

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มา และความสำคัญของปัญหาที่นำไปสู่งานวิจัย

การสร้างภาพด้วยอัลตราซาวด์ เพื่อการวินิจฉัยโรค เป็นเทคนิคหนึ่งที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ผู้ป่วยไม่ได้รับรังสี มีราคาถูก และมีประสิทธิภาพสูงในการสร้างภาพเนื้อเยื่อ ในทางคลินิกอัลตราซาวด์เป็นเทคนิคที่ใช้ในการวินิจฉัยพยาธิสภาพต่าง ๆ ได้แก่ การสร้างภาพเพื่อดู ความผิดปกติหรือประเมินภาวะของทารกในครรภ์มารดา เพื่อช่วยนำเจาะอวัยวะที่สงสัย เพื่อดูความ ผิดปกติของอวัยวะต่าง ๆ เช่น หลอดเลือดอุดตัน โป่ง หรือขด กล้ามเนื้อหัวใจ ต่อมไทรอยด์ ต่อม ลูกหมาก เป็นต้น เพื่อดูความผิดปกติทั่วไป เช่นนิ่วในไต นิ่วในถุงน้ำดี ไฝมันในตับ ก้อนเนื้อในตับ ถุงน้ำในตับ เป็นต้น รวมถึงสามารถตรวจพบเซลล์มะเร็งในระยะต้นของโรค โดยอาศัยสารเปรียบต่าง หรือถุงไขมันบรรจุแก๊สที่มีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็ง โดยการปรับปรุงผิวของถุงไขมันบรรจุแก๊ส ด้วยโมเลกุลที่มีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็ง เช่น แอนติบอดี โมเลกุลโปรตีนจำเพาะ (aptamer) โมเลกุลนำส่งเหล็กในร่างกาย (transferrin หรือ ferritin) และฟอริกไอออน [1-4] เพื่อให้โมเลกุล ดังกล่าวไปจับกับตัวรับที่จำเพาะบนผิวเซลล์มะเร็ง หรือมีการแสดงออกบนผิวเซลล์มะเร็งมากกว่า เซลล์ปกติ ได้แก่ transferrin receptor ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้มะเร็งได้

สารเปรียบต่างที่ใช้ร่วมกับการตรวจด้วยอัลตราซาวด์ มักประกอบขึ้นในลักษณะเป็นถุงไขมัน หรือถุงโพลิเมอร์ ที่ภายในบรรจุแก๊ส เพื่อใช้เพิ่มสัญญาณความต่างของเสียงที่สะท้อนกลับมายังหัว ตรวจอัลตราซาวด์ ปัจจุบันการใช้สารเปรียบต่างร่วมในการตรวจยังไม่นิยมแพร่หลาย เนื่องจาก อนุภาคของสารเปรียบต่างมีขนาดใหญ่ ก่อให้เกิดการอุดตันในหลอดเลือดฝอย แก๊สที่ใช้บรรจุเป็นพิษ ต่อสิ่งแวดล้อมเมื่อทำปฏิกิริยากับไอโซน และประเด็นสำคัญคือ สารเปรียบต่างยังไม่มีประสิทธิภาพ หรือไม่ทนทานต่ออัลตราซาวด์ ส่งผลให้ถุงไขมันแตกได้ง่ายเมื่อได้รับอัลตราซาวด์ ซึ่งมักเป็นผลมา จากปรากฏการณ์ (คาวิเทชัน) [5, 6] ดังนั้นการสร้างถุงไขมันบรรจุแก๊สที่มีขนาดเล็กระดับนาโน เมตร จะทำให้ถุงไขมันสามารถถูกขับออกจากร่างกายได้ การใช้แก๊สที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ของร่างกาย และสิ่งแวดล้อม ถุงไขมันบรรจุแก๊สที่มีความเสถียร และความทนทานต่อคลื่นอัลตราซาวด์สูงขึ้น ตลอดจนมีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็ง หรืออวัยวะที่ต้องการตรวจ จึงเป็นที่ต้องการในทางการแพทย์

1.2 สรุปสาระสำคัญ และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ภาพอัลตราซาวด์สามารถเห็นลักษณะทางกายวิภาคของอวัยวะที่ตรวจ และสามารถแยกเนื้อเยื่อ กับสิ่งอื่นที่มีความหนาแน่นแตกต่างกันได้ เช่นเนื้อเยื่อตับกับถุงน้ำในตับ (Liver cysts) เนื้อเยื่อตับ กับไขมัน (Fatty liver disease) และเนื้อเยื่อไตกับก้อนนิ่ว (Kidney stone) แต่มีข้อจำกัดคือ ไม่สามารถแยกเนื้อเยื่อที่มีความหนาแน่นแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยได้ เช่นเนื้อเยื่อกับหลอดเลือดฝอย เนื้อเยื่ออักเสบกับเนื้อเยื่อปกติ รวมถึงเซลล์มะเร็งกับเซลล์ปกติ เป็นต้น

การสร้างภาพอัลตราซาวด์ เพื่อแยกเนื้อเยื่อที่มีความหนาแน่นแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยจึง จำเป็นต้องใช้สารเปรียบต่างหรือถุงไขมันมาร่วมในการสร้างภาพ โดยการฉีดสารดังกล่าวเข้าไปใน หลอดเลือดหรือส่วนที่ต้องการตรวจเพื่อเพิ่มสัญญาณเสียงที่สะท้อนกลับมายังหัวตรวจอัลตราซาวด์ และภาพอัลตราซาวด์ที่ได้ จะมีความเข้มสัญญาณมาก (Enhancement) บริเวณที่มีสารเปรียบต่าง

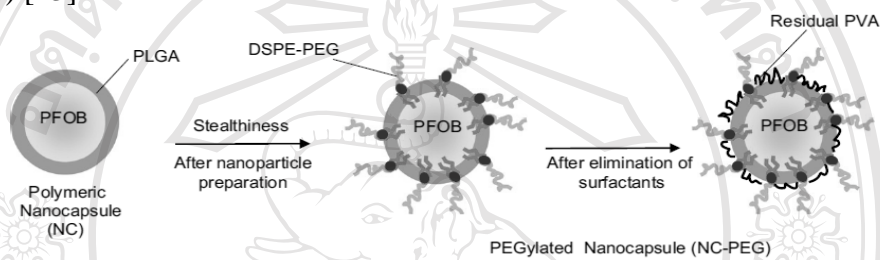
คุณสมบัติที่เหมาะสมของสารเปรียบต่างหรือถุงไขมันของการตรวจอัลตราซาวด์ ได้แก่สาร เปรียบต่างไม่เป็นพิษต่อเซลล์ร่างกายและสิ่งแวดล้อม ขนาดอนุภาคเล็กพอต่อการฉีดเข้าไปในระบบ โลหิตได้ สามารถขับออกจากร่างกายได้ สามารถเพิ่มสัญญาณคลื่นสะท้อนกลับมายังหัวตรวจอัลตรา ซาวด์ได้ มีความจำเพาะต่อเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่ต้องการตรวจ มีความเสถียรสูง ไม่แตกง่าย และไม่จับ ตัวเป็นก้อน (aggregation) รวมถึงมีความทนทานต่ออัลตราซาวด์

การพัฒนาสารเปรียบต่างหรือถุงไขมันของการตรวจอัลตราซาวด์ จึงเป็นที่สนใจของนักวิจัยซึ่ง มีจุดประสงค์เพื่อต้องการสารเปรียบต่างที่มีคุณสมบัติเหมาะสมตามที่กล่าวข้างต้น โดยมีการพัฒนา สารเปรียบต่างหรือถุงไขมันอย่างแพร่หลาย สามารถสรุปวิวัฒนาการของสารเปรียบต่างของการตรวจ อัลตราซาวด์ออกเป็น 4 รุ่น ดังนี้

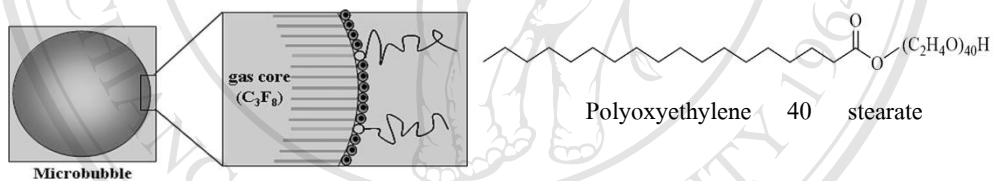
รุ่นที่ 1 สารเปรียบต่างสร้างจากสารประกอบฟลูออโร หรือฟอสโฟไลปิดเพียงชนิดเดียว โดย นำมาประกอบเป็นผิวของสารเปรียบต่าง และบรรจุแก๊สเหลว (liquid perfluorocarbon) ไว้ภายใน เพื่อใช้เป็นตัวสะท้อนกลับคลื่นเสียงมายังหัวตรวจอัลตราซาวด์ ผลที่ได้คือสารเปรียบต่างสามารถ สะท้อนกลับของสัญญาณเสียงมายังหัวตรวจได้ดี แต่พบปัญหา ได้แก่ลักษณะการเกิดถุงไขมันไม่ สมบูรณ์ คือผิวของถุงไขมันมีความหนาไม่สม่ำเสมอ เนื่องจากแก๊สเหลวมีการไหล ส่งผลให้ถุงไขมัน มีปัญหาความเสถียร และปัญหาขนาดที่ใหญ่ของถุงไขมัน (70 nm–25 μ m) [7]

รุ่นที่ 2 สารเปรียบต่างสร้างจากสารประกอบฟลูออโร หรือฟอสโฟไลปิดมากกว่า 1 ชนิด มา ประกอบเป็นผิวของสารเปรียบต่าง และบรรจุแก๊สชนิดอื่นไว้ภายใน ได้แก่ แก๊สออกซิเจน เพื่อ แก้ปัญหาความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม เมื่อพบว่าแก๊สเหลว (liquid perfluorocarbon) เป็นพิษเมื่อทำ ปฏิกิริยากับไอโซน ผลที่ได้คือสารเปรียบต่างมีขนาดเล็ก (ระดับนาโนเมตร) สามารถสะท้อนกลับของ สัญญาณเสียงมายังหัวตรวจได้ดี แต่พบปัญหาความเสถียรของถุงไขมัน [8]

ความเสถียรของถุงไขมันเป็นปัจจัยสำคัญในการพัฒนาเพิ่มเติม เพื่อให้ความเสถียรของสารเปรียบต่างเพิ่มขึ้น นักวิจัยจึงพัฒนาสารเปรียบต่างรุ่นที่ 3 จากการปรับปรุงผิวสารเปรียบต่างรุ่นที่ 2 โดยใช้สารหรือโมเลกุลต่างๆ เพื่อจับยึดผิวของถุงไขมันให้แน่นหนายิ่งขึ้น ได้แก่การปรับปรุงผิวถุงไขมันที่สังเคราะห์จาก Poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) ด้วย PEGylated ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว [9] ดังภาพที่ 1 และการปรับปรุงผิวถุงไขมันด้วย Polyoxyethylene 40 stearate [PEG40s] [10] ดังภาพที่ 2 ผลที่ได้คือสารเปรียบต่างสามารถสะท้อนกลับของสัญญาณเสียงมายังหัวตรวจได้ดี มีความเสถียรเพิ่มขึ้น จากนั้นมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องจนได้สารเปรียบต่างที่สามารถเพิ่มความเข้มเสียงสะท้อนกลับ เพิ่มเวลาในการอยู่ในกระแสโลหิต ส่งผลให้สามารถสร้างภาพได้นานขึ้น [10-12] และสามารถทนต่อแรงบีบตัวของหัวใจเมื่อเทียบกับสารเปรียบต่างที่ใช้ทางคลินิกปัจจุบัน (SonoVue) [13]



ภาพที่ 1 การปรับปรุงผิวถุงไขมันด้วย PEGylated และสารลดแรงตึงผิว [9]



ภาพที่ 2 แสดงการปรับปรุงผิวถุงไขมันด้วย Polyoxyethylene 40 stearate [PEG40s] [10]

อย่างไรก็ตามยังมีการพัฒนาสารเปรียบต่างของการตรวจอัลตราซาวด์ อย่างต่อเนื่องจนถึงปัจจุบันนี้ หรือกล่าวได้ว่าเป็นสารเปรียบต่างรุ่นที่ 4 โดยมีความต้องการเพื่อให้สารเปรียบต่างมีความเสถียรมากขึ้น ทนทานต่อแรงบีบตัวของหัวใจหรือแรงดันโลหิต ทนทานต่ออัลตราซาวด์ มีการปรับปรุงผิวด้านนอกให้มีความจำเพาะต่อโรค นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาใช้ในระบบการขนส่งยาโดยมีการบรรจุยาไว้ภายในถุงไขมันเพื่อใช้รักษาบริเวณที่จำเพาะของโรค โดยใช้อัลตราซาวด์ในการปล่อยโมเลกุลยาออกจากถุงไขมัน [14, 15] เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์สารเปรียบต่างหรือถุงไขมันของการตรวจอัลตราซาวด์ที่มีความเหมาะสม งานวิจัยนี้ได้ออกแบบและสังเคราะห์ถุงไขมันบรรจุแก๊ส รวมถึงมีการปรับปรุงผิวของถุงไขมันเพื่อให้มีความเสถียรเพิ่มขึ้น ทนทานต่ออัลตราซาวด์ โดยมีเงื่อนไขทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการ ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ เสถียรภาพของสารเปรียบต่าง การตอบสนองต่ออัลตราซาวด์ และความเป็นพิษต่อเซลล์ต่อไป

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1.3.1 สังเคราะห์ดงไขมันบรรจุแก๊ส รวมถึงปรับแต่งผิวของดงไขมันที่มีความเสถียร
- 1.3.2 ตรวจสอบคุณสมบัติของดงไขมัน ได้แก่ ขนาด ค่าศักย์ซีตา (zeta-potential) เสถียรภาพของดงไขมัน ความเป็นพิษต่อเซลล์ อันตรกิริยาของดงไขมันบรรจุแก๊สต่อเซลล์มะเร็ง และการตอบสนองต่อคลื่นเสียงความถี่สูง

1.4 สมมติฐานการวิจัย

ดงไขมันบรรจุแก๊สโดยมีการปรับแต่งผิวดงไขมันที่ผู้วิจัยสังเคราะห์ขึ้น มีประสิทธิภาพในการเพิ่มความเข้มการสะท้อนคลื่นอัลตราซาวด์กลับมายังหัวตรวจ มีความเสถียรสูง และไม่เป็นพิษต่อเซลล์

1.5 ขอบเขตของการศึกษาวิจัย

ขอบเขตของการศึกษานี้เป็นการออกแบบและสร้างสารเปรียบเทียบของการตรวจอัลตราซาวด์หรือดงไขมันบรรจุแก๊สในโตรเจนที่มีสมบัติเป็นแก๊สเฉื่อย จากนั้นปรับปรุงชั้นไขมันของดงไขมันด้วยการเติมโมเลกุลเฟอริกคลอไรด์ (FeCl_3) โดยเริ่มจากศึกษาคุณสมบัติของสารที่จะใช้ในการสังเคราะห์เป็นดงไขมัน ได้แก่ ความเป็นพิษของฟอสโฟลิปิดที่ใช้ทำเป็นผิวของดงไขมัน ความเป็นพิษของแก๊สที่บรรจุลงในดงไขมัน รวมถึงวิธีการสร้างที่มีประสิทธิภาพ เมื่อได้สารเคมีและวิธีการที่เหมาะสม จึงทำการสังเคราะห์และทดสอบเพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมก่อนจะนำไปปรับปรุงผิวของดงไขมัน เมื่อสามารถสร้างดงไขมันและปรับปรุงผิวของดงไขมันแล้ว ทำการศึกษาคูณสมบัติต่างๆ ดังนี้

1.5.1 ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ

- 1) วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของดงไขมัน
- 2) วัดค่าศักย์ซีตา (Zeta-potential)

1.5.2 ศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ (Toxicity)

1.5.3 ศึกษาการทำอันตรกิริยากับเซลล์

1.5.4 ศึกษาความเสถียรของดงไขมัน (Stability)

1.5.5 ศึกษาผลของอัลตราซาวด์ต่อสมบัติของดงไขมัน

1.5.6 การสร้างภาพอัลตราซาวด์ (*In vitro*)