

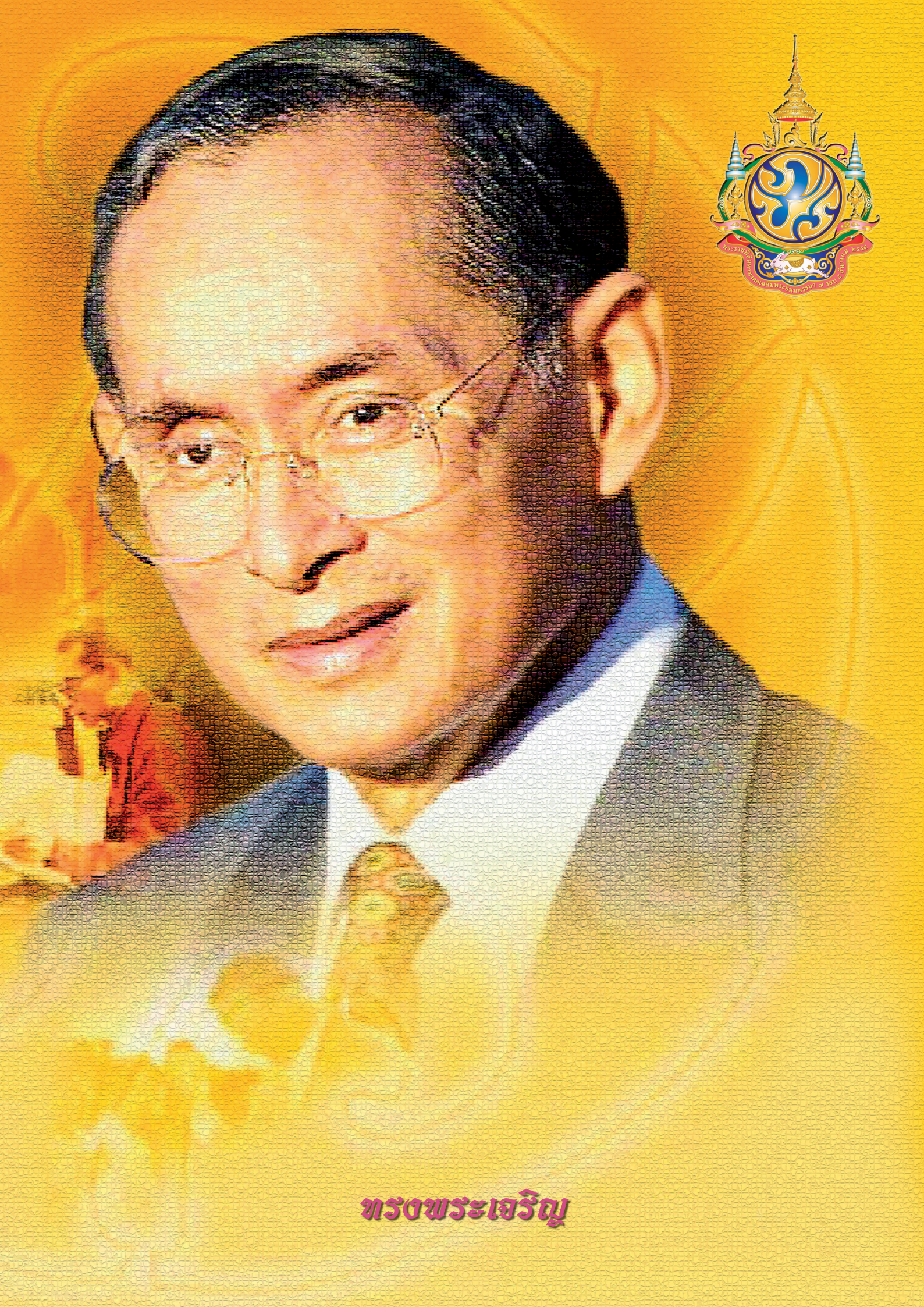


วารสาร เทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

• เทคนิคการแพทย์ • กายภาพบำบัด • กิจกรรมบำบัด • รังสีเทคนิค

ปีที่ 47 ฉบับที่ 1 มกราคม 2557 ISSN : 0125-5347

BULLETIN OF CHIANG MAI ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES



ທຣູນພຣະເຈຣີດູ

Content I

- 10** การเปรียบเทียบรูปแบบการฟิตเคิร์ฟ เพื่อการวัดค่า T2* จากภาพเอ็มอาร์ของหุ่นจำลอง เจลที่ระดับของสัญญาณต่อสัญญาณรบกวนต่างกัน
A comparison of curve-fitting models for MRI T2* measurements of a gel-phantom at different levels of signal to noise ratio
แพทย์ บุตตโคตร สุวิทย์ แซ่ไคว่
Petai Buttakote Suwit Saekho
- 18** ความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส ของชนเผ่าที่อาศัยอยู่ในเขตภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย: การศึกษาเบื้องต้น
Prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in tribes of Northern Thailand: Preliminary study
หนึ่งฤทัย นิลศรี
Nungruthai Nilsri
- 23** การประเมินค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสีในการถ่ายภาพทรวงอกท่า PA จากระบบการสร้างภาพรังสีด้วยคอมพิวเตอร์ของผู้ป่วยที่รับบริการในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
The assessment of exposure index on the posterior-anterior computed radiography chest in Srinagarind Hospital, Khon Kaen University
บรรจง เชื้อนกแก้ว วิชัย วิชชาธรตระกูล เอมอร ไม้เรียง
Banjong Kheonkaew Wichai Wichatormtrakul Eimorn Mairiang
ปณัสดา อวิคุณประเสริฐ คชายุทธ นิกภาพฤกษ์
Panatsada Awikhunprasert Khathayuth Nikapruak
- 30** การลดการแสดงออกของซีดี 147 ด้วย ซีดี 147 ซิงเกลเซนเอฟวี อินทรบาบอดี ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ เซลล์มะเร็งปากมดลูกของคน
CD147 scFv intrabody-mediated CD147 knockdown inhibits proliferation of human cervical cancer HeLa cells
ทิภัทรพร พาณิช พชรภัทร มังจักร สุพรรณ ปาติ๊ะ
Tipattaraporn Panich Pacharaphat Mangchak Supansa Pata
ขจรศักดิ์ ตระกูลพัฑ ชัชชัย ตะยาภิวัฒนา ณัฐจิรา อินตะใส
Khajornsak Tragoolpua Chatchai Tayapiwatana Nutjeera Intasai
- 37** การแยกส่วนประกอบภายในแผ่นไขมัน โรคหลอดเลือดแดงคอโรติคแข็งตัว ด้วยเทคนิค T2 mapping จากภาพคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า
Classification of carotid atherosclerotic plaque components using T2 mapping technique from magnetic resonance imaging
สรณัฐ จันทร์เพ็ญมงคล กิตติชัย วรธนะจิตติกุล กิตติพันธ์ ฤกษ์เกษม
Sranut Chunpenmongkol Kittichai Wantanajittikul Kittipan Rerkasem
ชรินทร์ ยาอินทร์ สุวิทย์ แซ่ไคว่
Charin Ya-in Suwit Saekho
- 45** ผลของสารสกัดหยาบเอทานอลจากผลของราชดัด (*Brucea amarissima*) ต่อความเป็นพิษต่อเซลล์และการแสดงออกของโปรตีนวิลม์ทูเมอร์วันในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562
Effect of crude ethanolic extract of Ratchadat (*Brucea amarissima*) fruit on cell cytotoxicity and Wilms' tumor 1 protein expression in K562 leukemic cell line
สุวรรณา เสมศรี นวลจันทร์ แก้วอุดร นันทกรณ์ ใจภักดี
Suwanna Semsri Nuanchun Kaewoudorn Nuntaporn Jaipukdee
นภาพร ชรชาญ ณัฐริณี หอระตะ
Naphaorn Chorachan Natharinee Horata
- 53** ความเที่ยงตรงและความเชื่อมั่นของแบบวัดความรู้และความตระหนักในเรื่องการป้องกันการติดเชื้อแบบครอบคลุมของสาขาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Validity and reliability of the Test of Knowledge and Awareness of universal precautions in Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
รัชฎาพร อุดปน พีรยา มั่นเขตวิทย์ สันทนา บัวมงคล
Ratchadaporn Udpaun Peeraya Munkhetvit Santhana Buamongkol
พลรัตน์ พันธุ์แพ ขจรศักดิ์ ตระกูลพัฑ
Ponrut Phunpae Khajornsak Tragoolpua
- 61** การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาหลังจากลำดับการรักษาด้วยแผ่นประคบร้อนร่วมกับคลื่นเสียงความถี่สูงบริเวณจุดกดเจ็บชนิดแฝงเร้นของกล้ามเนื้อขา
Physiological changes following therapeutic sequence of hot pack combined with ultrasound over latent myofascial trigger point of upper trapezius muscle
อาทิตย์ พวงมะลิ อุบล พิรุณสาร ดารารัตน์ เบนบุญญานุภาพ
Aatit Paungmali Ubon Pirunsan Dararat Benjabanunapap





BULLETIN OF CHIANG MAI ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES

Focus and scope

The Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences (Bull Chiang Mai Assoc Med Sci) is the official peer-reviewed journal of the Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University. Manuscripts (original articles, general articles, short technical reports, notes, and letter to editor) in areas of Medical Technology, Physical Therapy, Occupational Therapy, Radiologic Technology, and related fields are welcome. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci is published 3 times a year in January, May and September.

The goal of Bull Chiang Mai Assoc Med Sci is to provide a platform for scientists and academicians to promote, share, and discuss various new issues and developments in different areas of Medical Technology, Physical Therapy, Occupational Therapy, and Radiologic Technology.

The final decision on publication of a manuscript rests with the Editorial Board and ultimately with the Editor. All papers, regardless of type, represent the opinion of the authors and not necessarily that of the Editor, the Association of the Publisher.

Objectives

The Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences aims to publish integrating research papers in areas of Medical Technology, Physical Therapy, Occupational Therapy, Radiologic Technology, and related under peer-reviewed process by at least two internal or external reviewers.

Types of manuscript

Manuscripts may be submitted in the form of original articles, general articles, short technical reports, notes, or letters to editor where, as an approximate guide to length:

- Review articles would not normally exceed 20 journal pages of printed text, inclusive of tables, figures, and references.
- Original articles would not normally exceed 15 journal pages, similarly all-inclusive.
- Short communications including technical reports, notes, and letter to editor would not normally exceed 5 journal pages.

Peer review process

All manuscripts must be peer-reviewed by at least 2 internal or external reviewers in the areas of Medical Technology, Physical Therapy, Occupational Therapy, Radiologic Technology, and related.

Publication frequency

The Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences publishes 3 times a year

Volume 1: January-April

Volume 2: May-August

Volume 3: September-December

Editor

Associate Professor Dr. Preeyanat Vongchan

Associate Editor

Associate Professor Dr. Tanusak Tatu

Editorial Board

Professor Dr. Chatchai Tayapiwatana

Associate Prof. Dr. Suchart Kothan

Assistant Prof. Dr. Supaporn Chinchai

Dr. Araya Yanakai

Professor Dr. Suthat Fucharoen, M.D.

Professor Dr. Kesara Na Bangchang

Associate Prof. Dr. Supan Fuchaoen

Associate Prof. Goonnapa Fucharoen

Associate Prof. Dr. Ganjana Lertmemongkolchai

Professor Dr. Navapun Charuruks, M.D.

Associate Prof. Warunee Kunachiwa

Chiang Mai University

Chiang Mai University

Chiang Mai University

Chiang Mai University

Mahidol University

Thammasart University

Khon Kaen University

Khon Kaen University

Khon Kaen University

Bumrungrad International Hospital

Retiree reviewer, Chiang Mai

Associate Prof. Dr. Roongtiwa Vachalathiti
Assistant Prof. Dr. Wattana Jalayondeja
Assistant Prof. Dr. Raweewan Leksakulchai
Dr. Supalak Khemthong
Associate Prof. Therdchai Jivacate, M.D.
Assistant Prof. Dr. Prawit Janwantanakul
Assistant Prof. Dr. Rotsalai Kanlayanaphotporn
Assistant Prof. Dr. Kanda Chaipinyo
Assistant Prof. Dr. Rumpa Boonsinsukh
Assistant Prof. Dr. Yodchai Boonprakob
Associate Prof. Dr. Somchai Rattanathongkom
Assistant Prof. Dr. Pornratchanee Weerapong
Pornsawan Posawang
Assistant Prof. Nantaya Udompanich
Professor Eimorn Mairiang, M.D.
Associate Prof. Jiraporn Laothammathat, M.D.
Associate Prof. Dr. Rujaporn Chanachai
Associate Prof. Dr. Jiraporn Tocharoenchai

Mahidol University
Mahidol University
Mahidol University
Mahidol University
Protheses Foundation of H.R.H The Princess Mother
Chulalongkorn University
Chulalongkorn University
Srinakharinwirot University
Srinakharinwirot University
Khon Kaen University
Khon Kaen University
Huachiew Chalermprakiat University
Sirindhorn National Medical Rehabilitation Center, Nonthaburi
Khon Kaen University
Khon Kaen University
Mahidol University
Mahidol University
Mahidol University

Business manager

Mrs. Jariya Garthong

Treasurer

Mrs. Angsumalee Srithiruen

Registra Staff

Mr. Thanakorn Karnluksanee
Mr. Manut Manokhum

Webpage Administrative Staff

Mr. Nopporn Phuangsombat
Mr. Anurak Bunpun
Mr. Tapapol Comnoi

Editorial Office

**Faculty of Associated Medical Sciences,
Chiang Mai University**

110 Inthawaroros Road, Suthep, Muang,
Chiang Mai, 50200

Phone 053 945072 Facsimile 053 946042

Journal website

Homepage [http://: www.ams.cmu.ac.th/journal](http://www.ams.cmu.ac.th/journal)

Journal ISSN:

0125-5347

Journal Impact Factor

Thai Journal Citation Index Center (TCI) 2012 is 0.054

Publisher

ECONOMICLINE 2004, Co. Ltd

31/53 Moo 6 Pracha rat Road, Talat Khwan, Mueang
Nonthaburi, Nonthaburi 11000

Tel 0-2525-2753-4 Facsimile 0-2525-1428

Disclaimer

Personal views expressed by the contributors in their articles are not necessarily those of the Bulletin Chiang Mai Associate Medical Sciences, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University.



วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

ความมุ่งมันและขอบเขตของวารสาร

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่เป็นวารสารวิชาการดำเนินงานโดยคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เผยแพร่บทความที่เกี่ยวข้องกับเทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด รังสีเทคนิคและสาขาวิชาอื่นที่เกี่ยวข้อง เพื่อเป็นเวทีนำเสนอและแบ่งปันองค์ความรู้ทางวิชาการสำหรับนักวิจัย นักวิชาการ และนักวิชาชีพ ประกอบด้วย บทความทั่วไป บทความปริทัศน์ นิพนธ์ต้นฉบับ และ จดหมายถึงบรรณาธิการ บทความทุกบทความได้รับการพิจารณาจากผู้ทรงคุณวุฒิที่เชี่ยวชาญในสาขานั้นจากภายในหรือภายนอก อย่างน้อย 2 คน วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ ตีพิมพ์เผยแพร่ ปีละ 3 ฉบับ ใน เดือนมกราคม พฤษภาคม และกันยายน

วัตถุประสงค์

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่เป็นวารสารที่จัดทำขึ้นโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเผยแพร่ผลงานวิจัย ความรู้และความก้าวหน้าทางวิชาการที่มีคุณภาพในด้านเทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด รังสีเทคนิคและสาขาวิชาที่เกี่ยวข้อง ด้วยระบบการตรวจประเมินคุณภาพบทความทางวิชาการจากผู้ทรงคุณวุฒิภายในหรือภายนอกผู้มีความเชี่ยวชาญในสาขานั้น

ชนิดของบทความ

บทความทางวิชาการที่เกี่ยวข้องในสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด รังสีเทคนิค และสาขาวิชาที่เกี่ยวข้องในลักษณะต่างๆ ได้แก่ นิพนธ์ต้นฉบับ บทความทั่วไป รายงานเทคนิคและบันทึกสั้น รวมถึงจดหมายถึงบรรณาธิการ โดยจำกัดความยาวดังนี้

- บทความทั่วไป ความยาวไม่เกิน 20 หน้าพิมพ์ รวมเนื้อความ ตาราง รูปประกอบและเอกสารอ้างอิง
- นิพนธ์ต้นฉบับ ความยาวไม่เกิน 15 หน้าพิมพ์ รวมเนื้อความ ตาราง รูปประกอบและเอกสารอ้างอิง
- รายงานเทคนิค บันทึกสั้นและจดหมายถึงบรรณาธิการ ความยาวไม่เกิน 5 หน้าพิมพ์

การพิจารณาบทความ

บทความที่ขอรับการพิจารณากับวารสารเทคนิคการแพทย์ ต้องได้รับการประเมินและพิจารณาเนื้อหาทางวิชาการจากผู้ทรงคุณวุฒิอย่างน้อย 2 คน ที่เห็นพ้อง โดยเป็นผู้ทรงคุณวุฒิภายในหรือภายนอกที่เชี่ยวชาญในสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด รังสีเทคนิค และสาขาวิชาที่เกี่ยวข้อง

กำหนดการตีพิมพ์

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ มีกำหนดการตีพิมพ์ 4 เดือนต่อ 1 ฉบับ ทั้งหมด 3 ฉบับต่อปี ดังนี้

ฉบับที่ 1 มกราคม-เมษายน

ฉบับที่ 2 พฤษภาคม-สิงหาคม

ฉบับที่ 3 กันยายน-ธันวาคม

บรรณาธิการ

รองศาสตราจารย์ ดร. ปรียานาถ วงศ์จันทร์

รองบรรณาธิการ

รองศาสตราจารย์ ดร. ธนุศักดิ์ ตาตุ

กองบรรณาธิการ

ศาสตราจารย์ ดร. ชัชชัย ตะยาวิวัฒนา

รองศาสตราจารย์ ดร. สุชาติ โกกัมน์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุภาพร ชินชัย

อาจารย์ ดร. อารยา ญาณกาย

ศาสตราจารย์ ดร. นพ. สุทัศน์ ฟูเจริญ

ศาสตราจารย์ ดร. เกศรา ณ บางช้าง

รองศาสตราจารย์ ดร. สุพรรณ ฟูเจริญ

รองศาสตราจารย์ กุลนภา ฟูเจริญ

รองศาสตราจารย์ ดร. กาญจนา เลิศมีมงคลชัย

ศาสตราจารย์ พญ. นวพรรณ จารุรักษ์

รองศาสตราจารย์ วารุณี คุณาชีวะ

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

มหาวิทยาลัยมหิดล

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

โรงพยาบาลบำรุงราษฎร์ กรุงเทพมหานคร

ผู้ทรงคุณวุฒิเกษียณราชการ เชียงใหม่

รองศาสตราจารย์ ดร. รุ่งทิวา วัฒนละอิตติ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรธนะ ชลายนเดชะ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ระวีวรรณ เล็กสกุลไชย
อาจารย์ ดร. ศุภลักษณ์ เข้มทอง
รองศาสตราจารย์ นพ. เทอดชัย ชีวะเกตุ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประวิตร เจนวรรณกุล
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รสลีย์ กัลยาณพจน์พร
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กานดา ชัยภิญโญ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รัมภา บุญสินสุข
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ยอดชาย บุญประกอบ
รองศาสตราจารย์ ดร. สมชาย รัตนทองคำ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พรวิชัย วีระพงษ์
คุณพรสวรรค์ โพธิ์สว่าง
ผศ. นันทยา อุดมพาณิชย์
ศาสตราจารย์ พญ. เอมอร ไม้เรียง
รองศาสตราจารย์ พญ. จิราภรณ์ เหล่าธรรมทัศน์
รองศาสตราจารย์ ดร. รุจพร ชนะชัย
รองศาสตราจารย์ ดร. จิราภรณ์ ไตเจริญชัย

มหาวิทยาลัยมหิดล
มหาวิทยาลัยมหิดล
มหาวิทยาลัยมหิดล
มหาวิทยาลัยมหิดล
มูลนิธิวิทยาศาสตร์ในสมเด็จพระศรีนครินทราบรมราชชนนี เชียงใหม่
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
มหาวิทยาลัยขอนแก่น
มหาวิทยาลัยขอนแก่น
มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
ศูนย์ฟื้นฟูสมรรถภาพแห่งชาติสิรินธร นนทบุรี
มหาวิทยาลัยขอนแก่น
มหาวิทยาลัยขอนแก่น
มหาวิทยาลัยมหิดล
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
มหาวิทยาลัยมหิดล

ผู้จัดการ

นางจริยา กาทอง

ฝ่ายบัญชีและการเงิน

นางอังศุมาลี ศรีทิเรื่อน

ฝ่ายทะเบียน

นายธนกร การลักษณ์

นายมนต์ มะโนคำ

สารสนเทศ

นายณพพร พวงสมบัติ

นายอนุรักษ์ บุญปัน

นายจุฬพล คำน้อย

ดำเนินงานจัดทำโดย

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
เลขที่ 110 ถนนอินทวโรรส ตำบลสุเทพ อำเภอเมือง
จังหวัดเชียงใหม่ 50200
โทรศัพท์ 053 945072 โทรสาร 053 946042

เว็บไซต์ของสารสาร

Homepage [http:// www.ams.cmu.ac.th/journal](http://www.ams.cmu.ac.th/journal)

รหัสวารสาร

0125-5347

Journal Impact Factor

อ้างอิงศูนย์ดัชนีการอ้างอิงวารสารไทย (ประจำปี 2555) 0.054

ฝ่ายการตลาด

จุฬามาศ สุนทรนันท์

กัลยาณี อ่อนธรรม

หทัยทิพย์ กอททอง

ปรางทิพย์ แกมนิรัตน์

ศิริกร แกมนิรัตน์

ขวัญชนก กอททอง

ฝ่ายศิลปกรรม

ประเทือง เครือสุนทร

วสันต์ โสธรธรรมศิริ

จิรวัฒน์ เล็กชม

จัดพิมพ์โดย

บริษัทแนวทางเศรษฐกิจ 2004 จำกัด

31/53 หมู่ 6 ถนนประชาราษฎร์ ตำบลตลาดขวัญ อำเภอถนนพู่
จังหวัดนนทบุรี 11000

โทรศัพท์ 0-2525-2753-4 โทรสาร 0-2525-1428

เพลก / แยกสี

เพื่อนนักพิมพ์

การรับผิดชอบบทความ

ข้อมูล วรรณคดี และข้อความใดๆ ที่ปรากฏในวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ เป็นของผู้เขียน หรือเจ้าของต้นฉบับเดิมโดยเฉพาะ
วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ไม่จำเป็นต้องเห็นพ้องด้วย

บรรณาธิการแถลง

เนื่องในศุภวาระดิถีขึ้นปีใหม่ 2557 ในนามของกองบรรณาธิการวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ ดิฉันขออัญเชิญคุณพระศรีรัตนตรัยและสิ่งศักดิ์สิทธิ์ทั่วสากลโลกที่ท่านนับถือ จงช่วยดลบันดาลให้ทุกท่านมีความสุขกายสุขใจ มีสุขภาพที่แข็งแรง มีจิตใจที่เข้มแข็ง ประสบพบพานแต่สิ่งที่ดีๆ และคนดีๆ ที่ช่วยส่งเสริมให้ท่านมีความเจริญก้าวหน้าในหน้าที่การงาน และสนับสนุนท่านในทุกรูปแบบ เพื่อให้เกิดความสุขความอบอุ่นในครอบครัว เพื่อทุกท่านจะได้เป็นกำลังสำคัญในวิชาชีพที่จะสร้างความเจริญก้าวหน้าของหน่วยงานและประเทศชาติสืบๆ ไป

ในช่วงปี 2557 นี้จะเป็นช่วงการปรับปรุงเปลี่ยนแปลงระบบการทำงานของวารสารอย่างเป็นรูปธรรมด้วยการผลักดันระบบการรับส่งบทความ การประเมินบทความด้วยผู้ทรงคุณวุฒิ และการตอบรับแบบอิเล็กทรอนิกส์อย่างครบวงจร รวมถึงการเข้าถึงบทความผ่านเว็บไซต์ และคาดว่าจะสัมฤทธิ์ผลโดยสมบูรณ์ภายในเดือนธันวาคม 2557 ขอทุกท่านติดตามอ่านและศึกษาวิธีการได้จากเว็บไซต์ www.ams.cmu.ac.th/journal อย่างไรก็ตาม ในระหว่างการปรับปรุงนี้ยังคงสามารถส่งบทความได้ทางอีเมลเช่นเดิมค่ะ และภายใน 2 ปี วารสารฯ จะหยุดการผลิตเล่มที่เป็นเอกสารตามที่ได้เคยเรียนแจ้งให้ทราบมาก่อนหน้านี้แล้ว ทั้งนี้ ทุกท่านสามารถเข้าสืบค้นบทความและดาวน์โหลดได้โดยไม่เสียค่าใช้จ่ายใดๆ ทั้งสิ้น วารสารฯ มีนโยบายและวัตถุประสงค์ในการผลิตผลงานทางวิชาการจากนักวิชาการ และนักวิชาชีพทั้งสี่สาขาวิชาและสาขาที่เกี่ยวข้อง เพื่อเผยแพร่ความรู้ไปยังสังคมวิชาชีพและสังคมภายนอก เพื่อให้เห็นศักยภาพของนักวิชาชีพและนักวิชาการ การนำเสนอบทความวิชาการ นอกจากเป็นการเผยแพร่ความรู้แล้ว ยังสามารถนำไปใช้เป็นส่วนหนึ่งของการเก็บคะแนนสะสม Continuous Medical Technology Education (CMTE) ที่กำหนดโดยสภาวิชาชีพเทคนิคการแพทย์ และวิชาชีพอื่นอีกด้วย ขอเชิญทุกท่านส่งบทความนะคะ

ในฉบับนี้มีนิพนธ์ต้นฉบับที่น่าสนใจมากมายทั้งด้านรังสีเทคนิค เทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด หลายเรื่องเป็นบทความจากนักวิชาการ และหลายเรื่องเป็นผลงานจากนักวิชาชีพ เป็นที่น่ายินดีค่ะที่นักวิชาชีพสามารถผลิตงานวิจัยจากงานประจำ แสดงให้เห็นถึงความหมั่นเพียรแสวงหาความรู้อย่างต่อเนื่องและเผยแพร่ความรู้เพื่อเป็นวิทยาทานอีกด้วย สนใจบทความสามารถดาวน์โหลดได้จากเว็บไซต์ www.ams.cmu.ac.th/journal นะคะ

รองศาสตราจารย์ ดร. ปริยานดา วงศ์จันทร์
บรรณาธิการวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

การเปรียบเทียบรูปแบบการฟิตเคอร์ฟ เพื่อการวัดค่า $T2^*$ จากภาพเอ็มอาร์ของหุ่นจำลองเจล ที่ระดับของสัญญาณต่อสัญญาณรบกวนต่างกัน

A comparison of curve-fitting models for MRI $T2^*$ measurements of a gel-phantom at different levels of signal to noise ratio

เพทาย บุตตโคตร¹ สุวิทย์ แซ่โฉ่ว^{1,2*}
Petai Buttakote¹ Suwit Saekho^{1,2*}

¹ภาควิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

²ศูนย์วิศวกรรมชีวการแพทย์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

* ผู้รับผิดชอบบทความ (Email: saekho@yahoo.com)

Received December 2013

Accepted as revised January 2014

Abstract

Introduction: $T2^*$ measurement using magnetic resonance imaging (MRI) becomes a standard method for evaluation of iron deposit in organs. Therefore, accuracy of the measurement is important. Factors affected to the accuracy of $T2^*$ values are signal-to-noise ratio (SNR) and curve-fitting models.

Objectives of the study: We proposed a phantom study to compare the accuracy and reproducibility of the $T2^*$ when curve-fitting models, different iron concentrations, and levels SNR were changed.

Materials and methods: A gel phantom was built with 8 different Fe^{3+} concentrations. Axial view phantom images were acquired using a 1.5-T Achieva, Philips MRI scanner along with a head coil. Setting parameters were: acquisition matrix 184x183, reconstruction matrix 512 x 512, field-of-view 275 mm, and slice thickness 1.5 mm. The gradient multi-echo pulse sequence was applied with 32 echo times (TEs) 4.48 ms to 81.98 ms, inter-echo time 2.5 ms, TR 800 ms, and flip angle 18 degrees. All data were acquired with 5 different numbers of signal averages (NSAs) to generate 5 levels of SNRs. Total scan time at NSA1=2.29 s. Data of Fe^{3+} concentrations at all levels of SNRs were fitted with five curve-fitting models. The accuracy of $T2^*$ s in each fitting model was evaluated by Pearson's correlation (r) between reference $T2^*$ s and the $T2^*$ s obtained from the 5 fitting models at all levels of SNRs. The linear regression between the $R2^*$ s ($1/T2^*$), and Fe^{3+} concentrations were also analyzed, and were compared between that of the reference to those of the 5 fitting models at all levels of SNRs. All analysis was performed on a PC using MATLAB version 7.2.0.232 (Mathworks, Natick, MA, USA), MS Excel, and GraphPad Prism4.

Results: Results showed that at the range of $T2^*$ 3.13-44.04 ms, the baseline subtraction and offset models tend to offer high accuracy of $T2^*$ s and robust to the changes of SNR ($r > 0.9960$ at all levels of SNRs). Simple mono-exponential model demonstrates no correlation at low SNR ($r = -0.2869$, and 0.1835). The accuracy of $T2^*$ s obtained from truncation models is proportional to the levels of SNRs ($0.7113 < r < 0.9993$). The bi-exponential model provides reasonable accurate $T2^*$ ($r > 0.9600$) but it is not proportional to the levels of SNR.

Conclusions: Results implied that baseline-subtraction and offset models provide the most accurate and robust $T2^*$, simple mono-exponential and Truncation models may present less reliable $T2^*$ at low SNR image data, and the bi-exponential model offers reliable $T2^*$ but the values are sensitive to the changes of SNRs.

Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2014; 47(1): 10-17

Keywords: $T2^*$ measurement, fitting model, MR Image noise, gel MRI phantom, signal to noise ratio

บทคัดย่อ

บทนำ: การวัดค่า $T2^*$ ด้วยเครื่องตรวจสนามแม่เหล็กแรงสูง (เอ็มอาร์ไอ) ปัจจุบันเป็นเทคนิคมาตรฐานสำหรับประเมินการสะสมของเหล็กในอวัยวะ ดังนั้นความถูกต้องของการวัดจึงมีความสำคัญ ปัจจัยที่มีผลต่อความถูกต้องของค่า $T2^*$ ได้แก่ สัญญาณต่อสัญญาณรบกวน (signal-to-noise ratio, SNR) และรูปแบบการฟิตเคอร์ฟ คณะผู้วิจัยได้เสนอการศึกษาเปรียบเทียบความถูกต้องและการให้ผลซ้ำของค่า $T2^*$ ในหุ่นจำลอง เมื่อรูปแบบการฟิตเคอร์ฟ ความเข้มข้นของเหล็กและระดับ SNR เปลี่ยนไป

วัสดุและวิธีการศึกษา: หุ่นจำลองเจลที่สร้างขึ้นมีความเข้มข้นของ Fe^{3+} 8 ระดับ ทำการศึกษาโดยใช้เครื่องเอ็มอาร์ไอ ฟลิปส์ 1.5 เทสลา ร่วมกับขดลวดรับสัญญาณสำหรับศีรษะในการเก็บข้อมูลภาพตัดขวางของหุ่นจำลอง พารามิเตอร์ที่ใช้ได้แก่ acquisition matrix 184x183 reconstruction matrix 512x512 พื้นที่การมองภาพ 275 มม. ชั้นความหนา 1.5 มม. โดยใช้ gradient multi-echo pulse sequence 32 echo times (TEs) 4.48 มิลลิวินาที ถึง 81.98 มิลลิวินาที เวลาระหว่างเอคโค 2.5 มิลลิวินาที time to repeat (TR) 800 มิลลิวินาที flip angle 18 องศา เก็บข้อมูลทั้งหมดที่จำนวนครั้งของการเฉลี่ยสัญญาณ (number of signal average, NSA) แตกต่างกัน 5 ค่าเพื่อการสร้าง SNR 5 ระดับ ที่ NSA1 ใช้เวลาในการเก็บข้อมูล 2.29 วินาที นำข้อมูลทุกความเข้มข้นของ Fe^{3+} จากหุ่นจำลองทุกระดับของ SNR มาฟิตเคอร์ฟเพื่อหาค่า $T2^*$ ด้วยการฟิตเคอร์ฟ 5 รูปแบบ ความถูกต้องของค่า $T2^*$ จากการฟิตเคอร์ฟในแต่ละรูปแบบในทุกระดับ SNR ประเมินโดยใช้ค่าสหสัมพันธ์เพียร์สัน (Pearson's correlation, r) ที่เปรียบเทียบระหว่างค่า $T2^*$ อ้างอิงกับค่า $T2^*$ ที่ได้จาก 5 รูปแบบของการฟิตเคอร์ฟในทุกระดับ SNR และวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นระหว่างค่า $R2^*$ ($1/T2^*$) กับความเข้มข้นของ Fe^{3+} ทั้งของชุดอ้างอิงและชุดที่ได้จากการฟิตเคอร์ฟ 5 รูปแบบในทุก SNR นำมาเปรียบเทียบกัน การวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดใช้โปรแกรม MATLAB version 7.2.0.232 (Mathworks, Natick, MA, USA) MS Excel และ GraphPad Prism4 บนเครื่องคอมพิวเตอร์ PC

ผลการศึกษา: จากผลการศึกษาพบว่า รูปแบบการฟิตเคอร์ฟ baseline subtraction และ offset มีแนวโน้มให้ค่า $T2^*$ ในช่วง 3.13-44.04 มิลลิวินาที ที่มีความถูกต้องสูง และมีการเปลี่ยนแปลงน้อยเมื่อ SNR เปลี่ยน ($r > 0.9960$ ทุกระดับ SNR) แต่พบว่ารูปแบบการฟิตเคอร์ฟ simple mono-exponential ที่ระดับ SNR ต่ำค่า $T2^*$ ไม่มีความสัมพันธ์กับค่าอ้างอิง ($r = -0.2869$ และ 0.1835) สำหรับรูปแบบการฟิตเคอร์ฟ truncation ความถูกต้องของค่า $T2^*$ แปรตามระดับของ SNR ($0.7113 < r < 0.9993$) ในขณะที่รูปแบบการฟิตเคอร์ฟ bi-exponential ให้ค่า $T2^*$ ที่มีความถูกต้องค่อนข้างสูง ($r > 0.9600$) แต่ค่า r ที่ได้ไม่แปรตาม SNR ที่เปลี่ยน

สรุปผลการศึกษา: ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่ารูปแบบการฟิตเคอร์ฟ baseline subtraction และ offset ให้ค่า $T2^*$ ที่มีความถูกต้องและทนต่อการเปลี่ยนแปลงของ SNR มากที่สุด รูปแบบการฟิตเคอร์ฟ simple mono-exponential และ truncation อาจให้ค่า $T2^*$ ที่มีความน่าเชื่อถือต่ำเมื่อ SNR ของภาพต่ำ รูปแบบการฟิตเคอร์ฟ bi-exponential ให้ค่า $T2^*$ ที่มีความน่าเชื่อถือแต่มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลง SNR บนภาพ

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2557; 47(1): 10-17

คำรหัส: การวัดค่า $T2^*$ การฟิตเคอร์ฟ สัญญาณรบกวนบนภาพเอ็มอาร์ไอ หุ่นจำลองสำหรับสร้างภาพเอ็มอาร์ซินติเจล สัญญาณต่อสัญญาณรบกวน

บทนำ

การตรวจพบภาวะเหล็กสะสมเกินในอวัยวะ เช่น การตรวจการสะสมของเหล็กในตับ สมอง และกล้ามเนื้อหัวใจก่อนที่ผู้ป่วยแสดงอาการผิดปกติให้เห็น เป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการรักษาของแพทย์อย่างยิ่ง การรักษาทำได้โดยการให้ยาขับเหล็กและหากการตรวจพบทำได้เร็วยิ่งทำให้การรักษาได้ผลที่ดีมากและผู้ป่วยสามารถกลับคืนสู่สภาพเดิมได้¹⁻³ ปัจจุบันการประเมินระดับภาวะเหล็กสะสมเกินในเนื้อเยื่อ นิยมใช้การสร้างภาพเอ็มอาร์ (magnetic resonance imaging, MRI) จากหลายๆ ค่าช่วงเวลาสะท้อนกลับ (echo time, TE) แล้วทำการฟิตเคอร์ฟ (curve-fitting) เพื่อคำนวณหาค่า $T2^*$ ⁴⁻⁶

$T2^*$ เป็นค่าคงที่ของเวลาที่ลดลงแบบเอ็กซ์โพเนนเชียล ซึ่งเป็นผลอันเนื่องมาจากอันตรกิริยาระหว่างสปินกับสปินและความไม่สม่ำเสมอของสนาม โดยค่า $T2^*$ ที่ได้มีความสัมพันธ์แบบผกผันกับปริมาณเหล็กสะสม⁷⁻⁹ วิธีการประเมินระดับเหล็กสะสมในเนื้อเยื่อวิธีนี้เป็นวิธีการตรวจแบบไม่รุกราน (noninvasive) มีความไวและความถูกต้องสูงสามารถตรวจพบการสะสมเหล็กในปริมาณน้อยๆ ได้^{3,10-12} ดังนั้นการวัดค่า $T2^*$ ที่ได้จากภาพเอ็มอาร์ไอจำเป็นต้องมีความถูกต้องและเที่ยงตรงจึงจะช่วยให้การประเมินระดับการสะสมเหล็กถูกต้อง ปัจจัยหลัก ที่ส่งผลกระทบต่อความถูกต้องของการวัดค่า $T2^*$ ได้แก่ ปัจจัยทาง

กายภาพของเครื่องเอ็มอาร์ไอ เช่น ความสม่ำเสมอของสนามแม่เหล็กหลัก^{13,14} การเลือกรูปแบบการฟิตเคอร์ฟ (curve-fitting models) ในการวิเคราะห์ข้อมูล^{15,16} และระดับสัญญาณต่อสัญญาณรบกวน (signal-to-noise ratio, SNR)^{16,17} การศึกษาครั้งนี้ได้ตรวจสอบและควบคุมปัจจัยที่อาจส่งผลกระทบต่อการศึกษาโดยตรวจสอบผลกระทบจากความไม่สม่ำเสมอของสนามแม่เหล็กหลักของเครื่องที่ใช้ในการศึกษา พบว่าระดับความไม่สม่ำเสมอของสนามแม่เหล็กหลักของเครื่องที่ใช้ในการศึกษานี้ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า $T2^*$ ในช่วงที่ต้องการศึกษาอย่างมีนัยสำคัญ¹⁸ ดังนั้นการศึกษานี้จึงมุ่งเน้นเฉพาะผลกระทบต่อค่า $T2^*$ จากการเลือกรูปแบบการฟิตเคอร์ฟที่ระดับของ SNR ต่างๆ การศึกษาในลักษณะนี้ที่ผ่านมาใช้ข้อมูลที่ได้มาจากการศึกษาจากผู้ป่วยจริงขณะมีชีวิตอยู่ (*in vivo*) หรือหลังจากที่เสียชีวิตแล้วโดยนำมาศึกษาภายนอกร่างกาย (*ex vivo*) หรือจากการสังเคราะห์ข้อมูลจากผู้ป่วยจริง^{9,15-17,19} การใช้ข้อมูลจากผู้ป่วยจริงมีข้อจำกัดในด้านการควบคุมปัจจัยรบกวนต่างๆ ที่อาจส่งผลกระทบในขณะศึกษา เช่น การเคลื่อนไหวของอวัยวะขณะตรวจ (motion artifact) การไหลเวียนของกระแสโลหิต และรอยต่อระหว่างอวัยวะที่มีการตอบสนองต่อแม่เหล็กต่างกันมาก (susceptibility effect)^{14,20} นอกจากนี้การศึกษาในหลายช่วงของค่า $T2^*$ จำเป็นต้องใช้ผู้ป่วยจำนวนมากเพื่อความน่าเชื่อถือของข้อมูลทางสถิติ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้เลือกทำการศึกษาผลกระทบต่อค่า $T2^*$ กับ การเลือกรูปแบบการฟิตเคอร์ฟในภาวะที่มี SNR ในระดับที่ต่างกันจากหุ่นจำลอง เพื่อลดข้อจำกัดเรื่องการเปลี่ยนแปลงจากปัจจัยทางสรีรวิทยาของอาสาสมัคร สามารถทำซ้ำในตำแหน่งเดิมเพื่อตรวจสอบความถูกต้องแม่นยำของการศึกษา และสามารถกำหนดความเข้มข้นของเหล็กหรือช่วง $T2^*$ ที่ต้องการศึกษาได้

การฟิตเคอร์ฟเพื่อหาค่า $T2^*$ สามารถคำนวณได้จากหลายรูปแบบของการฟิตเคอร์ฟ รูปแบบที่เป็นพื้นฐานที่สุดได้แก่ simple mono-exponential ดังสมการที่ 1

$$SI = P_0 \cdot e^{-TE/T_2^*}$$

เมื่อ SI คือ ความเข้มสัญญาณภาพแมกนิจูดที่วัดได้

TE คือ เวลาสะท้อนกลับของสัญญาณ

P_0 คือ ค่าคงที่หรือสัญญาณเริ่มต้นที่เวลาเท่ากับศูนย์

ข้อจำกัดของรูปแบบนี้คือหากการลดลงของสัญญาณเป็นแบบหลายองค์ประกอบ (multiple components) ทำให้การฟิตเคอร์ฟมีความผิดพลาดสูง¹⁵ เช่น ข้อมูลจากภาพที่มีการลดลงของสัญญาณเร็วทำให้สัญญาณประกอบด้วยส่วนที่ลดลงเร็ว (fast decay component) และส่วนที่ลดลงช้า (slow decay component) หากทำการฟิตเคอร์ฟด้วยรูปแบบนี้ จะทำให้ค่า $T2^*$ สูงกว่าค่าที่วัดได้จริง¹⁵ เนื่องจากข้อมูลบางส่วนที่ลดลงเร็วไม่ได้ถูกนำไปใช้ในการฟิตเคอร์ฟ สัญญาณรบกวนบนภาพ

เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้การฟิตเคอร์ฟรูปแบบนี้ให้ค่า $T2^*$ เกิดความผิดพลาด รูปแบบการฟิตเคอร์ฟแบบนี้ได้มีการพัฒนาเพื่อให้ได้ค่า $T2^*$ ที่ถูกต้องมากยิ่งขึ้นโดยการนำค่าของสัญญาณรบกวนในบริเวณที่เป็นพื้นหลังของภาพมาหักลบออกจากสัญญาณภาพหรือที่เรียกว่า baseline subtraction เป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ในการแก้ไขปัญหา^{4,16,21} นอกจากนี้วิธีนี้แล้วยังมีผู้เสนอให้ตัดข้อมูลที่มี SNR น้อยกว่า 2 ออกจากการฟิตเคอร์ฟซึ่งเรียกว่า truncation model¹⁹

การฟิตเคอร์ฟ ด้วยรูปแบบ offset ดังสมการที่ 2 เป็นอีกวิธีที่ได้มีการใช้อย่างแพร่หลาย

$$SI = P_0 \cdot e^{-TE/T_2^*} + C \quad (2)$$

เมื่อ C คือ ค่าคงที่ offset

การฟิตเคอร์ฟด้วยรูปแบบนี้มีข้อดี คือ ค่าคงที่ที่บวกเพิ่มเข้าไปในสมการ ทำให้ผลเนื่องจากสัญญาณรบกวนจากพื้นหลังหรือ อาร์ติแฟค (artifact) ถูกนำมาคำนวณด้วย¹⁵

การฟิตเคอร์ฟอีกรูปแบบหนึ่งที่มีการศึกษากันแต่พบไม่บ่อยนักคือ bi-exponential ซึ่งเคยถูกนำไปใช้ศึกษาในเนื้อเยื่อตับซึ่งถือว่ามียอดประกอบของเนื้อเยื่อที่ต่างกันอย่างน้อย 2 องค์ประกอบและทำการลบสัญญาณรบกวนก่อนทำการฟิตเคอร์ฟ²² ดังสมการที่ 3

$$SI = P_{0s} \cdot e^{-TE/T_{2s}^*} + P_{0f} \cdot e^{-TE/T_{2f}^*} \quad (3)$$

เมื่อ P_{0s} คือ ค่าคงที่หรือสัญญาณเริ่มต้นที่เวลาเท่ากับศูนย์ของส่วนที่มีค่าคงที่อัตราการสลายตัวช้า

P_{0f} คือ ค่าคงที่หรือสัญญาณเริ่มต้นที่เวลาเท่ากับศูนย์ของส่วนที่มีค่าคงที่อัตราการสลายตัวเร็ว

T_{2s}^* คือ ค่าคงที่เวลาการสลายตัวของส่วนที่สลายตัวช้า

T_{2f}^* คือ ค่าคงที่เวลาการสลายตัวของส่วนที่สลายตัวเร็ว

จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่ามีการใช้การฟิตเคอร์ฟรูปแบบต่างๆ เพื่อหาค่า $T2^*$ ของเนื้อเยื่อที่มีเหล็กสะสมเกินในการหาความสัมพันธ์ของปริมาณเหล็กกับค่า $T2^*$ เพียงบางสภาวะ และศึกษาผลกระทบระดับต่างๆ ต่อค่า $T2^*$ ที่ได้จากการใช้การฟิตเคอร์ฟเพียงบางรูปแบบเท่านั้น ไม่ครอบคลุมช่วงของค่า $T2^*$ ตั้งแต่ของสัญญาณรบกวนบนภาพในปกติจนถึง ภาวะเหล็กสะสมเกินขั้นรุนแรงเนื่องจากข้อจำกัดในเรื่องจำนวนอาสาสมัครที่อนุญาตให้นำอวัยวะไปตรวจหาปริมาณเหล็กสะสมยังมีน้อย ดังนั้นการศึกษานี้จึงเลือกศึกษาในหุ่นจำลองที่ทำด้วยเจล ซึ่งสามารถปรับคุณสมบัติทางฟิสิกส์ เช่น $T1$, $T2$ และ $T2^*$ ซึ่งแทนระดับเหล็กสะสมให้ใกล้เคียงกับ

ในเนื้อเยื่อมนุษย์ได้²³ เพื่อการศึกษาถึงระดับของสัญญาณรบกวนบนภาพและรูปแบบการฟิตเคอร์ฟที่มีผลต่อความถูกต้องของค่า $T2^*$

เครื่องมือและวิธีการศึกษา

การทดลองนี้ใช้หุ่นจำลองที่ประดิษฐ์ขึ้นจากการประยุกต์องค์ความรู้และต้นแบบของ Yoshimura และคณะ²³ โดยใช้พลาสติกใสทรงกระบอกเป็นโครงสร้างภายนอก ใช้ carageenan ความเข้มข้น 3% เป็นส่วนประกอบหลักของหุ่นจำลอง ผสมกับ agarose ความเข้มข้น 2% เพื่อปรับค่าเวลาการสลายตัวของแมกเนไทเซชันตามแนวขวาง (transverse relaxation, $T2$) และปรับค่าความเข้มข้น Fe^{3+} สะสมด้วยเพอริคลอไรด์ (Iron (III) chloride; $FeCl_3$) ที่ความเข้มข้นของ Fe^{3+} 8 ค่า คือ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.4, 1.7, และ 2.0 mg/g ในหุ่นจำลอง ดังรูปที่ 1 ทำการสร้างภาพตัดขวางของหุ่นจำลองด้วยเครื่องเอ็มอาร์ไอ ยี่ห้อฟิลิปส์ (Philips) รุ่น Achieva 1.5 เทสลา โดยใช้ขดลวดสำหรับศีรษะ (head coil) และใช้พารามิเตอร์ในการสร้างภาพ ดังนี้ acquisition matrix 184x183, reconstruction matrix 512x512, field of view (FOV) 275 mm, slice thickness 1.5 mm, gradient multi-echoes pulse sequence 32 TEs (4.48-81.98 ms) เวลาระหว่างเอคโค 2.5 ms, TR 800 ms, flip angle 18 องศา, และปรับ SNR บนภาพให้ต่างกันด้วยค่า Number of Signal Average (NSA) 6 ค่า คือ 1, 2, 4, 8, 16, และ 32 โดยให้ภาพที่ NSA=32 เป็นภาพอ้างอิงในลักษณะเดียวกับการศึกษาของ Taigang He¹⁶ เนื่องจากถือว่าเป็นภาพที่มีสัญญาณรบกวนต่ำสุดเมื่อเทียบกับภาพอื่น เวลาทั้งหมดที่ใช้ในการสแกน (total scan time) ที่ NSA1=2.29 วินาที สำหรับที่ NSA อื่นๆ เวลาที่ใช้ทั้งหมดเป็นไปตามจำนวนของค่า NSA ภาพที่ได้ถูกนำมาวัด region of interest (ROI) ให้คลุมพื้นที่ประมาณ 100 พิกเซล (pixel) ทำการฟิตเคอร์ฟเพื่อหาค่า $T2^*$ ในแต่ละพิกเซลด้วยการใช้รูปแบบการฟิตเคอร์ฟทั้ง 5 แบบ ดังกล่าวข้างต้น คือ simple mono-exponential, baseline subtraction, truncation, offset, และ bi-exponential models และคำนวณหาค่าเฉลี่ย $T2^*$ ของ ROI

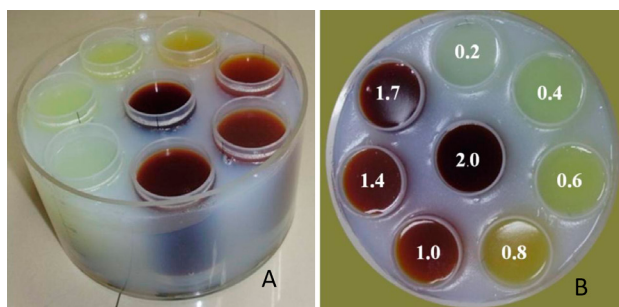


Figure 1 Side view (A) and top view (B) of a gel phantom made from carageenan 3%, agarose 2% and $NaNO_3$ 0.03%. The phantom doped with 8 different concentrations of Fe^{3+} ; 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.4, 1.7, and 2.0 mg/g

การวิเคราะห์ผลการทดลอง

ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ

1. การตรวจสอบความถูกต้องของค่า $T2^*$ ที่ใช้เป็นชุดอ้างอิงโดยการเปรียบเทียบค่า $T2^*$ ที่ได้จากการฟิตเคอร์ฟในรูปแบบ simple mono-exponential ที่ NSA ต่างๆ เพื่อยืนยันความถูกต้องของการใช้ ค่า $T2^*$ ที่ NSA 32 เป็นค่าอ้างอิง ซึ่งถือเป็นค่า $T2^*$ ที่มีการสัญญาณรบกวนต่ำสุด

2. ทำการวิเคราะห์ถดถอยเชิงเส้น (linear regression analysis) ระหว่างความเข้มข้นของ Fe^{3+} กับค่า $R2^*$ ($1/T2^*$) ของชุดอ้างอิงและชุดข้อมูลจากการฟิตเคอร์ฟในแต่ละรูปแบบในทุกๆ ระดับของสัญญาณรบกวน

3. ตรวจสอบความถูกต้องค่า $T2^*$ ที่ได้จากการฟิตเคอร์ฟในแต่ละรูปแบบและผลกระทบต่อค่า $T2^*$ ในแต่ละระดับของ SNR โดยใช้ค่าสหสัมพันธ์เพียร์สัน (Pearson's Correlation; r) ระหว่างค่า $T2^*$ ที่ได้จากชุดอ้างอิงในข้อ 1. กับค่า $T2^*$ ที่ได้จากการฟิตเคอร์ฟในแต่ละรูปแบบที่ทุกๆ ระดับของสัญญาณรบกวน โดยมีสมมุติฐานว่าถ้าค่า $T2^*$ ที่ได้จากการฟิตเคอร์ฟรูปแบบใดหรือจาก SNR ในระดับใดมีความถูกต้องควรมีค่า r เข้าใกล้ 1 เนื่องจาก $T2^*$ ที่ได้จากชุดอ้างอิงเป็นชุดข้อมูลที่มีสัญญาณรบกวนต่ำสุด ดังนั้นค่า $T2^*$ ใดที่ใกล้เคียงค่านี้มากที่สุดหรือมี r เข้าใกล้ 1 จึงถือได้ว่ามีความถูกต้องมากที่สุด นอกจากนี้แล้วความถูกต้องในแต่ละช่วงของค่า $T2^*$ หรือแต่ละระดับความเข้มข้นของเหล็กใช้การเปรียบเทียบการวิเคราะห์ถดถอยเชิงเส้นที่ได้จากข้อ 2 ระหว่างชุดอ้างอิงกับชุดข้อมูลที่ได้จากการฟิตเคอร์ฟในแต่ละรูปแบบที่ทุกๆ ระดับสัญญาณรบกวน โดยมีสมมุติฐานว่าการฟิตเคอร์ฟรูปแบบใดที่ระดับ SNR ใด ให้ค่า $T2^*$ ที่มีความถูกต้อง กราฟวิเคราะห์ถดถอยเชิงเส้นนั้นควรซ้อนทับกับของชุดอ้างอิง

ผลการศึกษา

การตรวจสอบความถูกต้องของค่า $T2^*$ ที่ใช้เป็นชุดอ้างอิง ตารางที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย $T2^*$ (ms) ที่ได้จาก ROI จำนวน 100 พิกเซลของหุ่นจำลอง ที่ความเข้มข้นของ Fe^{3+} ตั้งแต่ 0.2 mg/g ถึง 2.0 mg/g และการเปลี่ยนระดับของ SNR โดยการเปลี่ยนค่า NSA ตั้งแต่ 1 ถึง 32 จากตารางจะเห็นว่าที่ NSA ตั้งแต่ 8 ขึ้นไป ระดับของ SNR มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า $T2^*$ น้อยมากในทุกๆ ความเข้มข้นของ Fe^{3+} ดังนั้นค่า $T2^*$ ที่ NSA 32 จึงถูกนำมาใช้เป็นค่าอ้างอิงเนื่องจากเป็นค่า $T2^*$ ที่มีการสัญญาณรบกวนต่ำสุด

การวิเคราะห์ถดถอยเชิงเส้นและการตรวจสอบความถูกต้องค่า $T2^*$

การวิเคราะห์ถดถอยเชิงเส้นระหว่างค่า $R2^*$ กับความเข้มข้นของ Fe^{3+} ของชุดอ้างอิงมีความสัมพันธ์เชิงเส้นสูงด้วยค่า R -square =0.9932 ดังแสดงในรูปที่ 2A และเมื่อเปรียบเทียบ

Table 1 The mean T2* (ms) of 100 pixels ROI at different NSAs compared to that of the reference

[Fe ³⁺](mg/g)	Mean T2* (ms) of 100 pixels ROI at different NSA					
	1	2	4	8	16	Reference
0.2	44.33	43.83	43.25	43.35	43.23	44.04
0.4	26.28	25.43	25.47	24.99	25.23	24.46
0.6	16.85	16.55	15.39	15.48	15.20	14.87
0.8	11.80	10.27	9.79	9.78	9.68	9.61
1.0	9.34	7.73	7.27	6.93	7.04	7.02
1.4	26.03	7.23	5.06	4.97	4.58	4.59
1.7	86.35	29.62	5.83	3.99	3.60	3.54
2.0	237.04	69.09	22.49	3.57	3.43	3.13

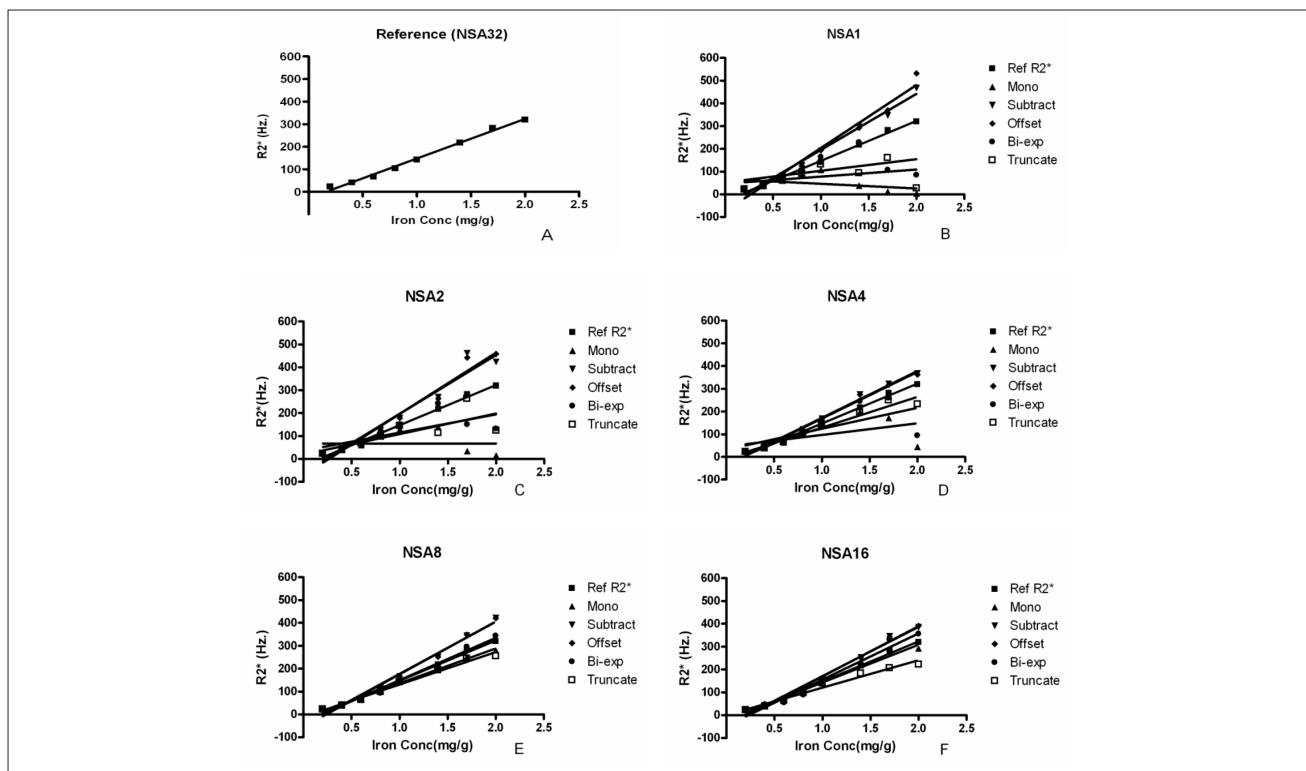


Figure 2 The linear regressions of R2*s (Hz.) and Iron concentration (mg/g). **Figure 2A** shows a strong correlation (r -square= 0.9932) between R2* and iron concentration of the reference (NSA32). **Figure 2B-2F** show the linear regressions between R2*s and iron concentrations of 4 different curve fitting models compared to that of the reference at different levels of SNR (different NSAs). As the NSA increases, the linear regressions of all curve fitting models converge to that of the references

การวิเคราะห์ถดถอยเชิงเส้นของแต่ละรูปแบบของการฟิตเคอร์ฟกับค่าอ้างอิงแล้ว พบว่าที่ความเข้มข้น Fe³⁺ สูง กราฟถดถอยเชิงเส้นแยกห่างจากเส้นอ้างอิงมากกว่าที่ความเข้มข้น Fe³⁺ ต่ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ NSA หรือ SNR ต่ำและเมื่อค่า NSA เพิ่มขึ้นหรือ SNR เพิ่มขึ้น ทุกรูปแบบของการฟิตเคอร์ฟมีแนวโน้มลู่เข้าหาค่าอ้างอิง ดังแสดงในรูปที่ 2B ถึง 2F เมื่อวิเคราะห์ความถูกต้องของค่า T2* ที่ได้ด้วยค่าสหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson's correlation, r) ระหว่างค่า T2* อ้างอิง

กับค่า T2* ที่ได้จากการฟิตเคอร์ฟด้วยรูปแบบต่างๆ ที่ระดับ SNR ต่างๆ ได้ผลดังตารางที่ 2 และแสดงด้วยกราฟแท่งในรูปที่ 3 พบว่า base line subtraction model และ offset model ให้ค่า T2* ที่มีความสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (r) กับค่าอ้างอิงมากที่สุด ในทุกๆ ระดับของสัญญาณรบกวน โดยที่ค่า r สูงแสดงถึงความถูกต้องของค่า T2* ที่ได้ในขณะที่การฟิตเคอร์ฟด้วยรูปแบบ simple mono exponential ที่ระดับ SNR ต่ำ (NSA=1 และ 2) ค่า T2* ที่ได้ไม่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญ

Table 2 Pearson's correlation (r) between T2* of the reference data and those of the different curve-fitting models at different levels of SNRs

# NSA	Curve-fitting models				
	Mono	Subtraction	Offset	Bi-exponential	Truncate
NSA1	-0.2869*	0.9998	0.9961	0.9646	0.7113
NSA2	0.1835*	0.9998	0.9988	0.991	0.9905
NSA4	0.8816	0.9997	0.9994	0.9672	0.9995
NSA8	0.9997	0.9999	0.9999	0.9985	0.9996
NSA16	0.9996	0.9997	0.9999	0.9916	0.9993

* No significant correlation (at 95% CI) between the reference T2* and the T2* obtained from simple mono exponential model at NSA=1, and 2.

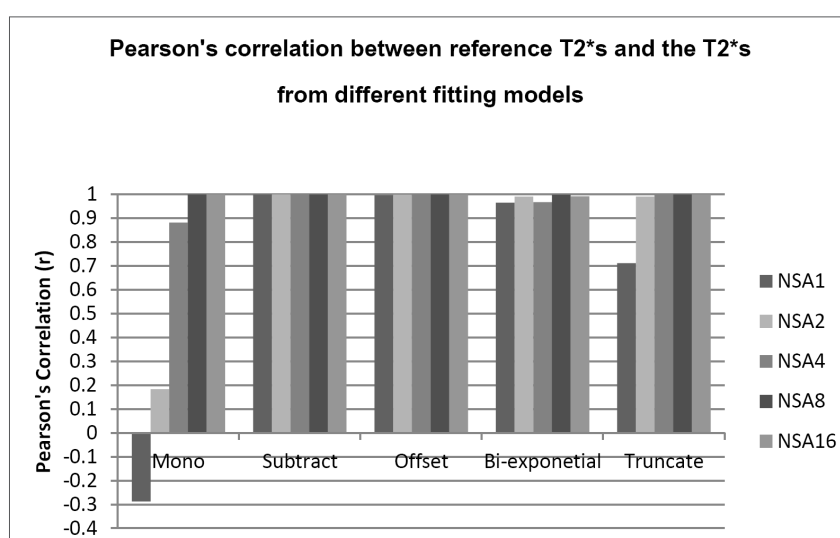


Figure 3 Pearson's correlation (r) between the reference T2*s and those of 5 fitting models including simple mono-exponential (Mono), baseline subtraction (Subtract), offset, bi-exponential, and truncation (Truncate) models. Simple mono-exponential model shows no correlation to the reference T2* at low SNR (NSA=1 and 2). Baseline subtract and offset models show a robust T2* at various levels of SNRs. Bi-exponential and truncation models demonstrate less r at low SNR.

($p=0.4908$ และ $p=0.6636$) กับค่าอ้างอิง และการฟิตเคอร์ฟด้วยรูปแบบ truncation และ bi-exponential ให้ค่า T2* ที่มีค่า r ที่สูงขึ้นเมื่อ SNR เพิ่มขึ้น

วิจารณ์ผลการศึกษา

หุ่นจำลองที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีค่า T2* ตั้งแต่ช่วง 3.13 ms ถึง 44.04 ms. ซึ่งเป็นค่าที่ใช้อ้างอิงการสะสมของเหล็กในอวัยวะสำหรับเครื่องเอ็มอาร์ไอ 1.5 เทสลาตั้งแต่ช่วงการสะสมของเหล็กขั้นรุนแรง (severe iron overload) (4 ms < heart T2* < 10 ms)⁴ จนถึงช่วงปกติ (heart 52+16 ms, liver 33+7 ms, skeletal muscle 30+5 ms, spleen 56+22 ms)⁴ ข้อดีของการศึกษาในหุ่นจำลองคือสามารถทำซ้ำได้และเมื่อต้องการศึกษาเรื่องผลกระทบของ SNR กับรูปแบบการฟิตเคอร์ฟสามารถควบคุมปัจจัยอื่นๆ ที่อาจส่งผลกระทบต่อการศึกษา เช่น การเคลื่อนไหวหรือ susceptibility effect ได้ง่ายกว่าการศึกษาในมนุษย์ อีกทั้งการปรับค่า NSA เพื่อเป็นตัวกำหนดระดับของ SNR นั้นเป็นสภาพที่ใกล้เคียงกับสภาพ

จริงในการตรวจกับผู้ป่วย การศึกษาครั้งนี้ได้เลือกบริเวณตรงกลางของแต่ละความเข้มข้นของ Fe³⁺ จากภาพหุ่นจำลองประมาณ 100 พิกเซลเพื่อเป็นตัวแทนของข้อมูลในแต่ละความเข้มข้นเพื่อนำมาหาค่าเฉลี่ย T2* ที่ได้จากการฟิตเคอร์ฟในแต่ละพิกเซล จากการศึกษาพบว่ารูปแบบการฟิตเคอร์ฟและระดับ SNR มีผลต่อความถูกต้องของค่า T2* โดยที่รูปแบบการฟิตเคอร์ฟแบบ simple mono-exponential ที่ระดับ SNR ต่ำจะให้ค่า T2* ที่มีความผิดพลาดมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ระดับความเข้มข้นของเหล็กสูงดังที่เห็นได้จากกราฟในรูปที่ 2B และ 2C เมื่อความเข้มข้นของเหล็กสูงขึ้น กราฟการวิเคราะห์ถดถอยเชิงเส้นแยกห่างออกจากค่าอ้างอิงมากขึ้น และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์เพียร์สัน (r) ในตารางที่ 2 และกราฟแท่งในรูปที่ 3 พบว่ารูปแบบการฟิตเคอร์ฟ simple mono-exponential ที่ NSA=1 และ 2 ให้ค่า T2* ที่ไม่มีความสัมพันธ์กับค่า T2* อ้างอิง ($r=-0.2869$, and 0.1835) แต่เมื่อ SNR เพิ่มขึ้น ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่า T2* จากรูปแบบการฟิตเคอร์ฟ simple mono-exponential กับค่า T2*

อ้างอิงมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.004$) ผลการศึกษาดังกล่าวเป็นไปในทิศทางเดียวกับการศึกษาที่ผ่านมาจากหัวใจภายนอกร่างกาย (*ex vivo*)^{15,16} ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อความเข้มข้นของเหล็กสูงขึ้นการลดลงของสัญญาณจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงแรกทำให้ช่วงของการเก็บข้อมูลที่ใช้ ($TE = 4.48-81.98$) มีการลดลงแบบ 2 องค์ประกอบคือส่วนที่ลดลงเร็วกับส่วนที่ลดลงช้าถูกนำไปใช้ในการฟิตเคอร์ฟเพื่อหาค่า $T2^*$ แต่ด้วยรูปแบบการฟิตเคอร์ฟ simple mono-exponential ใช้องค์ประกอบเดียวในการคำนวณจึงทำให้ข้อมูลบางส่วนในส่วนที่ลดลงเร็วไม่ได้ถูกนำมาใช้ในการคำนวณจึงส่งผลต่อความถูกต้องของค่า $T2^*15$ ที่ความเข้มข้นของ Fe^{3+} สูง ในขณะที่รูปแบบการฟิตเคอร์ฟ baseline subtraction และ offset model ให้ค่า $T2^*$ ที่มีความถูกต้องสูงโดยไม่ขึ้นกับระดับของ SNR ($r > 0.9960$ ในทุก NSA) เนื่องจาก baseline subtraction ไม่นำได้สัญญาณรบกวนมาใช้ในการวิเคราะห์จึงทำให้ไม่เห็นอิทธิพลของสัญญาณรบกวนมากนัก ส่วน offset model มีค่า C ซึ่งเป็นค่าที่ชดเชยความผิดพลาดเนื่องจากสัญญาณรบกวนและอาร์ติแฟกต์ จึงทำให้ค่า $T2^*$ เปลี่ยนแปลงน้อยในสภาพที่ SNR เปลี่ยน¹⁵ และรูปแบบการฟิตเคอร์ฟ bi-exponential และ truncation ระดับความถูกต้องของค่า $T2^*$ ขึ้นกับระดับของ SNR เช่น รูปแบบการฟิตเคอร์ฟ Truncation ที่ NSA=1 SNR ต่ำสุด $r = 0.7113$ แต่เมื่อ SNR เพิ่มขึ้น ค่า r ก็เพิ่มสูงขึ้น ($r > 0.99$) แต่สำหรับรูปแบบการฟิตเคอร์ฟ bi-exponential พบว่า ค่า r มีทิศทางที่เพิ่มขึ้นเมื่อ SNR เพิ่มขึ้นแต่ในระหว่างทางมีช่วงของการขึ้นลงเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากตัวแปรที่ใช้ในการ ฟิตเคอร์ฟ มีมากกว่ารูปแบบอื่นจึงทำให้ค่า $T2^*$ ที่ได้มีความไวต่อข้อมูลมากกว่ารูปแบบอื่น

การศึกษาค้างนี้พบข้อจำกัดบางประการของการฟิตเคอร์ฟบางรูปแบบเช่นกรณีรูปแบบ truncation มีข้อจำกัดคือเมื่อภาพที่ใช้มี SNR ต่ำ การฟิตเคอร์ฟด้วยเงื่อนไขที่ว่าเมื่อ SNR มากกว่าหรือเท่ากับ 2 จึงจะนำสัญญาณนั้นมาฟิตเคอร์ฟเป็นสาเหตุทำให้มีข้อมูลไม่เพียงพอที่จะใช้ฟิตเคอร์ฟ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อความเข้มข้นของเหล็กสูงขึ้น ดังนั้นหากเป็นการศึกษาในมนุษย์ อาจต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมว่าการตัดสินใจเลือกใช้ค่า SNR ใดในการฟิตเคอร์ฟจึงจะเหมาะสมกับข้อมูล ในการศึกษาครั้งนี้ เวลาทั้งหมดที่ใช้ในการสแกนที่ NSA=1=2.29 วินาที และเมื่อ NSA เพิ่มขึ้น เวลาที่ใช้จะเพิ่มขึ้นไปตามจำนวนเท่าของของค่า NSA ที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นการศึกษาลักษณะนี้จึงอาจไม่เหมาะสมสำหรับการศึกษาในมนุษย์ที่จำเป็นต้องมีการกลั่นหายใจขณะตรวจ ซึ่งความสามารถในการกลั่นหายใจจะเป็นตัวกำหนดค่า TR สูงสุด นอกจากนี้แล้ว การใช้ TR ยาวยังอาจก่อให้เกิดปัญหาอื่นตาม

มาอีก เช่น flow artifact หรือ susceptibility artifact อย่างไรก็ดีตามประโยชน์จากการศึกษานี้คือได้ให้ข้อมูลว่ารูปแบบการฟิตเคอร์ฟใดที่ทนต่อการเปลี่ยนแปลงค่า SNR ในช่วง $T2^*$ ช่วงใดข้อเสนอแนะสำหรับการศึกษาในมนุษย์อาจเริ่มจากการเลือกรูปแบบในการสแกนที่เป็นไปได้ก่อน แล้วจึงทดสอบว่าการฟิตเคอร์ฟรูปแบบใดที่เหมาะสมที่สุด ซึ่งอาจต้องอาศัยกลุ่มอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวนหนึ่งที่มีนัยทางสถิติเป็นค่าอ้างอิง

นอกจากนี้แล้วยังพบว่าการเลือกค่า TE แรกที่ 4.48 ms และ TE สุดท้ายที่ 81.98 ms ซึ่งครอบคลุมช่วง $T2^*$ ที่อ้างอิงจากช่วงของภาวะเหล็กเกินถึงช่วงปกติตั้งการศึกษาของ Anderson, LJ⁴ นั้นอาจให้ผลที่ต่างจากการวัดในผู้ป่วยจริงในผู้ป่วยจริงการวัดค่า $T2^*$ ในแต่ละอวัยวะใช้รูปแบบในการตรวจต่างกัน ผลที่ได้อาจต่างไปจากการศึกษาอื่น เช่น การตรวจหัวใจซึ่งค่า $T2^*$ ที่ใช้แบ่งระหว่างคนที่มีเหล็กสะสมระดับปกติกับไม่ปกติคือ 20 ms ถ้าการเลือก TE แรก ช่วงต่ำกว่า 2 ms ถึงประมาณ 30 ms อาจไม่พบปัญหาใดๆ เมื่อใช้การฟิตเคอร์ฟแบบ simple mono-exponential ดังเช่นที่พบในการศึกษานี้ การเลือก TE แรกที่ต่ำเกินไปอาจทำให้จำนวนจุดที่ใช้ในการฟิตเคอร์ฟมีน้อยส่งผลต่อความถูกต้องในช่วงของค่า $T2^*$ ที่อยู่ในช่วงภาวะเหล็กเกินแบบรุนแรง ในขณะที่การเลือก TE สุดท้ายที่มากเกินไป สัญญาณที่นำมาใช้ในการฟิตเคอร์ฟอาจมีสัญญาณรบกวนมากกว่าสัญญาณข้อมูลจริง

สรุปผลการศึกษา

เมื่อทำการฟิตเคอร์ฟเพื่อหาค่า $T2^*$ (3.13 ms-44.04 ms) ด้วย TE ในช่วง 4.48 ms- 81.98 ms พบว่ารูปแบบ baseline subtraction และ offset ให้ค่า $T2^*$ ที่มีความถูกต้องสูงโดยไม่ขึ้นกับระดับ SNR ในขณะที่รูปแบบการฟิตเคอร์ฟแบบ simple mono-exponential และ truncation ที่ SNR ต่ำมีผลกระทบต่อความถูกต้องของค่า $T2^*$ มาก รูปแบบ bi-exponential ให้ค่า $T2^*$ ที่มีความถูกต้องในระดับที่ดีใกล้เคียงค่า อ้างอิง ($0.9646 < r < 0.9985$) แต่ค่า $T2^*$ ที่ได้มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงของข้อมูล

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินงบประมาณรายได้ประจำปีของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผู้วิจัยขอขอบคุณคณาจารย์ภาควิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทยมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่านที่กรุณาให้คำแนะนำและให้คำปรึกษา

เอกสารอ้างอิง

1. Zurlo MG, De Stefano P, Borgna-Pignatti C, Di Palma A, Piga A, Melevendi C, et al. Survival and causes of death in thalassaemia major. *Lancet* 1989; 2: 27-30.
2. Brittenham GM, Griffith PM, Nienhuis AW, McLaren CE, Young NS, Tucker EE, et al. Efficacy of deferoxamine in preventing complications of iron overload in patients with thalassemia major. *N Engl J Med* 1994; 331: 567-73.
3. Carpenter JP, Prasad SK, and Pennell DJ. Myocardial fibrosis in thalassaemia: recalling the past or telling the future. *Heart* 2009; 95: 1646-7.
4. Anderson LJ, Holden S, Davis B, Prescott E, Charrier CC, Bunce NH, Firmin DN, et al. Cardiovascular T2-star (T2*) magnetic resonance for the early diagnosis of myocardial iron overload. *Eur Heart J* 2001; 22: 2171-9.
5. Pepe A, Positano V, Santarelli MF, Sorrentino F, Cracolici E, De Marchi D, Maggio A, et al. Multislice multiecho T2* cardiovascular magnetic resonance for detection of the heterogeneous distribution of myocardial iron overload. *J Magn Reson Imaging* 2006; 23: 662-8.
6. Gandon Y, Olivie D, Guyader D, Aube C, Oberti F, Sebillé V, et al. Non-invasive assessment of hepatic iron stores by MRI. *Lancet* 2004; 363: 357-62.
7. Carpenter JP, He T, Kirk P, Roughton M, Anderson LJ, De Noronha SV, Sheppard MN, et al. On T2* magnetic resonance and cardiac iron. *Circulation* 2011; 123: 1519-28.
8. Wood JC, Otto-Duessel M, Aguilar M, Nick H, Nelson MD, Coates TD, Pollack H, et al. Cardiac iron determines cardiac T2*, T2, and T1 in the gerbil model of iron cardiomyopathy. *Circulation* 2005; 112: 535-43.
9. Ghugre NR, Enriquez CM, Gonzalez I, Nelson MD Jr, Coates TD, Wood JC. MRI detects myocardial iron in the human heart. *Magn Reson Med* 2006; 56: 681-6.
10. Wood JC, Enriquez C, Ghugre N, Tyzka JM, Carson S, Nelson MD, Coates TD. MRI R2 and R2* mapping accurately estimates hepatic iron concentration in transfusion-dependent thalassemia and sickle cell disease patients. *Blood* 2005; 106: 1460-5.
11. Mavrogeni S. Evaluation of myocardial iron overload using magnetic resonance imaging. *Blood Transfus* 2009; 7: 183-7.
12. Kondur AK, Li T, Vaitkevicius P, Afonso L. Quantification of myocardial iron overload by cardiovascular magnetic resonance imaging T2* and review of the literature. *Clin Cardiol* 2009; 32: E55-9.
13. Meng Y, and H Lei, A single-scan T2* mapping method based on two gradient-echo images with compensation for macroscopic field inhomogeneity. *Magn Reson Med* 2008; 60: 1388-95.
14. Wood JC, and N Ghugre. Magnetic resonance imaging assessment of excess iron in thalassemia, sickle cell disease and other iron overload diseases. *Hemoglobin* 2008; 32: 85-96.
15. Ghugre NR, Enriquez CM, Coates TD, Nelson MD Jr, Wood JC. Improved R2* measurements in myocardial iron overload. *J Magn Reson Imaging* 2006; 23: 9-16.
16. He T, Gatehouse PD, Smith GC, Mohiaddin RH, Pennell DJ, Firmin DN. Myocardial T2* measurements in iron-overloaded thalassemia: An in vivo study to investigate optimal methods of quantification. *Magn Reson Med* 2008; 60: 1082-9.
17. Beaumont M, Odame I, Babyn PS, Vidarsson L, Kirby-Allen M, Cheng HL. Accurate liver T2 measurement of iron overload: a simulations investigation and in vivo study. *J Magn Reson Imaging* 2009; 30: 313-20.
18. Luksakhum S, Saekho S, Buttakote P, Yarach U, A Phantom Study of Impact from Different Degree of the Main Magnetic Field Perturbations of MRI Scanner on T2* Measurements. *Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences* 2011; 44: 45-52.
19. Westwood M, Anderson LJ, Firmin DN, Gatehouse PD, Charrier CC, Wonke B, Pennell DJ. A single breath-hold multiecho T2* cardiovascular magnetic resonance technique for diagnosis of myocardial iron overload. *J Magn Reson Imaging* 2003; 18: 33-9.
20. Wacker, CM, Bock M, Hartlep AW, Bauer WR, van Kaick G, Pflieger S, Ertl G. BOLD-MRI in ten patients with coronary artery disease: evidence for imaging of capillary recruitment in myocardium supplied by the stenotic artery. *MAGMA* 1999; 8: 48-54.
21. Anderson LJ, Westwood MA, Holden S, Davis B, Prescott E, Wonke B. Myocardial iron clearance during reversal of siderotic cardiomyopathy with intravenous desferrioxamine: a prospective study using T2* cardiovascular magnetic resonance. *Br J Haematol* 2004; 127: 348-55.
22. St Pierre TG, Clark PR, and Chua-Anusorn W. Single spin-echo proton transverse relaxometry of iron-loaded liver. *NMR Biomed* 2004; 17: 446-58.
23. Yoshimura K, Kato H, Kuroda M, Yoshida A, Hanamoto K, Tanaka A, Tsunoda M. Development of a tissue-equivalent MRI phantom using carrageenan gel. *Magn Reson Med* 2003; 50: 1011-7.

ความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส ของชนเผ่าที่อาศัยอยู่ในเขต ภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย : การศึกษาเบื้องต้น

Prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in tribes of Northern Thailand: Preliminary study

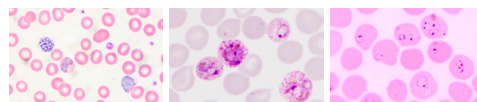
หนึ่งฤทัย นิลศรี*
Nungruthai Nilsri*

ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก 65000

*ผู้รับผิดชอบบทความ (E-mail: nungruthai.ni@gmail.com)

Received August 2013

Accepted as revised October 2013



Abstract

Introduction: Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) plays a key role in regeneration of NADPH and maintenance of cellular redox balance. Mutations in the *G6PD* gene can lead to G-6-PD deficiency, an X-linked enzymatic disorder, which is highly found in malaria epidemic area. Currently, there has been no report of G-6-PD deficiency in tribes, who live in the Northern of Thailand.

Objectives: The objective of this study was to determine the prevalence of G-6-PD deficiency in tribes in Chiang Rai, Phayao, Lampang, Prae, and Nan provinces.

Materials and methods: Three hundred and thirty-three blood samples (male 144 and female 189) were screened for G-6-PD deficiency using methemoglobin reduction test.

Results: The results showed that 6 (1.8%) samples were G-6-PD deficiency, 10 (3.0%) were partial deficiency and 317 (95.2%) were normal.

Conclusions: The information from this study could be a preliminary data suggesting the genetic variation between the tribes and others population.

Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2014; 47(1): 18-22

Keywords: G-6-PD deficiency, *G6PD* gene, tribes, malaria, methemoglobin reduction test

บทคัดย่อ

บทนำ: เอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส (Glucose-6-phosphate dehydrogenase, G-6-PD) เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์ NADPH และเกี่ยวข้องกับการคงสภาพของเซลล์ ภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD เป็นการกลายพันธุ์ของยีน *G6PD* บนโครโมโซม X ซึ่งเป็นความผิดปกติของเอนไซม์ที่พบได้บ่อยในบริเวณที่มีการระบาดของมาลาเรีย อย่างไรก็ตาม ยังไม่เคยมีการศึกษาถึงภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD ในชนเผ่าที่อาศัยอยู่ในเขตภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย

วัตถุประสงค์: งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการสำรวจความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD ของชนเผ่าต่างๆ จำนวน 333 ราย (ชาย 144 ราย และ หญิง 189 ราย) ที่อาศัยอยู่ใน จังหวัดเชียงราย พะเยา ลำปาง แพร่ และน่าน

วัสดุและวิธีการ: ตรวจสอบตัวอย่างด้วยวิธี methemoglobin reduction

ผลการศึกษา: พบว่ามีจำนวน 6 ราย (1.8%) มีภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD จำนวน 10 ราย (3.0%) มีภาวะพร่องเอนไซม์บางส่วน (partial deficiency) และเป็นคนปกติจำนวน 317 ราย (95.2%)

สรุปผลการศึกษา: จากการศึกษาทำให้ได้ฐานข้อมูลทางสาธารณสุขและได้ความรู้พื้นฐานในเชิงพันธุศาสตร์ประชากรของชนเผ่าที่พบว่าแตกต่างจากประชากรกลุ่มอื่น

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2557; 47(1): 18-22

คำรหัส: ภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD ยีน *G6PD* ชนเผ่า มาลาเรีย วิธี methemoglobin reduction

บทนำ

เอนไซม์กลูโคส 6 ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส (glucose-6-phosphate dehydrogenase, G-6-PD) เป็นเอนไซม์ที่อยู่ในเม็ดเลือดแดง ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยน กลูโคส-6-ฟอสเฟต (glucose-6-phosphate, G-6-P) และ นิโคตินาไมด์ อะดีนีน ไดนิวคลีโอไทด์ ฟอสเฟต (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADP) ให้เป็น 6-ฟอสโฟกลูโคโนแลกโตน (6-phosphogluconolactone) และ nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) ทำหน้าที่เปลี่ยนกลูตาไธโอนที่อยู่ในรูปออกซิไดซ์ (glutathione disulfide, GSSG) ให้เป็นกลูตาไธโอนในรูปรีดิวซ์ (glutathione, GSH) ซึ่งมีฤทธิ์ทำลายอนุมูลอิสระต่างๆ ที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ ป้องกันเซลล์เม็ดเลือดแดงไม่ให้ออกทำลาย¹ ผู้ที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD เมื่อได้รับสารอนุมูลอิสระ พบว่าเม็ดเลือดแดงไม่สามารถสร้างโคเอนไซม์ชนิด NADPH ได้ จึงทำให้อนุมูลอิสระเกิดการออกซิไดซ์ free-sulfhydryl group ที่อยู่ในฮีโมโกลบิน เป็นพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bridge) ทำให้ฮีโมโกลบินมีความสามารถในการละลายน้ำลดลง และตกตะกอนเป็นไฮน์บอดี (heinz body) อยู่ภายในเม็ดเลือดแดง ส่งผลให้เม็ดเลือดแดงแตกแบบเฉียบพลันและเกิดภาวะซีด นำไปสู่ภาวะไตวายเฉียบพลัน และมีภาวะแทรกซ้อนต่างๆ เป็นสาเหตุทำให้เสียชีวิตได้² ภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD เป็นความผิดปกติที่มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบ X-linked ซึ่งมักพบบ่อยในประชากรที่อาศัยอยู่ในบริเวณที่มีมาลาเรียระบาด เช่น แอฟริกาและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ทั้งนี้เชื่อว่ามาลาเรียเป็นสาเหตุสำคัญของการตายของมนุษย์ในอดีต สิ่งนี้เป็นเหตุผลที่ทำให้จีโนมของมนุษย์มีการกลายพันธุ์เพื่อให้ร่างกายสามารถป้องกันหรือลดความรุนแรงของการติดเชื้อได้ จึงเป็นที่มาของการกลายพันธุ์ของยีน *G6PD* และก่อให้เกิดภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD ในปัจจุบัน³

ชนเผ่า เป็นกลุ่มชนที่มีขนบธรรมเนียม ประเพณี ภาษา พุทธ ความเชื่อ ที่แตกต่างออกไปอย่างเห็นได้ชัดจากประชากรเจ้าของประเทศ ซึ่งชนเผ่าที่อาศัยอยู่ในประเทศไทย มีลักษณะการอพยพย้ายถิ่นแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ กลุ่มที่อพยพขึ้นเหนือ ได้แก่ กลุ่มไมโครนีเซียน-โพลินีเซียน เช่น เผ่ามลาบรี (ตองเหลือง) และ กลุ่มที่อพยพลงใต้ ได้แก่ กลุ่มจีน-ธิเบต เช่น เย้า ม้ง ลื้อ เป็นต้น⁴ ชนเผ่าต่างๆ นี้ มักสร้างที่อยู่อาศัยแยกตัวออกจากสังคมใหญ่ โดยเฉพาะพื้นที่ตามแนวชายแดนของประเทศในเขตภาคเหนือและภาคตะวันตกที่มีลักษณะเป็นป่า ขึ้นปกคลุม มีการระบาดของมาลาเรีย จากการศึกษาพบว่าชนเผ่าที่อาศัยอยู่ในจังหวัดเชียงราย มีอัตราการติดเชื้อมาลาเรียสูงถึงร้อยละ 42⁵ และจากสมมติฐานที่กล่าวไว้ว่าภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD เป็นผลมาจากภาวะการถูกคัดเลือกตามธรรมชาติที่มีส่วนช่วยป้องกันการติดเชื้อหรือลดความรุนแรงของมาลาเรีย ทำให้ผู้ที่พร่องเอนไซม์ G-6-PD รอดชีวิตจากมาลาเรียมากกว่าผู้ที่มีเอนไซม์ปกติ ดังนั้นในพื้นที่ที่มีมาลาเรียระบาดจึงควรพบภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD ที่สูง

ขึ้นด้วยเช่นกัน จากงานวิจัยที่ศึกษาระบาดวิทยาของเชื้อมาลาเรียและพันธุศาสตร์ประชากรของการกลายพันธุ์ของ G-6-PD ในชนเผ่ากะเหรี่ยง ที่อาศัยอยู่บริเวณชายแดนไทยและพม่าในจังหวัดราชบุรี พบว่าชนเผ่ากะเหรี่ยงมีภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD สูงถึงร้อยละ 24 มากกว่าประชากรเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่อาศัยในบริเวณที่ไม่มีมาลาเรียระบาด⁶ และจากการศึกษาก่อนหน้านี้ในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย พบผู้ที่พร่องเอนไซม์ G-6-PD ร้อยละ 15.7⁷ และจากการสำรวจประชากรในจังหวัดพะเยา พบผู้ที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD สูงถึงร้อยละ 88 แต่รายงานดังกล่าวเป็นการศึกษาในกลุ่มของประชากรคนไทย พื้นที่ยังไม่มีการศึกษาใดที่รายงานภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD ของชนเผ่าต่างๆ ในพื้นที่จังหวัดในเขตภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการระบาดของมาลาเรีย จากเหตุผลที่กล่าวมาแล้วข้างต้น จึงนำมาสู่แนวคิด ในการสำรวจความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD ในชนเผ่าต่างๆ ที่อาศัยอยู่ในพื้นที่จังหวัดในเขตภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดเชียงราย พะเยา ลำปาง แพร่ และน่าน เพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลทางสาธารณสุขและเพื่อศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรเบื้องต้นของชนเผ่าที่อาศัยอยู่ในเขตภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย

วิธีการศึกษา

กลุ่มประชากรที่ศึกษา

เก็บตัวอย่างเลือดจากประชากรเผ่าม้ง ลื้อ เย้า และมลาบรี (ตองเหลือง) จำนวน 333 ราย แบ่งเป็นชาย 144 ราย และหญิง 189 ราย ที่อาศัยอยู่ใน 5 จังหวัดทางภาคเหนือของประเทศไทย ได้แก่ ชนเผ่าม้ง อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย จำนวน 40 ราย ชนเผ่าม้งและเย้า อำเภอเมือง (บ้านแม่ต๋ำน้อย) และอำเภอแม่ใจ จังหวัดพะเยา จำนวน 105 ราย ชนเผ่าลื้อและเย้า อำเภอกาว จังหวัดลำปาง จำนวน 66 ราย ชนเผ่าม้งอำเภอร้องกวาง จังหวัดน่าน จำนวน 72 ราย และ ชนเผ่ามลาบรีอำเภอร้องกวาง จังหวัดแพร่ จำนวน 50 ราย เจาะเลือดปริมาตร 3 มิลลิลิตรใส่ลงในสารกันเลือดแข็งชนิด EDTA เก็บรักษาตัวอย่างเลือดภายใต้อุณหภูมิ 2-4 องศาเซลเซียส และทดสอบภายใน 6 ชั่วโมง

การศึกษากภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD

คัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD ด้วยวิธี methemoglobin reduction test (MR-test) ซึ่งเป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะเท่ากับ ร้อยละ 100 และ 98 ตามลำดับ⁹ โดยเติมตัวอย่างเลือดปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง 3 หลอด หลอดแรกเป็นหลอดทดสอบ เติมน้ำยา glucose-NaNO₂ solution และ methylene blue อย่างละ 10 ไมโครลิตร ส่วนหลอดที่ 2 (normal control) เติมน้ำยา methylene blue เพียงอย่างเดียว ปริมาตร 10 ไมโครลิตร และหลอดสุดท้าย (deficiency control) เติมน้ำยา glucose-NaNO₂ solution เพียงอย่างเดียว ปริมาตร 10 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา เติมน้ำ 5 มิลลิลิตร

ลงในหลอดทั้ง 3 และดูสีของหลอดทดสอบ เทียบกับ normal และ deficiency control รายงานผลเป็น ปกติ (normal) ภาวะพร่องเอนไซม์บางส่วน (partial G-6-PD deficiency) และ พร่องเอนไซม์ G-6-PD (complete G-6-PD deficiency)

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistic) โดยวิเคราะห์ร้อยละความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD ของชนเผ่า ทั้งเพศชายและเพศหญิง

ผลการศึกษา

ผลการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD เชิงคุณภาพ วิเคราะห์ ด้วยวิธี methemoglobin reduction test ในชนเผ่า ม้ง ลื้อ เย้า และมลาบรี จำนวนทั้งสิ้น 333 ราย พบภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD จำนวน 6 ราย คิดเป็นร้อยละ 1.8 (เพศชาย 4 ราย ร้อยละ 2.78 และเพศหญิง 2 ราย ร้อยละ 1.26) พบผู้ที่พร่องเอนไซม์บางส่วน (partial deficiency) จำนวน 10 ราย คิดเป็นร้อยละ 3.0 (เพศชาย 3 ราย ร้อยละ 2.08 และเพศหญิง 7 ราย ร้อยละ 3.7) และพบผลปกติ จำนวน 317 ราย คิดเป็นร้อยละ 95.2 (เพศชาย 137 ราย ร้อยละ 95.14 และเพศหญิง 180 ราย ร้อยละ 95.24)

เมื่อจำแนกภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD ให้เห็นเป็นภาพรวมจากชนเผ่าที่อาศัยอยู่ใน 5 จังหวัดของภาคเหนือ จากผลการตรวจหาภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD ทั้งหมด 333 ราย พบว่าชนเผ่าม้งและเย้า จากอำเภอเมือง (บ้านแม่ต๋ำน้อย) จังหวัดพะเยา มีประชากรที่พร่องเอนไซม์ G-6-PD มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 6.25 รองลงมาคือ ชนเผ่าม้ง จากอำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย คิดเป็นร้อยละ 5.0 ส่วนชนเผ่ามลาบรี ลื้อ เย้า และม้ง จากจังหวัดแพร่ ลำปาง และน่าน การศึกษานี้ไม่พบผู้ที่มีการพร่องเอนไซม์ G-6-PD เลย ดังแสดงในตารางที่ 1

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD ในชนเผ่าม้ง ลื้อ เย้า และมลาบรี ที่อาศัยอยู่ในพื้นที่เขตภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย ซึ่งได้แก่ จังหวัดเชียงราย พะเยา ลำปาง แพร่ และน่าน ด้วยวิธีเชิงคุณภาพวิเคราะห์ พบภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD ร้อยละ 1.8 และพบผู้ที่พร่องเอนไซม์บางส่วน (partial deficiency) ร้อยละ 3.0 ซึ่งผลที่ไม่สอดคล้องกับการศึกษาวิจัยก่อนหน้านี้ที่พบภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD ในประชากรเขตภาคเหนือที่สูงถึงประมาณร้อยละ 8-15^{7,8} ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการศึกษารังนี้ที่มีจำนวนตัวอย่างที่ค่อนข้างน้อย เนื่องจากปัญหาด้านการติดต่อสื่อสารกับชนเผ่า ทำให้ได้จำนวนตัวอย่างที่นำมาศึกษาน้อย อีกทั้งลักษณะทางสังคมของชนเผ่า มีลักษณะสังคมปิดไม่ค่อยติดต่อกับสังคมกับกลุ่มอื่นๆ และยังมีการแต่งงานกันเองในชนเผ่าซึ่งมักพบในกลุ่มประชากรที่มีขนาดเล็ก และถูกแบ่งแยกจากประชากรส่วนใหญ่ ทำให้ประชากรกลุ่มนี้แยกตัวออกจากประชากรภายนอกและมีการแต่งงานระหว่างสายเลือดที่ใกล้ชิดกัน ซึ่งส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของประชากร คือทำให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรลดลง¹⁰ โดยเฉพาะอย่างยิ่งชนเผ่ามลาบรี (ตองเหลือง) ที่มีการศึกษาพบว่าดีเอ็นเอไมโทคอนเดรีย mitochondria DNA) ของชาวมลาบรี มีความแปรผันแบบเดียวกันหมด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าประชากรชาวมลาบรีทั้งหมดในปัจจุบันสืบเชื้อสายมาจากบรรพชนทางฝ่ายหญิงเพียงคนเดียวเท่านั้น¹¹ จากเหตุผลที่กล่าวมาแล้วนั้น จึงน่าจะเป็นสาเหตุที่ทำให้ผลการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD ของการศึกษานี้มีเปอร์เซ็นต์ของการพร่องเอนไซม์ G-6-PD ที่ไม่เป็นไปตามภาวะ positive selection ที่มีต่อการระบาดของมาลาเรีย⁶ ตามที่มีการศึกษามาก่อนหน้านี้ที่พบว่าเชื้อมาลาเรียเจริญเติบโตได้ซ้ำในเม็ดเลือดแดงของผู้ที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD และเม็ดเลือดแดงของผู้ที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD สามารถถูกจับกิน (phagocytosis) โดยเซลล์แมคโครฟาจได้ ซึ่งประชากรที่อาศัยอยู่ในแหล่งที่มีการระบาดของมาลาเรีย ควรจะมีร้อยละของการพร่องเอนไซม์ G-6-PD ที่สูงขึ้น¹⁰

Table 1 Prevalence of G-6-PD deficiency in tribes of Northern Thailand (methemoglobin reduction test)

Tribes	N	Complete G-6-PD deficiency (%)	Partial G-6-PD deficiency (%)	Normal (%)
Hmong and Yao; Muang, Phayao	64	6.25	9.38	84.37
Hmong; Wiang Kaen, Chiang Rai	40	5.00	2.50	92.50
Mlabri; Rong Kwang, Phrae	50	0	4.00	96.00
Hmong; Thung Chang, Nan	72	0	1.39	98.61
Yao; Maejai, Phayao	41	0	0	100
Lue and Yao; Ngao, Lampang	66	0	0	100

งานวิจัยนี้ พบภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD ในเพศหญิง จำนวน 2 ราย คิดเป็นร้อยละ 1.06 ภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD เป็นโรคทางพันธุกรรมที่เกิดจากความผิดปกติ (mutation) ของ ยีน *G6PD* ที่อยู่บนแขนข้างยาวของโครโมโซม X ตรงตำแหน่ง Xq28 ยีน *G6PD* มีขนาด 20 kb ประกอบด้วย 13 exon ภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD มีอุบัติการณ์ ในเพศชายสูงกว่าเพศหญิง เนื่องจากมีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบ X-linked แต่ในเพศหญิงที่มีความผิดปกติของยีน *G6PD* 1 ข้าง (heterozygous female) ก็สามารถเป็นโรคนี้ได้ จากกลไก Lyon hypothesis ที่กล่าวว่า โครโมโซม X อีกข้างที่ปกติ อาจถูกยับยั้งการทำงานไป ทำให้เพศหญิงที่มีความผิดปกติของยีน *G6PD* เพียงตัวเดียว จะมี isoenzyme G-6-PD มากกว่า 1 ชนิด และจะมีเม็ดเลือดแดง 2 กลุ่ม คือ มีทั้งเม็ดเลือดแดงที่มีระดับเอนไซม์ G-6-PD ปกติ และเม็ดเลือดแดงที่พร่องเอนไซม์ G-6-PD ด้วย ในสัดส่วน 50:50 หรืออาจเป็นสัดส่วน 100:0 ก็ได้ สัดส่วนนี้ขึ้นกับ inactivation ของโครโมโซม X จากเหตุผลนี้ทำให้ heterozygous female สามารถมีระดับเอนไซม์ G-6-PD ได้ตั้งแต่ปกติถึงต่ำมากจนมีอาการได้¹³

จากการพบเพศชาย ที่มีภาวะพร่องเอนไซม์บางส่วน (partial G-6-PD deficiency) จำนวน 3 ราย เป็นไปได้ว่าอาจสัมพันธ์เพศชาย 3 รายนี้อาจมีภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD ชนิด class III, moderately deficient (10–60% residual activity) เช่น G-6-PD ชนิด Mahidol Canton และ Viangchan ซึ่งเป็นชนิดการกลายพันธุ์ของยีน *G6PD* ที่พบได้บ่อยในประเทศไทย¹⁴ การกลายพันธุ์ดังกล่าวนี้ ทำให้ร่างกายยังคงมีเอนไซม์ G-6-PD ที่ทำงานได้ในบางส่วน² หรือ อาจเกิดได้จากกลุ่ม

ตัวอย่างนี้อยู่ในภาวะที่มีการแตกทำลายของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) จึงทำให้มีจำนวนของเม็ดเลือดแดงตัวอ่อนชนิด reticulocyte ในกระแสเลือดมากขึ้น ซึ่งเม็ดเลือดแดงตัวอ่อนชนิด reticulocyte มีปริมาณของเอนไซม์ G-6-PD มากกว่าเม็ดเลือดแดงเต็มวัย (mature erythrocyte) ถึง 5 เท่า จากเหตุผลดังกล่าวจึงทำให้พบผลการตรวจที่เป็น partial G-6-PD deficiency ในเพศชายได้

ผลการศึกษาความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD ในชนเผ่าที่อาศัยอยู่ทางภาคเหนือของประเทศไทย พบภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD 6 ราย คิดเป็นร้อยละ 1.8 พบภาวะพร่องเอนไซม์บางส่วน 10 ราย คิดเป็นร้อยละ 3.0 และพบผลปกติ 317 ราย คิดเป็นร้อยละ 95.2 จากผลดังกล่าวทำให้ได้ฐานข้อมูลทางสาธารณสุขและได้ความรู้พื้นฐานในเชิงพันธุศาสตร์ประชากรของชนเผ่าม้ง ลื้อ เย้า และมลาปรี ที่อาศัยอยู่ใน 5 จังหวัดทางภาคเหนือของประเทศไทย การศึกษาต่อไปควรศึกษารูปแบบการกลายพันธุ์ของยีน *G6PD* เพื่อใช้ศึกษาประวัติศาสตร์และความสัมพันธ์ของชาติพันธุ์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ผศ.ดร.สรวิศ คำปวน ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ช่วยตรวจสอบความถูกต้องของบทคัดย่อภาษาอังกฤษ และขอขอบคุณ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ และน่ายาสำหรับตรวจวิเคราะห์ภาวะพร่องเอนไซม์ G-6-PD

เอกสารอ้างอิง

1. Beutler E. G6PD deficiency. Blood. 1994; 84(11): 3613-36.
2. Cappellini MD, Fiorelli G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Lancet. 2008; 371: 64-74.
3. Carter R, Mendis KN. Evolutionary and historical aspects of the burden of malaria. Clin Microbiol Rev. 2002; 15: 564-94.
4. Tribes [internet]; cited 2013 Aug 15. Available from: <http://suebpong.rmutl.ac.th/Vernweb/tribe/hilltribe>.
5. Pichainarong N, Chaveepojnkamjorn W. Malaria infection and life-style factors among hilltribes along the Thai-Myanmar border area, northern Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2004; 35(4): 834-9.
6. Louicharoen C, Patin E, Paul R, Nuchprayoon I, Witoonpanich B, Peerapittayamongkol C, et al. Positively selected G6PD-Mahidol mutation reduces Plasmodium vivax density in Southeast Asians. Science. 2009; 326: 1546-9.
7. Flatz G, Sringam S. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in different ethnic groups in Thailand. Ann Hum Genet. 1964; 27: 315-8.
8. Nungruthai Nilsri, Netnabha Phadpao, Weerada Buddee. Prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Phayao populations. Poster presentation of the 37th AMTT conference; 2013 Apr 22-25; Pattaya, Thailand. (in Thai)
9. Kaplan M, Leiter C, Hammerman C, Rudensky B. Comparison of commercial screening tests for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in the neonatal period. Clin Chem. 1997; 43(7): 1236-7.

10. Jatupol Kampuansai. The cultural impact on the genetic structure of human population. *SWU Sci. J.* 2012; 28(2): 103-16. (in Thai)
11. Oota H, Pakendorf B, Weiss G, Haeseler A, Pookajorn S, Settheetham-Ishida W, et al. Recent origin and cultural reversion of a Hunter-Gatherer group. *PLoS Biol.* 2005; 3(3): 536-42.
12. Wajcman H, Galactéros F. Glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency: a protection against malaria and a risk for hemolytic accidents. *C R Biol.* 2004; 327(8): 711-20.
13. Sharma M, Dass J, Dhingra B, Saxena R. G6PD deficiency in females screened at tertiary care hospital. *Indian J Pathol Microbiol.* 2011; 54: 850-1.
14. Phompradit P, Kuesap J, Chaijaroenkul W, Rueangweerayut R, Hongkaew Y, Yamnuan R, et al. Prevalence and distribution of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) variants in Thai and Burmese populations in malaria endemic areas of Thailand. *Malar J.* 2011; 10: 368-75.

การประเมินค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสี ในการถ่ายภาพทรวงอกท่า PA จากกระบวนการสร้างภาพรังสี ด้วยคอมพิวเตอร์ ของผู้ป่วยที่รับบริการ ในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

The assessment of exposure index on the posterior–anterior computed radiography chest in Srinagarind Hospital, Khon Kaen University

■ บรรจง เชื้อนแก้ว¹ วิชัย วิชชาธรตระกูล¹ เอมอร ไม้เรียง¹
Banjong Kheonkaew¹ Wichai Wichatorntrakul¹ Eimorn Mairiang¹
ปณัสดา อวิคุณประเสริฐ² ศทายุทธ นิกภาพฤษ³
Panatsada Awikhunprasert² Khathayuth Nikapruk³

¹ภาควิชารังสีวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

²ภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

³ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อุดรธานี

* ผู้รับผิดชอบบทความ (Email: banjong3@hotmail.com)

Received September 2013

Accepted as revised January 2014

Abstract

Introduction: A screen-film system has been replaced by computed radiography (CR) system in Thailand. The advantages of CR are that it provides faster process and better contrast resolution. The major role of CR system is that it allows user to define an imaging technique which does not only provide good image quality, but also reduce the patient radiation dose as the ALARA principle. Radiation exposure index is a numerical value recommended by a manufacturer (manufacturer recommended range; MRR). As for the international requirements, this value is used to remind a radiologic technician to determine an appropriate radiation exposure for the imaging. An excessive radiation exposure can cause an unnecessary radiation dose. Conversely, insufficient radiation exposure can cause a noise on the image which reduces the image quality. This might cause an adversely effect on the diagnosis.

Objectives: The purpose of this study was to investigate whether the exposure indicators of posterior–anterior computed radiography chest are in the MRR ranges and also whether higher or not.

Materials and methods: The retrospective study was performed in 1005 patients at Srinagarind Hospital, aged above 16 years old from June 2012 to March 2013. The S values measured from Fuji FCR 5000 on the PA radiographic chest were recorded.

Results: The results showed that only 69 percent of all the images were in the range specified by the manufacturer (S value 200-600). Fifteen percent of the measures were greater than the MRR ranges (S value >600) which is defined as underexposure. Sixteen percent of the S-values were less than the MRR range (S value <600) which is defined as overexposure. It was considered that the radiation exposure tends to increase.

Conclusions: The results of the study demonstrated that an accuracy of the exposure index calibration is required as the number can correctly represent the amount of radiation used to create the image and the quality of image. In order to reduce the radiation dose on patients and obtain a high image quality, the radiation exposure charts are required to determine an appropriate radiation exposure for different organs.

Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2014; 47(1): 23-29

Keywords: Exposure index, S value, CR

บทคัดย่อ

บทนำ: การสร้างภาพรังสีด้วยคอมพิวเตอร์ (computed radiography: CR) กำลังเข้ามาแทนที่การสร้างภาพระบบสกรีนฟิล์มในประเทศไทย เนื่องจากมีข้อได้เปรียบทั้งในด้านความเร็วและความสามารถในการแยกคอนทราสต์ของภาพรังสี (contrast resolution) ที่ดีกว่า แต่สิ่งที่มีความสำคัญคือการกำหนดเทคนิคในการสร้างภาพที่จะทำให้ได้ภาพที่มีคุณภาพดีโดยที่ผู้ป่วยได้รับปริมาณรังสีน้อยที่สุดตามหลักการ ALARA ค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสี (exposure index) เป็นค่าตัวเลขที่บริษัทผู้ผลิตเครื่องสร้างภาพด้วยคอมพิวเตอร์เป็นผู้กำหนดขึ้น (manufacturers recommended range; MRR) ซึ่งเป็นค่าที่องค์กรสากลให้ความสำคัญเนื่องจากเป็นค่าที่ใช้สำหรับเตือนให้ทันรังสีเทคนิคในการกำหนดปริมาณรังสีที่ใช้ในการสร้างภาพรังสีที่เหมาะสม การใช้รังสีมากเกินไปทำให้ผู้ป่วยได้รับรังสีมากเกินไปจนเกิดความจำเป็น แต่หากปริมาณรังสีน้อยเกินไปจะทำให้มีสัญญาณรบกวนแบบควอนตัม (quantum noise) เกิดขึ้นบนภาพที่ทำให้คุณภาพของภาพรังสีลดลง ซึ่งอาจส่งผลเสียต่อการวินิจฉัยโรค

วัตถุประสงค์: เพื่อสำรวจค่า S value จากภาพถ่ายรังสีทรวงอกของผู้ป่วยที่รับบริการในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ปรากฏบนจอภาพว่าอยู่ในช่วงที่บริษัทกำหนด (manufacturer recommend range: MRR) หรือไม่

วัสดุและวิธีการ: วิเคราะห์ค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสีย้อนหลังในช่วงระหว่างเดือนมิถุนายน 2554 ถึงเดือนมีนาคม 2555 จำนวน 1005 ราย จากเครื่องสร้างภาพ FCR 5000 ของบริษัทฟูจิประเทศไทยที่ถ่ายภาพรังสีทรวงอกในท่า upright ของผู้ป่วยที่มีอายุตั้งแต่ 16 ปีขึ้นไปที่มาใช้บริการที่โรงพยาบาลศรีนครินทร์

ผลการศึกษา: พบว่าร้อยละ 69 ของภาพทั้งหมด มีค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสีอยู่ในช่วงที่บริษัทผู้ผลิตกำหนด (S value 200-600) ร้อยละ 15 มีค่ามากกว่าที่กำหนด (S value >600) ซึ่งเป็นช่วงที่ปริมาณรังสีน้อยเกินไป (underexposure) และร้อยละ 16 มีค่า S value น้อยกว่าที่กำหนด (S value <200) ซึ่งเป็นช่วงที่ปริมาณรังสีมากเกินไป (overexposure) เมื่อพิจารณาตามช่วงเวลาของการใช้งานพบว่ามีความโน้มในการใช้ปริมาณรังสีในการถ่ายภาพมากขึ้น

สรุปผลการศึกษา: ผลจากการวิจัยแสดงให้เห็นถึงความจำเป็นที่บริษัทผู้ผลิตเครื่องต้องปรับเทียบดัชนีชี้วัดปริมาณรังสี (calibrate exposure index) ให้ถูกต้อง เพื่อให้สามารถใช้ค่านี้สะท้อนถึงปริมาณรังสีที่ใช้ในการสร้างภาพและคุณภาพของภาพที่เกิดขึ้นได้อย่างแท้จริง และในการสร้างภาพทางรังสีนักรังสีเทคนิคต้องจัดทำ technique chart เพื่อกำหนดค่าที่เหมาะสมในการถ่ายภาพรังสีทรวงอก ซึ่งจะช่วยลดปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับและยังคงได้ภาพรังสีที่มีคุณภาพเพียงพอต่อการวินิจฉัยโรค

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2557; 47(1): 23-29

คำรหัส: ค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสี การสร้างภาพรังสีด้วยระบบคอมพิวเตอร์

บทนำ

ปัจจุบันการสร้างภาพรังสีด้วยระบบสกรีน-ฟิล์ม (screen-film) แบบดั้งเดิมกำลังจะถูกแทนที่การสร้างภาพรังสีด้วยคอมพิวเตอร์ (computed radiography) ข้อจำกัดหนึ่งของฟิล์มคือ มีช่วงในการตอบสนองต่อรังสีแคบ ดังนั้นเมื่อฟิล์มได้รับรังสีน้อยเกินไป (underexposure) ภาพรังสีที่ปรากฏจะมีความดำไม่เพียงพอต่อการวินิจฉัย แต่เมื่อฟิล์มได้รับรังสีมากเกินไป (overexposure) ภาพรังสีที่ปรากฏจะมีความดำมากเกินไปด้วยซึ่งไม่สามารถนำไปวินิจฉัยโรคได้เช่นกัน เนื่องจากการสร้างภาพในระบบสกรีน-ฟิล์มใช้ตัวรับภาพ ตัวบันทึกภาพ และตัวแสดงภาพเป็นตัวเดียวกัน คือ หลังจากที่เกิดภาพขึ้นจากกระบวนการล้างฟิล์มแล้วจะไม่สามารถปรับความดำหรือคอนทราสต์ของภาพได้อีก อย่างไรก็ตาม ความดำที่เกิดขึ้นบนภาพเป็นดัชนีที่ช่วยชี้วัดให้ นักรังสีเทคนิคได้ทราบว่ามีปริมาณรังสีที่ใช้ในการสร้างภาพน้อยหรือมากเกินไปหรือไม่ ในขณะที่การสร้างภาพรังสีด้วยคอมพิวเตอร์ ใช้แผ่นรับภาพ

(imaging plate) ในการรับรังสีซึ่งมีช่วงในการตอบสนองต่อรังสีกว้างกว่าระบบสกรีน-ฟิล์ม (ตั้งแต่ปริมาณรังสีน้อยๆ ไปจนถึงปริมาณรังสีมาก)^{4,10} เมื่อรับรังสีแล้วข้อมูลภาพจะได้รับการบันทึกลงหน่วย ความจำของคอมพิวเตอร์ แล้วนำไปแสดงผลที่จอภาพ ดังนั้นตัวรับภาพ ข้อมูลภาพ และตัวแสดงภาพของระบบสร้างภาพรังสีด้วยคอมพิวเตอร์แยกอยู่คนละส่วนกัน ความดำบนภาพและคอนทราสต์ของภาพจึงสามารถปรับปรุงในภายหลังได้ โดยกระทำกับข้อมูลที่อยู่ในหน่วยความจำ^{11,12} จึงทำให้ภาพรังสีที่มีความดำและคอนทราสต์ที่ไม่เหมาะสมแทบไม่ปรากฏให้เห็น^{12,13} ซึ่งได้กลายเป็นข้อจำกัดของการสร้างภาพรังสีด้วยคอมพิวเตอร์ที่ไม่มีข้อมูลย้อนกลับให้ทันรังสีเทคนิคได้ทราบว่ามีปริมาณรังสีที่ใช้ในการสร้างภาพรังสีน้อยเกินไปหรือมากเกินไป⁶

ในการสร้างภาพรังสีด้วยคอมพิวเตอร์เมื่อกำหนดเทคนิค (kVp และ mAs) น้อยเกินไปจะทำให้มีปริมาณรังสีที่ไปกระทบกับตัวรับภาพต่ำเกินไป ส่งผลให้ได้สัญญาณภาพน้อยและ

ทำให้เกิดสัญญาณรบกวนบนภาพสูง (high image noise) มักได้รับการทวงติงจากรังสีแพทย์ แต่เมื่อกำหนดเทคนิคมากเกินไปจะทำให้มีปริมาณรังสีที่สูงไปกระทบกับตัวรับภาพ ส่งผลให้ได้สัญญาณต่อสัญญาณรบกวนมาก (high signal-to-noise ratio) ทำให้ได้ภาพที่มีคุณภาพดี¹³ และยังสามารถปรับคุณภาพของภาพรังสีในภายหลังได้อีก นักรังสีเทคนิคได้เรียนรู้ว่าการตั้งเทคนิคน้อยมีความเสี่ยงที่จะได้ภาพที่ด้อยคุณภาพ จึงมีแนวโน้มที่จะเลือกปรับใช้เทคนิคที่ให้ปริมาณรังสีสูงๆ ซึ่งจะทำให้ผู้ป่วยได้รับปริมาณรังสีเพิ่มขึ้นด้วย เกิดปรากฏการณ์ที่เรียกว่า “dose creep”^{3,14,15}

ค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสีเป็นค่าปริมาณรังสีที่แผ่นรับภาพได้รับ ซึ่งมีความสัมพันธ์กับปริมาณรังสี (exposure level) ที่ใช้ในการถ่ายภาพ¹⁶ เนื่องจากผู้ผลิตระบบสร้างภาพด้วยคอมพิวเตอร์ใช้เทคโนโลยีและวิธีการประเมินค่าที่แตกต่างกัน จึงมีการกำหนดค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสี (exposure indices) และความสัมพันธ์ของปริมาณรังสีและค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสีที่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 1¹⁷ บางบริษัทได้กำหนดค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสี (exposure indices) ตามอวัยวะที่ต้องการสร้างภาพ เช่น บริษัทฟูจิได้กำหนดค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสี ดังตารางที่ 2¹⁸ การตั้งค่า exposure technique ที่สูงเกินไป ค่า S value ที่แสดงออกมาจะเป็นค่าตัวเลขที่ต่ำและการตั้งค่า exposure technique ที่ต่ำเกินไป ค่า S value ที่แสดงออกมาจะเป็นค่าตัวเลขที่สูง

ภาพรังสีทรวงอกช่วยให้แพทย์สามารถมองเห็นพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นภายในร่างกายโดยไม่ต้องผ่าตัด ทั้งในการวินิจฉัยโรคปอดและหัวใจหลายโรครวมทั้งใช้ในการติดตามการเปลี่ยนแปลงของโรคระหว่างการรักษา การถ่ายภาพรังสีทรวงอกจึงใช้ในการตรวจทางรังสีมากที่สุดเมื่อเทียบกับการตรวจอื่นๆ^{19,20} แม้ว่าการถ่ายภาพรังสีในท่า posterior–anterior (PA) ที่เป็นท่ามาตรฐานที่ใช้ในการถ่ายภาพรังสีทรวงอก ผู้ป่วยจะได้รับรังสี ประมาณ 0.02 mSv ต่อครั้ง^{21,22} ซึ่งถือว่าปริมาณน้อย แต่การถ่ายภาพรังสีบ่อยครั้งทำให้ได้รับปริมาณรังสีมากขึ้น¹⁹

บริษัทฟูจิได้กำหนดค่า S number ตามอวัยวะที่ต้องการบันทึกภาพ ในตารางที่ 2¹⁸ ค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสีที่บริษัทกำหนดสำหรับการถ่ายภาพรังสีทรวงอกและเป็นช่วงยอมรับได้ (acceptable range) คือช่วงที่มีค่า S value อยู่ระหว่าง 200-600 ซึ่งเป็นช่วงที่เกิดจากการตั้งค่า exposure ที่ได้ทำให้ผู้ป่วยได้รับปริมาณรังสีที่เหมาะสมและได้ภาพรังสีที่มีคุณภาพเพียงพอต่อการวินิจฉัยโรคได้ สำหรับค่า S value ที่ต่ำกว่า 200 จะให้ภาพ overexposure ซึ่งเป็นช่วงการตั้งค่าที่ให้ปริมาณรังสีมากและให้สัญญาณในการสร้างภาพมากแต่ทำให้ผู้ป่วยได้รับปริมาณรังสีมากเกินไปจนความจำเป็น ส่วนภาพที่มีค่า S value สูงกว่า 600 จะให้ภาพ underexposure เป็นช่วงการตั้งค่าที่ให้ปริมาณรังสีน้อยทำให้มีสัญญาณรบกวนบนภาพรังสี ทั้งนี้ปัจจัยหลักที่มีผลต่อค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสีได้แก่ ค่า

Table 1 Exposure index, symbol and exposure dependent (adapted from Willis CE. Strategies for dose reduction in ordinary radiographic examination using CR and DR. Pediatric Radiology 2004; 34 (Suppl): 196-200)

Manufacturer	Indicator name	Symbol	Exposure dependent
Fuji CR	Sensitivity number	S number	200/S α X (mR)
Kodak CR	Exposure index	EI	EI + 300 = 2X
Agfa	Log of median of histogram	IgM	IgM + 0.3 = 2X
Cannon	Reached exposure value	REX	REX α X (mR)
Phillips	Exposure Index	EI	100/S α X (mR)
Siemens	Exposure Index	EI	EI / 100 = X(μ Gy)

* mR (milliroentgen) is a radiation exposure unit , μ Gy (microgray) is a radiation absorbed dose

กิโลโวลต์ (kVp) ค่ามิลลิแอมแปร์วินาที (mAs) ระยะทางจากหลอดเอกซเรย์ถึงตัวรับภาพ ชนิดของตัวรับรังสี (detector)^{23,24} นอกจากนั้นในการใช้งานยังมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องที่มีผลร่วมด้วยได้แก่ ขอบเขตพื้นที่รังสี โลหะต่างๆ ในตัวผู้ป่วย และอุปกรณ์กำบังรังสีบริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ (gonad shield)²⁵ ในการวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ของการศึกษาเพื่อสำรวจค่า S value จากภาพถ่ายรังสีทรวงอกของผู้ป่วยที่รับบริการในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ปรากฏบนจอภาพว่าอยู่ในช่วงที่บริษัทกำหนด (manufacturer recommend range: MRR) หรือไม่

วัสดุและวิธีการ

การถ่ายภาพรังสีทรวงอกเป็นการตรวจทางรังสีที่พบบ่อยที่สุดในงานรังสีวิทยา¹ รวมถึงการตรวจทางรังสีของโรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ซึ่งมีการถ่ายภาพรังสีทรวงอกมากกว่าอวัยวะอื่นๆ (ประมาณร้อยละ 80) การศึกษานี้เป็นการศึกษาย้อนหลังเพื่อสำรวจค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสี S value จากการถ่ายภาพรังสีทรวงอก ข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาได้มาจากระบบสื่อสารทางการแพทย์ (picture archiving and communication system: PACS) ของ

Table 2 S number for each examination recommended by Fuji CR

Examination	S-number
Chest general	200-600
Skull	100-400
Spine	100-400
Extremities	75-200
Chest Pedi	200-700
Chest port	100-400
Abdomen	100-400
GI tract	100-300
Abdomen Pedi	200-700

โรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สร้างภาพจากเครื่อง FCR 5000 ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2554 – มีนาคม 2555 โดยเก็บประชากรทั้งหมด 3084 ราย คัดเลือกภาพรังสีทรวงอกเฉพาะที่ถ่ายภาพทำยื่น postero-anterior ในผู้ป่วยที่มีอายุตั้งแต่ 16 ปีขึ้นไป และเป็นภาพรังสีที่ผ่านการรายงานผลโดยรังสีแพทย์เท่านั้น ทำการบันทึกค่า S value วันและเวลาที่ตรวจและนำข้อมูลไปวิเคราะห์ เปรียบเทียบกับค่าที่บริษัทผู้ผลิตกำหนด และจัดการกระจายของข้อมูลของตัวอย่างที่ศึกษา ในการวิจัยครั้งนี้ได้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการวิจัยในมนุษย์มหาวิทยาลัยขอนแก่น (เลขที่ 551330)

ผลการศึกษา

จากผลการศึกษาค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสีจากระบบการสร้างภาพทางรังสีด้วยระบบคอมพิวเตอร์ (computed radiography) ในผู้ป่วยที่ได้จากการถ่ายภาพรังสีทรวงอก (chest PA upright) จากข้อมูลในระบบจัดเก็บภาพ (PACS system and radiology information system) และระบบสารสนเทศโรงพยาบาลศรีนครินทร์ จากข้อมูลย้อนหลัง 10 เดือน จากประชากรทั้งหมด 3084 ราย ที่ผ่านการคัดกรองเฉพาะผู้ป่วยที่มีช่วงอายุตั้งแต่ 16 ปี ขึ้นไป และภาพรังสีผ่านการแปลผลโดยรังสีแพทย์เท่านั้น ได้ข้อมูลทั้งสิ้น 1005 ราย ผู้ป่วยทั้งหมดมีอายุเฉลี่ย 49.7 ± 18.7 ปี เมื่อนำผลข้อมูลที่ได้จากการสำรวจมาทำการเปรียบเทียบกับค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสีที่บริษัทผู้ผลิตกำหนด พบว่ามีจำนวน 688 ราย (ร้อยละ 69) ของจำนวนทั้งหมดมีค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสี อยู่ในช่วงที่บริษัทผู้ผลิตกำหนด (S value 200-600) มีจำนวน 153 ราย (ร้อยละ 15) มีค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสีมากกว่าที่กำหนด (S value มากกว่า 600) ซึ่งเป็นช่วงที่ปริมาณรังสีน้อยเกินไป (underexposure) และมีจำนวน 164 ราย (ร้อยละ 16) มีค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสีน้อยกว่าที่กำหนด (S value น้อยกว่า 200) ซึ่งเป็นช่วงที่ปริมาณรังสีมากเกินไป (overexposure) ดังที่แสดงในแผนภูมิที่ 1

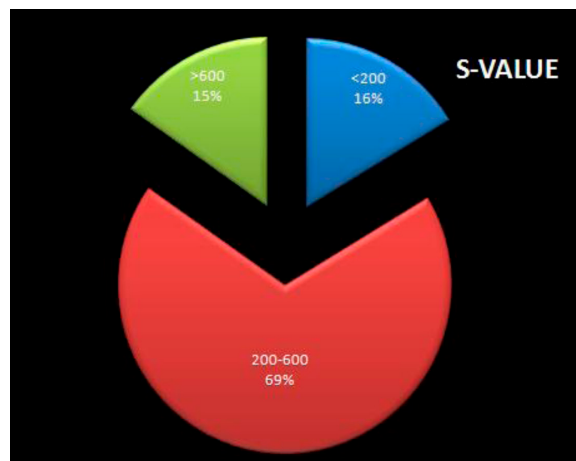


Figure 1 Percentage of a range of S values

วิจารณ์ผล

จากผลการศึกษาแม้ว่าข้อมูลค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสีจากการถ่ายภาพรังสีทรวงอกส่วนใหญ่อยู่ในช่วงค่าที่บริษัทกำหนด (ร้อยละ 69) แต่มีข้อมูลบางส่วน (ร้อยละ 15) ที่มีค่าต่ำกว่าค่าที่กำหนด (ค่าที่กำหนด S value 200-600) ซึ่งหมายถึงมีการใช้ปริมาณรังสีมากเกินไปจนความจำเป็น นักรังสีเทคนิคต้องพยายามเลือกตั้งเทคนิคในการสร้างภาพเพื่อให้ค่า S value อยู่ในช่วงที่กำหนด หากพิจารณาจากการเลือกใช้เทคนิคในการสร้างภาพที่ทำให้ค่า S value เพิ่มขึ้นเป็น 400-600 ซึ่งยังอยู่ในเกณฑ์ที่บริษัทผู้ผลิตกำหนด โดยการคำนวณปริมาณรังสีตามสูตรในตารางที่ 1 ทำให้ปริมาณรังสีที่ตัวรับภาพลดลงได้ ร้อยละ 50-77 ซึ่งช่วยให้ปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยจะได้รับลดลงด้วย มีรายงานวิจัยว่าในต่างประเทศทั้งจากการสำรวจและการศึกษาในหุ่นจำลองที่พบว่าการสร้างภาพรังสีทรวงอกโดยเครื่องสร้างภาพรังสีด้วยคอมพิวเตอร์ที่สามารถลดปริมาณรังสีให้กับผู้ป่วยได้ และค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสียังอยู่ในขอบเขตที่กำหนดโดยคุณภาพของภาพรังสียังเป็นที่ยอมรับได้^{21,26}

นอกจากนั้น ยังพบว่ามีข้อมูลบางส่วน (ร้อยละ 16) ที่มีค่า S value สูงกว่าค่าที่กำหนด ซึ่งน่าจะมีผลต่อคุณภาพของภาพรังสีที่อาจจะมีความผิดปกติบนภาพ เป็นที่น่าสังเกตว่า แม้มีบางรายที่มีค่า S value สูงสุด 1294 แต่ภาพรังสีก็ได้รับการอ่านผลโดยรังสีแพทย์ จึงทำให้เกิดข้อสงสัยถึงความสัมพันธ์ของปริมาณรังสีกับค่า S value ของเครื่องสร้างภาพว่ายังคงมีความถูกต้องหรือไม่ การที่เครื่องสร้างภาพไม่ได้รับการปรับเทียบ (calibration) ค่า S value อย่างถูกต้องอาจทำให้ค่าดังกล่าวไม่สามารถเป็นดัชนีชี้วัดปริมาณรังสีได้และไม่สามารถใช้เป็นค่าที่ช่วยในการสะท้อนกลับสำหรับการกำหนดเทคนิคในการสร้างภาพได้ ซึ่งมีผลการศึกษาที่เกิด ขึ้นในลักษณะนี้ที่มีการตั้งข้อสังเกตถึงความน่าเชื่อถือของค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสี^{5,26} นอกจากนี้ ยังมีรายงานการศึกษาที่พบว่าค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสีของเครื่องสร้างภาพ CR ของบริษัทเดียวกันในผู้ป่วยรายเดียวกันมีค่าความแตกต่างกันถึงร้อยละ 50²⁷

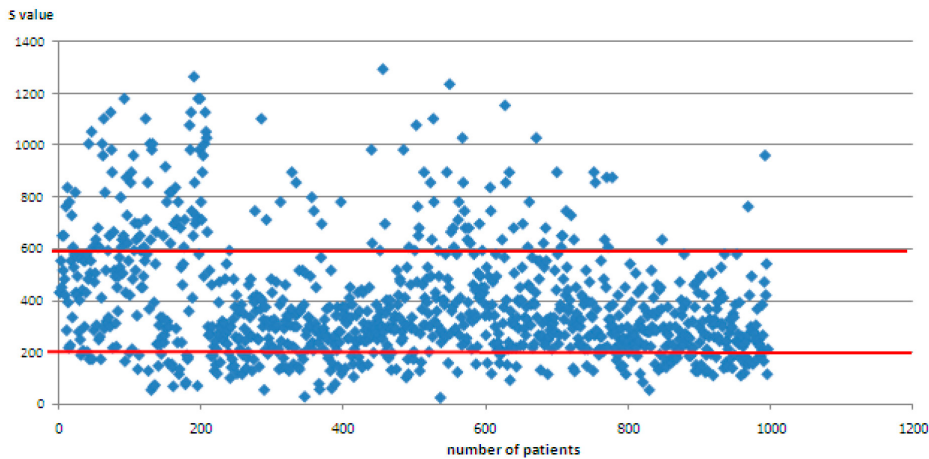


Figure 2 The distribution of S value recorded from 1005 patients

การ calibrate ค่า S number สำหรับบริษัทผู้ต้องตรวจสอบที่ 80 kVp ที่ระยะทาง 180 เซนติเมตรจากจุดโฟกัสของหลอดเอกซเรย์ โดยที่หลอดเอกซเรย์มีค่าการกรองรังสีไม่ต่ำกว่า 3 mmAl กำหนดค่าเทคนิคให้ผลิตรังสีปริมาณ 1 mR แล้วนำตัวรับภาพไปรับรังสี และเครื่องอ่านภาพของบริษัทจะต้องอ่านค่า S ได้เท่ากับ 200 ซึ่งเป็นไปตามสูตรการคำนวณในตารางที่ 1 โดยค่าดังกล่าวยอมให้ผิดพลาดไม่เกินร้อยละ 10²⁸ การเปรียบเทียบให้เครื่องสร้างภาพ CR สามารถรายงานค่าดังกล่าวได้ตามค่าที่กำหนดจะทำให้ค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสีจึงจะใช้งานได้จริงและมีความน่าเชื่อถือ²⁰ และเป็นแนวทางในการสร้างภาพที่ช่วยลดปริมาณรังสีให้แก่ผู้ป่วยได้²⁹

อย่างไรก็ตาม สาเหตุที่ค่า S value ของภาพรังสีที่ตรวจออกที่ศึกษามีค่าแตกต่างกันมาก เนื่องจากค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสีขึ้นอยู่กับอวัยวะที่ถ่ายภาพ ความหนาของผู้ป่วย ค่ากิโลโวลต์ และค่า mAs¹⁵ การควบคุมคอลลิเมเตอร์ การเปรียบเทียบเครื่องสร้างภาพ CR¹⁴ ระยะทางจากจุดโฟกัสถึงตัวรับภาพและสภาพการเปลี่ยนแปลงทางคลินิก²⁰ เนื่องจากการศึกษานี้เป็นการ

ศึกษาย้อนหลังไม่สามารถควบคุมปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อค่า S value ได้แก่ การเปิดคอลลิเมเตอร์ที่ใช้ควบคุมพื้นที่รังสีในการสร้างภาพรังสีที่ตรวจออกในแต่ละครั้งอาจแตกต่างกัน หรือเมื่อมีการถ่ายภาพแล้วไม่ได้นำเข้าเครื่องอ่านภาพทันที ช่วงระยะเวลาดังกล่าวอาจทำให้ค่า S value เพิ่มขึ้นได้ สาเหตุประการหนึ่งนี้อาจมาจากการตั้งค่าเทคนิคของนักรังสีเทคนิค (kVp และ mAs) มีความหลากหลายไม่เป็นไปในทิศทางเดียวกัน และยังคงยึดเทคนิคเดิมที่เคยถ่ายภาพรังสีระบบสกรีน-ฟิล์มแต่ยังไม่ได้ปรับไปใช้ high kVp technique

ผลการวิจัย ยังพบว่าการตั้งเทคนิคตามช่วงเวลาเมื่อมีการใช้งานไประยะหนึ่งพบว่าการตั้งเทคนิคในการถ่ายภาพรังสีด้วยระบบคอมพิวเตอร์มีแนวโน้มที่ทำให้มีการใช้ปริมาณรังสีในการสร้างภาพมากขึ้น หรือเกิดปรากฏการณ์ dose creep สอดคล้องกับงานวิจัยที่เคยมีการศึกษา²⁶ ซึ่งเป็นไปได้ว่านักรังสีเทคนิคให้ความสำคัญกับคุณภาพของภาพรังสีมากกว่าปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับเนื่องจากยังไม่มีการศึกษาในเรื่องปริมาณรังสีจากการสร้างภาพด้วยเครื่องสร้างภาพด้วย

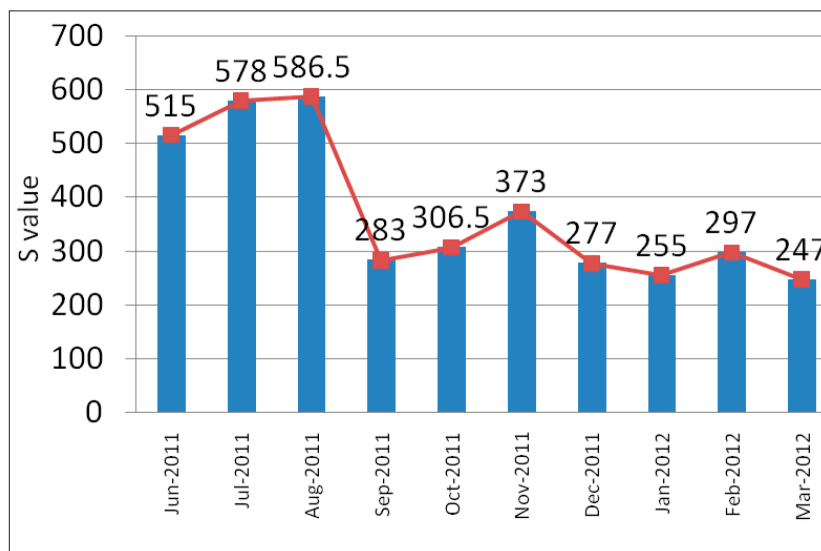


Figure 3 The trend of S value recorded by the period of time

คอมพิวเตอร์ และยังไม่ได้มีการใช้ดัชนีชี้วัดปริมาณรังสีเป็นตัว
เฝ้าระวังในการตั้งค่าเทคนิคในการสร้างภาพอย่างจริงจัง

จากผลของการวิจัย คณะผู้วิจัยเสนอแนะว่าบริษัทผู้ผลิต
ควรทำการเปรียบเทียบให้ค่าดัชนีชี้วัดปริมาณรังสีให้ถูกต้อง
และหน่วยงานสมควรที่จะมีการจัดฝึกอบรมอย่างจริงจัง เพื่อ
ให้นักรังสีเทคนิค มีความเข้าใจหลักการสร้างภาพรังสีและการ
ใช้งานที่ถูกต้องตามข้อเสนอแนะของหน่วยงานสากลที่ระบุว่า
เมื่อมีการติดตั้งใช้งานเครื่องสร้างภาพรังสีระบบคอมพิวเตอร์
ต้องมีการจัดฝึกอบรมให้ความรู้และฝึกอบรมแก่นักรังสีเทคนิค
ให้ใช้งานเครื่องมือได้อย่างถูกต้อง^{3,30,31} นอกจากนี้ ควรนำ
แนวทางในการตั้งเทคนิคสำหรับเครื่องสร้างภาพด้วยคอมพิวเตอร์
โดยใช้ high kVp technique ไปใช้ในการสร้างภาพให้แก่ผู้ป่วย
เพื่อช่วยลดปริมาณรังสี^{3,32} โดยพิจารณาเลือกช่วงค่าดัชนีชี้วัด

ปริมาณรังสีเพื่อการใช้อย่างเหมาะสม และควรมีการสร้าง
exposure chart สำหรับทุกอวัยวะการตรวจโดยมีไว้ประจำ
เครื่องเอกซเรย์ทุกเครื่องเพื่อให้สามารถทำซ้ำได้โดยได้ภาพ
ที่มีคุณภาพคงที่ในแต่ละความหนาของผู้ป่วย^{3,15}

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนวิจัยจากมหาวิทยาลัย
ขอนแก่น โครงการพัฒนานักวิจัยใหม่ ประจำปี 2555 คณะ
ผู้วิจัยขอขอบคุณโรงพยาบาลศรีนครินทร์ และภาควิชา
รังสีวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่
สนับสนุนสถานที่และเครื่องมือสำหรับการทำวิจัย และอำนวยความสะดวก
ให้งานวิจัยเสร็จสมบูรณ์

เอกสารอ้างอิง

1. Zhang M, Zhao B, Wang Y, Chen W, Hou L. Dose optimization for different medical imaging tasks from exposure index, exposure control factor, and MAS in digital radiography. Health Phys. 2012 Sep; 103(3): 235–40.
2. Aldrich JE, Duran E, Dunlop P, Mayo JR. Optimization of dose and image quality for computed radiography and digital radiography. J Digit Imaging. 2006 Jun; 19(2): 126–31.
3. Herrmann TL, Fauber TL, Gill J, Hoffman C, Orth DK, Peterson PA, et al. Best Practices in Digital Radiography. Radiol Technol. 2012; 84(1): 83–9.
4. Don S, Whiting BR, Rutz LJ, Apgar BK. New exposure indicators for digital radiography simplified for radiologists and technologists. AJR Am J Roentgenol. 2012 Dec; 199(6): 1337–41.
5. Butler ML, Rainford L, Last J, Brennan PC. Are exposure index values consistent in clinical practice? A multi-manufacturer investigation. Radiat Prot Dosimetry. 2010 May; 139(1-3): 371–4.
6. Seibert JA, Morin RL. The standardized exposure index for digital radiography: an opportunity for optimization of radiation dose to the pediatric population. Pediatr Radiol. 2011 May; 41(5): 573–81.
7. Shepard SJ. Recommended exposure indicator for digital radiography. Rep Am Assoc Phys Med Task Group. 2008; 116.
8. Amis Jr ES, Butler PF, Applegate KE, Birnbaum SB, Brateman LF, Hevezi JM, et al. American College of Radiology White Paper on Radiation Dose in Medicine. J Am Coll Radiol. 2007; 4(5): 272–84.
9. Saia DA. Radiography PREP (Program Review and Examination Preparation), Sixth Edition. McGraw Hill Professional; 2011.
10. Cowen AR, Davies AG, Kengyelics SM. Advances in computed radiography systems and their physical imaging characteristics. Clin Radiol. 2007 Dec; 62(12): 1132–41.
11. Vano E. ICRP recommendations on “Managing patient dose in digital radiology” Radiat Prot Dosimetry. 2005 May 17; 114(1-3):126–30.
12. Veldkamp WJH, Kroft LJM, Delft JPA van, Geleijns J. A Technique for Simulating the Effect of Dose Reduction on Image Quality in Digital Chest Radiography. J Digit Imaging. 2009 Apr 1; 22(2): 114–25.
13. Veldkamp WJH, Kroft LJM, Geleijns J. Dose and perceived image quality in chest radiography. Eur J Radiol. 2009 Nov; 72(2): 209–17.
14. Willis CE. Computed radiography: a higher dose? Pediatr Radiol. 2002 Oct; 32(10): 745–750; discussion 751–754.
15. Don S, Macdougall R, Strauss K, Moore QT, Goske MJ, Cohen M, et al. Image gently campaign back to basics initiative: ten steps to help manage radiation dose in pediatric digital radiography. AJR Am J Roentgenol. 2013 May; 200(5): W431–436.

16. Neitzel U. Pediatric radiation dose management in digital radiography. *Pediatr Radiol*. 2004; 4(3): S227–S233.
17. Willis CE. Strategies for dose reduction in ordinary radiographic examinations using CR and DR. *Pediatr Radiol*. 2004; 34(3): S196–S200.
18. Fujifilm medical systems. FUJIFILM Medical Systems CR Users Guide. USA: Fujifilm; 2004.
19. Sun Z, Lin C, Tyan Y, Ng K-H. Optimization of chest radiographic imaging parameters: a comparison of image quality and entrance skin dose for digital chest radiography systems. *Clin Imaging*. 2012; 36(4): 279–86.
20. Schaefer-Prokop C, Neitzel U, Venema HW, Uffmann M, Prokop M. Digital chest radiography: an update on modern technology, dose containment and control of image quality. *Eur Radiol*. 2008 Sep; 18(9): 1818–30.
21. Kroft LJM, Veldkamp WJH, Mertens BJA, van Delft J-PA, Geleijns J. Dose reduction in digital chest radiography and perceived image quality. *Br J Radiol*. 2007 Dec; 80(960): 984–8.
22. Teeuwisse W, Geleijns J, Veldkamp W. An inter-hospital comparison of patient dose based on clinical indications. *Eur Radiol*. 2007 Jul; 17(7):1795–805.
23. Shepard SJ, Wang J, Flynn M, Gingold E, Goldman L, Krugh K, et al. An exposure indicator for digital radiography: AAPM Task Group 116 (executive summary). *Med Phys*. 2009; 36: 2898.
24. Carlton RR. Principles of radiographic imaging: an art and a science. 2nd ed. Albany, N.Y: Delmar Pub; 1996.
25. Goske MJ, Charkot E, Herrmann T, John SD, Mills TT, Morrison G, et al. Image Gently: Challenges for radiologic technologists when performing digital radiography in children. *Pediatr Radiol*. 2011 May 1; 41 (5): 611–9.
26. Warren-Forward H, Arthur L, Hobson L, Skinner R, Watts A, Clapham K, et al. An assessment of exposure indices in computed radiography for the posterior-anterior chest and the lateral lumbar spine. *Br J Radiol*. 2007 Jan; 80(949): 26–31.
27. 2Coulibaly-Wimmer M, Prokop M, Schaefer-Prokop C. Usefulness of the S-value to monitor exposure dose in digital radiography: results of a phantom study. *Eur Radiol Suppl*. 2000; 1.
28. 2AAPM Report No. 90 - rpt_93.pdf [Internet]. [cited 2013 Jul 16]. Available from: http://www.aapm.org/pubs/reports/rpt_93.pdf
29. Silva TR, Yoshimura EM. Patient dose, gray level and exposure index with a computed radiography system. *Radiat Phys Chem* [Internet]. 2013 Jul 14 [cited 2013 Jul 14]; Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0969806X12005415>
30. Andriole KP, Ruckdeschel TG, Flynn MJ, Hangiandreou NJ, Jones AK, Krupinski E, et al. ACR–AAPM–SIIM Practice Guideline for Digital Radiography. *J Digit Imaging*. 2013; 1–12.
31. Raissaki MT. Pediatric radiation protection. *Eur Radiol Suppl*. 2004 Feb 12; 14(S1): 74–83.
32. Martin CJ, Sutton DG, Sharp PF. Balancing patient dose and image quality. *Appl Radiat Isot Data Instrum Methods Use Agric Ind Med*. 1999 Jan; 50(1): 1–19.



การลดการแสดงออกของซีดี 147 ด้วย ซีดี 147 ซิงเกิลโดเมนเอฟวี อินทราบอดี ยับยั้งการเพิ่มจำนวน ของเฮลลา เซลล์มะเร็งปากมดลูกของคน

CD147 scFv intrabody-mediated CD147 knockdown inhibits proliferation of human cervical cancer HeLa cells

■ ทิภัทรพร พาณิช¹ พชรภัทร มังจักร¹ สุพรรณ ปาติ^{2,3}
Tipattaraporn Panich¹ Pacharaphat Mangchak¹ Supansa Pata^{2,3}
ขจรศักดิ์ ตระกูลพัฑ^{3,4} ชัชชัย ตะยาภิวัฒนา^{2,3} ณัฐจิรา อินตะใส^{1,3*}
Khajornsak Tragoolpua^{3,4} Chatchai Tayapiwatana^{2,3} Nutjeera Intasai^{1,3*}

¹แขนงวิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

²แขนงวิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

³ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

⁴แขนงวิชาจุลชีววิทยาคลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

* ผู้รับผิดชอบบทความ (Email: nutjeera@yahoo.com)

Received September 2013

Accepted as revised November 2013

Abstract

Introduction: CD147 is a glycoprotein of the immunoglobulin superfamily that is highly expressed on various cancers. CD147 regulates multiple processes including tumor growth, invasion, metastasis, and angiogenesis by interaction with its associated proteins including $\alpha_3\beta_1$ -integrin. $\alpha_3\beta_1$ -integrin is a multifunctional protein and contributes to the regulation of cell growth. Thus, inhibition of CD147 cell surface expression in tumor cells may attenuate the proliferation of cancers via dysregulation of $\alpha_3\beta_1$ -integrin. Intrabody is an alternative strategy for success in the functional knockdown of target molecules. The chimeric adenoviral vector Ad5/F35 carrying gene encoding scFv against CD147 was generated for infecting low CAR-expressing cells by utilizing CD46 as the cellular receptor.

Objectives: In this study, we proposed to examine the function of the scFv intrabody specific to CD147 using Ad5/F35 gene transfer vectors in the downregulation of CD147 expression as its conventional Ad5 gene transfer vector in the HeLa cells prior to transduction into low CAR-expressing cells.

Materials and methods: The expression of adenoviral receptors, CAR, CD46, and α_v -integrin, in HeLa cells was examined prior to the adenoviral transduction. The expression of $\alpha_3\beta_1$ -integrin and the proliferation of the CD147-knockdown HeLa cells were also investigated.

Results: The results revealed that CAR, CD46, and α_v -integrin are expressed on the cell surfaces of HeLa cells. Transduction of intrabody specific to CD147 using Ad5/F35-based vectors showed that the CD147 expression on the cell surface of the transduced HeLa cells was significantly inhibited and that cell proliferation as measured by MTT assay was also significantly attenuated. Surprisingly, $\alpha_3\beta_1$ -integrin expression was not significantly reduced. Perturbation of the CD147 cell surface expression via scFv intrabody specific to CD147 using Ad5/F35 gene transfer vector resulted in the inhibition of HeLa cell proliferation but it did not influence the $\alpha_3\beta_1$ -integrin expression.

Conclusions: We postulated that CD147 may affect the expression or function of the other proteins involved in the proliferation. This hypothesis should be further investigated.

Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2014; 47(1): 30-36

Keywords: CD147, scFv intrabody, $\alpha_3\beta_1$ -integrin, proliferation

บทคัดย่อ

บทนำ: CD147 เป็นไกลโคโปรตีนในกลุ่ม อิมมูโนโกลบูลิน ซูเปอร์แฟมิลี ที่มีการแสดงออกมากในมะเร็งหลายชนิด CD147 มีส่วนควบคุมในหลายกระบวนการ เช่น การเจริญเติบโต การรุกราน การแพร่กระจาย และการสร้างเส้นเลือดใหม่ของมะเร็ง โดยการปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนที่ทำงานร่วมกัน เช่น $\alpha_3\beta_1$ -integrin โดยพบว่า $\alpha_3\beta_1$ -integrin ซึ่งเป็นโปรตีนทำหน้าที่หลากหลาย รวมถึงมีส่วนช่วยในการควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์ ดังนั้นการยับยั้งการแสดงออกของ CD147 ที่ผิวของเซลล์มะเร็งอาจส่งผลในการลดการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของมะเร็ง ซึ่งอินทราบอดีจัดเป็นทางเลือกหนึ่งของกลยุทธ์ที่ประสบความสำเร็จ ในการใช้ลดการทำงานของโมเลกุลเป้าหมาย โดยอะดิโนไวรัสเวกเตอร์ลูกผสม Ad5/F35 ที่มียื่นกำหนดการสร้างซิงเกิลเซนเอพี อินทราบอดีต่อ CD147 ได้ถูกสร้างขึ้นมาเพื่อใช้เข้าสู่เซลล์ที่มีการแสดงออกของ CAR receptor ต่ำ โดยใช้ CD46 receptor แทน

วัตถุประสงค์: เพื่อทดสอบการทำหน้าที่ของ ซิงเกิลเซนเอพี อินทราบอดีต่อ CD147 ด้วยการใส่ Ad5/F35 เป็นเวกเตอร์นำส่งยีนเพื่อลดการแสดงออกของ CD147 อย่างที่เคยใส่ Ad5 เป็นเวกเตอร์นำส่งยีนเข้าสู่ HeLa ก่อนนำส่งยีนเข้าสู่เซลล์ที่มีการแสดงออกของ CAR receptor ต่ำต่อไป

วิธีการศึกษา: ก่อนการนำส่งอะดิโนไวรัสเวกเตอร์มีการตรวจการแสดงออกของ receptors ของอะดิโนไวรัส ได้แก่ CAR, CD46, และ α_v -integrin ในเซลล์ HeLa รวมทั้งศึกษาการแสดงออกของ $\alpha_3\beta_1$ -integrin และการเพิ่มจำนวนของเซลล์ HeLa ที่ถูกลดการแสดงออกของ CD147

ผลการศึกษา: จากผลการศึกษาพบว่า มีการแสดงออกของ CAR, CD46 และ α_v -integrin บนผิวเซลล์ของ HeLa และเมื่อนำส่งอินทราบอดีที่จำเพาะต่อ CD147 ด้วย Ad5/F35 เวกเตอร์แล้วพบว่าการแสดงออกของ CD147 ที่ผิวเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และการวัดการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ HeLa ด้วยวิธี MTT ก็ลดลงด้วย แต่เมื่อศึกษาการแสดงออกของ $\alpha_3\beta_1$ -integrin ในเซลล์ HeLa ที่ถูกนำส่งอินทราบอดีที่จำเพาะต่อ CD147 ด้วย Ad5/F35 เวกเตอร์ไม่พบการแสดงออกที่ลดลง ทั้งนี้การลดลงของ CD147 ที่ผิวเซลล์ส่งผลให้มีการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของ HeLa แต่ไม่มีผลต่อการแสดงออกของ $\alpha_3\beta_1$ -integrin

สรุปผลการศึกษา: จากผลการศึกษาพบว่า CD147 อาจส่งผลต่อการแสดงออกหรือการทำงานของโปรตีนชนิดอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเพิ่มจำนวนของเซลล์ ซึ่งควรจะมีการศึกษาต่อไป

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2557; 47(1): 30-36

คำรหัส: ซีดี147 ซิงเกิลเซนเอพี อินทราบอดี การเพิ่มจำนวนของเซลล์

Introduction

CD147, known as extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRN), belongs to the immunoglobulin superfamily. It is a glycoprotein that is widely distributed on cell surfaces¹ and highly enriched on the surfaces of malignant tumor cells such as those found in cases of breast cancer, hepatoma, esophageal carcinoma, colorectal carcinoma, ovarian carcinoma, and cervical cancer.² It is involved in numerous physiological and pathological systems and exhibits several molecular and cellular characteristics. CD147 takes an active part in tumor angiogenesis by elevating the vascular endothelial growth factor (VEGF) expression,³ and in metastasis by enhancing the MMPs expression.⁴ In addition, CD147 is also involved in cell proliferation process.⁵ CD147 interacts with many associated proteins in various processes. Integrins constitute a superfamily of membrane proteins that allow individual cells to communicate with their environment. Through their interactions with the extracellular matrix (ECM), external stimuli are

transmitted internally via activation of various signaling cascades.⁶ $\alpha_3\beta_1$ -integrin, associated with CD147 at points of cell-cell contact, has been implicated in several processes critical to the promotion of cell adhesion, metastasis and angiogenesis,⁷ signaling,⁸ chemotaxis, and proliferation.⁷ $\alpha_3\beta_1$ -integrin contributes to the regulation of cell growth via a signaling pathway involving mitogen-activated protein kinase.⁹ Previous studies report that silencing of CD147 by siRNA dramatically decreases cell proliferation.⁵ Intrabody is an antibody designed to express intracellularly. It can be directed to a specific target antigen present in subcellular locations.¹⁰ Intrabodies could be useful tools not only for interrupting, modulating, or defining the functions of proteins inside the cells, but also for clinical applications in cancer therapy.¹¹ Recently, intrabody to CD147 was successfully generated in 293A cells by using the recombinant scFv antibody fragments of the murine monoclonal antibody, clone M6-1B9. This scFv-M6-1B9 intrabody reacted specifically to CD147 and blocked the transportation of CD147 to the cell membrane.¹² The scFv-M6-1B9

intrabodies to CD147 was firstly introduced into cervical cancer HeLa cells, using Adenovirus serotype⁵ (Ad5)-based vectors. Ad5 fiber mediates transduction via the coxsackie-adenovirus receptor (CAR), and the penton base interacts with cellular α v-integrin.¹³ However, Ad5 has been ineffective at infecting CAR-negative cells. The chimeric adenoviral gene transfer vector was generated. Ad5-based vectors can be retargeted with the fiber receptor specificity of the serotype 35 adenovirus (Ad5/F35) to solve the insufficiency of the CAR on low CAR-expressing cells by utilizing CD46 as the cellular receptor.¹⁴ Ad5/F35 carrying scFv to the CD147 gene was successfully constructed in our lab. Thus, it would be invaluable if the CD147-specific intrabody using the Ad5/F35 gene transfer vectors still retained its functional activity on CD147. This study aims to investigate the function of the scFv intrabody specific to CD147 using the Ad5/F35 gene transfer vectors prior to transduction into low CAR-expressing cells. Additionally, the expression of $\alpha_3\beta_1$ -integrin and the proliferation of CD147-knockdown HeLa cells using the Ad5/F35 gene transfer were investigated.

Materials and methods

Cell cultures and antibodies

The embryonic human kidney cell line (293A) was kindly provided by Assoc. Prof. Dr. Chatchai Tayapiwatana, Chiang Mai University, Thailand, and the cervical carcinoma cell line (HeLa) was kindly provided by Prof. Dr. Andre Lieber, University of Washington, Seattle, Washington, USA. 293A and HeLa were cultured in Dulbecco's Modified Eagle's medium (DMEM) (Gibco, Carlsbad, CA) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS), 2 mM L-glutamine, 100 Units/mL penicillin, and 100 μ g/mL streptomycin. The cells were maintained in a humidified atmosphere of 5% CO₂ at 37°C. Anti-CD147 (clone M6-1B9) culture supernatant antibody (kindly provided by Prof. Dr. Watchara Kasinrerker, Chiang Mai University, Thailand), mouse anti-CAR mAb (clone Rmcb) and mouse anti- α v-integrin mAb, (clone L230) (kindly provided by Prof. Dr. Andre Lieber, University of Washington, Seattle, Washington, USA), mouse anti- $\alpha_3\beta_1$ -integrin (Abcam, Cambridge, MA), mouse anti-CD46 mAb (Beckman Coulter, Brea, CA), and PE-conjugated F(ab')₂ fragment of sheep anti-mouse immunoglobulins antibody (Dako, Glostrup, Denmark) were used in this study.

Analysis of Ad receptors, CD147, and $\alpha_3\beta_1$ -integrin by using flow cytometry

HeLa cells were washed with FACS diluents buffer and blocked with human AB serum for 30 minutes on ice. Then, 25 μ L of anti-CD147 culture supernatant antibody, and 50 μ L of mouse anti- $\alpha_3\beta_1$ -integrin, mouse anti-CAR, mouse anti- α v-integrin mAb, or mouse anti-CD46 mAb were added in blocked cells for 30

minutes on ice. After washing, 25 μ L of PE-conjugated F(ab')₂ fragment of sheep anti-mouse immunoglobulins antibody was added and incubated for 30 minutes on ice. Finally, the cells were washed three times and re-suspended with 1% paraformaldehyde in FACS diluents. The fluorescence reactivity of the stained cells was investigated by flow cytometer (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ).

Preparation of adenoviruses (Ad5/F35-scFv-M6-1B9, Ad5/F35-scFv-irrelevant, and Ad5/F35-GFP)

The adenovirus expressing the scFv intrabody to CD147 (Ad5/F35-scFv-M6-1B9) and the adenovirus expressing the scFv intrabody to the irrelevant protein (Ad5/F35-scFv-irrelevant) for intrabody control were kindly provided by Assoc. Prof. Dr. Chatchai Tayapiwatana, Chiang Mai University, Thailand. Adenovirus not expressing the scFv intrabody (Ad5/F35-GFP) for transduction control was kindly provided by Dr. Saw-See Hong, University of Lyon 1, France. The adenoviruses were generated and propagated as described elsewhere.^{12,15} Adenoviral titers were determined using plaque titration in 293A cells.¹⁵

Analysis of CD147 expression by Western blot analysis

HeLa cells were transduced at an MOI of 100 pfu/cell of Ad5/F35-scFv-M6-1B9, Ad5/F35-scFv-irrelevant, or Ad5/F35-GFP, and harvested after 48 hours. Then the membrane and the cytoplasmic protein were extracted by using a ProteoJET™ Membrane Protein Extraction Kit (Fermentas, St. Leon-Rot, Germany). After that, the protein was separated on a 12% SDS-PAGE gel under reducing conditions and then transferred onto a polyvinylidene-fluoride (PVDF) membrane. The membranes were blocked with 5% skim milk in PBS and incubated with 1 μ g/mL rabbit anti-EMMPRIN polyclonal antibody (Invitrogen, Camarillo, CA). After washing with 0.1% Tween-20 in PBS, peroxidase-conjugated goat anti-rabbit immunoglobulins antibody (Promega, Madison, WI) was added onto the membranes. Finally, the immunoreactive bands were visualized using an enhanced chemiluminescent (ECL) substrate detection system (Thermo Scientific, Waltham, MA). The intensity of the protein band was analyzed by using the Quantity One 1-D analysis software.

Analysis of cell proliferation by MTT assay

HeLa cells were transduced at an MOI of 100 pfu/cell of Ad5/F35-scFv-M6-1B9, Ad5/F35-scFv-irrelevant, or Ad5/F35-GFP, and incubated for 48 hours. Then, 100 μ L of the medium was removed and 15 μ L of the MTT dye (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) was added. The cells were further incubated for 4 hours. After the supernatant was removed, 200 μ L of DMSO was added to each well, and mixed thoroughly to dissolve the formazan crystals. The optical density was measured using an ELISA plate

reader at 540 nm with the reference wavelength at 630 nm.

Results

Expression of adenoviral receptors, CAR, CD46, and α_v -integrin, on HeLa cells

To determine the expression of the adenoviral receptor, HeLa cells were stained with antibodies that recognize the adenoviral receptors, that is, the anti-CAR, anti-CD46, and anti- α_v -integrin antibodies, and analyzed by using flow cytometry. The results showed that 88.54% of CAR, 99.82% of CD46, and 98.24% of α_v -integrin were expressed on the surface of the HeLa cells, as shown in Figure 1A, 1B, and 1C. This result indicates that HeLa cells express all adenoviral receptors. Thus, HeLa cells can use either CAR for Ad5-based vectors or CD46 for the chimeric adenoviral vector Ad5/F35 vectors as receptors for different types of adenoviral transduction.

Expression of CD147 and $\alpha_3\beta_1$ -integrin on HeLa cells

To investigate the CD147 and $\alpha_3\beta_1$ -integrin expression on the cell surface of the HeLa cells prior to adenoviral transduction, the CD147 and $\alpha_3\beta_1$ -integrin expressions were examined by using flow cytometry. HeLa cells were stained with anti-CD147 and anti $\alpha_3\beta_1$ -integrin antibodies. The results showed that 78.56% of CD147 and 77.27% of $\alpha_3\beta_1$ -integrin were expressed on the surface of the HeLa cells, as shown in Figure 1D and 1E. This demonstrates that CD147 and $\alpha_3\beta_1$ -integrin are also expressed on the surface of HeLa cells.

Expression of CD147 in CD147-intrabody-transduced HeLa cells

To assess the effect of the CD147-scFv intrabody on the CD147 expression, HeLa cells were transduced by Ad5/F35-scFv-M6-1B9, Ad5/F35-scFv-irrelevant, and Ad5/F35-GFP at 100 MOI. The membrane and the cytoplasmic fractions of the transduced HeLa cells were separated on 12% SDS-PAGE and electroblotted onto a PVDF membrane. The presence of CD147 in the fractionated cell was detected using Western blot analysis. The cell surface expression of CD147 was significantly decreased on the Ad5/F35-scFv-M6-1B9 transduced HeLa cells compared to the Ad5/F35-scFv-irrelevant-transduced HeLa cells, the Ad5/F35-GFP transduced HeLa cells, and the untransduced HeLa cells, as shown in Figure 2. This result indicates that the CD147-specific scFv intrabody could inhibit CD147 expression on the cell surface of HeLa cells.

Cell proliferation of CD147-knockdown HeLa cells

To determine the cell proliferation of CD147-knockdown HeLa cells, MTT assay was performed. The cell proliferation of the Ad5/F35-scFv-M6-1B9 transduced HeLa cells was found to significantly decrease (80%) compared to that of the Ad5/F35-scFv-irrelevant-transduced HeLa cells (100%), the Ad5/F35-GFP transduced HeLa cells (100%), and the untransduced HeLa cells (100%), as shown in Figure 3. This result reveals that the cell proliferation of the HeLa cells also decreases in the HeLa cells carrying the CD147-specific scFv intrabody.

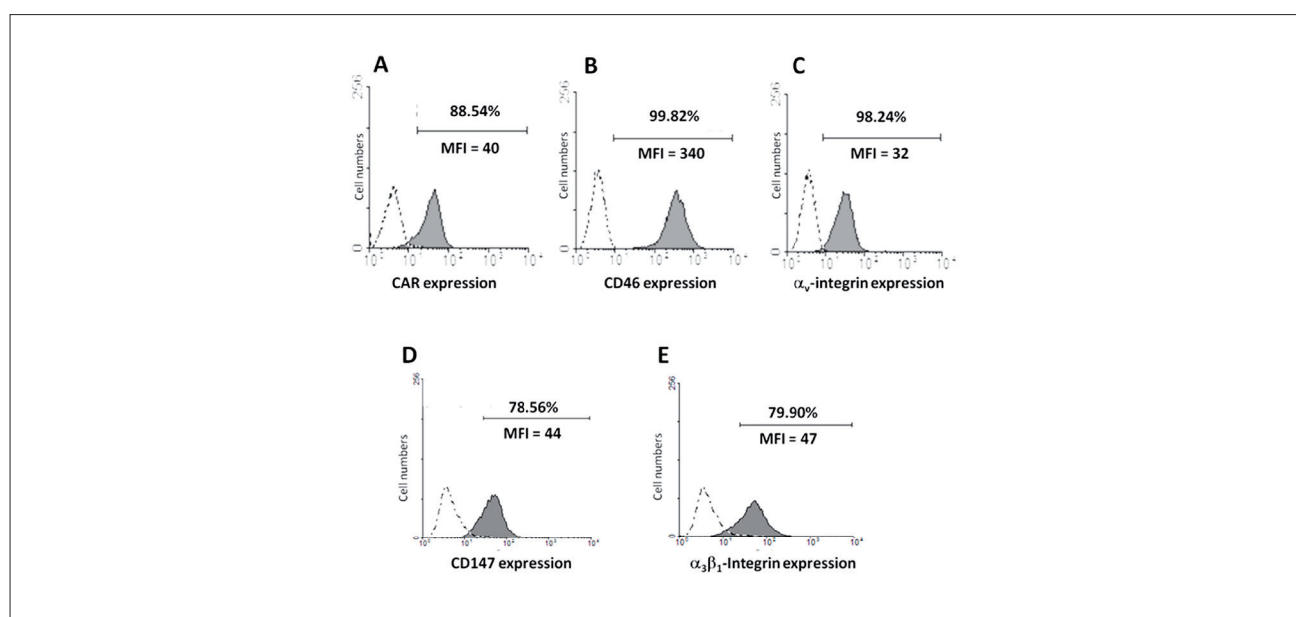


Figure 1 The CAR, CD46, α_v -integrin, CD147, and $\alpha_3\beta_1$ -integrin expressions on the cell surface of the HeLa cells

The HeLa cells were stained with anti-CAR mAb, anti-CD46 mAb, anti- α_v -integrin mAb, anti-CD147 (M6-1B9) culture supernatant Ab, and anti- $\alpha_3\beta_1$ -integrin mAb. The fluorescence intensity of the conjugate control HeLa cells are shown in the form of the dashed line. (A) CAR, (B) CD46, (C) α_v -integrin, (D) CD147, and (E) $\alpha_3\beta_1$ -integrin expressions are shown in the solid shade. The y axis represents the cell numbers on a linear scale; the x axis shows the fluorescence intensity on a logarithmic scale.

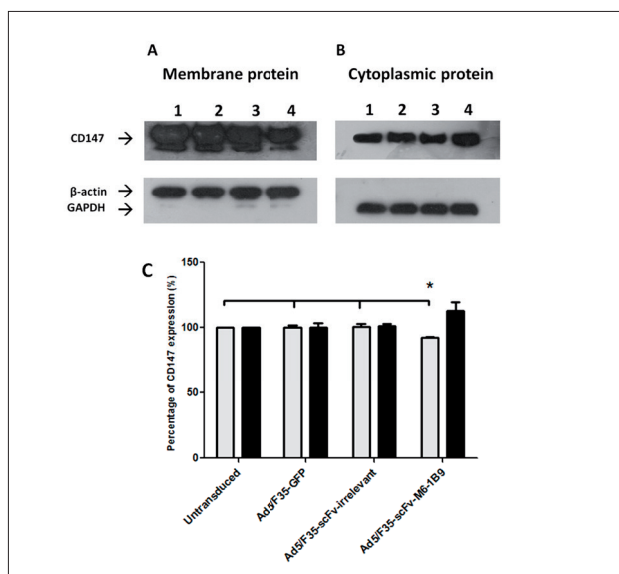


Figure 2 The CD147 expression on the CD147-knockdown HeLa cells with the CD147-intrabody

The HeLa cells were transduced by Ad5/F35-scFv-M6-1B9, Ad5/F35-scFv-irrelevant, and Ad5/F35-GFP at 100 MOI. The transduced HeLa cells were extracted separated on 12% SDS-PAGE, and electroblotted onto a PVDF membrane. The expression of CD147 was detected by using anti-EMMPRIN pAb (55 kDa). β -actin (43 kDa) and GAPDH (37 kDa) were used as the loading controls. (A) Membrane protein and (B) cytoplasmic protein are also shown in the figure. The proteins were obtained from the untransduced HeLa cells (lane 1), Ad5/F35-GFP transduced HeLa cells (lane 2), Ad5/F35-scFv-irrelevant-transduced HeLa cells (lane 3), and Ad5/F35-scFv-M6-1B9 transduced HeLa cells (lane 4). The data represent one of the three independent experiments. (C) The data represent the average percentage of the CD147 expression $\pm$ SD of the three independent experiments. The gray bars are used to show the membrane protein and the black bars are used to show the cytoplasmic protein. "*" demonstrates the statistically significant difference ($p < 0.05$).

Expression of $\alpha_3\beta_1$ -integrin on cell surface of CD147-knockdown HeLa cells

To investigate the $\alpha_3\beta_1$ -integrin expression on the surface of CD147-knockdown HeLa cells, transduced HeLa cells were stained with anti $\alpha_3\beta_1$ -integrin and analyzed by using flow cytometry. The result demonstrated that no significant difference in the $\alpha_3\beta_1$ -integrin expression was observed on the HeLa cells transduced by Ad5/F35-scFv-M6-1B9 when compared with the Ad5/F35-scFv-irrelevant and untransduced controls, as shown in Figure 4. This result indicates that down regulation of CD147 does not influence the expression of $\alpha_3\beta_1$ -integrin on HeLa cells.

Discussion

CD147 expresses on cell membrane of various cell types. It plays important roles in the regulation of cellular activities such as growth, survival, adhesion, and migration.¹⁶ Several studies have shown that the down regulation of the CD147 expression can reduce the progression of cancer cells. Currently, there are

many techniques that have been introduced to reduce the expression of CD147. Intrabody strategy is a useful tool to modulate the expression pattern of an intracellular target gene.¹⁰ Adenoviral vectors remain an invaluable tool for gene transfer. Human adenovirus serotype 5 (Ad5) is the most commonly used adenoviral vector.¹⁷ Ad5 entry into cells by attachment of the fiber knob to a primary receptor, CAR, and followed by the interaction of the penton base with a secondary receptor, α_v -integrin. Unfortunately, Ad5 has been found ineffective at infecting CAR-negative cells. Lately, chimeric adenoviral vectors have been generated. The Ad5-based vectors were retargeted with the fiber receptor specificity of the adenovirus serotype 35 (Ad5/F35), and, because of this, they bypass the insufficiency of the CAR on the CAR-negative cells by utilizing CD46 as a cellular receptor.¹⁴ Thus, in this study, we investigated the expression of the adenoviral receptors, CAR, CD46, and α_v -integrin, on HeLa cells. The result revealed that HeLa cells expressed all the adenoviral receptors. Thus, HeLa cells can use CD46 as receptors for the adenoviral transduction of the chimeric adenoviral vector Ad5/F35 vectors. The Ad5/F35 vector carrying the gene encoding scFv to CD147 was successfully constructed in our lab. The function of the scFv intrabody specific to CD147 using Ad5/F35 gene transfer vectors as its conventional Ad5 gene transfer vector was investigated in HeLa cells prior to the transduction into low CAR-expressing cells. The result showed that the CD147 scFv intrabody using Ad5/F35 could inhibit CD147 expression on the cell surface of HeLa cells, as demonstrated in our previous study which used Ad5-based vectors.¹⁸

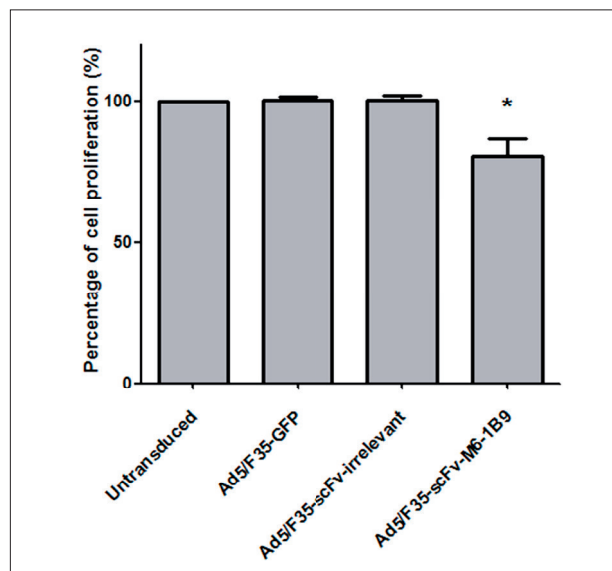


Figure 3 The cell proliferation of the CD147-knockdown HeLa cells

The transduced HeLa cells were incubated with MTT dye and the formazan crystals were dissolved with DMSO. The cell proliferation was calculated from the optical density of the solution at 540 nm. The data represent the average percentage of the cell proliferation $\pm$ SD of the three independent experiments. "*" demonstrates the statistically significant difference ($p < 0.05$).

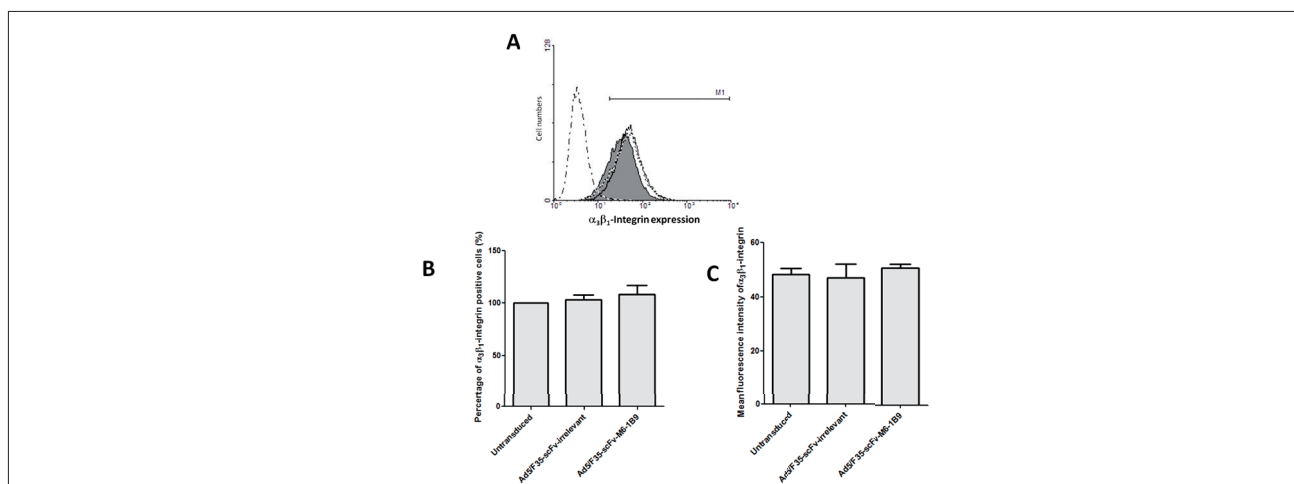


Figure 4 The $\alpha_3\beta_1$ -integrin cell surface expression of the CD147-knockdown HeLa cells

The HeLa cells were transduced by Ad5/F35-scFv-M6-1B9 and Ad5/F35-scFv-irrelevant. The transduced HeLa cells were stained with anti- $\alpha_3\beta_1$ -integrin mAb and analyzed by using flow cytometry. (A) The fluorescence intensity of the conjugate control HeLa cells (dashed line), untransduced HeLa cells (solid shade), Ad5/F35-scFv-irrelevant-transduced HeLa cells (dotted line), and Ad5/F35-scFv-M6-1B9 transduced HeLa cells (black bold line) are as shown in the figure. The y axis represents the cell numbers on a linear scale; the x axis shows the fluorescence intensity on a logarithmic scale. The data represent one of the three independent experiments. (B) The data represent the average percentage of the $\alpha_3\beta_1$ -integrin positive cells $\pm$ SD of the three independent experiments. (C) The data represent the average mean fluorescence intensity of $\alpha_3\beta_1$ -integrin $\pm$ SD of the three independent experiments.

CD147 modulates cell proliferation which serves as a receptor for cyclophilin A.¹⁹ Depletion of CD147 results in changes in the AMP-activated protein kinase (AMPK) and the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathways, leading to diminished proliferation.²⁰ In this study, we investigated the effect of CD147 on cell proliferation of the CD147-knockdown HeLa cell using the chimeric adenoviral vector Ad5/F35 vector carrying gene encoding scFv to CD147. The result indicated that the inhibition of CD147 by CD147-specific scFv intrabody also decreased HeLa cell proliferation. This result is concordant with the previous study, which showed that the down regulation of the CD147 gene expression via RNA interference reduced the expression of CD147 at protein level and the cell proliferation in T-lymphoma.²¹

Integrins are cell-surface dimers composed of one α subunit and one β subunit. Integrins are known to associate with a number of accessory molecules including CD147 that may act to regulate their activity.²² Previous studies have shown that CD147 was recently found to co-immunoprecipitate with $\alpha_3\beta_1$ -integrins within the plasma membrane of HT1080 fibrosarcoma cells.²³ In this study, we found that CD147 and $\alpha_3\beta_1$ -integrins were expressed on the cell surfaces of HeLa cells. We further investigated the expression of $\alpha_3\beta_1$ -integrins on CD147-knockdown HeLa cells using the chimeric adenoviral vector Ad5/F35 vector carrying gene encoding scFv to CD147. The result showed that $\alpha_3\beta_1$ -integrin did not attenuate in those HeLa cells carrying the scFv-CD147 intrabody. $\alpha_3\beta_1$ -integrin-mediated ECM adhesion is required for mammary epithelial proliferation, but the mechanism is not known.²⁴ Previous studies have

reported the antibodies against the human $\alpha_3\beta_1$ -integrin inhibiting the proliferation of MCF-10A, the breast cancer cells.⁹ This study, however, found that the down regulation of the CD147 expression resulted in the inhibition of the HeLa cell proliferation but it did not influence the $\alpha_3\beta_1$ -integrin expression. It is possible that CD147 may impact the expression or function of the other proteins involved in the proliferation process of the HeLa cells.

Conclusion

We demonstrated that using Ad5/F35 gene transfer vectors carrying gene encoding scFv intrabody specific to CD147 successfully decreases CD147 cell surface expression and suppresses cell proliferation in HeLa cells. However, CD147-specific scFv intrabody does not influence the $\alpha_3\beta_1$ -integrin expression. CD147 may affect the expression or function of other proteins involved in the proliferation. This hypothesis should be further investigated. Understanding the role of CD147 in affecting the proliferation of cervical cancer would be useful in understanding the molecular function of CD147 and in developing cancer treatment in the future.

Acknowledgments

We are eternally thankful to Prof. Dr. Watchara Kasinrerak, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, for providing the antibody against the CD147 clone M6-1B9, to Prof. Dr. Andre Lieber, University of Washington, Seattle, Washington, USA, for supplying the cervical carcinoma cell line (HeLa), the mouse anti-CAR mAb (clone RmcB), and

the mouse anti- α v-integrin mAb, (clone L230), as well as to Dr. Saw-See Hong, University of Lyon 1, France, for providing GFP. We are thankful to Sirikwan Sangboonruang and Supattara Suwanpairroj for their technical assistance. This work was supported by the Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai

University, Chiang Mai, Thailand, the Thailand Research Fund (TRF) and the Commission on Higher Education, and the NSTDA Research Chair Grant, National Sciences and Technology Development Agency (Thailand).

References

1. Dean NR, Newman JR, Helman EE, Zhang W, Safavy S, Weeks DM, et al. Anti-EMMPRIN monoclonal antibody as a novel agent for therapy of head and neck cancer. *Clin Cancer Res*. 2009; 15: 4058-65.
2. Fu J, Chen X, Zhang Y, Gu H, Bai Y. CD147 and VEGF co-expression predicts prognosis in patients with acute myeloid leukemia. *Jpn J Clin Oncol*. 2010; 40: 1046-52.
3. Wang CH, Chen LN, Zhu P, Fan CM, Wang YH, Jia JF. [CD147 stimulates the angiogenesis in rheumatoid synovium via the activation of vascular endothelial growth factor]. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*. 2007; 23: 426-8.
4. Kim JY, Kim WJ, Kim H, Suk K, Lee WH. The Stimulation of CD147 Induces MMP-9 Expression through ERK and NF-kappaB in Macrophages: Implication for Atherosclerosis. *Immune Netw*. 2009; 9: 90-7.
5. Su J, Chen X, Kanekura T. A CD147-targeting siRNA inhibits the proliferation, invasiveness, and VEGF production of human malignant melanoma cells by down-regulating glycolysis. *Cancer Lett*. 2009; 273: 140-7.
6. Iacono KT, Brown AL, Greene MI, Saouaf SJ. CD147 immunoglobulin superfamily receptor function and role in pathology. *Exp Mol Pathol*. 2007; 83: 283-95.
7. Engbring JA, Kleinman HK. The basement membrane matrix in malignancy. *J Pathol*. 2003; 200: 465-70.
8. Morini M, Mottolese M, Ferrari N, Ghiorzo F, Buglioni S, Mortarini R, et al. The alpha 3 beta 1 integrin is associated with mammary carcinoma cell metastasis, invasion, and gelatinase B (MMP-9) activity. *Int J Cancer*. 2000; 87: 336-42.
9. Gonzales M, Haan K, Baker SE, Fitchmun M, Todorov I, Weitzman S, et al. A cell signal pathway involving laminin-5, alpha3beta1 integrin, and mitogen-activated protein kinase can regulate epithelial cell proliferation. *Mol Biol Cell*. 1999; 10: 259-70.
10. Stocks MR. Intrabodies: production and promise. *Drug Discov Today*. 2004; 9: 960-6.
11. Goenaga AL, Zhou Y, Legay C, Bougherara H, Huang L, Liu B, et al. Identification and characterization of tumor antigens by using antibody phage display and intrabody strategies. *Mol Immunol*. 2007; 44: 3777-88.
12. Tragoolpua K, Intasai N, Kasinrerker W, Mai S, Yuan Y, Tayapiwatana C. Generation of functional scFv intrabody to abate the expression of CD147 surface molecule of 293A cells. *BMC Biotechnol*. 2008; 8: 5.
13. Wickham TJ, Mathias P, Cheresch DA, Nemerow GR. Integrins alpha v beta 3 and alpha v beta 5 promote adenovirus internalization but not virus attachment. *Cell*. 1993; 73: 309-19.
14. Nilsson M, Ljungberg J, Richter J, Kiefer T, Magnusson M, Lieber A, et al. Development of an adenoviral vector system with adenovirus serotype 35 tropism; efficient transient gene transfer into primary malignant hematopoietic cells. *J Gene Med*. 2004; 6: 631-41.
15. Carlson CA, Steinwaerder DS, Stecher H, Shayakhmetov DM, Lieber A. Rearrangements in adenoviral genomes mediated by inverted repeats. *Methods Enzymol*. 2002; 346: 277-92.
16. Muramatsu T, Miyauchi T. Basigin (CD147): a multifunctional transmembrane protein involved in reproduction, neural function, inflammation and tumor invasion. *Histol Histopathol*. 2003; 18: 981-7.
17. Chillon M, Alemany R. Methods to construct recombinant adenovirus vectors. *Methods Mol Biol*. 2011; 737: 117-38.
18. Intasai N, Tragoolpua K, Pingmuang P, Khunkaewla P, Moonsom S, Kasinrerker W, et al. Potent inhibition of OKT3-induced T cell proliferation and suppression of CD147 cell surface expression in HeLa cells by scFv-M6-1B9. *Immunobiology*. 2009; 214: 410-21.
19. Li M, Zhai Q, Bharadwaj U, Wang H, Li F, Fisher WE, et al. Cyclophilin A is overexpressed in human pancreatic cancer cells and stimulates cell proliferation through CD147. *Cancer*. 2006; 106: 2284-94.
20. Xu D, Hemler ME. Metabolic activation-related CD147-CD98 complex. *Mol Cell Proteomics*. 2005; 4: 1061-71.
21. Chen X, Su J, Chang J, Kanekura T, Li J, Kuang YH, et al. Inhibition of CD147 gene expression via RNA interference reduces tumor cell proliferation, activation, adhesion, and migration activity in the human Jurkat T-lymphoma cell line. *Cancer Invest*. 2008; 26: 689-97.
22. Curtin KD, Meinertzhagen IA, Wyman RJ. Basigin (EMMPRIN/CD147) interacts with integrin to affect cellular architecture. *J Cell Sci*. 2005; 118: 2649-60.
23. Berditchevski F, Chang S, Bodorova J, Hemler ME. Generation of monoclonal antibodies to integrin-associated proteins. Evidence that alpha3beta1 complexes with EMMPRIN/basigin/ OX47/M6. *J Biol Chem*. 1997; 272: 29174-80.
24. Jeanes AI, Wang P, Moreno-Layseca P, Paul N, Cheung J, Tsang R, et al. Specific beta-containing integrins exert differential control on proliferation and two-dimensional collective cell migration in mammary epithelial cells. *J Biol Chem*. 2012; 287: 24103-12.

การแยกส่วนประกอบภายในแผ่นไขมัน โรคหลอดเลือดแดงคาโรติดด้วย ด้วยเทคนิค T2 mapping จากภาพคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า

Classification of carotid atherosclerotic plaque components using T2 mapping technique from magnetic resonance imaging

■ สราณัฐ จันทร์เพ็ญมงคล¹ กิตติชัย วรธนะจิตติกุล² กิตติพันธ์ ฤกษ์เกษม^{3,4}
Sranut Chunpenmongkol¹ Kittichai Wantanajittikul² Kittipan Rerkasem^{3,4}
ชรินทร์ ยาอินทร์⁵ สุวิทย์ แซ่โค้ว^{1,2*}
Charin Ya-in⁵ Suwit Saekho^{1,2*}

¹ภาควิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

²ศูนย์วิศวกรรมชีวการแพทย์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

³ภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

⁴สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

⁵ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

* ผู้รับผิดชอบบทความ (Email: saekho@yahoo.com)

Received November 2013

Accepted as revised December 2013

Abstract

Introduction: Vulnerable plaque or soft plaque potentially increases risk of stroke. Accurate plaque characterization is a demand for treatments. To date, magnetic resonance imaging (MRI) using multi-weighted images, T1 weighted (T1W), T2 weighted (T2E), and proton density weighted (PDW), is one of the best available tools. Due to the spin-spin relaxation property, different tissues reveal differences of T2s. We proposed T2 mapping for analysis plaque components, and to examine the possibility of using T2 mapping for carotid atherosclerotic plaque characterization.

Materials and methods: The 1.5 Tesla Philips, Acheiva Nova Dual, MRI scanner was employed to this study. T2 mapping images of a phantom made from 4 types of tissues were compared with T1W, T2W, and PDW images in term of accuracy. The comparisons were also performed on 4 different specimens and 8 volunteers diagnosed with carotid atherosclerosis. Axial images were acquired along the length of the phantoms with a scanning protocol including Spin echo-multi-echoes pulse sequence at 8 echo time (8TEs) from 15 ms. to 120 ms, inter-echo time 15 ms, field of view (FOV) 140x140 mm., matrix size 200x219, flip angle 90 degree, number of signal average (NSAs) 4, repetition time (TR) 1,333 ms, and slice thickness 3 mm. For the 8 human volunteers, axial images were acquired at the narrowest stenosis of the carotid artery with a scanning protocol slightly modified from that of the phantoms to suit for human scanning. The axial images from the 8 TE were fit for T2 in each pixel with a simple mono-exponential model for generating T2 mapping. The accuracy of the images at the same location between the T2 mapping and the 3 weighted images were compared.

Results: The results from 4 known types of tissues showed that 4 major groups of tissues were classified with T2 mapping. Each group of the classification has a frequency over 60% of the maximum frequency, while T1W, T2W and PDW images were classified with intensity contrast into 2, 2 and 3 groups, respectively. However, the study in the specimen phantoms and the human volunteers were not validated due to little concordance of slice location between the images and those of the pathology section.

Conclusions: The T2 mapping showed more accurate classification in known types of tissue phantom compared to those of the T1W, T2W and PDW. However, the study in humans may need further study.

Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2014; 47(1): 37-44

Keywords: atherosclerotic plaque, plaque characterization, soft plaque, vulnerable plaque, T2 mapping

บทคัดย่อ

บทนำ: แผ่นไขมันชนิดอ่อน (vulnerable plaque) มีความเสี่ยงสูงที่ทำให้เกิดโรคหลอดเลือดสมอง (stroke) ความถูกต้องในการแยกประเภทแผ่นไขมันจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งต่อการรักษา ปัจจุบันการวินิจฉัยโดยใช้ภาพเอ็มอาร์ ด้วยภาพน้ำหนัก T1, T2 และ proton density เป็นวิธีที่ดีที่สุดวิธีหนึ่ง เนื่องจากเนื้อเยื่อต่างชนิดกันมีคุณสมบัติของ T2 relaxation ต่างกัน ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้เสนอการใช้ภาพแผนที่ค่า T2 ในการวิเคราะห์หาส่วนประกอบของแผ่นไขมันและเพื่อศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการใช้ภาพแผนที่ค่า T2 (T2 mapping) เพื่อจำแนกส่วนประกอบภายในแผ่นไขมันในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดแดงคาโรติดแข็งตัวจากแผ่นไขมัน (carotid atherosclerotic plaque)

วัสดุและวิธีการวิจัย: ใช้เครื่องตรวจคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า 1.5 เทสลา (1.5 Tesla, Achieva nova dual Philips) สร้างภาพแผนที่ค่า T2 เปรียบเทียบกับภาพ T1 weighted (T1W), T2 weighted (T2W) และ Proton Density Weighted (PDW) จากหุ่นจำลองที่สร้างขึ้นจากเนื้อเยื่อ 4 ชนิด หุ่นจำลองตัวอย่างสังเคราะห์ของแผ่นไขมันจำนวน 4 ตัวอย่างและในอาสาสมัครที่ป่วยเป็นโรคหลอดเลือดแดงคาโรติดแข็งตัวจากแผ่นไขมัน (carotid atherosclerotic plaque) จำนวน 8 ราย ทำการสร้างภาพตามระนาบตัดขวางตลอดความยาวของหุ่นจำลองทั้งสองชนิดด้วยเทคนิคแบบ spin echo-multi-echoes pulse sequence ที่ 8 echo time (8 TEs) ตั้งแต่ 15 มิลลิวินาที ถึง 120 มิลลิวินาที เวลาระหว่างแต่ละเอคโคเท่ากับ 15 มิลลิวินาที พื้นที่การมองเห็น (field of view, FOV) 140x140 มิลลิเมตร ความละเอียดภาพ (matrix size) 200x219 มุมของการกระตุ้นแม่เหล็ก (flip angle) 90 องศา เก็บสัญญาณเพื่อนำมาเฉลี่ยสี่ครั้ง (4 number of signal average, NSAs) เวลาในการกระตุ้นซ้ำ (repetition time, TR) 1,333 มิลลิวินาที และความหนาของสไลด์ (slice thickness) 3 มิลลิเมตร ในอาสาสมัครทั้ง 8 ราย สร้างภาพตามระนาบตัดขวางของหลอดเลือดแดงคาโรติดบริเวณที่มีการตีบตันจากแผ่นไขมัน ด้วยเทคนิคที่ใกล้เคียงกันโดยปรับเพียงบางพารามิเตอร์ให้เหมาะสมกับการศึกษาในมนุษย์ นำภาพตามระนาบตัดขวางที่ได้จาก 8 TEs มาฟิตเคอร์ฟ (curve-fitting) ในแบบ simple mono-exponential เพื่อสร้างแผนที่ค่า T2 โดยการแทนค่า T2 ในทุกๆ พิกเซลบนภาพที่ได้จากการฟิตเคอร์ฟและนำภาพแผนที่ค่า T2 ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับความถูกต้องกับภาพทั้ง 3 weighted images ที่ตำแหน่งเดียวกัน

ผลการวิจัย: ผลการศึกษาในหุ่นจำลองที่มีเนื้อเยื่อ 4 ชนิด พบว่าภาพแผนที่ค่า T2 สามารถจำแนกชนิดเนื้อเยื่อออกได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่โดยที่แต่ละกลุ่มมีค่าความถี่เกิน 60 เปอร์เซ็นต์ของความถี่สูงสุดในขณะที่ภาพ T1W และ T2W ค่าความเข้มของพิกเซลบนภาพจำแนกชนิดเนื้อเยื่อออกได้เพียง 2 กลุ่มที่ค่าความถี่เกิน 60 เปอร์เซ็นต์ของความถี่สูงสุด และ PDW จำแนกชนิดเนื้อเยื่อออกได้เป็น 3 กลุ่ม แต่การศึกษาในหุ่นจำลองตัวอย่างสังเคราะห์และในอาสาสมัครผลขึ้นเนื้อและภาพเอ็มอาร์เป็นคนละตำแหน่งกันจึงไม่สามารถยืนยันความถูกต้องของเทคนิคได้

สรุปผล: การจำแนกชนิดของเนื้อเยื่อด้วยภาพแผนที่ค่า T2 มีความถูกต้องกว่าการใช้ภาพจาก 3 weighted images จากการศึกษาในหุ่นจำลองที่ทราบชนิดของเนื้อเยื่อ แต่ในอาสาสมัครที่เป็นผู้ป่วยจริงควรได้รับการศึกษาเพิ่มเติม

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2557; 47(1): 37-44

คำรหัส: atherosclerotic plaque, plaque characterization, soft plaque, vulnerable plaque, T2 mapping

บทนำ

โรคหลอดเลือดแดงแข็งตัวจากแผ่นไขมัน (plaque)¹ ซึ่งภายในอาจประกอบด้วยไขมัน เลือด หรือ หินปูนส่วนใหญ่มักเกิดกับหลอดเลือดแดงคาโรติด (carotid artery) บริเวณพื้นผิวภายในแผ่นไขมันอาจเป็นได้ทั้งแผ่นไขมันชนิดอ่อน (vulnerable plaque)²⁻⁴ และแผ่นไขมันชนิดแข็ง (burden plaque)^{5,6} แผ่นไขมันชนิดแข็งเกิดจากการสะสมของไขมันในผนังหลอดเลือดจนกลายเป็นหินปูนแคลเซียม (calcification) ทำให้หลอดเลือดตีบตันและมีความเสี่ยงน้อยในการพัฒนาสู่การเป็นโรคหลอดเลือดสมองขาดเลือด ในขณะที่แผ่นไขมันชนิดอ่อน (vulnerable plaque) ซึ่งประกอบด้วยแผ่นไขมันที่มีแกนกลางเน่าตาย (lipid rich necrotic core, LRNC) เม็ดเลือด

แดงที่แทรกซึมในแผ่นไขมัน (intraplaque hemorrhage) และ dense fibrous tissue เป็นต้น แผ่นไขมันชนิดนี้เป็นชนิดที่มีอันตรายและมีความเสี่ยงสูงที่จะเกิดการปริแตกและเป็นสาเหตุของการอุดตันของหลอดเลือดโดยฉับพลันและเกิดโรคต่างๆ ตามมาได้ เช่น โรคหลอดเลือดสมองขาดเลือด ตาบอดชั่วคราว อัมพาต เป็นต้น⁷⁻¹² ดังนั้น การตรวจหาส่วนประกอบภายในแผ่นไขมันชนิดอ่อนจึงมีประโยชน์ต่อผู้ป่วยและการวางแผนการรักษาของแพทย์อย่างมาก เครื่องมือที่ใช้ในการตรวจหาการอุดตันของหลอดเลือดจากแผ่นไขมันในปัจจุบัน ได้แก่ เครื่องอัลตราซาวด์ (ultrasound, U/S) เครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ (computed tomography, CT) และเครื่องเอกซเรย์ระบบหลอดเลือด (digital subtraction angiography,

DSA) แต่เครื่องมือดังกล่าวยังไม่สามารถที่จำแนกชนิดของแผ่นไขมันได้อย่างชัดเจนเนื่องจากมีข้อจำกัดในการแยกความแตกต่างของเนื้อเยื่อที่มีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย เช่นไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่าง fibrous และ fatty plaque ได้³⁻¹⁶ ปัจจุบันการตรวจวินิจฉัยเพื่อแยกชนิดของแผ่นไขมันสามารถทำได้ด้วยเครื่องตรวจคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (MRI) โดยแพทย์ผู้แปลผลต้องอาศัยรายละเอียดจากภาพในหลายๆ น้ำหนัก (multiple contrast weighted images) ประกอบการวินิจฉัยจึงจะสามารถจำแนกชนิดของแผ่นไขมันได้¹⁷⁻²² และเทคนิคนี้ต้องอาศัยความชำนาญของแพทย์ผู้แปลผลและมักเป็นภาพที่ได้จากเครื่องตรวจคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าความแรงของสนามแม่เหล็กสูงระดับ 3 เทสลา (tesla) ขึ้นไป เนื่องจากสามารถสร้างภาพที่ให้อยู่ละเอียดสูง (high resolution contrast) ได้^{17,23-25} จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าแผ่นไขมันชนิดที่มีความซับซ้อน (complex mixture plaque) ไม่สามารถวินิจฉัยเพื่อจำแนกประเภทของแผ่นไขมันได้ซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญ^{21,26,27} คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เครื่องตรวจคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าขนาด 1.5 เทสลา ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ใช้ในระดับการตรวจทางคลินิกที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยการศึกษาได้เสนอเทคนิคใหม่เพื่อจำแนกองค์ประกอบภายในแผ่นไขมันโดยการสร้างภาพแผนที่ค่า T2 (T2 mapping) ในทุกๆ พิกเซลบนภาพ โดยอาศัยหลักการที่ว่าค่า T2 เป็นคุณสมบัติเฉพาะของเนื้อเยื่อแต่ละชนิดที่มีจำนวนของโปรตอนดำรงอยู่โดยเนื้อเยื่อต่างชนิดกันมีค่า T2 ต่างกัน เช่น lipid core, fibrous cap เนื้อเยื่อปกติ (normal tissue) และแคลเซียม (calcium) มีค่า T2 เท่ากับ 28.1 ± 5.9 มิลลิวินาที 51.2 ± 9.6 มิลลิวินาที 48.2 ± 7.4 มิลลิวินาที และ 52 ± 21 มิลลิวินาที ตามลำดับ^{28,29} ดังนั้นภาพแผนที่ค่า T2 ของแผ่นไขมันจึงน่าจะเป็นไปได้ในการจำแนกชนิดขององค์ประกอบภายในแผ่นไขมัน ซึ่งแตกต่างจากวิธีเดิมที่อาศัยความเปรียบต่างจากความเข้มของสัญญาณบนภาพ (image intensity contrast) ในการวินิจฉัยและการวินิจฉัยต้องอาศัยภาพจากหลายน้ำหนักมาประกอบกัน ดังนั้น หากภาพใดภาพหนึ่งเกิดความบกพร่อง (artifact) อาจทำให้การวินิจฉัยเป็นไปได้ยาก

วัสดุและวิธีการ

งานวิจัยนี้ ได้ทำการศึกษาทั้งกับหุ่นจำลองที่สร้างขึ้นและทราบชนิดของเนื้อเยื่อ หุ่นจำลองตัวอย่างสิ่งส่งตรวจของแผ่นไขมัน (carotid endarterectomy, CEA) และศึกษากับอาสาสมัครที่ได้รับการวินิจฉัยจากแพทย์ว่าป่วยเป็นโรคหลอดเลือดแข็งตัวจากแผ่นไขมัน (carotid atherosclerotic plaque) จากการประเมินในเบื้องต้นด้วยเครื่องอัลตราซาวด์ และผลการตรวจทางคลินิกอื่นๆ เช่น ทดสอบการมองเห็นของผู้ป่วย การพูด การทรงตัว เป็นต้น ทำการศึกษาโดยใช้เครื่องตรวจคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าขนาด 1.5 เทสลา (Achieva nova dual 1.5 Tesla, Philips, Netherlands) ศึกษาทั้งหุ่นจำลองโดยใช้ชุดตรวจรับสัญญาณแบบ SENSE knee coil 4 elements ด้วยเทคนิค

การสร้างภาพ spin echo multi-echoes pulse sequence และทำการศึกษาทั้งอาสาสมัครใช้ชุดตรวจรับสัญญาณแบบ SENSE neuro vascular phase array coil 16 elements ด้วยเทคนิคการสร้างภาพ black blood spin echo multi-echo pulse sequence วิเคราะห์ข้อมูลเพื่อสร้างภาพแผนที่ค่า T2 ด้วยโปรแกรมที่พัฒนาขึ้นเองจากโปรแกรม Matlab version 7.9.0

การศึกษาในหุ่นจำลอง (phantom study)

ศึกษากับหุ่นจำลองที่ทราบชนิดเนื้อเยื่อที่สร้างขึ้นจากเนื้อเยื่อ 4 ชนิดของหมู ประกอบด้วยส่วนของเนื้อหมูที่ไม่มีไขมันซึ่งใช้เป็นตัวแทน เนื้อเยื่อปกติ (normal tissues) ส่วนของไขมัน (fat) ใช้เป็นตัวแทน lipid ส่วนของกระดูกอ่อน (cartilage) ใช้เป็นตัวแทนหินปูนแคลเซียม (calcification) และส่วนของเลือด (blood clots) ใช้เป็นตัวแทน hemorrhage ที่เกิดจากการปริแตกของแผ่นไขมัน (plaque rupture) โดยบรรจุเนื้อเยื่อทั้ง 4 ชนิด ในหลอดดูดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร สูง 4 เซนติเมตร ในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน และแช่ในภาชนะที่บรรจุน้ำที่มีขนาดกว้าง 18 เซนติเมตร ยาว 18 เซนติเมตร และสูง 12 เซนติเมตร ที่ปิดสนิท นอกจากนี้สร้างหุ่นจำลองที่มาจากตัวอย่างสิ่งส่งตรวจของแผ่นไขมัน (CEA) จากทั้งหมด 4 ตัวอย่าง ที่ได้หลังการผ่าตัดจากผู้ป่วยโรคหลอดเลือดแดงคาโรติดแข็งตัวจากแผ่นไขมันโดย พันชิ้นเนื้อสิ่งส่งตรวจรอบหลอดดูดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร สูง 10 เซนติเมตร และตรึงตำแหน่งของชิ้นเนื้อสิ่งส่งตรวจด้วยเชือกกับหลอดดูดเพื่อป้องกันการเคลื่อนที่ระหว่างทำการศึกษาแล้วนำไปใส่ในหลอดพลาสติกทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร สูง 12 เซนติเมตร แล้วเติมน้ำยารักษาสภาพ บัฟเฟอร์ฟอร์มาลินความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (10% neutral buffered formalin, NBF)^{30,31} เพื่อเป็นการรักษาสภาพของแผ่นไขมันให้มีความสมบูรณ์ตลอดเวลาที่ทำการศึกษาแล้วนำไปแช่ในภาชนะที่บรรจุน้ำขนาดกว้าง 18 เซนติเมตร ยาว 18 เซนติเมตร และสูง 12 เซนติเมตร ที่ปิดสนิท ทำการสร้างภาพตามระนาบตัดขวาง (cross-sections) ตลอดความยาวของหุ่นจำลองทั้งสองชนิด ด้วยเทคนิคการสร้างภาพแบบ spin echo-multi-echoes pulse sequence ด้วยพารามิเตอร์ดังต่อไปนี้ 8 เอคโค (8 echoes times, 8 TEs) ตั้งแต่ 15 มิลลิวินาที ถึง 120 มิลลิวินาที เวลาระหว่างแต่ละเอคโคเท่ากับ 15 มิลลิวินาที พื้นที่การมองเห็น (field of view, FOV) 140x140 มิลลิเมตร ความละเอียดภาพ (matrix size) 200x219 มุมของการกระตุ้นแม่เหล็ก (flip angle) 90 องศา เก็บสัญญาณเพื่อนำมาเฉลี่ยสี่ครั้ง (4 number of signal average, NSAs) เวลาในการกระตุ้นซ้ำ (repetition time, TR) 1,333 มิลลิวินาที และความหนาของสไลด์ (slice thickness) 3 มิลลิเมตร นำภาพที่ได้จากการสร้างภาพตามระนาบตัดขวางมาวาดบริเวณที่สนใจ (region of interest, ROIs) เพื่อแทนที่ค่า T2 ในภาพแผนที่ค่า T2 โดยการฟิตเคิร์ฟ (curve-fitting) แบบ simple mono-exponential

ดั่งสมการที่ 1 และนำภาพแผนที่ค่า T2 เปรียบเทียบกับภาพ multiple contrast weighted images ที่ตำแหน่งเดียวกัน

$$SI = \rho_0 \cdot \exp \frac{-TE}{T2} \quad (1)$$

- S1 คือ ความเข้มของสัญญาณภาพ (image signal intensity) ที่เวลา TE ใดๆ
- P_0 คือ ค่าคงที่ หรือ ความเข้มของสัญญาณภาพ ที่เวลา TE = 0
- TE คือ ช่วงเวลาที่ทำการกระตุ้นจนเกิดเอคโค่ใดๆ (echo time, มิลลิวินาที)
- T2 คือ ช่วงเวลาผ่อนคลายเนื้อเยื่อ (relaxation time, มิลลิวินาที)

กระบวนการทางพยาธิวิทยา (histology processing)

นำตัวอย่างสิ่งส่งตรวจของแผ่นไขมันที่ได้หลังการผ่าตัดทั้งหมด 4 ตัวอย่างแช่ในบัฟเฟอร์ฟอร์มาลินความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (NBF) ให้ท่วมชิ้นเนื้อ พยาธิแพทย์พิจารณาตัวอย่างสิ่งส่งตรวจด้วยตาเปล่าเพื่อประเมินพยาธิสภาพโดยทั่วๆ ไปของตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ หลังจากนั้นวัดขนาดของตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ แล้วตัดตัวอย่างออกเป็นชิ้น (section) มีความหนาชิ้นละ 3-4 มิลลิเมตร ตลอดความยาวของตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ เพื่อให้สอดคล้องกับชิ้นความหนาที่ได้จากภาพเครื่องตรวจคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (ความหนา 3 มิลลิเมตร) และตรึงตัวอย่างสิ่งส่งตรวจด้วย paraffin bloc ย้อมสีด้วย hematoxyline-eosin และทำ serial section ทุก 5 ไมโครเมตร ที่ตำแหน่งเดียวกันกับภาพเครื่องตรวจคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า

การศึกษาในอาสาสมัคร (human subject study)

ทำการศึกษากับอาสาสมัครที่เป็นโรคหลอดเลือดแดงคาโรติดแข็งตัวจากแผ่นไขมัน จำนวน 8 ราย ประกอบด้วยเพศหญิง 4 ราย เพศชาย 4 ราย อายุระหว่าง 48-76 ปี อาสาสมัครที่เข้าร่วมการวิจัยต้องไม่มีข้อห้ามสำหรับการตรวจด้วยเครื่องตรวจคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าและรับทราบถึงความเสี่ยงในการตรวจพร้อมเซ็นยินยอมเข้าร่วมในการศึกษา การศึกษานี้ได้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมเพื่อการวิจัย

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยสร้างภาพตามระนาบตัดขวางบริเวณหลอดเลือดแดงคาโรติดแข็งตัวจากแผ่นไขมัน ด้วยเทคนิคแบบ black blood spin echo multi-echo pulse sequence ใช้พารามิเตอร์ส่วนใหญ่เหมือนกับการศึกษาในหุ่นจำลองยกเว้น FOV 180x140 มิลลิเมตร matrix size 180x132, NSA 2 และความหนาของสไลด์ 5 มิลลิเมตร ภาพที่ได้จากการสร้างภาพตามระนาบตัดขวางของหลอดเลือดแดงคาโรติดแข็งตัวจากแผ่นไขมันโดยเลือกกึ่งกลางของบริเวณที่มีการตีบตันมากที่สุด³²⁻³⁵ มาใช้วาดบริเวณที่สนใจ (region of interest, ROI) เพื่อสร้างภาพแผนที่ค่า T2

การสร้างภาพแผนที่ค่า T2

นำข้อมูลภาพตามระนาบตัดขวาง (axial plane) ของภาพทั้ง 8 TEs มาฟิตเคอร์ฟในรูปแบบ simple mono-exponential model ดั่งสมการที่ (1) เพื่อคำนวณหาค่า T2 ทุกๆ พิกเซลบนภาพ ภายในบริเวณที่สนใจบนภาพและแทนที่ค่า T2 ที่คำนวณได้ในภาพแผนที่ค่า T2

การวิเคราะห์เพื่อแยกชนิดเนื้อเยื่อด้วย histogram จากภาพแผนที่ค่า T2

นำภาพแผนที่ค่า T2 ของหุ่นจำลองที่ทราบชนิดเนื้อเยื่อทั้ง 4 ชนิดมาเลือกบริเวณที่สนใจ สร้าง histogram จากบริเวณที่เลือกเพื่อจำแนกชนิดเนื้อเยื่อจากค่า T2 ด้วยโปรแกรม GraphPad Prism4 จากรูปที่ 1A เนื้อเยื่อทั้ง 4 ชนิดมีสัดส่วนที่ใกล้เคียงกัน สัดส่วนของเนื้อเยื่อแต่ละชนิดสามารถประมาณได้ว่าเป็น 25 เปอร์เซ็นต์ของเนื้อเยื่อทั้งหมด (25% frequency fraction) ดังนั้นหากการแยกเนื้อเยื่อด้วยเทคนิคนี้สมบูรณ์ histogram ควรมีค่า T2 ในบริเวณที่เลือกเพียง 4 กลุ่ม โดยแต่ละกลุ่มมีค่า %frequency fraction ใกล้เคียงกันและไม่ควรมีค่า T2 ของเนื้อเยื่อชนิดไหนมี frequency fraction เกิน 25 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นในการแบ่งกลุ่มของข้อมูลจึงกำหนดให้ค่า 25 %frequency fraction เป็นค่าสูงสุดของข้อมูลบน histogram และพิจารณาว่าข้อมูลสามารถได้ถูกแบ่งเป็นกี่กลุ่ม

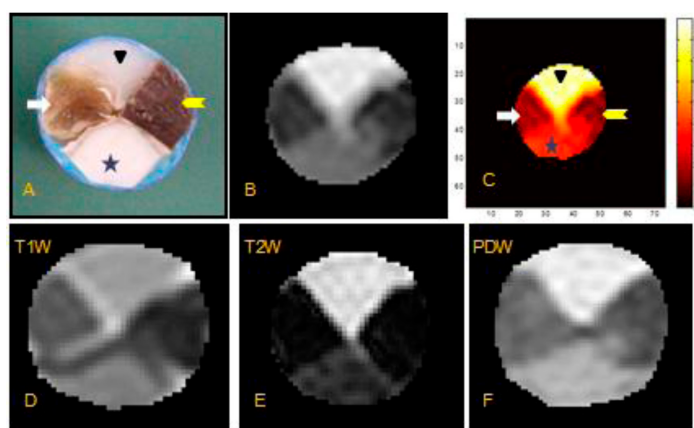


Figure 1 Cross sectional image of a tissue phantom (A) including fat (upper middle), cartilage (lower middle), clot blood (ribbon arrow), and red meat pork (white arrow) is compared with T2 mapping images displayed in gray scale (B) and color mapping (C), T1W (D), T2W (E), and PDW (F).

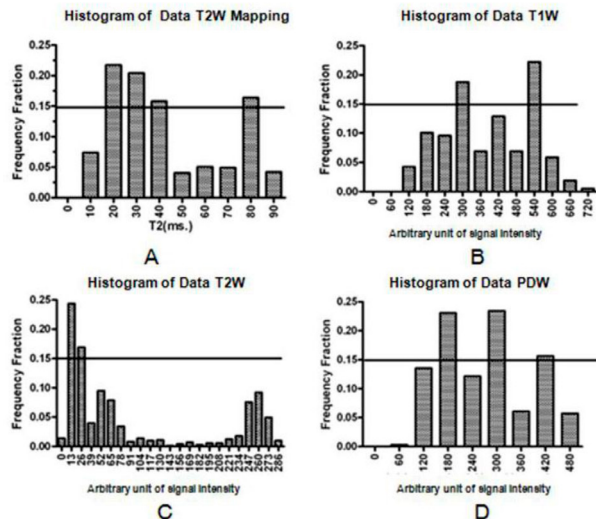


Figure 2 The phantom images from figure 1 were analyzed by histograms. T2 mapping (A) shows that 4 groups of data have frequency fraction over 60% of the maximum possible. T1W (B) and T2W (C) demonstrate that only 2 groups have frequency fraction over 60%, while the histogram of PDW (D) shows that 3 groups have frequency fraction over 60%.

ผลการศึกษา

ผลการศึกษาในหุ่นจำลอง

รูปที่ 1A เป็นภาพถ่ายภาคตัดขวางของหุ่นจำลองที่สร้างขึ้นจากเนื้อเยื่อ 4 ชนิด รูปที่ 1B และ 1C เป็นภาพแผนที่ค่า T2 ที่แสดงในแบบขาว-ดำและสี ตามลำดับ เปรียบเทียบกับรูปที่ 1D ถึง 1F เป็นภาพที่ได้จากเทคนิคการสร้างภาพทั่วไปที่เป็น intensity mapping โดยน้ำหนักของภาพเรียงตามลำดับดังนี้ T1 weighted (T1W), T2 weighted (T2W) และ proton density weighted (PDW) จากการสังเกตด้วยตา พบว่าความแตกต่างของความเข้มบนภาพจากภาพแผนที่ค่า T2 (รูปที่ 1B) ไม่ได้แยกความแตกต่างของเนื้อเยื่อทั้ง 4 ชนิด ได้มากกว่าภาพ T1W (รูปที่ 1D) และภาพ PDW (รูปที่ 1F) แต่เมื่อพิจารณาจากข้อมูลดิบของภาพด้วย histogram ดังรูปที่ 2 พบว่าภาพแผนที่ค่า T2 (รูปที่ 2A) สามารถแยกชนิดของเนื้อเยื่อตามค่า T2 ได้ 9 กลุ่ม แต่มี 4 กลุ่มที่มีสัดส่วนมากกว่า 60% ของปริมาณที่มากที่สุดที่เป็นไปได้ ในขณะที่ภาพ T1W, T2W และ PDW histogram แยกข้อมูลตามค่าความเข้มของ

สัญญาณภาพในแต่ละ pixel ออกได้เป็น 11 กลุ่ม 23 กลุ่ม และ 8 กลุ่ม ตามลำดับ โดยที่ข้อมูลภาพ T1W มีเพียง 2 กลุ่มเท่านั้นที่มีสัดส่วนมากกว่า 60% ของปริมาณที่มากที่สุดที่เป็นไปได้ ในทำนองเดียวกันข้อมูลภาพ T2W และ PDW มีเพียง 2 กลุ่ม และ 3 กลุ่ม ตามลำดับ ที่มีสัดส่วนมากกว่า 60% ของปริมาณที่มากที่สุดที่เป็นไปได้และเมื่อทำการวัดค่า T2 ของเนื้อเยื่อทั้ง 4 ชนิดได้ค่า T2 ในแต่ละบริเวณดังนี้ ไขมัน T2 = 80.3 ± 2.4 มิลลิวินาที เลือดมีค่า T2 = 21.3 ± 6.7 มิลลิวินาที กระดูกอ่อนมีค่า T2 = 37.9 ± 1.4 มิลลิวินาที และเนื้อที่ไม่มีไขมันมีค่า T2 = 18.6 ± 2.1 มิลลิวินาที ซึ่งสอดคล้องกับ histogram ทั้ง 4 กลุ่มที่มีสัดส่วนมากกว่า 60% ของปริมาณที่มากที่สุดที่เป็นไปได้

รูปที่ 3 แสดงตัวอย่างภาพชั้นเนื้อจากตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ (รูปที่ 3A) เทียบกับภาพแผนที่ค่า T2 ที่แสดงในแบบขาว-ดำ (รูปที่ 3B) และแบบสี (รูปที่ 3C) ตามลำดับ และภาพ T1W (รูปที่ 3D), T2W (รูปที่ 3E) และ PDW (รูปที่ 3F) เนื่องจาก

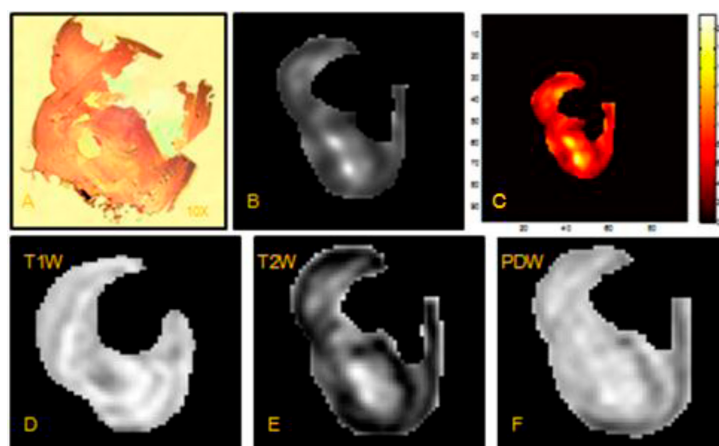


Figure 3 An example of histology image of carotid plaque specimen (A). MR images acquired at identical location but different data acquisition techniques, T2 mapping (B and C), T1W (D) T2W (E), and PDW (F).

ภาพชั้นเนื้อมืดตำแหน่งไม่ตรงกับภาพที่ได้จากภาพเอ็มอาร์อีก ทั้งผลชั้นเนื้อไม่สามารถระบุชนิดและสัดส่วนที่แน่นอนของ เนื้อเยื่อได้จึงไม่สามารถใช้ histogram ช่วยในการวิเคราะห์เพื่อ ตรวจสอบความถูกต้องได้

ผลการศึกษาในอาสาสมัคร

ทำนองเดียวกับผลจากตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ เนื่องจาก ตำแหน่งของชั้นเนื้อที่ตัดเพื่อการตรวจทางพยาธิไม่ตรงกับ ตำแหน่งของภาพเอ็มอาร์ที่ได้ อีกทั้งผลพยาธิไม่สามารถระบุ ชนิดและปริมาณของเนื้อเยื่อแต่ละชนิดได้จึงไม่สามารถตรวจสอบความถูกต้องของเทคนิคจากภาพเอ็มอาร์ด้วยการ วิเคราะห์จาก histogram ได้ เหมือนในหุ่นจำลองที่สร้างขึ้นซึ่ง ทราบชนิดและปริมาณของเนื้อเยื่อ อย่างไรก็ตาม จากผลของ การศึกษาภาพแผนที่ค่า T2 ดังแสดงในรูปที่ 4A และ 4B ใน อาสาสมัครที่เป็นโรคหลอดเลือดแดงคาโรติดแข็งตัวจากแผ่น ไขมัน พบว่าภาพแผนที่ค่า T2 แยกความแตกต่างของค่า T2 ภายในได้โดยแสดงค่า T2 ที่มากและน้อยตามความเข้มหรือ สีที่แสดงบนภาพ แต่ภาพ T1W (รูปที่ 4C) ไม่สามารถแยก ความแตกต่างภายในบริเวณแผ่นไขมันได้เลย ในขณะที่ภาพ T2W (รูปที่ 4D) และภาพ PDW (รูปที่ 4E) สามารถสังเกตเห็น ความเข้มของสัญญาณที่แตกต่างภายในแผ่นไขมันได้แต่ การระบุว่าแต่ละตำแหน่งเป็นเนื้อเยื่อชนิดไหนจากภาพ เอ็มอาร์ดังกล่าวต้องอาศัยรังสีแพทย์ผู้มีประสบการณ์และความเชี่ยวชาญเฉพาะ

วิจารณ์ผล

การศึกษาเพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบภายในแผ่นไขมัน ด้วยภาพเอ็มอาร์โดยทั่วไปต้องใช้เครื่องตรวจคลื่นแม่เหล็ก ไฟฟ้าที่มีความแรงของสนามแม่เหล็กสูงระดับ 3 เทสลา ขึ้น ไป^{24,37} เพื่อให้การสร้างภาพมีรายละเอียดและความคมชัดสูง สามารถแยกความแตกต่างของเนื้อเยื่อที่มีความแตกต่างกัน เพียงเล็กน้อยได้ชัดเจน นอกจากนี้ แล้วการตัดสินใจ องค์ประกอบภายในแผ่นไขมันประกอบด้วยเนื้อเยื่อชนิดใด บ้างเพื่อการแยกชนิดแผ่นไขมันนั้นต้องอาศัยภาพเอ็มอาร์ อย่างน้อย 3 ภาพน้ำหนัก (3 weighted images) ซึ่งประกอบด้วย ภาพ T1W, T2W และ PDW และจำเป็นต้องได้รับการ แปลผลโดยรังสีแพทย์ผู้มีความชำนาญ^{20,21,27,37} การศึกษานี้ เป็นการศึกษานำร่องเพื่อศึกษาความเป็นได้ในการใช้เครื่อง ตรวจคลื่น แม่เหล็กไฟฟ้า 1.5 เทสลา ซึ่งเป็นเครื่องมาตรฐาน ที่ใช้ในการตรวจทางคลินิกทั่วไปในการแยกองค์ประกอบ ภายในแผ่นไขมัน โดยใช้เทคนิคการสร้างภาพแผนที่ค่า T2 แทนทุกๆ ตำแหน่งบนภาพของแผ่นไขมัน เนื่องจากค่า T2 เป็นค่าที่แสดงถึงคุณสมบัติ spin-spin interaction ของเนื้อเยื่อ แต่ละชนิดและโดยทั่วไปเนื้อเยื่อที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่และ มีการเคลื่อนไหวน้อยจะมีค่า T2 ที่สั้นเมื่อเปรียบเทียบกับ เนื้อเยื่อที่มีโมเลกุลขนาดเล็กและมีการเคลื่อนไหวมากกว่า จากผลการศึกษาในหุ่นจำลองที่ทราบชนิดของเนื้อเยื่อทั้ง 4 ชนิด จากหุ้ พบว่าภาพแผนที่ค่า T2 สามารถแยกองค์ ประกอบของเนื้อเยื่อด้วยค่า T2 ที่แตกต่างกันดังนี้ ไขมัน T2 = 80.3 ± 2.4 มิลลิวินาที เลือดที่แข็งตัว T2 = 21.3 ± 6.7 มิลลิวินาที กระดูกอ่อนมีค่า T2 = 37.9 ± 1.4 มิลลิวินาที และ เนื้อที่ไม่ใช่ไขมันมีค่า T2 = 18.6 ± 2.1 มิลลิวินาที ค่า T2 ที่ได้ จากหุ่นจำลองไม่สอดคล้องกับค่า T2 ที่ควรเป็นเนื่องจากค่า T2 ของไขมันและกระดูกอ่อนซึ่งเป็นโมเลกุลขนาดกลางและ ขนาดใหญ่ ควรมีค่า T2 ที่ค่อนข้างสั้น แต่หุ่นจำลองที่สร้างขึ้น

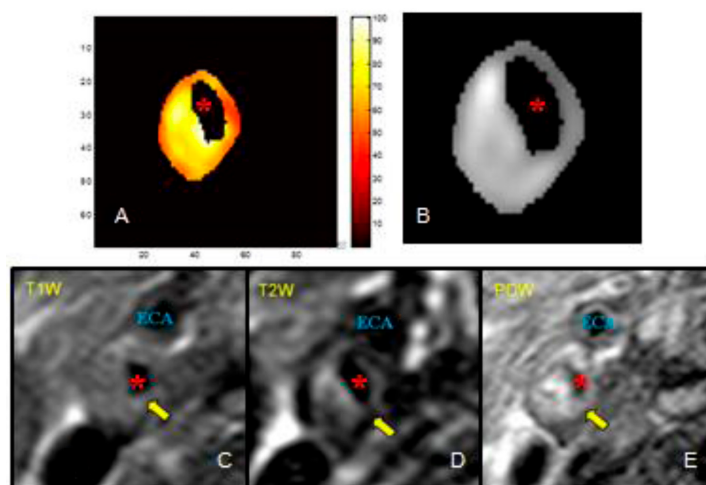


Figure 4 Example of carotid plaque imaging of a volunteer diagnosed with carotid plaque stenosis. T2 mapping (A) and (B) show differences of T2s inside the plaque by color and gray scale mapping. Different intensity inside the plaque from T1W (C) is hardly noticed. T2W (D) and PDW (E) show different intensity inside the plaque but tissue characterization requires a combination of all weighted images. Arrows indicate ICA plaque. Asterisks indicate the luminal of ICA. Annotation (ICA) Internal carotid artery, (ECA) External carotid artery, (T1W) T1 weighted image, (T2W) T2 weighted image, (PDW) Proton density weighted image

มีช่องว่างระหว่างเนื้อเยื่อ ทำให้น้ำจากภายนอกแทรกเข้าไประหว่างเนื้อเยื่อและทำให้ค่าเฉลี่ย T2 ทั้งบริเวณสูงขึ้น ในขณะที่ภาพ 3 น้ำหนัก (T1W, T2W และ PDW) แต่ละตำแหน่งบนภาพแยกกันด้วยความเข้มของสัญญาณที่มาจากต่าง pulse sequences การตัดสินใจแต่ละตำแหน่งเป็น เนื้อเยื่อชนิดไหน ต้องอาศัยข้อมูลจากภาพทั้ง 3 น้ำหนักประกอบกัน ไม่สามารถแยกชนิดเนื้อเยื่อได้จากภาพเพียง ภาพเดียวและหากภาพใดภาพหนึ่งมีความบกพร่องอาจทำให้การแยกชนิดของเนื้อเยื่อทำได้ยาก การศึกษาในหุ่นจำลองที่สร้างจากตัวอย่างสิ่งส่งตรวจพบว่าแผนที่ภาพ T2 (รูปที่ 3B-C) แยกเนื้อเยื่อออกเป็นชนิดต่างๆ สอดคล้องกับภาพจาก 3 น้ำหนัก (รูปที่ 3D-F) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับภาพถ่ายชิ้นเนื้อ (รูปที่ 3A) พบว่าตำแหน่งของภาพภาพถ่ายชิ้นเนื้อยังไม่ตรงกับตำแหน่งที่ได้จากภาพเอ็มอาร์ อีกทั้งผลทางพยาธิของชิ้นเนื้อไม่สามารถระบุชนิดและปริมาณของชิ้นเนื้อแต่ละชนิดได้จึงทำให้การวิเคราะห์ด้วย histogram ไม่สามารถทำได้ ทำนองเดียวกันสำหรับภาพแผนที่ T2 บริเวณตีบตันในหลอดเลือดแดงคาโรติดในผู้ป่วยสามารถแยกความแตกต่างชนิดของเนื้อเยื่อภายในแผ่นไขมัน โดยไม่มีผลทางพยาธิวิทยายืนยันความถูกต้อง ดังนั้นข้อจำกัดในการศึกษาครั้งนี้คือ ผลทางพยาธิที่ใช้เพื่อยืนยันความถูกต้องยังไม่มี อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาในหุ่นจำลองที่สร้างขึ้นจากเนื้อเยื่อ 4 ชนิด พบว่า แผนที่ภาพ T2 จากเครื่องตรวจคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า 1.5 เทสลา มีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้ในการจำแนกองค์ประกอบภายในแผ่นไขมัน

เนื่องจากไม่มีข้อมูลค่า T2 ของเนื้อเยื่อจากหมู การเลือกช่วงของค่า TE ที่ใช้ในการเก็บข้อมูลจึงประมาณโดยใช้ TE แรก ที่สั้นที่สุดที่เป็นไปได้ และค่า TE สูงสุด ครอบคลุมช่วงค่า T2 สูงสุดของเนื้อเยื่อที่เป็นส่วนประกอบของแผ่นไขมันชนิดอ่อนในการศึกษาที่ผ่านมา^{28,29} และในการปฏิบัติกับผู้ป่วยจริง เพื่อให้การสร้างภาพแผนที่ค่า T2 สามารถเปรียบเทียบค่า T2 กับกลุ่มเนื้อเยื่อต่างๆ ได้อาจมีหุ่นจำลองขนาดเล็ก ที่มีหลายองค์ประกอบ เช่น ไขมัน น้ำ และส่วนประกอบที่แทนแคลเซียม ทำการตรวจไปพร้อมกับผู้ป่วยเพื่อนำค่า T2 ที่อ่านได้จากหุ่นจำลองไปเปรียบเทียบกับค่า T2 บนแผนที่ภาพ T2 เพื่อจำแนกชนิดเนื้อเยื่อจากแผ่นไขมันในผู้ป่วย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินงบประมาณรายได้ประจำปี 2553 ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ คณะผู้วิจัยขอขอบคุณอาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการวิจัยครั้งนี้ เจ้าหน้าที่ภาควิทยาศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในการช่วยอำนวยความสะดวกให้คำแนะนำแก่อาสาสมัครเพื่อเข้าร่วมโครงการวิจัยและท้ายที่สุดต้องขอขอบคุณคณาจารย์ ภาควิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ทุกท่าน ผู้ซึ่งกรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ คำปรึกษา และให้ความช่วยเหลือในหลายสิ่งหลายอย่าง ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Randall, A., The Origin and Growth of Renal Calculi. Ann Surg, 1937; 105(6): 1009-27.
2. Rudd, J.H., J.R. Davies, and P.L. Weissberg, Imaging of atherosclerosis -- can we predict plaque rupture? Trends Cardiovasc Med, 2005; 15(1): 17-24.
3. Shah, P.K., Mechanisms of plaque vulnerability and rupture. J Am Coll Cardiol, 2003. 41(4 Suppl S): 15S-22S.
4. Virmani, R., et al., Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture: angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005; 25(10): 2054-61.
5. Bauer, R.W., et al., Noncalcified atherosclerotic plaque burden at coronary CT angiography: a better predictor of ischemia at stress myocardial perfusion imaging than calcium score and stenosis severity. AJR Am J Roentgenol, 2009; 193(2): 410-8.
6. Redgrave, J.N., J.K. Lovett, and P.M. Rothwell, Histological features of symptomatic carotid plaques in relation to age and smoking: the oxford plaque study. Stroke; a journal of cerebral circulation, 2010; 41(10): 2288-94.
7. Altaf, N., et al., Plaque hemorrhage is a marker of thromboembolic activity in patients with symptomatic carotid disease. Radiology, 2011; 258(2): 538-45.
8. Furlan, A.J., J.P. Whisnant, and T.P. Kearns, Unilateral visual loss in bright light. An unusual symptom of carotid artery occlusive disease. Arch Neurol, 1979; 36(11): 675-6.
9. Homburg, P.J., et al., Atherosclerotic plaque ulceration in the symptomatic internal carotid artery is associated with nonlacunar ischemic stroke. Stroke; a journal of cerebral circulation, 2010; 41(6): 1151-6.
10. Kunte, H., et al., Differences in carotid plaque content of macrophages, T cells and MMP-9 between patients with embolic and hemodynamic cerebral ischemia due to symptomatic carotid stenosis. Atherosclerosis, 2010; 211(2): 456-60.
11. Persoon, S., L.J. Kappelle, and C.J. Klijn, Limb-shaking transient ischaemic attacks in patients with internal carotid artery occlusion: a case-control study. Brain : a journal of neurology, 2010; 133(Pt 3): 915-22.

12. van Leuven, S.I., et al., Mycophenolate mofetil attenuates plaque inflammation in patients with symptomatic carotid artery stenosis. *Atherosclerosis*, 2010; 211(1): 231-6.
13. Jan, G.K., S. Patrick, and L.M.V. Bortel., Identifying the vulnerable plaque: A review of invasive and non-invasive imaging modalities. *J.artres*, 2008; 2(1): 21-34.
14. Parmar, J.P., et al., Magnetic resonance imaging of carotid atherosclerotic plaque in clinically suspected acute transient ischemic attack and acute ischemic stroke. *Circulation*, 2010; 122(20): 2031-8.
15. ten Kate, G.L., et al., Noninvasive imaging of the vulnerable atherosclerotic plaque. *Current problems in cardiology*, 2010; 35(11): 556-91.
16. Wintermark, M., et al., High-resolution CT imaging of carotid artery atherosclerotic plaques. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2008; 29(5): 875-82.
17. Esposito, L., et al., MRI plaque imaging reveals high-risk carotid plaques especially in diabetic patients irrespective of the degree of stenosis. *BMC medical imaging*, 2010; 10: 27.
18. Esposito, L., et al., Detection of unstable carotid artery stenosis using MRI. *J Neurol*, 2007; 254(12): 1714-22.
19. Gortler, M., et al., Tissue characterisation of atherosclerotic carotid plaques by MRI. *Neuroradiology*, 1995; 37(8): 631-5.
20. Saam, T., et al., The vulnerable, or high-risk, atherosclerotic plaque: noninvasive MR imaging for characterization and assessment. *Radiology*, 2007; 244(1): 64-77.
21. Yoshida, K., et al., Characterization of carotid atherosclerosis and detection of soft plaque with use of black-blood MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2008; 29(5): 868-74.
22. Zhao, X., Z.E. Miller, and C. Yuan, Atherosclerotic plaque imaging by carotid MRI. *Curr Cardiol Rep*, 2009; 11(1): 70-7.
23. Maynor, C.H., et al., Chemical shift imaging of atherosclerosis at 7.0 Tesla. *Invest Radiol*, 1989; 24(1): 52-60.
24. Toussaint, J.F., et al., T2-weighted contrast for NMR characterization of human atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995; 15(10): 1533-42.
25. Yuan, C., T. Hatsukami, and K. Beach, In vivo MR evaluation of atherosclerosis in human carotid artery using phased array coils. *J Vasc Invest*, 1996; 7: 46-47.
26. Tartari, S., et al., High-resolution MRI of carotid plaque with a neurovascular coil and contrast-enhanced MR angiography: one-stop shopping for the comprehensive assessment of carotid atherosclerosis. *AJR. American journal of roentgenology*, 2011; 196(5): 1164-71.
27. Yuan, C., et al., In vivo accuracy of multispectral magnetic resonance imaging for identifying lipid-rich necrotic cores and intraplaque hemorrhage in advanced human carotid plaques. *Circulation*, 2001; 104(17): 2051-6.
28. Toussaint, J.F., et al., Magnetic resonance images lipid, fibrous, calcified, hemorrhagic, and thrombotic components of human atherosclerosis in vivo. *Circulation*, 1996; 94(5): 932-8.
29. Rogers, W.J., et al., Characterization of signal properties in atherosclerotic plaque components by intravascular MRI. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 2000; 20(7): 1824-30.
30. Gulcan, H.G., et al., Lipids of human retina, retinal pigment epithelium, and Bruch's membrane/choroid: comparison of macular and peripheral regions. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1993; 34(11): 3187-93.
31. Kierszenbaum, A.L., *Histology and cell biology an introduction to pathology*. 2002.
32. Osborn, A., *Diagnostic cerebral angiography: Atherosclerosis and carotid stenosis*. Second ed, Philadelphia, Lippincott William & Wilkins 1999; 359.
33. Anzalone, N., et al., Carotid artery stenosis: intraindividual correlations of 3D time-of-flight MR angiography, contrast-enhanced MR angiography, conventional DSA, and rotational angiography for detection and grading. *Radiology*, 2005; 236(1): 204-13.
34. Nederkoorn, P.J., et al., Carotid artery stenosis: accuracy of contrast-enhanced MR angiography for diagnosis. *Radiology*, 2003; 228(3): 677-82.
35. Randoux, B., et al., Carotid artery stenosis: prospective comparison of CT, three-dimensional gadolinium-enhanced MR, and conventional angiography. *Radiology*, 2001. 220(1): 179-85.
36. Balu, N., et al., Improvements in carotid plaque imaging using a new eight-element phased array coil at 3T. *J Magn Reson Imaging*, 2009; 30(5): 1209-14.
37. Yuan, C., et al., MRI of carotid atherosclerosis. *J Nucl Cardiol*, 2008; 15(2): 266-75.

ผลของสารสกัดหยาบเอทานอลจากผลของ ราชดัด (*Brucea amarissima*) ต่อความเป็นพิษต่อเซลล์ และการแสดงออกของโปรตีนวิลส์ทูเมอร์วัน ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562

Effect of crude ethanolic extract of Ratchadat (*Brucea amarissima*) fruit on cell cytotoxicity and Wilms' tumor 1 protein expression in K562 leukemic cell line

■ สุวรรณา เสมศรี นวลจันทร์ แก้วอุดร นันทภรณ์ ใจักดี
Suwanna Semsri Nuanchun Kaewoudorn Nuntaporn Jaipukdee
นภาพร ชรชาญ ณัฐรีณี หอระตะ
Naphaorn Chorachan Natharinee Horata

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสมุทรปราการ 10540

*ผู้รับผิดชอบบทความ (E-mail: ssemsri@gmail.com)

Received December 2013

Accepted as revised January 2014

Abstract

Introduction: Leukemia is a hematologic cancer. It is characterized by the uncontrolled production of blood cells. It has been shown that leukemic cells overexpressed WT1 gene level compared to normal blood cells. Ratchadat (*Brucea amarissima*) is a herb that its fruits have been used in traditional Chinese medicine to treat malaria, amoebiasis as well as cancers.

Objective: The purpose of this study is to investigate the cytotoxicity effect of crude ethanolic Ratchadat fruit extract on K562 cells and the effect of non-cytotoxic dose on Wilms'tumor 1 (WT1) protein expression.

Materials and methods: The cytotoxicity of crude ethanolic Ratchadat fruit extract on K562 cells was determined by MTT assay. The WT1 protein levels were examined by Western blot analysis.

Results: The crude ethanolic Ratchadat fruit extract showed cytotoxic effect on K562 cells with the inhibitory concentration at 50% growth (IC_{50}) value of $1.6 \pm 0.18 \mu\text{g/mL}$ but did not affect PBMCs. Non-cytotoxic dose (IC_{20}) value ($0.6 \pm 0.03 \mu\text{g/mL}$) of crude extract decreased WT1 protein levels at the various time periods of 24, 48, and 72 hours by 16, 38, and 43%, respectively. In addition, at 48 hours of incubation with various doses (0.4, 0.6, and $0.8 \mu\text{g/mL}$) could reduce WT1 protein levels by 12, 37, and 45%, respectively.

Conclusions: The crude ethanolic extract of Ratchadat fruit could induce cell cytotoxicity and reduce WT1 protein expression in a dose- and time-dependent manner. However, it did not affect PBMCs. It also exhibited strong anti-cancer properties higher than vincristine (chemotherapeutic drug) for 16.5 fold.

Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2014; 47(1): 45-52

Keywords: cytotoxicity, MTT assay, WT1 protein, *Brucea amarissima*, K562 cell line

บทคัดย่อ

บทนำ: มะเร็งเม็ดเลือดขาว เป็นโรคมะเร็งทางโลหิตวิทยาซึ่งเกิดจากการสร้างเซลล์เม็ดเลือดที่ไม่สามารถควบคุมได้ และพบว่าเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวมีการแสดงออกของโปรตีนนิวโรโมเออร์วัน เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับเซลล์เม็ดเลือดปกติ ราชดัด (*Brucea amarissima*) เป็นสมุนไพรและมีรายงานการใช้ผลของราชดัดในการแพทย์แผนจีนโบราณสำหรับรักษามะเร็ง บิด และ มะเร็ง

วัตถุประสงค์: งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากผลราชดัดด้วยเอทานอลต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเพาเซลล์ชนิด K562 และผลของความเข้มข้นของสารที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ต่อการแสดงออกของโปรตีนนิวโรโมเออร์วัน

วัสดุและวิธีการ: ศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากผลราชดัดที่สกัดด้วยเอทานอลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว K562 โดยวิธี MTT และศึกษาการแสดงออกของโปรตีนนิวโรโมเออร์วันด้วยวิธี Western blot

ผลการศึกษา: สารสกัดหยาบจากผลราชดัดที่สกัดด้วยเอทานอลที่ระดับความเข้มข้น 1.6 ± 0.18 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร สามารถทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาเซลล์ชนิด K562 ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) แต่ไม่มีผลต่อ PBMCs และระดับความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ (IC_{20}) ของสารสกัดหยาบ (0.6 ± 0.03 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร) สามารถลดระดับการแสดงออกของโปรตีนนิวโรโมเออร์วันในช่วงเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ได้ร้อยละ 16, 38 และ 43 ตามลำดับ นอกจากนี้ผลของความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ระดับ 0.4, 0.6 และ 0.8 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร ที่ 48 ชั่วโมง สามารถลดระดับการแสดงออกของโปรตีนนิวโรโมเออร์วันได้ร้อยละ 12, 37 และ 45 ตามลำดับ

สรุปผลการศึกษา: สารสกัดหยาบจากผลราชดัดที่สกัดด้วยเอทานอลเหนี่ยวนำให้เกิดพิษต่อเซลล์และลดการแสดงออกของโปรตีนนิวโรโมเออร์วันเป็นไปตามความเข้มข้น และระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามการศึกษายังพบว่าสารสกัดหยาบไม่มีพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวนิวเคลียสเดี่ยวจากคนปกติ และยังมีฤทธิ์ต้านมะเร็งดีกว่ายาวินคริสติน (ยาต้านมะเร็ง) เป็น 16.5 เท่า วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2557; 47(1): 45-52

คำรหัส: ความเป็นพิษต่อเซลล์ วิธีเอ็มทีที โปรตีนนิวโรโมเออร์วัน ราชดัด เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาเซลล์ชนิด K562

บทนำ

ราชดัดเป็นพืชสมุนไพรวงศ์เดียวกับสีพันคนทาและประดาดใหญ่ พบในป่าโปร่งทุกภาคของประเทศไทย โดยมีชื่ออื่นที่ใช้เรียกแตกต่างกันไปในแต่ละภาค เช่น ทางภาคใต้เรียกว่า กะดัดหรือจะดัด ภาคกลางเรียกว่า ดีคน ตราดเรียกว่าพญาดาบหัก เชียงใหม่เรียกว่า กาจับหลัก หรือมะดีควาย มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Brucea amarissima* (Lour.) Merr อยู่ในวงศ์ Simaroubaceae มีลักษณะเป็นไม้พุ่มใหญ่สูงประมาณ 2-3 เมตร ทรงพุ่มโปร่ง ใบประกอบแบบขนนก มีก้านใบยาว เรียงสลับอยู่ห่างๆ ใบย่อยแต่ละใบเป็นรูปไข่แกมรูปใบหอก หรือรูปรี ปลายแหลม ขอบจัก มีขนนุ่มๆ ทั้ง 2 ด้านดอกเล็กๆ สีน้ำตาลแกมแดง ออกดอกเป็นช่อยาวที่ซอกใบ ผลรูปไข่ปลายแหลมขนาดเล็ก เมื่อแห้งมีสีน้ำตาลเข้มเกือบดำ ผิวย่นคล้ายเมล็ดมะละกอแห้ง (รูปที่ 1) ปัจจุบันมีการปลูกตามสวนสมุนไพรเกือบทุกแห่ง เนื่องจากผลราชดัดสามารถนำมาใช้เป็นยารักษาโรคบิด แก้อท้องเสีย และแก้ไข้ได้ดี นอกจากนี้ส่วนใบยังใช้ถอนพิษสัตว์กัดต่อยด้วย ในปัจจุบันมีการสนับสนุนการค้นคว้าตัวยาจากสารสกัดสมุนไพรหรือพืชผักพื้นบ้าน เพื่อมาทำการรักษามะเร็งมากขึ้น¹ จากการศึกษาที่ผ่านมาการรายงานเกี่ยวกับ

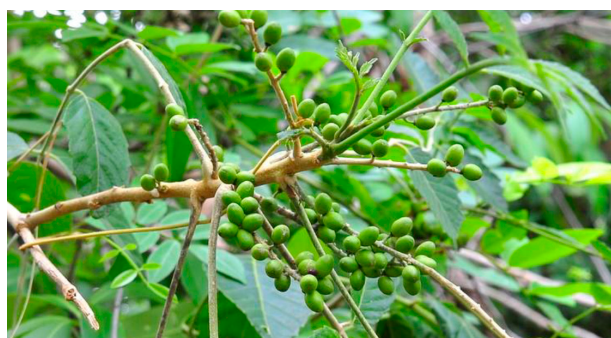


Figure 1 *Brucea amarissima*²⁵

กับสารสกัดจากราชดัดที่มีฤทธิ์ในการรักษามะเร็ง เช่น สารออกฤทธิ์ brusatol ซึ่งเป็นสารที่สกัดได้จากผลของราชดัด สามารถส่งเสริมการพัฒนาการของเซลล์ (cell differentiation) ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาเซลล์ชนิด HL60 ให้กลายเป็นตัวแก่โดยกระตุ้นการทำงานของโปรตีน NF- κ B ทำให้เกิดการเคลื่อนย้ายของ NF- κ B เข้าไปในนิวเคลียสแล้วส่งเสริมให้เกิดการพัฒนาการของเซลล์² นอกจากนี้ ยังมีการรายงานว่าสาร flavone และ chrysoeriol ที่สกัดมาจากส่วนใบและก้านของราชดัด สามารถทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาเซลล์ชนิด HL-60 และมีบทบาทในการเพิ่มระดับของ reactive oxygen

species (ROS) ซึ่งช่วยเสริมฤทธิ์ยาเคมีบำบัดในการรักษา มะเร็งเม็ดเลือดขาวเรื้อรังชนิด CLL3 ต่อมาได้มีรายงานว่าสาร quassinoids จากผลราชตัดสามารถยับยั้งโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocytic leukemia ในหลอดทดลองได้⁴ อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ของผลราชตัดใน ลักษณะของการยับยั้งการเจริญเติบโตเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเรื้อรังชนิด CML รวมทั้งการศึกษาการยับยั้งในโปรตีนเป้าหมายที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็ง ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจ อย่างยิ่งที่จะศึกษาในมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดดังกล่าว รวมถึงการศึกษาในระดับอนุชีวโมเลกุล ในการยับยั้ง การแสดงออกของโปรตีน วิลมทูเมอร์วัน ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นใน ผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวและใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในตรวจและติดตามการรักษาในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาว⁵

ยีนวิลมทูเมอร์วัน (*Wilms' tumor 1 gene* หรือ *WT1 gene*) เป็นยีนที่กำหนดการสร้างโปรตีนวิลมทูเมอร์วัน ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการเจริญเติบโตและพัฒนาการของเซลล์ชนิดต่างๆ เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ปกติซึ่งมีการแสดงออกในระดับน้อยๆ^{6,7} โดยพบว่ามะเร็งเม็ดเลือดขาว เป็นมะเร็งเม็ดเลือดที่มีการแสดงออกของยีนวิลมทูเมอร์วัน⁸ เพิ่มขึ้นในเซลล์เม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเกือบทุกชนิด⁷ นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่าระดับการแสดงออกของยีนวิลมทูเมอร์วันใน CD34+ leukemic cells มีค่าที่สูงกว่าระดับการแสดงออกใน CD34+ normal cells อย่างน้อยประมาณ 10 เท่า⁹ สามารถตรวจพบระดับการแสดงออกของยีนวิลมทูเมอร์วันในเซลล์เม็ดเลือดขาวตัวอ่อนทั้งในกระแสเลือดและไขกระดูกในระดับที่ต่ำมากและมีระดับลดลงเรื่อยๆ เมื่อเซลล์เกิดกระบวนการพัฒนาของเซลล์ ไปเป็นเซลล์เม็ดเลือดตัวเต็มวัย^{10,11} อย่างไรก็ตาม โปรตีนวิลมทูเมอร์วันจะมีการแสดง ออกเพิ่มขึ้นในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาว^{5,12} โดยพบว่าโปรตีน วิลมทูเมอร์วันมีส่วนเกี่ยวข้องกับการแสดงออกของยีนที่ทำหน้าที่ในกระบวนการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ (cell proliferation) การพัฒนาของเซลล์และกระบวนการตายแบบอะพอพโทซิส (cell apoptosis) ของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว^{13,14} นอกจากนี้ยังพบว่าระดับการแสดงออกของยีนวิลมทูเมอร์วันยังเพิ่มขึ้นในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวกลุ่มที่กลับมาเป็นโรครีแอส (relapse case) จากการรายงานนี้แสดงให้เห็นว่าการแสดงออกของยีนวิลมทูเมอร์วันมีความสำคัญต่อการเกิดโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว ดังนั้นการแสดงออกของยีนวิลมทูเมอร์วันจึงถูกนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพในการตรวจสอบการดำเนินของโรคได้ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบผลราชตัดที่สกัดด้วยเอทานอลต่อความเป็นพิษต่อการยับยั้งการแสดงออกของโปรตีนวิลมทูเมอร์วันในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 โดยวิธี Western blot

วัสดุและวิธีการ

1. การเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562

เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 (human chronic myeloid leukemia) ได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร.นายสุรีย์ ศุภวิไล (สถานบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่) เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด RPMI 1640 (GIBCO BRL, Paisley, UK) ที่มีส่วนผสมของ HEPES ความเข้มข้น 10 mM, L-glutamine ความเข้มข้น 1 mM, penicillin ความเข้มข้น 100 U/mL, streptomycin ความเข้มข้น 100 µg/mL และ fetal bovine serum (FBS) ร้อยละ 10 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีคาร์บอนไดออกไซด์ ร้อยละ 5 และมีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 80

2. การเตรียมเม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดี่ยว (peripheral blood mononuclear cells; PBMCs)

เจาะเลือดอาสาสมัครสุขภาพดีจากเส้นเลือดดำปริมาตร 8 mL ใส่ลงในหลอดแยกเซลล์ PBMCs สำเร็จรูป (BD vacutainer CPT) ปั่นแยกเซลล์ด้วยความเร็ว 1,800xg เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นดูดเก็บเซลล์ PBMCs แล้วปั่นล้างด้วย sterile PBS จำนวน 3 ครั้งๆ ละ 10 นาที ที่ความเร็ว 300xg หลังจากนั้นเก็บเซลล์เพื่อทำการทดสอบต่อไป

3. สารสกัดหยาบจากผลราชตัดที่สกัดด้วยเอทานอลที่ใช้ในการทดสอบ

สารสกัดหยาบจากผลราชตัดที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกียรติทวี ขวุงศ์โกมล ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากผลราชตัดต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดี่ยว (PBMCs)

ศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากผลราชตัดต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 โดยวิธี MTT [3-(4,5 dimethylthiazol-2-yl)-5 diphenyltetrazolium bromide] โดยใช้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 เริ่มต้นเท่ากับ 1×10^5 cells/mL สำหรับเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดี่ยว ใช้เซลล์ความเข้มข้นเท่ากับ 2.5×10^6 cells/mL เพาะเลี้ยงใน 96-well tissue culture plate ที่มีอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด RPMI 1640 ที่มี 10% FBS ปริมาตร 100 µL ต่อหลุม บ่มในตูบ 37 องศาเซลเซียส คาร์บอนไดออกไซด์ ร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาเติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีส่วนผสมของสารสกัดหยาบจากผลราชตัดที่ความเข้มข้น ตั้งแต่ 0 ถึง 50 µg/mL โดยในชุดควบคุม (vehicle control; VC) เติมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีเฉพาะ dimethyl sulfoxide (DMSO) ความเข้มข้นสุดท้ายเป็นร้อยละ 0.2 เลี้ยงเซลล์นาน 48 ชั่วโมง

เมื่อครบเวลาเติมสารละลาย MTT ความเข้มข้น 5 mg/mL ปริมาตร 20 μ L แล้วบ่มต่ออีก 4 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาเทส่วนใสทิ้งเติม DMSO เพื่อละลายผลึกฟอมาซาน (formazan) ที่เกิดขึ้น วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 และ 620 nm โดยในแต่ละความเข้มข้นทำซ้ำ 3 หลุม และแต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน การคำนวณร้อยละของการมีชีวิตของเซลล์ (%cell viability) โดยเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงในหลุมควบคุม ดังสมการ

ร้อยละการมีชีวิตของเซลล์ (%cell viability) = (ค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดสอบ / ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม) X 100

5. การศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากผลราชดัดที่สกัดด้วยเอทานอลต่อการยับยั้งการแสดงออกของโปรตีน วิธัมพูเมอร์วันในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 ด้วยวิธี Western blot

ใช้เซลล์ 2.0×10^5 cells/mL กลุ่มทดสอบเติมสารสกัดหยาบจากผลราชดัดด้วยเอทานอลในความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ (IC_{20}) ในขณะที่กลุ่มควบคุมเติมเฉพาะ DMSO ที่ความเข้มข้นร้อยละเท่ากับความเข้มข้นของ DMSO ที่ใช้ในกลุ่มทดสอบ โดยในการทดลองครั้งนี้มีร้อยละของ DMSO สูงสุดเท่ากับ 0.0032 นำเซลล์ K562 ที่ผ่านการทดสอบมาทำการสกัดโปรตีนรวมด้วยน้ำยา RIPA และหาปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ด้วยวิธี Folin-Lowry หลังจากนั้นจึงนำโปรตีนที่สกัดได้จากการทดลองปริมาณ 50 μ g มาแยกโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE และตรวจสอบการแสดงออกของโปรตีนวิธัมพูเมอร์วันโดยวิธี Western blot โดยใช้ rabbit polyclonal anti-WT1 antibody (Santa Cruz Biotechnology, california, USA) และ goat anti-rabbit IgG HRP conjugate (Promega, Madison, USA) ตามลำดับและใช้ rabbit polyclonal anti-GAPDH

antibody (Santa Cruz Biotechnology California, USA) และ goat anti-rabbit IgG HRP conjugate (Promega, Madison, USA) ตามลำดับ เป็นโปรตีนควบคุมปริมาณ (internal control) ตรวจสอบผลโดยใช้ SuperSignal West Pico Trial Kit (PIERCE, Rockford, IL USA) วัดความเข้มของแถบโปรตีนที่ได้โดยใช้เครื่อง scan densitometer จากการทดลองนี้จะได้แถบของโปรตีนวิธัมพูเมอร์วันและ GAPDH ที่มีขนาดเท่ากับ 48-54 kDa และ 37 kDa ตามลำดับ

การวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการทดลองแสดงในรูปของ mean $\pm$ sem ระดับการแสดงผลออกโปรตีนวิธัมพูเมอร์วันทำการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ one-way ANOVA โดยแต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน

ผลการศึกษา

1.ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบผลราชดัดต่อการยับยั้งการเจริญ

เติบโตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดี่ยว

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบจากผลราชดัดที่สกัดด้วยเอทานอลมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยสารสกัดหยาบผลราชดัดแสดงค่าความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.6 ± 0.18 μ g/mL และแสดงค่าที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 มีค่า IC_{20} เท่ากับ 0.6 ± 0.03 μ g/mL (รูปที่ 2 และ ตารางที่ 1)

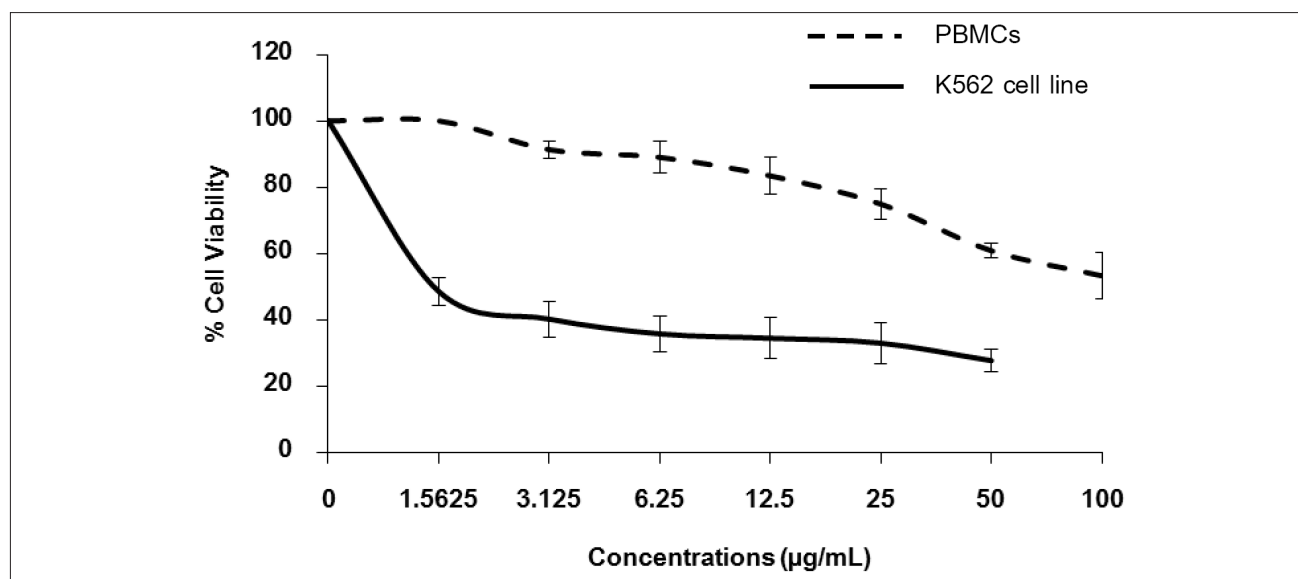


Figure 2 Cytotoxicity of crude *Brucea amarissima* fruit extract on K562 cell line and PBMCs ($n=5$) by MTT assay. Data are the mean $\pm$ sem of three independent experiments.

นอกจากนี้ยังได้ศึกษาถึงคุณสมบัติความจำเพาะในการความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวแต่ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวนิวเคลียสเดี่ยวจากคนปกติ จากการศึกษพบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบผลราชัดที่ระดับความเข้มข้น 1.6 µg/mL ทำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 มีชีวิตรอดร้อยละ 50 ในขณะที่เซลล์เม็ดเลือดขาวนิวเคลียสเดี่ยวจากคนปกติมีชีวิตรอด ร้อยละ 98 (รูปที่ 2) ดังนั้นการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบจากผลราชัดมีความจำเพาะในการทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว โดยไม่ทำลายเซลล์เม็ดเลือดขาวนิวเคลียสเดี่ยว คนปกติ โดยสารสกัดหยาบผลราชัดมีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว เป็น 57.6 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์เม็ดเลือดขาวนิวเคลียสเดี่ยว ที่ระดับความเข้มข้นที่เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวที่ร้อยละ 50 (ตารางที่ 1)

Table 1 Cytotoxicity of crude *Brucea amarissima* fruit extract K562 cell line and PBMCs

Experiment	IC ₂₀ (µg/mL)	IC ₅₀ (µg/mL)
K562 cell line	0.6±0.03	1.6±0.18
PBMCs	17.6±6.30	92.2±7.83
PBMCs : K562 ratio	29.3	57.6

2. การเปรียบเทียบของสารสกัดหยาบจากผลราชัดกับยาเคมีบำบัดชนิดวินคริสติน (vincristine)

เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ของสกัดหยาบผลราชัด ด้วยเอทานอลกับยาเคมีบำบัดชนิดวินคริสตินซึ่งเป็นยาที่สกัดได้จากรากแพงพวยฝรั่ง¹⁵ และนิยมใช้ในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาว พบว่าสารสกัดหยาบจากผลราชัดที่ระดับความเข้มข้น 1.6 µg/mL สามารถทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยง

ชนิด K562 ได้ร้อยละ 50 ในขณะที่สารมาตรฐาน vincristine ใช้ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 26.4 µg/mL จึงสามารถทำลายเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 ได้ร้อยละ 50 (รูปที่ 3) จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบผลราชัดมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวได้ดีกว่ายาเคมีบำบัดชนิดวินคริสตินเท่ากับ 16.5 เท่า (ตารางที่ 2) ซึ่งให้เห็นว่าสารสกัดหยาบผลราชัดมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวได้ดีกว่ายาเคมีบำบัดชนิดวินคริสติน

3. ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบผลราชัดต่อการลดระดับการแสดงออกโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562

แสดงออกโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562

สารสกัดหยาบผลราชัดด้วยเอทานอลที่ระดับความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 (IC₂₀) ที่ความเข้มข้น 0.6 µg/mL สามารถลดระดับการแสดงออกของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันได้ตามระยะเวลาที่ทดสอบ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เท่ากับร้อยละ 16, 38 และ 43 ตามลำดับ (รูปที่ 4) ซึ่งเวลาที่ 48 และ 72 ชั่วโมง ของการเพาะเลี้ยงร่วมกันระหว่างสารสกัดหยาบกับเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 และมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$) นอกจากนี้ระยะเวลาที่ทำการทดสอบ 48 ชั่วโมง ยังแสดงให้เห็นฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากผลราชัดสามารถยับยั้งการแสดงออกของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วันได้ตามความเข้มข้นที่เพิ่มมากขึ้น (0.4, 0.6 และ 0.8 µg/mL) โดยยับยั้งการแสดงออกของโปรตีนได้ร้อยละ 12, 37 และ 45 (รูปที่ 5) โดยที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบผลราชัดที่ 0.6 และ 0.8 µg/mL สามารถลดระดับการแสดงออกของโปรตีนวิล์มทูเมอร์วัน ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ค่าความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

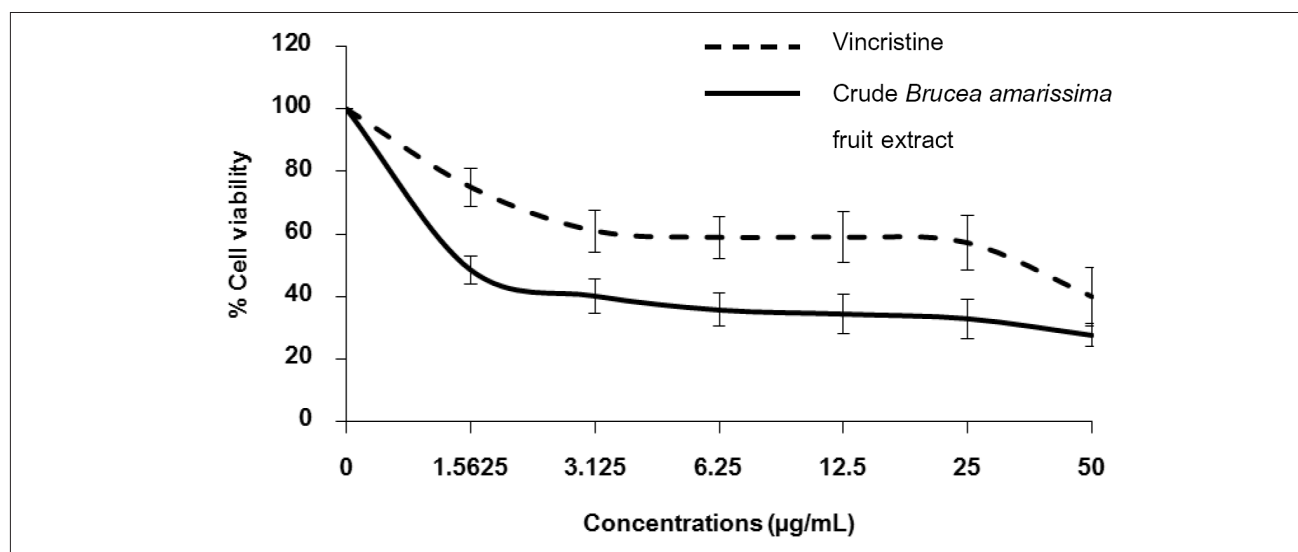


Figure 3 Cytotoxicity of crude *Brucea amarissima* fruit extract and vincristine on K562 cell line. Data are the mean value±sem of three independent experiments.

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากผลราชดัดที่สกัดด้วยเอทานอลต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดี่ยว (PBMCs) พบว่าสารสกัดหยาบจากผลราชดัดมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ $1.6 \mu\text{g/mL}$ ผลการศึกษานี้มีความสอดคล้องกับการศึกษาสารออกฤทธิ์ที่สำคัญ quassinoids จากผลราชดัดสามารถยับยั้งโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocytic leukemia ในหลอดทดลองได้ นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่าสาร bruceosides C ที่สกัดได้จากผลของราชดัด มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงชนิด KB, A-549, RPMI และ TE-67116 และพบการฉีดสารที่มีน้ำมันจากราชดัดเป็นส่วนผสมเข้าเส้นโลหิตดำในผู้ป่วยมะเร็งที่ปอดมีการกระจายของเซลล์มะเร็งเข้าสู่สมองพบว่ามีการดีขึ้น¹⁷ รวมถึงการพบว่า น้ำมันที่สกัดได้จากเมล็ดของราชดัดสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการ

ตายแบบอะพอพโทสิสได้ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเนื้องอกโดยอาศัย death receptors และการส่งสัญญาณผ่านไมโทคอนเดรีย (mitochondrial-related pathways)¹⁸ และสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบอะพอพโทสิสได้ในเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยงชนิด pancreatic adenocarcinoma โดยอาศัยการทำงานของโปรตีนแคสเปส 3 (caspase 3)¹⁹ นอกจากนี้ ในระดับความเข้มข้น $0.6 \mu\text{g/mL}$ ซึ่งไม่เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 สามารถยับยั้งการแสดงออกของโปรตีนนิวลิโนเมอร์วัน ได้ตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น (24, 48 และ 72 ชั่วโมง) และตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น (0.4 , 0.6 และ $0.8 \mu\text{g/mL}$) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานที่มีการศึกษาสารสกัดบริสุทธิ์เคอร์คิวมิน สามารถลดระดับการแสดงออกของโปรตีนนิวลิโนเมอร์วัน ได้ตามความเข้มข้น และระยะเวลาที่เพิ่มสูงขึ้นในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 และ Molt4²⁰⁻²² และในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวที่ได้จากผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิดเนื้องอกและเรื้อรัง²³

Table 2 Comparison of crude *Brucea amarissima* fruit extract and vincristine on K562 cell line

Experiment	IC_{20} ($\mu\text{g/mL}$)	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Crude <i>Brucea amarissima</i> fruit extract	0.6 ± 0.03	1.6 ± 0.18
Vincristine	0.7 ± 0.17	26.4 ± 3.67
Vincristine : Crude <i>Brucea amarissima</i> fruit extract ratio	1.2	16.5

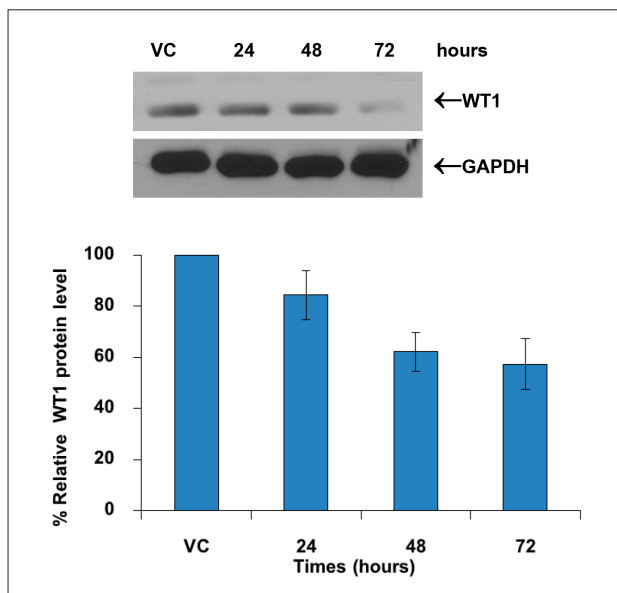


Figure 4 Effect of crude *Brucea amarissima* fruit extract on WT1 protein expression in K562 cell line. The WT1 protein expression level was assessed by immunoblotting after treatment with $0.6 \mu\text{g/mL}$ crude *Brucea amarissima* fruit extract for 24, 48 and 72 hours. GAPDH was used as loading control. Densitometry was used to quantify the protein levels and graphed as the percentage of vehicle control. Data are the mean value $\pm$ sem of three independent experiments. Asterisks (*) denote value that were significantly different from the vehicle control ($p < 0.05$).

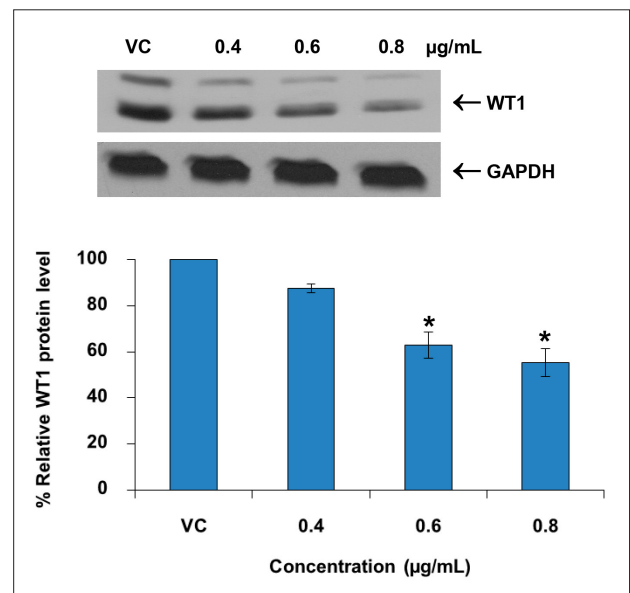


Figure 5 Effect of crude *Brucea amarissima* fruit extract on WT1 protein expression in K562 cell line. The WT1 protein expression level was assessed by immunoblotting after treatment with various doses of crude *Brucea amarissima* fruit extract for 48 hours. GAPDH was used as loading control. Densitometry was used to quantify the protein levels and graphed as the percentage of vehicle control. Data are the mean value $\pm$ sem of three independent experiments. Asterisks (*) denote value that were significantly different from the vehicle control ($p < 0.05$).

การศึกษาฤทธิ์การต้านมะเร็งของสารสกัดหยาบผลราชดัดต่อความจำเพาะกับเซลล์มะเร็ง โดยศึกษาทั้งเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดี่ยวจากคนปกติ พบว่า สารสกัดหยาบผลราชดัดมีฤทธิ์ต้านมะเร็งที่มีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 และมีความเป็นพิษน้อยต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดี่ยว โดยมีความจำเพาะต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 เป็น 57.6 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดี่ยวจากคนปกติซึ่งสอดคล้องกับการรายงานที่พบว่าสารสกัดหยาบดัดมีความเป็นพิษต่อเซลล์ cervical squamous cell carcinoma ที่ความเข้มข้น 2 µg/mL แต่ไม่มีผลต่อเซลล์ปกติ (primary human keratinocytes; PHKs) ซึ่งระดับความเข้มข้นที่ 35 µg/mL จะแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ PHKs²⁴ นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบผลราชดัดมีฤทธิ์ต้านมะเร็งที่ดีกว่ายาเคมีบำบัดวินคริสติน 16.5 เท่า

ระดับความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 ยังสามารถลดระดับการแสดงออกของโปรตีนนิวลิเมออร์วันได้ทั้งระยะเวลาและความเข้มข้นที่เพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากผลราชดัดอาจมีผลรบกวนกระบวนการในการสังเคราะห์โปรตีนของโปรตีนนิวลิเมออร์วัน ส่งผลทำให้การแสดงออกของโปรตีนนิวลิเมออร์วัน

ลดลง หรืออาจจะรบกวนการส่งสัญญาณ (signal transduction) ภายในเซลล์และยับยั้งการแสดงออกของยีนนิวลิเมออร์วัน ซึ่งมีผลกระทบต่อเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 เนื่องจากยีนและโปรตีนนิวลิเมออร์วันมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการเพิ่มจำนวนของเซลล์¹⁴ อย่างไรก็ตาม จึงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาถึงระดับการแสดงออกของยีนนิวลิเมออร์วันในระดับ mRNA และศึกษาเชิงลึกของสารสกัดบริสุทธิ์จากผลราชดัดต่อการลดอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวและเซลล์มะเร็งชนิดอื่นๆ รวมถึงการศึกษากลไกของสารสกัดจากผลราชดัดบริสุทธิ์ต่อการยับยั้งการแสดงออกของโปรตีนนิวลิเมออร์วัน เพื่อนำไปสู่การพัฒนาเป็นยารักษามะเร็งต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ผศ.ดร. เกียรติทวี ชูวงศ์โกมล ภาควิชาชีวเคมีคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่จัดเตรียมสารสกัดหยาบราชดัด ผศ.ดร. ทรงยศ อนุชปรีดา คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในการอนุเคราะห์ยาเคมีบำบัดวินคริสติน และขอขอบคุณ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติสนับสนุนในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Thaicrodedrug. Ubon Ratchathani University. Brucea javanica [cited 2013 March 12] Available from: <http://www.thaicrodedrug.com/main.php?action=viewpage&pid=116>. (in Thai)
2. Cuendet M, Gills JJ, Pezzuto JM. Brusatol-induced HL-60 cell differentiation involves NF-kappaB activation. *Cancer Lett.* 2004; 206: 43-50.
3. Kim JA, Lau EK, Pan L, De Blanco EJ. NF-kappaB inhibitors from Brucea javanica exhibiting intracellular effects on reactive oxygen species. *Anticancer Res.* 2010; 30: 3295-300.
4. Kupchan SM, Britton RW, Lacadie JA, Ziegler MF, Sigel CW. The isolation and structural elucidation of bruceantin and bruceantanol, new potent antileukemic quassinoids from Brucea antidysenterica. *J Org Chem.* 1975; 40: 648-54.
5. Inoue K, Sugiyama H, Ogawa H, et al. WT1 as a new prognostic factor and a new marker for the detection of minimal residual disease in acute leukemia. *Blood.* 1994; 84: 3071-9.
6. Bergmann L, Maurer U, Weidmann E. Wilms tumor gene expression in acute myeloid leukemias. *Leuk Lymphoma.* 1997; 25: 435-43.
7. Menssen HD, Renkl HJ, Entezami M, Thiel E. Wilms' tumor gene expression in human CD34+ hematopoietic progenitors during fetal development and early clonogenic growth. *Blood.* 1997; 89: 3486-7.
8. Yamagami T, Ogawa H, Tamaki H, et al. Suppression of Wilms' tumor gene (WT1) expression induces G2/M arrest in leukemic cells. *Leuk Res.* 1998; 22: 383-4.
9. Inoue K, Ogawa H, Sonoda Y, et al. Aberrant overexpression of the Wilms tumor gene (WT1) in human leukemia. *Blood.* 1997; 89: 1405-12.
10. Baird PN, Simmons PJ. Expression of the Wilms' tumor gene (WT1) in normal hemopoiesis. *Exp Hematol.* 1997; 25: 312-20.
11. Maurer U, Brieger J, Weidmann E, Mitrou PS, Hoelzer D, Bergmann L. The Wilms' tumor gene is expressed in a subset of CD34+ progenitors and downregulated early in the course of differentiation in vitro. *Exp Hematol.* 1997; 25: 945-50.

12. Sugiyama H. Wilms' tumor gene WT1: its oncogenic function and clinical application. *Int J Hematol.* 2001; 73: 177-87.
13. Menke AL, van der Eb AJ, Jochemsen AG. The Wilms' tumor 1 gene: oncogene or tumor suppressor gene? *Int Rev Cytol.* 1998; 181: 151-212.
14. Menssen HD, Renkl HJ, Rodeck U, et al. Presence of Wilms' tumor gene (wt1) transcripts and the WT1 nuclear protein in the majority of human acute leukemias. *Leukemia.* 1995; 9: 1060-7.
15. Cassady JM, Baird WM, Chang CJ. Natural products as a source of potential cancer chemotherapeutic and chemopreventive agents. *J Nat Prod.* 1990; 53: 23-41.
16. Anderson MM, O'Neill MJ, Phillipson JD, Warhurst DC. In vitro cytotoxicity of a series of quassinoids from *Brucea javanica* fruits against KB cells. *Planta Med.* 1991; 57: 62-4.
17. Lu JB, Shu SY, Cai JQ. [Experimental study on effect of *Brucea javanica* oil emulsion on rabbit intracranial pressure]. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi.* 1994; 14: 610-1.
18. Zhang H, Yang JY, Zhou F, et al. Seed Oil of *Brucea javanica* Induces Apoptotic Death of Acute Myeloid Leukemia Cells via Both the Death Receptors and the Mitochondrial-Related Pathways. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2011; 2011: 1-14.
19. Lau ST, Lin ZX, Zhao M, Leung PS. *Brucea javanica* fruit induces cytotoxicity and apoptosis in pancreatic adenocarcinoma cell lines. *Phytother Res.* 2008; 22: 477-86.
20. Anuchapreeda S, Thanarattanakorn P, Sittipreechacharn S, Chanarat P, Limtrakul P. Curcumin inhibits WT1 gene expression in human leukemic K562 cells. *Acta Pharmacol Sin.* 2006; 27: 360-6.
21. Anuchapreeda S, Tima S, Duangrat C, Limtrakul P. Effect of pure curcumin, demethoxycurcumin, and bisdemethoxycurcumin on WT1 gene expression in leukemic cell lines. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2008; 62: 585-94.
22. Semsri S, Krig SR, Kotelawala L, Sweeney CA, Anuchapreeda S. Inhibitory mechanism of pure curcumin on Wilms' tumor 1 (WT1) gene expression through the PKC α signaling pathway in leukemic K562 cells. *FEBS Lett.* 2011; 585: 2235-42.
23. Anuchapreeda S, Limtrakul P, Thanarattanakorn P, Sittipreechacharn S, Chanarat P. Inhibitory effect of curcumin on WT1 gene expression in patient leukemic cells. *Arch Pharm Res.* 2006; 29: 80-7.
24. Gao H, Lamusta J, Zhang WF, et al. Tumor Cell Selective Cytotoxicity and Apoptosis Induction by an Herbal Preparation from *Brucea javanica*. *N Am J Med Sci (Boston).* 2011; 4: 62-6.
25. *Brucea javanica*. [cited 2014 January 1] Available from: <http://www.ayurvedicthai.com/>. (in Thai)

ความเที่ยงตรงและความเชื่อมั่น ของแบบวัดความรู้และความตระหนักในเรื่องการป้องกัน การติดเชื้อแบบครอบจักรวาล ของสาขาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Validity and reliability of the Test of Knowledge and Awareness of universal
precautions in Department of Medical Technology,
Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University

■ รัชฎาพร อุดปาน^{1*} พิรยา มั่นเขตวิทย์² สันทนา บัวมงคล¹
Ratchadaporn Udaun^{1*} Peeraya Munkhetvit² Santhana Buamongkol¹
พลรัตน์ พันธุ์แพ¹ ขจรศักดิ์ ตระกูลพั้ว¹
Ponrut Phunpae¹ Khajornsak Tragoolpua¹

¹ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

²ภาควิชากิจกรรมบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

*ผู้รับผิดชอบบทความ (E-mail: ratchadaudp@hotmail.com)

Received December 2013

Accepted as revised January 2014

Abstract

Introduction: Medical Technology students have high risk of infection from blood and body fluid borne diseases. Knowledge and awareness of the Universal Precautions enable them to be safe from infection.

Objective of the study: Current study aimed to develop the Test of Knowledge and Awareness of Universal Precautions in Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University and to examine its content validity and reliability.

Materials and methods: Research methodology was divided into 2 phases; the first phase was the development of the Test of Knowledge and Awareness of Universal Precautions and examination of content validity of the developed test. The second phase was the examination of reliability: test-retest reliability and internal consistency.

Results: The results from the study revealed that the developed test had content validity by selecting the items that had an Index of Concordance > 0.5 judged from 3 experts. The examination of internal consistency and test-retest reliability was conducted in 146 second and fourth year students in Medical Technology in the academic year 2553, Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University. The analysis of Cronbach's alpha coefficient revealed a medium to high consistency of the Test. (α between 0.46–0.98). Using an intraclass correlation coefficient (ICC) to examine test-retest reliability, the developed test showed medium and excellent test-retest reliability (ICC between 0.50–0.85), except the item of hygiene and sanitation in part of the Practice of Universal Precautions that had low test-retest reliability (ICC = 0.36).

Conclusions: It can be concluded that the Test of Knowledge and Awareness of Universal Precautions in Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University has an acceptable validity and reliability, except in the subtest of hygiene and sanitation that needs refinement before using to test.

Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2014; 47(1): 53-60

Keywords: universal precautions, knowledge, awareness, Medical Technology

บทคัดย่อ

บทนำ : นักศึกษาสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ มีการฝึกปฏิบัติงานเกี่ยวข้องกับสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วย ทำให้เสี่ยงต่อการติดเชื้อจากเลือดและสารน้ำจากร่างกาย การมีความรู้และความตระหนักเรื่องการป้องกันการติดเชื้อแบบครอบจักรวาล จึงอาจช่วยป้องกันการติดเชื้อได้

วัตถุประสงค์: การศึกษาวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อสร้างแบบวัดความรู้และความตระหนักเรื่องการป้องกันการติดเชื้อแบบครอบจักรวาล ของสาขาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และตรวจสอบความเที่ยงตรงและความเชื่อมั่นของแบบวัด ที่สร้างขึ้น

วัสดุและวิธีการ: การดำเนินการวิจัยแบ่งเป็น 2 ระยะหลัก คือ การสร้างและตรวจสอบความเที่ยงตรงตามเนื้อหาของแบบวัด และการตรวจสอบความเชื่อมั่นโดยวิธีหาความเชื่อมั่นแบบวัดซ้ำและความสอดคล้องภายใน

ผลการศึกษา: ผลการศึกษาพบว่า แบบวัด ที่สร้างขึ้นมีความเที่ยงตรงตามเนื้อหา โดยคัดเลือกข้อคำถามที่ผ่านการตรวจสอบจากผู้เชี่ยวชาญจำนวน 3 ท่าน และ มีค่าดัชนีความสอดคล้องตั้งแต่ 0.5 ขึ้นไป สำหรับการตรวจสอบความเชื่อมั่นโดยการหาความสอดคล้องภายใน และความเชื่อมั่นแบบวัดซ้ำ ทำการศึกษาในกลุ่มนักศึกษาสาขาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ชั้นปีที่ 2 และ 4 ปีการศึกษา 2553 จำนวน 146 คน ผลการศึกษาพบว่า แบบวัด มีความสอดคล้องภายในอยู่ในเกณฑ์ปานกลางถึงสูง (ค่าสัมประสิทธิ์แอลฟาของครอนบาค มีค่าระหว่าง 0.46-0.98) สำหรับความเชื่อมั่นแบบวัดซ้ำอยู่ในเกณฑ์พอใช้ถึงดีเยี่ยม (ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ภายในชั้นมีค่าระหว่าง 0.50-0.85) ยกเว้นหัวข้อการวัดหลักเกี่ยวกับการปฏิบัติตามการป้องกันการติดเชื้อ ในหัวข้อการวัดย่อย เรื่องสุขอนามัยและสุขาภิบาล มีค่าความเชื่อมั่นแบบวัดซ้ำอยู่ในเกณฑ์ต้องปรับปรุงแก้ไข (ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ภายในชั้นมีค่า 0.36)

สรุปผลการศึกษา: ผลการศึกษารายงานในครั้งนี้ สามารถสรุปได้ว่า “แบบวัดความรู้และความตระหนักในเรื่องการป้องกันการติดเชื้อแบบครอบจักรวาล สาขาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่” มีความเที่ยงตรงตามเนื้อหา มีความเชื่อมั่นอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ยกเว้น หัวข้อการวัดหลักเกี่ยวกับการปฏิบัติตามหลักการป้องกันการติดเชื้อ ในหัวข้อการวัดย่อย เรื่องสุขอนามัยและสุขาภิบาล มีค่าความเชื่อมั่นแบบวัดซ้ำอยู่ในเกณฑ์ต้องปรับปรุงแก้ไข ดังนั้นก่อนนำแบบวัดนี้ไปใช้ ควรทำการปรับปรุงในหัวข้อนี้ก่อน

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2557; 47(1): 53-60

คำรหัส: การป้องกันการติดเชื้อ ความรู้ ความตระหนัก เทคนิคการแพทย์

บทนำ

การทำงานในห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ ต้องเกี่ยวข้องกับสิ่งส่งตรวจชนิดต่างๆ จากผู้ป่วย ซึ่งเป็นแหล่งของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคมามากมาย ทั้งเชื้อแบคทีเรีย รา และเชื้อไวรัส โดยเฉพาะโรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง หรือโรคเอดส์ ที่เกิดจากการติดเชื้อไวรัสเอชไอวี (Human Immunodeficiency virus) โรคตับอักเสบที่เกิดจากเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (Hepatitis B virus) และไวรัสตับอักเสบซี (Hepatitis C virus) ซึ่งเป็นโรคติดต่อที่ร้ายแรง และเป็นโรคที่พบมากในประเทศไทย ที่สามารถติดต่อมายังผู้ปฏิบัติงานได้ ในปี พ.ศ. 2550 มีจำนวนผู้ติดเชื้อและผู้ป่วยเอดส์ทั่วโลกประมาณ 33.2 ล้านคน สำหรับในประเทศไทย สำนักงานระบาดวิทยาได้รับรายงานผู้ป่วยเอดส์ จากสถานบริการสาธารณสุขภาครัฐและเอกชนตั้งแต่เดือน กันยายน พ.ศ. 2527 ถึงวันที่ 15 พฤศจิกายน 2554 รวมทั้งสิ้น 376,690 ราย และมีผู้เสียชีวิต 98,721 ราย แนวโน้มของผู้ป่วยเอดส์ และผู้ที่เสียชีวิตด้วยโรคเอดส์ลดลงกว่าในอดีตที่ผ่านมาเนื่องจาก

การรักษาผู้ป่วยเอดส์ด้วยยาต้านไวรัสทำให้ผู้ป่วยมีชีวิตที่ยืนยาวและมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้นจึงทำให้มีผู้ป่วยและผู้เสียชีวิตจากโรคเอดส์ลดลงกว่าอดีต¹ สำหรับโรคไวรัสตับอักเสบลำต้นงานระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข รายงานสถานการณ์โรคไวรัสตับอักเสบบีในประเทศไทย ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2543 เป็นต้นมา ในแต่ละปีมีอัตราป่วยโดยประมาณ 11 รายต่อประชากรแสนคน แต่ในปี พ.ศ. 2551 อัตราป่วยโรคไวรัสตับอักเสบบีมีการเพิ่มขึ้นสูงสุดเป็น 16.6 รายต่อประชากรแสนคนและคงที่ที่อัตราป่วยนี้ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2552-2554 โดยมีอัตราป่วย 16.3, 16.2 และ 16.1 ตามลำดับ จากจำนวนผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีทั้งหมด 10,309 ราย ในปี พ.ศ. 2553 จำแนกเป็นผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบี 460 ราย เป็นร้อยละ 4.46 ของโรคตับอักเสบบี ไวรัสตับอักเสบบี 5,879 ราย (ร้อยละ 57.03) ไวรัสตับอักเสบซี 1,086 ราย (ร้อยละ 10.53) ไวรัสตับอักเสบดี 247 ราย (ร้อยละ 2.40) ไวรัสตับอักเสบอี 53 ราย (ร้อยละ 0.51) และไม่ระบุชนิดเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุ 2,584 ราย (ร้อยละ 25.07) ผู้เสียชีวิตโรคตับอักเสบบีรวม 14 ราย

อัตราตาย 0.02 ต่อประชากรแสนคน อัตราป่วยตายร้อยละ 0.142 โดยผู้ที่มีเชื้อไวรัสตับอักเสบบี มีโอกาสเสี่ยงที่จะป่วยเป็นโรคตับเรื้อรัง และ มะเร็งตับมากกว่าคนปกติ 100 เท่า³

การเกิดอุบัติเหตุ การสัมผัสเลือดและสารน้ำจากร่างกายผู้ป่วย ทำให้มีโอกาสเกิดการติดเชื้อได้ โดยเฉพาะการเกิดอุบัติเหตุถึงแม้ไม่ทำให้เกิดการติดเชื้อทั้งหมด แต่เป็นสาเหตุทำให้เกิดบาดแผลซึ่งจะเพิ่มความเสี่ยงต่อการติดเชื้อได้ อีกทั้งยังทำให้เกิดผลกระทบทางด้านจิตใจต่อผู้ปฏิบัติงานที่ได้รับอุบัติเหตุ พบว่าความเสี่ยงจากการติดเชื้อเอดส์ หลังสัมผัสเลือด มีอุบัติการณ์ของการติดเชื้อร้อยละ 0.3 ถึง 0.5 ต่อการถูกเข็มที่ปนเปื้อนเชื้อดำ 1 ครั้ง ส่วนน้อยเกิดจากการสัมผัสกับสิ่งส่งตรวจที่ผิวหนังหรือเยื่อเมือกที่อาจมีผลอยู่ด้วย แต่อุบัติการณ์ของการติดเชื้อด้วยกลไกนี้มีน้อยกว่าร้อยละ 0.05 ของการสัมผัสแต่ละครั้งส่วนความเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี หลังจากถูกของมีคมที่ปนเปื้อนเลือดของผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี เกิดขึ้นประมาณร้อยละ 30 และ การบริหารความปลอดภัยจากการเกิดอุบัติเหตุต่างๆ เป็นประเด็นสำคัญในการบริหารความเสี่ยง พบว่าช่วยลดปัญหาการติดเชื้อจากการให้บริการทางการแพทย์ได้มากกว่าร้อยละ 80⁴ จากปี พ.ศ. 2521 ถึง เดือน มิถุนายน ปี พ.ศ. 2543 มีบุคลากรสาธารณสุขที่สามารถยืนยันได้ว่าติดเชื้อไวรัสเฮปไอวี จากการปฏิบัติงานถึง 56 ราย และ ที่สงสัยแต่ยังไม่สามารถยืนยันได้ชัดเจนว่ามาจากการปฏิบัติงานอีก 138 ราย ในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา มีบุคลากรสาธารณสุขที่เสียชีวิตจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี จากการปฏิบัติงานถึงปีละ 100-200 ราย มีผู้ติดเชื้อจาก *Burkholderia pseudomallei* 2 ราย รายแรกจากการสัมผัสเชื้อโดยการหายใจและผ่านผิวหนัง รายที่สองจากการ Sonicate เชื้อโดยไม่ปิดภาชนะ เพราะเข้าใจว่าเป็น *B. cepacia*¹²

การจัดทำแบบวัด ฉบับนี้ อ้างอิงจาก “การป้องกันการติดเชื้อจากการให้บริการทางการแพทย์และสาธารณสุข (Universal Precautions)”¹¹ และ “คู่มือการป้องกันการติดเชื้อจากการปฏิบัติงานในคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่”⁴ ซึ่งนิยามคำว่า การป้องกันการติดเชื้อแบบครอบคลุม (Universal Precautions) หมายถึง การระมัดระวังป้องกันของบุคลากรในการให้บริการทางการแพทย์และสาธารณสุข เพื่อให้บุคลากรและผู้ป่วยปลอดภัยจากการติดเชื้อที่อาจติดต่อทางเลือดและสารน้ำจากร่างกาย โดยปฏิบัติต่อผู้ป่วยหรือผู้ให้บริการทุกรายเหมือนกันและทุกครั้งที่ปฏิบัติงาน หลักการของ Universal Precautions มีดังนี้ 1) การป้องกันอุบัติเหตุ ได้แก่ การวางแนวทางป้องกันอุบัติเหตุ การเฝ้าระวังการติดเชื้อจากอุบัติเหตุ และการส่งเสริมให้มีการปฏิบัติงานด้วยความปลอดภัย 2) การใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคลที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพ เพื่อลดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อของบุคลากรจากการสัมผัสเลือดและสารน้ำจากร่างกายผู้ป่วยโดยตรง 3) การมีสุขอนามัยและสุขาภิบาลที่ดี คือ คำนี้ถึง aseptic technique การล้างมือที่ถูกต้อง การจัด

สถานที่ และสภาพแวดล้อมในการทำงาน ให้มีสุขลักษณะอนามัยที่ดี มีความสะอาด รวมทั้งการทำลายเชื้อ ทำให้ปราศจากเชื้อ และการกำจัดขยะอย่างถูกต้อง ทางคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มีการจัดการอบรมเกี่ยวกับสถานการณ์โรคเอดส์และการป้องกันการติดเชื้อในห้องปฏิบัติการให้แก่ นักศึกษาคณะเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 2 เพื่อให้ นักศึกษาที่ผ่านการอบรม ได้รับทราบและเข้าใจปัญหาเกี่ยวกับโรคเอดส์ของประเทศไทยและของโลก สามารถปฏิบัติตนเพื่อป้องกันการติดเชื้อจากการปฏิบัติงาน และสามารถปฏิบัติตนได้อย่างถูกต้องเมื่อเกิดอุบัติเหตุ การวัดความรู้และความตระหนักของนักศึกษาจะช่วยทำให้ทราบระดับความรู้และความตระหนักของนักศึกษา ซึ่งสามารถนำข้อมูลที่ได้ไปเป็นแนวทางเพื่อแก้ไขและส่งเสริมการให้ความรู้เกี่ยวกับหลักการป้องกันการติดเชื้อในห้องปฏิบัติการแก่นักศึกษา การสร้างเครื่องมือวัดให้มีคุณภาพดี เครื่องมือต้องมีความเที่ยงตรง (validity) และมีความเชื่อมั่น (reliability)^{5,6} การศึกษารังนี้จึงต้องการสร้างแบบวัดความรู้และความตระหนักเรื่องการป้องกันการติดเชื้อแบบครอบคลุมจักรวาลของสาขาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ให้มีคุณภาพดีสามารถนำไปใช้วัดความรู้และความตระหนักเรื่องการป้องกันการติดเชื้อเนื่องจากการปฏิบัติงาน ของนักศึกษา และนำข้อมูลที่ได้ไปเป็นแนวทางในการอบรมเกี่ยวกับการป้องกันการติดเชื้อเนื่องจากการปฏิบัติงานในส่วนที่นักศึกษายังขาดความรู้หรือขาดความตระหนัก รวมทั้งทำให้ทราบปัญหาต่างๆ ที่นักศึกษาให้ข้อเสนอแนะ เพื่อให้คณะเทคนิคการแพทย์นำไปจัดทำโครงการพัฒนาต่างๆ เรื่องการป้องกันการติดเชื้อเนื่องจากการปฏิบัติงาน อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อสร้างแบบวัดความรู้และความตระหนักเรื่องหลักการป้องกันการติดเชื้อแบบครอบคลุมจักรวาล ของสาขาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. เพื่อตรวจสอบความเที่ยงตรงตามเนื้อหา (content validity) ความเชื่อมั่นแบบวัดซ้ำ (test-retest reliability) และความสอดคล้องภายใน (internal consistency) ของแบบวัดความรู้และความตระหนักเรื่องการป้องกันการติดเชื้อ ที่พัฒนาขึ้น

ขอบเขตการวิจัย

1. ขอบเขตประชากรที่ใช้ในการศึกษารังนี้ คือ นักศึกษาระดับปริญญาตรีชั้นปีที่ 2 และ 4 สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่เข้าศึกษาในปีการศึกษา 2553
2. ขอบเขตด้านเนื้อหา เป็นการสร้างแบบวัดความรู้และความตระหนักเรื่องการป้องกันการติดเชื้อของนักศึกษาระหว่างการทำงานในห้องปฏิบัติการ ของนักศึกษา

วิธีดำเนินการศึกษาวิจัย

วิธีดำเนินการศึกษาวิจัย แบ่งเป็น 2 ระยะ ได้แก่ ระยะการ
สร้างแบบวัดและตรวจสอบความเที่ยงตรงตามเนื้อหา และ
ระยะของการตรวจสอบความเชื่อมั่นแบบวัดซ้ำและความ
สอดคล้องภายใน ดังมีรายละเอียดดังนี้

ระยะที่ 1: การสร้างแบบวัดและตรวจสอบความเที่ยงตรงตาม
เนื้อหา (content validity) มีขั้นตอนการดำเนินการวิจัยดังต่อไปนี้

1. สร้างแบบวัดความรู้และความตระหนัก โดยการคัดเลือก
คำถามและกำหนดเกณฑ์การให้คะแนนของแบบวัด จาก
การทบทวนวรรณกรรม ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และจาก
ประสบการณ์การทำงานของผู้วิจัย
2. ตรวจสอบความเที่ยงตรงของแบบวัดตามเนื้อหา โดย
ผู้เชี่ยวชาญจำนวน 3 ท่านที่เป็นผู้เชี่ยวชาญมีประสบการณ์
ในการสอนหรือทำงานที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันการติด
เชื้อในห้องปฏิบัติการไม่ต่ำกว่า 5 ปี ตรวจสอบความเที่ยง
ตรงตามเนื้อหา หากผู้เชี่ยวชาญเห็นว่าสอดคล้องตรงกับ
เนื้อหาและวัตถุประสงค์ที่ต้องการให้วัด (เห็นด้วย) ให้ 1+
คะแนน หากผู้เชี่ยวชาญเห็นว่าไม่สอดคล้องไม่ตรงกับ
เนื้อหาและวัตถุประสงค์ที่ต้องการให้วัด (ไม่เห็นด้วย)
ให้ -1 คะแนน หากผู้เชี่ยวชาญไม่แน่ใจว่าสอดคล้องหรือไม่
สอดคล้อง (ไม่แน่ใจ) ให้ 0 คะแนน นำผลที่ได้ไปคำนวณ
หาดัชนีความสอดคล้องด้วยสูตร IOC (Index of Concor-
dance) คัดเลือกข้อคำถามในแบบวัดที่มีดัชนีความสอดคล้อง
(IOC) ≥ 0.5 และนำข้อเสนอแนะจากผู้เชี่ยวชาญมากำหนด
เป็นแบบวัดฉบับวิจัย

ระยะที่ 2: การตรวจสอบความเชื่อมั่นแบบวัดซ้ำ (test-retest
reliability) และความสอดคล้องภายใน (internal consistency)
มีขั้นตอนการดำเนินการวิจัยดังต่อไปนี้

1. นำแบบวัดความรู้และความตระหนักเรื่องการป้องกันการ
ติดเชื้อที่ได้จากการศึกษาวิจัยในระยะที่ 1 ไปประเมิน
ประชากรนักศึกษาสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะ
เทคนิคการแพทย์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ชั้นปีที่ 2 ซึ่ง
ผ่านการอบรมเรื่องการป้องกันการติดเชื้อ จำนวน 71 คน
และนักศึกษาชั้นปีที่ 4 ที่กำลังจะจบการศึกษา จำนวน
75 คน รวมทั้งหมด 146 คน คะแนนที่ได้จากการประเมิน
ในครั้งนี้ถือว่าเป็นคะแนนครั้งที่ 1
2. นำแบบวัดความรู้และความตระหนักเรื่องการป้องกันการ
ติดเชื้อ ไปประเมินประชากรนักศึกษาสาขาวิชาเทคนิค
การแพทย์กลุ่มเดิมอีกครั้ง โดยเว้นระยะจากการประเมิน
ครั้งแรก 2 สัปดาห์ คะแนนที่ได้จากการประเมินในครั้งนี้
ถือว่าเป็นคะแนนครั้งที่ 2

3. วิเคราะห์หาค่าความสอดคล้องภายใน (internal consis-
tency) ของคะแนนครั้งที่ 1 โดยการหาค่าสัมประสิทธิ์
แอลฟาของครอนบาค (Cronbach's alpha coefficient)
ค่าสัมประสิทธิ์แอลฟาของครอนบาค มีค่าได้ตั้งแต่ 0 ถึง
1 การกำหนดระดับความสอดคล้องจากค่าสัมประสิทธิ์
แอลฟาของ ครอนบาค ของการศึกษานี้จึงอิงตาม
เกณฑ์ของการเรตต์ ซึ่งแบ่งระดับความสอดคล้องภายใน
ตามค่าสัมประสิทธิ์ความเชื่อมั่น (α) เป็น 4 ระดับ⁵ ดังนี้
 - ค่า α ตั้งแต่ 0.71 ถึง 1.00 ถือว่ามีความสอดคล้องสูง
 - ค่า α ตั้งแต่ 0.41 ถึง 0.70 ถือว่ามีความสอดคล้อง
ปานกลาง
 - ค่า α ตั้งแต่ 0.21 ถึง 0.40 ถือว่ามีความสอดคล้องต่ำ
 - ค่า α ตั้งแต่ 0.00 ถึง 0.20 ถือว่ามีความสอดคล้อง
ต่ำมากหรือไม่มีเลย
4. นำคะแนนครั้งที่ 1 และ คะแนนครั้งที่ 2 มาวิเคราะห์หา
ค่าความเชื่อมั่นแบบวัดซ้ำ (test-retest reliability) โดย
การหาค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ภายในชั้น (intraclass
correlation coefficient หรือ ICC) การกำหนดระดับความ
เชื่อมั่นจากค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ภายในชั้นของ
การศึกษานี้จึงอิงตามเกณฑ์ของ Cicchetti &
Sparrow (1981) (อ้างใน Donaghy & Wass, 1998)⁷ ซึ่ง
แบ่งระดับความเที่ยงตามค่า ICC เป็น 4 ระดับ ได้แก่
 - ค่า ICC อยู่ระหว่าง 0.75 – 1.00 หมายถึง ดีเยี่ยม
 - ค่า ICC อยู่ระหว่าง 0.60 – 0.74 หมายถึง ดี
 - ค่า ICC อยู่ระหว่าง 0.40 – 0.59 หมายถึง พอใช้
 - ค่า ICC น้อยกว่า 0.40 หมายถึง ต้องปรับปรุงแก้ไข

ผลการศึกษาวิจัย

1. ข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างเป็นนักศึกษาปริญญาตรี สาขาเทคนิคการ
แพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ชั้นปีที่
2 และ ปีที่ 4 ปีการศึกษา 2553 จำนวน 146 คน เป็นเพศหญิง
ร้อยละ 73.29 เพศชายร้อยละ 26.71 เป็นนักศึกษาชั้นปีที่ 2
ร้อยละ 48.63 ชั้นปีที่ 4 ร้อยละ 51.37 อายุเฉลี่ยของกลุ่ม
ตัวอย่างอยู่ที่ 22.9 ปี กลุ่มตัวอย่างทุกคนเคยได้รับความรู้เรื่อง
การป้องกันการติดเชื้อแบบครบวงจร โดยได้รับความรู้จาก
การเรียนในชั้นเรียนร้อยละ 89.73 จากการจัดอบรมร้อยละ
63.70 จากการอ่านคู่มือ/ตำรา/วารสารร้อยละ 41.78 และจาก
การค้นคว้าจากเครือข่ายอินเทอร์เน็ตร้อยละ 26.71

ในรอบ 1 ปีที่ผ่านมาประวัติการสัมผัสเลือดหรือสารน้ำ
ของกลุ่มตัวอย่างมีดังนี้ เคยสัมผัสเลือดหรือสารน้ำที่ผิวหนังที่
ไม่มีบาดแผลร้อยละ 17.12 เลือดหรือสารน้ำกระเด็นเข้าปาก
ตา จมูก เยื่อหูร้อยละ 4.79 หลอดทดลองที่ปนเปื้อนเลือดหรือ
สารน้ำบาดร้อยละ 4.79 ของมีคมอื่น บาดร้อยละ 2.05 เลือด
หรือสารน้ำสัมผัสที่บาดแผลร้อยละ 1.37 และ เข็มเจาะเลือดที่
ใช้แล้วทิ่มตำร้อยละ 0.68 สำหรับการตรวจการติดเชื้อไวรัสตับ

อีกเสบมี กลุ่มตัวอย่างเคยตรวจการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี จำนวนร้อยละ 68.49 และกลุ่มตัวอย่างที่เคยได้รับวัคซีนไวรัสตับอักเสบบี มีจำนวนร้อยละ 44.52

2. การสร้าง “แบบวัด ฉบับร่าง”

2.1 แบบวัด ฉบับร่าง ประกอบด้วยหัวข้อการวัดหลัก 4 ส่วน และหัวข้อการวัดย่อย แบบวัด ผ่านการตรวจสอบความเที่ยงตรงตามเนื้อหาโดยผู้เชี่ยวชาญ จำนวน 3 ท่าน และนำผลการตรวจสอบมาคำนวณหาดัชนีความสอดคล้อง (index of concordance: IOC) คัดเลือกข้อคำถามในแบบวัดที่มีดัชนีความสอดคล้อง (IOC) ≥ 0.5 และนำข้อเสนอนี้จากผู้เชี่ยวชาญมากำหนดเป็นแบบวัด ฉบับวิจัย จำนวนข้อของแบบวัด ฉบับวิจัยในแต่ละหัวข้อการวัดหลักและหัวข้อการวัดย่อยที่คัดเลือกมาและมีค่า IOC ≥ 0.5 แสดงในตารางที่ 1

2.2 การกำหนดการให้คะแนน

2.2.1 หัวข้อการวัดหลัก ส่วนที่ 2: ความรู้เรื่องการป้องกันการติดเชื้อแบบครอบจักรวาล ใช้แบบวัดแบบเลือกตอบ ถูกผิด การให้คะแนน หากตอบคำถามถูกต้องให้ 1 คะแนน หากตอบคำถามผิด หรือ ตอบไม่ทราบให้ 0 คะแนน

2.2.2 หัวข้อการวัดหลัก ส่วนที่ 3: ทักษะคิดต่อการปฏิบัติตามหลักการป้องกันการติดเชื้อแบบครอบจักรวาล ใช้แบบประเมินค่าตามแบบลิคเคอร์ต (R.A. Likert)^{5,6} โดยสร้างข้อคำถามที่มีลักษณะเป็นบวกและลบพองๆ กัน และกำหนดคำตอบเป็น 5 คำตอบ คือ เห็นด้วยอย่างยิ่ง เห็นด้วย ไม่แน่ใจ ไม่เห็นด้วยและไม่เห็นด้วยอย่างยิ่ง การให้คะแนนยึดเนื้อความของข้อความเป็นหลัก หากข้อความใดมีลักษณะเป็นบวก คือ มีเนื้อความเป็นไปตามประสงค์ ตรงกับที่ต้องการศึกษาให้คะแนน เห็นด้วยอย่างยิ่ง เห็นด้วย ไม่แน่ใจ ไม่เห็นด้วยและไม่เห็นด้วยอย่างยิ่ง เป็น 5, 4, 3, 2, 1 คะแนน ตามลำดับ แต่หากข้อความใดมีลักษณะเป็นลบ คือ มีเนื้อความตรงกันข้ามกับความประสงค์ ไม่ตรงกับที่ต้องการศึกษา จะให้คะแนนกลับกัน โดยให้คะแนน เห็นด้วยอย่างยิ่ง เห็นด้วย ไม่แน่ใจ ไม่เห็นด้วย และไม่เห็นด้วยอย่างยิ่ง เป็น 1, 2, 3, 4, 5 คะแนน ตามลำดับ

2.2.3 หัวข้อการวัดหลัก ส่วนที่ 4: การปฏิบัติตามหลักการป้องกันการติดเชื้อแบบครอบจักรวาลใช้แบบประเมินค่าตามแบบลิคเคอร์ต (R.A. Likert)^{5,6} โดยสร้างข้อคำถาม ที่มีลักษณะเป็นบวกและลบพองๆ กัน และกำหนดคำตอบเป็น 5

Table 1 Number of selected items that had an Index of Concordance ≥ 0.5

Topic test	Number of selected items that had an Index of Concordance ≥ 0.5
1. Knowledge of universal precautions	
1.1. Principles of universal precautions	5
1.2. Workplace accident preventions	5
1.3. Using personal protective equipment	2
1.4. Hygiene and sanitation	5
2. Attitude in practice of universal precautions	
2.1. Principles of universal precautions	3
2.2. Workplace accident preventions	6
2.3. Using personal protective equipment	3
2.4. Hygiene and sanitation	4
3. Universal precautions practices	
3.1. Principles of universal precautions	2
3.2. Workplace accident preventions	5
3.3. Using personal protective equipment	4
3.4. Hygiene and sanitation	3

คำตอบ คือ ปฏิบัติทุกครั้ง ปฏิบัติบางครั้ง ปฏิบัติปานกลาง ปฏิบัติน้อยครั้ง และไม่เคยปฏิบัติ การให้คะแนนยึดเนื้อความของข้อความเป็นหลัก หากข้อความใดมีลักษณะเป็นบวก คือ มีเนื้อความเป็นไปตามประสงค์ ตรงกับที่ต้องการศึกษา ให้คะแนน ปฏิบัติทุกครั้ง ปฏิบัติบางครั้ง ปฏิบัติปานกลาง ปฏิบัติน้อยครั้ง และไม่เคยปฏิบัติ เป็น 5, 4, 3, 2, 1 คะแนน ตาม

ลำดับ แต่หากข้อความใดมีลักษณะเป็นลบ คือ มีเนื้อความตรงกันข้ามกับความประสงค์ ไม่ตรงกับที่ต้องการศึกษา ให้คะแนนกลับกัน โดยให้คะแนน ปฏิบัติทุกครั้งปฏิบัติบางครั้ง ปฏิบัติปานกลาง ปฏิบัติน้อยครั้งและไม่เคยปฏิบัติ เป็น 1, 2, 3, 4, 5 คะแนน ตามลำดับ

3. ผลการตรวจสอบคุณภาพของแบบวัด

3.1 การหาความเที่ยงตรงตามเนื้อหา (content validity) ทำการคัดเลือกข้อคำถามในแบบวัด ฉบับร่าง ที่มีดัชนีความสอดคล้อง (IOC) มากกว่า 0.5 และนำข้อเสนอแนะจากผู้เชี่ยวชาญ มากำหนดเป็นแบบวัด ฉบับวิจัย

3.2 การหาความเชื่อมั่น (reliability)

3.2.1 การหาความเชื่อมั่นเชิงความสอดคล้องภายใน (test-retest reliability) ผลการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์แอลฟาของครอนบาค ของแบบวัด แสดงดังตารางที่ 2

3.2.2 การตรวจสอบความเชื่อมั่นแบบวัดซ้ำ (test-retest reliability) โดยการนำแบบวัด ฉบับวิจัย ไปทำการวัดกลุ่มตัวอย่างเดิมซ้ำโดยผู้ประเมินคนเดิมภายในเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากการประเมินครั้งแรก นำคะแนนที่ได้จากการวัด 2 ครั้ง มาวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ภายในชั้น (intra-class correlation coefficient หรือ ICC) ผลการวิเคราะห์ แสดงในตารางที่ 3

วิจารณ์ผลการศึกษา (discussion)

แบบวัด ที่พัฒนาขึ้นผ่านการตรวจสอบความเที่ยงตรงตามเนื้อหา (content validity) จากผู้เชี่ยวชาญที่มีประสบการณ์ทางด้านการป้องกันการติดเชื้อ โดยคณะผู้วิจัยคัดเลือกข้อคำถามที่มีค่าดัชนีความสอดคล้อง (index of concordance: IOC) ≥ 0.5 และนำข้อเสนอแนะจากผู้เชี่ยวชาญมาปรับปรุงเป็นแบบวัด ฉบับวิจัย ผลการตรวจสอบความเชื่อมั่นโดยการหาความสอดคล้องภายในและความเชื่อมั่นแบบวัดซ้ำ พบว่าแบบวัด มีความสอดคล้องภายใน (internal consistency) อยู่ในระดับปานกลางถึงสูง มีค่าสัมประสิทธิ์แอลฟาของครอนบาค อยู่ระหว่าง 0.46 -0.98 โดยในหัวข้อการวัดหลัก เรื่อง ทักษะการปฏิบัติตามหลักการป้องกันการติดเชื้อแบบครอบจักรวาล และ การปฏิบัติตามหลักการป้องกันการติดเชื้อแบบครอบจักรวาล มีความสอดคล้องภายในอยู่ในระดับสูง (ค่าสัมประสิทธิ์แอลฟาของครอนบาค มีค่า 0.76 และ 0.98 ตามลำดับ) ค่าความสอดคล้องภายในที่สูงของ 2 หัวข้อนี้แสดง

Table 2 Cronbach's alpha coefficient of each topic test

Topic test	Cronbach's alpha coefficient
1. Knowledge of Universal Precautions	0.46
2. Attitude in practice of Universal Precautions	0.98
3. Universal Precautions practices	0.76

Table 3 Intraclass Correlation Coefficient (ICC) and level of reliability of the test

Topic test	ICC	level of reliability
1. Knowledge of universal precautions		
1.1. Principles of universal precautions	0.77	excellent
1.2. Workplace accident preventions	0.71	good
1.3. Using personal protective equipment	0.54	fair
1.4. Hygiene and sanitation	0.78	excellent
2. Attitude in practice of universal precautions		
2.1. Principles of universal precautions	0.73	good
2.2. Workplace accident preventions	0.52	fair
2.3. Using personal protective equipment	0.50	fair
2.4. Hygiene and sanitation	0.59	fair
3. Universal precautions practices		
3.1. Principles universal precautions	0.62	good
3.2. Workplace accident preventions	0.85	excellent
3.3. Using personal protective equipment	0.61	good
3.4. Hygiene and sanitation	0.36	should improve

ให้เห็นว่าข้อคำถามที่อยู่ในหัวข้อการประเมินทั้ง 2 มีเนื้อหาไปในทางเดียวกัน นั่นคือ วัดในสิ่งเดียวกัน สำหรับแบบวัด ในหัวข้อการวัดหลัก เรื่อง ความรู้เรื่องหลักการป้องกันการติดเชื้อแบบครอบจักรวาล มีความสอดคล้องภายในอยู่ในระดับปานกลาง (ค่าสัมประสิทธิ์แอลฟาของครอนบาคเท่ากับ 0.46) ซึ่งค่าความสอดคล้องที่ได้ในระดับปานกลางนี้ชี้ให้เห็นว่าแบบวัด ในหัวข้อนี้อาจต้องได้รับการปรับปรุงแก้ไขก่อนนำไปใช้จริง ซึ่งการปรับปรุงนอกจากพิจารณาในเรื่องของเนื้อหาแล้ว โดยลักษณะของการวัดในหัวข้อนี้แตกต่างจากหัวข้ออื่นๆ คือเป็นการวัดความรู้ในขณะที่หัวข้ออื่นๆ เป็นการแสดงความคิดเห็นหรือทัศนคติ ดังนั้นอาจต้องแยกหัวข้อการวัดความรู้ออกจากหัวข้อของการวัดทัศนคติ และปรับปรุงในเรื่องของเนื้อหาและเกณฑ์การให้คะแนนใหม่

สำหรับผลการตรวจสอบค่าความเชื่อมั่นแบบวัดซ้ำ (test-retest reliability) ของแบบวัด อยู่ในระดับพอใช้ถึงดีเยี่ยม (ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ภายในชั้น: Intraclass Correlation Coefficient: ICC อยู่ระหว่าง 0.50-0.85) ยกเว้นแบบวัด ในหัวข้อการวัดหลัก เรื่อง การปฏิบัติตามหลักการป้องกันการติดเชื้อแบบครอบจักรวาล ในหัวข้อการวัดย่อย เรื่อง สุขอนามัยและสุขาภิบาล มีความเชื่อมั่นแบบวัดซ้ำที่ต้องปรับปรุงแก้ไข (ค่า ICC มีค่า 0.36) ค่าความเชื่อมั่นแบบวัดซ้ำที่อยู่ในระดับดีเยี่ยมของบางหัวข้อประเมินแสดงให้เห็นว่าหัวข้อประเมินดังกล่าวมีความคงที่ (consistency) ของเนื้อหาที่ใช้ในการประเมิน สำหรับหัวข้อที่มีความเชื่อมั่นแบบวัดซ้ำอยู่ในระดับพอใช้ควรได้รับการปรับปรุงในส่วนนี้ก่อนนำแบบวัด ไปใช้ โดยอาจต้องทบทวนถึงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อค่าความเชื่อมั่น ได้แก่ ภาษาที่ใช้ในการเขียนข้อคำถาม หากใช้ภาษาที่ชัดเจนมากๆ จะช่วยให้ผู้ตอบเข้าใจความหมายได้ถูกต้องและคงที่ อ่านหรือให้ตอบก็ครั้งยังคงแปลความหมายเหมือนเดิม และจำนวนข้อคำถามแบบวัดที่มีข้อคำถามมากจะมีความเชื่อมั่นมากกว่าแบบวัดที่มีข้อคำถามน้อย เพราะวัดพฤติกรรมได้มากกว่า สำหรับจำนวนคำตอบยังมีมากความเชื่อมั่นยิ่งมาก เนื่องจากทำให้การเดาผลลง และยังทำให้ความแปรปรวนรวมของการตอบมากขึ้นรวมทั้งการควบคุมสภาพการณ์การใช้แบบวัด ต้องมีการจัดการควบคุมสภาพการณ์และสิ่งแวดล้อมที่อาจมีอิทธิพลต่อการตอบให้หมด รวมทั้งการจัดสภาพการณ์ในการตอบให้เหมือนกัน หากสภาพการณ์ที่นำแบบวัดไปใช้แตกต่างกันจะทำให้ผลการตอบแตกต่างกันมากขึ้น ความคลาดเคลื่อนจะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย⁵

สรุปผลการศึกษา (conclusion)

ผลการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ สามารถสรุปได้ว่า “แบบวัดความรู้และความตระหนักในเรื่องการป้องกันการติดเชื้อแบบครอบจักรวาล ของสาขาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่” ที่พัฒนาขึ้นมา มีความเที่ยงตรงตามเนื้อหา มีความเชื่อมั่นอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ยกเว้นหัวข้อการวัดหลักเกี่ยวกับการปฏิบัติตามหลักการป้องกันการติดเชื้อแบบครอบจักรวาล ในหัวข้อการวัดย่อย เรื่อง สุขอนามัยและสุขาภิบาล มีค่าความเชื่อมั่นแบบวัดซ้ำอยู่ในเกณฑ์ต้องปรับปรุงแก้ไข ดังนั้นก่อนนำแบบวัดนี้ไปใช้ ควรทำการปรับปรุงในหัวข้อนี้ก่อน

ข้อเสนอแนะจากผู้วิจัย

- 1) เนื่องจากเป็นแบบวัด ที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ จะเห็นว่ามีข้อคำถามบางส่วนที่ความสอดคล้องภายใน อยู่ในระดับปานกลาง และความเชื่อมั่นแบบวัดซ้ำ มีข้อคำถามบางส่วนมีค่าอยู่ในระดับต้องปรับปรุงแก้ไข ดังนั้น เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพสูงก่อนนำแบบวัดนี้ไปใช้ ควรศึกษาเพิ่มเติมในหัวข้อที่ความสอดคล้องภายใน อยู่ในระดับปานกลาง และความเชื่อมั่นแบบวัดซ้ำ อยู่ในระดับต้องปรับปรุงแก้ไข และนำไปทดสอบคุณภาพซ้ำอีกครั้งก่อนนำไปใช้
- 2) การเพิ่มระดับความเชื่อมั่น อาจทำได้โดยการแยกการวัดความรู้ ออกจากการวัดทัศนคติและการปฏิบัติตามหลักการป้องกันการติดเชื้อ เพื่อเพิ่มข้อคำถามที่มีคุณภาพ ซึ่งจำนวนข้อคำถามที่มีคุณภาพที่เพิ่มขึ้น จะมีส่วนทำให้ค่าความเชื่อมั่นเพิ่มขึ้น

กิตติกรรมประกาศ (acknowledgement)

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก ทุนโครงการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2553 คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณผู้เชี่ยวชาญทุกท่านที่ได้ทำการตรวจสอบความตรงด้านเนื้อหาของแบบวัด และขอขอบคุณนักศึกษาสาขาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ชั้นปีที่ 2 และ 4 ปีการศึกษา 2553 ที่ให้ความร่วมมือในการประเมินแบบวัด

เอกสารอ้างอิง (reference)

1. Bureau of AIDS, TB and STIs, Department of Disease Control, Ministry of Public Health. HIV situation in Thailand. [cited 2011 November 15]; Available from: <http://www.aidsthai.org/en/> (in Thai).
2. Hinjoin S, Chumkasient P; Epidemiological Information Center, Communicable Disease Epidemiological Section, Bureau of Epidemiology. Hepatitis E warning before next rainy season. WESR 2012: July 20; 43(28): 1-16 (in Thai).
3. Unahalekhaka A. Prevention of nosocomial infection: principles and guidelines. Chiang Mai: Ming Muang Nawarat Printing; 2011 (in Thai).
4. Rattanasatian K, editor. Laboratory infection-prevention and control-handbooks of Faculty of Associated Medical Sciences: Chiang Mai University. Chiang Mai: Thanaban Printing; 1999 (in Thai).
5. Kitpredaborisut B. Methodology of research instruments. Bangkok: Sam Charoen Phanit Printing; 2010 (in Thai).
6. Kaiwan Y. Design and elaborate research tools. Bangkok: Pimdee Printing; 2009 (in Thai).
7. Donaghy S. & Wass PJ. Inter-rater reliability of functional assessment in a brain injury programme. Archive of Physical Medicine and Rehabilitation 1998; 79: 1231-6.
8. Centers for Disease Control and Prevention [Internet]. USA: Universal precautions for preventing transmission of bloodborne infections [cited 2014 January 8]. Available from: <http://www.cdc.gov/niosh/topics/bbp/universal.html>
9. HICPAC, Centers for disease control and prevention [Internet]. USA: 2007 Guideline for isolation precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings [cited 2014 January 8]. Available from: <http://www.cdc.gov/hicpac/2007IP/2007isolationPrecautions.html>
10. OSHA [Internet]. U.S. Department of Labor: Healthcare wide hazards (lack of) universal precautions [cited 2014 January 8]. Available from <https://www.osha.gov/SLTC/etools/hospital/hazard/univprec/univ.html>
11. Danchaivijit S, Tragoolit M, Nitthayanggool S. editor. Universal precautions. 2nd ed. Bangkok: Thammasat Printing; 1995 (in Thai)
12. Webdb.dmsc.moph.go.th [Internet]. Bangkok. Infectious disease and carriers. [cited 2014 Jan 16]. Available from: http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_nih/a_nih_1_001c.asp?info_id=425 (in Thai).

การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาหลังจากลำดับ การรักษาด้วยแผ่นประคบร้อนร่วมกับคลื่นเสียงความถี่สูง บริเวณจุดกดเจ็บชนิดแฝงเร้นของกล้ามเนื้อบ่า

Physiological changes following therapeutic sequence of hot pack combined with ultrasound over latent myofascial trigger point of upper trapezius muscle

■ ดารารัตน์ เบนญอนญานูปาพ

Dararat Benjaboonyanupap

อุบล พิรุณसार

Ubon Pirunsan

อาทิตย์ พวงมะลิ*

Aatit Paungmali*

หน่วยปฏิบัติการวิจัยทางระบบประสาท โครงสร้างกล้ามเนื้อและอาการปวด

ภาควิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

*ผู้รับผิดชอบบทความ (E-mail: aatit.p@cmu.ac.th)

Received December 2013

Accepted as revised December 2013

Abstract

Introduction: Myofascial trigger points (MTrPs) is a common musculoskeletal pain problem among office and computer workers. In physical therapy, the hot pack followed by ultrasound (HP+US) and the ultrasound followed by hot pack (US+HP) also have been using for treatment of MTrPs pain. However, these therapeutic sequences have not been investigated for physiological effects.

Objectives: The objective of this study was to evaluate the physiological changes on therapeutic sequence of hot pack and ultrasound over the myofascial trigger point of upper trapezius muscle.

Materials and methods: Thirty subjects (i.e., 24 females, 6 males, age between 27.3 ± 4.3 years) with latent myofascial trigger point of upper trapezius muscle received both treatment conditions i.e., HP followed by US (HP+US) and ultrasound followed by hot pack (US+HP) by random with 24-48 hours interval between sessions. The outcome measures consisted of tissue blood flow: TBF, supra-thermal threshold: STT, pressure pain threshold: PPT and visual analog scale: VAS that were measured at baseline, immediate, post 30 minutes (post-30 min) and post 60 minutes (post-60 min) after treatment.

Results: The results did not demonstrate a significant difference in physiological changes between the treatment conditions ($p > 0.05$). Considering the treatment condition, the tissue blood flow and pressure pain threshold were significantly increased from baseline for both treatment conditions ($p < 0.0001$). The supra-thermal threshold and pain visual analog scale did not significantly improve from baseline for both treatment conditions.

Conclusions: It may support that both treatment conditions potentially provided clinical benefits on TBF and PPT, but not for VAS and STT. This study may provide clinical application of physical therapy's modalities for treatment of myofascial trigger point and musculoskeletal pain conditions.

Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2014; 47(1): 61-66

Keywords: hot pack, ultrasound, myofascial trigger point, treatment sequence

บทคัดย่อ

บทนำ: จุดกดเจ็บเป็นปัญหาทั่วไปที่สามารถพบได้บ่อยในกลุ่มบุคคลที่ทำงานทางด้านสำนักงานและคอมพิวเตอร์ และเป็นสาเหตุหนึ่งของอาการปวดทางระบบโครงร่างกล้ามเนื้อ ซึ่งในทางกายภาพบำบัดได้มีทั้งการใช้แผ่นประคบร้อนแล้วตามด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (HP+US) หรือการรักษาด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงแล้วตามด้วยแผ่นประคบร้อน (US+HP) เพื่อบำบัดรักษาอาการปวดกล้ามเนื้ออันเนื่องมาจากจุดกดเจ็บ

วัตถุประสงค์: การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาต่อลำดับการรักษาพร้อมของแผ่นประคบร้อนและคลื่นเสียงความถี่สูงในบริเวณจุดกดเจ็บชนิดแฝงเร้นของกล้ามเนื้อ

วัสดุและวิธีการ: ผู้เข้าร่วมการศึกษาจำนวนทั้งหมด 30 คน (หญิง 24 คน ชาย 6 คน อายุเฉลี่ย 27.3 ± 4.3 ปี) มีจุดกดเจ็บชนิดแฝงเร้นของกล้ามเนื้อบ่าทั้งสองข้าง ผู้เข้าร่วมการศึกษาทุกคนได้รับการรักษาทั้ง 2 เงื่อนไขบนบ่าแต่ละข้าง (HP+US และ US+HP) โดยทำการตรวจประเมิน อัตราการไหลเวียนโลหิตของเนื้อเยื่อ ระดับเหนือขีดกันความรู้สึกเจ็บปวดด้วยอุณหภูมิ ระดับขีดกันความรู้สึกเจ็บปวดด้วยแรงกด และระดับความรู้สึกเจ็บปวด ทั้งในช่วงก่อนการรักษา หลังการรักษาทันที หลังการรักษา 30 นาที และหลังการรักษา 60 นาที

ผลการศึกษา: พบว่าในทุกตัวแปรไม่พบความแตกต่างกันระหว่างเงื่อนไขของการรักษา ($p > 0.05$) แต่เมื่อพิจารณาภายในแต่ละเงื่อนไขของการรักษา (HP+US และ US+HP) โดยเทียบกับช่วงก่อนการรักษา (baseline) พบว่าทั้ง 2 เงื่อนไขของการศึกษา (HP+US และ US+HP) มีการพัฒนาที่ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0001$) ในตัวแปรอัตราการไหลเวียนโลหิตของเนื้อเยื่อ (TBF) และระดับขีดกันความรู้สึกเจ็บปวดด้วยแรงกด (PPT) ส่วนตัวแปรระดับเหนือขีดกันความรู้สึกเจ็บปวดด้วยอุณหภูมิ (STT) และตัวแปรระดับความรู้สึกเจ็บปวด (VAS) นั้นไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ

สรุปผลการศึกษา: ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าทั้งสองเงื่อนไขของการรักษาช่วยให้อัตราการไหลเวียนโลหิตของเนื้อเยื่อและระดับขีดกันความรู้สึกเจ็บปวดด้วยแรงกดมีการเปลี่ยนแปลงในทางที่ดีขึ้น แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงตัวแปรระดับความรู้สึกเจ็บปวดและระดับเหนือขีดกันความรู้สึกเจ็บปวดด้วยอุณหภูมิ การศึกษาในครั้งนี้อาจนำไปเป็นแนวทางในการรักษาอาการปวดอันเนื่องมาจากจุดกดเจ็บหรืออาการปวดของระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อได้

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2557; 47(1): 61-66

คำรหัส: แผ่นประคบร้อน คลื่นเสียงความถี่สูง จุดกดเจ็บ ลำดับการรักษา

บทนำ

จุดกดเจ็บเป็นสาเหตุหนึ่งที่มักพบโดยทั่วไปในบุคคลที่มีอาการปวดทางระบบโครงร่างกล้ามเนื้อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในบุคคลที่ทำงานด้านคอมพิวเตอร์และสำนักงาน (computer and office workers)¹ โดยกล้ามเนื้อบ่า (upper trapezius) ถือเป็นกล้ามเนื้อหลักที่มักพบอาการปวดกล้ามเนื้ออันเนื่องมาจากจุดกดเจ็บ^{2,3} จุดกดเจ็บแบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ จุดกดเจ็บชนิดแฝงเร้น (latent myofascial trigger point) และจุดกดเจ็บชนิดก่ออาการ (active myofascial trigger point)⁴ อาการปวดกล้ามเนื้ออันเนื่องมาจากจุดกดเจ็บชนิดแฝงเร้นนั้นหากไม่ได้รับการรักษาอาจพัฒนาไปเป็นจุดกดเจ็บชนิดก่ออาการหรือมีระดับอาการปวดเพิ่มมากขึ้นได้ ในทางกายภาพบำบัดนิยมให้การรักษาด้วยแผ่นประคบร้อนร่วมกับคลื่นเสียงความถี่สูง (hot pack combined with ultrasound) ซึ่งในทางเวชปฏิบัติคลินิกมีทั้งการให้การรักษาดังกล่าวก่อนแล้วตามด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงและการรักษาดังกล่าวแล้วตามด้วยแผ่นประคบร้อน แต่ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดเกี่ยวกับประสิทธิผลของลำดับของการรักษาต่อการตอบสนองทาง

สรีรวิทยา ในทางคลินิกปฏิบัติยังเป็นที่ถกเถียงกันถึงประสิทธิภาพในเชิงสรีรวิทยาคลินิกของลำดับการรักษา แม้แต่การศึกษาที่ผ่านก็ยังไม่ได้ไขข้อคำถามการวิจัยดังกล่าว โดยมีเพียงแต่การศึกษาถึงอุณหภูมิของเนื้อเยื่อเมื่อใช้การรักษาร่วมกันระหว่างแผ่นประคบร้อนก่อนแล้วตามด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงเท่านั้น^{5,7} ทั้งนี้ในการศึกษาวิจัยทางคลินิกมักนิยามนำตัวแปรหลักซึ่งได้แก่ อัตราการไหลเวียนโลหิตของเนื้อเยื่อ (tissue blood flow) และระดับขีดกันความรู้สึกเจ็บปวดด้วยแรงกด (pressure pain threshold) ร่วมกับตัวแปรรองคือ ระดับเหนือขีดกันความรู้สึกเจ็บปวดด้วยอุณหภูมิ (supra-thermal threshold) และระดับความรู้สึกเจ็บปวด (visual analog scale) มาพิจารณาประเมินเกี่ยวกับประสิทธิผลของการรักษาอันสอดคล้องกับการตอบสนองทางสรีรวิทยาคลินิกและสิ่งเร้าในชีวิตประจำวัน ซึ่งถือเป็นตัวแปรที่ประเมินผลรวมทั้งในเชิงประจักษ์แบบวัตถุวิสัย (objective measures) และเชิงประจักษ์แบบจิตวิสัย (subjective measures) จากอาสาสมัครในการศึกษา ดังนั้นจึงเป็นที่มาของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้เพื่อศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาคลินิกต่อลำดับการ

รักษาด้วยแผ่นประคบร้อนและคลื่นเสียงความถี่สูงบริเวณจุดกดเจ็บของกล้ามเนื้อขา

วัสดุและวิธีการ

1. กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

อาสาสมัครเข้าร่วมการศึกษาในครั้งนี้มีจำนวนทั้งหมด 30 คน (อายุ 27.3 ± 4.3 ปี, น้ำหนัก 58.1 ± 7.4 กิโลกรัม ส่วนสูง 161.5 ± 5.8 เซนติเมตร) ซึ่งมีจุดกดเจ็บชนิดแฝงเร้น (latent myofascial trigger point) ที่มีระดับขีดกันความรู้สึกเจ็บปวดด้วยแรงกดอยู่ในช่วง 2.0-2.9 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตรบนบริเวณกล้ามเนื้อขาทั้งสองข้าง ผู้เข้าร่วมการศึกษาทุกคนต้องปราศจากความผิดปกติที่มีการรบกวนทางระบบประสาท ไม่เคยได้รับการผ่าตัดหรือบาดเจ็บบริเวณคอหรือขาทั้ง 2 ข้าง และไม่มีข้อห้ามข้อควรระวังในการรักษาด้วยแผ่นประคบร้อนและคลื่นเสียงความถี่สูงมาก่อน ทั้งนี้จำนวนผู้เข้าร่วมการศึกษาทั้งหมดได้คิดคำนวณจากการศึกษานำร่อง (pilot study) โดยมีค่า Power เท่ากับ 0.8 ค่า alpha level เท่ากับ 0.05 และค่า effect size เท่ากับ 0.59

2. วิธีการศึกษา

ผู้เข้าร่วมการศึกษาได้รับการรักษาทั้ง 2 เงื่อนไขของการศึกษาโดยทำการศึกษาริเวณจุดกดเจ็บชนิดแฝงเร้นของกล้ามเนื้อขา ได้แก่ เงื่อนไขการรักษาด้วยแผ่นประคบร้อนตามด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (HP+US) และเงื่อนไขการรักษาด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงตามด้วยแผ่นประคบร้อน (US+HP) ด้วยวิธีการสุ่มแบบ stratified randomization เพื่อให้จำนวนผู้เข้าร่วมวิจัยทั้ง 30 คน ได้รับลำดับขั้นของการรักษาด้วยเงื่อนไข HP+US และ US+HP มีจำนวนที่เท่ากัน ซึ่งทั้ง 2 เงื่อนไขของการศึกษากระทำบนขาแต่ละข้างด้วยวิธีการสุ่ม (stratified random sampling) โดยมีระยะเวลาห่างกัน 24-48 ชั่วโมง ทั้งนี้ผู้เข้าร่วมการศึกษาทุกคนได้รับการตรวจประเมินอัตราการไหลเวียนโลหิตของเนื้อเยื่อ (tissue blood flow) ระดับเหนือขีดกันความรู้สึกเจ็บปวดด้วยอุณหภูมิ (supra-thermal threshold) ระดับขีดกันความรู้สึกเจ็บปวดด้วยแรงกด (pressure pain threshold) และสอบถามระดับความรู้สึกเจ็บปวด (visual analog scale) ตามลำดับโดยผู้ตรวจประเมินคนเดียวกัน (คุณ DB) ซึ่งได้รับการปิดบังเงื่อนไขของการศึกษา (blinding investigator) โดยการตรวจประเมินก่อนการรักษา (baseline) หลังการรักษาทันที (immediate) หลังการรักษา 30 นาที (post-30 min) และหลังการรักษา 60 นาที (post-60 min) โดยระหว่างนี้อาสาสมัครได้นอนพักอยู่ในห้องปฏิบัติการการวิจัยตลอดช่วงระยะเวลาของการศึกษา และมีผู้วิจัยอีกคนหนึ่ง (คุณ JA) เป็นผู้ให้การรักษาตามเงื่อนไขที่สุ่มได้ โดยที่อาสาสมัครได้ถูกจัดให้อยู่ในท่านอนคว่ำผ่อนคลายตามสบาย ศีรษะตรงเพื่อลดการยืดตึงต่อแนวกล้ามเนื้อคอซึ่งอาสาสมัครสามารถหายใจผ่านช่องของเตียงนอนได้สะดวก ทั้งนี้ก่อนการเก็บรวบรวมข้อมูลได้มีการศึกษาความน่าเชื่อถือของการวัดในตัวแปรต่างๆ ซึ่งพบว่าค่า intraclass correlation coefficients

(ICC) มีค่าอยู่ในช่วง 0.85-0.97 และมีค่า standard error of measurements (SEMs) ที่ไม่เกิน 5 เปอร์เซ็นต์ของทุกตัวแปรที่ใช้ในการศึกษา ซึ่งถือว่าอยู่ในระดับมาตรฐานการวัดที่ยอมรับได้¹¹

2.1 รายละเอียดของการรักษา

2.1.1 แผ่นประคบร้อน (hot pack)

แผ่นประคบร้อนมาตรฐาน (hot pack) ที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ใช้แผ่นประคบร้อนมาตรฐาน (standard size) ขนาด 25x30 เซนติเมตร โดยแช่อยู่ในหม้อต้ม (hydrocollator, Chattanooga, USA) ที่มีอุณหภูมิ 74.5-80.0 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที นำขึ้นมาห่อด้วยผ้าขนหนูหนา 6-8 ชั้น ก่อนนำไปวางประคบบนกล้ามเนื้อขา โดยอาสาสมัครต้องมีความรู้สึกอุ่นสบายไม่ร้อนจนเกินไปโดยกำหนดอุณหภูมิผิวหนังอยู่ในช่วง 40-45 องศาเซลเซียส หากอาสาสมัครไม่สามารถทนได้จะได้รับการคัดออกจากการศึกษา ทั้งนี้ใช้ระยะเวลาในการรักษาทั้งสิ้น 20 นาที

2.1.2 คลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasound)

คลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasound) ที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้คือเครื่อง BTL-4710 Sono Professional, BTL Medical Technologies Ltd., UK ซึ่งได้รับการเทียบมาตรฐาน (calibration) จากทางบริษัทก่อนการใช้งาน โดยทำการศึกษาริเวณจุดกดเจ็บชนิดแฝงเร้นในตำแหน่งที่มีความไวต่อการตอบสนองมากที่สุด โดยใช้ความถี่ 1 เมกะเฮิรตซ์ ความเข้ม 1.0 วัตต์ต่อตารางเซนติเมตร คลื่นแบบต่อเนื่อง (continuous mode) โดยใช้เทคนิคการเคลื่อนหัวอัลตราซาวด์ในลักษณะแบบหมุนวนซ้อนเหลื่อมกันด้วยอัตราความเร็ว 4 เซนติเมตรต่อวินาที ในขนาดพื้นที่ 10 ตารางเซนติเมตร ใช้ระยะเวลาการรักษา 5 นาที

2.2 ตัวแปรการศึกษา (outcome measures)

2.2.1 อัตราการไหลเวียนโลหิตของเนื้อเยื่อ

(tissue blood flow: TBF)

การตรวจประเมินอัตราการไหลเวียนโลหิตของเนื้อเยื่อทำได้โดยใช้เครื่อง Laser Doppler blood flow meter (Moor instruments DRT4, UK) ตรวจประเมินการไหลเวียนของโลหิตบริเวณจุดกดเจ็บต่อเนื่องกันเป็นเวลา 2.5 นาที และบันทึกค่าทุกๆ 30 วินาที ทั้งนี้ใช้ค่าเฉลี่ยที่ได้จากอัตราการไหลเวียนโลหิตของเนื้อเยื่อไปใช้เพื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติต่อไป

2.2.2 ระดับเหนือขีดกันความรู้สึกเจ็บปวดด้วยอุณหภูมิ

(supra-thermal threshold: STT)

การตรวจประเมินระดับเหนือขีดกันความรู้สึกเจ็บปวดด้วยอุณหภูมิ (supra-thermal threshold) ทำได้โดยใช้เครื่อง Thermal Sensory Analyzer รุ่น Medoc Ltd., Neuro Sensory Analyzer Model TSA-II, Israel ตรวจประเมินในระดับอุณหภูมิที่ 45, 47 และ 49 องศาเซลเซียส โดยวัดจากระดับอุณหภูมิเริ่มต้นที่ 35 องศาเซลเซียส ทั้งนี้อุณหภูมิจะเพิ่มขึ้น

ด้วยอัตรา 4 องศาเซลเซียสต่อวินาที ($^{\circ}\text{C}/\text{sec}$) และคงค้างอยู่ที่อุณหภูมิระดับต่างๆ 5 วินาที ตรวจประเมินแต่ละอุณหภูมิจำนวน 2 ครั้ง จากการสู่มัดโนมัติของเครื่อง โดยใช้ numerical rating scale (NRS) ช่วง 0 ถึง 100 มิลลิเมตร (0 คือ ไม่ปวด, 100 คือ ปวดมากที่สุด) เป็นตัวประเมินระดับความรู้สึกเจ็บปวดจากอุณหภูมิความร้อน และใช้ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการตรวจประเมินทั้ง 2 ครั้ง สำหรับวิเคราะห์ผลทางสถิติต่อไป

2.2.3 ระดับขีดกันความรู้สึกเจ็บปวดด้วยแรงกด (pressure pain threshold: PPT)

การตรวจประเมินระดับขีดกันความรู้สึกเจ็บปวดด้วยแรงกด (pressure pain threshold: PPT) ใช้เครื่อง digital pressure algometer รุ่น Somedic AB, Sollentuna, Sweden โดยให้แรงกดลงไปที่ตรงตำแหน่งของจุดกดเจ็บที่ไวต่อการตอบสนองมากที่สุด (the most sensitive spot) ของกล้ามเนื้อบ่า (upper trapezius) ด้วยอัตราความเร็ว 40 กิโลปาสกาลต่อวินาที จนกระทั่งอาสาสมัครมีความรู้สึกเปลี่ยนจากแรงกดไปเป็นความรู้สึกเจ็บเริ่มแรกจึงกดสวิตช์หยุดการทดสอบ ตรวจประเมินทั้งหมด 3 ครั้ง พักระหว่างครั้ง 30 วินาที โดยใช้ค่าเฉลี่ยของทั้ง 3 ครั้ง สำหรับการวิเคราะห์ผลทางสถิติต่อไป

2.2.4 ระดับความรู้สึกเจ็บปวด (visual analog scale: VAS)

การตรวจประเมินระดับความรู้สึกเจ็บปวดจากแรงกดลงไปที่ 3 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร โดยการให้แรงกดลงไปที่บริเวณจุดกดเจ็บชนิดแผ่ร้าวผ่านเครื่อง pressure algometer ทั้งนี้ใช้ pain visual analog scale เป็นเครื่องมือในการประเมินระดับอาการปวดในแถบวัด 0-10 เซนติเมตร (0 คือ ไม่ปวด และ 10 คือ ปวดมากที่สุด)

3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

สถิติที่ใช้วิเคราะห์ในการศึกษาค้างนี้คือ mixed model repeated measures ANOVA with Bonferroni correction for multiple comparisons เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างเงื่อนไขของการศึกษา และช่วงระยะเวลาต่างๆ ของการประเมินผล โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติไว้ที่ $p < 0.017$ (ปรับค่า p -value สำหรับ multiple comparisons; $0.05/3$)

ผลการศึกษา

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าทั้ง 2 เงื่อนไขการรักษาไม่ให้ความแตกต่างกันระหว่างเงื่อนไขของการบำบัดรักษา ($p > 0.05$) แต่เมื่อพิจารณาในรายละเอียดของแต่ละเงื่อนไขการรักษา (HP+US และ US+HP) พบว่าอัตราการไหลเวียนโลหิตของเนื้อเยื่อและระดับขีดกันความรู้สึกเจ็บปวดด้วยแรงกดมีค่าเพิ่มขึ้นจากช่วงก่อนการรักษา (baseline) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0001$) (ตารางที่ 1) แต่ในตัวแปรระดับเหนือขีดกันความรู้สึกเจ็บปวดด้วยอุณหภูมิ (STT) และระดับความรู้สึกเจ็บปวด (VAS) นั้นไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางสถิติ (ตารางที่ 2)

วิจารณ์ผลการศึกษา

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาแรกที่ได้เปรียบเทียบถึงประสิทธิภาพของลำดับการรักษาด้วยแผ่นประคบร้อนและคลื่นเสียงความถี่สูงต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของตัวแปรต่างๆ โดยที่มีผลของการศึกษาก่อนหน้าที่คล้ายคลึงกับผลการศึกษาในครั้งนี้ ได้แก่ Lehmann และคณะในปี 1978 และการศึกษาของ Draper และคณะในปี 1998 ซึ่งได้ศึกษาผลของอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงไปภายหลังการรักษาด้วยแผ่นประคบร้อนแล้วตามด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (HP+US) โดยการศึกษาทั้งสอง แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิของเนื้อเยื่อชั้นตื้น (superficial tissue layer) จะเพิ่มมากขึ้นภายหลังการรักษาด้วยแผ่นประคบร้อน (HP) ส่วนอุณหภูมิของเนื้อเยื่อชั้นลึก (deep tissue layer) จะเพิ่มมากขึ้นภายหลังการรักษาด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง อีกทั้งได้สะท้อนให้เห็นถึงการไหลเวียนโลหิตที่เพิ่มมากขึ้นอันเป็นผลมาจากความร้อนที่เกิดขึ้นภายในเนื้อเยื่อ^{5,6} อีกทั้งการศึกษาของ Holcomb และคณะในปี 2003 ที่รายงานผลการรักษาร่วมกันของการให้ความร้อนระดับตื้นก่อนรักษาด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง พบว่าการรักษาด้วยความร้อนระดับตื้นก่อนรักษาด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงสามารถทำให้อุณหภูมิของเนื้อเยื่อระดับลึกเพิ่มสูงขึ้นมากกว่าการรักษาด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงเพียงอย่างเดียว⁷ ซึ่งสามารถคาดเดาได้ว่าผลที่เกิดขึ้นนี้น่าจะเป็นอิทธิพลหลักจากผลของความร้อน (thermal effect) จากการรักษาด้วยแผ่นประคบร้อนและคลื่นเสียงความถี่สูงซึ่งสามารถส่งผลต่ออัตราการไหลเวียนโลหิตของเนื้อเยื่อ (TBF) และการคลายตัวของกล้ามเนื้อที่เกร็งตัว

Table 1 Data of tissue blood flow (TBF) and pressure pain threshold (PPT) over trigger point of upper trapezius muscle (Mean $\pm$ SD)

Conditions	Tissue Blood Flow; TBF (flux/min)				Pressure Pain Threshold; PPT (kPa)			
	Baseline	Immediate	Post 30 min.	Post 60 min.	Baseline	Immediate	Post 30 min.	Post 60 min.
HP + US	11.28 $\pm$ 3.90	59.44 $\pm$ 41.24*	41.96 $\pm$ 28.76*	30.78 $\pm$ 24.50*	182.30 $\pm$ 31.05	201.16 $\pm$ 40.10*	207.16 $\pm$ 44.31*	218.46 $\pm$ 41.60*
US + HP	12.15 $\pm$ 4.59	66.57 $\pm$ 28.94*	33.52 $\pm$ 18.62*	28.14 $\pm$ 17.17*	168.40 $\pm$ 29.14	193.76 $\pm$ 23.77*	205.83 $\pm$ 24.00*	214.70 $\pm$ 26.59*

หมายเหตุ: ไม่มีความแตกต่างกันของค่าเริ่มต้น (baseline) ระหว่างเงื่อนไขของการศึกษา และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของทุกๆ ช่วงเวลาระหว่างเงื่อนไขของการศึกษา; * แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.0001$ เปรียบเทียบกับก่อนการรักษา (baseline)

Table 2 Data of visual analog scale (VAS) and supra-thermal threshold (STT) over trigger point of upper trapezius muscle (Mean±SD)

Conditions	Visual Analog Scale; VAS (10 cm scale)				Supra-Thermal Threshold; STT (100 mm Numerical rating scale)				
	Baseline	Immediate	Post 30 min.	Post 60 min.	Temperature	Baseline	Immediate	Post 30 min.	Post 60 min.
HP+US	7.16±2.17	6.34±2.36	6.52±2.44	6.26±2.43	45 °C	49.20±24.71	43.45±23.99	42.78±26.05	43.23±26.97
					47 °C	60.70±24.82	61.08±24.70	63.68±29.35	59.63±26.80
					49 °C	86.98±18.11	88.66±16.43	89.35±15.17	88.91±17.29
US+HP	7.18±2.32	6.72±2.58	6.52±2.78	6.62±2.67	45 °C	46.81±21.20	43.28±26.39	40.25±25.14	40.23±21.36
					47 °C	64.06±25.37	62.46±29.61	66.01±27.49	60.56±27.48
					49 °C	89.38±17.40	87.45±17.51	88.03±17.33	89.78±15.59

หมายเหตุ: ไม่มีความแตกต่างกันของค่าเริ่มต้น (baseline) ระหว่างเงื่อนไขของการศึกษา และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของทุกๆ ช่วงเวลาระหว่างเงื่อนไขการศึกษา

ตั้งเห็นผลได้จากระดับขีดกันความรู้สึกเจ็บปวดด้วยแรงกด (PPT) ที่ดีขึ้น ส่วนตัวแปรระดับความรู้สึกเจ็บปวด (VAS) และระดับเหนือขีดกันความรู้สึกเจ็บปวดด้วยอุณหภูมิ (STT) ที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงนั้น อาจเนื่องมาจากเป็นตัวแปรที่มีปัจจัยรบกวนสูงและอิงความรู้สึกในการประเมินผลค่อนข้างมาก (subjective outcome) จึงมีความแปรปรวนได้สูง นอกจากนี้ ตัวแปรระดับเหนือขีดกันความรู้สึกเจ็บปวดด้วยอุณหภูมิ (STT) ที่ใช้อุณหภูมิความร้อนที่สูงมักจะให้ความรู้สึกแบบ sharp pain (45, 47, 49 °C)⁸ ซึ่งอาจกระตุ้นให้อาสาสมัครเกิดความกลัวต่อความเจ็บปวดและเกรงถึงการบาดเจ็บได้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Robinson และคณะในปี 2010 ที่พบว่าภาวะทางด้านจิตใจโดยเฉพาะความกลัวและวิตกกังวลนั้นมีอิทธิพลและเป็นปัจจัยกวนที่สามารถส่งผลต่อตัวแปรระดับความรู้สึกเจ็บปวดต่ออุณหภูมิความร้อนในระดับที่สูงได้⁹

สำหรับข้อจำกัดของการศึกษาในครั้งนี้พบว่าตัวแปรที่นำมาใช้ประเมินไม่ได้เป็นตัวแปรที่สามารถวัดการเปลี่ยนแปลงภายในเนื้อเยื่อหรือวัดอุณหภูมิที่เกิดขึ้นภายในเนื้อเยื่อได้โดยตรง แต่ Laser Doppler flow meter ถือว่าเป็นการประเมินทางอ้อมถึงผลของอุณหภูมิความร้อนที่เพิ่มขึ้นด้วยการไหลเวียนโลหิตที่เกิดขึ้นภายในเนื้อเยื่อที่มีจำนวนมากขึ้น¹⁰ อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้ยังได้หาค่าความน่าเชื่อถือของผู้ตรวจประเมิน (intra-rater reliability) ก่อนเริ่มทำการเก็บข้อมูล โดยมีค่าความน่าเชื่อถือ (ICC) ≥0.85 และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SEMs) <5% ซึ่งถือว่าอยู่ในระดับมาตรฐานที่ยอมรับได้ อีกทั้งยังได้มีการปกปิดข้อมูลเกี่ยวกับเงื่อนไขการรักษาแก่ผู้ตรวจประเมิน (investigator blinded) ประกอบกับรูปแบบของการศึกษายังเป็นการเปรียบเทียบระหว่างเงื่อนไขการรักษาภายในบุคคลเดียวกัน (within-subject) ซึ่งเป็นการศึกษาแบบ cross-over design จึงช่วยลดปัญหาในเรื่องของปัจจัยกวนต่างๆ ทางด้านกายภาพที่แตกต่างกันของแต่ละบุคคล เช่น เพศ การตอบสนองต่ออาการปวด ความรู้สึกทน

ได้ต่ออาการปวด และประสบการณ์ของอาการปวดที่เคยได้รับมาได้ ดังนั้นจึงสามารถมั่นใจได้ในระดับหนึ่งว่าผลการศึกษาที่ได้มามีความน่าเชื่อถือของข้อมูล อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์ผลเชิงนัยสำคัญทางสถิติ (statistical significance) เพียงอย่างเดียวอาจมีข้อจำกัดในเชิงการประยุกต์ใช้ในทางคลินิกได้ ซึ่งอาจต้องพิจารณานัยสำคัญทางคลินิก (clinical significance) มาประกอบด้วย ซึ่งส่วนใหญ่นิยมพิจารณาจากค่า minimal detectable changes (MDC) ทั้งนี้พบว่า ตัวแปรรองอันได้แก่ VAS และ STT ในการศึกษาครั้งนี้มีความสอดคล้องกันคือมีการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยเพียงเล็กน้อย 2 เซนติเมตร (หรือน้อยกว่า 20 มิลลิเมตร) ซึ่งถือว่ายังไม่มีความสำคัญทางคลินิก (non-clinical significance)¹² นอกจากนี้ อีกเหตุผลหนึ่งที่มีการเปลี่ยนแปลง ในตัวแปรรอง (VAS และ STT) มีการเปลี่ยนแปลงที่ไม่ชัดเจนก็อาจเนื่องจากอาสาสมัครในการศึกษาครั้งนี้มีระดับอาการปวดที่ไม่สูงมากนักและส่วนใหญ่เป็นอาการปวดแบบเรื้อรังซึ่งอาจต้องใช้การบำบัดรักษาหลายครั้งต่อเนื่องกันที่คล้ายกันกับโปรแกรมการรักษาตามปกติในทางคลินิกปฏิบัติ ซึ่งอาจให้ผลการบำบัดรักษาสะสมที่ชัดเจนและดีกว่าการรักษาเพียงครั้งเดียวตามข้อจำกัดในรูปแบบของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติอาจสรุปได้ว่าวิธีการรักษาด้วย HP+US หรือ US+HP ไม่ให้ผลที่แตกต่างกันในตัวแปรหลักที่มีความสำคัญทางคลินิก (TBF และ PPT) ซึ่งเป็นตัวแปรที่สอดคล้องกับผลของการบำบัดรักษาด้วยความร้อนและการตรวจประเมินทางคลินิกที่นิยมใช้การกดคลำตำแหน่งจุดกดเจ็บ ดังนั้นจึงอาจนำวิธีการบำบัดรักษาดังกล่าวไปประยุกต์ใช้เพื่อเป็นแนวทางหนึ่งประกอบการจัดการอาการปวดบริเวณกล้ามเนื้อเนื่องมาจากจุดกดเจ็บชนิดแฝงเร้น โดยการประยุกต์ใช้เครื่องมือทางกายภาพบำบัดโดยแผ่นประคบร้อนและคลื่นเสียงความถี่สูงต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Cook C, Burgess-Limerick R, Chang S. The prevalence of neck and upper extremity musculoskeletal symptoms in computer mouse users. *Int J Ind Ergon.* 2000; 26: 347-56.
2. Bron C, Dommerholt J, Stegenga B, Wensing M, Oostendorp RA. High prevalence of shoulder girdle muscles with myofascial trigger points in patients with shoulder pain. *BMC Musculoskelet Disord.* 2011; 12: 1-12.
3. Skootsky SA, Jaeger B, Oye RK. Prevalence of myofascial pain in general internal medicine practice. *West J Med.* 1989; 15: 157-60.
4. Simons DG, Travell JG, Simons LS. Travell & Simons' Myofascial pain and dysfunction: the trigger point manual. 2nd ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1998: 1-8.
5. Lehmann JF, Stonebridge JB, deLateur BJ, Warren CG, Halar E. Temperature in human thighs after hot pack treatment followed by ultrasound. *Arch Phys Med Rehabil.* 1978; 59: 472-5.
6. Draper DO, Harris ST, Schulthies S, Durrant E, Knight KL, Ricard M. Hot-Pack and 1-MHz ultrasound treatments have an additive effect on muscle temperature increase. *J Athl Train.* 1998; 33: 21-4.
7. Holcomb WR, Blank C. The effects of superficial heating before 1-MHz ultrasound on tissue temperature. *J Sport Rehab.* 2003; 12: 95-103.
8. Braddom RL, Chan L, Harrast MA. Physical agent modalities. In: Weber DC, Hoppe KM, editors. *Physical Medicine and Rehabilitation.* 4th ed. Philadelphia: Saunders/Elsevier; 2011: 449-67.
9. Robinson ME, Bialosky JE, Bishop MD, Price DD, George SZ. Supra-threshold scaling, temporal summation, and after-sensation: relationships to each other and anxiety/fear. *J Pain Res.* 2010; 3: 25-32.
10. Nilsson GE, Tenland T, Oberg PA. Evaluation of a laser doppler flowmeter for measurement of tissue blood flow. *IEEE Trans Biomed Eng.* 1980; BME-27: 597-604.
11. Benjaboonyanupap D, Paungmali A, Pirunsan U. Intrarater reliability of physiological measurements on latent myofascial trigger point of upper trapezius muscle. International Graduate Research Conference, 20 December 2013, The Empress Hotel, Chiangmai, Thailand: 1-7.
12. Dworkin RH, Turk DC, Wrywich KW, Beaton D, Cleeland CS, Farrar JT, et al. Interpreting the clinical importance of treatment outcomes in chronic pain clinical trial. *J Pain* 2008; 9: 105-121.

คำแนะนำสำหรับผู้เขียน

การส่งบทความต้นฉบับ

นิพนธ์ต้นฉบับสามารถส่งผ่านระบบออนไลน์เว็บไซต์ <http://www.ams.cmu.ac.th/journal> หรือ ส่งต้นฉบับจำนวน 2 ชุด พร้อมแผ่นบันทึกข้อมูล (CD) ที่ระบุโปรแกรมที่ใช้พิมพ์มายัง

บรรณาธิการวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เลขที่ 110 ถนนอินทวิโรต ต่าบลสุเทพ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่

โทรศัพท์ : (053) 945080 ต่อ 17

โทรสาร : (053) 946042

E-mail : preeyanat.v@cmu.ac.th

ข้อมูลทั่วไป

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ เป็นวารสารทางวิชาการของคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ยินดีพิจารณาบทความที่มีคุณภาพด้านเทคนิคการแพทย์ วัสดุเทคนิค กิจกรรมบำบัด กายภาพบำบัด และด้านอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับวิทยาศาสตร์สุขภาพ โดยผ่านระบบการตรวจประเมินและได้รับการยอมรับจากผู้ทรงคุณวุฒิภายในหรือภายนอก ผู้เชี่ยวชาญในสาขาวิชานั้นๆ อย่างน้อย 2 ท่าน บทความที่เสนอขอรับการพิจารณาต้องไม่เคยตีพิมพ์ หรืออยู่ในระหว่างการเสนอต่อวารสารอื่นใด บทความที่ตีพิมพ์ในวารสารนี้แล้ว ถือเป็นลิขสิทธิ์ของวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ประเภทของบทความที่ลงตีพิมพ์

1. **นิพนธ์ต้นฉบับ (Research article)** เป็นรายงานผลงานวิจัยในด้านที่เกี่ยวข้องโดยที่บทความนั้นยังไม่เคยตีพิมพ์ หรืออยู่ในระหว่างการตีพิมพ์ในวารสารอื่นใด
2. **รายงานเทคนิคทางห้องปฏิบัติการ กายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด และวัสดุเทคนิค (Short technical report)** เป็นรายงานการประยุกต์ใช้เทคนิคการตรวจในห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด และวัสดุเทคนิค โดยแสดงรายละเอียดทั้งวิธีการและผลการใช้เทคนิคนั้น เปรียบเทียบกับวิธีเดิม รวมถึงการวิจารณ์และสรุปผล
3. **นิพนธ์ปริทัศน์ (Review article)** เป็นบทความที่รวบรวมเอาผลงานในเรื่องใดเรื่องหนึ่งโดยเฉพาะ ซึ่งเคยลงตีพิมพ์แล้วนำมาวิเคราะห์วิจารณ์เปรียบเทียบเพื่อให้เกิดความกระจ่างในเรื่องนั้นยิ่งขึ้น
4. **บทความทั่วไป (General article)** เป็นบทความที่มีวิชาการเฉพาะด้านรวมอยู่ด้วยค่อนข้างน้อย เขียนเพื่อให้บุคคลทั่วไปสามารถอ่านเข้าใจตลอด
5. **บันทึก (Note)** เป็นบทความหรือรายงานผลการวิจัยคล้ายข้อ 1 และข้อ 2 แต่มีความกะทัดรัดกว่าทั้งในเนื้อหาและรายละเอียด
6. **ปกิณกะ (Miscellany)** เป็นบทความทั่วไปที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมทางด้านวิทยาศาสตร์สุขภาพ เช่น การวิจารณ์ผลเวชศาสตร์ชั้นสูง การตอบปัญหาทางด้านเวชศาสตร์ชั้นสูง เป็นต้น
7. **จดหมายถึงบรรณาธิการ (Letter to editor)** เป็นบทความทางวิชาการหรืออื่นๆ ที่เป็นบันทึกสั้นๆ ในรูปของจดหมายถึงบรรณาธิการ เพื่อแสดงความคิดเห็นและประสบการณ์ในทางวิชาการ
8. **การออกความเห็น (Commentaries)** และ รายงานการประชุม (Meeting report) การแสดงออกความเห็นสามารถแสดงความสนใจ ความสำคัญและความถูกต้องแท้จริง อย่างไรก็ตามยังสามารถแสดงความไม่เห็นด้วยได้เช่นกัน ในส่วนของรายงานการประชุมจะถูกพิจารณาในลักษณะเดียวกับการแสดงออกความเห็น

คำแนะนำสำหรับการเตรียมต้นฉบับ

1. **ภาษาที่ใช้** มี 2 ภาษาคือ ภาษาไทย และ/หรือภาษาอังกฤษ ใช้อักษร Browallia New 14 สำหรับตัวอักษรและขนาด 12 สำหรับสัญลักษณ์ ต้นฉบับภาษาไทย ควรใช้ถ้อยคำและศัพท์ภาษาไทยให้มากที่สุด โดยใช้พจนานุกรมศัพท์แพทย์อังกฤษ-ไทยฉบับราชบัณฑิตยสถานเป็นบรรทัดฐาน คำศัพท์ภาษาอังกฤษที่บัญญัติเป็นภาษาไทยแล้วแต่ยังไม่เป็นที่ทราบกันอย่างแพร่หลายหรือแปลแล้วเข้าใจยาก ให้ใส่ภาษาเดิมกำกับไว้ในวงเล็บหรืออนุโลมให้ใช้ภาษาอังกฤษได้
2. **ต้นฉบับ** ใช้กระดาษสีขาวขนาด 8.5x11 นิ้ว พิมพ์หน้าเดียว ชิดซ้าย เว้นระยะระหว่างบรรทัด 2 ช่วง (2 spaces) ใช้โปรแกรม และตัวพิมพ์มาตรฐาน มีเลขที่หน้ากำกับทุกหน้า
3. **ชื่อเรื่อง** ให้มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษเป็นข้อความสั้นๆ และสื่อความหมาย บ่งชี้ให้เห็นสาระสำคัญของเนื้อหาในบทความไม่ควรใช้คำย่อนอกจากคำย่อนั้นเป็นที่ทราบกันโดยทั่วไป
4. **ชื่อผู้แต่ง** ให้ใส่ชื่อตัวและชื่อสกุลเต็มทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ กรณีที่ผู้แต่งหลายคนให้เรียงตามลำดับความสำคัญในงานนั้นๆ และให้ระบุชื่อและสถานที่ติดต่อพร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร หรือ E-mail address ของผู้รับผิดชอบบทความเพื่อการติดต่อได้สะดวก กรณีที่มีผู้วิจัยมากกว่าหนึ่งคน ให้ลำดับด้วยตัวเลखกไว้ท้ายนามสกุล และเครื่องหมายดอกจันทน์สำหรับผู้รับผิดชอบบทความ
5. **บทคัดย่อ** ให้มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ (Abstract) ความยาวไม่เกิน 400 คำ โดยแบ่งเป็น 5 หัวข้อเรียงตามลำดับ ดังนี้ บทนำ ที่มาของปัญหาวิจัย วัตถุประสงค์ วัสดุและวิธีการ ผลการศึกษา และสรุป ผลการศึกษา ทั้งนี้ให้มีคำรหัส (Keyword) จำนวน 3-5 คำ

6. โครงสร้างของบทความ สำหรับนิพนธ์ต้นฉบับให้เรียงลำดับตามหัวข้อ ดังนี้:-

- บทนำ (Introduction) ซึ่งรวมถึงวัตถุประสงค์หรือสมมติฐานในการศึกษา เนื้อหาที่สำคัญสั้นๆ ความสำคัญของงานปัจจุบันที่กำลังทำ พร้อมอ้างถึงงานที่มีการพิมพ์เผยแพร่มาก่อนหน้าและแสดงความคิดเห็นประกอบ
- วัสดุและวิธีการ (Materials and methods) การทดลองสั้นๆ พอที่ผู้อ่านเข้าใจในรายละเอียดของการศึกษา และผู้อ่านอาจสามารถนำไปทดลองต่อได้
- ผลการศึกษา (Results) ผลการศึกษารายละเอียดเฉพาะผลการศึกษาที่ได้รับจากการศึกษานี้ เช่น ข้อมูลจากรูปภาพ ตารางข้อมูล สามารถอธิบายเหตุผลที่เกินกว่าข้อมูลได้ในส่วนของวิจารณ์ผลการศึกษา
- วิจารณ์ผลการศึกษา (Discussion)
- สรุปผลการศึกษา (Conclusion)
- กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement) กรณีที่งานวิจัยนั้นได้รับทุนวิจัยให้ระบุแหล่งที่มาของทุนวิจัยนั้นด้วย
- เอกสารอ้างอิง (References) การอ้างอิงเอกสารในเรื่องให้อ้างอิงเรียงตามลำดับเลขที่ของเอกสารอ้างอิงซึ่งอยู่ท้ายเรื่อง โดยใส่ตัวเลขแบบยกต่อท้ายข้อความนั้นๆ

7. ตาราง แผนภูมิ รูปภาพประกอบ

- ตาราง แผนภูมิ รูปภาพประกอบ ให้แยกไว้ต่างหาก หนึ่งไฟล์ ต่อ 1 ตาราง หรือ 1 แผนภูมิ หรือ 1 รูปภาพ บันทึกโดยใช้นามสกุล .jpg หรือ .tif ให้มีความละเอียดเพียงพอ
- คำอธิบายรูป (Figure legend) ให้พิมพ์แยกไว้ต่างหาก คำอธิบายภายในรูปให้ใช้ภาษาอังกฤษ
- ชื่อตารางและคำอธิบายในตารางให้ใช้ภาษาอังกฤษ

การตรวจทาน (Proof)

บทความที่ได้รับการยอมรับให้พิมพ์จะส่งกลับไปยังผู้วิจัยเพื่อตรวจทานผ่าน E-mail ของผู้วิจัยก่อนการตีพิมพ์

ค่าใช้จ่ายในการพิมพ์ (Page charge)

ไม่มี

การเขียนเอกสารอ้างอิง

1. การเขียนเอกสารอ้างอิง ให้ใช้ระบบแวนคูเวอร์ (Vancouver) เท่านั้น
2. เอกสารอ้างอิง ที่เป็นภาษาไทยให้แปลเป็นภาษาอังกฤษ และต่อท้ายด้วย (in Thai)

ตัวอย่างการเขียนเอกสารอ้างอิง

- Halpern SD, Ubel PA, Caplan AL. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. N Engl J Med 2002 Jul 25; 347(4): 284-7
- Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. Brain Res 2002; 935(1-2): 40-6
- Geraud G, Spierings EL, Keywood C. Tolerability and safety of frovatriptan with short- and long-term use for treatment of migraine and in comparison with sumatriptan. Headache 2002; 42 Suppl 2: S93-9
- Abood S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. Am J Nurs 2002 Jun [cited 2002Aug 12];102(6):[about 1 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm> Article
- Forooghian F, Yeh S, Faia LJ, Nussenblatt RB. Uveitic foveal atrophy: clinical features and associations. Arch Ophthalmol. 2009 Feb; 127(2): 179-86. PubMed PMID: 19204236; PubMed Central PMCID: PMC2653214 Who's Certified [Internet]. Evanston (IL): The American Board of Medical Specialists. c2000 - [cited 2001 Mar 8]. Available from: <http://www.abms.org/newsearch.asp> Cancer-Pain.org [Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16; cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.cancer-pain.org/>.
- Borkowski MM. Infant sleep and feeding: a telephone survey of Hispanic Americans [dissertation]. Mount Pleasant (MI): Central Michigan University; 2002
- Chanungklang P, Vongchan P. Screening and identification of alloantibodies in blood samples from Community Medical Service Project, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University [Term paper]. Faculty of Associated Medical Sciences: Chiang Mai University; 2012 (in Thai).
- Harnden P, Joffe JK, Jones WG, editors. Germ cell tumours V. Proceedings of the 5th Germ Cell Tumour Conference; 2001 Sep 13-15 ; Leeds, UK. New York: Springer, 2002.
- Portney JG, Watkins MP. Foundation of clinical research applications to practice. 2nd United States of America. Julie Alexandar; 2000.

Instructions for Authors

How to send original article/thesis

Original article/thesis can be submitted through the on-line system via website <http://www.ams.cmu.ac.th/journal> or by sending 2 original hard copies and CD (please specify the program used to print) to the editorial office at

The Office of Editor of Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences
Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
110 Inthawaroros Rd., T.Sriphum, A.Muang,
Chiang Mai Thailand 50200
Telephone: (053) 945080 Ext. 17 Fax: (053) 946042
E-mail: preeyanat.v@cmu.ac.th

General Principles

Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences is a scientific journal of the Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University. The articles submitted to the bulletin that are relevant to any of all aspects of Medical Technology, Radiologic Technology, Occupational Therapy, Physical Therapy and other aspects related to the health sciences are welcome. Before publication, the articles will go through a system of assessment and acceptance by at least two experts who are specialized in the relevant discipline. All manuscripts submitted to Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences should not have been previously published or under consideration for publication elsewhere. All publications are protected by the Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences' copyright.

Manuscript categories

1. Research article is a research paper that is relevant to any of all aspects described above and must not have been previously published or be under consideration for publication elsewhere.
2. Short technical report is a formal report of a technology innovation in a field of Medical laboratory, Physical Therapy, Occupational Therapy and Radiologic Technology which details method, results, discussion and conclusion.
3. Review article is an article that provides a comprehensive review of a topic having direct relevance to research on the specific topics. It analyzes or discusses research previously published by others.
4. General article is an article that is less technical and permits access by the people in general, compared to a research article.
5. Note is an article or research report similar to a research article but short and limited in scope.
6. Miscellany is an article relating to an article published in the health sciences such as a discussion of the result of laboratory medicine or to answer a research question on laboratory medicine.
7. Letters to the Editor is a technical article or notes or letter sent to a publication about issues of opinions and experiences from authors.
8. Commentaries and Meeting report are a series of comments or annotations of the meeting.

Manuscript Format

1. **Language.** Thai and/or English, Browsers New 14 for text and 12 for all symbols. For an original Thai article, the manuscript should use as many Thai words as possible. Author should use the Royal Institute English-Thai Medical Dictionary as a guideline for translation. For English words that have been formally translated into Thai, but not widely recognized or too difficult to understand, the English words can be placed in parenthesis for those original words.
2. **Format.** Print the original hard copy in A4 paper, size 8.5x11 inch, one-side printing, double spacing. Use standard program and fonts and, add page and line number for all pages.
3. **Title of the article.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
4. **Author names and affiliation.** Where the family name may be ambiguous (e.g. a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with superscript number immediately after author's name and in front of appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the province, country and, if available, the e-mail address of each author.
5. **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication, ensure that telephone and fax numbers (with postal area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author
6. **Abstract.** In Thai and English not exceeding 400 words. The abstract must include background, objectives, methods, results and conclusion, and 3-5 keywords should be included. The manuscripts should be arranged in the following headings: Abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, and Conclusion, Acknowledgement and Reference.

7. **Article structure.** Prepare according to following contents;
 - Introduction: State the objectives of work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results..
 - Materials and Methods: Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference. Only relevant modifications should be described.
 - Results: Results should be clear and concise. Present the new results of the study such as tables and figures mentioned in the main body of the article, and numbered in the order in which they appear in the text or discussion.
 - Discussion: This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.
 - Conclusions: The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a "Discussion" or "Results and Discussion".
 - Acknowledgement: Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g. providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.)
 - References: Numbering with superscript is in required.
8. **Artworks**
 - Each table, graph and figure should be self-explanatory one page per each. Save the figures as high resolution i.e., .jpg or .tiff files.
 - Separate and self-explanatory of figure legend and using English for figure description.
 - Title and description of the tables and figures should be in English.

Proof correction

The Proofs of final paper approved for publication are to be returned by e-mail to the corresponding author before publication publication.

Page charge

No page charge

References Format

1. In details of content of the article; using a superscript number after the text or paragraph to refer to the references.
2. References using the Vancouver reference system.
3. In case of references source from non-English language, translate the title to English and retain "in Thai" in the parentheses.

Examples of References list

- Halpern SD, Ubel PA, Caplan AL. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. *N Engl J Med* 2002 Jul 25; 347(4): 284-7
- Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res* 2002; 935(1-2): 40-6
- Geraud G, Spierings EL, Keywood C. Tolerability and safety of frovatriptan with short- and long-term use for treatment of migraine and in comparison with sumatriptan. *Headache* 2002; 42 Suppl 2: S93-9
- Abood S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* 2002 Jun [cited 2002Aug 12];102(6):[about 1 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm> Article
- Forooghian F, Yeh S, Faia LJ, Nussenblatt RB. Uveiticfoveal atrophy: clinical features and associations. *Arch Ophthalmol.* 2009 Feb; 127(2): 179-86. PubMed PMID: 19204236; PubMed Central PMCID: PMC2653214 Who's Certified [Internet]. Evanston (IL): The American Board of Medical Specialists. c2000 - [cited 2001 Mar 8]. Available from: <http://www.abms.org/newsearch.asp> Cancer-Pain.org [Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16; cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.cancer-pain.org/>.
- Borkowski MM. Infant sleep and feeding: a telephone survey of Hispanic Americans [dissertation]. Mount Pleasant (MI):Central Michigan University; 2002
- Chanungklang P, Vongchan P. Screening and identification of alloantibodies in blood samples from Community Medical Service Project, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University [Term paper]. Faculty of Associated Medical Sciences: Chiang Mai University; 2012 (in Thai).
- Harnden P, Joffe JK, Jones WG, editors. Germ cell tumours V. Proceedings of the 5th Germ Cell Tumour Conference; 2001 Sep 13-15; Leeds, UK. New York: Springer, 2002.
- Portney JG, Watkins MP. Foundation of clinical research applications to practice. 2nd United States of America. Julie Alexandar; 2000.

ใบสมัครสมาชิก

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

ที่.....
วันที่.....

ถึง บรรณาธิการวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่
ข้าพเจ้ายินดีบอกรับเป็นสมาชิกวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

โปรดจัดส่งวารสารถึงข้าพเจ้าดังนี้

นาม.....
สำนักงาน.....
บ้านเลขที่..... ถนน.....
ตำบล..... อำเภอ.....
จังหวัด.....

ข้าพเจ้าได้ส่งเงิน จำนวน.....บาท (.....)

สำหรับเป็นค่าบำรุงสมาชิก (.....) รายปี (.....) ตลอดชีพ ส่งจ่ายในนามเหรียญกษาปณ์วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่
ปณ. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มาพร้อมกับแบบฟอร์มนี้แล้ว

ลงชื่อ
(.....)

หมายเหตุ	ค่าบำรุงสมาชิกรายปี	800	บาท
	ค่าบำรุงสมาชิกตลอดชีพ	1,500	บาท