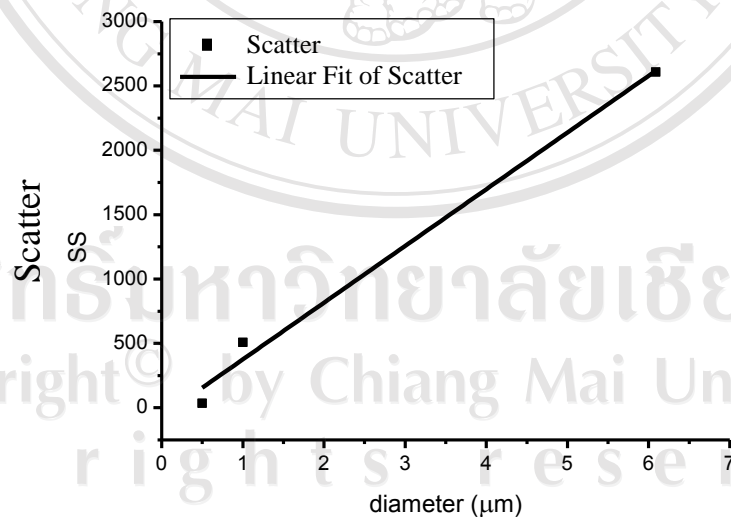


บทที่ 4

ผลการศึกษาและวิจารณ์ผลการศึกษา

4.1 คุณสมบัติทางฟิสิกส์ และเอกลักษณ์ของถุงไขมันบรรจุแก๊ส

การวิเคราะห์คุณสมบัติฟิสิกส์เบื้องต้นของถุงไขมันบรรจุแก๊สด้วยเทคนิค Flow cytometry ทำได้โดยการวัดขนาดอนุภาคที่ทราบค่า และสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดอนุภาคกับค่าการกระเจิงของแสงที่วัดได้ (standard curve) เพื่อหาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง ของถุงไขมันบรรจุแก๊สที่สร้างขึ้น พบว่าเมื่อวัดค่าการกระเจิงของแสงของอนุภาคที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 1.0 และ 6.0 μm จะได้กราฟความสัมพันธ์ระหว่างขนาดอนุภาคกับค่าการกระเจิงของแสง ดังภาพที่ 13 และเมื่อเทียบค่าการกระเจิงของแสง ของถุงไขมันบรรจุแก๊สอัตราส่วนต่างๆ กับกราฟมาตรฐาน พบว่าถุงไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1 5:1 และ 10:1 มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 203.0 ± 134.8 232.0 ± 145.6 และ 247.7 ± 147.2 nm ตามลำดับ ดังตารางที่ 1

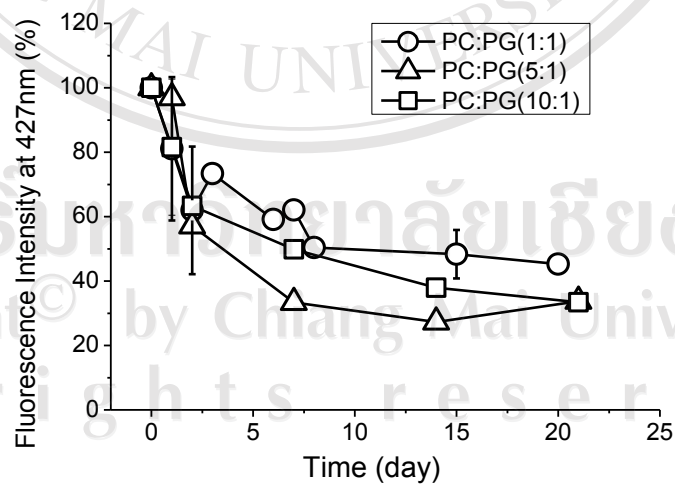


ภาพที่ 13 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างขนาดอนุภาคที่ทราบขนาดกับค่าการกระเจิงของแสง

ตารางที่ 1 ขนาดถุงไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG ที่ทำการวัดโดยใช้เทคนิค Flow cytometry

อัตราส่วนของถุงไขมัน	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (nm)
PC:PG 1:1	203.00±134.80 (145.14–715.95)
PC:PG 5:1	232.00±145.60 (152.76–738.14)
PC:PG 10:1	247.70±147.20 (163.16–783.14)

การพิสูจน์เอกลักษณ์ของไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1 5:1 และ 10:1 ด้วยเทคนิค Spectrofluorometry พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์การเรืองแสงของ DPH เมื่อแทรก ระหว่างส่วนไม่มีขั้วของฟอสโฟไลปิดบนผิวถุงไขมันบรรจุแก๊สทุกอัตราส่วน หลังจากการสังเคราะห์ ไขมัน 2 วัน มีอัตราการลดลงไม่แตกต่างกัน และเมื่อหลังการสังเคราะห์ไขมัน 3 วัน มีการ ลดลงของค่าเปอร์เซ็นต์การเรืองแสงของ DPH แตกต่างกัน กล่าวคือไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG อัตราส่วน 5:1 มีการลดลงของค่าเปอร์เซ็นต์การเรืองแสงของ DPH มากที่สุด (น้อยกว่า 50%) และ ไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG อัตราส่วน 10:1 มีการลดลงของค่าเปอร์เซ็นต์การเรืองแสงของ DPH รองลงมา (น้อยกว่า 60%) เนื่องจากเมื่อเวลาผ่านไป ประมาณ 3–4 วันหลังการสร้างไขมัน บรรจุแก๊ส ไขมันชนิด PC:PG อัตราส่วน 5:1 และ 10:1 มีการรวมตัวเป็นก้อน (aggregate form) หรือมีการเสียหายของไขมัน ทำให้พื้นที่ฟอสโฟไลปิดบนผิวไขมันที่ DPH สามารถแทรกเข้า ไปได้ลดลง ส่งผลให้ค่าเปอร์เซ็นต์การเรืองแสงของ DPH ลดลงด้วย และไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG อัตราส่วน 1:1 มีการลดลงของค่าเปอร์เซ็นต์การเรืองแสงของ DPH น้อยที่สุด ดังภาพที่ 14 จึงเลือกไขมันอัตราส่วน 1:1 มาทำการปรับแต่งผิวเพื่อให้มีความเสถียรเพิ่มขึ้น



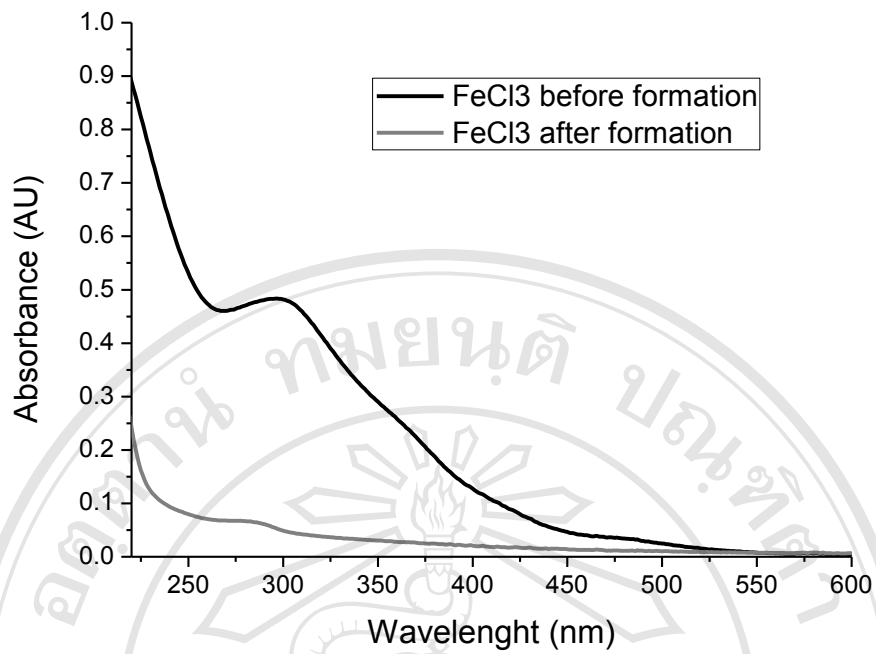
ภาพที่ 14 ค่าเปอร์เซ็นต์การเรืองแสงของ DPH ที่แทรกระหว่างชั้นไขมันของไขมันบรรจุแก๊ส ชนิด PC:PG(1:1) (○), (5:1) (△) และ (10:1) (□)

การปรับปรุงผิวของไขมันบรรจุแคปซูล PC:PG อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1 ทำให้หลายวิธี เช่นการใช้สารเพิ่มแรงตึงผิวของไขมัน การใช้โมเลกุลจำเพาะ และการใช้โมเลกุลที่มีประจุมาจับกับผิวของไขมัน เป็นต้น การศึกษานี้ทำการสังเคราะห์ไขมันบรรจุแคปซูล ซึ่งได้ไขมันที่มีการจัดเรียงตัวของฟอสโฟไลปิด 2 ชั้น โดยหันส่วนมีขั้ว หรือ Hydrophilic part ออกมาด้านนอกของไขมัน จากการศึกษาโครงสร้างเคมีของโมเลกุลฟอสโฟไลปิดชนิด PC และ PG พบว่าส่วนมีขั้วของโมเลกุลฟอสโฟไลปิดมีประจุลบที่ตำแหน่งฟอสเฟตของทั้ง 2 โมเลกุล และมีประจุบวกที่ตำแหน่งไนโตรเจนของโมเลกุล PC ทางผู้วิจัยจึงเลือกใช้โมเลกุลเฟอริกคลอไรด์ (FeCl_3) เนื่องจากโมเลกุลเฟอริกคลอไรด์สามารถแตกตัวในน้ำเป็นเฟอริกไอออน (Fe^{3+}) และคลอไรด์ไอออน (Cl^-) ดังสมการ

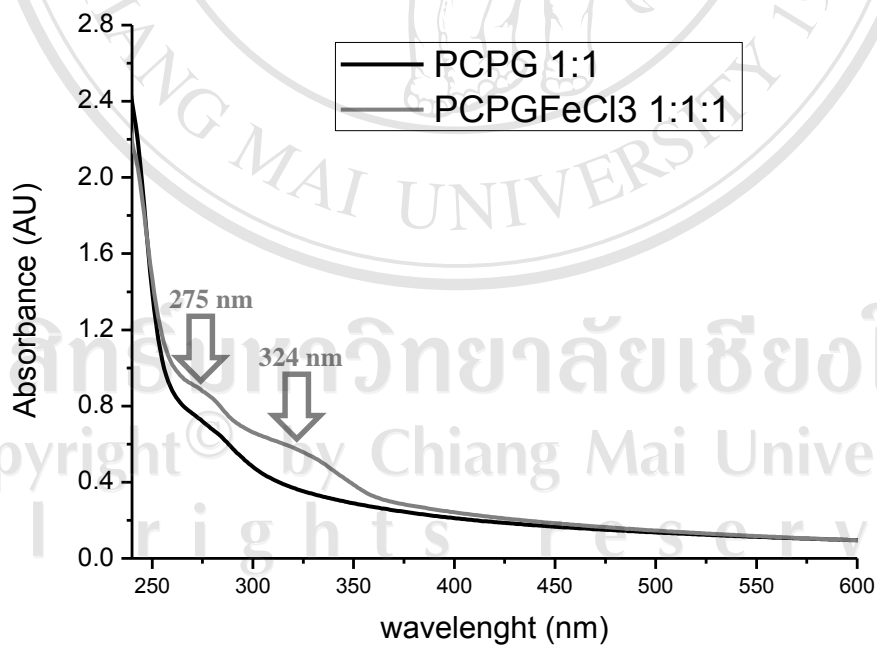


เฟอริกไอออน (Fe^{3+}) มีประจุ 3 บวก สามารถจับกับประจุลบบนส่วนหัวของโมเลกุลฟอสโฟไลปิด ทำให้โมเลกุลฟอสโฟไลปิด 2-3 ตัว จับกันเป็นกลุ่มๆ และมีความแน่นหนามากขึ้น ส่งผลให้ไขมันมีแรงตึงผิวมากขึ้น การแตกตัวของไขมันน้อยลง ความเสถียรของไขมันที่สร้างจึงเพิ่มขึ้น

จากนั้นทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ไขมันบรรจุแคปซูล PC:PG:FeCl₃ อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1:1 ด้วยเทคนิค Spectrophotometry เพื่อทดสอบให้เห็นว่าโมเลกุล FeCl₃ สามารถจับกับส่วนมีขั้วของฟอสโฟไลปิดบนผิวของไขมันบรรจุแคปซูล PC:PG:FeCl₃ โดยขั้นตอนการสังเคราะห์ไขมัน PC:PG:FeCl₃ มีการเติมสารละลายเฟอริกคลอไรด์ลงไปในระบบของฟอสโฟไลปิดชนิด PC และ PG ที่ละลายด้วยไตรคลอโรมีเทน จึงทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 304 nm สารละลายเฟอริกคลอไรด์ก่อนทำปฏิกิริยา เพื่อแสดงปริมาณเฟอริกคลอไรด์ที่ใช้ในการปรับปรุงผิวของไขมัน และสารละลายเฟอริกคลอไรด์หลังทำปฏิกิริยากับฟอสโฟไลปิด เพื่อแสดงปริมาณเฟอริกคลอไรด์ที่เหลือจากการสังเคราะห์ไขมันดังกล่าว พบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ 304 nm ของสารละลายเฟอริกคลอไรด์หลังการสังเคราะห์ไขมันมีค่าลดลง เมื่อเทียบกับสารละลายเฟอริกคลอไรด์ก่อนการทำปฏิกิริยา ดังภาพที่ 15 และหลังจากสังเคราะห์เสร็จทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของไขมันชนิด PC:PG อัตราส่วน 1:1 และ PC:PG:FeCl₃ อัตราส่วน 1:1:1 พบว่าไขมันชนิด PC:PG:FeCl₃ มียอดการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 275 และ 324 nm สูงกว่าไขมันชนิด PC:PG หมายความว่าไขมันชนิด PC:PG:FeCl₃ มีโมเลกุลของเฟอริกคลอไรด์จับอยู่บนผิวของไขมัน ดังภาพที่ 16



ภาพที่ 15 การดูดกลืนแสงของสารละลายเฟอริกคลอไรด์ก่อน และหลังการสังเคราะห์ถุงไขมัน



ภาพที่ 16 การดูดกลืนแสงของถุงไขมันชนิด PC:PG และ PC:PG:FeCl₃

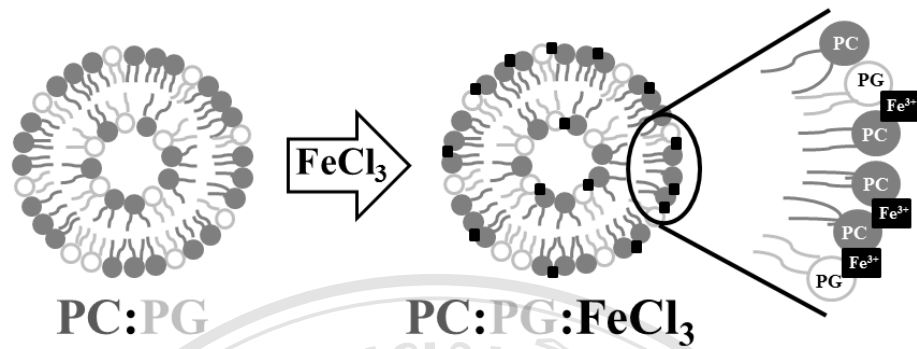
การตรวจสอบคุณสมบัติทางฟิสิกส์ของถุงไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1 และ PC:PG:FeCl₃ อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1:1 ได้แก่ค่าขนาดถุงไขมันด้วยเทคนิค Flowcytometry และหาค่าขนาด ค่าศักย์ซีต้า (Zeta-potential) ของถุงไขมันด้วยเทคนิค DSL พบว่าถุงไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG อัตราส่วน 1:1 และชนิด PC:PG:FeCl₃ อัตราส่วน 1:1:1 มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 254.9±10.8 และ 448.1±25.4 nm ค่าศักย์ซีต้ามีค่าเท่ากับ -30.0±3.3 และ -28±0.6 mV ตามลำดับ และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของถุงไขมันชนิด PC:PG:FeCl₃ อัตราส่วน 1:1:1 ที่ทำการวัดด้วยเทคนิค Flowcytometry มีค่าระหว่าง 204.4±141.6 nm ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ขนาดถุงไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG และ PC:PG:FeCl₃ ที่ทำการวัดโดยใช้เทคนิค DLS

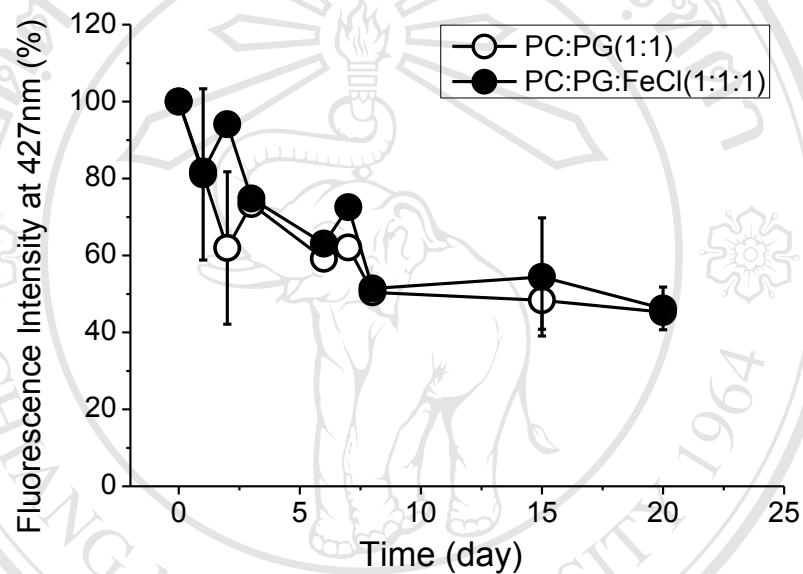
อัตราส่วนโดย โมลของถุงไขมัน	วิธีการวัด		
	Flowcytometry	Dynamic light scattering (DLS)	
	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง	ค่าศักย์ซีต้า (mV)
PC:PG 1:1	203.00±134.80 nm (145.14–715.95)	254.90±10.80 nm	-30.3±3.3
PC:PG:FeCl ₃ 1:1:1	204.40±141.60 nm (146.73–715.95)	448.10±25.40 nm	-28.5±0.6

ค่าศักย์ซีต้า เป็นค่าที่บ่งบอกถึงประจุบนผิวของถุงไขมัน จากผลการศึกษาพบว่าถุงไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG และชนิด PC:PG:FeCl₃ อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1 และ 1:1:1 มีค่าเท่ากับ -30.3±3.3 และ -28±0.6 mV ตามลำดับ ซึ่งถุงไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG:FeCl₃ มีค่าศักย์ซีต้าเป็นลบน้อยกว่าถุงไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG เนื่องจากถุงไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG:FeCl₃ อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1:1 มีประจุบวกจากเฟอร์ริกไอออน (Fe³⁺) ไปจับกับประจุลบของฟอสโฟไลปิดบนผิวถุงไขมันดังกล่าว ดังภาพที่ 17 ทำให้ประจุบนผิวถุงไขมันลดลง ส่งผลให้ค่าศักย์ซีต้าของถุงไขมันชนิด PC:PG:FeCl₃ อัตราส่วน 1:1:1 มีค่าเป็นลบน้อยลงด้วย

การพิสูจน์เอกลักษณ์ถุงไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG:FeCl₃ อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1:1 ด้วยเทคนิค Spectrofluorometry พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์การเรืองแสงของ DPH ที่แทรกระหว่างชั้นไขมัน ของถุงไขมันบรรจุแก๊ส PC:PG:FeCl₃ อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1:1 และถุงไขมันชนิด PC:PG อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1 มีค่าใกล้เคียงกัน ตั้งแต่หลังการสังเคราะห์ถุงไขมัน ถึง 20 วัน หลังการสังเคราะห์ถุงไขมัน ดังภาพที่ 18



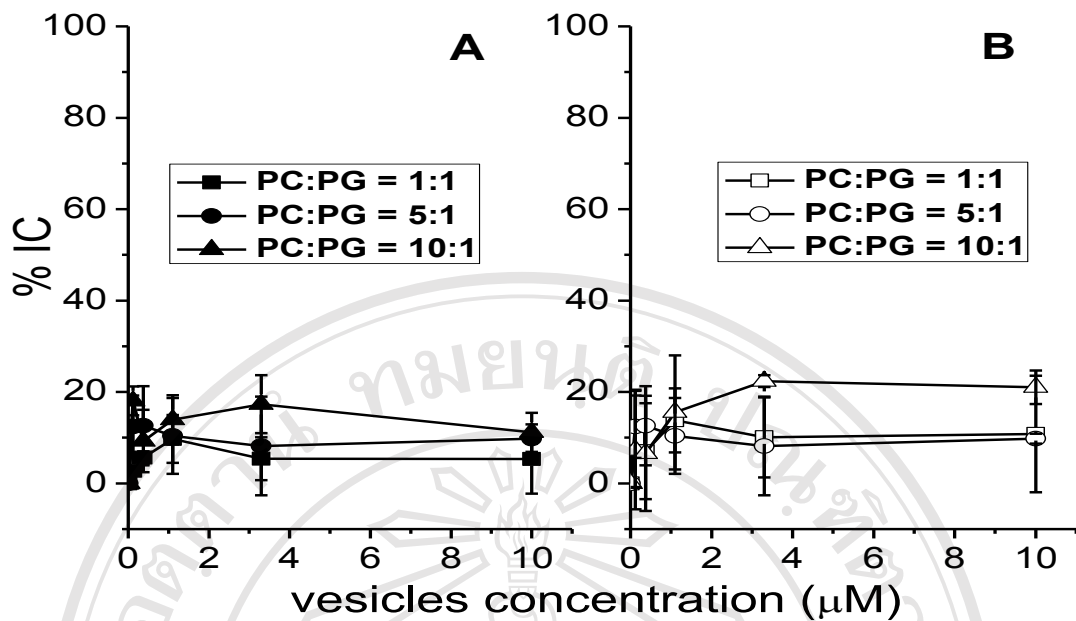
ภาพที่ 17 แบบจำลองของไขมันบรรจุแก๊สที่สังเคราะห์ขึ้น (PC:PG=1:1, PC:PG:FeCl₃=1:1:1)



ภาพที่ 18 ค่าเปอร์เซ็นต์ Fluorescence intensity ของ DPH ที่แทรกระหว่างชั้นไขมันของถุงไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG(1:1) (○) และ PC:PG:FeCl₃(1:1:1) (●)

4.2 ความเป็นพิษต่อเซลล์

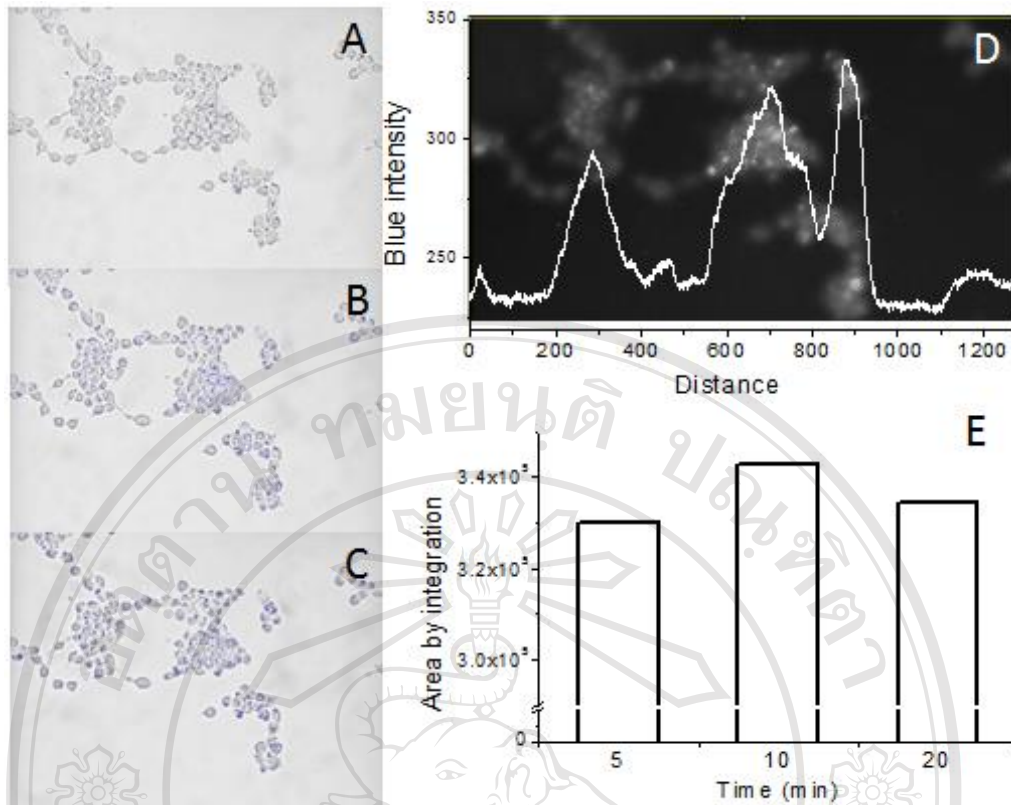
การทดสอบความเป็นพิษของถุงไขมันบรรจุแก๊ส ถูกทดสอบเพื่อยืนยันความปลอดภัยของถุงไขมันที่สร้างขึ้น (PC:PG = 1:1 5:1 และ 10:1) ต่อเซลล์ เมื่อนำไปใช้ร่วมกับการสร้างภาพอัลตราซาวด์ผ่านทางระบบโลหิต (intravenous) จากการศึกษพบว่าถุงไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1 5:1 และ 10:1 ความเข้มข้น 10 μM ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ GLC4 และ GLC4/Adr กล่าวคือเมื่อบ่มถุงไขมันบรรจุแก๊สอัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1 5:1 และ 10:1 ความเข้มข้น 0 ถึง 10 μM กับเซลล์ GLC4 และ GLC4/Adr เป็นเวลา 72 Hrs. มีค่าเปอร์เซ็นต์การตายของเซลล์ GLC4 และ GLC4/Adr น้อยกว่า 20% ดังภาพที่ 19



ภาพที่ 19 กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มข้นของถุงไขมันบรรจุแก๊สกับ % IC ของเซลล์ GLC4 (A) และ GLC4/Adr (B)

4.3 การทำอันตรกิริยาของถุงไขมันบรรจุแก๊สต่อเซลล์มะเร็ง

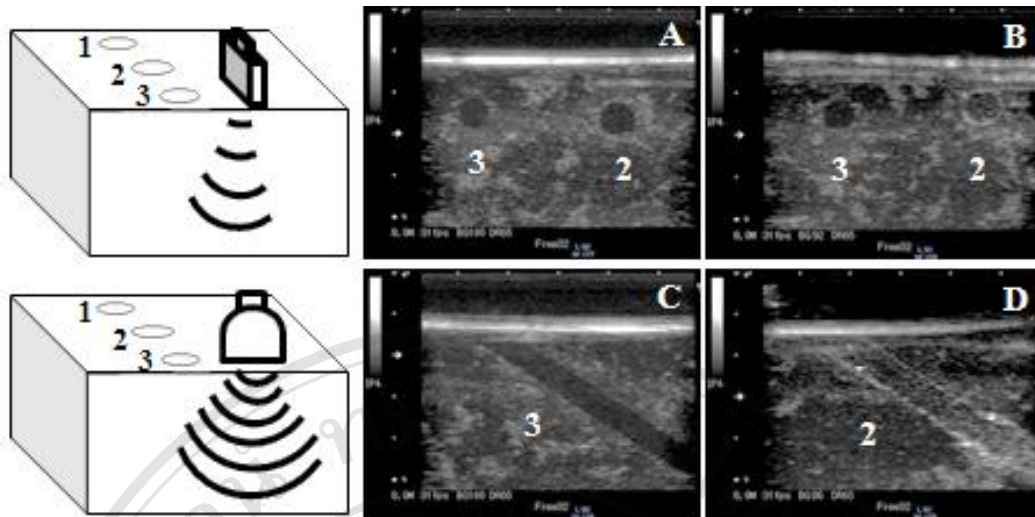
การติดตามอันตรกิริยาของถุงไขมันบรรจุแก๊สต่อเซลล์มะเร็งปอดชนิดเล็กที่ไวต่อยา doxorubicin (GLC4) ติดตามโดยใช้การเรืองแสงของ DPH ด้วยเครื่องมือ Fluorescence microscope กล่าวคือทำการเติมสารติดตาม DPH ในถุงไขมันบรรจุแก๊ส เพื่อติด DPH ลงบนผิวของถุงไขมันบรรจุแก๊สก่อนทำการศึกษาอันตรกิริยาของถุงไขมันต่อเซลล์ พบว่าหลังการเติมถุงไขมันบรรจุแก๊สที่ติด DPH บนผิวถุงไขมันลงไปในระบบเซลล์ที่เตรียมไว้ได้ภาพ bright-light และภาพ fluorescence หลังการเติมที่เวลา 5, 10 และ 20 Min. ดังภาพที่ 20 A, B, C ทำการวิเคราะห์ผลโดยการหาพื้นที่ใต้กราฟของค่าความเข้ม fluorescence ดังภาพที่ 20 D พบว่าที่เวลา 10 Min. หลังการเติมถุงไขมันบรรจุแก๊สที่ติด DPH บนผิวถุงไขมัน มีค่าความเข้ม fluorescence สูงสุด และมีค่าลดลงที่เวลา 20 Min. หลังการเติม หมายความว่าถุงไขมันบรรจุแก๊สจับกับผนังเซลล์ของเซลล์มะเร็งปอดชนิดเล็กที่ไวต่อยา doxorubicin ทำให้เกิดการเรืองแสงมากขึ้นที่เวลา 10 Min. หลังการเติมถุงไขมัน จากนั้น DPH บนผิวของถุงไขมันจะหลุดออกจากถุงไขมันส่งผลให้ค่าความเข้ม fluorescence ลดลงไปอีก 5 Min. ต่อมา ดังภาพที่ 20 E



ภาพที่ 20 ภาพ bright – light และภาพ fluorescence (20x) ของเซลล์ GLC4 หลังการเติมถุงไขมันบรรจุแก๊สที่เวลา 5 Min.(A), 10 Min.(B), 20 Min.(C) และการหาพื้นที่ใต้กราฟของค่าความเข้ม fluorescence (D) และพื้นที่ใต้กราฟของค่าความเข้ม fluorescence ที่เวลาต่างๆ หลังการเติมถุงไขมันบรรจุแก๊ส (E)

4.4 การสร้างภาพถุงไขมันบรรจุแก๊ส

การสร้างภาพถุงไขมันบรรจุแก๊สด้วยเครื่องอัลตราซาวด์ พบว่าถุงไขมันบรรจุแก๊สสามารถเพิ่มสัญญาณการสะท้อนกลับของคลื่นเสียง ทำให้ได้ภาพของถุงไขมันที่ enhance (ช่องที่ 2) เมื่อเทียบกับการสร้างภาพน้ำ (ช่องที่ 3) ดังภาพที่ 21 เนื่องจากถุงไขมันที่สร้างเป็นถุงที่มีการเรียงตัวของฟอสโฟไลปิด 2 ชั้น (bilayers) และมีแก๊สเป็นส่วนประกอบภายในถุงไขมัน ทำให้เมื่อส่งคลื่นเสียงความถี่สูงไปยังถุงไขมันที่สร้าง ซึ่งเป็นตัวกลางที่แตกต่างกัน (ฟอสโฟไลปิดกับอากาศ) ส่งผลให้การสะท้อนกลับของคลื่นเสียงความถี่สูงมีค่ามาก

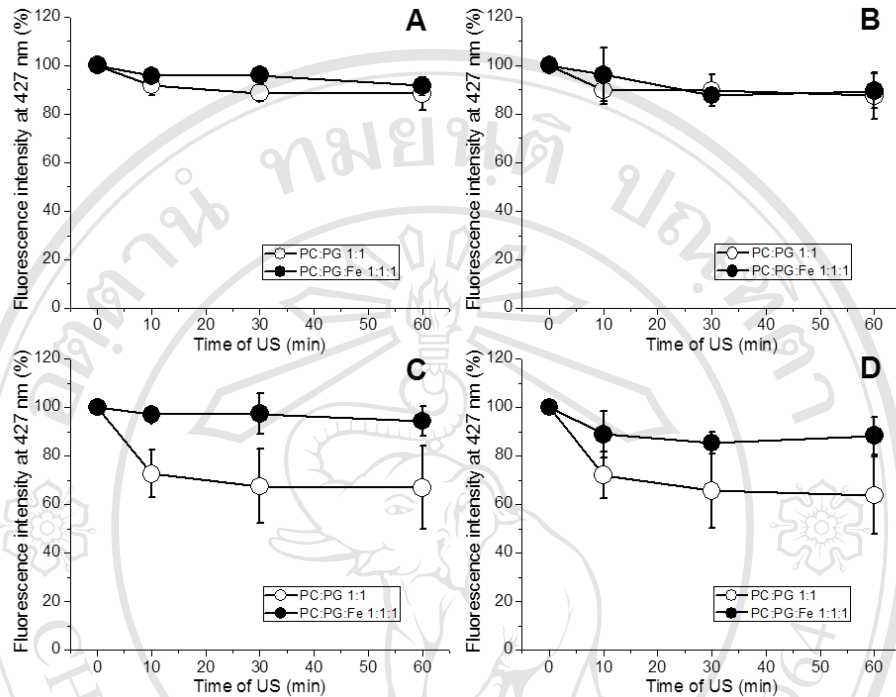


ภาพที่ 21 ภาพอัลตราซาวด์ของหุ่นจำลองที่สร้างจาก agarose gel: รูป A และ B แสดงภาพตัดขวาง โดยรูป A ช่องที่ 2, 3 เป็นน้ำ และรูป B ช่องที่ 2 เป็นถุงไขมันบรรจุแก๊ส รูป C และ D แสดงภาพแนวยาว โดยรูป C ช่อง 3 เป็นน้ำ และรูป D ช่อง 2 เป็นถุงไขมันบรรจุแก๊ส

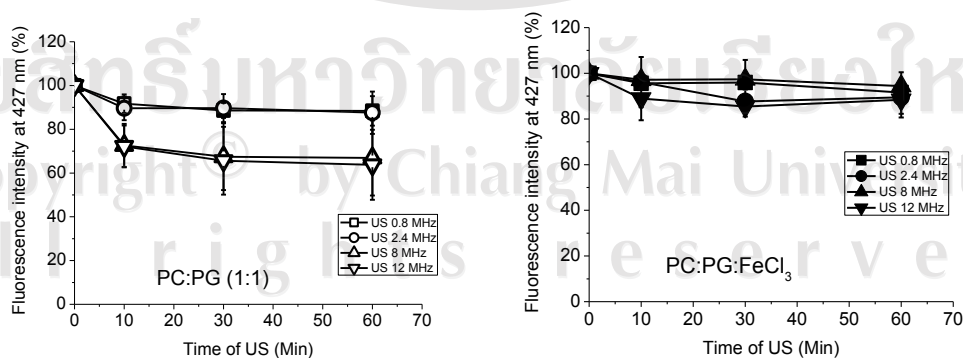
4.5 การตรวจสอบผลของคลื่นเสียงความถี่สูงต่อถุงไขมันบรรจุแก๊ส

การศึกษาผลของคลื่นเสียงความถี่สูง ต่อถุงไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1 และ PC:PG:FeCl₃ อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1:1 พบว่าคลื่นเสียงความถี่สูงที่มีความถี่ต่ำ (0.8 และ 2.4 MHz) ไม่ทำให้ถุงไขมันทั้ง 2 ชนิด แตกหรือเสื่อมสภาพได้ กล่าวคือเมื่อให้คลื่นเสียงความถี่สูงกับถุงไขมันทั้ง 2 ชนิด นาน 60 Min. ค่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของ fluorescence intensity ของถุงไขมันทั้งสอง มีค่าลดลงน้อยกว่า 20% และไม่แตกต่างกัน ดังรูป 21 (A,B) เมื่อให้คลื่นเสียงความถี่สูง 8.0 MHz แก่ถุงไขมันทั้งสอง พบว่าถุงไขมันชนิด PC:PG:FeCl₃ อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1:1 มีค่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของ fluorescence intensity น้อยกว่า 10% แต่ถุงไขมันชนิด PC:PG อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1 มีค่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของ fluorescence intensity ระหว่าง 20–40% โดยเมื่อให้คลื่นเสียงความถี่สูง 8.0 MHz นาน 10 Min. มีค่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของ fluorescence intensity ประมาณ 25% และเมื่อเพิ่มเวลาการให้คลื่นเสียงความถี่สูงเป็นเวลา 30 และ 60 Min. ค่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของ fluorescence intensity มากขึ้นตามลำดับ และเมื่อให้คลื่นเสียงความถี่สูง 12.0 MHz แก่ถุงไขมันทั้งสอง พบว่าถุงไขมันชนิด PC:PG:FeCl₃ อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1:1 มีค่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของ fluorescence intensity ระหว่าง 10–20% โดยเมื่อให้คลื่นเสียงความถี่สูง 12.0 MHz นาน 10 Min. มีค่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของ fluorescence intensity ประมาณ 10% และเมื่อเพิ่มเวลาการให้คลื่นเสียงความถี่สูง ค่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของความเข้ม fluorescence มีค่าไม่เปลี่ยนแปลง แต่ถุงไขมันชนิด PC:PG อัตราส่วนโดย

โมลเท่ากับ 1:1 มีค่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของ fluorescence intensity ระหว่าง 20–40% โดยเมื่อให้คลื่นเสียงความถี่สูง 12.0 MHz นาน 10 Min. มีค่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของ fluorescence intensity ประมาณ 25% และเมื่อเพิ่มเวลาการให้คลื่นเสียงความถี่สูงเป็นเวลา 30 และ 60 Min. ค่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของ fluorescence intensity มีค่าเพิ่มขึ้นตามลำดับ ดังภาพที่ 22 และภาพที่ 23



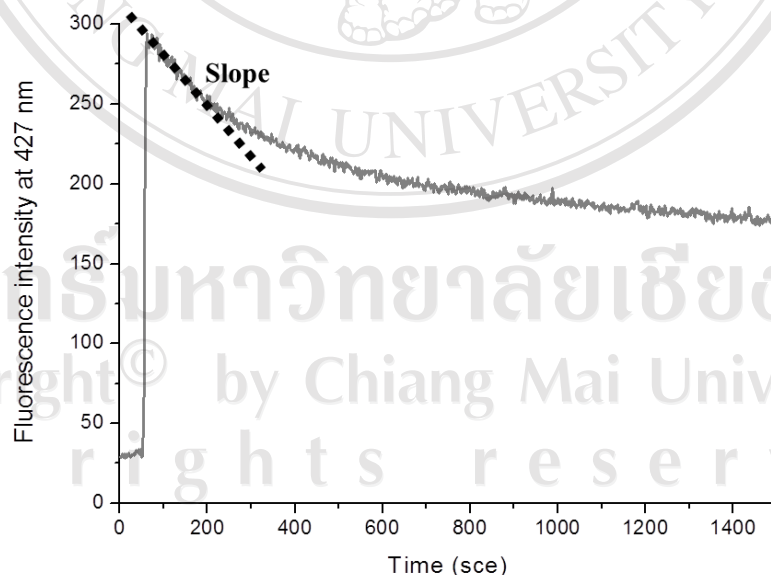
ภาพที่ 22 ผลของคลื่นเสียงความถี่สูงที่ 0.8 MHz (A), 2.4 MHz (B), 8.0 MHz (C) และ 12.0 MHz (D) ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าเปอร์เซ็นต์ fluorescence intensity ของ DPH ที่เรืองแสง เนื่องจากการเข้าไปแทรกระหว่างผิวของถุงไขมัน ชนิด PC:PG(1:1) และ PC:PG:FeCl₃(1:1:1)



ภาพที่ 23 ผลของคลื่นเสียงความถี่สูงที่ 0.8, 2.4, 8.0 และ 12.0 MHz ต่อตัวอย่างถุงไขมันชนิด PC:PG(1:1) และ PC:PG:FeCl₃(1:1:1)

จากผลการศึกษาข้างต้น เห็นได้ว่าเมื่อให้คลื่นเสียงความถี่สูงที่ความถี่ 0.8 2.4 8.0 และ 12.0 MHz แก่ถุงไขมันชนิด PC:PG:FeCl₃ อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1:1 ค่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของ fluorescence intensity ลดลงน้อยกว่า 10% แต่เมื่อให้คลื่นเสียงความถี่สูงที่ความถี่ดังกล่าว แก่ถุงไขมันชนิด PC:PG อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1 ค่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของ fluorescence intensity ลดลง 20–40% เมื่อให้คลื่นเสียงความถี่สูงที่ความถี่ 8.0 และ 12.0 MHz หมายความว่าถุงไขมันชนิด PC:PG:FeCl₃ อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1:1 มีความทนทานต่อคลื่นเสียงความถี่สูงที่ความถี่ตั้งแต่ 8.0 MHz ขึ้นไป มากกว่าถุงไขมันชนิด PC:PG อัตราส่วน 1:1 สามารถพัฒนาถุงไขมันชนิด PC:PG อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1 ในการขนส่งยาไปยังอวัยวะเป้าหมาย โดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่ความถี่ตั้งแต่ 8 MHz ขึ้นไปในการปล่อยยาออกจากถุงไขมัน

การหาค่าการเคลื่อนที่ของฟอสโฟไลปิดบนถุงไขมันบรรจุแก๊ส (Lipid movement index) หลังจากให้คลื่นเสียงความถี่สูงความถี่ 0.8 2.4 8.0 และ 12.0 MHz กับถุงไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1 และ PC:PG:FeCl₃ อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1:1 พิจารณาจากความชันของค่า fluorescence intensity ต่อเวลา โดยที่ค่าความชันจะติดลบ เนื่องจากเมื่อทำการเติม DPH ในสารละลายถุงไขมันบรรจุแก๊ส DPH จะเข้าไปแทรกบนผิวของถุงไขมัน ทำให้ค่า fluorescence intensity สูงขึ้น แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไป DPH จะให้พลังงานแก่ส่วนไม่ชอบน้ำของฟอสโฟไลปิด (Energy transfer) [24, 25] ส่งผลให้ค่า fluorescence intensity ลดลง ดังภาพที่ 24



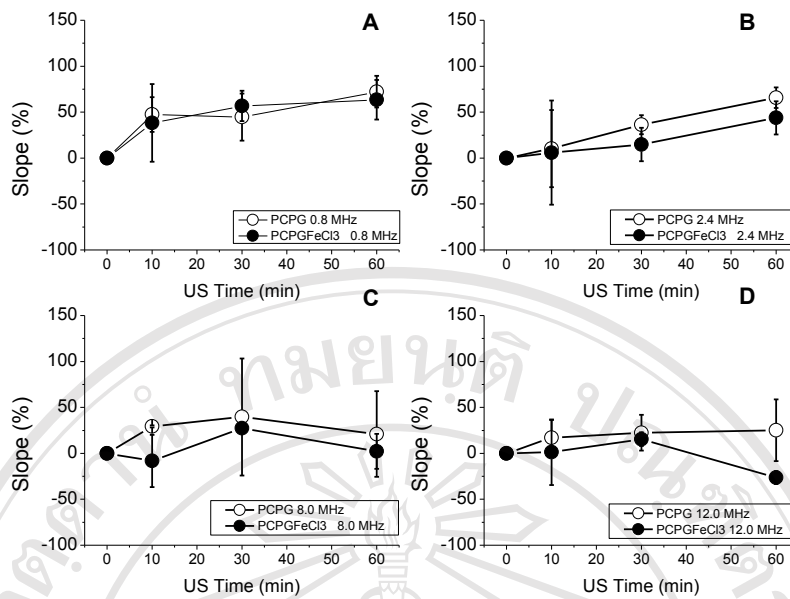
ภาพที่ 24 ค่า fluorescence intensity ที่ 427 nm ของ DPH เมื่อแทรกอยู่บนผิวถุงไขมันบรรจุแก๊ส ต่อเวลา โดยที่เส้นประคือค่าความชันของค่า fluorescence intensity ต่อเวลา

การศึกษานี้พิจารณาค่าการเคลื่อนที่ของฟอสโฟไลปิดบนถุงไขมันบรรจุแก๊ส (Lipid movement index) โดยใช้ค่าเปอร์เซ็นต์ความชันของ fluorescence intensity ต่อเวลา (%Slope) หรือค่า Energy transfer ซึ่งหาได้จากการเทียบค่าเปอร์เซ็นต์ความชันของ fluorescence intensity ต่อเวลา ของถุงไขมันที่ให้คลื่นเสียงความถี่สูงที่เวลาใดๆ (V_t) กับค่าเปอร์เซ็นต์ความชันของ fluorescence intensity ต่อเวลา ของถุงไขมันชนิดเดียวกันที่ไม่ได้รับการให้คลื่นเสียงความถี่สูง (V_0) ดังสมการ

$$\%Slope = \frac{V_0 - V_t}{V_0} \times 100$$

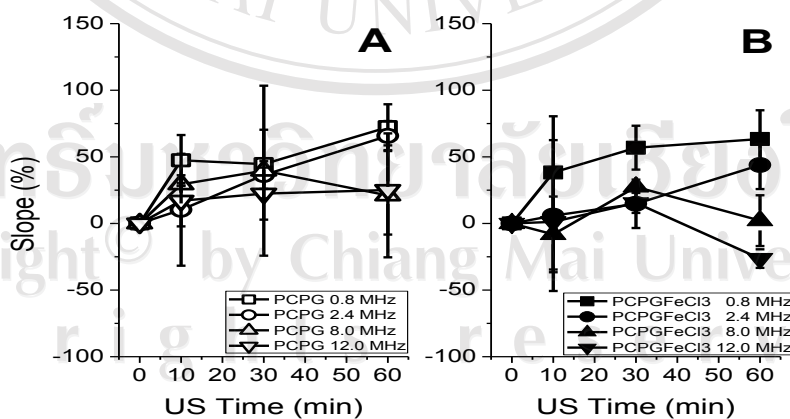
ค่า %Slope และค่าความชันของ fluorescence intensity ต่อเวลาของถุงไขมันที่ให้คลื่นเสียงความถี่สูงที่เวลาใดๆ (V_t) แปรผันโดยตรงกับค่าการเคลื่อนที่ของฟอสโฟไลปิดบนถุงไขมันบรรจุแก๊ส (Lipid movement index) กล่าวคือถ้าค่า V_t มีค่าเพิ่มขึ้น จะได้ค่า %Slope เพิ่มขึ้น แสดงว่าค่าการเคลื่อนที่ของฟอสโฟไลปิดบนถุงไขมันบรรจุแก๊ส (Lipid movement index) เพิ่มขึ้น เช่นกัน แต่ค่า Energy transfer ของ DPH แก่ส่วนไม่ชอบน้ำของฟอสโฟไลปิดที่ประกอบเป็นถุงไขมันบรรจุแก๊ส มีค่าลดลง

จากการทดลองเมื่อให้คลื่นเสียงความถี่สูง 0.8 MHz แก่ถุงไขมันบรรจุแก๊สทั้งสองชนิด พบว่าค่า %Slope มีค่าไม่แตกต่างกัน เมื่อให้คลื่นเสียงความถี่สูง 2.4 8.0 และ 12.0 MHz แก่ถุงไขมันบรรจุแก๊สทั้งสองชนิด พบว่าค่า %Slope ของถุงไขมันชนิด PC:PG อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1 มีค่าเพิ่มขึ้นสูงกว่าถุงไขมันชนิด PC:PG:FeCl₃ อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1:1 เมื่อให้คลื่นเสียงความถี่สูงเป็นเวลานานขึ้น ดังภาพที่ 25 กล่าวคือเมื่อให้คลื่นเสียงความถี่สูงที่มีความถี่ 2.4 8.0 และ 12.0 MHz แก่ถุงไขมันบรรจุแก๊ส สามารถทำให้ถุงไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1 มีการเคลื่อนที่ของฟอสโฟไลปิดบนถุงไขมันบรรจุแก๊ส (Lipid movement) มากกว่าถุงไขมันชนิด PC:PG:FeCl₃ อัตราส่วนโดยโมลเท่ากับ 1:1:1 เนื่องจากคลื่นเสียงความถี่สูงดังกล่าวมีผลต่อการเคลื่อนที่ของฟอสโฟไลปิดบนถุงไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG มากกว่า PC:PG:FeCl₃ ได้แก่สภาวะปกติถุงไขมันมีการเคลื่อนที่ของฟอสโฟไลปิดอยู่ค่าหนึ่ง แต่จะเพิ่มขึ้นเมื่อให้คลื่นเสียงความถี่สูง ร่วมกับมีโมเลกุล FeCl₃ ที่ไปจับส่วนชอบน้ำของฟอสโฟไลปิด ทำให้การเคลื่อนที่ของฟอสโฟไลปิดบนผิวถุงไขมันชนิด PC:PG:FeCl₃ ลดลง



ภาพที่ 25 ผลของคลื่นเสียงความถี่สูงที่ 0.8 MHz (A), 2.4 MHz (B), 8.0 MHz (C) และ 12.0 MHz (D) ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าเปอร์เซ็นต์ความชันที่ลดลงของการเรืองแสงของ DPH เนื่องจากเกิดการถ่ายเทพลังงานไปยังฟิวของถุงไขมัน ชนิด PC:PG (1:1) และ PC:PG:FeCl₃(1:1:1)

เมื่อพิจารณาผลของคลื่นเสียงความถี่สูงที่ความถี่ต่างๆ ต่อค่า %Slope ของถุงไขมันทั้งสองชนิด พบว่าเมื่อใช้คลื่นเสียงความถี่สูง 0.8 MHz ทำให้ถุงไขมันทั้งสองชนิดมีค่า %Slope เพิ่มขึ้นประมาณ 40–50% เมื่อให้คลื่นเสียงความถี่สูงนาน 10 30 และ 60 นาที ซึ่งมากกว่าเมื่อใช้คลื่นเสียงความถี่สูง 2.4 8.0 และ 12.0 MHz ตามลำดับ ดังภาพที่ 26



ภาพที่ 26 ผลของคลื่นเสียงความถี่สูงที่ 0.8 2.4 8.0 และ 12.0 MHz ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าเปอร์เซ็นต์ความชันที่ลดลงของการเรืองแสงของ DPH เนื่องจากเกิดการถ่ายเทพลังงานไปยังฟิวของถุงไขมัน ชนิด PC:PG (1:1) (A) และ PC:PG:FeCl₃(1:1:1) (B)