# เปปไทด์ต้านจุลชีพ (Antimicrobial Peptides)

**จำนวนหน่วยกิตการศึกษาต่อเนื่อง**

3 หน่วยกิต

**ผู้เขียนบทความ**

ชื่อ ผศ.ดร.ภก.ณัฐพนธ์ ทรงนาคา

สังกัด สำนักวิชาเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

## บทคัดย่อ

โรคติดเชื้อเป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิตตลอดประวัติศาสตร์มนุษยชาติ แม้ว่าความก้าวหน้าทางการแพทย์ในศตวรรษที่ 20 จะช่วยลดอัตราการเสียชีวิตจากโรคติดเชื้อลงได้อย่างมาก แต่ในปัจจุบันกำลังเผชิญกับปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial resistance: AMR) ซึ่งเป็นภัยคุกคามสำคัญต่อวงการแพทย์และสาธารณสุข บทความนี้มุ่งเน้นการศึกษาเกี่ยวกับเปปไทด์ต้านจุลชีพ (Antimicrobial peptides: AMPs) ซึ่งเป็นทางเลือกใหม่ในการรักษาโรคติดเชื้อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของเชื้อดื้อยา AMPs เป็นโมเลกุลที่ผลิตขึ้นตามธรรมชาติโดยสิ่งมีชีวิตหลายชนิด มีบทบาทสำคัญในระบบภูมิคุ้มกันแต่กำเนิด บทความอธิบายถึงการจำแนกประเภท โครงสร้าง และกลไกการออกฤทธิ์ของ AMPs ซึ่งมีทั้งแบบที่รบกวนเยื่อหุ้มเซลล์และแบบที่ไม่รบกวนเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อจุลชีพ นอกจากนี้ยังกล่าวถึงข้อดี ข้อจำกัด และความท้าทายในการนำ AMPs มาใช้ในทางคลินิก รวมถึงแนวทางการพัฒนาเพื่อแก้ไขข้อจำกัดเหล่านี้ นอกจากนี้บทความนี้ได้ยกตัวอย่าง AMPs ที่ใช้ในทางคลินิก เช่น daptomycin, colistin และ gramicidin พร้อมทั้งอธิบายกลไกการทำงานและการใช้งานในทางคลินิกของยาเหล่านี้ โดยสรุป AMPs เป็นทางเลือกที่น่าสนใจในการพัฒนายาต้านจุลชีพรูปแบบใหม่เพื่อรับมือกับปัญหาเชื้อดื้อยาที่กำลังทวีความรุนแรงขึ้นในปัจจุบัน

**วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม**

1. เข้าใจคำจำกัดความ ที่มาและประเภทของ AMPs
2. เข้าใจโครงสร้างและกลไกการออกฤทธิ์ของ AMPs
3. เข้าใจข้อดี ข้อจำกัด การประยุกต์ใช้ทางคลินิกของ AMPs และทราบตัวอย่าง AMPs ที่ใช้ในทางคลินิก

**คำสำคัญ** antimicrobial peptides, antimicrobial resistance, bacteriocins

## บทนำ

โรคติดเชื้อเป็นสาเหตุหลักของการเสียชีวิตมาตลอดประวัติศาสตร์ ข้อมูลจากศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ (National Antimicrobial Resistance Surveillance, Thailand: NARST) กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบว่า เชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่สำคัญในประเทศไทย เช่น *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa,* และ *Enterobacteriaceae* ที่ดื้อต่อยา carbapenem เป็นเชื้อที่พบบ่อยในหอผู้ป่วยในของโรงพยาบาล และ extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae เช่น ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* และ ESBL-producing *Escherichia coli* เป็นเชื้อดื้อยาที่พบทั้งในคน สัตว์ และสิ่งแวดล้อม [1] ความก้าวหน้าทางการแพทย์ที่สำคัญ เช่น การค้นพบ penicillin รวมถึงการปรับปรุงสุขาภิบาลที่ดีขึ้น มีบทบาทสำคัญในการลดอัตราการเสียชีวิตที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ การค้นพบ penicillin นำมาสู่ “golden era” ของการพัฒนายาปฏิชีวนะ ซึ่งในช่วงเวลานั้นมีการพัฒนาและนำยาปฏิชีวนะใหม่ ๆ มาใช้มากมาย ทำให้หลายคนเชื่อว่าโรคติดเชื้อจะถูกเอาชนะในไม่ช้า อย่างไรก็ตาม โรคติดเชื้อกำลังกลับมาเพิ่มขึ้นอีกครั้ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคที่ไม่สามารถรักษาได้ด้วยยาปฏิชีวนะที่ค้นพบก่อนหน้านี้ เชื้อก่อโรคสามารถวิวัฒนาการได้ ดังนั้นเมื่อเวลาผ่านไป หลายชนิดจึงพัฒนาการดื้อยาต่อยาปฏิชีวนะที่ใช้อยู่ในปัจจุบันและที่พัฒนาขึ้นใหม่

การดื้อยาต้านจุลชีพ (Antimicrobial resistance) ยังเป็นข้อจำกัดในการรักษาโรคติดเชื้อ และเป็นภัยคุกคามอันดับต้นๆในวงการแพทย์ ส่งผลให้เกิดอัตราการเจ็บป่วย การเสียชีวิต และค่าใช้จ่ายในการดูแลสุขภาพที่เพิ่มขึ้นอย่างมาก มีการประมาณการว่า ในปี พ.ศ. 2593 จะมี

ผู้เสียชีวิตจากการดื้อยาต้านจุลชีพถึง 10 ล้านรายทั่วโลก และสูญเสีย GDP กว่า 100 ล้านล้านดอลลาร์สหรัฐ [2]

ปัจจุบันกำลังเกิดการระบาดใหญ่ของเชื้อก่อโรคแบคทีเรียที่ดื้อยาต้านจุลชีพ (AMR) และ extensively drug- resistant โดยมีการคาดการณ์ว่าเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาต้านจุลชีพ จะเป็นสาเหตุของอัตราการเสียชีวิตที่เพิ่มขึ้นในแต่ละปี การใช้ยาปฏิชีวนะอย่างแพร่หลายทางคลินิก การเลี้ยงสัตว์ การเกษตรกรรมและการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เพิ่มการเกิดขึ้นและการกลับมาของเชื้อก่อโรค AMR สายพันธุ์ต่าง ๆ รวมถึง Enterococcus ที่ดื้อต่อแวนโคมัยซิน (vancomycin-resistant *Enterococcus*; VRE) และ *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อเมทิซิลลิน (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MRSA) และเชื้อก่อโรคกลุ่ม ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Enterobacter* species) [3]

ดังนั้นจึงมีความจำเป็นเร่งด่วนในการพัฒนาการรักษาแบบใหม่สำหรับโรคติดเชื้อที่การดื้อยาต้านจุลชีพเพิ่มขึ้น ในปัจจุบันได้มีการวิจัยอย่างต่อเนื่องในการรักษารูปแบบใหม่ที่ใช้สำหรับโรคติดเชื้อ โดยใช้กลไกต้านจุลชีพอื่น ๆ เช่น แบคเทอริโอเฟจ (bacteriophages) หรือเปปไทด์ต้านจุลชีพ (antimicrobial peptides; AMPs) โดยบทความนี้จะมุ่งเน้นที่ AMPs ที่ผลิตโดยแบคทีเรีย

## 1. คำจำกัดความและที่มาของ AMPs

AMPs เป็นโมเลกุลที่มีกรดอะมิโนเป็นองค์ประกอบหลัก โดยผลิตขึ้นตามธรรมชาติจากสิ่งมีชีวิตหลายชนิดเพื่อต่อสู้กับจุลินทรีย์ก่อโรค รวมถึงผลิตจากจุลินทรีย์เพื่อต่อสู้กับจุลินทรีย์ด้วยกันเอง AMPs จัดเป็นส่วนประกอบสำคัญของระบบภูมิคุ้มกันแต่กำเนิดในหลายสปีชีส์ เช่น แมลง สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ สิ่งมีชีวิตทางทะเล [4] การพัฒนาอย่างเห็นได้ชัดของการวิจัยเกี่ยวกับ AMPs เริ่มต้นขึ้นในทศวรรษ 1980 อันเนื่องมาจากการค้นพบที่สำคัญหลายประการ ได้แก่ การค้นพบ cecropins จากแมลง การค้นพบ α-defensins ในมนุษย์ และการค้นพบ magainins การค้นพบเหล่านี้เป็นจุดเริ่มต้นสำคัญที่กระตุ้นให้เกิดความสนใจและการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับ AMPs อย่างกว้างขวางมากขึ้น ทำให้เกิดการขยายตัวของงานวิจัยในด้านนี้อย่างรวดเร็วในช่วงเวลาต่อมา

ซึ่งนำไปสู่การค้นพบ AMP ชนิดใหม่ๆ และความเข้าใจที่ลึกซึ้งขึ้นเกี่ยวกับกลไกการทำงานและศักยภาพในการประยุกต์ใช้ของ AMPs [5]

**2. การจำแนกประเภทของ AMPs**

AMPs สามารถจำแนกได้ตามโครงสร้าง หน้าที่ หรือเป้าหมาย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เมื่อพิจารณาตามโครงสร้างทุติยภูมิ (secondary structure) AMPs ถูกจำแนกเป็น: α-helix และ β-sheets นอกจากนี้ AMPs ยังถูกจำแนกตามหน้าที่ทางชีวภาพ เช่น ต้านแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา ต้านไวรัส ต้านปรสิต ต้านมะเร็ง เป็นต้น การจำแนกตามเป้าหมายการออกฤทธิ์ เช่น เป้าหมายที่เยื่อหุ้มเซลล์ (membrane-targeting) เป้าหมายที่ผนังเซลล์ (cell wall-targeting) (ทำให้สูญเสียความสมบูรณ์ของเซลล์) ออกฤทธิ์ต่อหน้าที่ภายในเซลล์ เช่น ออกฤทธิ์ต่อ ribosome, DNA หรือ RNA [6]

Bacterial AMPs ที่ผลิตจากแบคทีเรียแกรมบวก หรือ bacteriocins มีทั้ง AMPs ที่สังเคราะห์โดย ribosome (ribosomally synthesized AMPs) และไม่ได้สังเคราะห์โดย ribosome (non-ribosomally synthesized AMPs) AMPs เหล่านี้มีฤทธิ์เฉพาะต่อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องอย่างใกล้ชิดกับสายพันธุ์ที่ผลิต โดยสายพันธุ์ที่ผลิตจะมีภูมิคุ้มกันในระดับหนึ่ง สามารถแบ่งประเภทของ bacteriocins ออกเป็น 4 class ได้แก่

Class I (lantibiotics) AMPs ในกลุ่มนี้ ประกอบด้วยเปปไทด์ขนาดเล็ก (<5 kDa; กรดอะมิโน 19–38 ตัว) มีความคงตัวต่อความร้อน ความเป็นกรด-ด่าง และกระบวนการ proteolysis ส่วนใหญ่จะมีฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมบวก มักมีส่วนประกอบของกรดอะมิโนจำพวก unusual amino acids เช่น lanthionine และ β-methyllanthionine ในโครงสร้าง ตัวอย่าง AMPs ได้แก่ nisin และ epidermin

Class II (non-lantiboitics) เป็น non-lanthionine-containing bacteriocins เป็นเปปไทด์ขนาดเล็ก(<10 kDa) ที่ทนทานต่อความร้อน มีคุณสมบัติเป็น pore-forming/membrane- destabilizing/permeability-increasing bacteriocins

Class III (large-sized bacteriocins) หรือเรียกว่า bacteriolysins ประกอบด้วยเปปไทด์ขนาดใหญ่ (>30 kDa) ที่ไม่ทนต่อความร้อน มีส่วนประกอบของ lipid หรือ carbohydrate ทำให้ไวต่อ lipolytic และ glycolytic enzymes ตัวอย่าง AMPs ในกลุ่มนี้ได้แก่ plantaricin S, leuconocin S, lactocin 27 และ pediocin SJ-1 มีคุณสมบัติเป็น cell wall disruption

Class IV (uniquely structured bacteriocins) ตัวอย่างเช่น polymyxins ซึ่งเป็น cyclic non-ribosomal lipopeptide antibiotics ผลิตจาก *Paenibacillus polymyxa* มีโครงสร้างเป็น cyclic heptapeptide มี tripeptide side chain ที่ต่ออยู่กับ N-terminal fatty acyl tail ปัจจุบัน polymyxin lipopeptides แบ่งออกเป็น 10 ประเภท ได้แก่ polymyxins A, B, C, D, E, F, M, P, S และ T ในปัจจุบันมีการนำมา polymyxin B และ E มาใช้ในทางคลินิก (colistin) มีฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Enterobacterales, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa* และ *Stenotrophomonas maltophilia*

Bacterial AMPs ที่ผลิตจากแบคทีเรียแกรมลบ แบ่งออกเป็น 4 class ได้แก่

Class I (colicins) (มวลโมเลกุล > 10 kDa) ส่วนใหญ่สร้างจาก *Escherichia coli* โดย colicins จะจับกับ cell surface receptors ที่จำเพาะ และเคลื่อนย้ายเข้าสู่ cytoplasm ของเซลล์

Class II (Colicin-like-bacteriocins) มีโครงสร้างและกลไกการทำงานคล้าย colicins ที่สร้างจาก *Escherichia coli* แต่ AMPs ในกลุ่มนี้ผลิตจากแบคทีเรียชนิดอื่น ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa* และ Klebsiella genus

Class III (Microcins) สร้างจาก *Enterobacteriaceae* ประกอบด้วยเปปไทด์ขนาดเล็ก (<10 kDa) มีฤทธิ์ต่อเชื้อที่มีสายพันธุกรรมที่ใกล้ชิดทางชีวภาพ

Class IV (phage tail-like bacteriocins) เป็นเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงและมีโครงสร้างเป็นทรงกระบอก จึงเป็นที่มาของการเรียกชื่อสารในกลุ่มนี้เนื่องจากมีความคล้ายกับโครงสร้างของหางของเฟจ (phage tail) [7]

**3. โครงสร้างและกลไกการออกฤทธิ์ของ AMPs**

โดยทั่วไป AMPs ประกอบด้วยกรดอะมิโน 10 ถึง 50 ตัว มีประจุสุทธิเป็นบวก (+2 ถึง +11) และมักมีกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic amino acids) จำนวนมาก (โดยทั่วไปประมาณ 50%) รวมถึงส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic) ทำให้มีคุณสมบัติเป็น amphiphilic ซึ่ง AMPs ส่วนใหญ่มีโครงสร้างแบบ **α**-helical หรือ **β**-sheet หรือ ผสมระหว่าง **α**-helical และ **β**-sheet รวมถึง random coil นอกจากนี้ยังมีโครงสร้างแบบ cyclic โครงสร้างวงแหวนเกิดจากพันธะไดซัลไฟด์ 1 พันธะหรือมากกว่า 1 พันธะ ตัวอย่างเช่น bactenecin, subtilosin A,

polymyxin B เป็นต้น อย่างไรก็ตามโครงสร้างของ AMPs อาจขึ้นอยู่กับลักษณะเฉพาะของ AMP และสภาพแวดล้อมโดยรอบ นอกจากนี้ โครงสร้างอาจเปลี่ยนแปลงเมื่อมี interaction กับเยื่อหุ้มเซลล์แบบ zwitterion และ anionic

ฤทธิ์ของ AMPs เกี่ยวข้องกับหลายปัจจัย ได้แก่ ขนาด ลำดับกรดอะมิโน ประจุ ลักษณะของโครงสร้างจัดเรียงตัวในสามมิติ hydrophobicity และคุณสมบัติ amphipathic [8]

กลไกการออกฤทธิ์ของ AMPs สามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ ประเภทที่ทำให้เกิดการรบกวนเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane-disruptive mechanisms) และประเภทที่ทำงานโดยไม่รบกวนเยื่อหุ้มเซลล์ (non-membrane-disruptive mechanisms) กลไกการทำงานของ AMPs ที่ทำงานแบบ membrane-disruptive mechanisms อาจเกิดผ่าน receptor หรือไม่ผ่าน receptor ก็ได้ AMPs จะเคลื่อนผ่านเยื่อหุ้มเซลล์และทำให้เยื่อหุ้มเซลล์มีความสามารถในการซึมผ่าน (permeability) เพิ่มขึ้นโดยการทำให้เกิดรูผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (pore formation) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง AMPs ที่ทำงานโดย membrane-disruptive mechanisms จะเกิดการสร้าง toroidal pore หรือ barrel-stave หรือผ่าน carpet-like mechanism กลไกดังกล่าวเหล่านี้จะทำให้เกิดการรบกวนเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งนำไปสู่การรั่วไหลของสารภายในเซลล์ และทำให้เซลล์ตาย AMPs จะเกิด electrostatic interaction ระหว่างประจุบวกของ AMPs กับประจุลบของ phospholipid ของเยื่อหุ้มเซลล์ กลไก toroidal pore mechanism หรือ กลไกการสร้างรูแบบวงแหวน จะรบกวนเยื่อหุ้มเซลล์เป้าหมายโดยการสอด AMPs เข้าสู่ชั้นไขมันแบบตั้งฉาก กลไกแบบ carpet-like mechanism เกี่ยวข้องกับการสะสมของ AMPs บนเยื่อหุ้มเซลล์เป้าหมาย ทำให้สามารถทะลุผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ทะลุได้ และกลไกแบบแทงทะลุ (barrel-stave mechanism) ซึ่งเป็นลักษณะทั่วไปของ AMPs ที่มีโครงสร้างทุติยภูมิแบบเกลียว (helical secondary structure) เกี่ยวข้องกับการสร้างรูที่ชอบน้ำบนเยื่อหุ้มเซลล์เป้าหมาย ซึ่งนำไปสู่การปลดปล่อยสารภายในเซลล์

AMPs ที่ทำงานผ่านกลไกที่ไม่รบกวนเยื่อหุ้มเซลล์จะเน้นกระบวนการทางจุลชีพที่ไม่เกี่ยวข้องกับเยื่อหุ้มเซลล์และอาจคล้ายกับการทำงานของยาต้านจุลชีพ เช่น การสังเคราะห์ DNA การสังเคราะห์โปรตีน การยับยั้งเอนไซม์ที่จำเพาะ การสังเคราะห์ผนังเซลล์ การยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ การยับยั้งการทำงานของ RNA หรือ DNA และการกระตุ้นการตายของเซลล์ผ่านการสร้าง reactive oxygen species [4]

นอกจากนี้ยังมีกลไกที่มีผลต่อ biofilm ของ pathogens ส่วนประกอบหลักของ biofilm ได้แก่ polysaccharides, DNA, extracellular DNA, โปรตีน และสารอื่น ๆ ที่เซลล์ผลิตออกมาเพื่อป้องกันจุลชีพที่อยู่ใน biofilm (พบมากในการติดเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราเรื้อรัง) จากสภาวะแวดล้อมที่ไม่พึงประสงค์และเพิ่มความต้านทานของจุลชีพต่อยาปฏิชีวนะ AMPs สามารถเกิด interaction กับ biofilm ผ่านกลไกต่าง ๆ ได้แก่ ทำลายความสมบูรณ์เยื่อหุ้มเซลล์โดยการแทรกซึมเข้าไปใน biofilm การเกิด interaction กับเป้าหมายภายในเซลล์ และการยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิกหรือโปรตีน [8]

**4. ข้อดี ข้อจำกัด และการประยุกต์ใช้ทางคลินิกของ AMPs**

เนื่องจาก AMPs มีขนาดโมเลกุลเล็ก การสกัด AMPs อาจให้ผลผลิตต่ำ ใช้เวลานาน ซับซ้อน และมีค่าใช้จ่ายสูง ทำให้ไม่สามารถผลิตในขนาดใหญ่ได้ การสังเคราะห์ทางเคมีและวิศวพันธุกรรมได้กลายเป็นวิธีหลักในการผลิต AMPs อย่างไรก็ตาม เปปไทด์ที่สังเคราะห์ทางเคมีมีราคาสูง การผลิตโดยวิศวพันธุกรรม การแสดงออกโดยตรงของยีน AMPs ในจุลินทรีย์อาจทำให้จุลินทรีย์เจ้าบ้านตาย และได้ผลผลิตต่ำ นอกจากนี้ AMPs หลายชนิดถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ protease ในร่างกายมนุษย์และถูกขับออกอย่างรวดเร็วทางไต ส่งผลให้มีค่าครึ่งชีวิตที่สั้นมาก ทำให้ฤทธิ์ต้านจุลชีพต่ำ นอกจากนี้ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพอาจลดลงโดยการถูก inactivate โดยเกลือในร่างกาย ความเป็นพิษต่อเซลล์และความจำเพาะเจาะจงต่ำยังเป็นปัจจัยสำคัญที่ยังทำให้นำ AMPs มาใช้ทางคลินิกน้อย

ได้มีการศึกษาวิจัยเพื่อลดข้อจำกัดดังกล่าวของ AMPs โดยกระบวนการปรับปรุงทางเคมี (chemical modification) เช่น D-amino acid insertion, cyclization, acetylation, encapsulation modification และ synthetic AMPs เพื่อเพิ่มความคงตัวของ AMPs ต่อเอนไซม์ protease ลดความเป็นพิษต่อเซลล์และปรับปรุงค่าครึ่งชีวิตและปรับปรุงการปลดปล่อยของ AMPs การพัฒนาโครงสร้างทางเคมีของ AMPs เพื่อแก้ปัญหาข้อจำกัดเรื่องความคงตัว งานวิจัยรายงานถึงการเพิ่มหมู่ที่มีไขมัน (lipidation) เพื่อลดความมีขั้วของ AMP เพื่อช่วยในการดูดซึมผ่านเนื้อเยื่อต่างๆในร่างกายได้มากขึ้น รวมถึงการชอบในไขมันมากขึ้นของโมเลกุลสามารถส่งเสริมให้เกิดการยึดเกาะกับเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียก่อโรคได้ดีขึ้นมีผลทำให้สามารถเพิ่มฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้ดีขึ้นด้วย การเติมโมเลกุลน้ำตาลบนโครงสร้างของ AMP

(glycosylation) สามารถช่วยลดการกระตุ้นการแพ้จากระบบภูมิคุ้มกันของผู้ป่วย ซึ่งโมเลกุลของน้ำตาลดังกล่าวที่มีรูปแบบและชนิดของน้ำตาลเปรียบเสมือนกับโปรตีนในร่างกายของผู้ป่วยนั้น จะสามารถช่วยลดความเป็นสิ่งแปลกปลอมของ AMP ในร่างกายลงได้ มีผลทำให้สามารถลดความเสี่ยงที่ผู้ป่วยจะแพ้ รวมถึง AMP ดังกล่าวถูกกำจัดออกจากร่างกายได้ช้าลง มีผลส่งเสริมความคงตัวของ AMP ในร่างกายของผู้ป่วยได้มากขึ้น รวมถึงเพิ่มความปลอดภัยในการใช้ยาของผู้ป่วยได้เช่นกัน หลักการอาศัยการปิดวงของ AMP โดยทั่วไปแล้ว AMP อยู่ในลักษณะโครงสร้างที่มีการจัดเรียงตัวในเชิงเส้นตรง (linear) ซึ่งได้จากการต่อกันระหว่างกรดอะมิโนแต่ละตัวด้วยพันธุเปปไทด์ มีการศึกษาค้นพบการนำด้านปลายทั้งสองของ AMP ในลักษณะเส้นตรงมาเชื่อมกันเป็นวงกลม มีผลทำให้เกิดการทำลายด้วยเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยโปรตีนในร่างกายสามารถทำลาย AMP ที่ปิดวง (cyclic AMP) ได้ยากขึ้นเนื่องจาก AMP ที่ปิดวงดังกล่าว มีรูปร่างไม่เหมาะสมกับที่จะเข้าจับกับตำแหน่งตัดพันธะเปปไทด์โดยเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนชนิดนั้น ๆ ได้ [9]

ความเป็นพิษของ AMPs จากงานวิจัยมีการรายงานความเป็นพิษโดยทั่วไปอาจจะก่อให้เกิดเม็ดเลือดแดงแตก โดยลักษณ์โครงสร้างทางเคมีของ AMP มีคุณสมบัติในการจับกับผนังของเม็ดเลือดแดงด้วยประจุบวกรวมถึงยังมีส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic structure) มีผลให้ทำสามารถเข้าจับกับเยื้อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดง อาจส่งให้ผลให้เกิดความไม่เสถียรของผนังและนำไปสู่การแตกของเซลล์เม็ดเลือดแดงได้ (hemolysis) อีกทั้งยังมีการรายงานถึงความเป็นพิษต่อไต อาทิเช่นยา vancomycin หรือ polymyxin ที่ได้รับการบริหารทางหลอดเลือดดำ อาจจะส่งให้ผลเกิด acute kidney injury (AKI) ซึ่งต้องติดตามและประเมินการทำงานของไตควบคู่ไประหว่างการให้ยาดังกล่าว ปัจจุบันมีงานวิจัยที่รายงานถึงวิธีการลดความเป็นพิษของยาในกลุ่ม AMP โดยยอาศัยเทคโนโลยีการนำส่งและกักเก็บยาเพื่อควบคุมการปลดปล่อยยาให้อยู่ในระดับการรักษา และสามารถควบคุมปริมาณยาให้เหมาะสมและเพิ่มความแม่นยำของขนาดยาให้มากขึ้นเพื่อลดความเป็นพิษ ในกรณีที่ยามีความเข้มข้นสูงเกินไปจนเป็นพิษขณะที่ยาอยู่ในร่างกายของผู้ป่วย [10]

**5. การประยุกต์ใช้ระบบนำส่งยาเพื่อลดข้อจำกัดของ AMPs**

การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีการนำส่งยาในปัจจุบันสำหรับยากลุ่ม AMPs ได้มางานวิจัยรายงานถึงการนำนาโนเทคโนโลยีมาประยุกต์ใช้ซึ่งสามารถปรับปรุงคุณสมบัติและลดข้อจำกัดของ AMP ได้หลากหลายมิติ เช่นการนำระบบนำส่งนาโนที่เป็นวัสดุชนิดไขมัน โลหะ โพลีเมอร์ เป็นต้น เช่น nisin เป็น AMP ที่ได้จากเชื้อแบคทีเรียตระกูล *Bacillus* sp. ที่ถูกห่อหุ้มอยู่บนอนุภาคนาโนที่ผลิตขึ้นจากไขมัน (liposome) ซึ่งมีคุณสมบัติทำให้ nisin มีความคงตัวมากขึ้นมีผลทำให้ออกฤทธิ์ได้นาน จึงประยุกต์ใช้ตำรับดังกล่าวเป็นสารกันบูดที่ได้จากธรรมชาติและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เป็นต้น รวมถึงมี AMP หลายชนิดที่อาศัยการห่อห้อมหรือเคลือบบนผิวของอนุภาคนาโนเพื่อลดความเป็นพิษเพิ่มความคงตัวของ AMP เมื่อบริหารเข้าสู่ร่างกายของผู้ป่วย ซึ่งมีรายงานวิจัยอยู่เป็นจำนวนมากเช่น อนุภาคนาโนจากโลหะเงินและทอง (silver and gold nanoparticles) ซึ่งมีการเคลือบ AMP อยู่บนพื้นผิวเพื่อใช้เป็นระบบนำส่งเข้าสู่เป้าหมาย โดยมีรายงานเกี่ยวกับการนำ AMP ยึดติดกับอนุภาคนาโนที่เป็นโลหะเงินหรือทองสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้ดีกว่าการใช้ AMP โดยลำพัง การยึดโมเลกุลของ AMP บนตัวพาที่เป็นอนุภาคนาโนยังช่วยเพิ่มความคงตัวที่ AMP อาจจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนจากสิ่งแวดล้อมรวมถึงเอนไซม์ในร่างกายด้วย เนื่องจากการเคลือบ AMP หรือให้ AMP ผสมอยู่ในเนื้อเดียวกับตัวพาชนิดนาโน (nanocarriers) มีรูปร่างที่ไม่เหมาะสมกับการจับกันของเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนจึงทำให้ AMP อยู่ในตัวพาดังกล่าวช่วยยืดอายุและการทำลาย AMP จากสิ่งแวดล้อมได้ มีผลทำให้ AMP ดังกล่าวสามารถอาศัยอยู่ในร่างกายหรือตำแหน่งบริเวณที่ออกฤทธิ์ดังกล่าวได้นานขึ้น การพัฒนาระบบนำส่ง AMP จึงเป็นอีกทางหนึ่งในการช่วยลดข้อจำกัดและเพิ่มประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ของ AMP ให้ผู้ป่วยได้รับประโยชน์และเกิดความคุ้มค่าในการใช้ยาในกลุ่ม AMP ได้มากขึ้น [11]

**6. ตัวอย่าง AMPs ที่ใช้ในทางคลินิก**

ตัวอย่างของ AMPs ที่ใช้ในทางคลินิก ได้แก่ daptomycin ซึ่งเป็น cyclic 13-member lipopeptide สร้างจาก *Streptomyces roseosporus* หรือ *Streptomyces solani* ยานี้ไม่ได้รับการอนุมัติให้ใช้ทางคลินิก เนื่องจากต้องบริหารยาโดยการฉีดวันละสองครั้ง

ซึ่งทำให้เกิดพิษต่อกล้ามเนื้อแม้ว่าจะมีประสิทธิภาพทางคลินิก จึงเปลี่ยนเป็นบริหารยาวันละครั้ง ยาจึงนี้ได้รับอนุมัติเนื่องจากผลข้างเคียงลดลงอย่างมาก

Daptomycin ใช้ในทางคลินิกสำหรับการรักษาเชื้อแกรมบวก เช่น *Staphylococcus aureus* (รวมถึง MRSA), *Enterococcus faecalis* และ streptococci ปัจจุบันยานี้ยังใช้สำหรับการติดเชื้ออื่น ๆ ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกหลายชนิด กลไกการทำงานของ daptomycin โดยจับกับ calcium ion เพื่อเกิดเป็น oligomer ที่เกิดจับกับเยื้อหุ้มเซลล์และเหนี่ยวนำให้เกิดรูบนเยื้อหุ้มเซลล์ เกิดการสูญเสีย electrolyte ออกจากเซลล์แบคทีเรีย มีผลเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งนำไปสู่การฆ่าแบคทีเรียได้โดยการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์และทำให้สารภายในเซลล์รั่วไหลออกมา [12]

Colistin เป็น AMP ที่มีประจุบวกและเป็นยาในกลุ่ม polymyxins ซึ่งเป็นกลุ่มยาต้านจุลชีพที่เก่าแก่ที่สุดชนิดหนึ่ง ถูกค้นพบในปี ค.ศ. 1947 ใช้สำหรับการติดเชื้อโดยจุลชีพแกรมลบจนกระทั่งมีการค้นพบและอนุมัติการใช้ยาต้านจุลชีพอื่น ๆ ที่มีประสิทธิภาพและมีความเป็นพิษน้อยกว่า เช่น aminoglycosides กลไกการทำงานของ colistin เกี่ยวข้องกับการเจาะเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ เกิด electrostatic interaction กับ phospholipid ของเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย และรบกวนเยื่อหุ้มเซลล์ นอกจากนี้ยังสามารถจับกับผนังเซลล์ซึ่งมี lipopolysaccharide ในทางคลินิก colistin ใช้ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อก่อโรคที่ดื้อต่อยาหลายชนิด เช่น *Pseudomonas aeruginosa* และ *Acinetobacter baumannii* [13,14]

Gramicidin S สร้างขึ้นจาก *Bacillus brevis* มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ อย่างไรก็ตาม gramicidin มีข้อจำกัดคือทำให้เม็ดเลือดแดงแตก ด้วยข้อจำกัดนี้ gramicidin จึงไม่ใช้สำหรับการบริหารยาเข้าสู่ systemic แต่จะบริหารเฉพาะที่ เพื่อการรักษาการติดเชื้อที่แผลตื้น รวมถึงการติดเชื้อที่ลำคอ จมูก และดวงตา [15]

Bacitracin เป็นยาปฏิชีวนะที่มีต้นกำเนิดจากเชื้อตระกูล *Bacillus* ซึ่งถูกสกัดและทำบริสุทธิ์สำเร็จ ในปี ค.ศ. 1948 ซึ่ง US FDA ได้ประกาศให้ยาดังกล่าวเป็นยาใช้สำหรับฆ่าเชื้อก่อโรคแกรมบวก ได้แก้ กลุ่มเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococci*, *Streptococci*, and *Clostridia*. เป็นต้น แต่ด้วยข้อจำกัดของโครงสร้างยาที่ไม่เหมาะสมต่อการดูดซึมผ่านทางเดินอาหารจึงทำให้ยาดังกล่าวมีรูปแบบการยาใช้ภายนอกหรือยาใช้เฉพาะที่เท่านั้น เช่น รูปแบบ ointment, cream, lotion รวมถึงรูปแบบ powder ที่ใช้สำหรับยาสัตว์ เป็นต้น [10]

Vancomycin เป็นยาปฏิชีวนะที่มักใช้ในการติดเชื้อสายพันธุ์ดื้อยาปฏิชีวนะ เช่น methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ซึ่งมีเป็นยาที่มีความโครงสร้างผสมระหว่างน้ำตาลและกรดอะมิโน (glycopeptides) โดยมีขอบเขตในการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวกหลายชนิด และที่สำคัญสามารถยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของแบคทีเรียซึ่งยาดังกล่าวมีเป้าหมายแตกต่างจากยากลุ่ม penicillin จึงทำให้มักนิยมใช้สำหรับการ MRSA ซึ่งยากลุ่ม penicillin ใหม่สามารถยับยั้งเชื้อสายพันธุ์ดื้อยาปฏิชีวนะดังกล่าวได้ [10]

Teicoplanin เป็นยาปฏิชีวนะที่ถูกพัฒนาต่อจากยา vancomycin ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม glycopeptide เช่นเดียวกัน แต่ยาดังกล่าวได้รับการพัฒนาปรับปรุงโครงสร้างทำให้ยาดังกล่าวมีระยะเวลาในการออกฤทธิ์ในร่างกายได้นานขึ้น รวมไปถึงการลดความเป็นพิษของยาต่อไต เมื่อเปรียบเทียบกับ vancomycin โดยทั้งนี้การออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อและประสิทธิภาพของยาในการยับยั้งเชื้อแกรมบวกยังสามารถเทียบเคียงได้กับ vancomycin เพื่อสามารถใช้เป็นตัวเลือกสำหรับผู้ป่วยที่มีภาวะการทำงานของไตลดลง [10]

Dalbavancin, Oritavancin, and Telavancin เป็นยากลุ่มใหม่ที่สุดที่ถูกรับรองจาก US FDA ในระหว่างปี ค.ศ. 2009 – 2014 มีองค์ประกอบของโครงสร้างเคมีในกลุ่มของน้ำตาล ไขมัน และกรดอะมิโน ซึ่งมีขอบเขตในการออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียก่อโรคแกรมบวกเป็นหลักซึ่งมีคุณสมบัติเด่นในด้านการถูก metabolism ในร่างการที่ช้ากว่ายากลุ่มอื่นๆ ทำให้ยาดังกล่าวสามารถบริหารแก่ผู้ป่วยโดยผู้ป่วยไม่ต้องได้รับยาเป็นประจำ โดยในกลุ่มดังกล่าวสามารถออกฤทธิ์ในระยะเวลา 1-12 วัน จากการบริหารยาเพียงหนึ่งครั้ง โดยปัจจุบันยากลุ่มดังกล่าวถูกใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อที่ผิวหนัง และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคสายพันธุ์ดื้อยาปฏิชีวนะ [10]

## 7. ฐานข้อมูลสำหรับการสืบค้น AMP เพื่อใช้ประโยชน์ในงานวิจัยและประโยชน์ทางการแพทย์

ในปัจจุบันมีฐานข้อมูลสำหรับรวบรวมข้อมูลโครงสร้างและคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อของ AMP โดยในบทความนี้จะทำการยกตัวอย่างฐานข้อมูลที่มีจำนวน AMP มากที่สุดเป็น 3 อันดับแรก และมักถูกอ้างอิงถึง ดังนี้ 1. ฐานข้อมูล Data Bank of Antimicrobial Peptides (dbAMP) ซึ่งทำการเก็บข้อมูล AMP และมีข้อมูลด้านการพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีประกอบเพื่อ

ใช้เป็นแนวทางทางประกอบการพิจารณาข้อมูลงานวิจัยและพัฒนา AMP ซึ่งสามารถระบุแหล่งมีชีวิตที่สร้างหรือแหล่งที่มาจากการสังเคราะห์ เป็นต้น 2. Database of Antimicrobial Activity and Structure of Peptides (DBAASP) ฐานข้อมูลดังกล่าวมีการเก็บข้อมูลคล้ายคลึงกับฐานข้อมูล dbAMP แต่มี software ในการเอื้อประโยชน์สำหรับการนำข้อมูลลำดับกรดอะมิโนเทียบเคียงกับกรดอะมิโนที่คล้ายคลึงในฐานข้อมูลดังกล่าว รวมถึงมีบริการการทำนายลำดับกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของ AMP ของผู้ใช้งานเพื่อแสดงแนวโน้มว่าลำดับกรดอะมิโนดังกล่าวมีคุณสมบัติต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 3. Data Repository of Antimicrobial Peptides (DRAMP) เป็นฐานข้อมูลขนาดใหญ่คล้ายกับสองฐานข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้น เพียงแต่มีข้อมูลเอื้อประโยชน์สำหรับนำข้อมูลดิบไปใช้ในการวิจัยและพัฒนา AMP ชนิดใหม่ ซึ่งจะใช้ข้อมูลอ้างอิงจากข้อมูล AMP ที่มีการค้นพบจากการทดลอง รวมถึงยังมี software หลายชนิดที่ทำหน้าที่ในการค้นหาลำดับกรดอะมิโน ใน AMP ของผู้ใช้งานมีความคล้ายคลึงในรูปแบบต่างๆ อาทิเช่น ความคล้ายคลึงด้านลำดับกรดอะมิโน ความคล้ายคลึงด้านเคมีฟิสิกส์ ความคล้ายคลึงด้านขอบเขตในการออกฤทธิ์ รวมถึงคล้ายคลึงจากแหล่งที่มาเดียวกัน เป็นต้น โดยบทความนี้ได้ยกตัวอย่างฐานข้อมูลทั้ง 3 ฐาน เพื่อเป็นประโยชน์แก่ผู้อ่าน ซึ่งเป็นฐานข้อมูลขนาดใหญ่และมีความนิยมใช้กันสำหรับการค้นหาข้อมูลในการวิจัยและพัฒนายาในกลุ่ม AMP ในปัจจุบัน [16]

## บทสรุป

Antimicrobial Peptides (AMPs) ได้เข้ามามีบทบาทสำคัญอย่างยิ่ง โดยเฉพาะในช่วงที่การดื้อยาต้านจุลชีพ (AMR) กำลังเป็นปัญหาที่ท้าทายวงการแพทย์ทั่วโลก AMPs ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของระบบภูมิคุ้มกันธรรมชาติ ได้รับความสนใจอย่างมากและเป็นทางเลือกใหม่ในการต่อสู้กับเชื้อโรคที่ดื้อยา AMPs เป็นโมเลกุลที่พบได้ในสิ่งมีชีวิตหลากหลายชนิด ตั้งแต่แมลงไปจนถึงสัตว์น้ำและสิ่งมีชีวิตในทะเล AMPs มีโครงสร้างแบบ α-helix, β-sheet หรือ cyclic structure มีคุณสมบัติ amphipathic กลไกการทำงานของ AMPs แบ่งออกเป็น 2 กลไกหลัก ได้แก่ การรบกวนเยื่อหุ้มเซลล์ และการออกฤทธิ์โดยไม่รบกวนเยื่อหุ้มเซลล์ นอกจากนี้ คุณสมบัติทางกายภาพของ AMPs เช่น ประจุ โครงสร้าง และลักษณะ hydrophobic และ hydrophilic ยังมีส่วนสำคัญในการกำหนดประสิทธิภาพในการต้านเชื้อโรคของ AMPs

AMPs จึงมีศักยภาพอย่างมากในการพัฒนาเป็นวิธีการรักษาใหม่ๆ ในอนาคต โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสถานการณ์ที่การดื้อยาต้านจุลชีพกำลังเป็นปัญหาที่ทวีความรุนแรงมากยิ่งขึ้น การวิจัยเกี่ยวกับ AMPs จึงเป็นก้าวสำคัญในการพัฒนาวงการแพทย์และการรักษาโรคติดเชื้อ ซึ่งอาจนำไปสู่การค้นพบวิธีการรักษาที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัยมากขึ้นในอนาคต

**เอกสารอ้างอิง**


1. https://amrthailand.net/Home/Thailand [Last accessed on 20 June 2024].

2. Chokshi, A., Sifri, Z., Cennimo, D., & Horng, H. (2019). Global contributors to antibiotic resistance. *Journal of global infectious diseases*, 11(1), 36–42. https://doi.org/10.4103/jgid.jgid_110_18

3. Garvey M. (2023). Antimicrobial peptides demonstrate activity against resistant bacterial pathogens. *Infectious disease reports*, 15(4), 454–469. https://doi.org/10.3390/idr15040046

4. Ioannou, P., Baliou, S., & Kofteridis, D. P. (2023). Antimicrobial peptides in infectious diseases and beyond-A narrative review. *Life* (Basel, Switzerland), 13(8), 1651. https://doi.org/10.3390/life13081651

5. Wang, G., Li, X., & Wang, Z. (2016). APD3: the antimicrobial peptide database as a tool for research and education. *Nucleic acids research*, 44(D1), D1087–D1093. https://doi.org/10.1093/nar/gkv1278

6. Ganesan, N., Mishra, B., Felix, L., & Mylonakis, E. (2023). Antimicrobial peptides and small molecules targeting the cell membrane of *Staphylococcus aureus*. Microbiology and molecular biology reviews: *MMBR*, 87(2), e00037722. https://doi.org/10.1128/mmbr.00037-22

7. Bin Hafeez, A., Jiang, X., Bergen, P. J., & Zhu, Y. (2021). Antimicrobial peptides: An update on classifications and databases. *International journal of molecular sciences*, 22(21), 11691. https://doi.org/10.3390/ijms222111691

8. Li, X., Zuo, S., Wang, B., Zhang, K., & Wang, Y. (2022). Antimicrobial mechanisms and clinical application prospects of antimicrobial peptides. *Molecules* (Basel, Switzerland), 27(9), 2675. https://doi.org/10.3390/molecules27092675

9. Zhang, Q. Y., Yan, Z. B., Meng, Y. M., Hong, X. Y., Shao, G., Ma, J. J., Cheng, X. R., Liu, J., Kang, J., & Fu, C. Y. (2021). Antimicrobial peptides: mechanism of action, activity and clinical potential. *Military Medical Research*, *8*(1), 48. https://doi.org/10.1186/s40779-021-00343-2

10. Cresti, L., Cappello, G., & Pini, A. (2024). Antimicrobial Peptides towards Clinical Application-A Long History to Be Concluded. *International journal of molecular sciences*, *25*(9), 4870. https://doi.org/10.3390/ijms25094870

11. Fadaka, A. O., Sibuyi, N. R. S., Madiehe, A. M., & Meyer, M. (2021). Nanotechnology-Based Delivery Systems for Antimicrobial Peptides. Pharmaceutics, 13(11), 1795. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13111795

12. Taylor, S. D., & Palmer, M. (2016). The action mechanism of daptomycin. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 24(24), 6253–6268. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.05.052

13. Li, J., Nation, R. L., Turnidge, J. D., Milne, R. W., Coulthard, K., Rayner, C. R., & Paterson, D. L. (2006). Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *The Lancet. Infectious diseases*, 6(9), 589–601. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(06)70580-1

14. Kofteridis, D. P., Andrianaki, A. M., Maraki, S., Mathioudaki, A., Plataki, M., Alexopoulou, C., Ioannou, P., Samonis, G., & Valachis, A. (2020). Treatment pattern, prognostic factors, and outcome in patients with infection due to pan-drug-resistant gram-negative bacteria. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*: official publication of the European Society of Clinical Microbiology, 39(5), 965–970. https://doi.org/10.1007/s10096-019-03784-9

15. Guan, Q., Huang, S., Jin, Y., Campagne, R., Alezra, V., & Wan, Y. (2019). Recent advances in the exploration of therapeutic analogues of gramicidin S, an Old but still potent antimicrobial peptide. *Journal of medicinal chemistry*, 62(17), 7603–7617. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b00156

16. Ramazi, S., Mohammadi, N., Allahverdi, A., Khalili, E., & Abdolmaleki, P. (2022). A review on antimicrobial peptides databases and the computational tools. *Database: the journal of biological databases and curation*, *2022*, baac011. https://doi.org/10.1093/database/baac011

**การเปิดเผยสถานภาพของผู้เขียนที่เกี่ยวข้องกับบทความ**

ผู้เขียนขอแจ้งว่าไม่มีผลประโยชน์ทับซ้อนใด ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเขียนและการตีพิมพ์บทความนี้

**การอนุญาตให้เผยแพร่บทความทางวิชาการที่ได้รับหน่วยกิตการศึกษาต่อเนื่องฯ บน website ของสถาบันหลัก**

☑ อนุญาต ☐ ไม่อนุญาต

ให้ผู้เขียนบทความทางวิชาการเป็นผู้รับผิดชอบต่อข้อความทั้งหมดที่ปรากฏในบทความ