

เทคนิคสำหรับศึกษาการซึมผ่านรูขุมขน

วรรณท์ รังสิมาวงศ์¹, ธนะเศรษฐ์ จ้าวหิรัญพัฒน์^{2*}

Received: 12 March 2014

Accepted: 5 June 2015

บทคัดย่อ

รูขุมขนเป็นโครงสร้างเป้าหมายที่น่าสนใจสำหรับระบบนำส่งยา ถึงแม้ว่าปริมาณของขนและรูขุมขนทั้งหมดเป็นเพียงร้อยละ 0.1 ของพื้นที่ผิวหนังทั้งหมด แต่แสดงให้เห็นถึงการเป็นช่องทางผ่านเข้าสู่ผิวหนังที่สำคัญของยาขบ่น้ำและสารชีวโมเลกุลที่น้ำหนักโมเลกุลสูง รวมถึงระบบนำส่งยาโดยอนุภาค เมื่อไม่นานมานี้ได้มีการพัฒนาหลากหลายวิธีสำหรับประเมินปริมาณตัวยาที่นำส่งเข้าสู่รูขุมขน บทความนี้ได้ให้ความสนใจในเรื่องเทคนิคการลอกชั้นต่างๆ ของผิวหนังและการปิดกั้นรูขุมขนอย่างจำเพาะ เทคนิคผิวหนังแบบแซนวิช และระบบกล้องจุลทรรศน์แบบใหม่ สำหรับเทคนิคการลอกชั้นต่างๆ ของผิวหนัง เป็นการรวมเอาการลอกผิวหนังด้วยเทปและการตัดชั้นเนื้อด้วยไซยาโนอะครีเลตเพื่อหาปริมาณตัวยาที่อยู่ในส่วนบนของรูขุมขนและยาที่คงอยู่ในรูขุมขน นอกจากนี้การปิดกั้นรูขุมขนอย่างจำเพาะยังเป็นที่ยอมรับมาใช้อย่างกว้างขวางในการปิดรูเปิดของรูขุมขนด้วยหยดระดับไมโครลิตรของสารยึดเกาะของพอลิเมอร์และแว็กซ์ เพื่อหาปริมาณตัวยาที่ผ่านรูขุมขน เทคนิคผิวหนังแบบแซนวิชเป็นวิธีการทดลองทางห้องปฏิบัติการที่ใช้เยื่อผิวหนังของมนุษย์ 2 ชั้น โดยสันนิษฐานว่าชั้นสตราตัมคอร์เนียมที่เติมเข้าไปจะสามารถปิดกั้นช่องทางของรูขุมขนได้ อย่างไรก็ตามเทคนิคเหล่านี้ ถูกนำมาใช้ทำนายการนำส่งยาผ่านรูขุมขนและจะทำนายได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุดสำหรับตัวยาที่ขบ่น้ำเท่านั้น เทคนิคการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใหม่โดยใช้หลักการของกล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอลที่ส่องกราดด้วยแสงเลเซอร์ ซึ่งสามารถค้นหาในเชิงกึ่งปริมาณของสีเรืองแสงที่กระจายในชั้นต่างๆ ของผิวหนังและโครงสร้างของรูขุมขน โดยสรุปแล้วเทคนิคเหล่านี้มีการพัฒนาขึ้นเพื่อหาปริมาณตัวยาที่นำส่งเข้าสู่รูขุมขน ซึ่งสามารถให้ข้อมูลของการใช้รูขุมขนเป็นช่องทางสำหรับการนำส่งยาผ่านผิวหนังและการนำส่งยาไปยังเป้าหมายที่จำเพาะในรูขุมขนเพื่อการออกฤทธิ์เฉพาะที่

คำสำคัญ : รูขุมขน การลอกชั้นต่างๆ ของผิวหนัง การปิดกั้นผิวหนังแบบจำเพาะ ดันแบบผิวหนังแบบแซนวิช กล้องจุลทรรศน์ส่องกราดด้วยแสงเลเซอร์

วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน 2558; 11(2): 31-44

¹ นักศึกษาเภสัชศาสตรดุษฎีบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร จังหวัดนครปฐม 73000

² Ph.D. (Pharmaceutics Sciences) รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร จังหวัดนครปฐม 73000

* **ติดต่อผู้พิมพ์:** ธนะเศรษฐ์ จ้าวหิรัญพัฒน์ ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร จังหวัดนครปฐม 73000 E-mail: ngawhirunpat_t@su.ac.th

Techniques for Follicular Penetration Studies

Worranan Rangsimawong¹, Tanasait Ngawhirunpat^{2*}

Abstract

Hair follicles were an interesting target structure for drug delivery system. Although the total amount of hair and its follicles were only 0.1% of the total skin surface, they represent important shunt routes into the skin for hydrophilic drug and high molecular weight bio-molecules, as well as by particles-based drug delivery systems. Recently, many models have been developed for quantification of the delivery of drug into hair follicles. This review focuses on differential stripping and selective blocking of hair follicles technique, skin sandwich technique, and novel optical imaging system. For differential stripping technique, a combination of tape stripping and cyanoacrylate biopsies have led to quantify drug deposition in the upper hair follicles and drug retention in hair follicles. In addition, selective blocking of hair follicles is widely used by selective sealing of hair follicles openings with micro-drops of a polymer-wax adhesive mixture to quantify drug through hair follicles. Secondly, skin sandwich model is an intriguing *in vitro* methodology that utilizes two human skin membranes, assuming that the additional stratum corneum blocks virtually all available follicular routes. However in this technique, transfollicular fate is determined and it is effective mostly for hydrophilic drugs only. Lastly, the use of novel optical imaging system, confocal laser scanning microscopy (CLSM) based techniques, can investigate semi-quantitatively the distribution of topically applied fluorescent dye in different skin layers and hair follicle structures. In conclusion of this review, these techniques have been developed to quantify the delivery of drug into hair follicles that could provide a clearer information of the follicles as shunts for drug delivery through skin and the transportation of drug to specifically targets in hair follicle for local therapy.

Keywords: hair follicles, differential stripping, selective blocking of hair follicles, skin sandwich model, confocal laser scanning microscopy

IJPS 2015; 11(2): 31-44

¹ Graduate student (Ph.D program in Pharmaceutical Technology), Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon Pathom Province 73000

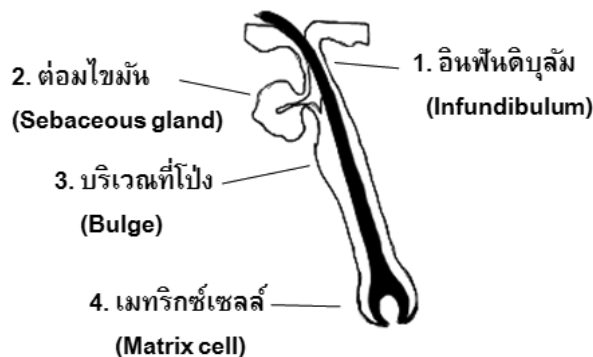
² Ph.D. (Pharmaceutics Sciences) Associate Professor, Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon Pathom Province 73000

* **Corresponding author:** Tanasait Ngawhirunpat, Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon Pathom 73000 E-mail: ngawhirunpat_t@su.ac.th

บทนำ

การนำส่งยาทางรูขุมขน (Trans-follicular drug delivery) เป็นช่องทางหนึ่งในการนำส่งยาเข้าสู่ร่างกาย ถึงแม้ว่าบริเวณพื้นที่ผิวโดยรวมของเส้นขนและรูขุมขนจะมีอยู่เพียงร้อยละ 0.1 ของพื้นที่ของผิวหนังทั้งหมด แต่รูขุมขนแสดงให้เห็นถึงการเป็นช่องทางที่สำคัญในการนำส่งยาที่ชอบน้ำ สารโมเลกุลใหญ่ และระบบการนำส่งยาแบบอนุภาคเข้าสู่ร่างกาย (Knorr et al., 2009) โดยตำแหน่งภายในรูขุมขนที่มีความสำคัญต่อการเป็นเป้าหมายในการนำส่งยาประกอบด้วย 4 ตำแหน่งที่สำคัญ ดังแสดงในรูปที่ 1 คือ อินฟันดิบูลัม (infundibulum) ต่อมไขมัน (sebaceous gland) บริเวณที่โป่ง (bulge) และ เมทริกซ์เซลล์ (matrix cell) (Lademann et al., 2011) ในส่วนของรูขุมขนบริเวณอินฟันดิบูลัมเป็นบริเวณที่ถูกให้ความสนใจมาก เนื่องจากบริเวณล่างสุดของอินฟันดิบูลัมจะทำลายตัวกันการซึมผ่าน ส่งผลให้เพิ่มการซึมผ่านได้ นอกจากนี้บริเวณนี้ยังถูกล้อมรอบ

อย่างหนาแน่นด้วยเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันและโครงข่ายของหลอดเลือดฝอย ทำให้เกิดการขนส่งตัวยาผ่านทางรูขุมขนเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิตทั่วร่างกายได้อย่างรวดเร็ว และเป็นเป้าหมายสำหรับการนำส่งวัคซีนทางผิวหนัง ส่วนบริเวณถัดลงมาคือ ต่อมไขมัน เป็นบริเวณที่มีความสำคัญมากในการเป็นเป้าหมายของการรักษาโรคศีรษะล้านจากพันธุกรรม (androgenetic alopecia) สิว (acne) และโรคความผิดปกติของต่อมไขมันอื่นๆ ส่วนในบริเวณที่โป่งออกมารูขุมขนเป็นที่อยู่ของเซลล์ต้นกำเนิดชั้นหนังกำพร้า (epithelial stem cells) ทำให้มีความสามารถสูงในการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ (proliferative capacity) และเป็นเป้าหมายของการรักษาในทางเวชศาสตร์ฟื้นฟูภาวะเสื่อมของผิวหนัง (cutaneous regenerative medicine) ส่วนสุดท้ายคือ เมทริกซ์เซลล์ ซึ่งอาจจะมีบทบาทในอนาคตในการเป็นตำแหน่งเป้าหมายของการควบคุมการเจริญเติบโตของเส้นผม (Patzelt et al., 2011)



รูปที่ 1 ส่วนประกอบของเส้นขนและรูขุมขน (ปรับปรุงจาก Lademann et al., 2011)

ปัจจุบันเทคนิคการประเมินการนำส่งยาทางรูขุมขนมีหลายวิธี แต่การประเมินการนำส่งยาทางรูขุมขนนั้นมีปัญหาหลักคือ ข้อจำกัดของระบบตัวแบบที่นำมาใช้ประเมินเชิงปริมาณ ซึ่งเป็นการใช้ผิวหนังที่ไม่มีขน แต่มีคุณสมบัติทางด้านโครงสร้าง เคมีชีวภาพ

และตัวกันของผิวหนังปกติ การศึกษาก่อนหน้านี้มีการทำในหลากหลายโมเดล เช่น หูของหนูซีเรียนแฮมสเตอร์ (syrian hamster ear) หนู (rat) ลิง (macaque monkey) และระบบเนื้อเยื่อแผลเป็น (scar tissue system) เพื่อใช้ศึกษาการแพร่ผ่านรูขุมขน (Lauer

et al., 1995) อย่างไรก็ตามระบบเหล่านี้ยังไม่สามารถตอบได้อย่างชัดเจนว่ามีการนำส่งยาผ่านรูขุมขนได้อย่างไร เนื่องจากช่องทางที่ใช้นำส่งยาผ่านทางผิวหนังค่อนข้างซับซ้อน และประกอบด้วยช่องทางหลัก 3 ช่องทาง คือ 1) ผ่านช่องว่างระหว่างเซลล์ไขมันที่อยู่ล้อมรอบคอร์นีโอไซต์ (corneocytes) (inter cellular pathway) 2) ผ่านเซลล์โดยตรง (transcellular pathway) และ 3) ผ่านรูขุมขน (transfollicular pathway) (Bouwstra et al., 2003) อีกทั้งมีหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อการซึมผ่านผิวหนัง เช่น คุณสมบัติของตัวยา ชนิดของผิวหนัง หรือชนิดของวิธีการเพิ่มการซึมผ่าน ดังนั้นผลการศึกษาการซึมผ่านผิวหนัง (*in vitro* skin permeation) ด้วยเซลล์ศึกษาการแพร่ของฟรานซ์ (Franz diffusion cell) เพียงอย่างเดียวจะบอกได้เพียงปริมาณยาที่ผ่านผิวหนังเท่านั้น ซึ่งเป็นการยากที่จะมองเห็นความสัมพันธ์ระหว่างคุณสมบัติของสารที่ซึมผ่าน สูตรตำรับ และความสามารถในการซึมผ่านรูขุมขน ในปัจจุบันจึงมีการพัฒนาเทคโนโลยีใหม่ๆ มากมาย เพื่อให้สามารถบอกปริมาณตัวยาที่นำส่งผ่านเข้าสู่ผิวหนังด้วยช่องทางของรูขุมขน เช่น เทคนิคการลอกชั้นต่างๆ ของผิวหนัง (differential stripping technique) และเทคนิคการปิดกั้นรูขุมขนอย่างจำเพาะ (selectively block follicular orifices) เพื่อบอกการซึมผ่านและการกระจายตัวยาเข้าสู่รูขุมขน เทคนิคการใช้ผิวหนังแบบแซนด์วิช (skin sandwich) เพื่อวิเคราะห์ปริมาณตัวยาที่นำส่งผ่านรูขุมขน และเทคนิคการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใหม่เพื่อให้เห็นภาพการกระจายของสีสารเรืองแสงที่ระดับความลึกต่างๆ ภายในรูขุมขน รวมถึงการวิเคราะห์ในเชิงกึ่งปริมาณด้วย (Meidan et al., 2005)

เทคนิคที่ใช้ในการศึกษาการนำส่งยาผ่านทางรูขุมขน

1. เทคนิคการลอกชั้นต่างๆ ของผิวหนังและการปิดกั้นรูขุมขนอย่างจำเพาะ

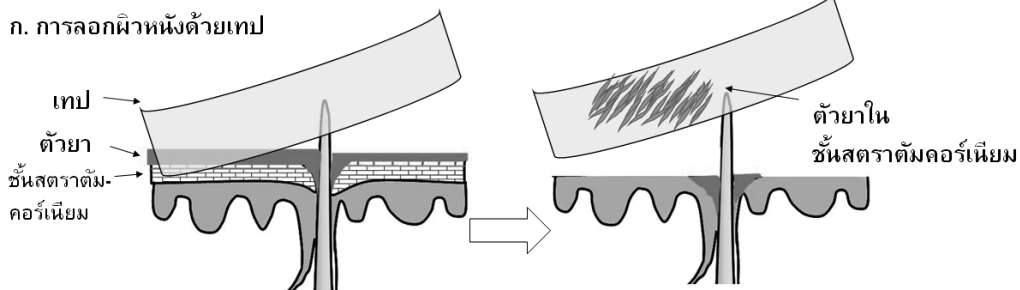
เทคนิคการลอกชั้นต่างๆ ของผิวหนังและการปิดกั้นรูขุมขนอย่างจำเพาะ เป็นเทคนิคที่สามารถนำมาใช้ศึกษาการซึมผ่านรูขุมขน ทั้งแบบศึกษาภายในร่างกาย (*in vivo*) และภายนอกในร่างกาย (*in vitro*) (Otberg et al., 2007., Teichmann et al., 2006) แต่เนื่องจากเหตุผลทางจริยธรรม การศึกษาแบบภายนอกในร่างกายจึงเป็นที่นิยมมากกว่า โดยโมเดลผิวหนังที่นิยมนำมาใช้ในการศึกษา คือ ใช้เซลล์ศึกษาการแพร่ของฟรานซ์ร่วมกับผิวหนังที่ถูกตัดให้มีความหนาต่างๆ หรือผิวหนังที่มีทั้งส่วนของหนังกำพร้าและหนังแท้ โดยใช้ผิวหนังบริเวณหูของหนูหรือผิวหนังของสัตว์ทดลองชนิดอื่น (Jacobi et al., 2005) หลังจากให้ตัวยาลงไปบนโมเดลผิวหนังตามเวลาที่ต้องการ แล้วจะนำเอาเทคนิคการลอกชั้นต่างๆ ของผิวหนังมาใช้เพื่อประเมินปริมาณตัวยาที่ผ่านเข้าสู่รูขุมขน โดยใช้เทปในการลอกผิวหนัง (tape stripping) ร่วมกับการใช้ไซยาโนอะครีเลตเพื่อตัดชั้นเนื้อ (cyanoacrylate biopsies) ดังแสดงในรูปที่ 2 เริ่มจากการลอกผิวหนังด้วยเทปเพื่อนำตัวยาที่อยู่ในผิวหนังชั้นสตราตัมคอร์เนียมออกมา (รูปที่ 2 (ก)) จากนั้นจะทำการตัดชั้นเนื้อผิวหนังด้วยการหยดไซยาโนอะครีเลตลงไปในผิวหนังแล้วดึงเอาไซยาโนอะครีเลตที่เกิดโพลีเมไรเซชัน (polymerization) กับคอร์นีโอไซต์ (corneocytes) และรูขุมขน (follicular casts) (รูปที่ 2 (ข)) ดังนั้นเทคนิคนี้จึงมีความเป็นไปได้ที่จะบอกปริมาณตัวยาที่อยู่ในส่วนบนของรูขุมขน โดยอาศัยการคำนวณปริมาณยาที่แตกต่างกันที่สกัดได้ในแต่ละชั้น

อย่างไรก็ตามการทดลองวัดปริมาณยาที่ผ่านทางรูขุมขนแบบภายนอกในร่างกาย มีข้อจำกัดในด้านการวัดปริมาณยาที่ผ่านและคงอยู่ในรูขุมขนที่แท้จริง เนื่องจากโครงสร้างของผิวหนังจะมีเส้นใยอีลาสติก (elastic fibers) อยู่ระหว่างรูขุมขน ซึ่งเป็นเส้นใยเส้นตรงและขนานกับรูขุมขน โดยทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อมรูขุมขนแต่ละรูเข้าด้วยกัน อีกทั้งเส้นใยยังส่งลงไปถึงชั้นหนังแท้และกล้ามเนื้อด้วย ดังนั้นผิวหนัง

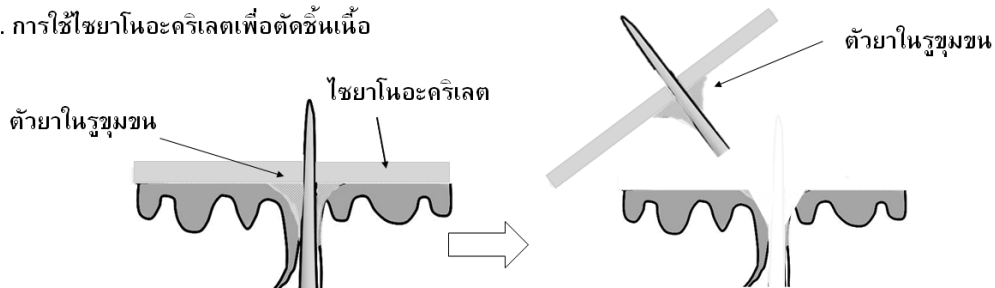
ที่ตัดออกมาจากร่างกายจะสูญเสียคุณสมบัติความเป็นร่างแหของเส้นใยอีลาสติก โดยเฉพาะเส้นใยอีลาสติกที่อยู่ล้อมรอบรูขุมขนจะเกิดการหดตัวดึงให้รูขุมขนมีขนาดเล็กลง รวมทั้งการสูญเสียคุณสมบัติในการยืดหยุ่น ทำให้รูขุมขนที่ปิดแล้วจะไม่เปิดอีก (Starcher et al., 2005) นำไปสู่การลดการซึมผ่านของยาผ่านทางช่องทางรูขุมขน นอกจากนี้ยังมีปัจจัย

ด้านอื่นที่ส่งผลต่อการวัดปริมาณยาที่ผ่านรูขุมขนที่แท้จริง เช่น การสูญเสียความชื้นของผิวหนัง หรือการไม่มีการไหลเวียนของเลือด ทำให้การทดลองภายในร่างกาย สามารถวัดปริมาณยาที่ผ่านได้มากกว่าการทดลองภายนอก (Patzelt et al., 2008)

ก. การลอกผิวหนังด้วยเทป



ข. การใช้ไซยาโนอะคริเลตเพื่อตัดชั้นเนื้อ



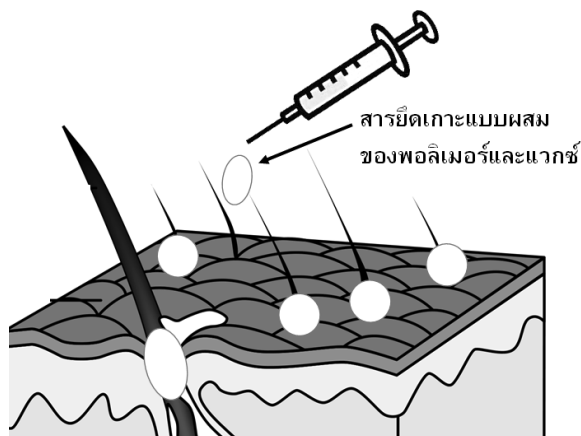
รูปที่ 2 แสดงเทคนิคการลอกชั้นต่างๆ ของผิวหนังเพื่อประเมินปริมาณตัวยาที่ผ่านเข้าสู่ผิวหนังและรูขุมขน โดย (ก) การลอกชั้นต่างๆ ของผิวหนังด้วยเทปขาว เพื่อประเมินปริมาณตัวยาในผิวหนังชั้นสตราตัมคอร์เนียม และ (ข) การใช้ไซยาโนอะคริเลตเพื่อประเมินปริมาณตัวยาในรูขุมขน (Teichmann et al., 2005)

ส่วนเทคนิคการปิดกั้นรูขุมขนอย่างจำเพาะเป็นวิธีที่นิยมนำมาใช้เพื่อหาปริมาณยาที่อยู่ในรูขุมขนโดยใช้สารสังเคราะห์เพื่อปิดกั้นรูเปิดของขุมขนอย่างจำเพาะ ซึ่งที่นิยมใช้คือสารยึดเกาะแบบผสมของพอลิเมอร์และแว็กซ์ (polymer-wax adhesive mixture) โดยจะบรรจุลงในกระบอกฉีดขนาดเล็ก (1 ml) และทำการหยดลงบนรูขุมขนแต่ละรูด้วย

หัวเข็มเบอร์ 30 ที่ทำการตัดปลายแหลมออกแล้ว (Otberg et al., 2007) วิธีการนี้สามารถสร้างโมเดลผิวหนังแบบปราศจากขน (follicle-free skin) หรือรูขุมขนแบบปิด (hair follicle close) ดังแสดงในรูปที่ 3 เพื่อนำมาเปรียบเทียบกับอัตราการแทรกซึมผ่าน (penetrant flux) ของผิวหนังปกติ (normal skin) หรือรูขุมขนแบบเปิด (hair follicle open) ดังนั้นจึงมีความ

เป็นไปได้ที่จะบอกปริมาณตัวยาที่นำส่งผ่านรูขุมขนทั้งในการศึกษาแบบภายนอกร่างกายและแบบภายในร่างกายได้ (Trauer et al., 2009) สำหรับการศึกษาแบบภายนอกร่างกาย Desai และคณะ (2013) ได้ทำการปิดกั้นรูขุมขนของผิวหนังบริเวณหูของหนู จากนั้นทำการศึกษาการซึมผ่านผิวหนังของนาโนพาร์ติเคิล (nanoparticle) ที่บรรจุยา Ibuprofen ด้วยเซลล์ศึกษาการแพร่ของฟรานซ์ พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของปริมาณตัวยาที่นำส่งผ่านผิวหนังที่มีรูขุมขนแบบเปิดกับผิวหนังที่มีรูขุมขนแบบปิด แสดงให้เห็นว่ารูขุมขนมีบทบาทในการเป็นช่องทางการนำส่งยาของสูตรตำรับนี้น้อยกว่าการนำส่งผ่านทางผิวหนัง (Desai et al., 2013) สำหรับการศึกษาแบบภายในร่างกาย Otberg และคณะ (2007) ได้ทำการศึกษาบทบาทของรูขุมขนในการนำส่งคาเฟอีน (caffeine) ผ่านผิวหนังบริเวณหน้าอกของอาสาสมัครที่ได้รับการปิดกั้นรูขุมขนทุกรูเปิด (ขนาดพื้นที่ 25 cm^2 และมีความหนาแน่นของรูขุมขนเฉลี่ย 20-32

รูขุมขนต่อพื้นที่ 1 cm^2) เปรียบเทียบกับกลุ่มอาสาสมัครที่ผิวหนังไม่ได้รับการปิดกั้นรูขุมขน จากนั้นหาสารละลายคาเฟอีน ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติชอบน้ำลงไปในบริเวณที่ทำการทดลอง แล้วทำการวัดระดับยาในเลือดที่เวลาต่างๆ ด้วยเทคนิค surface ionization mass spectrometry (SI/MS) โดยผลการทดลอง พบว่าการดูดซึมของคาเฟอีนผ่านผิวหนังที่รูขุมขนเปิดจะมีอัตราการดูดซึมที่เร็วกว่าผิวหนังที่รูขุมขนถูกปิดกั้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งเป็นไปได้ว่ารูขุมขนมีความสำคัญต่อการเป็นช่องทางการผ่านเข้าสู่ร่างกายของยา นอกจากนี้เมื่อรูขุมขนถูกปิดกั้น คาเฟอีนจะใช้เวลาในการซึมผ่านผิวหนังที่นานกว่าและมีระดับความเข้มข้นของคาเฟอีนสูงสุด ($C_{\max}$) ในเลือดที่ต่ำกว่าการทดลองในผิวหนังที่มีรูขุมขนแบบเปิด ดังนั้นเทคนิคนี้สามารถแสดงให้เห็นว่ารูขุมขนเป็นช่องทางการซึมผ่านหลัก (major penetration pathway) และเป็นส่วนที่กักเก็บยา (reservoir) ที่ให้ทางผิวหนังได้ (Otberg et al., 2007)



รูปที่ 3 แสดงภาพการปิดกั้นรูขุมขนด้วยสารยึดเกาะแบบผสมของพอลิเมอร์และแก๊ซ

การศึกษาช่องทางการซึมผ่านผิวหนังสามารถใช้เทคนิคการลอกชั้นต่างๆ ของผิวหนัง ร่วมกับการปิดกั้นรูขุมขนอย่างจำเพาะเพื่อยืนยันผลการศึกษได้ โดย Desai และคณะ (2013) ได้ทำการศึกษา

ช่องทางการซึมผ่านผิวหนังของนาโนพาร์ติเคิลสูตรตำรับต่างๆ โดยใช้ Ibuprofen เป็นตัวยาดัชนีแบบและทำการศึกษาผลของพอลิเมอร์ต่อการซึมผ่านผิวหนังและรูขุมขน ซึ่งพอลิเมอร์ที่ใช้ในการทดลองคือ Oleic

acid-PEG-succinimidylglutarate ester, OA โดยทำการกักเก็บตัวยาลงไปในสูตรตำรับนาโนพาร์ทิเคิลที่ไม่มีพอลิเมอร์ (Ibu-NPS) นาโนพาร์ทิเคิลที่ดัดแปลงที่ผิวของอนุภาคด้วยพอลิเมอร์ (Ibu-NPS-OA) และนาโนพาร์ทิเคิลที่ผสมเข้ากับพอลิเมอร์แบบกายภาพ (Ibu-NPS+OA (PM)) จากนั้นจึงทำการศึกษาการซึมผ่านผิวหนังและการกระจายของตัวยาภายนอก ร่างกาย (*in vitro* skin permeation and distribution studies) ในผิวหนังส่วนหูของหนูเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยเทคนิคการลอกชั้นต่างๆ ของผิวหนังจะทำการทดลองหลังจากการศึกษาการซึมผ่านผิวหนังของตัวยาภายนอก ร่างกาย เพื่อวัดระดับยาในชั้นต่างๆ ของผิวหนัง ได้แก่ รูขุมขน (hair follicle) ชั้นสตราตัมคอร์เนียม (stratum corneum) และชั้นหนังกำพร้าและหนังแท้ (epidermis and dermis) ซึ่งระดับ Ibuprofen จากนาโนพาร์ทิเคิลที่ไม่มีพอลิเมอร์ นาโนพาร์ทิเคิลที่ดัดแปลงที่ผิวของอนุภาคด้วยพอลิเมอร์ และนาโนพาร์ทิเคิลที่ผสมเข้ากับพอลิเมอร์แบบกายภาพที่สะสมในรูขุมขน เท่ากับ 0.77 ± 0.034 ไมโครกรัม, 1.07 ± 0.092 ไมโครกรัม และ 0.82 ± 0.047 ไมโครกรัม ตามลำดับ ซึ่งเห็นได้ว่านาโนพาร์ทิเคิลที่ดัดแปลงที่ผิวของอนุภาคด้วยพอลิเมอร์สามารถนำส่งยาเข้าสู่รูขุมขนได้ปริมาณมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อทำการเปรียบเทียบกับสูตรตำรับนาโนพาร์ทิเคิลสูตรอื่น อย่างไรก็ตามระดับยาที่สะสมอยู่ในชั้นสตราตัมคอร์เนียมและชั้นหนังกำพร้าและหนังแท้พบว่า มีระดับยาสูงกว่าที่สะสมอยู่ในรูขุมขนของนาโนพาร์ทิเคิลทุกสูตรตำรับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้จากการใช้เทคนิคการปิดกั้นรูขุมขนอย่างจำเพาะ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าช่องทางการนำส่งยาของสูตรตำรับนี้ไม่ได้ขึ้นอยู่กับช่องทางการนำส่งผ่านทางรูขุมขน (follicular pathway) เพียงเส้นทางเดียว แต่ยังพบว่าการนำส่งผ่านช่องทางที่ไม่ใช้รูขุมขน (nonfollicular pathway) อีกด้วย ซึ่งช่องทางการนำส่งมีทั้งผ่านช่องว่างระหว่างเซลล์และผ่านเซลล์ผิวหนัง โดยที่การนำส่งผ่านทาง

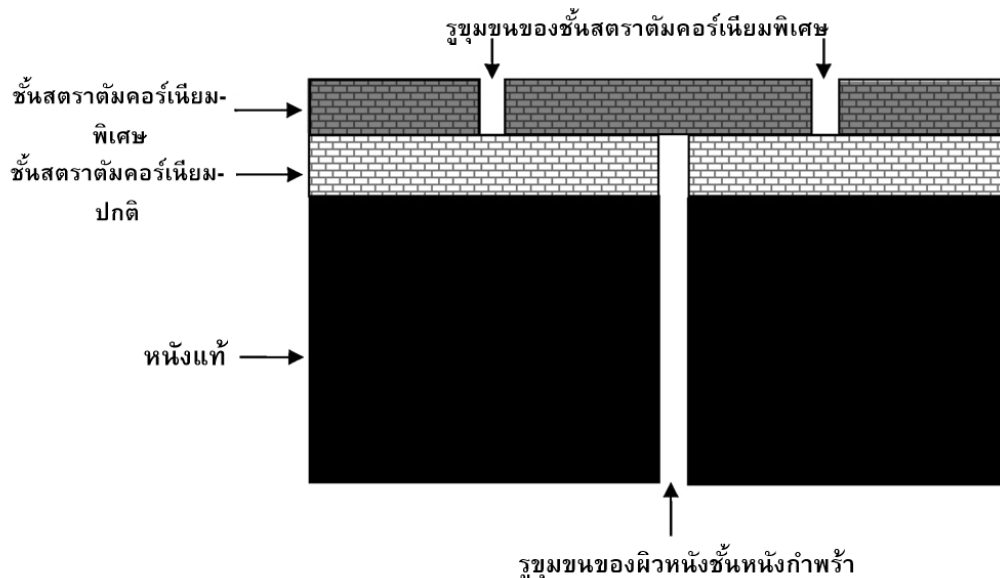
รูขุมขน เป็นเพียงช่องทางรอง (minor route) ในขณะที่การนำส่งผ่านช่องทางที่ไม่ใช้รูขุมขน เป็นช่องทางหลัก (major route) (Desai et al., 2013) นอกจากการนำเอาเทคนิคการลอกชั้นผิวหนังมาใช้ในการศึกษาแบบภายนอก ร่างกายแล้ว เทคนิคนี้ยังสามารถใช้กับการศึกษาแบบภายในร่างกายอีกด้วย ซึ่งสามารถให้ข้อมูลการสะสมของยาในชั้นสตราตัมคอร์เนียม (การลอกผิวหนังด้วยเทป 10 ครั้ง) และตัวยาที่สะสมในรูขุมขน (การดึงตัวยาออกมาจากรูขุมขนด้วยไซยาโนอะครีเลต) อีกทั้งการศึกษาแบบภายในร่างกายยังช่วยลดข้อจำกัดอันเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของผิวหนังที่ถูกตัดออกมาจากร่างกายดังได้กล่าวไปในข้างต้นอีกด้วย (Patzelt et al., 2008)

2. เทคนิคการใช้ผิวหนังแบบแซนวิช

การศึกษาการนำส่งยาทางรูขุมขนมีการทำการทดลองโดยใช้ผิวหนังของสัตว์ทดลองหลากหลายชนิด ตัวอย่างเช่น การศึกษาเปรียบเทียบการซึมผ่านรูขุมขนระหว่างหนูมีขนและหนูไร้ขน ซึ่งปัญหาที่พบจากต้นแบบสัตว์ทดลองคือ เกิดความยากที่จะแสดงคุณสมบัติของการเป็นตัวกั้น (barrier properties) ของผิวหนังสัตว์ที่มีรูขุมขนเปรียบกับโครงสร้างผิวหนังของสัตว์ที่ไม่มีรูขุมขน จากปัญหานี้จึงมีการพัฒนาเทคนิคการทดลองภายนอก ร่างกาย เทคนิคใหม่ (novel *in vitro* technique) ที่เรียกว่า 'skin sandwich' ซึ่งเป็นระบบที่ใช้ศึกษาบทบาทของท่อรูเปิดรูขุมขนในการดูดซึมของยาในผิวหนัง โดยเปรียบเทียบอัตราการซึมผ่านของยาผ่านเยื่อผิวหนังกำพร้า (epidermal membrane) กับผิวหนังแบบแซนวิชที่เยื่อผิวหนังกำพร้าปกติดจะมีชั้นสตราตัมคอร์เนียมพิเศษ (extra stratum corneum) อยู่ด้านบน ดังแสดงในรูปที่ 4 เนื่องจากโดยทั่วไปรูขุมขนมีอยู่เพียงร้อยละ 0.1 ของพื้นที่ผิวหนังทั้งหมด จึงเป็นไปได้น้อยมากที่รูเปิดของขนในเยื่อผิวหนังกำพร้าปกติดจะเปิดตรงกันกับชั้นสตราตัมคอร์เนียมพิเศษที่ซ้อนทับอยู่ด้านบน ดังนั้น การเติมชั้นสตราตัมคอร์เนียมพิเศษจึงไปปิด

กันรูขุมขนที่เป็นช่องทางนำส่งยาได้ ถ้ารูขุมขนไม่ได้มีส่วนในกระบวนการซึมผ่านของยา อัตราการไหลผ่านของยาจะเป็นครึ่งหนึ่งของเยื่อผิวหนังชั้นเดียว ถ้ารูขุมขนมีผลต่อการผ่านของยา อัตราการไหลผ่านของยาจะเป็นศูนย์ อย่างไรก็ตามการนำเทคนิคนี้มาใช้ควรคำนึงถึง 2 จุดสำคัญ คือ ประการแรกเทคนิคนี้เหมาะกับการศึกษาในยาที่ไม่ใช่ไขมัน (non-lipophilic drugs) โดยจะผ่านช่องทางการซึมผ่านระหว่างรูขุมขน (intrafollicular) ซึ่งจะมีประสิทธิภาพมากสำหรับศึกษาในยาที่ชอบน้ำเท่านั้น เนื่องจากชั้นหนังกำพร้าไม่ได้มีคุณสมบัติเป็นตัวกันการซึมผ่าน ดังนั้นสัดส่วน

ของยาที่สามารถผ่านผิวหนังแบบแซนวิชจึงคำนวณค่าได้น้อยลง ซึ่งเป็นผลมาจากความหนาของผิวหนังแบบแซนวิชที่เป็น 2 เท่าของความหนาผิวหนังปกติ ที่มีชั้นสตราตัมคอร์เนียมเพียงชั้นเดียว ส่วนอีกประการที่สำคัญคือชั้นสตราตัมคอร์เนียมพิเศษที่อยู่ด้านบนและชั้นสตราตัมคอร์เนียมด้านล่าง ต้องมาจากบริเวณผิวหนังที่ใกล้เคียงกันเพื่อลดความแปรปรวนตามธรรมชาติของคุณสมบัติการเป็นตัวกันของผิวหนัง (El Maghraby et al., 2001, Barry, 2002, Essa et al., 2002, Sarheed and Frum, 2012)



รูปที่ 4 แสดงผิวหนังแบบแซนวิช ซึ่งประกอบด้วยเยื่อผิวหนังชั้นหนังกำพร้า (epidermal membrane) กับผิวหนังชั้นสตราตัมคอร์เนียมที่อยู่ด้านบน (extra stratum corneum) ที่มีการจัดเรียงอย่างมีประสิทธิภาพ (Sarheed et al., 2012)

Sarheed และ Frum (2012) ได้ทำการศึกษาบทบาทของรูขุมขนในการเป็นช่องทางการนำส่งของยาที่ใช้ร่วมกับโซโนโฟเรซิส (sonophoresis) ด้วยการใช้เทคนิคผิวหนังแบบแซนวิช โดยการทดลองใช้ตัวยาต้นแบบ คือ ไฮโดรคอร์ติโซน (hydro-

cortisone) และทำการเตรียมผิวหนังที่ใช้ในการทดลองด้วยการใช้ทริปซิน (trypsin) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยเนื้อเยื่อที่มีชีวิต เพื่อให้ได้ชั้นสตราตัมคอร์เนียมเพียงอย่างเดียว จากนั้นนำเยื่อชั้นสตราตัมคอร์เนียมมาวางบนผิวหนังปกติที่มีเนื้อเยื่อชั้นหนัง

กำพร้าว เพื่อให้เป็น “SC/epidermal sandwich” แล้วจึงทำการให้คลื่นเสียงความถี่สูง (sonicated) ที่เวลาต่าง ๆ คือ 0 (ควบคุม), 30 และ 45 วินาที ร่วมกับการให้ยาไปบนผิวหนัง ซึ่งผลการศึกษาการซึมผ่านของยา พบว่า ด้วยจะซึมผ่านผิวหนังที่มีเยื่อผิวของหนังกำพร้าชั้นเดียว (single epidermal membranes) ได้ดีกว่าผ่านเยื่อผิวของแซนวิช ส่วนผลของการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมด้วย พบว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาการได้รับคลื่นเสียงความถี่สูง อัตราการไหลผ่านผิวหนังของตัวยา (flux) จะเพิ่มขึ้น ในขณะที่ค่าการกระจายตัวยายังรูขุมขน (follicular contribution) จะลดลง โดยร้อยละการกระจายตัวยายังรูขุมขนแสดงถึงสัดส่วนอัตราการไหลของยาผ่านรูเปิดของรูขุมขนเทียบกับปริมาณยาทั้งหมดที่ผ่านผิวหนัง ดังแสดงในสมการที่ 1 ซึ่งสภาวะที่ไม่มีการกระตุ้นผิวหนังด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงค่าร้อยละของการกระจายตัวยาไปที่รูขุมขนจะสูงที่สุด เท่ากับร้อยละ 46 และเมื่อเพิ่มระยะเวลาการได้รับคลื่นเสียงความถี่สูงเป็น 45 วินาที จะทำให้ค่าร้อยละของการกระจายตัวยาไปที่รูขุมขนเท่ากับ 0 ดังนั้นจึงอธิบายได้ว่าคลื่นเสียงความถี่สูงเป็นสาเหตุให้ผิวหนังชั้นบนสุดของสตราตัมคอร์เนียมหลุดลอกออก เกิดการเปิดของผิวหนังร่วมกับการปิดกันรูเปิดของรูขุมขน ซึ่งเทคนิคการใช้ผิวหนังแบบแซนวิชสามารถให้ข้อมูลเกี่ยวกับปริมาณตัวยาที่ผ่านเข้าสู่รูขุมขนเทียบกับการผ่านเข้าสู่ผิวหนังชั้นสตราตัมคอร์เนียม (Sarheed and Frum, 2012)

$$\%FC = \left[1 - 2 \times \frac{J_{\text{Sand}}}{J_{\text{Ep}}} \right] \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

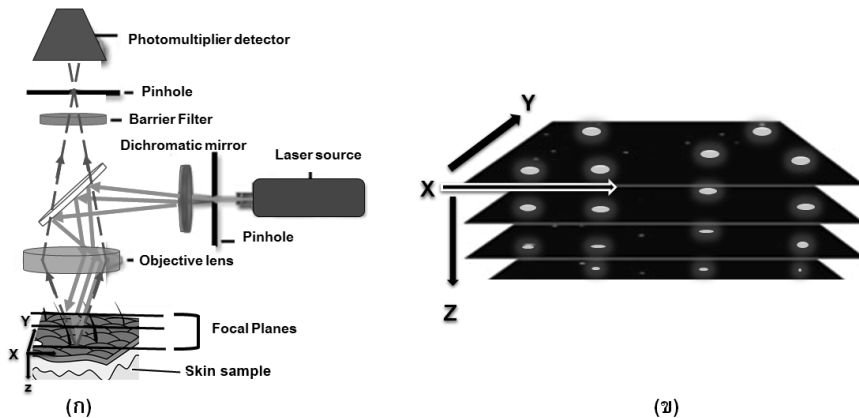
เมื่อ %FC คือ ร้อยละของการกระจายตัวยาผ่านรูขุมขนเทียบกับผ่านผิวหนัง J_{Sand} และ J_{Ep} คือ ค่าอัตราการไหลผ่านผิวหนังของตัวยา (flux) ผ่านผิวหนังแบบแซนวิช (sandwich) และเยื่อผิวชั้นเดียวของหนังกำพร้าว (single epidermal membranes) ตามลำดับ

3. เทคนิคการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใหม่ เทคนิคในการศึกษาภาพของผิวหนังนั้น

มีหลายวิธี เช่น การถ่ายภาพรังสี (autoradiography) (Touitou et al., 1998) ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ (microimaging) (Gautier and Bernard, 2001) กล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอลที่ส่องกราดด้วยแสงเลเซอร์ (confocal laser scanning microscopy) (Alvarez-Roman et al., 2004) และการรวมเทคนิคของเครื่องคอนโฟคอลรามานสเปกโตรสโกปีเข้ากับกล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอล (confocal Raman spectroscopy–confocal microscopy) (Caspers et al., 2003) ซึ่งการใช้เทคนิคเหล่านี้ไม่เพียงช่วยยืนยันการซึมผ่านของโมเลกุลสารเรืองแสงเข้าสู่ช่องว่างระหว่างเซลล์ของผิวหนังชั้นสตราตัมคอร์เนียมเท่านั้น แต่ยังแสดงให้เห็นภาพการผ่านเข้าสู่รูขุมขนได้ด้วย โดยกล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอลที่ส่องกราดด้วยแสงเลเซอร์ เป็นวิธีที่นิยมนำมาใช้ในการศึกษาช่องทางการนำส่งของสารผ่านเข้าสู่ผิวหนัง เนื่องจากภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา ไม่สามารถแสดงภาพของสารเรืองแสงได้ ส่วนภาพจากกล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอลที่ส่องกราดด้วยแสงเลเซอร์สามารถแสดงการสะสมของสารเรืองแสงในตำแหน่งต่าง ๆ บนผิวหนัง และภาพการซึมผ่านของสารทั้งที่อยู่ภายในและภายนอกของรูขุมขนได้ (Ogiso et al., 2002) โดยสามารถทำการศึกษาได้ทั้งสารเรืองแสงที่ขอบไขมันและขอบน้ำที่ถูกนำส่งเข้าสู่รูขุมขน (Grams et al., 2004) ซึ่งหลักการทำงานของกล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอลที่ส่องกราดด้วยแสงเลเซอร์ คือใช้ระบบเลเซอร์เป็นแหล่งกำเนิดแสง โดยทำการส่องลำแสงผ่านรูเปิด pinhole ซึ่งอยู่ในระนาบเดียวกับจุดส่องกราดของชิ้นตัวอย่าง ลำแสงเลเซอร์ถูกสะท้อนจากกระจก dichromatic และส่องกราดผ่าน objective lens ไปบนชิ้นตัวอย่างบนระนาบที่ได้โฟกัสไว้ (in-focus) จุดบนชิ้นตัวอย่างที่เรืองแสงจะสะท้อนแสงกลับไปที่กระจก dichromatic และถูกรวมแสงที่รูเปิด

pinhole ที่ 2 บริเวณด้านหน้าตัวตรวจวัด (detector) ดังแสดงในรูปที่ 5 ซึ่งรูเปิด pinhole ทำหน้าที่เป็นแหล่งรวมแสงที่มีความสำคัญมากเปรียบเสมือนตัวกรองที่อยู่หน้าตัวตรวจวัด ให้มีการผ่านของแสงในจุดที่โฟกัส (in-focus) เข้าสู่ตัวตรวจวัดอย่างต่อเนื่องและมีประสิทธิภาพ และกั้นการผ่านของแสงที่ไม่อยู่ในจุดที่โฟกัส (out-of-focus) ดังนั้นจึงมีเพียงภาพของจุดที่โฟกัสเท่านั้น ทำให้เพิ่มความละเอียดและความคมชัดของภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพสูง โดยภาพที่ได้สามารถแสดงใน 3 แกน คือ X Y และ Z ซึ่งการดูในแนว XY จะให้ข้อมูลในเชิงสามมิติ และความเข้มของสารเรืองแสง (fluorescence intensities) ส่วน XZ-section จะให้ข้อมูลเกี่ยวกับความลึกของสารเรืองแสงและภาพการสะสมของสารเรืองแสงที่ระดับความลึกต่างๆ ได้ (Asavapichayont., 2011) โดยการนำเอาเทคนิคกล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอลที่ส่องกราดด้วยแสงเลเซอร์มาใช้ในการศึกษาการสะสมของสารเรืองแสงในผิวหนังนั้น ชิ้นผิวหนังที่จะนำมาทำการวิเคราะห์จะต้องได้รับสูตรตำรับที่มีสารเรืองแสงก่อน จากนั้นทำการล้างสารเรืองแสงส่วนเกินที่อยู่ด้านบนของพื้นผิวหนังและวางชิ้นผิวหนังบนกระจกสไลด์สำหรับกล้องจุลทรรศน์ (microscope slides) ในกรณีทำการศึกษแบบภายนอกร่างกาย หรือวางผิวหนังบริเวณที่จะวิเคราะห์บนแท่นวางตัวอย่าง กรณีทำการศึกษแบบภายในร่างกาย แล้วทำการกำหนดช่วงความยาวคลื่นที่ใช้ในการกระตุ้นโมเลกุลของสาร (excitation wavelength) และความยาวคลื่นที่ต้องการ

วัดให้ (emission wavelength) เหมาะสมตามคุณสมบัติของสารเรืองแสงแต่ละตัว เพื่อให้ได้ภาพของสารเรืองแสงที่สะสมอยู่ในตำแหน่งต่างๆ ของผิวหนัง (Subongkot et al., 2013) เนื่องจากวิธีนี้เป็นวิธีที่ไม่ทำลายเนื้อเยื่อร่างกาย (non-invasive methodology) จึงสามารถนำมาใช้ในการศึกษาทั้งแบบภายนอกร่างกาย และแบบภายในร่างกายได้ อีกทั้งยังสามารถใช้แยกความแตกต่างระหว่างรูขุมขนที่เปิดและรูขุมขนที่ถูกอุดกั้นด้วยคอร์นีโอไซต์ (follicles plugged with corneocytes) รวมถึงสามารถวัดผลในเชิงกึ่งปริมาณ (semi-quantitatively) ในการกระจายของสารเรืองแสงที่ให้ทางผิวหนังลงไปสะสมในชั้นต่างๆ ของผิวหนังทั้งในชั้นสตราตัมคอร์เนียม หนังกำพร้า หนังแท้ และรูขุมขน อย่างไรก็ตามการนำเอาเทคนิคนี้มาใช้วิเคราะห์การนำส่งยาทางรูขุมขนมีข้อจำกัด คือ สารเรืองแสงที่อยู่ในรูขุมขนอาจวัดค่าได้มากกว่าที่เป็นจริง (overvalued) เมื่อเทียบกับชั้นต่างๆ ของผิวหนัง ดังนั้นเทคนิคนี้จึงยังไม่เป็นที่ยอมรับในการใช้บอกปริมาณโดยตรงของยาที่ผ่านรูขุมขน (Meidan et al., 2005, Desai et al., 2013) ในกรณีที่ต้องการวิเคราะห์ภาพช่องทางการซึมผ่านของสารเข้าสู่ผิวหนังและรูขุมขน จะนิยมทำการศึกษแบบภายนอกร่างกาย โดยนำเอาเทคนิคการตัดขวางของผิวหนัง (cross-section) มาใช้ร่วมกับกล้องจุลทรรศน์ส่องกราดด้วยแสงเลเซอร์เพื่อให้เห็นภาพการสะสมของสารเรืองแสงที่ระดับความลึกต่างๆ อย่างชัดเจน (Lademann et al., 2007)



รูปที่ 5 แสดงหลักการของกล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอลที่ส่องกราดด้วยแสงเลเซอร์ (ก) และภาพที่สามารถแสดงใน 3 แกน คือ แกน X แกน Y และแกน Z (ข)

Patzelt และคณะ (2011) ได้ทำการศึกษาความจำเพาะต่อตำแหน่งเป้าหมายในรูขุมขนของอนุภาคที่มีขนาดแตกต่างกัน ซึ่งอิทธิพลของขนาดอนุภาคจะส่งผลต่อความลึกในการซึมผ่านรูขุมขน (follicular penetration depth) โดยในการทดลองจะใช้อนุภาคที่แตกต่างกัน 2 ชนิด คืออนุภาคที่เตรียมจาก PLGA (poly-lactid-co-glycolid) และ silica ที่มีขนาดแตกต่างกันในช่วง 122-1000 nm มาทำการศึกษาการซึมผ่านผิวหนังแบบภายนอกร่างกาย จากนั้นให้อนุภาคลงไปบนผิวหนังของหนูหูร่วมกับการใช้เครื่องนวด (massage appliance) เป็นเวลา 3 นาที และทำการตัดขวางของผิวหนังและวัดความเข้มของสารเรืองแสงด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอลที่ส่องกราดด้วยแสงเลเซอร์ ซึ่งภาพที่ได้สามารถบอกถึงตำแหน่งและความเข้มของสารเรืองแสงในอนุภาคที่สะสมอยู่ระดับความลึกต่างๆ โดยพบว่าอนุภาคในขนาดกลางของทั้ง PLGA และ silica (medium size; 643 และ 646 nm ตามลำดับ) สามารถซึมผ่านรูขุมขนลงไปได้ลึกกว่าอนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่าและใหญ่กว่า ดังนั้นขนาดอนุภาคที่แตกต่างกันส่งผลต่อการเข้าถึงตำแหน่งเป้าหมายที่จำเพาะแตกต่างกันด้วย นอกจากนี้สามารถนำเอาระดับความลึกที่แตกต่างกัน

มาเทียบกับโครงสร้างของตำแหน่งเป้าหมายภายในรูขุมขน (target structure within hair follicle) (Vogt et al., 2007) เพื่อแสดงให้เห็นว่าการนำส่งอนุภาคเข้าสู่เป้าหมายในตำแหน่งที่จำเพาะแตกต่างกัน ได้แก่ บริเวณอินฟินิติบูลัม บริเวณต่อมไขมัน บริเวณของส่วนที่โป่ง หรือเมทริกซ์เซลล์ของทั้งรูขุมขนชนิด terminal hair (THF) และ vellus hair (VHF) ได้ (Patzelt et al., 2011)

นอกจากนี้เทคนิคของกล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอลที่ส่องกราดด้วยแสงเลเซอร์ยังสามารถนำมาใช้ร่วมกับเทคนิคอื่นๆ อีก เช่น การรวมเทคนิคของเครื่องคอนโฟคอลรามานสเปกโตรสโกปีกับกล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอล เพื่อเป็นเครื่องมือวิเคราะห์การนำส่งยาเข้าสู่ผิวหนัง ต่อมไขมัน ต่อมเหงื่อ และรูขุมขน โดยสามารถศึกษาแบบภายในร่างกายได้ ซึ่งจะให้ข้อมูลในระดับโมเลกุลขององค์ประกอบทางเคมีทั้งของโครงสร้างผิวหนังและด้วยวิธีสตรูตารับที่นำส่งเข้าสู่ผิวหนังที่ตำแหน่งต่างๆ ได้ อย่างชัดเจนกว่าการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอลอย่างเดียว (Caspers et al., 2003) หรือการใช้เทคนิคของการลอกชั้นต่างๆ ของผิวหนังร่วมกับกล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอลที่ส่องกราดด้วยแสง

เลเซอร์ เพื่อวิเคราะห์สารเรืองแสงที่อยู่ในผิวหนังชั้น สตราตัมคอร์เนียม (การลอกผิวหนังด้วยเทปทั้งหมด 10 ครั้ง) และในรูขุมขน (การดึงสารเรืองแสงออกมา จากรูขุมขนด้วยการหยดไฮยาโนอะครีเลตทั้งหมด 2 ครั้ง) โดยวัดความเข้มของสารเรืองแสงจากเทปและ หยดไฮยาโนอะครีเลต ซึ่งผลที่ได้จะสามารถนำมาใช้ ยืนยันผลการศึกษาในเชิงปริมาณของสารเรืองแสงที่ สกัดออกมาจากเทปและหยดไฮยาโนอะครีเลตได้ (Raber et al., 2014)

บทสรุป

การศึกษาการซึมผ่านรูขุมขนในปัจจุบัน ได้ มีการพัฒนาเทคนิคต่างๆ เพื่อหาวิธีการวิเคราะห์ ปริมาณยาที่ถูกนำส่งเข้าสู่รูขุมขน เช่น เทคนิคการ ลอกชั้นต่างๆ ของผิวหนังและเทคนิคการปิดกั้นรูขุมขน อย่างจำเพาะ เทคนิคการใช้ผิวหนังแบบแซนวิช และเทคนิคการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอลที่ ส่องกราดด้วยแสงเลเซอร์โดยการนำหลายๆ เทคนิค มาประกอบการศึกษา มีความจำเป็นเพื่อให้เห็นความ แตกต่างได้ชัดเจนในกรณีที่มีการใช้รูขุมขนเป็นช่อง ทางนำส่งยาผ่านผิวหนังและการนำส่งยาไปยัง เป้าหมายที่จำเพาะในรูขุมขนเพื่อการออกฤทธิ์เฉพาะที่ โดยการศึกษาในปัจจุบันมีเทคนิคใหม่ๆ ที่นำมาใช้ ศึกษาการนำส่งยาผ่านรูขุมขน เพื่อให้ได้ผลอย่าง ถูกต้องและมีประสิทธิภาพมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม เทคนิคเหล่านั้นเป็นเพียงวิธีที่นิยมทำการศึกษา ภายนอกร่างกาย ดังนั้นในกระบวนการศึกษาควร ทำการศึกษาภายในร่างกายร่วมด้วย เนื่องจากการ ศึกษาภายนอกร่างกายอาจให้ผลการทดลองที่ คลาดเคลื่อนจากการเกิดการหดตัวของรูขุมขน หรือการไม่มีระบบไหลเวียนโลหิตรอบๆ รูขุมขน

References

- Alvarez-Roman R, Naik A, Kalia KN, et al. Visualization of skin penetration using confocal laser scanning microscopy. *Eur J Pharm Biopharm* 2004;58:301–316.
- Asavapichayont P. Advanced techniques for skin delivery evaluation. In: Opanasopit P, editors. Technology diversity for pharmaceutical products development. 1st ed. Nakhonpathom: Petkasemprieng; 2011. 211-233.
- Barry BW. Drug delivery routes in skin: a novel approach. *Adv Drug Deliv Rev* 2002; 54:31–40.
- Bouwstra JA, Honeywell-Nguyen PL, Gooris GS, et al. Structure of the skin barrier and its modulation by vesicular formulations. *Prog Lipid Res* 2003;42(1):1–36.
- Caspers PJ, Lucassen GW, Puppels GJ. Combined in vivo confocal Raman spectroscopy and confocal microscopy of human skin. *Biophys J* 2003;85: 572–580.
- Desai P, Shah P, Hayden P, et al. Investigation of follicular and non-follicular pathways for Polyarginine and Oleic Acid-Modified nanoparticles. *Pharm Res* 2013;30: 1037-1049.
- El Maghraby GM, Williams AC, Barry BW. Skin hydration and possible shunt route penetration in controlled estradiol delivery from ultradeformable and standard liposomes. *J Pharm Pharmacol* 2001;53: 1311–1322.

- Essa EA, Bonner MC, Barry BW. Human skin sandwich for assessing shunt route penetration during passive and iontophoretic drug and liposome delivery. *J Pharm Pharmacol* 2002;54:1481–1491.
- Gautier B, Bernard BA. On the use of Micro-Imager® to directly visualize drug distribution in human skin. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 2001;14:41–45.
- Grams YY, Whitehead L, Cornwell P, et al. Time and depth resolved visualization of the diffusion of a lipophilic dye into the hair follicle of fresh unfixed human scalp skin. *J Control Release* 2004;98:367–378.
- Jacobi U, Taube H, Schafer UF, et al. Comparison of four different in vitro systems to study the reservoir capacity of the stratum corneum. *J Control Release* 2005;103: 61–71.
- Knorr F, Lademann J, Patzelt A, et al. Follicular transport route—Research progress and future perspectives. *Eur J Pharm Biopharm* 2009;71:173–180.
- Lademann J, Richter H, Teichmann A, et al. Nanoparticles—an efficient carrier for drug delivery into the hair follicles. *Eur J Pharm Biopharm* 2007;66:159–164.
- Lademann J, Richter H, Schanzer S, et al. Penetration and storage of particles in human skin: Perspectives and safety aspects. *Eur J Pharm Biopharm* 2011;77: 465–468.
- Lauer AC, Lieb LM, Ramachandran C, et al. Transfollicular drug delivery. *Pharm Res* 1995;12:179–186.
- Meidan V, Bonner M, Michniak B. Transfollicular drug delivery—Is it a reality?. *Int J Pharm* 2005;306:1–14.
- Ogiso T, Shiraki T, Okajima K, et al. Transfollicular drug delivery: penetration of drugs through human scalp skin and comparison of penetration between scalp and abdominal skins in vitro. *J Drug Target* 2002;10(5):369–78.
- Otberg N, Patzelt A, Rasulev U, et al. The role of hair follicles in the percutaneous absorption of caffeine. *Br J Clin Pharmacol* 2007; 65(4):488–492.
- Patzelt A, Richter H, Buetttemeyer R, et al. Differential stripping demonstrates a significant reduction of the hair follicle reservoir in vitro compared to in vivo. *Eur J Pharm Biopharm* 2008;70:234–238.
- Patzelt A, Richter H, Knorr F, et al. Selective follicular targeting by modification of the particle sizes. *J Control Release* 2011; 150:45–48.
- Raber AS, Mittal A, Schäfer J, et al. Quantification of nanoparticle uptake into hair follicles in pig ear and human forearm. *J Control Release* 2014;179:25–32.
- Sarheed O, Frum Y. Use of the skin sandwich technique to probe the role of the hair follicles in sonophoresis. *Int J Pharm* 2012;423:179–183.
- Starcher B, Aycock RL, Hill CH. Multiple Roles for Elastic Fibers in the Skin. *J Histochem Cytochem* 2005;53:431–43.
- Subongkot, T., Wonglertnirant, N., Songprakhon, P., et al. Visualization of ultradeformable

liposomes penetration pathways and their skin interaction by confocal laser scanning microscopy. *Int J Pharm* 2013; 441:151–161.

Teichmann A, Jacobi U, Ossadnik M, et al. Differential stripping: Determination of the amount of topically applied substances penetrated into the hair follicles. *J Invest Dermatol* 2005;125:264-269.

Teichmann A, Otberg N, Jacobi U, et al. Follicular penetration: development of a method to block the follicles selectively against the penetration of topically applied substances. *Skin Pharmacol Physiol* 2006;19:216–223.

Touitou E, Meidan VM, Horwitz E. Methods of quantitative determination of drug localised in the skin. *J Control Release* 1998;56:7-21.

Trauer S, Patzelt A, Otberg N, et al. Permeation of topically applied caffeine through human skin – a comparison of in vivo and in vitro data. *Br J Clin Pharmacol* 2009;68:181–186.

Vogt A, Hadam S, Heiderhoff M, et al. Morphometry of human terminal and vellus hair follicles. *Exp Dermatol* 2007;16:946–950.