สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ ค

บทคัดย่อภาษาไทย ง

ABSTRACT จ

สารบัญตาราง ซ

สารบัญภาพ ฌ

รายการอักษรย่อ ฎ

รายการสัญลักษณ์ ฑ

บทที่ 1 บทนำ 1

บทที่ 2 ทฤษฎีที่เกียวข้อง 5

2.1 ทฤษฎีการสร้างภาพด้วยอัลตร้าซาวด์ 5

2.2 ผลของอัลตร้าซาวด์ต่อเซลล์ร่างกาย 7

2.3 สารเปรียบต่างสำหรับการตรวจอัลตร้าซาวด์ 8

2.4 ฟอสโฟไลปิดกับการสังเคราะห์ถุงไขมัน 9

2.5 สารติดตามการเรืองแสง (fluorescence probe) กับการวัดเสถียรภาพของถุงไขมัน 11

2.6 หลักการวัดขนาดของถุงไขมัน 11

2.6.1 Flowcytometry 11

2.6.2 Dynamic Light Scattering (DLS) 12

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 14

3.1 การสังเคราะห์ถุงไขมัน 14

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.1.1 การทำแผ่นฟิล์มบาง 14
3.1.2 การสร้างถุงไขมันบรรจุแก๊สด้วยเทคนิค Freeze thaw 15
3.1.3 การทำให้ขนาดถุงไขมันใกล้เคียงกัน (homogeneous) ด้วยเทคนิค Sonicate 16
3.2 การตรวจสอบคุณสมบัติทางฟิสิกส์ของถุงไขมันบรรจุแก๊ส 16
3.2.1 การวัดขนาดด้วยเทคนิค Flow cytometry 16
3.2.2 การวัดขนาดด้วยเทคนิค Dynamic Light Scattering (DLS) 16
3.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์ถุงไขมันบรรจุแก๊ส 17
3.3.1 การตรวจสอบการเป็นถุงไขมัน และความเสถียรของถุงไขมัน ด้วยเทคนิค Spectrofluorometry 17
3.3.2 การตรวจสอบการเป็นถุงไขมันด้วยเทคนิค Spectrophotometry 18
3.4 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ 19
3.5 การทำอันตรกิริยาของถุงไขมันบรรจุแก๊สต่อเซลล์มะเร็ง 20
3.6 การสร้างภาพภถุงไขมันบรรจุแก๊ส 20
3.7 การตรวจสอบผลของคลื่นเสียงความถี่สูงต่อถุงไขมันบรรจุแก๊ส 21
บทที่ 4 ผลการศึกษาและวิจารณ์ผลการศึกษา 22
4.1 คุณสมบัติทางฟิสิกส์ และเอกลักษณ์ของถุงไขมันบรรจุแก๊ส 22
4.2 ความเป็นพิษต่อเซลล์ 27
4.3 การทำอันตรกิริยาของถุงไขมันบรรจุแก๊สต่อเซลล์มะเร็ง 28
4.4 การสร้างภาพถุงไขมันบรรจุแก๊ส 29
4.5 การตรวจสอบผลของคลื่นเสียงความถี่สูงต่อถุงไขมันบรรจุแก๊ส 30
บทที่ 5 บทสรุป 35
เอกสารอ้างอิง 36
ภาคผนวก 39
ประวัติผู้เขียน 44

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ขนาดถุงไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG ที่ทำการวัดโดยใช้เทคนิค Flow cytometry 23

ตารางที่ 2 ขนาดถุงไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG และ PC:PG:$FeCl_3$ ที่ทำการวัดโดย ใช้เทคนิค DLS 26

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 แสดงการปรับปรุงผิวถุงไขมันด้วย PEGylated และสารลดแรงตึงผิว 3

ภาพที่ 2 แสดงการปรับปรุงผิวถุงไขมันด้วย Polyoxyethylene 40 stearate [PEG40s] 3

ภาพที่ 3 แสดงอันตรกิริยาของคลื่นเสียงความถี่สูง กับเนื้อเยื่อ 6

ภาพที่ 4 แผนผังการเกิดปรากฏการณ์คาวิเตชัน (cavitation) 7

ภาพที่ 5 ถุงไขมันมีการเรียงตัวฟอสโฟไลปิด 2 ชั้น โดยหันด้านไม่มีขั้ว (hydrophobic) เข้าหากัน และหันด้านมีขั้ว (hydrophilic) ออกจากกัน 9

ภาพที่ 6 โครงสร้างทางเคมีของฟอสโฟไลปิด (Phospholipids) 10

ภาพที่ 7 ส่วนประกอบ และการทำงานของเครื่อง flowcytometer 12

ภาพที่ 8 ผลกระทบลักษณะการแพร่เคลื่อนตำแหน่งของอนุภาคที่มีขนาดไม่เท่ากัน ต่อความถี่ในการกระเพื่อมขึ้น–ลงของแสง 13

ภาพที่ 9 โครงสร้างเคมีของ Phosphatidylcholine, PC (บน) และ 1,2- Dipalmitoyl-sn-glyero-3-phospho-rac-(1-glycerol), PG (ล่าง) 14

ภาพที่ 10 กราฟการกระตุ้น (excitation spectrum) และการเรืองแสง (emission spectrum) ของ DPH เมื่อเข้าไปแทรกส่วนไม่มีขั้วของฟอสโฟไลปิดบนผิวถุงไขมันชนิด PC:PG ในตัวทำละลาย Tris-HCl pH=7.4 17

ภาพที่ 11 การเรืองแสงของถุงไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG ในตัวทำละลาย Tris-HCl pH=7.4 เมื่อเติมสารเรืองแสง DPH และผลต่างของค่าการเรืองแสง Fluorescence intensity, F_0 18

ภาพที่ 12 ภาพแสดงหุ่นจำลองเพื่อใช้สร้างภาพอัลตราซาวด์ 20

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 13 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างขนาดอนุภาคที่ทราบขนาดกับค่าการกระเจิงของแสง 22

ภาพที่ 14 ค่าเปอร์เซ็นต์การเรืองแสงของ DPH ที่แทรกระหว่างชั้นไขมันของถุงไขมันบรรจุแก๊ส ชนิด PC:PG(1:1) (○), (5:1) (△) และ (10:1) (□) 23

ภาพที่ 15 การดูดกลืนแสงของสารละลายเฟอริกคลอไรด์ก่อน และหลังการสังเคราะห์ถุงไขมัน 25

ภาพที่ 16 การดูดกลืนแสงของถุงไขมันชนิด PC:PG และ PC:PG:$FeCl_3$ 25

ภาพที่ 17 แบบจำลองถุงไขมันบรรจุแก๊สที่สังเคราะห์ขึ้น (PC:PG=1:1, PC:PG:$FeCl_3$=1:1:1) 27

ภาพที่ 18 ค่าเปอร์เซ็นต์ Fluorescence intensity ของ DPH ที่แทรกระหว่างชั้นไขมัน ของถุงไขมันบรรจุแก๊สชนิด PC:PG(1:1) (○) และ PC:PG:$FeCl_3$(1:1:1) (●) 27

ภาพที่ 19 กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มข้นของถุงไขมันบรรจุแก๊สกับ % IC ของเซลล์ GLC4 (A) และ GLC4/Adr (B) 28

ภาพที่ 20 ภาพ bright–light และภาพ fluorescence (20x) ของเซลล์ GLC_4 หลังการเติม ถุงไขมันบรรจุแก๊สที่เวลา 5 (A), 10 (B), 20 (C)Min. และการหาพื้นที่ใต้กราฟ ของค่าความเข้ม fluorescence (D) และพื้นที่ใต้กราฟของค่าความเข้ม fluorescence ที่เวลาต่างๆ หลังการเติมถุงไขมันบรรจุแก๊ส (E) 29

ภาพที่ 21 ภาพอัลตราซาวด์ของหุ่นจำลองที่สร้างจาก agarose gel: รูป A และ B แสดง ภาพตัดขวาง 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 30

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:$FeCl_3$(1:1:1) 31

ภาพที่ 23 ผลของคลื่นเสียงความถี่สูงที่ 0.8, 2.4, 8.0 และ 12.0 MHz ต่อตัวอย่างถุงไขมัน ชนิด PC:PG(1:1) และ PC:PG:$FeCl_3$(1:1:1) 31

ภาพที่ 24 ค่า fluorescence intensity ที่ 427 nm ของ DPH เมื่อแทรกอยู่บนผิวถุงไขมันบรรจุแก๊ส ต่อเวลา โดยที่เส้นประคือค่าความชันของค่า fluorescence intensity ต่อเวลา 32

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 25 ผลของคลื่นเสียงความถี่สูงที่ 0.8 MHz (A), 2.4 MHz (B), 8.0 MHz (C) และ 12.0 MHz(D) ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าเปอร์เซ็นต์ความชันที่ลดลงของการเรืองแสงของ DPH เนื่องจากเกิดการถ่ายเทพลังงานไปยังผิวของถุงไขมันชนิด PC:PG (1:1) และ PC:PG:$FeCl_3$(1:1:1) 34

ภาพที่ 26 ผลของคลื่นเสียงความถี่สูงที่ 0.8 2.4 8.0 และ 12.0 MHz ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าเปอร์เซ็นต์ความชันที่ลดลงของการเรืองแสงของ DPH เนื่องจากเกิดการถ่ายเทพลังงานไปยังผิวของถุงไขมัน ชนิด PC:PG (1:1) (A) และ PC:PG:$FeCl_3$(1:1:1) (B) 34

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รายการอักษรย่อ

Cells/mL	จำนวนเซลล์ต่อมิลลิลิตร
cm	เซนติเมตร
CO_2	แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์
°C	องศาเซลเซียส
Days	วัน
DLS	Dynamic Light Scattering
DPH	1,6–diphenyl–1–3,5–hexatriene
$FeCl_3$	เฟอริกคลอไรด์
g/cm3	กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร
GLC4	เซลล์มะเร็งปอดชนิดเซลล์เล็กที่ไวต่อยา Doxorubicin
GLC4/Adr	เซลล์มะเร็งปอดชนิดเซลล์เล็กที่ดื้อต่อยา Doxorubicin
Hrs.	ชั่วโมง
J/K	จูลต่อเคลวิน
K	เคลวิน
kHz	กิโลเฮิรตซ์
LUV	Large unilamellar vesicles
mbar	มิลลิบาร์
MHz	เมกกะเฮิรตซ์
Min.	นาที
mL	มิลลิลิตร
MLV	Multilamellar vesicles
mM	มิลลิโมลาร์
MPa	เมกกะปาสคาล
m/s	เมตรต่อวินาที
mV	มิลลิโวลต์
nm	มิลลิเมตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Pa·s	ปาสคาล วินาที
PBS	Phosphate Buffer Saline
PC	Phosphatidylcholine
PEG40s	Polyoxyethylene 40 stearate
PFC	Perfluorocarbon gas
PG	1,2–Dipalmitoyl–sn–glyero–3 phospho–rac–(1–glycerol)
PLGA	Poly(lactide-co-glycolide)
rpm	รอบต่อนาที
RPMI–1640	อาหารเลี้ยงเซลล์
SUV	Small unilamellar vesicles
Tm	Transition temperature
Tris–HCl	สารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.4
USCAs	Ultrasound Contrast Agents
v/v	ปริมาตรต่อปริมาตร
w	วัตต์
Z	Acoustic Impedance
%C	เปอร์เซ็นต์การตายของเซลล์
μL	ไมโครลิตร
μm	ไมโครเมตร
μM	ไมโครโมลาร์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

รายการสัญลักษณ์

θ_I	มุมตกกระทบ
θ_r	มุมสะท้อน
θ_t	มุมหักเหเข้าสู่ตัวกลาง
ρ	ความหนาแน่นเฉลี่ยของตัวกลาง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved