

การศึกษาประสิทธิผลของ TISTR-GSE จากเมล็ดองุ่นพันธุ์ปอกดำ  
(*VITIS VINIFERA CV. RIBIER*) ในรูปแบบนาโนอิมัลชัน  
ต่อการลดลงของฝ้าและจุดด่างดำในอาสาสมัคร  
THE EFFICACY OF TISTR-GSE NANOEMULSION  
FROM *VITIS VINIFERA CV. RIBIER* (POK DUM)  
ON SKIN MELASMA IN VOLUNTEERS

ภมรมาส กลับเพื่อน

pamornmas@yahoo.com

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

สำนักวิชา เวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ จรัสพล รินทระ

jarasphol@hotmail.com

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม (ภายนอก) ดร.ประไพภัทร คลังทรัพย์

prapaipat@tistr.or.th

สำนักวิชา เวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

**บทคัดย่อ**

ภูมิหลัง ฝ้า คือ ภาวะความผิดปกติที่เกิดจากเซลล์สร้างเม็ดสีที่ทำงานมากกว่าปกติที่พบได้บ่อย ซึ่งอาจเกิดจากหลายปัจจัยมากระตุ้น แต่ยังไม่ทราบสาเหตุที่ชัดเจน การรักษาฝ้าเป็นเรื่องที่ท้าทาย และยังคงต้องการการรักษาอย่างต่อเนื่องระยะยาว การศึกษาก่อนหน้านี้ พบว่า สารสำคัญที่พบในเมล็ดองุ่นสามารถยับยั้งการสร้างเม็ดสีเมลานิน และทำให้สีผิวขาวขึ้น ดังนั้น TISTR-GSE (TISTR = Thailand Institute of Scientific and Technological Research), (GSE = Grape Seed Extract) จากเมล็ดองุ่นพันธุ์ปอกดำ (*Vitis Vinifera cv. Ribier*) ในรูปแบบนาโนอิมัลชันอาจมีประสิทธิภาพในการรักษาฝ้าได้ **วัตถุประสงค์** เพื่อศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิผลของ TISTR-GSE ในการรักษาฝ้าและจุดด่างดำ รวมทั้งผลข้างเคียงของการใช้ TISTR-GSE ในการรักษาฝ้าและจุดด่างดำ

**วิธีการศึกษา** อาสาสมัครที่มีฝ้าและจุดด่างดำจำนวน 17 คน ได้รับการตรวจระดับความเข้มของฝ้าก่อนการรักษา หลังจากนั้นอาสาสมัครจะถูกสุ่มเลือกใบหน้าด้านซ้ายหรือขวา โดยใบหน้าด้านหนึ่งจะได้ทา TISTR-GSE และ อีกด้านหนึ่งจะได้ทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ประเมินผลการรักษาด้วย Mexameter® MX18 เป็นค่าระดับความเข้มฝ้า Mean Melanin Index (MMI) และ ค่าระดับความรุนแรงของฝ้า Melasma Area and Severity Index (MASI score) ในสัปดาห์ที่ 0, 4, และ 8 ร่วมกับการสอบถามระดับความพึงพอใจของอาสาสมัคร และ ผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นจากการทา **ผลการรักษา** พบว่าการใช้ TISTR-GSE สามารถลดความเข้มของฝ้าได้ดีมากขึ้นเมื่อวัดจากค่าความเข้มของฝ้า โดยพบความแตกต่างตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 เป็นต้นไป โดยที่กลุ่มที่ทา TISTR-GSE มีค่าเฉลี่ย MMI ก่อนการรักษา  $248.50 \pm 55.29$  ภายหลังการรักษา  $222.45 \pm 43.71$  ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p = 0.001$ ) กลุ่มที่ทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) มีค่าเฉลี่ย MMI ก่อนการรักษา(สัปดาห์ที่ 0)  $244.05 \pm 54.41$  ภายหลังการรักษา(สัปดาห์ที่ 8)  $250.00 \pm 56.03$  ลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p = 0.149$ ) ส่วนค่า MASI score ในกลุ่มที่ทา TISTR-GSE ก่อนการรักษา  $7.23 \pm 3.04$  ภายหลังการรักษา  $5.81 \pm 2.40$  ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p = 0.001$ ) กลุ่มที่ทานาโนอิมัลชัน (Base) ก่อนการรักษา  $6.73 \pm 2.81$  ภายหลังการรักษา  $6.19 \pm 2.63$  ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p = 0.007$ ) **สรุป** จากผลการทดลองพบว่า TISTR-GSE ช่วยลดระดับความเข้มของฝ้าและระดับความรุนแรงของฝ้าได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 เมื่อเทียบกับนาโนอิมัลชัน (Base) โดยมีผลข้างเคียงน้อย จึงอาจเป็นทางเลือกหนึ่งในการรักษาฝ้า

**คำสำคัญ:** นาโนอิมัลชัน / สารสกัดจากเมล็ดองุ่นพันธุ์ป๊อปด้า/ฝ้า

## **Abstract**

Melasma is a common, acquired hypermelanosis. The exact cause is unknown. However, many factors have been implicated in the etiopathogenesis of this disorder. The management of melasma is challenging and requires a long-term treatment plan. The previous studies confirmed that grape seed extract suppressed melanin synthesis and could be whitening agent *in vitro* and animal studies. Therefore, grape seed extract may have potential to treat melasma.

**Objective:** The purpose of this study the efficacy and side effect of TISTR-GSE (TISTR = Thailand Institute of Scientific and Technological Research), (GSE = Grape Seed Extract) Nanoemulsion from *Vitis Vinifera* cv. Ribier (Pok Dum) on skin melasma.

**Materials and Methods:** The study enrolled 17 volunteers who have melasma on their face were double-blind randomly split face. TISTR-GSE was applied on one side of face and Nanoemulsion (Base) on another side of face for 8 weeks. Results from each treatment were evaluated by using Mexameter<sup>®</sup> MX18 for MMI (Mean Melanin Index) and Melasma Area and Severity Index (MASI score) for weeks 0, 4, 8. Satisfaction level and side effect were also monitored.

**Results:** all of the volunteers were complete the treatment protocol (17 volunteers). The study showed TISTR-GSE group showed a statistically significant improvements over the control group in efficacy assessment of MMI from the 4<sup>th</sup> weeks to the end of treatment. By the study group had the decreasing mean of MMI before receiving treatment  $248.50 \pm 55.29$ , the end of treatment (8<sup>th</sup> weeks)  $222.45 \pm 43.71$ , decreased statistically significant 0.05 ( $p = 0.001$ ). Nanoemulsion (Base) showed mean of MMI before receiving treatment  $244.05 \pm 54.41$  after treatment (8<sup>th</sup> weeks)  $250.00 \pm 56.03$ , no statistically significant decline. ( $p = 0.149$ ). However, the MASI score TISTR-GSE showed before receiving treatment  $7.23 \pm 3.04$ , the end of treatment  $5.81 \pm 2.40$ , decreased statistically significant 0.05 ( $p = 0.001$ ). Nanoemulsion (Base) showed mean of MASI score before receiving treatment  $6.73 \pm 2.81$  the end of treatment  $6.19 \pm 2.63$  decreased statistically significant 0.05 ( $p = 0.007$ ).

**Conclusion:** The result indicate that TISTR-GSE can potentially improve the melasma when compared with Nanoemulsion (Base) with minimal side effect and may be an alternative medicine for treatment of melasma.

**Keywords:** Nanoemulsion / *Vitis vinifera* cv. Ribier (POK DUM) Extract / Melasma

## บทนำ

การมีผิวพรรณที่สดใสอ่อนเยาว์ไว้จุดต่างคำเป็นความปรารถนาของคนทั่วไป แต่สภาพร่างกายที่ร่วงโรยตามกาลเวลาเป็นสภาพความเสื่อมโทรมตามธรรมชาติที่ยากจะหลีกเลี่ยง หากมีวิธีการใดที่จะช่วยสามารถชะลอหรือหยุดการเปลี่ยนแปลงนั้นได้ย่อมเป็นสิ่งที่น่าสนใจอย่างยิ่ง ผิวหน้าซึ่งเป็นอวัยวะส่วนหนึ่งของร่างกายที่พบเห็นการเปลี่ยนแปลง การเกิดริ้วรอย จุดต่างคำฝ้า ความหมองคล้ำ มีกระและเม็ดสีผิวที่เข้มขึ้นได้ง่ายกว่าส่วนอื่น ซึ่งนอกจากปัจจัยความเสื่อมโทรมตามธรรมชาติแล้ว ปัจจัยเสริมที่เป็นสาเหตุให้เกิดปัญหาผิวพรรณหมองคล้ำเกิดจากการได้รับแสงแดดเพราะในแสงแดดมีรังสียูวี (UV) โดยเฉพาะประเทศที่อยู่แถบศูนย์สูตรอย่างเมืองไทย เสี่ยงกับการที่ผิวหน้าจะเผชิญกับรังสียูวีโดยตรง (กนกวลัย กุลทนต์, 2548) เนื่องจากเป็นโซนที่อยู่ใกล้ดวงอาทิตย์และชั้นบรรยากาศช่วยกรองแสงได้น้อยกว่าประเทศแถบอื่น นอกจากนี้การทำงานหน้าจอคอมพิวเตอร์เป็นเวลานานและความเครียดก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการเสื่อมสภาพดังกล่าว นอกจากจะหลีกเลี่ยงรังสียูวีและความเครียดแล้ว วิธีการหนึ่งที่นิยมใช้ในการแก้ปัญหานี้คือ การบำรุงผิวอย่างถูกต้อง ซึ่งผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ใช้กับผิวหน้าในปัจจุบันมีทั้งส่วนผสมจากสารเคมีโดยตรงและสารสกัดจากธรรมชาติ แต่เครื่องสำอางที่กำลังเป็นที่นิยมใช้กันในปัจจุบันคือเครื่องสำอางที่ผลิตมาจากสารสกัดจากธรรมชาติเพราะมีความปลอดภัยค่อนข้างสูงถ้าเทียบกับเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมที่มาจากสารเคมี

ในปัจจุบันค่านิยมเรื่องการมีผิวที่กระจ่างใสได้รับความนิยมนับเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะในเอเชีย เนื่องจากความเชื่อในอดีตเรื่องการมีผิวที่ขาวใสไว้ร่องรอยจุดต่างคำคืออาการมีผิวสุขภาพดี ดังจะเห็นได้จากสูตรการบำรุงผิวของหญิงสาวชั้นสูงในสมัยโบราณ ล้วนแต่หวังผลในเรื่องของการทำให้ผิวขาวใส และในปัจจุบันค่านิยมการมีผิวขาวเนียนไว้ร่องรอยจุดต่างคำนี้ ยังได้รับความนิยมนับเป็นอย่างมาก มีการผลิตและจำหน่ายผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้เพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ จากการศึกษาเรื่องการวิจัยการตลาดของเวชสำอางจากสมุนไพรธรรมชาติเพื่อผิวขาวซึ่งใช้นาโนเทคโนโลยีในการผลิต (นุจรี เหลืองอรุณและอภิสิทธิ์ คุณเนทราศัย, 2550) ทำการสำรวจกลุ่มตัวอย่าง 218 ตัวอย่าง พบว่าร้อยละ 84.9 เป็นเพศหญิง ผู้ที่คิดว่าจะใช้เวชสำอางเพื่อผิวขาวมีสูงถึงร้อยละ 36.1 (อายุ ระหว่าง 30-40 ปี คิดเป็นร้อยละ 59)

ฝ้า (Melasma) มีลักษณะเป็นผื่นสีน้ำตาลจางๆถึงน้ำตาลเข้ม โดยมักจะเกิดบริเวณจมูก หน้าผาก แก้ม คาง มักเป็นเหมือนกัน 2 ข้างของใบหน้า พบบ่อยในหญิงวัยกลางคน และมักเป็นบริเวณที่ถูกแสงแดดเป็นประจำ ฝ้าพบในทุกเชื้อชาติ แต่พบเด่นในคนแถบเอเชียที่มีสีผิวก่อนข้างคล้ำ (Fitzpatrick skin phototypes IV ถึง VI)(Clarys, & Barel, 1998) โดยฝ้าแบ่งตามลักษณะทางคลินิกได้ 3 ประเภทคือ ฝ้าตื้น ฝ้าลึก และฝ้าผสม ซึ่งเป็นฝ้าที่มีลักษณะของฝ้าตื้นและฝ้าลึกรวมกัน

(กนกวลัย กุลทนต์ , 2010) โดยปัจจุบันยังไม่ทราบสาเหตุว่าฝ้ายเกิดจากอะไร แต่ปัจจัยที่มีส่วนส่งเสริมให้เกิดคือ แสงแดด ซึ่งเชื่อว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุด พันธุกรรม ฮอว์โมน เช่น พวก รับประทานยาคุมกำเนิด , ตั้งครรภ์ , เครื่องสำอาง , โรคความผิดปกติของต่อมไร้ท่อบางอย่าง เช่น ไทรอยด์ , ภาวะโภชนาการ โดยเชื่อว่าปัจจัยเหล่านี้ มีผลกระตุ้นการทำงานของเซลล์สร้างเม็ดสี และทำให้เกิดฝ้าตามมา

**TISTR-GSE** คือ สารสกัดจากเมล็ดองุ่นพันธุ์ป็อกดำ (*Vitis Vinifera* cv. Ribier) ที่ได้รับอนุเคราะห์จากไร่องุ่นจริงเจตน์ จังหวัดนครราชสีมา อยู่ในรูปของกากผลองุ่นแห้งแข็งที่เหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปและไวน์องุ่น ทำออกมาในรูปแบบนาโนอิมัลชัน ซึ่งเป็นงานวิจัยของฝ่ายเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (Thailand Institute of Scientific and Technological Research) เป็นผู้ให้ความอนุเคราะห์ผลิตวัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัยเล่มนี้ (ฝ่ายเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ , สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2558)

**TISTR-GSE** อยู่ในรูปอนุภาคนาโนที่ขนาดเล็กกว่า 100 นาโนเมตร ด้วยเทคโนโลยีนาโนอิมัลชัน ชนิดน้ำในน้ำมัน (w/o) ที่ใช้กักเก็บและนำส่งสารสกัดเมล็ดองุ่นพันธุ์ป็อกดำซึ่งมีสาระสำคัญ คือ oligomeric proanthocyanidin (OPCs) ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง และเป็นการเพิ่มมูลค่าให้วัสดุเหลือทิ้งหรือซากผลองุ่น (ที่มีเมล็ดองุ่นตกค้างอยู่ด้วย) จากภาคอุตสาหกรรม นาโนอิมัลชันเตรียมด้วยวิธีการเจือจางไมโครอิมัลชันด้วยวัตถุดิบภายนอก (dilution method) สารที่ใช้เป็นวัตถุดิบ คือ น้ำปราศจากไอออน / propylene glycol วัตถุดิบน้ำมัน คือ cetyl ethylhexanoate และ อิมัลซิไฟเออร์ คือ sorbitan monooleate / polyglyceryl-10 oleate / polyglyceryl-2 oleate ไมโครและนาโนอิมัลชันที่ได้ถูกนำไปประเมินลักษณะทางกายภาพและเคมี ไมโครอิมัลชันสูตร B3PG 1:0 และนาโนอิมัลชันสูตร B3PG 1:0.5 ที่กักเก็บสารสกัดเมล็ดองุ่นพันธุ์ป็อกดำความเข้มข้น 1% เป็นสูตรที่มีความคงตัวทางกายภาพดี มีความหนืดต่ำและความเป็นกรด-ด่างของสูตรใกล้เคียงผิวหนังมนุษย์ เมื่อวัดขนาดอนุภาคได้ค่าเท่ากับ  $6.6 \pm 0.32$  และ  $14.6 \pm 0.46$  นาโนเมตร ตามลำดับ และสาร OPCs ในสูตรทั้งสอง มีความคงตัวดีเมื่อเก็บในสภาวะเร่งแบบสลับอุณหภูมิ ( $45 \pm 1^\circ\text{C} / 70 \pm 5\% \text{RH}$  และ  $5 \pm 1^\circ\text{C} / 45 \pm 5\% \text{RH}$ ) เป็นระยะเวลา 150 วัน ผลิตภัณฑ์นาโนอิมัลชันที่เตรียมได้มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะซูเปอร์ออกไซด์ทั้งในระบบตรวจวัดการกำจัดอนุมูลของสารกลุ่มที่ละลายได้ในน้ำ (anti-oxidant capacity of water-soluble compound, ACW) และ กลุ่มที่ละลายในไขมัน (anti-oxidant capacity of lipid-soluble compound, ACL) และเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความปลอดภัยจากผลการประเมินความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิดไฟโบรบลาสต์ด้วยวิธี

MTT assay. (ฝ่ายเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ, สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2558)

การเตรียมสารสกัดจากเมล็ดองุ่น สกัดด้วยวิธี Conventional extraction โดยนำเมล็ดองุ่นแห้งที่บดแล้วหมักกับตัวทำละลายคือ 95% ethanol ทำการกรองส่วนใสด้วยผ้าขาวบางและกระดาษกรอง (Whatman paper) แล้วนำไปทำการระเหยแห้งด้วยเครื่อง Rotary Evaporator เก็บสารสกัดที่ได้ (crude extract) ที่อุณหภูมิ  $-20^{\circ}\text{C}$  โดยนำมาละลายที่อุณหภูมิห้องเมื่อต้องการใช้งาน. (ฝ่ายเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ, สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2558)

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพผลของ TISTR-GSE ในรูปแบบนาโนอิมัลชัน ในการรักษาฝ้าและจุดด่างดำ
2. เพื่อประเมินความพึงพอใจในการใช้ TISTR-GSE ในรูปแบบนาโนอิมัลชัน ในการรักษาฝ้าและจุดด่างดำเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์
3. เพื่อศึกษาผลข้างเคียงของ TISTR-GSE ในรูปแบบนาโนอิมัลชัน

### ขอบเขตการวิจัย

1. ประชากรที่ใช้ในการวิจัย  
ประชากรหญิงไทยที่มีฝ้าชนิดตื้น (Epidermal type) และจุดด่างดำบริเวณใบหน้า
2. กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย  
อาสาสมัครหญิงไทย อายุระหว่าง 30-55 ปี ที่ได้รับการวินิจฉัยว่ามีฝ้าชนิดตื้น (Epidermal type) และจุดด่างดำบริเวณใบหน้า และมีความต้องการการรักษา สามารถติดตามผลที่โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง กรุงเทพมหานคร และผ่านคัดเลือกตามที่กำหนด

### วิธีดำเนินการวิจัย

รูปแบบการวิจัยเป็นเชิงทดลองทางคลินิกแบบไปข้างหน้า โดยแบ่งการรักษาครึ่งใบหน้า (prospective, doubleblind, split-face, clinical trial)

## ขั้นตอนการวิจัย

1. คัดเลือกผู้เข้าร่วมวิจัยตามข้อกำหนดเบื้องต้น ซึ่งแจ้งวัตถุประสงค์ของโครงการและประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัยอย่างละเอียด หลังจากนั้นให้ผู้เข้าร่วมวิจัยลงนามยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยโดยข้อมูลทุกอย่างจะถูกเก็บไว้เป็นความลับ

2. ชักประวัติข้อมูลทั่วไปของผู้เข้าร่วมวิจัยรวมถึงประวัติโรคประจำตัวและแพ้ยา

3. การตรวจร่างกาย

3.1 บันทึกลักษณะชนิดของผิวหนัง (Skin type) ตามหลักเกณฑ์มาตรฐานของ Fitzpatrick

3.2 จำแนกชนิดของฝ้าโดยการตรวจ Wood 's lamp คัดเลือกฝ้าเฉพาะฝ้าชนิดตื้น (Epidermal type) และผู้ที่มีจุดต่างคำร่วมด้วย

3.3 ถ่ายรูปใบหน้าด้วยกล้องวิเซีย (VISIA®) 3 ภาพคือ หน้าตรง 1 ภาพ หน้าข้างขวา 1 ภาพและหน้าด้านซ้าย 1 ภาพ ถ่ายภาพ ก่อนเริ่มการวิจัย และระหว่างทานาโนอิมัลชันในสัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 8 ตามลำดับ ด้วยกล้องตัวเดียวกันสถานะแวดล้อมเดียวกันตลอดการวิจัย

3.4 วัดความเข้มของสีผิวโดยใช้เครื่องมือวัดความเข้มของสีผิวหรือ Mexameter® MX18 ได้ค่าเป็นค่าเม็ดสี คำนวณเป็นค่าเฉลี่ยเม็ดสี ก่อนเริ่มการวิจัย และระหว่างที่ทาครีมในสัปดาห์ที่ 0, 4 และสัปดาห์ที่ 8 ตามลำดับ บริเวณที่วัดคือเหนือคิ้วซ้ายและขวา กึ่งกลางตาดำ 1 เซนติเมตร และบริเวณแก้มซ้ายและขวา วัดบริเวณใต้ตา กึ่งกลางตาดำ 3 เซนติเมตร

3.5 ประเมินค่า MASI score ตามสูตร โดยแพทย์ 2 ท่านที่ไม่เกี่ยวข้องกับการวิจัยและผ่านการอบรมวิธีสังเกตลักษณะทางคลินิกของฝ้าเรื้อรัง และแปลผลออกมาเป็นตัวเลข โดยจะประเมินที่สัปดาห์ที่ 0, 4 และ 8 ตามลำดับ

3.6 ทดสอบการเกิดอาการระคายเคืองและผื่นแพ้สัมผัสของอิมัลชันที่ใช้ในการวิจัยก่อนเริ่มทาที่ใบหน้าโดยการทำ Patch test โดยใช้นาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) และ TISTR-GSE ใส่ลงใน Finn Chambers เพื่อทำการทดสอบอาการระคายเคืองและผื่นแพ้สัมผัส โดยแปะ Finn Chambers ที่ปิดด้วยแผ่นกาวไว้ที่บริเวณแผ่นหลังของอาสาสมัคร และนัดมาอ่านผลที่ 48 ชั่วโมงและ 72 ชั่วโมงหลังจากที่เริ่มแปะ

3.7 วิธีการสุ่มเลือกยาทำให้ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย (Randomization) ผู้เข้าร่วมวิจัยจะไม่ทราบว่าได้ยาชนิดใดทางด้านไหน โดยอาสาสมัครทุกรายจะได้รับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจำนวน 2 กระปุก

1) อาสาสมัครจะได้รับเครื่องสำอางนาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) โดยมีตัวอักษรเขียนติดไว้ว่า “ ขวา “ เพื่อทาซีกขวาของใบหน้า และ กระปุกที่สองจะได้รับเครื่องสำอาง TISTR-GSE โดย

มีตัวอักษรเขียนติดไว้ว่า “ ซ้าย “ เพื่อหาซีกซ้ายของใบหน้า โดยทั้งสองชนิดนี้จะทำเป็นประจำ เช้า และก่อนนอน และ ใช้ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

2) ทำการวัดความเปลี่ยนแปลงของสภาพผิวโดยใช้ skin parameters ของอาสาสมัครใน สัปดาห์แรก, สัปดาห์ที่ 4 และ สัปดาห์ที่ 8 โดยก่อนทำการวัดขอให้อาสาสมัครทำการล้างหน้าให้ สะอาดทุกครั้ง และทำการทดสอบในห้องที่มีการควบคุมอุณหภูมิ

การวิเคราะห์ข้อมูลในครั้งนี้ทำโดยโปรแกรมสำเร็จรูปในการวิเคราะห์ข้อมูล โดยสถิติที่ใช้ในการ วิเคราะห์ข้อมูลมีดังนี้

1. ข้อมูลทั่วไป วิเคราะห์โดยใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ จำนวน ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ค่าส่วน เบี่ยงเบนมาตรฐาน

2. เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของผล Mexameter MX18<sup>®</sup> ระหว่างกลุ่มนาโนอิมัลชัน พื้นฐาน (Base) กับ TISTR-GSE ใช้สถิติเชิงอนุมาน Paired-Samples T-test กำหนดความเชื่อมั่น 95%

3. เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของผล Mexameter MX18<sup>®</sup> ในกลุ่มคนเดียวกัน แต่ละคนละ สัปดาห์ ใช้สถิติเชิงอนุมาน Non Parametric Test Wilcoxon Signed ranks test กำหนดความเชื่อมั่น 95%

4. เปรียบเทียบความแตกต่างของผลการรักษาโดยการวัดจากเครื่องมือสองเครื่องมือ ระหว่างค่าระดับความเข้มฝ้า (Mean Melanin index) และค่าระดับความรุนแรงของฝ้า (Melasma Area and Severity Index) ตั้งแต่ก่อนการรักษา, สัปดาห์ที่ 4 และจนถึงสัปดาห์สุดท้าย (สัปดาห์ที่ 8) เป็นการเปรียบเทียบแต่ละสัปดาห์ต่างๆ ของใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา TISTR-GSE และ ใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) ใช้สถิติ Student's t-Test

5. เปรียบเทียบภายในกลุ่ม คือ ใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา TISTR-GSE และ ใบหน้า ด้านที่รักษาโดยการทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) โดยการวัดจากเครื่องมือทั้งสองเครื่องมือ ระหว่าง ค่าระดับความเข้มของฝ้า (Mean Melanin index) และค่าระดับความรุนแรงของฝ้า (Melasma Area and Severity Index) ใช้สถิติ ANOVA (F-Test)

6. เปรียบเทียบผลของการรักษาในสัปดาห์ที่ 4 และ สัปดาห์ที่ 8 ของใบหน้าด้านที่รักษา โดยการทา TISTR-GSE และ ใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) โดยการ วัดจากเครื่องมือทั้งสองเครื่องมือ ระหว่าง ค่าระดับความเข้มฝ้า (Mean Melanin index) และค่า ระดับความรุนแรงของฝ้า (Melasma Area and Severity Index) ว่าผลที่ได้รับมีการรักษาไปใน ทิศทางที่ดีขึ้นหรือไม่ ใช้สถิติ Student's t-Test

7. เปรียบเทียบผลของการยับยั้งฝ้า (% Suppression) ไม่ให้เพิ่มมากขึ้นของใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา TISTR-GSE และ ใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) โดยการวัดจากเครื่องมือทั้งสองเครื่องมือ ระหว่าง ค่าระดับความเข้มฝ้า (Mean Melanin index) และ ค่าระดับความรุนแรงของฝ้า (Melasma Area and Severity Index) ใช้สถิติ Student's t-Test

8. ผลการวิเคราะห์ความพึงพอใจ จากการใช้ TISTR-GSE กับกลุ่มนาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) หลังจากการรักษาครบ 8 สัปดาห์ ใช้สถิติเชิงพรรณนาได้แก่ จำนวน ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ซึ่งมีเกณฑ์การแปลผลการประเมินความพึงพอใจในการรักษา โดยใช้แบบสอบถามแบบมาตราส่วนประมาณค่าของลิเคิร์ตสเกล (Likert Scale) 5 ระดับ โดยเร็นซิส เอ. ลิเคิร์ต (Rensis A. Likert) (Likert, Rensis A. (1961) โดยแบ่งเป็น 5 ระดับ ดังนี้

- 5 (>81%) หมายถึง ระดับความพึงพอใจมากที่สุด
- 4 (61-80%) หมายถึง ระดับความพึงพอใจมาก
- 3 (41-60%) หมายถึง ระดับความพึงพอใจปานกลาง
- 2 (21-40%) หมายถึง ระดับความพึงพอใจน้อย
- 1 (0-20%) หมายถึง ระดับความพึงพอใจน้อยที่สุด

9. เปรียบเทียบระดับความพึงพอใจต่อประสิทธิผลการรักษาจุดดำและฝ้าบนใบหน้าทั้งสองด้าน ใช้สถิติ Student's t-Test กำหนดความเชื่อมั่น 95%

10. ผลข้างเคียงที่พบจากการใช้ TISTR-GSE กับกลุ่ม นาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) ใช้ Descriptive analysis

## ผลการวิจัย

**ตารางที่ 1** ผลการวิจัยเชิงวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของผลการรักษาโดยรวมของค่าระดับความเข้มของฝ้า (Mean Melanin index) ตั้งแต่ก่อนการรักษาจนถึงสัปดาห์ที่ 8 ของใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) และใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา TISTR-GSE

ประเภทการรักษา	ก่อน	สัปดาห์ที่ 8	p-value
Base	244.05±54.41	250.00±56.03	0.149
TISTR-GSE	248.50±55.29	222.45±43.71	0.001*

\* มีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$

จากตารางที่ 1 การเปรียบเทียบความแตกต่างของผลการรักษาโดยรวม พบว่า ค่าระดับความเข้มฝ้า (Mean Melanin index) ของใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) เมื่อเทียบกับก่อนการรักษากับสัปดาห์สุดท้ายของการรักษา (สัปดาห์ที่ 8) ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 โดยมีค่าเฉลี่ย ก่อนการรักษา 244.05±54.41 หลังการรักษา (สัปดาห์ที่ 8) มีค่าเฉลี่ย 250.00±56.03 ( $p = 0.149$ ) ส่วนค่าระดับความเข้มของฝ้า (Mean Melanin index) ของใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา TISTR-GSE เมื่อเทียบกับก่อนการรักษากับสัปดาห์สุดท้ายของการรักษา (สัปดาห์ที่ 8) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 โดยมีค่าเฉลี่ย ก่อนการรักษา 248.50±55.29 หลังการรักษา (สัปดาห์ที่ 8) 222.45±43.71 ( $p = 0.001$ )

**ตารางที่ 2** ผลการวิจัยเชิงวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของผลการรักษาโดยรวมของค่าระดับความรุนแรงของฝ้า (Melasma Area and Severity Index) ตั้งแต่ก่อนการรักษา กับสัปดาห์สุดท้ายของการรักษา(สัปดาห์ที่ 8) ของใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา นานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) และ ใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา TISTR-GSE

กลุ่มการรักษา	ก่อน	สัปดาห์ที่ 8	p-value
Base	6.73±2.81	6.19±2.63	0.007*
TISTR-GSE	7.23±3.04	5.81±2.40	0.001*

\* มีนัยสำคัญที่  $p < 0.05$

จากตารางที่ 2 การเปรียบเทียบความแตกต่างของผลการรักษาโดยรวมของค่าระดับความรุนแรงของฝ้า (Melasma Area and Severity Index) ของใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทานานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) และของใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา TISTR-GSE เมื่อเทียบกับก่อนการรักษากับสัปดาห์สุดท้ายของการรักษา (สัปดาห์ที่ 8) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 โดยใบหน้าด้านที่ทานานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) มีค่าเฉลี่ยก่อนการรักษา 6.73±2.81, หลังการรักษา(สัปดาห์ที่ 8) 6.19±2.63 ( $p = 0.007$ ), ส่วนใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา TISTR-GSE มีค่าเฉลี่ยก่อนการรักษา 7.23±3.04, หลังการรักษา (สัปดาห์ที่ 8) 5.81±2.40 ( $p = 0.001$ )

**ตารางที่ 3** ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างของผลการรักษาโดยค่าที่ได้วัดจาก ค่าระดับความเข้มของฝ้า (Mean Melanin index) ตั้งแต่ก่อนการรักษาจนถึงสัปดาห์ที่ 8 ของใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา TISTR-GSE และใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base)

สัปดาห์	ค่าระดับความเข้มฝ้า				t	df	p-value
	TISTR-GSE		Base				
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD			
สัปดาห์ที่ 0	248.509	55.299	244.058	54.411	2.967	16	0.009*
สัปดาห์ที่ 4	233.529	43.403	243.784	54.799	1.836	16	0.085
สัปดาห์ที่ 8	222.450	43.713	250.001	56.035	4.223	16	0.001*

\* มีนัยสำคัญที่  $p < 0.05$

จากตารางที่ 3 เป็นการเปรียบเทียบระหว่างใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา TISTR-GSE กับใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) ในแต่ละสัปดาห์พบว่า ในช่วงสัปดาห์ก่อนการรักษา (Baseline) และช่วงสัปดาห์ที่ 8 มีค่าเฉลี่ยความเข้มฝ้าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ส่วนในช่วงสัปดาห์ที่ 4 แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 โดยในสัปดาห์ที่ 0 (Baseline) มีค่าเฉลี่ยของใบหน้าด้านที่ทา TISTR-GSE เท่ากับ  $248.509 \pm 55.299$  และ ใบหน้าด้านที่ทานาโนอิมัลชัน (Base) เท่ากับ  $244.058 \pm 54.411$  โดยมีค่าเฉลี่ยของระดับความเข้มของฝ้าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p = 0.009$ ), ในสัปดาห์ที่ 4 มีค่าเฉลี่ยของใบหน้าด้านที่ทา TISTR-GSE เท่ากับ  $233.529 \pm 43.403$  และ ใบหน้าด้านที่ทานาโนอิมัลชัน (Base) เท่ากับ  $243.784 \pm 54.799$  โดยมีค่าเฉลี่ยของระดับความเข้มของฝ้าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p = 0.085$ ), ในสัปดาห์ที่ 8 มีค่าเฉลี่ยของใบหน้าด้านที่ทา TISTR-GSE เท่ากับ  $222.450 \pm 43.713$  และ ใบหน้าด้านที่ทานาโนอิมัลชัน (Base) เท่ากับ  $250.001 \pm 56.035$  โดยมีค่าเฉลี่ยของระดับความเข้มของฝ้าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p = 0.001$ )

**ตารางที่ 4** ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างของผลการรักษา โดยค่าที่ได้วัดจาก ค่าระดับความรุนแรงของฝ้า (Melasma Area and Severity Index) ตั้งแต่ก่อนการรักษาจนถึงสัปดาห์ที่ 8 ของใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา TISTR-GSE และ ใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base)

สัปดาห์	ค่าระดับความรุนแรงฝ้า				t	df	p-value
	TISTR-GSE		Base				
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD			
สัปดาห์ที่ 0	7.235	3.042	6.735	2.819	-1.031	16	0.318
สัปดาห์ที่ 4	6.679	2.745	6.452	2.828	-0.466	16	0.647
สัปดาห์ที่ 8	5.814	2.402	6.197	2.637	0.865	16	0.400

\* มีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$

จากตารางที่ 4 เป็นการเปรียบเทียบระหว่างใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา TISTR-GSE กับใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) ในแต่ละสัปดาห์พบว่า ในช่วงสัปดาห์ก่อนการรักษา (Baseline) ถึงช่วงสัปดาห์ที่ 8 มีค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของฝ้าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 โดยในสัปดาห์ที่ 0 (Baseline) มีค่าเฉลี่ยของใบหน้าด้านที่ทา TISTR-GSE เท่ากับ  $7.235 \pm 3.042$  และ ใบหน้าด้านที่ทานาโนอิมัลชัน (Base) เท่ากับ  $6.735 \pm 2.819$  โดยมีค่าเฉลี่ยของระดับความรุนแรงของฝ้าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p = 0.318$ ), ในสัปดาห์ที่ 4 มีค่าเฉลี่ยของใบหน้าด้านที่ทา TISTR-GSE เท่ากับ  $6.679 \pm 2.745$  และ ใบหน้าด้านที่ทานาโนอิมัลชัน (Base) เท่ากับ  $6.452 \pm 2.828$  โดยมีค่าเฉลี่ยของระดับความรุนแรงของฝ้าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p = 0.647$ ), ในสัปดาห์ที่ 8 มีค่าเฉลี่ยของใบหน้าด้านที่ทา TISTR-GSE เท่ากับ  $5.814 \pm 2.402$  และ ใบหน้าด้านที่ทานาโนอิมัลชัน (Base) เท่ากับ  $6.197 \pm 2.637$  โดยมีค่าเฉลี่ยของระดับความเข้มของฝ้าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p = 0.400$ )

ตารางที่ 5 ตารางวิเคราะห์เปรียบเทียบภายในกลุ่ม คือ ไบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา TISTR-GSE และ ไบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา นาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) โดยการวัดจากเครื่องมือ วัดค่าระดับความเข้มของฝ้า (Mean Melanin index)

กลุ่มการรักษา	สัปดาห์	ค่าระดับความเข้มฝ้า		สัปดาห์	ค่าระดับความเข้มฝ้า		p-value
		$\bar{x}$	SD		$\bar{x}$	SD	
TISTR-GSE	สัปดาห์ที่ 0	248.509	55.299	Week 4	233.529	43.403	<0.001*
				Week 8	222.450	43.713	<0.001*
Base	สัปดาห์ที่ 4	244.058	54.411	Week 8	250.001	56.035	<0.001*
				Week 8	250.001	56.035	<0.001*

\* มีนัยสำคัญทางสถิติที่  $p < 0.05$

จากตารางที่ 5 เป็นการเปรียบเทียบภายในกลุ่มที่ได้จากการวัดจากเครื่องมือวัดค่าระดับความเข้มฝ้า (Mean Melanin index) คือ ไบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา TISTR-GSE เปรียบเทียบกันระหว่างสัปดาห์ที่ 0 และ สัปดาห์ที่ 4, สัปดาห์ที่ 0 และสัปดาห์ที่ 8, สัปดาห์ที่ 4 เทียบกับ สัปดาห์ที่ 8 และ ไบหน้าด้านที่รักษาโดยการทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) เปรียบเทียบกันระหว่างสัปดาห์ที่ 0 และ สัปดาห์ที่ 4, สัปดาห์ที่ 0 และ สัปดาห์ที่ 8, สัปดาห์ที่ 4 เทียบกับ สัปดาห์ที่ 8 พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระดับ 0.05 ทั้งหมด โดยไบหน้าด้านที่ทา TISTR-GSE จากสัปดาห์ก่อนการรักษา (สัปดาห์ที่ 0) มีค่าเฉลี่ย  $248.509 \pm 55.299$  เทียบกับ สัปดาห์ที่ 4 มีค่าเฉลี่ย  $233.529 \pm 43.403$  พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p < 0.001$ ), สัปดาห์ก่อนการรักษา มีค่าเฉลี่ย  $248.509 \pm 55.299$  เทียบกับ สัปดาห์ที่ 8 มีค่าเฉลี่ย  $222.450 \pm 43.713$  พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p < 0.001$ ) และ สัปดาห์ที่ 4 มีค่าเฉลี่ย  $233.529 \pm 43.403$  เทียบกับ สัปดาห์ที่ 8 มีค่าเฉลี่ย  $222.450 \pm 43.713$  พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p < 0.001$ ) ส่วนไบหน้าด้านที่ทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) จากสัปดาห์

ก่อนการรักษา (สัปดาห์ที่ 0) มีค่าเฉลี่ย  $244.058 \pm 54.411$  เทียบกับ สัปดาห์ที่ 4 มีค่าเฉลี่ย  $243.784 \pm 54.799$  พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p < 0.001$ ), สัปดาห์ก่อนการรักษา มีค่าเฉลี่ย  $244.058 \pm 54.411$  เทียบกับ สัปดาห์ที่ 8 มีค่าเฉลี่ย  $250.001 \pm 56.035$  พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p < 0.001$ ) และ สัปดาห์ที่ 4 มีค่าเฉลี่ย  $243.784 \pm 54.799$  เทียบกับ สัปดาห์ที่ 8 มีค่าเฉลี่ย  $250.001 \pm 56.035$  พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p < 0.001$ )

ตารางที่ 6 ตารางวิเคราะห์เปรียบเทียบภายในกลุ่ม คือ ไบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา TISTR-GSE และ ไบหน้าด้านที่รักษาโดยการทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) โดยการวัดจากเครื่องมือวัดค่าระดับความรุนแรงของฝ้า (Melasma Area and Severity Index)

กลุ่มการรักษา	สัปดาห์	ค่าระดับความรุนแรง		สัปดาห์	ค่าระดับความรุนแรง		p-value
		ฝ้า			ฝ้า		
		$\bar{x}$	SD		$\bar{x}$	SD	
TISTR-GSE	สัปดาห์ที่ 0	7.235	3.042	Week 4	6.679	2.745	<0.001*
				Week 8	5.814	2.402	<0.001*
Base	สัปดาห์ที่ 4	6.679	2.745	Week 8	5.817	2.402	<0.001*
	สัปดาห์ที่ 0	6.735	2.819	Week 4	6.452	2.828	<0.001*
				Week 8	6.197	2.637	<0.001*
	สัปดาห์ที่ 4	6.452	2.828	Week 8	6.197	2.637	<0.001*

\* มีนัยสำคัญทางสถิติที่  $p < 0.05$

จากตารางที่ 6 เป็นการเปรียบเทียบภายในกลุ่มที่ได้จากการวัดจากเครื่องมือวัดค่าระดับความรุนแรงของฝ้า (Melasma Area and Severity Index) คือ ไบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา TISTR-GSE เปรียบเทียบกันระหว่างสัปดาห์ที่ 0 และ สัปดาห์ที่ 4, สัปดาห์ที่ 0 และสัปดาห์ที่ 8, สัปดาห์ที่ 4 เทียบกับ สัปดาห์ที่ 8 และ ไบหน้าด้านที่รักษาโดยการทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base)

เปรียบเทียบกันระหว่างสัปดาห์ที่ 0 และ สัปดาห์ที่ 4, สัปดาห์ที่ 0 และ สัปดาห์ที่ 8, สัปดาห์ที่ 4 เทียบกับ สัปดาห์ที่ 8 พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระดับ 0.05 ทั้งหมด โดย ไบหน้าด้านที่ทา TISTR-GSE จากสัปดาห์ก่อนการรักษา (สัปดาห์ที่ 0) มีค่าเฉลี่ย  $7.235 \pm 3.042$  เทียบกับ สัปดาห์ที่ 4 มีค่าเฉลี่ย  $6.679 \pm 2.745$  พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p < 0.001$ ), สัปดาห์ก่อนการรักษา มีค่าเฉลี่ย  $7.235 \pm 3.042$  เทียบกับ สัปดาห์ที่ 8 มีค่าเฉลี่ย  $5.814 \pm 2.402$  พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p < 0.001$ ) และ สัปดาห์ที่ 4 มีค่าเฉลี่ย  $6.679 \pm 2.745$  เทียบกับ สัปดาห์ที่ 8 มีค่าเฉลี่ย  $5.814 \pm 2.402$  พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p < 0.001$ ) ส่วนไบหน้าด้านที่ทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) จากสัปดาห์ก่อนการรักษา (สัปดาห์ที่ 0) มีค่าเฉลี่ย  $6.735 \pm 2.819$  เทียบกับ สัปดาห์ที่ 4 มีค่าเฉลี่ย  $6.452 \pm 2.828$  พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p < 0.001$ ), สัปดาห์ก่อนการรักษา มีค่าเฉลี่ย  $6.735 \pm 2.819$  เทียบกับ สัปดาห์ที่ 8 มีค่าเฉลี่ย  $6.197 \pm 2.637$  พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p < 0.001$ ) และ สัปดาห์ที่ 4 มีค่าเฉลี่ย  $6.452 \pm 2.828$  เทียบกับ สัปดาห์ที่ 8 มีค่าเฉลี่ย  $6.197 \pm 2.637$  พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p < 0.001$ )

**ตารางที่ 7** ตารางวิเคราะห์ค่าความแตกต่างเปรียบเทียบจากก่อนการรักษา กับสัปดาห์ที่ 4 และ สัปดาห์ที่ 8 ของไบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา TISTR-GSE และไบหน้าด้านที่รักษาโดยการทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) โดยการวัดค่าระดับความรุนแรงของฝ้า (Melasma Area and Severity Index)

สัปดาห์	ค่าระดับความรุนแรงฝ้า				t	df	p-value
	TISTR-GSE		Base				
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD			
สัปดาห์ที่ 4	0.555	0.646	0.282	0.524	1.443	16	0.168
สัปดาห์ที่ 8	1.420	1.288	0.538	0.809	2.917	16	0.010*

\*มีนัยสำคัญทางสถิติที่  $p < 0.01$

จากตารางที่ 7 จะเห็นว่าค่าความแตกต่างของระดับความรุนแรงของฝ้าในด้าน การรักษา โดยการทา TISTR-GSE กับการรักษา นาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) ในช่วงสัปดาห์ที่ 4 มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ส่วนสัปดาห์ที่ 8 มีความแตกต่างกันอย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 โดยในสัปดาห์ที่ 4 ไบหน้าด้านที่ทา TISTR-GSE มีค่าเฉลี่ย  $0.555 \pm 0.646$  ส่วนไบหน้าด้านที่ทานาโนอิมัลชัน (Base) มีค่าเฉลี่ย  $0.282 \pm 0.524$  พบว่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p = 0.168$ ) และ ในสัปดาห์ที่ 8 ไบหน้าด้านที่ทา TISTR-GSE มีค่าเฉลี่ย  $1.420 \pm 1.288$  ส่วนไบหน้าด้านที่ทานาโนอิมัลชัน (Base) มีค่าเฉลี่ย  $0.538 \pm 0.809$  พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p = 0.010$ )

**ตารางที่ 8** ตารางวิเคราะห์เปรียบเทียบผลของการรักษาในสัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 8 ของไบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา TISTR-GSE และไบหน้าด้านที่รักษาโดยการทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) โดยการวัดค่าระดับความเข้มฝ้า (Mean Melanin index)

สัปดาห์	ค่าระดับความเข้มฝ้า				t	df	p-value
	TISTR-GSE		Base				
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD			
สัปดาห์ที่ 4	14.980	24.070	0.274	6.395	-2.632	16	0.257
สัปดาห์ที่ 8	26.059	30.975	-5.942	11.271	-4.759	16	0.067

\*มีนัยสำคัญทางสถิติที่  $p < 0.01$

จากตารางที่ 8 จะเห็นว่าค่าความแตกต่างของระดับความเข้มของฝ้าในด้านการรักษาโดยการทา TISTR-GSE กับการทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) ในช่วงสัปดาห์ที่ 4 มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ส่วนสัปดาห์ที่ 8 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 โดยในสัปดาห์ที่ 4 ไบหน้าด้านที่ทา TISTR-GSE มีค่าเฉลี่ย  $14.980 \pm 24.070$  ส่วนไบหน้าด้านที่ทานาโนอิมัลชัน (Base) มีค่าเฉลี่ย  $0.274 \pm 6.395$  พบว่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p = 0.257$ ) และ ในสัปดาห์ที่ 8 ไบหน้าด้านที่ทา TISTR-GSE มีค่าเฉลี่ย  $26.059 \pm 30.975$  ส่วนไบหน้าด้านที่ทานาโนอิมัลชัน (Base) มีค่าเฉลี่ย  $-5.942 \pm 11.271$  พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p = 0.067$ )

**ตารางที่ 9** ตารางวิเคราะห์เปรียบเทียบร้อยละค่าความแตกต่างจากก่อนการรักษากับสัปดาห์ที่ 4 และ สัปดาห์ที่ 8 ของใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา TISTR-GSE และใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน(Base) โดยการวัดค่าระดับความรุนแรงของฝ้า (Melasma Area and Severity Index)

สัปดาห์	ค่าระดับความรุนแรงฝ้า				t	df	p-value
	TISTR-GSE		Base				
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD			
สัปดาห์ที่ 4	7.113	8.297	4.423	8.029	1.151	16	0.267
สัปดาห์ที่ 8	18.567	14.589	7.286	10.297	2.668	16	0.017

\*มีนัยสำคัญทางสถิติที่  $p < 0.05$

จากตารางที่ 9 จะเห็นว่าร้อยละค่าความแตกต่างของระดับความรุนแรงของฝ้าในด้านการรักษาโดยการทา TISTR-GSE กับการทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) ในช่วงสัปดาห์ที่ 4 มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ส่วนสัปดาห์ที่ 8 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 โดยในสัปดาห์ที่ 4 ใบหน้าด้านที่ทา TISTR-GSE มีค่าเฉลี่ย  $7.113 \pm 8.297$  ส่วนใบหน้าด้านที่ทานาโนอิมัลชัน (Base) มีค่าเฉลี่ย  $4.423 \pm 8.029$  พบว่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p = 0.267$ ) และ ในสัปดาห์ที่ 8 ใบหน้าด้านที่ทา TISTR-GSE มีค่าเฉลี่ย  $18.567 \pm 14.589$  ส่วนใบหน้าด้านที่ทานาโนอิมัลชัน (Base) มีค่าเฉลี่ย  $7.286 \pm 10.297$  พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p = 0.017$ )

**ตารางที่ 10** ตารางวิเคราะห์เปรียบเทียบผลร้อยละค่าความแตกต่างจากก่อนการรักษากับสัปดาห์ที่ 4 และ สัปดาห์ที่ 8 ของใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา TISTR-GSE และใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา นาโนอิมัลชันพื้นฐาน(Base) โดยการวัดค่าระดับความเข้มของฝ้า (Mean Melanin Index)

สัปดาห์	ค่าระดับความเข้มฝ้า				t	df	p-value
	สารสกัด		Base				
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD			
สัปดาห์ที่ 4	5.185	6.807	0.131	2.213	-3.196	16	0.006
สัปดาห์ที่ 8	9.572	9.367	-2.427	4.359	-6.118	16	0.038

\*มีนัยสำคัญทางสถิติที่  $p < 0.05$

จากตารางที่ 10 จะเห็นว่าร้อยละของค่าความแตกต่างของระดับความเข้มของฝ้า โดยการทา TISTR-GSE และการทา นาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) ตั้งแต่ในช่วงสัปดาห์ที่ 4 ไปจนถึง สัปดาห์ที่ 8 ฝ้าและจุดต่างค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ 0.05 โดยในสัปดาห์ที่ 4 ใบหน้าด้านที่ทา TISTR-GSE มีค่าเฉลี่ย  $5.185 \pm 6.807$  ส่วนใบหน้าด้านที่ทา นาโนอิมัลชัน (Base) มีค่าเฉลี่ย  $0.131 \pm 2.213$  พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p = 0.006$ ) และ ใน สัปดาห์ที่ 8 ใบหน้าด้านที่ทา TISTR-GSE มีค่าเฉลี่ย  $9.572 \pm 9.367$  ส่วนใบหน้าด้านที่ทา นาโนอิมัลชัน (Base) มีค่าเฉลี่ย  $-2.427 \pm 4.359$  พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p = 0.038$ )

**ตารางที่ 11** ตารางวิเคราะห์เปรียบเทียบผลของการยับยั้งฝ้าไม่ให้เพิ่มมากขึ้นของใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทา TISTR-GSE และ ใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) โดยการวัดจากเครื่องมือทั้งสองเครื่องมือ ระหว่าง ค่าระดับความเข้มฝ้า (Mean Melanin index) และ ค่าระดับความรุนแรงของฝ้า (Melasma Area and Severity Index)

	สัปดาห์				t	df	p-value
	สัปดาห์ที่ 4		สัปดาห์ที่ 8				
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD			
MMI	-3.329	7.051	-10.187	7.964	6.668	16	0.000
MASI	-9.327	38.540	1.307	35.672	-3.195	16	0.006

\*มีนัยสำคัญทางสถิติที่  $p < 0.05$ , MMI=ค่าระดับความเข้มฝ้า, MASI=ค่าระดับความรุนแรงฝ้า

จากตารางที่ 11 จากผลที่ได้ จะเห็นว่ามีความแตกต่างกันระหว่างใบหน้าด้านที่รักษาด้วยการทา TISTR-GSE และ ใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 แสดงว่าใบหน้าด้านที่รักษาด้วยการทา TISTR-GSE มีผลของการยับยั้งฝ้าได้ดีกว่าใบหน้าด้านที่รักษาโดยการทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) โดยมีค่าเฉลี่ยของระดับความเข้มของฝ้าในสัปดาห์ที่ 4 เท่ากับ  $-3.329 \pm 7.051$  เทียบกับ สัปดาห์ที่ 8 เท่ากับ  $-10.187 \pm 7.964$  พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p < 0.001$ ) ส่วนค่าเฉลี่ยของระดับความรุนแรงของฝ้า ในสัปดาห์ที่ 4 เท่ากับ  $-9.327 \pm 38.540$  เทียบกับ สัปดาห์ที่ 8 เท่ากับ  $1.307 \pm 35.672$  พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ( $p < 0.006$ )

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์การประเมินความพึงพอใจโดยอาสาสมัคร

ความพึงพอใจ	น้อยที่สุด (1)	น้อย (2)	ปานกลาง (3)	มาก (4)	มากที่สุด (5)	ค่าเฉลี่ย	S.D.	p-value
Base	-	14 82.40%	3 17.60%	-	-	0.18	0.393	<0.001
TISTR-GSE	-	-	-	2 11.80%	15 88.20%	2.88	0.332	

\* มีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$

จากตารางผลการวิเคราะห์ความพึงพอใจหลังจากที่ได้รับการรักษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ประเมินโดยอาสาสมัคร พบว่า ในด้านที่รักษาโดยการทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) อาสาสมัครส่วนใหญ่มีความพึงพอใจในระดับรู้สึกเฉยๆ จำนวน 14 คน คิดเป็นร้อยละ 82.40 ระดับพึงพอใจเล็กน้อย จำนวน 3 คน คิดเป็นร้อยละ 17.60 ส่วนด้านที่ได้รับการรักษาโดยการทา TISTR-GSE อาสาสมัครส่วนใหญ่มีความพึงพอใจในระดับพึงพอใจมาก จำนวน 15 คน คิดเป็นร้อยละ 88.20 ระดับพึงพอใจปานกลาง จำนวน 2 คน คิดเป็นร้อยละ 11.80 ส่วนการเปรียบเทียบระดับความพึงพอใจต่อประสิทธิภาพการรักษาจุดต่างค่าและฝ้าบนใบหน้าทั้งสองด้าน พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

### อภิปรายผลการวิจัย

การทา TISTR-GSE สามารถช่วยลดความเข้มและความรุนแรงของฝ้าได้ โดยจะเริ่มลดความเข้มและความรุนแรงของฝ้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 ไปจนถึงสัปดาห์ที่ 8 ซึ่งเป็นสัปดาห์ที่สิ้นสุดการทดลอง แต่สำหรับนาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) ไม่มีผลในการลดความเข้มของฝ้าและความเข้มของฝ้า ทั้งในสัปดาห์ที่ 4 และ สัปดาห์ที่ 8 และมีอาสาสมัครบางคนที่มีความรุนแรงของฝ้าและความเข้มของฝ้าเพิ่มขึ้นในด้านที่ทานาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base) ในสัปดาห์ที่ 4 และ สัปดาห์ที่ 8 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bernard, P., Bernard,

J.Y(2000) ที่พบว่าในเมล็ดองุ่นมีสารยับยั้งเอนไซม์ Tyrosinase ซึ่งเป็นต้นเหตุในการเกิดฝ้าและจุดด่างดำ และงานวิจัยของ Natchapeem Jindara (2010) ที่บอกว่า การทาสารสกัด 5% จากเมล็ดองุ่นสามารถช่วยลดความเข้มของฝ้าได้ โดยเริ่มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 6 สัปดาห์หลังการรักษา และเมื่อพิจารณาความพึงพอใจของอาสาสมัครพบว่า อาสาสมัครมีความพึงพอใจในใบหน้าด้านที่ทา TISTR-GSE มากกว่าใบหน้าด้านที่ทาโนอิมัลชันพื้นฐาน (Base)

และยังมีงานวิจัยอื่นๆ ที่ค้นพบได้ว่า สารสำคัญในสารสกัดเมล็ดองุ่นทำให้ผิวดูขาวขึ้น คือ ในปี ค.ศ. 2006 ได้มีการรายงานการศึกษาประสิทธิภาพของ Oxyresveratrol และ Resveratrol ในการลดความเข้มของเมลานิน โดยทำการทดสอบทั้งในผิวหนังหนูตะเภาและในแขนของอาสาสมัคร 30 คน เปรียบเทียบกับสารช่วยให้ผิวขาวที่นิยมใช้กันในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ประเมินผลออกมาเป็นค่าเปอร์เซ็นต์ Whitening พบว่าสามารถให้ค่าความขาวขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทั้งในสัตว์ทดลองและอาสาสมัครหลังจากทาเพียง 4 สัปดาห์ โดยมีประสิทธิภาพดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ทากรดโคจิก (Kojic acid) และสารสกัดจากชะเอม (Licorlic extract) โดยไม่พบว่าการแพ้ระคายเคืองแต่อย่างใด (Tengammnuay & Pengrungwong, 2006) และ อีกรงานวิจัยที่สอดคล้องกัน ในปี ค.ศ. 2003 Yamakoshi และคณะ ได้ทำการทดลองดูประสิทธิภาพในเรื่องความขาว (Lightening effect) ที่มีในผิวหนังของหนู โดยการกิน Proanthocyanidin เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า จำนวนของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับเม็ดสีมีจำนวนลดลงอย่างเห็นได้ชัด ในผิวหนังของหนูเมื่อตรวจดูทาง Histology (Yamakoshi, Otsuka & Sano; 2003) จากนั้นในปี ค.ศ. 2004 Yamakoshi ได้มีการศึกษาพบว่า การกิน Proanthocyanidin ต่อเนื่องกันเป็นระยะเวลา 6 เดือน สามารถช่วยให้ฝ้าจางลงได้อย่างเห็นได้ชัดในผู้หญิงญี่ปุ่นจำนวน 12 คน และไม่พบผลข้างเคียงใดๆ (Yamakoshi & et al.; 2003) จึงสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ ที่ TISTR-GSE ช่วยลดระดับความเข้มและความรุนแรงฝ้า ทำให้ผิวดูขาวกระจ่างใสขึ้น

### ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการศึกษาถึงประสิทธิผลของการรักษาในระยะยาวว่าจะสามารถลดระดับความเข้มและความรุนแรงของฝ้าได้มากขึ้นหรือไม่ และติดตามผลการรักษาในระยะเวลาที่นานขึ้น เพื่อดูการกลับเป็นซ้ำของฝ้า

2. ควรมีการศึกษาความเข้มข้นของ TISTR-GSE ที่แตกต่างกันมากกว่านี้ เพื่อที่จะได้ทราบว่าความเข้มข้นสูงสุดที่จะได้ผลการรักษาที่ดีโดยไม่เกิดผลข้างเคียงจาก TISTR-GSE เป็นเท่าไร

3. ควรทำการศึกษาดูประสิทธิผลของการรักษาด้วย TISTR-GSE ในฝ้าชนิดลึก ว่าแตกต่างจากฝ้าชนิดตื้นหรือไม่

4. ควรศึกษา TISTR-GSE ร่วมกับวิตามินซี ซึ่งเป็นตัวร่วมในการยับยั้งการสร้างเม็ดสี เพื่อดูผลว่า เมื่อนำมาใช้ร่วมกัน จะเกิดประสิทธิผลในการรักษาฝ้าได้เพิ่มมากขึ้นหรือไม่

5. จากการทดลองนี้ได้ทำการทดลองในอาสาสมัครเพศหญิง จึงควรทำการศึกษาในเพศชายบ้าง เพื่อดูประสิทธิผลของการรักษาว่าแตกต่างจากในเพศหญิงหรือไม่ อย่างไร

6. ควรศึกษาดูประสิทธิผลของ TISTR-GSE ร่วมกับการรักษาฝ้าด้วยวิธีอื่นๆ

### รายการอ้างอิง

กนกวลัย กุลทนนท์. Pigmentary disorders. ใน : ปรียา กุลละวณิชย์ , ประวิตร พิศาลบุตร บรรณาธิการ . ตำราโรคผิวหนังในเวชปฏิบัติปัจจุบัน (Dermatology 2010). กรุงเทพฯ : สนพ.โฮลิ สติก, 2548:100-19

ฝ้ายเกสรและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. การวิจัยผลิตภัณฑ์เวชสำอางครีมวิทิสตรา (VITISTRA CREAM) ที่มีสารสกัดเมล็ดองุ่นไทยพันธุ์ปอกดำ *Vitis vinifera* cv. Ribier (Pok Dum) ในรูปแบบอนุภาคนาโนอิมัลชัน. 2558

Bernard, P., & Bernard, J.Y. (2000). Resveratrol an original mechanism on tyrosinase inhibitor. International Journal of Cosmetic Science, 22, 219-226.

Clarys, P., & Barel, P.(1998). Efficacy of topical treatment of pigmentation skin disorder color analysis. J Dermatol, 25(6), 412-414

Likert, Rensis A.(1961). New Patterns of Management. Newyork: McGraw-Hill Book Company Inc.

Natchapeem Jindara(2010), Comparative Study of Effectiveness of 5% Grape Seed Extract Cream Versus 2% Hydroquinone Cream in Treatment of Melasma

Nucharee Laungaroon, Apisit Kunentrasai (2007). Marketing Research of Whitening Herbal Extract Cosmeceuticals Under Nanotechnology

Tengamnuay, P., Pengrungruangwong, K., Pheansri, I. and Likhitwitayawuid, K. *Artocarpus lakoocha* Heartwood Extract as a Novel Cosmetic Ingredient: Evaluation of the *In Vitro* Antityrosinase and *In Vivo* Skin Whitening Activities. *Int. J. Cosmet. Sci.* 28 (2006): 269-276

Yamakoshi J, Otsuka F, Sano A, Tokutake S, Saito M, et al. (2003) Lightening effect on ultraviolet-induced pigmentation of guinea pig skin by oral administration of a proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. *Pigment Cell Res. Denmark*. pp. 629–63