

วารสาร  
เทคโนโลยีการแพทย์  
เชียงใหม่



BULLETIN OF CHIANG MAI ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 46 ฉบับที่ 2 พฤษภาคม 2556

ISSN : 0125-5347

เทคโนโลยีการแพทย์ ภัยภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด รังสีเทคโนโลยี

# Explore new dimensions

in flow cytometry

PCL HOLDING

[wwwpclholding.com](http://wwwpclholding.com)

## Flow Cytometer

Cytomich™ FC500



CyAn™ ADP

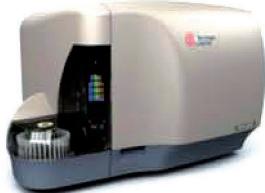


Gallios



TQ-Prep

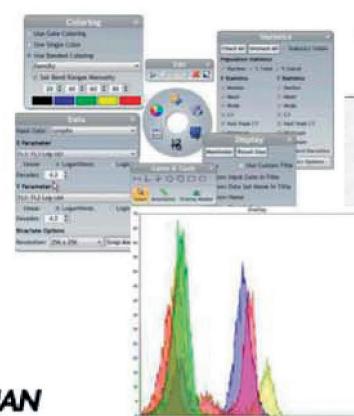
FP1000



MoFlo™ XDP Experience Xtremes

## The future of flow cytometry software

Kaluza Analysis Software



BECKMAN COULTER.

Where you can find a complete diagnostic solutions.



บริษัท พี ซี แอล โอลดิ้ง จำกัด

224/16-17 ซอยจารัสลาภ ถนนลิวิน厄 เขตบางพลัด

กรุงเทพมหานคร 10700 โทร. (662) 881-0650-57

แฟกซ์ : (662) 881-0989



# สารบัญ

สารสารเทคโนโลยีการแพทย์เชียงใหม่

## บัญชีการประชุม

81 เทคโนโลยีการสร้างภาพทางการแพทย์-เอ็นเอร์

PET-MR medical imaging technology

ณรุ่งกรรณ์ เดชสุภา

## บัญชีการตั้งบัญชี

107 การประยุกต์ใช้เทคโนโลยี SDS-PAGE เพื่อตรวจหาปริมาณ

โปรตีน Extracellular Recombinant Single-chain Variable Fragment

Anti-HIV-1 p17 จากโปรตีนรวม

The application of quantitative SDS-PAGE method for measurement of extracellular recombinant scFv anti-p17 in crude protein

กรรณกรรณ์ อินทร์ชัย

ชัยณานุช ภู่ทิม

วัชระ กาลินฤทธิ์

ชัยชัย ตะยาภิวัฒนา

บดินทร์ บุตรอินทร์

122 ผลของการออกกำลังกายด้วยเกมเด้นของเครื่องบันเก็บโดว์ต่อตัวเป็นผลกายและระบบหัวใจและหลอดเลือดในคนอ้วนเพศหญิง

The effect of exercise with dance game of Nintendo Wii toward body mass index and cardiovascular system in obese women

สรายุธ มงคล

รัชพล นุ่มหอม

ประมุข พงษ์สุวรรณ

Tribikram Thapa

พนกุธ เมธานนท์

สันติ พุฒิพิริยะ

131 การศึกษาที่ของลำตัวบนกดสอบลูกจากนั่งขึ้นยืนในพื้นที่ใหญ่ต่อต้นต้น

Research Article Trunk Displacement during the Sit-to-Stand Tests in Young Adults

สมรรถชัย จำรงค์กิจ

เอกราช วงศ์ศักยะ

สายนที ปราภรณ์นาผล

141 บทคัดย่อ

187 แบบจำลอง

189 ใบสมัครลูกค้า

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
CHIANG MAI UNIVERSITY



## BULLETIN OF CHIANG MAI ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES

Objective: Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences (Bull Chiang Mai Assoc Med Sci) is a tertiary peer-reviewed journal that publishes integrating clinical research papers. Manuscripts (original research articles, general articles, short technical reports, notes, letter to editor, miscellany and abstracts) relevant to any of all aspects of Medical Technology, Radiologic Technology, Occupational Therapy and Physical Therapy are welcome.

In addition to original articles, the Bull Chiang Mai Assoc Med Sci will publish invited editorials (relating to a manuscript in the same issue or a topic of current interest) and review articles. The goal of this journal 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, Radiologic Technology, Occupational Therapy and Physical Therapy.

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 or the Publisher.

The Bull Chiang Mai Assoc Med Sci is the official journal of the Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

### **Editor in Chief**

Associate Professor Dr. Preeyanat Vongchan

### **Associate Editor**

Associate Professor Dr. Thanusak Tatu

### **Editorial board members**

#### **Medical Technology**

Professor	Dr. Watchara	Kasinrerk	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Associate Prof.	Dr. Chatchai	Tayapiwattana	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Assistant Prof.	Dr. Rachada	Cressey	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Lecturer Dr.	Poonsub	Palacajornsuk	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Professor Emeritus	Dr. Panja	Kulapongs, M.D.	Faculty of Medicine, Chiang Mai University
Professor	Dr. Suthat	Foocharoen, M.D.	The Institute of Molecular Biosciences, Mahidol University
Professor	Dr. Pasuk	Mahakkanukrauh, M.D.	Faculty of Medicine, Chiang Mai University
Professor	Dr. Tanin	Bhoopat, M.D.	Faculty of Medicine, Chiang Mai University
Associate Prof.	Dr. Pradya	Somboon	Faculty of Medicine, Chiang Mai University
Professor	Dr. Lertlakana	Bhoopat, M.D.	Faculty of Medicine, Chiang Mai University
Professor	Dr. Thira	Sirisantana, M.D.	Research Institute for Health Sciences, Chiang Mai University
Professor	Dr. Kedsara	Na Bang Chang	Faculty of Allied Health Science, Thammasat University
Professor	Dr. Arunee	Jetsrisuparp, M.D.	Faculty of Medicine, Khon Kaen University
Associate Prof.	Dr. Supan	Foocharoen	Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University
Associate Prof.	Dr. Kunnapa	Foocharoen	Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University
Associate Prof.	Dr. Ganjana	Lertmemongkolchai	Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University
Associate Prof.	Dr. Nattaya	Sae-oung	Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University
Associate Prof.	Dr. Kanokwan	Sanchaisuriya	Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University
Professor	Dr. Nawapan	Jarurak, M.D.	Bumrungrad International Hospital, Bangkok
Associate Prof.	Warunee	Kunachiwa	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University

**Physical Therapy**

Assistant Prof.	Todsaporn	Pichaiya	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Lecturer Dr.	Araya	Yanakai	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Associate Prof.	Dr. Jongjin	Ratanapinunchai	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Assistant Prof.	Dr. Prapas	Pothongsunun	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Assistant Prof.	Dr. Somporn	Sungkarat	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Associate Prof.	Dr. Rungtiwa	Watchalathiti	Faculty of Physical Therapy, Mahidol University
Assistant Prof.	Dr. Prawit	Janwattanakul	Faculty of Allied Health Sciences, Chulalongkorn University
Assistant Prof.	Dr. Rotsalai	Kanlayanapotporn	Faculty of Allied Health Sciences, Chulalongkorn University
Assistant Prof.	Dr. Kanda	Chaipinyo	Faculty of Health Science, Srinakharinwirot University
Assistant Prof.	Dr. Rumpa	Boonsinsukh	Faculty of Health Science, Srinakharinwirot University
Assistant Prof.	Dr. Wattana	Jalayondeja	Faculty of Physical Therapy, Mahidol University
Assistant Prof.	Dr. Raweewan	Leksakulchai	Faculty of Physical Therapy, Mahidol University
Lecturer Dr.	Supalak	Khemthong	Faculty of Physical Therapy, Mahidol University
Assistant Prof.	Dr. Pornratchanee	Weerapong	Faculty of Physical Therapy, Huachiew Chalermprakiet University

**Occupational Therapy**

Associate Prof.	Dr. Wannipa	Bunrayong	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Associate Prof.	Dr. Maethisa	Pongsaksri	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Assistant Prof.	Dr. Supaporn	Chinchai	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Assistant Prof.	Dr. Peeraya	Munkhetwit	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Lecturer Dr.	Sarinya	Sriphetcharawut	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Associate Prof.	Dr. Terdchai	Shewagate, M.D.	Prostheses Foundation of HRH The Princess Mother

**Radiologic Technology**

Associate Prof.	Raweewan	Gunphairoh	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Associate Prof.	Dr. Samlee	Mankhetkorn	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Assistant Prof.	Dr. Suchart	Kothan	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Assistant Prof.	Jittiporn	Kianprasit	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Lecturer Dr.	Suwit	Saekho	Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
Professor	Dr. Chaleaw	Piyachon, M.D.	Faculty of Medicine, Chiang Mai University
Professor	Dr. Malai	Muttaruk, M.D.	Faculty of Medicine, Chiang Mai University
Professor	Dr. Tanongkiat	Kiatsiriroat	Faculty of Engineering, Chiang Mai University

**Published: Tertiaily (January, May, September)****Business Manager**

Jariya	Garthong
--------	----------

**Treasurer**

Angsumalee	Srithiruen
------------	------------

**Manager and Registra Staff**

Thanakorn	Karnluksanee
Manut	Manokhum

**Webpage administrative staff**

Anurak	Bunpun
Tapapol	Comnoi

**Subscription:** Subscriptions are to be prepaid; and rates per year: US\$ 50 for all outsides.**Editorial Office:** All correspondence should be addressed to the editor

Associate Prof. Dr. Preeyanat Vongchan

Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Sciences,

Chiang Mai University, Thailand 50200

# วารสารเทคโนโลยีการแพทย์เชียงใหม่

## วัตถุประสงค์

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ (ISSN 0125-5347) จัดทำขึ้นเพื่อเผยแพร่ผลงานทางวิชาการในสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ รังสีเทคนิค กิจกรรมบำบัด และกายภาพบำบัด ภายใต้ระบบและกระบวนการตรวจสอบมาตรฐานคุณภาพของบทความทางวิชาการด้วยผู้ทรงคุณวุฒิ ผู้มีความเชี่ยวชาญในสาขาวิชานั้น

## เจ้าของ

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

## บรรณาธิการ

รองศาสตราจารย์ ดร. ปริyanada วงศ์จันทร์

## รองบรรณาธิการ

รองศาสตราจารย์ ดร. มนูศักดิ์ ดาดุ

## กองบรรณาธิการ

### สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์

ศาสตราจารย์	ดร. วชิระ	กิติณฤกษ์
รองศาสตราจารย์	ดร. ชัยชัย	ตะยกิจวัฒนา
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. รัชดา	เครสซี่
อาจารย์ ดร.	พูนทรัพย์	ผลาจารศักดิ์
ศาสตราจารย์เกียรติคุณ	ดร. นพ. ปัญจจะ	กุลพงษ์
ศาสตราจารย์	ดร. นพ. สุทัศน์	ฟูเจริญ
ศาสตราจารย์	ดร. พาสุก	มหาราชานุเคราะห์
ศาสตราจารย์	นพ. ฐานินทร์	ภู่พัฒน์
รองศาสตราจารย์	ดร. ปรัชญา	สมบูรณ์
ศาสตราจารย์	พญ. เลิศลักษณ์	ภู่พัฒน์
ศาสตราจารย์	นพ. ชีระ	ศิริสันทนา
ศาสตราจารย์	ดร. เกศรา	ณ บางช้าง
ศาสตราจารย์	พญ. อรุณี	เจตศรีสุภาพ
รองศาสตราจารย์	ดร. ศุพรรณ	ฟูเจริญ
รองศาสตราจารย์	กุลนาภา	ฟูเจริญ
รองศาสตราจารย์	ดร. กาญจนा	เลิศมิ่งคลัชัย
รองศาสตราจารย์	ดร. ณัฐยา	แซ็ช
รองศาสตราจารย์	ดร. กนกวรรณ	แสน่ชัยสุวิยา
ศาสตราจารย์	พญ. นภาวรรณ	จาธุรักษ์
รองศาสตราจารย์	วราณุณี	คุณาชีวะ

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหิดล  
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
สถาบันวิจัยสุขภาพ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต  
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น  
โรงพยาบาลบ้านรุ่งราษฎร์ กรุงเทพมหานคร  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

## สาขาวิชากายภาพบำบัด

ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ทศพร	พิชัยยา
อาจารย์ ดร.	อาจารยา	ญาณกานต์
รองศาสตราจารย์	ดร. จ.จันทน์	รัตนาภินันท์ชัย
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. ประภาส	โพธิ์ทองเจริญ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. สมพร	สังขรัตน์
รองศาสตราจารย์	ดร. รุ่งทิวา	วัจฉลະรุติ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. ประวิตร	เจนวรรรณะกุล
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. วสันต์	กัลยานพจน์พร
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. กานดา	ชัยภูมิไชย
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. รัมภา	บุญสินศุข
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. วรรธนะ	ชาลยันเดช
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. วงศ์วรรณ	เล็กสกุลไชย
อาจารย์ ดร.	ศุภลักษณ์	เข็มทอง
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. พรวิชญ์	วิรพงษ์

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ  
คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ  
คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล  
คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล  
คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล  
คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

### สาขาวิชากิจกรรมบำบัด

รองศาสตราจารย์	ดร. วรรณิภา	บุญราษฎร์
รองศาสตราจารย์	ดร. เมธิชา	พงษ์ศักดิ์ศรี
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. สุภาพร	ชินชัย
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. พิรยา	มั่นเขตวิทย์
อาจารย์ ดร.	สรินยา	ศรีเพชรราธ
รองศาสตราจารย์	นพ. เทอดชัย	ชีวะเกตุ

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
มูลนิธิฯเที่ยมในสมเด็จพระศรีนครินทราบรมราชชนนี

### สาขาวิชาจังสีเทคนิค

รองศาสตราจารย์	ระวีวรรณ	กันไเพเจาะ
รองศาสตราจารย์	ดร. สำรี	มั่นเขตต์กรน์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	ดร. สุชาติ	โกทัณย์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์	จิตติพร	เตียมประเสริฐ
อาจารย์ ดร.	สุวิทย์	แท้โค้ด
ศาสตราจารย์	นพ. เนลลิยา	ปิยะชน
ศาสตราจารย์	พญ. มาลัย	มุตดาวรักษ์
ศาสตราจารย์	ดร. ทนงเกียรติ	เกียรติศิริโจน์

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
คณะวิชากรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

### กำหนดออก

ราย 4 เดือน (มกราคม พฤศจิกายน กันยายน)

### ผู้จัดการ

นางจริยา กopathong

### เหรัญญิก

นางสาวอังศุมาลี ศรีทิรีเว่อน

### ฝ่ายจัดการและฝ่ายทะเบียน

นายธนกร การลักษณ์  
นายมานนต์ มะโนคำ

### สารสนเทศ

นายอนุรักษ์ บุญปัน<sup>1</sup>  
นายสุปพล คำน้อย

### ดำเนินงานจัดทำโดย

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
เลขที่ 110 ถนนอินทนิลวิรารส ตำบลสุเทพ อำเภอเมือง  
จังหวัดเชียงใหม่ 50200  
โทรศัพท์ 053 945072 โทรสาร 053 946042  
Homepage <http://www.ams.cmu.ac.th>

จัดพิมพ์โดย : ไอเด้ม กรุ๊ป 106 ช.7 ต.ศรีภูมิ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ โทร. 053216962 [idem\\_groups@hotmail.com](mailto:idem_groups@hotmail.com)



# บราวน์การ

ช่วงฤดูร้อนที่ผ่านมาอากาศร้อนจัดมากในทุกภาคของประเทศไทย เป็นการตอกย้ำเราว่าจะต้องการดูแลรักษาสิ่งแวดล้อม แต่ยังไม่สายเกินไปนะครับที่ทุกท่านจะช่วยกันคลายไม้คันลงมือ ทำอะไรได้ที่เรามีศักยภาพจะทำได้ อย่ามัวผัดวันประกันพรุ่ง ร่วมกันรักษาสิ่งแวดล้อมไว้ให้ลูกหลานในวันข้างหน้า ห้ามมองไปรอบๆ ตัวก็จะเห็นว่าหลายองค์กร หลายหน่วยงานมีกิจกรรมรณรงค์และสร้างสำนึกรักษาสิ่งแวดล้อมกันอย่างเข้มแข็ง ติดตามเชือกว่าคนไทยทำได้หากคิดจะทำ ช่วยกันนะครับ

จากการเข้าประชุมสัมมนาแนวทางการจัดทำวารสารวิชาการให้ทันสมัย และเข้าสู่สากล และด้วยนโยบายการประยุกต์รักษาสิ่งแวดล้อม วารสารวิชาการด้านการแพทย์มีความเห็นพ้องต้องกันในการปรับปรุง สถานภาพและคุณภาพของวารสาร ด้วยการใช้ระบบอิเล็กทรอนิกส์ในการผลิต ทั้งนี้ หมายรวมในทุกรอบวนการตั้งแต่การรับพิจารณาบทความ การประเมินบทความ และการจัดทำในรูปแบบของวารสารอิเล็กทรอนิกส์ ยกเลิกระบบการจัดพิมพ์เอกสาร แต่สามารถเข้าสืบค้นและสั่งพิมพ์ได้ทางหน้าเว็บไซต์ ด้วยรูปแบบนี้จะสามารถพัฒนาระบบวารสารวิชาการด้านการแพทย์ของไทยให้เข้าสู่มาตรฐานสากล วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ จึงมีแนวทางตอบสนองนโยบายดังกล่าวข้างต้น โดยจะเริ่มดำเนินการวารสารอิเล็กทรอนิกส์ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557 เป็นต้นไป สามารถทุกท่านและผู้สนใจสามารถเข้าสืบค้นและดาวน์โหลดบทความวิชาการได้ตลอดเวลาไม่เสียค่าใช้จ่าย แต่อย่างใด ความคืบหน้าจะเรียนให้ทุกท่านทราบเป็นระยะ

สำหรับฉบับพุทธภานุปนี้ มีบทความที่น่าสนใจจากหลากหลายสาขา วิชาทั้งด้านกายภาพบำบัด รังสีเทคนิคและเทคนิคการแพทย์ รวมถึงการนำเสนอ ความก้าวหน้าทางวิชาการของเทคนิคการแพทย์ในรูปแบบของบทคัดย่อภาคนิพนธ์ ของนักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ ซึ่งนับว่ามีการพัฒนา ก้าวหน้า เป็นอย่างมาก

พบกันใหม่ฉบับหน้า สวัสดีค่ะ

รองศาสตราจารย์ ดร.ปริญานาถ วงศ์จันทร์  
บรรณาธิการ

ข้อมูล ทรรศนะ และข้อความใดๆ ที่ปรากฏในวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ เป็นของผู้เขียน หรือเจ้าของต้นฉบับเดิมโดยเฉพาะ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ไม่จำเป็นต้องเห็นพ้องด้วย

Review article

# PET-MR medical imaging technology

Nathupakorn Dechsupa\*

Center of Excellence for Molecular Imaging, Department of Radiologic Technology,  
Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, 50200, Thailand

Corresponding author (Email: Nathupakorn@cemithai.com)

## Abstract

Hybrid medical imaging technologies are originally occurred by a limitation of technology that is not giving clinical information completely in each one. Thus a further data acquisition by another modality is required. The diagnostic efficiency of diseases by a medical doctor is depending on clinical evidence-based information. Increased number of correct clinical data and evidence of patient is useful to a medical doctor in diagnosis and therapy and finally is health benefits to patient. It has two basically ideas in development hybrid technology are to improve a potential and performance of diagnostic machine and to fulfill complementary clinical information of patient. PET-MR imaging is a new medical imaging hybrid technology integrated from PET and MRI systems. Some advantages of MRI are high spatial and temporal resolution, provides anatomical structure and especially soft tissues, and no ionizing radiation like CT scan. PET provides insight into physiological and pathophysiological processes. It is also highly specificity and sensitivity. These advantages of PET and MRI are included simultaneously in PET-MR systems. PET-MR systems are potential and highly performance compared to PET and MRI system. This hybrid technology is a new challenge as a tool in many research areas and medical imaging applications. It is useful for diagnosis, therapeutic planning and monitoring, and drug development. In this review, principle of PET-MR systems, research and development, and clinical application are discussed. *Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2013; 46(2): 81-106*

## นิพนธ์ปริทรชน์

# เทคโนโลยีการสร้างภาพทางการแพทย์เพท-เอ็มอาร์

ณัฐพ์ภรณ์ เดชสุภา\*

ศูนย์วิจัยเพื่อความเป็นเลิศด้านการสร้างภาพระดับโมเลกุล  
ภาควิชาสรีสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

\* ผู้รับผิดชอบบทความ (Email: Nathupakorn@cmithai.com)

### บทนำ

เทคโนโลยีการสร้างภาพทางการแพทย์ลูกผสมเกิดขึ้นเนื่องจากข้อจำกัดของเทคโนโลยีการสร้างภาพทางการแพทย์ที่ไม่สามารถให้ข้อมูลที่สมบูรณ์เพียงพอสำหรับการวินิจฉัยโรคได้ในคราวเดียว จึงจำเป็นต้องมีการได้มาของข้อมูลเพิ่มเติมจากเทคนิคการสร้างภาพอื่นประกอบการวินิจฉัย ประสิทธิภาพในการตรวจวินิจฉัยโรคของแพทย์นั้นจะสัมพันธ์กับข้อมูลประภูมิของผู้ป่วย การมีข้อมูลที่ถูกต้องและมีรายละเอียดมากเพียงพอจะเป็นประโยชน์สำหรับแพทย์คือจะสามารถวินิจฉัยโรคได้อย่างถูกต้องแม่นยำและจะส่งผลดีต่อสุขภาพของผู้ป่วย ในที่สุด มีแนวคิดพื้นฐานสองข้อในการพัฒนาเทคโนโลยีลูกผสมคือการต้องการรายละเอียดของข้อมูลทางการแพทย์ที่เป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วยให้มากที่สุด และเพื่อเพิ่มขีดความสามารถและเสริมสมรรถนะของเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัยให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น การสร้างภาพเพท-เอ็มอาร์เป็นเทคโนโลยีลูกผสมระหว่างเทคโนโลยีการสร้างภาพเพทและการสร้างภาพเอ็มอาร์โดย จำกัดด้วยความสามารถให้ข้อมูลด้านโครงสร้างเนื้อเยื่ออ่อนนุ่มและไม่มีการให้รังสีก่ออ่อนซึ่งเหนือกว่าซีที และการให้ภาพที่มีรายละเอียดสูงและความถูกต้องในระยะเวลาอันสั้น ร่วมกับข้อดีของเพทที่สามารถให้ข้อมูลด้านการสร้างภาพการทำงานในระดับเซลล์และระดับโมเลกุลทั้งในสภาวะปกติและสภาวะเป็นโรคได้ดีมีความไวและความจำเพาะสูง การนำเทคโนโลยีทั้งสองมาร่วมกันให้เป็นเทคโนโลยีเพท-เอ็มอาร์ทำให้ขีดความสามารถสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเทคโนโลยีเพทหรือเอ็มอาร์โดยระบบเพท-เอ็มอาร์ซึ่งเป็นเทคโนโลยีที่ท้าทาย และเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการใช้เป็นเครื่องมือสำหรับศึกษาวิจัย การตรวจวินิจฉัยโรค การวางแผนการรักษาและติดตามการรักษาโรคในสิ่งมีชีวิตและการพัฒนา บทความนี้จะได้นำเสนอการพัฒนาเทคโนโลยีเพท-เอ็มอาร์ หลักการพื้นฐานที่เกี่ยวข้องตลอดจนการประยุกต์ใช้ในทางคลินิก สารสนเทศนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2556; 46(2): 81-106

### เทคโนโลยีการสร้างภาพทางการแพทย์เพท-เอ็มอาร์

การสร้างภาพทางการแพทย์ปัจจุบันได้ก้าวเข้าสู่การสร้างภาพระดับโมเลกุล หรือโมเลกุลาร์อิมเมจิ้ง (molecular imaging; MI) ซึ่งการสร้างภาพระดับโมเลกุลเกิดจากการบูรณาการศาสตร์หลายแขนงเข้าด้วยกันเพื่อศึกษาถึงกระบวนการและการเปลี่ยนแปลงทางชีววิทยาของสิ่งมีชีวิตในระดับเซลล์และโมเลกุลโดยอาศัยโมเลกุลติดตามแบบจำเพาะต่อเป้าหมาย (targeting molecular imaging

probes) ร่วมในกระบวนการสร้างภาพ การสร้างภาพระดับโมเลกุลจัดเป็นเทคนิคแบบไม่ทำลายและไม่ก่ออันตรายกับสิ่งตรวจวัด (non-destructive and non-invasive technique) สามารถศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายในสิ่งมีชีวิต เช่น สัตว์ทดลองหรือมนุษย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพและติดตามได้อย่างต่อเนื่องในขณะที่ยังคงมีชีวิต<sup>1</sup> การสร้างภาพระดับโมเลกุลสามารถแบ่งได้เป็น 6 กลุ่มหลักโดยอาศัยความ

แตกต่างด้านพลังงานและกระบวนการเกิดได้แก่ ซึ่หีหรือเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ เอ็มอาร์ไอ สเปค เพท อัลตร้าซาวด์ และการสร้างภาพด้วยระบบออพติค อย่างไรก็ตามในแต่ละเทคโนโลยีของการสร้างภาพย่อมมีข้อดีและข้อจำกัดแตกต่างกัน<sup>1-6</sup> ในการให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการตรวจวินิจฉัย การประเมิน รักษา และติดตามการรักษาโรค (ดังตารางที่ 1) ตัวอย่างเช่น ซึหีให้ข้อมูลด้านโครงสร้างของร่างกายได้ดีแต่ผู้ป่วยมีความเสี่ยงในการได้รับ輻นตรายจากรังสี<sup>7</sup> เอ็มอาร์ไอให้ข้อมูลด้านโครงสร้างได้ดีเช่นกันและโดยเฉพาะเนื้อเยื่ออ่อนนุ่ม<sup>7-8</sup> เช่น กล้ามเนื้อ เนื้อเยื่อสมอง ไขกระดูก เป็นต้น แต่ผู้ป่วยต้องเข้าอุโมงค์ที่มีเสียงดัง รบกวน ส่วนเพทให้ข้อมูลด้านเมตาบอลิซึมและการทำงานในระดับเซลล์ได้ดีกว่าเทคนิคอื่นแต่ต้องการใช้คลotrอน หรือเจเนเรเตอร์สำหรับผลิตเรดิโนนิวเคลียร์<sup>2, 5</sup> ในการเพิ่มขีดความสามารถในการตรวจวินิจฉัย การติดตาม และการรักษาโรคให้มีประสิทธิภาพที่สูงขึ้นได้มีการพัฒนาเทคโนโลยีการสร้างภาพลูกผสม (hybrid technology) หรือเป็นแบบหลายเทคโนโลยี (multimodality) ให้มีการซัดเชยข้อด้อยและเพิ่มจุดเด่นของแต่ละเทคโนโลยีรวมไว้ในเครื่องเดียวกัน<sup>9</sup> ตัวอย่างเช่น ในปลายศตวรรษ 1980 เทคโนโลยีการสร้างภาพสเปค-ซึหีเป็นเทคโนโลยีลูกผสมแบบแรกที่ได้เกิดขึ้น<sup>9, 10</sup> หลังจากนั้นปี ค.ศ. 1998 เพท-ซึหีกู้กู้สร้างขึ้นมา<sup>11, 12</sup> และเมื่อเดือนพฤษภาคม ค.ศ. 2001 เพท-ซึหีเครื่องแรกถูกติดตั้งเพื่อใช้ในทางคลินิกที่ศูนย์การแพทย์ มหาวิทยาลัยพิทท์เบริร์ก (The University of Pittsburgh Medical Center) และปี ค.ศ. 2011 เทคโนโลยีเพท-เอ็มอาร์กีได้ถูกสร้างขึ้นมาและนำมาใช้ในทางคลินิก นอกจากการพัฒนาด้านเครื่องมือแล้ว ได้มีการพัฒนาไมเลกุลสร้างภาพ (molecular imaging probes) ที่มีความไวและจำเพาะต่อเป้าหมายควบคู่กับเทคโนโลยีการสร้างภาพระดับโมเลกุลในแต่ละชนิดคู่ขนานกันไป

### นิยามและพัฒนาการของเทคโนโลยีเพท-เอ็มอาร์

เทคโนโลยีการสร้างภาพทางการแพทย์เพท-เอ็มอาร์ (PET-MR medical imaging technology) เป็นเทคโนโลยีลูกผสม ที่รวมเทคโนโลยีการสร้างภาพเพทและเทคโนโลยีการสร้างภาพด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าหรือเอ็มอาร์ไอเข้าด้วยกัน เพื่อเพิ่มขีดความสามารถและเสริมสมรรถนะของเทคโนโลยีให้ดียิ่งขึ้นและเพื่อให้ได้รายละเอียดของข้อมูลทางการแพทย์ที่เป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วยให้มากที่สุด<sup>9</sup> ด้วยข้อดีของเทคโนโลยีเอ็มอาร์ไอที่สามารถให้ข้อมูลด้านโครงสร้าง เนื้อเยื่ออ่อนนุ่มและไม่มีการให้รังสีก่อไอโอนซึ่งเหนือกว่าซึหี และการให้ภาพที่มีรายละเอียดสูงและความถูกต้องในระยะเวลา

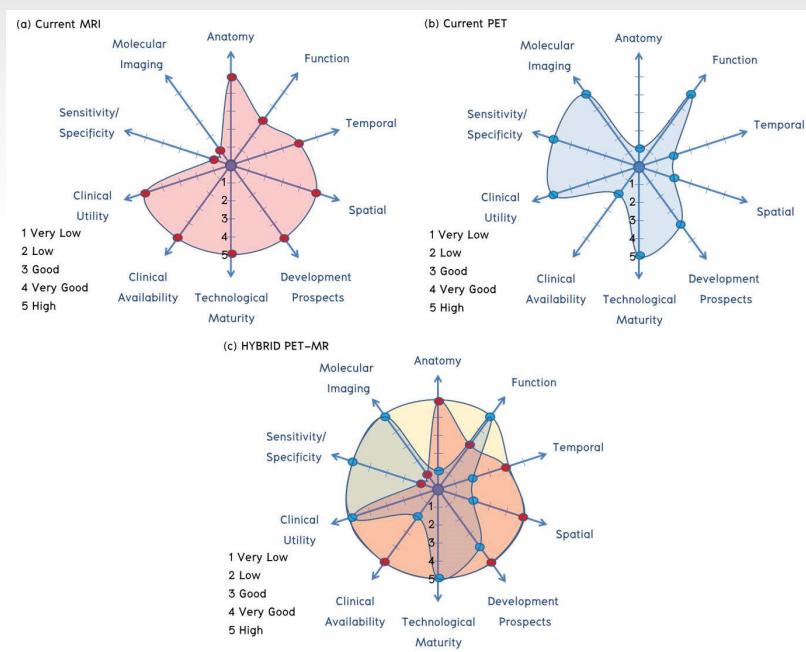
สั้นๆ (high spatial and temporal resolution) ร่วมกับข้อดีของเพทที่สามารถให้ข้อมูลด้านการสร้างภาพการทำงานในระดับเซลล์และระดับโมเลกุลได้มีความไวและความจำเพาะสูง (ดูตารางที่ 1 และรูปที่ 1 ประกอบ) การนำเทคโนโลยีทั้งสองมารวมไว้ให้เป็นเทคโนโลยีเพท-เอ็มอาร์ทำให้ขีดความสามารถด้านต่างๆ สูงขึ้นหรือเทียบเท่าเมื่อเปรียบเทียบกับเทคโนโลยีเพทหรือเอ็มอาร์ไอ<sup>8, 9</sup> (ดูรูปที่ 1) เพท-เอ็มอาร์ จึงเป็นเทคโนโลยีที่ท้าทาย น่าสนใจและเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการใช้เป็นเครื่องมือสำหรับศึกษาวิจัย การตรวจวินิจฉัยโรค การรักษาและติดตามการรักษาโรคในลิ่งมีชีวิต และการพัฒนาฯ เป็นต้น

การพัฒนาระบบเพท-เอ็มอาร์ในระยะต้นมีความก้าวกระโข 3 เรื่อง ได้แก่

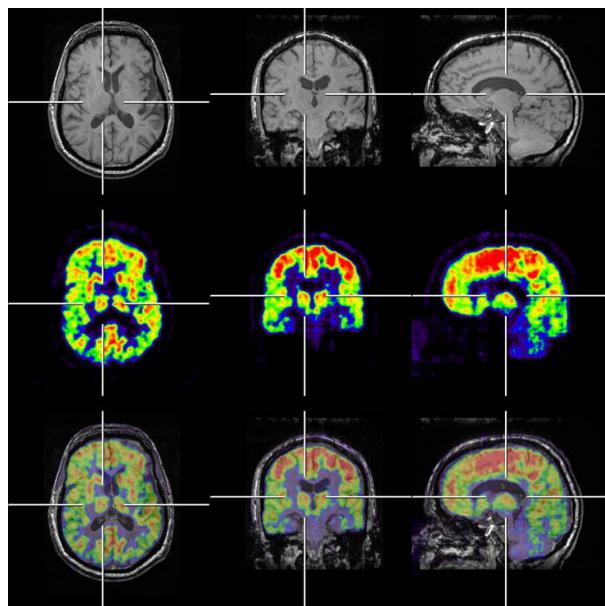
1. สนับสนุนเครื่องมือสำหรับการทำงานของหัววัดในเครื่องเพท
2. ผลกระทบที่เกิดในขณะเครื่องเอ็ม อาร์ไอทำงาน เช่น การเกิด eddy current การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ เป็นต้น
3. หัววัดในเครื่องเพท (โดยทั่วไปเป็นแบบหัววัดชนิดเรืองแสง และประกอบด้วยกับหลอด พีเอ็ม) และอีเล็กทรอนิกส์ ที่ใช้ในเครื่องมีความไวสูงต่อสนับสนุนแม่เหล็ก ทำให้เกิดคลื่นวิทยุซึ่งไปรบกวนการทำงานของเครื่องเอ็มอาร์ไอ<sup>13</sup> ทำอย่างไรให้สามารถสร้างภาพเพทและเอ็มอาร์ได้พร้อมกัน (simultaneous PET-MR) สิ่งเหล่านี้ได้เป็นความท้าทาย และปัจจุบันได้ถูกแก้ไขเป็นอย่างดี<sup>14</sup> แนวคิดการรวมระบบเพทเข้ากับเอ็มอาร์ไอไม่ใช่สิ่งใหม่ โดยปี ค.ศ. 1997 Simon Cherry และ Paul Marsden ได้นำระบบเพทและเอ็มอาร์ไอมาใช้ในการศึกษาตำแหน่งและการกระจายของสารรังสีในสัตว์ทดลอง และได้จุดประกายให้มีการพัฒนางานวิจัยระบบเพท-เอ็มอาร์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง มีความพยายามที่จะรวมสนับสนุนแม่เหล็กและตัวตรวจวัด PMT ไว้ในระบบเดียวกัน ปัจจุบันได้ใช้ไดโอดรับแสงที่ไม่มีความไวต่อสนับสนุนแม่เหล็ก เป็นตัวตรวจวัดสำหรับเพท เครื่องต้นแบบที่ได้พัฒนาขึ้นโดยบริษัทซีเมนส์ก่อนหน้านี้ได้ออกแบบเพื่อใช้สำหรับสัตว์ทดลอง<sup>15</sup> และใช้สำหรับการสร้างภาพสมองเท่านั้น ส่วนบริษัทพิลิปส์เป็นบริษัทแรกที่พัฒนาเพท-เอ็มอาร์ไอสำหรับการสร้างภาพทั้งร่างกายโดยใช้เพทและเครื่องเอ็มอาร์ไอยังคงแยกกันอยู่ เพท-เอ็มอาร์เครื่องแรกของโลกติดตั้งที่โรงพยาบาลมาท์เซนไย (Mount Sinai University) นิวยอร์ก ประเทศอเมริกา เครื่องที่สองติดตั้งที่ยูโรป ณ โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยเจนีวา (The University Hospitals of Geneva, HUG) ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ เพท-เอ็มอาร์ช่วยทำให้

**Table 1** Disadvantages and advantages of different clinical molecular imaging modalities<sup>4-8</sup>

Modality	Clinical Application (Year)	Sensitivity (M)	Spatial Resolution (μm)	Temporal Resolution	Contrast	Cost	Image information	Advantages	Disadvantages
CT (X-ray Computed Tomography)	1972	$10^{-3}$	10-50	msec	High	Medium	Anatomy and Function with CAs	High spatial resolution	Patients are exposed to radiation
SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography)	1950s	$10^{-10}$	500-1000	min	Low	Medium	Function	High sensitivity	Low spatial resolution, long-lived isotopes
PET (Positron Emission Tomography)	1985	$10^{-12}$	1000	min	Medium	High	Function and Metabolism	High sensitivity, short-lived isotopes	Low spatial resolution, cyclotron required for generating some isotopes
MRI (Magnetic Resonance Imaging)	1980	$10^{-5}$	10-100	msec	High	High	Anatomy and Function	High spatial resolution	Particle size is often large, which restricts in vivo delivery
US (Ultrasonography)	1960	$>10^6$ microbubbles per ml blood	50	msec	Medium	Medium	Anatomy and Function	High spatial resolution, cost effective	Few probes available
OI (Optical Imaging) -Fluorescence -Bioluminescence		$10^{-9}$ $10^{-9}$	1000/1-5 1000	msec	High	Low	Function	High sensitivity, high spatial resolution	Restricted depth detection



**Figure 1** Diagrams represent an overview of the strengths of (a) MRI, (b) PET and (c) hybrid PET-MR. Starting at the origin, the further one traverses along a given axis (1 to 5), the better that particular attribute is fulfilled. MRI can provide superior tissue structure, spatial resolution and the technology is widely available. However, MRI is not strong in the area of molecular imaging and its sensitivity/specificity is also somewhat limited. PET on the other hand, has poorer clinical available, spatial and temporal resolution than MRI but it is extremely specific and is also very sensitive. PET is valuable for functional study and molecular imaging. In a hybrid PET-MR capable of simultaneous measurement of all the chosen attributes are fulfilled in entirety.<sup>8</sup>



**Figure 2** PET-MR imaging with BrainPET system in a volunteer. Three representative orthogonal slices demonstrate (upper row) the alignment of anatomic (3-D T1-weighted MRI), (middle row) metabolic images (<sup>18</sup>F-FDG-PET), and (lower row) fusion imaged PET-MR.<sup>19</sup>

เกิดความเข้าใจธรรมชาติและการเกิดของโรคที่ซับซ้อนได้ยิ่งขึ้น ไม่ว่าจะเป็นมะเร็งนิรดศีรษะและคอก มะเร็งเต้านม มะเร็งต่อมลูกหมากและการติดตามการรักษา นอกจากการใช้ศึกษาวิจัยโรคมะเร็งแล้ว เพท-เอ็มอาร์ยังใช้สำหรับโรคทางด้านระบบประสาท โรคหัวใจ การติดเชื้อและการอักเสบ

เพท-เอ็มอาร์สำหรับคลินิกได้ออกสูตรตามอเมริกา ครั้งแรกเมื่อเดือนมิถุนายน ค.ศ. 2011 โดยบริษัทชีเมนล์เซลล์ แคร์ เป็นบริษัทแรกที่ผลิตเครื่องเพท-เอ็มอาร์ รุ่น Biograph mMR (molecular MR) ได้ผ่านการอนุมัติจาก FDA ว่ามีความ ปลอดภัยและใช้กับมนุษย์ได้ เครื่องเพท-เอ็มอาร์โภเครื่องแรก ที่มีการรวมเทคโนโลยีเพทและเอ็มอาร์ไว้ในความ单一 3

เทสลาไว้ในเครื่องเดียวกันซึ่งสามารถสร้างภาพโครงสร้างและภาพที่ทำงานรวมทั้งเมตาบอลิซึมของวัตถุได้ในภาพเดียวกัน โดยไม่จำเป็นต้องเคลื่อนย้ายผู้ป่วยเข้าออกกระหงว่างเครื่อง เพทสแกนและเอ็มอาร์ไอทำให้ลดปัญหาเรื่องตำแหน่งผู้ป่วย ที่ไม่ตรงกันระหว่างเครื่องสแกนทั้งสอง ซึ่งภาพที่ได้มีความถูกต้องใกล้เคียงความเป็นจริงมากที่สุดช่วยให้แพทย์ทราบข้อมูลและทำการตรวจวินิจฉัยได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น<sup>16-18</sup>

## การพัฒนาระบบเพท-เอ็มอาร์

ในข้อเท็จจริงการผสาน (integration) ระหว่าง



**Figure 3** PET-MR systems; (a) software-based fusion<sup>20</sup>, (b) hardware-based fusion<sup>21</sup> and (c) fully integrated system.<sup>18</sup>

เทคโนโลยีแต่ละชนิดสามารถทำได้โดยการใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์รวมภาพที่ได้ในแต่ละเทคนิคเข้าด้วยกันและโดยการรวมระบบฮาร์ดแวร์ (hardware) ให้เป็นระบบเดียวกัน ตัวอย่างภาพเพท-เอ็มอาร์แสดงดังรูปที่ 2<sup>19</sup> ในการผสานเทคโนโลยีเพทและเอ็มอาร์ให้เข้าด้วยกัน<sup>9</sup> (ดูรูปที่ 3) สามารถทำได้ 3 วิธีด้วยกันดังนี้

1. การสร้างภาพแยกกันอย่างอิสระในแต่ละระบบ (**separate imaging**) แล้วนำภาพเพทและภาพเอ็มอาร์วีโอลามาทำการซ้อนทับกันโดยอาศัยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ช่วย วิธีนี้ผู้ป่วยจะถูกสร้างภาพด้วยเครื่องสแกนแต่ละชนิดที่แยก การทำงานกันอย่างอิสระดังนั้นจึงต้องมีการจัดตำแหน่งผู้ป่วยใหม่ในแต่ละครั้งที่ทำการสร้างภาพ ระบบการผสานโดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ (**software-based fusion**) นี้หากต้องการสแกนเพียงระบบหนึ่งก็สามารถทำได้โดยที่เครื่องมือในแต่ละระบบไม่ส่งผลกระทบกันต่อการสร้างภาพอีกระบบหนึ่ง แต่อย่างใดระบบหนึ่งเป็นระบบแรกที่ได้มีการผสานเทคโนโลยีเพทและเอ็มอาร์วีโอลเข้าด้วยกันปัญหาที่พบคือตำแหน่งภาพของผู้ป่วยจากทั้งสองระบบจะไม่ซ้อนทับกันพอดี

การอ่านผลจากภาพช้อนทับจึงทำได้ลำบากเป็นข้อจำกัดของระบบการผลสารแบบนี้รวมทั้งใช้เวลาในการสแกนนาน 1 เริ่มหังเจ็ค อีดี้พัฒนาเทคโนโลยีลอกผู้สมด้วยแนววิธีที่<sup>20</sup>

## 2. การสร้างภาพเป็นลำดับ (sequential imaging)

หรือ **tandem PET-MR**) คือการสร้างภาพด้วยเครื่องเอ็มอาร์ไอแล้วต่อด้วยเครื่องเพท (เพท-ชีที) โดยผู้ป่วยจะถูกจัดเตรียมไว้บนเตียงขึ้นส่งผู้ป่วย (shuttle bed) ที่สามารถใช้ได้กับเครื่องสแกนทั้งสอง ผู้ป่วยไม่ต้องลงจากเตียงแต่อย่างใดพอสร้างภาพจากระบบหนึ่งเสร็จก็ย้ายเตียงเข้าสู่การสร้างภาพอีกระบบหนึ่ง เครื่องมือทั้งสองระบบนี้จะตั้งอยู่ในไกลกัน อาจอยู่ในห้องเดียวกัน ห้องติดกันหรือห้องถัดออกไป การที่ผู้ป่วยไม่ต้องลงจากเตียงและจัดตำแหน่งการถ่ายภาพใหม่ทำให้กำจัดปัญหาตำแหน่งการซ้อนทับภาพออกไป ระบบการผสานนี้จัดเป็นการผสานด้านเครื่องมือ (hardware-fused) บริษัทพิลิปส์ได้พัฒนาระบบเพท-เอ็มอาร์ชีที<sup>21</sup>

3. การรวมระบบเข้าด้วยกันอย่างสมบูรณ์ (fully integrated systems หรือ simultaneous PET-MR) ทั้งด้าน

เครื่องมือและโปรแกรม<sup>21</sup> มีข้อดีคือสามารถสร้างภาพเพท และเอ็มอาร์ไอได้พร้อมกัน ไม่ต้องมีการเคลื่อนย้ายผู้ป่วย ลงจากเตียง ลดปัญหาเรื่องความคลาดเคลื่อนด้านตำแหน่ง ผู้ป่วยลดระยะเวลาในการสแกนลงเมื่อเทียบกับระบบอื่น และต้องการพื้นที่เพียง 1 ห้อง บริษัทซีเมนส์เป็นบริษัทแรก ที่พัฒนาระบบทეท-เอ็มอาร์ไอ<sup>18</sup>

### ข้อมูลเบริยบเทียบระบบเพท-เอ็มอาร์ระหว่างผู้ผลิตหลัก

บริษัทที่พัฒนาเครื่องมือการสร้างภาพด้วยระบบเพท-เอ็มอาร์ สำหรับการประยุกต์ใช้ในทางคลินิกปัจจุบัน มีอยู่ 3 บริษัทได้แก่ บริษัทจี (GE Healthcare) บริษัทฟิลิปส์ (Philips Healthcare) และบริษัทซีเมนส์ (Siemens Healthcare) โดยมีแนวคิดในการพัฒนาเทคโนโลยีแตกต่างกันดังกล่าว ข้างต้น มีรายละเอียดข้อมูลทั่วไป การผ่านการรับรองเพื่อ การใช้ทางคลินิก (FDA, CE, TGA) และข้อมูลด้านเทคนิค (NEMA Standards NU 2-2007 test) ของผลิตภัณฑ์<sup>16-19, 21, 23-27</sup> แสดงดังตารางที่ 2 และ 3

### องค์ความรู้สำหรับเทคโนโลยีเพท-เอ็มอาร์

จะเห็นว่าเพท-เอ็มอาร์นั้นเกิดจากสองเทคโนโลยี เพทและเอ็มอาร์ไอ ดังนั้นองค์ความรู้จึงประกอบไปด้วย องค์ความรู้พื้นฐานในแต่ละเทคโนโลยีการสร้างภาพดังกล่าว นอกจานนี้ยังมีความรู้ใหม่ที่เกิดขึ้นตามมา เช่น การแก้ค่า การลด photon พลังงานไฟฟoton ด้วยเอ็มอาร์ไอ การพัฒนาสาร เกสัชรังสีและสารเบริยบต่างที่ใช้ในการสร้างภาพ และลำดับ พลัสด้วยที่ใช้ในระบบเพท-เอ็มอาร์ เป็นต้น องค์ความรู้ดังกล่าวที่นี้ จะได้กล่าวถึงต่อไป

### 1. หลักการพื้นฐานของระบบเพทและเอ็มอาร์ไอ

**1. การสร้างภาพเพท** หรือโพซิตรอนอิมิชัน トイไมกราฟี (positron emission tomography; PET) เป็น การสร้างภาพแกมมาไฟฟoton (gamma photon) ที่เกิดจาก การชนและรวมตัวกันระหว่างอนุภาคโพซิตรอน ( $\beta^+$  or  $e^+$ ) กับอิเลคตรอนของตัวกลางเรียกว่าเกิดประกายการณ์ แอนนิไฮเลชัน (annihilation) และได้แกมมาไฟฟoton 2 ตัวเกิด ขึ้นเมื่อพลังงาน 511 กีโลอิเลคตรอนโวลต์ในทิศทางตรงข้ามกัน<sup>28</sup> (รูปที่ 4) อนุภาคโพซิตรอนมาจากการสลายตัวของเรดิโโนวิคอล์ด ที่เมื่อเสียร่องน้ำ<sup>18</sup>F, <sup>64</sup>Cu และ <sup>68</sup>Ga<sup>28, 29</sup> (ดูตารางที่ 4) เคลื่อนที่ในตัวกลางด้วยพลังงานจลน์ที่สูงค่าหนึ่งและ มีค่าพลังงานลดลงตามระยะทาง เมื่อพลังงานจลน์ลดลงถึง ค่าพลังงานเทอร์มอล (thermal energy) จึงเกิดอันตรกิริยา กับ อิเลคตรอนของตัวกลางด้วยแรงทางไฟฟ้า (coulomb

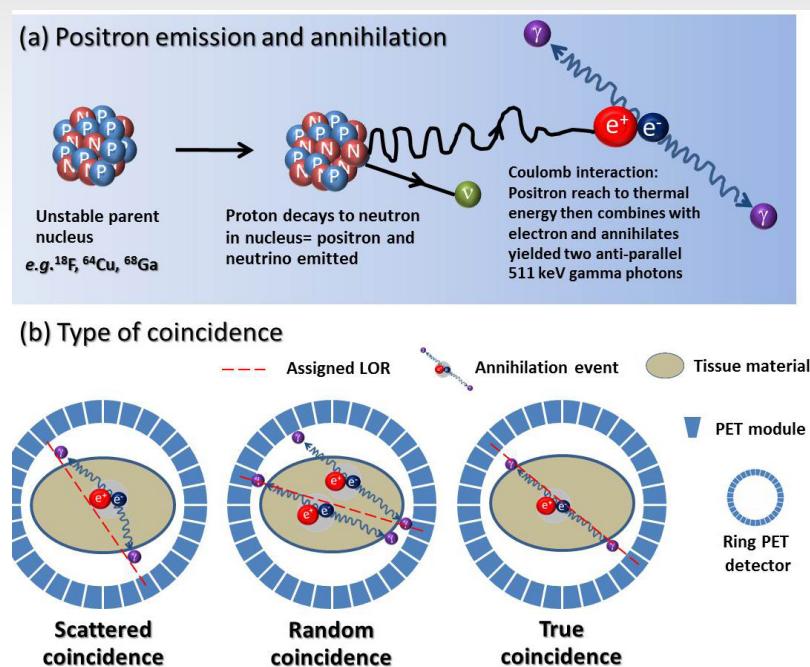
interaction) คุ้มกันไฟฟoton ที่เกิดขึ้นและอยู่ในแนวเส้น ตอบสนอง (line of response; LOR) จะถูกตรวจวัดโดย ชุดตัวตรวจวัดเพท (PET detector module) ที่มีผลึกของ สารอนินทรีย์หรืออินทิลลิเตอเรอร์ (scintillator) (ตารางที่ 5) เช่น NaI(Tl), BGO, LSO และ LYSO เป็นต้น<sup>30-33</sup> ทำหน้าที่เปลี่ยนพลังงานไฟฟoton ให้อยู่ในรูปของแสงสว่าง เป็นองค์ประกอบและบรรจุจัดเรียงตัวในบล็อก (block detector) แต่ละบล็อกจะนำมาเรียงแต่ละตัวกันเป็นวงแหวน หลายวง (multiple-rings PET detectors) ด้วยขนาดเส้นผ่านศูนย์ กลางต่างกันตามขนาดตัวอย่างที่ต้องการตรวจวัด นอกจากนี้ ในชุดตรวจวัดระบบเพทยังมีชุดวงจรสำหรับวัดปริมาณแสง ที่มาจากการชนทิลลิเตอเรอร์ด้วยตัวตรวจวัดแสง (photodetector) ที่นิยมใช้ได้แก่ PMT, APD และ SiPM ตำแหน่งการเกิดแอน- นิไฮเลชันและลัญญาณแกมมาไฟฟoton ที่ชนกับชิลลิเตอเรอร์ ในแนวเส้นตอบสนองเดียวกัน ในช่วงเวลาเดียวกัน (coincidence time) จะถูกสร้างเป็นภาพเพทตามวิธีการ สร้างภาพทางเวชศาสตร์นิวเคลียร์มาตรฐานแบบ 2D หรือ 3D ด้วยอัลกอริทึมการสร้างภาพแบบต่างๆ ได้แก่ OSEM (ordered subsets- expectation maximization algorithm), FBP (filtered back-projection) และ 3D-RP (the reprojection and filtered back-projection method)<sup>28, 34</sup> เทคโนโลยีเพทปัจจุบัน คือ TOF (time of flight) มีความไว ในการบอกตำแหน่งของ การเกิดแอนนิไฮเลชันได้เร็ว และแม่นยำยิ่งขึ้น โดยจะมีหน้าต่างเวลา (coincidence timing window) ของการนับวัดคู่แกมมาไฟฟoton แท้จริงที่ต่ำกว่า 12 นาโนวินาที โดยที่บริษัทผู้ผลิตระบบเพท-ซีทีต่างๆ จะพัฒนาขึ้นด้วยความสามารถในการวัดคู่แกมมาไฟฟoton แท้จริงได้ความไวที่แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับผลึกอนินทรีย์ ที่ต่ำ<sup>35</sup> โดยทางบริษัทฟิลิปส์ได้พัฒนาเทคโนโลยี “Astonish TF time of flight technology” ในระบบเพทที่สามารถวัด คู่แกมมาไฟฟoton ได้เร็วสุดถึง 495 พิโควินาที<sup>36</sup>

**2. การสร้างภาพเอ็มอาร์ไอ** (magnetic resonance imaging; MRI) ในทางคลินิกเป็นการสร้างภาพโดยต้องที่ เป็น องค์ประกอบของสารซีวิเมเลกุล น้ำและเนื้อเยื่อของร่างกาย ภายใต้สนามแม่เหล็กที่มีความแรงคงที่ ( $B_0$ ; 1.5 หรือ 3.0 เทสลา) โดยอาศัยหลักการที่นิวโคล์ดที่มีเลขอะตอมเป็น เลขคี่ เช่น <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>O, <sup>19</sup>F, <sup>23</sup>Na และ <sup>31</sup>P เป็นต้น นิวเคลียส เหล่านี้จะแสดงคุณสมบัติทางแม่เหล็กเรียงกันว่า นิวเคลียร์ แมกเนติกส์ไมเมนต์ ( $\mu$ ) เมื่อยื่นตัวกันจะได้สนามแม่เหล็ก หลักคงที่ จะเกิดการสั่นคลงด้วยความถี่ลาร์มอร์ (Larmor frequency:  $\omega_0 = \gamma_0 \cdot B_0$ , เมกกะเอิร์ต) โดยที่นิวโคล์ด แต่ละชนิดดังกล่าวจะมีสัดส่วนการสั่นคลงต่อสนาม

**Table 2** A comparison of PET-MR system from major vendors<sup>16-18, 21, 23-24</sup>

Item	Vendor/Product name		
	Siemens Healthcare/ BIOGRAPH mMR (molecular MR)	Philips Healthcare/ PHILIPS INGENUITY TF PET/MR SYSTEM	GE Healthcare/ PET/CT + MR I
How it works:	PET and MR technology is housed in one device, providing a single image. A PET ring detector fits inside a 3T magnet combine, simultaneously acquiring MR anatomical data and PET functional data.	Places MR and PET scanners almost 10 feet apart, with the patient table in the middle. The table rotates so the patient will be scanned in the exact same position in each machine sequentially. Data are merged via specialized software.	Combines the data, not the equipment. MR and PET exams are performed sequentially, with a shared patient transport gurney system. Patient remains in same position on the table, moving between rooms/devices. After sequential exams, the GE system merges the data set.
Features:	patient only gets scanned once	The PET and MR machines can also work independently.	Can also use PET/CT and MRI independently.
Claims:	Can scan the body in 30 minutes (versus one hour or more for sequential exams). Touts speed, lower radiation dose and greater anatomical data.	Industry's first commercially available whole body PET/MR imaging system. Also claims to produce up to 70 percent less ionizing radiation than the PET/CT.	A financially responsible solution.
Space needed	1 room as normal 3T MRI (33 m <sup>3</sup> )	1 room	2 rooms
Clinical available			
- Asia	No Data	No Data	Yes
- USA (FDA approval (510(k) clearance)	Yes -06/08/2011	Yes -11/23/2011	-GE highlighted its FDA-cleared PET/MRI system during the SNM 2011 meeting in June
- EU(CE Mark)	Approved 06/2011	Approved 01/2011	Yes
- Oceania(TGA)	Siemens Ltd - PET/MRI system ARTG number: 188470 Registered: 24/08/2011	Philips Electronics Australia Ltd - PET/MRI system ARTG number: 193622 Registered: 7/01/2012	No Data
Awards	Siemens Healthcare received the 2011 North American Frost & Sullivan Award for new product innovation for the Biograph mMR.		

\*FDA is Food and Drug Administration; \*\* CE is Conformite European Marking; \*\*\* TGA is Therapeutic Goods Administration.



**Figure 4** Principle of positron emission tomography; (a) positron emission and annihilation, and (b) type of coincidence.

**Table 3** A comparison technical information of commercially PET-MR systems<sup>25-27</sup>

	Biograph mMR Siemens' technologies	Philips Ingenuity TF PET/MR Acheiva3.0T X-series Philips	GE Healthcare
<b>MRI module</b>			
Field strength	3 Tesla	3 Tesla	3 Tesla (Discovery MR750w)
Bore size	60 cm	50 cm	70 cm
Maximum FOV	50x20x50 cm	50x50x45 cm	50x50x50 cm
System length	199 cm	157 cm	173 cm
RF Coil	32-channel RF Tim (Total imaging matrix) [102 x 18] [102 x 32]	X-Series Integrated Body Coil	OpTix optical RF technology GEM Suit
Field Homogeneity (Vrms)	<1 ppm Measured in a 12 cm-radius	0.5 ppm 40x40x40 Volume (cm)	
Gradient strength (Amplitude @ Slew rate)	MQ Gradients (45 mT/m @ 200 T/m/s)	The Quasar Dual Gradient System (80 mT/m @ 200 T/m/s)	High performance whole-body gradients (44 mT/m @ 200 T/m/s)
Helium consumption	Zero helium boil-off technology	Zero helium boil-off technology	Zero helium boil-off technology
<b>PET Module</b>			
PET Detectors	MR-compatible PET detectors; mMR block detector; APD 3x3 arrays	PMT	
Time-of-Flight	No	Yes (Astonish system)	Yes, for time of flight (TOF) information and/or a 3D model of the PET point spread function (PSF)
Scintillator Crystals (Dimension)	LSO 8x8 arrays (4 mm x 4 mm x 20 mm)	LYSO (4 mm x 4 mm x 22 mm)	LYSO (4.2 mm x 6.2 mm x 30 mm)

**Table 3** A comparison technical information of commercially PET-MR systems (cont.)

NEMA Standards NU 2-2007 test	Siemens mMR PET/MR	Philips Ingenuity TF PET/MRI	Discovery-690 PET/CT
The scatter fraction (SF) at 20 cm , 27 cm , 35 cm diameter cylinder	37.9%	26%, 35%, 42%	37%
Noise equivalent count rate (NECR) NEMA cylinder (diameter) 20 cm , 27 cm , 35 cm	183.5 kcps at 23.1 kBq.mL <sup>-1</sup>	88.5 kcps at 13.7 kBq.mL <sup>-1</sup> , 41 kcps at 9 kBq.mL <sup>-1</sup> , 16 kcps at 5.8 kBq.mL <sup>-1</sup>	139.1 kcps at 29.0 kBq.mL <sup>-1</sup> (at center of bore)
Spatial resolution (FWHM, mm): Transverse (1 cm) Axial (1 cm) Radial (10 cm) Axial (10 cm) Tangential (10 cm)	4.3 4.3 5.2 6.6 4.8	4.7 4.6 5.0 5.0 5.3	4.70 4.74 5.06 5.55 -
FOV	21.8 cm	18 cm	15.7 cm
Coincidence timing	4.5 ns	6 ns	11.7 ns
Timing resolution	2.93 ns	525 ps	544.3 ps
Energy resolution	14.5%	12%	12.4%
The absolute sensitivity	15.0 kcps/MBq	7.0 kcps/MBq	7.5 kcps/MBq

แม่เหล็ก ( $\gamma$ ; gyromagnetic ratio, เมกกะเซิร์ตต่อเทสลา) ที่จำเพาะสำหรับโปรตอนมีค่าเท่ากับ 42.58 เมกกะเซิร์ตต่อเทสลา ดังนั้นที่ความแรงสนามแม่เหล็ก 1.5 และ 3 เทสลา โปรตอนจะมีความถี่ลาร์มอร์ 63.9 และ 127.8 เมกกะเซิร์ตตามลำดับ ปกติภายในตัวสนามแม่เหล็กโลก โปรตอนต่างๆ ภายในร่างกายจะมีทิศทางของนิวเคลียร์สปิน แบบสุ่มแต่เมื่อยื่นอุ่นคงคืนสนามแม่เหล็กหลักไปร่องน้ำ บางส่วนจะมีการจัดเรียงตัวโดยมีทิศทางที่ขนาน (parallel) และบางส่วนมีทิศทางต้านสนามแม่เหล็กหลัก (anti-parallel) แต่ผลรวมของสนามแม่เหล็กของโปรตอน (net magnetization

vector; NMR) จะมีทิศทางไปในแนวเดียวกับทิศทางของสนามแม่เหล็กหลัก หากมีการให้ความถี่วิทยุ (radiofrequency; RF) ที่เท่ากับความถี่ลาร์มอร์ของโปรตอน (resonance frequency) โปรตอนจะคูลคลีนพลังงานและอยู่ในสถานะกระตุ้น (RF excitation) ทำให้สนามแม่เหล็กรวมของโปรตอนมีทิศทางเบี่ยงเบน (tilt) ไปจากแนวสนามแม่เหล็กหลัก เมื่อหยุดให้คลื่นความถี่วิทยุกับโปรตอนจะเกิดการคายพลังงานออกมานอกมาในรูปคลื่นความถี่วิทยุเช่นกัน และสามารถรับสัญญาณได้ด้วยคอยล์รับสัญญาณ (RF receiver coils) หลายชนิดได้แก่ volume coils, surface coils, intracavity coils และ phased-array

**Table 4** Numerical data for the positron-emitting radionuclides used in PET<sup>29</sup>

Nuclide	Half-life (min)	Specific Activity (Ci/μmol)	Decay (% $\beta^+$ )	$\beta^+$ Energy (MeV)		Range in Water (mm)	
				Maximum	Mean	Maximum	Mean
<sup>82</sup> Rb*	1.27	150,400	96.0	3.36	1.50	16.5	4.0
<sup>11</sup> C	20.4	9220	99.77	0.9601	0.3856	4.1	1.1
<sup>68</sup> Ga*	68.3	2766	87.7	1.8991	0.836	8.2	2.9
<sup>18</sup> F	110	1710	96.7	0.6335	0.2498	2.4	0.6
<sup>64</sup> Cu	768	245	17.87	0.6529	0.2781	2.9	0.64
<sup>89</sup> Zr	4704	39.9	23.0	0.897	0.397	4.0	1.18
<sup>124</sup> I	6048	31	11.0	1.5323	0.6859	6.3	2.3
			12.0	2.1350	0.9736	8.7	3.5

\*<sup>82</sup>Rb and <sup>68</sup>Ga are produced by radionuclide generators.

**Table 5** Physical properties of scintillator materials commonly used for PET detector<sup>30, 31</sup>

Scintillator material	Composition	Density (g/cm <sup>3</sup> )	Zeff	Linear Attenuation coefficient at 511-keV gammas (μ, cm <sup>-1</sup> )	Probability of Photoelectric Effect (%)	Light output (ph/MeV)	Decay time (ns)	Scint emission wave length (nm)	Hygroscopic	Refractive index
BGO	Bi4Ge3O1	2.71	75	0.96	40	9,000	300	480	No	2.15
LSO	Lu2SiO5:Ce	7.4	66	0.87	32	30,000	40	420	No	1.82
LYSO	Lu0.6Y1.4SiO5:Ce	5.37	54	0.50	33	46,000	53	420	No	1.81
NaI:TI	NaI:TI	3.67	51	0.35	17	41,000	230	410	Yes	1.85
CsI:TI	CsI:TI	4.51	52	0.44	21	66,000	900	550	Slightly	1.80
GSO	Gd2SiO5:Ce	6.7	59	0.71	25	8,000	60	440	No	1.85
LGSO	Lu1.8O2SiO3:Ce					23,000	40	420	No	
LuAP	LuAlO3:Ce	8.3	64.9	0.95	30	12,000	18	365	No	1.94
YAP	YAlO3:Ce	5.5	33.5	0.47	4.2	17,000	30	350	No	1.95
LPS	Lu2Si2O7:Ce	6.2	63.8	0.71	29	30,000	30	380	No	
LuAG	Lu3Al5O12:Ce	6.7	62.9	0.75	27	5,606		510	No	
BaF2	BaF2	4.9	52	0.44		2,000	0.6	310	No	1.49

coils Sudท้าย NMV จะกลับคืนสู่สถานะเดิมเหมือนก่อน การได้รับพลังงานด้วยค่าเวลาหนึ่ง เวลาในการคืนกลับสู่สถานะเดิมหรือเวลาการผ่อนคลาย (relaxation time) ของprototonในแต่ละเนื้อเยื่อจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของprototon ( $\rho$ ) หรือนิวเคลียร์spin (spin) และสิ่งแวดล้อม (lattice) เช่น สารเชื้อไม่เดาดู สารเมตาบอไลต์และสารอิเลคตอไรต์ในบริเวณข้างเคียงกับprototonที่พิจารณาการวัดสัญญาณเอ็มอาร์ไอจะมีค่าอยู่ลึกสำหรับรับสัญญาณคลื่นวิทยุที่คายออกมายังprototonใน 2 ทิศทาง คือตามทิศทางของสนามแม่เหล็กหลัก (longitudinal axis หรือ T1) กำหนดเป็นแนวแกน Z และแนวตั้งจากกับสนามแม่เหล็กหลัก (transverse axis หรือ T2) กำหนดเป็นแนวแกน xy นิยมเขียน NMV ในแนวแกน z เป็น  $M_z$  และในแนวแกน xy ได้เป็น  $M_{xy}$  เราสามารถกำหนดให้ NMV หามุ่งจากแนวแกน z ในมุมต่างๆ (Flip angle,  $\alpha$ ) เช่น 10, 30, 90 และ 180 องศาโดยการปรับแต่งขนาดของคลื่นวิทยุ ( $\beta$ ) ในกรณีที่ผลักสัญญาณ NMV ให้หามุ่ง 90 องศา เมื่อติดตามสัญญาณprototonตามเวลาหลังจากมีการให้แล้วหยุดให้คลื่นความถี่วิทยุจะพบว่า  $M_z$  จะมีลักษณะคืนกลับของสัญญาณเพิ่มขึ้นเป็นกราฟเอกโนนเนินเชี่ยล (longitudinal relaxation หรือ T1 recovery;  $M_z = M_{z0} \times [1 - e^{-TR/T1}]$ ) สัญญาณprototonจะถ่ายเทพลังงานให้กับสิ่งแวดล้อม เรียกว่าเกิด spin-lattice interaction ในขณะที่  $M_{xy}$  จะมีลักษณะสัญญาณลดลงเป็นกราฟเอกโนนเนินเชี่ยล (transverse relaxation or T2 decay;  $M_{xy} = M_{xy0} \times e^{-TE/T2}$ )

หรือเรียกว่าสัญญาณความถี่วิทยุ FID (free induction decay) ที่ถูกปลดปล่อยโดยprototon  $M_{xy}$  จะเกิดจากการแลกเปลี่ยนพลังงานระหว่างspinทำให้spinเกิดการสูญเสียเฟส (dephasing) จากการเกิด Spin-Spin interaction และจากการไม่สม่ำเสมอของสนามแม่เหล็กหลัก (inhomogeneity of static field  $B_0$ )<sup>37,38</sup> ในข้อเท็จจริงสัญญาณ NMV ประกอบด้วยสัญญาณ  $M_z$  และ  $M_{xy}$  รวมกันและความเข้มของสัญญาณเอ็มอาร์ไอ (intensity  $\propto \rho \cdot [1 - e^{-TR/T1}] \cdot e^{-TE/T2}$ ) จะสัมพันธ์กับความหนาแน่นของprototon ค่าคงที่ T1 ( $= 0.63M_{z0}$ ) และ T2 ( $= 0.37M_{xy0}$ ) ของเนื้อเยื่อ<sup>39</sup> (ตารางที่ 6) และขึ้นกับค่าเวลาการให้ความถี่วิทยุ TR (repetition time) และค่าเวลาการเก็บสัญญาณ TE (time to echo) สัญญาณของprototonในพิกัด (x,y,z) ต่างๆ จะถูกเก็บไว้ในพื้นที่ที่เรียกว่า k-space และจะถูกแปลงเป็นภาพเอ็มอาร์ไอข้าวและดำเนินด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทวารส์ฟอร์ม (fourier transform)<sup>37,38</sup>

## 2. ระบบเพท-เอ็มอาร์แบบการผสานสมบูรณ์แบบ

ดังได้กล่าวข้างต้นบริษัทชีเมนส์เอลท์แคร์เป็นบริษัทแรกและบริษัทเดียวที่พัฒนาระบบเพท-เอ็มอาร์ที่มีการผสานกันระหว่างระบบเพทและเอ็มอาร์โดยอย่างสมบูรณ์แบบ โดยพัฒนาจากการนำตัวตรวจวัดเพทสำหรับการสร้างภาพสมองไปใช้ในอุโมงค์แม่เหล็ก<sup>18, 40</sup> ดังแสดงในรูปที่ 5 วงแหวนตัวตรวจวัดแบบล็อกของระบบเพทที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 65.6 ซม. ซึ่งสามารถใส่ค่าอยู่ลึกสำหรับเอ็มอาร์

(มี FOV ขนาด 25.8 ซม.) ตัดออกไปด้านนอกจะมีผนัง (wall) กันระหว่างตัวตรวจวัดเพทและระบบเอ็มอาร์ไอที่ประกอบด้วย ส่วนของกราเดียนท์คอล (gradient coil) และส่วนระบบแม่เหล็กหลัก (magnet cryosat) ในแต่ละโมดูลของเพท (PET module) ประกอบไปด้วยส่วนต่างๆ ตามลำดับดังนี้

1. ส่วนผลักชินทิลเลเตอร์ (scintillators) ในตระกูลของ LSO ซึ่งมีคุณสมบัติที่ดี คือเวลาการคายพลังงานสั้น

ให้การส่องสว่างต่อไฟต่อนสูง ไม่ไวต่อความชื้น และคุณสมบัติทางฟิสิกส์ของผลึกอนินทรีย์อื่นๆ แสดงดังตารางที่ 3 ผลึก LSO จะวางเรียงແກาแบบอาเรย์ (เช่น 8x8 ແກา) คอยทำหน้าที่เปลี่ยนปริมาณแอนนิวิเลชันไฟต่อนเป็นสัญญาณแสง การทำให้ผลึกชินทิลเลเตอร์มีขนาดเล็กจะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพด้านการนับวัดและรายละเอียดของภาพ ในแต่ละบริษัทจะเลือกใช้ผลึกที่แตกต่างกันแต่อยู่

**Table 6** Tissue specific T1 and T2 values at 1.5 Tesla<sup>39</sup>

Tissue	T1 (ms)	T2 (ms)
Liver	675±142	54±8
Kidney	559±10	84±8
Muscle	1123±119	43±4
Gray Matter	1136±91	87±15
White Matter	889±30	86±1.5

ในตระกูล LSO โดยมีขนาดแตกต่างกัน เช่น บริษัทซีเมนส์ เลือกใช้ LSO ขนาด 4x4x20 ลบ.มม. บริษัทฟิลิปส์เลือกใช้ผลึก LYSO ขนาด 4x4x22 ลบ.มม. ส่วนบริษัทจีเอ็อกใช้ LYSO ขนาด 4.2x6.2x30 ลบ.มม. ในระบบเพท-เอ็มอาร์ที่ใช้ในงานปริคลินิกที่มีขนาดความแรงสนามแม่เหล็กสูงผลักที่ใช้จะถูกพัฒนาให้มีขนาดที่เล็กลง เช่น LSO (4x8 array; 2.22 × 2.22 × 5 มม.<sup>3</sup>)<sup>41</sup> Yoon และคณะได้สร้างระบบเพทแบบหอยหอยตัวตรวจวัด (8x8 ช่องสัญญาณ) ประกอบด้วยตัวตรวจวัดชนิดซิลิคอนไฟโตมัลติพลัติเออร์ทั้งหมด 12 โมดูลบรรจุในวงแหวนที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 16.3 ซม. และหนา 3.2 ซม. สำหรับใช้ในระบบปริคลินิกเพท-เอ็มอาร์ ตัวตรวจวัดในแต่ละโมดูลจะถูกผนึกอย่างดีเพื่อกันสัญญาณรบกวนจากคลื่นวิทยุของระบบเอ็มอาร์ให้ทั้งนี้ได้ใช้ผลึก Lu(1.9)Gd(0.1)SiO(5):Ce ขนาด 1.5 × 1.5 × 7 ลบ.มม. จำนวน 20 × 18 ผลึกเป็นตัวแปลงสัญญาณของไฟต่อน การทดลองในเนื้อเยื่อสมมุติและในหนูได้ภาพเพทที่ดีไม่มีสัญญาณรบกวนเนื่องจากสนามแม่เหล็กแต่ภาพเอ็มอาร์มีคุณภาพดีอย่างเล็กน้อย<sup>42</sup>

2. ส่วนตัววัดสัญญาณแสง (photodetector) ทำหน้าที่เปลี่ยนสัญญาณแสงเป็นสัญญาณไฟฟ้า ตัวตรวจวัดในเพทที่จะใช้ร่วมกับระบบเอ็มอาร์ไอเป็นหัวข้อใหญ่ที่ได้รับการสนใจและพัฒนาวิจัยอย่างต่อเนื่อง ในช่วงแรกได้มีการพัฒนาต้นแบบตัวตรวจวัดโดยใช้ระบบอพติกนำแสงและจากคริสตัลด้วยระยะทางยาว 2-3 เมตรไปยังตัว PMT (photomultiplier tube) ที่อยู่ภายใต้สนามแม่เหล็กความแรงต่ำ<sup>43</sup> ปัจจุบันนิยมใช้ไฟโตไดโอดชนิดอิเล็กตรอนเชิง (APD, avalanche

photodiode) ที่สามารถทนต่อสนามแม่เหล็กที่มีความแรงสูงได้และมีขนาดที่เล็ก Pichler และคณะ (2006) ได้ใช้ LSO-APD เป็นตัวตรวจวัดในระบบเพท-เอ็มอาร์ขนาด 7 เทสลา<sup>44</sup> APD สามารถขยายสัญญาณไฟต่อนได้สูดสุด 10<sup>3</sup> แต่ยังต่ำกว่า PMT (10<sup>6</sup>) APD จะถูกออกแบบเป็นอาเรย์ต่างๆ เช่น 3x3 บ.ซีเมนส์ (ดังรูปที่ 5) อย่างไรก็ได้การพัฒนาตัววัดสัญญาณแสงเพื่อใช้งานในระบบเพทก็ยังเป็นสิ่งท้าทาย ซิลิคอนไฟโตมัลติพลัติเออร์ (silicon photomultiplier; SiPM) เป็นตัวตรวจวัดแสงไฟต่อนชนิดใหม่ล่าสุดในปัจจุบัน<sup>45</sup> ซึ่งจัดเป็นอะวอลองเซชันชนิดหนึ่งคือไกเกอร์ไหมดอะวอลองเซช์ไฟโตไดโอด (Geiger-mode avalanche photodiode; G-APD) และมีชื่อเรียกได้อีกหลายชื่อ ได้แก่ มัลติพิกเซลไฟต่อนเคาน์เตอร์ หรือ เอ็มพีพีซี (multi-pixel photon counter; MPPC) และไฮลิทสเตตไฟต่อนเคาน์เตอร์ (solid-state photon counter; SSPC) ตัววัดไฟต่อนชนิดนี้มีขนาดที่เล็ก มีการขยายผลสัญญาณในระดับสูงและมีความไวต่อสนามแม่เหล็กต่ำ จึงได้รับการพัฒนาสำหรับการใช้เป็นตัวตรวจวัดไฟต่อนสำหรับระบบเพท-เอ็มอาร์และสเปค-เอ็มอาร์ เช่น ถูกพัฒนาในระบบตรวจวัด DOI-PET และระบบ 4D-MPET (4 dimensions magnetic compatible module for positron emission tomography) ซึ่งเป็นโครงสร้างการพัฒนาด้านตัวตรวจวัดเพทให้มีการใช้งานในสนามแม่เหล็กอย่างดี โดยมีการทำงานร่วมกับการใช้ผลึก LSYO ร่วมกับ SiPM เปรียบเทียบกับการใช้ APD พบว่า SiPM มีการเพิ่มสัญญาณที่ดีกว่าและตอบสนองต่ออุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงน้อยกว่า APD โดยสามารถวัดจำนวนไฟต่อนได้ตั้งแต่ 1-1000 ไฟต่อน ทั้งนี้มีพัฒนาการมาจาก APD

แต่เมื่อกำลังขยายสัญญาณเท่าเทียมกับ PMT ( $10^6$ ) ทั้ง APD และ SiPM สามารถทำงานได้ภายใต้สนามแม่เหล็กไม่เหมือนกับ PMT ดังนั้นจึงมีการใช้ APD และ SiPM เป็นตัวตรวจนิวตรอนในระบบ PET-เอกซ์เรย์<sup>42, 46, 47</sup> ปัญหาหลักของการใช้ SiPM ในระบบ PET-เอกซ์เรย์คือการเกิดการรวมกันของสัญญาณระหว่างระบบ<sup>16</sup> และการขยายสัญญาณขึ้นกับอุณหภูมิ APD จะมีการเลื่อน (gain drifts) ของสัญญาณเพิ่มขึ้น 3.5 เบอร์เซ็นต์ต่อองศาเคลวิน ซึ่งมีผลต่อการปรับแต่งสัญญาณการรวมกัน มีผลต่อความไวในการวัดไม่คงที่และส่งผลต่อการวัดปริมาณของสารรังสีในการสร้างภาพ PET<sup>14</sup> Yamamoto และคณะพบค่าการนับวัดคูโอดอนเปลี่ยนแปลงแบบผกผัน 10 เบอร์เซ็นต์ต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ 1.5 องศาเซลเซียส และนำมาใช้ในระบบ PET-เอกซ์เรย์แบบผสานสมมูลรัตน์ 0.15 เทสลา โดยไม่พบเกิดการรวมกันสัญญาณภาพเพทแต่อย่างใด แต่ค่า SNR ในภาพเอกซ์เรย์มีค่าลดลงในการสร้างภาพสมองหมู่<sup>40, 49</sup> Maramraju และคณะ (2011) ใช้สารเกลือรังสี<sup>11</sup> C-raclopride และ 2-deoxy-2-<sup>18</sup>F-fluoro-D-glucose ศึกษาสมองหมู่ด้วยระบบ PET-เอกซ์เรย์ผสานสมมูลรัตน์แบบ 9.4 เทสลา ด้วยตัวตรวจนิวตรอน LSO-APD ที่สร้างขึ้นใหม่พบว่าเกิดสัญญาณการรวมกันจากวงจรอิเลคทรอนิกส์และสนามแม่เหล็กน้อยมากและมีผลต่อค่า SNR ต่ำ<sup>50</sup>

### 3. ส่วนขยายสัญญาณ (preamplifier ASIC board)

วงจรขยายสัญญาณไฟฟ้าให้สูงขึ้นต่อร่วมอยู่กับแพร่งวงจรอิเลคทรอนิกส์ ASIC (application specific integrated circuit) ซึ่งมีหลายชั้นของสัญญาณ

**4. ส่วนขับสัญญาณ (driver board)** ส่งสัญญาณไฟฟ้าไปสู่อุปกรณ์อิเลคทรอนิกส์อื่น และเก็บข้อมูลไว้เพื่อการสร้างภาพเพทตามวิธีการสร้างภาพเพทมาตรฐานแบบ 2D หรือ 3D ต่อไป

ปัจจุบันเครื่อง PET-เอกซ์เรย์ซีเม็นส์บีโกราฟ เอ็มเอ็มอาร์ (Siemens Biograph mMR) เท่านั้นที่มีการรวมกันอย่างสมมูลรัตน์แบบระหว่างระบบเพทและระบบเอกซ์เรย์ที่สามารถสร้างภาพการทำงานและด้านโครงสร้างที่ตำแหน่งได้ฯ ได้ในเวลาเดียวกัน เครื่องของซีเม็นส์จะนำระบบเพทสแกนทั้งตัวติดตั้งอยู่ภายใต้สนามแม่เหล็กคงที่ 3 เทสลา ของเครื่องเอกซ์เรย์ และมีซอฟต์แวร์ Syngo.via ในการสร้างภาพระบบเพท-เอกซ์เรย์หรือสร้างภาพเฉพาะระบบเพทและระบบเอกซ์เรย์ได้ ระบบเพท-เอกซ์เรย์นี้ไม่ต้องการพื้นที่หรือห้องที่ใหญ่ไปกว่าห้องเอกซ์เรย์ปกติ (33 ตร.ม.) ซีเม็นส์บีโกราฟเอ็มเอ็มอาร์นี้ยังสามารถใช้สร้างภาพเฉพาะเอกซ์เรย์อย่างเดียวได้<sup>51</sup>

### 3. การแก้ค่าลดทอนพลังงานด้วยเอกซ์เรย์ (MR-based attenuation correction; MRAC)

แกมมาไฟต่อนที่เกิดจากแอนนิโอลีเซ็นเมื่อเคลื่อนที่ผ่านตัวกลาง เช่น เนื้อเยื่อที่มีความหนาแน่นหลากหลาย จะเกิดการสูญเสียพลังงานโดยจะถูกลดทอนและมากถึงตัวนับวัดไม่ต่ำกว่าความเป็นจริง ดังนั้นจึงส่งผลให้ภาพทางนิวเคลียร์ของไฟต่อนไม่ถูกต้อง จำเป็นต้องมีการแก้ค่าการลดทอน (attenuation correction) พลังงานของไฟต่อนที่ 511

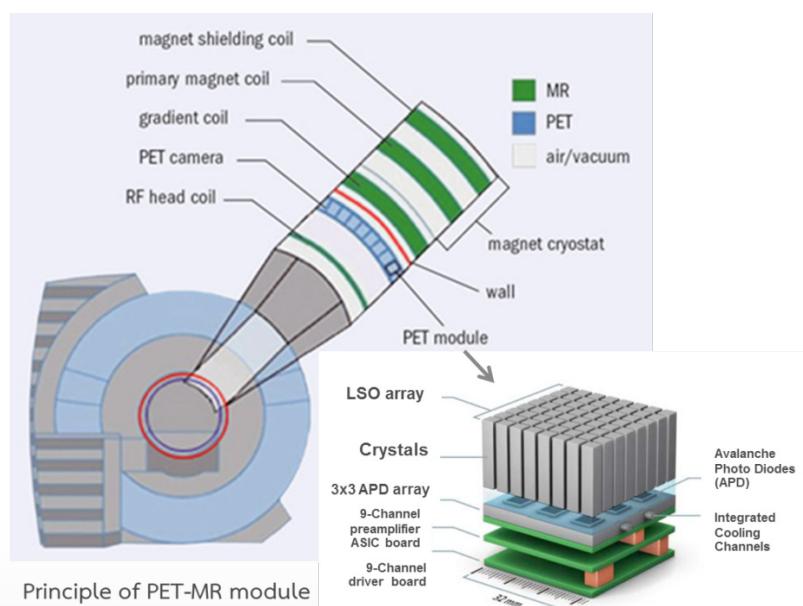


Figure 5 Principle of simultaneous PET-MR system.<sup>18, 40</sup>

กีโลอิเลคตรอนโวลต์ในตัวกลางต่าง ๆ ให้ตรงกับความเป็นจริง เพื่อจะได้สร้างภาพตำแหน่งและการกระจายตัวของสาร เกสชัรังสีที่แฟ้มให้กับเครื่องตรวจและตำแหน่งการเกิด แอนนิเมชันในตัวกลางได้อย่างถูกต้องแม่นยำรวมทั้งใช้ในการวัดเชิงปริมาณการสะสมของสารเกสชัรังสีด้วย เช่นเดียวกับระบบเพท-ซีที่ต้องทำการแก้ค่าการลดทอนพลังงาน เนื่องจากการเกิดประกายการณ์คอมพ์ตันและไฟโตอิเลคตริก โดยปัจจุบันใช้ซีที่ในการแก้ค่าการลดทอน (CT attenuation correction) สำหรับเพท-เอ็มอาร์ในการแก้ค่าต้องคำนึงถึง แหล่งกำเนิดของการสูญเสียพลังงานของไฟต่อน ซึ่งมีการสูญเสียพลังงานได้จาก 2 สาเหตุ คือ 1) การลดทอนพลังงานของไฟต่อนเนื่องจากผลของการเดินที่ของสนามแม่เหล็ก และคอยล์รับส่งสัญญาณวิทยุพร้อมวงจรอิเลคทรอนิกส์ และ 2) การลดทอนพลังงานของไฟต่อนเนื่องจากเนื้อเยื่อ ของผู้ป่วย นอกจากตัวผู้ป่วยแล้วในส่วนของเตียงยังมีต่อค่าการลดทอนพลังงานด้วย เช่นกัน ด้วยเทคนิคเอ็มอาร์ จึงเป็นการวัดสัญญาณของไฟต่อน สัญญาณความสว่างของภาพเอ็มอาร์ให้นึ่ง มีความสอดคล้องกับค่า HU ได้หลายค่า<sup>52</sup> เช่น ภาพเอ็มอาร์ของกระดูกและอากาศจะมีค่าความสว่างใกล้เคียงกันไม่สามารถจำแนกออกจากกันได้ แต่สำหรับเพทสามารถจำแนกระหว่างกระดูกและอากาศออกจากกันได้ เพราะสัญญาณภาพจะแตกต่างกันมากโดยที่กระดูกจะมีการลดทอนพลังงานของไฟต่อนได้สูงในขณะที่อากาศไม่เกิดการลดทอนพลังงานของไฟต่อน ดังนั้นจึงเป็นความท้าทายของนักวิจัยที่จะแก้ค่าการลดทอนในระบบเพท-เอ็มอาร์ให้ถูกต้อง ยิ่งขึ้น ปัจจุบันระบบเพท-เอ็มอาร์ได้มีการพัฒนาวิธีการแก้ค่าลดทอนพลังงานอยู่หลายวิธีด้วยกัน<sup>53-56</sup> อาศัยเทคนิคการสร้างแผนที่การลดทอน ( $\mu$ -Map) สามารถแบ่งวิธีการแก้ค่าการลดทอนพลังงานของแคมมาไฟต่อนได้เป็น 3 วิธี ดังนี้

### 1. Segmentation-based methods

เป็นการจำแนกกลุ่มเนื้อเยื่อออคเป็นกลุ่ม ๆ และมีค่าสัมประสิทธิ์การลดทอนพลังงานที่เฉพาะ เป็นวิธีการแก้ค่าการลดทอนพลังงานที่นิยมมากที่สุดของระบบเพท-เอ็มอาร์ในยุคเริ่มต้นนี้ สามารถแบ่งได้เป็น 2 ขั้นตอน โดยเริ่มจากการแยกกลุ่มเนื้อเยื่อจากภาพเอ็มอาร์โดยอาศัยความแตกต่างของความเข้มของสัญญาณในแต่ละพิกเซล ขอบเขตและส่วนประกอบของเนื้อเยื่อ<sup>56</sup> ให้มีค่าของการลดทอนพลังงานเป็นเชิงเส้น และจากนั้นกำหนดโดยการคำนวณให้แต่ละพิกเซลมีค่าสัมประสิทธิ์การลดทอนเฉพาะ โดยมีการประยุกต์ใช้ในการศึกษาการแยกส่วนเนื้อเยื่อในสมองและสำหรับทั้งร่างกาย (whole body; WB) ในการสร้างภาพเอ็มอาร์ในเนื้อเยื่อที่มีค่า T2 ที่สัมมาก เช่น กระดูก (cortical bone, tendons,

ligaments, menisci, and periosteum as well as brain, liver, and spine) จึงเป็นการยากที่จะแก้การลดทอนพลังงานที่ 511 กีโลอิเลคตรอนโวลต์ ด้วยลำดับพัลส์ปกติ ยิ่งในสมองจะมีสัดส่วนของกระดูกที่มากทำให้มีการลดทอนพลังงานของสารเกสชัรังสีที่กระจายอยู่ในศีรษะ ในเนื้อเยื่อสมองส่วนต่าง ๆ ทำได้ยาก ปัจจุบันได้มีลำดับพัลส์ที่เริ่มมากสำหรับการสร้างภาพสมอง คือ UTE (Ultrashort-Echo-Time;  $\sim 8$  มิลลิวินาที) เพื่อใช้สร้างภาพกระดูกเนื้อแน่น (cortical bone)<sup>57</sup> Keereman และคณะ (2010) ได้สร้างภาพเพท-เอ็มอาร์ในแฟฟนทอมและสมองมนุษย์โดยทำการแก้ค่าการลดทอนด้วยเอ็มอาร์ลำดับพัลส์ UTE และใช้ซีที่ (CTAC) ซึ่งหั้งสองเทคนิคเกิดการจำแนกส่วนกระดูก เนื้อเยื่ออ่อนนุ่ม และอากาศโดยเกิดข้อผิดพลาดเฉลี่ย 5 เปอร์เซ็นต์<sup>58</sup> ด้วยเทคนิคนี้ Catana และคณะสร้างภาพเพท-เอ็มอาร์ของสมองและจำแนกกลุ่มเนื้อเยื่อออคเป็นกระดูก เนื้อเยื่ออ่อนนุ่ม และอากาศ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ลดทอนเชิงเส้น (linear attenuation coefficient, ซม.<sup>-1</sup>) เท่ากับ 0.151 ซม.<sup>-1</sup> 0.096 ซม.<sup>-1</sup> และ 0 ซม.<sup>-1</sup> ตามลำดับ<sup>59</sup> Berker และคณะ (2012) ใช้ลำดับพัลส์ UTE triple-echo (UTILE) ในอากาศและจำแนกเนื้อเยื่อออคเป็น อากาศ (0 ซม.<sup>-1</sup>) เนื้อเยื่อไขมัน (0.090 ซม.<sup>-1</sup>) เนื้อเยื่ออ่อน (0.100 ซม.<sup>-1</sup>) และกระดูก (0.172 ซม.<sup>-1</sup>)<sup>60</sup> ในการสร้างภาพทั้งร่างกายการใช้ลำดับพัลส์ UTE เพื่อจำแนกกระดูกซึ่งถูกจัดเป็นเนื้อเยื่ออ่อน ไม่มีความเหมาะสม เพราะต้องใช้เวลาในการสแกนที่นาน จึงมีการพัฒนาการจำแนกกลุ่มเนื้อเยื่ออยู่ในช่วง 3-5 กลุ่ม เนื้อเยื่อ ได้แก่ อากาศ ปอด เนื้อเยื่ออ่อนนุ่ม ไขมัน และเนื้อเยื่อที่ไม่ใช่ไขมัน ด้วยการใช้ลำดับพัลส์ใหม่ เช่น 2-point DIXON<sup>61, 62</sup>, T1W-3D TSE THRIVE<sup>63</sup>, 3D-T1W TSE spoiled gradient echo<sup>64</sup> และ 3D-T1W multistation spoiled gradient echo<sup>65</sup> เป็นต้น

### 2. Atlas- and machine learning-based methods

เกิดจากการพยากรณ์แปลงค่าสัญญาณของเอ็มอาร์ (intensity) เทียบกับค่าการดูดกลืนพลังงานในซีที่ (Hounsfield unit; HU) ให้มีค่าสัมประสิทธิ์การลดทอนพลังงานซีที่แบบเทียม (pseudo CT) และวนนำไปใช้แก้ค่าการลดทอนพลังงานไฟต่อนในระบบเพทแบบเดียวกับวิธี CTAC ใน การสร้างชุดข้อมูล เอ็มอาร์และซีที่ (MRI and CT Atlas data base) นั้นทำได้โดยสร้างภาพเอ็มอาร์และภาพซีที่ในผู้ป่วยคนเดียวกันให้มีตำแหน่งตรงกันและนำค่าภาพมากำหนดเทียบค่า (intensity-MR,  $\mu$ -CT) ในตำแหน่งต่าง ๆ โดยทำในผู้ป่วยจำนวนมาก และนำค่าเฉลี่ยมาบันทึกและสร้างเป็นแบบ (template) ไว้ใช้เทียบและทำนายค่า  $\mu$  กับผู้ป่วยรายใหม่ซึ่งต้องสร้างภาพเอ็มอาร์โดยวิปโพร็อกอลเดียวกับ MR Atlas สำหรับวิธี

แมชชีนเลิร์นนิ่ง (machine learning-based) นั้นจะอาศัยข้อมูล Atlas ประกอบในการจำรูปแบบ (pattern recognition) ของภาพด้วยการเรียนรู้ของโปรแกรมการคำนวณเกลอร์เนลแมชชีน (Kernel machine) ให้มดเกาเชิง (Gaussian process regression) และกำหนดค่า  $\mu_i$  ในวอคเซล (voxel) ข้างเคียงกับค่าตำแหน่ง ข้างอิงจาก Atlas กลุ่มของ Hofmann<sup>52, 62</sup> และ Johansson<sup>66, 67</sup> ได้พัฒนาการแก้ค่าด้วยวิธีนี้อย่างต่อเนื่องเพื่อลดความจำเป็นในการสร้างภาพเยื่อมarrow สำหรับการแก้ค่าการลดทอน พลังงาน

3. Reconstruction of attenuation maps from emission data ในทางปฏิบัติระบบเพท-ซีทีผู้ป่วยจะใช้เวลาไม่นานและในการสแกนส่วนบนของลำตัวและศีรษะจะไม่รวมส่วนแขนด้วยจึงให้ผู้ป่วยยกแขนขึ้นเหนือศีรษะเพื่อลดสัญญาณรบกวน(truncated artifact) ที่เกิดจากส่วนเกินของลำตัวที่อยู่นอกขอบเขตพื้นที่การสแกน (field of view; FOV) แต่สำหรับระบบเพท-เอ็มอาร์การสร้างภาพทั้งตัวผู้ป่วยจะต้องใช้เวลาในการสแกนนานจึงไม่สะดวกที่จะยกแขนหัวใจไว้นานเข่นเดียวกับการทำเพท-ซีที จึงเกิดข้อจำกัดของการแก้ค่าการลดทอนพลังงานในการสร้างภาพทั้งตัวเรื่อง FOV ของเอ็มอาร์วีโอดังนั้นภาพเพทที่อยู่นอกเหนือ FOV (ปัจจุบันค่ามากสุด 50 ซม.) จะไม่ถูกสร้างขึ้น เนื่องจากการถ่ายภาพช่วงบนของลำตัวเพท-เอ็มอาร์ที่ได้ส่วนแขนของผู้ป่วยจะไม่ได้ถูกสร้างขึ้น เพราะอยู่นอก FOV กลุ่มของ Delso และ Martinez-Möller ก็ได้เห็นปัญหานี้และได้สร้างแบบในการชดเชยภาพส่วนแขนที่หายไปขึ้นมา (reconstruction) ด้วยวิธีการทำนายค่าการลดทอนพลังงานจากข้อมูลภาพเพทที่เป็นเนื้อเยื่อชนิดเดียวกันจากตำแหน่งอื่นมาทดแทน (truncation correction)<sup>61, 68, 69</sup> บริษัทซีเมนส์ได้ใช้วิธีการนี้แก้ค่าการลดทอนพลังงานในระบบเพท-เอ็มอาร์สำหรับการสร้างภาพทั้งตัว

#### 4. สารเปรียบต่างและสารเกสซ์รังสี

## สำหรับระบบเพท-เอ็มอาร์

เรติโนนิวไคลอร์ดังแสดงในตารางที่ 4 สามารถติดฉลากเข้ากับไมเลกุลหลายชนิดที่เป็นสารชีวบ่งชี้ (Biomarkers) เช่น กลูโคส กรดอะมิโน กรดไขมัน โปรตีน แอพตากเอมอร์ แอนดิบอดี หรือไอลแกนด์สำหรับรีเชพเตอร์และเอนไซม์ เป็นต้น ดังนั้นจึงสามารถติดตามและสร้างภาพสารเภสัชรังสี ที่สะท้อนยังตำแหน่งต่างๆ ได้อย่างจำเพาะเจาะจงและสัมพันธ์ กับเมตาบoliซึม สารเมตาบoliต์ การทำงานของเซลล์ และรอยโรคได้ดีขึ้น<sup>29,70</sup> สารเภสัชรังสีที่ใช้ในระบบเพทดังตารางที่ 7 สามารถนำมาใช้ได้ในระบบเพท-เอ็มอาร์ สำหรับการสร้างภาพเอ็มอาร์ในออกากลุ่มส่วนของลำดับพัลส์ ความแรงสนาม

แม่เหล็กและคอร์ลิบส์บ่งสัญญาณวิทยุแล้วว่าที่มีผลต่อความคมชัดของภาพและรอยโรค สารเปรียบต่างสำหรับเอ็มอาร์ไอ (MRI contrast agents) ยังมีส่วนสำคัญทำให้ภาพเอ็มอาร์ไอ มีความคมชัดและมีความจำเพาะกับรอยโรคสูงขึ้น สารเปรียบต่างดังกล่าวมีคุณสมบัติเป็นสารพารามาเนติกส์หรือเฟอร์โรแมกเนติกส์ (para- or ferro-magnetic agents) โดยมีโลหะไอโอดิน เช่น แอดโนดลีเนียม ( $Gd^{3+}$ ) แมงกานีส ( $Mn^{2+}$ ) หรือเหล็ก ( $Fe^{2+}/^{3+}$ ) รวมทั้งเหล็กออกไซด์ (superparamagnetic iron oxides; SPIOs) เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลเม็ดในการเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อมของเนื้อเยื่อทำให้ความหนาแน่นของโปรตอนเปลี่ยนแปลง มีการสะสมก่อเกิดสนานามแม่เหล็กย่อยขึ้น (local magnets) ในเนื้อเยื่อและเกิดอันตรายร้ายกับprotoon ส่งผลต่อเวลาการคลายตัวของprotoonทั้งในแนว T1 และ T2 ของเนื้อเยื่อนั้น ๆ เช่น Gd-DTPA, Gd-dTP-MB, Gd-DOTA มีผลต่อการเพิ่มความสว่างของสัญญาณภาพในเทคนิค T1W ส่วน SPIOs มีผลต่อการลดลงของความสว่างของภาพในเทคนิค T2W เป็นต้น<sup>71</sup> สารเปรียบต่างในทุกเทคโนโลยีการสร้างภาพที่มีใช้ในคลินิกและผ่านการรับรองจาก FDA ในฐานข้อมูล MICAD (molecular imaging and contrast agent database) ฉบับออนไลน์ (ปรับปรุงล่าสุด 28 มกราคม 2016) มี 236 รายการ จากจำนวนทั้งหมด 1,361 รายการที่มีรายงานการศึกษาวิจัย สำหรับสารเปรียบต่างเอ็มอาร์ไอที่มีการศึกษาวิจัยมีทั้งสิ้น 154 รายการ และผ่าน FDA แล้ว 12 รายการ<sup>70</sup> จากข้อมูลในการบูรณาการศาสตร์แพทย์สาขาเข้าด้วยกันโดยเฉพาะด้านนาโนเทคโนโลยีทางการแพทย์ทำให้มีการพัฒนาสารเปรียบต่างไปอย่างมากจากการสร้างภาพด้านโครงสร้าง การสร้างภาพหลอดเลือดสู่การสร้างภาพการทำงานของอวัยวะและการสร้างภาพในระดับเซลล์ที่จำเพาะมากขึ้น ตลอดจนพัฒนาสารเปรียบต่างที่มีทั้งคุณสมบัติการตรวจวินิจฉัยโรคและการรักษาโรค (theranostic agents) อยู่ในโมเลกุลเดียวเพื่อประยุกต์ใช้กับโรคต่าง ๆ โดยเฉพาะในโรคมะเร็ง<sup>70</sup> ดังตารางที่ 8

และในปัจจุบันได้มีการพัฒนาสาระเปรียบต่างชนิด  
หลายตัวตรวจวัด (multimodality probes)<sup>72-78</sup> รวมทั้งเพท-  
เเอนกอาร์มากขึ้นซึ่งอยู่ในขั้นวิจัยก่อนคลินิกสำหรับการติด  
ฉลากและติดตามเซลล์ตันกำเนิด การสร้างภาพเนื้อเยื่อมะเริง  
และดูการกระจายตัวของมะเริง ดังตารางที่ 9

## 5. ลำดับพัลส์สำหรับระบบเพท-เอ็มอาร์

ลำดับพัลส์ที่ใช้ในระบบเอ็มอาร์ไอปกติสามารถใช้กับระบบเพท-เอ็มอาร์ได้และใช้ร่วมกับสารเปรียบต่างๆได้ เช่นเดียวกับลำดับพัลส์ที่จำเป็นในการทำ MRCA การสร้างภาพ

**Table 7** PET radiopharmaceuticals as molecular imaging probes<sup>29, 70</sup>

Biochemical Process	Specific Target	PET Radiopharmaceutical	Application
Blood flow	Simple diffusion	[ <sup>15</sup> O]Water, [ <sup>11</sup> C]Butanol	Oncology, Neurology, Cardiology
		[ <sup>18</sup> F] -BMS747158	Cardiology
Metabolism			
Glucose	Hexokinase	[ <sup>18</sup> F]FDG	Oncology, Neurology, Cardiology
Choline	Cholinekinase	[ <sup>11</sup> C]Choline, [ <sup>18</sup> F]fluorocholine	Oncology
Free fatty acids	Thiokinase	[ <sup>11</sup> C]Palmitate, 14-[ <sup>18</sup> F]fluoro-6-thiaheptadecanoic acid	Cardiology
Fatty acids (FA)	TCA cycle, FA synthetase	[ <sup>11</sup> C]Acetate	Cardiology
Fatty acids	TCA cycle, acetyl-CoA synthetase	2-[ <sup>18</sup> F]fluoroacetate	Oncology
AAs	AA transport, protein synthesis	[ <sup>11</sup> C]Methionine, [ <sup>11</sup> C]5-Hydroxytryprophan [ <sup>18</sup> F]Fluoroethyl-L-tyrosine, [ <sup>18</sup> F]-FACBC (Fluciclovine)	Oncology
AAs	Aromatic L-amino acid decarboxylase	6-[ <sup>18</sup> F]Fluoro-l-m-tyrosine [ <sup>18</sup> F]Fluoro-l-dopa	Neurology, Oncology
Bone	Hydroxyapatite	[ <sup>18</sup> F]Fluoride	
Proliferation	Thymidine kinase	[ <sup>11</sup> C]Thymidine, [ <sup>18</sup> F]-FLT, [ <sup>18</sup> F]-FMAU	Oncology
Hypoxia	Intracellular reduction and binding	60/62/ <sup>64</sup> Cu-ATSM, [ <sup>18</sup> F]FMISO, [ <sup>18</sup> F]FAZA, [ <sup>18</sup> F]FETA	Oncology
Angiogenesis	$\alpha$ v $\beta$ 3 integrin receptor	[ <sup>18</sup> F]-Galacto-RGD, [ <sup>18</sup> F]-AH111 (Fluciclatide)	Oncology
Apoptosis	Phosphatidylserine	[ <sup>124</sup> I]-Annexin V, <sup>64</sup> Cu-annexin V	Oncology
Receptor binding SSTR	SSTR2 SSTR2, 3, and 5	<sup>68</sup> Ge-DOTATOC, <sup>68</sup> Ge-DOTATATE <sup>68</sup> Ge-DOTANOC	NETs
Estrogen receptor	Estrogen receptor	16- $\alpha$ - <sup>18</sup> F-fluoro-17- $\beta$ -estradiol	Breast cancer
Androgen	Androgen	16 $\beta$ - <sup>18</sup> F-fluoro-5 $\alpha$ -dihydrotestosterone	Oncology
Dopaminergic system	Dopamine D2 receptors	[ <sup>11</sup> C]Raclopride, [ <sup>18</sup> F]Fallypride	Neuropsychiatry
Dopaminergic neurons	Dopamine transporter	[ <sup>11</sup> C]Cocaine, [ <sup>11</sup> C] $\beta$ -CIT, [ <sup>11</sup> C]PE2i, [ <sup>18</sup> F]FP-CIT	Neurology
Dopaminergic neurons	VMAT	[ <sup>11</sup> C]DTBZ, [ <sup>18</sup> F]DTBZ	
Serotonergic system	5-HT1A receptors	[ <sup>11</sup> C]DWAY, [ <sup>11</sup> C]CUMI-101, [ <sup>18</sup> F]MPPF	Neurology
Serotonergic system	5-HT2A receptors	[ <sup>18</sup> F]Altanserin, [ <sup>18</sup> F]setoperone	Neurology
Serotonergic system	Serotonin transporter	[ <sup>11</sup> C](+)-McN-5652, [ <sup>11</sup> C]DASP	Neurology
Microglia	PBR receptor	[ <sup>11</sup> C]PK11195	Neurology
GABA receptor complex	Benzodiazepine site	[ <sup>11</sup> C]Flumazenil, [ <sup>18</sup> F]flumazenil	Neurology
Tumor antigen binding (immuno-PET)	Carbonic anhydrase IX PSMA HEGF receptor (HER2)	[ <sup>124</sup> I]-cG250 chimeric mAb <sup>89</sup> Zr-DFO-J591 mAb <sup>89</sup> Zr-trastuzumab (Herceptin)	Renal cancer Prostate cancer Breast cancer
Senile plaques	Ab Ab and NFTs	[ <sup>11</sup> C]PiB, [ <sup>11</sup> C]BF-227, [ <sup>18</sup> F]3'-F-PIB <sup>18</sup> F-AV-45, [ <sup>18</sup> F]BAY94-9172 (AV-1), [ <sup>18</sup> F]AZD-4694, [ <sup>18</sup> F]FDDNP	Neurology
Gene expression	Herpes virus thymidine kinase	[ <sup>18</sup> F]FHBG	Gene therapy

**Table 8** MRI contrast agents and clinical applications<sup>70</sup>

Agent (abbreviated name)	Application	Target
Gd $\beta$ 42 (Gd-DOTA-pF(ab')24.1)	Alzheimer's disease	Beta amyloid plaques
Gd-DTPA-g-R826	Apoptosis	Phosphatidyl serine
VCAM-MPIO-P-selectin	Atherosclerosis	Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)
CLIO-Tat	Cellular MRI	Hematopoietic and neural progenitor cells
FluidMAG	Cellular MRI	Human mesenchymal stem cells
EP-3533	Fibrosis (myocardial infarction)	Collagen
EgadMe	Gene expression	Beta-galactosidase
Gd-DTPA-CMAG-A <sub>2</sub>	Hepatobiliary imaging and liver cancer	Asialoglycoprotein receptor (ASGP-R)
Gd-DOTA-R832	Inflammatory diseases	Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)
Antibody-vectorialized CD3-specific particle	Lymphoma imaging	CD3
CR2-Fc-SPIO	Nephritis	Complement C3 fragments
CLT1-(Gd-DTPA)	Thrombosis and atherosclerotic plaque	Fibrin-fibronectin complexes
RGD-USPIO, c(RGDyE)-USPIO	Tumor angiogenesis	Integrin $\alpha$ v $\beta$ 3
OCT-USPIOs (USPIO-PEG-OCT)	Tumor detection	Somatostatin receptors (SSTRs)
SPIO-PEG-FA	Tumor detection	Folate receptor (FR)
Gd-DOTAMA-C6-Gln	Tumor detection	Glutamine transporter
USPIO-anti-CD20	Tumor detection	CD20
MnMEIO-Herceptin	Tumor detection	Human Epidermal growth factor Receptor 2 (HER2/neu, ErbB-2)
SapC-DOPS-IO	Tumor imaging	Apoptotic cell
Gd-DTPA-D3-PEG-CTX	Tumor imaging	Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2)
TCL-SPION-Apt(Dox)	Tumor scintigraphy/therapy	Prostate-specific membrane antigen (PSMA)

**Table 9** Multimodality imaging probes

Agent (abbreviated name)	Application	Target	Agent (Composition)	Reference
<sup>18</sup> F-cit-NPs	Cell labelling	Non-specific	<sup>18</sup> F-NaY0.2Gd0.6Yb0.18Er0.02F4 nanophosphors	72
<sup>64</sup> Cu-Gd <sup>3+</sup> -EP-2104R	Thrombus imaging	Fibrin		73
<sup>64</sup> Cu-SPIOs <sup>64</sup> Cu-MnO	Stem cell labelling	Non-specific	<sup>64</sup> Cu-Fe3O4-DOPA-DOTA, <sup>64</sup> Cu(MnO)7-DOPA-DOTA, <sup>64</sup> Cu(MnO)20-DOPA-DOTA	74
<sup>64</sup> Cu-DOTA-IO-RGD	Tumor cell imaging	integrin $\alpha$ v $\beta$ 3	<sup>64</sup> Cu-DOTA-Iron oxides-coated cyclic arginine-glycine aspartic (RGD) peptides	75
<sup>64</sup> Cu-DTPA-CLIO-VT680 or <sup>64</sup> Cu trireporter nanoparticle	Atherogenesis	Macrophages	<sup>64</sup> Cu-Labeled diethylenetriamine pentaacetic acid (DTPA)-CLIO-Vivotag 680 (VT680)	76
<sup>64</sup> Cu-DOTA-HSA-IONPs	Tumor imaging	Dopamine receptor	<sup>64</sup> Cu-DOTA-Iron nanoparticles-coated human serum albumin	77
ZW800 @MSN@Gd@64Cu	Tumor metastasis	Sentinel lymph nodes	Near IR fluorescence dye, ZW800-embed mesoporous silica nanoparticles (MSNs) labeled with Gd <sup>3+</sup> and <sup>64</sup> Cu	78

ทั้งตัวในเครื่อง Philips Ingenuity TF PET/MR ได้แก่ atmM pulse sequence ประกอบด้วย 3D multi-stack spoiled T1W gradient echo, flip angle 10°, TE 2.3 ms, TR 4.1 ms, smallest water-fat shift<sup>79, 80</sup>, T2 weighted single shot fast spin echo sequence-HASTE, UTE (ultra short echo), 2point DIXON<sup>61, 62</sup>, T1W-3D TSE THRIVE<sup>63</sup>, 3D-T1W TSE Spoiled gradient echo<sup>64</sup> และ 3D-T1W multistation spoiled gradient echo<sup>65</sup> ส่วนลำดับพัลส์อื่นๆ ที่ถูกใช้สำหรับระบบเพท-เอ็มอาร์ ได้แก่ fMRI, perfusion, proton-density weighted, T2-weighted, GRE: gradient echo diffusion, 2D multi-echo GRE (magnitude and phase), FLAIR, 3D-MPRAGE, 3D-SPACE, GRAPPA, 3D-VIBE, 3D-CISS, 3D-STIR และ 3D T2-weighted TIRM เป็นต้น<sup>8, 25, 81</sup>

#### งานวิจัยและการประยุกต์ใช้เพท-เอ็มอาร์ในทางคลินิก

ระบบเพท-เอ็มอาร์ได้ถูกใช้ในทางคลินิกมากขึ้นทั้งด้านมะเร็ง หัวใจ สมองและระบบประสาท เพื่อสร้างภาพเมตาบอลิซึม ดูแผนที่ของรีเซปเตอร์ ดูการทำงานของสมอง<sup>19</sup>,  
82,83 Pauleit และคณะ (2005) ได้ศึกษามะเร็งสมองในผู้ป่วย 28 ราย โดยทำการนำภาพเพทจากการสร้างภาพด้วยสารเภสัชรังสี FET ( $O-(2-^{18}F\text{-fluoroethyl})\text{-L-tyrosine}$ ) ใน模ด 3D และภาพเอ็มอาร์ไอ (1.5 เทสลา) ด้วยเทคนิค MPRAGE และ FLAIR ร่วมกับ Gd-DTPA มาซ่อนทับกันโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ (MPI tool version 3.28; ATV, Kerpen, Germany) พบร่วมกับความไวในการตรวจวัดมีค่าลดลงเล็กน้อยจาก 96% เป็น 93% แต่มีความจำเพาะต่อมะเร็งสมองเพิ่มขึ้นจาก 53 เป็น 94 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการตรวจวินิจฉัยด้วยระบบเอ็มอาร์ไอ และระบบเพท-เอ็มอาร์ตามลำดับ<sup>84</sup> Herzog พบร่วมกับการใช้สารรังสี  $^{18}F\text{-fluoro-ethyl-tyrosine}$  (FET),  $^{11}C\text{-flumazenil}$  และ  $^{18}F\text{-FP-CIT}$  ในการสร้างภาพสมองระบบเพท-เอ็มอาร์ โดยใช้เครื่องตรวจวัดเพทตันแบบ (2.5 mm LSO-APD system) ใส่ในอุโมงค์แม่เหล็กขนาด 3 เทสลา ให้ภาพที่มีคุณภาพที่ดี มีอำนาจการแยกแยะสูงกว่าการสร้างภาพสมองด้วยระบบเพทกำลังขยายสูงปกติ<sup>85</sup> Ledezma และคณะ (2009) ได้ใช้  $^{18}F\text{-FDOPA}$  เป็นสารเภสัชรังสีที่มีความไวสูงกว่า  $^{18}F\text{-FDG}$  ในการสร้างภาพเนื้อเยื่อสมองชนิด Glioma ในผู้ป่วยด้วยระบบเพทและตามด้วยการสร้างภาพเอ็มอาร์ไอร่วมกับสารเบรียบต่างทั้ง T1W และ T2W จากนั้นนำภาพจากทั้งสองระบบมาซ่อนทับกันด้วยโปรแกรม Mirada Fusion7D (Vital Images, Inc., Minnetonka, MN, USA) ตรวจพบตำแหน่งของมะเร็ง สอดคล้องกับการสะสหมของ  $^{18}F\text{-FDOPA}$  ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ และการบอกรตำแหน่งของมะเร็งด้วยระบบเพท-เอ็มอาร์ดี

ขึ้นเมื่อเบรียบเทียบกับการทำเพทสแกนเพียงอย่างเดียว<sup>86</sup> Jon Shah และคณะ (2012) ประยุกต์ใช้ระบบเพท-เอ็มอาร์ ความแรงสนามแม่เหล็กสูง (3 และ 9.4 เทสลา) ในการสร้างภาพระบบประสาท โดยใช้เวลาการสร้างภาพด้วยลำดับพัลส์ หลายแบบทั้งหมดในเวลา 1 ชั่วโมง<sup>8</sup> จากประสบการณ์ของทีม Martinez-Möller ใน การสร้างภาพมะเร็งต่างๆ เช่น มะเร็งสมอง มะเร็งลำไส้ มะเร็งระบบประสาท มะเร็งต่อมลูกหมาก และสร้างภาพการกระจาดและลุกalamของมะเร็ง ด้วยการสร้างภาพเพท-เอ็มอาร์เฉพาะอวัยวะและการสร้างภาพทั้งตัวทั้งใช้และไม่ใช้สารเบรียบต่างร่วมกับสารเภสัชรังสี เช่น  $^{18}F\text{-FDG}$ ,  $^{68}Ga\text{-DOTATOC}$  และ  $^{11}C\text{-Choline}$  พบร่วมกับการสร้างภาพเฉพาะอวัยวะจะใช้ระยะเวลาสูงสุด 45 นาที และการสร้างภาพทั้งตัวใช้เวลาสูงสุด 70 นาที<sup>83</sup> ส่วน Garibotto และคณะ (2013) ใช้เวลาอย่างกว่า 2 ชั่วโมง การสร้างภาพเพท-เอ็มอาร์แบบลำดับส่วนในผู้ป่วยเป็นโรคสมองและระบบประสาทถูกทำลายและในผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งสมองขั้นสูง และการใช้ระบบเพท-เอ็มอาร์นี้ปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยได้รับ (จาก  $^{18}F\text{-FDG}$ ) จะน้อยกว่าการตรวจวินิจฉัยด้วยเพท-ซีที<sup>87</sup> ผู้รับบริการเพท-ซีทีจะได้รับปริมาณรังสีสูงขึ้นจากเครื่องเอกซเรย์ซีที (2-3 มิลลิซีเวิร์ต) และจากสารเภสัชรังสีที่ใช้ในการสร้างภาพเพท (การใช้  $^{18}F\text{-FDG}$  จะได้รับปริมาณรังสียังผลช่วง 7-15 มิลลิซีเวิร์ตขึ้นอยู่กับปริมาณรังสีที่ใช้) โดยจะได้รับปริมาณรังสีรวมประมาณ 20 มิลลิซีเวิร์ต<sup>9</sup> Buchbender และคณะ (2012) ได้ทำการวินิจฉัยและกำหนดตำแหน่งและการกระจายของมะเร็งในผู้ป่วยมะเร็งจำนวน 14 ราย ด้วยเทคนิค DWI (diffusion weight imaging) โดยสร้างภาพด้วยระบบเพท-เอ็มอาร์แบบทั้งตัวพบว่าค่า ADC (apparent diffusion coefficient) และค่า SNR (signal to noise ratio) ในเนื้อเยื่อต่างๆ รวมทั้งตำแหน่งที่มีการกระจาดตัวของมะเร็งใน模ดที่เปิด และปิดระบบเพทไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ<sup>88</sup> Drzezga และคณะ (2012) ศึกษาผู้ป่วยมะเร็งชนิดต่างๆ เช่น มะเร็งผิวหนัง มะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งเม็ดเลือด มะเร็งตับ มะเร็งตับอ่อน มะเร็งต่อมไร้รอยต์ มะเร็งกล่องเสียง มะเร็งทรวารหนักและมะเร็งหลอดอาหาร เป็นต้น จำนวน 32 ราย ด้วยระบบเพท-เอ็มอาร์แบบผสานสมบูรณ์แบบใช้เวลาในการสร้างภาพทั้งตัวเฉลี่ยน้อยกว่า 20 นาที ทั้งนี้ได้ทำการวัดค่า SUV ของ  $^{18}F\text{-FDG}$  ในเนื้อเยื่อของมะเร็งตั้งกล่าว และที่เนื้อเยื่ออื่นๆ ได้แก่ ตับ ปอด ตับอ่อน กระดูกและกล้ามเนื้อ เบรียบเทียบกับการวัดด้วยเทคนิคเพท-ซีที โดยใช้เพทย์ส่องทีมทำการประเมินการสะสหมแบบค่าระดับพบว่าทั้งสองเทคนิคให้ผลด้านการบอกร่องสร้างอยู่ในระดับเดียวกันและค่า SUV วัดด้วยเพท-ซีทีจะมีค่ามากกว่าค่าด้วย

ระบบเพท-เอ็มอาร์ แต่เมื่อทำการปรับค่า SUV เทียบกับกล้ามเนื้อจะพบว่าจะมีการสะสมของ  $^{18}\text{F-FDG}$  ในเนื้อเยื่อที่สังสั�ว่าเป็นมะเร็งสูงกว่าในระบบเพท-ซีที ทั้งนี้ค่าเฉลี่ย SUV ในเนื้อเยื่อมะเร็งที่ได้จากการวัดของระบบมีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์สเปียร์แมน (spearman correlation coefficient) ที่สูงเท่ากับ 0.93<sup>89</sup> เช่นเดียวกับ Boss และคณะ (2012) ที่ได้แสดงให้เห็นว่าระบบเพท-เอ็มอาร์สามารถให้ค่าความถูกต้องทั้งด้านโครงสร้างและด้านการสะสมของ  $^{18}\text{F-FDG}$  ในผู้ป่วยมะเร็งศีรษะและลำคอ (8 ราย) ต่ำกว่าที่มีการกับระบบเพท-ซีทีโดยมีค่าความสัมพันธ์ (R) เท่ากับ 0.99 และ 0.96 ตามลำดับ<sup>78</sup> Lee และคณะ (2012) ได้สร้างภาพในหูที่กระตุ้นให้เกิดกล้ามเนื้อหัวใจตาย (myocardial infarction; MI) และสร้างภาพด้วยไมโครเพท-เอ็มอาร์ ( $^{18}\text{F-FDG}/\text{Gd-DTPA}$ ) พบว่าสารเกล็ชัวร์สีจะสะสมยังตำแหน่งที่เกิดกล้ามเนื้อหัวใจตายมากที่สุดในวันที่ 5 หลังจากการทำให้เกิด MI ซึ่งสอดคล้องกับภาพเพท-ซีทีในผู้ป่วยที่หลอดเลือดแดงโคโรนารีข้าวอุดตันเป็นเวลา 5 วัน จะพบการสะสมของ  $^{18}\text{F-FDG}$  เพิ่มขึ้นที่ตำแหน่งของผนังกล้ามเนื้อหัวใจล่างซ้ายที่เกิดการบาดเจ็บ<sup>90</sup> Ratib และคณะ (2011) ได้ศึกษาผู้ป่วยมะเร็ง (จำนวน 62 ราย) ชนิดต่างๆ เช่น มะเร็งต่อมลูกหมาก (9) มะเร็งเต้านม (8) มะเร็งปอด (5) มะเร็งช่องคลอด (5) มะเร็งต่อมน้ำเหลือง (4) ชาโครามาและเนื้องอกกระดูก (4) มะเร็งทางเดินอาหาร (4) เนื้องอกในสมอง (4) เนื้องอกในทางเดินอาหาร (3) เมลาโนมา (2) มะเร็งตับอ่อน (2) การสอบสวนมุ่งเน้นการวิจัยโรคล้มซัก (2) และกรณีของโรคที่มีพยาธิสภาพอื่นๆ (10) ด้วยการสร้างภาพระบบเพท-เอ็มอาร์แบบลำดับส่วนและเทียบกับการสร้างภาพเพท-ซีที ค่า SUV ของ  $^{18}\text{F-FDG}$  ในเนื้อเยื่อมะเร็ง และในเนื้อเยื่ออื่นได้แก่ สมอง ปอด หัวใจ ตับ กระดูก L4 และกล้ามเนื้อไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อพิจารณาค่า SUV ในเนื้อเยื่อมะเร็งระหว่างเพท-เอ็มอาร์และเพท-ซีทีมีความสัมพันธ์กันด้วยค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.89 และ 0.91 สำหรับค่าเฉลี่ยและค่าสูงสุดตามลำดับ<sup>81</sup> Thorwarth และคณะ (2011) ได้รายงานเป็นกลุ่มแรกถึงกรณีศึกษาการนำระบบเพท-เอ็มอาร์ไปแบบผสานสมบูรณ์มาใช้สำหรับวางแผนการรักษาผู้ป่วยเมэнจีโอม่า (meningioma) จำนวน 1 ราย ด้วยวิธีการฉายรังสีแบบ IMRT (intensity-modulated radiation therapy) โดยให้ปริมาณรังสีรวม 54 เกรย์ (Gray) IMRT เป็นวิธีการรักษาผู้ป่วยมะเร็งชนิดเมэнจีโอม่าหนึ่งที่มีประสิทธิภาพสูง เปรียบเทียบกับการวางแผนการรักษาในปัจจุบันที่ใช้การสร้างภาพด้วยซีที เพท-ซีที ( $^{68}\text{Ga-DOTATOC}$ ) ร่วมกับเอ็มอาร์โดยเพื่อกำหนดตำแหน่ง หาปริมาตรของก้อนมะเร็ง (gross target volume:

GTVPET/CT+MR) และสร้างปริมาตรสำหรับการฉายรังสี (planning target volume: PTV<sub>PET/CT+MR</sub>) จากการศึกษานี้การหาปริมาตรเป้าหมายด้วยวิธีการสร้างภาพเพท-เอ็มอาร์แบบผสานสมบูรณ์ไม่แตกต่างจากการหาด้วยเทคนิคมาตรฐานคือเพท-ซีทีร่วมกับเอ็มอาร์ แต่การใช้ระบบลูกผสมจะลดขั้นตอนการสร้างภาพก่อนเพท-ซีทีลงไปเหลือเพียงสร้างภาพซีทีและสร้างภาพเพท-เอ็มอาร์เท่านั้น<sup>78</sup> Neuner และคณะ (2012) ได้ทดสอบการมองเห็นในอาสาสมัครโดยใช้ EEG ร่วมกับการสร้างภาพด้วยระบบเพท-เอ็มอาร์ 3 เทสลา ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกันกับการสร้างภาพด้วยเอ็มอาร์โดยปกติ<sup>91</sup>

### ข้อดีและข้อด้อยของเพท-เอ็มอาร์

จากการเปรียบเทียบจุดเด่นจุดด้อยระหว่างเพท-ซีที และเพท-เอ็มอาร์ของ Von Schulthess และคณะ (2009)<sup>9</sup> รวมทั้งข้อมูลการศึกษาวิจัยทางคลินิกในช่วงระยะเวลาเริ่มต้นของเทคโนโลยีเพท-เอ็มอาร์ดังที่ได้กล่าวข้างต้น 7, 8, 19, 78, 81-91 สามารถสรุปเป็นจุดเด่นและจุดด้อยได้ดังนี้

#### จุดเด่น

1. เพท-เอ็มอาร์ให้รายละเอียดด้านโครงสร้างของเนื้อเยื่ออ่อน สมอง ตับ และไขกระดูกได้ดีกว่าการสร้างภาพเพท-ซีที
2. การศึกษาเปรียบเทียบการสร้างภาพทั้งร่างกายระหว่างเพท-เอ็มอาร์กับเพท-ซีที แสดงให้เห็นว่าเอ็มอาร์โดยมีข้อดีกว่าในการตรวจพบในระยะต้นของการกระจายมะเร็ง สมอง มะเร็งตับ และมะเร็งไขกระดูก ซึ่งสอดคล้องกับเมื่อพิจารณาระบบเพท-เอ็มอาร์ที่ผสานระบบอย่างสมบูรณ์จะเห็นอกว่าเพท-ซีทีในการสร้างภาพมะเร็งบางชนิด
3. เพท-เอ็มอาร์สามารถให้ข้อมูลด้านโครงสร้างและการทำงานของอวัยวะได้หลายอย่าง เช่น การทำเพอร์ฟิวชัน อธิบายความหนาแน่นของเซลล์ โครงสร้างระดับจุลภาค และอธิบายเมตาบoliซึม เซลล์ตาย การเจริญเติบโตของเซลล์ การทำงานของสมอง นอกจานนี้เพท-เอ็มอาร์ยังสามารถใช้ศึกษาผลศาสตร์และจลคลัสตอร์ของยาได้
4. เพท-เอ็มอาร์ระบบการผสานแบบสมบูรณ์สามารถสร้างภาพเพทได้อย่างต่อเนื่องและพร้อมกับการสร้างภาพเอ็มอาร์ให้ทั้งด้านโครงสร้างและการทำงานของอวัยวะ
5. เพท-เอ็มอาร์ระบบผสานแบบสมบูรณ์เอ็มอาร์โดยสามารถใช้เป็นตัวกำหนดเวลาในการเก็บสัญญาณของเพทได้เมื่อต้องการเก็บข้อมูลในช่วงเวลาที่เท่ากัน
6. ส่วนของเอ็มอาร์โดยไม่ใช้รังสีชนิดที่ก่อให้เกิดไอโอน ดังนั้นการแทนที่ซีทีด้วยเอ็มอาร์โดยในเทคโนโลยีแบบ

ลูกผสมร่วมกับเพทเจ็งทำให้ลดปริมาณรังสีในหัวป่วยลงได้ และสามารถใช้ได้กับการสร้างภาพผู้ป่วยเด็กและสตรี

7. ระบบเพท-เอ็มอาร์ที่มีการผสานแบบสมบูรณ์จะลดระยะเวลาในการสแกนผู้ป่วยลงเมื่อเปรียบเทียบกับการสแกนแบบที่คลาสสิก

## ຈຸດດ້ວຍ

1. มีอำนาจการจำแนกหรือวินิจฉัยต่างๆ ในเนื้อเยื่อปอดก้อนในปอด และกระดูกเนื้อแข็ง
  2. การแก้ค่าการลดทอนพลังงานที่ 511 กิโลเมตรต่อนิวัลต์ด้วยเอ็มอาร์ไออย่างมีขีดจำกัด
  3. ระยะเวลาในการสแกนยังคงมากกว่าเพทชีที
  4. ข้อมูลการศึกษาวิจัยในคลินิกยังมีน้อย
  5. ราคาสูงกว่าเพท-ชีที เนื่องจากเป็นเทคโนโลยีใหม่

(ระบบเพท-เอ็มอาร์ของบริษัทชีเมเนต์ ราคาเครื่องประมาณ 4.7 ล้านบาทตั้งนี้ขึ้นอยู่กับอพชัน<sup>23)</sup>

## บทสรป

เทคโนโลยีการสร้างภาพแพทย์-เอ็มอาร์ข้าดความแรง  
สามารถแม่เหล็ก 3 เทสลา ได้รับการรับรองแล้วและอนุญาต  
ให้ใช้กับมนุษย์ในทางคลินิกเมื่อปี ค.ศ. 2011 โดยบริษัท  
ผู้ผลิตหลัก 3 ได้แก่ บริษัทซีเมเนสพัฒนาระบบทุก-เอ็มอาร์  
แบบสมบูรณ์แบบสร้างภาพแพทย์และเอ็มอาร์ในเวลาเดียวกัน  
บริษัทพิลิปส์พัฒนาระบบทุก-เอ็มอาร์แบบผ่อนคลายต่อ  
เข้ากันและสร้างภาพเอ็มอาร์โดยและสร้างภาพแพทย์ตามลำดับ  
และบริษัทจีพัฒนาระบบทุก-เอ็มอาร์แบบการผ่อนคลายภาพ  
ในแต่ละระบบที่สร้างภาพเป็นอิสระต่อ กันแล้วนำมาซ้อนทับ  
กันด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ สำหรับข้อมูลทางคลินิกและ  
จำนวนหน่วยระบบแพทย์-เอ็มอาร์ยังคงจำกัดเนื่องจากเป็นยุค  
เริ่มต้นและราคาต่อหน่วยยังคงสูง 医疗-เอ็มอาร์ถูกประยุกต์  
ใช้ในทางการแพทย์สำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคมะเร็ง การรักษา  
ตำแหน่ง ระยะและการกระจายของมะเร็ง ประยุกต์ใช้กับโรค

## กิตติกรรมประการ

ขอขอบพระคุณ ศ.ดร.สำรี มั่นเขตต์ภรณ์ ดร.ชัชนา อดมอนกุลชัย และ ดร.วินิจ ชัยประเสริฐ เป็นอย่างสูงในการให้คำแนะนำและตรวจแก้ต้นฉบับ

## ເອກສາຮອ້າງອີງ

1. Massoud TF, Gambhir SS. Molecular imaging in living subjects: seeing fundamental biological processes in a new light. *Genes Dev.* 2003; 17: 545–580.
2. Miller JC, Thrall JH. Clinical Molecular Imaging. *Am Coll Radiol.* 2004; 1: 4-23.
3. Cabral H, Nishiyama N, Kataoka K. Supramolecular nanodevices: from design validation to theranostic nanomedicine. *Accounts Chem Res.* 2011; 44(10): 999–1008.
4. Dzik-Jurasz ASK. Molecular imaging in vivo: an introduction, *Brit J Radiol.* 2003; 76: S98–S109.
5. Glunde K, Pathak AP, Bhujwalla ZM. Molecular–functional imaging of cancer: to image and imagine. *Trends Mol Med.* 2007; 13(7): 287-297.
6. Rudin M. Noninvasive structural, functional, and molecular imaging in drug development. *Curr Opin Chem Biol.* 2009; 13: 360–371.
7. Ratib O, Beyer T. Whole-body hybrid PET/MRI: ready for clinical use? *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2011; 38:992–995.
8. Jon Shah N, Oros-Peusquens AM, Arrubla J, Zhang K, Warbrick T, Mauler J, et al. Advances in multimodal neuroimaging: Hybrid MR-PET and MR-PET-EEG at 3T and 9.4T. Original Research Article *Journal of Magnetic Resonance*, Forthcoming 2012 December 10. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmr.2012.11.027>.
9. von Schulthess GK, Schlemmer HP. A look ahead: PET/MR versus PET/CT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2009 Mar; 36 Suppl 1:S3-9.
10. Seo Y, Mari C, Hasegawa BH. Technological development and advances in single-photon emission computed tomography/computed tomography. *Semin Nucl Med.* 2008; 38(3): 177–98.
11. Hasegawa BH, Gingold EL, Reilly SM, Liew SC, Cann CE. Description of a simultaneous emission-transmission CT system. *Proc SPIE.* 1990; 1231: 50–56.
12. Beyer T, Townsend DW, Brun T, Kinahan PE, Charron M, Roddy R, et al. A combined PET/CT scanner for clinical oncology. *J Nuc Med.* 2000; 41: 1369–79.
13. Bolus NE, George R, Washington J, Newcomer BR. PET/MR: The blended-modality choice of the future?\*. *J Nucl Med Technol.* 2009; 37: 63-71.
14. Pichler BJ, Kolb A, Naägele T, Schlemmer HP. PET/MRI: Paving the way for the next generation of clinical multimodality imaging applications. *J Nucl Med.* 2010; 51:333–336.
15. Shao Y, Cherry SR, Farahani K, Meadors K, Siegel S, Silverman RW, et al. Simultaneous PET and MR imaging. *Phys Med Biol.* 1997 Oct; 42(10):1965-70.
16. AuntMinnieEurope.com staff writers. Siemens gets CE Mark for PET/MRI scanner [Internet] 2011June1. [Updated 2011June 1; Cited 2012 October12,]. Available from: <http://www.auntminnieeurope.com/index.aspx?sec=sup&sub=mri&pag=dis&ItemID=605154>.
17. Dave Fornell. PET/MRI Enters the U.S. Market: Simultaneous acquisition of anatomy and function with lower radiation dose is now possible [Internet]. [Updated 2011November 23; Cited 2012 October12]. Available from: <http://www.itnonline.com/article/petmri-enters-us-market-1>.

18. For the first time, MR and PET are one: Introducing Biograph mMR. The world's only simultaneous, whole-body molecular MR. [Internet] 2010 September. [Cited 2013 January 9] Available from: [http://www.swe.siemens.com/spain/web/es/healthcare/imagen\\_terapia/imagen\\_molecular/Documents/101026\\_WS\\_Biograph\\_mMR\\_INT.pdf](http://www.swe.siemens.com/spain/web/es/healthcare/imagen_terapia/imagen_molecular/Documents/101026_WS_Biograph_mMR_INT.pdf).
19. Heiss WD. The potential of PET/MR for brain imaging. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2009; 36(suppl1): S105–S112.
20. The Power of Flexible Choice: PET/CT + MR - GE Healthcare [Internet]. [Cited 2012 November 29]. Available from: [http://www3.gehealthcare.com.br/~media/Downloads/us/Product/Product-Categories/Molecular-Imaging/GEHealthcare-Brochure\\_Trimodality-PET-CT-MR.pdf?Parent=%7BEBE8E998-9B89-48FD-BC63-A7C86FAE3961%7D](http://www3.gehealthcare.com.br/~media/Downloads/us/Product/Product-Categories/Molecular-Imaging/GEHealthcare-Brochure_Trimodality-PET-CT-MR.pdf?Parent=%7BEBE8E998-9B89-48FD-BC63-A7C86FAE3961%7D).
21. See what's never been seen before, Philips Ingenuity TF PET/MR [Internet]. [Cited 2012 October12]. Available from: [http://www.healthcare.philips.com/asset.aspx?alt=&p=http://www.healthcare.philips.com/pwc\\_hc/main/shared/Assets/Documents/Nuclear\\_medicine/ingenuity\\_tf\\_pet\\_mr/IngenuityTF\\_PETMRbrochure\\_FINAL.pdf](http://www.healthcare.philips.com/asset.aspx?alt=&p=http://www.healthcare.philips.com/pwc_hc/main/shared/Assets/Documents/Nuclear_medicine/ingenuity_tf_pet_mr/IngenuityTF_PETMRbrochure_FINAL.pdf).
22. Schlemmer HP, Pichler BJ, Krieg R, Heiss WD. An integrated MR/PET system: prospective applications. *Abdom Imaging*. 2009; 34:668–674.
23. Kaplan DA. PET/MR Machines – A Comparison [Internet] | 2011June13. [Updated 2012 February 09; Cited 2012December 20]. Available from: <http://www.diagnosticimaging.com/pet-mr/content/article/113619/1877456>.
24. PET-MRI integrated hybrid scanners [Internet] 2012 February. [Cited 2012 December 20]. State of Queensland (Queensland Health). Available from: <http://www.health.qld.gov.au/healthpact/docs/briefs/WP026.pdf>.
25. Delso G, Fu'rst S, Jakoby B, Ladebeck R, Ganter C, Nekolla SG, et al. Performance measurements of the Siemens mMR integrated whole-body PET/MR scanner. *J Nucl Med* 2011; 52:1914–1922.
26. Zaidi H, Ojha N, Morich M, Griesmer J, Hu Z, Maniawski P, et al. Design and performance evaluation of a whole-body Ingenuity TF PET–MRI system. *Phys Med Biol*. 2011; 56: 3091–3106.
27. Bettinardi V, Presotto L, Rapisarda E, Picchio M, Gianolli L, Gilardi MC. Physical performance of the new hybrid PET/CT discovery-690. *Med Phys*. 2011 Oct; 38(10):5394-411.
28. Bailey DL, Townsend DW, Valk PE, Maisey MN. *Positron Emission Tomography: Basic Sciences*. London: Springer; 2005.
29. Vallabhajosula S, Solnes L, Vallabhajosula B. A Broad overview of positron emission tomography radiopharmaceuticals and clinical applications: What is new? *Semin Nucl Med*. 2011; 41:246-264.
30. Humm JL, Rosenfeld A, Del Guerra A. From PET detectors to PET scanners. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2003; 30:1574–1597.
31. Pepin CM, Berard P, Perrot AL, Pepin C, Houde D, Lecomte R, et al. Properties of LYSO and recent LSO scintillators for phoswich PET detectors., *IEEE Trans Nucl Sci*. 2004 June; 51(3): 789-795.
32. Lonsdale MN, Beyer T. Dual-modality PET/CT instrumentation—Today and tomorrow. *Eur Radiol*. 2010; 73: 452–460.

33. Melcher CL. Scintillation crystals for PET. *J Nucl Med.* 2000; 41: 1051-1055.
34. Kinahan PE, Rogers JG. Analytic 3D Image Reconstruction Using All Detected Events. *IEEE Trans Nucl Sci.* 1990; 36(1): 964-968.
35. Delbeke D, Israel O. Hybrid PET/CT and SPECT/CT Imaging. New York: Springer; 2010.
36. Perkins AE. Astonish TF: Technical overview of Philips Time-of-Flight PET design and its clinical benefits [Internet]. [Cited 2012 October12]. Available from: [http://www.healthcare.philips.com/asset.aspx?alt=&p=http://www.healthcare.philips.com/pwc\\_hc/main/shared/Assets/Documents/Nuclear\\_medicine/ingenuity\\_tf\\_pet\\_mr/452296274041\\_AstonishTF\\_WP\\_LR.pdf](http://www.healthcare.philips.com/asset.aspx?alt=&p=http://www.healthcare.philips.com/pwc_hc/main/shared/Assets/Documents/Nuclear_medicine/ingenuity_tf_pet_mr/452296274041_AstonishTF_WP_LR.pdf).
37. Weishaupt D, Köchli VD, Marincek B. How does MRI work? 2nd ed. New York: Springer Berlin Heidelberg; 2006.
38. Elmaoğlu M, Çelik A. MRI Handbook: MR Physics, Patient Positioning, and Protocols. New York: Springer Science+Business Media; 2012.
39. Akber SF. NMR relaxation data of water proton in normal tissues. *Physiol Chem Phys Med NMR.* 1996; 28(4):205-238.
40. Yamamoto S, Watabe T, Watabe H, Aoki M, Sugiyama E, Imaizumi M, et al. Simultaneous imaging using Si-PM-based PET and MRI for development of an integrated PET/MRI system. *Phys Med Biol.* 2012 Jan 21; 57(2):N1-13. Epub 2011 Dec 14.
41. Maramraju SH, Smith SD, Junnarkar SS, Schulz D, Stoll S, Ravindranath B, et al. Small animal simultaneous PET/MRI: initial experiences in a 9.4 T microMRI. *Phys Med Biol.* 2011; 56(8):2459-80.
42. Yoon HS, Ko GB, Kwon SI, Lee CM, Ito M, Chan Song I, et al. Initial results of simultaneous PET/MRI experiments with an MRI-compatible silicon photomultiplier PET scanner. *J Nucl Med.* 2012 Apr; 53(4):608-14. Epub 2012 Mar 13.
43. Lucignani G. Time-of-flight PET and PET/MRI: recurrent dreams or actual realities? *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2006; 33:969–971.
44. Pichler BJ, Judenhofer MS, Catana C, Walton JH, Kneilling M, Nutt RE, et al. Performance test of an LSO-APD detector in a 7-T MRI scanner for simultaneous PET/MRI. *J Nucl Med* 2006; 47:639–647.
45. Del Guerra A, Belcari N, Bisogni MG, Corsi F, Foresta M, Guerra P, et al. Silicon Photomultipliers (SiPM) as novel photodetectors for PET. *Nucl Instrum Methods Phys Res Sect A.* 2011; 648: S232–S235.
46. Roncali E, Cherry SR. Application of silicon photomultipliers to positron emission tomography. *Ann Biomed Eng.* 2011 April; 39(4): 1358–1377.
47. Yamamoto S, Watabe H, Kanai Y, Aoki M, Sugiyama E, Watabe T, et al. Interference between PET and MRI sub-systems in a silicon-photomultiplier-based PET/MRI system. *Phys. Med. Biol.* 2011; 56: 4147–4159.
48. Yamamoto S, Watabe H, Kanai Y, Aoki M, Sugiyama E, Watabe T, et al. Interference between PET and MRI sub-systems in a silicon-photomultiplier-based PET/MRI system. *Phys Med Biol.* 2011 Jul 7; 56(13):4147-59. Epub 2011 Jun 21.

49. Yamamoto S, Satomi J, Watabe T, Watabe H, Kanai Y, Imaizumi M, et al. A temperature-dependent gain control system for improving the stability of Si-PM-based PET systems. *Phys Med Biol.* 2011 May 7; 56(9): 2873-82. Epub 2011 Apr 8.
50. Maramraju SH, Smith SD, Junnarkar SS, Schulz D, Stoll S, Ravindranath B, et al. Small animal simultaneous PET/MRI: initial experiences in a 9.4 T microMRI. *Phys Med Biol.* 2011; 56(8):2459-80.
51. Quick HH, Ladebeck R, Georgi JC. Whole-body MR/PET hybrid imaging: Technical considerations, clinical workflow, and initial results. *MAGNETOM Flash.* 2011; 1: 88-100, Siemens. Available from: <http://www.imp.uni-erlangen.de/mri/pdf/magnetomflash.pdf>.
52. Hofmann M, Steinke F, Scheel V. MRI-based attenuation correction for PET/MRI: a novel approach combining pattern recognition and atlas registration. *J Nucl Med.* 2008; 49:1875–1883.
53. Hofmann M, Pichler B, Beyer T. MR-based Attenuation Correction for PET/MR. In: Klaus P. Schäfers, editor. *Correction Techniques in Emission Tomography.* CRC Press; 2012.
54. Bezrukov I, Mantlik F, Schmidt H, Schölkopf B, Pichler BJ. MR-based PET attenuation correction for PET/MR Imaging. *Semin Nucl Med.* 2013; 43:45-59.
55. Keereman V, Mollet P, Berker Y, Schulz V, Vandenbergh S. Challenges and current methods for attenuation correction in PET/MR. *Magn Reson Mater Phys, Biol Med.* August 2012, doi 10.1007/s10334-012-0334-7.
56. Clarke LP, Velthijzen RP, Camacho MA, Heine JJ, Vaidyanathan M, HaL LO, et al. MRI segmentation: methods and applications. *Magn Reson Imaging.* 1995; (13)3: 343-368.
57. Bae WC, Chen PC, Chung CB, Masuda K, D'Lima D, Du J. Quantitative ultrashort echo time (UTE) MRI of human cortical bone: Correlation with porosity and biomechanical properties. *J Bone Mineral Res.* 2012; 27(4): 848–857.
58. Keereman V, Fierens Y, Broux T, Deene YD, Lonneux M, Vandenbergh S. MRI-based attenuation correction for PET/MRI using ultrashort echo time sequences. *J Nucl Med.* 2010; 51(5):812–818.
59. Catana C, van der Kouwe A, Benner T, Michel CJ, Hamm M, Fenchel M, et al: Toward implementing an MRI-Based PET attenuation-correction method for Neurologic studies on the MR-PET brain prototype. *J Nucl Med.* 2010; 51(9):1431-1438.
60. Berker Y, Franke J, Salomon A, Palmowski M, Donker HCW, Temur Y, et al. MRI-based attenuation correction for hybrid PET/MRI Systems: A 4-Class tissue segmentation technique Using a combined Ultrashort-Echo-Time/Dixon MRI Sequence. *Nucl Med.* 2012; 53:796–804.
61. Martinez-Möller A, Souvatzoglou M, Delso G, Bundschuh RA, Chef d'hotel C, Ziegler SI, et al. Tissue classification as a potential approach for attenuation correction in whole-body PET/MRI: Evaluation with PET/CT data. *J Nucl Med.* 2009; 50(4): 520-526.
62. Hofmann M, Bezrukov I, Mantlik F, Aschoff P, Steinke F, Beyer T, et al. MRI-based attenuation correction for whole-body PET/MRI: quantitative evaluation of segmentation and atlas-based methods. *J Nucl Med.* 2011; 52:1392-1399.

63. Steinberg J, Jia G, Sammet S, Zhang J, Hall N, Knopp MV. Three-region MRI-based whole-body attenuation correction for automated PET reconstruction. *Nucl Med Biol.* 2010; 37: 227-235.
64. Schulz V, Torres-Espallardo I, Renisch S, Hu Z, Ojha N, Börnert P, et al. Automatic, three-segment, MR-based attenuation correction for whole-body PET/MR data. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2011; 38:138–152.
65. Hu Z, Ojha N, Renisch S, Schulz V, Torres I, Buhl A, et al. "MR-based attenuation correction for a whole-body sequential PET/MR system," Nuclear Science Symposium Conference Record (NSS/MIC), 2009 IEEE, vol., no., pp.3508-3512, Oct. 24 2009-Nov.1 2009.
66. Johansson A, Karlsson M, Nyholm T. CT substitute derived from MRI sequences with ultrashort echo time. *Med Phys.* 2011; 38(5): 2708-2714.
67. Johansson A, Karlsson M, Yu J, Asklund T, Nyholm T. Voxel-wise uncertainty in CT substitute derived from MRI. *Med Phys.* 2012; 39(6): 3283-3290.
68. Nuyts J, Michel C, Fenchel M, Bal G, Watson C. "Completion of a truncated attenuation image from the attenuated PET emission data," Nuclear Science Symposium Conference Record (NSS/MIC), 2010 IEEE , vol., no., pp.2123-2127, Oct.30 2010-Nov.6 2010.
69. Delso G, Martinez-Möller A, Bundschuh RA, Nekolla SG, Ziegler SI. The effect of limited MR field of view in MR/PET attenuation correction. *Med Phys.* 2010 Jun; 37(6):2804-12.
70. Molecular Imaging and Contrast Agent Database (MICAD) [Internet]. [Updated 2013 January8; Cited 2013 January 13] Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2004-2013. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5330/>.
71. Saeed M, Wendland MF, Watzinger N, Akbari H, Higgins CB. MR contrast media for myocardial viability, microvascular integrity and perfusion. *Eur J Radiol.* 2000; 34: 179–195.
72. Zhou J, Yu M, Sun Y, Zhang X, Zhu X, Wu Z, et al. Fluorine-18-labeled Gd3+/Yb3+/Er3+ co-doped NaYF4 nanophosphors for multimodality PET/MR/UCL imaging. *Biomaterials.* 2011 Feb; 32(4):1148-56.
73. Uppal R, Catana C, Ay I, Benner T, Sorensen AG, Caravan P. Bimodal thrombus imaging: simultaneous PET/MR imaging with a fibrin-targeted dual PET/MR probe-feasibility study in rat model. *Radiology.* 2011 Mar; 258(3): 812-20.
74. Patel D, Kell A, Simard B, Xiang B, Lin HY, Tian G. The cell labeling efficacy, cytotoxicity and relaxivity of copper-activated MRI/PET imaging contrast agents. *Biomaterials.* 2011 Feb; 32(4):1167-76.
75. Lee HY, Li Z, Chen K, Hsu AR, Xu C, Xie J, et al. PET/MRI dual-modality tumor imaging using arginine-glycine-aspartic (RGD)-conjugated radiolabeled iron oxide nanoparticles. *J Nucl Med.* 2008 Aug; 49(8):1371-9.
76. Zhang H. 64Cu-DTPA-CLIO-VT680. Source Molecular Imaging and Contrast Agent Database (MICAD) [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2004-2012. 2008 Feb 08 [updated 2008 Mar 11].
77. Xie J, Chen K, Huang J, Lee S, Wang J, Gao J, et al. PET/NIRF/MRI triple functional iron oxide nanoparticles. *Biomaterials.* 2010; 31: 3016–3022.

78. Huang X, Zhang F, Lee S, Swierczewska M, Kiesewetter DO, Lang L, et al. Long-term multimodal imaging of tumor draining sentinel lymph nodes using mesoporous silica-based nanoprobes. *Biomaterials*. 2012 Jun; 33(17): 4370-8.
79. Boss A, Stegger L, Bisdas S, Kolb A, Schwenzer N, Pfister M, et al. Feasibility of simultaneous PET/MR imaging in the head and upper neck area. *Eur J Radiol*. 2011; 21:1439-1446.
80. Thorwarth D, Henke G, Müller AC, Reimold M, Beyer T, Boss A, et al. Simutaneous 68Ga-DOTATOC-PET/MRI for IMRT treatment planning for meningioma: First experience. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, 2011; 81(1): 277-283.
81. Ratib O, Lord M, Becker M, Viallon M, Vallée JP, Loubeyre P, et al. Applications cliniques de l'imagerie hybride TEP-IRM. *Médecine Nucléaire* 2012; (36)10: 605-614.
82. Catana C, Drzezga A, Heiss WD, Rosen BR. PET/MRI for neurologic applications. *J Nucl Med*. 2012 Dec; 53(12): 1916-25.
83. Martinez-Möller A, Eiber M, Nekolla SG, Souvatzoglou M, Drzezga A, Ziegler S, et al. Workflow and scan protocol considerations for integrated whole-body PET/MRI in oncology. *J Nucl Med* 2012; 53:1415-1426.
84. Pauleit D, Floeth F, Hamacher K, Riemenschneider MJ, Reifenberger G, Müller HW, et al. O-(2-[<sup>18</sup>F]fluoroethyl)-L-tyrosine PET combined with MRI improves the diagnostic assessment of cerebral gliomas. *Brain*. 2005; 128: 678-687.
85. Herzog H, Langen KJ, Weirich C, Rota Kops E, Kaffanke J, Tellmann L, et al. High resolution BrainPET combined with simultaneous MRI. *Nuklearmedizin*. 2011; 50(2):74-82.
86. Ledezma CJ, Chen W, Sai V, Freitas B, Cloughesy T, Czernin J, et al. 18F-FDOPA PET/MRI fusion in patients with primary/recurrent gliomas: Initial experience. *Eur J Radiol*. 2009; 71: 242-248.
87. Garibotto V, Heinzer S, Vulliemoz S, Guignard R, Wissmeyer M, Seeck M, et al. Clinical applications of hybrid PET/MRI in neuroimaging. *Clin Nucl Med*. 2013 Jan; 38(1): e13-8.
88. Buchbender C, Hartung-Knemeyer V, Heusch P, Heusner TA, Beiderwellen K, Wittsack HJ, et al. Does positron emission tomography data acquisition impact simultaneous diffusion-weighted imaging in a whole-body PET/MRI system? *Eur J Radiol*. 2012 Dec 10. pii: S0720-048X(12)00563-3. [Epub ahead of print].
89. Drzezga A, Souvatzoglou M, Eiber M, Beer AJ, Fürst S, Martinez-Möller A, et al. First clinical experience with Integrated whole-body PET/MR: Comparison to PET/CT in patients with oncologic diagnoses. *J Nucl Med*. 2012; 53:845-855.
90. Lee WW, Marinelli B, van der Laan AM, Sena BF, Gorbatov R, Leuschner F, et al. PET/MRI of inflammation in myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2012 Jan 10; 59(2):153-63.
91. Neuner I, Warbrick T, Tellmann L, RotaKops E, Arrubla J, Boers F, et al. Multimodal imaging: Simultaneous EEG in a 3T Hybrid MR-PET system. *Nucl Instru Meth A*. Forthcoming 2012 August 17, <http://dx.doi.org/10.1016/j.nima.2012.08.022>.

## The application of quantitative SDS-PAGE method for measurement of extracellular recombinant scFv anti-p17 in crude protein

Kannaporn Intachai<sup>1</sup>,  
Chatchai Tayapiwatana<sup>2,3</sup>,

Chanyanuch Putim<sup>1</sup>,  
Bordin Butr-Indr<sup>1\*</sup>

Watchara Kasinrerk<sup>2,3</sup>,

<sup>1</sup>Division of Clinical Microbiology, Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Science, Chiang Mai University

<sup>2</sup>Division of Clinical Immunology, Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Science, Chiang Mai University

<sup>3</sup>Medical Biotechnology Unit, National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology Development Agency at the Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University

\*Corresponding author

### Abstract

The quantitative determination of recombinant protein in crude protein is not commonly used because the protein is not in purified form. The Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) was developed for quantitative determination of protein. This method has been use for protein quantitative determinations in many propose such as Tamm-Horsfall glycoprotein determination in kidney stone disease patient and determination of titin and nebulin in chicken meat product for meat industries. In this study, the method of quantitative determination of extracellular recombinant single-chain variable fragment anti-HIV-1 p17 proteins (scFv anti-p17) from *Escherichia coli* stain HB2151 by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) was developed by the application of bovine serum albumin as external and internal standard. The range of detection was 1.875 - 0.234 µg. These results presented variation coefficient less than 35%. The method applied to quantitative determination of scFv anti-p17 in 19 of crude protein samples. The quantitative protein concentration results related to the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and western immunoblotting method. The quantitative SDS-PAGE method is capable for quantitative determination of known protein from crude protein extraction. This method decreased the purification step, time consuming and protein yield loss. This application is capable to apply with the other pathogenic protein markers in the future clinical applications. *Bull Chiang Mai Assoc Med Sci* 2013; 46(2): 107-121

**Keywords:** SDS-PAGE, scFv anti-p17, HIV-1

78. Huang X, Zhang F, Lee S, Swierczewska M, Kiesewetter DO, Lang L, et al. Long-term multimodal imaging of tumor draining sentinel lymph nodes using mesoporous silica-based nanoprobes. *Biomaterials*. 2012 Jun; 33(17): 4370-8.
79. Boss A, Stegger L, Bisdas S, Kolb A, Schwenzer N, Pfister M, et al. Feasibility of simultaneous PET/MR imaging in the head and upper neck area. *Eur J Radiol*. 2011; 21:1439-1446.
80. Thorwarth D, Henke G, Müller AC, Reimold M, Beyer T, Boss A, et al. Simutaneous 68Ga-DOTATOC-PET/MRI for IMRT treatment planning for meningioma: First experience. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, 2011; 81(1): 277-283.
81. Ratib O, Lord M, Becker M, Viallon M, Vallée JP, Loubeyre P, et al. Applications cliniques de l'imagerie hybride TEP-IRM. *Médecine Nucléaire* 2012; (36)10: 605-614.
82. Catana C, Drzezga A, Heiss WD, Rosen BR. PET/MRI for neurologic applications. *J Nucl Med*. 2012 Dec; 53(12): 1916-25.
83. Martinez-Möller A, Eiber M, Nekolla SG, Souvatzoglou M, Drzezga A, Ziegler S, et al. Workflow and scan protocol considerations for integrated whole-body PET/MRI in oncology. *J Nucl Med* 2012; 53:1415-1426.
84. Pauleit D, Floeth F, Hamacher K, Riemenschneider MJ, Reifenberger G, Müller HW, et al. O-(2-[<sup>18</sup>F]fluoroethyl)-L-tyrosine PET combined with MRI improves the diagnostic assessment of cerebral gliomas. *Brain*. 2005; 128: 678-687.
85. Herzog H, Langen KJ, Weirich C, Rota Kops E, Kaffanke J, Tellmann L, et al. High resolution BrainPET combined with simultaneous MRI. *Nuklearmedizin*. 2011; 50(2):74-82.
86. Ledezma CJ, Chen W, Sai V, Freitas B, Cloughesy T, Czernin J, et al. 18F-FDOPA PET/MRI fusion in patients with primary/recurrent gliomas: Initial experience. *Eur J Radiol*. 2009; 71: 242-248.
87. Garibotto V, Heinzer S, Vulliemoz S, Guignard R, Wissmeyer M, Seeck M, et al. Clinical applications of hybrid PET/MRI in neuroimaging. *Clin Nucl Med*. 2013 Jan; 38(1): e13-8.
88. Buchbender C, Hartung-Knemeyer V, Heusch P, Heusner TA, Beiderwellen K, Wittsack HJ, et al. Does positron emission tomography data acquisition impact simultaneous diffusion-weighted imaging in a whole-body PET/MRI system? *Eur J Radiol*. 2012 Dec 10. pii: S0720-048X(12)00563-3. [Epub ahead of print].
89. Drzezga A, Souvatzoglou M, Eiber M, Beer AJ, Fürst S, Martinez-Möller A, et al. First clinical experience with Integrated whole-body PET/MR: Comparison to PET/CT in patients with oncologic diagnoses. *J Nucl Med*. 2012; 53:845-855.
90. Lee WW, Marinelli B, van der Laan AM, Sena BF, Gorbatov R, Leuschner F, et al. PET/MRI of inflammation in myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2012 Jan 10; 59(2):153-63.
91. Neuner I, Warbrick T, Tellmann L, RotaKops E, Arrubla J, Boers F, et al. Multimodal imaging: Simultaneous EEG in a 3T Hybrid MR-PET system. *Nucl Instru Meth A*. Forthcoming 2012 August 17, <http://dx.doi.org/10.1016/j.nima.2012.08.022>.

## The application of quantitative SDS-PAGE method for measurement of extracellular recombinant scFv anti-p17 in crude protein

Kannaporn Intachai<sup>1</sup>,  
Chatchai Tayapiwatana<sup>2,3</sup>,

Chanyanuch Putim<sup>1</sup>,  
Bordin Butr-Indr<sup>1\*</sup>

Watchara Kasinrerk<sup>2,3</sup>,

<sup>1</sup>Division of Clinical Microbiology, Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Science, Chiang Mai University

<sup>2</sup>Division of Clinical Immunology, Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Science, Chiang Mai University

<sup>3</sup>Medical Biotechnology Unit, National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology Development Agency at the Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University

\*Corresponding author

### Abstract

The quantitative determination of recombinant protein in crude protein is not commonly used because the protein is not in purified form. The Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) was developed for quantitative determination of protein. This method has been use for protein quantitative determinations in many propose such as Tamm-Horsfall glycoprotein determination in kidney stone disease patient and determination of titin and nebulin in chicken meat product for meat industries. In this study, the method of quantitative determination of extracellular recombinant single-chain variable fragment anti-HIV-1 p17 proteins (scFv anti-p17) from *Escherichia coli* stain HB2151 by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) was developed by the application of bovine serum albumin as external and internal standard. The range of detection was 1.875 - 0.234 µg. These results presented variation coefficient less than 35%. The method applied to quantitative determination of scFv anti-p17 in 19 of crude protein samples. The quantitative protein concentration results related to the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and western immunoblotting method. The quantitative SDS-PAGE method is capable for quantitative determination of known protein from crude protein extraction. This method decreased the purification step, time consuming and protein yield loss. This application is capable to apply with the other pathogenic protein markers in the future clinical applications. *Bull Chiang Mai Assoc Med Sci* 2013; 46(2): 107-121

**Keywords:** SDS-PAGE, scFv anti-p17, HIV-1

## การประยุกต์ใช้ทักษิค SDS-PAGE เพื่อตรวจหาโปรตีน Extracellular Recombinant Single-chain Variable Fragment Anti-HIV-1 p17 จากโปรตีนรวม

กรรณภรณ์ อินทชัย<sup>1</sup>,  
ชัชชัย ตะยาภิวัฒนา<sup>2,3</sup>

รัณยาณุช ภูทิม<sup>1</sup>  
บดินทร์ บุตรอินทร์<sup>1</sup>

วัชรา กาสินฤกษ์<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> แขนงวิชาชุลชีววิทยาคลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

<sup>2</sup> แขนงวิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

<sup>3</sup> ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีววิทยาแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

\* ผู้รับผิดชอบบทความ

### บทคัดย่อ

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนลูกผสมที่จำเพาะจากโปรตีนรวมทำได้ยาก เนื่องจากโปรตีนที่ต้องการยังไม่ผ่านการทำบริสุทธิ์ ปัจจุบันการพัฒนาเทคนิคการหาปริมาณโปรตีนลูกผสมที่จำเพาะจากโปรตีนรวมโดยตรงด้วยวิธี quantitative sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) นำมาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนหลายชนิด เช่น การหาโปรตีน Tamm-Horsfall glycoprotein เพื่อตรวจคัดกรองผู้ป่วยโรคนิ่วในไต และการตรวจหาโปรตีน titin และ nebulin ในเนื้อไก่ ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้พัฒนาการหาปริมาณโปรตีน single chain variable fragment anti-HIV-1 p17 (scFv anti-p17) ที่ผลิตออกนอกเซลล์จากเชื้อ *Escherichia coli* สายพันธุ์ HB2151 โดยใช้โปรตีน bovine serum albumin (BSA) เป็นตัวควบคุมภายนอก และตัวควบคุมภายในจากการศึกษาพบว่า การสร้างกราฟมาตรฐานในโปรตีน BSA จากพื้นที่ตัวกราฟที่วิเคราะห์จากความเข้มของแถบโปรตีน BSA ในเจลด้วยโปรแกรม ImageQuant TL program ได้ค่าความเข้มข้นของ BSA ที่ใช้เป็นตัวควบคุมภายนอก และตัวควบคุมภายในอยู่ในช่วงค่าความเข้มข้น 0.234 - 1.875 ไมโครกรัม มีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (%CV) ได้น้อยกว่า 35% เมื่อใช้การทดสอบการหาปริมาณ scFv anti-p17 ในตัวอย่างโปรตีนจำนวน 19 ตัวอย่าง ให้ผลของปริมาณโปรตีนที่สัมพันธ์กับผลการทดสอบด้วยวิธี enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA) และ western immunoblotting การหาปริมาณโปรตีนจำเพาะจากโปรตีนรวมด้วยวิธี SDS-PAGE ทำให้ทราบปริมาณโปรตีนโดยไม่ต้องผ่านขั้นตอนการทำบริสุทธิ์โปรตีน ช่วยลดระยะเวลา และการสูญเสียโปรตีน สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการหาปริมาณโปรตีนบ่งชี้ที่สำคัญทางการแพทย์ได้ในอนาคต วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2556; 46(2): 107-121

**คำรหัส:** : ไซเดียมไดเดซิลซัลเฟต พอลิอิโควิลิโน่เมค์เจล อิลีก์ไตริฟลิชิส ชิงเกลชัน แวร์โอบิล แฟร์กเมนต์ เมทริกซ์ โปรตีนพี-17 เอชไอวี-1

### บทนำ

เทคโนโลยีการผลิตโปรตีนลูกผสม (recombinant protein) เพื่อใช้ในการวินิจฉัย การรักษาโรค และงานวิจัย เช่น การผลิตโปรตีนอินซูลินเพื่อช่วยรักษาผู้ป่วยเบาหวาน<sup>1</sup> การผลิตโปรตีน single chain variable fragment (scFv) ที่มีความสามารถในการจับอย่างจำเพาะกับแอนติเจนได้หลากหลาย

ชนิด เพื่อใช้ในการรักษาการตรวจวินิจฉัยมะเร็งชนิดต่างๆ เช่น มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งต่อมน้ำเหลือง และมะเร็งลำไส้ เป็นต้น<sup>2</sup> จากประโยชน์ดังกล่าวการผลิต scFv เพื่อใช้ในทางการแพทย์มีความสำคัญเป็นอย่างมาก การทดสอบประสิทธิภาพการผลิตโปรตีนลูกผสมมีหลายขั้นตอน การหา

ปริมาณโปรตีนเป็นขั้นตอนหนึ่งที่แสดงถึงผลผลิตโปรตีนที่ได้มีปริมาณมากเพียงพอต่อการใช้งานหรือไม่ วิธีการหาปริมาณโปรตีนโดยทั่วไปคือ วิธี Kjeldahl วิธี Biuret วิธี Lowry-Folin และวิธี Bradford การหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธีข้างต้นนิยมใช้คำนวนหาปริมาณโปรตีนในรูปแบบการหาโปรตีนรวม จึงไม่สามารถหาปริมาณโปรตีนที่จำเพาะจากโปรตีนที่ไม่ผ่านขั้นตอนการทำบริสุทธิ์ได้

เทคนิค quantitative sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (quantitative SDS-PAGE) เป็นเทคนิคที่นำมาใช้ในงานวิเคราะห์โปรตีนชนิดใดชนิดหนึ่งจากโปรตีนรวม โดยแยกโปรตีนภายใต้สสารไฟฟ้าอาศัยความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนที่มีโครงสร้างปฐมภูมิต่างกัน และหาปริมาณโปรตีนจากความเข้มของແບบโปรตีนที่จำเพาะเมื่อเทียบกับโปรตีนมาตรฐาน การวิเคราะห์โปรตีนด้วยเทคนิค quantitative SDS-PAGE เป็นเทคนิคที่ง่าย และน่าเชื่อถือ จากการศึกษาที่ผ่านมา เทคนิค quantitative SDS-PAGE ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร และทางการแพทย์ Tomaszewska-Gras และคณะได้ศึกษาหาปริมาณโปรตีน titin และ nebulin ในเนื้อไก่ด้วยเทคนิค SDS-PAGE โดยใช้  $\beta$ -galactosidase เป็นตัวควบคุมภายนอก พบว่าปริมาณโปรตีนที่คำนวณได้มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์คิดเป็น  $0.91-0.99^3$  การศึกษาของ Hofman และคณะตรวจหาปริมาณคอลลาเจนที่มีความเข้มข้นต่างๆ ในการผลิตเบียร์ด้วยเทคนิค semi-quantitative SDS-PAGE โดยสามารถตรวจหาคอลลาเจนที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.03 ppm การศึกษาของ Wai-hoe และคณะหาปริมาณ Tamm-Horsfall glycoprotein (THP) ด้วยวิธี SDS-PAGE โดยใช้โปรตีน THP มาตรฐาน เป็นตัวควบคุมภายนอกเพื่อใช้ในการคัดกรองผู้ป่วยโรคนี้ในไตจากการศึกษาให้ค่าความสามารถในการให้ผลลัพธ์ (Reproducibility) และค่าความสามารถในการวัดซ้ำ (Repeatability) เท่ากับ 4.8 % CV และ 2.6 % CV ตามลำดับ พบว่าสามารถคัดกรองผู้ป่วยออกจากคนปกติได้โดยมีความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ถูกลง 92.3% และ 83.3% ตามลำดับ<sup>4</sup> การศึกษาของ Li และคณะทำการตรวจหาปริมาณโปรตีนในน้ำตาที่เปลี่ยนแปลงในผู้ป่วยโรคติดตัวด้วยวิธี SDS-PAGE densitometry โดยใช้โปรตีน soybean trypsin inhibitor (SBTI) เป็นตัวควบคุมภายนอก พบว่า เทคนิคนี้สามารถใช้ในการวินิจฉัยการเกิดโรคติดตัวได้โดยวิเคราะห์จากปริมาณโปรตีนในน้ำตาที่เปลี่ยนแปลงไป<sup>5</sup> Ricny และคณะศึกษาการหาปริมาณ myosin heavy chain (MyHC) isoforms ในกล้ามเนื้อ ด้วยวิธี ELISA เปรียบเทียบกับวิธี SDS-PAGE พบว่าความถูกต้อง และความเร็วของวิธี ELISA ให้ผลใกล้เคียงกับการหา

ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE<sup>6</sup>

ในการศึกษาครั้นนี้คณะผู้จัดผลิตโปรตีน single-chain variable fragment anti-p17 (scFv anti-p17) ออกสูน์ออกเซลล์จากเชื้อ *Escherichia coli* สายพันธุ์ HB2151 ซึ่ง scFv เป็นโปรตีนลูกผสมที่มีขนาดโมเลกุลขนาดเล็กกว่าแอนติบอดีปกติ (intact antibody) 5-6 เท่าโดยมีขนาดโมเลกุลประมาณ 27-30 กิโลดอลตัน<sup>7</sup> โครงสร้างของ scFv ประกอบด้วย variable light chain และ variable heavy chain โดยต่อกันด้วยสายเปปไทด์สายสั้นๆ ขนาด 10-25 กรดอะมิโนสามารถจับอย่างจำเพาะกับแอนติเจน และแทรกเข้าสู่เนื้อเยื่อต่างๆ ได้ดีเมื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคในผู้ป่วย scFv มีโอกาสกระตุนให้ผู้ป่วยสร้างแอนติบอดีของผู้ป่วยต่อ scFv ได้น้อยกว่าเมื่อเทียบกับการใช้ในโคลนอลแอนติบอดีในการรักษา จากการวัดความสำดูของ scFv ตั้งกล่าวมาข้างต้น นักวิทยาศาสตร์จึงศึกษาคุณสมบัติ และการใช้งาน scFv มากขึ้น จากการศึกษาของ Lim และคณะทำการผลิต และทำบริสุทธิ์ scFv ต่อ exotoxin ของเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* จาก *E. coli* สายพันธุ์ HB2151 พบว่าโปรตีนที่ผลิตได้มีขนาดโมเลกุลประมาณ 27.5 กิโลดอลตัน และสามารถนำไปใช้ในการทดลองอื่นต่อไปได้<sup>8</sup> Tragoolpua และคณะได้ศึกษาการแสดงออกของ scFv-M6-1B9 intrabody ที่มีความจำเพาะกับ CD147 พบว่าสามารถลดการแสดงออกของ CD147 บนผิวเซลล์ 239A<sup>9</sup> และการศึกษาของ Mukhtar และคณะเกี่ยวกับการแสดงออกของ single chain intracellular antibodies ที่มีความจำเพาะกับ nucleoprotein ของเชื้อไวรัส influenza ชนิด A พบว่าสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัส influenza ชนิด A ได้<sup>10</sup> Gal-Tanamy และคณะสร้าง intrabodies ต่อเอนไซม์ NS3 protease เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ NS3 protease ของเชื้อไวรัสตับอักเสบชนิดดี พบว่าสามารถลดการเพิ่มจำนวนของไวรัสตับอักเสบชนิดดี<sup>11</sup> จากการศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นการใช้ประโยชน์ scFv ในรูปแบบต่างๆ แต่การผลิต scFv เพื่อใช้ประโยชน์ยังมีปัญหาในการหาปริมาณของ scFv ที่ผลิตได้ การผลิต scFv โดยแบบที่เรียบมีขั้นตอนการทำการทำบริสุทธิ์โปรตีนหลายขั้นตอนทำให้โปรตีนที่ได้ถูกย่อยไปในขั้นตอนการทำการทำบริสุทธิ์ และการติดตามโปรตีน เป็นอย่างมากทำได้ยาก ดังนั้นการศึกษาครั้นนี้ได้พัฒนาเทคนิค quantitative SDS-PAGE เพื่อใช้ในการหาปริมาณโปรตีน scFv anti-p17 ที่ผลิตโดยเชื้อ *E. coli* สายพันธุ์ HB2151 หลังออกนอกเซลล์โดยตรงจากโปรตีนรวม เพื่อลดขั้นตอนการทำบริสุทธิ์โปรตีน ตรวจติดตามปริมาณโปรตีนในแต่ละขั้นตอนของการทำการทำบริสุทธิ์ และสามารถประยุกต์ใช้กับการผลิตโปรตีนลูกผสมชนิดต่างๆ จากเชื้อจุลชีพชนิดอื่นได้ในอนาคต

## วิธีการศึกษา

## 1. การเตรียมโปรตีน scFv anti-p17

เลี้ยงเชื้อ *E. coli* สายพันธุ์ HB2151 ที่มีพลาสมิด pComb3x-scFvp17-His-HA ในอาหารเลี้ยงเชื้อ terrific broth (1.2% tryptone, 2.4% yeast extract, 72 mM  $K_2HPO_4$ , 17 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 7.0, 1% glucose, 0.4% glycerol และ 100 µg/ml ampicillin) กระตุ้นให้เชื้อสร้างโปรตีน scFv anti-p17 ด้วย Isopropyl β-D-1-thiogalactopyranoside (IPTG) ความเข้มข้น 58 ไมโครโมลาร์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลา 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมง ตกลงก่อนไปรีโนจากอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยแคมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้น 70% ปั่นแยกโปรตีนที่ตกลงก่อนด้วยเครื่องห่วงสารตกลงก่อนที่ความเร็วรอบ 6000 g นำโปรตีนผ่านการตกลงก่อนไปผ่านกระบวนการไดอะลิซิส (dialysis) เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

**Table 1** Coomassie Blue staining protocol<sup>3</sup>

		Time (min)
1.	Fixation : 40% v/v ethanol, 10% v/v glacial acetic acid	30
2.	Staining : 0.05% w/v Coomassie Blue R-250, 25% v/v ethanol and 8% v/v acetic acid	30
3.	Destaining : 25% v/v ethanol and 8% v/v acetic acid	Until clear background
4.	Preserving 10% v/v acetic acid and 10% v/v glycerol	15

### 3. การตรวจหาโปรตีน scFv anti-p17 ด้วยวิธี western immunoblotting

เพื่อยืนยันตำแหน่งจำเพาะของโปรตีน scFv anti-p17 โดยแยกโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE จากนั้นย้ายโปรตีนจากเจลสูญญากาศมีเมมเบรน polyvinylidene difluoride (PVDF) ด้วยเครื่อง electroblot ใช้กราฟฟิฟ่า 54 มิลลิเมตรแปร เวลา 110 นาที จากนั้นเติม 5% skim milk/phosphate buffer saline (PBS, pH 7.2) บนเมมเบรน PVDF บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง เติม mouse anti-HA mAbs (Sigma, USA) อัตราส่วน 1:3000 ลงไปบนแผ่นเมมเบรน บ่มที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ล้างแผ่นเมมเบรนด้วย 0.05% v/v Tween20/ PBS (pH 7.2) 3 ครั้ง เติม HRP conjugated goat anti-mouse immunoglobulin antibodies (KPL, USA) อัตราส่วน 1:3000 บ่มที่ 25 องศาเซลเซียส electroblot เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ล้างแผ่นเมมเบรนด้วย 0.05% v/v Tween20/PBS (pH 7.2) สามครั้ง และล้างด้วย PBS (pH 7.2) 1 ครั้ง เติม chemiluminescent substrates (Pierce, USA) อยู่ในชั้นเมมเบรน และประ年之久ฟิล์มเป็นห้องมีดีฟาย 30 นาที

ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปตีน้ำแข็งไว้ 48 ชั่วโมง

## 2. การแยกโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE

นำโปรตีนรวมผสมกับ sample buffer (0.3125 M Tris HCl, 10% SDS, 50% glycerol, 0.05% bromphenol blue, 25% 2-Mercaptoethanol) ในอัตราส่วน 5:1 นำไปเติมที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แยกโปรตีน scFv anti-p17 ด้วย 12.5% polyacrylamide gel โดยใช้ความต่างศักย์ 150 โวลต์ เวลา 2 ชั่วโมง นำเจลย้อมด้วยสี coomassie blue R-250 การย้อมสีเจล มีขั้นตอนดังแสดงในตารางที่ 1 โดยใช้น้ำยาและสีย้อมบริมาตรา 15 มิลลิลิตร ต่อการย้อม polyacrylamide gel 1 เจล

#### 4. การตรวจสอบโปรตีน scFv anti-p17 ด้วยวิธี direct ELISA

เพื่อทดสอบความสามารถในการจับกับแอนติเจนของ  
โปรตีน scFv anti-p17 และยืนยันว่ามีโปรตีน scFv anti-p17  
อยู่ในโปรตีนรวม โดยเคลือบแอนติเจนเปปไทด์ p17 ที่  
จำเพาะต่อ scFv anti-p17 ในไมโครเพลททิ้งไว้ที่อุณหภูมิ  
4 องศาเซลเซียส ข้ามคืน ล้างเพลทด้วย 0.05% Tween20/  
TBS 3 ครั้ง เติม 2% BSA /TBS หลุมละ 200 ไมโครลิตร  
ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง จากนั้นล้างเพลทด้วย 0.05%  
Tween20/TBS 3 ครั้ง เจือจานโปรตีน scFv anti-p17 ที่ผลิต  
ได้ให้มีความเข้มข้นในโปรตีนรวม 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร  
และเติมลงไปในหลุม ปริมาตร 50 ไมโครลิตร สำหรับหลุม  
ควบคุมชนิดผลบวก (positive control) เติม scFv anti-p17  
ที่เคยทำการทดสอบแล้วได้ผลบวกลงในหลุม ปริมาตร 50  
ไมโครลิตร หลุมควบคุมชนิดผลลบ (negative control) เติม  
scFv-M61B9 ลงในหลุม ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 1  
ชั่วโมง จากนั้nl ล้างออก ด้วย 0.05% Tween20/TBS 3 ครั้ง  
เติม HRP conjugated monoclonal anti-HA (1:1000) หลุมละ  
50 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมงล้างออก ด้วย 0.05% Tween20/

TBS 3 ครั้ง เติม TMB microwell substrate หลุมละ 50 ไมโครลิตร ปิดฝาครอบไว้ในที่มีดีทิ้งนาน 30 นาที หยุดการทำปฏิกิริยาด้วยการเติม 1N HCl หลุมละ 50 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร

## 5. การหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Quantitative SDS-PAGE

### 5.1 การสร้างกราฟมาตราฐาน

วิเคราะห์ความเข้มข้นของແແບປ່ອປ່າຍນັບແຈລທີ່ຍ້ອມດ້ວຍສີ coomassie brilliant blue ດ້ວຍເຄື່ອງ Image Scanner III (GE healthcare) ໂປ່ງແກຣມ ImageQuant TL programme

#### 5.1.1 การสร้างกราฟมาตราฐานโดยใช้โปรตีน BSA มาตราฐานเป็นตัวควบคุมภายนอก

แยกໂປ່ອປ່າຍ BSA มาตราฐานความเข้มข้น 1.875, 0.9375, 0.469, 0.234 และ 0.117 ໄນໂຄຣກັນ ດ້ວຍວິທີ SDS-PAGE ແລະ ວິເຄຣະໜີ້ພື້ນທີ່ໄດ້ການຝຶກໂປ່ອປ່າຍ ໂປ່ອປ່າຍ BSA มาตราฐาน ສ້າງການຝຶກມາตราฐานຈາກຄ່າພື້ນທີ່ໄດ້ການຝຶກໂປ່ອປ່າຍ BSA มาตราฐาน ໄດຍກຳທັນໃຫ້ແກນຕັ້ງແສດງພື້ນທີ່ໄດ້ການຝຶກ ແລະ ແກ່ນນອນແສດງຄວາມເຂັ້ມຂັ້ນຂອງໂປ່ອປ່າຍ BSA มาตราฐานໃນໜ່າຍໄມໂຄຣກັນ

คำນວນຄວາມເຂັ້ມຂັ້ນຂອງໂປ່ອປ່າຍ BSA มาตราฐานຈາກການຝຶກ ແລະ ສ້າງການຝຶກຄວາມສົມພັນຮັບຮ່ວງຄ່າຄວາມເຂັ້ມຂັ້ນຂອງໂປ່ອປ່າຍ BSA มาตราฐานທີ່ທ່ານຄ່າ ແລະ ຄວາມເຂັ້ມຂັ້ນຂອງໂປ່ອປ່າຍ BSA มาตราฐานທີ່ຄໍານວນໄດ້ຈາກການຝຶກ

#### 5.1.2 การสร้างกราฟมาตราฐานโดยใช้ໂປ່ອປ່າຍ BSA มาตราฐานเป็นตัวควบคุมภายนอก

แยกໂປ່ອປ່າຍ BSA มาตราฐานความเข้มข้น 1.875, 0.9375, 0.469, 0.234 และ 0.117 ໄນໂຄຣກັນ ຜສມກັບໂປ່ອປ່າຍຮັມຄວາມເຂັ້ມຂັ້ນ 20 ໄນໂຄຣກັນ ດ້ວຍວິທີ SDS-PAGE ແລະ ວິເຄຣະໜີ້ພື້ນທີ່ໄດ້ການຝຶກໂປ່ອປ່າຍ BSA มาตราฐาน ສ້າງການຝຶກມາตราฐานຈາກພື້ນທີ່ໄດ້ການຝຶກໂປ່ອປ່າຍ BSA มาตราฐาน

โดยກຳທັນໃຫ້ແກນຕັ້ງແສດງພື້ນທີ່ໄດ້ການຝຶກ ແລະ ແກ່ນນອນແສດງຄວາມເຂັ້ມຂັ້ນຂອງໂປ່ອປ່າຍ BSA ໃນໜ່າຍໄມໂຄຣກັນ

คำນວນຄວາມເຂັ້ມຂັ້ນຂອງໂປ່ອປ່າຍ BSA ມາຕຽນຈາກການຝຶກ ແລະ ສ້າງການຝຶກຄວາມສົມພັນຮັບຮ່ວງຄ່າຄວາມເຂັ້ມຂັ້ນຂອງໂປ່ອປ່າຍ BSA ມາຕຽນຈາກທີ່ໂລດລົງໃນເຈລ ແລະ ຄວາມເຂັ້ມຂັ້ນຂອງໂປ່ອປ່າຍ BSA ມາຕຽນຈາກທີ່ຄໍານວນໄດ້ຈາກການຝຶກ

#### 5.2 การหาปริมาณໂປ່ອປ່າຍ scFv anti-p17 ໂດຍໃຫ້ໂປ່ອປ່າຍ BSA ມາຕຽນເປັນຕົວຄວບຄຸມພາຍໃນ

ເຕີຍມໂປ່ອປ່າຍ BSA ມາຕຽນ ຄວາມເຂັ້ມຂັ້ນ 1.875, 0.9375, 0.469, 0.234 ແລະ 0.117 ໄນໂຄຣກັນ ຜສມໂປ່ອປ່າຍຮັມຄວາມເຂັ້ມຂັ້ນ 20 ໄນໂຄຣກັນ ນໍາໄປວິເຄຣະໜີ້ໂປ່ອປ່າຍ ດ້ວຍວິທີ SDS-PAGE ແລະ western immunoblotting ຄໍານວນຫາຄວາມເຂັ້ມຂັ້ນຂອງ scFv anti-p17 ຈາກຄ່າພື້ນທີ່ໄດ້ການຝຶກຂອງຄວາມເຂັ້ມຂັ້ນຂອງແແບປ່ອປ່າຍ scFv anti-p17 ຈາກການປະຢຸກຕື່ສູງຮາກ ຄໍານວນຂອງ Tomaszewska-Gras J. ແລະ ຄົນະ<sup>3</sup>

### ผลการทดลอง

1. ການຝຶກມາตราฐานຈາກໂປ່ອປ່າຍ BSA ມາตราฐาน ແລະ ການຝຶກຄວາມສົມພັນຮັບຮ່ວງຄ່າຄວາມເຂັ້ມຂັ້ນຂອງໂປ່ອປ່າຍ BSA ມາตราฐานທີ່ທ່ານຄ່າ ແລະ ຄວາມເຂັ້ມຂັ້ນຂອງໂປ່ອປ່າຍ BSA ມາตราฐานທີ່ຄໍານວນໄດ້ໂປ່ອປ່າຍ BSA ມາตราฐานເປັນຕົວຄວບຄຸມພາຍໃນ

ແພັກໂປ່ອປ່າຍ BSA ມາตราฐานຄວາມເຂັ້ມຂັ້ນ 1.875, 0.9375, 0.469, 0.234 ແລະ 0.117 ໄນໂຄຣກັນ ດ້ວຍວິທີ SDS-PAGE ພບແບປ່ອປ່າຍຂອງໂປ່ອປ່າຍ BSA ມາตราฐานເປັນແບປ ເດືອນ ນ້ຳໜັກໂມເລກຖປະມານ 65 ກີໂລດາລຕັນ ເມື່ອເຖິນກັບ molecular weight marker ຄວາມເຂັ້ມຂັ້ນຂອງແບປປ່ອປ່າຍ ລດລົງຕາມລຳດັບ ດັ່ງແສດງໃນຮູບທີ່ 1 ເມື່ອວິເຄຣະໜີ້ຄວາມເຂັ້ມຂັ້ນຂອງແບປປ່ອປ່າຍໃນເຈລ ໂປ່ງແກຣມ ImageQuant TL programme ຜຶ່ງແສດງຜລເປັນຄ່າພື້ນທີ່ໄດ້ການຝຶກ ພບວ່າ ຄ່າພື້ນທີ່

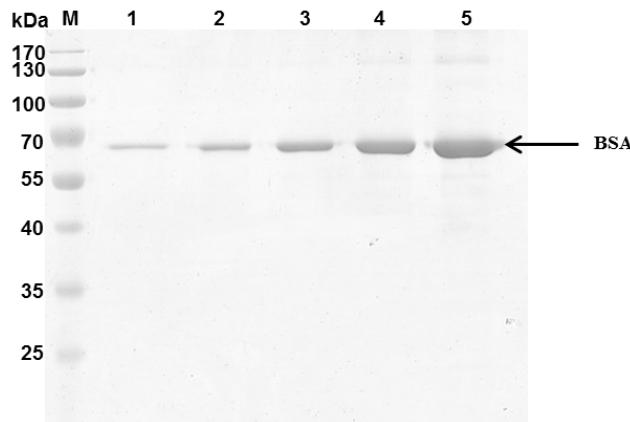
$$X = \frac{P_{\text{protein peak}}}{P_{\text{int. standard}}} \times \frac{S_{\text{int. standard}}}{S_{\text{total protein}}} \times 100 [\%]$$

สมการคำนวณปริมาณໂປ່ອປ່າຍທີ່ປະຢຸກຕື່ສູງຮາກຂອງ Tomaszewska-Gras J. ແລະ ຄົນະ<sup>3</sup>

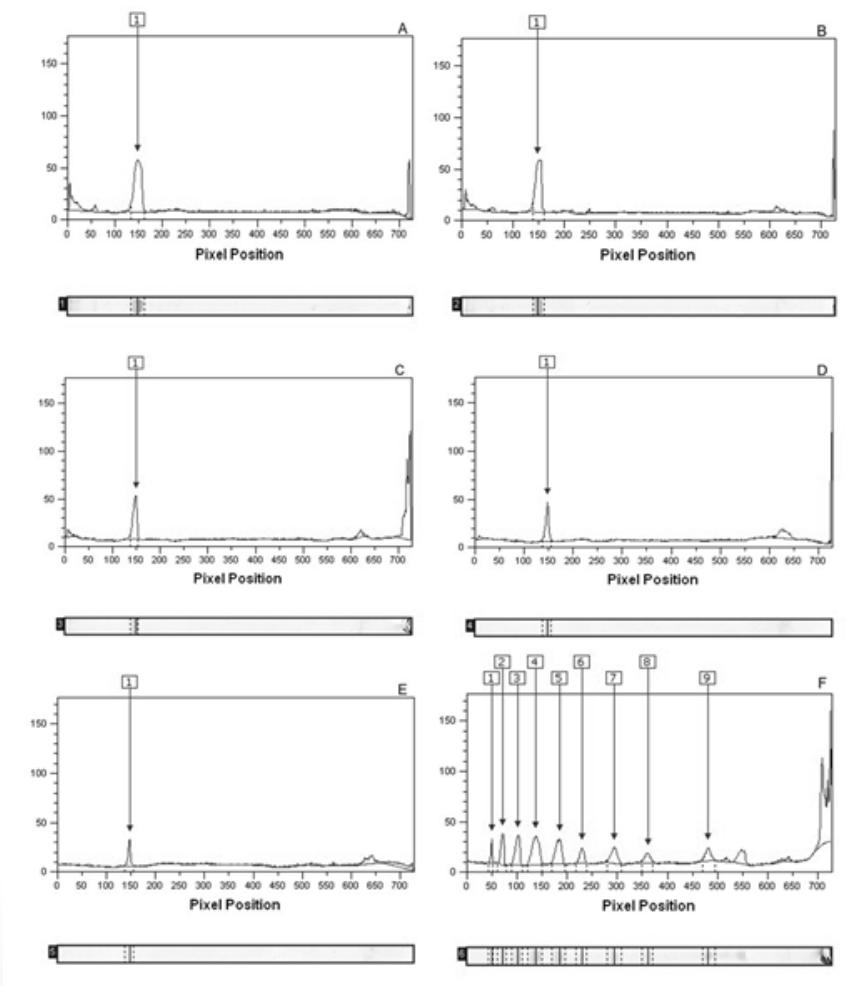
โดย	X	ແທນ	ຄວາມເຂັ້ມຂັ້ນຂອງໂປ່ອປ່າຍທີ່ຄໍານວນໄດ້ໃນໜ່າຍເປົ້ອເຕັນຕົ້ນ
	P_(protein peak)	ແທນ	ຄ່າພື້ນທີ່ໄດ້ການຝຶກໂປ່ອປ່າຍທີ່ຕ້ອງການທ່ານຄວາມເຂັ້ມຂັ້ນ
	P_(int. standard)	ແທນ	ຄ່າພື້ນທີ່ໄດ້ການຝຶກໂປ່ອປ່າຍທີ່ຕ້ອງການຝຶກມາตราฐาน
	S_(int. standard)	ແທນ	ຄວາມເຂັ້ມຂັ້ນຂອງມາตราฐาน
	S_(total protein)	ແທນ	ຄວາມເຂັ້ມຂັ້ນຂອງໂປ່ອປ່າຍຮັມຄວາມ

ได้กราฟลดลงตามความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่ลดลงตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 2 และตารางที่ 2 ตามลำดับ เมื่อนำค่าพื้นที่ได้กราฟ จากตารางที่ 2 มาสร้างกราฟ

มาตรฐาน ได้กราฟเส้นตรงมีค่าสัมประสิทธิ์สัมพันธ์  $R \geq 0.98$  ดังแสดงในรูปที่ 3 ผลการคำนวณค่าความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานจากกราฟ และค่าสัมประสิทธิ์



**Figure 1** SDS-PAGE analysis of various concentrations of standard BSA; Lane 1-5: 1.875, 0.9375, 0.469, 0.234, 0.117  $\mu\text{g}$ , respectively, Lane M: Prestained protein ladder



**Figure 2** Peak areas of various concentrations of standard BSA intensity; (A-E) Peak areas of 1.875, 0.9375, 0.469, 0.234, 0.117  $\mu\text{g}$ , respectively. (F) Peak area of molecular weight marker intensity

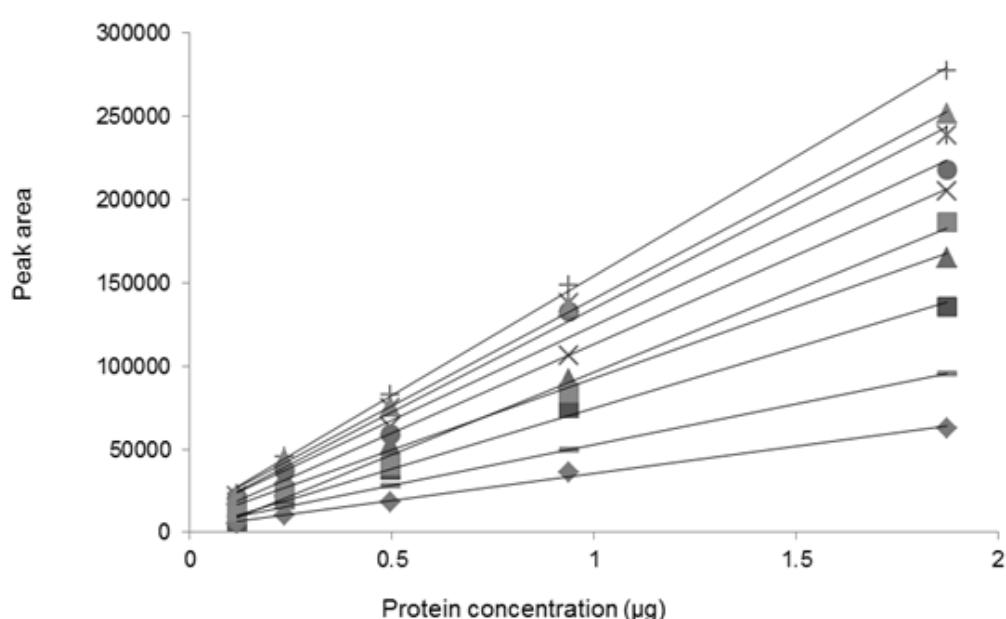
**Table 2** Peak areas of standard BSA concentration analyzed by ImageQuant TL program

Table 2 Peak areas of standard BSA concentration analyzed by ImageQuant TL program

Std BSA conc. ( $\mu$ g)	Peak area analysis by ImageQuant TL programme										$\bar{X}$	SD
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1.875	135710	165217	205062	186223	251404	238601	218191	277552	95638	62626	183622	69215
0.937	74883	91852	106547	83902	135592	137518	132459	148659	49457	35880	99674	39101
0.469	37394	52361	63236	40238	75752	74469	59038	82627	28661	18450	53222	21577
0.234	19682	27582	33601	24974	43867	34551	37171	45206	15717	10723	29307	11628
0.117	6640	11359	14418	12325	22248	21947	21376	23315	8407	5526	14756	6943

ความแปรปรวน (%CV) จากความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่คำนวณได้จากการฟต่อความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่ทราบค่า คือ 1.862, 0.952, 0.495, 0.245, และ 0.099 ไมโครกรัม ตามลำดับ คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนได้ 2.11, 8.58, 10.83, 10.72 และ 39.35 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3 โดยค่าความเข้มข้นที่คำนวณได้จะยอมรับที่ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนน้อยกว่า 35% จากการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐาน เท่ากับ 0.099 ไมโครกรัม มีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนมากกว่า 35% ที่ความเข้มข้นดังกล่าวจึงไม่นำมา

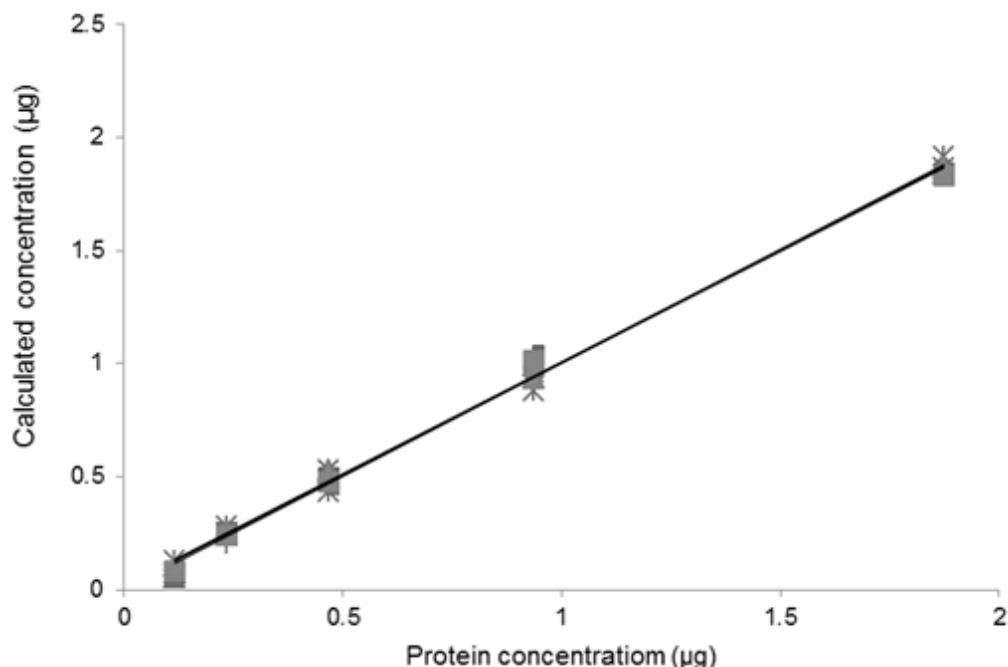
ใช้เป็นตัวควบคุมภายนอกในการคำนวณปริมาณโปรตีน ใน การทดลองครั้งนี้เมื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่คำนวณได้จากกราฟกับค่าความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานได้กราฟเส้นตรงที่ทับกันดังแสดงในรูปที่ 4 ซึ่งเป็นการยืนยันความน่าเชื่อถือ และความถูกต้องของการคำนวณหาปริมาณโปรตีนจากการฟมาตรฐานที่สร้างขึ้น โดยมีโปรตีน BSA มาตรฐานเป็นตัวควบคุมภายนอก เพื่อใช้ในการหาปริมาณโปรตีนจากเจลที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.245 – 1.862 ไมโครกรัม



**Figure 3** Standard curve of quantitative determination of scFv anti-p17 protein using standard BSA as external control from 10 experiment

**Table 3** Concentration of standard BSA calculated by standard curve

Standard BSA concentration ( $\mu$ g)	Standard BSA concentration ( $\mu$ g) determined by standard curve										Mean	%CV
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1.875	1.875	1.843	1.865	1.913	1.855	1.827	1.817	1.860	1.865	1.830	1.862	2.11
0.937	1.007	0.990	0.939	0.877	0.962	1.021	1.072	0.958	0.755	0.933	0.952	8.58
0.469	0.492	0.531	0.531	0.435	0.500	0.519	0.433	0.497	0.517	0.513	0.495	10.83
0.234	0.249	0.242	0.252	0.281	0.255	0.200	0.243	0.235	0.249	0.252	0.245	10.72
0.117	0.069	0.054	0.072	0.125	0.088	0.100	0.106	0.082	0.182	0.105	0.099	39.35

**Figure 4** Relationship between standard BSA concentrations determined by standard curve actual loaded into gel from 10 experiments

2. กราฟมาตรฐานจากโปรตีน BSA มาตรฐาน และกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่ทราบค่า และความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่คำนวณได้โดยใช้โปรตีน BSA มาตรฐานเป็นตัวควบคุมภายใน

แยกโปรตีนรวมความเข้มข้นโปรตีนรวม 20 ไมโครกรัม ที่ผสมกับโปรตีน BSA มาตรฐานความเข้มข้น 1.875, 0.9375, 0.469, 0.234 และ 0.117 ไมโครกรัม ตามลำดับ ด้วยวิธี SDS-PAGE พบตำแหน่งของโปรตีน BSA มาตรฐานมีขนาดไม่เกิน 65 กิโลดالتัน เมื่อเทียบกับ molecular

weight marker โดยความเข้มของแถบโปรตีนลดลงตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 5 เมื่อวิเคราะห์ความเข้มของแถบโปรตีนในเจลด้วยโปรแกรม ImageQuant TL programme ซึ่งแสดงผลเป็นค่าพื้นที่ได้กราฟ พบว่าค่าพื้นที่ได้กราฟลดลงตามความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่ลดลงตามลำดับดังแสดงในรูปที่ 6 และตารางที่ 4

สร้างกราฟมาตรฐานจากค่าพื้นที่ได้กราฟในตารางที่ 4 พบว่าได้กราฟเส้นตรง ค่า  $R \geq 0.98$  ดังแสดงในรูปที่ 7 ผลการคำนวณค่าความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานจากกราฟมาตรฐาน คือ 1.815, 1.045, 0.558, 0.236 และ 0.057 ไมโครกรัม ตามลำดับ ค่าล้มประมาณที่ความแปรปรวน

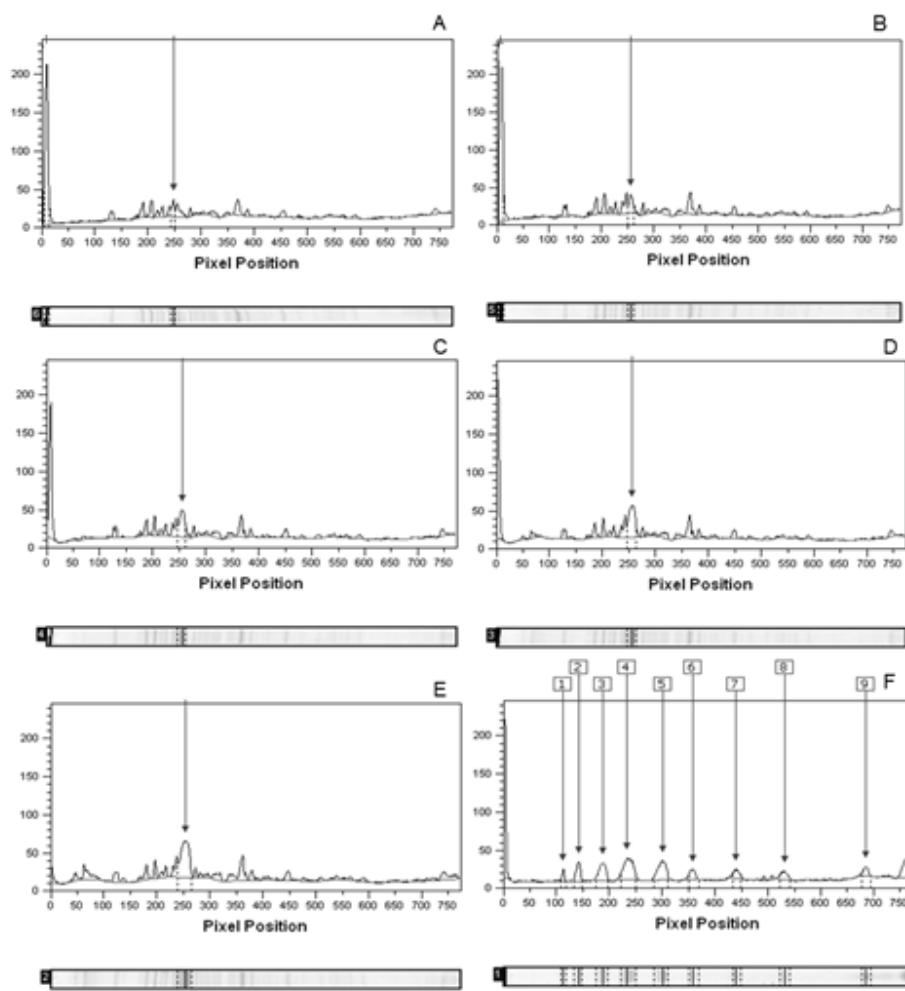
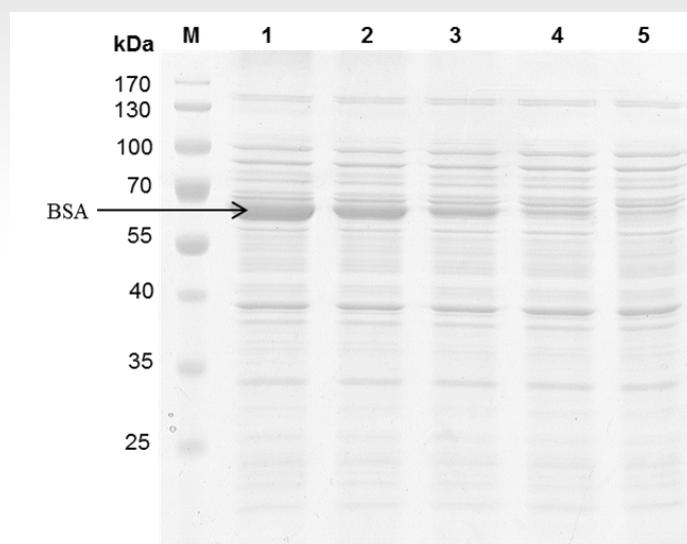


Figure 6 Peak areas of various concentrations of standard BSA intensity. (A-E) Peak areas of 1.875, 0.9375, 0.469, 0.234 and 0.117 µg, respectively, (Arrows), (F) Peak areas of molecular weight marker intensity

**Table 4** Peak areas of standard BSA concentration that analyzed by ImageQuant TL program

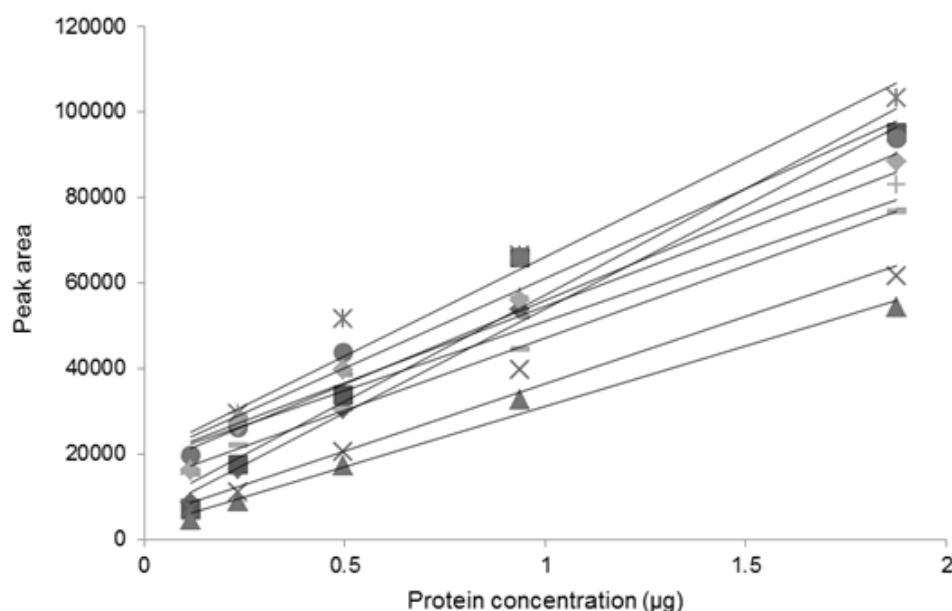
Std BSA Conc. ( $\mu$ g)	Peak area analysis by ImageQuant TL programme										$\bar{X}$	SD
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
1.875	94849	95132	54295	61794	103353	93832	83189	77080	76730	88350	82860	15619
0.937	53993	66048	32715	39760	66441	65896	56846	52216	44560	56057	53453	11542
0.469	30744	33909	17256	20714	51731	43796	39596	38802	30672	39908	34713	10398
0.234	16559	17697	8891	11032	29632	26261	29422	28797	22350	26846	21749	7753
0.117	8823	6971	4720	7380	17386	19803	16486	15510	16201	16175	12946	5356

จากความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่คำนวณได้จากการต่อความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่ทราบค่า คือ 2.459, 6.605, 10.054, 17.442 และ 62.282 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 5 โดยค่าความเข้มข้นที่คำนวณได้จะยอมรับที่ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนน้อยกว่า 35%<sup>3</sup> เมื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่คำนวณได้จากการกับค่าความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่กำหนดค่า ได้กราฟเส้นตรง ดังแสดงในรูปที่ 8 เป็นการยืนยันความน่าเชื่อถือ และความถูกต้องของการคำนวณหาปริมาณโปรตีนจากกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้น โดยมีโปรตีน BSA มาตรฐาน เป็นตัวควบคุมภายใน เพื่อใช้ในการหาปริมาณโปรตีนจากเจลที่ความเข้มข้นตั้งแต่

0.234 - 1.875 ไมโครกรัม

### 3. คำนวณปริมาณโปรตีน scFv anti-p17 ด้วยวิธี quantitative SDS-PAGE โดยใช้โปรตีน BSA มาตรฐานเป็นตัวควบคุมภายใน

เมื่อแยกโปรตีนรวมที่ประกอบด้วยโปรตีน scFv anti-p17 ด้วยวิธี SDS-PAGE โดยใช้โปรตีน BSA มาตรฐาน ความเข้มข้น 1.875 ไมโครกรัม เป็นตัวควบคุมภายใน และตรวจหาโปรตีน scFv anti-p17 ด้วยวิธี western immunoblotting พบແນบโปรตีน scFv anti-p17 ขนาด 27 กิโลดالتัน ดังแสดงในรูปที่ 9 และ 10 และให้ผลบวกเมื่อตรวจสอบโปรตีนด้วยวิธี ELISA

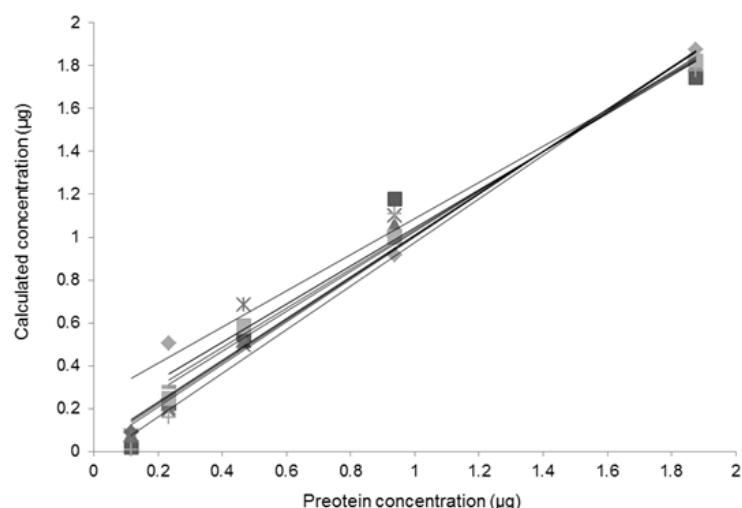


**Figure 7** Standard curves of quantitative determination of scFv anti-p17 protein using standard BSA as internal control from 10 experiments

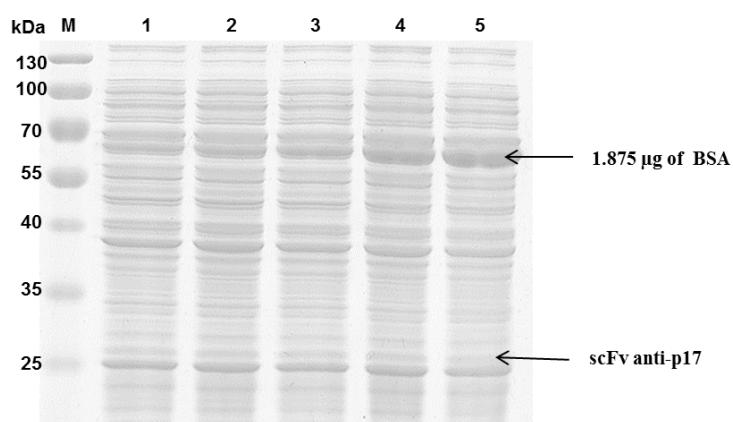
**Table 5** Concentrations of standard BSA calculated by standard curve

Standard BSA concentration ( $\mu$ g)	Standard BSA concentration ( $\mu$ g) determined by standard curve										Mean	%CV
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1.875	1.833	1.746	1.809	1.796	1.803	1.908	1.778	1.796	1.799	1.875	1.815	2.46
0.937	1.004	1.176	1.056	1.099	1.003	1.109	1.056	1.028	0.918	0.997	1.045	6.605
0.469	0.534	0.546	0.516	0.496	0.684	0.511	0.580	0.572	0.612	0.505	0.558	10.05
0.234	0.246	0.228	0.224	0.190	0.204	0.251	0.160	0.286	0.302	0.258	0.238	17.44
0.117	0.090	0.018	0.078	0.074	*	*	0.006	*	*	0.075	0.057	62.28

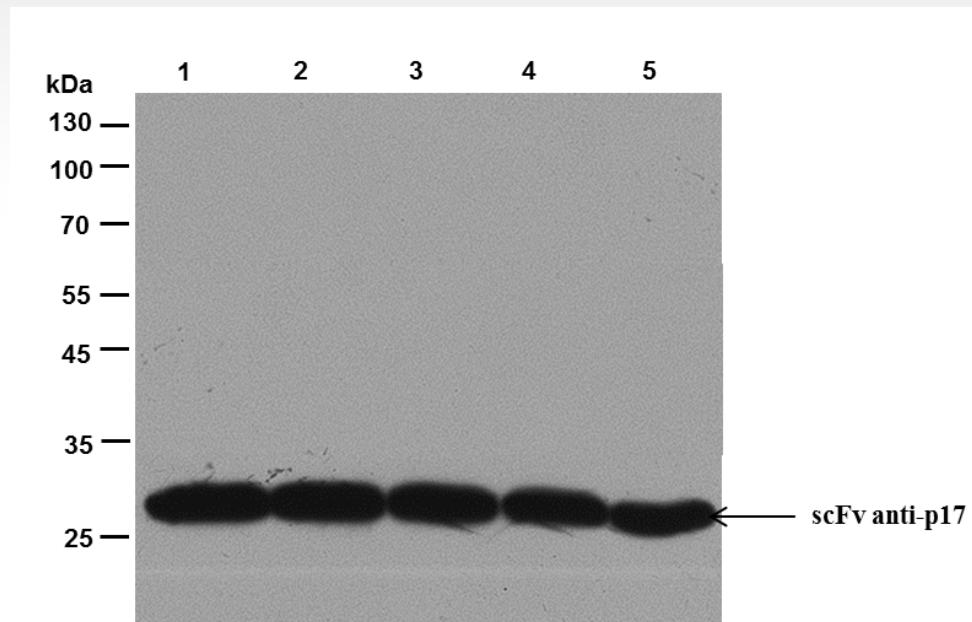
\* The standard BSA concentration was unable to calculate by standard curve



**Figure 8** Relationship between standard BSA concentrations determined by standard curve and actual loaded into gel from 10 experiments



**Figure 9** SDS-PAGE analysis for quantitative determination of scFv anti-p17 using 1.875  $\mu$ g of standard BSA as internal control; Lane 1-5: crude protein (Solid arrows) mixed with 1.875  $\mu$ g of standard BSA (Dash arrows), Lane M: Prestained protein ladder



**Figure 10** Western immunoblotting analysis of scFv anti-p17; Lane 1-5: 20 µg of crude protein mixed with 1.875 µg of standard BSA

จากการวิเคราะห์พื้นที่ตั้กราฟของโปรตีน scFv anti-p17 ด้วยโปรแกรม ImageQuant TL programme ได้ค่าเฉลี่ยพื้นที่ตั้กราฟของ scFv anti-p17 คือ 26,246 ดังแสดงในตารางที่ 6 และเมื่อนำไปคำนวณตามสูตรที่ประยุกต์จากสูตร

การคำนวณของ Tomaszewska-Gras J. และคณะ 3 คำนวณปริมาณโปรตีน scFv anti-p17 ได้ 3.25% หรือ 1.637 มิลลิกรัมต่อปริมาตรการเดี่ยงเชือ 1 ลิตร

**Table 6** Peaks area of scFv anti-p17 bands on SDS gels that analyzed by ImageQuant TL program

Experiment	Peak areas	Mw
1	24,510	26.328
2	22,598	26.550
3	28,776	27.005
4	26,523	27.005
5	28,826	27.236
Mean	26,246	26.82
SD	2713	0.37

#### 4. การหาปริมาณโปรตีน scFv anti-p17 ในโปรตีนรวมที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยเทคนิค quantitative SDS-PAGE

การหาปริมาณโปรตีน scFv anti-p17 จากโปรตีนรวมโดยหาปริมาณโปรตีน scFv anti-p17 จากโปรตีนรวมที่ผลิตได้จำนวน 19 ตัวอย่าง โดยใช้โปรตีน BSA มาตรฐานความเข้มข้น 1.875 ไมโครกรัม เป็นตัวควบคุมภายใน เมื่อทดสอบโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE และ western immunoblotting พบແບป์โปรตีนขนาด 27 กิโลดالتัน และให้ผลบวกเมื่อทดสอบ

โปรตีนด้วยวิธี ELISA เมื่อวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนจากการคำนวณพื้นที่ตั้กราฟของความเข้มข้นของແບป์โปรตีนตามสูตรที่กล่าวมาข้างต้น พบว่าสามารถคำนวณปริมาณ scFv anti-p17 ได้ค่าดังแสดงในตารางที่ 7

#### สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองสร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้โปรตีน BSA มาตรฐาน ความเข้มข้น 1.875, 0.9375, 0.469, 0.234 และ

**Table 7** Quantitative SDS-PAGE method of scFv anti-p17 from crude protein

Samples	OD <sup>a</sup>	IPTG <sup>a</sup> ( $\mu$ M)	Temperature ( $^{\circ}$ C)	Time (h)	Agitation rate (rpm)	Total extracellular protein (TP) (mg/ml)	Recombinant scFv anti-p17 <sup>b</sup> (p17) (OD450nm)	scFv anti-p17 <sup>c</sup> (mg/l)
1	1.5	100	25.0	12	200	6.40 $\pm$ 0.03	1.578 $\pm$ 0.02	1.00
2	0.9	150	25.0	12	200	7.10 $\pm$ 0.02	0.603 $\pm$ 0.01	0.51
3	2.0	200	23.0	18	250	14.4 $\pm$ 0.04	0.578 $\pm$ 0.03	0.72
4	2.5	250	23.0	18	250	16.5 $\pm$ 0.01	0.250 $\pm$ 0.01	0.31
5	3.2	300	21.0	24	250	5.00 $\pm$ 0.02	0.122 $\pm$ 0.02	0.13
6	3.6	350	21.0	24	250	5.30 $\pm$ 0.04	0.459 $\pm$ 0.03	0.33
7	1.0	120	25.8	18	210	9.35 $\pm$ 0.05	1.157 $\pm$ 0.05	0.84
8	3.0	300	22.0	18	250	4.68 $\pm$ 0.03	0.437 $\pm$ 0.02	0.28
9	0.9	98	25.3	13	194	12.65 $\pm$ 0.02	1.441 $\pm$ 0.01	1.15
10	2.5	216	23.1	16	230	4.04 $\pm$ 0.01	0.418 $\pm$ 0.04	0.24
11	2.0	123	24.4	14	206	5.46 $\pm$ 0.04	0.976 $\pm$ 0.05	0.73
12	0.9	80	25.9	13	194	6.04 $\pm$ 0.02	1.007 $\pm$ 0.03	0.82
13	1.7	58	25.5	16	202	4.53 $\pm$ 0.03	2.246 $\pm$ 0.01	1.64
14	1.9	70	26.0	18	202	2.50 $\pm$ 0.05	2.570 $\pm$ 0.05	0.97
15	2.5	90	25.3	18	231	3.17 $\pm$ 0.04	1.443 $\pm$ 0.06	1.05
16	0.7	97	25.5	18	191	4.26 $\pm$ 0.01	1.664 $\pm$ 0.09	1.01
17	0.8	128	24.6	18	157	4.78 $\pm$ 0.02	2.365 $\pm$ 0.09	1.72
18	0.9	122	24.7	18	168	5.96 $\pm$ 0.06	0.537 $\pm$ 0.04	0.51
19	1.6	54	26.1	18	229	3.93 $\pm$ 0.02	1.091 $\pm$ 0.01	0.81

<sup>a</sup> optical density (OD) of cell for IPTG induction, <sup>b</sup> optical density (OD) of ELISA method,<sup>c</sup> scFv anti-p17 concentration that calculated by quantitative SDS-PAGE method

0.117 ไม่ครอกรัม เป็นตัวควบคุมภายนอก สามารถสร้างกราฟ เส้นตรง ( $R \geq 0.98$ ) ดังนั้นหากความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานเพิ่มขึ้น ค่าพื้นที่ได้กราฟที่วิเคราะห์ได้จะเพิ่มขึ้น ตาม เมื่อคำนวณหาปริมาณของโปรตีน BSA มาตรฐาน จาก กราฟมาตรฐาน โดยกำหนดให้ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน น้อยกว่า 35%<sup>3</sup> พบว่า โปรตีน BSA มาตรฐาน ที่ความเข้มข้น 0.117 ไม่ครอกรัม คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน ได้ 39.35% ซึ่งมากกว่าค่าที่กำหนดไว้ ดังนั้นหากโปรตีนมี ความเข้มข้นน้อยกว่า 0.234 ไม่ครอกรัม เมื่อคำนวณหาปริมาณหา ปริมาณโปรตีนค่าที่ได้ไม่ถูกนิยามซึ่งค่าที่ยอมรับ และเมื่อสร้าง กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่คำนวณได้จากการกับความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่ทราบค่า พบร่วมกับกราฟเส้นตรงทั้ง 10 เส้น ทับกันทั้งหมด มีค่า  $R \geq 0.98$  แสดงให้เห็นว่าโปรตีน BSA มาตรฐานที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.234 ไม่ครอกรัม สามารถ ใช้เป็นตัวควบคุมภายนอกได้

เมื่อสร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้โปรตีน BSA มาตรฐาน ความเข้มข้น 1.875, 0.9375, 0.469, 0.234 และ 0.117 ไม่ครอกรัม เป็นตัวควบคุมภายนอก ของโปรตีนรวมที่มีความ เข้มข้น เท่ากับ 20 ไม่ครอกรัม สามารถสร้างกราฟเส้นตรง ( $R \geq 0.98$ ) แสดงให้เห็นว่าค่าพื้นที่ได้กราฟที่วิเคราะห์ได้เพิ่มขึ้น ตามค่าความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐาน และปริมาณ ของโปรตีน BSA มาตรฐานที่คำนวณได้จากการกับมาตรฐาน มีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนน้อยกว่า 35% แต่พบร่วมกับ โปรตีน BSA มาตรฐาน ที่ความเข้มข้น 0.117 ไม่ครอกรัม มีค่า สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 62.282 ซึ่งมากกว่าค่าที่

กำหนดไว้ ดังนั้นหากปริมาณโปรตีนมีความเข้มข้นน้อยกว่า 0.234 ไม่ครอกรัม เมื่อนำมาคำนวณหาปริมาณค่าที่ได้ไม่ถูกนิยาม ในช่วงค่าที่ยอมรับ และเมื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่คำนวณได้จากการ กับความเข้มข้นของโปรตีน BSA มาตรฐานที่ทราบค่า พบร่วมกับกราฟเส้นตรงทั้ง 10 เส้น ( $R \geq 0.98$ ) ดังนั้นโปรตีน BSA มาตรฐาน ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.234 ไม่ครอกรัม สามารถใช้เป็นตัวควบคุมภายนอกได้

นอกจากการสร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้โปรตีน BSA มาตรฐาน เป็นตัวควบคุมภายนอก และตัวควบคุมภายนอกใน ปัจจัยที่มีผลต่อค่าความถูกต้องในการหาปริมาณโปรตีน ด้วยเทคนิค quantitative SDS-PAGE คือขั้นตอนการย้อม โปรตีน และปริมาณโปรตีนที่โหลดในเจล การศึกษาครั้งนี้ ย้อมโปรตีนด้วย Coomassie blue R-250 และล้างสีส่วนเกิน ออกด้วยกรดอะซิติก ความเข้มข้น และปริมาณของสีย้อม ระยะเวลาในการย้อม และการล้างสีส่วนเกิน มีความสำคัญ อย่างมากในการหาปริมาณโปรตีนด้วยเทคนิคนี้ เนื่องจาก ต้องคำนวณปริมาณจากพื้นที่ได้กราฟของความเข้มข้นแล้ว โปรตีน ดังนั้นในขั้นตอนการย้อมโปรตีนแต่ละครั้ง ระยะเวลา และปริมาณของสารที่ใช้ต้องเท่ากันทุกครั้ง<sup>3</sup> และปริมาณ ของโปรตีนตัวอย่างที่ใช้โหลดลงในเจล ต้องเป็นปริมาณที่ พอดีกับปริมาณของหลุมบนเจล ซึ่งหากโหลดโปรตีนปริมาณ มากเกินไปจนล้นออกหลุม อาจทำให้ค่าปริมาณโปรตีน ที่ต้องการไม่สอดคล้องกับปริมาณโปรตีนที่โหลดลงบนเจล หรือหากโหลดโปรตีนน้อยเกินไปอาจทำให้ไม่ปรากฏແบ โปรตีนที่ต้องการวัดปริมาณบนเจล ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้

ให้ลดไปต่ำกว่า 12.5 ไมโครลิตร ซึ่งเป็นปริมาณที่พอดีและไม่ล้นออกอกหลุมเจล

จากการสร้างกราฟมาตราตรฐานจากโปรตีน BSA มาตราตรฐาน โดยได้กราฟเชิงเส้น ให้เปรียบเทียบ BSA มาตราตรฐานเป็นตัวควบคุมภายใน ในการหาปริมาณโปรตีน scFv anti-p17 โดยกำหนดตำแหน่งแถบโปรตีนที่ต้องการวิเคราะห์ด้วยวิธี western immunoblotting และทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง พบว่า โปรตีน scFv anti-p17 มีขนาดโมเลกุลเท่ากับ 27 กิโลดالتัน จึงเลือกแถบโปรตีนตำแหน่งนี้ในการหาปริมาณโปรตีน scFv anti-p17 โดยใช้สูตรคำนวณดังที่กล่าวมาข้างต้น ใช้ โปรตีน BSA มาตราตรฐานความเข้มข้น 1.875 ไมโครกรัม เป็นตัวควบคุมภายใน เนื่องจากให้ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนน้อยที่สุด พบว่าสามารถคำนวณปริมาณโปรตีน scFv anti-p17 ได้ 3.275% คิดเป็น 1.637 มิลลิกรัมต่อปริมาณสารเรืองเชื้อ 1 ลิตร และการใช้โปรตีน BSA มาตราตรฐาน เป็นตัวควบคุมภายใน เพื่อคำนวณหาปริมาณโปรตีนมีค่าความไวที่ 0.234 ไมโครกรัม หากโปรตีนที่ต้องการหาปริมาณมีค่าต่ำกว่า 0.234 ไมโครกรัม จะไม่สามารถคำนวณได้ด้วยวิธีนี้ เนื่องจากค่าไม่ถูกนับในกราฟมาตราตรฐานที่สร้างขึ้น

เมื่อทดลองสูมตัวอย่างโปรตีน scFv anti-p17 จากโปรตีนรวมจำนวน 19 ตัวอย่าง ในการเรืองเชื้อที่สภาวะต่างๆ แตกต่างกัน 19 สภาวะ โดยใช้โปรตีน BSA มาตราตรฐานที่ความเข้มข้น 1.875 ไมโครกรัม เป็นตัวควบคุมภายใน ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ พบว่าสามารถคำนวณปริมาณโปรตีนได้จากสูตรทุกตัวอย่าง และเมื่อนำโปรตีน scFv anti-p17 มาทดสอบด้วย western immunoblotting และ ELISA พบว่าให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกับวิธี quantitative SDS-PAGE

การศึกษาครั้งนี้เป็นงานวิจัยที่ประยุกต์ใช้วิธี SDS-PAGE เพื่อหาปริมาณ extracellular protein ที่ผลิตจากเชื้อจุลชีพ ซึ่งผลการศึกษาในครั้งนี้เป็นครั้งแรกที่มีการประยุกต์ใช้เทคนิค quantitative SDS-PAGE ในการหาปริมาณโปรตีนที่สร้างจากเชื้อจุลชีพนอกเซลล์ โดยพัฒนาเทคนิคจากการศึกษาของ Wai-hoe และคณะ<sup>4</sup> การศึกษาครั้งนี้มี

ความสัมพันธ์กับการศึกษาของ Zupan และคณะได้พัฒนาเทคนิคการแยกและวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนผ่านเซลล์จากเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ขนาดลูกกลม และไม่ลูกกลม ด้วยวิธี SDS-PAGE โดยโปรตีนตัวอย่างไม่ผ่านการทำบีริสท์จากการทดลองสามารถแยกโปรตีนได้กว่า 20 ชนิดที่มีขนาดตั้งแต่ 60 ถึง 220 กิโลดالتัน และคำนวณค่าความสามารถในการให้ผลซ้ำ (reproducibility) เท่ากับ 0.3 %CV<sup>12</sup> ผลการศึกษาที่ได้ยังมีความสัมพันธ์กับ ฯ และคณะที่ได้ตรวจหาปริมาณโปรตีนในน้ำตัวโดยใช้ SBIT เป็นตัวควบคุมภายในพบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนน้อยกว่า 10% ซึ่งเป็นวิธีที่สอดคล้องกับเมื่อเทียบกับการแยกโปรตีนด้วยวิธี high performance liquid chromatography (HPLC) และใช้สิ่งส่งตัวตรวจปริมาณน้อยกว่าเมื่อเทียบกับการหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Bradford ที่ใช้น้ำตาลปริมาณ 10 ไมโครลิตร จะเห็นได้ว่าเทคนิค SDS-PAGE แม้จะเป็นเทคนิคในการแยกโปรตีนชนิดต่างๆ ออกจากโปรตีนรวมโดยอาศัยขนาดของโปรตีนซึ่งใช้ทั่วไปในงานวิจัย เพื่อใช้ตรวจหาคุณภาพโปรตีนในโปรตีนรวมเท่านั้น แต่ในการศึกษาครั้งนี้ได้ประยุกต์ใช้เทคนิคดังกล่าวในการหาปริมาณโปรตีนเป้าหมายจากโปรตีนรวมด้วยวิธีการอย่างง่าย อย่างไรก็ตามการหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธีนี้ต้องทราบขนาดที่จำเพาะของโปรตีนที่ต้องการตรวจวัด และควรมีตัวบ่งชี้ที่ดัดเจนที่สามารถบอกรอตัวแหน่งของโปรตีนในเจลได้ เพื่อให้ทราบตำแหน่งของแถบโปรตีนที่แน่นอน และต้องอาศัยผู้ปฏิบัติงานที่มีความชำนาญเพื่อต้องการให้ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนน้อยที่สุด เนื่องจากวิธีนี้เป็นการประยุกต์ใช้การหาปริมาณโปรตีนจากโปรตีนรวมด้วยวิธี quantitative SDS-PAGE และคำนวณหาปริมาณโปรตีนโดยใช้สูตรคำนวณทางคณิตศาสตร์เทียบกับกราฟมาตราตรฐานที่สร้างขึ้น ซึ่งเทคนิคนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับโปรตีนชนิดอื่นที่มีขนาดต่อนการทำบีริสท์ที่ซับซ้อน การหาปริมาณโปรตีนด้วยเทคนิคนี้จะช่วยลดขั้นตอนการทำบีริสท์ของโปรตีน และสามารถหาปริมาณโปรตีนที่ต้องการได้จากโปรตีนรวมโดยตรง

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีแห่งชาติ และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ขอขอบคุณทุนสนับสนุนการวิจัยบางส่วนจากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

### ເອກສາຣອ້າງອີງ

1. Regan FM, Williams RM, McDonald A, Umpleby AM, Acerini CL, O'Rahilly S, et al. Treatment with recombinant human insulin-like growth factor (rhIGF)-I/rhIGF binding protein-3 complex improves metabolic control in subjects with severe insulin resistance. *J. Clin Endocrinol Metab* 2010; 95(5): 2113-22.
2. Weisser NE, Hall JC. Applications of single-chain variable fragment antibodies in therapeutics and diagnostics. *Biotechnol Adv* 2009; 27(4): 502-20.
3. Tomaszewska-Gras J, Kijowski J, Schreurs FJ. Quantitative determination of titin and nebulin in poultry meat by SDS-PAGE with an internal standard. *Meat Sci* 2002; 62(1): 61-6.
4. Wai-Hoe L, Wing-Seng L, Ismail Z, Lay-Harn G. SDS-PAGE-based quantitative assay for screening of kidney stone disease. *Biol Proced Online* 2009; 11: 145-60.
5. Li K, Chen Z, Duan F, Liang J, Wu K. Quantification of tear proteins by SDS-PAGE with an internal standard protein: A new method with special reference to small volume tears. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2010; 248(6): 853-62.
6. Rícný J, Soukup T. Comparison of new ELISA method with established SDS-PAGE method for determination of muscle myosin heavy chain isoforms. *Physiol Res* 2011; 60(6): 899-904.
7. Leong SSJ, Chen WN. Preparing recombinant single chain antibodies. *Chem Eng Sci* 2008; 63(6): 1401-14.
8. Lim KP, Li H, Nathan S. Expression and purification of a recombinant scFv towards the exotoxin of the pathogen, *Burkholderia pseudomallei*. *J Microbiol* 2004; 42(2):126-32.
9. Tragoolpua K, Intasai N, Kasinrerk 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(1).
10. Mukhtar MM, Li S, Li W, Wan T, Mu Y, Wei W, et al. Single-chain intracellular antibodies inhibit influenza virus replication by disrupting interaction of proteins involved in viral replication and transcription. *Int J Biochem Cell Biol* 2009; 41(3): 554-60.
11. Gal-Tanamy M, Zemel R, Bachmatov L, Jangra RK, Shapira A, Villanueva RA, et al. Inhibition of protease-inhibitor-resistant hepatitis C virus replicons and infectious virus by intracellular intrabodies. *Antiviral Res.* 2010; 88(1): 95-106.
12. Zupan J, Mavri J, Raspor P. Quantitative cell wall protein profiling of invasive and non-invasive *Saccharomyces cerevisiae* strains. *J Microbiol Methods*. 2009; 79(3): 260-265.

# The effect of exercise with dance game of Nintendo Wii toward body mass index and cardiovascular system in obese women

Sarayoot Mongkol<sup>1\*</sup>  
Ruttipol Numhom<sup>1</sup>

Pramook Pongsuwan<sup>1</sup>  
Tribikram Thapa<sup>1</sup>

Phonnawut Methanon<sup>1</sup>  
Sunti Putthipiriy<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Physical Therapy, School of Health Sciences, Mae Fah Luang University, Chiang Rai, Thailand

<sup>2</sup>Chiangrai Prachanukroh Hospital, Chiangrai, Thailand

\*Corresponding author (E-mail: grn\_pt15@hotmail.com; 085-0406342)

## Abstract

Obesity is a major health problem all over the world because it can lead to various other diseases. Exercise can be one of the best counteracted ways to obesity. The objective of this study was to study the effect of exercising by dancing in accordance with a Nintendo Wii game on body mass index (BMI) and cardiovascular system of obese women (aged 18 - 23 years old). Thirty-two volunteers were divided into 2 groups; exercise group (n=15) and non-exercise group (n=17). All participants underwent a test by the use of bioelectrical impedance analysis (BIA) to measure the fat mass and BMI, and astrand rhyming cycle ergometry to measure the maximal oxygen consumption ( $VO_2$  max) before and after the 4-weeks exercise program. The exercise group received an exercise program by Nintendo Wii game, which lasted for 30 minutes per session, 3 days a week, for 4 weeks at a moderate intensity level (60 - 75% of maximum heart- rate). The non-exercise group was advised to follow their normal lifestyle for a period of 4-weeks. The study revealed that the exercise group had a significantly higher  $VO_2$  max than the non-exercise group ( $p<0.05$ ). The BMI was significantly decreased in exercise group after complete exercise program ( $p<0.05$ ). Therefore, this study indicated that exercising by dancing with a Nintendo Wii game can reduce BMI and enhance the cardiovascular function in obese women. **Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2013; 46(2): 122-130**

**Keywords:** Body mass index, Cardiovascular system, Obesity, Nintendo Wii

## นิพนธ์ต้นฉบับ

ผลของการออกกำลังกายด้วยเกมเต้นของเครื่องบินเก็บโดว์ต่อตัวบินมวลกายและระบบหัวใจและหลอดเลือดในคนอ้วนเพศหญิง

สรายุธ มงคล<sup>1\*</sup>  
พรรณุช เมธานนท์<sup>1</sup>  
Tribikram Thapa<sup>1</sup>

ประมุข พงษ์สุวรรณ<sup>1</sup>  
รัชพล นุ่มหอม<sup>1</sup>  
สันติ พุฒิพิริยะ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>สาขาวิชาการแพทย์บัณฑิต สำนักวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จ.เชียงราย

<sup>2</sup>โรงพยาบาลเชียงรายประชานุเคราะห์ จ.เชียงราย

\*ผู้รับผิดชอบบทความ (E-mail: grn\_pt15@hotmail.com; 085-0406342)

### บทคัดย่อ

โรคอ้วน เป็นปัญหาสำคัญต่อระบบสาธารณสุขทั่วโลก เนื่องจากเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคตามมา การออกกำลังกายเป็นวิธีที่สามารถลดภาวะโรคอ้วนได้ การศึกษาครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการออกกำลังกายด้วยเกมเต้นของเครื่องบินเที่ยวโดยวิธี ต่อตัวบินมวลกายและระบบหัวใจและหลอดเลือดในคนอ้วนเพศหญิง อาสาสมัครจำนวน 32 คน แบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มออกกำลังกายจำนวน 15 คน และกลุ่มไม่ออกกำลังกายจำนวน 17 คน อาสาสมัครทุกคนได้รับการทดสอบสมรรถภาพด้วยเครื่องวัดองค์ประกอบของร่างกายจากการต้านทานไฟฟ้า (BIA) เพื่อหาดัชนีมวลกาย และทดสอบ astrand rhyming cycle ergometry test เพื่อหาค่าปริมาณการใช้ออกซิเจนสูงสุด ( $\text{VO}_2 \text{ max}$ ) ก่อนและหลังโปรแกรมออกกำลังกายครบ 4 สัปดาห์ กลุ่มออกกำลังกายได้รับโปรแกรมการออกกำลังกายด้วยเครื่องเล่นนิโนนเที่ยวโดย ครั้งละ 30 นาที 3 ครั้งต่อสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ที่ระดับความหนักปานกลาง และกลุ่มไม่ออกกำลังกายจะให้กลับไปดำเนินชีวิตประจำวันตามปกติจนครบ 4 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่า อาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกาย มีอัตราการใช้ออกซิเจนสูงสุด สูงกว่าอาสาสมัครกลุ่มไม่ออกกำลังกายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.05$ ) และดัชนีมวลกายในกลุ่มออกกำลังกายหลังครบโปรแกรมการออกกำลังกายลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.05$ ) จึงแสดงให้เห็นว่าการออกกำลังกายด้วยเกมเต้นของเครื่องบินเที่ยวโดยวิธี สามารถลดดัชนีมวลกายและเพิ่มการทำงานของระบบหัวใจและหลอดเลือดในคนอ้วนเพศหญิงได้ **วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2556; 46(2): 122-130**

**คำรหัส:** ดัชนีมวลกาย ระบบหัวใจและหลอดเลือด โรคอ้วน นินเท็นโดย

### บทนำ

**โรคอ้วน (Obesity)** คือ ความผิดปกติจากการมีน้ำหนักตัวเกินมาตรฐาน เนื่องจากการสะสมของไขมันไว้ในร่างกายมากเกินปกติ จากการสำรวจคนไทยที่มีช่วงอายุตั้งแต่ 15-29 ปีพบว่าร้อยละ 13.6% ในเพศหญิง และร้อยละ 12.0% ในเพศชาย มีดัชนีมวลกายมากกว่า

หรือเท่ากับ 23 กิโลกรัมต่ำเมตร<sup>2</sup> ซึ่งแสดงว่าเป็นโรคอ้วนและมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง<sup>1-2</sup> รวมทั้งเพศหญิงมีภาวะโรคอ้วนมากกว่าเพศชายในทุกช่วงอายุ<sup>3</sup> เนื่องจากมีระบบการเผาผลาญพลังงานที่น้อยกว่าเพศชาย ทำให้ปริมาณไขมันใน

ร่างกายของเพศหญิงจะสมได้ง่ายกว่าเพศชาย<sup>4</sup> ในปัจจุบันมีเกณฑ์ที่นิยมใช้วัดระดับความอ้วนในคนไทยได้แก่ การหาค่าดัชนีมวลกาย โดยค่าดัชนีมวลกายที่เพิ่มขึ้น มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงที่จะเป็นโรคแทรกซ้อนจากโรคอ้วน<sup>5</sup> เช่น โรคความดันโลหิตสูง โรคหัวใจขาดเลือด โรคคลอเลสเทอรอลสูงในเลือด โรคตีกรถเลือดสูงในเลือด โรคเบาหวาน และโรคทางระบบหัวใจและหลอดเลือด<sup>2</sup>

การออกกำลังกายเป็นวิธีหนึ่งในการควบคุมดัชนีมวลกายเพื่อป้องกันโรคอ้วน เนื่องจากการออกกำลังกาย 3-5 วันต่อสัปดาห์ ครั้งละ 30-60 นาที ในคนที่มีน้ำหนักเกินหรือในคนอ้วน สามารถลดปริมาณไขมันในร่างกาย และยังช่วยเพิ่มสมรรถภาพการทำงานของระบบหัวใจและระบบหลอดเลือดที่มีน้ำหนักเกินเกณฑ์หรือคนที่เป็นโรคอ้วน<sup>6</sup> การออกกำลังกายควรทำอย่างสม่ำเสมอ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ที่เป็นโรคอ้วน จะต้องอาศัยแรงจูงใจเพื่อทำให้สามารถออกกำลังกายได้เป็นประจำจาก การออกกำลังกายแบบทั่วไปแล้ว การออกกำลังกายด้วยวีดีโองame เต้นกับเครื่องนินเท็นโดวีเป็นอีกสิ่งหนึ่งที่ช่วยเพิ่มแรงจูงใจในการออกกำลังกาย<sup>7</sup>

เครื่องนินเท็นโดวี (Nintendo Wii) คือ เครื่องวีดีโองame ที่ผลิตโดยบริษัท นินเท็นโด และมีจัดจำหน่ายทั่วโลก ซึ่งสร้างความตื่นตัวให้ทั้งวงการเกม และวงการแพทย์ที่มีความสนใจจะนำเครื่องนินเท็นโดวีนี้มาประยุกต์ใช้ ในวงการแพทย์อีกด้วย เนื่องจาก เครื่องนินเท็นโดวี เป็นเกมที่จำลองสภาพเสมือนจริง (Virtual reality) มีการแสดงข้อมูลแบบป้อนกลับ (Visual feedback) ส่งผลให้ผู้ที่เล่นเกม ทราบความถูกต้องของการเต้นโดยแสดงเป็นคะแนน นอกเหนือนั้น ยังสามารถเล่นได้มากที่สุด 4 คนซึ่งทำให้ผู้ที่เล่นเกม มีการปฏิสัมพันธ์กับผู้อื่น ซึ่งเสริมให้มีกิจกรรมทางกายในคนปกติ รวมทั้งสามารถใช้ในการฝึกผู้ป่วยที่มีปัญหาด้านร่างกายและจิตใจ รวมทั้งช่วยลดความเครียด หลังจากการทำงานด้วยเสียงเพลงที่สนุกสนาน<sup>8</sup> ซึ่ง การศึกษาที่ผ่านมา ได้มีการนำเครื่องนินเท็นโดวี มาใช้ในงานวิจัยต่างๆ มากขึ้น จากการศึกษาด้วยเกม

ชกมวยของเครื่องนินเท็นโดวี ในกลุ่มนักเรียนและผู้ใหญ่ที่มีสุขภาพดี พบร่วมกับความอ้วนของเครื่องนินเท็นโดวี สามารถเพิ่มอัตราการใช้พลังงานได้ทั้งสองกลุ่ม และสามารถลดแคลอรี่ได้ดีกว่าการออกกำลังกายด้วยเกม Dance dance revolution, Eye toy และ Treadmill<sup>9</sup> ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะศึกษาการออกกำลังกายด้วยเกมเต้นโดยใช้เครื่องนินเท็นโดวี เพื่อศึกษาผลของการออกกำลังกายด้วยเกมเต้นของเครื่องนินเท็นโดวีต่อดัชนีมวลกายและระบบหัวใจและหลอดเลือดในคนอ้วนเพศหญิง

## วัสดุและวิธีการ

### 1. กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

อาสาสมัครเพศหญิงที่มีอายุระหว่าง 18 – 23 ปี จำนวน 40 คน มีเกณฑ์คัดเข้า คือ มีค่าดัชนีมวลกายมากกว่า 23 กิโลกรัม/เมตร<sup>2</sup> ไม่ได้รับการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมออย่างน้อย 3 เดือน และมีเกณฑ์คัดออก คือ เป็นนักกีฬา ผู้ที่มีระบบหัวใจและหลอดเลือดทำงานไม่คงที่ มีโรคประจำตัวเกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจ ได้รับการผ่าตัดในระยะ 3 เดือน หรือมีการบาดเจ็บของกระดูกและกล้ามเนื้อของร่างกายและขา อันเป็นอุปสรรคต่อการออกกำลังกายในการศึกษานี้ ผู้ที่มีปัญหาด้านการลืมสารรวมของเห็นและการรับรู้ความเข้าใจ และผู้ที่ไม่ผ่านการทดสอบแบบสอบถามเพื่อประเมินความพร้อมก่อนออกกำลังกาย (Physical activity readiness questionnaire) โดยอาสาสมัครต้องผ่านเกณฑ์อย่างน้อย 8 ข้อ จากคำถามทั้งหมด 10 ข้อ

เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาครั้นนี้คือ แบบสอบถามข้อมูลส่วนบุคคล แบบประเมินความพร้อมก่อนการออกกำลังกายสำหรับบุคคลทั่วไป จักรยานวัสดุงาน (Bike Monark Cardio Care 827 E, ประเทศไทย) นาฬิกาวัดซีพาร (Polar T 31 Coded Transmitter) เครื่องชั่งน้ำหนัก (Camry-DT-602, ประเทศไทย) เครื่องวัดความดันโลหิต (Omron HEM, 7200, ประเทศไทย) สายวัดสำหรับวัดส่วนสูง เครื่องเล่นวีดีโองameนินเท็นโดวี และเกม Just dance 3 (Wii Fit Plus, Nintendo Wii, ประเทศไทย)

## 2. วิธีการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้ผ่านการรับรองจริยธรรมงานวิจัยในมนุษย์ของสำนักวิชาชีวภาพสาขาวิชามหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง โดยขั้นตอนการวิจัยประกอบด้วย อาสาสมัครที่สนใจเข้าร่วมลงชื่อในใบยินยอมเข้าร่วมการศึกษาและตอบแบบสอบถามโดยผู้ที่ผ่านเกณฑ์คัดเข้าและคัดออกจำนวน 40 คน จะถูกแบ่งกลุ่มตัวอย่างเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มออกกำลังกายจำนวน 20 คน และกลุ่มไม่ออกกำลังกายจำนวน 20 คน ซึ่งการศึกษานี้จะใช้การสุ่มโดยการจับฉลาก อาสาสมัครทั้งสองกลุ่มจะได้รับคำแนะนำเกี่ยวกับการควบคุมน้ำหนักและการรับประทานอาหารจากผู้วิจัย หลังจากนั้นจะได้รับการทดสอบสมรรถภาพก่อนและหลังการทดลองด้วย การซั่นน้ำหนักและวัดส่วนสูง โดยนำค่ามาคำนวณหาดัชนีมวลกายวัดองค์ประกอบของร่างกายจากการต้านทานไฟฟ้าด้วย BIA วัดอัตราการใช้ออกซิเจนสูงสุด (Maximal oxygen consumption;  $VO_2$  max) ด้วย Cycle ergometry training โดยใช้ Astrand rhymingcycle ergometry test<sup>10</sup> ซึ่งผู้วัดในการศึกษานี้ จะมีทราบว่าอาสาสมัครคนใดอยู่ในกลุ่มใด

เมื่อทำการทดสอบสมรรถภาพก่อนการทดลองเสร็จ อาสาสมัครกลุ่มไม่ออกกำลังกายจะให้กลับไปดำเนินชีวิตประจำวันตามปกติ แต่แนะนำให้หลีกเลี่ยงการออกกำลังกายหนักระหว่างการทดลอง ส่วนอาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกายจะได้รับการสาธิตการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ ของเครื่องเล่นวีดีโอยูทูปนิพนิธิ แนะนำให้อาสาสมัครกลุ่มนี้ทำการออกกำลังกายทดลองใช้เครื่องนินเท็นโดยเพื่อปรับความคุ้นเคยก่อนได้รับโปรแกรมการออกกำลังกาย ก่อนเริ่มโปรแกรมออกกำลังกายอาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกายจะได้รับการวัดความดันโลหิตและอัตราการเต้นของหัวใจในขณะพักทุกครั้งก่อนการออกกำลังกายเพื่อความปลอดภัย และจะได้รับการใส่เครื่องวัดอัตราการเต้นของหัวใจ เพื่อใช้วัดอัตราการเต้นของหัวใจขณะออกกำลังกาย

การออกกำลังกายด้วยเครื่องเล่นวีดีโอยูทูปนิพนิธิจะใช้ระยะเวลาทั้งสิ้น 4 สัปดาห์ โดยจะออกกำลังกายทั้งหมด 4 ครั้งต่อสัปดาห์

ของอัตราการเต้นของหัวใจสูงสุด) 3 ครั้งต่อสัปดาห์ และในการออกกำลังกายจะใช้เวลาทั้งหมด 50 นาที โดยแบ่งออกเป็น 3 ช่วง คือ อบอุ่นร่างกาย 10 นาที ด้วยการยืดกล้ามเนื้อ ออกกำลังกายด้วยเกมเด่น 30 นาที ในขณะที่อาสาสมัครทำการเต้น จะมีการตามค่าอัตราการเต้นของหัวใจในช่วงกลางของการออกกำลังกาย (ในนาทีที่ 15 ของการออกกำลังกาย) เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของอัตราการเต้นของหัวใจขณะเด่น โดยให้อาสาสมัครดูอัตราการเต้นของหัวใจที่นาฬิกาจับชีพจร และยืดกล้ามเนื้อและผ่อนคลาย 10 นาที อาสาสมัครจะถูกวัดอัตราการเต้นของหัวใจทุก 2 นาที จนถึงอัตราการเต้นของหัวใจใกล้เคียงกับอัตราการเต้นของหัวใจในขณะพัก เพื่อดูการฟื้นตัวการทำงานของหัวใจพร้อมบันทึกระยะเวลาที่อัตราการเต้นของหัวใจเข้าใกล้ปกติ ซึ่งอาสาสมัครในกลุ่มที่ออกกำลังกายด้วยเครื่องเล่นวีดีโอยูทูปนิพนิธิสามารถออกกำลังกายถึงอัตราการเต้นของหัวใจที่ตั้งเป้าหมายไว้ได้ทุกคน

หลังจากสิ้นสุดการออกกำลังกายด้วยเครื่องเล่นวีดีโอยูทูปนิพนิธิจะเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์แล้วจะวัดสมรรถภาพหลังการทดลองของอาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกายและกลุ่มไม่ออกกำลังกาย ภายใน 1 สัปดาห์หลังจากสิ้นสุดการออกกำลังกาย นำค่าที่สนใจได้แก่ ดัชนีมวลกาย อัตราการใช้ออกซิเจนสูงสุด ( $VO_2$  max) ค่าไขมันในร่างกาย อัตราการเต้นของหัวใจในขณะพักและความดันโลหิตในขณะพัก มาเปรียบเทียบก่อนและหลังการทดลองว่ายังไงในกลุ่มและเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มออกกำลังกายและกลุ่มไม่ออกกำลังกาย

## 3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ในการวิเคราะห์ข้อมูลในครั้งนี้ ใช้สถิติเชิงพรรณนาในการอธิบายเกี่ยวกับข้อมูลพื้นฐาน ใช้ The kolmogorov-smirnov เพื่อดูการกระจายตัวของข้อมูล ใช้ Two-way Mixed Repeated ANOVA ในการเปรียบเทียบผลการทดสอบสมรรถภาพก่อนและหลังการออกกำลังกายด้วยเกมเด่นของเครื่องนินเท็นโดยในกลุ่มออกกำลังกายและกลุ่มไม่ออกกำลังกาย

## ผลการศึกษา

ผลของการออกกำลังกายด้วยเกมเดินข่องเครื่องนินนิท์โน่ไดวีต์อัดชนีมวลกายและระบบหัวใจและหลอดเลือดในคนอ้วนเพศหญิง หลังจากครบ 4 สัปดาห์ มีอาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกายจำนวน 2 คน ที่ไม่มาออกกำลังกายอย่างต่อเนื่อง และ 3 คน ไม่ให้ความร่วมมือระหว่างการออกกำลังกาย อาสาสมัครกลุ่มนี้ไม่ออกกำลังกายจำนวน 2 คน ไม่ได้มาทำการทดสอบสมรรถภาพก่อนการทดลองและ 1 คน ไม่ได้มาทำการทดสอบสมรรถภาพหลังการทดลอง จึงเหลืออาสาสมัคร 32 คน แบ่งเป็นกลุ่มออกกำลังกาย 15 คน และกลุ่มไม่ออกกำลังกาย 17 คน ในการคำนวณทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลพื้นฐานของอาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกายและกลุ่มไม่ออกกำลังกายพบว่า อายุ ส่วนสูง ค่าดัชนีมวลกาย ไขมันในร่างกาย อัตราการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย อัตราการเต้นของหัวใจและพักร้อน และค่าความดันโลหิต ขณะหัวใจบีบตัว และค่าความดันโลหิตขณะหัวใจคลายตัวไม่มีความแตกต่างกัน ดังตารางที่ 1

เมื่อเปรียบเทียบสมรรถภาพการทำงานของร่างกายต่อดัชนีมวลกายและระบบหัวใจและหลอดเลือด ก่อนและหลังการทดลองในอาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกายพบว่า น้ำหนัก ดัชนีมวลกาย ไขมันในร่างกาย มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.05$ ) และอัตราการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นอย่าง

มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.05$ ) ส่วนอัตราการเต้นของหัวใจและพักร้อน ความดันโลหิตขณะหัวใจบีบตัวและความดันโลหิต ขณะหัวใจคลายตัวพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงตารางที่ 2

เมื่อเปรียบเทียบสมรรถภาพการทำงานของร่างกายต่อดัชนีมวลกายและระบบหัวใจและหลอดเลือด ก่อนและหลังการทดลอง ในอาสาสมัครกลุ่มไม่ออกกำลังกายพบว่า น้ำหนัก ค่าดัชนีมวลกาย ไขมันในร่างกาย อัตราการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย ส่วนอัตราการเต้นของหัวใจและพักร้อน ความดันโลหิต ขณะหัวใจบีบตัว และความดันโลหิตขณะหัวใจคลายตัว ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงตารางที่ 3

เมื่อเปรียบเทียบสมรรถภาพการทำงานของร่างกายต่อดัชนีมวลกายและระบบหัวใจและหลอดเลือด หลังการทดลอง หลังการทดลอง ในอาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกายและกลุ่มไม่ออกกำลังกายพบว่า อัตราการใช้ออกซิเจนสูงสุดของร่างกาย มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.05$ ) แต่ น้ำหนัก ดัชนีมวลกาย ไขมันในร่างกาย อัตราการเต้นของหัวใจและพักร้อน ความดันโลหิตขณะหัวใจบีบตัว และความดันโลหิตขณะหัวใจคลายตัวไม่มีการเปลี่ยนแปลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงตารางที่ 4

**Table 1** Subject demographic data (Mean  $\pm$  Standard deviation)

Data	Exercise group	Non-exercise group
Age (years)	20.73 $\pm$ 1.44	20.35 $\pm$ 1.46
Weight (kg)	75.21 $\pm$ 13.15	73.83 $\pm$ 16.29
Height (cm)	161.73 $\pm$ 5.05	160.44 $\pm$ 4.58
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	28.83 $\pm$ 4.54	28.65 $\pm$ 5.95
Fat mass (kg)	24.67 $\pm$ 11.34	21.88 $\pm$ 9.31
Resting heart rate (beat/min)	87.20 $\pm$ 6.43	89.47 $\pm$ 8.92
Systolic blood pressure (mmHg)	130.53 $\pm$ 12.08	124.71 $\pm$ 6.93
Diastolic blood pressure (mmHg)	86.33 $\pm$ 8.23	79.94 $\pm$ 9.92
VO <sub>2</sub> max (mL/kg/min)	32.03 $\pm$ 3.60	31.08 $\pm$ 4.08

**Table 2** Comparison of weight, body mass index, fat mass, resting heart rate, systolic blood pressure, diastolic blood pressure and VO<sub>2</sub> max between pre and post-test in exercise group (Mean  $\pm$  Standard deviation)

Data	Before exercise program	After exercise program
Weight (kg)	75.21 $\pm$ 13.15	74.43 $\pm$ 13.21*
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	28.83 $\pm$ 4.54	28.33 $\pm$ 4.08*
Fat mass (kg)	24.67 $\pm$ 11.34	19.99 $\pm$ 8.35*
Resting heart rate (beat/min)	87.20 $\pm$ 6.43	84.27 $\pm$ 14.80
Systolic blood pressure (mmHg)	130.53 $\pm$ 12.08	131.07 $\pm$ 14.30
Diastolic blood pressure (mmHg)	86.33 $\pm$ 8.23	86.00 $\pm$ 11.09
VO <sub>2</sub> max (mL/kg/min)	32.03 $\pm$ 3.60	38.13 $\pm$ 6.80*

\* Significant between exercise and non-exercise group;  $p<0.05$

**Table 3** Comparison of weight, body mass index, fat mass, resting heart rate, systolic blood pressure, diastolic blood pressure and  $\text{VO}_2$  max between pre and post-test in non-exercise group (Mean  $\pm$  Standard deviation)

Data	Before exercise program	After exercise program
Weight (kg)	73.83 $\pm$ 16.29	74.86 $\pm$ 17.28
Body mass index ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	28.65 $\pm$ 5.95	28.98 $\pm$ 6.32
Fat mass (kg)	21.88 $\pm$ 9.31	22.18 $\pm$ 9.75
Resting heart rate (beat/min)	89.47 $\pm$ 8.92	92.24 $\pm$ 14.48
Systolic blood pressure (mmHg)	124.71 $\pm$ 6.93	126.59 $\pm$ 9.98
Diastolic blood pressure (mmHg)	79.94 $\pm$ 9.92	82.53 $\pm$ 11.66
$\text{VO}_2$ max ( $\text{mL}/\text{kg}/\text{min}$ )	31.08 $\pm$ 4.08	33.35 $\pm$ 5.86

**Table 4** Comparison of weight, body mass index, fat mass, resting heart rate, systolic blood pressure, diastolic blood pressure and  $\text{VO}_2$  max post-test between exercise group and non-exercise group (Mean  $\pm$  Standard deviation)

Data	Exercise group	Non-exercise group
Weight (kg)	74.43 $\pm$ 13.21	74.86 $\pm$ 17.28
Body mass index (kilogram/meter <sup>2</sup> )	28.33 $\pm$ 4.08	28.98 $\pm$ 6.32
Fat mass (kg)	28.33 $\pm$ 4.08	28.98 $\pm$ 6.32
Resting heart rate (beat/min)	84.27 $\pm$ 14.80	92.24 $\pm$ 14.48
Systolic blood pressure (mmHg)	131.07 $\pm$ 14.30	126.59 $\pm$ 9.98
Diastolic blood pressure (mmHg)	86.00 $\pm$ 11.09	82.53 $\pm$ 11.66
$\text{VO}_2$ max ( $\text{mL}/\text{kg}/\text{min}$ )	38.13 $\pm$ 6.80	33.35 $\pm$ 5.86*

\* Significant between before and after training;  $p<0.05$

## วิจารณ์ผลการศึกษา

การออกกำลังกายด้วยเกมเดินของเครื่องนินเท็นโดยวีต่อด้ชนีมวลกายและระบบหัวใจและหลอดเลือดในคนอ้วนเพศหญิงหลังออกกำลังกายในอาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกายและไม่ออกกำลังกายพบว่า ค่าดัชนีมวลกาย และน้ำหนักไม่มีความแตกต่างกัน เนื่องจากระยะเวลาในการทดลองมีระยะเวลา 4 สัปดาห์ ซึ่งเป็นระยะเวลาที่น้อยจึงยังเห็นความแตกต่างของน้ำหนักและค่าดัชนีมวลกายได้ไม่ชัดเจน โดยระยะเวลาที่จะทำให้เห็นความแตกต่างระหว่างกลุ่มต้องมากกว่า 6 สัปดาห์ขึ้นไป<sup>11</sup>

เมื่อเปรียบเทียบดัชนีมวลกายและน้ำหนักก่อนและหลังการทดลองของอาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกาย พบว่า มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากการออกกำลังกาย แบบแอโรบิก เป็นระยะเวลา 30 นาทีขึ้นไป เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ทำให้ร่างกายเกิดการเผาผลาญพลังงานมากขึ้น เกิดกระบวนการนำไขมันที่สะสมไว้ในร่างกายรูปแบบต่างๆ มาเปลี่ยนเป็นพลังงาน ทำให้น้ำหนักลดลง ส่งผลให้มีค่าดัชนีมวลกายที่ลดลงตามไปด้วย<sup>11-14</sup>

อัตราการใช้ออกซิเจนสูงสุดระหว่างอาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกายและกลุ่มไม่ออกกำลังกาย หลังการทดลองพบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เนื่องจากการออกกำลังกาย 3 – 5 ครั้งต่อสัปดาห์ ครั้งละ 30 นาทีในความหนักปานกลางที่ 60-75% จะส่งผลต่อร่างกายทำให้มีการเผาผลาญไขมันน้ำหนักลด ซึ่งส่งผลทำให้ค่าดัชนีมวลกายลดลง และเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของระบบหลอดเลือดและหัวใจได้<sup>15-16</sup>

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า อัตราการใช้ออกซิเจนสูงสุดในอาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกายเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบก่อนและหลังการทดลอง แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพการทำงานของระบบหัวใจ และหลอดเลือดที่เพิ่มขึ้นของอาสาสมัครที่ผ่านการออกกำลังกายด้วยเกมเดินของเครื่องนินเท็นโดยวีในระยะเวลา 4 สัปดาห์ 14 สุดคล่องกับการศึกษาของ Mejia-Downs และคณะ ในปี 2017 ซึ่งศึกษาการออกกำลังกายด้วยเกมเดิน Step dance

ในกลุ่มผู้ใหญ่ พบร่วมกัน Step dance สามารถไปกระตุ้นให้อัตราการเต้นของหัวใจและการไหลเวียนโลหิตและการใช้ออกซิเจนของอาสาสมัครถึงเป้าหมายที่การศึกษาต้องการ ส่งให้อาสาสมัครมีอัตราการเพิ่มขึ้นของค่าการใช้ออกซิเจนสูงสุด และมีสมรรถภาพการทำงานของระบบหัวใจและหลอดเลือดเพิ่มขึ้น

เมื่อเปรียบเทียบก่อนและหลังการทดลองในอาสาสมัครกลุ่มออกกำลังกาย พบร่วมค่าไขมันในร่างกายลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากการออกกำลังกายจะส่งผลทำให้กระตุ้นการทำงานของ Hormone sensitive lipase (HSL) ทำให้เกิดกระบวนการนำไขมันที่สะสมไว้ในร่างกายรูปแบบต่างๆ มาเปลี่ยนเป็นพลังงาน<sup>12</sup> และการออกกำลังกาย 30 นาทีด้วยเกมเดินโดยเครื่องเล่นวีดีโอด้วยนินเท็นโดยสามารถเพิ่มอัตราการใช้พลังงานในร่างกายส่งผลทำให้ค่าไขมันในร่างกายลดลงได้<sup>11, 15</sup>

การศึกษาครั้งนี้มีการแนะนำการควบคุมอาหารแต่มีอาสาสมัครบางคนไม่ทำตามคำแนะนำ จึงได้คัดอาสาสมัครที่ไม่ทำตามคำแนะนำออกจาก การศึกษา รวมทั้งการศึกษาในครั้งนี้มีระยะเวลาเพียง 4 สัปดาห์ ทำให้ผลที่ได้ไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน ซึ่งในการศึกษาครั้งต่อไปควรมีการควบคุมและจำกัดอาหาร มีการเปรียบเทียบอาสาสมัครเพศหญิงและเพศชาย และควรมีระยะเวลาการทดลองมากกว่า นี้เพื่อให้เห็นผลการทดลองที่ชัดเจนและความแตกต่างระหว่างกลุ่มประชากรที่มาทำการศึกษามากยิ่งขึ้น

การศึกษาครั้งนี้พบว่าการใช้เกมเดินด้วยเครื่องนินเท็นโดยวี ได้ไปร่วมกับเกมเดิน Just Dance 3 นั้น อาสาสมัครสามารถมองเห็นท่าทางการขับร่างกาย และมีข้อมูลป้อนกลับทางการมองเห็นจากการเล่นเกม ซึ่งข้อมูลเหล่านี้จะช่วยบอกความสามารถในการเคลื่อนไหวขณะเดิน ทำให้อาสาสมัครปรับท่าทางและจังหวะการเดินไปตามเพลงได้อย่างเหมาะสม ดังนั้น การออกกำลังกายด้วยเกมเดินของเครื่องนินเท็นโดยวี จึงเป็นอีกแนวทางของการออกกำลังกายรูปแบบใหม่ ซึ่งมีผลทำให้ลดดัชนีมวลกาย และเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของระบบของหัวใจและหลอดเลือด ทำให้ผู้ที่ออกกำลังกายมีสุขภาพร่างกายแข็งแรง

## เอกสารอ้างอิง

1. Garrow JS. Obesity and related disease. London: Churchill Livingstone. 1988: 1-16.
2. Thawonjareansab M. The effect of obesity to economic in Thailand. Nonthaburi: The Graphico System Co., Ltd.; 2011 (in Thai).
3. Polrat B. Obesity. Bangkok: Department of tropical nutrition and food science, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University; 2006 (in Thai).
4. Ferraro R, Lillioja S, Fontvieille M, Rising R, Bogardus C, Ravussin E. Lower sedentary metabolic rate in women compared with men. *J Clin Invest.* 1992; 90(3): 780-784.
5. Tangtongjit R. Obesity: The differential of nutrition and biochemistry. Bangkok: Charean Dee Mankong Publishing; 2006 (in Thai).
6. Michael O. Physical activity guidelines for Americans; 2008 [updated 2012 Jan 23; cited 2012 Apr 14]. Available from <http://www.health.gov/paguidelines>.
7. Mejia-Downs A, Fruth SJ, Clifford A, Hine S, Huckstep J, Merkel H, et al. A preliminary exploration of the effects of a 6-week interactive video dance exercise program in an adult population. *Cardiopulm Phys Ther J.* 2011; 22(4): 5-11.
8. Nintendo© wii. Wii console, Wii feature. Nintendo of America incorporation; 2011 [updated 2011 Sep 3; cited 2012 Apr 8]. Available from <http://www.nintendo.com/wii/console/>.
9. Lanningham FL, Foster RC, Mc Crady SK, Jensen TB, Mitre N, Levine JA. Activity-promoting video games and increased energy expenditure. *J Pediatr* 2009; 154(6): 819-823.
10. Astrand PO, Rhyming I. A nomogram for calculation of aerobic capacity from pulse rate during submaximal work. *J Appl Physiol.* 2005; 7: 218-221.
11. Maddison R, Foley L, Mhurchu CN, Jiang Y, Jull A, Prapavessis H, et al. Effects of active video games on body composition: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2011; 94(1): 156-163.
12. Turcotte LP. Muscle fatty acid uptake during exercise: Possible mechanisms. *Exerc Sport Sci Rev.* 2000; 28(1): 4-9.
13. American college of sports medicine. ACSM's guidelines for exercise testing and prescription. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 2006.
14. Hordern MD, Cooney LM, Beller EM, Prins JB, Marwick TH, Coombes JS. Determinants of changes in blood glucose response to short-term exercise training in patients with Type 2 diabetes. *Clin Sci (Lond).* 2008; (115)9: 273-281.
15. Pollock B. Changes in body composition and resting blood pressure among adults using Wii Fit Plus. [MS Thesis]. Akron, Ohio, United States: The Graduate Faculty of the University of Akron. 2011;
16. Fagard RH. Exercise characteristics and the blood pressure response to dynamic physical training. *Med Sci Sports Exerc.* 2011; 33 (6 Suppl): S484-S492.

# Trunk Displacement during the Sit-to-Stand Tests in Young Adults

Samatchai Chamnongkitch<sup>1</sup> Eakarach Wongsaya<sup>2</sup> Sainatee Pratanaphon<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Physical Therapy, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

<sup>2</sup> Department of Physical Therapy, School of Allied Health Sciences, University of Phayao, Phayao, Thailand

\* Corresponding author (E-mail: samatchai@hotmail.com)

## Abstract

**Objective:** The purpose of this study was to compare trunk displacements during the two-leg and one-leg sit-to-stand (STS) test and to examine the relationship between variable obtained from the STS test (power STS) and maximum voluntary contraction of the knee extensor muscle (MVC)

**Materials and Methods:** Forty four young adults (22 males and 22 females; mean age  $21.0 \pm 1.6$  years) participated in the study. All participants completed both the two-leg and one-leg STS tests to measure time and power of the STS tests. Knee extensor MVC was measured by a force sensor. Pearson product moment correlation coefficient statistics was used to determine the relationship between variables obtained from the STS tests and knee extensor MVC. Paired sample t-test was used to determine differences in the trunk displacements between the two STS tests. A significant level was set at  $p \leq 0.05$ . **Results:** The trunk displacements in anteroposterior and mediolateral directions for the one-leg STS test were significantly greater than those of the two-leg STS test ( $p < 0.001$ ). The trunk displacement in vertical direction did not differ between the two STS tests. There were significant positive correlations between MVC and power of both the two-leg and one-leg STS ( $p < 0.001$ ). The relationship between the power of the one-leg STS and knee extensor MVC was found to be very high ( $R_{\text{Power-MVC}} = 0.832$ ,  $p < 0.001$ ). **Discussion and Conclusions:** The one-leg STS movement was performed using only muscle force from one leg to initiate the forward and upward movement of the whole body. Therefore, larger forward displacement of the trunk was needed to accomplish this task, resulting in greater forward momentum of the upper body. Larger mediolateral displacement of the trunk while standing up with one leg represented body compensation for the reduced base of support and contributed to stabilization of the trunk which considered normal movement adjustment strategy. The power index obtained from the one-leg STS test was validated to be a better variable for evaluation of the knee extensor muscle strength than the power of the two-leg STS test in young adults. *Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2013; 46(2):131-140*

**Keywords:** sit-to-stand test, knee extensor muscle strength, correlation, trunk displacement, young adult

## การเคลื่อนที่ของลำตัวบนสะโพกสอดลูกจากนั้นขึ้นยืนในผู้ใหญ่ต่อนับ

สมรรถชัย จำนงค์กิจ<sup>1\*</sup>เอกราช วงศ์ษามัย<sup>2</sup>สายนที บรรจุณานาผล<sup>1</sup><sup>1</sup> ภาควิชาการแพทย์บ้ามด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ. เมือง จ. เชียงใหม่<sup>2</sup> สาขาวิชาการแพทย์บ้ามด คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา อ. เมือง จ. พะเยา

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

### บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างตัวแปรการเคลื่อนที่ของลำตัวระหว่างการลูกจากนั้นขึ้นยืนด้วยขาสองข้างและการลูกจากนั้นขึ้นด้วยขาข้างเดียว และเพื่อหาค่าความตรงของการทดสอบการลูกจากนั้นขึ้นยืน 2 รูปแบบในการประเมินค่าความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า โดยการหาค่าความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรค่ากำลังที่ได้จากการทดสอบลูกจากนั้นขึ้นยืน (Power STS) กับค่าแรงเหตุตัวสูงสุดของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า (MVC) วัสดุและวิธีการ ผู้เข้าร่วมการทดลอง 44 คน เป็นเพศชาย 22 คน และเพศหญิง 22 คน อายุเฉลี่ย  $21.0 \pm 1.6$  ปี ได้รับการทดสอบลูกจากนั้นขึ้นยืน 2 รูปแบบ เพื่อวัดเวลาและค่านวนค่า Power และการทดสอบวัดแรงเหตุตัวสูงสุดของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าด้วยชุดคุปกรณ์วัดแรง ใช้สถิติ Pearson product moment correlation เพื่อหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรและใช้สถิติ Paired sample t-test ในการเปรียบเทียบตัวแปรการเคลื่อนที่ของร่างกายระหว่างการลูกจากนั้นขึ้นยืน 2 รูปแบบ โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่  $p \leq 0.05$  ผลการศึกษา พบว่าการทดสอบลูกขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียวมีร้อยละการเคลื่อนของส่วนลำตัวในแนวหน้าหลังและด้านข้างมากกว่าการลูกขึ้นยืนด้วยขา 2 ข้าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.001$ ) ไม่มีความแตกต่างของร้อยละการเคลื่อนของส่วนลำตัวในแนวตั้งระหว่างการลูกจากนั้นขึ้นยืน 2 รูปแบบ จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรการศึกษา พบว่าค่ากำลังของการลูกขึ้นยืนทั้ง 2 รูปแบบมีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า ค่ากำลังของการลูกขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียวมีความสัมพันธ์ในระดับสูงมากกับค่าแรงเหตุตัวสูงสุดของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า ( $R_{Power-MVC} = 0.832$ ,  $p < 0.001$ ) วิเคราะห์และสรุปผลการศึกษา การลูกขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียวใช้กล้ามเนื้อขาเพียงข้างเดียวในการออกแรงให้เกิดการเคลื่อนของร่างกายไปข้างหน้าและขึ้นบนเพื่อลูกขึ้นยืนตั้ง ทำให้ต้องส่งเสริมการเกิดโมเมนตัมด้วยการโน้มตัวไปข้างหน้ามากขึ้น การเคลื่อนของลำตัวไปในแนวด้านข้างที่เพิ่มขึ้นจะลดลูกขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียวเป็นการชดเชยต่อการลดลงของพื้นที่รองรับของร่างกายและช่วยในการควบคุมการทรงตัว ซึ่งเป็นการปรับกลยุทธ์การเคลื่อนไหวตามปกติของร่างกาย ค่ากำลังของการลูกจากท่านั้นขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียวสามารถใช้เป็นตัวชี้บ่งชี้ถึงความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าได้ดีกว่าตัวแปรที่ได้จากการลูกจากท่านั้นขึ้นยืนด้วยขาสองข้างสำหรับการทดสอบในวัยผู้ใหญ่ต่อนับต้น วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2556; 46(2): 131-140

**คำรหัส:** sit-to-stand test, knee extensor muscle strength, correlation, trunk displacement, young adult

## บทนำ

การเคลื่อนไหวจากท่านั่งไปท่ายืน (sit-to-stand; STS) เป็นการเคลื่อนไหวพื้นฐานของการเคลื่อนย้ายตัวที่มีความสำคัญต่อการเริ่มต้นทำกิจกรรมอื่น ๆ ในชีวิตประจำวัน การเคลื่อนไหว STS อาศัยแรงจากกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าถึงร้อยละ 72 ของแรงจากกล้ามเนื้อบริเวณสะโพกและเข่า<sup>1</sup> จากการศึกษาที่ผ่านมา การลุกจากนั่งขึ้นยืนด้วยขาสองข้าง (two-leg STS) เป็นการทดสอบที่นิยมใช้ในทางกายภาพบำบัด เพื่อประเมินความสามารถทางกายและความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าในผู้สูงอายุ<sup>2-5</sup>

Hughes และคณะ<sup>4</sup> พบว่าความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าในผู้สูงอายุมีค่าห้อยกว่าวัยหนุ่มสาวถึงกว่าร้อยละ 50 ล่งผลให้ผู้สูงอายุใช้แรงกว่าร้อยละ 78 ของค่าแรงหดตัวสูงสุดของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าในการลุกขึ้นยืนจากนั่งบนเก้าอี้ ในขณะที่วัยหนุ่มสาวใช้แรงกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า ประมาณ ร้อยละ 34 ในการเคลื่อนไหวเดียวกัน จึงอาจกล่าวได้ว่าการทดสอบ two-leg STS เป็นการทดสอบที่มีความท้าทายเชิงกลต่อการทำงานของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าสำหรับผู้สูงอายุ แต่อาจไม่เหมาะสมในการน้ำมามาใช้ทดสอบความสามารถทางกายของผู้ทดสอบวัยหนุ่มสาว เนื่องจากความสามารถในการออกแรงของกล้ามเนื้อที่ได้เปรียบกว่าผู้สูงอายุเมื่อต้องเคลื่อนไหวในลักษณะเดียวกัน<sup>6</sup>

การทดสอบลุกจากท่านั่งขึ้นยืนและลงนั่งด้วยขาข้างเดียว (one-leg STS) เป็นการทดสอบแบบใหม่ที่ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อนำมาใช้ประเมินความสามารถแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าในวัยผู้ใหญ่ต่อนั้น โดยในการศึกษา ก่อนหน้านี้ของกลุ่มผู้วัยรุ่น พบร่วมค่ากำลังของการเคลื่อนไหว (power STS) ที่คำนวณจากน้ำหนักตัว ระยะการเคลื่อนที่ของศูนย์กลางมวลของร่างกายในแนวตั้ง และเวลาที่ใช้ในการทดสอบ STS มีความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับสูงกับค่าแรงหดตัวสูงสุดของกลุ่มกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า แสดงให้เห็นว่าค่า power ของ one-leg STS มีความตรง (valid) ในประเมินความสามารถแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า จึงสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ในการประเมินความสามารถแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข้าในวัยผู้ใหญ่ต่อนั้นได้<sup>7</sup>

Roebroeck และคณะ<sup>8</sup> ให้คำจำกัดความของการเคลื่อนไหวลุกจากนั่งขึ้นยืนว่าเกี่ยวข้องกับการควบคุมจุดศูนย์กลางมวลของร่างกายจากตำแหน่งที่อยู่ต่ำกว่าในท่านั่งไปสู่ตำแหน่งที่สูงกว่าในท่ายืนโดยไม่สูญเสียการทรงตัว การลุกจากท่านั่งขึ้นยืนด้วยขาสองข้างมีฐานรองรับการเคลื่อนไหวที่มั่นคง และเป็นการเคลื่อนไหวของร่างกายที่เกิดขึ้นในรูปแบบ sagittal เป็นหลัก โดยมีการหมุนของร่างกาย

ท่อนบนไปข้างหน้า ในขณะที่มีการเหยียดของรยางค์ขาเพื่อเคลื่อนร่างกายขึ้นในแนวตั้ง ในขณะที่การลุกจากนั่งขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียวมีพื้นที่ฐานรองรับการเคลื่อนไหวที่แคบกว่า เมื่อเทียบกับการลุกจากนั่งขึ้นยืนด้วยขาสองข้าง ดังนั้นผู้สูงอายุทดสอบอาจมีการปรับรูปแบบการเคลื่อนไหวของร่างกายที่แตกต่างไปจากการลุกขึ้นยืนด้วยขาทั้งสองข้าง จากการทบทวนวรรณกรรม ยังไม่พบว่ามีการศึกษาใดที่ศึกษาถึงการเคลื่อนที่ของร่างกายระหว่างการทดสอบ one-leg STS มา ก่อน ดังนั้นตัวตุ่นประส่งค์ของการศึกษานี้จึงเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างระยะการเคลื่อนที่ของลำตัวระหว่างการทดสอบ two-leg STS และ one-leg STS และเพื่อทดสอบความตรงตามสภาพ (concurrent validity) ของการทดสอบ STS ทั้ง 2 รูปแบบ ในผู้ใหญ่ต่อนั้นอายุ 18 - 25 ปี

## วัสดุและวิธีการ

งานวิจัยนี้ได้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะกรรมการแพทย์ คณะกรรมการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และอาสาสมัครทุกคนลงนามยินยอมการเข้าร่วมการศึกษา อาสาสมัครที่เข้าร่วมการศึกษามาจากการติดประกาศหาผู้สนใจเข้าร่วมโครงการวิจัย โดยเป็นบุคคลอยู่ในช่วงอายุ 18-25 ปี ทั้งเพศชายและหญิง กำหนดเกณฑ์คัดออกคือ ผู้ที่มีการบาดเจ็บต่อระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อ หรือผู้ที่ได้รับการวินิจฉัยเป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาท และระบบโครงร่างกล้ามเนื้อที่มีผลต่อการทดสอบความแข็งแรงของกล้ามเนื้อและการเคลื่อนไหว คำนวณจำนวนกลุ่มตัวอย่างโดยกำหนดระดับ alpha level เท่ากับ 0.05, power เท่ากับ 0.80 อ้างอิงข้อมูลจากการศึกษาที่ผ่านมา<sup>9</sup> ให้โปรแกรม PS: Power and Sample Size Calculation<sup>10</sup> ได้จำนวนกลุ่มตัวอย่างที่ต้องการ คือ 40 คน

ผู้วิจัยแจ้งแก่อสาสมัครถึงวัตถุประสงค์และขั้นตอนการเก็บข้อมูลการศึกษา พร้อมกับให้อสาสมัครเขียนใบยินยอมเข้าร่วมการศึกษา อาสาสมัครเข้ารับการทดสอบตามลำดับ คือ 1) การทดสอบ two-leg STS และ one-leg STS ชนิดลุกยืนและลงนั่ง 5 รอบ<sup>11</sup> โดยลำดับของการทดสอบทำโดยการสุ่มเลือก และ 2) การวัดแรงเหยียดเข้าสูงสุดแบบเกร็งค้างไว้ (maximum voluntary isometric contraction; MVC) เพื่อกำหนดเป็นค่าแรงหดตัวสูงสุดของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า

## การทดสอบ STS

ผู้วิจัยแนะนำให้อสาสมัครยืนด้วยขาสองข้าง เนื้อเหยียดข้อเข่าทั้งสองข้างก่อนเริ่มการทดสอบ จากนั้นให้อสาสมัครนั่งบนเก้าอี้ที่ทดสอบที่มีการปรับความสูงของเก้าอี้

ให้พอดีกับอาสาสมัครแต่ละราย โดยจัดให้ท่อนขาส่วนบนขานานกับเก้าอี้นั่ง สำหรับการทดสอบ one-leg STS ทำการทดสอบกับขาข้างเดียวเพียงข้างเดียว โดยจัดตำแหน่งข้อเข่าของขาข้างเดียวให้อยู่ในมุมของ 100 องศา และจัดให้ขาข้างที่ไม่ได้ทดสอบยกขึ้นสูงจากพื้น ดังแสดงในรูปที่ 1 เมื่อเริ่มต้นการทดสอบ ผู้จัดให้คำสั่งเพื่อเริ่มการเคลื่อนไหวโดยให้อาสาสมัครลุกขึ้นยืนและลงนั่งให้เร็วที่สุดและอย่างปลอดภัยที่สุด เป็นจำนวน 5 รอบ ติดต่อกันโดยไม่มีช่วงพัก โดยแต่ละรอบการเคลื่อนไหวนั้นลุกขึ้นยืนให้ข้อสะโพกและข้อเข่าเหยียดสุดก่อนที่จะย่อตัวลงนั่ง และเมื่อลองนั่งต้องนั่งให้กันสัมผัสเก้าอี้เต็มที่ก่อนที่จะลุกขึ้นยืนในรอบถัดไป โดยข้าง

ที่ไม่ได้ทดสอบยกขึ้นและไม่สัมผัสพื้น ผู้จัดเริ่มจับเวลาเมื่อผู้จัดพูดคำว่า “เริ่ม” และสิ้นสุดการจับเวลาเมื่ออาสาสมัครลงนั่งกับกันสัมผัสกับที่นั่งหลังจากการยืนขึ้นในรอบที่ 5 ของการเคลื่อนไหว ให้อาสาสมัครพัก 2 นาที ทำการทดสอบขาอีก 1 ครั้ง บันทึกค่าการทดสอบที่ใช้เวลาอย่างกว่า สำหรับการวิเคราะห์ต่อไป สำหรับการทดสอบ two-leg STS ดำเนินการทดสอบเช่นเดียวกับ one-leg STS แต่จัดให้เท้าทั้งสองข้างวางบนพื้น จากนั้นคำนวณค่ากำลังของการเคลื่อนไหว (power STS)<sup>9</sup> ของอาสาสมัครแต่ละรายจาก ค่าที่หักตัว ระยะการเคลื่อนที่ของศูนย์กลางมวลของร่างกายในแนวตั้งที่ประมาณจากความยาวขาท่อนบน และเวลาที่ใช้ในการทดสอบ STS<sup>7</sup>

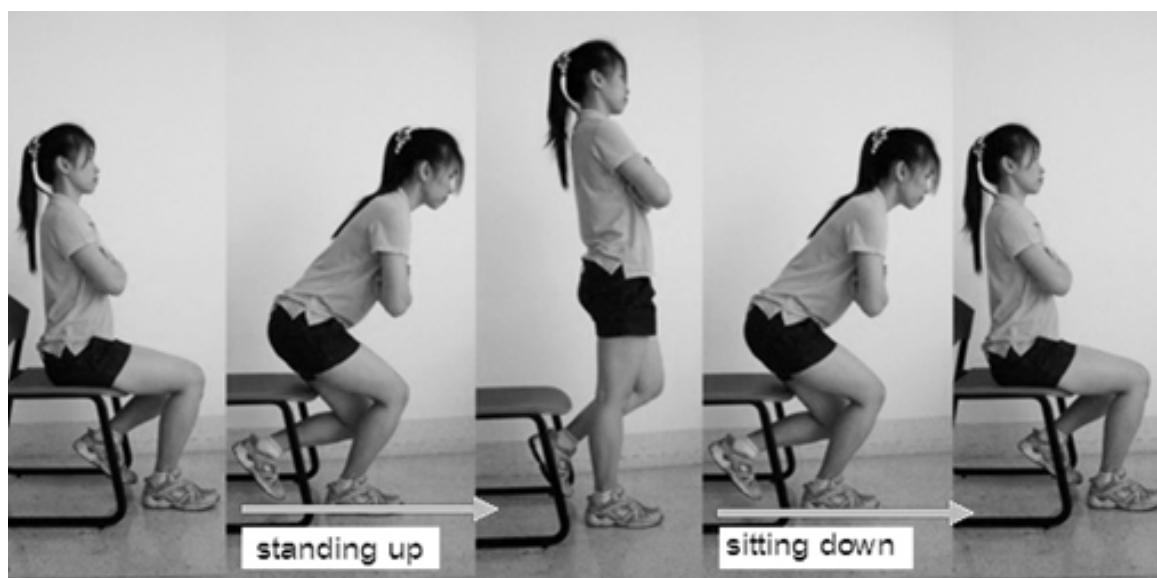


Figure 1. Illustration of the sit-to-stand test

### การบันทึกภาพการเคลื่อนไหว

ผู้จัดติดจุดกำหนดตำแหน่ง (marker) ชนิดลูกลุมบนสายรัดลำตัวของอาสาสมัครที่ตำแหน่งตรงกับกระดูกสันหลังชิ้นที่ 3 เพื่อเป็นตำแหน่งแทนจุดศูนย์กลางมวลของร่างกาย<sup>12</sup> โดยติดที่ตำแหน่งทางด้านหลังของลำตัว 1 ชิ้นและที่ด้านหน้าของลำตัว 1 ชิ้น ผู้จัดติดตั้งกล้องดิจิตอลวิดีโอ (Sony DRC-TRV18, Japan) ทางด้านขวาและด้านหน้าของอาสาสมัครที่ระยะห่าง 6 เมตรจากร่างกายของอาสาสมัคร ปรับความสูงของกล้องให้สามารถจับการเคลื่อนไหวของอาสาสมัครได้ทั้งตัว ผู้จัดบันทึกภาพการเคลื่อนไหวตลอดช่วงการทดสอบ STS ทั้ง 2 รูปแบบ นำข้อมูลภาพเคลื่อนไหวที่บันทึกได้เข้าโปรแกรม Dartfish TeamPro (Fribourg,

Switzerland) เพื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลแนวการเคลื่อนที่ของ marker ได้ด้วยประยุทธ์ของลำตัวใน 3 ทิศทาง คือ ระยะขัดของ marker บนส่วนลำตัวในแนวหน้าหลัง (anteroposterior displacement) แนวตั้ง (vertical displacement) และแนวด้านข้าง (mediolateral displacement) ดังแสดงในรูปที่ 2

### การวัดแรงเหยียดเข้าสูงสุดแบบเกร็งตัวไว้

หลังจากทำการทดสอบ STS อาสาสมัครนั่งพักเป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นจึงเข้ารับการทดสอบวัดค่าแรงเหยียดเข้าสูงสุดของขาข้างเดียวด้วยชุดอุปกรณ์วัดแรงชนิด strain gauge load cell (PowerLab model ML840, AD Instrument Ltd., Australia) ก่อนการทดสอบจริงอาสาสมัคร

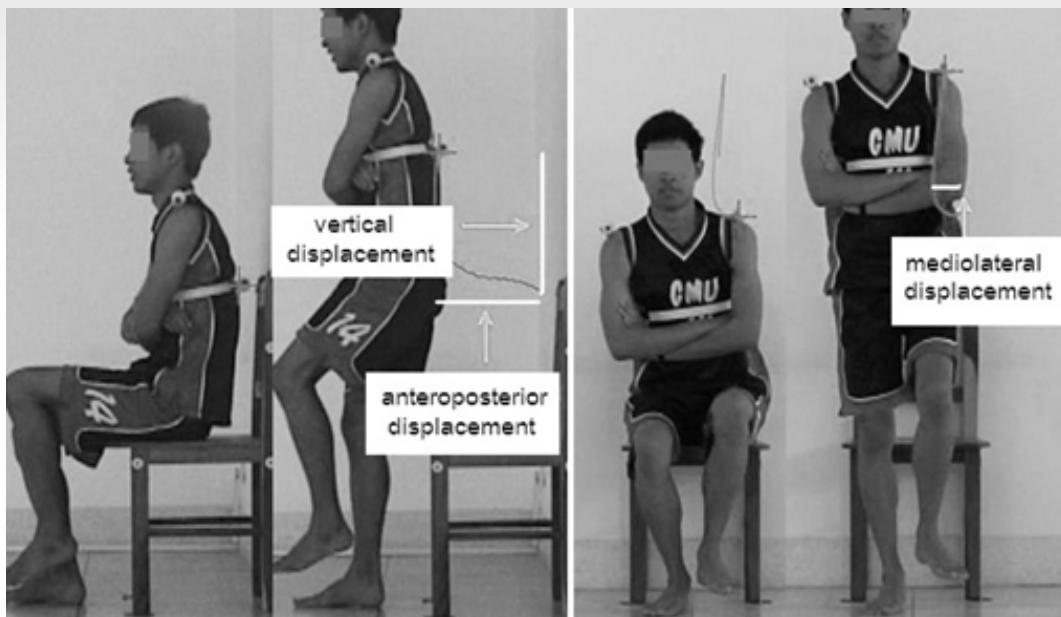


Figure 2 Trunk displacement in three orthogonal directions

ได้ฝึกซ้อมให้คุ้นชินกับกระบวนการทดสอบด้วยการอุกแรงเหยียดเข้าต้านกับอุปกรณ์ทดสอบที่แรงระดับต่ำกว่าแรงเหยียดสูงสุด (Submaximal contraction) สำหรับการทดสอบจริงให้อาสาสมัครออกแรงเหยียดข้อเข่าให้ได้แรงมากที่สุดเท่าที่ทำได้โดยผู้วิจัยออกคำสั่งให้เกร็งค้างไว้ 3 วินาที ทำซ้ำ 3 ครั้ง โดยมีช่วงพัก 2 นาทีระหว่างการทดสอบ<sup>13</sup> ผู้วิจัยบันทึกค่าแรงเหยียดเข่าค่าที่มากที่สุด (MVC)

ก่อนเก็บข้อมูลการศึกษาจริง ผู้วิจัยได้หาค่าความน่าเชื่อถือของตัวแปรการศึกษาในอาสาสมัครจำนวน 10 คน ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายนอกลุ่ม (ICC3,1) ของการทดสอบหา MVC เท่ากับ 0.980 เวลาที่ใช้ในการทดสอบการลุกขึ้นยืนจากนั่ง เท่ากับ 0.837 และค่าระยะขั้นตอนของ marker เท่ากับ 0.872

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม Statistical Package for the Social Sciences (SPSS version 16.0 for Windows) ใช้สถิติ Pearson product moment correlation coefficient เพื่อหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างค่า MVC และ Power STS ใช้สถิติ Paired sample t-test ในการเปรียบเทียบตัวแปรการเคลื่อนที่ของร่างกาย ระหว่าง two-leg STS และ one-leg STS กำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่  $p \leq 0.05$  ในทุกการทดสอบทางสถิติ

### ผลการศึกษา

อาสาสมัครเข้าร่วมการศึกษาทั้งหมด 44 คน เป็นเพศชายจำนวน 22 คน และเพศหญิงจำนวน 22 คน อายุเฉลี่ย  $21.0 \pm 1.6$  ปี ส่วนสูงเฉลี่ย  $165.4 \pm 7.7$  เซนติเมตร และ

น้ำหนักตัวเฉลี่ย  $57.6 \pm 11.2$  กิโลกรัม

จากการวิเคราะห์แนวการเคลื่อนที่ของร่างกายขณะลุกจากท่านั่งขึ้นยืน พบร่วมระยะขัดของร่างกายในแนวตั้ง (vertical displacement) มีค่ามากที่สุดเมื่อเทียบกับการเคลื่อนไหวในแนวอื่น รองลงมาคือระยะขัดของร่างกายในแนวหน้าหลัง (anteroposterior displacement) และระยะขัดที่น้อยที่สุดเกิดขึ้นในแนวด้านข้าง (mediolateral displacement) ดังข้อมูลแสดงในตารางที่ 1 เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง 2 รูปแบบการทดสอบ STS พบร่วมระยะขัดในแนวหน้าหลัง และแนวด้านข้างของ one-leg STS มีค่ามากกว่า two-leg STS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.001$ ) แต่ไม่มีความแตกต่างของระยะขัดในแนวตั้ง

แรงเหตุตัวสูงสุดของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่ามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $212.0 \pm 81.9$  นิวตัน เวลาที่ใช้ในการทดสอบ one-leg STS มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $6.75 \pm 0.80$  วินาที เวลาที่ใช้ในการทดสอบ two-leg STS มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $5.49 \pm 0.82$  วินาที จากการทดสอบทางสถิติพบว่า one-leg STS ใช้เวลามากกว่า two-leg STS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.001$ ) จากการเปรียบเทียบค่ากำลังของการลุกจากนั่งขึ้นยืน พบร่วม one-leg STS ( $160.96 \pm 38.97$  วัตต์) มีค่ากำลังน้อยกว่า two-leg STS ( $199.33 \pm 49.73$  วัตต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.001$ ) ซึ่งเป็นผลมาจากการทดสอบ one-leg STS มีค่ามากกว่า

ความสัมพันธ์ระหว่างแรงเหตุตัวสูงสุดของกลุ่มกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า (MVC) กับค่ากำลังของการลุกจากท่านั่งขึ้นยืนด้วยขาสองข้าง (Power two-leg STS) แสดงในรูปที่ 3 จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่าง MVC กับ

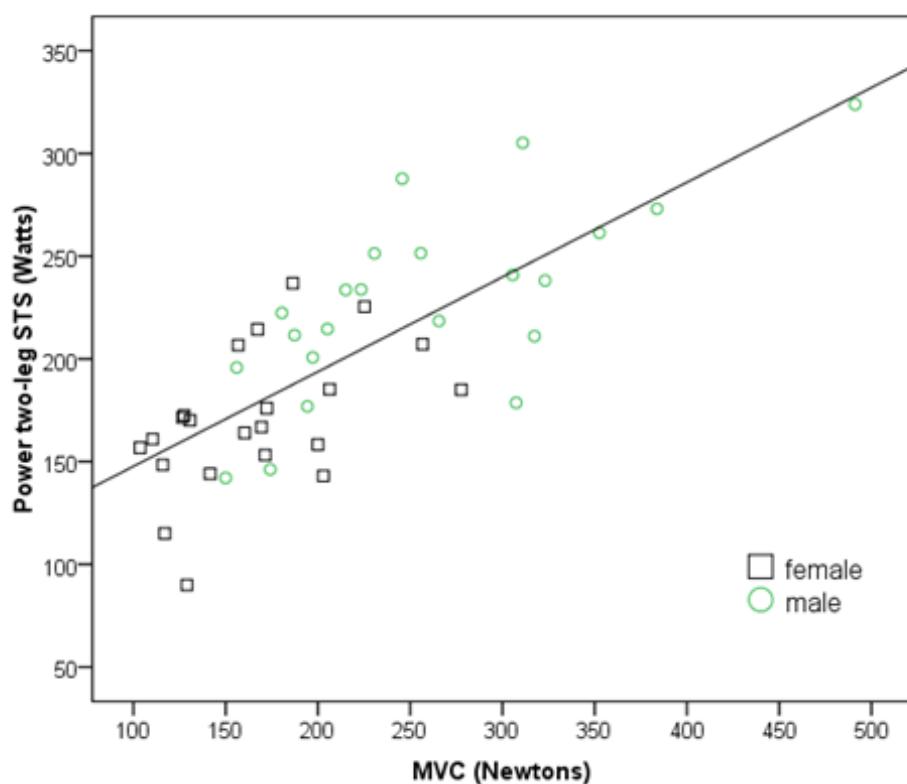
**Table 1** Trunk displacements during the sit-to-stand test

Type of STS test			
Direction of displacement (centimeters)	Two-leg STS	One-leg STS	p-value
Anteroposterior displacement	10.7 ± 4.7	18.9 ± 5.9	< 0.001
Mediolateral displacement	2.1 ± 0.8	6.3 ± 1.5	< 0.001
Vertical displacement	30.0 ± 3.4	30.4 ± 3.1	0.208

values are mean ± standard deviation

Power STS ด้วยสถิติ Pearson product moment correlation พบว่า ตัวแปรทั้งสองมีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก อย่างมีนัย สำคัญทางสถิติ  $R$  Power-MVC = 0.759,  $p<0.001$

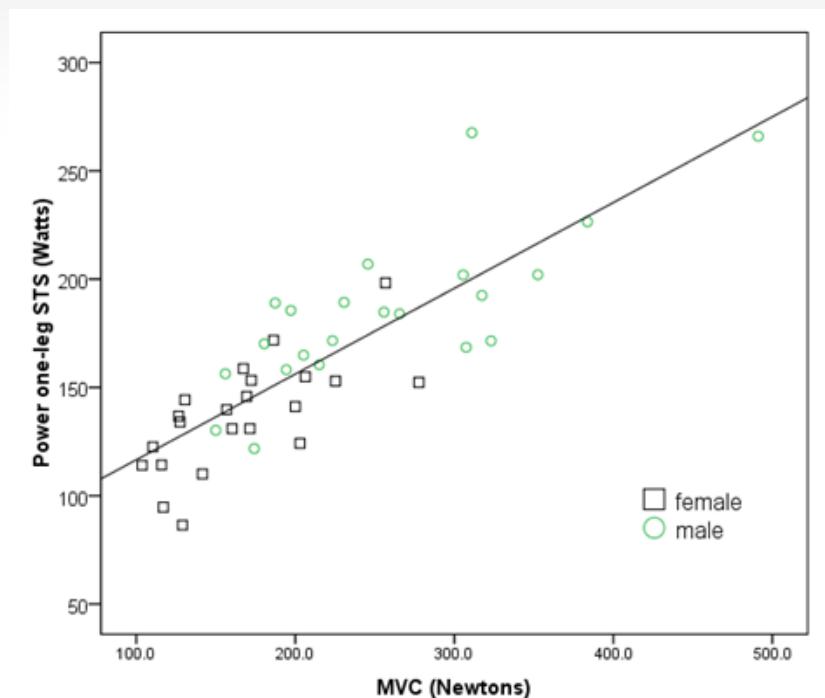
ความสัมพันธ์ระหว่างแรงหดตัวสูงสุดของกลุ่ม กล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า (MVC) กับค่ากำลังของ การลุกจาก ท่านั่งขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียว (Power one-leg STS) แสดง



**Figure 3** A graph representing the relationship between knee extensor MVC and Power obtained from a two-leg STS test

ในรูปที่ 4 จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่าง MVC กับ Power STS ด้วยสถิติ Pearson product moment cor-

relation พบว่า ตัวแปรทั้งสองมีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $R = 0.832$ ,  $p < 0.001$ .



**Figure 4** A graph representing the relationship between knee extensor MVC and power obtained from a one-leg STS test

### วิจารณ์ผล

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อเปรียบเทียบระบบการเคลื่อนที่ของร่างกายระหว่างการทดสอบ two-leg STS และ one-leg STS ในผู้ใหญ่ต่อนั้นอายุ 18 - 25 ปี และทดสอบความตรงตามสภาพ (concurrent validity) ของการทดสอบ STS ทั้ง 2 รูปแบบ โดยพิจารณาจากความสัมพันธ์ระหว่างค่ากำลังของการลุกจากท่านั่งขึ้นยืนกับค่าแรงหดตัวสูงสุดของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า (R Power - MVC)

จากการศึกษาที่ผ่านมาเกี่ยวกับการทดสอบ STS ล้วนแต่ให้ผู้ลุกทดสอบลุกขึ้นยืนตามรูปแบบปกติ คือใช้แรงจากขาทั้งสองข้างในการลุกขึ้นยืน ซึ่งในกรณีที่ความแข็งแรงของขาแต่ละข้างแตกต่างกันก็จะมีส่วนออกแรงเพื่อเคลื่อนส่วนของร่างกายขึ้นยืนได้ไม่เท่ากัน โดยเฉพาะในผู้สูงอายุ หรือผู้ที่มีพยาธิสภาพของส่วนรยางค์ขาที่มีผลต่อความสามารถในการลุกขึ้นยืน ดังนั้นผลจากการศึกษานี้จึงเป็นแนวทางการทดสอบในกรณีที่ต้องการวัดค่าความแข็งแรงของกล้ามเนื้อแยกข้างที่สามารถนำมาปัจจัยในการทดสอบทางกายภาพบำบัดได้ แต่อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบมีงานตีพิมพ์เกี่ยวกับการทดสอบการลุกจากท่านั่งขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียวมาก่อน

จากการวิเคราะห์การเคลื่อนที่ของร่างกายผู้ลุกทดสอบขณะลุกจากท่านั่งขึ้นยืน พบว่าการเคลื่อนไหวของลำตัวเกิดขึ้นใน 3 ทิศทางหลักของการเคลื่อนไหว โดยที่ระยะขัดของร่างกายในแนวตั่งมีค่ามากที่สุดเมื่อเทียบกับการเคลื่อนไหวในแนวอื่น แต่จากการทดสอบทางสถิติไม่มีความแตกต่างระหว่างการจัดในแนวตั่ง ระหว่าง 2 รูปแบบของการทดสอบ STS เนื่องจากอาสาสมัครลุกขึ้นยืนโดยเหยียดข้อสะโพกและข้อเข่าขึ้นสุดช่วงการเคลื่อนไหวเข้าดียวกันทั้ง 2 รูปแบบการทดสอบ STS

ในการศึกษานี้ พบว่าการลุกขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียว มีระยะการเคลื่อนไปข้างหน้าของส่วนลำตัวมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (ประมาณ 7-8 เซนติเมตร) เมื่อเทียบกับลุกขึ้นยืนด้วยขา 2 ข้าง ทั้งนี้สามารถอธิบายได้ว่า การลุกขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียวนั้นใช้กล้ามเนื้อขาเพียงข้างเดียวในการส่งแรงให้เกิดการเคลื่อนของร่างกายไปข้างหน้าและขึ้นบน เพื่อให้เกิดการเคลื่อนของจุดศูนย์กลางมวลของร่างกายไปสู่ท้ายนิ้วได้สำเร็จ ได้นั้น ต้องส่งเสริมการเกิดโมเมนตัมด้วยการโน้มตัวไปข้างหน้ามากขึ้น<sup>14</sup> จากการศึกษาของ Kerr และคณะ<sup>15</sup> พบว่าในการทดสอบลุกจากท่านั่งขึ้นยืนด้วยขา 2 ข้างในผู้สูงอายุก็พบ

การโน้มตัวไปข้างหน้ามากกว่าผู้อุ้กทดสอบบั้ยหนุ่มสาว ทั้งนี้เนื่องจากผู้สูงอายุมีความแข็งแรงของกล้ามเนื้อขาที่น้อยกว่าวัยหนุ่มสาวจึงต้องขาดเชยการสร้างไมเมนตัมของร่างกายด้วยการโน้มตัวไปข้างหน้ามากขึ้น

สำหรับการเคลื่อนของลำตัวในแนวด้านข้าง เมื่อลูกจากท่า่นั่งขึ้นยืนด้วยขาสองข้าง มีการเคลื่อนของลำตัวเพียงเล็กน้อย โดยเฉลี่ยประมาณ 2 เซนติเมตร เนื่องจากเป็นการเคลื่อนไหวที่สมมาตร โดยที่ข้อต่อของรยางค์ขาทั้ง 2 ข้างนั้นงอและเหยียดไปพร้อมๆ กัน โดยขณะลูกขึ้นยืนในช่วง extension phase ข้อสะโพก ข้อเข่า และข้อเท้า เหยียดออกเพื่อให้ส่วนรยางค์ขาอยู่ในท่าเหยียดเมื่อยืนตรง<sup>14</sup> แต่ในขณะที่อาสาสมัครลูกขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียว กล้ามเนื้อขาอีกข้างไม่มีส่วนในการอกร่างเหยียดสะโพกและข้อเข่าขึ้นยืนและไม่ได้ควบคุมการย่อตัวลงนั่ง ประกอบกับพื้นที่รองรับส่วนของร่างกาย (base of support) ที่ลดลงเมื่อลูกขึ้นยืนและลงนั่งอยู่บนเท้าข้างเดียว<sup>16</sup> โดยพบว่าเมื่อเริ่มต้นการลูกขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียว ผู้อุ้กทดสอบมีการเคลื่อนของลำตัวไปในแนวด้านข้างเพิ่มขึ้นประมาณ 4 เซนติเมตร เมื่อเทียบกับการลูกขึ้นยืนและลงนั่งด้วยขา 2 ข้าง การเรียงตัวเข้าในไปด้านเดียวกับขาที่ยันพื้นมากขึ้นเป็นการขาดเชยการเคลื่อนไหวเพื่อเพิ่มความมั่นคงให้กับร่างกาย และในจังหวะที่ผู้อุ้กทดสอบบีดเหยียดลำตัวขึ้นยืนตรง ส่วนของลำตัวเข้าจึงเคลื่อนออกด้านนอกอีกครั้ง เพื่อควบคุมให้จุดศูนย์กลางมวลของร่างกายอยู่ใน base of support และควบคุมการทรงตัวไว้ให้อยู่นิ่งได้ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการเคลื่อนที่ของลำตัวระหว่างการลูกขึ้นยืนและลงนั่งด้วยขาข้างเดียวที่พูนในการศึกษานี้ เป็นการปรับกลยุทธ์การเคลื่อนไหวตามปกติของร่างกาย เพื่อชดเชยการเสียเบริร์บเชิงกลของกล้ามเนื้อที่ทำหน้าที่หลักในการเคลื่อนไหว

จากการศึกษาในส่วนของความสัมพันธ์ระหว่างค่ากำลังของการลูกขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียวกับความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า พบว่าทั้งเพศชายและเพศหญิง มีความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรดังกล่าวในรูปแบบเดียวกัน และพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรดังกล่าวเป็นเชิงบวก และจัดอยู่ในระดับสูงมาก ( $r=0.832$ ) ซึ่งแสดงถึงและมีค่าความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Takai และคณะ<sup>9</sup> ที่พบความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับสูงเข่นเดียวกันระหว่างพื้นที่ภาคตัดขวางของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า กับค่ากำลังของการลูกขึ้นยืนด้วยขาสองข้าง ดังนั้นค่ากำลังของการลูกขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียวที่พูนในการศึกษานี้ จึงสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าได้ทั้งในกลุ่มอาสาสมัคร

ทั้งสองเพศ ค่า power STS คำนวณมาจากการลูกขึ้นยืนจากนั่งบนเก้าอี้ คือ เวลาที่ใช้ในการทดสอบ และอีก 2 ตัวแปรที่เกี่ยวข้องกับรูปร่างของผู้อุ้กทดสอบ คือ น้ำหนักตัวและความยาวขาท่อนบน ความยาวของขาท่อนบนถูกนำมาใช้คำนวณค่า Power STS เนื่องจากมีค่าใกล้เคียงกับระยะการเคลื่อนที่ของจุดศูนย์กลางมวลของร่างกายจากท่านั่งไปเป็นท่ายืน<sup>9</sup>

ข้อจำกัดของการศึกษานี้ คือไม่ได้วัดค่าตัวแปรอื่นที่อาจมีผลต่อการทดสอบการลูกขึ้นยืนและลงนั่งด้วยขาข้างเดียว เช่น ค่าแรงเหตุด้วยสูดของกล้ามเนื้อขามัดอื่น และความสามารถในการทรงตัวของผู้ทดสอบที่อาจส่งผลต่อความสามารถรับรื่นและเวลาที่ใช้ในการเคลื่อนไหวร่างกายอย่างไรก็ตาม จากการศึกษาของ Schenkman และคณะ<sup>14</sup> ที่ได้วิเคราะห์การทำงานของกล้ามเนื้อระหว่างการเคลื่อนไหว STS พบว่ากล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าเป็นกล้ามเนื้อหลักของ 2 ใน 4 phase ของการเคลื่อนไหว STS โดยคิดเป็นสัดส่วนมากกว่าร้อยละ 60 ของระยะเวลาการเคลื่อนไหวทั้งหมด ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่ากล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าเป็นส่วนสำคัญของการควบคุมการเคลื่อนไหวของร่างกายขณะลูกจากนั่งไปยืน สำหรับปัจจัยด้านความสามารถในการทรงตัวนั้นในการศึกษาครั้งนี้ เป็นการทดสอบในกลุ่มผู้ใหญ่ต่อนั้นอายุเฉลี่ยประมาณ 21 ปี ที่มีสุขภาพดีและไม่มีภาวะบาดเจ็บของร่างกาย มีความพร้อมและเข้าใจขั้นตอนการทดสอบเป็นอย่างดี ดังนั้นจึงไม่มีปัญหาด้านการควบคุมการทรงตัวของร่างกายที่ส่งผลต่อการทดสอบ

## สรุป

ค่ากำลังกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า (power STS) ที่ได้จากการทดสอบลูกจากท่า่นั่งขึ้นยืนด้วยขาข้างเดียว (one-leg STS) เป็นตัวแปรที่มีความสัมพันธ์ระหว่างดับสูงมากกับค่า MVC ของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่า และมีระดับความสัมพันธ์กับค่า MVC ที่สูงกว่าเมื่อเทียบกับการทดสอบลูกจากท่า่นั่งขึ้นยืนด้วยขา 2 ข้าง การทดสอบ one-leg STS ที่พัฒนาขึ้น มีความยากในเชิงชีวกลศาสตร์การเคลื่อนไหวของร่างกาย จึงใช้แรงจากกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าในสัดส่วนที่มากขึ้น แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการเคลื่อนไหวของร่างกายมากจนเกิดการการเคลื่อนไหวที่ผิดปกติเมื่อเทียบกับการทดสอบลูกจากท่า่นั่งขึ้นยืนด้วยขา 2 ข้างแบบเดิม จากการศึกษานี้ จึงอาจกล่าวได้ว่าการทดสอบ one-leg STS มีความเหมาะสมในการนำไปใช้เพื่อทดสอบและประเมินความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเหยียดข้อเข่าในกลุ่มวัยผู้ใหญ่ต่อนั้นได้

### เอกสารอ้างอิง

1. Wretenberg P, Arborelius UP. Power and work produced in different leg muscle groups when rising from a chair. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1994; 68: 413-7.
2. Bohannon RW. Alternatives for measuring knee extension strength of the elderly at home. *Clin Rehabil*. 1998; 12: 434-40.
3. Csuka M, McCarty DJ. Simple method for measurement of lower extremity muscle strength. *Am J Med*. 1985; 78: 77-81.
4. Hughes MA, Myers BS, Schenkman ML. The role of strength in rising from a chair in the functionally impaired elderly. *J Biomech*. 1996; 29: 1509-13.
5. Jones CJ, Rikli RE, Beam WC. A 30-s chair-stand test as a measure of lower body strength in community-residing older adults. *Res Q Exerc Sport*. 1999; 70: 113-9.
6. Mitchell WK, Williams J, Atherton P, Larvin M, Lund J, Narici M. Sarcopenia, dynapenia, and the impact of advancing age on human skeletal muscle size and strength; a quantitative review. *Front Physiol*. 2012; 3: 260.
7. Wongsaya E, Chamnongkitch S. Validation of a one-leg sit-to-stand test for the measurement of knee extensor muscle strength and endurance in young adults. *Bull Chiang Mai Assoc Med Sci*. 2012; 45: 45-51.
8. Roebroeck M, Doorenbosch C, Harlaar J, Jacobs R, Lankhorst G. Biomechanics and muscular activity during sit-to-stand transfer. *Clinical Biomechanics*. 1994; 9: 235-44.
9. Takai Y, Ohta M, Akagi R, Kanehisa H, Kawakami Y, Fukunaga T. Sit-to-stand test to evaluate knee extensor muscle size and strength in the elderly: a novel approach. *J Physiol Anthropol*. 2009; 28: 123-8.
10. Dupont, WD, Plummer, WD. PS - Power and Sample Size Calculation [database on the Internet]2011 [cited 2010, 12 September]. Available from: <http://biostat.mc.vanderbilt.edu/wiki/Main/PowerSampleSize>.
11. McCarthy EK, Horvat MA, Holtsberg PA, Wisenbaker JM. Repeated chair stands as a measure of lower limb strength in sexagenarian women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2004; 59: 1207-12.
12. Brach JS, McGurl D, Wert D, Vanswearingen JM, Perera S, Cham R, et al. Validation of a measure of smoothness of walking. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2011; 66: 136-41.
13. Reinking MF, Bockrath-Pugliese K, Worrell T, Kegerreis RL, Miller-Sayers K, Farr J. Assessment of quadriceps muscle performance by hand-held, isometric, and isokinetic dynamometry in patients with knee dysfunction. *J Orthop Sports Phys Ther*. 1996; 24: 154-9.
14. Schenkman M, Berger RA, Riley PO, Mann RW, Hodge WA. Whole-body movements during rising to standing from sitting. *Phys Ther*. 1990; 70: 638-48; discussion 48-51.
15. Kerr KM, White JA, Barr DA, Mollan RA. Analysis of the sit-stand-sit movement cycle in normal subjects. *Clin Biomech (Bristol, Avon)*. 1997; 12: 236-45.
16. Goldie PA, Evans OM, Bach TM. Steadiness in one-legged stance: development of a reliable force-platform testing procedure. *Arch Phys Med Rehabil*. 1992; 73: 348-54.



# บทคัดย่อ



## Expression level of CD127 in ANA positive and negative

Wararat Piammahamongkol  
Panthong Singboottra Myers  
Sakchai Dettrairat

Autoimmune disease is caused by the loss of self tolerance leading to abnormal immune responses that cause the damage of host tissues. One of long term outcomes in patients with an autoimmune disease is decreasing of white blood cell production that might be a result of the loss of factors regulating their production and homeostasis. IL-7/IL-7R is a cytokine system play important roles in the thymopoiesis and lymphocyte homeostasis and might be imbalance in patients with autoimmune disease. Therefore, the aim of this study was to determine the expression levels of CD127, which is alpha ( $\alpha$ -chain) of the Interleukin-7 receptor (IL-7R) in the blood samples that either have an ANA positive or

negative. PBMCs were isolated from EDTA blood prior to staining with anti-CD127:PerCPcy5.5 using direct immunofluorescent method. The percentage of lymphocytes expressing CD127 was then detected and analyzed by flow cytometry. The results showed that the mean percentage of cells expressing CD127 from ANA negative and positive samples were 47.92% and 47.07%, respectively, whereas the MFI were 16.59 and 12.34 respectively. This indicated that the expression level of CD127 between two groups was not significantly different. However, further study with larger number of samples need to be conducted to draw a conclusive result.

## Detection of IgG and IgM antibody titer to A and B antigens

Chadchai Sriphakdee  
Phennapha Klanginsirikul

Antibody titration is a semi-quantitative test for detection of body response to specific antigen. In this study we used conventional tube test (CTT) to detect titers of antibodies to A and B antigens both of IgG and IgM types in normal population. Fifteen samples from each blood group (group A, B, and O) were collected. Serum samples were treated with dithiothreitol (DTT) in order to eliminate antibodies of IgM type for detecting of only IgG antibodies. Phosphate buffered saline was used to dilute serum samples for evaluating of IgM titers. The results showed that most of blood group A and B

possessed anti-B and anti-A of IgM type with the most frequent titer of 64. Detection of antibody titer in normal population would be usefull for monitoring of the high risk group such as blood group O pregnant women for the risk of hemolytic disease of the new born (HDN). On the other hand anti-A and anti-B from group O samples showed higher titer than those of blood group A and B. These antibodies were of IgG type with the most frequent titer of 32. We speculated that this would be the reaction of anti-A,B which is known to be of IgG type.

## The preparation of internal quality control material for one tube OF test

Thippawan Khansom

Tanyarat Jomgeow

One tube OF test is important screening test of thalassemia diagnosis. The accuracy of this test depends on 0.36% NaCl concentration. Therefore internal quality control of this reagent is necessary before testing. Because of commercial control material is not available, most of laboratories use sample from normal or thalassemia whole blood as control material which were already confirmed by laboratory diagnosis test. However, almost of whole blood controls were stored for a long time from thalassemia diagnosis processes and unsuitable for use as control material. This study aimed to prepare QC material for one tube OF test from red blood cells preserved

in glutaraldehyde solution. The efficacy of various concentration of glutaraldehyde in preserved RBC showed that 0.1% glutaraldehyde is the best concentration for red blood cells preservation that reflect quality of one tube OF test reagent. This preserved RBC can be use as QC material and provides stability of negative and positive QC material up to 28 and 21 days respectively. These results suggested that red blood cells which preserved with 0.1% glutaraldehyde could be used as a QC material for one tube OF test. It is also easily method and cost effective to prepare which could be applied to use in routine laboratory.

## Soft matrix induced neuronal gene expression in fibroblasts

Pungpaka Larkumpeng

Fahsai Kantawong

Number of nerve cells in human bodies is relatively constant. Once some damages occur these nerve cells have been slowly repaired itself. There were some trials using stem cell therapy in neurological diseases. However, the amount of stem cells in adult human is limited. Thus this study tried to reprogram embryonic fibroblasts (NIH/3T3 fibroblast) into neuronal lineage. Fibroblasts were cultured on a soft surface to induced expression of neuronal genes. The purpose of this research is to modulate the expression of neuronal genes in NIH/3T3 fibroblasts using soft polyacrylamide gel. NIH/3T3  $1 \times 10^5$  cells were cultured on 2 cm<sup>2</sup> soft polyacrylamide gel in Dulbecco's modified Eagle Media for 2 weeks. Cells morphology was observed under a microscope.

After culture period, RNA extraction was performed using Trizol reagent. 1-step RT-PCR was employed for detection of neuronal markers; Glial fibrillary acidic protein (GFAP), Class III beta-tubulin, Microtubule-associated protein 2 (MAP2), Neurofilament light polypeptide and Paired box protein Pax-6 (PAX6). In addition, western blot technique was used to assay the expression of proteins specific to neuronal lineage. The results from real-time RT-PCR showed expression of neuronal markers in NIH/3T3 fibroblast. The results from western blot indicated that expression of nestin and  $\beta$ -III tubulin was found in cells cultured on soft polyacrylamide gel. From the results of this study, there is a high possibility to use soft matrix to reprogram fibroblasts into neural lineage.

## Study of factors effecting the G6PD deficiency screening test by conventional methemoglobin reduction test, fluorescent spot test and modified methemoglobin reduction test

Manussanun Kongpanna

Mongkol Chotayaporn

Somsak Channoi

**Objective:** To Study factors effecting the G6PD deficiency screening test by Conventional methemoglobin reduction test (CMRT), Fluorescent screening test (FST) and Modified methemoglobin reduction test (MMRT)

**Materials and methods:** Study the effects of blood sample storage time at 4°C, Hb, Hct and WBC concentration and compare the sensitivity and specificity of CMRT, MMRT and FST in normal and G6PD deficiency volunteer blood samples in Chiang Mai, 353 patients (121 males and 232 females).

**Results:** The blood samples storage at 4°C is older than 7 days loses accuracy in normal blood, false

deficiency in the CMRT and MMRT on the concentration of Hb < 8 g/dl or Hct < 24% in normal blood samples, false deficiency in the FST on the concentration of Hb > 24 g/dl or Hct > 72% in G6PD blood samples, false normal in the CMRT and MMRT on the concentration of WBC > 35,000 cells/cu.mm. MMRT has the sensitivity than FST.

**Conclusion:** The accuracy of G6PD screening test, CMRT and MMRT must be used Hb 8-24 g/dl, Hct 24-72%, WBC < 35,000 cells/cu.mm in blood samples and FST must be used Hb < 24% or Hct < 72% in blood samples.

## Phytochemical and antioxidant activity of *Cryptolepis buchanani* Roem. & Schult.

Rawiprapa Nilsakul  
Supawatchara Singhatong  
Churdsak Jaikang

The leaves and the stems of *Cryptolepis buchanani* (CB) have been used for anti-inflammation, relieve aches, muscle tension, improves arterial blood flow and protect the body from oxidative stress. CB was extracted with 80% ethanol and hydroxyl radical and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging properties were investigated. Moreover, phytochemical including total phenolic, flavonoids, and tannins were measured. Anti-oxidative stress was studied in human blood activated by 2,2'-azobis (2-amidopropane) dihydrochloride (AAPH), then Glutathione (GSH) levels and malondialdehyde (MDA) were measured. Results showed that one gram of CB extract were equal to  $1.08 \pm 0.20$

and  $3.90 \pm 0.65 \mu\text{mol Trolox/g}$  from hydroxyl radical and DPPH scavenging, respectively. One gram of the extract contained with total phenolic  $49.22 \pm 0.24 \mu\text{g}$  of Gallic acid equivalent, flavonoids  $75.31 \pm 0.01 \mu\text{g}$  of Quercetin equivalent and total tannin  $895.95 \pm 1.68 \mu\text{g}$  of Tannic acid equivalent. 10, 50 and 100  $\mu\text{g/mL}$  of the extracts was chosen to protect AAPH-induced red blood cell injury. The extracts at concentration 10  $\mu\text{g/mL}$  inhibit MDA formation and protect GSH depletion, whereas at high concentration, 100  $\mu\text{g/mL}$ , GSH level was increased. This study can be concluded that ethanolic extract of CB possesses the free radical scavenging properties and cytoprotective activity against AAPH-induced cell injury.

## Expression of P-glycoprotein, CD147 and survivin in multidrug resistance K562/Adr cells

Rattana khunkhet

Sawitree Chiampanichayakul

Leukemia is a malignant disease originated from hematopoietic stem cell. These uncontrolled, immature cells accumulate in the blood and within organs of the body. Currently, chemotherapy is the most effective method for leukemia treatment. However, the incidence of leukemia continues to rise because of the development of drug resistance during chemotherapy, termed multidrug resistance (MDR). It has been reported that acquisition of MDR by leukemic cells involves a parallel induction of P-glycoprotein (P-gp) and Inhibitor of Apoptosis Proteins (IAPs). P-glycoprotein, the *MDR1* gene product, functions as the ATP-dependent efflux pump for a variety of chemotherapeutic drug. Furthermore, increased expression of survivin, a member of IAPs family, is another mechanism involved MDR phenotype. However, the regulatory mechanism of P-gp and survivin expression has not been clarified. Recent studies have revealed that CD147 play a role in MDR via upregulating P-gp expression and

inducing anti-apoptosis of cancer cells. CD147 is a multifunctional glycoprotein enriched on the surface of various malignant tumor cells. Up-regulation of CD147 has been reported in many MDR cancer include leukemia. Taken together with there is no information on the relationship between of CD147, P-gp and survivin in leukemia with MDR phenotype. Thus, this study aimed to investigate the expression of P-gp, CD147 and survivin in leukemia with MDR phenotype. By using immunofluorescent staining and Western blot analysis, we have demonstrated P-gp and survivin were higher expression in drug resistant K562/Adr compared with sensitive K562 cell line. Whereas CD147 were low expressed in K562/Adr. In conclusion, this study suggested that P-gp, survivin and CD147 play important role in leukemia with multidrug resistance. These results provide preliminary information for further study in leukemia with multidrug resistance.

## Effect of Lychee peel extract on osteoblast differentiation and bone formation

Arsarn Rimkeeree

Fahsai Kantawong

Lychee peel extract has anti-cancer properties because its pulp and peel contain many flavonoid substances and all those are very important ones. Many studies indicated that lychee peel extract is not toxic to normal cell. The purpose of this research is to study the result of the lychee peel extract to the growth of human fetal osteoblast. Additionally, effects of lychee peel extract on osteoblast and mesenchymal stem cell mineralization was focused. In order to do that, lychee peel was extracted using 80% ethanol, the extract was concentrated by vacuum evaporation. After that the extract has been tested with human fetal osteoblast and mesenchymal stem cell. The experiment was set up into two sets. The

first one was not tested with the extract and the second one was tested with the extract for 9 days. The ability of the extract on mineralization of bone cells and the toxicity of lychee peel extract could be observed. MTT assay was employed for cell viability assay and the number of bone cells was shown by coomassie blue staining. The accumulation of calcium in bone cells (mineralization) could be observed with Alizalin red-s staining. From both quantitative and qualitative studies of mineralization, we found that the extract from lychee peel might accelerate osteoblast proliferation but has no impact on occurrence of osteoblast mineralization. However lychee peel extract can accelerate mineralization in mesenchymal stem cell.

## Tissue crossmatching by three color flow cytometry

Thanet Kajonkaitikun  
Phennapha Klanginsirikul

Methods for histocompatibility test have been developed to provide a reliable estimation of the immunological risk of allograft rejection. Flow cytometric crossmatch (FCXM) is one of sensitive procedures for tissue crossmatching. Recent studies have shown that FCXM can detect antibody binding parameter, which can cause rejection in the following time. However, there is controversy regarding the clinical significance of antibodies detected only by FCXM. Almost of laboratories explored lymphocyte subpopulation by separating T- and B-lymphocytes which required additional cost and labor. Thus, it would be useful to develop an assay that displays antibody binding on both T- and B- lymphocytes at the same time. Therefore, the aim of this study is to preliminary establish FCXM method which can validate both T- and B-lymphocytes crossmatch without separation step using three color flow cytometry. Blood samples were obtained from patients in waiting list for kidney transplantation at HLA laboratory of MaharajNakornChiangmai hospital. The concentration of phycoerythrin (PE) conjugated anti-human

immunoglobulin and positive control serum was optimized. Phycoerythrin-cyanine 7 (PE Cy7) conjugated anti-human CD3 and fluorescein isothiocyanate (FITC) conjugated anti-human CD19 were used to determine T- and B lymphocytes respectively. Seven pairs of patient sera and donor cells were tested. Mean Fluorescent intensity (MFI) of the tests were compared to those of positive and negative controls. The results showed 6 negative and 1 positive pairs of both B- and T-lymphocytes by FCXM as compared to CDC-XM which were negative in all samples. One of the advantages of our experiment is less time consumption than the conventional method, which needed physical isolation process of B- and T-lymphocytes. Furthermore, if we do not have to separate lymphocyte subpopulation, there would be less cost and also less labor. Since flow cytometric crossmatch is more sensitive than the conventional method, there would be however more false positive results. More clinical correlation should be determined for studying the usefulness of this method in predicting graft rejection.

## Evaluation of antibody responses in dogs with rabies vaccination in rabies control areas in Chiang Mai

Parichart Puangjaka  
Wilaiwan Petsophonsakul

Rabies is a zoonotic disease that causes encephalitis. Once symptoms of the disease appear, it is fatal in all cases. This disease is transmitted mainly by bites from rabid dogs. Vaccination of dogs is the best way to control rabies. Thailand has adopted the policy of making the country a rabies free zone by 2020. There is an intensive campaign for rabies vaccination that covers 70% of dogs, and evaluation of its effectiveness should be performed in parallel in order to ensure that dogs have protective immunity. In this study, the RAPINA Ab test was used to evaluate the rabies vaccination program for dogs in 4 areas of the rabies control zone: Sombia, Nongpakrang, Nongjorm and Nonghoi. It was found to be positive in protective antibody by 43.8%, 66.7%, 50% and 46.1%, respectively. The level of neutralizing antibody was determined by the rapid fluorescent inhibition test (RFFIT), standard method, and the positive percentage in each area was 50%, 75%, 50% and 84.6%, respectively.

Fourteen percent false negatives were found in the RAPINA test, due to excess antibody that was higher than a suitable level for the test. The average antibody level in each area was 3.42, 5.71, 0.76 and 8.90 IU/mL. There was no significant difference in antibody levels among the dogs in Sombia, Nongpakrang and Nonghoi, while those in Nongjorm had a significantly lower antibody level than that in the other 3 areas. When comparing the number of vaccinations, the antibody level in 1, 2 and 3 or more vaccinations was 4.38 + 6.99, 4.32 + 5.96 and 7.21 + 6.38 IU/mL, respectively, with no significant difference. In conclusion, the evaluation of protective antibody should be introduced for establishing rabies control areas. The RAPINA test was suitable for a field study with many samples and rapid determination. However, a high antibody level in vaccinated dogs can give false negative results and sera should be diluted in order to prevent this problem.

## Percentage of CCR5 + CD4 T lymphocytes and CCR5 + monocytes by flow cytometry and initial study of CCR5 promoter polymorphism by PCR-RFLP in HIV-infected patients

Kotchakorn Intamul  
Phennapha Klanginsirikul

Sakchai Dettrairat  
Warunee Kunachiwa

HIV entry into host cells requires gp120-interaction with CD4-receptor and then with co-receptor particularly CCR5. Individuals who are homozygous for CCR5-Δ32 considerably protected from infection with HIV as absent of CCR5 expression on cell surface. So the usage of CCR5 co-receptor antagonist may be a new therapeutic option for HIV patients. In this study, the percentage of CCR5 + CD4 T cells and CCR5 + monocytes were analyzed by flow cytometry and initial study of PCR-RFLP for CCR5 promoter polymorphism was performed in HIV-infected patients and normal subjects. Results obtained from flow cytometry showed percentage

of CCR5 + CD4 T cells in HIV-infected patients (7.530 [5.092; 10.59]) more than those of normal subjects (4.365 [3.145; 5.875]) but percentage of CCR5 + monocytes in HIV-infected patients (6.515 [5.15; 11.588]) less than those of normal subjects (17.84[6.03;26.09]). These results may be due to naïve CD4 + T cells were stimulated and differentiate to memory CD4 T cells and destruction of monocytes in HIV-infected patients. Increasing on percentage of CCR5 + CD4 T cells may be more effective CCR5 antagonist treatment for HIV-infected patients. The correlation of CCR5 promoter polymorphism and CCR5 expression on cell surface deserves further investigations.

## Screening and identification of alloantibodies in blood samples of risk group from Community Medical Service Project

Kamonwan Punjaroen  
Preeyanat Vongchan

Individuals with history of pregnancy and/or blood transfusion might develop alloantibodies specific to red blood cell antigens which may cause post transfusion reaction such as fever, chills, urticaria, hypotension, shock and death. In previous study of Miss Pattaraporn Chanangklang's, indirect antiglobulin test was performed in 1,048 blood samples and it was found that 3.9% were positive screening. Identified alloantibodies included anti-Mi<sup>a</sup>, anti-P1, anti-M and anti-D, respectively. However, blood samples were randomly collected. The aim of this study was to screen and identify alloantibodies in people who

have history of pregnancy and/or blood transfusion. Indirect antiglobulin test was performed in 959 blood samples. We found that 34 blood samples (3.5%) were positive screening. Identified alloantibodies included anti-Mi<sup>a</sup> (64.2%), anti-E (21.4%), anti-P1 (7.2%) and anti-Le<sup>a</sup> (7.2%), respectively. Results from this study may help for suggestion and reduce post transfusion reaction especially to whom with clinically important alloantibody and are at risk for next blood transfusion and/or pregnancy.

## Effects of purple rice extracts on phagocytic activity, nitric oxide and cytokine production in RAW 264.7 macrophage cell line

Krongkarn Tao-pa-in  
Khaniththa Taneyhill

*Oryza sativa* L. belongs to the family Gramineae. Purple rice or black glutinous rice has been widely farmed in Northeastern and Northern Thailand. However, farming of purple rice has decreased every year. To promote the consumption of purple rice, studies of its pharmacological activities have been done. However, information concerning the immunomodulatory activities of purple rice is still lacking. This study aimed to investigate the effects of purple rice extracts on macrophage function. Three purple rice strains (Nan, Payao and Doisaket) and one normal rice strain (RD 6) were extracted with dichloromethane and methanol. RAW 264.7 murine macrophages were incubated with rice extracts with or without lipopolysaccharide (LPS). Nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha

(TNF- $\alpha$  levels were determined by Griess's reagent and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), respectively. The cells were subjected to a phagocytosis assay using the *Vybrant™* Phagocytosis assay kit. All methanol purple rice extracts increased nitric oxide and TNF- $\alpha$  production, especially at high concentration (0.5-2.0 mg/ml). Methanol extracts of purple rice (Doisaket and Payao) increased phagocytic activity of macrophages. Dichloromethane and RD6 extracts had no effect on macrophage function. In conclusion, methanol purple rice extracts stimulated macrophage activity by increasing nitric oxide and TNF- $\alpha$  production and stimulating phagocytic activity. Nan purple rice had the highest macrophage stimulating activity.

## Red blood cell antibody identification by flow cytometry

Konlawat Phoemkhun  
Phennapha Klanginsirikul

For safety of blood component transfusion, appropriate blood component must be selected. In routine transfusion laboratory, antibody screening must be performed for detecting of antibodies to red blood cell surface antigens. If antibody screening result was positive, the antibody specificity must be identified. In the present day, the antibody identification can be done by indirect anti-globulin test (IAT) using standard tube agglutination. The reaction grading depends on the concentration of antibody in serum. If there was a low concentration of antibody, the reactivity would be declined. Therefore, well-trained medical technologist is required. This study aims to develop a method for antibody identification using flow cytometry and compare the sensitivity of this method to the conventional tube method. From the results of 4 samples, all samples which were positive from the screening step could be identify by flow cytometry but only 3 out of 4 samples could be identified by conventional tube method. In addition, when the sample was diluted into different concentration, the antibody specificity could be distinguished in sample that was diluted at dilution

of 1:4. Antibody identification by flow cytometry showed higher sensitivity than the conventional tube method. Flow cytometry could also identify mixed of antibodies in this sample. After that, sample was investigated by standard tube method using enzyme treated panel cells. However enzyme treated cells could identify only one antibody. At dilution of 1:8, enzyme method could identify only single antibody specificity in sample that known to have mixed antibodies. Therefore, the method of antibody identification by flow cytometry is more sensitive than convention tube method. Although the enzyme method could detect lower concentration of antibody than flow cytometry, however this method can enhance only some of red blood cell surface antigen expression and destroy the structure of some blood group antigens. Finally, antibody identification by flow cytometry is able to identify mixed antibodies and sample containing low titer antibody. Therefore, we suggested that flow cytometry could be used for red blood cell antibody identification when the sample contains low concentration of antibody and standard tube method could not identify that antibody.

## The Optimization of filter paper type fecal occult blood test based on Gum guaiac assay

Kunpida Achinoopunyawat

Tanyarat Jomgeow

Fecal occult blood test (FOBT) is screening test which determine hidden blood in stool. This test can be used to identify blood loss in gastrointestinal tract and the advantages of this test are convenience, inexpensive and invasive method for patients. However, most of laboratory in Thailand still import this test which is expensive and in house fecal occult blood kit still unavailable. Therefore, this study aims to develop FOBT by using filter paper method which based on Gum guaiac assay and targeting in improvement of the convenience, stable and long storage test kit. The filter papers No. 42 were coated with Gum guaiac reagent and dried. After specimen was

collected in paper kit, 3%  $H_2O_2$  was drop for reaction test. The result demonstrated the sensitivity of detection at total RBC  $3.12 \times 10^4$  cells which can present 0.83  $\mu g$  of hemoglobin and can detect for occult blood in stool which has  $1 \times 10^5$  RBC or 108  $\mu g$  of hemoglobin. Furthermore, this test kit has storage time until 115 days. The study indicated that the filter paper type fecal occult blood test provides highly sensitivity, stability, convenience, portable and inexpensive. However, this test kit should be investigated the use in patients and more practical packaging in the future.

## Calcium, phosphorus and $\beta$ -CrossLaps in subjects who consumed water with fluoride higher than the permissible level

Kaneungnuch Kamlha  
Supawatchara Singhatong

Roongsiri Chotpadiwetkul  
Sriwan Dolan

The people in Northern Thailand consume high fluoride content in water resources. Chronic fluoride exposure results in its accumulation in tissues, especially bone and teeth. The fluoride toxicity to the bone is called "skeletal fluorosis". The aim of this study was to assess the bone markers including calcium, phosphorus and  $\beta$ -CrossLaps in subjects who consumed water with fluoride higher than the permissible level. Fifty-seven volunteers aged more than 50 years from Mae-hoy-ngern, Doisaket district, Chiang Mai were interviewed. The fasting blood was collected and determined the calcium and phosphorus by colorimetric assay and  $\beta$ -CrossLaps by electrochemiluminescence immunoassay by an automatic analyzer. The results showed that the mean  $\pm$  SD of calcium in high fluoride intake group was  $9.66 \pm 0.37$  mg/dL, of phosphorus was  $3.78 \pm 0.44$  mg/dL and of  $\beta$ -CrossLaps was  $0.74 \pm 0.45$  mg/dL. Calcium, phosphorus and

$\beta$ -CrossLaps were not statistically different between low fluoride intake group and high fluoride intake group ( $p = 0.721$ ,  $p = 0.78$ ,  $p = 0.078$ , respectively). Moreover, calcium and  $\beta$ -CrossLaps did not correlate with fluoride in water and urinary fluoride. However, phosphorus significantly correlated with fluoride in water ( $r = 0.402$ ) and urinary fluoride ( $r = 0.444$ ) in a positive manner ( $p = 0.01$ ,  $p = 0.004$ , respectively).  $\beta$ -CrossLaps significantly correlated with ALP ( $r = 0.55$ ), total P1NP ( $r = 0.798$ ) and osteocalcin ( $r = 0.805$ ) in a positive manner ( $p = 0.001$ ,  $p = 0.001$ ,  $p = 0.001$ , respectively). Calcium significantly correlated with ALP in a negative manner ( $r = -0.394$ ,  $p = 0.012$ ). In summary, calcium, phosphorus and  $\beta$ -CrossLaps were not different between subjects who consumed water with low and higher fluoride than the permissible level.

## Effect of polysaccharides from *Spirogyra* spp. on PT, APTT and TT assays

Charatsri Thongsaitarn  
Nutjeera Intasai

Cardiovascular disease is a major cause of death of the world population. The most commonly used anticoagulation drug for prevention and treatment of thromboembolic disorders is heparin. However, it has many limitations such as causes of heparin-induced thrombocytopenia and allergy. Presently, natural product compounds have been extensive studies on their anticoagulant properties including algae. Previous studies demonstrated that polysaccharides from marine algae have powerful blood anticoagulant activity. Thao is a freshwater alga which is belonged to *Spirogyra* spp. It is widely grown in natural reservoirs and used for cooking in the North and Northeastern regions of Thailand. It is interested that Thao may has anticoagulant activity as marine algae. This research aimed to study the effect of crude polysaccharide from Thao on coagulation assays including PT (prothrombin time), APTT (activated partial

thromboplastin time) and TT (thrombin time) to evaluate its anticoagulant activity on extrinsic pathway, intrinsic pathway and the function of fibrinogen, respectively. Platelet-poor plasma (PPP) was incubated with crude polysaccharide at concentration 10, 20, 40 or 80 mg/ml at 37°C for 1 minute before performing these coagulation assays. Prolongation of APTT was observed when incubated with crude polysaccharide at concentration of 40 and 80 mg/ml. However, it had no effect on PT and TT. The results showed that crude polysaccharide from Thao had an anticoagulant activity on intrinsic pathway without any effect on fibrinogen function. Thus crude polysaccharide from Thao may be useful for the development of anticoagulant drugs. Active compound and mechanism of action of crude polysaccharide from Thao on blood coagulation should be further studied for pharmaceutical industry in the future.

## Deltamethrin susceptibility and the sodium channel gene mutation associated with knockdown resistance in the population of *Aedes aegypti* from Chiang Mai and Phayao Provinces

Jarinya Jomtiang  
Jintana Yanola

An effective control of *Ae. aegypti*, dengue fever vector, relies on chemical insecticides. However, the intense use of insecticide has introduced the developing insecticide resistance. Resistance to pyrethroid insecticide has been reported in the *Ae. aegypti* population from many regions. Several sodium channel mutations associated with knockdown resistance have been identified in pyrethroid-resistant *Ae. aegypti* and one of these is the V1016G mutation. The objectives of this study were to determine the susceptibility to deltamethrin and detect the V1016G mutation in the population of *Ae. aegypti* from Chiang Mai and Phayao provinces. Field collected *Ae. aegypti* mosquitoes from Chiang Mai and Phayao provinces were exposed to 0.05% deltamethrin paper according to WHO susceptibility method. Dead and surviving mosquitoes after exposed to deltamethrin were genotyped for the

V1016G mutation by AS-PCR. Mosquitoes from Chiang Mai were resistant to deltamethrin. The mutant (G1016) allele frequency was significantly difference ( $p < 0.05$ ) in dead (0.22) and surviving (0.41) groups suggested that the V1016G mutation was positively correlated with knockdown resistance to deltamethrin in the population of *Ae. aegypti* from Chiang Mai. Mosquitoes from Phayao were moderately susceptible to deltamethrin and the low mutant (G1016) allele frequency (0.03) was found in this population. In conclusion, the V1016G mutation associated with knockdown resistance was the important mechanism of deltamethrin resistance in *Ae. aegypti* population of Chiang Mai. The use of insecticide for mosquito control should be considered in this province. However, delmethrin could be used to control of the *Ae. aegypti* population from Phayao.

## Screening for glycosaminoglycans in flower, fruit and seed of medicinal plants

Jariya Chimchai

Kanyamas Choocheep

Osteoarthritis is a common disease found in the elderly. Long-term effects of osteoarthritis lead to degradation of the articular cartilage that impact on the daily life. In osteoarthritis treatment, there are several kinds of drug used for relief pain and joint inflammation, such as acetaminophen, NSAIDs, glucosamine sulfate and chondroitin sulfate. Chondroitin sulfate is one of glycosaminoglycans which predominantly present in human cartilage and often bound with proteins to form proteoglycans. Most of chondroitin sulfate is obtained from several parts of animal including, shark or bovine trachea cartilage. However, the detection of plant glycosaminoglycans is not well understood. Therefore, this

study aims to detect glycosaminoglycans from flower, fruit and seed of 20 medicinal plants. Each herb is extracted by 95% ethanol and distilled water. Then, glycosaminoglycans are examined by dye-binding assay and UV-Vis spectrophotometry. The results suggested that there were glycosaminoglycans in Lemons, Noni, Bitter gourds, Bananas, Banana flowers and Jasmine extracted by 95% ethanol. In addition, there were glycosaminoglycans in Champak, Bananas, Common Asiatic weed and Star apple extracted by distilled water. Interestingly, glycosaminoglycan found in bananas, Noni, Star apple and Bitter gourd is chondroitin sulfate which could be beneficial to further study in clinical trial for arthritis treatment.

## Prevalence of cardiovascular risk factors in Mae Ka sub-district, Chiang Mai

Tanarat Lovittayanon Jakkrapan Kanta  
Khanitha Taneyhill Kanyamas Choocheep

The community service project was established many years ago by the Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University. The aim of the project is to annually check rural people's health. The checkup results would be returned to the people with an interpretation and a recommendation. However, follow up data have never been analyzed. The aim of this study was to evaluate the prevalence of cardiovascular risk factors in Mae Ka sub-district, Muang, Chiang Mai. First, health check up data from the years 2009-2012 were analyzed retrospectively. Total cholesterol and fasting blood glucose levels increased every year. In 2012, 55 percent of the population had a high cholesterol level. Second, multivariate data from individuals were analyzed. Seventy five and 52 percent of

people sampled had high blood glucose and cholesterol levels, respectively. This increase was more than the usual increase due to age. Lastly, people who had abnormal cholesterol and blood glucose levels were selected. Lipid profiles and small dense LDL-cholesterol levels were determined for the subsample. These data and other information from a questionnaire were used to calculate 10-year Framingham risk scores. Thirty-nine percent of the selected group had very high cardiovascular risk scores, and only 6% had LDL phenotype B. These data indicated that the health promotion program has not been successful. To improve the program, behavioral changes should be introduced and monitored for this group of people.

## *In vitro* antioxidant capacity and antimicrobial in Thai traditional herbs

*Chakkapan Ounwichit*  
*Supawatchara Singhatong*  
*Churdsak Jaikang*

*Shorea roxburghii*, *Derris scandens* Benth. and *Cissampelos pareira* Linn. var. *hirsutus* were extracted with hot water and 80% ethanol and were evaluated their antioxidant capacities and antimicrobial properties. Phytochemicals including total phenolic, total tannin and total flavonoid were determined using Folin-Ciocalteau's reagent or *aluminium* chloride. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging and iron chelating activity were established antioxidant properties and agar cup method for antimicrobial activity of the herbs extracts. The results showed that *Cissampelos pareira* Linn. var. *hirsutus* had the highest total phenolic and total tannin with

5026. 16 mg Gallic acid equivalent and 2871.18 mg Tannic acid equivalent, respectively. The *Shorea roxburghii* extract contained the highest total flavonoids level with 156.00 mg Quercetin equivalent/ gram plant extract. Water and ethanol extract of *Cissampelos pareira* Linn.var. *hirsutus* had the highest DPPH scavenging properties with IC<sub>50</sub> values was 0.65 and 0.14 mg/ml, respectively. At high concentration, *Cissampelos pareira* Linn. var. *hirsutus* extract inhibited *Staphylococcus aureus*. From the results, three herbs are potential to be used as antioxidants and antimicrobial and should be study the mechanism in the future.

## Screening for common thalassemia in Thailand using Hemolysis Area (HA) calculated from the novel AMS-RBC-FRAG-TEST (ARFT) system

*Janejira Jaratsittisin*  
*Thanusak Tatu*

AMS-RBC-FRAG-TEST (ARFT) system was invented by Assoc. Prof. Dr. Thanusak Tatu and Dr. Denis Sweatman. Hemolysis Area (HA) obtaining from summation of hemolysis rate in 120 seconds by 0.45% GSS under the operation of ARFT was shown to be unique for each group of thalassemia. However, this HA was generated from a few sample numbers and not enough for establishing the accurate HA ranges. This study then aimed to determine the probability of using the HA values in screening thalassemia trait in a cohort of more sample number. The HA values, MCV, MCH, cellulose acetate electrophoresis (CAE) and multiplex allele-specific PCR (MASP) were performed in 79 anonymous blood samples. The previous HA values of > 35 for normal, 26-35 for HbE trait, 21-25 for  $\beta$ -thalassemia (SEA type) and 15-20 for  $\beta$ -thalassemia trait were employed to diagnose thalassemia trait. The results showed that

these values were only able to separate normal out of thalassemia trait, but not between the thalassemia traits. Then, determining the new ranges of HA was done by grouping the sample's results according to the MCV, MCH, CAE and MASP. The new HA ranges were established in mean  $\pm$  SD as follows: 61.85  $\pm$  12.48 normal (n = 60), 34.45  $\pm$  9.99 HbE trait (n = 15) and 27.71  $\pm$  10.27 SEA- $\alpha$  thalassemia 1 trait. These ranges were still only able to separate normal from the thalassemia carriers. Moreover, the efficiencies of HA, MCV, MCH in screening for the HbE carrier were 78.48%, 91.14% and 78.48%, respectively. In conclusion, the HA values had positive trend to be used for screening thalassemia trait. However, additional studies should be done by increasing sample numbers, especially in thalassemia groups. It was hoped that the HA values generating by the ARFT system would be an alternative for screening thalassemia carrier in future.

## Study of gamma/delta T-lymphocyte numbers following HIV-1 infection

Chanakan Kanthatham Phennapha Klanginsirikul

Gamma/delta ( $\gamma/\delta$ ) T-lymphocytes are subpopulation of T-lymphocytes which T-cell receptors (TCR) compose of gamma and delta chains. These cells expressed CD3 molecules on their surfaces but not CD4 and CD8. These cells can also be divided into mainly two groups; V $\delta$ 1 and V $\delta$ 2. V $\delta$ 1 subset is found mainly in mucosa of the lymphoid organ whereas V $\delta$ 2 subset is found mainly in blood circulation. Function of  $\gamma/\delta$ T lymphocytes is to response to the lipid antigen without major histocompatibility complex (MHC). Previous study by Jaturaporn Fupruk found that V $\delta$ 2 cells were decreased in HIV-1 infected patients with CD4 T lymphocytes less than 200 cells/ $\mu$ L. However, there were small number of samples used in his study. Therefore, in this study we studied more samples from HIV-1 infected patients. Four colour flow cytometry was used to evaluate  $\gamma/\delta$ T lymphocytes and V $\delta$ 2 subgroups of cells which were negative for CD4 and CD8. The samples were divided into four study groups: a HIV-1 negative group and 3 groups of those

infected with HIV-1. HIV-1 infected groups consist of patients with CD4 less than 200 cells/ $\mu$ L, CD4 between 200-350 cells/ $\mu$ L and CD4 more than 350 cells/ $\mu$ L. The results showed that the amounts of  $\gamma/\delta$ T lymphocytes of HIV-1 infected patients were likely decreased when compared to HIV-1 negative group although there were not statistically different. Similar result was observed in V $\delta$ 2 group. When compared the results between HIV-1 infected groups, the number of V $\delta$ 2 cell was decreased in patients with CD4 less than 200 cells/ $\mu$ L as compared to those of patients with CD4 between 200-350 cells/ $\mu$ L. The results from this study were consistent to the previous study by Jaturaporn Fupruk. This may partly due to the function of  $\gamma/\delta$ T lymphocyte which mainly plays an important role in lymphoid organ in patient infected with HIV-1. Patients with low CD4 count often have complications mainly from opportunistic infection. This lymphocyte subgroup may have migrated to the infected tissues rather than circulated in blood circulation.

## Survey of hepatitis B virus (HBV) immunity and HBV carrier state in the Faculty of Associated Medical Sciences Students, Academic year 2555

Nattha Intarasopa Natedao Kongyai Wasana Sirirungsri

Laboratory practice of the Associated Medical Sciences students which have to contact directly to the clinical specimens, secretion or patient's body is likely to risk of various diseases for example Hepatitis B virus (HBV) infection. Therefore, in order to obtain information to monitor the infection, this research has surveyed the immunity and carriers state on HBV infection in 526 subjects of the second year and third year Associated Medical Sciences students, Chiang Mai University, the academic year 2555. The Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) test kits were used for hepatitis B surface antigen (HBs Ag), antibody against HBs Ag (Anti-HBs) and antibody against hepatitis B core antigen (Anti-HBc) detection. Eight groups were categorized according to the testing results: 1) five subjects (0.95%) were acute HBV infection or chronic HBV infection (Carrier); 2) 11 subjects (2.09%) were previous infection and already had immunity; 3) 18 subjects (3.42%) were previous infection but had no immunity; 4) 1 subject (0.19%) was acute HBV

infection or infected with mutated HBV; 5) 326 subjects (61.98%) had neither antigen nor antibody; 6) 154 subjects (29.28%) were successful HBV vaccination; 7) 5 subjects showed invalid results (0.95%) and 8) 6 subjects were early acute HBV infection or during in incubation period. It can conclude that only 165 students (31.4%) had the immunity to HBV, which were immunized from natural infection or vaccination. Meanwhile, 350 students (66.5%) had no immunity to this virus. In addition, there were 11 cases (2.1%) showed positive result for HBs Ag detection, which may be infecting or may has a risk to be the carrier of the disease. Eventually, at least 6 months follow-up are required for these 11 students. The findings of this study may be used as primary information in counseling and educating to students who had no immunity and the group who risk being carriers, that to reduce the risk of HBV infection in Associated Medical Sciences Medical students.

## Study of CCR5-delta32 mutation in HIV-1 infected infants in Thailand between 2007 and 2012

Natnaree Keardthep Tanawan Samleerat

**Background:** Our previous study evaluating HIV-1 coreceptor usage in HIV-1 vertically infected infants with mainly CRF01\_AE strain in Thailand reported a high proportion of HIV-1 CXCR4-using variants (44.7%) versus CCR5-using variants (55.3%). This observation differed from other newborn or children HIV-1 infected population infected mainly by subtype B or C or D strains have been shown a high proportion of CCR5-using variants. This result may be caused from abnormality of CCR5 gene (i.e. CCR5 delta 32). In this study we aimed to determine the CCR5-delta32 mutation in HIV-1 infected infants in Thailand between 2007 and 2012.

**Methods:** A total of 234 HIV-1 infected infants (106 male and 128 female) participating in the National AIDS Program of the National Health Security Office (NHSO) of Thailand in 2007-2012 were included in this study. All children were received ARV prophylaxis according to the Thai national guidelines. The CCR5-delta32 mutation

genotype was determined by PCR using specific primers that could identify the 32 nucleotides deletion by PCR fragment size differences on 5% agarose gel electrophoresis. The PCR product of some infants was randomly selected for direct DNA sequencing of CCR5-delta32 flanking region.

**Results:** The median age of 234 HIV-1 infected infants was 75 days (range: 12-266). No significant difference in age and clinical signs of AIDS ( $p=1.000$ ) were observed between these populations. The CCR5-delta32 mutation has not been found in 228 HIV-1 infected infants. However, 6 of 234 HIV-1 infected children failed to amplify of the CCR5 gene. This may be caused by quality of DNA, multiple freeze-thaw or PCR inhibitors.

**Conclusion:** No CCR5-delta32 mutation found in 228 HIV-1 infected infants in Thailand. This result may suggest that high prevalence of CXCR4-using viruses did not affect from abnormality of CCR5 gene, in particular CCR5-delta32 mutation.

## Urinary fluoride in subjects who consumed water with fluoride higher than the permissible level and fluoride toxicity to bone and teeth

Nattawut Sangsungnern Roongsiri Chotpadiwetkul Supawatchara Singhatong Sriwan Dolan

Fluorosis is mainly caused by chronic consumption of high level of fluoride in water. Natural occurring fluoride in Northern Thailand renders its contamination of ground and underground water, which leads to high incidence of skeletal and dental fluorosis. This study aimed to investigate the urinary fluoride of subjects with high fluoride intake and the correlation with skeletal and dental fluorosis. First morning urine was collected in 57 elderly volunteers from Mae-hoy-ngern, Doisaket district, Chiang Mai. The urine samples were analyzed for fluoride using a fluoride ion-selective electrode and for creatinine using a Glick's method. Forty subjects, account for 70%, who ingested too high fluoride in water had urinary fluoride ranged from 0.71 to 9.36 mg/L with the average of 3.26 mg/L (Median = 2.59 mg/L, SD = 2.19 mg/L). Fluoride/creatinine in urine ranged from 1.18 to 11.67 mg/g creatinine with the average of 4.54 mg/g creatinine (median 4.43 mg/g

creatinine, SD 2.36 mg/g creatinine). Subjects who ingested low fluoride contaminated water had urinary fluoride ranged from 0.632 to 8.08 mg/L with the average of 2.43 mg/L (median = 1.58 mg/L, SD = 1.96 mg/L) fluoride/creatinine in urine ranged from 1.37 to 13.15 mg/g with the average of 3.56 mg/g creatinine (median 2.82 mg/g creatinine, SD 2.76 mg/g creatinine). The urinary fluoride and fluoride/creatinine were significantly higher in high fluoride intake group than in low fluoride intake group ( $p = 0.04$  and  $0.05$ , respectively). Moreover, urine fluoride positively correlated with fluoride in water ( $r = 0.375$ ,  $p = 0.004$ ). Urine fluoride in subjects associated with skeletal fluorosis ranged from 0.71 to 9.36 mg/L (1.18-13.15 mg/g creatinine) In summary, determination of urinary fluoride may indicate the exposure and accumulation of fluoride in the body. However, it may not be beneficial in identifying the skeletal and dental fluorosis.

## Antioxidant and antimicrobial activities of *Aspidistra elatior* extracts

Daranee Nak-opat  
Churdsak Jaikang

Supawatchara Singhatong  
Soodjai Pawichai

Antioxidant and antimicrobial activities of water and ethanol extract of *Aspidistra elatior* (AE) were investigated. 2,2'-azino-bis(3-ethylbenthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical, hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ), nitric oxide (NO), hydroxyl ( $OH^\cdot$ ) radical scavenging and ferric reducing antioxidant power (FRAP) method were selected to study antioxidant properties. The antimicrobial effect of water and ethanol extract of AE was tested against *Staphylococcus aureus*. The result showed that 1 gram of AE extract contained total phenolic  $37.50 \pm 0.01$   $\mu$ g Gallic acid equivalent, total flavonoid

$7.41 \pm 0.01$   $\mu$ g Quercetin equivalent and total tannin  $68.54 \pm 0.01$   $\mu$ g Tannic acid equivalent. Antioxidant activities expressed in  $IC_{50}$  values as  $1.26 \pm 0.17$ ,  $15.98 \pm 0.13$ ,  $54.81 \pm 0.35$ ,  $1.17 \pm 0.01$ ,  $2.97 \pm 0.06$  of NO, DPPH, ABTS,  $H_2O_2$  and  $OH^\cdot$  radical scavenging method, respectively and  $15.11 \pm 5.67$  mmol/g extract of FRAP assay. AE extracts are not affected to *Staphylococcus aureus*. Thus, this study can be concluded that AE extract contributes the antioxidant with its phenolic, flavonoid and tannin.

## The effect of monoclonal antibody specific to human liver HSPG clone 1E4-1C2-1D9 on HL-60 cell differentiation

Thepparit Thavillarp Preeyanat Vongchan

Heparan sulfate proteoglycans (HSPGs) express on membrane and matrix of many cell types. It significantly involves in fundamental cell activities and act as coreceptor of many certain molecules which contain heparin binding region. Human liver HSPGs was isolated for producing monoclonal antibodies (mAbs). Previous study showed that mAb clone 1E4-1C2-1D9 significant react only with leukocytes from AML patients but not normal granulocyte. This study aimed to clarify the effect of mAb specific to human liver HSPG clone 1E4-1C2-1D9 on HL-60 cell differentiation. Cell viability was performed by Trypan blue dye exclusion assay. Cell cycle analysis was performed by

Propidium iodide staining, and expression of 1E4-1C2-1D9 specific molecule was performed by indirect immunofluorescence and analyzed by flow cytometry. The results showed that proliferation of HL60 in the presence of 1E4-1C2-1D9 was delayed as well as expression level of 1E4-1C2-1D9 specific molecule was decreased. However, 1E4-1C2-1D9 had no effect on DMSO-induced cell differentiation. We suggested that studying of the effect of 1E4-1C2-1D9 on cell differentiation induced by other specific inducing agent such as retinoic acid, GM-CSF, and IL-3 may provide a different result.

## Development of DNA extraction method for direct detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in hemoculture by PCR

Tanawatchai Suriya Usanee Anukool

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is an important pathogen commonly found in healthcare settings around the world. This pathogen causes infection of skin, bone, lung, and blood circulation that is one of the leading causes of death in patient. Currently, MRSA detection is based on classical bacterial culture method but this method cause delays of diagnosis and false negative result in patients who had received antibiotic treatment prior to diagnosis. Therefore, this study aimed to develop DNA extraction method for direct DNA extraction from hemoculture for MRSA detection using PCR technique. The PCR gene targets include *mecA* that encodes PBP2a responsible for methicillin resistance and *nuc* gene that encodes *S. aureus*-specific thermonuclease. Four different DNA extraction methods including boiling, enzyme-boiling (EB), alkaline wash boiling (AB) and alkaline wash boiling precipitation (ABP) were compared. It was found that AB technique provide the highest DNA yield and sensitivity of MRSA detection by PCR ( $10^6$  -  $10^5$  CFU/ml

in 25  $\mu$ l PCR reaction). The developed method was then evaluated with hemoculture specimens from 73 patients kindly provided by central laboratory, Maharaj Nakhon Chiang Mai hospital. These samples were consisted of 65 positive hemoculture samples, which were diagnosed as MRSA (20 samples), MSSA (33 samples), other non *S. aureus* bacteria (12 samples), 8 negative hemoculture samples. The PCR results were found to be congruent with culture technique in all samples. From this study, the AB method was the most suitable method for MRSA detection by PCR as it was simple to perform, low cost and capable of PCR inhibitors removal. In addition, PCR detection of MRSA is rapid and takes about 3-4 hours starting from DNA extraction step until obtaining PCR result. Thus, this method should help patients to receive accurate and rapid treatment, which will lead to reduction of death rate and efficient control of spread of MRSA infection.

## Inhibitory effect of passion fruit extracts on cholesterol biosynthesis in HepG2 cells

Thanapa Charoenphong Ratchada Cressey

**Introduction:** Hypercholesterolemia is the risk factor leading to cardiovascular diseases (CVDs) which is the major causes of death worldwide. With modern life style living, the interest in looking after ourselves and realize the importance of consuming healthy foods to help reducing the risk of CVDs is increasing. Passion fruit is a favour fruit that can be eaten fresh, squeezed into drink or applied to make various kinds of foods and bakeries due to its unique flavor and fragrance. Although it has been pointed out that passion fruit possessed hypocholesterolemic activity, no scientific evidence has been demonstrated.

**Objective:** This study aimed to investigate the effect of passion fruit extract on the biosynthesis of cholesterol.

**Methodology:** Extract was prepared from various parts of passion fruit (juice, seed and skin). Cytotoxicity of the extract was tested on human hepatocellular cell line (HepG2), which was used as a cellular model of human liver. The effect of the extract on cholesterol biosynthesis was investigated by culturing HepG2 cells with various

concentrations of non-cytotoxic passion fruit extract for 24 hours. Afterward, cellular cholesterol was extracted and quantified using Gas Chromatography equipped with flame ionization detector (GC-FID).

**Results:** It was found that extracts from passion fruit juice and seeds were able to inhibit cholesterol biosynthesis in HepG2 in a dose dependent manner. At concentration of 100  $\mu$ g/ml culture media, the extract of passion fruit juice and seeds could inhibit more than 70% and 50% of cholesterol biosynthesis, respectively. This inhibitory effect was as comparable as statin, the current medication currently prescribed for individual with hypercholesterolemia. On the contrary, extract from the passion fruit skin showed only minimum inhibitory effect.

**Conclusion:** Extract from passion fruit juice and seeds could inhibit cholesterol biosynthesis in HepG2 as comparable to the hypocholesterolemic drug statin, thus passion fruit may potentially represent as a healthy food and drink to help reducing the risk of cardiovascular disease.

## Detection of glycosaminoglycans in root, stem, and leaf of medicinal plants

Thunyaluk Moonpa  
Kanyamas Choocheep

There are many types of glycosaminoglycans, such as chondroitin sulfate, heparin, heparan sulfate, and hyaluronic acid. They are mainly found in connective tissues and often bound with protein to form proteoglycans. Animal glycosaminoglycans are widely studied, for example, chondroitin sulfate is used for relief joint inflammation in osteoarthritis treatment. Most of glycosaminoglycans are obtained from several parts of animal including, shark or bovine trachea cartilage. However, the detection of plant glycosaminoglycans is still unclear. Therefore, this study aims to detect glycosaminoglycans from root, stem, and leaf of 18 medicinal plants consisting of ginger, leech lime,

water hyacinth, aloe vera, lemon grass, cassod tree, shallots, turmeric, sugarcane, kaempferia, radish, wildbeta leafbush, galangal, plucaw, plai, star gooseberry, purple passion vine, and asiatic pennywort. Each herb was extracted and detected glycosaminoglycans by dye-binding assay and UV-VIS spectrophotometry using chondroitin sulfate as standard. The results suggested that there were glycosaminoglycans from water extract of turmeric and kaempferia, and ethanol extract of ginger. Moreover, glycosaminoglycan found in the ethanol extract of ginger is chondroitin sulfate.

## The DNA repairing with *Taq* DNA polymerase and *T4* DNA ligase

Thunda Chenphanatsak  
Mongkol Chotayaporn  
Somsak Channoi

The integrity of the DNA template influences the outcome of DNA amplification by the polymerase chain reaction technique. However, PCR amplification fails when the DNA template has been damaged. The main of the proposed to develop a DNA repair method that utilizes a mixture of DNA repair enzymes, *Taq* DNA polymerase and *T4* DNA ligase. Total DNA were isolated from human blood by phenol-chloroform extraction. Mechanical DNA shearing vortexing with glass beads until no DYZ3

amplification PCR products. Then DNA repairing method was followed by *Taq* DNA polymerase, 55°C 30 minutes 70°C 30 minutes and *T4* DNA ligase; 10°C 10 seconds, 25°C 10 seconds be completely 1 hour to check the outcome of DNA repairing with DYZ3 DNA amplification. The studied showed that *Taq* DNA polymerase and *T4* DNA ligase are helpful for PCR amplification of damaged DNA templates.

## Inhibitory effect of *Moringa oleifera* Lam. leaves extract on the biosynthesis of cholesterol in HepG2 cells

Theerapong Jaikhamp  
Ratchada Cressey

**Introduction:** Hypercholesterolemia is the risk factor for developing cardiovascular diseases (CVD), which is a major cause of death of the world population. Blood level of cholesterol is a consequence of synthesizing by the liver, which comprising more than 80% of total, together with the absorption from food. Therefore, the most effective approach of lowering blood cholesterol in hypercholesterolemic individual is not only to reduce cholesterol intake, but also to inhibit cholesterol biosynthesis by the liver.

**Objective:** This study aimed to investigate the effects of *Moringa oleifera* Lam. leaves extracts on cholesterol biosynthesis using HepG2 cells (human hepatocellular carcinoma cell line).

**Methods:** Extraction of *Moringa oleifera* Lam. leaves was performed using boiled water or 80% methanol. The extract was then lyophilized into dried powder and dissolved in culture media to various concentrations. Non-cytotoxic concentrations were used to determine its effect on cholesterol biosynthesis in HepG2 cells. Cells were cultured with various concentrations of the extract for 24 hours. Cellular cholesterol was extracted and analyzed by gas chromatography. Level of cellular cholesterol was compared between cells cultured with and without the extract of *Moringa oleifera* Lam. leaves.

**Results:** It was found that water extract of *Moringa oleifera* Lam. leaves at concentrations less than or equal to 800  $\mu\text{g}/\text{mL}$  culture media was not toxic to HepG2 cells as cell viability was more than 80%. The result showed that water extract of *Moringa oleifera* Lam. leaves at concentration between 125 to 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  culture media could inhibit cellular cholesterol biosynthesis by 70%. On the contrary, 80% methanolic extract of *Moringa oleifera* Lam. leaves appeared to be quite cytotoxic, only at concentrations less than or equal to 160  $\mu\text{g}/\text{mL}$  culture media could be used to test for the effect on cholesterol biosynthesis. The result showed that the methanolic extract at concentration between 6.25 to 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  culture media could inhibit cholesterol biosynthesis by only 20% in comparison to the non-treated cells.

**Conclusion:** Our preliminary results showed that extract of *Moringa oleifera* Lam. leaves exhibited inhibitory effect on cholesterol biosynthesis in HepG2 cells, which may potentially be useful in helping reducing the risk of cardiovascular disease. However, further investigation in term of short-term and long-term effects of *Moringa oleifera* Lam. leaves consumption will ensure the use of this plant to reduce cholesterol blood level in the future.

## Study of CCR5-m303 mutation in HIV-1 infected infants in Thailand between 2007 and 2012

Narawadee Mekapath

Tanawan Samleerat

**Background:** Our previous study evaluating HIV-1 coreceptor usage in HIV-1 vertically infected infants with mainly CRF01\_AE strain in Thailand reported a high proportion of HIV-1 CXCR4-using variants (44.7%) versus CCR5-using variants (55.3%). This observation differed from other newborn or children HIV-1 infected population infected mainly by subtype B or C or D strains have been shown a high proportion of CCR5-using variants. This result may be caused from abnormality of CCR5 gene (i.e. CCR5-delta32 and CCR5-m303). In this study we aimed to determine the CCR5-m303 mutation in HIV-1 infected infants in Thailand between 2007 and 2012.

**Methods:** A total of 234 HIV-1 infected infants (106 male and 128 female) participating in the National AIDS Program of the National Health Security Office (NHSO) of Thailand in 2007-2012 were included in this study. All children were received ARV prophylaxis according to the Thai national guidelines. The CCR5-m303 mutation

genotype was determined from extracted DNA by nested-PCR restriction enzyme *HincII* analysis. The PCR product was confirmed for the mutation T to A by direct DNA sequencing of CCR5-m303 franking region.

**Results:** The median age of 234 HIV-1 infected infants was 75 days (range: 12-266). No significant difference in age and clinical signs of AIDS ( $p=1.000$ ) were observed between these populations. The CCR5-m303 mutation has not been found in 223 HIV-1 infected infants. However, 11 of 234 HIV-1 infected children failed to amplify of the CCR5 gene. This may be caused by quality of DNA, multiple freeze-thaw or PCR inhibitors.

**Conclusion:** No CCR5-m303 mutation found in 223 HIV-1 infected infants in Thailand. This result may suggest that high prevalence of CXCR4-using viruses did not affect from abnormality of CCR5 gene, in particular CCR5-m303 mutation.

## Study of suitable duration and temperature for storage of EDTA blood used for thalassemia screening, red blood cell morphology and automated full blood count

Patiwat Kongdang Thanusak Tatu

Tests conventionally used for screening for carriers of thalassemia/hemoglobinopathies include OFT, MCV/MCH. Automated FBC is a part of management systems of human diseases. However, it is not obviously known about the influence of the storing temperature and duration of EDTA blood on the results of OFT, MCV, MCH and other automated FBC parameters. To clarify this doubt, these effects were evaluated in 32 EDTA blood samples. These samples were classified into 2 groups according to MCV values; 19 with MCV less than 80 fl and 13 with MCV more than 80 fl. Two sets of blood samples were prepared, one for room temperature store and another for 4°C store. 0.36% NaCl-OFT (SOFT), MCV, MCH, RBC morphology and automated FBC were performed daily in both sets

for 8 subsecutive days. The results demonstrated that storing temperature and duration affected to the results of SOFT, MCV, MCH as well as those of automated FBC. For thalassemia/hemoglobinopathy screening, SOFT showed the least stable result and had to be done within the day of blood collection. In contrast, MCH was the most stable parameter. RBC morphology was stable for 2 days at 4°C and the stability in room temperature storage depended on the MCV. For automated FBC, WBC count, RBC count, Hb and platelet count were stable for 7 days. The findings of this study could be used as guidelines for storing the EDTA blood used for screening carriers of thalassemia/hemoglobinopathies and for automated FBC.

## Production of immunochromatographic assay for the analyzing HIV-1 protease activity

Prakaidao Khueanlom  
Chatchai Tayapiwatana

Even though several assays to determine the HIV protease (HIV-PR) activity have been studied, new high-throughput methods are necessary for clinical application because of the occurrence of resistance strain. In this study, immunochromatographic strip test which a simply immunoassay was generated to investigate the HIV-PR activity. The recombinant HIV-PR was produced in *Escherichia coli* containing the protease gene. Subsequently, protein expressions were analyzed and detected enzymatic activity by western blotting and indirect ELISA, respectively. The result showed that the HIV protease enzymes were expressed and exhibited the enzyme activity to cleave the MACA substrate. This HIV-PR was further used for developing the strip test. In principle, HIV-PR

and MACA substrate were mixed, and next the CA domain was removed and exposed the free C-terminus of MA. Following this cleavage, colloidal gold conjugated anti-MA mAb (HB-8975) that is them Ab specifically bind to free MA C-terminal can bind and this mobile complex move on the test line to bind anti-MA mAb (G53) that is Ab bind to another epitope of MA. In the presence of protease activity, it was displayed as red dots at the test line which could be visually detected by the naked eye. As a result, the simply immunoassay was generated and could to analyze the HIV-PR activity. This assay will serve as the high-throughput method for validating the efficiency of the HIV-PR inhibitors in the patients and facilitating the discovery of new HIV protease inhibitors.

## Effects of partial purified fractions of kaffir lime leaf extracts on cell cytotoxicity and Wilms' tumor 1 protein expression in HL60 cell line

Pawaret Panyajai  
Songyot Anuchapreeda

Leukemias are group of disease characterized by accumulation of blood cell having abnormal differentiation. Many researches demonstrate that Wilms' tumor 1 (WT1) protein is overexpressed in leukemic blast cells. Nowadays, chemotherapy is widely used for leukemia treatment because it could destroy abnormal fast-dividing cell, but it can affect normal growing cells which cause side effect in leukemia patients. For this reason, the researchers try to looking for active compounds to use instead of chemotherapeutic agents. This study aimed to investigate the cytotoxic and WT1 protein expression effects of 13 fractions of partial purified fractions from Kaffir lime leaf extracts in HL60 cell line by MTT assay and Western blot, respectively. The results demonstrated that fraction

9 had the strongest cytotoxicity effect with  $IC_{50}$  (Inhibitory concentration at 50% growth) value of  $15.6 \pm 3.7 \mu\text{g/ml}$ , follow by fraction 10 ( $18.3 \pm 9.8 \mu\text{g/ml}$ ). Both fractions showed better results than that of crude hexane extract ( $21.8 \pm 2.4 \mu\text{g/mL}$ ). Both fractions were examined their effects on WT1 protein expression by Western blot analysis using non-cytotoxic concentration value ( $IC_{20}$ ) of 5 and 7  $\mu\text{g/ml}$ , respectively. Fraction 10 had the highest inhibitory effect with the inhibition value of 46%, follow by fraction 9 (31.8%) which both are better result than hexane crude extract. This study concluded that fraction 10 had the most cytotoxic and the strongest inhibitory effects on HL60 cells. Thus, the fraction 10 should be further investigated active compounds in the future.

## Anti-inflammatory and anti-oxidant activities of passion fruit juice *in vitro* and in elderly people

Panwadee Techawong Supawatchara Singhatong Churdsak Jaikang

Passion fruit is characteristic of tropical areas. It has been used as ingredients for several industrial products. Passion fruit can nourish in eyesight, skin, reduce wrinkles and reduce fat in blood vessel. The aim of this study was to investigate the anti-inflammatory and anti-oxidant activities of passion fruit, both of yellow rind and purple rind and effect of passion fruit juice to anti-inflammation and anti-oxidant in elderly people. *In vitro*, experiment methods were used to analysis total phenolic, total flavonoid, hydrogen peroxide and nitric oxide scavenging assay from passion fruit extracts. In elderly people, experiment methods were used to analysis vitamin C, total anti-oxidant capacity, interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10) and tumor necrotic factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) from elderly people before and after drinking passion fruit juice. *In vitro* study found that 80% ethanolic extracted of passion fruit with yellow rind was containing the highest total phenolic ( $358.29 \pm 15.12 \mu\text{g TE/g extract}$ ), the passion fruit with

purple rind that extracted by distilled water was containing the highest total flavonoid ( $43.30 \pm 0.80 \mu\text{g QE/g extract}$ ) and promoted the highest of hydrogen peroxide scavenging ( $16.65 \pm 0.24 \mu\text{mol Trolox}$ ). The 80% ethanolic passion fruit with purple rind extracted was promoted the highest of nitric oxide scavenging ( $3.42 \pm 0.03 \mu\text{mol Gallic acid}$ ). *In vivo* study found that the level of vitamin C was decreased significantly ( $p < 0.05$ ) in men and women who drinking a purple and yellow rind juice, respectively. Total anti-oxidant was increased in women who drinking both of yellow and purple rind juice. Cytokines, inhibited inflammation such as IL-10 was not changed but pro-inflammatory cytokines, IL-6, level was decreased significantly ( $p < 0.05$ ) in women who drinking a purple rind juice and men who drinking both of yellow and purple rind juice. The TNF- $\alpha$  level was also decreased significantly ( $p < 0.05$ ) in women who drinking a purple rind juice and men who drinking a yellow rind juice.

## A comparative study of percentage of regulatory T cell using 3 marker combinations in normal and HIV infected patients

Pornthep Kengkarnchang Sakchai Dettrairat Panthong Singboottra Myers

Regulatory T cells are subpopulations of CD4 $^{+}$  T lymphocytes that play a vital role to control the immune homeostasis, hence their functions have been extensively studied. However, the study of this cell population has faced some difficulty due to their limited number available for isolation or identification (5–10% in CD4 $^{+}$  T lymphocytes). In addition, the need to use more than one (CD4 CD25 CD127 and FOXP3) as well as different combinations of these markers to identify these cells leads to the inconsistency of the data reported. Though FOXP3 is currently the most specific marker for Tregs, it requires an intracellular staining. Thus, when FOXP3 is included into the combination, functional study of cells is not appropriated. The aim of this study was to compare the percentage of Treg using 3 different combinations of Treg markers that include: 1) CD4CD25CD127 2) CD4CD25FOXP3 and 3) CD4CD25CD127FOXP3. Whole blood was collected from normal and HIV infected patients and

PBMCs were isolated. To determine the percentages of Treg, PBMCs were stained with fluorescent-conjugated antibodies directed against Treg markers by direct immunofluorescence method and analyzed by flow cytometry. The results showed that the percentage of Treg identified by CD4CD25CD127 was agreed ( $p = 0.151$ ) with the percentage of Treg identified using CD4CD25FOXP3. Whereas, the percentages of Treg were not statistically different ( $p = 0.088$ ) when CD4CD25FOXP3 and CD4CD25CD127FOXP3 were used. When CD4CD25CD127 was used, the percentage of Treg in normal controls was found to be higher than the percentage of Treg identified by the other two sets of combination. In addition, when the percentage of Treg in normal controls was compared to that of HIV infected patients, all 3 sets of marker combination yielded the higher percentages of Treg in normal controls than those of HIV infected patients.

## Effect of the water extract of *Averrhoa carambola* and *Ocimum basilicum* on cholesterol biosynthesis in human hepatocellular carcinoma cell line (HepG2)

Pornpimon Puengyam Ratchada Cressey

**Background:** Hypercholesterolemia is a major risk factor for the development of cardiovascular diseases. Blood cholesterol level is a consequence of absorption from food and synthesis by the liver. Therefore, the effective way of lowering cholesterol blood level is the combination of regulating food intake as well as decreasing cholesterol biosynthesis by the liver.

**Objectives:** This study aimed to investigate effect of star fruit extracts and basil leaf extracts on cholesterol biosynthesis of cholesterol which may potentially help decreasing the incidence of cardiovascular diseases in the future.

**Methods:** HepG2 cells (human hepatocellular carcinoma cells) were treated with hot water extracts of star fruit and basil leaf at various concentrations for 24 hours. Afterward, cellular cholesterol was extracted from HepG2 treated cells and their levels were analyzed by gas

chromatography (GC) with flame ionization detector (FID). 5 $\alpha$ -cholestane was added prior to the extraction process to be used as an internal control indicating the efficiency for each extraction

**Results:** Star fruit extracts and basil leaf extracts at non-cytotoxic concentration (10-160  $\mu$ g/ml culture media) could decrease cholesterol biosynthesis levels by 30-50%.

**Conclusion:** Our preliminary results showed that hot water extract of star fruit and basil leaf possessed inhibitory effect on cholesterol biosynthesis in HepG2 cells which may potentially be used as cholesterol lowering agent and help decreasing the incidences of cardiovascular diseases. However, further investigations on short term and long term safety issues of consuming these compounds for lowering blood cholesterol are needed.

## Study of *Mycobacterium* spp. contamination on Thai banknotes and Thai coins

Panwipa Buranasing

Ponrut Phunpa

Screening mammography is one of the many method *Mycobacterium* spp. can cause diseases in humans, particularly *Mycobacterium tuberculosis* complex is a major public health problem that causes tuberculosis in humans. *Mycobacterium* spp. is found usually in the environment. It is known to be on bank notes and coins that are used in daily life, and therefore may be a source of bacterial contamination. It is interesting to evaluate the behavior in using Thai banknotes and Thai coins and study of *Mycobacterium* spp. contamination on Thai banknotes and coins. This study created a questionnaire and collected data from 100 subjects comprising students and staff in Chiang Mai University, personnel associated with TB, and TB patients at the TB center region 10 and TB nursing house, Chiang Mai. Behavioral studies found that 14 percent of the subjects had ever put bank notes or coins into their mouth, 13 percent had kissed or smelt them, 50 percent occasionally washed their hands after handling or touching money, and 50 percent did not wash their hands after handling or touching money. The knowledge assessment of bacterial contamination from Thai banknotes and Thai coins found that 86 percent of the subjects knew of the bacteria, 95 percent knew that TB can spread from human to human, 69 percent knew that

patients infected with TB may not show any symptoms, and 87 percent knew about washing their hands after handling money. *Mycobacterium* spp. contamination was studied on 36 Thai banknotes and 19 coins between August 2012 and February 2013. The method used was removing bacteria from individual banknotes or coins by dipping and shaking the sample in Middlebrook 7H9 broth. Then, the bacteria were collected and inoculated into Middlebrook 7H10 agar slant supplement with OADC and Middlebrook 7H10 slant supplement with OADC-PANTA at 37°C for 4-6 weeks. Bacterial colonies with positive AFB staining were detected in 2 from a total of 55 samples (4% of samples), including old 100 baht bank notes and middle aged 5 baht coin. After identifying mycobacteria with a line probe assay, the result found that only the middle aged 5 baht coin contained *Mycobacterium abscessus*, which can cause chronic lung disease, sores and skin infection. This bacterium was found at a high number of 26,000 CFU/coin. This study presented the behavioral use of Thai bank notes and Thai coins, and pathogenic mycobacterium was detected from the study sample. This result has the advantage of helping to use Thai bank notes and Thai coins carefully, and prevent and control mycobacterial infection from this source.

## The effect of apoptotic induction on human promyelocytic leukemic HL60 and monocytic U937 cell line by goniothalamin

Ploingarm Petsophonsakul  
Ratana Banjerdpongchai

Goniothalamin is an active compound extracted from *Goniothalamus griffithii*, a local plant found in Northern Thailand. Goniothalamin inhibits cancer cell growth but is not toxic to normal cells. The aims of this study were to identify the cytotoxic effect of goniothalamin and the mechanism of cell death in HL60 and U937 cells. The cytotoxicity was determined by MTT assay. Cell cycle profile was demonstrated by staining with propidium iodide (PI) and flow cytometry. Apoptosis was confirmed by staining with annexin V-FITC/PI and flow cytometer. The reduction of mitochondrial transmembrane potential was determined by staining with dihexyloxacarbocyanine iodide and flow cytometry. The expression of Smac, caspase-8

and -9 was demonstrated by Western blot. Goniothalamin inhibited growth of HL60 and U937 cell lines. An increase of SubG1 phase were found in cell cycle profiles of goniothalamin-treated HL-60 and U937 cells, which indicates an increase of apoptotic cell death. Apoptosis was confirmed by annexin V-FITC/PI assay, i.e., HL60 and U937 cells died via apoptosis in a dose response manner. Furthermore, the reduction of mitochondrial transmembrane potential was found in HL-60 and U937 cells. The expression of caspase-8, -9 and Smac was increased in HL-60 cells. Taken together, when treated with goniothalamin human leukemic cells underwent apoptosis via intrinsic and extrinsic pathways.

## Development of multiplex PCR for rapid detection of *Streptococcus suis* serotype 2 and serotype 14 in hemoculture

Phatcharaporn Lingloey  
Usanee Anukool Prasit Tharavichitkul

The prevalence of *Streptococcus suis*, a zoonotic pathogen that cause meningitis and septicemia in pig and human, in South East Asia have increased. The standard method for diagnosis of this organism is culture-dependent method i.e. hemoculture, that requires at least 3-5 days. To overcome this problem, PCR and multiplex PCR have been established. Most methods were developed to detect only *S. suis* serotypes 2, the most prevalent *S. suis* serotype that cause human disease. At present, *S. suis* serotype 14 were reported as the second most common cause of human disease at the rate of 6.8% in Thailand. This study aimed to develop multiplex PCR for simultaneous detection of *S. suis* serotype 2 and serotype 14 in hemoculture using 3 pairs of primers that specific to genes encoding 16S rRNA and capsular polysaccharide of *S. suis* serotype 2 and serotype 14,

respectively. These primers allow amplification of different PCR product sizes (294 bp, 440 bp and 675 bp) which can be detected by common agarose gel electrophoresis. The results showed that the detection limit of the multiplex PCR for detection of both *S. suis* serotype 2 and serotype 14 was 10 ng of DNA in 25- $\mu$ L PCR reaction. The specificity of this method was 100% when tested with 17 bacterial species. The developed method was further evaluated with 30 DNA samples extracted from hemoculture in 2009. Two of 30 samples were found to be positive for *S. suis* serotype 2. However, the result of one sample was uncorrelated with that of conventional method. However, highly variation of *S. suis* physiological characteristics may cause misidentification and prior antibiotic treatment in patients has been reported to produce undiagnosis by culture method

## Antimicrobial activity testing of ethanol extracted medicinal plants against several pathogenic microorganisms

Phatcharee Changpra

Sorasak Intorasoot

Infectious diseases caused by microorganisms are a public health problem throughout the world. Although the new antibiotics are discovered, drug resistant microorganisms still continuously increase due to the over-use drug and self development of microbes. Folk medicine was applied for treating of infectious diseases in several decades. Each content of medicinal plants have been reported to have the different properties such as anti-cancer agents, reduce the biochemical compounds and anti-microbial activity. In the present study, fourteen ethanol extracted plants were examined

and five of these consisting of *Coscinium fenestatum*, *Artocarpus lacucha*, *Stephania venosa*, *Shorea roxburghii* and *Morinda coreia* exhibited antimicrobial properties against *S. aureus* ATCC25923 with the minimal inhibitory concentration (MIC) of 50, 12.5, 12.5, 25 and 100 µg/mL, respectively and when tested with Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) ATCC 43300, the MIC was 25, 0.75, 3.1, 25 and 100 µg/mL, respectively. The anti-microbial activity reported in this study would be useful for further studying of cell toxicity and treatment of infectious diseases.

## Optimization of immunomagnetic agglutination using anti-Ag85 monoclonal antibody coated magnetite for detection of *Mycobacterium* spp.

Pichetsut Suya Sorasak Intorasoot

Nowadays, tuberculosis is one of the most important public health problems worldwide. *Mycobacterium tuberculosis* complex is a group of microorganisms that caused of severe and chronic disease. One is air-borne transmitted through cough, sneeze and sputum contaminated with the microorganism. Several techniques have been applied for investigation of infected person including acid fast bacilli (AFB) staining, tuberculin skin test and TB culture. However, these techniques are limited in term of sensitivity, specificity and the slow growth rate of this microorganism even culture technique is performed. These limitations always lead to ineffective control and treatment of the disease. The aim of this study was to develop a new diagnostic technique of immunomagnetic agglutination using anti-Ag85 monoclonal antibody coated

magnetic particles for determination of *Mycobacterium* spp. Antigen-antibody complex could be observed in either by naked eyes or micro-agglutination under the microscope. The results indicated that the optimal time investigated by eye was within 2 hours. When compared to the AFB staining that utilized as standard method in this study, the final agglutination observed by eyes and under the microscope were  $10^5$  and  $10^4$  CFU in which equally to 2+ and approximately 7 AFB/ 100 fields as grading by WHO guideline. No cross-reactivity was observed when tested with some normal flora and most common bacterial pathogens found in respiratory tract. This validated technique is rapid, simple and useful for further development of *Mycobacterium* spp. detection in clinical specimens.

## Study of HIV-1 subtypes distribution in northern and upper central regions of Thailand

*Pipatpong Papong  
Tanawan Samleerat*

**Background:** The monitoring of HIV-1 subtypes and emergence of new CRFs in the population is important for HIV surveillance programs to track the HIV evolutionary epidemic and leads to the understanding of the mechanisms which the virus evolves. The HIV epidemic in Southeast Asia was the wide co-circulation of subtype B and CRF01\_AE led to the emergence of various novel CRFs.

**Objective:** The aim of this study was to investigate HIV-1 subtype distribution and intersubtype recombinants circulating in northern and upper central regions of Thailand in 2012.

**Methods:** Peripheral blood samples from a total of 736 HIV-1 infected patients with virologic failure (NHSO-NAP and NAPHA-Extension) were tested for genotypic evidence of HIV drug resistance at the AMS Clinical Service Center, Chiang Mai University in 2012 and 92 recent HIV-1-identification in 2012 were included in this study. Viral RNA was extracted from plasma and the 1,302 bp of HIV protease and reverse transcriptase genes were amplified and sequenced. HIV subtyping was determined either with the Recombinant Identification Program (RIP) or by Subtype-Specific Enzyme Immunoassay (SSEIA).

**Results:** We found that CRF01\_AE was predominant in the treatment-experienced population (94.97%), followed by subtype B (3.40%). Three sequences (0.41%) of HIV-1 subtype C were found and surprising one sequence of subtype G (0.13%) was identified. Furthermore, intersubtype recombinants CRF01\_AE/B and B/C were observed in seven patients (0.95%) and one patient (0.13%), respectively. Most recombinants have different mosaic patterns from each other. However, the patient harbored recombinant B/C was an immigrant from Myanmar. Moreover, we also found that CRF01\_AE is predominant subtype (78.26%) and follow by subtype B (16.3%) in the recent HIV-1-identification patient.

**Conclusion:** Our study demonstrated that CRF01\_AE was the predominant circulating HIV-1 strain in northern and upper central regions of Thailand, followed by subtype B. We also identified cases of subtype C and subtype G, which are the rarely found subtypes in Southeast Asia, and the complex intersubtype recombination. These finding provided the important data for developing surveillance program, HIV diagnostics and vaccine development. However, the characterization of the full-genome of these CRF01\_AE/B and B/C recombinants and also subtype G is required for confirmation and elucidation.

## Detection of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases producing and New Delhi metallo-betalactamase producing in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolated from patients in Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital

Phuthita Chumruksa

Prasit Tharavichitkul

Usanee Anukool

*Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* which can produce carbapenemase enzyme, such as *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) and New Delhi metallo beta-lactamase (NDM-1), can resist to carbapenem antibiotic. They were reported from many countries including Thailand. This study aims to investigate KPC and NDM-1 producing in *K. pneumoniae* and *E. coli* isolated from patients admitted in Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital during June to September of the year 2010 and 2012. A total of 747 isolates including 376 *K. pneumoniae* isolates and 371 *E. coli* isolates were screened for ertapenem and meropenem resistance by disc diffusion method. The results showed that 12

*K. pneumoniae* isolates and 5 *E. coli* isolates were resistant to carbapenem. For confirmation with modified Hodge test (MHT) and double disc synergy test (DDST), 6 isolates of MBL-producing *K. pneumoniae* and 1 isolate of MBL-producing *E. coli* were found but KPC producers were not detected. Finally, when they were confirmed by multiplex PCR, *bla*<sub>NDM-1</sub> was found in 3 *K. pneumoniae* isolates (0.80%) and 1 *E. coli* isolate (0.27%) but *bla*<sub>KPC</sub> was detected only in 1 *E. coli* isolates (0.27%). In conclusion, NDM-1 producer could be detected in both *K. pneumoniae* and *E. coli* but KPC producer could be found only in *E. coli*.

## The use of RBC histogram from automated full blood count to indicate abnormal RBC morphology

Pennapa Promrungsri

Tanyarat Jomgeow

Automated full blood count (FBC) is important routine test which use in clinical diagnosis. It has many advantage parameters that were improved to reduced workload and indicate abnormal especially flagging or abnormal pattern of histogram and scattergram. However, the warning sign or flagging form FBC data has limitation in report abnormal cell morphology. Therefore the objective of this study is whether RBC histogram area can be use to indicate abnormal red blood cell morphology. FBC data from 15 cases of normal group or 165 cases of anemia group were collected with blood film. RBC volume or RBC Hb concentration histogram were analyzed by ImageJ

program. The results showed that normal area of RBC volume and RBC hemoglobin concentration can reflect all of normal RBC morphology. Abnormal RBC volume histogram can detect anisocytosis at percentage of PPV, NPV, sensitivity and specificity as 81.13%, 71.18%, 84.31%, and 59.61%, respectively which were better than RDW parameter. These results suggested that RBC histogram area can be used as indicator to reflect abnormal RBC morphology and more specific group of abnormal RBC morphology should be performed in the further study.

## Investigation of *Salmonella* contamination in trading eggs in Muang District, Chiang Mai Province

Paisan Moomthong  
Natedao Kongyai

*Salmonella* is a causative agent of bacterial food poisoning. It also causes enteric fever, which leading to dead in the severe case. Consumption of *Salmonella* contaminated food and water is the most transmission mode of *Salmonella* infection in human. Eggs are also popular materials which were used for food, unfortunately the contamination of *Salmonella* is usually found in eggs. Among *Salmonella* infected fowl, *Salmonella* is colonized in the genital tract and further contaminated in egg during egg formation. This study focused on the contaminating of *Salmonella* in chicken eggs and duck eggs that were traded in markets and department stores in Muang district, Chiang Mai province during December 2012 to February 2013. Totally of 40 egg samples were investigated using standard ISO 6579 procedure. Results showed *Salmonella enteritidis* contamination was found in one sam-

ple among chicken eggs that referred to 3.3% and 2.5% of total chicken eggs and all egg samples, respectively. Meanwhile, one sample was contaminated with *Enterobacter* sp. that about 10% and 2.5% of total duck eggs and all egg samples, respectively. This investigation showed corresponding results to the study of the Faculty of Associated Medicine Sciences, Chiang Mai University that using standard cultivation and identification of clinical microbiology method during November 2007 to January 2008. From results, it implicated the incidence of *Salmonella* contamination in eggs among this area was mostly constant. Thus, consumers should realize and give more attention on eggs purchasing. Furthermore, well-cooked egg dishes should be recommended to avoid food poisoning and enteric infection caused from *Salmonella* contaminated egg.

## Screening for HbE carriers by the size-reduced AMS-HbE Tube Test

Phattharawee Muneekaew  
Thanusak Tatu

HbE/β-thalassemia is compound heterozygote of β-thalassemia gene (β0 or β+) with βE gene. The patients have wide clinical spectrums ranging from mild (thalassemia intermedia) to severe (thalassemia major). Some patients require frequent blood transfusion. Moreover, patients may have life-threatening symptoms resulting from various fatal complications. Therefore, screening for HbE carriers is very important to control and prevent the occurrence of new HbE/β-thalassemic patients. This study aimed to evaluate efficiency of the new size-reduced AMS-HbE Tube Test in screening for HbE carriers. These included possibility of using this new size-reduced kit with packed red cell instead of hemoglobin solution as well as stability of this new size-reduced kit in room temperature of Thailand. EDTA

blood from 100 volunteers and the 4<sup>th</sup> year-MT students were tested with the new size-reduced kit. The results obtained were then compared with those generated from the original AMS-HbE Tube Test, dichlorophenol indophenol precipitation (DCIP) test and cellulose acetate electrophoresis (CAE). It was found that packed red cell could be used in the new size-reduced kit with 15 µl optimal volume. The new kit showed 100% sensitivity, specificity and efficiency. It was stable in Thailand's room temperature for up to 2-month storage. It was then concluded that the new size-reduced AMS-HbE Tube Test was effective in screening for HbE carriers. It could be employed in routine work and industrial-style production was possible.

## Expression of antioxidant proteins during differentiation of ADSCs on soft photocurable hydrogel

Pattanis Homhual  
Fahsai Kantawong

Human Adipose-Derived Stem Cells (ADCs) is a multipotent mesenchymal stem cell from primary culture capable of differentiating into various cell types of mesenchymal tissues such as osteoblasts, chondrocytes, and adipocytes. The objective of this study is to study the ability of MSCs differentiation into neuronal lineage on soft photocurable hydrogel and to study whether anti-oxidant proteins influence neuronal differentiation. Real time reverse polymerase chain reaction (Real time RT PCR) was used to detect the expression of neuronal marker and anti-oxidant proteins. ADCs  $1 \times 10^5$  cells were seeded onto hydrogel

(seeding density=  $10^4$  cells/cm $^3$ ). Trizol reagent was used to extract total RNA after 12 days and 23 days cultivation. Results from RT-PCR indicated the expression of neuronal marker (Glial fibrillary acidic protein (GFAP), Class III beta-tubulin, and Neuron specific enolase (NSE)). Increase in expressions of antioxidant proteins; superoxide dismutase (SOD), thioredoxin reductase and thioredoxin were found. The result of this study showed that ADCs on soft photocurable hydrogel have tendency to differentiate into neuronal lineage and antioxidant proteins may be related to neuronal differentiation.

## Antimicrobial activity testing of several water extracted herbs

Mullika Wanmakok  
Sorrasak Intorasoot

The disease caused by microorganism is one of the most important public health problems worldwide. Although the antibiotics have been widely used to cure infected patients, the over-used drugs and self-mutations lead to the development of drug resistant microorganisms including of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), ESBL producing bacteria and Pan drugs-resistant *Acinetobacter baumannii*. Medicinal plants or herbs are well-recognized to be replacing of common medical uses for treating infectious disease. The advantage of these is associated with the reduction of drug-resistant microorganism even as long term usage. In the present study, antimicrobial activity of various water extracted herbs was examined with the pathogenic microorganisms. Fourteen plants used as folk medicine were tested in this study including *Coscinium fenestatum*, *Shorea roxburghii*, *Artocarpus lacucha*, *Cryptolepis buchanani*, *Gynura divaricata*,

*Aspidistra elatior*, *Curcuma aromatica*, *Acorus calamus*, *Amomum biflorum*, *Kaempferia galanga*, *Morinda coreia*, *Cuscuta chinensis*, *Stephania venosa* and *Derris scandens*. The agar cup diffusion assay was employed for antimicrobial screening of herbal products. The standard strain *S.aureus* ATCC 25923, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 43300, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Candida albicans* ATCC 90028 were tested. The results indicated that the water extracted from *Coscinium fenestatum*, *Artocarpus lacucha* and *Stephania venosa* represent antimicrobial activity to gram positive bacteria, *S. aureus* and MRSA strain with the minimal inhibitory concentration (MIC) of 100, 25, and 50  $\mu$ g/mL, respectively. The herbal products reported in this study are useful for research field and further applying as drug development in treatment of disease caused by bacteria.

## Effects of partial purified fractions of Kaffir lime leaf extracts on cell cytotoxicity and Wilms' tumor 1 protein expression in K562 cell line

Yuttapong Tamakaew  
Songyot Anuchapreeda

Leukemia caused by an increased abnormal proliferation of blood cells. The Wilms' tumor 1 (WT1) protein is related to cell proliferation and cell differentiation is highly expressed in leukemia blast cells. According to the previous study, crude Kaffir lime leaf extracts could inhibit cell viability and decrease WT1 protein expression. This experiment aimed to study the cytotoxic and WT1 protein expression effects of 13 fractions of partial purified fractions of Kaffir lime leaf extracts derived from Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University in K562 cell line by MTT assay and Western blot, respectively. The results showed the fraction 9 had the strongest cytotoxicity with the IC50 (inhibitory concentration at 50% growth) values

of  $42.3 \pm 2.1 \mu\text{g/mL}$ , follow by fraction 10 and fraction 11 ( $42.8 \pm 4.8$  and  $53.1 \pm 3.9 \mu\text{g/mL}$ , respectively. These three fractions were further examined their effects on WT1 protein expression by Western blot analysis using non-cytotoxic concentration values (IC20) of 23, 17, and  $24 \mu\text{g/mL}$ , respectively. The fraction 9 had the highest inhibitory effect with the inhibition value of 37.8%, follow by fraction 11 and fraction 10 (31.6 and 19.8%, respectively), as compared to the vehicle control. This study can be concluded that the fraction 9 had the most cytotoxic and the strongest inhibitory effects on K562 cells. So, the fraction 9 might be used as leukemic treatment in the future.

## Cytotoxic effect of *Astraeus hygrometricus* extract on PBMCs, human skin fibroblast, liver cancer, breast cancer, cholangiocarcinoma and leukemic cell line

Ratchanee Somnabut  
Chintana Phawong

**Background:** Cancer is a public health problem that can be found around the world. Anticancer drug have problem about cost, drug resistance and side effects. Recently, many natural products were developed to be used as a drug for treating and preventing human diseases. The study previously, *Astraeus hygrometricus* extract have leishmanicidal, anticandidal, immunostimulatory and antitumor properties.

**Objective:** To study the cytotoxic effect of *A. hygrometricus* aqueous extract on PBMCs, leukemic cell line (U937), liver cancer cell line (HepG2), cholangiocarcinoma cell line (M213), breast cancer cell line (MCF7) and leukemic cell line (U937).

**Methods:** PBMCs, U937, HepG2, M213, MCF7 and human skin fibroblast were treated in culture medium with *A. hygrometricus* extract at various concentration for 24 h., then cytotoxic effect were studied by MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay.

**Results:** The result showed that *A. hygrometricus* extract had cytotoxicity in PBMCs, human skin fibroblast, HepG2, MCF7, M213 and U937 cell line with IC50 more than 16,000, more than 16,000,  $3,133.03 \pm 1,829.95$ ,  $2,269.77 \pm 626.4$ ,  $1,418 \pm 523.9$  and more than 16,000  $\mu\text{g/mL}$ , respectively.

**Conclusion:** *A. hygrometricus* extract had low cytotoxicity on PBMCs, human skin fibroblast, HepG2, MCF7, M213 and U937 cell line.

## Effect of exercise on renal function in healthy volunteers by measurement of blood urea nitrogen and creatinine in serum

Rutchanekorn Polsil

Piyawan Bunpo

Exercise increases loss of blood plasma and causes hemoconcentration. Little is known about its relationship with renal function. The aim of the study was to evaluate the effect of exercise on renal function in the healthy volunteers by measurement of blood urea nitrogen (BUN) and creatinine in serum. Data were collected from 3 volunteers aged 20-30 years, 1 male and 2 females. All subjects were healthy, without evidence of renal disease. Exercise was conducted three times per week, 45 minutes per session for 3 months. Serum creatinine

and BUN concentrations were measured before and after every 2 weeks of exercise. Subjects were advised to continue their usual food intake. The results show exercise had no effect on either renal function or body mass index. Conclusively, exercise had no effect on renal function in healthy volunteers. Measurement of renal function during and after exercise may be a useful approach to encourage patients with impaired kidney function to increase the overall physical activity and to help facilitate recovery.

## Cytotoxic effects of *Nelumbo nucifera* rhizome aqueous extract on breast adenocarcinoma cell, hepatocellular carcinoma cell, monocytic leukemic cell, cholangiocarcinoma cell, fibroblast cell and peripheral blood mononuclear cell (PBMCs)

Rattikarn Thoomkot  
Chintana Phawong

**Background:** Cancer has emerged a major public health problem in countries worldwide including Thailand. Anti-cancer drugs have expensive cost and side effects. Previous studies, *Nelumbo nucifera* extracts are documented to have anti-cancer activity induce growth inhibition in cancer cells.

**Objective:** We aimed to study the cytotoxic effects of *Nelumbo nucifera* rhizome aqueous extract on breast adenocarcinoma (MCF-7), hepatocellular carcinoma (HepG2), monocytic leukemic cell (U937), cholangiocarcinoma (KKU-M213), fibroblast cell line and PBMCs.

**Methods:** Breast adenocarcinoma (MCF-7), hepatocellular carcinoma (HepG2), monocytic leukemic cell (U937), cholangiocarcinoma (KKU-M213), fibroblast cell line and PBMCs were treated with *Nelumbo nucifera* rhizome aqueous extract at concentration of 32.25 – 16,000 µg/

mL and then studied the cytotoxic effects by MTT assay.

**Results:** The result showed that *Nelumbo nucifera* rhizome aqueous extract had cytotoxicity in breast adenocarcinoma (MCF-7), hepatocellular carcinoma (HepG2), monocytic leukemic cell (U937), cholangiocarcinoma (KKU-M213), fibroblast cell line and PBMCs with the  $IC_{50}$  of  $3,543.53 \pm 1,612.15$ ,  $7,702.31 \pm 3,235.25$ , more than 16,000,  $1,571.8 \pm 694.71$ ,  $4,631.90 \pm 1,155.01$ , more than 16,000 µg/mL, respectively.

**Conclusion:** *Nelumbo nucifera* rhizome aqueous extract had low cytotoxic effects on breast adenocarcinoma (MCF-7), hepatocellular carcinoma (HepG2), monocytic leukemic cell (U937), fibroblast cell line and PBMCs. However, the *Nelumbo nucifera* rhizome extract should be further investigated in the future.

## Effects of Vetiver grass extracts on cell cytotoxicity and Wilms' tumor 1 protein expression in Molt4 cell line

Rungkarn Sangkaruk  
Songyot Anuchapreeda

The chemotherapeutic agents have been used in leukemia treatments and usually produce their severe side effects to the leukemia patients. Nowadays, researchers try to find active compounds from medicinal plants for the alternative ways to remedy leukemia. Safer treatments are thus desperately needed. This research is focused on the vetiver grass (*Vetiveria zizanioides* Nash) extracts. The vetiver grass was propagandized by the His Majesty King Bhumibol Adulyadej in the Thai Royal Project to conserve soil and water. This study aims to determine the cytotoxic effects of the crude root extract of Srilanka vetiver grass on Molt4 cells by MTT assay and its effects on WT1 protein expression by Western blot analysis.

Crude Srilangka root extract showed the cytotoxic effect on Molt4 cells with the IC<sub>50</sub> value of  $27.94 \pm 2.55 \mu\text{g/ml}$ . The WT1 protein levels were decreased by 12.5, 14.4, and 49.5% after treatment with 10  $\mu\text{g/ml}$  crude Srilangka root extract for 24, 48, and 72 hours, respectively. Crude Srilangka extract at the concentrations of 10.4 and 16.1  $\mu\text{g/ml}$  could inhibit the WT1 protein levels by 49.5% and 61.4%, respectively. Moreover, cell number after treatment for 72 hours was decreased by 49.5%. In summary, crude Srilangka root extract had cytotoxic effect and could decrease WT1 protein levels in Molt4 cells. Thus, the root of vetiver grass extract might be developed for the alternative leukemia treatment in the future.

## Expression of non-glycosylated HIV-1 gp120 V3 Loop in Rosetta-gamiB(DE3) pLacI strain of *Escherichia coli*

Rujinan Chaikhampang  
Chatchai Tayapiwatana

The third variable region (V3) of the HIV-1 gp120 envelope glycoprotein has been termed the principal neutralizing determinant (PND) of the virus and is required for viral entry into the cell via membrane fusion and is believed to interact with cell surface chemokine receptors on T cells and macrophages. The N-linked glycosylation of HIV-1 gp120 V3 Loop is a fundamental and extensive post-translational modification that necessary for the protein maturation process results in the covalent attachment of an oligosaccharide onto polypeptide chains and shielding viral neutralizing epitopes from immune system recognition. The previous studies demonstrated that mother-to-child transmission (MTCT) patients were transmitted restricted subset of viruses to her infant (genetic bottleneck). In molecular studies of MTCT and her infant nucleotides have shown that positions N301 in HIV-1 gp120 V3 Loop and N384 in HIV-1 gp120 C3 are potential

N-glycosylation site (PNPG). This finding was particularly significant for evade the neutralizing antibody recognition at positions N301 and N384. Therefore, to understand the prominence of HIV-1 gp120 V3 Loop in glycosylated and non-glycosylated form is beneficial to study the role of glycosylation function at these positions. In this study, we aimed to express non-glycosylated HIV-1 gp120 V3 Loop protein using bacterial expression system. At 4, 8 hours and overnight the HIV-1 gp120 V3 Loop protein were collected for detection by western blot analysis, direct ELISA and indirect ELISA. The result showed that HIV-1 gp120 V3 Loop in pTriEx-4 vector successfully expressed only in Rosetta-gamiB (DE3) pLacI. The suitable induction time for HIV-1 gp120 V3 Loop recombinant protein expression is overnight. Since overnight expression showed the low level of insoluble protein while soluble level is not different.

## Distribution of Mi<sup>a</sup> antigen of MNS blood group in Northern Thais

Laongdao Thongnak  
Preeyanat Vongchan  
Thipsukon Rinjoy

Individuals with Mi<sup>a</sup> antigen negative can be stimulated to produce Mi<sup>a</sup> antibodies by transfused Mi<sup>a</sup> positive blood as well as Mi<sup>a</sup> negative mother who carry a Mi<sup>a</sup> positive baby. These can cause hemolytic transfusion reaction (HTR) or hemolytic disease of the newborn (HDN), respectively. This study aimed to investigate the distribution of Mi<sup>a</sup> antigen of MNS blood group in Northern Thais including those who are living in Chiang Mai, Chiang Rai, Lamphun, Lampang, Phrae, Nan, Phayao and Mae Hong Son. Blood samples (n=1,000) were screened for Mi<sup>a</sup> antigen expression by standard tube agglutination and indirect antiglobulin techniques using anti-Mi<sup>a</sup> sera, a kind gift from Unit of Blood Bank,

Nakorn Ping Hospital, Chiang Mai, and the Queen Sirikit Hospital, Chonburi. The results showed that 190 blood samples (19%) expressed Mi<sup>a</sup> antigen. According to ABO blood group system, we found that 40 blood samples were group A (21.1%), 64 blood samples (33.7%) were group B, 85 blood samples (44.7%) were group O, and there was only 1 blood sample (0.5%) was group AB. Preliminary results showed that the distribution of Mi<sup>a</sup> antigen in Northern Thais was 19%. This information will be useful for precaution in blood transfusion as well as pregnancy care management to prevent HTR or HDN in Mi<sup>a</sup> negative person.

## Effects of oligosaccharide derived from crude polysaccharide from *Spirogyra* spp. digested by pectinase on PT, APTT and TT assays

Thanisorn Glammeng  
Nutjeera Intasai

Nowadays, the incidence of cardiovascular diseases is increased. It is resulted from various causes. Thromboembolism is a cause of cardiovascular diseases. Heparin is a drug of choice but it has many limitations such as heparin induced thrombocytopenia. Many research studies reported that seaweeds have anti-coagulant effects and these effects are increased when they are cleaved by enzyme. Here, we studied the effects of oligosaccharide derived from crude polysaccharide digested by pectinase. The effect of oligosaccharide at concentration 60, 80 and 100 mg/ml on coagulation cascade was studied using PT, APTT and TT assays. Oligosaccharide

had no effects on APTT, however, PT is shorten and TT is prolonged. Oligosaccharide derived from crude polysaccharide from *Spirogyra* spp. may has effects on extrinsic and common pathways. However, shorten PT cannot be concluded because PT was performed with few samples. In addition, prolonged TT may resulted from the diluent that used for dissolving the oligosaccharide. In MTT cytotoxic assay, cytotoxicity of oligosaccharide derived from crude polysaccharide from *Spirogyra* spp. digested by pectinase was observed. Thus, the purified anticoagulant compounds from crude polysaccharide from *Spirogyra* spp. should be further investigated.

## Determination of Osteocalcin, total P1NP and ALP for the assessment of fluoride intake in water higher than the permissible level and skeletal fluorosis

*Wannita Chaiyupatum  
Roongsiri Chotpadiwetkul  
Supawatchara Singhatong  
Sriwan Dolan*

Natural occurring fluoride is widespread in water reservoir. It is beneficial to health, especially bones and teeth. However, if ingestion in excess amount, it can cause fluoride toxicity, such as dental fluorosis and skeletal fluorosis. This study aimed to assess the effect of fluoride on the structure of the bone, using bone markers including alkaline phosphatase (ALP), osteocalcin and Total procollagen type 1 amino-terminal propeptide (Total P1NP) in those who consumed contaminated high doses of fluoride in water and the association with disorders of the bones. The correlation between these bone markers and fluoride in drinking water as well as urinary fluoride was also investigated. Blood samples were collected from 57 male and female subjects aged  $\geq 50$  years from Mae-hong-ngern, Doisaket district, Chiang Mai. Measurements of Osteocalcin, Total P1NP were carried out by Electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) and ALP by the kinetic method. Osteocalcin in high fluoride intake group was 11.1-225.6 ng/ml with a mean  $\pm$  standard deviation of  $56.5 \pm 54.9$  ng/mL, median 37.4 ng/ml whereas those in low fluoride intake group, osteocalcin ranged from 13.9-71.1 ng/mL with a mean  $\pm$  standard deviation of  $30.7 \pm 14.5$  ng/mL, median 25.3 ng/mL. The Total P1NP in high fluoride intake group ranged from 26.32-280.0 ng/mL with a mean  $\pm$

standard deviation of  $92.20 \pm 61.61$  ng/mL, median of 78.61 ng/ml whereas those in low fluoride intake group ranged from 24.46-124.10 ng/mL with a mean  $\pm$  standard deviation of  $61.55 \pm 30.98$  ng/ml and median of 59.23 ng/mL. ALP in high fluoride intake group ranged from 53-286 U/L with a mean  $\pm$  standard deviation of  $106.80 \pm 41.04$  U/L, median of 94 U/L whereas those in low fluoride intake group ranged from 33-168 U/L with a mean  $\pm$  standard deviation of  $97 \pm 32.19$  U/L, median of 99 U/L. Osteocalcin in high fluoride intake group was significantly higher than in low fluoride intake group ( $p = 0.041$ ). Total P1NP and ALP were not statistically different between the two groups ( $p = 0.067$ ,  $p = 0.695$ , respectively). No correlation between the amount of fluoride in water and bone disorders was observed ( $p > 0.05$ ). ALP, Total P1NP and osteocalcin did not correlate with fluoride in water, urinary fluoride and fluoride/creatinine ( $p > 0.05$ ). However, ALP significantly correlated with Total P1NP ( $r = 0.628$ ) and osteocalcin ( $r = 0.550$ ) in a positive manner ( $p = 0.001$ ). In summary, fluoride intake in water higher than the permissible level increased osteocalcin significantly. However, it did not affect Total P1NP and ALP level and did not correlate with the presence of bone and joint disorders.

## Expression of uPA in multivalent CD147Ex phage-induced U937 cells

Warayut Suphasorn

Nutjeera Intasai

Urokinase-type plasminogen activator (uPA) is a glycoprotein surface molecule. It involves in cell viability and metastasis of tumor cells. Previously, a relationship of CD147 surface molecules on phages (multivalent CD147Ex phage) and its ligand on cell surface of leukemic cell lines showed that only a leukemic cell line U937 underwent apoptosis after 48 hours stimulation with multivalent CD147Ex phage. This study aimed to investigate the expression of uPA in multivalent CD147Ex phage-stimulated U937 cells. Multivalent CD147Ex phage was prepared by using VCSM13 and KO7 as helper phages ( $\emptyset$ CD147Ex M13 and  $\emptyset$ CD147Ex KO7). Wild-type phage ( $\emptyset$ VCSM13) and phage-displayed irrelevant protein ( $\emptyset$ SVV M13) were used as phage control and cisplatin was used as positive control. After induction, U937 cells stimulated by  $\emptyset$ CD147Ex M13 and  $\emptyset$ CD147 KO7

underwent apoptosis. However, U937 activation by  $\emptyset$ CD147Ex M13 for cytoplasmic and membrane protein extraction did not reveal apoptotic cell change. This may be due to the degradation of phage. To clarify the apoptotic cell death, DNA cell cycle analysis was used. The result did not reveal the apoptotic cell death in  $\emptyset$ CD147Ex M13-activated U937. In addition, expression of uPA in protein from membrane fraction could not be interpreted because a band of  $\beta$ -actin, (loading control) did not show. This may be resulted from the problems in protein extraction or protein quantification processes. Therefore,  $\emptyset$ CD147Ex M13 phage should be freshly prepared, stored at -70°C and used within 6 months. The number of treated cells should be increased to derive high protein concentration for further analysis.

## Seroprevalence of *Bartonella henselae* in Northern Thai uveitis patients

Warinda Prommachote

Praphan Luangsook

Natedao Kongyai

Wasana Sirirungsri

*Bartonella henselae* is one of zoonotic pathogen. It can cause CSD which is a new emerging disease in Thailand. It may progress to complications in many organs of the body such as endocarditis, encephalitis, and uveitis (the inflammation of the Uvea). Some reservoir hosts of this organism are dogs and cats which live closely to people. The objective of this study was to survey the seroprevalence of *Bartonella henselae* in Northern Thai uveitis patients by Indirect Immunofluorescence Assay

(IFA) method. The data from this studied may helpful to monitor, prevent and control of this organism. In this studied also use non- uveitis people as a control. The result showed that in uveitis patients gave seropositive in 1 from 148 samples (0.68%) and samples from in non-uveitis individuals gave seropositive in 6 from 216 samples (2.78 %). From this result, it might not ensure that the seroprevalence is truly low. However, it might be necessary for further study to complete the results

## Determination of CD4-specific DARPin binding to CD4 molecule on HeLa cells using flow cytometry and confocal microscopy

Wasinee Wongkummoor  
Chatchai Tayapiwatana

The standard regimen for antiretroviral treatment is highly active antiretroviral therapy (HAART), but more than half of AIDS patients are not effective with HAART because of side effects and emerging of drug-resistant virus strains. As a consequence, new therapies are alternative strategies to HAART. Among these, protein-based strategies blocking viral replication represent promising therapeutic approaches. Moreover, blocking viral entry into target cells by antibody or protein that bind to CD4 receptor is a crucial tool for primarily inhibiting. In present study, we aimed to characterize the new protein, CD4-specific Designed Ankyrin Repeat Protein (CD4-specific DARPin) toward CD4 molecule expressing on HeLa cells. In the process, HeLa target cells was transduced with

adenovirus 5 (Ad5-CD4) vector containing CD4 gene and examined the CD4 expression by staining with CD4-specific DARPin, anti-His tag mAb and goat anti-mouse IgG conjugated Alexa568, respectively. The results demonstrated that CD4-specific DARPin can specifically bind CD4 molecule similar to mouse anti-CD4 (MT4/3) mAb with 80.49% and 75.51% positive cells, respectively, by flow cytometry. On the other hand, the confocal microscopy analysis showed the orange-red fluorescent on HeLa cells surface. It supported that CD4-specific DARPin can specifically bind to CD4 molecule. This finding has provided a prospect for HIV fusion interruption in future clinical usage.

## Immunostimulatory activity of purple rice extracts on cell proliferation and cytokine production in human peripheral blood mononuclear cells

Wikanda Jai  
Khaniththa Taneyhill

Purple rice (*Oryza sativa L.*), a native crop of Northeastern and Northern Thailand, displays various pharmacological properties, including anti-inflammatory, cholesterol lowering, antioxidant and anti-tumor activities. However, data on its immunomodulatory activity is lacking. This study aimed to investigate the effects of purple rice extracts on the proliferation and cytokine production of peripheral blood mononuclear cells. Three purple rice strains (Nan, Payao and Doisaket) and one normal rice strain (RD 6) were extracted with dichloromethane and methanol. Human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were incubated with the extracts with or without

phytohemagglutinin (PHA). Cell proliferation was determined via the XTT assay. Cytokine (IL-2 and IL-6) level was determined in culture supernatant by ELISA. In the absence of PHA, methanol extracts of all three purple rice varieties stimulated the proliferation of PBMCs and increased IL-6 levels. In the presence of PHA, methanol extracts of purple rice stimulated the PBMCs proliferation, but decreased IL-6 and IL-2 levels. The dichloromethane extract had no effect on lymphocyte function. These result suggested that the methanol extracts of purple rice could stimulate lymphocyte activities by increasing cell proliferation and cytokine production

## The study of mutagenicity, antimutagenicity and antioxidant activity of *Hodgsonia heteroclita* extracts

Salaila Katiwong

Rawiwan Wongpoomchai

*Hodgsonia heteroclita* is a fruit-bearing vine in the family Cucurbitaceae grown in highland of northern Thailand. Its flesh is inedible but its oil-rich seed has been consumed by mountain peoples. Its leaves have been used as a folklore medicine. However, it is lacked of scientific information about biological activity. The purposes of this study are to evaluate mutagenicity, antimutagenicity and antioxidant activity of various parts of *Hodgsonia heteroclita*. The mutagenicity and antimutagenicity of leaves, flesh, climber and seed extracts of *Hodgsonia heteroclite* were evaluated using *Salmonella* mutation assay or Ames test. The results showed that all extracts had no mutagenicity on *Salmonella typhimurium* TA98 in the absence of

metabolic activation. However, the leaves extract of *Hodgsonia heteroclita* presented mild antimutagenicity against AF-2 mutagenesis. The antioxidant activity of *Hodgsonia heteroclite* extracts was investigated using DPPH scavenging assay and Deoxyribose assay. The leaves extract showed the highest DPPH scavenging activity which  $IC_{50}$  value was 5.49 mg/ml. The climber extract showed the strongest inhibition of hydroxyl radical formation but the leaves extract presented strongly iron chelating activity in Deoxyribose assay. In conclusion, leaves and climber extracts of *Hodgsonia heteroclita* exhibited antimutagenicity in Ames test and potential antioxidant activities in Deoxyribose assay

## Optimization of detection virulent genes in *Vibrio vulnificus* by multiplex PCR

Sasinapa Meechang  
Praphan Luangsook

*Vibrio vulnificus* is gram negative bacilli. It can cause septicemia and wound infection leading to 50 percent of mortality. Many previous studies, had found that it had several virulent factors, including virulence-correlated gene (*vcg*), capsule polysaccharide operon (CPS), and *V. vulnificus* cytolysin/haemolysin gene (*vhvA*). The objective of this study was optimization the assay for detecting virulent genes by Multiplex PCR. From this studied the optimal parameters for Multiplex PCR were 1.5 mM  $MgCl_2$ ,

0.24 mM primers, and 56°C for annealing temperature. Moreover, the sensitivity for this condition was 200 ng/ $\mu$ L. After that, the optimal condition was used to detect 7 *V. vulnificus* isolated from seafood. One isolate gave positive result for virulent genes. Thus, this optimal condition was honestly useful for detecting virulent gene in *V. vulnificus*. The result also showed that contaminated seafood from *V. vulnificus* (free living organism in environment) can cause severe illness with consumer.

## Construction of CD4-TCR-zeta chain molecule on HeLa cell surface expression

Sasiwimon Utama  
Chatchai Tayapiwatana

Signal transduction pathway is a chain of processes by which a cell converts an extracellular signal into a response. In CD4+ T lymphocyte activation process, the signal is initiated from phosphorylation of immunoreceptor tyrosine-based activation motifs (ITAMs) in T-cell receptor zeta cytoplasmic domain. The following signaling will occur after zeta-chain-associated protein kinase (Zap70) binds to phosphorylated ITAMs for IL-2 producing and stimulate proliferation of other lymphocytes. The previous study has shown that the protein on cell surface is successfully fused. Therefore, the aim of this study is to construct

pCEP4-CD4-TCR-zeta chain vector for stably express CD4-TCR-zeta chain fusion protein in HeLa cell using cationic lipid (lipofection) as a transfection method. Magnetic cell sorting and limiting cell strategies are used to select the positive cells. The result shows that transfected HeLa cells successfully express CD4-TCR-zeta chain on the cell surface when evaluate by flow cytometry. This finding is useful for a study of other surface molecule expression by using of TCR-zeta chain as a transmembrane protein.

## A sodium channel gene mutation in the deltamethrin-resistant strains of *Aedes aegypti*

Salinla Pintawana  
Jintana Yanola

The mosquito, *Aedes aegypti*, is the major vector of dengue and dengue hemorrhagic fever. To date, reliable dengue vaccines are not available yet, and an effective control of this vector still relies on chemical insecticides. However, the intense use of insecticide in public health and agriculture has introduced the developing insecticide resistance. Resistance to pyrethroid insecticide has been reported in the *Ae. aegypti* population from many regions. Several sodium channel mutations associated with knockdown resistance have been identified in pyrethroid-resistant *Ae. aegypti*. One of the mutations is a valine (V) to glycine (G) substitution (V1016G) in segment 6 of domain II (IIS6) of the sodium channel. The objective of this study is to determine the correlation

between the V1016G mutation frequency and mortality level in the deltamethrin-resistant strains of *Ae. aegypti*. Two laboratory resistant strains, UPK F0 and UPK F5, were exposed to 0.05% deltamethrin paper according to WHO susceptibility method. Dead and surviving mosquitoes after exposed to deltamethrin were genotyped for the V1016G mutation by AS-PCR to test for genotype: phenotype association (Fisher's exact test). The mutant (G1016) allele frequency was significantly difference in dead (0.31) and surviving (0.76) groups ( $p < 0.05$ ) suggested that the V1016G mutation was positively correlated with knockdown resistance to deltamethrin. This study is expected to provide important foundation for the surveillance and management of pyrethroid resistance in field populations of *Ae. aegypti*.

## Anemia in patients co-inherited with thalassemia and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency

*Siratcha Phanthong  
Sakorn Pornprasert*

Thalassemia and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) deficiency are genetic disorders that cause hemolytic anemia. In areas with high frequencies of both hematological disorders, the co-inheritance of G-6-PD deficiency with thalassemia could be found. In analyzing and comparing hematological parameters between thalassemia carriers with and without G-6-PD deficiency, G-6-PD deficiency was diagnosed in 410 thalassemia blood samples by using methemoglobin reduction test and fluorescent spot test; levels of

hemoglobin (Hb), packed cell volume (PCV), mean corpuscular volume (MCV) and  $\text{HbA}_2/\text{E}$  were measured using automated blood counter and high performance liquid chromatography (HPLC), respectively. G-6-PD deficiency was found in 37 samples (9.02%). Mean levels of Hb, PCV, MCV and  $\text{HbA}_2/\text{E}$  were similar between thalassemia carriers with and without G-6-PD deficiency. In conclusion, G-6-PD deficiency did not enhance red blood cell pathology or induce more anemic severity in thalassemia patient

## Cause of anemia in the population from Mae Ka Subdistrict, San Pa Tong District, Chiang Mai Province

*Sujitra Inthapaen  
Jintana Yanola*

Anemia is a global public health problem affecting both developing and developed countries with its prevalence of 23%. It is major consequences for human health as well as social and economic development. The objectives of this study were to estimate the prevalence of anemia and to determine the cause of anemia in the population from Mae Ka Subdistrict, San Pa Tong district, Chiang Mai. Laboratory data of 619 subjects from Mae Ka Subdistrict, San Pa Tong District, Chiang Mai who admitted to annual health check up at Community Medical Service Project, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University were analyzed to identify anemic group. Anemia was defined according to World Health

Organization criteria. Anemic subjects then underwent laboratory tests to classify the causes of anemia according to laboratory approach algorithm. The mean levels of hemoglobin were  $11.0 \pm 1.1 \text{ g/dl}$  in adult and  $10.9 \pm 0.9 \text{ g/dl}$  in elderly and the overall prevalence of anemia was 22.9% (142/619): 18.8% (90/478) in adult and 36.9% (52/141) in elderly. The prevalence of anemia differed significantly between those groups ( $p < 0.05$ ). The most common causes of anemia were thalassemia trait (49.2%), iron deficiency anemia (24.6%) and Anemia of chronic disease (17.0%). Health education and promotion should be advised for anemia groups, especially nutrition.

## Expression of MDR1 and *survivin* mRNA in adriamycin-resistant leukemic cell line K562/Adr

Sujinda Songtrai  
Sawitree Chiampanichayakul

Leukemia is a malignant disease which originates in bone marrow and other blood-forming organs. Leukemia leads to an uncontrolled increase in the numbers of immature or abnormal leukocytes. Then, cancer cells replace normal cell in bone marrow. Chemotherapy is used systematically to treat patients with leukemia. However, various types of cancers include leukemia do not respond to chemotherapy due to the multidrug resistance (MDR). One principal mechanism of MDR is the over-expression of P-glycoprotein (P-gp), which function as a drug efflux pump causing higher doses of drugs need to be administrated and inducing MDR. Currently, it has been reported that survivin, a member of Inhibitor of Apoptosis Proteins (IAPs) family, may serve as a chemotherapeutic resistance

factor. Thus, both P-gp and survivin potentially play role in drug resistance. However, the relationship between P-gp and survivin in leukemia has not been clarified. Therefore, the aim of this study was to investigate the expression of MDR1 (encoding P-gp) and *survivin* mRNA in K562 leukemia cell line and adriamycin-resistant K562/Adr cell line. By using semiquantitative RT-PCR, we have demonstrated the expression of *MDR1* mRNA in K562/Adr was higher than K562. While, expression of *survivin* mRNA was not successfully determined because of inappropriate PCR conditions. In conclusion, this study indicated the different expression of *MDR1* mRNA in sensitive and drug-resistant leukemia cell line.

## Study of anti-cancer activity of Hing-Hai, Thai medical plant formula in colon cancer cell lines, HT-29

Sutisa Tienkanted  
Preeyanat Vongchan

Hing-Hai Thai medicinal plant formula has been used to treat liver cancer, lung cancer and colon cancer in the area of Nakorn sawan, Sing Buri, Ang Thong and Chai Nat Provinces. This work was aimed to study the anti-cancer activity of Hing-Hai using colon cancer cell lines, HT-29 as a model. The studies included inhibition of cell proliferation, and inhibition of cell adhesion by MTT assay, apoptotic induction assay and interference in cell cycle by flow cytometry, respectively. The results showed

that Hing-Hai could significantly inhibit cell proliferation in dose dependent manner. However, if did not induce apoptosis or interfere with the cell cycle. Interestingly, the inhibition of cell adhesion assay addressed that Hing-Hai could inhibit cell adhesion process in dose dependent manner. We suggest to furthermore study for its effect on other cancer cell lines as well as assay for its active ingredients.

## A study of bloodstain detection by phenolphthalein (Kastle-Meyer color) test

Anitha Chimyam

Mongkol Chotayaporn

Somsak Channoi

Phenolphthalein (Kastle-Meyer color) test is the most common presumptive test for forensic science. Nowadays, this test is applied to the medical science and medical entomology. The Phenolphthalein test relies on the pseudoperoxidase properties of Hemoglobin. The purpose of this study is the sensitivity and factors effecting test. This study found that the sensitivity of phenolphthalein

test is hemoglobin  $1.3 \times 10^{-6}$  g/ml and red blood cells  $2.91 \times 10^4$  cell/mL. Test has low specificity because since it was positive in human blood, ox blood, pig blood and chicken blood. The factors affected from degradation of hemoglobin due to sterilization process and exposure to sun light less than 1 week.

## Determination of absolute Treg's number from percentage of Treg and absolute number of CD4+ T cells in normal and HIV infected persons

Amonrat Duangmano

Sakchai Dettrairat

Panthong Singboottra Myers

Regulatory T cell (Treg) is a subpopulation of CD4<sup>+</sup> T lymphocytes that suppress other cells of the immune system and associated with many diseases including infectious diseases. In previous studies, decreased Treg frequency was shown in HIV-infected patients compared to normal. Determination of Treg in circulating blood need staining cell surface markers with specific antibodies, but direct Treg determination is difficult and less accurate because the low frequency of Treg in circulating blood. In this study, absolute Treg's number was determined from percentage of Treg and absolute number of CD4<sup>+</sup> T cells in blood samples of five normal and five HIV-infected patients. Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were first isolated from blood sample, then

CD4<sup>+</sup> T cells were selected with Human CD4 Positive Selection Kit. After that, CD4<sup>+</sup> T cells were stained with anti-CD4, anti-CD25 and anti-CD127. The percentage of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>CD127<sup>low</sup>Tregs was further analyzed by flow cytometer. The percentage of CD4<sup>+</sup> T cells was obtained from blood sample stained with cocktail monoclonal antibodies (anti-CD45, anti-CD3, anti-CD4), lysed red blood cells with lysing solution and analyzed by flow cytometer. Absolute number of CD4<sup>+</sup> T cells was then calculated from percentage of CD4<sup>+</sup> T cells and absolute lymphocytes (white blood cells count multiplied with percentage of lymphocyte). In this study, the absolute number of Treg in normal and HIV-infected patients wasn't statistically different.

## Hematological and plasma bilirubin changes in HIV-infected patients with G-6-PD deficiency after receiving highly active antiretroviral therapy (HAART)

Auttapon Panya  
Sakorn Pornprasert

Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) deficiency is the most common human enzyme defect which causes hemolytic anemia from high oxidative stress condition. Hematological effects of antiretroviral (ARV) drugs in HIV-infected patients with G-6-PD deficiency are unclear. Aims of this study were to analyze the prevalence of G-6-PD deficiency in HIV-infected Thai patients and to assess the effect of ARV drugs on hematological and plasma bilirubin changes in these patients. Blood samples were collected from 109 HIV-infected Thai patients at baseline before receiving highly active antiretroviral therapy (HAART) and at 6 month of HAART. G-6-PD deficiency was screened using fluorescent spot test and its variant was analyzed using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) analysis.

Hematological parameters and plasma bilirubins were determined using automated blood counter and Olympus® Analyzers, respectively. G-6-PD deficiency was found in 10 (9.17%) patients. Increased mean levels of lymphocyte counts, CD4+ T-cells, mean corpuscular hemoglobin (MCH) and hemoglobin from baseline to 6 months of HAART were observed in both groups of HIV-infected patients with and without G-6-PD deficiency. In HIV-infected patients with G-6-PD deficiency, mean levels of total bilirubin and direct bilirubin at baseline were not significant difference from those at 6 months of HAART. Therefore, HAART did not cause hemolytic anemia and hyperbilirubinemia in HIV-infected patients with G-6-PD deficiency.

## *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of passion fruit

Onusa Kharawanich  
Supawatchara Singhatong  
Churdsak Jaikang

*Passiflora edulis* (PF) and *Passiflora edulis* Sims (PS) are type of passion fruit which growing popularity in Thailand. The objective of this study to determine antioxidant properties of the passion fruits both *in vitro* and elders models. The two species of passion fruits were extracted with water and 80% ethanol and determined total phenolic, total flavonoid and hydroxyl radical scavenging activity. Water extract of PF and PS found the highest total phenolic with  $5.25 \pm 0.01$  µg GE/g extract and found the highest total flavonoid with  $2.20 \pm 0.01$  µg QE/g extract, respectively. Ethanolic extract of PF were the highest potency to scavenge hydroxyl radical with

IC50 value was  $81.91 \pm 0.67$  µg/mL. For the elders were measured catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) activity, malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) levels and ferric reducing/antioxidant power assay (FRAP) before and after drinking 125 ml PF and PS for 4 weeks. The results showed that SOD activity and FRAP were higher significantly after drinking the PS and PF juices. CAT activity was significantly higher in male elders who drink PS juice compared with the other groups. MDA levels were increased in female elders after drinking PF juice and GSH levels were decreased after consumed PF juices which study the mechanism further

## Effect of exercise on lipid profiles in healthy volunteers

Unchalee Chaisri  
Piyawan Bunpo

Regular physical exercise is recognized as effective non-pharmacological interventions to reduce body fat mass and prevents cardiovascular diseases. The study aims to evaluate the effects of exercise on lipid profiles in healthy volunteers. Data were collected from 3 volunteers aged 20-30 years, 1 male and 2 female. All subjects were healthy, without evidence of cardiovascular diseases. Exercise was conducted three times per week, 45 minutes per session for 3 months. Serum total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol and triglyceride concentrations were measured before and after every 2

weeks of exercise. Subjects were advised to continue their usual food intake. The exercise showed a decrease in triglyceride, total-cholesterol and LDL-cholesterol by 31.6%, 5.7%, 9.7% respectively. There was a 10.9% increase in HDL-cholesterol, while body mass index decreased by 4.2% after 3 months. Conclusively, exercise training improves lipid profiles in the healthy volunteers and prevents obesity. These results suggest that a regular exercise, without diet control, can show beneficial effects to reduce cardiovascular disease risk factors and obesity.

## *In vitro* cytotoxicity of crude extracts from fresh fruiting bodies of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer on human cancer cell lines

Artit Wongsa  
Chintana Phawong

Cancer is one of the major non-infection health problem affect worldwide including Thailand. Several anticancer drugs have been originated from natural products. Previous studies, *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer have been reported to synthesis numerous molecules effect on anti-cancer. This study aimed to test the cytotoxic effect of the *Pleurotus sajor-caju* crude extracts on the six cell lines including human breast adenocarcinoma cell lines (MCF-7), cholangiocarcinoma cell lines (KKU-M213), human fibroblast cell lines (CRL2522), human leukemic monocyte lymphoma cell lines (U937), human hepatoma cell lines (HepG2) and peripheral blood mononuclear cells. MTT [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium

bromide] assay was used to determine the cell cytotoxicity. The results revealed the half maximal inhibitory concentration values (IC50) of  $7,269.05 \pm 711.05$ ,  $>16,000$ ,  $9,334.97 \pm 1,763.82$ ,  $2,139.35 \pm 323.40$ ,  $2,917.13 \pm 614.82$  and  $>16,000 \mu\text{g/mL}$  for human breast adenocarcinoma cell lines, cholangiocarcinoma cell lines, human fibroblast cell lines, Human leukemic monocyte lymphoma cell lines, human hepatoma cell lines and peripheral blood mononuclear cells respectively. These results indicate that the *Pleurotus sajor-caju* crude extracts have shown highly promising anticancer activity. However, further investigations are needed to exploit their valuable therapeutic uses and to elucidate their modes of action.

## Detection of LCR and $G\gamma$ gene deletions in $\beta^0$ -thalassemia/HbE disease with a low level of HbF

*Pinyaphat Khamphikham  
Sakorn Pornprasert*

$\beta^0$ -thalassemia/Hemoglobin E ( $\beta^0$ -thal/HbE) disease is a severe thalassemic type and common in Thailand. However,  $\beta^0$ -thal/HbE disease patients also show variations of clinical manifestations depended on a level of HbF.  $\beta^0$ -thal/HbE patients with a low level of HbF ( $\leq 15\%$ ) have more severe clinical symptoms than those with a high level of HbF ( $> 15\%$ ). The low HbF levels are resulted from many reasons. One of the reasons might be due to the absence of the LCR and  $G\gamma$  gene. The LCR and  $G\gamma$  gene deletions were analyzed in 11  $\beta^0$ -thal/HbE disease patients with a low level of HbF ( $\leq 15\%$ ) and 10  $\beta^0$ -thal/HbE disease patients with a high level of HbF

( $> 15\%$ ) by using the quantitative real-time PCR. LCR and  $G\gamma$  gene dosages were compared with LPL9 (lipoprotein lipase9) gene which used as an internal control gene. The mean ratios of LCR:LPL9 of  $\beta^0$ -thal/HbE patients with a low of HbF were significantly lower than those of  $\beta^0$ -thal/HbE patients with a high level of HbF (1.12 vs 1.63,  $p = 0.001$ ). However, they were higher than 0.5. In addition, the mean ratios of  $G\gamma$ :LPL9 in the two groups of patients were not significantly difference (1.22 vs 1.64,  $p = 0.17$ ). These results suggested that the low HbF levels ( $\leq 15\%$ ) in  $\beta^0$ -thal/HbE patients were not due to the deletions of LCR and  $G\gamma$  gene.

## Effect of exercise on blood glucose and serum uric acid in healthy volunteers

*Bunrod Mankakate  
Piyawan Bunpo*

Type 2 Diabetes Mellitus is a serious health problem. For patients with diabetes, regular exercise can help stop the progression of disease. There is evidence to support a variety of mechanisms, including a decrease in chronic inflammation, a decrease in adiposity, and more global physiologic changes such as lower blood pressure, an improved lipid profile, and decreased insulin resistance. The study aims to evaluate the effects of exercise on blood glucose and serum uric acid in healthy volunteers. Data were collected from 3 volunteers aged 20-30 years, 1 male and 2 female. All subjects were healthy, without evidence of diabetes mellitus. Exercise was conducted three times per week, 45 minutes

per session for 3 months. Serum glucose and uric acid concentrations were measured before and after every 2 weeks of exercise. Subjects were advised to continue their usual food intake. The exercise showed a decrease in blood glucose by 4.4%. There was a 5.8% increase in serum uric acid, while body mass index decreased by 4.2% after 3 months. Conclusively, exercise training improves blood glucose and helps prevent obesity in healthy volunteers, however exercise slightly increases serum uric acid level. These results suggest that a regular exercise may have beneficial effects for those who have diabetes as well as those who are healthy.



## Engineered for Automation

### *The cobas® 4800 System*

The **cobas® 4800 System** fully integrated sample preparation combined with real-time PCR technology for amplification and detection, plus software that suitable integrates both components.

- **Streamlined workflow**
- **Handy cobas® 4800 software**
- **Results can be customized**

© 2009 Roche Molecular Systems, Inc. All rights reserved.



**cobas x 480 Instrument**



**cobas z 480 Analyzer**

Roche Diagnostics (Thailand) Ltd.  
18th Floor, Rasa Tower 1  
555 Phaholyothin Road, Chatuchak  
Chatuchak, Bangkok, 10900 Thailand  
Tel: +662 791 2200  
Fax: +662 937 0850

## คำแนะนำพิมพ์

วารสารเทคโนโลยีการแพทย์เชียงใหม่ เป็นวารสารทางวิชาการของคณะเทคโนโลยีการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ยินดีพิจารณาบทความที่มีคุณภาพด้านเทคโนโลยีการแพทย์ รังสีเทคนิค กิจกรรมบำบัด กายภาพบำบัด และด้านอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับวิทยาศาสตร์สุขภาพ โดยผ่านระบบการตรวจสอบประเมิน และได้รับการยอมรับจากผู้ทรงคุณวุฒิผู้เชี่ยวชาญในสาขาวิชานั้นๆ อย่างน้อย 2 ท่านบทความที่เสนอขอรับการพิจารณาต้องไม่เคยตีพิมพ์ หรืออยู่ในระหว่างการเสนอต่อวารสารอื่นได้ บทความที่ตีพิมพ์ในวารสารนี้แล้ว ถือเป็นลิขสิทธิ์ของวารสารเทคโนโลยีการแพทย์เชียงใหม่ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประเภทของบทความที่ลงตีพิมพ์ แบ่งเป็น 8 ประเภท ดัง

1. บทความอิทธิการ (EDITORIAL) เป็นบทความที่มีวิเคราะห์ผลงานทางวิทยาศาสตร์ใหม่ๆ ที่มีความสำคัญในวิชาชีพเทคโนโลยีการแพทย์ รังสีเทคนิค กิจกรรมบำบัด กายภาพบำบัด หรือวิทยาศาสตร์ที่เกี่ยวข้อง หรืออาจเป็นบทความซึ่งมิใช่เรื่องทางวิชาการโดยตรงแต่เป็นความคิดเห็นเพื่อประโยชน์ของการ ยกระดับวิชาชีพให้สูงขึ้น

2. นิพนธ์ต้นฉบับ (RESEARCH ARTICLE) เป็นรายงานผลงานวิจัยในด้านที่เกี่ยวข้องโดยทั่วไปนั้นยังไม่เคยตีพิมพ์ หรืออยู่ในระหว่างการตีพิมพ์ในวารสารอื่นได้

3. รายงานเทคนิคทางห้องปฏิบัติการ กายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด และรังสีเทคนิค (SHORT TECHNICAL REPORT) เป็นรายงานการประยุกต์ใช้เทคนิคการตรวจในห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด และรังสีเทคนิค โดยแสดงรายละเอียดทั้งวิธีการและผลการใช้เทคนิคนั้น เปรียบเทียบกับวิธีเดิม รวมถึงการวิเคราะณ์และสรุปผล

4. นิพนธ์ปริทรรศน์ (REVIEW ARTICLE) เป็นบทความที่รวมเอกสารงานในเรื่องเดียวกันไว้ในรูปแบบเดียวกัน ซึ่งเคยลงตีพิมพ์แล้วนั่นมา วิเคราะห์ วิจารณ์เปรียบเทียบเพื่อให้เกิดความกระจงในเรื่องนั้นยิ่งขึ้น

5. บทความทั่วไป (GENERAL ARTICLE) เป็นบทความที่มีวิชาการเฉพาะด้านรวมอยู่ด้วยค่อนข้างน้อย เที่ยวนเพื่อให้บุคคลทั่วไป สามารถอ่านเข้าใจตลอด

6. บันทึก (NOTE) เป็นบทความหรือรายงานผลการวิจัยลักษณะข้อ 1 และข้อ 2 แต่มีความละเอียดกว่าทั้งในเนื้อหาและรายละเอียด

7. ปกิณกะ (MISCELLANY) เป็นบทความทั่วไปที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมทางด้านวิทยาศาสตร์สุขภาพ เช่น การวิจารณ์ผลเวลาศาสตร์ชั้นสูตร การตอบปัญหาทางด้านเวชศาสตร์ชั้นสูตร เป็นต้น

8. จดหมายถึงบรรณาธิการ (LETTER TO THE EDITOR) เป็นบทความทางวิชาการหรืออื่นๆ ที่เป็นบันทึกสั้นๆ ในรูปของจดหมายถึงบรรณาธิการ เพื่อแสดงความคิดเห็นและประสบการณ์ในทางวิชาการ

9. ย่อเอกสาร (ABSTRACT) เป็นเรื่องย่อของบทความที่น่าสนใจและได้รับการตีพิมพ์แล้วในวารสารต่างๆ

### คำแนะนำสำหรับการเตรียมต้นฉบับ

1. ภาษาที่ใช้มี 2 ภาษาคือ ภาษาไทยและ/หรือภาษาอังกฤษ (Cordia New 14) ต้นฉบับภาษาไทย ควรใช้ถ้อยคำและศัพท์ภาษาไทย ให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ โดยใช้พจนานุกรมศัพท์แพทย์อังกฤษ-ไทยฉบับราชบัณฑิตยสถานเป็นบรรทัดฐาน คำศัพท์ภาษาอังกฤษที่บัญญัติเป็นภาษาไทยแล้วแต่ยังไม่เป็นที่ทราบกันอย่างแพร่หลายหรือแปลแล้วเข้าใจยาก ให้ใช้ภาษาเดิมกำกับไว้ในวงลับหรืออนุโถมให้ใช้ภาษาอังกฤษได้

2. ต้นฉบับ ใช้กระดาษสีขาวสะอาดขนาด 8.5x11 นิ้ว พิมพ์หน้าเดียว เว้นระยะระหว่างบรรทัด 2 ช่อง (2 spaces) ให้โปรแกรม และตัวพิมพ์มาตรฐาน มีเลขที่หน้ากำกับทุกหน้า

3. ชื่อเรื่อง ให้มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษเป็นข้อความสั้นๆ และสื่อความหมาย บ่งชี้ให้เห็นสาระสำคัญของเนื้อหาในตัวบทความไม่ควรใช้คำย่ออ่อนอกจากคำย่อในนั้นเป็นที่ทราบกันโดยทั่วไป

4. ชื่อผู้แต่ง ให้ได้ชื่อตัวและชื่อสกุลเต็มทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ กรณีที่ผู้แต่งหลายคนให้เรียงตามลำดับความสำคัญในงานนั้นๆ และให้ชื่อและสถานที่ติดต่อพร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร หรือ E-mail address ของผู้รับผิดชอบบทความเพื่อการติดต่อได้สะดวก กรณีที่มีผู้ร่วมงานมากกว่าหนึ่งคน ให้ลำดับด้วยตัวเลขยกให้ท้ายนามสกุล

5. นิพนธ์ต้นฉบับให้มีบทคัดย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ (abstract) ความยาวไม่เกิน 400 คำ โดยแบ่งเป็น 5 หัวข้อดังนี้ วัตถุประสงค์ ตัวอย่างทดสอบ วิธีการ ผลการทดสอบและสรุป ทั้งนี้ให้มีคำรหัส (keyword) ไม่เกิน 3-5 คำ โดยลำดับเนื้อหาดังนี้ บทคัดย่อภาษาอังกฤษ (abstract) บทคัดย่อภาษาไทย บทนำ (introduction) วัสดุและวิธีการ (materials and methods) วิจารณ์ผลการศึกษา (discussion) สรุปผลการศึกษา (conclusion) กิตติกรรมประกาศ (acknowledgement) และเอกสารอ้างอิง (reference)

6. การจัดลำดับเนื้อเรื่องสำหรับนิพนธ์ต้นฉบับให้เรียงลำดับตามหัวข้อ ดังนี้ :-

- บทนำ (Introduction) ซึ่งรวมถึงวัตถุประสงค์หรือสมมติฐานในการศึกษา
- วัสดุและวิธีการ (Materials and Methods)
- ผล (Results)
- วิจารณ์ผล (Discussion)
- กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)
- เอกสารอ้างอิง (References)

7. กรณีที่งานวิจัยนี้ได้รับทุนวิจัยให้ระบุแหล่งที่มาของทุนวิจัยนั้นด้วย
8. การอ้างอิงเอกสารในเนื้อเรื่อง ให้อ้างอิงเรียงตามลำดับเลขที่ของเอกสาร อ้างอิงรึ่งอยู่ท้ายเรื่อง โดยใส่ตัวเลขแบบยกต่อท้ายข้อความนั้น ๆ
9. การเตรียมตาราง แผนภูมิ รูปภาพประกอบ
  - ตาราง แผนภูมิ รูปภาพประกอบ ให้แยกไว้ต่างหาก โดยใช้กระดาษ 1 แผ่น ต่อ 1 ตาราง หรือ 1 แผนภูมิหรือ 1 รูปภาพ บันทึกโดยใช้ นามสกุล .jpg หรือ .tif โดยให้มีความละเอียดเพียงพอ
  - คำอธิบายรูป (Figure legend) ให้พิมพ์แยกไว้ต่างหาก คำอธิบายภายในรูปให้ใช้ภาษาอังกฤษ
  - ชื่อตารางและคำอธิบายในตารางให้ใช้ภาษาอังกฤษ
10. การส่งบทความดันฉบับ ให้ส่งดันฉบับจำนวน 2 ชุด พร้อมแผ่นบันทึกข้อมูล (CD) ที่ระบุโปรแกรมที่ใช้พิมพ์มาอย่างบรรณาธิการวารสารเทคโนโลยี เชียงใหม่ คณะเทคโนโลยีแพทย์  
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
เลขที่ 110 ถนนอินทนิล罗斯 ตำบลลุสเทพ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่  
โทรศัพท์ : (053) 945080 ต่อ 17  
โทรสาร : (053) 946042  
E-mail : preyanat@chiangmai.ac.th หรือ preeyanat.v@cmu.ac.th

#### สำเนาพิมพ์ (Reprint)

บทความที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารนี้ ผู้เขียนบทความจะได้รับสำเนาพิมพ์ (Reprint) จำนวน 2 ชุด  
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 2002 Aug 12];102(6):[about 1 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htmArticle>

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/newssearch.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

Jaran On-Takrai. Production of monoclonal antibody specific to recombinant gp41 of HIV-1 subtype E [Term paper]. Faculty of Associated Medical Sciences: Chiang Mai University; 2001 (in Thai).

Harnden P, Joffe JK, Jones WG, editors. Germ cell tumours V. Proceedings of the 5<sup>th</sup> 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. 2<sup>nd</sup> United States of America. Julie Alexandar; 2000.

ข้อคิดเห็นใด ๆ ในบทความหรือเรื่องที่ตีพิมพ์ในวารสารนี้

เป็นข้อคิดเห็นส่วนตัวของผู้เขียนมิได้เกิดจากบรรณาธิการ หรือผู้จัดทำ แต่อย่างใด



# ใบสบัตรสมาชิก วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

ที่.....

วันที่ .....

ถึง บรรณาธิการวารสารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่  
ข้าพเจ้ายินดีบอกรับเป็นสมาชิกวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

โปรดจัดส่งวารสารถึงข้าพเจ้าดังนี้

นาม.....

สำนักงาน.....

บ้านเลขที่..... ถนน .....

ตำบล..... อำเภอ .....

จังหวัด.....

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

สำหรับเป็นค่าบำรุงสมาชิก ( ) รายปี ( ) ตลอดชีพ สั่งจ่ายในนามเหรัญญาภิวารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

ปณ. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มาพร้อมกับแบบฟอร์มนี้แล้ว

ลงชื่อ

(.....)

หมายเหตุ ค่าบำรุงสมาชิกรายปี  
ค่าบำรุงสมาชิกตลอดชีพ

800 บาท  
1,000 บาท





SIEMENS

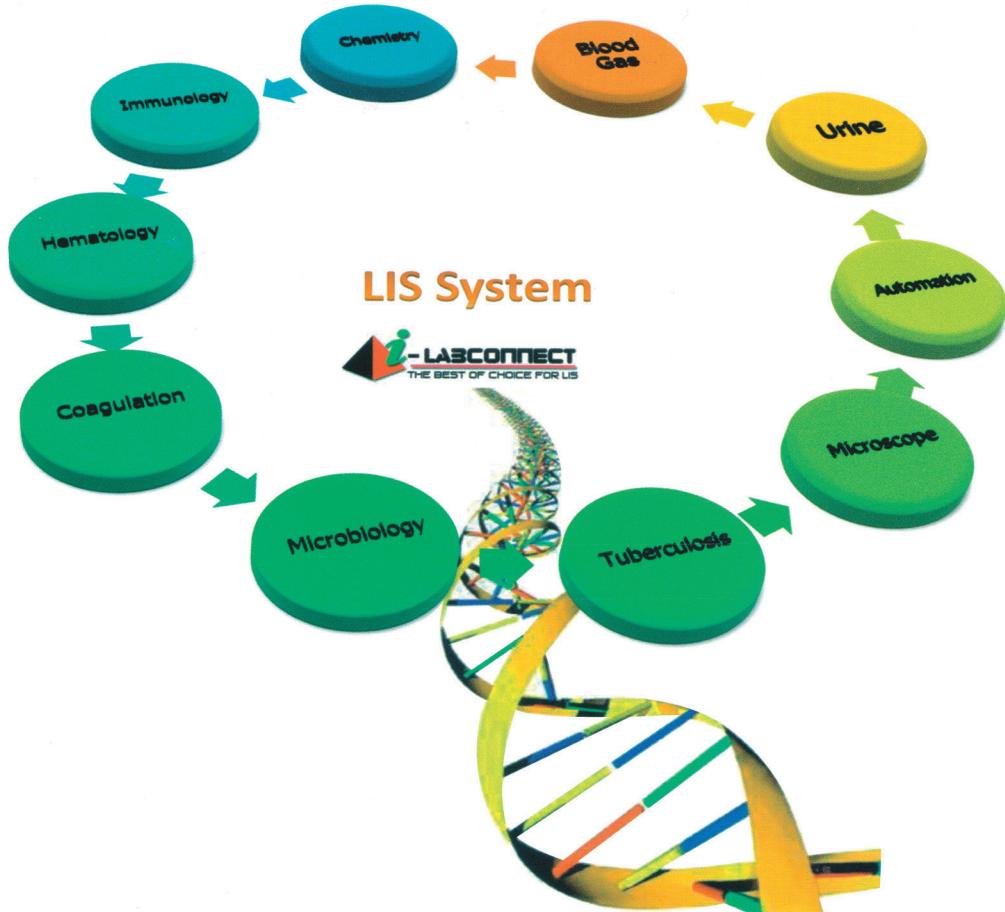
BioSystems

NIHON KOHDEN

DIRUJI

OLYMPUS

cellestis



HAMILTON  
MEDICAL

NIHON KOHDEN



HAMILTON-G5



HAMILTON-C1



HAMILTON-C2

ASV : Toward Automatic Ventilation



ALARIS®  
MEDICAL SYSTEMS



Alaris® GW  
volumetric pump



PCAM® INFUSION SYSTEM



E for L

INTERNATIONAL CO.,LTD.

www.eforl.co.th

บริษัท อี ฟอร์ แอล อินเตอร์เนชันแนล จำกัด

432, 434, 436, 438 ถ.ราชดำเนิน แขวงมหาพฤฒาราม เขตมหาพฤฒาราม กรุงเทพฯ 10700  
Tel. (02)883-0871-9 Fax. (02)433-8695 E-mail : eforl@loxiinfo.co.th