 8 (IL-8) และ Tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) ในพลาสมาเป็นปัจจัยที่สามารถบ่งชี้ไปถึงการเสียชีวิตได้อย่างมีนัยสำคัญ แม้ว่าจะมีการนำเอาเครื่องช่วยหายใจมาใช้ในการรักษาความรุนแรงของอาการและความผิดปกติของอวัยวะภายในแล้วก็ตาม แต่ยังคงพบว่าระดับของ IL-6 และ IL-8 ยังคงส่งผลต่ออาการแม้จะมีการนำเครื่องช่วยหายใจมาใช้ และระดับของ IL-6 และ IL-8 ที่เพิ่มขึ้นนี้ยังใช้บ่งบอกถึงอัตราการเสียชีวิตที่เพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้ทั้งนั้นการศึกษาในหลายงานแสดงให้เห็นว่าการใช้เครื่องช่วยหายใจสามารถลดการตอบสนองของไซโตไคน์ได้ ซึ่งอาจเป็นการสะท้อนให้เห็นถึงความสามารถในการตอบสนองต่อระบบอักเสบในทางอ้อม เช่นเดียวกันกับการใช้วิธีการลดการบาดเจ็บของเยื่อปอด (Johnson & Matthay, 2010) ขณะเดียวกัน ROS ที่มากเกินไปที่เกิดจากบริเวณเส้นเลือดและชั้นเนื้อเยื่อในปอดได้รับความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันอาจเป็นสาเหตุของความผิดปกติของเส้นเลือดและชั้นเนื้อเยื่อในปอดซึ่งส่งผลให้เกิดการแทรกซึมของนิวโทรฟิลขนาดใหญ่ข้ามสิ่งกีดขวางตามด้วยการหลั่งของสารพิษต่อเซลล์ ROS ควบคุมการแสดงออกของไซโตไคน์ที่ทำให้เกิดการอักเสบ ซึ่งขยายความเสียหายของเนื้อเยื่อและอาการบวมในปอด ดังนั้นความสมดุลของสารอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระที่เหมาะสมจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อสถานะสมดุลของหลอดเลือด ดังนั้นระบบที่รับผิดชอบในการผลิต ROS มากเกินไปอาจเป็นเป้าหมายในการรักษาในการรักษาการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลัน (Kellner et al., 2017)

ลิโปโพลีแซคคาไรด์ กระตุ้นการทำงานของตัวรับ Toll-like receptors (TLRs) โดยเฉพาะการกระตุ้นการส่งสัญญาณของ Nuclear factor-kappa B (NF- $\kappa$ B) และการหลั่ง Proinflammatory cytokines ที่ทำให้เกิดการอักเสบ เช่น IL-1 beta, IL-6, IL-8 และ TNF-alpha โดยการผลิตโมเลกุลเหล่านี้จำนวนมากเกินไปมีความสัมพันธ์กับภาวะการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลัน การส่งสัญญาณ NF- $\kappa$ B เป็นสิ่งจำเป็นในการควบคุมการตอบสนองต่อการอักเสบ และยังเป็นสำหรับกระบวนการทางสรีรวิทยาหลายอย่างที่หลากหลาย สารเชิงซ้อน p50/p65 เป็นสารเชิงซ้อนของ NF- $\kappa$ B ที่มีลักษณะเฉพาะที่ดีที่สุดเมื่อถูกกระตุ้น หรือคงสภาพเมื่อไม่ได้ใช้งานในไซโตพลาสซึม

เมื่อมีการเปิดใช้งาน NF- $\kappa$ B โปรตีน p65 จะแยกออกจากตัวยับยั้ง NF- $\kappa$ B (inhibitor of NF- $\kappa$ B) จากนั้นจึงย้ายเข้าไปในนิวเคลียสเพื่อควบคุมการถอดรหัสของยีนไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ เช่น IL-1  $\beta$ , IL-6, IL-8 และ TNF- $\alpha$  ซึ่งเป็นไซโตไคน์หลักที่ปล่อยออกมาจากเซลล์เยื่อบุผิวของปอด มีบทบาทสำคัญในการก่อให้เกิดการอักเสบในเซลล์ปอด โดย IL-8 ยังมีความสำคัญในการคัดเลือกนิวโทรฟิล (Neutrophils) เข้าสู่ปอดและกระตุ้นนิวโทรฟิลเพื่อให้เกิดการตอบสนองต่อการติดเชื้ออย่างมีประสิทธิภาพ (X. L. Zhang et al., 2021)



ภาพที่ 1 วิธีการส่งสัญญาณ TLRs/NOX2/ROS/NF- $\kappa$ B

ที่มา: (Sul & Ra, 2021) (สร้างขึ้นโดย Biorender.com)

เซลล์มะเร็งปอด (A549 cells) เป็นเซลล์มะเร็งในปอดชนิดหนึ่ง (Human alveolar basal epithelial cells) ที่มักใช้ในการวิจัยทางชีววิทยาและการแพทย์ เนื่องจากลักษณะและความสามารถในการตอบสนองต่อการอักเสบและการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน จึงอาจนำไปใช้เพื่อศึกษาการอักเสบในปอดและปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ เซลล์ A549 สามารถใช้เพื่อตรวจสอบความรุนแรงของการอักเสบในปอดและการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน และมักใช้เพื่อทดสอบผลกระทบของโมเลกุลส่งสัญญาณและยาต่างๆ ที่อาจส่งผลต่อการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลัน (ALI) หรือกลุ่มภาวะทางเดินหายใจล้มเหลวเฉียบพลัน (ARDS) การศึกษาเหล่านี้ อาจช่วยในการทำความเข้าใจการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันหรือกลุ่มภาวะทางเดินหายใจล้มเหลวเฉียบพลัน และในการพัฒนาการรักษาหรือการแทรกแซงที่มีประสิทธิภาพสำหรับผู้ป่วย (Sul & Ra, 2021) เซลล์ A549 เป็นเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายกับเซลล์บริเวณเนื้อเยื่อถุงลมและมีสัมพันธ์กับโรคที่เกี่ยวข้องกับการทำลายปอด เช่น การบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลัน หรือโรคอื่นๆ ที่มีแบคทีเรียเป็นสาเหตุ การใช้เซลล์ A549 ในการศึกษาจะช่วยให้สามารถจำลองสภาพที่เกิดขึ้นในร่างกายได้มากขึ้น เซลล์ A549 มีหน้าที่หลากหลาย เช่น เป็นเซลล์ที่มีหน้าที่ในการเคลื่อนย้ายของออกซิเจนและการสร้างสารละลายในปอด ทำให้มีความสัมพันธ์กับเอนไซม์และสารที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองทางการอักเสบ เนื่องจากเซลล์ A549 เป็นเซลล์รูปแบบพื้นฐานของเนื้อเยื่อถุงลม มีส่วนสำคัญในการศึกษาพื้นฐานเกี่ยวกับการทำงานของเซลล์ปอดและตอบสนองที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบและโรคที่เกี่ยวข้องกับปอดได้ (J. Li et al., 2020) เซลล์ A549 ได้มาจากมะเร็งของต่อมในเยื่อถุงลมของมนุษย์ เซลล์เหล่านี้มีลักษณะคล้ายกับ Type II alveolar epithelial cells (เซลล์เยื่อถุงลมประเภท 2 : AT2) ที่พบในปอด ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการรักษาเสถียรภาพของถุงลมและสถานะสมดุล โดยเซลล์นี้ผลิตสารลดแรงตึงผิว ซึ่งมีความสำคัญอย่างยิ่งในการลดแรงตึงผิวในปอด และป้องกันการยุบตัวของถุงลมในการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลัน เยื่อถุงลม โดยเฉพาะเซลล์เยื่อถุงลมประเภท 2 เป็นเป้าหมายหลักของการบาดเจ็บ เนื่องจากเซลล์ A549 มีลักษณะเฉพาะร่วมกับเซลล์ถุงลมประเภท 2 จึงจัดทำแบบจำลอง ในหลอดทดลอง ที่เกี่ยวข้องสำหรับการศึกษากลไกของเซลล์และโมเลกุลที่เป็นพื้นฐานของการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลัน เซลล์ A549 นั้นค่อนข้างง่ายในการเพาะเลี้ยงและบำรุงรักษาในหลอดทดลอง ทำให้เป็นแบบจำลองที่สะดวกและคุ้มค่าสำหรับการศึกษาเชิงทดลอง เซลล์ A549 ตอบสนองต่อสิ่งเร้าที่เกี่ยวข้องกับการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลัน เช่น ไซโตไคน์ และความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน การตอบสนองนี้ช่วยให้สามารถจำลองสถานะของการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันและศึกษาการตอบสนองของเซลล์ได้ (Duan et al., 2021) เซลล์เซลล์เยื่อถุงลมประเภท 2 มีแบบจำลองที่เกี่ยวข้องทางสรีรวิทยามากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่เป็นอมตะเช่น A549 เลียนแบบสภาพแวดล้อมในร่างกาย และการทำงาน

ของเซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือดประเภท 2 มีความใกล้เคียงกัน การศึกษาเซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือดประเภท 2 ช่วยในการทำความเข้าใจกลไกของการบาดเจ็บและการซ่อมแซมในเยื่อบุผนังหลอดเลือด มีส่วนร่วมโดยตรงในกระบวนการซ่อมแซมหลังจากได้รับบาดเจ็บที่หลอดเลือด ทำให้มีความสำคัญต่อการศึกษาการตอบสนองของการฟื้นฟู เซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือดประเภท 2 มีความท้าทายในการแยก เพาะเลี้ยง และบำรุงรักษา ในหลอดทดลอง มากกว่าเซลล์ A549 พวกมันมีอายุขัยที่จำกัดและอาจสูญเสียลักษณะเฉพาะไปซึ่งอาจทำให้การศึกษาในระยะยาวยุ่งยากขึ้น (Ruaro et al., 2021)

## การอักเสบ

การอักเสบ เป็นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อสิ่งกระตุ้นที่เป็นอันตราย เช่น เชื้อโรค เซลล์ที่เสียหาย สารพิษ หรือการฉายรังสี โดยการกำจัดสิ่งกระตุ้นที่เป็นอันตรายและเริ่มกระบวนการฟื้นฟู การอักเสบจึงเป็นกลไกการป้องกันที่มีความสำคัญต่อสุขภาพ โดยปกติแล้ว ในการตอบสนองการอักเสบเฉียบพลัน เหตุการณ์และการทำงานร่วมกันของเซลล์และโมเลกุลจะช่วยลดการบาดเจ็บหรือการติดเชื้อที่กำลังจะเกิดขึ้นอย่างมีประสิทธิภาพ กระบวนการนี้ช่วยฟื้นฟูความสมดุลของเนื้อเยื่อและแก้ไขการอักเสบเฉียบพลัน อย่างไรก็ตามหากการอักเสบเฉียบพลันไม่ถูกควบคุมอย่างเหมาะสม อาจกลายเป็นการอักเสบเรื้อรัง ซึ่งนำไปสู่โรคการอักเสบเรื้อรังต่าง ๆ ในระดับเนื้อเยื่อ การอักเสบจะปรากฏลักษณะเป็นสีแดง บวม ร้อน ปวด และสูญเสียการทำงานของเนื้อเยื่อ อาการเหล่านี้เกิดจากการตอบสนองของเซลล์ภูมิคุ้มกัน หลอดเลือด และกระบวนการอักเสบต่อการติดเชื้อหรือการบาดเจ็บ เหตุการณ์ที่สำคัญในกระบวนการอักเสบ ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงความสามารถในการซึมผ่านของหลอดเลือด การสรรหาและการสะสมของเซลล์เม็ดเลือดขาว และการปล่อยสารเคมีที่เป็นตัวกลางในการอักเสบ ปัจจัยที่ทำให้เกิดโรคต่าง ๆ เช่น การติดเชื้อ การบาดเจ็บของเนื้อเยื่อ หรือภาวะหัวใจวาย อาจทำให้เกิดการอักเสบโดยทำให้เนื้อเยื่อเสียหาย สาเหตุของการอักเสบอาจเกิดจากการติดเชื้อหรือไม่ติดเชื้อก็ได้ เมื่อเนื้อเยื่อได้รับบาดเจ็บ ร่างกายจะส่งสัญญาณทางเคมีเพื่อกระตุ้นการตอบสนองที่มุ่งรักษาเนื้อเยื่อที่ได้รับผลกระทบ สัญญาณเหล่านี้จะกระตุ้นการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาวให้เคลื่อนย้ายจากกระแสเลือดไปยังบริเวณที่เกิดความเสียหาย เซลล์เม็ดเลือดขาวที่ถูกกระตุ้นจะผลิตไซโตไคน์ซึ่งกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองการอักเสบ (Chen et al., 2018) กระบวนการอักเสบเกี่ยวข้องกับการทำงานร่วมกันของเซลล์เม็ดเลือดขาว (เช่น neutrophils และ macrophages), เซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันอื่น ๆ และสารเคมีที่เรียกว่าไซโตไคน์ (cytokines) และคีโมไคน์ (chemokines) การตอบสนองเริ่มต้นจากการจดจำสิ่งแปลกปลอมผ่านตัวรับบนผิวเซลล์ที่เรียกว่า Pattern Recognition Receptors (PRRs) ซึ่ง

รวมถึง Toll-like receptors (TLRs) และ NOD-like receptors (NLRs) เมื่อสิ่งแปลกปลอมถูกตรวจจับ เซลล์ภูมิคุ้มกันจะปล่อยสารเคมีที่กระตุ้นการอักเสบและเรียกเซลล์เม็ดเลือดขาวอื่น ๆ มายังบริเวณที่เกิดการอักเสบ (Medzhitov, 2008) หนึ่งในกลไกสำคัญที่ควบคุมการตอบสนองการอักเสบคือการทำงานของ NF- $\kappa$ B โปรตีน NF- $\kappa$ B ถูกกระตุ้นโดยสัญญาณจาก PRRs เมื่อมีการตรวจพบสิ่งแปลกปลอม หรือการบาดเจ็บ NF- $\kappa$ B จะเคลื่อนย้ายเข้าสู่นิวเคลียสของเซลล์และกระตุ้นการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ ซึ่งรวมถึงยีนที่ผลิตไซโตไคน์, เคโมไคน์, และโปรตีนอื่น ๆ ที่มีบทบาทในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ในกรณีของการอักเสบเรื้อรัง การกระตุ้นของ NF- $\kappa$ B อย่างต่อเนื่องสามารถนำไปสู่การอักเสบที่ไม่ได้รับการควบคุม ซึ่งมีผลเสียต่อเนื้อเยื่อและอวัยวะต่าง ๆ การทำงานของ NF- $\kappa$ B ที่มากเกินไปสามารถทำให้เกิดการสร้างไซโตไคน์ที่เป็นตัวกลางในการอักเสบอย่างไม่หยุดยั้ง นำไปสู่โรคการอักเสบเรื้อรัง การศึกษาบทบาทของ NF- $\kappa$ B ในการควบคุมการตอบสนองการอักเสบและการพัฒนาของโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบมีความสำคัญอย่างยิ่งในการทำความเข้าใจกลไกการเกิดโรคและพัฒนาวิธีการรักษาใหม่ ๆ เพื่อควบคุมการอักเสบอย่างมีประสิทธิภาพ (Liu, Zhang, Joo, & Sun, 2017)

Inflammatory cytokines คือกลุ่มของโปรตีนสื่อสาร (Signaling protein) ขนาดเล็กที่ถูกหลั่งออกมาจากเซลล์ มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นกระบวนการอักเสบและตอบสนองภูมิคุ้มกัน ส่วนใหญ่จะถูกผลิตโดยเซลล์เม็ดเลือดขาว (Leukocyte) เช่น ลิมโฟไซต์ (Lymphocytes) และโมโนไซต์ (Monocytes) ไซโตไคน์ถูกผลิตขึ้นได้หลังจากได้รับการบาดเจ็บที่บริเวณประสาทส่วนปลาย (Peripheral nerve system) ส่งผลให้เซลล์แมโครฟาจ (Macrophage) ที่ถูกสร้างโดยโมโนไซต์จะเกิดการรวมตัวกันที่บริเวณที่เกิดการบาดเจ็บ และส่งผลให้เกิดการหลั่งไซโตไคน์และปัจจัยที่จำเป็นต่อการฟื้นฟูประสาท โดยไซโตไคน์มีส่วนเกี่ยวข้องกับการควบคุมปฏิกิริยาการอักเสบ โดยไซโตไคน์ที่ก่อให้เกิดการอักเสบ เช่น IL-1 beta, IL-6, IL-8 และ TNF-alpha (J. M. Zhang & An, 2007)

Nitric Oxide (ไนตริกออกไซด์ : NO) เป็นโมเลกุลที่เซลล์ภูมิคุ้มกันเช่น macrophages และ neutrophils ผลิตขึ้นในระหว่างการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ไนตริกออกไซด์มีบทบาททั้งในกระบวนการป้องกันเชื้อโรคและในกระบวนการอักเสบโดยมีคุณสมบัติ anti-inflammatory และ pro-inflammatory ขึ้นอยู่กับบริบทของการตอบสนอง การผลิตและการควบคุม ไนตริกออกไซด์ถูกผลิตขึ้นจาก L-arginine โดยเอนไซม์ nitric oxide synthase (NOS) มีไอโซฟอร์ม 3 ชนิดที่ตั้งชื่อตามกิจกรรมและประเภทของเนื้อเยื่อ ได้แก่ nNOS (neuronal), iNOS (inducible), และ eNOS (endothelial) โดย iNOS จะถูกกระตุ้นในเซลล์ภูมิคุ้มกันในระหว่างการอักเสบ บทบาทในการ

อักเสบ Pro-inflammatory ไนตริกออกไซด์มีบทบาทในการขยายหลอดเลือด (vasodilation) ซึ่งช่วยเพิ่มการไหลเวียนของเลือดไปยังบริเวณที่มีการอักเสบ ในกระบวนการ Anti-inflammatory ไนตริกออกไซด์สามารถยับยั้งการทำงานของเซลล์ภูมิคุ้มกันบางชนิดและการผลิตของ ROS ซึ่งช่วยลดการอักเสบในบางสถานการณ์ (Rousseau, Li, Hayden, Deng, & Yeh, 2008) ในกรณีของการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ไนตริกออกไซด์ถูกผลิตในปริมาณมากโดย iNOS ใน macrophages ที่ถูกกระตุ้นโดย cytokines การผลิตไนตริกออกไซด์ในปริมาณมากนี้เป็นการตอบสนองต่อการติดเชื้อและมีวัตถุประสงค์เพื่อทำลายจุลินทรีย์ แต่ในขณะเดียวกันก็สามารถทำลายเนื้อเยื่อรอบข้างได้เช่นกัน เนื่องจากไนตริกออกไซด์มีบทบาททั้งในกระบวนการอักเสบและระบบหัวใจและหลอดเลือด จึงมีการวิจัยและพัฒนา NO inhibitors เพื่อลดผลกระทบที่ไม่พึงประสงค์จากการผลิตไนตริกออกไซด์มากเกินไปในโรคอักเสบ ตัวอย่างเช่น selective NO biosynthesis inhibitors และ synthetic arginine analogues ที่ถูกใช้ในการรักษาการอักเสบที่เกิดจากไนตริกออกไซด์ ผลกระทบของการผลิตไนตริกออกไซด์ที่ผลิตไนตริกออกไซด์ที่ไม่สมดุลสามารถนำไปสู่ผลกระทบที่ไม่พึงประสงค์หลายประการ เช่น การหดตัวของหลอดเลือด (vasoconstriction), การอักเสบ และความเสียหายต่อเนื้อเยื่อ บทบาทที่หลากหลายและซับซ้อนของไนตริกออกไซด์ในระบบต่าง ๆ ของร่างกายทำให้มันเป็นทั้งข้อดีและข้อเสียในหลายกรณี ไนตริกออกไซด์เป็นโมเลกุลที่มีความสำคัญและซับซ้อนในร่างกายมนุษย์ มันมีบทบาทหลายด้านตั้งแต่การควบคุมการขยายหลอดเลือด การตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ไปจนถึงการสื่อสารของเซลล์ประสาท แม้ว่าไนตริกออกไซด์จะมีประโยชน์มากมาย แต่มันก็สามารถก่อให้เกิดผลกระทบที่ไม่พึงประสงค์ได้หากมีการผลิตมากเกินไป การวิจัยและพัฒนาเกี่ยวกับ NO inhibitors จึงเป็นสิ่งที่สำคัญในการจัดการกับผลกระทบที่ไม่พึงประสงค์เหล่านี้และทำให้เราเข้าใจบทบาทที่ซับซ้อนของไนตริกออกไซด์มากขึ้นในโรคต่าง ๆ (Sharma, Al-Omran, & Parvathy, 2007)

Reactive Oxygen Species (ROS) เป็นกลุ่มของโมเลกุลที่มีอนุมูลอิสระ เช่น superoxide anion ( $O_2^-$ ), hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ), และ hydroxyl radical ( $OH^\cdot$ ) ROS ถูกสร้างขึ้นในระหว่างการตอบสนองภูมิคุ้มกันโดยเซลล์ต่าง ๆ เช่น Neutrophils และ Macrophages เพื่อทำลายเชื้อโรค ในปริมาณที่เหมาะสม ROS มีบทบาทในการส่งสัญญาณและการป้องกันการติดเชื้อ อย่างไรก็ตาม ROS สามารถทำลายเซลล์เนื้อเยื่อของร่างกายเองเมื่อเกิดขึ้นในปริมาณมากเกินไปซึ่งทำให้เกิดการอักเสบเรื้อรังและโรคต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบและทำให้เกิดความเสียหายของเนื้อเยื่อได้ ROS ถูกสร้างขึ้นในปริมาณมากในระหว่างการอักเสบที่ปอด ROS สามารถทำลายเซลล์ปอดและเนื้อเยื่อโดยการออกซิเดชันของโปรตีน ลิพิด และดีเอ็นเอ ทำให้เกิดการบาดเจ็บที่ปอดและเพิ่ม

ความรุนแรงของการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลัน (Corpas, Rio, & Palma, 2019) โมเลกุลเหล่านี้เกิดจากปฏิกิริยารีดอกซ์ แม้ว่าจะมีความหลากหลายในปฏิกิริยาของ ROS แต่พวกมันถูกเรียกรวมกันภายใต้คำนี้เนื่องจากความยากลำบากในการแยกแยะ ROS แต่ละชนิดในงานวิจัยทางชีววิทยา ROS เกิดขึ้นได้ทั้งจากแหล่งภายในและแหล่งภายนอก โดยแหล่งภายในประกอบด้วย Mitochondrial Electron Transport Chain (ETC) ในกระบวนการหายใจระดับเซลล์, complex I และ III ของ ETC ผลิต superoxide anions ที่ถูกแปลงเป็น  $H_2O_2$  ต่อไป, NADPH Oxidases (NOXs) เอนไซม์เหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการผลิต ROS ในหลายส่วนของเซลล์และมีส่วนในการส่งสัญญาณแบบรีดอกซ์ และเอนไซม์อื่นๆ เช่น xanthine oxidase, peroxidases, และ cytochrome p450 ก็มีส่วนในการผลิต ROS ในขณะที่ ROS ที่เกิดจากแหล่งภายนอกได้แก่ ปัจจัยสิ่งแวดล้อมเช่น แสงอัลตราไวโอเลต (UV), มลพิษ และยาหรือสารเคมีบางชนิด ที่ระดับทางสรีรวิทยา ROS ทำหน้าที่เป็นโมเลกุลส่งสัญญาณในเส้นทางการส่งสัญญาณแบบรีดอกซ์ กระบวนการนี้เรียกว่า oxidative stress ซึ่ง ROS มีบทบาทในการตอบสนองของเซลล์ต่อสิ่งกระตุ้นต่างๆ เช่น ตัวกระตุ้นการเจริญเติบโตและไซโตไคน์ หน้าที่ทางสรีรวิทยาที่สำคัญประกอบด้วยการส่งสัญญาณของเซลล์ โดย  $H_2O_2$  ทำหน้าที่เป็น second messenger ในเส้นทางการส่งสัญญาณที่มีผลต่อกระบวนการต่างๆ เช่น การแบ่งเซลล์, การเจริญเติบโต, และการเคลื่อนที่ของเซลล์ การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน โดยที่เซลล์ภูมิคุ้มกันผลิต ROS เพื่อฆ่าเชื้อโรค และรวมไปถึงการควบคุมการแสดงออกของยีน ROS สามารถปรับกิจกรรมของปัจจัยการถอดรหัส (transcription factors) และมีผลต่อการแสดงออกของยีน เมื่อระดับ ROS เกินกว่าค่าทางสรีรวิทยา พวกมันจะทำให้เกิด oxidative distress ที่นำไปสู่การทำลายของโมเลกุลที่สำคัญในเซลล์ (DNA, โปรตีน, ลิพิด) ซึ่งอาจทำให้เกิดภาวะพยาธิสภาพต่างๆ ได้ เช่น ความเสียหายของ DNA โดยที่ ROS สามารถทำให้เกิดการกลายพันธุ์, การแตกหักของสาย DNA, และความเสียหายอื่นๆ ที่นำไปสู่การเกิดมะเร็งและการชรา การออกซิเดชันของโปรตีนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเชิงออกซิเดชันสามารถทำให้โปรตีนสูญเสียหน้าที่, รวมถึงการรวมตัวของโปรตีนและการสลายตัว การเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน โดย ROS สามารถกระตุ้นการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน, ทำให้เกิดความเสียหายต่อเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งยังกระตุ้นความเครียดจากการออกซิเดชัน ระดับ ROS ที่เพิ่มขึ้นเกี่ยวข้องกับโรคหลายชนิด เช่น โรคเกี่ยวกับระบบประสาท (เช่น โรคอัลไซเมอร์, โรคพาร์กินสัน), โรคหัวใจและหลอดเลือด, เบาหวาน และมะเร็ง ความเครียดจากการออกซิเดชันเรื้อรังส่งผลให้เกิดการสะสมความเสียหายในเซลล์ตามเวลา ทำให้เกิดการชรา เซลล์มีการรักษาสมดุล ROS ผ่านการผลิตและการกำจัด ROS อย่างสมดุล กลไกการควบคุมที่สำคัญได้แก่ระบบต้านอนุมูลอิสระด้วยเอนไซม์ เช่น superoxide dismutase (SOD), catalase, และ glutathione peroxidase ทำหน้าที่ในการล้างพิษของ ROS สารต้านอนุมูลอิสระ เช่น glutathione และ



thioredoxin ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ รวมไปถึงการผลิตและการกำจัด ROS ถูกแยกส่วนในเซลล์, ทำให้เกิดการส่งสัญญาณรีดอกซ์โดยไม่มีความเสียหายจากการออกซิเดชันที่แพร่กระจายออกไป ความก้าวหน้าในเทคนิคการถ่ายภาพและการตรวจจับสารเคมีที่ไม่รุกราน (non-invasive) ได้ปรับปรุงการระบุลักษณะของ ROS เฉพาะและการโต้ตอบของพวกมันกับเป้าหมายในเซลล์ ทำให้เราเข้าใจกระบวนการส่งสัญญาณที่นำโดย ROS และบทบาทของมันในสุขภาพและโรคได้มากขึ้น

ทางการแพทย์มุ่งมั่นที่จะกำหนดเป้าหมายเส้นทางการส่งสัญญาณ ROS เพื่อพัฒนากลยุทธ์การรักษาที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น ซึ่งรวมถึงการปรับระบบต้านอนุมูลอิสระ การใช้ยาที่มีผลต่อปฏิกิริยารีดอกซ์ และการพิจารณาปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อระดับ ROS กล่าวคือ ROS เป็นองค์ประกอบสำคัญในสรีรวิทยาของเซลล์ ทำหน้าที่เป็น โมเลกุลส่งสัญญาณในระดับต่ำ แต่ทำให้เกิดความเสียหายในระดับสูง การศึกษาเกี่ยวกับ ROS ยังคงพัฒนาไปเรื่อย ๆ ด้วยผลกระทบสำคัญต่อความเข้าใจและการรักษาโรคต่างๆ การจัดการ ROS อย่างมีประสิทธิภาพผ่านการแทรกแซงเฉพาะทางเป็นสิ่งที่มีความสำคัญสำหรับการพัฒนาการแพทย์และการปรับปรุงผลลัพธ์ด้านสุขภาพ (Sies & Jones, 2020)

NF- $\kappa$ B ถูกเก็บไว้ในไซโตพลาสซึมในรูปแบบที่ไม่ทำงาน โดยถูกยับยั้งด้วย I $\kappa$ B โปรตีน เมื่อเซลล์ได้รับสัญญาณจากภายนอก (เช่น cytokines, growth factors, สารก่อการอักเสบ, และการติดเชื้อ), I $\kappa$ B kinase (IKK) จะถูกกระตุ้นและทำให้ I $\kappa$ B ถูกฟอสโฟรีเลชันและย่อยสลายโดยโปรตีเอสเมื่อ I $\kappa$ B ถูกย่อยสลาย NF- $\kappa$ B จะถูกปลดปล่อยและเคลื่อนย้ายเข้าไปในนิวเคลียสเพื่อกระตุ้นการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ บทบาทของ NF- $\kappa$ B ในการอักเสบการตอบสนองต่อการติดเชื้อ NF- $\kappa$ B กระตุ้นการแสดงออกของ cytokines pro-inflammatory เช่น IL-1 beta, IL-6 และ TNF-alpha ซึ่งเป็นตัวกลางสำคัญในการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อ การควบคุมการอักเสบเรื้อรัง NF- $\kappa$ B มีบทบาทสำคัญในโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบเรื้อรัง เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจ, และโรคเมตาบอลิก มีการตอบสนองแบบวงจรป้อนกลับเชิงบวก (positive feedback loop) ที่ทำให้การอักเสบยืดเยื้อและรุนแรงขึ้น ความสัมพันธ์ระหว่าง NF- $\kappa$ B และ ROS โดย ROS สามารถกระตุ้นการทำงานของ NF- $\kappa$ B ผ่านการกระตุ้น IKK ซึ่งทำให้เกิดการย่อยสลายของ I $\kappa$ B ในทางกลับกัน NF- $\kappa$ B สามารถควบคุมระดับของ ROS โดยการกระตุ้นการแสดงออกของเอนไซม์ antioxidant เช่น superoxide dismutase (SOD) และ catalase (Liu et al., 2017)

การต้านการอักเสบ (Anti-inflammation) คือการลดหรือยับยั้งกระบวนการอักเสบในร่างกาย ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของระบบภูมิคุ้มกันที่มีเป้าหมายในการปกป้องร่างกายจากสิ่งต่างๆ ที่อาจ

ก่อให้เกิดอาการอักเสบ การอักเสบเป็นกระบวนการที่สำคัญในการด้านการระบาดของสารต่างๆ ที่เป็นอันตรายหรือภาวะที่ไม่ปกติในร่างกาย แต่ถ้ามีการอักเสบมากเกินไปหรือไม่สามารถควบคุมได้ เช่น เมื่อระบบภูมิคุ้มกันทำงานผิดปกติ อาจทำให้เกิดภาวะอักเสบที่รุนแรงและก่อให้เกิดอาการที่เสียหายในเนื้อเยื่อหรืออวัยวะ ดังนั้นการใชยาต้านอักเสบจึงเป็นวิธีหนึ่งในการช่วยควบคุมอาการอักเสบในร่างกาย เพื่อลดความรุนแรงและป้องกันความเสียหายในเนื้อเยื่อ อวัยวะ หรือระบบต่างๆ ในร่างกาย (Baek, Park, Kang, & Park, 2020) เนื่องจากภาวะการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันมีสาเหตุจากการที่ปอดมีการอักเสบเกิดขึ้น ในงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นไปที่การด้านการอักเสบที่เกิดขึ้นบริเวณเซลล์ปอดโดยการศึกษาผลกระทบของสารที่มีความสามารถในการต้านการอักเสบ โดยที่ทำการสร้างแบบจำลองของเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบขึ้นมาแล้วทำการนำสารทดสอบที่มีความสามารถในการต้านการอักเสบมาใช้ทดสอบกับแบบจำลองเพื่อด้านการอักเสบที่เกิดขึ้น ในการวิจัยนี้เพื่อเป็นหนทางในการพัฒนาแนวทางที่จะใช้ในการรักษาหรือป้องกันการเกิดภาวะการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันในผู้ป่วยหรือผู้ที่อยู่ในสถานะเสี่ยงที่อาจพบได้มากขึ้นในสภาวะสังคม

## คำรับสมุนไพรรไทย

คำรับสมุนไพรรไทยเป็นระบบการใช้สมุนไพรรแบบดั้งเดิมที่มีการใช้ประจำในประเทศไทยมาก่อนโบราณ มีลักษณะการใช้งานและการสร้างสูตรที่เป็นเอกลักษณ์ เชื่อมโยงกับประเพณีและวัฒนธรรมของชาติไทย คำรับสมุนไพรรไทยมักจะใช้สมุนไพรรที่มีรสชาติ กลิ่น และคุณสมบัติทางการแพทย์ที่มีประโยชน์ต่อการรักษาโรคหรือสุขภาพอย่างได้ผล โดยมีขั้นตอนการเตรียมและใช้งานอย่างถูกต้องตามวิธีการที่ได้รับการสืบทอดมาตั้งแต่สมัยโบราณการสร้างคำรับสมุนไพรรไทยมักจะเน้นการผสมผสานสมุนไพรรหลายชนิดให้เข้ากันอย่างเหมาะสม เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคหรือส่งเสริมสุขภาพ การเตรียมคำรับสมุนไพรรไทยนั้นมีขั้นตอนที่รอบคอบ เริ่มตั้งแต่การเลือกใช้สมุนไพรรที่มีคุณภาพมีประสิทธิภาพ การหมักผสม การใช้งาน และการเก็บรักษาตามหลักการของการแพทย์แผนไทยที่มีความรู้เชี่ยวชาญและประสบการณ์ มีการใช้สมุนไพรรมากมายในการรักษาอาการต่าง ๆ สำหรับความเชื่อของคนไทยต่อคำรับสมุนไพรรไทย มักมีความเชื่อมั่นในความปลอดภัยและประสิทธิภาพของสมุนไพรรที่เป็นส่วนประกอบของคำรับนั้น ซึ่งถือเป็นส่วนหนึ่งของวัฒนธรรมและการรักษาโรคแบบไทยโบราณที่มีความหลากหลายและเป็นเอกลักษณ์ที่น่าสนใจอย่างมาก

### เคอร์ร่า (Kerra)

เคอร์ร่า เป็นยาสมุนไพรที่พัฒนามาจากตำรับสมุนไพรไทยโบราณซึ่งใช้เป็นยาแผนโบราณสำหรับลดไข้ เคอร์ร่า ประกอบด้วยพืชสมุนไพร 9 ชนิด ได้แก่ แก่นจันทน์ขาว, แก่นจันทน์แดง, หัวคล้า, รากผักข้าว, รากสะแก, รากกระทิงหมาบ้า, รากมะนาว, เถาย่านาง และเถาบอระเพ็ด พืชสมุนไพรแต่ละชนิดได้รับการกล่าวถึงในตำรับสมุนไพรไทยว่ามีศักยภาพสำคัญในการรักษาโรคมาเร็ง (Bulle, Reddyvari, Nallanchakravarthula, & Vaddi, 2016) (Hossain et al., 2012) (Santha & Dwivedi, 2015)

### เคเอส (KS)

เคเอส เป็นตำรับสมุนไพรไทยที่อาศัยความรู้ทางการแพทย์โบราณ ผลิตภัณฑ์ของ KS มีส่วนประกอบจากพืชสมุนไพรซึ่งประกอบด้วยส่วนประกอบของพืชทั้งหมด 20 ชนิด ได้แก่ ดีปลี, ขิง, ขะพลู่, สะค้าน, เติมุลเพลิงแดง, โคลาน, กำลังวัวเถลิง, เถาวัลย์เปรียง, พริกไทย, ไม้กระเทียมโรง, กระชาย, แสมสาร, จี่เหล็ก, ไพล, การบูร, จันทน์เทศหอม, กานพลู, ว่านน้ำ, กะทือ, และกระวาน พืชสมุนไพรแต่ละชนิดในเคเอสมีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาผ่านกลไกต่างๆ อาจให้ประโยชน์ในการรักษาทางยา ตัวอย่างเช่น ขิง มีฤทธิ์ด้านการอักเสบที่มีลักษณะทางเภสัชวิทยาคล้ายกับยาแก้อักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ ที่ได้รับการบันทึกไว้ก่อนหน้านี้เกี่ยวกับผลทางเภสัชวิทยาต่างๆ เช่น ฤทธิ์ด้านการอักเสบและต้านมาเร็ง (Bischoff-Kont & Furst, 2021)

### ไมโนซ่า (Minoza)

ไมโนซ่า เป็นอีกหนึ่งตำรับสมุนไพรไทยที่มีส่วนประกอบของสมุนไพรหลายชนิด ประกอบด้วยส่วนประกอบของพืช 6 ชนิด ได้แก่ หนุ่ยปากกิ้ง, ข้าวเย็นเหนือ, สิริธรวัลลี, มะพอก, ว่านหางจระเข้ และ เขยตาย ส่วนประกอบแต่ละอย่างเหล่านี้แสดงคุณลักษณะที่แตกต่างกันและแสดงผลทางเภสัชวิทยาซึ่งใช้สำหรับการรักษาแบบดั้งเดิมของการล้างพิษ ยาระบาย ยาลดไข้ องค์ประกอบทางเคมีของพืชเหล่านี้ประกอบด้วยฟีนอล ฟลาโวนอยด์ แทนนิน อัลคาลอยด์ และสเตียรอยด์ ซึ่งมีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ เพิ่มภูมิคุ้มกัน และฤทธิ์ต้านมาเร็งผ่านกลไกต่างๆ รวมถึงการตายของเซลล์ และการขับอนุมูลอิสระ (Nian et al., 2020) (Yam et al., 2010) (X. Li et al., 2022)

## บทที่ 3 ระเบียบวิธีการวิจัย

### อุปกรณ์และสารเคมี

#### อุปกรณ์

1. ตู้บ่มเซลล์
2. ตู้ปลอดเชื้อ
3. เครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท
4. เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม
5. เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในสภาพจริง
6. เครื่องถ่ายและวิเคราะห์ภาพเจล
7. เครื่องปั่นเหวี่ยง
8. เครื่องวัดความเข้มข้นสารปริมาณน้อย
9. เคลื่อนย้ายสารพันธุกรรมแบบกึ่งแห้ง

#### สารเคมี

1. ชุดสกัดสารพันธุกรรมชนิดอาร์เอ็นเอ
2. ชุดสังเคราะห์ซีดีเอ็นเอจากตัวอย่างอาร์เอ็นเอ
3. ชุดเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในสภาพจริง
4. แอนติบอดีต่อ IL-6 (AB9324)
5. แอนติบอดีต่อ IL-8 (AB18672)
6. แอนติบอดีต่อ TNF-alpha (AB6671)
7. แอนติบอดีต่อ IL-10 (NB300-221)
8. แอนติบอดีต่อ GAPDH (NB300-221)
9. ชุดน้ำยา Griess Reagent
10. RIPA buffer
11. MTT Reagent (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide)
12. H<sub>2</sub>DCFDA (2,7-Dichlorodihydrofluorescein diacetate)

## สารทดสอบ

ตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบมี 3 ชนิด ได้แก่ 1. ตำรับสมุนไพรรเคอร์รา (Kerra extract), 2. ตำรับสมุนไพรมโนซ่า (Minoza extract) และ 3. ตำรับสมุนไพรรเคอส (KS extract) ละลายด้วย Dimethyl sulfoxide (DMSO)

## วิธีดำเนินการวิจัย

### 1. การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (MTT assay) ของตำรับสมุนไพรรไทย

เพาะเลี้ยงเซลล์บนจานเพาะเลี้ยงเซลล์ ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), 10% Fetal Bovine serum (FBS), 1% Antibiotics และ 1% Glutamine ในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 5% คาร์บอนไดออกไซด์ ในระหว่างการเพาะเลี้ยงทำการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุก ๆ 2 วัน จากนั้นนำเซลล์มาเลี้ยงในถาดหลุมชนิด 96 หลุม ที่ความหนาแน่นเซลล์ แล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติมน้ำอาหารที่เลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนประกอบของสารทดสอบที่มีความเข้มข้น 1, 10 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรแล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการเติม MTT reagent ที่ความเข้มข้นสุดท้าย 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ดูค่าอาหารเลี้ยงเซลล์ออกทั้งหมด แล้วทำการเติม DMSO และวัดค่าดูดกลืนแสงด้วย Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 570/630 นาโนเมตร ทำการทดสอบเป็นจำนวน 3 ซ้ำและทำการวิเคราะห์ทางสถิติ

### 2. การทดสอบความสามารถในการต้านการอักเสบของสารทดสอบต่อเซลล์แมคโครฟาจ (RAW264.7 cells) ด้วยการวัดปริมาณของไนตริกออกไซด์ (Griess test)

เลี้ยงเซลล์แมคโครฟาจในถาดหลุมชนิด 96 หลุม ที่ความหนาแน่นเซลล์  $1 \times 10^5$  เซลล์ต่อหลุมแล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติมน้ำอาหารที่เลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนประกอบของสารทดสอบที่มีความเข้มข้น 1, 10 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 5%

คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทำการเติมลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์ที่มีความเข้มข้นสุดท้าย 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร แล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ออกมาปริมาณ 25 ไมโครลิตร แล้วทำการเติม Sulfanilamide reagent ปริมาตร 25 ไมโครลิตร แล้วบ่มในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงเติม NED reagent ปริมาตร 25 ไมโครลิตร แล้วบ่มในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที และวัดค่าดูดกลืนแสงด้วย Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ทำการทดสอบเป็นจำนวน 3 ซ้ำและทำการวิเคราะห์ทางสถิติ

### 3. การสร้างแบบจำลองเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์

ทำการเลี้ยงเซลล์ A549 ถาดหลุมชนิด 96 หลุม ที่ความหนาแน่นเซลล์  $7 \times 10^3$  เซลล์ต่อหลุม แล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออกแล้วเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มี 1% FBS และ 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตรของลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์ แล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออกแล้วทำการล้างเซลล์ในหลุมด้วย PBS 1 ครั้ง จากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออกแล้วเติมสาร  $H_2DCFDA$  ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ แล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมงแล้วจึงทำการวัดค่าดูดกลืนแสงด้วย Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 485/528 นาโนเมตร และทำการวิเคราะห์ผลที่ได้ด้วยวิธีการทางสถิติ

### 4. การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระออกซิเจนของสารทดสอบต่อเซลล์ปอด (ROS Assay) ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์

ทำการเลี้ยงเซลล์ A549 ถาดหลุมชนิด 96 หลุม ที่ความหนาแน่นเซลล์  $7 \times 10^3$  เซลล์ต่อหลุม แล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออกแล้วเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มี 1% FBS และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิตรของลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์ แล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออกแล้วทำการล้างเซลล์ในหลุมด้วย PBS 1 ครั้ง จากนั้นทำการบ่มด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนประกอบ

ของสารทดสอบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออกแล้วเติมสาร  $H_2DCFDA$  ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ แล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมงแล้วจึงทำการวัดค่าดูดกลืนแสงด้วย Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 485/528 นาโนเมตร และทำการวิเคราะห์ผลที่ได้ด้วยวิธีการทางสถิติ

## 5. การแสดงออกของโปรตีน

### 5.1 การสกัดโปรตีน

ทำการเลี้ยงเซลล์ A549 ในถาดหลุมชนิด 6 หลุม ที่ความหนาแน่นเซลล์  $3.5 \times 10^5$  เซลล์ต่อหลุมแล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออกแล้วทำการเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มี 1% FBS และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิตรของลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์ แล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการบ่มด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนประกอบของสารทดสอบมีความเข้มข้นตามที่ต้องการใช้ทดสอบแล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออกแล้วทำการล้างเซลล์ในหลุมด้วย Cold PBS จำนวน 1 ครั้งแล้วดูดทิ้ง เติมน้ำ RIPA lysis buffer ลงในหลุมแล้วทำการแช่ในน้ำแข็งเป็นเวลา 30 นาที ทำการแบ่งใส่หลอดขนาด 1.5 มิลลิตร เพื่อเตรียมนำไปใช้ในการทำ SDS-PAGE

### 5.2 SDS-PAGE

นำโปรตีนที่สกัดได้มาทำการวัดปริมาณโปรตีนด้วย BCA Assay โดยการนำโปรตีนผสมกับสารละลาย BCA working reagent แล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที วัดความเข้มข้นโดยการวัดค่าดูดกลืนแสงด้วย Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร โดยใช้ BSA (Bovine serum albumin) เป็นโปรตีนมาตรฐาน ทำการวิเคราะห์ผลที่ได้ด้วยวิธีการทางสถิติแล้วทำการปรับปริมาณโปรตีนที่ได้ให้มีค่าเท่ากัน นำโปรตีนที่ถูกปรับแล้วทำการเติมด้วย SDS loading dye แล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็น

เวลา 5 นาที ทำการหยอดตัวอย่างลงในแผ่นเจล SDS-PAGE แล้วทำการรันเจล หลังจากรันเจลเสร็จ นำเจลที่ได้เตรียมนำไปทำ Western blot ต่อไป

### 5.3 Western blot

ทำการ Transfer โปรตีนจากเจล SDS-PAGE ลงใน Nitrocellulose membrane จากนั้นนำแผ่นเมมเบรนที่ได้แช่ลงใน 3% BSA เพื่อทำการ Protein Blocking เป็นเวลา 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง เท 3% BSA ทิ้งแล้วนำแผ่นเมมเบรนมาล้างด้วย PBST 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที นำแผ่นเมมเบรนแช่ลงใน Primary antibody ที่เจือจางใน PBST เป็นเวลา 1 คืนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำแผ่นเมมเบรนมาล้างด้วย PBST 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที แล้วนำแผ่นเมมเบรนแช่ลงใน Secondary antibody ที่เจือจางใน PBST เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำแผ่นเมมเบรนมาล้างด้วย 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที แล้วจึงแช่แผ่นเมมเบรนลงในสารละลายสับสเตรท HRP substrate แล้วทำการวัดผลด้วยเครื่อง Gel-documentation แล้วจึงนำไปวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม ImageJ

## 6. การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ (qPCR)

ทำการเลี้ยงเซลล์ A549 ในถาดหลุมชนิด 6 หลุม ที่ความหนาแน่นเซลล์  $3.5 \times 10^5$  เซลล์ต่อหลุม แล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูแลอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออกแล้วทำการเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มี 1% FBS และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิตรของลิโพโพลีแซคคาไรด์ แล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการบ่มด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนประกอบของสารทดสอบมีความเข้มข้นตามที่ต้องการใช้ทดสอบแล้วทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูแลอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออกแล้วทำการล้างเซลล์ในหลุมด้วย PBS จำนวน 2 ครั้งแล้วดูดทิ้ง จากนั้นทำการเติม TRIzol reagent ปริมาณ 500 ไมโครลิตร ลงในถาดหลุมชนิด 6 หลุม แล้วบ่มทิ้งไว้ 5 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการเติม Chloroform ปริมาณ 200 ไมโครลิตรแล้วทำการเขย่าแรง ๆ 30 วินาทีหรือใช้ Vortex จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 นาที ทำการปั่นเหวี่ยงด้วย เครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นจะสังเกตได้ว่าสารสกัดแบ่งออกเป็น 3 ชั้น คือ ชั้นล่างสุดเป็นส่วนของ Organic phase เช่น ไขมัน, ชั้นกลางเป็นส่วนของ Interphase เช่น DNA และโปรตีน และชั้นบนคือส่วนของ Aqueous phase คือ RNA ทำการดูด



ส่วนใสด้านบนไปยังหลอด 1.5 มิลลิลิตรหลอดใหม่และทำการตกตะกอนด้วย Isopropanol ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ของส่วนใสและทำการบ่มที่อุณหภูมิ -20 หรือ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 30 นาทีถึง 1 ชั่วโมง ทำการปั่นเหวี่ยงด้วย เครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วทำการทิ้งส่วนเหนือตะกอน แล้วทำการล้างตะกอน RNA ด้วย 70-75% เอทานอล และนำไปปั่นเหวี่ยงด้วย เครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วทำการทิ้งส่วนเหนือตะกอน แล้วปล่อยให้แห้งเป็นเวลา 5-10 นาทีที่อุณหภูมิห้องแล้วจึงทำการละลายตะกอน RNA ด้วยน้ำ DEPC-treated หรือน้ำ RNase free แล้วจึงนำไปวัดความเข้มข้นของ RNA ด้วยเครื่อง Nanodrop Spectrophotometer จากนั้นทำการเปลี่ยน RNA ไปเป็น cDNA (Complementary DNA) โดยการใช้ เอนไซม์ Reverse Transcriptase ที่ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที การศึกษาการแสดงออกของยีนจะดำเนินการโดยใช้เทคนิค qPCR โดยใช้ SYBRGreen ในการตรวจจับ สำหรับไพรเมอร์เฉพาะที่ใช้ในการพิจารณา IL-6, IL-8, TNF-alpha และ GAPDH ใน qPCR ได้รับการออกแบบโดยใช้ Primer-BLAST จาก NCBI

**ตารางที่ 1** ลำดับเบสนิวคลีโอไทด์ไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษาด้วยเทคนิค qPCR

| ยีน              | ลำดับเบส (5'→ 3')                                                                 |
|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| <b>GAPDH</b>     | <b>Forward:</b> CTCGTGGAGTCTACTGGT<br><b>Reverse:</b> GACATCATACTTGGCAGG          |
| <b>IL-6</b>      | <b>Forward:</b> ACCCCCAATAAAATATAGGACTGGA<br><b>Reverse:</b> ATTTGCCGAAGAGCCCTCAG |
| <b>IL-8</b>      | <b>Forward:</b> GCACTCCATAAGGCACAACTT<br><b>Reverse:</b> CTTGGCAAACTGCACCTTCAC    |
| <b>TNF-alpha</b> | <b>Forward:</b> GCTGCACTTTGGAGTGATCG<br><b>Reverse:</b> GCTTGAGGGTTTGCTACAACA     |

## 7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-Way ANOVA) ที่ระดับนัยสำคัญ  $p < 0.05$

### ตารางแผนงานวิจัย

| ขั้นตอนการทำงาน                | เดือน |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
|--------------------------------|-------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
|                                | 1     | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| วางแผนการดำเนินการวิจัย        |       |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
| เตรียมวัสดุอุปกรณ์             |       |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
| ดำเนินการทดสอบ                 |       |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
| ประมวลผล/วิเคราะห์ข้อมูล       |       |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
| สรุปผลและเขียนรายงานผลการวิจัย |       |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |

## บทที่ 4 ผลการทดลอง

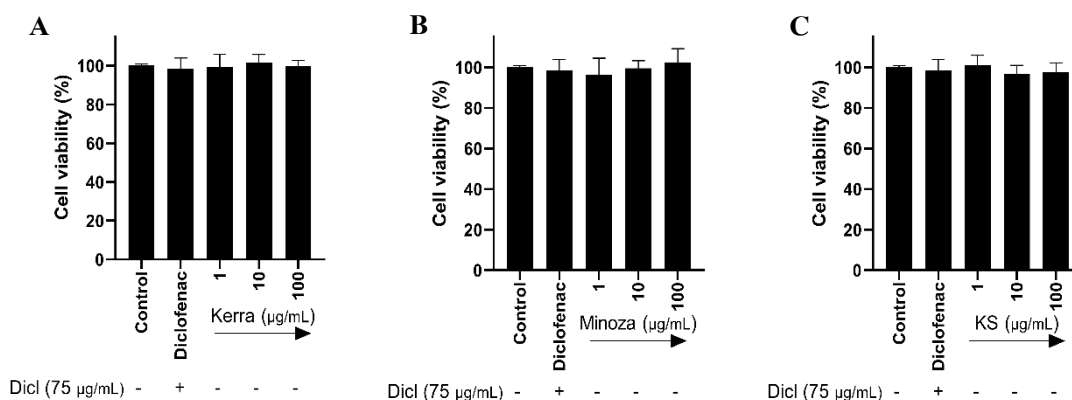
### สารทดสอบ

การเตรียมตัวอย่างตำรับสมุนไพรโดยใช้เกณฑ์การเลือกจากความนิยมที่นำมาใช้ในการรักษาโรคต่างๆ ตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบมี 3 ชนิด ได้แก่ 1. ตำรับสมุนไพรไทยเคอร์ร่า (Kerra extract), 2. ตำรับสมุนไพรไทยไมโนซ่า (Minoza extract) และ 3. ตำรับสมุนไพรไทยเคเอส (KS extract) ละลายด้วย 0.1% DMSO

### ผลการทดลอง

#### 1. การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (MTT assay) ของตำรับสมุนไพรไทยต่อเซลล์แมคโครฟาจ (RAW264.7 cells)

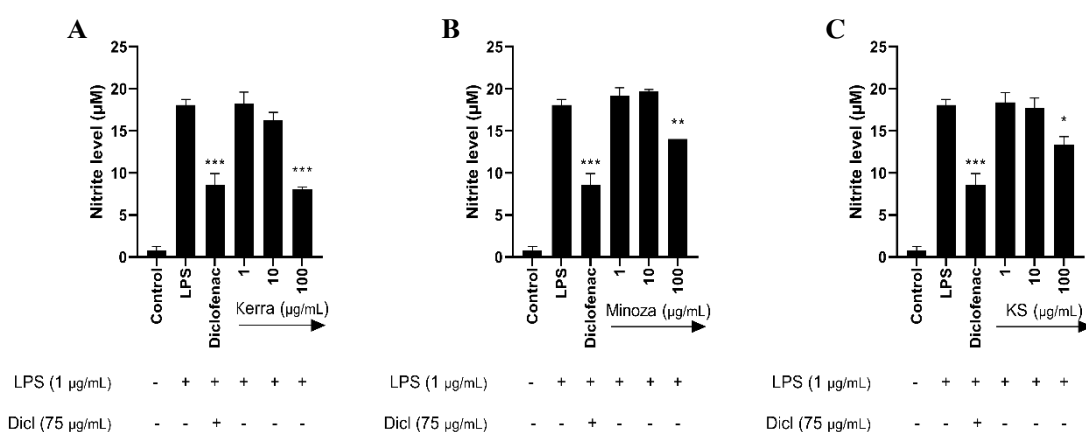
จากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของตำรับสมุนไพรไทยต่อเซลล์แมคโครฟาจ ตำรับสมุนไพรไทยเคอร์ร่า (A) ตำรับสมุนไพรไทยไมโนซ่า (B) และตำรับสมุนไพรไทยเคเอส (C) ที่ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทำการทดสอบกับเซลล์แมคโครฟาจ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าตำรับสมุนไพรไทยทุกความเข้มข้นไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์แมคโครฟาจ และมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ความเป็นพิษของตำรับสมุนไพรไทยเคอร์ร่า ตำรับสมุนไพรไทยไมโนซ่า และตำรับสมุนไพรไทยเคเอส ต่อเซลล์แมคโครฟาจ (RAW264.7 cells) ผลแสดงออกในรูปของค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

## 2. การทดสอบความสามารถในการต้านการอักเสบของสารทดสอบต่อเซลล์แมคโครฟาจ (RAW264.7 cells) ด้วยการวัดปริมาณของไนตริกออกไซด์ (Griess test)

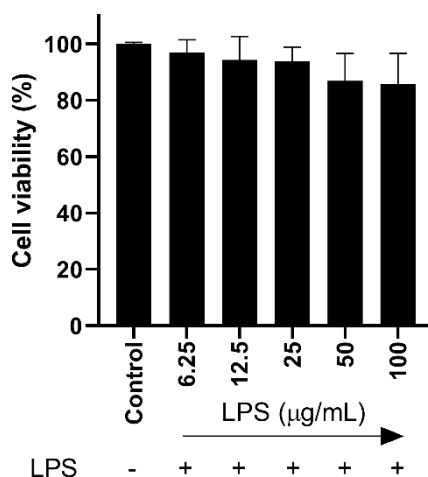
ในการทดสอบความสามารถในการต้านการอักเสบของสารทดสอบต่อเซลล์แมคโครฟาจ ตำรับสมุนไพรไทยเคอร์ร่า (A) ตำรับสมุนไพรไทยไมโนซ่า (B) และตำรับสมุนไพรไทยเคเอส (C) ที่ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทำการทดสอบกับเซลล์แมคโครฟาจ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าตำรับสมุนไพรไทยทั้ง 3 ชนิดเมื่อมีความเข้มข้นของสารอยู่ที่ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่งผลให้ปริมาณไนตริกออกไซด์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยพบว่าปริมาณของไนตริกออกไซด์จะมีความเข้มข้นอยู่ที่  $8.06 \pm 0.23$ ,  $14.03$  และ  $13.39 \pm 0.91$  ไมโครโมลาร์ จากความเข้มข้นสูงที่สุดที่  $18.07 \pm 0.68$  ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ (ภาพที่ 3) จากการทดสอบนี้จึงแสดงให้เห็นว่าตำรับสมุนไพรไทยทั้ง 3 ชนิดมีความเหมาะสมที่จะนำไปทดสอบการต้านการอักเสบในเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบต่อไปได้



ภาพที่ 3 ปริมาณของไนตริกออกไซด์หลังจากผ่านการบ่มด้วย ตำรับสมุนไพรไทยเคอร์ร่า ตำรับสมุนไพรไทยไมโนซ่า และตำรับสมุนไพรไทยเคเอสทำการวัดปริมาณด้วย Griess test ผลแสดงออกในรูปของค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

### 3. การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (MTT assay) ของลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์ต่อเซลล์ปอด (A549 cells)

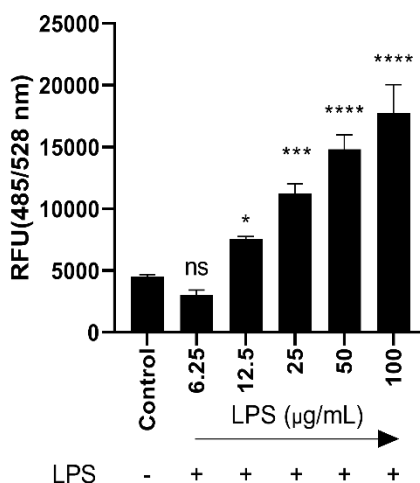
จากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ปอดของลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์ โดยทดสอบด้วยลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์ที่ความเข้มข้น 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทำการทดสอบกับเซลล์ปอด เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์ทุกความเข้มข้นไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ปอด และมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 ความเป็นพิษของลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์ต่อเซลล์ปอด (A549 cells) ผลแสดงออกในรูปแบบของค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

#### 4. การทดสอบความสามารถในการเพิ่มปริมาณอนุมูลอิสระออกซิเจนของเซลล์ปอด (ROS Assay) ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์

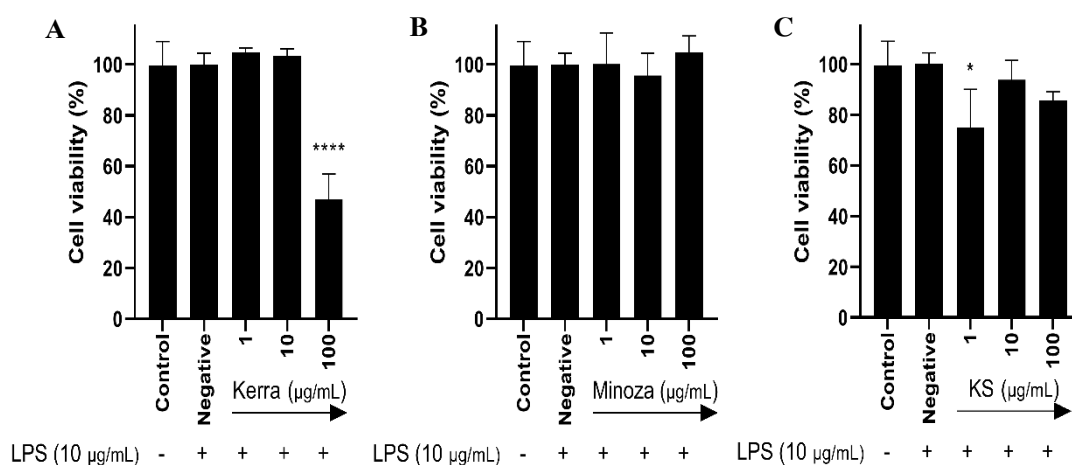
จากการความสามารถในการเพิ่มปริมาณอนุมูลอิสระออกซิเจนของเซลล์ปอด (ROS Assay) ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์ ที่ความเข้มข้น 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทำการทดสอบกับเซลล์ปอด เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเมื่อใช้ ลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์ ที่ความเข้มข้น 6.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของ ปริมาณอนุมูลอิสระออกซิเจน มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ กลุ่มควบคุม ขณะที่เมื่อใช้ลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์ ที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 100 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร มีแนวโน้มที่ปริมาณของอนุมูลอิสระออกซิเจนจะเพิ่มขึ้นได้ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น อย่างมีนัยสำคัญมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 5) จาก การศึกษาเพิ่มเติมพบการรายงานว่าเมื่อใช้ลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์ ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร ก็มีความสามารถเพียงพอที่จะนำไปใช้ในการสร้างแบบจำลองเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้ เกิดการอักเสบได้ จะเห็นได้ว่ามีผลสอดคล้องกันกับผลการทดสอบจึงมทำการเลือกใช้ลิโปโพลี แซคคาร์ไรด์ ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในการทดสอบต่อไป



ภาพที่ 5 แสดงค่า Relative Fluorescence Units (RFU) ปริมาณอนุมูลอิสระออกซิเจนของเซลล์ปอด ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโปโพลีแซคคาร์ไรด์ ผลแสดงออกในรูปของ ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

## 5. การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (MTT assay) ของตำรับสมุนไพรไทยต่อเซลล์ปอด (A549 cells) ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโปโพลีแซคคาไรด์

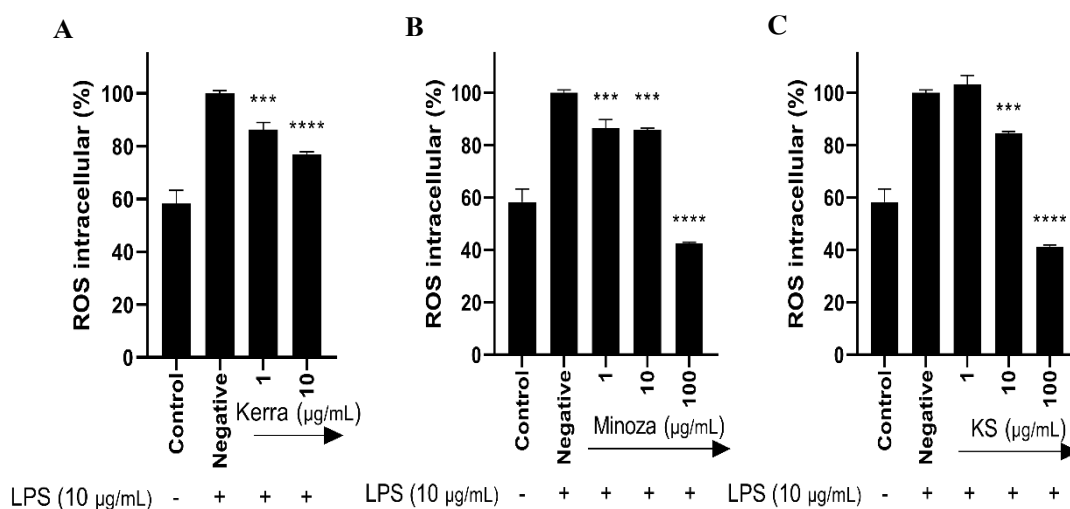
จากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของตำรับสมุนไพรไทยต่อเซลล์ปอด ตำรับสมุนไพรไทยเคอร์ร่า (A) ตำรับสมุนไพรไทยไมโนซ่า (B) และตำรับสมุนไพรไทยเกส (C) ที่ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทำการทดสอบกับเซลล์ปอด เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าตำรับสมุนไพรไทยเคอร์ร่าที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและตำรับสมุนไพรไทยเกสที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีความเป็นพิษต่อเซลล์อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่ตำรับสมุนไพรไทยเคอร์ร่า ตำรับสมุนไพรไทยไมโนซ่า และตำรับสมุนไพรไทยเกสที่มีความเข้มข้นนอกเหนือจากข้างต้นไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ปอดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 6) จากผลการทดสอบเนื่องจากตำรับสมุนไพรไทยเคอร์ร่าที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์สูงจึงไม่ถูกนำมาทดสอบต่อไป เพราะจะส่งผลให้ผลที่ได้ไม่มีความถูกต้องเนื่องจากจำนวนของเซลล์ที่ใช้ทดสอบลดลงขณะที่ได้รับการบ่มสาร



ภาพที่ 6 ความเป็นพิษของตำรับสมุนไพรไทยเคอร์ร่า ตำรับสมุนไพรไทยไมโนซ่า และตำรับสมุนไพรไทยเกส ต่อเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโปโพลีแซคคาไรด์ ผลแสดงออกในรูปของค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

## 6. การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระออกซิเจนของสารทดสอบต่อเซลล์ปอด (ROS Assay) ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโปโพลีแซคคาไรด์

จากการความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระออกซิเจนของสารทดสอบต่อเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโปโพลีแซคคาไรด์ ดำรับสมุนไพรรักษา (A) ดำรับสมุนไพรรักษา (B) และดำรับสมุนไพรรักษา (C) ที่ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทำการทดสอบกับเซลล์ปอด เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าดำรับสมุนไพรรักษาทั้ง 3 ชนิด มีแนวโน้มในการลดปริมาณของอนุมูลอิสระออกซิเจนได้ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นได้อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยดำรับสมุนไพรรักษา ดำรับสมุนไพรรักษา และดำรับสมุนไพรรักษา ที่ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทำการทดสอบ จะมีร้อยละของอนุมูลอิสระออกซิเจนอยู่ที่  $86.31 \pm 2.63$ ,  $77.03 \pm 0.81$  และ  $37.48 \pm 0.50$  สำหรับดำรับสมุนไพรรักษา ร้อยละของอนุมูลอิสระออกซิเจนอยู่ที่  $86.59 \pm 3.133$ ,  $85.83 \pm 0.69$  และ  $42.59 \pm 0.39$  สำหรับดำรับสมุนไพรรักษา และร้อยละของอนุมูลอิสระออกซิเจนอยู่ที่  $103.18 \pm 3.45$ ,  $84.45 \pm 0.82$  และ  $41.30 \pm 0.59$  สำหรับดำรับสมุนไพรรักษา ตามลำดับ (ภาพที่ 7)



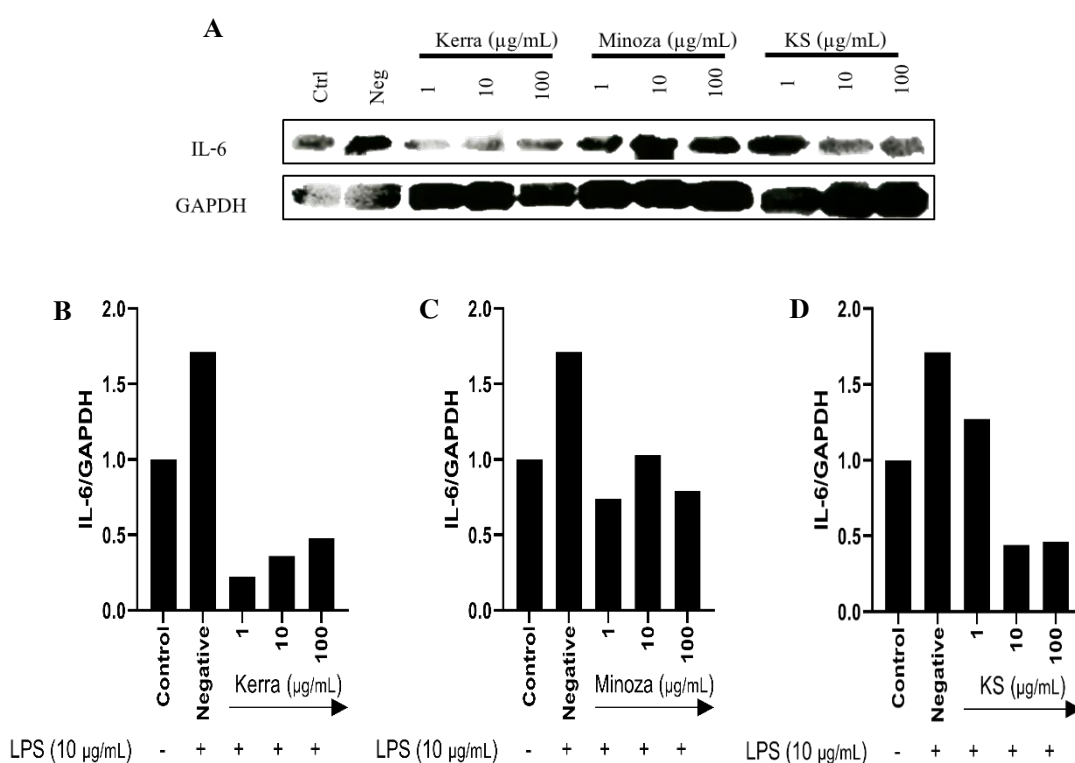
ภาพที่ 7 ร้อยละของอนุมูลอิสระออกซิเจน (ROS) ทำการวัดปริมาณด้วย ROS assay ผลแสดงออกในรูปของค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน



## 7. การทดสอบความสามารถในการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบของสารทดสอบต่อเซลล์ปอด (Western blot) ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโปลิแซคคาร์ไรต์

### 7.1 การแสดงออกของโปรตีน Interleukin 6 (IL-6)

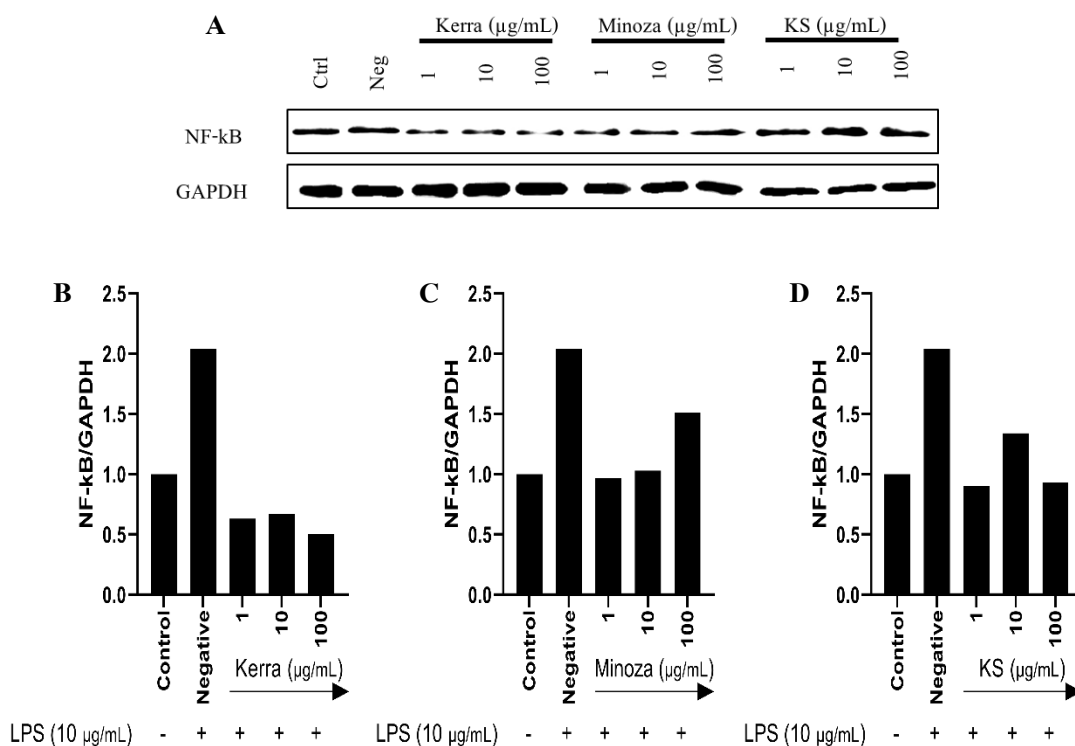
การทดสอบความสามารถในการแสดงออกของโปรตีน IL-6 ของเซลล์ปอดถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโปลิแซคคาร์ไรต์ เพื่อยืนยันผลการทดสอบว่าเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบเมื่อได้ถูกทดสอบกับ ตำรับสมุนไพรรักษาโรคหอบหืด (B) ตำรับสมุนไพรรักษาโรคหอบหืด (C) และตำรับสมุนไพรรักษาโรคหอบหืด (D) จะส่งผลให้มีการแสดงออกของโปรตีน IL-6 เปลี่ยนไป โดยพบว่าตำรับสมุนไพรรักษาโรคหอบหืดทั้ง 3 ชนิดเมื่อนำมาทดสอบแสดงให้เห็นว่ามีความสามารถที่จะส่งผลให้โปรตีน IL-6 มีแนวโน้มการแสดงออกลดลง โดยที่ตำรับสมุนไพรรักษาโรคหอบหืดมีความสามารถในการลดปริมาณโปรตีน IL-6 ได้ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 การแสดงออกของโปรตีน IL-6 หลังจากผ่านการบ่มด้วย ตำรับสมุนไพรรักษาโรคหอบหืด ตำรับสมุนไพรรักษาโรคหอบหืด และตำรับสมุนไพรรักษาโรคหอบหืด

## 7.2 การแสดงออกของโปรตีน Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF-kB)

การทดสอบความสามารถในการแสดงออกของโปรตีน NF-kB ของเซลล์ปอดถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโพโพลีแซคคาไรด์ เพื่อยืนยันผลการทดสอบว่าเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบเมื่อได้ถูกทดสอบกับ ตำรับสมุนไพรไทยเคอร์ร่า (B) ตำรับสมุนไพรไทยไมโนซ่า (C) และตำรับสมุนไพรไทยเกส (D) จะส่งผลให้มีการแสดงออกของโปรตีน NF-kB เปลี่ยนไป โดยพบว่าตำรับสมุนไพรไทยทั้ง 3 ชนิดเมื่อนำมาทดสอบแสดงให้เห็นว่ามีความสามารถที่จะส่งผลให้โปรตีน NF-kB มีแนวโน้มการแสดงออกลดลง โดยที่ตำรับสมุนไพรไทยเคอร์ร่ามีความสามารถในการลดปริมาณโปรตีน NF-kB ได้ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 9) ในการทดลองครั้งนี้ได้มีการตรวจสอบการแสดงออกของโปรตีนทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ IL-6, IL-8, TNF-alpha และ IL-10 แต่การแสดงออกของโปรตีน IL-8, TNF-alpha และ IL-10 ไม่ได้ผล ซึ่งอาจเกิดจากหลายปัจจัย เช่น คุณภาพของแอนติบอดี, การเตรียมตัวอย่างโปรตีน หรือสภาพแวดล้อมในการทดลอง เป็นต้น ข้อจำกัดและปัญหาที่พบในงานวิจัยนี้จะถูกนำไปพิจารณาและปรับปรุงในการทดลองครั้งต่อไป



**ภาพที่ 9** การแสดงออกของโปรตีน NF-kB หลังจากผ่านการบ่มด้วย คำรับสมุนไพรรักษาโรคเรื้อรัง คำรับสมุนไพรรักษาโรคเรื้อรัง และคำรับสมุนไพรรักษาโรคเรื้อรัง

### 8. การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ (qPCR)

ในการทดลองนี้ได้ทำการตรวจสอบการแสดงออกของยีนต่างๆ โดยใช้วิธี qPCR โดยมี GAPDH เป็นยีนอ้างอิงสำหรับการปรับเทียบค่าการแสดงออกของยีนอื่นๆ ผลการทดลองสามารถสรุปได้ดังนี้ Cycle Quantification (Cq) ของ GAPDH ไม่สามารถตรวจวัดผลได้ ไม่มีการตรวจพบค่า Ct ที่ชัดเจนจากการทดลอง qPCR ในตัวอย่างที่ทดสอบ เนื่องจากไม่สามารถหาค่า Cq ของ GAPDH ได้ ทำให้ไม่สามารถทำการปรับเทียบและคำนวณค่าการแสดงออกของยีนเป้าหมายอื่นๆ ได้อย่างถูกต้อง รวมไปถึงการแสดงออกในยีนที่ทำการทดลอง ได้แก่ ยีน IL-6, IL-8 และ TNF-alpha ในบางตัวอย่างที่ทดสอบไม่สามารถวัดผลได้

**ตารางที่ 2** การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ (qPCR)

| Sample Name      | Target Name | Cq Mean |
|------------------|-------------|---------|
| Control          | GAPDH       | -       |
| Negative         | GAPDH       | -       |
| Kerra 1 µg/mL    | GAPDH       | -       |
| Kerra 10 µg/mL   | GAPDH       | -       |
| Kerra 100 µg/mL  | GAPDH       | -       |
| Minoza 1 µg/mL   | GAPDH       | -       |
| Minoza 10 µg/mL  | GAPDH       | -       |
| Minoza 100 µg/mL | GAPDH       | -       |
| KS 1 µg/mL       | GAPDH       | -       |
| KS 10 µg/mL      | GAPDH       | -       |
| KS 100 µg/mL     | GAPDH       | -       |
| Control          | IL-6        | -       |
| Negative         | IL-6        | 33.67   |
| Kerra 1 µg/mL    | IL-6        | 33.94   |
| Kerra 10 µg/mL   | IL-6        | 38.83   |

ตารางที่ 2 (ต่อ)

| Sample Name      | Target Name | Cq Mean |
|------------------|-------------|---------|
| Kerra 100 µg/mL  | IL-6        | 35.08   |
| Minoza 1 µg/mL   | IL-6        | 35.82   |
| Minoza 10 µg/mL  | IL-6        | 39.32   |
| Minoza 100 µg/mL | IL-6        | -       |
| KS 1 µg/mL       | IL-6        | 37.76   |
| KS 10 µg/mL      | IL-6        | 36.52   |
| KS 100 µg/mL     | IL-6        | 34.28   |
| Control          | IL-8        | 28.83   |
| Negative         | IL-8        | 24.80   |
| Kerra 1 µg/mL    | IL-8        | 25.01   |
| Kerra 10 µg/mL   | IL-8        | 25.58   |
| Kerra 100 µg/mL  | IL-8        | 25.78   |
| Minoza 1 µg/mL   | IL-8        | -       |
| Minoza 10 µg/mL  | IL-8        | 32.87   |
| Minoza 100 µg/mL | IL-8        | 23.19   |
| KS 1 µg/mL       | IL-8        | 27.20   |
| KS 10 µg/mL      | IL-8        | 26.31   |
| KS 100 µg/mL     | IL-8        | 25.20   |
| Control          | TNF-alpha   | 30.00   |
| Negative         | TNF-alpha   | 28.56   |
| Kerra 1 µg/mL    | TNF-alpha   | 28.12   |
| Kerra 10 µg/mL   | TNF-alpha   | 28.89   |
| Kerra 100 µg/mL  | TNF-alpha   | 29.59   |
| Minoza 1 µg/mL   | TNF-alpha   | 30.13   |
| Minoza 10 µg/mL  | TNF-alpha   | 33.88   |
| Minoza 100 µg/mL | TNF-alpha   | 29.12   |
| KS 1 µg/mL       | TNF-alpha   | 30.84   |

ตารางที่ 2 (ต่อ)

| Sample Name  | Target Name | Cq Mean |
|--------------|-------------|---------|
| KS 10 µg/mL  | TNF-alpha   | 30.02   |
| KS 100 µg/mL | TNF-alpha   | 29.07   |

จากผลการทดลองดังกล่าว สามารถสรุปได้ว่า การตรวจสอบค่า Cq ของ GAPDH ซึ่งเป็น ยีนอ้างอิงไม่ได้ผล ส่งผลให้ไม่สามารถคำนวณค่าการแสดงออกของยีนเป้าหมายอื่น ๆ ได้ ข้อจำกัดนี้อาจเกิดจากหลายสาเหตุ เช่น ปัญหาในกระบวนการเตรียมตัวอย่าง, ความไม่เสถียรของไพรเมอร์ที่ใช้, หรือข้อผิดพลาดในการทำ qPCR เป็นต้น ข้อจำกัดนี้จะถูกนำไปพิจารณาและปรับปรุงในการทดลองครั้งต่อไป

## บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง

การบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลัน มักเริ่มต้นด้วยการตอบสนองการอักเสบในปอดที่เกิดจากปัจจัยต่างๆ เช่น บาดเจ็บ, การติดเชื้อ, หรือการดูดซึมสารอันตรายเข้าไปในปอด การอักเสบนี้ทำให้เกิดความเสียหายในเนื้อเยื่อปอดการทำลายเนื้อเยื่อหลอดเลือดและเยื่อผนัง คนไข้ที่เป็นโรคการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันจะหายใจเร็วและลำบาก โดยมักต้องใช้เครื่องช่วยหายใจ นอกจากนี้ยังอาจแสดงภาวะทางเดินหายใจล้มเหลวเฉียบพลัน ซึ่งเป็นอาการบาดเจ็บที่ปอดอย่างรุนแรงการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันส่งผลให้ระดับออกซิเจนในเลือดต่ำเนื่องจากการแลกเปลี่ยนก๊าซในปอดบกพร่อง ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดอาการตัวเขียวและความผิดปกติของอวัยวะการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันสามารถมีผลกระทบต่อระบบนอกเหนือจากปอด รวมถึงการตอบสนองต่อการอักเสบที่ส่งผลต่ออวัยวะอื่น ๆ เช่น ไต หัวใจ และสมอง ซึ่งอาจนำไปสู่ความล้มเหลวของหลายอวัยวะในกรณีร้ายแรงการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันมีการวินิจฉัยทางคลินิกแสดงให้เห็นถึงภาวะการขาดออกซิเจน หายใจลำบากและระบบการหายใจทำงานมากขึ้น ในประเทศสหรัฐอเมริกา มีกรณีของผู้ป่วยที่เกิดภาวะการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลันเกิดขึ้นกว่า 200,000 รายต่อปี และมีอัตราการเสียชีวิตมากกว่า 10% ของการเข้ารับการรักษาในกรณีของผู้ป่วยหนัก และคิดเป็น 4% ของการรักษาในโรงพยาบาลทั้งหมด สำหรับสมุนไพรรหรือพืชที่มีคุณสมบัติทางยาและมีการใช้งานทางการแพทย์และทางวิชาการในประเทศไทยตลอดหลายร้อยปี สมุนไพรไทยเป็นส่วนสำคัญของวัฒนธรรมและการแพทย์แผนการรักษาทางการแพทย์แผนการรักษาทไทยและมีบทบาทสำคัญในการรักษาโรคและเสริมสุขภาพของคนไทยสมุนไพรไทยมักเป็นพืชที่เจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติของประเทศไทยและมีคุณสมบัติทางยาที่พิเศษ คุณสมบัติสำคัญของตำรับสมุนไพรไทยที่ต้องการศึกษาในครั้งนี้คือความสามารถในการต้านการอักเสบที่เกิดขึ้นในเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบ โดยเริ่มต้นจากการค้นหาตำรับสมุนไพรไทยที่มีความสามารถในการต้านการอักเสบกับเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ ได้แก่ เซลล์แมคโครฟาจ โดยทำการวัดปริมาณของไนตริกออกไซด์พบว่าตำรับสมุนไพรไทยเคอร์ร่า ไมโนซ่าและเคเอส เมื่อมีความเข้มข้นของสารอยู่ที่ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร จะส่งผลให้ปริมาณไนตริกออกไซด์มีแนวโน้มลดลง โดยพบว่าปริมาณของไนตริกออกไซด์จะมีความเข้มข้นอยู่ที่  $8.06 \pm 0.23$ ,  $14.03$  และ  $13.39 \pm 0.91$  ไมโครโมลาร์ตามลำดับแสดงให้เห็นถึงความสามารถของสมุนไพรไทยในการลดปริมาณไนตริกออกไซด์ (Subin et al., 2023)

เมื่อพบว่าตำรับสมุนไพรไทยมีความสามารถในการต้านการอักเสบกับเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ จึงได้นำเอาตำรับสมุนไพรดังกล่าวมาทำการทดสอบกับเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบ เพื่อให้เซลล์ดังกล่าวมีสภาวะใกล้เคียงกับภาวะการบาดเจ็บที่ปอดแบบเฉียบพลัน โดยเมื่อทำการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระออกซิเจนของสารทดสอบพบว่าตำรับสมุนไพรไทยทั้ง 3 ชนิด มีแนวโน้มในการลดปริมาณของอนุมูลอิสระออกซิเจนได้ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นได้ (Pietta, 2000) โดยตำรับสมุนไพรไทยเคอร์ร่า ตำรับสมุนไพรไทยไมโนซ่า และตำรับสมุนไพรไทยเกอส ที่ความเข้มข้น 1, 10 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร เมื่อทำการทดสอบกับเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบ จะมีร้อยละของอนุมูลอิสระออกซิเจนอยู่ที่  $86.31 \pm 2.63$ ,  $77.03 \pm 0.81$  และ  $37.48 \pm 0.50$  สำหรับตำรับสมุนไพรไทยเคอร์ร่า ร้อยละของอนุมูลอิสระออกซิเจนอยู่ที่  $86.59 \pm 3.13$ ,  $85.83 \pm 0.69$  และ  $42.59 \pm 0.39$  สำหรับตำรับสมุนไพรไทยไมโนซ่า และร้อยละของอนุมูลอิสระออกซิเจนอยู่ที่  $103.18 \pm 3.45$ ,  $84.45 \pm 0.82$  และ  $41.30 \pm 0.59$  สำหรับตำรับสมุนไพรไทยเกอส โดยจะพบว่าความเข้มข้นของตำรับสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระออกซิเจนได้ดีที่สุดสำหรับกลุ่มการทดลองจะอยู่ที่ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร หรือความเข้มข้นสูงที่สุดในกลุ่มการทดลอง

เมื่อพบว่าตำรับสมุนไพรไทยมีแนวโน้มในการลดปริมาณของอนุมูลอิสระออกซิเจนได้จึงได้ทำการศึกษาถึงการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ ได้แก่ โปรตีน Interleukin 6 (IL-6) และ โปรตีน Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF-kB) (Luo, Che, & Zhao, 2017) (Wright & Christman, 2003) เมื่อทำการทดสอบความสามารถในการแสดงออกของโปรตีน IL-6 ของเซลล์ปอดถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโพโพลีแซคคาร์ไรด์ เพื่อยืนยันผลการทดสอบว่าเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบเมื่อได้ถูกทดสอบกับตำรับสมุนไพรไทยจะส่งผลให้มีการแสดงออกของโปรตีน IL-6 เปลี่ยนไป โดยพบว่าตำรับสมุนไพรไทยทั้ง 3 ชนิดเมื่อนำมาทดสอบแสดงให้เห็นว่ามีความสามารถที่จะส่งผลให้โปรตีน IL-6 มีแนวโน้มการแสดงออกลดลง และเมื่อศึกษาผลการทดสอบระหว่างการต้านอนุมูลอิสระออกซิเจน และการแสดงออกของโปรตีน IL-6 พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารเพิ่มขึ้นแนวโน้มในการลดปริมาณของอนุมูลอิสระออกซิเจนได้ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น แต่สำหรับการแสดงออกของโปรตีน IL-6 นั้นในการแสดงออกลดลงสารที่มีความเข้มข้นน้อยอาจส่งผลต่อการแสดงออกได้ดีกว่าสารที่มีความเข้มข้นมากในตำรับสมุนไพรบางกลุ่ม ขณะที่เมื่อทำการทดสอบความสามารถในการแสดงออกของโปรตีน NF-kB ของเซลล์ปอดถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโพโพลีแซคคาร์ไรด์ เพื่อยืนยันผลการทดสอบว่าเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิด

การอักเสบเมื่อได้ถูกทดสอบกับตำรับสมุนไพรไทยจะส่งผลให้มีการแสดงออกของโปรตีน NF-kB เปลี่ยนไปพบว่าตำรับสมุนไพรไทยทั้ง 3 ชนิดเมื่อนำมาทดสอบแสดงให้เห็นว่ามีความสามารถที่จะส่งผลให้โปรตีน NF-kB มีแนวโน้มการแสดงออกลดลง และเมื่อศึกษาผลการทดสอบระหว่าง การต้านอนุมูลอิสระออกซิเจน และการแสดงออกของโปรตีน NF-kB พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสาร เพิ่มขึ้นแนวโน้มในการลดปริมาณของอนุมูลอิสระออกซิเจนได้ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น แต่ สำหรับการแสดงออกของโปรตีน IL-6 นั้นในการแสดงออกลดลงสารที่มีความเข้มข้นน้อยอาจ ส่งผลต่อการแสดงออกได้ดีกว่าสารที่มีความเข้มข้นมากในตำรับสมุนไพรบางกลุ่ม บ่งชี้ว่าสาร ทดสอบอาจกระตุ้นการอักเสบผ่านเส้นทางสัญญาณที่ไม่เกี่ยวข้องกับอนุมูลอิสระออกซิเจน ตัวอย่างเช่น สารทดสอบอาจมีผลกระทบต่อเส้นทางสัญญาณที่กระตุ้น IL-6 และ NF-kB โดยตรง (Sul & Ra, 2021) ซึ่งไม่เกี่ยวข้องกับอนุมูลอิสระออกซิเจน จากผลการทดลองดังกล่าวจึงสรุปได้ว่า ตำรับสมุนไพรไทยที่นำมาใช้ทดลองมีแนวโน้มที่จะมีความสามารถในการต้านการอักเสบที่เกิดขึ้น ได้ในเซลล์แมคโครฟาจ และเซลล์ปอดที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยลิโพโพลีแซคคาร์ไรด์ ทั้งนี้ทั้งนั้นการทดลองข้างต้นเป็นเพียงการทดลองเบื้องต้นในระดับเซลล์เท่านั้น และยังไม่ ครอบคลุมในระบบของการเกิดการอักเสบจึงจำเป็นต้องมีการทดลองเพิ่มเติม รวมไปถึงจำเป็นต้อง มีการทดลองในระดับสัตว์ทดลองเพื่อแสดงผลที่ถูกต้องและครบถ้วนเพื่อที่จะสามารถนำตำรับ สมุนไพรไทยข้างต้นไปใช้ให้เกิดประโยชน์และเกิดความปลอดภัยที่สุด



## เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- Baek, S. H., Park, T., Kang, M. G., & Park, D. (2020). Anti-Inflammatory Activity and ROS Regulation Effect of Sinapaldehyde in LPS-Stimulated RAW 264.7 Macrophages. *Molecules*, 25(18). doi:10.3390/molecules25184089
- Banskota, S., Wang, H., Kwon, Y. H., Gautam, J., Haq, S., Grondin, J., . . . Khan, W. I. (2023). Inhibition of NADPH Oxidase (NOX) 2 Mitigates Colitis in Mice with Impaired Macrophage AMPK Function. *Biomedicines*, 11(5). doi:10.3390/biomedicines11051443
- Bischoff-Kont, I., & Furst, R. (2021). Benefits of Ginger and Its Constituent 6-Shogaol in Inhibiting Inflammatory Processes. *Pharmaceuticals (Basel)*, 14(6). doi:10.3390/ph14060571
- Bulle, S., Reddyvari, H., Nallanchakravarthula, V., & Vaddi, D. R. (2016). Therapeutic Potential of Pterocarpus santalinus L.: An Update. *Pharmacogn Rev*, 10(19), 43-49. doi:10.4103/0973-7847.176575
- Carnesecchi, S., Pache, J. C., & Barazzzone-Argiroffo, C. (2012). NOX enzymes: potential target for the treatment of acute lung injury. *Cell Mol Life Sci*, 69(14), 2373-2385. doi:10.1007/s00018-012-1013-6
- Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., . . . Zhao, L. (2018). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 9(6), 7204-7218. doi:10.18632/oncotarget.23208
- Choowongkamon, K., Choengpanya, K., Pientong, C., Ekalaksananan, T., Talawat, S., Srathong, P., & Chuerduangphui, J. (2023). The Inhibitory Effect of Kerra<sup>TM</sup>, KSTM, and Minoza<sup>TM</sup> on Human Papillomavirus Infection and Cervical Cancer. *Medicina*, 59(12). doi:10.3390/medicina59122169
- Corpas, F. J., Rio, L. A. D., & Palma, J. M. (2019). Impact of Nitric Oxide (NO) on the ROS Metabolism of Peroxisomes. *Plants (Basel)*, 8(2). doi:10.3390/plants8020037
- Duan, X. Y., Sun, Y., Zhao, Z. F., Shi, Y. Q., Ma, X. Y., Tao, L., & Liu, M. W. (2021). Baicalin attenuates LPS-induced alveolar type II epithelial cell A549 injury by attenuation of the FSTL1 signaling pathway via increasing miR-200b-3p expression. *Innate Immun*, 27(4), 294-312. doi:10.1177/17534259211013887
- Fanelli, V., & Ranieri, V. M. (2015). Mechanisms and clinical consequences of acute lung injury.

- Ann Am Thorac Soc*, 12 Suppl 1, S3-8. doi:10.1513/AnnalsATS.201407-340MG
- Hossain, E., Chakroborty, S., Milan, A., Chattopadhyay, P., Mandal, S. C., & Gupta, J. K. (2012). In vitro and in vivo antitumor activity of a methanol extract of *Dregea volubilis* leaves with its antioxidant effect. *Pharm Biol*, 50(3), 338-343. doi:10.3109/13880209.2011.600320
- Johnson, E. R., & Matthay, M. A. (2010). Acute lung injury: epidemiology, pathogenesis, and treatment. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv*, 23(4), 243-252. doi:10.1089/jamp.2009.0775
- Kellner, M., Noonepalle, S., Lu, Q., Srivastava, A., Zemskov, E., & Black, S. M. (2017). ROS Signaling in the Pathogenesis of Acute Lung Injury (ALI) and Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS). *Adv Exp Med Biol*, 967, 105-137. doi:10.1007/978-3-319-63245-2\_8
- Li, J., Qin, Y., Chen, Y., Zhao, P., Liu, X., Dong, H., . . . Li, C. (2020). Mechanisms of the lipopolysaccharide-induced inflammatory response in alveolar epithelial cell/macrophage co-culture. *Exp Ther Med*, 20(5), 76. doi:10.3892/etm.2020.9204
- Li, X., Chu, L., Liu, S., Zhang, W., Lin, L., & Zheng, G. (2022). *Smilax china* L. flavonoid alleviates HFHS-induced inflammation by regulating the gut-liver axis in mice. *Phytomedicine*, 95, 153728. doi:10.1016/j.phymed.2021.153728
- Liu, T., Zhang, L., Joo, D., & Sun, S.-C. (2017). NF- $\kappa$ B signaling in inflammation. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2(1), 17023. doi:10.1038/sigtrans.2017.23
- Luo, Y., Che, W., & Zhao, M. (2017). Ulinastatin post-treatment attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats and human alveolar epithelial cells. *Int J Mol Med*, 39(2), 297-306. doi:10.3892/ijmm.2016.2828
- Matuschak, G. M., & Lechner, A. J. (2010). Acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome: pathophysiology and treatment. *Mo Med*, 107(4), 252-258. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20806836>
- Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203), 428-435. doi:10.1038/nature07201
- Mowery, N. T., Terzian, W. T. H., & Nelson, A. C. (2020). Acute lung injury. *Current Problems in Surgery*, 57(5), 100777. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cpsurg.2020.100777>
- Nian, H., Xiong, H., Zhong, F., Teng, H., Teng, H., Chen, Y., & Yang, G. (2020). Anti-inflammatory and antiproliferative prenylated sulphur-containing amides from the leaves of *Glycosmis pentaphylla*. *Fitoterapia*, 146, 104693. doi:10.1016/j.fitote.2020.104693

- Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod*, 63(7), 1035-1042.  
doi:10.1021/np9904509
- Rousseau, D. L., Li, D., Hayden, E. Y., Deng, H., & Yeh, S.-R. (2008). Chapter 17 - Ligand-Protein Interactions in Mammalian Nitric Oxide Synthase. In A. Ghosh (Ed.), *The Smallest Biomolecules: Diatomics and their Interactions with Heme Proteins* (pp. 465-497). Amsterdam: Elsevier.
- Ruaro, B., Salton, F., Braga, L., Wade, B., Confalonieri, P., Volpe, M. C., . . . Confalonieri, M. (2021). The History and Mystery of Alveolar Epithelial Type II Cells: Focus on Their Physiologic and Pathologic Role in Lung. *Int J Mol Sci*, 22(5). doi:10.3390/ijms22052566
- Santha, S., & Dwivedi, C. (2015). Anticancer Effects of Sandalwood (*Santalum album*). *Anticancer Res*, 35(6), 3137-3145. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26026073>
- Sender, V., & Stamme, C. (2014). Lung cell-specific modulation of LPS-induced TLR4 receptor and adaptor localization. *Commun Integr Biol*, 7, e29053. doi:10.4161/cib.29053
- Sharma, J. N., Al-Omran, A., & Parvathy, S. S. (2007). Role of nitric oxide in inflammatory diseases. *Inflammopharmacology*, 15(6), 252-259. doi:10.1007/s10787-007-0013-x
- Sies, H., & Jones, D. P. (2020). Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21(7), 363-383.  
doi:10.1038/s41580-020-0230-3
- Subin, P., Sabuhom, P., Naladta, A., Luecha, P., Nualkaew, S., & Nualkaew, N. (2023). An Evaluation of the Anti-Inflammatory Effects of a Thai Traditional Polyherbal Recipe TPDM6315 in LPS-Induced RAW264.7 Macrophages and TNF-alpha-Induced 3T3-L1 Adipocytes. *Curr Issues Mol Biol*, 45(6), 4891-4907. doi:10.3390/cimb45060311
- Sul, O. J., & Ra, S. W. (2021). Quercetin Prevents LPS-Induced Oxidative Stress and Inflammation by Modulating NOX2/ROS/NF-kB in Lung Epithelial Cells. *Molecules*, 26(22).  
doi:10.3390/molecules26226949
- Wang, B., Lin, Y., Zhou, M., Fu, S., Zhu, B., Chen, Y., . . . Zhou, F. (2022). Polysaccharides from *Tetragium Hemsleyanum* Diels et Gilg attenuate LPS-induced acute lung injury by modulating TLR4/COX-2/NF-kappaB signaling pathway. *Biomed Pharmacother*, 155, 113755. doi:10.1016/j.biopha.2022.113755
- Wright, J. G., & Christman, J. W. (2003). The role of nuclear factor kappa B in the pathogenesis of

pulmonary diseases: implications for therapy. *Am J Respir Med*, 2(3), 211-219.

doi:10.1007/BF03256650

Yam, M. F., Ang, L. F., Lim, C. P., Ameer, O. Z., Salman, I. M., Ahmad, M., . . . Abdullah, G. Z.

(2010). Antioxidant and hepatoprotective effects of *Murdannia bracteata* methanol extract. *J*

*Acupunct Meridian Stud*, 3(3), 197-202. doi:10.1016/S2005-2901(10)60036-2

Zhang, J. M., & An, J. (2007). Cytokines, inflammation, and pain. *Int Anesthesiol Clin*, 45(2), 27-

37. doi:10.1097/AIA.0b013e318034194e

Zhang, X. L., An, J., Deng, Y. Z., Fang, X. Z., Xu, C. Y., Liu, X. F., . . . Cui, M. Y. (2021). A novel

miRNA-762/NFIX pathway modulates LPS-induced acute lung injury. *Int*

*Immunopharmacol*, 100, 108066. doi:10.1016/j.intimp.2021.108066



233473891

KU iThesis 6516000018 thesis / recv: 25072567 05:00:28 / seq: 46

## ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล

ภูมินทร์ จำสไต

วัน เดือน ปี เกิด

13 เมษายน 2542

สถานที่เกิด

สุพรรณบุรี

ที่อยู่ปัจจุบัน

33 ม.2 ต.หนองหญ้าไซ อ.หนองหญ้าไซ จ.สุพรรณบุรี 72240

ประวัติการศึกษา

จบการศึกษา วิทยาศาสตรบัณฑิต(วท.บ.) เทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชา  
เทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระ  
จอมเกล้าพระนครเหนือ  
กำลังศึกษา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต(วท.ม.) พันธุวิศวกรรมและชีวสารสนเทศ  
คณะบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์