

การศึกษาประสิทธิผลของการรับประทานชินไบโอดีทส์  
กับความซึมเศร้าและวิตกกังวล

ภัทรกาญจน์ ชาพรหมสิทธิ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ วิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ  
มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์

พ.ศ. 2563

**The Effect of Synbiotics Consumption on Depression and Anxiety**

**Phattarakarn Chapromsit**

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements**

**for the Degree of Master of Science**

**Program in Anti-Aging and Regenerative Medicine**

**College of Integrative Medicine, Dhurakij Pundit University**

**2020**



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

วิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

หัวข้อวิทยานิพนธ์      การศึกษาประสิทธิผลของการรับประทานจีนไปโอดีส์กับความซึมเศร้า  
และวิตกกังวล

เสนอโดย                  ภัทรกาญจน์ ชาพรหมสิทธิ์  
สาขาวิชา                  วิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ  
กลุ่มวิชา                  เวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์      ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์พันธ์ศักดิ์ สุกระฤกษ์

ได้พิจารณาเห็นชอบ โดยคณะกรรมการสอบสารนิพนธ์แล้ว

  
..... ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกราช บำรุงพืชน์)

  
..... กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์พันธ์ศักดิ์ สุกระฤกษ์)

  
..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นายแพทย์กฤษณ์ พงศ์พิรุฬห์)

วิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ รับรองแล้ว

  
..... คณบดีวิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ  
(นายแพทย์บรรจบ ชุณหสวัตติกุล)

วันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ. ....

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาประสิทธิผลของการรับประทานซินไบโอติกส์กับความซึมเศร้า และวิตกกังวล
ชื่อผู้เขียน	ภัทรกาญจน์ ชาพรหมสิทธิ์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์พันธ์ศักดิ์ ศุกระฤกษ์
สาขาวิชา	วิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ
ปีการศึกษา	2562

### บทคัดย่อ

สมดุลของจุลชีพในทางเดินอาหาร ระบบประสาทภายในลำไส้และการทำงานของสมอง ทั้งสามส่วนมีผลต่อการทำงานซึ่งกันและกัน จุลชีพสามารถผลิตสารสื่อประสาทและกรดไขมันสายสั้นซึ่งออกฤทธิ์ได้ในสมองและมีผลต่อสภาวะอารมณ์ ความซึมเศร้าความวิตกกังวล ในทางกลับกันฮอร์โมนความเครียดเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้สมดุลของจุลชีพเปลี่ยนไป โปรไบโอติกส์จัดเป็นจุลชีพที่มีประโยชน์ต่อการทำงานของร่างกายในหลายด้าน ช่วยบรรเทาอาการลำไส้แปรปรวน รักษาสมดุลของจุลชีพในทางเดินอาหาร ป้องกันสารอักเสบและสารพิษจากลำไส้รั่วที่อาจก่อให้เกิดสารอักเสบในสมองซึ่งมีความสัมพันธ์กับโรคทางระบบประสาท

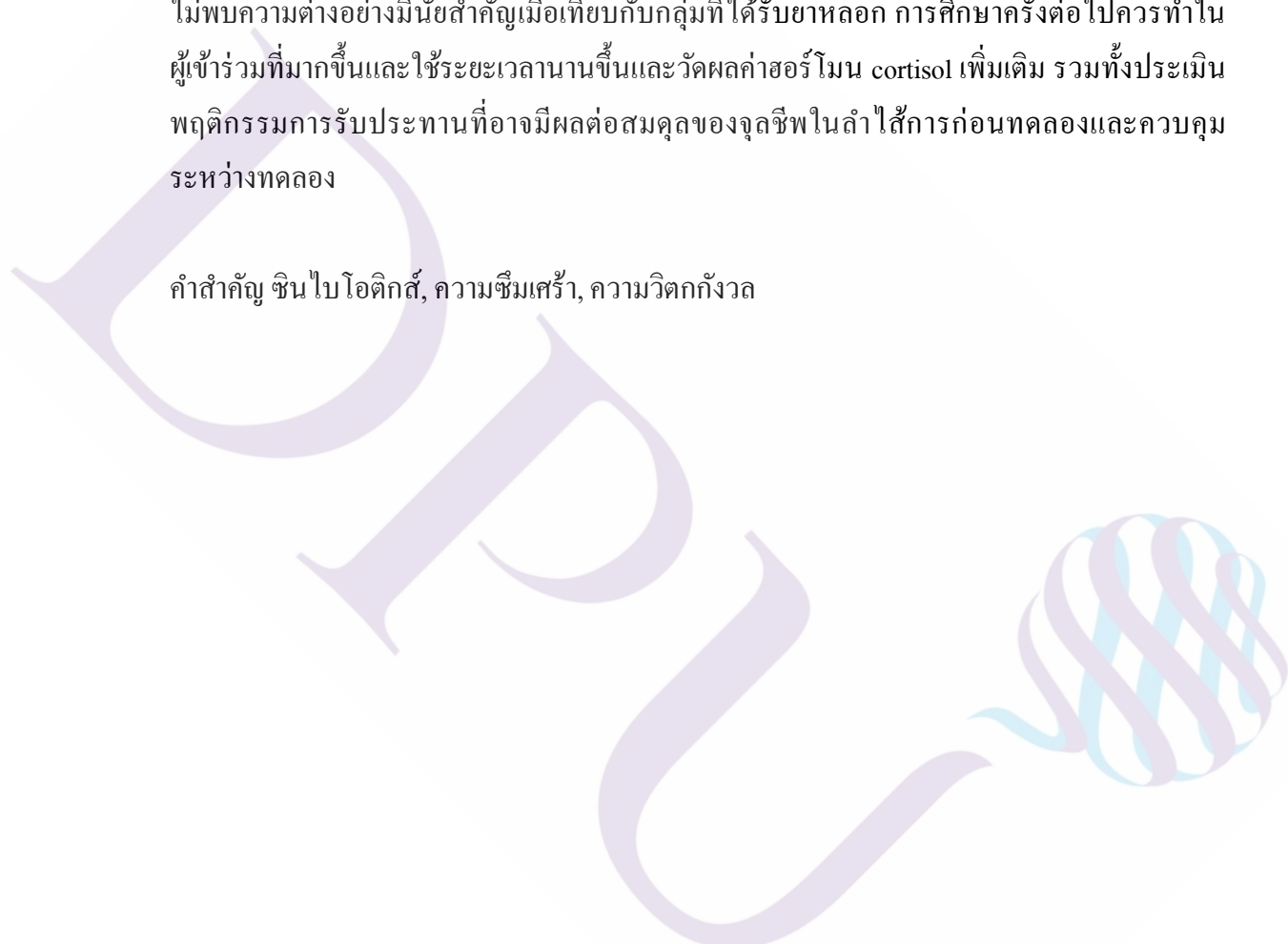
ในการทำงานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ของกระบวนการทำวิจัยในเรื่องประสิทธิผลของการรับประทานซินไบโอติกส์กับความซึมเศร้าและวิตกกังวล

การศึกษาครั้งนี้เป็นการทดลองทางคลินิกแบบสุ่มและมีกลุ่มควบคุมเชิงนำร่องโดยปกปิดทางเดียว ผู้เข้าร่วมวิจัยทั้งหมด 32 คน เป็นพนักงานบริษัทในกรุงเทพมหานครและปริมณฑล อายุ 25-45 ปี สุ่มเข้ากลุ่มที่ได้รับซินไบโอติกส์ 16 คน และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก 16 คน โดยแคปซูลโปรไบโอติกส์ประกอบด้วยจุลินทรีย์ 25 พันล้าน CFU จำนวน 10 สายพันธุ์ดังนี้ *Lactobacillus Plantarum 299v*, *Lactobacillus Rhamnosus*, *Lactobacillus Paracasei*, *Lactobacillus Reuteri*, *Lactobacillus Acidophilus*, *Lactobacillus Helveticus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium lactis*, *Streptococcus thermophilus* ร่วมกับ Inulin, Fiber, FOS ซึ่งเป็นพรีไบโอติก ดังนั้นการทดลองนี้จึงเป็นการศึกษาประสิทธิผลของซินไบโอติกส์ เพราะเป็นส่วนผสมของโปรไบโอติกส์และพรีไบโอติกส์ กำหนดให้รับประทานวันละสองแคปซูลก่อนนอน ติดต่อกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ วัดผลโดยการทำแบบสอบถาม Hospital Anxiety Depression Scale ฉบับภาษาไทยก่อนเริ่มการทดลองเทียบกับหลังการทดลองในวันที่ 7 14 21 และ 28

จากผู้มีคุณสมบัติเข้าได้ 56 คน มีจำนวน 32 คนที่สามารถเข้าร่วมงานวิจัยโดยสมัครใจ (57%) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองเหลือผู้เข้าร่วมวิจัย 28 คน ผู้เข้าร่วมวิจัยส่วนใหญ่สามารถอยู่จนจบการทดลองและผลประเมินขั้นตอนการทดลองอยู่ในระดับที่ง่ายที่สุด หลังการเข้าร่วมวิจัย 4 สัปดาห์พบว่ากลุ่มทดลองมีการลดลงของระดับคะแนนความซึมเศร้า ความวิตกกังวลและผลคะแนนรวมมากกว่ากลุ่มควบคุม

การได้รับชินไปโอติกส์มีแนวโน้มช่วยลดระดับความซึมเศร้าและความวิตกกังวลแต่ยังไม่พบความต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับยาหลอก การศึกษาครั้งต่อไปควรทำในผู้เข้าร่วมที่มากขึ้นและใช้ระยะเวลาสั้นขึ้นและวัดผลค่าฮอร์โมน cortisol เพิ่มเติม รวมทั้งประเมินพฤติกรรมมารับประทานที่อาจมีผลต่อสมดุลของจุลชีพในลำไส้การก่อนทดลองและควบคุมระหว่างทดลอง

คำสำคัญ ชินไปโอติกส์, ความซึมเศร้า, ความวิตกกังวล



Thesis Title The effect of synbiotics consumption on depression and anxiety  
Author Phattarakarn Chapromsit  
Thesis Advisor Assistant professor Pansak Sugraroeak  
Department Anti-Aging and Regenerative Medicine  
Academic Year 2019

### ABSTRACT

Bidirectional interaction exists among the gastrointestinal tract, the enteric nervous system, and the central nervous system. The bidirectional communication system occurs through neural, immune-mediated, and metabolic mechanisms. Gut microbiota regulates this gut-brain axis. Alteration in gut microbiota composition may be associated with the pathogenesis of various neurological disorders, including stress and depression.

Probiotics offer a range of health benefits including creating a healthy gut environment through a balancing of the intestinal microflora. Accumulation evidence suggests that bacteria consumption has the potential to have a positive impact on stress-related psychiatric disorder.

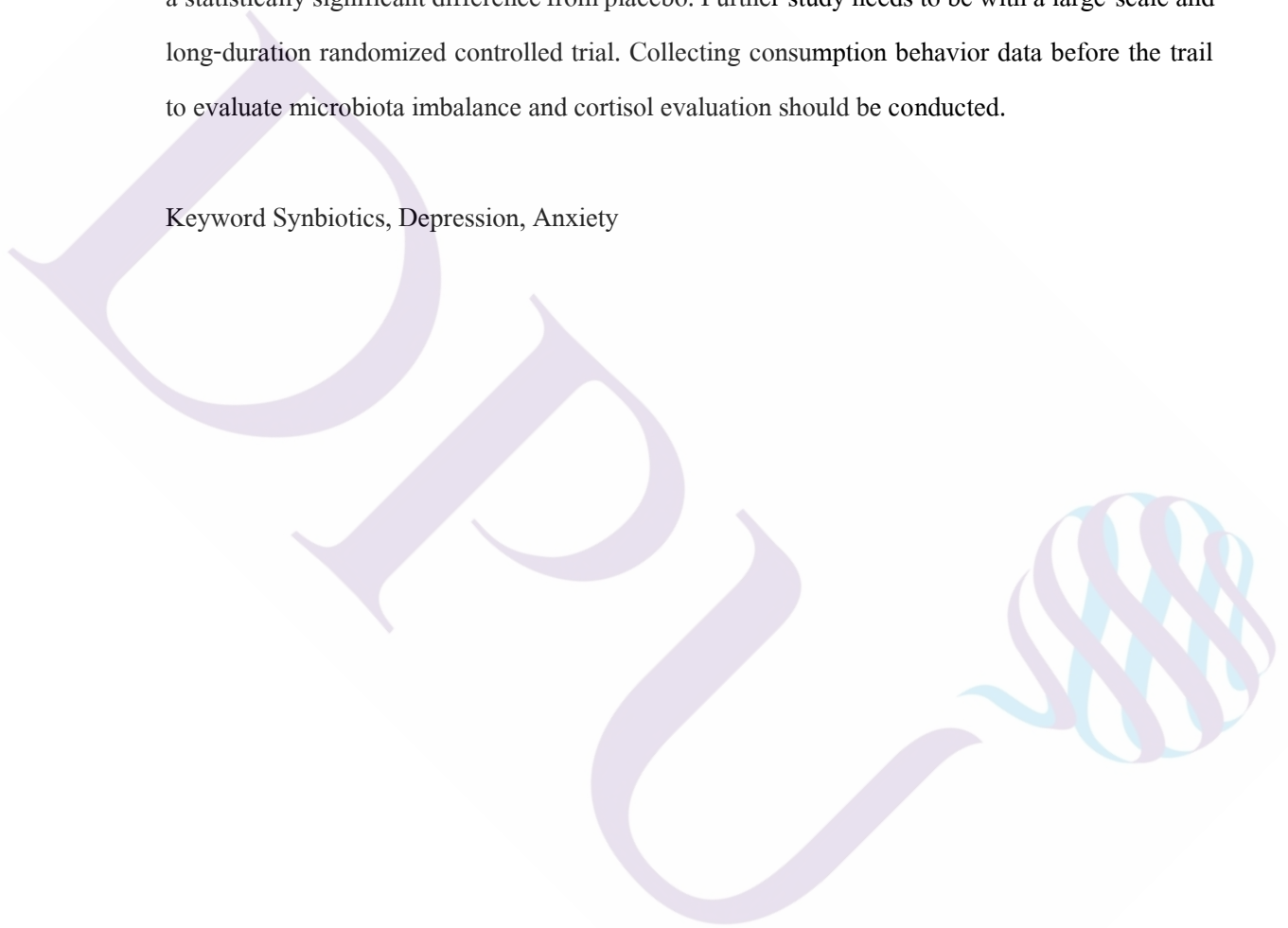
To evaluate the feasibility and potential for effectiveness of synbiotics consumption on depression and anxiety.

Four-week pilot randomized controlled trial (RCT). 32 participants who were company employees aged between 25 and 45 years old. All participants were divided equally into two groups assigned either synbiotics or placebo. The capsules were consumed daily. Probiotics contain 10 species (*Lactobacillus Plantarum 299v*, *Lactobacillus Rhamnosus*, *Lactobacillus Paracasei*, *Lactobacillus Reutari*, *Lactobacillus Acidophilus*, *Lactobacillus Helveticus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium lactis*, *Streptococcus thermophilus*) and prebiotics including Inulin, Fiber, FOS. The depression and anxiety levels were measured by Hospital Depression Anxiety Scale Thai version questionnaire at baseline and after 7,14,21 and 28 days of consumption. Outcomes included process measures, benefits of synbiotics for depression and anxiety level, and safety issues.

Of 56 eligible patients, 32 signed consent (57%), and 28 completed the program (15 interventions, 13 controls) most participants felt it was uncomplicated to complete the process. At 4 weeks, controlling for baseline, depression, anxiety and total reduction scores were better in the intervention group compared to the control group. There was a little side effect of synbiotics that the participants were still willingly to remain in the trail.

The data shows that synbiotics reduced depression and anxiety level but not yet show a statistically significant difference from placebo. Further study needs to be with a large-scale and long-duration randomized controlled trial. Collecting consumption behavior data before the trail to evaluate microbiota imbalance and cortisol evaluation should be conducted.

Keyword Synbiotics, Depression, Anxiety



## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงอย่างสมบูรณ์ได้โดยการได้รับความช่วยเหลือและการสนับสนุนจากอาจารย์ผู้ทรงคุณวุฒิหลายท่าน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกราช บำรุงพีชน์ (ประธานกรรมการ) ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์พันธ์ศักดิ์ ศุกระฤกษ์ (กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์) ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์กฤษณ์ พงศ์พิรุฬห์ (กรรมการ) และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธิฏฐิรัตน์ เมฆบัณฑิตกุล (อาจารย์ที่ปรึกษาด้านสถิติ) ที่ให้คำแนะนำแก้ไข ปรับปรุง ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาของท่านเป็นอย่างยิ่ง นอกจากนี้ผู้ทำวิจัยต้องขอขอบพระคุณคณาจารย์และเจ้าหน้าที่หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพทุกท่านสำหรับความรู้วิชาการ คำแนะนำและคำปรึกษาตลอดระยะเวลาศึกษา

การดำเนินการงานวิจัยจะสำเร็จลงไม่ได้หากไม่ได้รับความร่วมมือจากอาสาสมัครทั้ง 32 คน ที่ให้ความร่วมมือเสียสละเวลาในการตรวจติดตาม และสนับสนุนกิจกรรมการวิจัยให้สำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดี

ท้ายสุดนี้ขอกราบขอบพระคุณครอบครัวอันเป็นที่รัก ที่มีส่วนสนับสนุนและให้กำลังใจ สำหรับการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วง คุณประโยชน์ที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแต่ครอบครัว คณาจารย์ อาสาสมัครและผู้ให้ความร่วมมือในการทำวิทยานิพนธ์ทุกท่าน

ภัทรกาญจน์ ชาพรหมสิทธิ์



## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย .....	ฅ
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
สารบัญตาราง .....	ญ
สารบัญภาพ .....	ฎ
บทที่	
1. บทนำ .....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
1.4 กรอบแนวคิดงานวิจัย.....	2
1.5 หลักการและเหตุผลนำมาสู่กรอบแนวคิดการวิจัย.....	3
2. แนวคิด ทฤษฎี และผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	5
2.1 แนวคิดและทฤษฎีเกี่ยวกับภาวะซึมเศร้า เครียด และผลกระทบ .....	6
2.2 แนวคิดและทฤษฎีเกี่ยวกับจุลชีพในทางเดินอาหาร .....	13
2.3 แนวคิดและทฤษฎีเกี่ยวกับโปรไบโอติกส์และพรีไบโอติกส์.....	14
2.4 แนวคิดและทฤษฎีเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างลำไส้และสมอง.....	16
2.5 แนวคิดและทฤษฎีเกี่ยวกับระบบประสาทส่วนกลางต่อการเปลี่ยนแปลงจุลชีพ ในทางเดินอาหาร .....	20
2.6 แนวคิดและทฤษฎีเกี่ยวกับความไม่สมดุลของจุลชีพทางเดินอาหารต่อโรคทาง ระบบประสาท .....	21
2.7 แนวคิดและทฤษฎีเกี่ยวกับความเครียดต่อการเปลี่ยนแปลงของจุลชีพทางเดิน อาหารและการเปลี่ยนแปลงของจุลชีพทางเดินอาหารต่อการเกิดความเครียด .....	22
2.8 แนวคิดและทฤษฎีเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของ Gut-Brain axis และ ความเครียดโดยโปรไบโอติกส์.....	26
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	32

สารบัญ (ต่อ)

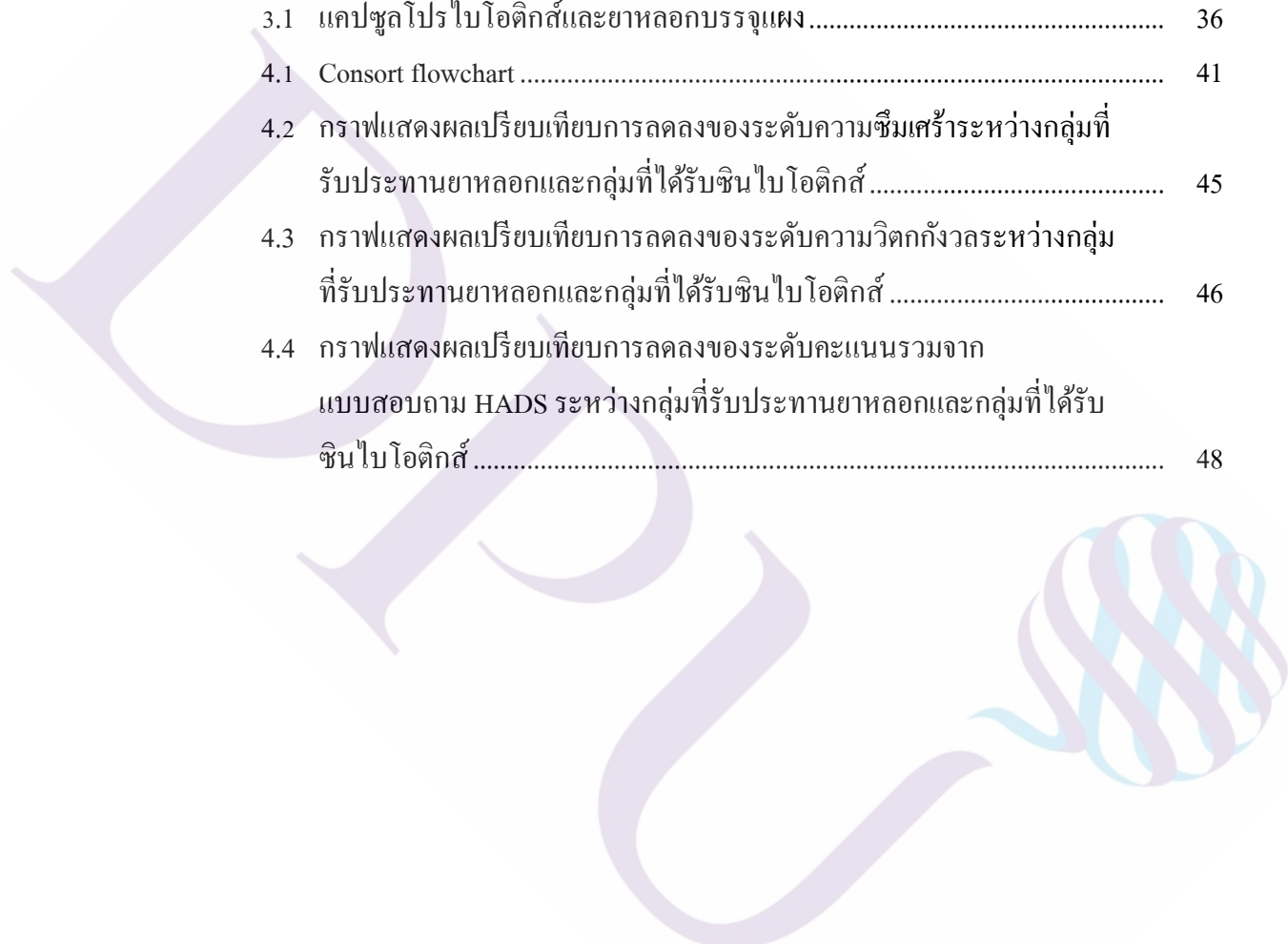
บทที่	หน้า
3. ระเบียบวิธีวิจัย.....	35
3.1 ประชากรและตัวอย่าง.....	35
3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการเก็บรวบรวมข้อมูล.....	36
3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง.....	38
3.4 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล.....	39
4. ผลการวิเคราะห์ข้อมูล .....	40
4.1 ภาพรวมการทดลอง .....	41
4.2 ผลวิเคราะห์ความเหมาะสมของกระบวนการสุ่ม .....	42
4.3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทั่วไปของตัวอย่าง.....	43
4.4 ผลวิเคราะห์การทดลองระดับความซึมเศร้า .....	44
4.5 ผลวิเคราะห์การทดลองระดับความวิตกกังวล.....	46
4.6 ผลวิเคราะห์การทดลองระดับคะแนนรวมของแบบสอบถาม .....	47
4.7 ผลการวิเคราะห์อาการข้างเคียงที่พบระหว่างเข้าร่วมวิจัย .....	49
4.8 ผลวิเคราะห์ความเหมาะสมและความเป็นไปได้ของการทดลองต่อผู้เข้าร่วม วิจัย.....	49
5. สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ .....	51
5.1 สรุป อภิปรายผลการวิจัย.....	51
5.2 ข้อเสนอแนะ .....	53
บรรณานุกรม.....	54
ภาคผนวก .....	80
ก แบบสอบถามข้อมูลเบื้องต้นและคัดกรองเกณฑ์การเข้าร่วมวิจัย .....	81
ข แบบสอบถาม เพื่อการติดตามผลระหว่างวิจัย.....	83
ค แบบสอบถาม Hospital Anxiety and Depression scale .....	85
ง แบบสอบถามประเมินความเหมาะสมในกระบวนการทำวิจัย โดยอาสาสมัคร .....	89
จ หนังสือเจตนายินยอมเข้าร่วมงานวิจัย.....	91
ประวัติผู้เขียน .....	95

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงผลของกระทบของภาวะเครียดต่อสมอง .....	10
2.2 แสดงสารกระตุ้นระบบประสาทที่พบในแบคทีเรียชนิดต่างๆ.....	20
2.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ที่เปลี่ยนไปกับการเกิดปัญหาทางระบบ ประสาทและโรคทางจิตเวช .....	24
2.4 แสดงประสิทธิภาพของโปรไบโอติกส์ต่อการทำงานของสมอง .....	28
4.1 ผลวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของระดับความซึมเศร้าและความวิตกกังวล.....	42
4.2 ผลวิเคราะห์การเปรียบเทียบระดับความซึมเศร้าความวิตกกังวลและคะแนน รวมก่อนเริ่มการการทดลอง ระหว่างกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม.....	43
4.3 แสดงจำนวนอาสาสมัคร อายุและเพศตามกลุ่มตัวอย่าง .....	43
4.4 แสดงผลวิเคราะห์ระดับความซึมเศร้าในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม .....	44
4.5 แสดงผลวิเคราะห์ระดับความวิตกกังวลในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม.....	46
4.6 แสดงผลวิเคราะห์ระดับคะแนนรวมจากแบบสอบถาม HADS ในกลุ่ม ทดลองและกลุ่มควบคุม .....	47
4.7 สรุปผลการข้างเคียง .....	49
4.8 แสดงผลประเมินความเหมาะสมในกระบวนการวิจัยโดยผู้เข้าร่วมวิจัย.....	49

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 แสดง Hypothalamus-Pituitary-Adrenal axis .....	9
2.2 แสดงการสื่อสารของ Gut-Brain axis .....	24
2.3 แสดงการเปลี่ยนแปลงของ gut-brain axis โดยโปรไบโอติกส์.....	32
3.1 แคปซูลโปรไบโอติกส์และยาหลอกบรรจุแผง .....	36
4.1 Consort flowchart .....	41
4.2 กราฟแสดงผลเปรียบเทียบการลดลงของระดับความซึมเศร้าระหว่างกลุ่มที่ รับประทานยาหลอกและกลุ่มที่ได้รับชินไบโอติกส์ .....	45
4.3 กราฟแสดงผลเปรียบเทียบการลดลงของระดับความวิตกกังวลระหว่างกลุ่ม ที่รับประทานยาหลอกและกลุ่มที่ได้รับชินไบโอติกส์ .....	46
4.4 กราฟแสดงผลเปรียบเทียบการลดลงของระดับคะแนนรวมจาก แบบสอบถาม HADS ระหว่างกลุ่มที่รับประทานยาหลอกและกลุ่มที่ได้รับ ชินไบโอติกส์ .....	48



# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันปัญหาความเครียดและอาการซึมเศร้าจากการดำรงชีวิตในสังคมเมืองเกิดขึ้นได้จากหลายปัจจัย อาทิเช่น การเมือง เศรษฐกิจ ไปจนถึงปัญหาจากความสัมพันธ์ของเพื่อนร่วมสังคมเดียวกัน จากสถิติผลการสำรวจความเครียดของคนที่ทำงานในกรุงเทพมหานครพบว่า มีความเครียดในระดับผิดปกติประมาณ 50% ซึ่งสาเหตุส่วนใหญ่มาจากด้านเศรษฐกิจ (กรมสุขภาพจิต กระทรวงสาธารณสุข, 2561)

สุขภาพจิต ไม่เป็นสุขย่อมมีผลถึงสุขภาพกาย เมื่อสุขภาพกายมีปัญหาย่อมส่งผลกลับมาถึงสุขภาพใจเช่นกัน นอกจากการออกกำลังกาย การรับประทานอาหารที่เหมาะสม และการมีวิถีชีวิตที่ดีจะทำให้สุขภาพจิตดีแล้ว จากหลาย ๆ งานวิจัยยังพบว่า การรับประทานโพรไบโอติกส์ (Probiotics) ส่งผลดีต่อสุขภาพจิตเช่นกัน โดยโพรไบโอติกส์มีผลทำให้ลดความเครียดความวิตกกังวล รวมทั้งภาวะซึมเศร้าทั้งในสัตว์ทดลองและในมนุษย์ (วงษ์ประยูร, 2561)

ในทางเดินอาหารส่วนปลายมีจุลินทรีย์ (Gut microbiota) อาศัยอยู่เป็นจำนวนมากกว่า 100 ล้านล้านตัว คิดเป็น 150 เท่าของยีนส์และ 10 เท่าของเซลล์ทั้งหมดในร่างกายมนุษย์ (Anglin et al., 2015) พบว่าจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับสภาวะอารมณ์แปรปรวนและมีความสัมพันธ์กับระบบประสาท ฮอร์โมน รวมทั้งระบบภูมิคุ้มกัน (Zhu and Liu, 2018) ซึ่งทั้งระบบประสาท ฮอร์โมนและระบบภูมิคุ้มกันจากทางเดินอาหารสามารถสื่อถึงสมองได้โดยผ่านทางเส้นประสาทเวกัส (Vagus nerve) เชื่อมลำไส้กับศูนย์สั่งการในสมอง (Higher brain centres) รวมถึงระบบลิมบิก (Limbic system) จึงมีผลในการควบคุมความกลัวและควบคุมอารมณ์ (Mayer, 2011) ด้านฮอร์โมนเกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อความเครียดผ่าน Hypothalamic Pituitary Adrenal axis (HPA axis) ต่อมาสร้างฮอร์โมนในทางเดินอาหาร (Enteroendocrine cell) หลังสารกระตุ้นระบบ

ประสาทซึ่งสามารถออกฤทธิ์ทั้งในลำไส้และในสมอง ส่วนด้านเซลล์ภูมิคุ้มกันในลำไส้สามารถกระตุ้นระบบประสาทที่เชื่อมอยู่ในลำไส้กับสมอง (Anglin et al., 2015)

นอกจากนี้มีการศึกษาพบว่าความเครียดที่เรื้อรังนั้น มีผลต่อสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ (Allen et al., 2017) และพบว่า 60% ของผู้ป่วยที่มีภาวะซึมเศร้าวิตกกังวลมีอาการลำไส้แปรปรวน ซึ่งสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ (Zhu and Liu, 2018) ดังนั้นจากที่ลำไส้และสมองสื่อถึงกันได้ หากจุลินทรีย์ในลำไส้อยู่ในสภาวะที่ดีมีปริมาณและชนิดที่สมดุล จะสามารถส่งผลดีต่อสภาวะทางจิตใจ ลดความเครียดความวิตกกังวลได้ ยังไม่พบมีการศึกษาในประเทศไทยผู้วิจัยจึงสนใจในการศึกษานี้

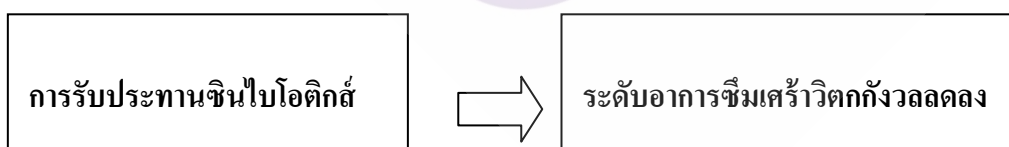
### 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาประสิทธิผลของการรับประทานซินไบโอติกส์กับความซึมเศร้าและวิตกกังวล
2. เพื่อศึกษาความเหมาะสมและความเป็นไปได้ของงานวิจัย

### 1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถนำไปใช้กับคนที่มีความสุขไม่ดีเพื่อการมีความสุขจิตที่ดีสมบูรณ์ และอาจนำไปใช้เสริมการรักษาผู้ป่วยที่มีภาวะซึมเศร้า วิตกกังวล
2. เพื่อลดความเครียดสะสมที่อาจจะมีผลทำให้เกิดภาวะซึมเศร้าและส่งผลกระทบต่อสุขภาพร่างกายในระยะยาว

### 1.4 กรอบแนวคิดงานวิจัย



## 1.5 หลักการและเหตุผลนำมาสู่กรอบแนวคิดการวิจัย

จุลชีพภายในทางเดินอาหารมีผลกับอารมณ์โดยผ่านกลไกของระบบประสาทเคมี (Neurochemical) ระบบประสาทฮอร์โมน (Neuroendocrine) ระบบประสาทและภูมิคุ้มกัน (Neuroimmune) โดยพบว่าจุลชีพที่เปลี่ยนแปลงไปมีผลกับอารมณ์ที่แปรปรวนในขณะเดียวกัน ความผิดปกติทางอารมณ์ก็มีผลกับการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของจุลชีพในทางเดินอาหาร จากงานวิจัยในอดีตพบว่าจุลชีพและความผิดปกติทางอารมณ์นั้นมีความสัมพันธ์กัน (Zhu and Liu, 2018) ดังนั้นทางเดินอาหารกับสมองมีการสื่อสารกันทั้งสองทางและทำงานร่วมกัน (Gut brain axis) ซึ่งมีผลต่ออารมณ์ความเครียดโดยผ่านกลไก ดังนี้

### 1.5.1 ระบบประสาทและฮอร์โมน (Neuroendocrine)

หลายงานวิจัยบ่งชี้ว่าความเครียดกระตุ้น Hypothalamic Pituitary Adrenal axis (HPA axis) และเพิ่มระดับฮอร์โมนคอร์ติซอล (Cortisol) ซึ่งทำให้เพิ่มระดับความวิตกกังวล เพิ่มการเคลื่อนไหวของลำไส้ รวมทั้งทำให้สมดุลจุลชีพในทางเดินอาหารเปลี่ยนไป อย่างไรก็ตามจุลชีพในทางเดินอาหารสามารถยับยั้งการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลได้ โดยผ่าน HPA axis เช่นกันจึงสามารถลดระดับความเครียดความวิตกกังวลได้ (Zhu and Liu, 2018) ความเครียดมีผลกับตัวรับฮอร์โมนความเครียด (Corticotrophin Releasing Factor Receptor; CRFRs) ซึ่งมีผลต่อการซึมผ่านของโมเลกุลที่ผนังทางเดินอาหารเข้าสู่กระแสเลือด การมีภาวะเครียดในช่วงวัยแรกเกิดทำให้แบคทีเรียในลำไส้เคลื่อนเข้าสู่ตับและม้ามได้ (Kelly et al., 2015)

### 1.5.2 ระบบประสาทชีวเคมี (Neurobiochemistry)

#### 1.5.2.1 สารสื่อประสาท (Neurotransmitter)

จุลชีพในทางเดินอาหารสามารถผลิตสารสื่อประสาทได้หลายชนิด เช่น Lactobacillus สามารถผลิตแอซิติลโคลีน (Acetylcholine) ควบคุมความจำการจดจำการเรียนรู้และอารมณ์ ส่วน Candida Streptococcus Escherichia coli Enterococcus สามารถผลิตซีโรโทนิน (Serotonin) ควบคุมสภาพอารมณ์ จุลชีพ Bacilli Serratia สามารถผลิตโดพามีน (Dopamine) สารแห่งความสุข (Vitetta et al., 2014) จุลชีพบางชนิดมีข้อพิสูจน์แล้วว่าสามารถทำให้อาการสุขภาพจิตดีขึ้นจากความสามารถในการผลิตสารสื่อประสาท และมีการศึกษาพบว่าทำให้จุลชีพกำหนดให้ระดับของ

Dopamine และ Tryptophan เปลี่ยนแปลงไป ทั้งยังพบว่า *Lactobacilli* สามารถลดอาการวิตกกังวล รวมถึงอาการซึมเศร้าได้ (Clarke et al., 2013)

#### 1.5.2.2 Brain derived neurotrophic factor (BDNF)

อารมณ์แปรปรวนเกี่ยวข้องกับกลไกการผลิตของ Neurotrophic Substance Specifically BDNF จัดเป็นสารช่วยในการพัฒนาซ่อมแซมฮิปโปแคมปัส (Hippocampus) ซึ่งเป็นส่วนสำคัญของสมองในการสร้างความทรงจำระยะยาว ใช้กำหนดและจดจำทิศทาง (Rios et al., 2017) มีงานวิจัยศึกษาเกี่ยวกับ *Bifidobacterium* กับการให้โปรไบโอติกส์ที่สามารถเพิ่มระดับของ BDNF ได้

#### 1.5.2.3 Vagus nerve

ระบบทางเดินอาหารควบคุมโดยระบบประสาทตั้งที่อยู่ภายในทางเดินอาหารเองและจากเส้นประสาทจากภายนอกคือ Vagus Nerve เชื่อมระหว่างสมองกับทางเดินอาหารส่วนต้น ดังนั้นเมื่อมีความเครียดจะมีการตอบสนองในระบบทางเดินอาหารโดยมีการหลั่งของสารกระตุ้นระบบประสาท (Neuropeptides) อินเทสตินอลเปปไทด์ (Intestinal peptide) ที่ออกฤทธิ์ในทางเดินอาหารและออกฤทธิ์ในสมองผ่าน Vagus Nerve และผ่านเยื่อหุ้มสมองได้โดยตรง (Blood Brain Barrier) (Anglin et al., 2015) พบว่า *Lactobacillus rhamnosus* ควบคุมการส่งสัญญาณของ Vagus Nerve ระดับ GABAA mRNA เพิ่มขึ้นในบริเวณ Amygdala ส่วนของสมองที่ควบคุมเรื่องความกลัว ความวิตกกังวลเมื่อสัตว์มีความเครียด ดังนั้น *L.rhamnosus* จึงส่งผลดีต่อการลดความเครียดได้ (Bravo et al., 2011)

### 1.5.3 ระบบภูมิคุ้มกัน (Immune system)

#### 1.5.3.1 Lipopolysaccharide (LPS)

ความไม่สมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ทำให้สารพิษสามารถซึมผ่านผนังทางเดินอาหารมากขึ้น เช่น สารพิษจากแบคทีเรีย คือ Endotoxin-Lipopolysaccharide (LPS) สามารถซึมผ่านสู่กระแสเลือดนำไปสู่การเกิด Proinflammatory Endotoxin-Lipopolysaccharide กระตุ้นการอักเสบในระบบประสาทและกระตุ้น Amygdala ซึ่งเป็นส่วนที่มีผลกับอารมณ์ (Bested et al., 2013) LPS สามารถเพิ่มระดับฮอร์โมนนอร์อิพิเนฟริน (Norepinephrine) ที่เกี่ยวข้องกับความกลัวและความเครียด



รวมทั้งมีความสัมพันธ์กับอัตราการตายจากภาวะซึมเศร้า (High depression mortality) มีบางงานวิจัยสนับสนุนว่า LPS สามารถทำให้เกิดอาการวิตกกังวลและภาวะซึมเศร้า (Bested et al., 2013)

#### 1.5.3.2 Proinflammatory Cytokine

ความเครียดทำให้การซึมผ่านของผนังลำไส้เพิ่มขึ้น สารบางอย่างสามารถซึมผ่านเข้าสู่ระบบเลือดและกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ดังนั้นความเครียดทำให้สารก่อการอักเสบสูงขึ้น เช่น Interleukin-1, Interleukin-6) เป็นสาเหตุให้เกิดภาวะภูมิคุ้มกันต่อตัวเอง (Martin-Subero et al., 2016) ทั้งนี้ Interleukin-6 ใน Hippocampus กระตุ้นให้เกิดภาวะซึมเศร้า (Latalova et al., 2017

ความเครียดมีผลต่อสภาวะภายในลำไส้ สมดุลของจุลชีพภายในลำไส้มีผลกับการทำงานของสมองและอารมณ์เช่นกัน หากรักษาสมดุลภายในลำไส้ย่อมเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพร่างกาย



## บทที่ 2

### แนวคิด ทฤษฎี และผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ผู้วิจัยได้ศึกษาแนวคิดและทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย ดังหัวข้อต่อไปนี้

- 2.1 ภาวะซึมเศร้า ภาวะเครียดและผลกระทบของภาวะเครียดต่อการทำงานของร่างกาย
- 2.2 จุลชีพในทางเดินอาหาร (Gut Microorganism)
- 2.3 โพรไบโอติกส์ (Probiotics) และพรีไบโอติกส์ (Prebiotics)
- 2.4 ความสัมพันธ์ระหว่างลำไส้และสมอง (Gut-Brain axis)
- 2.5 ระบบประสาทส่วนกลาง (Central Nervous System: CNS) มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของจุลชีพในทางเดินอาหาร
- 2.6 ความไม่สมดุลของจุลชีพ (Gut dysbiosis) ต่อโรคทางระบบประสาท
- 2.7 ความเครียดต่อการเปลี่ยนแปลงของจุลชีพ และความไม่สมดุลของจุลชีพ (Gut dysbiosis) ต่อการเกิดความเครียด
- 2.8 การเปลี่ยนแปลงของ Gut-Brain axis และความเครียด โดยโพรไบโอติกส์ (Probiotics)
- 2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

## 2.1 แนวคิดทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง ภาวะซึมเศร้า ภาวะเครียดความวิตกกังวล ผลกระทบของภาวะเครียด ต่อการทำงานของร่างกาย

### 2.1.1 ภาวะซึมเศร้า และภาวะเครียด

ภาวะเครียด (Stress) คือ สิ่งกระตุ้นไม่ว่าจากภายในร่างกายเองหรือจากภายนอก ที่สามารถกระตุ้นการตอบสนองทางชีวภาพ การตอบสนองต่อภาวะที่เกิดขึ้นเรียกว่าการตอบสนองต่อความเครียด ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิด ระยะเวลา ความรุนแรงของสิ่งกระตุ้น ความเครียดก่อให้เกิดการตอบสนองที่หลากหลายตั้งแต่การปรับสมดุลใหม่ (Homeostasis) ไปจนถึงมีผลต่อชีวิต ภาวะเครียดอาจทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนต่าง ๆ คนที่อยู่ในสถานที่ทำงานหรืออยู่อาศัยในสิ่งแวดล้อมที่เต็มไปด้วยความเครียดมักมีแนวโน้มที่จะเกิดความผิดปกติต่อร่างกายได้ง่าย (Yaribeygi et al., 2017)

ภาวะซึมเศร้า หมายถึง ภาวะจิตใจมีความผิดปกติของอารมณ์ เช่น อารมณ์เศร้า ไม่มีความสุข เบื่อหน่าย หดหู่ ท้อแท้ สิ้นหวัง เซื่องซึม นอนไม่หลับ เบื่ออาหาร ขาดสมาธิ วิตกกังวล มองโลกในแง่ลบ ภาวะซึมเศร้าสามารถเกิดขึ้นได้กับทุกคนทั้งคนปกติ ผู้ป่วย ทางกาย และผู้ป่วยทางจิตเวช อาจเกิดขึ้นได้ตั้งแต่ภาวะซึมเศร้าธรรมดาจนถึงภาวะซึมเศร้ารุนแรง หากไม่ได้รับการรักษาจะป่วยเป็นโรคซึมเศร้าในที่สุด ซึ่งโรคซึมเศร้ามีภาวะซึมเศร้าร่วมกับขาดความเคารพตนเอง รวมทั้งมีภาวะสิ้นยินดี คือ ไม่มีความพึงพอใจในกิจกรรมที่โดยปกติเป็นที่น่าพึงพอใจ ซึ่งอาจส่งผลเสียต่อคุณภาพชีวิตและอาจนำไปสู่การฆ่าตัวตาย ภาวะซึมเศร้ามีสาเหตุมาจากหลายปัจจัย อาทิ ความผิดปกติทางพันธุกรรม ความผิดปกติของสารชีวเคมีในสมอง ปัญหาทางด้านจิตใจและปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม เกิดจากปัจจัยภายในและภายนอกทั้งที่สามารถควบคุมได้และควบคุมไม่ได้ (หงษ์ศรีสุวรรณ, 2559)

ความเครียดเรื้อรังและความเครียดระยะสั้นเป็นสาเหตุของโรคซึมเศร้าได้เมื่อกลไกร่างกายตอบสนองต่อความเครียดมากเกินไป ความเครียดเรื้อรังทำให้ฮอร์โมนความเครียดเพิ่มขึ้น เช่น ฮอร์โมนคอร์ติซอล (cortisol) และทำให้ระดับสารสื่อประสาทเซโรโตนิน โดพามีน และสารสื่อประสาทอื่นๆในสมองลดลง เป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดโรคซึมเศร้า สารสื่อประสาทเหล่านี้ควบคุมการทำงานของร่างกายเช่น การนอน ความอยากอาหาร ความต้องการทางเพศ และทำให้เกิดความรู้สึกอารมณ์ที่เป็นปกติ หากความเครียดเกิดขึ้นนานสามารถกระตุ้นให้เกิดอาการซึมเศร้าได้ (Martin, 2011)

## 2.1.2 ผลกระทบของภาวะเครียดต่อการทำงานของร่างกาย

### 2.1.2.1 ภาวะเครียดและทำงานของสมอง

ฮอร์โมนมีผลต่อการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง (Central Nervous System: CNS) มีผลต่อพฤติกรรมและการเรียนรู้ความเข้าใจ (Cognition) (De Kloet, 2000) มีการค้นพบว่า สมองของสัตว์ทดลองตอบสนองต่อฮอร์โมนกลูโคคอร์ติคอยด์ (Glucocorticoid) ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่ตอบสนองต่อความเครียด ดังนั้นเข้าใจได้ว่าความเครียดมีผลต่อการทำงานของ CNS (McEwen et al., 1968) ความเครียดทำให้รูปร่างของเนื้อสมองเปลี่ยนไปและมีผลต่อการทำงานของระบบประสาท ดังแสดงในตารางที่ 1 (Reznikov et al., 2007)

### 2.1.2.2 ภาวะเครียดส่งผลความจำ (Memory)

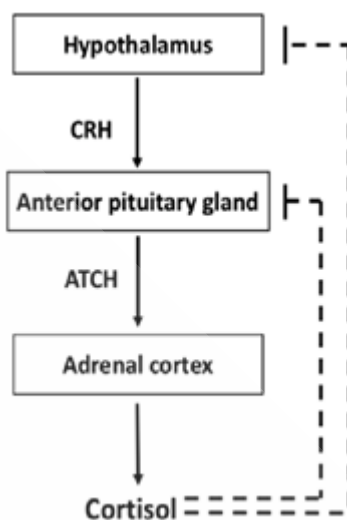
การเปลี่ยนความทรงจำระยะสั้นให้เป็นความทรงจำระยะยาวขึ้นอยู่กับการทำงานของ Hippocampus ซึ่งเป็นบริเวณของสมองที่มีตัวรับฮอร์โมน Corticosteroid อย่างหนาแน่นและเป็นบริเวณที่มีการตอบสนองต่อภาวะเครียดมากที่สุด (Scoville and Milner, 1957; Asalgoo et al., 2015) และสมองบริเวณ Amygdala เป็นบริเวณที่ตอบสนองต่อประสบการณ์ของความรู้สึกที่มีต่อความทรงจำ (Roozendaal et al., 2009) มีหลาย ๆ งานวิจัยพบว่าความเครียดทำให้โครงสร้างและการทำงานของ Hippocampus เปลี่ยนไป (McEwen, 1999) ความเครียดเรื้อรังทำให้ฮอร์โมน Cortisol เพิ่มขึ้นต่อเนื่องเป็นสาเหตุให้แขนงของเซลล์ประสาทลดลง (Dendritic branches) (Woolley et al., 1990) และทำให้การสร้างเซลล์ประสาทใน Hippocampus ลดลง (Gould et al., 1998) ฮอร์โมน Glucocorticosteroids ควบคุมการเผาผลาญของเซลล์ประสาท (Lawrence and Sapolsky, 1994) และเพิ่มการสร้างกรดอะมิโนของ Hippocampus (Sapolsky and Pulsinelli, 1985) เพิ่มระดับของ Glutamate ภายนอกเซลล์ (Sapolsky and Pulsinelli, 1985) นอกจากความเครียดมีผลต่อการสร้างความทรงจำแล้ว งานวิจัยในอดีตพบว่าความเครียดทำให้ความทรงจำชัดเจนในบางสถานการณ์เช่นกัน (Schwabe et al., 2010) เช่น ความเครียดที่เกิดก่อนการเรียนรู้ทำให้เพิ่มความสามารถในการจดจำได้มากขึ้น (Domes et al., 2002; Schwabe et al., 2008) หรืออาจลดความจุของความทรงจำลงได้เช่นกัน (Diamond et al., 2006; Kirschbaum et al., 1996) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของความเครียด ความรุนแรงของความรู้สึกต่อความเครียดนั้น (Payne et al., 2007; Diamond et al.,

2007) ดังนั้นผลกระทบของความเครียดต่อความจำจะขึ้นกับระยะเวลาที่เจอสิ่งกระตุ้นความเครียด และความจำอาจดีขึ้นหรือแย่ลงก็ได้ (Schwabe et al., 2012)

### 2.1.2.3 ภาวะเครียดส่งผลต่อความเข้าใจและการเรียนรู้ (Cognition and Learning)

ความเครียดมีผลมากมายต่อ Cognition ขึ้นกับความรุนแรง ระยะเวลา แหล่งกำเนิด และขนาดเช่นเดียวกับความจำ (Sandi, 2013) Cognition เกิดขึ้นในสมองบริเวณ Hippocampus, Amygdala และ Temporal lobe (McEwen and Sapolsky, 1995) ความเครียดทำให้ Cognition ลดลง และความเครียดกระตุ้นระบบประสาทอัตโนมัติ (Autonomic Nervous System: ANS) สารสื่อประสาทและนิวโรเปปไทด์ (Neuropeptide) และกระตุ้น Hypothalamus-Pituitary-Adrenal axis (HPA axis) ซึ่งมีผลโดยตรงกับวงจรประสาทและการประมวลผลในสมอง ความเครียดกระตุ้นให้เกิดการหลั่ง Glucocorticosteroids และฮอร์โมนนี้ซึมผ่านในสมองและออกฤทธิ์ระยะยาวส่งผลกระทบต่อ Cognition ได้ (Sandi, 2013)

HPA axis เมื่ออยู่ในสภาวะเครียดจะมีการกระตุ้น Hypothalamus ให้หลั่งฮอร์โมน Corticotrophin releasing hormone (CRH) ไปกระตุ้นต่อมใต้สมองส่วนหน้า (Anterior pituitary gland) ให้หลั่ง Adrenocorticotrophic hormone (ACTH) และกระตุ้นต่อมหมวกไตให้หลั่งฮอร์โมนความเครียด คือ Cortisol โดย HPA axis มี Negative feedback โดย Cortisol มีผลยับยั้งการหลั่ง ACTH และ CRH จากต่อมใต้สมองส่วนหน้าและ Hypothalamus เพื่อให้มีการตอบสนองต่อภาวะเครียดอย่างเหมาะสม ภาวะที่ผิดปกติของ HPA axis นำไปสู่ภาวะซึมเศร้าและวิตกกังวลได้ ดังแสดงในภาพที่ 1 (Dinan TG et al., 2013)



ภาพที่ 2.1 แสดง Hypothalamus-Pituitary-Adrenal axis

ที่มา: ปวีศ วงษ์ประยูร, 2561

ความเครียดทำให้เกิดพยาธิสภาพในสมอง มีผลให้พฤติกรรม ความเข้าใจและอารมณ์ ผิดปกติไป (Li et al., 2008) ความเครียดในระยะยาวทำให้เกิดผลแทรกซ้อน เช่น มีการเพิ่มขึ้นของ Interleukin-6 (เป็น Interleukin ที่ทำหน้าที่เป็นทั้ง Cytokine pro-inflammatory และ Myokine ที่ต้านการอักเสบ) และเพิ่มระดับฮอร์โมน Cortisol ในเลือด ภาวะเครียดลดปริมาณของ cAMP responsive element binding protein และ Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) ซึ่งเป็นลักษณะที่มักพบในผู้ป่วยโรคซึมเศร้าและอารมณ์แปรปรวน (Song et al., 2006) นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของสารก่อการอักเสบ เช่น Interleukins และ TNF- $\alpha$  มีความสัมพันธ์กับการเกิด Mood-based cognitive disorders (Solerte et al., 2000; Marsland et al., 2006; Li et al., 2008) ภาวะเครียดยังทำให้การสร้างเซลล์ประสาทบริเวณ Dentate gyrus ของ Hippocampus ลดลง (เป็นส่วนของสมองที่ยังสามารถสร้างเซลล์ประสาทได้ในวัยผู้ใหญ่) (Gould and Tanapat, 1999; Kohler et al 2010)

ตารางที่ 2.1 แสดงผลของกระทบของภาวะเครียดต่อสมอง (Yaribeygi, 2017)

	Aspects of function	Main area involved	Structural changes	Functional changes
Stress and Brain	ความจำ (Memory)	Hippocampus (มี Glucocorticoid receptors)	เกี่ยวข้อง การสร้างเซลล์ประสาท ผิดไป (Lupien et al., 2001) ลด แขนงของเซลล์ประสาท ลด เซลล์ประสาทและจุดเชื่อมต่อ ปลายประสาท (synaptic terminals) (Sapolsky et al., 1990) ลดขนาด Hippocampus (Bremner, 1999)	การจดจำผิดปกติ (Lupien et al., 2001)
		Amygdala (Noradrenaline)		
	ความเข้าใจ และการเรียนรู้ (Cognition)	Hippocampus, Amygdala and Temporal lobe	เกิดความเสื่อมของระบบ ประสาท (Neurodegenerative processes activation) (Li et al., 2008)	ลดประสิทธิภาพ การเรียนรู้ ทำให้ เกิดอารมณ์ แปรปรวน (Li et al., 2008)

#### 2.1.2.4 ภาวะเครียดส่งผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน

ภาวะเครียดมักมีแนวโน้มทำให้ระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง และเกิดความเจ็บป่วยได้ง่าย (Khansari et al., 1990) มีงานวิจัยพบว่าหลังจากประสบภาวะความเครียดรุนแรงมักมีโอกาสดเกิดโรคเพิ่มขึ้น (Holmes and Rahe, 1967; Calabrese et al., 1987) และสารต่าง ๆ ที่เกิดจากความเครียดสามารถซึมผ่านสมองและมีผลต่อภูมิคุ้มกัน (Khansari et al., 1990) ภาวะเครียดทำให้ระบบภูมิคุ้มกันบกพร่องโดยรบกวนการทำงานของ CNS และระบบนิวโรเอนโดไครน์ (Neuroendocrine) (Khansari et al., 1990; Kiecolt-Glaser and Glaser, 1991) หลังจากมีภาวะเครียดระบบประสาทตอบสนองโดยการหลั่ง CRH, ACTH, และสารอื่น ๆ (Carrasco and Van de Kar, 2003) มีหลักฐาน

พบว่าระบบต่อมน้ำเหลืองซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของระบบภูมิคุ้มกันมีส่วนในการปล่อยสารความเครียด เช่นกัน (Khansari et al., 1990) เช่น Thymus peptides ได้แก่ Thymopentine, Thymopoietin, Thymosin fraction-5 ทำให้ระดับของ ACTH เพิ่มขึ้น (Goya et al., 1993) นอกจากนี้ยังพบระดับของ CRH ใน Thymus (Redei, 1992) และ Interleukin-1 บทบาทเพิ่มระดับของ ACTH (Berkenbosch et al., 1987) ทางกลับกัน Glucocorticosteroids ที่ตอบสนองต่อความเครียดมีฤทธิ์ต้านการอักเสบและกดภูมิคุ้มกัน มีบทบาทยับยั้งเซลล์เม็ดเลือดขาว Lymphocytes และ Macrophages (Elenkov et al., 1999; Reiche et al., 2004) และมีบทบาทยับยั้งสารก่อการอักเสบ

นอกจากฮอร์โมนจากต่อมหมวกไต (Adrenal steroid) จะมีผลกระทบจากภาวะเครียดแล้วยังมีฮอร์โมนอื่นได้รับผลเช่นกัน เช่น Growth hormone จะหยุดหลั่งในภาวะเครียดรุนแรง มีงานศึกษาพบว่าทำให้ CRH เป็นระยะเวลานานแก่สมองส่วน Ventricle ทำให้ Growth hormone หยุดหลั่งได้ (Rivier and Vale, 1985) ระหว่างที่อยู่ในความเครียดมีผลต่อการหลั่งโอปิออยด์ (Opioid peptides) (McCarthy et al., 2001) มีงานศึกษามากมายพบว่าตัวรับฮอร์โมนที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันเปลี่ยนไปหลังเจอภาวะเครียด เช่น ACTH, Vasoactive intestinal peptide (VIP), Substance P, Growth hormone, Prolactin และ Steroids ทั้งหมดมีตัวรับฮอร์โมนมากมายอยู่ในอวัยวะของระบบภูมิคุ้มกันและสามารถทำให้การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันลดลง (De la Fuente et al., 1996; Gala, 1991; Mantyh, 1991)

ความเครียดที่รุนแรงนำไปสู่การเกิดมะเร็งจากการกดระบบภูมิคุ้มกันเนื่องจากความเครียดสามารถลดการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาว Cytotoxic T lymphocytes และ Natural killer cells นำไปสู่การเกิดเซลล์มะเร็งได้ ทำให้สารพันธุกรรมเปลี่ยนแปลง และมีการแพร่ของก้อนเนื้อมากขึ้น มีงานวิจัยพบว่าระดับของ Norepinephrine เพิ่มขึ้นหลังจากมีภาวะเครียดซึ่งส่งผลกระทบข้ามกับการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของเซลล์ Phagocytes และ Lymphocytes นอกจากนี้สาร Catecholamines และ Opioids ที่ถูกหลั่งหลังภาวะเครียดมีผลในการกดภูมิคุ้มกันเช่นกัน (Reiche et al., 2004)



### 2.1.2.5 ภาวะเครียดส่งผลต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด

ภาวะเครียดไม่ว่าจะเกิดในระยะสั้นหรือเรื้อรัง มีผลต่อระบบหัวใจและหลอดเลือดได้เหมือนกัน (Rozanski et al., 1999; Kario et al., 2003; Herd, 1991) โดยความเครียดส่วนใหญ่กระตุ้นระบบประสาทซิมพาเทติก (Sympathetic nervous system; SNS) มีผลให้เพิ่มอัตราการเต้นและเพิ่มการบีบตัวของหัวใจ มีเส้นเลือดค้ำขยายในกล้ามเนื้อและไต ลดการขับออกของโซเดียมที่ไต (Herd, 1991) บางครั้งความเครียดกระตุ้นระบบประสาทพาราซิมพาเทติก (Parasympathetic nervous system; PNS) ทำให้กระตุ้น Limbic system มีผลลดการเต้นและการบีบตัวของหัวใจ หลอดเลือดส่วนปลายขยายตัวและความดันโลหิตลดลง (Cohen et al., 2000) ความเครียดทำให้หน้าที่ของเซลล์เยื่อผนังหลอดเลือด (Vascular endothelial cell) เปลี่ยนไป เพิ่มความเสี่ยงต่อการเป็นหลอดเลือดอุดตันและเพิ่มภาวะหัวใจขาดเลือด ทั้งนี้การตอบสนองต่อความเครียดขึ้นลักษณะเฉพาะตัวบุคคล (Rozanski et al., 1999)

มีงานวิจัยพบว่าปัญหาความเครียดทางจิตใจมีผลกระตุ้นตัวรับแอดรีเนอร์จิก (Alpha-adrenergic) ทำให้เพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจและเพิ่มความต้องการออกซิเจน (Rozanski et al., 1998, 1999; Jiang et al., 1996) เพิ่มการหดตัวของเส้นเลือดเลี้ยงหัวใจ (Coronary arteries) ซึ่งอาจเพิ่มความเสี่ยงของการเกิดหัวใจขาดเลือด (Yeung et al., 1991; Boltwood et al., 1993; Dakak et al., 1995)

### 2.1.2.6 ภาวะเครียดส่งผลต่อระบบทางเดินอาหาร

ภาวะเครียดส่งผลต่อระบบทางเดินอาหารโดยเพิ่มการบีบตัวของลำไส้ เพิ่มการหลั่งสารคัดหลั่งภายในลำไส้ เปลี่ยนแปลงการซึมผ่านของผนังลำไส้ (Intestinal permeability) มีผลต่อการไหลเวียนเลือดภายในระบบทางเดินอาหาร และเพิ่มจำนวนแบคทีเรียภายในลำไส้ (Konturek et al., 2011)

ภาวะเครียดส่งผลต่อระบบทางเดินอาหารหลัก ๆ สองกลไกคือ ความเครียดมีผลต่อความอยากอาหาร เกี่ยวข้องในบริเวณ Ventral Tegmental Area (VTA) Amygdala ผ่าน N-methyl-D-Aspartate (NMDA) Glutamate receptors (Nasihatkon et al., 2014; Sadeghi et al., 2015) อย่างไรก็ตาม รูปแบบการรับประทานอาหารมีผลต่อการตอบสนองต่อความเครียดเช่นกัน (Ghanbari et al., 2015) ดังนั้นทั้งสารอาหารและความเครียดส่งผลต่อกันและกัน กลไกที่สองคือ ความเครียดมีผลต่อ

การทำงานของทางเดินอาหาร (Soderholm and Perdue, 2001; Collins, 2001) งานวิจัยพบว่า ความเครียดมีผลต่อการดูดซึมสารอาหาร การซึมผ่านในผนังลำไส้ การหลั่งกรดในกระเพาะอาหาร การแลกเปลี่ยนช่องไอออนบนเยื่อหุ้มเซลล์ (Ion channel) และการอักเสบของทางเดินอาหาร (Collin, 2001; Nabavizadeh et al., 2011) ความเครียดทำให้มีการตอบสนองต่อการเกิดการอักเสบมากขึ้นโดยการหลั่งสาร เช่น Substance P (Collins, 2001) มีผลเพิ่มการซึมผ่านของผนังลำไส้ กระตุ้น T lymphocytes ทำให้เกิดสารอักเสบที่มีผลกระตุ้น Hypothalamus ทำให้เกิด Negative feedback จากมีการหลั่ง CRH ทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบได้ (Collins., 2001) เช่น ทำให้เกิด Silent colitis (Million et al., 1999)

โรคลำไส้อักเสบในทางเดินอาหาร เช่น โรคโครห์น (Crohn's disease), Ulcerative-based diseases มีความเกี่ยวข้องโดยตรงกับภาวะความเครียด (Hommes et al., 2002) แม้แต่ความเครียดในวัยเด็กผลต่อการเกิดโรคนี้อีกเช่นกัน (Schwartz and Schwartz, 1983) นอกจากนี้โรคลำไส้แปรปรวน (Irritable bowel syndrome) มีความสัมพันธ์กับภาวะความเครียดอย่างมาก เช่นเดียวกัน (Gonsalkorale et al., 2003) การเปลี่ยนแปลงของการซึมผ่านภายในผนังลำไส้มีผลทำให้สารพิษภายในลำไส้สามารถซึมเข้ากระแสเลือดได้ง่าย (Soderholm and Perdue, 2001) นอกจากนี้ความเครียดยังลดการนำน้ำออกจากลำไส้ เพิ่มการหลั่งโซเดียมและคลอไรด์ในลำไส้ ทั้งนี้เป็นผลมาจากการเพิ่มการทำงานของ PNS (Barclay and Turnberg, 1987)

#### 2.1.2.7 ภาวะเครียดส่งผลต่อระบบต่อมไร้ท่อ

ภาวะเครียดมีผลทำให้หน้าที่และการหลั่งของหลาย ๆ ฮอร์โมนเปลี่ยนไป เนื่องจากภาวะเครียดมีผลต่อ Hypothalamus Pituitary และ ต่อมหมวกไต ต่อมเพศ ไทรอยด์ และ ม้าม (Tilbrook et al., 2000; Brown-Grant et al., 1954) การแบ่งผลกระทบบของภาวะเครียดต่อระบบต่อมไร้ท่อค่อนข้างทำได้ยาก เนื่องจากความเครียดเพียงเล็กน้อยมีผลต่อ HPA-axis ซึ่งมีผลพวงอีกมากมายที่เกี่ยวข้องต่อฮอร์โมนอื่น ๆ ในร่างกาย

## 2.2 แนวคิดทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง จุลชีพในทางเดินอาหาร (Gut microbiota)

Microbiota หมายถึง จุลชีพที่อาศัยอยู่ในร่างกายทั้งหมดและ Gut microbiota หมายถึง จุลชีพที่อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหาร (Ursell et al., 2012) คิดเป็น 70% ของจุลชีพทั้งหมดใน

ร่างกาย (Ley et al., 2006) ระบบทางเดินอาหารมีจุลชีพอยู่เป็นจำนวนมากกว่า 1000 ล้านล้านตัว ซึ่งมากกว่าเซลล์ทั้งหมดของร่างกาย (Savage et al., 1977) และมีความหลากหลายมากกว่า 1000 สปีชีส์ ส่วนใหญ่แล้วเป็นแบคทีเรียมากกว่าเชื้อรา ไวรัสและอื่น ๆ (De Vos and De Vos, 2012) แบคทีเรียส่วนใหญ่จัดอยู่ใน Strict anaerobes รองลงมาเป็น Facultative anaerobes และ Aerobes ตามลำดับ เรียงลำดับตามสายพันธุ์แบคทีเรียหลักในทางเดินอาหารจะอยู่ในไฟลัม Bacteroidetes และ Firmicutes รองลงมาคือไฟลัม Actinobacteria, Fusobacteria และ Cyanobacteria (Eckburg et al., 2005) จุลชีพอาศัยอยู่ในร่างกายตั้งแต่ออกจากครรภ์มารดาและมีส่วนช่วยในหลาย ๆ ด้าน โดยบทบาทหลักคือปกป้องผนังเยื่อทางเดินอาหาร มีส่วนช่วยในระบบเมแทบอลิซึมในการให้สารอาหารต่อร่างกาย ป้องกันร่างกายจากจุลชีพก่อโรค และมีส่วนช่วยในระบบภูมิคุ้มกัน (Thursby and Juge, 2017) ปกติแล้ว Gut microbiota มีความแตกต่างกันระหว่างบุคคลและช่วงอายุ แต่มีสมดุลที่เหมาะสมทั้งในแง่ของชนิดและปริมาณของจุลชีพ เมื่อสมดุลนั้นเสียไปจะทำให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพ (Claesson et al., 2012) ภาวะที่ทำให้เสียสมดุลของจุลชีพ เช่น การติดเชื้อ ชนิดของอาหาร และความเครียด (Cryan and O'Mahony, 2011) มีหลักฐานที่สนับสนุนว่าภาวะสมดุลที่เปลี่ยนแปลงไปของ Gut microbiota มีความสัมพันธ์กับหลาย ๆ โรค เช่น โรคลำไส้แปรปรวน (Irritable Bowel Syndrome, IBS) เนื่องอกในทางเดินอาหาร โรคนิวน้ำดี โรคตับและโรคในระบบอื่น ๆ เช่น ภาวะอ้วน เบาหวาน ภูมิแพ้ เป็นต้น (Sekirov et al., 2010) นอกจากนี้การเสียสมดุล Gut microbiota อาจมีความเกี่ยวข้องกับโรคทางจิตเวช ทั้งโรคซึมเศร้าและโรควิตกกังวล (Rogers et al., 2016) จึงนำไปสู่แนวทางในการรักษาเสริมโดยการแก้ไขภาวะสมดุลของ Gut microbiota ให้อยู่ในภาวะปกติ

### 2.3 แนวคิดทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง โปรไบโอติกส์ (Probiotics) 프리ไบโอติกส์ (Prebiotics) และซินไบโอติกส์ (synbiotics)

โปรไบโอติกส์ (Probiotics) คือ จุลชีพที่มีชีวิตและเมื่อรับประทานในปริมาณที่เหมาะสมจะก่อให้เกิดผลดีต่อสุขภาพ มีโปรไบโอติกส์เป็นส่วนประกอบในอาหาร เช่น นมเปรี้ยว โยเกิร์ต ซึ่งประโยชน์ต่อสุขภาพในหลายด้าน เช่น ช่วยลดอาการที่เกิดจากการย่อยแลคโตสในนมไม่สมบูรณ์ (Lactose maldigestion) แก้ท้องเสีย บรรเทาอาการโรคลำไส้แปรปรวน ช่วยป้องกัน

มะเร็งลำไส้ใหญ่ กระตุ้นภูมิคุ้มกัน และอื่น ๆ การได้โปรไบโอติกส์จะช่วยเพิ่มปริมาณของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อระบบทางเดินอาหาร แบคทีเรียสายพันธุ์ที่นิยมใช้ เช่น แบคทีเรียในกลุ่ม *Bifidobacterium* และ *Lactobacillus*

พรีไบโอติกส์ (Prebiotics) คือ สารที่มีผลเพิ่มปริมาณของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ เป็นสารอาหารที่ร่างกายย่อยสลายไม่ได้หรือย่อยสลายได้น้อย โดยช่วยในการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ พรีไบโอติกส์ที่นิยมใช้มักจะเป็นสารประกอบคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน เช่น Galacto-Oligosaccharides (GOS) และ Fructo-Oligosaccharides (FOS) เป็นต้น (Klaenhammer, 2007) นอกจากนี้โปรไบโอติกส์ยังใช้เป็นการรักษาเสริม (Adjunct therapy) ในโรคซึมเศร้ามาเป็นเวลานานกว่า 10 ปี (Logan and Katzman, 2005)

ซินไบโอติกส์ คือ ผลิตภัณฑ์ที่รวมโปรไบโอติกส์และพรีไบโอติกส์ไว้ด้วยกันเพื่อให้จุลินทรีย์อยู่ยาวนานได้ขึ้นและทำให้มีปริมาณมากขึ้น (Payne et al., 2015)

### 2.3.1 ผลข้างเคียงจากการรับประทานซินไบโอติกส์

ท้องอืด ท้องผูก หรือกระหายน้ำ มักเกิดขึ้นและหายไปภายใน 1-2 สัปดาห์ (Karpa, 2007; Williams, 2010; Julson, 2017) อาหารที่มีโปรไบโอติกส์สูงบางชนิดมีสาร Biogenic amines ที่ทำให้เกิดอาการปวดศีรษะได้ในบางคน เช่น กิมจิ โยเกิร์ต (Alvarez and Moreno-Arribas, 2014; Wantke et al., 1993) โปรไบโอติกส์บางชนิดสามารถผลิตสารฮิสตามีน (Histamine) ภายในลำไส้ เช่น *Lactobacillus buchneri* *Lactobacillus helveticus* *Lactobacillus higaridii* และ *Streptococcus thermophilus* (Joosten and Northolt, 1989; Gezgin et al., 2013) โดยปกติแล้วเอนไซม์ Diamine Oxidase (DAO) ช่วยกำจัดสารฮิสตามีนภายในลำไส้ แต่บางคนที่ไม่พอสารฮิสตามีนและขาดเอนไซม์ DAO จะทำให้เกิดอาการแพ้ได้ (Allergic reaction) (Ortolani and Pastorello, 2006; Izquierdo-Casas et al., 2018; Maintz and Novak, 2007) แบคทีเรียหรือยีสต์ในโปรไบโอติกส์สามารถเข้าสู่กระแสเลือดและทำให้เกิดการติดเชื้อในคนที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องได้ (Boyle et al., 2006; Salminen et al., 2004) เช่น ผู้ที่ได้รับการผ่าตัดใหญ่ ผู้มีดัดอ่อนอวัยวะ ผู้ที่มีสายสวนหลอดเลือดดำ (venous catheters) หรือผู้ที่รักษาตัวในโรงพยาบาลเป็นเวลานาน แต่ทั้งนี้พบอุบัติการณ์การติดเชื้อเกิดขึ้นน้อยมาก (Besselink et al., 2008; Hennequin et al., 2000)

## 2.4 แนวคิดทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง ความสัมพันธ์ระหว่างลำไส้และสมอง (Gut-Brain axis)

ปัจจุบันมีหลักฐานทางงานวิจัยมากขึ้นเกี่ยวกับ Gut-brain axis ซึ่งคือความสัมพันธ์ทั้งสองทางระหว่าง ระบบทางเดินอาหาร ระบบประสาทภายในทางเดินอาหาร (Enteric Nervous System: ENS) และสมอง มีงานวิจัยทั้งในมนุษย์และหนูทดลองแสดงให้เห็นว่าจุลชีพภายในทางเดินอาหารมีบทบาทที่สำคัญ การเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณของจุลชีพมีความเกี่ยวข้องกับการเกิดพยาธิสภาพทางระบบประสาท เช่น โรคซึมเศร้า กลุ่มอาการออทิสติก (Autism) โรคพาร์กินสัน (Parkinsons) โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer) (Kim et al., 2018)

การสื่อสารระหว่างสมองและทางเดินอาหารมีการสื่อสารกันทั้งสองทิศทาง (Bidirectional communication) โดยสมองควบคุมการเคลื่อนไหว การหลั่งสารคัดหลั่ง การดูดซึม การไหลเวียนเลือดในระบบทางเดินอาหาร และทางเดินอาหารมีผลต่อการทำงานของสมองเช่นกัน (Grenham et al., 2011) ระบบทางเดินอาหารและสมองสามารถสื่อสารกันโดยผ่านระบบประสาท ระบบภูมิคุ้มกัน และสารเมแทบอลิต์ (Grenham et al., 2011) พบว่าจุลชีพภายในทางเดินอาหารมีส่วนเกี่ยวข้องกับการพัฒนาระบบประสาทและการทำงานของสมองในหลาย ๆ ด้าน โดยผ่านการควบคุมของความสัมพันธ์นี้ (Carabotti et al., 2015; Erny et al., 2015) พบว่าอาการผิดปกติในระบบทางเดินอาหาร เช่น ท้องผูก ท้องเสีย ปวดท้อง และการเปลี่ยนแปลงสมดุลของจุลชีพภายในทางเดินอาหาร (Gut dysbiosis) มักเป็นอาการที่พบร่วมกับโรคทางระบบประสาท (Westfall et al., 2017) ดังนั้นการทำให้สัดส่วนจุลชีพมีความสมดุล จึงมีผลดีต่อการทำงานของสมองและสุขภาพโดยรวม

จำนวนที่เหมาะสมของจุลชีพภายในทางเดินอาหารบ่งบอกถึงการมีสุขภาพที่ดี (Hill et al., 2014) จุลชีพมีผลต่อการควบคุมระบบภูมิคุ้มกัน (Bermudez-Brito et al., 2012) พบว่า *Weissella cibaria* WIKIM28 จากกิมจิสามารถบรรเทาอาการ โรคผื่นภูมิแพ้ผิวหนัง (Atopic dermatitis) โดยการควบคุมการทำงานและการตอบสนองของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน (Dendritic cell, Regulatory T cell) (Lim et al., 2017) การรับประทาน โพรไบโอติกส์ช่วยให้สัดส่วนของจุลชีพในทางเดินอาหารดีขึ้น (Choi et al., 2015; Mountzouris et al., 2007)

### 2.4.1 Gut-Brain axis ผ่านระบบประสาท

การสื่อสาร Gut-brain axis ผ่านระบบประสาทส่วนใหญ่เกิดขึ้นภายใน ENS ซึ่งเป็นระบบประสาท ANS ภายในทางเดินอาหาร ควบคุมการบีบตัวของลำไส้ การหลั่งสารคัดหลั่งและ

การไหลเวียนเลือด (Browning et al., 2017) ENS สื่อสารกับ ANS และ CNS ผ่านทางสารสื่อประสาท (Adrenaline Noradrenaline Acetyl-choline) (Kim et al., 2018)

จุลชีพภายในทางเดินอาหารควบคุมสรีระวิทยาไฟฟ้า (Electrophysiological thresholds) ภายในเซลล์ประสาทของทางเดินอาหาร (Sarker et al., 2016) พบว่า *Lactobacillus reuteri* กระตุ้นช่องไอออนบนเยื่อหุ้มเซลล์ เช่น Calcium-dependent potassium channel ในเซลล์ประสาทของทางเดินอาหารในหนู (Kunze et al., 2009) *Bifidobacterium longum* NCC3001 ผลิตภัณฑ์ใช้กระตุ้นการสื่อสารของเซลล์ประสาท (Bercik et al., 2011b) นอกจากนี้จุลชีพยังช่วยควบคุมสมดุลของเซลล์เกลีย (Glial cells) ที่ช่วยเกี่ยวพันและเป็นแหล่งอาหารให้เซลล์ประสาท (Kabouridis et al., 2015)

การสื่อสารกันระหว่างทางเดินอาหารและสมองอีกทางหนึ่งโดยผ่าน Vagus nerve ซึ่งเป็นเส้นประสาทจากก้านสมองมายังทางเดินอาหาร มีบทบาททั้งนำกระแสประสาทเข้าและออก (Cryan and Dinan, 2012) เส้นประสาทนี้มีผลควบคุมการทำงานของฮอร์โมนในทางเดินอาหาร (Perez-Burgos et al., 2014; Dockray, 2013) มีการทดลองในหนูพบว่า Vagus nerve เป็นทางสื่อสารหลักระหว่างสมองและทางเดินอาหาร (Bravo et al., 2011) นอกจากนี้มีการศึกษาฤทธิ์ต้านกังวลของยา Diazepam และฤทธิ์ด้านซึมเศร้าของยา Fluoxetine และ Sertraline เกิดผ่านวิถีประสาท Vagus nerve (Adinoff et al., 1992; Salam, 2004) พบว่าหนูทดลองที่ได้รับ *Lactobacillus rhamnosus* มีภาวะกังวลและซึมเศร่าลดลง แต่ไม่พบฤทธิ์ดังกล่าวของในหนูทดลองที่ถูกตัด Vagus nerve (Bravo et al., 2011) และพบว่าสายพันธุ์ของจุลชีพมีผลต่อการทำงานของ Vagus nerve (Goehler et al., 2008; Bercik et al., 2011b; Bravo et al., 2011) เช่น การให้ *L.rhamnosus* JB-1 เป็นเวลานานทำให้สารกาบา ( $\gamma$  aminobutyric acid: GABA mRNA expression) ภายในสมองเพิ่มขึ้น ซึ่งเท่ากับเป็นการลด Stress-induced corticosterone และลดอาการวิตกกังวล โรคซึมเศร้า (Bravo et al., 2011)

#### 2.4.2 Gut-Brain axis ผ่านระบบภูมิคุ้มกัน

จุลชีพในทางเดินอาหารมีผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกันได้โดยตรง (Macpherson and Uhr, 2004; Bengmark, 2013) ภายในทางเดินอาหารมีเนื้อเยื่อน้ำเหลือง (Gut-Associated Lymphoid Tissues : GALT) จัดเป็นเนื้อเยื่อน้ำเหลืองที่ใหญ่ที่สุดในร่างกาย ปกป้องแบคทีเรียที่รุกรานจาก

ภายในลำไส้ เซลล์ภูมิคุ้มกันภายใน GALT ได้แก่ T cells, Macrophages, Dendritic cells (DCs) สามารถผ่านเยื่อหุ้มสมองและมีผลต่อเซลล์ประสาทภายในสมองได้ (Diamond et al., 2011) ในสมองมีเซลล์ภูมิคุ้มกันอยู่เช่นกัน เช่น Macrophages DCs ใน Choroid plexus, Microglia ใน Parenchymal region และ Leukocytes ในน้ำเลี้ยงสมองและไขสันหลัง (Cerebrospinal Fluid; CFS) (Wang and Kasper, 2014) ดังนั้นจุลชีพในทางเดินอาหารจัดเป็นศูนย์บัญชาการใหญ่ของระบบภูมิคุ้มกันที่สามารถควบคุมการทำงานของเซลล์ภูมิคุ้มกันอื่น ๆ และมีผลต่อเซลล์ภูมิคุ้มกันในสมอง (Berer and Krishnamoorthy, 2012) มีงานวิจัยในหนูปราศจากเชื้อพบว่าจุลชีพในทางเดินอาหารสามารถเปลี่ยนระบบภูมิคุ้มกันในสมองได้โดยการควบคุมการกระตุ้นของเซลล์ Microglial เซลล์ที่เป็นส่วนหนึ่งของระบบภูมิคุ้มกันในระบบประสาทส่วนกลาง (Emy et al., 2015)

สารที่ก่อให้เกิดการอักเสบ เช่น Cytokines และ Chemokines มีอิทธิพลต่อสมองโดยผ่าน Vagus nerve และบริเวณโดยรอบโพรงน้ำสมอง (Circumventricular organs) (Hosoi et al., 2002) นอกจากนี้ยังมีการขนส่งทางตรงโดยผ่านเยื่อหุ้มสมอง (Banks, 2005) สารกระตุ้นการอักเสบสามารถกระตุ้นการอักเสบของเซลล์ประสาท ทำให้เพิ่มการซึมผ่านสารต่าง ๆ เข้ามาในสมองได้มากขึ้น (McCusker and Kelley, 2013) การรั่วของเยื่อหุ้มสมองทำให้เซลล์ภูมิคุ้มกันเข้าสู่สมองและกระตุ้นให้เกิดการอักเสบเช่นกัน มีการเพิ่มจำนวนของ Glial cells เพื่อตอบสนองต่อการอักเสบ (Gliosis) ทำให้เกิดการเสื่อมของระบบประสาทต่อมา (Obermeier et al., 2013) นอกจากนี้ Cytokines ยังทำให้ระดับสารสื่อประสาทในสมองเปลี่ยนแปลง ไม่ว่าจะเป็น Serotonin Dopamine และ Glutamate (Miller et al., 2013) Non-inflammatory cytokines ยังเป็นสื่อกลางสำหรับจุลชีพในการควบคุมการทำงานของสมอง เช่น การได้รับยาฆ่าเชื้อโรคในหนูแรกเกิดทำให้มีระดับ Granulocyte Colony Stimulating Factor (G-CSF) ในกระแสเลือดลดลง (Deshmukh et al., 2014) G-CSF สามารถกระตุ้นการสร้างระบบประสาทในสมอง มีบทบาทในการป้องกันภาวะขาดเลือดและช่วยบรรเทาโรคพาร์กินสัน (Parkinson's disease) และอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) (Shyu et al., 2004; Meuer et al., 2006; Prakash et al., 2013; Wallner et al., 2015) สรุปได้ว่าจุลชีพในทางเดินอาหารส่งเสริมการผลิต G-CSF จุลชีพเองจึงมีผลต่อการสร้างระบบประสาทให้เป็นไปอย่างปกติ และป้องกันการเสื่อมของระบบประสาท (Kim et al., 2018)

2.4.3 Gut-Brain axis ผ่านสารกระตุ้นระบบประสาท (Neuroactive compounds) และสารเมแทบอลิต์ (Metabolites) จากจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร

จุลินทรีย์ภายในทางเดินอาหารผลิตสารสื่อประสาทที่เป็นสารกระตุ้นระบบประสาท (Neuroactive compounds) และสารเมแทบอลิต์ (Metabolites) เช่น GABA Serotonin Catecholamine และ Acetylcholine พบว่า *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* species สามารถผลิต GABA ส่วน *Escherichia* *Bacillus* และ *Saccharomyces* spp. สามารถผลิต Norepinephrine *Escherichia* *Bacillus* *Lactococcus* *Lactobacillus* และ *Serratia* สามารถผลิต Dopamine และ *B. infantis* เพิ่มสาร Tryptophan ซึ่งใช้ในการสร้าง Serotonin ทำให้ระดับ Serotonin ในสมองมีเพิ่มขึ้น (Desbonnet et al., 2008; Desbonnet et al., 2010) นอกจากนี้จุลินทรีย์ยังมีผลทางอ้อมต่อการควบคุมการผลิตสารสื่อประสาท ควบคุมสารตั้งต้นและกระตุ้นเซลล์ที่ผลิตฮอร์โมน (Desbonnet et al., 2010; Yano et al., 2015) ดังแสดงในตารางที่ 2

นอกจากนี้ระบบทางเดินอาหารไม่สามารถย่อยสารชีวโมเลกุลบางชนิดที่พบได้ทั่วไปในอาหาร เช่น โพลีแซคคาไรด์บางชนิดจากพืช ซึ่งจะถูกลดโดยเอนไซม์จากแบคทีเรียในทางเดินอาหาร (Qin et al., 2010) และได้ผลผลิตเป็นกรดไขมันสายสั้น (Short-Chain Fatty Acid: SCFAs) เช่น Acetate Butyrate Lactate Propionate (Horn and Klein, 2013; Overduin et al., 2013) กรดไขมันสายสั้นจะถูกดูดซึมสู่กระแสเลือด บางส่วนผ่านสู่ระบบประสาทส่วนกลางซึมผ่านเยื่อหุ้มสมอง ดังนั้นจึงมีผลต่อพฤติกรรมและการสื่อประสาทภายในสมอง (Kimura et al., 2013; Frost et al., 2014; Rios-Covian et al., 2016) Butyrate มีผลกระตุ้น HPA axis (Gagliano et al., 2014; Stilling et al., 2014) และมีผลยับยั้ง Histone Deacetylases (HDACs) การยับยั้ง HDACs มีผลทางอ้อมต่อการต้านการอักเสบ โดยยับยั้ง NF- $\kappa$ B ที่เกิดในทางเดินอาหารส่วนปลาย (Inan et al., 2000) การศึกษาทางเภสัชวิทยาพบว่ากรดไขมัน Sodium Butyrate (200 มก./กก.) ในหนูทดลองมีผลลดอาการซึมเศร้า เพิ่มระดับ Serotonin รวมทั้งเพิ่มระดับ BDNF ในระบบประสาทส่วนกลาง (Sun et al., 2016) ทั้ง Serotonin และ BDNF มีบทบาทสำคัญในพยาธิวิทยาของโรคซึมเศร้าโดยสมองของผู้ป่วยโรคซึมเศร้ามีระดับ Serotonin และ BDNF ลดลงในหลายบริเวณ (Aan Het Rot et al., 2009)

นอกจากนี้ Glial cells ในสมองยังใช้ SCFAs เป็นพลังงาน (Rafiki et al., 2003) รวมทั้ง SCFAs มีบทบาทในภาวะอ้วนจากที่สามารถกระตุ้นการหลั่ง Hormone peptides ในทางเดินอาหาร



เช่น Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) และ Peptide tyrosine tyrosine (PYY) ซึ่งมีผลต่อการควบคุมความหิวอิ่ม (Goldstone, 2006) SCFAs มีผลต่อภูมิคุ้มกัน (Macfarlane and Macfarlane, 2003) และมีผลกระตุ้นระบบประสาทซิมพาเทติก

ตารางที่ 2.2 แสดงสารกระตุ้นระบบประสาทที่พบในแบคทีเรียชนิดต่างๆ (Kim et al., 2018)

Gut microbiota	Neurochemical	References
<i>Lactobacillus, Bifidobacterium</i> spp.	GABA	Barrett et al., (2012)
<i>Bifidobacterium infantis, Streptococcus, Escherichia, Enterococcus, Lactococcus, Lactobacillus, Candida</i>	Serotonin (5-HT)	Ozogul (2011), Holzer and Fazi (2014)
<i>Clostridium sporogenes, Ruminococcus gnavus</i>	Tryptamine	Williams et al. (2014)
<i>Escherichia, Bacillus, Saccharomyces</i>	Norepinephrine	Holzer and Farzi (2014)
<i>Escherichia, Bacillus, Lactococcus, Lactobacillus, Serratia</i>	Dopamine	Ozogul (2011), Holzer and Farzi (2014)
<i>Lactobacillus, Bacillus</i>	Acetylcholine	Kawashima et al. (2007)
<i>Lactococcus, Lactobacillus, Streptococcus, Enterococcus</i>	Histamine	Landete et al. (2008), Thomas et al. (2012), Hemarajata et al. (2013)
<i>Bacillus</i> sp. JPJ	L-dopa	Surwase and Jadhav (2011)

## 2.5 แนวคิดทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง ระบบประสาทส่วนกลางมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงจุลชีพในทางเดินอาหาร

ระบบประสาทส่วนกลางสามารถเปลี่ยนสัดส่วนของจุลชีพในทางเดินอาหารผ่านการควบคุมความหิวอิ่ม การเปลี่ยนลักษณะการกินทำให้จุลชีพได้สารอาหารเปลี่ยนแปลงไปและทำให้ชนิดของจุลชีพเปลี่ยนแปลงไปด้วย (Wang and Kasper, 2014) นอกจากนี้ระบบประสาทยังควบคุมการบีบตัว การหลั่งกรดเบส สารเมือก และทั้งหมดนี้มีผลต่อการคงสภาพชั้นเยื่อเมือก

(Mucous layer) และ ไบโอฟิล์ม (Biofilm) ซึ่งเป็นที่อยู่ของจุลชีพ ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงลักษณะเยื่อเมือกเท่ากับเป็นการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของจุลชีพที่มาควบคุมโดยระบบประสาท (Rhee et al., 2009)

สารจากระบบประสาทที่มีผลต่อจุลชีพคือ สารสื่อประสาท และตัวรับสารสื่อประสาทของจุลชีพเอง การจับกันทำให้เกิดปฏิกิริยาจากองค์ประกอบในจุลชีพ เช่น ทำให้กระตุ้นการอักเสบ การติดเชื้อ (Carabotti et al., 2015) ยกตัวอย่างเช่น *Escherichia coli* O157:H7 มี Adrenergic receptor แล้วทำให้เกิดปฏิกิริยาเกิดพิษรุนแรงได้ (Clarke et al., 2006)

## 2.6 แนวคิดทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง ความไม่สมดุลของจุลชีพ (Gut Dysbiosis) ต่อโรคทางระบบประสาท

โรคทางระบบประสาทที่มีความเกี่ยวข้องกับความไม่สมดุลของจุลชีพในทางเดินอาหารรวมทั้งโรคของภูมิคุ้มกันที่มีผลต่อระบบประสาท เช่น Multiple sclerosis, Experimental autoimmune encephalomyelitis, Neuromyelitis optica (Kim et al., 2018) ดังแสดงในตารางที่ 3

อาการแปรปรวนทางลำไส้ไม่ว่าจะเป็นท้องผูก ท้องเสีย ปวดท้อง ลำไส้บีบตัวมักพบร่วมกับ Autism Spectrum Disorder (ASD) (Coury et al., 2012) อาการแปรปรวนทางลำไส้มีความเกี่ยวข้องกับความไม่สมดุลของจุลชีพ (Cryan and Dinan, 2012) จากการศึกษาวิจัยพบว่าผู้ป่วย ASD มี *Bacteroides* ลดลงและ *Clostridium* species เพิ่มขึ้น (Fine gold et al., 2010; Hsiao et al., 2013) รวมทั้งพบความไม่สมดุลของ Bacteroidetes และ Firmicutes ในผู้ป่วย ASD (Finegold et al., 2010; Strati et al., 2017) ผู้ป่วย Autistic มีความเกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของ *Escherichia/Shigella* และ *Clostridium* cluster XVIII (Strati et al., 2017)

โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's Disease; AD) มีความเกี่ยวข้องกับการสะสมของ Amyloid- $\beta$  ( $A\beta$ ) มีงานวิจัยใช้  $A\beta$  precursor protein (APP) เปลี่ยนแปลงพันธุกรรมในหนูทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของจุลชีพของทางเดินอาหารโดยพบว่า Firmicutes, Verrucomicrobia, Proteobacteria และ Actinobacteria ลดลงแต่มีการเพิ่มขึ้นของ Bacteroidetes (Harach et al., 2017) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยเปรียบเทียบผู้ป่วย AD และกลุ่มควบคุม พบว่าจุลชีพมีการเปลี่ยนแปลงในทำนองเดียวกัน (Vogt et al., 2017)

โรคพาร์กินสัน (Parkinson's Disease; PD) พบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่มักมีอาการท้องผูก ก่อนเริ่มมีการเคลื่อนไหวทางร่างกายที่ผิดปกติ (Boursi et al., 2016) จากการศึกษาพบว่าผู้ป่วยมี Prevotellaceae ลดลงอย่างมาก และมี Enterobacteriaceae มากขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Scheperjans et al., 2015) พบว่า Enterobacteriaceae มีส่วนเกี่ยวข้องกับความรุนแรงของการเคลื่อนไหวผิดปกติ (Forsyth et al., 2011; Cassani et al., 2015; Scheperjans et al., 2015) ในผู้ป่วย PD มี Butyrate-producing bacteria ลดลง เช่น Blautia Coprococcus Roseburia genera (Keshavarzian et al., 2015) ซึ่ง Butyrate เองมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Furusawa et al., 2013) สรุปได้ว่าความไม่สมดุลของจุลินทรีย์ทำให้เกิดการอักเสบได้มากขึ้นและเป็นผลให้เกิดกลไกการเกิดโรค PD (Keshavarzian et al., 2015)

## 2.7 แนวคิดทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง ความเครียดต่อการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ และความไม่สมดุลของจุลินทรีย์ (Gut dysbiosis) ต่อการเกิดความเครียด

การตอบสนองต่อความเครียดเป็นกลไกที่ผสมผสานเชื่อมต่อกันอย่างซับซ้อนของสมองส่วน Amygdala Hippocampus และ Paraventricular nucleus ของ Hypothalamus โดยการควบคุมจาก Higher cortical เช่น Prefrontal cortex ทำให้เกิดการตอบสนองผ่าน Neuroendocrine HPA axis และ ANS (Moloney et al., 2014)

ภายใต้ความเครียด HPA axis หลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลซึ่งเป็นฮอร์โมนความเครียดที่สามารถควบคุมการเคลื่อนไหวของลำไส้และการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน ความเครียดทำให้กลไกการป้องกันของระบบทางเดินอาหาร (Gut barrier function) มีการเปลี่ยนแปลงโดยเพิ่มการซึมผ่านของผนังลำไส้ซึ่งเป็นผลจากฮอร์โมน Corticotropin-Releasing Hormone (CRH) และการกระตุ้น Mast cell ทั้งนี้การซึมผ่านผนังลำไส้ที่เพิ่มขึ้นทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคและสารก่อการอักเสบจากแบคทีเรียก่อโรคสามารถผ่านเข้าสู่กระแสเลือดเพิ่มขึ้น ทำให้เกิดการกระตุ้นเซลล์ภูมิคุ้มกันในผนังลำไส้และเซลล์ประสาทมีผลให้เกิดการอักเสบ เช่น การซึมผ่านของ Endotoxin - Lipopolysaccharide (LPS) ทำให้เกิด Proinflammatory endotoxin-lipopolysaccharide ไปกระตุ้น Amygdala ส่วนของสมองที่มีผลกับอารมณ์ (Bested et al., 2013) LPS ทำให้เกิดอาการวิตกกังวลและซึมเศร้า (Bested et al., 2013) นอกจากนี้พบว่าผู้ป่วยโรคซึมเศร้ามีระดับ Immunoglobulin M

และ Immunoglobulin A ต่อ LPS ของจุลชีพเพิ่มขึ้นกว่ากลุ่มควบคุมที่สุขภาพดี (Mass et al., 2008) การให้ *L.farciminis* ทำให้ภาวะเครียดมีผลต่อการซึมผ่านของผนังลำไส้และการตอบสนองของ HPA axis น้อยลง (Ait-Belgnaoui et al., 2012)

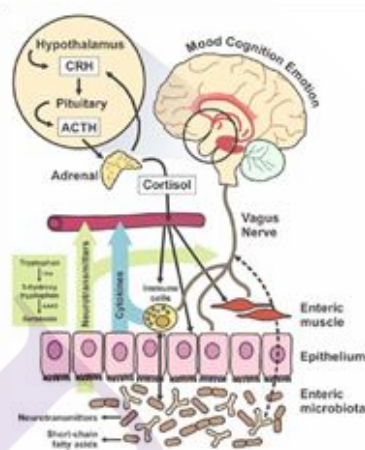
โรคซึมเศร้า คือ ภาวะทางอารมณ์ที่เกี่ยวข้องกับความเครียด มีความเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของ HPA-axis และการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน ในการศึกษางานวิจัยที่แยกแม่และลูกหนูออกจากกันก่อให้เกิดภาวะซึมเศร้า พบว่ามีแบคทีเรียในทางเดินอาหารลดลงร่วมกับการกระตุ้นของ HPA axis ที่มากขึ้น มีสารกระตุ้นการอักเสบเพิ่มขึ้น (O'Mahony et al., 2009; Vetulani, 2013) พบว่า Interleukin-6 ใน Hippocampus กระตุ้นให้เกิดอาการซึมเศร้า ในทารกлингที่แยกจากแม่พบว่ามี *Lactobacillus* ในอุจจาระน้อยลง (Bailey and Coe, 1999) นอกจากนี้มีงานวิจัยเทียบอุจจาระในคนที่ เป็นโรคซึมเศร้ากับคนที่สุขภาพดีพบว่ามี phyla Bacteroides, Proteobacteria, Actinobacteria เพิ่มขึ้นและมี Firmicutes ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (Jiang et al., 2015)

ความไม่สมดุลของจุลชีพในลำไส้ (Dysbiosis) กระตุ้นให้เกิดการอักเสบและกระตุ้น HPA axis รวมทั้งทำให้ระดับสารสื่อประสาทและสารกระตุ้นระบบประสาท สารเมแทบอลิต์ จากจุลชีพในทางเดินอาหารเปลี่ยนไป ซึ่งสิ่งเหล่านี้ทำให้เกิดการสื่อสารผ่าน Vagus nerve ที่ผิดปกติ รวมทั้งมีสารซึมผ่านผนังลำไส้ที่ผิดปกติ (Leaky gut)

พบว่า การเลี้ยงหนูแบบปลอดเชื้อ (Germ-free BALB/c mice) ทำให้หนูมีการตอบสนองต่อภาวะเครียดและมี HPA axis มากเกินไปเมื่อเทียบกับการเลี้ยงหนูที่ปราศจากเชื้อก่อโรคที่กำหนด (Specific pathogen free mice; SPF) หากนำอุจจาระของหนู SPF มาให้หนู BALB/c ตั้งแต่ช่วงอายุ 6 สัปดาห์แรก พบว่าหนูมีการตอบสนองต่อภาวะเครียดที่ปกติได้ ดังนั้นลักษณะจุลชีพมีผลต่อการพัฒนาสมองเช่นกัน (Sudo et al., 2004) มีงานวิจัยพบว่าการปลูกถ่ายเชื้อจากอุจจาระ (Faecal microbiota transplantation) จากผู้ป่วยโรคซึมเศร้า ซึ่งมีปริมาณและความหลากหลายของจุลชีพลดลงให้กับสัตว์ทดลองที่เคยได้รับยาฆ่าเชื้อ สามารถชักนำให้สัตว์ทดลองมีอาการซึมเศร้าได้เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Kelly et al., 2016) ดังนั้นจุลชีพในทางเดินอาหารมีผลต่อการตอบสนองต่อความเครียด

จุลชีพภายในทางเดินอาหารผลิตสารสื่อประสาทที่เป็นสารกระตุ้นระบบประสาท และสารเมแทบอลิต์ เช่น GABA Serotonin Catecholamine และ Acetylcholine เพิ่มสาร Tryptophan

ซึ่งใช้ในการสร้าง Serotonin ทำให้ระดับ Serotonin ในสมองมีเพิ่มขึ้น (Desbonnet et al., 2008; Desbonnet et al., 2010) เป็นผลให้สมดุลสารสื่อประสาทภายในสมองอยู่ในภาวะปกติ นอกจากนี้จุลชีพสามารถผลิตกรดไขมันสายสั้นเช่น Acetate Butyrate Lactate Propionate ซึ่งสามารถผ่านเข้าสู่สมองมีผลต่อพฤติกรรมและการสื่อประสาทภายในสมองได้ (Kimura et al., 2013; Frost et al., 2014; Rios-Covian et al., 2016) สาร Butyrate มีผลลดอาการซึมเศร้า เพิ่มระดับ Serotonin และเพิ่ม BDNF (Aan Het Rot et al., 2009)



ภาพที่ 2.2 แสดงการสื่อสารของ Gut-Brain axis (Moloney et al., 2014)

ตารางที่ 2.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจุลชีพที่เปลี่ยนไปกับการเกิดปัญหาทางระบบประสาทและโรคทางจิตเวช (Kim et al., 2018)

Disease	Altered gut microbiota	References
Stress	Porphyromonadaceae↓	Bailey et al. (2010)
	<i>Clostridium</i> ↑, <i>Bacteroides</i> ↓	Bailey et al., (2011)
	<i>Oscillibact</i> ↑, <i>Anaerotruncus</i> ↑, <i>Peptococcus</i> ↑, <i>Lactobacillus</i> ↓	Golubeva et al. (2015)
Depression	<i>Bifidobacterium</i> ↓, <i>Lactobacillus</i> ↓	Aizawa et al. (2016)
	Bacteroidetes↑, Proteobacteria↑, Actinobacteria↑, Firmicutes↓	Jiang et al. (2015)

ตารางที่ 2.3 (ต่อ)

Disease	Altered gut microbiota	References
<b>Autism</b>	<i>Clostridium</i> ↑	Song et al. (2004), Parracho et al. (2005)
	<i>Sutterella spp</i> ↑ <i>Ruminococcus torques</i> ↑ <i>Akkermansia muciniphila</i> ↓	Wang et al. (2011, 2013)
	<i>Clostridium</i> ↑ <i>Sutterellaceae</i> ↑ Enterobacteriaceae↑ <i>Bifidobacterium</i> ↓	De Angelis et al. (2013)
	<i>Collinsella</i> ↑ <i>Corynebacterium</i> ↑, <i>Dorea</i> ↑ <i>Lactobacillus</i> ↑ <i>Alistipes</i> ↓ <i>Bilophila</i> ↓ <i>Dialister</i> ↑ <i>Parabacteroides</i> ↓ <i>Veillonella</i> ↓	Strati et al. (2017)
	<i>Desulfovibrio</i> ↑ <i>Bacteroides vulgatus</i> ↑ <i>Ruminococcus</i> ↑ <i>Bifidobacterium</i> ↓	Finegold et al. (2010)
<b>Alzheimer's disease</b>	Association with bacterial and viral infection	Bu et al. (2015)
	Bacteroidetes↑, Tenericutes↑, Firmicutes↓, Verrucomicrobia↓, Proteobacteria↓, <i>Actinobacteria</i> ↓ <i>Allobaculum</i> ↓, <i>Akkermansia</i> ↓	Harach et al. (2017)
	Bacteroidetes ↑ Firmicutes↓ <i>Bifidobacterium</i> ↓	Vogt et al. (2017)

ตารางที่ 2.3 (ต่อ)

Disease	Altered gut microbiota	References
Parkinson's disease	Rakfonia <sup>↑</sup> Blautia <sup>↓</sup> , Coprococcus <sup>↓</sup> , Roseburia <sup>↓</sup> , Faecalibacterium <sup>↓</sup>	Keshavarzian et al. (2015)
	Enterobacteriaceae <sup>↑</sup> Prevotellaceae <sup>↓</sup>	Scheperjans et al. (2015)

## 2.8 แนวคิดทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง การเปลี่ยนแปลงของ Gut-Brain axis และความเครียด โดย โปรไบโอติกส์ (Probiotics)

### 2.8.1 งานวิจัยในสัตว์ทดลอง

มีงานวิจัยพบว่าจุลินทรีย์หลายชนิดที่มีผลต่อความผิดปกติของระบบประสาท ทั้งนี้จุลินทรีย์หลักที่มีผลดีต่อภาวะวิตกกังวล โรคซึมเศร้า ความเครียด และ ASD คือ Bifidobacterium และ Lactobacillus

มีงานวิจัยที่ชี้ให้เห็นว่าหนูเกิดความเครียดโดยการแยกแม่และลูกจากกัน แม่หนูมีการแสดงออกน้อยลง มีแรงพยายามว่ายน้ำน้อยลง มีการอักเสบมากขึ้นและมีการตอบสนองต่อความเครียดใน Amygdala เพิ่มขึ้น (mRNA expression of corticotrophin release factor) การรักษาด้วยจุลินทรีย์ B.infantis พบว่าให้ผลที่ดีขึ้น โดยวัดจากระดับของ IL-6 รวมทั้งมีการเพิ่มขึ้นของ Typtophan ในเลือด (Desbonnet et al., 2008,2010)

หนูที่ทำให้เกิด ASD มีการซึมผ่านของผนังลำไส้รวมถึงสัดส่วนของจุลินทรีย์ที่เปลี่ยนแปลงไปได้ให้การรักษาด้วย Bacteroides fragilis เพื่อสร้างสมดุลแก่จุลินทรีย์ พบว่ามีระดับสาร Metabolites ที่ปกติขึ้น (Hsiao et al., 2013)

หลังการรักษาด้วยจุลินทรีย์พบว่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารสื่อประสาท อาทิ เช่น หนูที่รักษาด้วย L.rhamnosus JB-1 มีการเพิ่มขึ้นของระดับ Glutamate, N-acetyl aspartate และ GABA ในสมอง ดังนั้นสรุปได้ว่าจุลินทรีย์สามารถควบคุมการทำงานของสมองได้ (Janik et al., 2016)

จากการศึกษาพบว่าจุลินทรีย์ทำให้มีการอักเสบลดลงโดย B.infantis 35624 และ L.rhamnosus เพิ่มระดับของ IL-10 รวมถึงด้านสารการอักเสบด้วยการลดระดับของ IFN- $\gamma$  และ

TNF $\alpha$  (O'Mahony et al., 2005; Donato et al., 2010) การเปลี่ยนแปลงนี้ทำให้ลดการอักเสบของเซลล์ประสาท (Felger and Lotrich, 2013; Miller et al., 2013) นอกจากนี้การให้ *B.infantis* ในหนูทดลองทำให้มีระดับ BDNF และ NMDA เพิ่มขึ้น ซึ่งมีผลสำคัญต่อความจำและการเรียนรู้ (Sudo et al., 2004)

### 2.8.2 งานวิจัยในมนุษย์

แม้มีการศึกษาน้อยกว่าในสัตว์ทดลองแต่พบว่าจุลินทรีย์สามารถลดอาการซึมเศร้าและอาการวิตกกังวลได้ การได้รับ *L.helveticus* R0052 และ *B.longum* R0175 เป็นเวลา 30 วัน แสดงให้เห็นว่าทำให้อารมณ์ของผู้เข้าร่วมวิจัยดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับยาหลอก โดยอาการวิตกกังวลและอาการซึมเศร้ามีการวัดผลโดยใช้ Hospital Anxiety and Depression scale และ The global severity index of the Hopkins symptoms checklist มีการตรวจ Urinary free cortisol พบว่าลดลงในกลุ่มที่ได้รับจุลินทรีย์ สรุปได้ว่าจุลินทรีย์มีผลต่อการลดลงของความเครียด (Messaoudi et al., 2011a, 2011b)

ผลการลดระดับความเครียดของ *L.casei* strain มีการศึกษาในหมู่นักศึกษาแพทย์ที่มีสุขภาพดีผู้ที่ใกล้จะสอบได้รับ *L.casei* fermented milk และกลุ่มที่ได้รับ placebo milk เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ากลุ่มที่ได้รับจุลินทรีย์มีระดับ salivary cortisol ลดลง และมีอาการร่วมของทางเดินอาหารน้อยกว่า นอกจากนี้กลุ่มที่ได้รับจุลินทรีย์ยังพบว่ามีจุลินทรีย์ในอุจจาระมากกว่ากลุ่มเปรียบเทียบ และมี Bacteroidaceae น้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญ (Kato-Kataoka et al., 2016)



ตารางที่ 2.4 แสดงประสิทธิผลของโปรไบโอติกส์ต่อการทำงานของสมอง (Kim et al., 2018)

Probiotic strain	Model	Duration	Effects	References
<i>Bifidobacterium infantis</i>	Rodent (maternal separation model of depression)	45 วัน	Normalized the immune response, reduced behavioral deficits	Desbonnet et al. (2008,2010)
<i>Bacteroides fragilis</i>	Rodent (maternal immune activation)	6 สัปดาห์	Reversed ASD-related behaviour, improved gut barrier integrity	Hsiao et al. (2013)
A mixture of <i>Lactobacillus helveticus</i> R0052 and <i>Bifidobacterium longum</i> R0175	Rodent (healthy)	2 สัปดาห์	Reduced anxiety-like behavior	Messaoudi et al. (2011a)
<i>Bifidobacterium longum</i> 1714, <i>Bifidobacterium breve</i> 1205	Rodent (innately anxious BALB/c)	6 สัปดาห์	Reduced anxiety-like behavior	Savignac et al. (2014)

ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

Probiotic strain	Model	Duration	Effects	References
A mixture of <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>Lactis</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , and <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Lactis</i>	Human (healthy)	4 สัปดาห์	Influenced brain activity in emotional centers	Tillisch et al. (2013)
<i>Lactobacillus helveticus</i> R0052 and <i>Bifidobacterium longum</i> R0175	Human (healthy)	30 วัน	Less psychological distress	Messaoudi et al. (2011a, 2011b)
<i>Lactobacillus casei</i> Shirota	Human (healthy, exposed to academic stress)	11 สัปดาห์	Reduced stress-related gastrointestinal symptoms	Kato-Kataoka et al. (2016)
<i>Lactobacillus casei</i> Shirota	Human (healthy)	3 สัปดาห์	Improved mood	Benton et al. (2007)

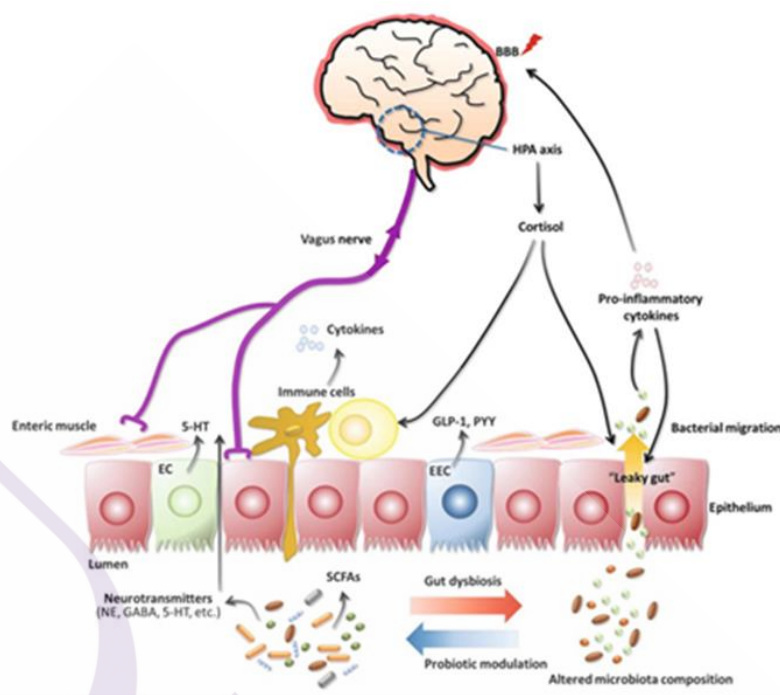
ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

Probiotic strain	Model	Duration	Effects	References
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Human (autistic children)	2 เดือน	Reduced D-arabinitol level in urine, improvement in ability of concentration and carrying out orders	Kaluzna-Czaplinska and Blaszczyk (2012)
VSL#3 (VSL Pharmaceuticals Inc.), a multi-strain mixture of ten probiotics	Human (ASD child, case report)	4 สัปดาห์	Improved autistic core symptoms, relieved gastrointestinal symptoms	Grossi et al. (2011)
<i>Lactobacillus casei</i> Shirota	Human (PD)	5 สัปดาห์	Reduced constipation	Cassani et al. (2011)

ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

Probiotic strain	Model	Duration	Effects	References
<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , and <i>Lactobacillus fermentum</i>	Human (AD)	12 สัปดาห์	Improved cognition	Akbari et al. (2016)
A mixture of <i>Bifidobacterium bifidum</i> W23, <i>Bifidobacterium lactis</i> W52, <i>Lactobacillus</i> <i>acidophilus</i> W37, <i>Lactobacillus brevis</i> W63, <i>Lactobacillus casei</i> W56, <i>Lactobacillus salivarius</i> W24, and <i>Lactococcus lactis</i> (W19 and W58)	Human (healthy)	4 สัปดาห์	Reduced rumination and aggressive cognition	Steenbergen et al. (2015)

จากการศึกษาทั้งในสัตว์ทดลองและมนุษย์พบว่าจุลินทรีย์มีผลต่อการสื่อสารของ Gut Brain axis จุลินทรีย์มีผลต่อการทำงานของสมอง โดยกลไกที่ซับซ้อนทั้งทางตรงและทางอ้อมได้แก่ ผ่านระบบประสาท ผ่านระบบภูมิคุ้มกัน และผ่านระบบประสาทที่สามารถสร้างฮอร์โมนได้ (Neuro-endocrine-mediated) ความไม่สมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้มีผลต่อการตอบสนองต่อความเครียด อาการวิตกกังวล โรคซึมเศร้า และโรคอื่น ๆ ทางระบบประสาท การให้จุลินทรีย์เสริมแสดงให้เห็นว่าทำให้สมดุลจุลินทรีย์ภายในทางเดินอาหารดีขึ้น และทำให้โรคของระบบประสาทดีขึ้นด้วย (Kim et al., 2018)



ภาพที่ 2.3 แสดงการเปลี่ยนแปลงของ gut-brain axis โดยโปรไบโอติกส์ ตัวอย่าง HPA axis, hypothalamus pituitary gland-adrenal gland axis; NE, norepinephrine; GABA,  $\gamma$ -aminobutyric acid; BBB, blood brain barrier; EEC, enteroendocrine cell; EC, enterochromaffin cell; GLP-1, glucagon-like peptide-1; PYY, peptide tyrosine tyrosine; 5-HT, 5-hydroxytryptamine/SCFAs, short-chain fatty acids (วงษ์ประยูร, 2018)

## 2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาของ Messaoudi และคณะ (2010) ศึกษาประสิทธิผลของโปรไบโอติกส์ต่อการลดลักษณะอาการวิตกกังวลในหนู รวมทั้งศึกษาประสิทธิผลของโปรไบโอติกส์ในอาสาสมัครที่สุขภาพดีต่ออาการซึมเศร้า ความเครียดและการจัดการต่อความเครียด ในสัตว์ทดลองทำโดยมีกลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกส์ ยาหลอก และยานอนหลับ (Diazepam) เป็นเวลาสองสัปดาห์ หลังจากนั้นกระตุ้นให้หนูเกิดลักษณะอาการวิตกกังวลและเปรียบเทียบกันในแต่ละกลุ่ม ผลการทดลองในสัตว์พบว่าลดลักษณะอาการวิตกกังวลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $< 0.05$ ) การทดลองในมนุษย์ทำการทดลองแบบสุ่ม มีกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมปกปิดข้อมูลทั้งสองทาง กลุ่มทดลองมีจำนวน 26 คน กลุ่มควบคุมมี 29 คน โดยให้อาสาสมัครที่สุขภาพดีกิน โปรไบโอติกส์เป็นเวลา 30

วัน และทำแบบสอบถาม Hopkins Symptom Checklist (HSCL-90), Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS), Perceived Stress Scale, Coping Checklist (CCL) และวัดระดับฮอร์โมนคอติซอลในปัสสาวะ 24 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่ามีความเครียดจากแบบสอบถาม HSCL-90 อย่างมีนัยสำคัญ ลดระดับความวิตกกังวลและความเครียดจากแบบสอบถาม HADS อย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกับผลจากแบบสอบถาม CCL และระดับฮอร์โมนคอติซอลในปัสสาวะลดลงอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน

จากการศึกษาของ Akito Kato-Kataoka และคณะ (2016) ซึ่งเป็นงานวิจัยแบบปกปิดทั้งสองทาง มีกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม เพื่อศึกษาประสิทธิผลของโพรไบโอติกส์ *Lactobacillus casei* strain Shorota ต่ออาการผิดปกติทางระบบทางเดินอาหาร โดยทำในนักศึกษาแพทย์ที่สุขภาพดีที่กำลังจะสอบ ทำการศึกษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์จนถึงก่อนวันที่จะสอบ กลุ่มนักศึกษาที่รับประทาน โพรไบโอติกส์มี 23 คน คนที่รับประทานยาหลอกมี 24 คน วัดผลการศึกษาโดยใช้อาการทางระบบทางเดินอาหาร อาการทางสุขภาพจิต Stress markers ในน้ำลาย การแสดงของยีนส์ที่เปลี่ยนไปในเซลล์เม็ดเลือดขาว และวัดลักษณะจุลชีพที่เปลี่ยนแปลงไปโดยวิเคราะห์จาก DNA microarray และ 16SrRNA โดยผลการทดลองพบว่าคะแนนความเครียด อาการทางระบบทางเดินอาหารและการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนส์ในเซลล์เม็ดเลือดขาวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่มที่ได้โพรไบโอติกส์เทียบกับกลุ่มที่ได้ยาหลอก และพบว่ากลุ่มที่ได้โพรไบโอติกส์มีปริมาณจุลชีพชนิด *L.casei* strain Shirota เพิ่มขึ้นและ Bacteroidaceae ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ สรุปได้ว่าการได้รับ *L.casie* strain Shirota เป็นประจำช่วยคงสมดุลของจุลชีพในลำไส้ได้เป็นปกติ และสามารถลดอาการผิดปกติทางระบบทางเดินอาหารในคนสุขภาพดีที่มีสถานการณ์ความเครียด

จากการศึกษาของ Steenbergen และคณะ (2015) ซึ่งเป็นการศึกษาประสิทธิผลของโพรไบโอติกส์หลายสปีชีส์ในการลดการรับรู้ถึงอารมณ์เศร้า โดยแบ่งผู้เข้าร่วมวิจัยเป็นสองกลุ่มกลุ่มละ 20 คน เป็นกลุ่มที่ได้รับ *Bifidobacterium bifidum* W23, *Bifidobacterium lactis* W52, *Lactobacillus acidophilus* W37, *Lactobacillus brevis* W63, *Lactobacillus casei* W56, *Lactobacillus salivarius* W24 และ *Lactococcus Lactis* (W18 และ W58) และกลุ่มที่ได้รับยาหลอก เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยใช้ Leiden index of depression sensitivity scale ประเมินทั้งก่อนและหลังการทดลอง พบว่ากลุ่มที่

ได้รับโปรไบโอติกส์มีผลลดการรับรู้ถึงอาการเสีอย่างมีนัยสำคัญ มีผลลดอาการครุ่นคิดและลดความคิดที่เชิงกร้าว เป็นงานวิจัยแรกๆที่แสดงให้เห็นว่าการรับประทานโปรไบโอติกส์มีผลลดความคิดในด้านลบและลดความรู้สึกร้าว



## บทที่ 3

### ระเบียบวิธีวิจัย

#### 3.1 ประชากรและตัวอย่าง

งานวิจัยนี้เป็นการวิจัยทดลองเชิงนำร่อง แบบสุ่มและมีกลุ่มควบคุม (Pilot, RCT)

กลุ่มเป้าหมาย

ประชากรอาสาสมัครเพศชายและหญิงอายุ 25-45 ปี ที่เป็นพนักงานบริษัทในกรุงเทพมหานครและปริมณฑล เข้ารับการทดลองเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

เนื่องจากยังไม่มีรายงานศึกษาผลการรับประทานซินไบโอติกส์กับความซึมเศร้าและวิตกกังวล ดังนั้นในการศึกษานี้หลังดำเนินการพิจารณาตามกระบวนการตอบแบบสอบถามเพื่อให้ได้ผู้เข้าร่วมวิจัยโดยสมัครใจและยินยอมใช้ซินไบโอติกส์ เป็นจำนวน 32 คน เป็นไปตามข้อกำหนดของการวิจัยแบบทดลองเชิงนำร่อง (Pilot Study) (กำหนดให้อาสาสมัครควรอยู่ในช่วง 10-40 คน ต่อกลุ่ม) (Hertzog., 2007)

เกณฑ์ในการคัดเลือกเข้าศึกษา (Inclusion criteria)

1. ประชากรที่เป็นพนักงานบริษัทในกรุงเทพมหานครและปริมณฑล ที่มีอายุ 25-45 ปี
2. ไม่มีประวัติรับประทานโปรไบโอติกส์หรือพรีไบโอติกส์ภายใน 7 วัน ก่อนการเข้าร่วมวิจัย
3. ไม่มีประวัติได้รับยาปฏิชีวนะ ยาลดการอักเสบ ยากลุ่มสเตียรอยด์ หรือยาลดกรด ยาคุมกำเนิดในหนึ่งเดือนที่ผ่านมา
4. ไม่มีประวัติรับประทานสารที่มีผลต่อจิตประสาท สารเสพติด ขานอนหลับ สารลดอาการซึมเศร้าก่อนการเข้าร่วมวิจัยหนึ่งเดือน

เกณฑ์ในการคัดเลือกรอกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

1. รับประทาน โปรไบโอติกส์หรือพรีไบโอติกส์ชนิดอื่นระหว่างการศึกษานี้
2. ผู้เข้าร่วมวิจัยจำเป็นต้องได้รับยาปฏิชีวนะ ยาลดการอักเสบ ยากลุ่มสเตียรอยด์ หรือยาลดกรด ยาคุมกำเนิดในระหว่างการทำวิจัย
3. ผู้เข้าร่วมวิจัยขาดรับประทานซินไบโอติกส์ติดต่อกันเป็นเวลา 3 วันขึ้นไป



4. ผู้เข้าร่วมวิจัยมีเหตุการณ์ร้ายแรงเกิดขึ้นในชีวิตระหว่างเข้าร่วมวิจัย
5. ผู้เข้าร่วมวิจัยมีประวัติรับประทานสารที่มีผลต่อจิตประสาท สารเสพติด ยานอนหลับ สารลดอาการซึมเศร้าในระหว่างศึกษา
6. หลังจากเข้าร่วมการศึกษา ผู้เข้าร่วมวิจัยสูบบุหรี่มากกว่า 20 มวนต่อวัน (Nicotine addiction related stress)
7. ผู้เข้าร่วมวิจัยอยู่ในภาวะตั้งครรภ์

### 3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการรวบรวมข้อมูล

#### อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

1. ซินไบโอติกส์และยาหลอก (Placebo) โดยบริษัท ดับเบิลยู. ยู. อาร์. เอ็กซ์ (WURX) จำกัด มีลักษณะเป็นแคปซูล รูปสี่เหลี่ยมเหมือนกันทุกประการ ซึ่งซินไบโอติกส์ 1 แคปซูล ประกอบด้วย จุลชีพ 10 สายพันธุ์ จำนวน 25 พันล้าน CFU มีเชื้อจุลชีพ ดังนี้

*Lactobacillus Plantarum* 299v 5 พันล้าน CFU    *Lactobacillus Rhamnosus* 2.5 พันล้าน CFU

*Lactobacillus Paracasei* 2 พันล้าน CFU    *Lactobacillus Reutari* 1.75 พันล้าน CFU

*Lactobacillus Acidophilus* 2 พันล้าน CFU    *Lactobacillus Helveticus* 1 พันล้าน CFU

*Lactobacillus casei* 3.5 พันล้าน CFU    *Bifidobacterium longum* 2.5 พันล้าน CFU

*Bifidobacterium lactis* 2.75 พันล้าน CFU    *Streptococcus thermophilus* 2 พันล้าน CFU

Inulin 30.5% Fiber 30.5% Fructooligosaccharide 30.5%

Acid resistant capsule

ยาหลอก ประกอบด้วย dextrose anhydrous



ภาพที่ 3.1 แคปซูลซินไบโอติกส์และยาหลอกบรรจุแผง

โดย มีงานวิจัยพบว่า *Lactobacillus helveticus* R0052, *Bifidobacterium longum* R0175, *Bifidobacterium longum* 1714 และ *Bifidobacterium breve* 1205 ทำให้อาการวิตกกังวลลดลงในสัตว์ทดลอง (Messaoudi et al., 2011, Savignac et al., 2014) และ *Lactobacillus helveticus* R0052, *Bifidobacterium longum* R0175 ทำให้สุขภาพจิตดีขึ้นในมนุษย์ (Messaoudi et al., 2011) *Lactobacillus casei* Shirota ทำให้มีอารมณ์ดีขึ้น (Benton et al. (2007) พบว่า *Lactobacillus rhamnosus* ทำให้ระดับ GABA เพิ่มขึ้นในส่วนของสมองที่ควบคุมเรื่องความกลัวความวิตกกังวล (Anglin et al., 2015) *Bifidobacterium* ทำให้สารที่เกี่ยวข้องกับอารมณ์แปรปรวนเพิ่มขึ้น (Rios et al., 2017) *Lactobacillus* สารสร้าง Acetylcholine ควบคุมความจำการจดจำการเรียนรู้และอารมณ์ลดอาการวิตกกังวลรวมถึงอาการซึมเศร้าได้ (Clarke et al., 2013)

## 2.แบบสอบถาม

### 2.1 แบบสอบถามข้อมูลเบื้องต้นและเกณฑ์การคัดเข้า

2.2 แบบสอบถาม Hospital Anxiety Depression Scale (HADS) ซึ่งมีการใช้ในการวิจัยเรื่องผลของการใช้โปรไบโอติกส์ต่อสุขภาพจิตในต่างประเทศและมีผลทางสถิติ (Messaoudi et al., 2010) โดยในงานวิจัยนี้เลือกเน้นจากกลุ่มอาการซึมเศร้าเป็นหลัก

ในงานวิจัยนี้ใช้แบบฉบับภาษาไทย เป็นเครื่องมือที่ใช้คัดกรองอาการซึมเศร้าและวิตกกังวล ซึ่งแบบสอบถามนี้ได้รับการศึกษาเพื่อหาความแม่นยำตรงแล้ว โดยธนา นิลชัยโกวิทย์และคณะพัฒนาขึ้นจากฉบับภาษาอังกฤษของ Zigmond และ Snaitth ซึ่งเป็นแบบคัดกรองที่ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางที่สุดฉบับหนึ่ง แม้ว่าเริ่มต้นพัฒนาขึ้นเพื่อใช้ในผู้ป่วยทั่วไปในโรงพยาบาล ต่อมาพบอีกว่าสามารถใช้ในการสำรวจปัญหาอาการวิตกกังวลและอาการซึมเศร้าในกลุ่มประชากรทั่วไป และผู้ป่วยจิตเวชได้ดีเช่นกัน

HADS เป็นเครื่องมือที่สั้น กะทัดรัด และมีค่าความแม่นยำและความเชื่อถืออยู่ในเกณฑ์ดี โดยมีคำถามทั้งหมด 14 ข้อแบ่งเป็น ในกลุ่มอาการวิตกกังวลอยู่ในข้อที่ทั้งหมด 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 และกลุ่มอาการซึมเศร้าอยู่ในข้อที่ทั้งหมด 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 โดยแต่ละข้อจะมีคะแนนอยู่ในช่วง 0 - 3 คะแนน ซึ่งมี คะแนนรวมทั้งหมด 42 คะแนน ถ้าค่าคะแนนรวมในแต่ละกลุ่มอาการ  $\geq 11$  คะแนน บ่งถึงความผิดปกติทางจิตเวชในกลุ่มนั้น (มาโนช หล่อตระกูล, 2554)

### 2.3 แบบสอบถามประเมินความเหมาะสมในกระบวนการทำวิจัยโดยผู้เข้าร่วมวิจัย

### 3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

1. ประกาศรับสมัครอาสาสมัครเข้าร่วมวิจัย ให้ผู้สนใจกรอกแบบสอบถามข้อมูลเบื้องต้น แบบสอบถามเพื่อคัดกรองตามเกณฑ์การคัดเลือกเข้าศึกษา และแบบสอบถาม HADS เพื่อเก็บข้อมูลก่อนเริ่มการทดลอง
2. แจกรายละเอียดขั้นตอนของการเข้าร่วมการศึกษาโดยละเอียด เปิดโอกาสให้มีการซักถามข้อมูลพร้อมกันให้ข้อมูลเป็นลายลักษณ์อักษร โดยมีการสื่อสารกันทั้งสองทาง
  - 2.1 แจกข้อจำกัดของการรับประทานอาหารรวมทั้งอาหารเสริมในระหว่างการทดลอง
    - 2.1.1 ต้องไม่รับประทาน โปรตีน โปรีไบโอติกส์หรือพรีไบโอติกส์อื่น ๆ ในระหว่างการวิจัย
    - 2.1.2 ต้องไม่ได้รับยาปฏิชีวนะ ยาลดการอักเสบ ยากลุ่มสเตียรอยด์ หรือยาลดกรด
    - 2.1.4 ต้องไม่รับประทานสารที่มีผลต่อจิตประสาท สารเสพติด ยานอนหลับ สารลดอาการซึมเศร้าในระหว่างทำการศึกษา
    - 2.1.5 ต้องไม่รับประทานยากดภูมิคุ้มกัน ยาฆ่าเชื้อ ยาต้านการอักเสบ ยาลดกรด และแจ้งเกณฑ์ในการให้ผู้เข้าร่วมวิจัยเลิกจากการศึกษาอื่น ๆ
  - 2.2 แจกวิธีการรับประทาน โดยรับประทานซินไบโอติกส์หรือยาหลอกก่อนนอนทุกวัน วันละ 2 แคปซูล ติดต่อกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ หากลิ้มรับประทานสามารถรับประทานในเช้าวันถัดไป และรับประทานก่อนนอนในวันเดียวกันได้ตามปกติ
  - 2.3 แจกวิธีการติดตาม โดยใช้ Google Excel Sheet เป็นแบบบันทึกประจำวันสำหรับการรับประทานซินไบโอติกส์ โดยให้ผู้เข้าร่วมวิจัยลงบันทึกทุกครั้งหลังการรับประทาน ทำให้ผู้ทำวิจัยสามารถติดตามการรับประทานได้แบบวันต่อวัน รวมทั้งมีการติดตามโดยการแจ้งเตือนให้รับประทานก่อนนอนทุกวันผ่าน Line application และให้กำลังใจอย่างต่อเนื่อง
3. ให้ผู้เข้าร่วมวิจัยลงลายลักษณ์อักษรในใบยินยอมเข้าร่วมวิจัย (Inform consent)
4. สุ่มผู้เข้าร่วมวิจัยเข้ากลุ่ม โดยจัดเรียงตามคะแนน HADS ด้าน Depression และ Matched pair ผลคะแนนที่ใกล้เคียงกัน สุ่มออกเป็นสองกลุ่มเพื่อไม่ให้เกิดอคติ โดยผู้เข้าร่วมไม่ทราบว่าตนได้รับซินไบโอติกส์หรือยาหลอก พร้อมดำเนินการทดลองและติดตามผล

5. หลังจากการเริ่มรับประทานประเมินแบบสอบถาม HADS ทุกวันที่ 7, 14, 21, 28 รวมทั้งประเมินอาการข้างเคียง
6. นำข้อมูลของผู้เข้าร่วมวิจัยที่สามารถเข้าร่วมวิจัยจนถึงสุดระยะเวลาหาค่าทางสถิติและสรุปผล

### 3.4 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

1. นำข้อมูลพื้นฐานของผู้เข้าร่วมวิจัย เพศ อายุมาสรุปและหาค่าเฉลี่ย (Mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation, SD)
2. แสดงค่าสัดส่วนเปอร์เซ็นต์ในด้านของจำนวนผู้สนใจทำวิจัยที่สามารถให้เข้าร่วมวิจัยได้ จำนวนผู้ที่สามารถเข้าร่วมวิจัยจนครบตามกำหนด
3. สถิติที่ใช้สำหรับผลคะแนนแบบสอบถาม HADS เป็นสถิติสำหรับการประมาณค่า แบบจุดแบบช่วง การเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับคะแนนด้านความซึมเศร้า ความวิตกกังวลและคะแนนรวมของแบบสอบถามในกลุ่มและระหว่างกลุ่ม โดยใช้การทดสอบทางสถิติแบบนอนพาราเมตริก (Nonparametric Statistics) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ Wilcoxon sign rank test และ 2-Independent Sample Mann-Whitney U Test ตามลำดับ สำหรับเหตุผลที่ผู้วิจัยใช้สถิติ nonพาราเมตริก เนื่องจากผู้วิจัยนำข้อมูลมาตรวจสอบการแจกแจงของประชากร โค้งปกติโดยวิธี Shapiro-Wilk test พบว่า ค่า Sig. (2-tailed) > 0.05 ในบางชุดข้อมูล ซึ่งไม่ได้มีการแจกแจงปกติ ดังนั้นจึงไม่เป็นไปตามข้อตกลงเบื้องต้นของ สถิตพาราเมตริก
4. นำเสนอข้อมูลเป็นแผนภูมิและตาราง
5. สรุปผล

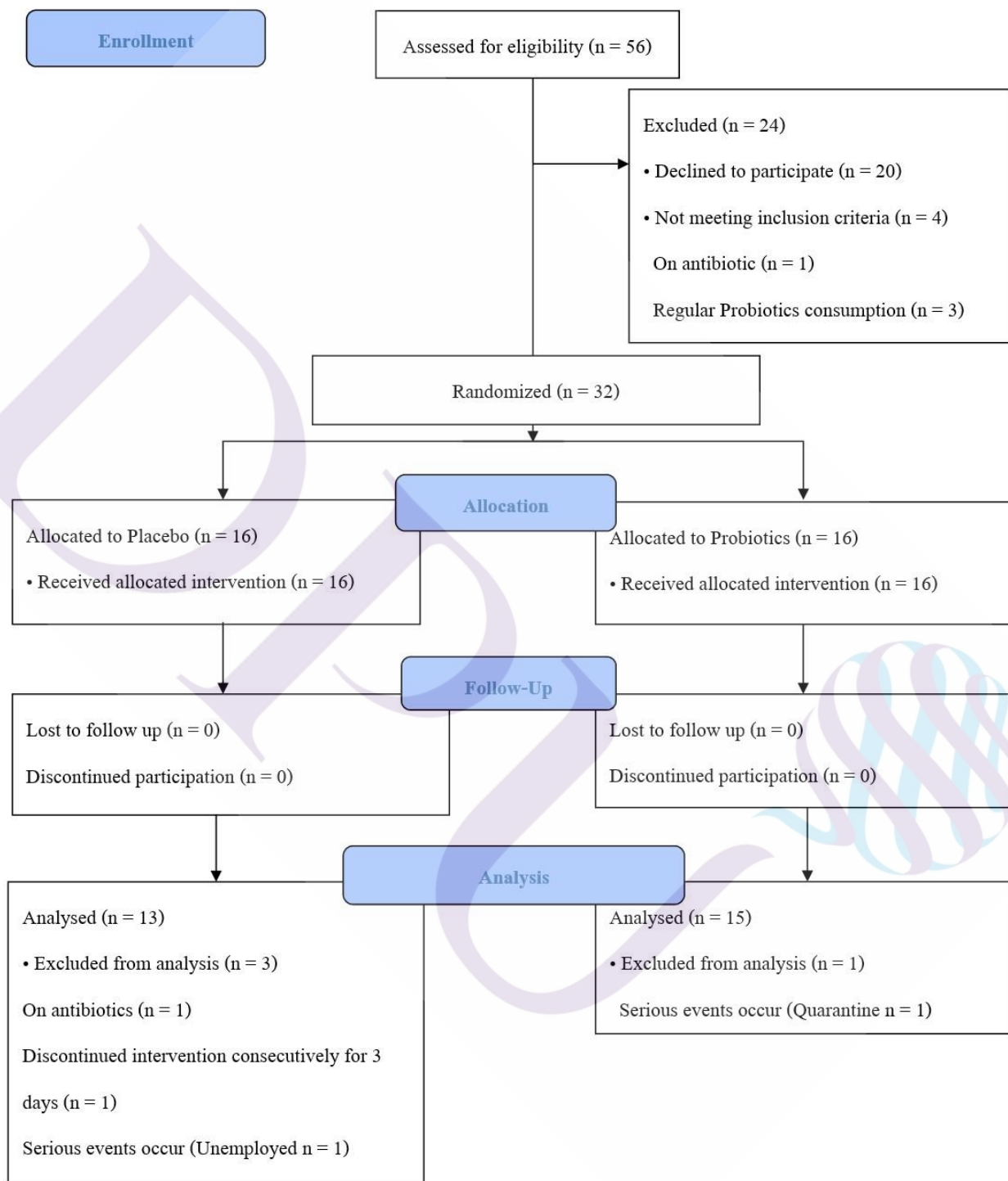
## บทที่ 4

### ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การวิจัยนี้เป็นวิจัยทดลองเชิงนำร่อง pilot randomized controlled trial โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของชินไบโอติกส์กับความซึมเศร้าและวิตกกังวล และศึกษาความเหมาะสมรวมทั้งความเป็นไปได้ของรูปแบบงานวิจัย โดยมีกลุ่มอาสาสมัครรับประทานชินไบโอติกส์เทียบกับกลุ่มที่รับประทานยาหลอกเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ทำการทดลองในอาสาสมัครตามเกณฑ์ที่คัดเลือก จำนวน 32 คน แบ่งเป็น 2 กลุ่มโดยการสุ่ม กลุ่มทดลองได้รับชินไบโอติกส์และกลุ่มควบคุมได้รับยาหลอก โดยใช้แบบสอบ Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS) ฉบับภาษาไทยเป็นเครื่องมือประเมินผลในทุก ๆ สัปดาห์ นำเสนอผลตามลำดับดังนี้

- 4.1 ภาพรวมการทดลอง (Consort flowchart)
- 4.2 ผลวิเคราะห์ความเหมาะสมของกระบวนการสุ่ม
- 4.3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทั่วไปของตัวอย่าง
- 4.4 ผลวิเคราะห์การทดลองระดับความซึมเศร้า
- 4.5 ผลวิเคราะห์การทดลองระดับความวิตกกังวล
- 4.6 ผลวิเคราะห์การทดลองระดับคะแนนรวมของแบบสอบถาม
- 4.7 ผลวิเคราะห์อาการข้างเคียงที่พบระหว่างเข้าร่วมวิจัย
- 4.8 ผลวิเคราะห์ความเหมาะสมและความเป็นไปได้ของการทดลองต่อผู้เข้าร่วมวิจัย

## 4.1 ภาพรวมการทดลอง



ภาพที่ 4.1 Consort flowchart

จากกลุ่มตัวอย่างที่มีคุณสมบัติเข้าได้ 56 คน ปฏิเสธเข้าร่วมการศึกษา 20 คน และไม่  
 เป็นไปตามเกณฑ์คัดเข้า 4 คนเนื่องจากอยู่ในช่วงได้รับยาปฏิชีวนะ 1 คนและรับประทานซิงไบโอติ  
 กส์อยู่เป็นประจำจำนวน 3 คน ทำให้มีอาสาสมัครทั้งหมด 32 คน คิดเป็น 57% จากผู้ที่มีคุณสมบัติเข้า  
 ได้ในกลุ่มตัวอย่าง ทำการสุ่มอาสาสมัครเข้ากลุ่มที่รับประทานซิงไบโอติกส์และกลุ่มที่ได้รับยา  
 หลอก กลุ่มละ 16 คน ในระหว่างการทดลอง กลุ่มควบคุมมีผู้เข้าเกณฑ์การคัดออก 3 คน เนื่องจาก  
 จำเป็นต้องได้รับยามาเชื้อ 1 คน ขาดการรับประทานยาติดต่อกัน 3 วันขึ้นไป 1 คน และมีเหตุการณ์  
 ร้ายแรงเกิดขึ้นในชีวิตจากคนในครอบครัวตงงาน 1 คน ในกลุ่มทดลองพบว่าผู้เข้าเกณฑ์การคัด  
 ออก 1 คนเนื่องจากมีเหตุการณ์ร้ายแรงเกิดขึ้นในชีวิตจากโดนกักตัว covid-19 ทำให้เหลือผู้เข้าร่วม  
 ในการวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมด 28 คน คิดเป็น 87.5% จากผู้เข้าร่วมการทดลองทั้งหมด โดยเป็นกลุ่ม  
 ควบคุม 13 คน คิดเป็น 81% ของกลุ่มและกลุ่มทดลอง 15 คน คิดเป็น 94% ของกลุ่ม

#### 4.2 ผลวิเคราะห์ความเหมาะสมของกระบวนการสุ่ม

4.2.1 ผลวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของระดับความซึมเศร้าและระดับความวิตกกังวลก่อนเริ่มการ  
 ทดลอง

ตารางที่ 4.1 ผลวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของระดับความซึมเศร้าและความวิตกกังวล

		Depression (HADS 0)	Anxiety (HADS 0)
Depression (HADS 0)	Pearson Correlation	1	.711**
	Sig. (2-tailed)		.000
Anxiety (HADS 0)	Pearson Correlation	.711**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

จากตารางที่ 4.1 พบว่าระดับอาการซึมเศร้าและวิตกกังวลมีความสัมพันธ์เชิงเส้นใน  
 ทิศทางเดียวกัน แทนความสัมพันธ์กันได้ ( $p < 0.01$ ) ดังนั้นจากการสุ่มผู้เข้าร่วมวิจัยเข้ากลุ่มโดยใช้  
 วิธี Matched pair อ้างอิงตามระดับคะแนนด้านความซึมเศร้าจะมีผลเป็นไปในทางทิศเดียวกันกับ  
 การสุ่มโดยอ้างอิงจากระดับคะแนนด้านความวิตกกังวล

4.2.2 ผลวิเคราะห์การเปรียบเทียบระดับความซึมเศร้า ความวิตกกังวล และระดับคะแนนรวม ก่อนเริ่มการทดลอง ระหว่างกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม

ตารางที่ 4.2 ผลวิเคราะห์การเปรียบเทียบระดับความซึมเศร้า ความวิตกกังวลและคะแนนรวมก่อนเริ่มการทดลอง ระหว่างกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม (IQ: inferior quartile, SQ; superior quartile)

ด้านแบบทดสอบ	Group	Median (IQ - SQ)	p-value Mann-Whitney U test
ความซึมเศร้า	Placebo (n=16)	5.5 (2.3-7.8)	0.955
	Probiotics (n=16)	5.5 (3.3-6.8)	
ความวิตกกังวล	Placebo (n=16)	7.5 (4.5-10.5)	0.776
	Probiotics (n=16)	8.5 (6-10)	
คะแนนรวม	Placebo (n=16)	12.5 (7.5-18)	0.879
	Probiotics (n=16)	14 (9.5-17)	

จากตารางที่ 4.3 ผลเปรียบเทียบระดับคะแนนด้านความซึมเศร้าความวิตกกังวล และคะแนนรวมของแบบทดสอบก่อนเริ่มการทดลอง เปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มพบว่ามีความมีค่ามัธยฐานของคะแนนในแต่ละด้านไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าทั้งสองกลุ่มมีระดับคะแนนด้านความวิตกกังวลมากกว่าด้านความซึมเศร้า

#### 4.3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทั่วไปของตัวอย่าง

ตารางที่ 4.3 แสดงจำนวนอาสาสมัคร อายุและเพศตามกลุ่มตัวอย่าง

Group	Number (n)			Age (years)		
	Baseline	Dropout	Remain	Mean	S.D.	Minimum
<b>Placebo</b>	16	3	13	31.08	3.25	28-40
Male	9	2	7			
Female	7	1	6			
<b>Probiotics</b>	16	1	15	31.93	4.28	27-43
Male	8	1	7			
Female	8	0	8			



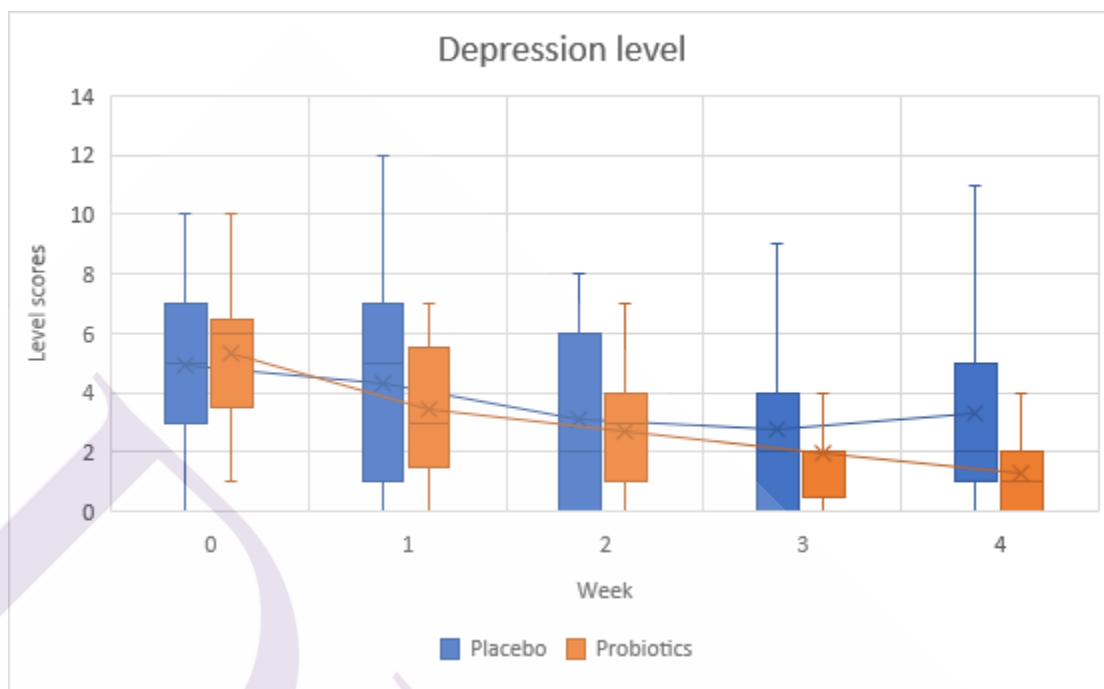
จากตารางที่ 4.4 การศึกษาวิจัยนี้ มีผู้เข้าร่วมเมื่อเริ่มงานวิจัยทั้งสิ้น 32 คน เป็นเพศหญิง 15 คนและเพศชาย 17 คน แบ่งเป็นกลุ่มทดลอง 16 คน โดยเป็นเพศชาย 8 คน เพศหญิง 8 คน และกลุ่มควบคุม 16 คน โดยเป็นเพศชาย 9 คน เพศหญิง 7 คน กลุ่มทดลองมีผู้เข้าร่วมวิจัยเพศชายออกจากงานวิจัย 1 คน และกลุ่มควบคุมมีผู้เข้าร่วมออกจากงานวิจัย 3 คน ทำให้เหลือผู้เข้าร่วมจนจบงานวิจัยทั้งสิ้น 28 คน เป็นกลุ่มทดลอง 15 คน เพศชาย 7 คน เพศหญิง 8 คน และกลุ่มควบคุม 13 คน เพศชาย 7 คน เพศหญิง 6 คน

ข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่างที่เข้าร่วมงานวิจัยจนถึงสิ้นสุด 28 คน ผู้เข้าร่วมวิจัยในกลุ่มควบคุมมีอายุเฉลี่ย  $31.08 \pm 3.25$  ปี ใกล้เคียงกับกลุ่มทดลองที่มีอายุเฉลี่ย  $31.93 \pm 4.28$  ปี กลุ่มควบคุมอายุน้อยที่สุดและสูงที่สุดคือ 28 และ 40 ปีตามลำดับ กลุ่มทดลองอายุน้อยที่สุดและสูงที่สุดคือ 27 และ 43 ปีตามลำดับ

#### 4.4 ผลวิเคราะห์การทดลองระดับความซึมเศร้า

ตารางที่ 4.4 แสดงผลวิเคราะห์ระดับความซึมเศร้าในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม (IQ: inferior quartile, SQ; superior quartile)

Depression level							
Week	Group						<i>p</i> -value between groups Mann-Whitney U test
	Placebo n = 13			Probiotics n = 15			
	Median (IQ – SQ)	Change % Median (IQ – SQ)	<i>p</i> -value Wilcoxon test	Median (IQ – SQ)	Change % Median (IQ – SQ)	<i>p</i> -value Wilcoxon test	
0	5 (2.5–7.5)	-	-	6 (3-7)	-	-	-
1	5 (0.5-7.5)	12.5%, (-7.1-66.7)	0.15	3 (1-6)	33.3% (0-70)	0.034	0.745
2	2 (0-6.5)	50%, (12.5-83.3)	0.01	3 (1-4)	50% (0-83.3)	0.003	0.944
3	2 (0-4.5)	50%, (0-91.7)	0.04	2 (0-2)	66.7% (33.3-100)	0.001	0.671
4	2 (5-6)	50%, (15-66.7)	0.44	1 (0-2)	83.3% (50-100)	0.001	0.12



ภาพที่ 4.2 กราฟแสดงผลเปรียบเทียบการลดลงของระดับคะแนนความซึมเศร้าระหว่างกลุ่มที่รับประทานยาหลอกและกลุ่มที่ได้รับซินไบโอติกส์

จากตารางที่ 4.5 และภาพที่ 4.2 พบว่าค่ามัธยฐานของระดับคะแนนด้านความซึมเศร้าในกลุ่มยาหลอก เริ่มมีค่าลดลงเมื่อเทียบกับจุดเริ่มต้นในสัปดาห์ที่ 2 และยังคงมีค่าเท่าเดิมจนจบการศึกษา ระดับคะแนนลดลงคิดเป็น 12.5% ในสัปดาห์ที่ 1 และ 50% ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 คงที่ไปจนจบการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบภายในกลุ่มพบว่ากลุ่มยาหลอกมีค่ามัธยฐานของคะแนนลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่สัปดาห์ที่ 2 แต่ไม่พบความต่างอย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 4

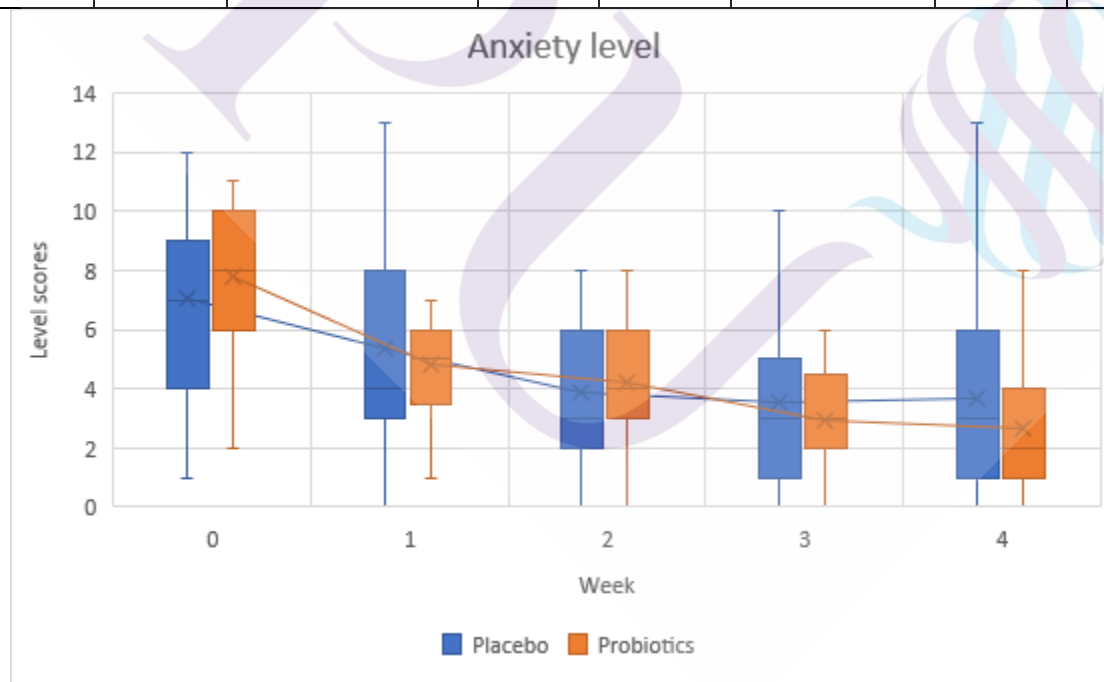
โดยกลุ่มซินไบโอติกส์มีค่ามัธยฐานของระดับคะแนนลดลงอย่างต่อเนื่องจนจบการศึกษา คิดเป็น 33.3%, 50%, 66.7% และ 83.3% ตามลำดับ ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบภายในกลุ่มพบว่ามีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 ไปจนถึงสัปดาห์ที่ 4 แต่ไม่พบความแตกต่างของระดับคะแนนระหว่างกลุ่ม ดังนั้นจากผลดังกล่าวพบว่าการรับประทานซินไบโอติกส์อาจมีแนวโน้มช่วยลดระดับความซึมเศร้าชัดเจนกว่าเมื่อเทียบกับการรับประทานยาหลอก

#### 4.5 ผลวิเคราะห์การทดลองจากระดับความวิตกกังวล

ตารางที่ 4.5 แสดงผลวิเคราะห์ระดับคะแนนด้านความวิตกกังวลในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม

(IQ: inferior quartile, SQ; superior quartile)

Anxiety level							
Week	Group						<i>p</i> -value between groups Mann- Whitney U test
	Placebo n = 13			Probiotics n = 15			
	Median (IQ-SQ)	Change % Median (IQ - SQ)	<i>p</i> -value Wilcoxon test	Median (IQ-SQ)	Change % Median (IQ - SQ)	<i>p</i> -value Wilcoxon test	
0	7 (4-10)	-	-	8 (6-10)	-	-	-
1	4 (3-8.5)	25%, (-8.3-53.6)	0.076	5 (3-6)	40%, (25-50)	0.001	0.610
2	3 (1-6)	50%, (16.7-70.8)	0.005	4 (3-6)	50%, (25-57.1)	0.001	0.818
3	3 (1-5)	66.7%, (8.3-76.4)	0.014	3 (2-5)	66.7%, (40-80)	0.001	0.982
4	3 (1-6)	55.6%, (20.8-86.1)	0.032	2 (1-4)	75%, (50-83.3)	0.001	0.413



ภาพที่ 4.3 กราฟแสดงผลเปรียบเทียบการลดลงของระดับคะแนนความวิตกกังวลระหว่างกลุ่มที่รับประทานยาหลอกและกลุ่มที่ได้รับซินไบโอติกส์

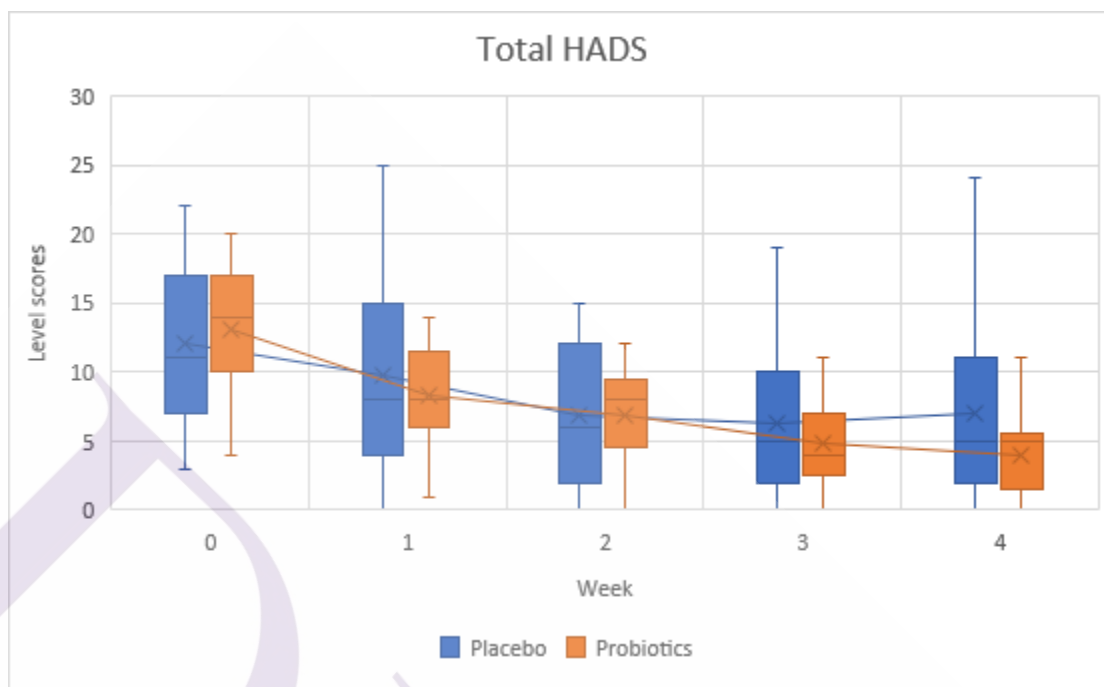
จากตารางที่ 4.6 และภาพที่ 4.3 จากค่ามัธยฐานระดับคะแนนด้านความวิตกกังวล เมื่อเทียบจากจุดเริ่มต้นพบว่าในกลุ่มยาหลอกมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 2 และค่ามัธยฐานคงที่จนถึงสัปดาห์ที่ 4 (3) การลดลงต่อสัปดาห์คิดเป็น 25%, 50%, 66.7% และ 55.6% ตามลำดับ โดยในสัปดาห์ที่ 4 มีเปอร์เซ็นต์ลดลงน้อยกว่าสัปดาห์ที่ 3 เมื่อเทียบจากจุดเริ่มต้นเดียวกัน สรุปได้ว่าในสัปดาห์ที่ 4 การลดลงของความวิตกกังวลเริ่มไม่ขึ้นไปตามแนวโน้มฯ เมื่อเปรียบเทียบภายในกลุ่มพบว่าระดับคะแนนลดลงอย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 2

โดยกลุ่มชินไป โอติกส์มีค่ามัธยฐานของระดับคะแนนลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อเทียบกับจุดเริ่มต้น ในสัปดาห์ที่ 1,2,3 และ 4 คิดเป็น 40%, 50%, 6.72% และ 75% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบภายในกลุ่มพบว่ามีระดับคะแนนลดลงอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 จนจบการทดลอง แต่ไม่พบความแตกต่างของระดับคะแนนระหว่างทั้งสองกลุ่ม โดยผลของระดับคะแนนด้านความวิตกกังวลเป็นไปในทางเดียวกันกับด้านความซึมเศร้า

#### 4.6 ผลวิเคราะห์การทดลองจากระดับคะแนนรวมของแบบสอบถาม HADS

ตารางที่ 4.6 แสดงผลวิเคราะห์ระดับคะแนนรวมจากแบบสอบถาม HADS ในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม (IQ: inferior quartile, SQ; superior quartile)

Total HADS							
Week	Group						<i>p</i> -value between groups Mann-Whitney U test
	Placebo n = 13			Probiotics n = 15			
	Median (IQ-SQ)	Change % Median (IQ – SQ)	<i>p</i> -value Wilcoxon test	Median (IQ-SQ)	Change % Median (IQ – SQ)	<i>p</i> -value Wilcoxon test	
0	11(6-17)	-	-	14 (9-17)	-	-	-
1	8 (3.5-16)	27.8%, (8.6-53.9)	0.03	8 (6-12)	33.3%, (23.5-50)	0.004	0.818
2	6 (1.5-12.5)	45.5%, (27.8-76.2)	0.004	8 (4-10)	53.8%, (27.3-62.5)	0.001	0.982
3	5 (1.5-11)	54.5%, (23.8-80.4)	0.018	4 (2-7)	65%, (41.2-81.3)	0.001	0.677
4	5 (2-12.5)	58.8%, (27.7-76.1)	0.021	5 (1-6)	68.8%, (61.5-85.7)	0.001	0.390



ภาพที่ 4.4 กราฟแสดงผลเปรียบเทียบการลดลงของระดับคะแนนรวมจากแบบสอบถาม HADS ระหว่างกลุ่มที่รับประทานยาหลอกและกลุ่มที่ได้รับซินไบโอติกส์

จากตารางที่ 4.7 และภาพที่ 4.4 พบว่าค่ามัธยฐานระดับคะแนนรวมจากแบบสอบถาม HADS ในกลุ่มยาหลอกมีระดับคะแนนลดลงเมื่อเทียบกับจุดเริ่มต้นในสัปดาห์ที่ 1, 2, 3 และ 4 คิดเป็น 27.8%, 45.5%, 54.5% และ 58.8% ตามลำดับ

โดยกลุ่มซินไบโอติกส์มีค่ามัธยฐานของระดับคะแนนลดลงเมื่อเทียบกับจุดเริ่มต้น ในสัปดาห์ที่ 1, 2, 3 และ 4 คิดเป็น 33.3%, 53.8%, 65% และ 68.8% ตามลำดับ กลุ่มซินไบโอติกส์มีค่าลดลงมากกว่ากลุ่มยาหลอกในทุก ๆ สัปดาห์ ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบภายในกลุ่มพบว่าทั้งสองกลุ่มมีระดับคะแนนลดลงอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 แต่ไม่พบความต่างของระดับคะแนนระหว่างทั้งสองกลุ่ม

โดยสรุปจากผลการวิเคราะห์ระดับคะแนน พบว่ากลุ่มที่ได้รับซินไบโอติกส์มีแนวโน้มของระดับความซึมเศร้าและวิตกกังวลลดลงใกล้เคียงกันทั้งสองด้าน และมีแนวโน้มลดลงชัดเจนมากกว่ากลุ่มที่ได้รับยาหลอก แต่ยังไม่พบความต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของระดับคะแนนเมื่อเปรียบเทียบกันทั้งสองกลุ่ม เนื่องจากการทดลองครั้งนี้ยังมีปัจจัยหลายอย่างยังไม่ได้ควบคุมระหว่างการศึกษาวิจัย เช่น ประเมินพฤติกรรมมารับประทานอาหารที่มีผลต่อสัดส่วนของจุลชีพในลำไส้ เช่น ผักผลไม้ เนื้อสัตว์ เครื่องดื่ม โยเกิร์ต อาหารที่มีฤทธิ์เกี่ยวข้องกับระบบประสาท รวมไปถึงประเมินภาวะสมดุลจุลชีพในลำไส้ก่อนทดลอง อีกทั้งการประเมินผลทางด้านจิตใจอาจมี

อิทธิพลมาจากความคาดหวัง ความเชื่อต่อคำแนะนำและประสิทธิผลของยา รวมถึงมีปัจจัยที่มีผลต่อการรับรู้อาการซึมเศร้าและความวิตกกังวลในระหว่างทดลอง เช่น สิ่งแวดล้อม และทัศนคติ

#### 4.7 ผลวิเคราะห์อาการข้างเคียงที่พบระหว่างเข้าร่วมวิจัย

ตารางที่ 4.7 สรุปผลอาการข้างเคียง

อาการข้างเคียง	Group	
	Placebo n = 16	Probiotics n = 16
ท้องผูก	2	1
ถ่ายเหลว	1	1
ผื่นแพ้	-	-

จากตารางที่ 4.8 ผลแบบประเมินอาการข้างเคียงพบว่า มีผู้เข้าร่วม 1 คน (6%) มีอาการท้องผูกและ ผู้เข้าร่วม 1 คน (6%) มีอุจจาระเหลวขึ้น และไม่พบผลข้างเคียงอื่นๆ จากการรับประทานซินไบโอติกส์

#### 4.8 ผลวิเคราะห์ความเหมาะสมและความเป็นไปได้ของการทดลองต่อผู้เข้าร่วมวิจัย

ตารางที่ 4.1 แสดงผลประเมินความเหมาะสมในกระบวนการวิจัยโดยผู้เข้าร่วมวิจัย

ประเด็น	ระดับความยากง่าย (1 - 5)	
	Mean (SD)	แปลผล
การรับข่าวสารแจ้งเตือน	4.76 (0.44)	ง่ายมากที่สุด
การรับพัสดุเอกสารและผลิตภัณฑ์	4.85 (0.36)	ง่ายมากที่สุด
การเข้าถึงผู้ทำวิจัยในการสอบถามข้อมูล	4.76 (0.50)	ง่ายมากที่สุด
การบันทึกประจำวันใน Google excel sheet	4.45 (0.83)	ง่ายมาก
ขั้นตอนการกรอกแบบสอบถาม HADS ทุกสัปดาห์ผ่าน Google form	4.64 (0.49)	ง่ายมากที่สุด
สามารถเข้าร่วมได้ครบตามระยะเวลาทดลอง	4.64 (0.60)	ง่ายมากที่สุด
ภาพรวม	4.68 (0.57)	ง่ายมากที่สุด

จากตารางที่ 4.1 ผลการวิเคราะห์ความเหมาะสมของกระบวนการวิจัยโดยผู้เข้าร่วมวิจัย โดยในแต่ละหัวข้อมีช่วงคะแนนอยู่ที่ 1 – 5 คะแนน สรุปในภาพรวมพบว่า สามารถทำได้อยู่ในระดับมีความง่ายมากที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.68 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.57 ซึ่งในแต่ละประเด็นมีความยากง่ายต่างกันเรียงลำดับดังนี้

ผู้เข้าร่วมวิจัยสามารถรับข่าวสารแจ้งเตือน ที่ระดับง่ายมากที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.76 สามารถรับพัสดุเอกสารและผลิตภัณฑ์ที่ระดับง่ายมากที่สุดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.85 การเข้าถึงผู้ทำวิจัยในการสอบถามข้อมูล สามารถทำได้ง่ายมากที่สุด ที่ค่าเฉลี่ย 4.76 ผู้เข้าร่วมสามารถบันทึกประจำวันใน Google excel sheet ที่ระดับง่ายมากที่สุดค่าเฉลี่ย 4.45 การกรอกแบบสอบถาม HADS ทุกสัปดาห์ผ่าน Google form ได้ง่ายมากที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ย 4.64 ผู้เข้าร่วมวิจัยสามารถเข้าร่วมงานวิจัยจนครบระยะเวลาได้ 4 สัปดาห์ที่ระดับง่ายมากที่สุดมีค่าเฉลี่ย 4.64

สรุปโดยภาพรวมขั้นตอนการทดลอง การเก็บข้อมูลโดยแบบสอบถามมีอัตราการตอบกลับแบบสอบถาม 100% (n = 32) และเกือบทุกขั้นตอนของการทดลองสามารถได้ทำได้ง่ายมากที่สุด ดังนั้นการวิจัยมีความเหมาะสมมีข้อมูลที่สามารถอ้างอิงวิเคราะห์ได้

## บทที่ 5

### สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุป อภิปรายผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการวิจัยแบบทดลองเชิงนำร่อง pilot randomized controlled trial โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของการรับประทานชินไบโอติกส์กับความซึมเศร้าและวิตกกังวล และศึกษาความเหมาะสมรวมทั้งความเป็นไปได้ของรูปแบบงานวิจัย โดยมีกลุ่มทดลองที่รับประทานชินไบโอติกส์และกลุ่มควบคุมที่รับประทานยาหลอก เปรียบเทียบระดับคะแนนด้านความซึมเศร้าและความวิตกกังวลของทั้งสองกลุ่มจากแบบสอบถาม Hospital Anxiety Depression scale (HADS) ฉบับภาษาไทย มีการประเมินในทุก ๆ สัปดาห์ โดยระยะของการทดลองทั้งหมด 4 สัปดาห์

จากการวิเคราะห์ผลเมื่อพิจารณาแต่ละช่วงเวลาแสดงให้เห็นว่า กลุ่มชินไบโอติกส์มีแนวโน้มเปอร์เซ็นต์ลดลงอย่างต่อเนื่องทั้งในระดับคะแนนด้านความซึมเศร้าและความวิตกกังวล และมีเปอร์เซ็นต์ลดลงที่ใกล้เคียงกันทั้งสองด้านในสัปดาห์ที่ 4 (Depression 83.8%, Anxiety 75%) โดยสอดคล้องกับงานวิจัยของ Rawson และคณะ (2010) ที่พบว่าความเจ็บป่วยจากความเครียด ความวิตกกังวลและอาการซึมเศร้ามีความเกี่ยวข้องกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการศึกษาพบว่ากลุ่มชินไบโอติกส์มีระดับคะแนนลดลงมากกว่ากลุ่มยาหลอก น่าจะสรุปได้ว่าการรับประทานชินไบโอติกส์มีแนวโน้มช่วยลดความซึมเศร้าและความวิตกกังวล ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Messaoudi และคณะ (2010) ที่ศึกษาประสิทธิภาพของโพรไบโอติกส์ต่อการลดลักษณะอาการวิตกกังวลในหนู รวมทั้งศึกษาประสิทธิภาพของโพรไบโอติกส์ในอาสาสมัครที่สุขภาพดีต่ออาการซึมเศร้า ความเครียดและการจัดการต่อความเครียดและสอดคล้องกับงานวิจัยของ Steenbergen และคณะ (2015) ซึ่งเป็นการศึกษาประสิทธิภาพของโพรไบโอติกส์หลายสปีชีส์ในการลดการรับรู้ถึงอารมณ์เศร้า พบว่ากลุ่มที่ได้รับโพรไบโอติกส์มีผลลดการรับรู้ถึงอาการเศร้าอย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อพิจารณาภายในกลุ่มระดับคะแนนด้านความซึมเศร้าของกลุ่มชินไบโอติกส์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 ( $p = 0.034$ ) ต่อเนื่องจนจบการศึกษา กลุ่มที่ได้รับยาหลอกมีระดับคะแนนด้านความซึมเศร้าลดลงอย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 2 ( $p = 0.01$ ) แต่ในสัปดาห์ที่ 4 พบว่าระดับคะแนนไม่แตกต่างจากก่อนเริ่มการทดลอง ( $p = 0.44$ ) ด้านระดับคะแนนความวิตกกังวลของ



กลุ่มชินไบโอดีทส์มีระดับคะแนนลดลงอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 ( $p = 0.001$ ) และต่อเนื่องจนจบการศึกษา ส่วนกลุ่มยาหลอกคะแนนลดลงอย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 2 ( $p = 0.005$ ) และต่อเนื่องจนถึง 4 สัปดาห์ แต่พบว่าในสัปดาห์สุดท้ายระดับคะแนนไม่เป็นไปตามแนวโน้มโดยมีเปอร์เซ็นต์ความวิตกกังวลเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับสัปดาห์ที่สาม

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มพบว่าผลระดับคะแนนด้านความซึมเศร้าและความวิตกกังวลไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้การประเมินผลโดยแบบสอบถาม จัดเป็น subjective data ซึ่งเป็นข้อมูลจากความคิดเห็นเกี่ยวกับสภาพจิตใจของคน อาจมีตัวแปรหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อการประเมินแบบสอบถาม เช่น คำแนะนำ ความเชื่อมั่นต่อประสิทธิผลของอาหารเสริม ทำให้ในช่วงแรกของการทดลองทั้งสองกลุ่มมีระดับคะแนนลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากผู้ที่ได้รับการวิจัยมีความเข้าใจว่าได้รับการรักษา แต่พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป ในสัปดาห์ที่สี่ เริ่มเห็นผลต่างของการประเมินแบบสอบถามจากทั้งสองกลุ่มชัดเจนมากขึ้น เนื่องจากผู้ที่ได้รับชินไบโอดีทส์ยังคงมีแนวโน้มการแสดงผลมากขึ้น ส่วนผู้ที่ได้รับยาหลอก เมื่อผ่านระยะเวลาหนึ่งอาการเดิมกลับคืนมา ดังนั้นการเพิ่มระยะเวลาการทดลองนานขึ้นและจำนวนอาสาสมัครเพิ่มขึ้นอาจทำให้ได้ผลการทดลองที่ชัดเจนขึ้น ทั้งนี้ในอนาคตควรมีการประเมินลักษณะที่เป็น objective data ร่วมด้วย เช่น ระดับฮอร์โมนคอติซอล ระดับสารสื่อประสาท ระดับของกรดไขมันสายสั้น ระดับตัวรับสารสื่อประสาทประสาทที่มากขึ้นในสมอง หรือติดตามการเปลี่ยนแปลงของจุลชีพจากอุจจาระร่วมด้วย เพื่อสนับสนุนผลทางสถิติ การทดลองครั้งนี้ยังมีปัจจัยหลายอย่างยังไม่ได้ควบคุมระหว่างการศึกษาวิจัย เช่น ประเมินพฤติกรรมกรรมการรับประทานอาหารที่มีผลต่อสัดส่วนของจุลชีพในลำไส้ เช่น ผักผลไม้ เนื้อสัตว์ เครื่องดื่ม โยเกิร์ต อาหารที่มีฤทธิ์เกี่ยวข้องกับระบบประสาท รวมไปถึงประเมินภาวะสมดุลจุลชีพในลำไส้ก่อนทดลอง

ในแง่ผลจากความเหมาะสมและรูปแบบความเป็นไปได้ของงานวิจัย พบว่าจากการประกาศรับสมัครอาสาสมัครในกลุ่มตัวอย่างที่มีคุณสมบัติเข้าได้มีอาสาสมัครที่ผ่านเกณฑ์คัดเข้า และมีความประสงค์เข้าร่วมการทดลองคิดเป็น 57% จากผู้มีคุณสมบัติเข้าได้ ส่วนใหญ่ปฏิเสธการเข้าร่วมศึกษาซึ่งคิดเป็น 36% เหตุผลที่ปฏิเสธการเข้าร่วมทดลองเนื่องจากชินไบโอดีทส์ยังไม่เป็นที่รู้จักอย่างเพียงพอในกลุ่มพนักงานบริษัทและยากหากต้องรับประทานอย่างต่อเนื่องทุกวัน กังวลผลข้างเคียงที่อาจจะเกิดขึ้น หากในอนาคตทราบข้อดีของชินไบโอดีทส์ในหลาย ๆ แง่มุมต่อสุขภาพมากขึ้นอาจมีแนวโน้มที่จะมีสัดส่วนของอาสาสมัครเพิ่มขึ้น

การทดลองสามารถทำได้ในงานวิจัยที่กำหนดผู้เข้าร่วมวิจัยมากขึ้น และมีระยะเวลาของการทดลองนานขึ้น เนื่องจากพบผลข้างเคียงจากการรับประทานซินไบโอติกส์เพียงเล็กน้อย ทั้งผู้ก 6% อุจจาระเหลวขึ้น 6% ผู้เข้าร่วมวิจัยที่มีผลข้างเคียงยินดีที่จะเข้าร่วมงานวิจัยจนจบการทดลอง

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพของซินไบโอติกส์กับความซึมเศร้าและความวิตกกังวลใน ระยะเวลาที่นานขึ้นเพื่อให้ลำไส้อยู่ในภาวะที่สมดุลนานขึ้น และกลุ่มตัวอย่างที่มากขึ้น เพื่อให้มีการทดลองที่ต่างกันอย่างชัดเจนและมีผลทางสถิติมากขึ้น
2. ควรมีการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับความซึมเศร้าและความวิตกกังวลในมาตรวัดอื่น ๆ เช่น ระดับ cortisol ระดับสารสื่อประสาท
3. ควรมีการเก็บข้อมูลพฤติกรรมกรกิน เพื่อประเมินภาวะสมดุลในลำไส้ก่อนการทดลอง และเพิ่มข้อจำกัดในระหว่างเข้าร่วมการศึกษาโดยควบคุมการบริโภคอาหารให้เหมือนกันทั้งสองกลุ่ม
4. ควรมีการติดตามหลังการทดลอง หลังจากที่ยุ่รับประทานซินไบโอติกส์ว่ามีผลการเปลี่ยนแปลงอย่างไร





บรรณานุกรม

## บรรณานุกรม

### ภาษาไทย

ปวีต วงษ์ประยูร. (2561). กลไกการออกฤทธิ์ต่อจิตประสาทของโพรไบโอติกส์และผลดีต่อ

สุขภาพจิต *Mechanisms of neuropsychological effects of probiotics and beneficial effects on mental health*. สืบค้น 5 กันยายน 2562, จาก [https://ccpe.pharmacycouncil.org/index.php?option=article\\_detail&subpage=article\\_detail&id=429](https://ccpe.pharmacycouncil.org/index.php?option=article_detail&subpage=article_detail&id=429)

มาโนช หล่อตระกูล. (2544). บทที่ 31 เครื่องมือประเมินปัญหาสุขภาพจิตและจิตเวช. *คู่มือการดูแลผู้มีปัญหาสุขภาพจิตและจิตเวชสำหรับแพทย์*, สืบค้น 11 ตุลาคม 2562 จาก <https://med.mahidol.ac.th/ramamental/sites/default/files/public/pdf/Psychiatric%20assessment%20tools.PDF>

กรมสุขภาพจิตเผยคนวัยทำงานในกทม.45% ถูก ความเครียดขโมยความสุข. (2561). สืบค้น 9 ตุลาคม 2562, จาก <https://www.dmh.go.th/news-dmh/view.asp?id=28253>

### ภาษาต่างประเทศ

Aan het Rot, M., Mathew, S. J., & Charney, D. S. (2009). Neurobiological mechanisms in major depressive disorder. *Cmaj*, *180*(3), 305-313.

Adinoff, B., Mefford, I., Waxman, R., & Linnoila, M. (1992). Vagal tone decreases following intravenous diazepam. *Psychiatry Research*, *41*(2), 89-97.

Ait-Belgnaoui, A., Durand, H., Cartier, C., Chaumaz, G., Eutamene, H., Ferrier, L. et.al (2012). Prevention of gut leakiness by a probiotic treatment leads to attenuated HPA response to an acute psychological stress in rats. *Psychoneuroendocrino*, *37*(11), 1885-1895.

- Aizawa, E., Tsuji, H., Asahara, T., Takahashi, T., Teraishi, T., Yoshida, S. et.al (2016). Possible association of Bifidobacterium and Lactobacillus in the gut microbiota of patients with major depressive disorder. *J affect disorders*, 202;254-257.
- Akbari, E., Asemi, Z., Daneshvar Kakhaki, R., Bahmani, F., Kouchaki, E., Tamtaji, O. R. et.al (2016). Effect of probiotic supplementation on cognitive function and metabolic status in Alzheimer's disease: a randomized, double-blind and controlled trial. *Front in aging neurosci*, 8, 256.
- Allen, A. P., Dinan, T. G., Clarke, G., & Cryan, J. F. (2017). A psychology of the human brain–gut–microbiome axis. *Social and personality psychology compass*, 11(4), 2309.
- Alvarez, M. A., & Moreno-Arribas, M. V. (2014). The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic amine-degrading microorganisms as a solution. *Trends in food sci tech*, 39(2), 146-155.
- Anglin, R., Surette, M., Moayyedi, P., & Bercik, P. (2015). Lost in translation: the gut microbiota in psychiatric illness. *Can J Psychiat*, 60(10), 460-463.
- Asaloo, S., Jahromi, G. P., Meftahi, G. H., & Sahraei, H. (2015). Posttraumatic stress disorder (ptsd): Mechanisms and possible treatments. *Neurophysiology*, 47(6), 482-489.
- Bailey, M. T., & Coe, C. L. (1999). Maternal separation disrupts the integrity of the intestinal microflora in infant rhesus monkeys. *J Int Soc Dev Psychobiol*, 35(2), 146-155.
- Bailey, M. T., Dowd, S. E., Galley, J. D., Hufnagle, A. R., Allen, R. G., & Lyte, M. (2011). Exposure to a social stressor alters the structure of the intestinal microbiota: implications for stressor-induced immunomodulation. *Brain behave Immun*, 25(3), 397-407.

- Bailey, M. T., Dowd, S. E., Parry, N. M., Galley, J. D., Schauer, D. B., & Lyte, M. (2010). Stressor exposure disrupts commensal microbial populations in the intestines and leads to increased colonization by *Citrobacter rodentium*. *Infect Immun*, 78(4), 1509-1519.
- Bailey, M. T., Lubach, G. R., & Coe, C. L. (2004). Prenatal stress alters bacterial colonization of the gut in infant monkeys. *J Pediatr Gastr Nutr*, 38(4), 414-421.
- Banks, W. A. (2005). Blood-brain barrier transport of cytokines: a mechanism for neuropathology. *Curr Pharm Design*, 11(8), 973-984.
- Barclay, G. R., & Turnberg, L. A. (1987). Effect of psychological stress on salt and water transport in the human jejunum. *Gastroenterology*, 93(1), 91-97.
- Barrett, E., Ross, R. P., O'toole, P. W., Fitzgerald, G. F., & Stanton, C. (2012).  $\gamma$ -Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine. *J Appl Microbiol*, 113(2), 411-417.
- Bengmark, S. (2013). Gut microbiota, immune development and function. *Pharmacol Res*, 69(1), 87-113.
- Benton, D., Williams, C., & Brown, A. (2007). Impact of consuming a milk drink containing a probiotic on mood and cognition. *Eur J Clin Nutr*, 61(3), 355.
- Bercik, P., Park, A. J., Sinclair, D., Khoshdel, A., Lu, J., Huang, X. et al. (2011). The anxiolytic effect of *Bifidobacterium longum* NCC3001 involves vagal pathways for gut-brain communication. *Neurogastroent Motil*, 23(12), 1132-1139.
- Berer, K., & Krishnamoorthy, G. (2012). Commensal gut flora and brain autoimmunity: a love or hate affair?. *Acta neuropathol*, 123(5), 639-651.
- Berkenbosch, F., Van Oers, J. W. A. M., Del Rey, A., Tilders, F. et al. (1987). Corticotropin-releasing factor-producing neurons in the rat activated by interleukin-1. *Science*, 238(4826), 524-526.

- Bermudez-Brito, M., Plaza-Díaz, J., Muñoz-Quezada, S., Gómez-Llorente, C., & Gil, A. (2012). Probiotic mechanisms of action. *Ann Nutr Metab*, *61*(2), 160-174.
- Besselink, M. G., Buskens, E., Boermeester, M. A., Timmerman, H. M., Nieuwenhuijs, V. B., Bollen, T. L., ... & Schaapherder, A. F. (2008). Probiotic prophylaxis in patients with predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Ned Tijdschr Genees*, *152*(12), 685-696.
- Bested, A. C., Logan, A. C., & Selhub, E. M. (2013). Intestinal microbiota, probiotics and mental health: from Metchnikoff to modern advances: Part II—contemporary contextual research. *Gut Pathogens*, *5*(1), 3.
- Boltwood, M. D., Taylor, C. B., Burke, M. B., Grogan, H., & Giacomini, J. (1993). Anger report predicts coronary artery vasomotor response to mental stress in atherosclerotic segments. *Am J Cardiol*, *72*(18), 1361-1365.
- Boursi, B., Mamtani, R., Haynes, K., & Yang, Y. X. (2016). Parkinson's disease and colorectal cancer risk—A nested case control study. *Cancer Epidemiol*, *43*, 9-14.
- Boyle, R. J., Robins-Browne, R. M., & Tang, M. L. (2006). Probiotic use in clinical practice: what are the risks?. *Am J Clin Nutr*, *83*(6), 1256-1264.
- Bravo, J. A., Forsythe, P., Chew, M. V., Escaravage, E., Savignac, H. M., Dinan, T. G., ... & Cryan, J. F. (2011). Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc Soc Acad Sci* *108*(38), 16050-16055.
- Bravo, J. A., Forsythe, P., Chew, M. V., Escaravage, E., Savignac, H. M., Dinan, T. G., ... & Cryan, J. F. (2011). Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc Soc Acad Sci*, *108*(38), 16050-16055.

- Bravo, J. A., Forsythe, P., Chew, M. V., Escaravage, E., Savignac, H. M., Dinan, T. G., ... & Cryan, J. F. (2011). Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc Soc Acad Sci*, 108(38), 16050-16055.
- Brown-Grant, K., Harris, G. W., & Reichlin, S. (1954). The effect of emotional and physical stress on thyroid activity in the rabbit. *J Physiol*, 126(1), 29.
- Browning, K. N., Verheijden, S., & Boeckxstaens, G. E. (2017). The vagus nerve in appetite regulation, mood, and intestinal inflammation. *Gastroenterology*, 152(4), 730-744.
- Bu, X. L., Yao, X. Q., Jiao, S. S., Zeng, F., Liu, Y. H., Xiang, Y. et al. (2015). A study on the association between infectious burden and Alzheimer's disease. *Eur J Neurol*, 22(12), 1519-1525.
- Calabrese, J. R., Kling, M. A., & Gold, P. W. (1987). Alterations in immunocompetence during stress, bereavement, and depression: Focus on neuroendocrine regulation. *Am J Psychiat*.
- Carabotti, M., Scirocco, A., Maselli, M. A., & Severi, C. (2015). The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Ann gastroenterology*, 28(2), 203.
- Carrasco, G. A., & Van de Kar, L. D. (2003). Neuroendocrine pharmacology of stress. *Eur J Pharmacol*, 463(1-3), 235-272.
- Cassani, E., Barichella, M., Canello, R., Cavanna, F., Iorio, L., Cereda, E., ... & Pezzoli, G. (2015). Increased urinary indoxyl sulfate (indican): new insights into gut dysbiosis in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat D*, 21(4), 389-393.
- Cassani, E., Privitera, G., Pezzoli, G., Pusani, C., Madio, C., Iorio, L., & Barichella, M. (2011). Use of probiotics for the treatment of constipation in Parkinson's disease patients. *Minerva gastroenterologica e dietologica*, 57(2), 117-121.



- Choi, H. J., Lee, N. K., & Paik, H. D. (2015). Health benefits of lactic acid bacteria isolated from kimchi, with respect to immunomodulatory effects. *Food Sci and Biotechnol*, 24(3), 783-789.
- Claesson, M. J., Jeffery, I. B., Conde, S., Power, S. E., O'connor, E. M., Cusack, S., ... & Fitzgerald, G. F. (2012). Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature*, 488(7410), 178.
- Clarke, G., Grenham, S., Scully, P., Fitzgerald, P., Moloney, R. D., Shanahan, F., ... & Cryan, J. F. (2013). The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Mol Psychiatr*, 18(6), 666.
- Clarke, M. B., Hughes, D. T., Zhu, C., Boedeker, E. C., & Sperandio, V. (2006). The QseC sensor kinase: a bacterial adrenergic receptor. *Pro Soc Acad Sci*, 103(27), 10420-10425.
- Cohen, H., Benjamin, J., Geva, A. B., Matar, M. A., Kaplan, Z. et al. (2000). Autonomic dysregulation in panic disorder and in post-traumatic stress disorder: application of power spectrum analysis of heart rate variability at rest and in response to recollection of trauma or panic attacks. *Psychiat Res*, 96(1), 1-13.
- Collins, S. M. (2001). IV. Modulation of intestinal inflammation by stress: basic mechanisms and clinical relevance. *Am J Physiol-Gastr L*, 280(3), G315-G318.
- Coury, D. L., Ashwood, P., Fasano, A., Fuchs, G., Geraghty, M., Kaul, A. et al. (2012). Gastrointestinal conditions in children with autism spectrum disorder: developing a research agenda. *Pediatrics*, 130(Supplement 2), S160-S168.
- Cryan, J. F., & Dinan, T. G. (2012). Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci*, 13(10), 701.
- Cryan, J. F., & O'mahony, S. M. (2011). The microbiome- gut- brain axis: from bowel to behavior. *Neurogastroent Motil*, 23(3), 187-192.

- Dakak, N., Quyyumi, A. A., Eisenhofer, G., Goldstein, D. S., & Cannon III, R. O. (1995). Sympathetically mediated effects of mental stress on the cardiac microcirculation of patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol*, 76(3), 125-130.
- De Angelis, M., Piccolo, M., Vannini, L., Siragusa, S., De Giacomo, A., Serrazanetti, D. et al. (2013). Fecal microbiota and metabolome of children with autism and pervasive developmental disorder not otherwise specified. *PloS one*, 8(10), e76993.
- De Kloet, E. R. (2000). Stress in the brain. *Eur J Pharmacol*, 405(1-3), 187-198.
- De la Fuente, M., Delgado, M., & Gomariz, R. P. (1996). VIP modulation of immune cell functions. *Adv Neuroimmunol*, 6(1), 75-91.
- de Vos, W. M., & de Vos, E. A. (2012). Role of the intestinal microbiome in health and disease: from correlation to causation. *Nutrition reviews*, 70(suppl\_1), S45-S56.
- Desbonnet, L., Garrett, L., Clarke, G., Bienenstock, J., & Dinan, T. G. (2008). The probiotic *Bifidobacteria infantis*: an assessment of potential antidepressant properties in the rat. *J Psychiat Res*, 43(2), 164-174.
- Desbonnet, L., Garrett, L., Clarke, G., Kiely, B., Cryan, J. F., & Dinan, T. G. (2010). Effects of the probiotic *Bifidobacterium infantis* in the maternal separation model of depression. *Neuroscience*, 170(4), 1179-1188.
- Deshmukh, H. S., Liu, Y., Menkiti, O. R., Mei, J., Dai, N., O'leary, C. E., ... & Worthen, G. S. (2014). The microbiota regulates neutrophil homeostasis and host resistance to *Escherichia coli* K1 sepsis in neonatal mice. *Nat Med*, 20(5), 524.
- Diamond, B., Huerta, P. T., Tracey, K., & Volpe, B. T. (2011). It takes guts to grow a brain: increasing evidence of the important role of the intestinal microflora in neuro- and immune- modulatory functions during development and adulthood. *Bioessays*, 33(8), 588-591.

- Diamond, D. M., Campbell, A. M., Park, C. R., Halonen, J., & Zoladz, P. R. (2007). The temporal dynamics model of emotional memory processing: a synthesis on the neurobiological basis of stress-induced amnesia, flashbulb and traumatic memories, and the Yerkes-Dodson law. *Neural Plast*, 2007.
- Diamond, D. M., Campbell, A. M., Park, C. R., Woodson, J. C., Conrad, C. D., Bachstetter, A. D. et al. (2006). Influence of predator stress on the consolidation versus retrieval of long-term spatial memory and hippocampal spinogenesis. *Hippocampus*, 16(7), 571-576.
- Dinan, T. G., Stanton, C., & Cryan, J. F. (2013). Psychobiotics: a novel class of psychotropic. *Biol Psychiat*, 74(10), 720-726.
- Dinan, T. G., Stanton, C., & Cryan, J. F. (2013). Psychobiotics: a novel class of psychotropic. *Biol Psychiat*, 74(10), 720-726.
- Dockray, G. J. (2013). Enteroendocrine cell signalling via the vagus nerve. *Curr Opin Pharmacol*, 13(6), 954-958.
- Domes, G., Heinrichs, M., Reichwald, U., & Hautzinger, M. (2002). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis reactivity to psychological stress and memory in middle-aged women: High responders exhibit enhanced declarative memory performance. *Psychoneuroendocrinol*, 27(7), 843-853.
- Donato, K. A., Gareau, M. G., Wang, Y. J. J., & Sherman, P. M. (2010). *Lactobacillus rhamnosus* GG attenuates interferon- $\gamma$  and tumour necrosis factor- $\alpha$ -induced barrier dysfunction and pro-inflammatory signalling. *Microbiology*, 156(11), 3288-3297.
- Eckburg, P. B., Bik, E. M., Bernstein, C. N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M. et al. (2005). Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*, 308(5728), 1635-1638.

- Elenkov, I. J., Webster, E. L., Torpy, D. J., & Chrousos, G. P. (1999). Stress, Corticotropin- Releasing Hormone, Glucocorticoids, and the Immune/Inflammatory Response: Acute and Chronic Effects a. *Ann NY Acad Sci*, 876(1), 1-13.
- Erny, D., de Angelis, A. L. H., Jaitin, D., Wieghofer, P., Staszewski, O., David, E., ... & Schwierzeck, V. (2015). Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. *Nat Neurosci*, 18(7), 965.
- Fatemeh, N., Mohammad, V., Hedayat, S., Soheila, A., & Ehsan, S. (2011). Physical and psychological stress have similar effects on gastric acid and pepsin secretions in rat. *J Stress Physiol Biochem*, 7(2).
- Felger, J. C., & Lotrich, F. E. (2013). Inflammatory cytokines in depression: neurobiological mechanisms and therapeutic implications. *Neuroscience*, 246, 199-229.
- Finegold, S. M., Dowd, S. E., Gontcharova, V., Liu, C., Henley, K. E., Wolcott, R. D. et al. (2010). Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children. *Anaerobe*, 16(4), 444-453.
- Forsyth, C. B., Shannon, K. M., Kordower, J. H., Voigt, R. M., Shaikh, M., Jaglin, J. et al. (2011). Increased intestinal permeability correlates with sigmoid mucosa alpha-synuclein staining and endotoxin exposure markers in early Parkinson's disease. *PLoS one*, 6(12), e28032.
- Frost, G., Sleeth, M. L., Sahuri-Arisoylu, M., Lizarbe, B., Cerdan, S., Brody, L. et al. (2014). The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Nat Commun*, 5, 3611.
- Furusawa, Y., Obata, Y., Fukuda, S., Endo, T. A., Nakato, G., Takahashi, D. et al. (2013). Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature*, 504(7480), 446.

- Gagliano, H., Delgado-Morales, R., Sanz-Garcia, A., & Armario, A. (2014). High doses of the histone deacetylase inhibitor sodium butyrate trigger a stress-like response. *Neuropharmacology*, *79*, 75-82.
- Gala, R. R. (1991). Prolactin and growth hormone in the regulation of the immune system. *Proc Soc Exp Biol Med*, *198*(1), 513-527.
- Gezginc, Y., Akyol, I., Kuley, E., & Özogul, F. (2013). Biogenic amines formation in *Streptococcus thermophilus* isolated from home-made natural yogurt. *Food chem*, *138*(1), 655-662.
- Ghanbari, Z., Khosravi, M., Hoseini Namvar, F., Zarrin Ehteram, B., Sarahian, N. et al. (2015). Effect of intermittent feeding on metabolic symptoms of chronic stress in female NMRI mice. *ISMJ*, *18*(5), 982-991.
- Goehler, L. E., Park, S. M., Opitz, N., Lyte, M., & Gaykema, R. P. (2008). *Campylobacter jejuni* infection increases anxiety-like behavior in the holeboard: possible anatomical substrates for viscerosensory modulation of exploratory behavior. *Brain Behav Immun*, *22*(3), 354-366.
- Goldstone, A. P. (2006). The hypothalamus, hormones, and hunger: alterations in human obesity and illness. *Prog Brain Res*, *153*, 57-73.
- Golubeva, A. V., Crampton, S., Desbonnet, L., Edge, D., O'Sullivan, O., Lomasney, K. W. et al. (2015). Prenatal stress-induced alterations in major physiological systems correlate with gut microbiota composition in adulthood. *Psychoneuroendocrino*, *60*, 58-74.
- Gonsalkorale, W. M., Perrey, C., Pravica, V., Whorwell, P. J., & Hutchinson, I. V. (2003). Interleukin 10 genotypes in irritable bowel syndrome: evidence for an inflammatory component?. *Gut*, *52*(1), 91-93.
- Gould, E., & Tanapat, P. (1999). Stress and hippocampal neurogenesis. *Biol Psychiat*, *46*(11), 1472-1479.
- Gould, E., Tanapat, P., McEwen, B. S., Flügge, G., & Fuchs, E. (1998). Proliferation of granule

- cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress. *Pro Soc Acad Sci*, 95(6), 3168-3171.
- Goya, R. G., Castro, M. G., Hannah, M. J., Sosa, Y. E., & Lowry, P. J. (1993). Thymosin peptides stimulate corticotropin release by a calcium-dependent mechanism. *Neuroendocrinology*, 57(2), 230-235.
- Grenham, S., Clarke, G., Cryan, J. F., & Dinan, T. G. (2011). Brain–gut–microbe communication in health and disease. *Front Physiol*, 2, 94.
- Grossi, E., Melli, S., Dunca, D., & Terruzzi, V. (2016). Unexpected improvement in core autism spectrum disorder symptoms after long-term treatment with probiotics. *SAGE open med case rep*, 4, 2050313X16666231.
- Guthrie, G. D., & Nicholson-Guthrie, C. S. (1989). gamma-Aminobutyric acid uptake by a bacterial system with neurotransmitter binding characteristics. *Proc Soc Acad Sci*, 86(19), 7378-7381.
- Harach, T., Marungruang, N., Duthilleul, N., Cheatham, V., Mc Coy, K. D., Frisoni, G. et al. (2017). Reduction of Abeta amyloid pathology in APPPS1 transgenic mice in the absence of gut microbiota. *Sci Rep-UK*, 7, 41802.
- Hemarajata, P., Gao, C., Pflughoeft, K. J., Thomas, C. M., Saulnier, D. M., Spinler, J. K. et al. (2013). Lactobacillus reuteri-specific immunoregulatory gene rsiR modulates histamine production and immunomodulation by Lactobacillus reuteri. *J Bacteriol*, 195(24), 5567-5576.
- Hennequin, C., Kauffmann-Lacroix, C., Jobert, A., Viard, J. P., Ricour, C., Jacquemin, J. et al. (2000). Possible role of catheters in Saccharomyces boulardii fungemia. *Eur J Clin Microbiol*, 19(1), 16-20.
- Herd, J. A. (1991). Cardiovascular response to stress. *Physiol Rev*, 71(1), 305-330.

- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., ... & Calder, P. C. (2014). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastro Hepat*, 11(8), 506.
- Holmes, T. H., & Rahe, R. H. (1967). The social readjustment rating scale. *J Psychosom Res*.
- Holzer, P., & Farzi, A. (2014). Neuropeptides and the microbiota-gut-brain axis. *Adv Exp Med Biol* (pp. 195-219). Springer, New York, NY.
- Hommel, D., Van Den Blink, B., Plasse, T., Bartelsman, J., Xu, C., Macpherson, B., ... & Van Deventer, S. (2002). Inhibition of stress-activated MAP kinases induces clinical improvement in moderate to severe Crohn's disease. *Gastroenterology*, 122(1), 7-14.
- Horn, T., & Klein, J. (2013). Neuroprotective effects of lactate in brain ischemia: dependence on anesthetic drugs. *Neurochem Int*, 62(3), 251-257.
- Hosoi, T., Okuma, Y., & Nomura, Y. (2002). The mechanisms of immune-to-brain communication in inflammation as a drug target. *Curr Drug Targets-Inflammation & Allergy*, 1(3), 257-262.
- Hsiao, E. Y., McBride, S. W., Hsien, S., Sharon, G., Hyde, E. R., McCue, T. et al. (2013). Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell*, 155(7), 1451-1463.
- Inan, M. S., Rasoulopour, R. J., Yin, L., Hubbard, A. K., Rosenberg, D. W. et al. (2000). The luminal short-chain fatty acid butyrate modulates NF- $\kappa$ B activity in a human colonic epithelial cell line. *Gastroenterology*, 118(4), 724-734.
- Izquierdo-Casas, J., Comas-Basté, O., Latorre-Moratalla, M. L., Lorente-Gascón, M., Duelo, A., Vidal-Carou, M. C., & Soler-Singla, L. (2018). Low serum diamine oxidase (DAO) activity levels in patients with migraine. *J Physiol Biochem*, 74(1), 93-99.
- Janik, R., Thomason, L. A., Stanisiz, A. M., Forsythe, P., Bienenstock, J. et al. (2016).

- Magnetic resonance spectroscopy reveals oral *Lactobacillus* promotion of increases in brain GABA, N-acetyl aspartate and glutamate. *Neuroimage*, 125, 988-995.
- Jiang, H., Ling, Z., Zhang, Y., Mao, H., Ma, Z., Yin, Y., ... & Li, L. (2015). Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder. *Brain Behav Immun*, 48, 186-194.
- Jiang, W., Babyak, M., Krantz, D. S., Waugh, R. A., Coleman, R. E., Hanson, M. M. et al. (1996). Mental stress—induced myocardial ischemia and cardiac events. *JAMA*, 275(21), 1651-1656.
- Joosten, H. M. L. J., & Northolt, M. D. (1989). Detection, growth, and amine-producing capacity of lactobacilli in cheese. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55(9), 2356-2359.
- Kabouridis, P. S., Lasrado, R., McCallum, S., Chng, S. H., Snippert, H. J., Clevers, H. et al. (2015). Microbiota controls the homeostasis of glial cells in the gut lamina propria. *Neuron*, 85(2), 289-295.
- Kałużna-Czaplińska, J., & Błaszczyk, S. (2012). The level of arabinitol in autistic children after probiotic therapy. *Nutrition*, 28(2), 124-126.
- Kario, K., Bruce, S. M., & Thomas, G. P. (2003). Disasters and the heart: a review of the effects of earthquake-induced stress on cardiovascular disease. *Hypertension Research*, 26(5), 355-367.
- Karpa, K. D. (2007). Probiotics for *Clostridium difficile* diarrhea: putting it into perspective. *Ann Pharmacother.*, 41(7-8), 1284-1287.
- Kato-Kataoka, A., Nishida, K., Takada, M., Kawai, M., Kikuchi-Hayakawa, H., Suda, K. et al. (2016). Fermented milk containing *Lactobacillus casei* strain Shirota preserves the diversity of the gut microbiota and relieves abdominal dysfunction in healthy medical students exposed to academic stress. *Appl. Environ. Microbiol.*, 82(12), 3649-3658.
- Kawashima, K., Misawa, H., Moriwaki, Y., Fujii, Y. X., Fujii, T., Horiuchi, Y. et al.



- (2007). Ubiquitous expression of acetylcholine and its biological functions in life forms without nervous systems. *Life Sci*, 80(24-25), 2206-2209.
- Kelly, J. R., Borre, Y., O'Brien, C., Patterson, E., El Aidy, S., Deane, J. et al. (2016). Transferring the blues: depression-associated gut microbiota induces neurobehavioural changes in the rat. *J Psychiat Res*, 82, 109-118.
- Kelly, J. R., Kennedy, P. J., Cryan, J. F., Dinan, T. G., Clarke, G. et al. (2015). Breaking down the barriers: the gut microbiome, intestinal permeability and stress-related psychiatric disorders. *Front Cell Neurosci*, 9, 392.
- Keshavarzian, A., Green, S. J., Engen, P. A., Voigt, R. M., Naqib, A., Forsyth, C. B. et al. (2015). Colonic bacterial composition in Parkinson's disease. *Movement Disord*, 30(10), 1351-1360.
- Khansari, D. N., Murgo, A. J., & Faith, R. E. (1990). Effects of stress on the immune system. *Immunol Today*, 11, 170-175.
- Kiecolt-Glaser, J. K., & Glaser, R. (1991). Stress and immune function in humans. In Robert Ader (Ed.), *Psychoneuroimmunology* (2<sup>nd</sup> ed.). New York: Academic Press. 849-867.
- Kim, N., Yun, M., Oh, Y. J., & Choi, H. J. (2018). Mind-altering with the gut: Modulation of the gut-brain axis with probiotics. *J Microbiol*, 56(3), 172-182.
- Kimura, I., Ozawa, K., Inoue, D., Imamura, T., Kimura, K., Maeda, T. et al. (2013). The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43. *Na Ccommun*, 4, 1829.
- Kirschbaum, C., Wolf, O. T., May, M., Wippich, W., & Hellhammer, D. H. (1996). Stress-and treatment-induced elevations of cortisol levels associated with impaired declarative memory in healthy adults. *Life sciences*, 58(17), 1475-1483.
- Klaenhammer, T. R. (2007). Probiotics and prebiotics. In *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, Third Edition*. ASM. 891-907.

- Köhler, S., Thomas, A. J., Lloyd, A., Barber, R., Almeida, O. P., & O'Brien, J. T. (2010). White matter hyperintensities, cortisol levels, brain atrophy and continuing cognitive deficits in late-life depression. *Brit J Psychiat*, *196*(2), 143-149.
- Konturek, P. C., Brzozowski, T., & Konturek, S. J. (2011). Stress and the gut: pathophysiology, clinical consequences, diagnostic approach and treatment options. *J Physiol Pharmacol*, *62*(6), 591-599.
- Kunze, W. A., Mao, Y. K., Wang, B., Huizinga, J. D., Ma, X., Forsythe, P., & Bienenstock, J. (2009). Lactobacillus reuteri enhances excitability of colonic AH neurons by inhibiting calcium<sup>2+</sup> dependent potassium channel opening. *J Cell Mol Med*, *13*(8b), 2261-2270.
- Landete, J. M., De Las Rivas, B., Marcobal, A., & Munoz, R. (2008). Updated molecular knowledge about histamine biosynthesis by bacteria. *Crit Rev Food Sci*, *48*(8), 697-714.
- Latalova, K., Hajda, M., & Prasko, J. (2017). Can gut microbes play a role in mental disorders and their treatment?. *Psychiat Danub*, *29*(1), 28-30.
- Lawrence, M. S., & Sapolsky, R. M. (1994). Glucocorticoids accelerate ATP loss following metabolic insults in cultured hippocampal neurons. *Brain Res*, *646*(2), 303-306.
- Ley, R. E., Peterson, D. A., & Gordon, J. I. (2006). Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell*, *124*(4), 837-848.
- Li, S., Wang, C., Wang, W., Dong, H., Hou, P., & Tang, Y. (2008). Chronic mild stress impairs cognition in mice: from brain homeostasis to behavior. *Life Sci*, *82*(17-18), 934-942.
- Lim, S. K., Kwon, M. S., Lee, J., Oh, Y. J., Jang, J. Y., Lee, J. H., ... & Choi, H. J. (2017). *Weissella cibaria* WIKIM28 ameliorates atopic dermatitis-like skin lesions by inducing tolerogenic dendritic cells and regulatory T cells in BALB/c mice. *Sci Rep-UK*, *7*, 40040.
- Liu, L., & Zhu, G. (2018). Gut-brain axis and mood disorder. *Front Psychiat*, *9*, 223.

- Logan, A. C., & Katzman, M. (2005). Major depressive disorder: probiotics may be an adjuvant therapy. *Med Hypotheses*, *64*(3), 533-538.
- Macfarlane, S., & Macfarlane, G. T. (2003). Regulation of short-chain fatty acid production. *Proc Nutr Soc*, *62*(1), 67-72.
- MACPHERSON, A. J., & UHR, T. (2004). Compartmentalization of the mucosal immune responses to commensal intestinal bacteria. *Ann NY Acad Sci*, *1029*(1), 36-43.
- Maintz, L., & Novak, N. (2007). Histamine and histamine intolerance. *Am J Clin Nutr*, *85*(5), 1185-1196.
- Mantyh, P. W. (1991). Substance P and the inflammatory and immune response. *Ann NY Acad of Sci*, *632*(1), 263-271.
- Marsland, A. L., Petersen, K. L., Sathanoori, R., Muldoon, M. F., Neumann, S. A., Ryan, C., ... & Manuck, S. B. (2006). Interleukin-6 covaries inversely with cognitive performance among middle-aged community volunteers. *Psychosom Med*, *68*(6), 895-903.
- Martin-Subero, M., Anderson, G., Kanchanatawan, B., Berk, M., & Maes, M. (2016). Comorbidity between depression and inflammatory bowel disease explained by immune-inflammatory, oxidative, and nitrosative stress; tryptophan catabolite; and gut-brain pathways. *CNS spectrums*, *21*(2), 184-198.
- Mass, M., Kubera, M., & Leunis, J. C. (2008). The gut-brain barrier in major depression: intestinal mucosal dysfunction with an increased translocation of LPS from gram negative enterobacteria (leaky gut) plays a role in the inflammatory pathophysiology of depression. *Neuroendocrinol Lett*, *29*(1), 117-124.
- Mayer, E. A. (2011). Gut feelings: the emerging biology of gut-brain communication. *Nat Rev Neurosci*, *12*(8), 453.
- McCarthy, L., Wetzel, M., Sliker, J. K., Eisenstein, T. K., & Rogers, T. J. (2001). Opioids, opioid receptors, and the immune response. *Drug Alcohol Depen*, *62*(2), 111-123.
- McEwen, B. S. (1999). Stress and hippocampal plasticity. *Annu Rev Neurosci*, *22*(1),

105-122.

- McEwen, B. S., & Sapolsky, R. M. (1995). Stress and cognitive function. *Curr Opin Neurobiol*, 5(2), 205-216.
- McEwen, B. S., Weiss, J. M., & Schwartz, L. S. (1968). Selective retention of corticosterone by limbic structures in rat brain. *Nature*, 220(5170), 911-912.
- Melchior, M., Caspi, A., Milne, B. J., Danese, A., Poulton, R., & Moffitt, T. E. (2007). Work stress precipitates depression and anxiety in young, working women and men. *Psychol. Med.*, 37(8), 1119-1129.
- Messaoudi, M., Lalonde, R., Violle, N., Javelot, H., Desor, D., Nejdi, A., ... & Cazaubiel, J. M. (2011). Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (Lactobacillus helveticus R0052 and Bifidobacterium longum R0175) in rats and human subjects. *Brit J Nutr*, 105(5), 755-764.
- Messaoudi, M., Violle, N., Bisson, J. F., Desor, D., Javelot, H., & Rougeot, C. (2011). Beneficial psychological effects of a probiotic formulation (Lactobacillus helveticus R0052 and Bifidobacterium longum R0175) in healthy human volunteers. *Gut microbes*, 2(4), 256-261.
- Meuer, K., Pitzer, C., Teismann, P., Krüger, C., Göricke, B., Laage, R., ... & Dietz, G. P. (2006). Granulocyte colony stimulating factor is neuroprotective in a model of Parkinson's disease. *J Neurochem*, 97(3), 675-686.
- Miller, A. H., Haroon, E., Raison, C. L., & Felger, J. C. (2013). Cytokine targets in the brain: impact on neurotransmitters and neurocircuits. *Depress Anxiety*, 30(4), 297-306.
- Million, M., Taché, Y., & Anton, P. (1999). Susceptibility of Lewis and Fischer rats to stress-induced worsening of TNB-colitis: protective role of brain CRF. *Am J Physiol-Gastr L*, 276(4), G1027-G1036.
- Moloney, R. D., Desbonnet, L., Clarke, G., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2014). The microbiome: stress, health and disease. *Mamm Genome*, 25(1-2), 49-74.

- Mountzouris, K. C., Tsirtsikos, P., Kalamara, E., Nitsch, S., Schatzmayr, G., & Fegeros, K. (2007). Evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. *Poultry Sci*, *86*(2), 309-317.
- Nasihatkon, Z. S., Khosravi, M., Bourbour, Z., Sahraei, H., Ranjbaran, M., Hassantash, S. M., ... & Baghlani, K. (2014). Inhibitory effect of NMDA receptors in the ventral tegmental area on hormonal and eating behavior responses to stress in rats. *Behav Neurol*, *2014*.
- O'Mahony, L., McCarthy, J., Kelly, P., Hurley, G., Luo, F., Chen, K., ... & Quigley, E. M. (2005). *Lactobacillus* and *bifidobacterium* in irritable bowel syndrome: symptom responses and relationship to cytokine profiles. *Gastroenterology*, *128*(3), 541-551.
- Obermeier, B., Daneman, R., & Ransohoff, R. M. (2013). Development, maintenance and disruption of the blood-brain barrier. *Nat Med*, *19*(12), 1584.
- O'Mahony, S. M., Marchesi, J. R., Scully, P., Codling, C., Ceolho, A. M., Quigley, E. M., ... & Dinan, T. G. (2009). Early life stress alters behavior, immunity, and microbiota in rats: implications for irritable bowel syndrome and psychiatric illnesses. *Biol Psychiat*, *65*(3), 263-267.
- Ortolani, C., & Pastorello, E. A. (2006). Food allergies and food intolerances. *Best Pract Res Cl Ga*, *20*(3), 467-483.
- Overduin, J., Schoterman, M. H., Calame, W., Schonewille, A. J., & Ten Bruggencate, S. J. (2013). Dietary galacto-oligosaccharides and calcium: effects on energy intake, fat-pad weight and satiety-related, gastrointestinal hormones in rats. *Brit J Nutr*, *109*(7), 1338-1348.
- Özogul, F. (2011). Effects of specific lactic acid bacteria species on biogenic amine production by foodborne pathogen. *Int J Food Sci Tech*, *46*(3), 478-484.
- Parracho, H. M., Bingham, M. O., Gibson, G. R., & McCartney, A. L. (2005). Differences

- between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. *J Med Microbiol*, 54(10), 987-991.
- Pandey, K. R., Naik, S. R., & Vakil, B. V. (2015). Probiotics, prebiotics and synbiotics-a review. *J Food Technol*, 52(12), 7577-7587.
- Payne, J. D., Jackson, E. D., Hoscheidt, S., Ryan, L., Jacobs, W. J., & Nadel, L. (2007). Stress administered prior to encoding impairs neutral but enhances emotional long-term episodic memories. *Learn Memory*, 14(12), 861-868.
- Perez-Burgos, A., Mao, Y. K., Bienenstock, J., & Kunze, W. A. (2014). The gut-brain axis rewired: adding a functional vagal nicotinic “sensory synapse”. *The FASEB Journal*, 28(7), 3064-3074.
- Prakash, A., Medhi, B., & Chopra, K. (2013). Granulocyte colony stimulating factor (GCSF) improves memory and neurobehavior in an amyloid- $\beta$  induced experimental model of Alzheimer's disease. *Pharmacol Biochem Be*, 110, 46-57.
- Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K. S., Manichanh, C., ... & Mende, D. R. (2010). A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *nature*, 464(7285), 59.
- Rafiki, A., Boulland, J. L., Halestrap, A. P., Ottersen, O. P., & Bergersen, L. (2003). Highly differential expression of the monocarboxylate transporters MCT2 and MCT4 in the developing rat brain. *Neuroscience*, 122(3), 677-688.
- Redei, E. (1992). Immuno-reactive and bioactive corticotropin-releasing factor in rat thymus. *Neuroendocrinology*, 55(1), 115-118.
- Reiche, E. M. V., Nunes, S. O. V., & Morimoto, H. K. (2004). Stress, depression, the immune system, and cancer. *Lancet Oncol*, 5(10), 617-625.
- Reznikov, L. R., Grillo, C. A., Piroli, G. G., Pasumarthi, R. K., Reagan, L. P., & Fadel, J. (2007).

- Acute stress-mediated increases in extracellular glutamate levels in the rat amygdala: differential effects of antidepressant treatment. *Eur J Neurosci*, 25(10), 3109-3114.
- Rhee, S. H., Pothoulakis, C., & Mayer, E. A. (2009). Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis. *Nat Rev Gastro Hepat*, 6(5), 306.
- Rios, A. C., Maurya, P. K., Pedrini, M., Zeni-Graiff, M., Asevedo, E., Mansur, R. B., ... & Brietzke, E. (2017). Microbiota abnormalities and the therapeutic potential of probiotics in the treatment of mood disorders. *Rev Neuroscience*, 28(7), 739-749.
- Ríos-Covián, D., Ruas-Madiedo, P., Margolles, A., Gueimonde, M., de los Reyes-Gavilán, C. G., & Salazar, N. (2016). Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health. *Front Microbiol*, 7, 185.
- Rivier, C., & Vale, W. (1985). Effect of the long-term administration of corticotropin-releasing factor on the pituitary-adrenal and pituitary-gonadal axis in the male rat. *J Clin Invest*, 75(2), 689-694.
- Rogers, G. B., Keating, D. J., Young, R. L., Wong, M. L., Licinio, J., & Wesselingh, S. (2016). From gut dysbiosis to altered brain function and mental illness: mechanisms and pathways. *Mol Psychiatr*, 21(6), 738.
- Roosendaal, B., McEwen, B. S., & Chattarji, S. (2009). Stress, memory and the amygdala. *Nat Rev Neurosci*, 10(6), 423.
- Rozanski, A., Blumenthal, J. A., & Kaplan, J. (1999). Impact of psychological factors on the pathogenesis of cardiovascular disease and implications for therapy. *Circulation*, 99(16), 2192-2217.
- Sadeghi-Gharajehdagh, S., Sahraei, H., Bahari, Z., Meftahi, G. H., Jahromi, G. P., & Ali-Beik, H. (2017). Effect of amygdaloid complex inhibition on nicotine-induced conditioned place preference in rats. *J Appl Pharm Sci*, 7(03), 40-47.
- Salam, O. M. A. (2004). Fluoxetine and sertraline stimulate gastric acid secretion via a vagal

- pathway in anaesthetised rats. *Pharmacol Res*, 50(3), 309-316.
- Salminen, M. K., Rautelin, H., Tynkkynen, S., Poussa, T., Saxelin, M., Valtonen, V., & Järvinen, A. (2004). Lactobacillus bacteremia, clinical significance, and patient outcome, with special focus on probiotic *L. rhamnosus* GG. *Clin Infect Dis*, 38(1), 62-69.
- Sandi, C. (2013). Stress and cognition. *Wires Cogn Sci*, 4(3), 245-261.
- Sapolsky, R. M., & Pulsinelli, W. A. (1985). Glucocorticoids potentiate ischemic injury to neurons: therapeutic implications. *Science*, 229(4720), 1397-1400.
- Sarkar, A., Lehto, S. M., Harty, S., Dinan, T. G., Cryan, J. F., & Burnet, P. W. (2016). Psychobiotics and the manipulation of bacteria–gut–brain signals. *Trends Neurosci*, 39(11), 763-781.
- Savage, D. C. (1977). Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu Rev Microbiol*, 31(1), 107-133.
- Savignac, H. M., Kiely, B., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2014). Bifidobacteria exert strain-specific effects on stress-related behavior and physiology in BALB/c mice. *Neurogastroent Motil*, 26(11), 1615-1627.
- Scheperjans, F., Aho, V., Pereira, P. A., Koskinen, K., Paulin, L., Pekkonen, E., ... & Kinnunen, E. (2015). Gut microbiota are related to Parkinson's disease and clinical phenotype. *Movement Disord*, 30(3), 350-358.
- Schwabe, L., Bohringer, A., Chatterjee, M., & Schachinger, H. (2008). Effects of pre-learning stress on memory for neutral, positive and negative words: Different roles of cortisol and autonomic arousal. *Neurobiol Learn Mem*, 90(1), 44-53.
- Schwabe, L., Joëls, M., Roozendaal, B., Wolf, O. T., & Oitzl, M. S. (2012). Stress effects on memory: an update and integration. *Neurosci Biobehav R*, 36(7), 1740-1749.
- Schwabe, L., Wolf, O. T., & Oitzl, M. S. (2010). Memory formation under stress: quantity and quality. *Neurosci Biobehav R*, 34(4), 584-591.
- Schwartz, R. A., & Schwartz, I. K. (1983). Psychiatric disorders associated with Crohn's



- disease. *Int J Psychiat Med*, 12(1), 67-73.
- Scoville, W. B., & Milner, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Ps*, 20(1), 11.
- Sekirov, I., Russell, S. L., Antunes, L. C. M., & Finlay, B. B. (2010). Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev*, 90(3), 859-904.
- Shyu, W. C., Lin, S. Z., Yang, H. I., Tzeng, Y. S., Pang, C. Y., Yen, P. S., & Li, H. (2004). Functional recovery of stroke rats induced by granulocyte colony-stimulating factor-stimulated stem cells. *Circulation*, 110(13), 1847-1854.
- Soderholm, J. D., & Perdue, M. H. (2001). II. Stress and intestinal barrier function. *Am J Physiol-Gastr L*, 280(1), G7-G13.
- Solerte, S. B., Cravello, L., Ferrari, E., & Fioravanti, M. (2000). Overproduction of IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  from natural killer (NK) cells is associated with abnormal NK reactivity and cognitive derangement in Alzheimer's disease. *Ann NY Acad Sci*, 917(1), 331-340.
- Song, L., Che, W., Min-Wei, W., Murakami, Y., & Matsumoto, K. (2006). Impairment of the spatial learning and memory induced by learned helplessness and chronic mild stress. *Pharmacol Biochem Be*, 83(2), 186-193.
- Song, Y., Liu, C., & Finegold, S. M. (2004). Real-time PCR quantitation of clostridia in feces of autistic children. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70(11), 6459-6465.
- Steenbergen, L., Sellaro, R., van Hemert, S., Bosch, J. A., & Colzato, L. S. (2015). A randomized controlled trial to test the effect of multispecies probiotics on cognitive reactivity to sad mood. *Brain Behav Immun*, 48, 258-264.
- Stilling, R. M., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2014). Microbial genes, brain & behaviour—epigenetic regulation of the gut–brain axis. *Genes, Brain Behav*, 13(1), 69-86.
- Strati, F., Cavalieri, D., Albanese, D., De Felice, C., Donati, C., Hayek, J., ... & De Filippo, C.

- (2017). New evidences on the altered gut microbiota in autism spectrum disorders. *Microbiome*, 5(1), 24.
- Sudo, N., Chida, Y., Aiba, Y., Sonoda, J., Oyama, N., Yu, X. N., ... & Koga, Y. (2004). Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic–pituitary–adrenal system for stress response in mice. *J Physiol*, 558(1), 263-275.
- Sun, J., Wang, F., Hong, G., Pang, M., Xu, H., Li, H., ... & Liu, J. (2016). Antidepressant-like effects of sodium butyrate and its possible mechanisms of action in mice exposed to chronic unpredictable mild stress. *Neurosci Lett*, 618, 159-166.
- Surwase, S. N., & Jadhav, J. P. (2011). Bioconversion of L-tyrosine to L-DOPA by a novel bacterium Bacillus sp. JPJ. *Amino Acids*, 41(2), 495-506.
- Thomas, C. M., Hong, T., van Pijkeren, J. P., Hemarajata, P., Trinh, D. V., Hu, W., ... & Versalovic, J. (2012). Histamine derived from probiotic *Lactobacillus reuteri* suppresses TNF via modulation of PKA and ERK signaling. *PloS one*, 7(2), e31951.
- Thursby, E., & Juge, N. (2017). Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J*, 474(11), 1823-1836.
- Tilbrook, A. J., Turner, A. I., & Clarke, I. J. (2000). Effects of stress on reproduction in non-rodent mammals: the role of glucocorticoids and sex differences. *Rev Reprod*, 5(2), 105-113.
- Tillisch, K. (2014). The effects of gut microbiota on CNS function in humans. *Gut microbes*, 5(3), 404-410.
- Tillisch, K., Labus, J., Kilpatrick, L., Jiang, Z., Stains, J., Ebrat, B., ... & Mayer, E. A. (2013). Consumption of fermented milk product with probiotic modulates brain activity. *Gastroenterology*, 144(7), 1394-1401.
- Ursell, L. K., Metcalf, J. L., Parfrey, L. W., & Knight, R. (2012). Defining the human microbiome. *Nutr Rev*, 70(suppl\_1), S38-S44.
- Vetulani, J. (2013). Early maternal separation: a rodent model of depression and a prevailing

- human condition. *Pharmacol Rep*, 65(6), 1451-1461.
- Vitetta, L., Bambling, M., & Alford, H. (2014). The gastrointestinal tract microbiome, probiotics, and mood. *Inflammopharmacology*, 22(6), 333-339.
- Vogt, N. M., Kerby, R. L., Dill-McFarland, K. A., Harding, S. J., Merluzzi, A. P., Johnson, S. C., ... & Bendlin, B. B. (2017). Gut microbiome alterations in Alzheimer's disease. *Sci Rep-UK*, 7(1), 13537.
- Wallner, S., Peters, S., Pitzer, C., Resch, H., Bogdahn, U., & Schneider, A. (2015). The granulocyte-colony stimulating factor has a dual role in neuronal and vascular plasticity. *Front Cell Dev Biology*, 3, 48.
- Wang, L., Christophersen, C. T., Sorich, M. J., Gerber, J. P., Angley, M. T., & Conlon, M. A. (2011). Low relative abundances of the mucolytic bacterium *Akkermansia muciniphila* and *Bifidobacterium* spp. in feces of children with autism. *Appl. Environ. Microbiol.*, 77(18), 6718-6721.
- Wang, L., Christophersen, C. T., Sorich, M. J., Gerber, J. P., Angley, M. T., & Conlon, M. A. (2013). Increased abundance of *Sutterella* spp. and *Ruminococcus torques* in feces of children with autism spectrum disorder. *Mol Autism*, 4(1), 42.
- Wang, Y., & Kasper, L. H. (2014). The role of microbiome in central nervous system disorders. *Brain Behav Immun*, 38, 1-12.
- Wantke, F., Götz, M., & Jarisch, R. (1993). Histamine-free diet: treatment of choice for histamine-induced food intolerance and supporting treatment for chronic headaches. *Clin Exp Allergy*, 23(12), 982-985.
- Westfall, S., Lomis, N., Kahouli, I., Dia, S. Y., Singh, S. P., & Prakash, S. (2017). Microbiome, probiotics and neurodegenerative diseases: deciphering the gut brain axis. *Cell Mol Life S*, 74(20), 3769-3787.
- Williams, B. B., Van Benschoten, A. H., Cimermancic, P., Donia, M. S., Zimmermann, M.,

- Taketani, M., ... & Fischbach, M. A. (2014). Discovery and characterization of gut microbiota decarboxylases that can produce the neurotransmitter tryptamine. *Cell Host Microbe*, 16(4), 495-503.
- Williams, N. T. (2010). Probiotics. *Am J Health-Syst Ph*, 67(6), 449-458.
- Wongpakaran, N., & Wongpakaran, T. (2010). The Thai version of the PSS-10: an investigation of its psychometric properties. *BioPsychoSocial medicine*, 4(1), 6.
- Woolley, C. S., Gould, E., & McEwen, B. S. (1990). Exposure to excess glucocorticoids alters dendritic morphology of adult hippocampal pyramidal neurons. *Brain Res*, 531(1-2), 225-231.
- Yano, J. M., Yu, K., Donaldson, G. P., Shastri, G. G., Ann, P., Ma, L., ... & Hsiao, E. Y. (2015). Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis. *Cell*, 161(2), 264-276.
- Yaribeygi, H., Panahi, Y., Sahraei, H., Johnston, T. P., & Sahebkar, A. (2017). The impact of stress on body function: A review. *EXCLI J*, 16, 1057.
- Yaribeygi, H., Panahi, Y., Sahraei, H., Johnston, T. P., & Sahebkar, A. (2017). The impact of stress on body function: A review. *EXCLI J*, 16, 1057.
- Yeung, A. C., Vekshtein, V. I., Krantz, D. S., Vita, J. A., Ryan Jr, T. J., Ganz, P., & Selwyn, A. P. (1991). The effect of atherosclerosis on the vasomotor response of coronary arteries to mental stress. *New Engl J Med*, 325(22), 1551-1556.



ภาคผนวก

ภาคผนวก ก  
แบบสอบถามข้อมูลเบื้องต้น



## แบบสอบถามข้อมูลส่วนตัวและคัดกรองเกณฑ์การเข้าร่วมศึกษา

1. ชื่อ ..... นามสกุล.....

2. อายุ..... ปี

3. เพศ  ชาย  หญิง

4. ทำเครื่องหมาย ✓ หน้าข้อที่มีประวัติดังต่อไปนี้

.....มีประวัติรับประทานโปรไบโอติกส์หรือพรีไบโอติกส์ภายใน 7 วัน ก่อนการเข้าร่วมศึกษา

.....จำเป็นต้องได้รับยาปฏิชีวนะ ยาลดการอักเสบ ยากลุ่มสเตียรอยด์ หรือยาลดกรด ยาคด

ภูมิคุ้มกันในหนึ่งเดือนก่อนการเริ่มศึกษา

.....รับประทานสารที่มีผลต่อจิตประสาท สารเสพติด ยานอนหลับ สารลดอาการซึมเศร้าก่อน

การเข้าร่วมศึกษาหนึ่งเดือน



ภาคผนวก ข  
แบบสอบถามเพื่อการติดตาม





## แบบสอบถามเพื่อการติดตามระหว่างการศึกษา

ท่านมีประวัติดังต่อไปนี้หรือไม่	ใช่	ไม่ใช่	หมายเหตุ
1. รับประทาน โปรไบโอติกส์หรือพรีไบโอติกส์ชนิดอื่นระหว่างการศึกษา			
2. ได้รับยาปฏิชีวนะ ยาลดการอักเสบ ยากลุ่มสเตียรอยด์ หรือยาลดกรด ยากดภูมิคุ้มกัน ในระหว่างการศึกษา			
3. ขาดการรับประทาน โปรไบโอติกส์ติดต่อกันเป็นเวลา 3 วันขึ้นไป			
4. มีผลข้างเคียงจากการรับประทาน โปรไบโอติกส์ เช่น แผล ท้องอืด			
5. มีเหตุการณ์ร้ายแรงเกิดขึ้นในชีวิตระหว่างเข้าร่วมวิจัย			
6. รับประทานสารที่มีผลต่อจิตประสาท สารเสพติด ยา นอนหลับ สารลดอาการซึมเศร้าในระหว่างศึกษา			
7. สูบบุหรี่มากกว่า 20 มวนต่อวัน			
8. อยู่ในภาวะตั้งครรภ์			

ภาคผนวก ก

แบบสอบถาม แบบสอบถาม Hospital Anxiety and Depression Scale

ฉบับภาษาไทย (Thai HADS)



**แบบสอบถาม Hospital Anxiety and Depression Scale ฉบับภาษาไทย**  
**(Thai HADS)**

กรุณาอ่านข้อความแต่ละข้อ และทำเครื่องหมายถูก ในช่องคำตอบที่ใกล้เคียงกับความรู้สึกของท่าน ในช่วง 1 สัปดาห์ที่ผ่านมา มากที่สุด และกรุณาตอบทุกข้อ

ชื่อ \_\_\_\_\_ นามสกุล \_\_\_\_\_ วันที่ \_\_\_\_\_

	คะแนน		คะแนน
<b>1. ฉันรู้สึกตึงเครียด</b>		<b>2. ฉันรู้สึกเพลิดเพลินใจกับสิ่งต่าง ๆ ที่ฉันเคยชอบได้</b>	
( ) เป็นส่วนใหญ่	3	( ) เหมือนเดิม	0
( ) บ่อยครั้ง	2	( ) ไม่มากเท่าแต่ก่อน	1
( ) เป็นบางครั้ง	1	( ) มีเพียงเล็กน้อย	2
( ) ไม่เป็นเลย	0	( ) เกือบไม่มีเลย	3
<b>3. ฉันมีความรู้สึกกลัว คล้ายกับว่ากำลังจะมีเรื่องไม่ดีเกิดขึ้น</b>		<b>4. ฉันสามารถหัวเราะและมีอารมณ์ขันในเรื่องต่าง ๆ ได้</b>	
( ) มี และค่อนข้างรุนแรงด้วย	3	( ) เหมือนเดิม	0
( ) มี แต่ไม่มากนัก	2	( ) ไม่มากนัก	1
( ) มีเพียงเล็กน้อยและไม่ทำให้กังวลใจ	1	( ) มีน้อย	2
( ) ไม่มีเลย	0	( ) ไม่มีเลย	3

<b>5. ฉันมีความคิดวิตกกังวล</b>		<b>6. ฉันรู้สึกแถมใส่เบิกบาน</b>	
( ) เป็นส่วนใหญ่	3	( ) ไม่มีเลย	3
( ) บ่อยครั้ง	2	( ) ไม่บ่อยนัก	2
( ) เป็นบางครั้งแต่ไม่บ่อย	1	( ) เป็นบางครั้ง	1
( ) นาน ๆ ครั้ง	0	( ) เป็นส่วนใหญ่	0
<b>7. ฉันสามารถทำตามสบาย และ รู้สึกผ่อนคลาย</b>		<b>8. ฉันรู้สึกว่าตัวเองคิดอะไร ทำอะไร เชิงช้าลงกว่าเดิม</b>	
( ) ได้ดีมาก	0	( ) เกือบตลอดเวลา	3
( ) ได้โดยทั่วไป	1	( ) บ่อยมาก	2
( ) ไม่บ่อยนัก	2	( ) เป็นบางครั้ง	1
( ) ไม่ได้เลย	3	( ) ไม่มีเลย	0
<b>9. ฉันรู้สึกไม่สบายใจ จนทำให้ปั่นป่วน ในท้อง</b>		<b>10. ฉันปล่อยเนื้อปล่อยตัว ไม่สนใจ ตนเอง</b>	
( ) ไม่เป็นเลย	0	( ) ใช่	3
( ) เป็นบางครั้ง	1	( ) ไม่ค่อยใส่ใจเท่าที่ควร	2
( ) ค่อนข้างบ่อย	2	( ) ใส่ใจน้อยกว่าแต่ก่อน	1
( ) บ่อยมาก	3	( ) ยังใส่ใจตนเองเหมือนเดิม	0
<b>11. ฉันรู้สึกกระตือรือร้น เหมือนกับ จะอยู่หนึ่ง ๆ ไม่ได้</b>		<b>12. ฉันมองสิ่งต่าง ๆ ในอนาคต ด้วย ความเบิกบานใจ</b>	
( ) เป็นมากที่สุด	3	( ) มากเท่าที่เคยเป็น	0

( ) ค่อยข้างมาก	2	( ) ค่อนข้างน้อยกว่าที่เคยเป็น	1
( ) ไม่มากนัก	1	( ) น้อยกว่าที่เคยเป็น	2
( ) ไม่เป็นเลย	0	( ) เกือบจะไม่มีเลย	3
<b>13. ฉันรู้สึกผวาหรือตกใจขึ้นมาอย่าง กระทันหัน</b>		<b>14. ฉันรู้สึกเพลิดเพลินไปกับการอ่าน หนังสือ ฟังวิทยุ หรือดูโทรทัศน์ หรือ กิจกรรมอื่น ๆ ที่เคยเพลิดเพลินได้</b>	
( ) บ่อยมาก	3	( ) เป็นส่วนใหญ่	0
( ) ค่อนข้างบ่อย	2	( ) เป็นบางครั้ง	1
( ) ไม่บ่อยนัก	1	( ) ไม่บ่อยนัก	2
( ) ไม่มีเลย	0	( ) น้อยมาก	3

เครื่องมือที่ใช้คัดกรองอาการวิตกกังวลและอาการซึมเศร้าในภาษาไทย ศึกษาเพื่อหาความแม่นยำแล้ว โดยธนา นิลชัยโกวิทย์และคณะ พัฒนาขึ้นจากฉบับภาษาอังกฤษของ Zigmond และ Snaitth ซึ่งเป็นแบบคัดกรองที่ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางที่สุดฉบับหนึ่ง แม้ว่าเริ่มต้นพัฒนาขึ้นเพื่อใช้ในผู้ป่วยทั่วไปในโรงพยาบาล ต่อมาพบอีกว่าสามารถใช้ในการสำรวจปัญหาอาการวิตกกังวลและอาการซึมเศร้าในกลุ่มประชากรทั่วไป และผู้ป่วยจิตเวชได้ดีเช่นกัน

HADS เป็นเครื่องมือที่สั้น กระทัดรัด และมีค่าความแม่นยำและความเชื่อถืออยู่ในเกณฑ์ดี โดยมีคำถามทั้งหมด 14 ข้อ ในกลุ่มอาการวิตกกังวลอยู่ในข้อที่ทั้งหมด 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 และกลุ่มอาการซึมเศร้าอยู่ในข้อที่ทั้งหมด 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 โดยแต่ละข้อจะมีคะแนนอยู่ในช่วง 0 - 3 คะแนน ซึ่งมี คะแนนรวมทั้งหมด 42 คะแนน ถ้าค่าคะแนนรวมในแต่ละกลุ่มอาการ  $\geq 11$  คะแนน บ่งถึงความผิดปกติทางจิตเวชในกลุ่มนั้น

ภาคผนวก ง

แบบสอบถามประเมินความเหมาะสมในกระบวนการทำวิจัย



## แบบสอบถามประเมินความเหมาะสมในกระบวนการทำวิจัย

หัวข้อ	ยากมาก (1)	ค่อนข้าง ยาก (2)	ปานกลาง (3)	ค่อนข้างง่าย (4)	ง่ายมาก (5)
การรับข่าวสารแจ้งเตือน					
การรับพัสดุเอกสารและ ผลิตภัณฑ์ทางไปรษณีย์					
การเข้าถึงในการสอบถาม ผู้ทำวิจัย					
ขั้นตอนการกรอก แบบสอบถาม HADS ทุก สัปดาห์ผ่าน Google form					
สามารถเข้าร่วมได้ครบตาม ระยะเวลาทดลอง					

กำหนดค่าของ คะแนนเฉลี่ยออกเป็น 5 ระดับดังนี้

ค่าเฉลี่ยระหว่าง 4.51 – 5.00 คือ มีความเหมาะสมมากที่สุด

ค่าเฉลี่ยระหว่าง 3.51 – 4.50 คือ มีความเหมาะสมมาก

ค่าเฉลี่ยระหว่าง 2.51 – 3.50 คือ มีความเหมาะสมปานกลาง

ค่าเฉลี่ยระหว่าง 1.51 – 2.50 คือ มีความเหมาะสมน้อย

ค่าเฉลี่ยระหว่าง 1.00 – 1.50 คือ มีความเหมาะสมน้อยที่สุด

**ภาคผนวก จ**  
**หนังสือแสดงเจตนายินยอมเข้าร่วมงานวิจัย**  
**(Consent Form)**





## หนังสือแสดงเจตนายินยอมเข้าร่วมงานวิจัย

## (Consent Form)

**โครงการวิจัยเรื่อง** การศึกษาประสิทธิผลของการรับประทานโปรไบโอติกส์ต่อระดับความเครียด

วันที่ให้คำยินยอม วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว.....

ที่อยู่.....

ได้อ่านรายละเอียดจากเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยวิจัยที่แนบมาฉบับวันที่  
..... และข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยโดยสมัครใจ

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยที่ข้าพเจ้าได้ลงนาม และ วันที่ พร้อมด้วยเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ทั้งนี้ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย ระยะเวลาของการทำวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัย และแนวทางรักษาโดยวิธีอื่นอย่างละเอียด ข้าพเจ้ามีเวลาและโอกาสเพียงพอในการซักถามข้อสงสัยจนมีความเข้าใจอย่างดีแล้ว โดยผู้วิจัยได้ตอบคำถามต่าง ๆ ด้วยความเต็มใจไม่ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใด ๆ จากการวิจัยดังกล่าว ข้าพเจ้าจะได้รับการรักษาพยาบาลโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย และระบุด้วยว่าจะได้รับการชดเชยจากผู้สนับสนุนการวิจัย

ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผล และการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่น ๆ ที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อได้รับการยินยอมจากข้าพเจ้าเท่านั้น บุคคลอื่นในนามของบริษัทผู้สนับสนุนการวิจัย คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน อาจได้รับอนุญาตให้เข้ามาตรวจสอบและประมวลข้อมูลของข้าพเจ้า

ทั้งนี้จะต้องกระทำไปเพื่อวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลเท่านั้น โดยการตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษานี้ข้าพเจ้าได้ให้คำยินยอมที่จะให้มีการตรวจสอบข้อมูลประวัติทางการแพทย์ของข้าพเจ้าได้

ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลใด ๆ เพิ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอยกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยและต้องการให้ทำลายเอกสารและ/หรือ ตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมดที่สามารถสืบค้นถึงตัวข้าพเจ้าได้

ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าและสามารถยกเลิกการให้สิทธิในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ

ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ของข้าพเจ้าที่ไม่มีการเปิดเผยชื่อ จะผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกและในคอมพิวเตอร์ การตรวจสอบ การวิเคราะห์ และการรายงานข้อมูลเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิชาการ รวมทั้งการใช้ข้อมูลทางการแพทย์ในอนาคตหรือการวิจัยทางด้านเภสัชภัณฑ์ เท่านั้น

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นและมีความเข้าใจดีทุกประการแล้ว ยินดีเข้าร่วมในการวิจัยด้วยความเต็มใจ

จึงได้ลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมนี้

..... ลงนามผู้ให้ความยินยอม

(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้า  ยินยอม

ไม่ยินยอม

ข้าพเจ้าได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการไม่พึงประสงค์ หรือความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัย

อย่างละเอียด ให้ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยตามนามข้างต้นได้ทราบและมีความเข้าใจดีแล้ว พร้อมลงนามลงในเอกสารแสดงความยินยอมด้วยความเต็มใจ

.....ลงนามผู้ทำวิจัย

(.....) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

.....ลงนามพยาน

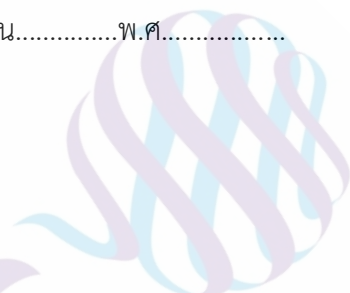
(.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

.....ลงนามพยาน

(.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....



## ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล

พญ.ภัทรกาญจน์ ชาพรหมสิทธิ์

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2557 แพทยศาสตรบัณฑิต

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ตำแหน่งและสถานที่ทำงาน

พ.ศ. 2561 – ปัจจุบัน แพทย์ที่ปรึกษาด้านผิวหนัง

รูปร่างและความงามชะลอวัยประจำเดอะคลีนิกส์ บริษัท

เดอะคลีนิกส์ คลินิกเวชกรรม จำกัด (มหาชน)

พ.ศ. 2560 แพทย์ประจำคลินิกรักษาโรคทั่วไป

สายไหม ออเงิน คลินิกเวชกรรม บริษัทสหแพทย์จำกัด

พ.ศ. 2559 แพทย์ที่ปรึกษาด้านผิวหนังรูปร่างและ

ความงามประจำเมดิแคร์คลินิก บริษัทเมดิแคร์เฮลป์กรุ๊ป

จำกัด

พ.ศ. 2558 แพทย์เวชปฏิบัติทั่วไป โรงพยาบาลชลประทาน

จ.นนทบุรี